**Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации**

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Измерение остаточного содержания феноксапроп-П-этила по метаболиту феноксапроп-П в зерне и соломе гречихи методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1. 3198—14**

Издание официальное

Москва 2015

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Измерение остаточного содержания феноксапроп-П-этила по метаболиту феноксапроп-П в зерне и соломе гречихи методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1. 3198—14**

ББК 51.23
И37
И37 **Измерение** остаточного содержания феноксапроп-П-этила по метаболиту феноксапроп-П в зерне и соломе гречихи методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2014.—19 с.

ISBN 978—5—7508—1426—8

1. Разработаны сотрудниками ГНУ «Всероссийский НИИ фитопатологии» (Т. Н. Талалакина, А. М. Макеев).
2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 26 июня 2014 г. № 1).
3. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 29 июля 2014 г.
4. Введены впервые.

**ББК 51.23**

© **Роспотребнадзор, 2015**
© **Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015**

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия
человека, Главный государственный
санитарный врач
Российской Федерации
А. Ю. Попова
29 июля 2014 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Измерение остаточного содержания феноксапроп-П-этила по метаболиту феноксапроп-П в зерне и соломе гречихи методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.3198—14**

Свидетельство о метрологической аттестации от 3.10.2013
№ 01.00225/205-26-13

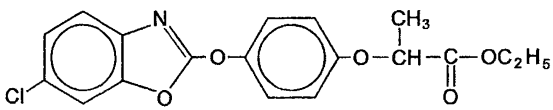
## 1. Назначение и область применения

Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения массовых концентраций феноксапроп-П-этила по метаболиту феноксапроп-П в зерне и соломе гречихи в диапазоне 0,05—0,5 мг/кг.

Методические указания носят рекомендательный характер.

**Феноксапроп-П-этил.**

Этил (R)-2-[4-[(6-хлорбензоксазол-2-илокси)фенокси]пропионат (ИЮПАК).



$C_{18}H_{16}ClNO_5$.
Молекулярная масса 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/дм$^3$) при 20 °С: ацетон – 200, толуол – 200, этилацетат – более 200, этанол – 24; растворимость в воде 0,7 мг/дм$^3$.

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).

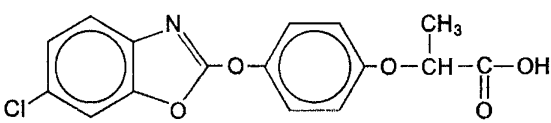
*Краткая токсикологическая характеристика*

Острая пероральная токсичность ($LD_{50}$) для крыс 3 150—4 000 мг/кг, 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 нетоксичен для пчел, птиц, дождевых червей.

**Основной метаболит феноксапроп-П-этила: феноксапроп-П**

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




$C_{16}H_{12}ClNO_5$.

Молекулярная масса 333,7.

Светлобежевый 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—pH 9). Растворимость (г/дм$^3$) 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.

*Область применения препарата*

Феноксапроп-П-этил - послевсходовый гербицид системного действия из группы ингибиторов синтеза жирных кислот. Вещество эффективно уничтожает однолетние и многолетние злаковые сорняки в посевах зерновых колосовых, овощных, технических и зернобобовых культур.

Применяется в России на посевах пшеницы, ячменя, свеклы, капусты, подсолнечника, льна, моркови, гороха, сои и рапса в качестве послевсходового гербицида при норме расхода до 90 г д.в./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/. Поэтому контроль за содержанием феноксапроп-П-этила в продукции растительного происхождения ведут по феноксапроп-П.

## 2. Метрологические характеристики

При соблюдении всех регламентированных условий и проведении анализа в точном соответствии с данной методикой значение погрешности (и ее составляющих) результатов измерений не превышает значений, приведенных в таблице.

*Таблица*

| Анализируемый объект | Диапазон измерений массовой доли, феноксапроп-П, мг/кг | Показатель точности (границы относительной погрешности), ±δ, % при P = 0,95 | Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), δ, % | Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), $\delta_к$, % | Предел повторяемости, r, %, P = 0,95, n = 2 | Предел воспроизводимости, R, %, P = 0,95, n = 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Зерно гречихи | От 0,05 до 0,10 включ. | 30 | 6 | 9 | 17 | 25 |
| | Св. 0,10 до 0,50 включ. | 15 | 3 | 4,5 | 8 | 12 |
| Солома гречихи | От 0,05 до 0,10 включ. | 27 | 6 | 9 | 17 | 25 |
| | Св. 0,10 до 0,50 включ. | 15 | 3 | 4,5 | 8 | 12 |

## 3. Метод измерений

Метод основан на экстракции феноксапроп-П из зерна и соломы гречихи водным раствором ацетона, очистке экстрактов от коэкстрактивных компонентов перераспределением веществ в

системе несмешивающихся растворителей, а также на колонке с силикагелем, разделении компонентов очищенных экстрактов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с последующими измерением содержания феноксапроп-П с использованием ультрафиолетового детектора и обработкой хроматограмм методом абсолютной градуировки.

## 4. Требования к средствам измерений, вспомогательным устройствам, материалам и реактивам

### *4.1. Средства измерений*

| | |
|---|---|
| Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором с переменной длиной волны, снабженный дегазатором и термостатом колонки | |
| Весы аналитические с пределом взвешивания до 110 г и допустимой погрешностью 0,0001 г | ГОСТ Р 53228—08 |
| Весы лабораторные с пределом взвешивания до 160 г и допустимой погрешностью 0,005 г | ГОСТ Р 53228—08 |
| Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1000-2 | ГОСТ 1770—74 |
| Пипетки градуированные 1-1-2-1; 1-1-2-2; 1-2-2-5; 1-2-2-10 | ГОСТ 29227—91 |
| Пробирки градуированные с пришлифованной пробкой П-2-5-0,1; П-2-10-0,2 | ГОСТ 1770—74 |
| Цилиндры мерные 1-25;1-50; 1-100; 1-500; 1-1000 | ГОСТ 1770—74 |
| Иономер универсальный | ГОСТ 22261—91 |
| Шприц для ввода образцов для жидкостного хроматографа вместимостью 20—100 $см^3$ | |

**Примечание.** Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

### *4.2. Реактивы*

| | |
|---|---|
| Феноксапроп-П , аналитический стандарт с содержанием основного вещества 99,1 % | |
| Ацетон, оч | ГОСТ 2603—79 |
| Ацетонитрил для хроматографии, хч | ТУ 6-09-3534—87 |
| Вода для лабораторного анализа (деионизованная, бидистиллированная) | ГОСТ Р 52501—05 |
| н-Гексан, хч | ТУ 6-09-3375—78 |
| Калий углекислый (калия карбонат), хч | ГОСТ 4221—76 |
| Калий марганцово-кислый (калия перманганат), хч | ГОСТ 20490—75 |
| Кальций хлористый (кальция хлорид), хч | ГОСТ 4161—77 |
| Кислота серная концентрированная, хч | ГОСТ 4204—77 |
| Кислота хлористоводородная, хч | ГОСТ 3118—77 |
| Кислота ортофосфорная 85,6 %, хч | ГОСТ 6552—80 |
| Метилен хлористый (дихлорметан), хч | ГОСТ 12794—80 |
| Натрия сульфат безводный, хч | ГОСТ 4166—76 |
| Натрий углекислый, хч | ГОСТ 83—79 |

**Примечание.** Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией.

### *4.3. Вспомогательные устройства, материалы*

Аналитическая колонка (150 × 4,6 мм), заполненная сорбентом с привитыми

| | |
|---|---|
| многофункциональными полярными группами С18 зернением 5 мкм | |
| Ванна ультразвуковая с рабочей частотой 35 кГц | |
| Воронка Бюхнера | ГОСТ 9147—80 |
| Воронки делительные вместимостью 100 и 250 $см^3$ | ГОСТ 25336—82 |
| Воронки лабораторные, стеклянные | ГОСТ 25336—82 |
| Колба Бунзена | ГОСТ 25336—82 |
| Колбы круглодонные на шлифе вместимостью 10, 50, 100 $см^3$ | ГОСТ 9737—93 |
| Колбы плоскодонные вместимостью 250 $см^3$ | ГОСТ 9737—93 |
| Колонка хроматографическая, стеклянная, длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм | |
| Ротационный вакуумный испаритель с мембранным насосом, обеспечивающим вакуум до 10 мбар | |
| Силикагель для колоночной хроматографии с размером частиц 0,063—0,200 мм и размером пор 60А | |
| Стаканы химические вместимостью 100 и 500 $см^3$ | ГОСТ 25336—82 |
| Стекловата | |
| Установка для перегонки растворителей с дефлегматором | ГОСТ 9737—93 (ИСО 641—75) |
| Фильтры бумажные средней плотности | ТУ 6-09-1678—86 |
| Фильтры мембранные, диаметром 47 мм и размером пор 0,45 мкм | |

**Примечание.** Допускается использование других вспомогательных средств и материалов аналогичного назначения технические характеристики которых не уступают вышеуказанным.

## 5. Требования безопасности, охраны окружающей среды

5.1. При работе с реактивами соблюдают требования безопасности, установленные для работы с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.007—76, ГОСТ 12.1.005—88.

5.2. При проведении анализов горючих и вредных веществ соблюдают требования противопожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91. В лаборатории должны быть в наличии средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—90. Обучение работников правилам безопасности труда проводят согласно ГОСТ 12.0.004—90.

5.3. При выполнении измерений с использованием хроматографа соблюдают правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019—79 и инструкцией по эксплуатации прибора.

5.4. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и 2.2.5.2308—07.

## 6. Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускается специалист, прошедший обучение, имеющий опыт работы в лаборатории и владеющий техникой проведения хроматографического анализа, освоивший данную методику и подтвердивший соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений.

## 7. Требования к условиям измерений

При выполнении измерений соблюдают следующие условия.

### *7.1. Условия приготовление растворов и подготовки проб к анализу*

| | |
|---|---|
| Температура воздуха | (20 ± 5) °С |
| Атмосферное давление | (84—106) кПа |
| Относительная влажность воздуха | не более 80 % |

*7.2. Условия хроматографического анализа*

| | |
|---|---|
| Температура колонки | 27 °С |
| Подвижная фаза | ацетонитрил-ортофосфорная кислота с массовой долей 0,15 % с объемным соотношением компонентов 62 : 38 |
| Скорость потока элюента | 0,7 $см^3$/мин |
| Рабочая длина волны | 240 нм |
| Чувствительность | 0,001 ед. абсорбции на шкалу |
| Объем вводимой пробы | 5 $мм^3$ |
| Линейный диапазон детектирования | (0,25—2,5) нг |

## 8. Подготовка к выполнению измерений

Измерениям предшествуют следующие операции: очистка органических растворителей (при необходимости), приготовление градуировочных растворов, раствора внесения, подвижной фазы для ВЭЖХ, кондиционирование хроматографической колонки, градуировка хроматографа, приготовление смеси растворителей для очистки экстрактов на колонке, подготовка колонки с силикагелем, проверка хроматографического поведения феноксапроп-П на колонке.

### *8.1. Очистка органических растворителей и приготовление растворов*

*8.1.1. Очистка н-гексана*

Растворитель последовательно промывают порциями концентрированной серной кислоты до прекращения окрашивания последней в желтый цвет, затем водой до нейтральной реакции промывных вод, перегоняют над прокаленным карбонатом калия. Срок хранения – 1 неделя.

*8.1.2. Очистка хлористого метилена*

*Приготовление раствора натрия углекислого с массовой долей 5 %.*

Навеску (5,0 ± 0,1) г натрия углекислого растворяют в конической колбе в (40—60) $см^3$ бидистиллированной воды. Получен-

ный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см$^3$ и доводят объем раствора до метки бидистиллированной водой. Срок хранения раствора 1 неделя.

Хлористый метилен промывают последовательно раствором натрия углекислого с массовой долей 5 %, насыщенным раствором хлористого кальция, сушат над безводным карбонатом калия и перегоняют. Срок хранения – 1 неделя.

*8.1.3. Очистка ацетона*

Ацетон перегоняют над перманганатом калия и карбонатом калия (на 1 дм$^3$ ацетона 10 г перманганата калия и 2 г карбоната калия). Срок хранения — 1 неделя.

### *8.2. Подготовка подвижной фазы для ВЭЖХ*

*8.2.1. Приготовление раствора ортофосфорной кислоты с массовой долей 0,15 % (0,15 %-й раствор).* В мерную колбу вместимостью 1 000 см$^3$ помещают 250—300 см$^3$ бидистиллированной воды, вносят 1,5 см$^3$ ортофосфорной кислоты, доводят объем раствора до метки водой, перемешивают.

*8.2.2. Приготовление подвижной фазы.* В мерную колбу вместимостью 1 000 см$^3$ помещают 620 см$^3$ ацетонитрила, вносят 380 см$^3$ 0,15 %-го раствора ортофосфорной кислоты, перемешивают, фильтруют через мембранный фильтр.

### *8.3. Кондиционирование хроматографической колонки*

Промывают колонку подвижной фазой для ВЭЖХ, приготовленной по п. 8.2.2, при скорости подачи растворителя 0,5 см$^3$/мин не менее 2 часов до установления стабильной базовой линии (дрейф базовой линии в течение 1 ч не более 5 %, а уровень шумов не более 2 % диапазона выходного сигнала на шкале измерений).

### *8.4. Приготовление градуировочных растворов*

*8.4.1. Исходный градуировочный раствор феноксапроп-П с массовой концентрацией 100 мкг/см$^3$*

В мерную колбу вместимостью 100 см$^3$ помещают (0,0100 ± 0,0001) г феноксапроп-П, растворяют в 40—50 см$^3$ ацетонитрила, доводят объем раствора ацетонитрилом до метки, тщательно перемешивают.

Раствор хранят в морозильной камере при температуре не выше (–18) °С в течение трех месяцев.

*8.4.2. Градуировочный раствор феноксапроп-П с массовой концентрацией 10 мкг/см³ (раствор № 1)*

В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 10 см³ исходного градуировочного раствора феноксапроп-П с массовой концентрацией 100 мкг/см³ (п. 8.4.1), доводят объем раствора до метки ацетонитрилом, тщательно перемешивают. Этот раствор используют для приготовления рабочих градуировочных растворов № 2—5, а также для приготовления проб с внесением при оценке полноты извлечения действующего вещества методом «внесено—найдено» и контроле точности методом добавок.

Градуировочный раствор № 1 хранят в морозильной камере при температуре не выше (−18) °С в течение месяца.

*8.4.3. Градуировочные растворы феноксапроп-П с массовой концентрацией 0,05—0,5 мкг/см³ (растворы № 2—5)*

В 4 мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают 0,5; 1,0; 2,5 и 5,0 см³ градуировочного раствора феноксапроп-П с массовой концентрацией 10 мкг/см³ (п. 8.4.2), доводят объем раствора до метки подвижной фазой, приготовленной по п. 8.2.2, тщательно перемешивают, получают растворы № 2—5 с массовой концентрацией феноксапроп-П 0,05; 0,1; 0,25 и 0,5 мкг/см³ соответственно.

Растворы хранятся в холодильнике при температуре 4—6 °С в течение месяца.

### *8.5. Градуировка хроматографа*

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади пика (мкВ × с) от массовой концентрации феноксапроп-П в растворе (мкг/см³), устанавливают методом абсолютной градуировки по 4 градуировочным растворам (п. 8.4.3).

В инжектор хроматографа вводят по 5 мм³ каждого градуировочного раствора (п. 8.4.3) и анализируют при условиях хроматографирования по п. 7.2. Осуществляют не менее 3 параллельных определений. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предел повторяемости r.

По полученным данным строят градуировочную характеристику.

### *8.6. Контроль стабильности градуировочной характеристики*

Контроль стабильности градуировки проводят не реже 1 раза в три месяца, а также при смене реактивов или изменении условий анализа.

Для контроля стабильности используют вновь приготовленные градуировочные растворы с массовой концентрацией исследуемого вещества в начале, середине и конце диапазона измерений, которые анализируют в точном соответствии с методикой.

Градуировочную характеристику считают стабильной, если для каждого контрольного образца выполняется условие:

$$\frac{|S_{изм.} - S_{гр.}|}{S_{гр.}} \cdot 100 \le K_{гр.}, \text{ где} \qquad (1)$$

$S_{изм.}, S_{гр.}$ – значение площади пика феноксапроп-П в образце для контроля, измеренное и найденное по градуировочной характеристике соответственно, мкВ × с;

$K_{гр.}$ – норматив контроля, $K_{гр.} = 0{,}5 \cdot \delta$, где $\pm\delta$ – границы относительной погрешности, % (табл.).

Если условие стабильности не выполняется только для одного образца, то повторно анализируют этот образец для исключения результата, содержащего грубую ошибку.

Если градуировка нестабильна, выясняют причины нестабильности и повторяют контроль стабильности с использованием других образцов для градуировки, предусмотренных методикой. При повторном обнаружении нестабильности градуировки прибор градуируют заново.

### *8.7. Подготовка колонки с силикагелем для очистки экстракта*

В нижнюю часть стеклянной колонки длиной 25 см и внутренним диаметром 8—10 мм вставляют тампон из стекловаты, закрывают кран и вносят суспензию 3 г силикагеля в 20 см$^3$ гексана. Дают растворителю стечь до верхнего края сорбента и помещают на него слой безводного сульфата натрия высотой 1 см. Колонку промывают 30 см$^3$ ацетона со скоростью 1—2 капли в секунду и затем 30 см$^3$ смеси гексан–ацетон в объемном соотношении 2 : 8, после чего она готова к работе.

### *8.8. Определение объема элюента, необходимого для полного вымывания феноксапроп-П из колонки с силикагелем*

В круглодонную колбу емкостью 10 см$^3$ отбирают 0,1 см$^3$ градуировочного раствора феноксапроп-П с концентрацией 10 мкг/см$^3$ (п. 8.4.2), упаривают досуха на роторном испарителе

при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 3 $см^3$ смеси гексан-ацетон в объемном соотношении 2 : 8, помещая в ультразвуковую ванну на 1 мин., и раствор наносят на колонку с силикагелем, подготовленную по п. 8.7. Колбу обмывают 3 $см^3$ этой же смеси растворителей, которые также наносят на колонку. Скорость прохождения растворителя через колонку – 1—2 капли в сек. Промывают колонку 40 $см^3$ смеси гексан-ацетон в объемном соотношении 2 : 8, элюат отбрасывают. Затем через колонку пропускают 35 $см^3$ ацетонитрила, отбирая последовательно по 5 $см^3$ элюата. Каждую фракцию упаривают досуха, остатки растворяют в 2 $см^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 8.2.2) и анализируют на содержание феноксапроп-П по п. 11.1.

Фракции, содержащие феноксапроп-П, объединяют, упаривают досуха, остаток растворяют в 10 мл подвижной фазы для ВЭЖХ и вновь анализируют по п. 11.1. Определяют полноту смывания вещества с колонки и объем элюента, необходимый для полного вымывания феноксапроп-П из колонки.

**Примечание.** Проверку хроматографического поведения феноксапроп-П на колонке следует проводить обязательно, поскольку профиль вымывания может изменяться при использовании новой партии сорбента и растворителей.

## 9. Отбор, подготовка и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с правилами, определенными: ГОСТ 13586.3—83 «Зерно. Правила приемки и методы отбора проб», «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов» (№ 2051—79 от 21.08.79).

Пробы зерна и соломы высушивают до стандартной влажности и хранят в бумажных или тканевых мешочках в сухом, хорошо проветриваемом шкафу, недоступном для грызунов. Перед анализом зерно и солому размалывают на мельнице.

## 10. Проведение определения

### *10.1. Экстракция феноксапроп-П*

*Приготовление водного раствора ацетона с объемной долей 80 %.*

В мерную колбу вместимостью 500 $см^3$ вносят 100 $см^3$ бидистиллированной воды и доводят объем раствора до метки ацетоном, перемешивают. Срок хранения – 1 неделя.

Образец размолотого зерна (10 г) или соломы (5 г) помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 см$^3$, приливают 100 см$^3$ водного раствора ацетона с объемной долей 80 % и помещают в ультразвуковую ванну на 7 мин. Пробе дают отстояться, затем надосадочную жидкость фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр. Осадок на фильтре промывают 50 см$^3$ водного раствора ацетона с объемной долей 80 %. Экстракт и промывную жидкость переносят в химический стакан, перемешивают, измеряют объем раствора, $^1/_5$ его часть (эквивалентную 2 г зерна или 1 г соломы) переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 см$^3$ и упаривают на роторном вакуумном испарителе при температуре не выше 40 °С до водного остатка (2—3 см$^3$). К водному остатку добавляют 30 см$^3$ бидистиллированной воды и раствор переносят в делительную воронку вместимостью 100 см$^3$. Далее проводят очистку экстракта по п. 10.2.

### *10.2. Очистка экстракта перераспределением в системе несмешивающихся растворителей*

*Приготовление раствора хлористоводородной кислоты с молярной концентрацией 1 моль/дм$^3$.*

Растворяют 85 см$^3$ хлористоводородной кислоты (уд. вес 1,18) в 100—200 см$^3$ бидистиллированной воды, затем переносят раствор в мерную колбу вместимостью 1 000 см$^3$ и доводят объем раствора до метки бидистиллированной водой, перемешивают. Срок хранения раствора – 1 неделя.

К аликвоте экстракта пробы (из п. 10.1), находящейся в делительной воронке, добавляют 20 см$^3$ гексана и смесь интенсивно встряхивают в течение 1 мин. Верхний гексановый слой отбрасывают, а оставшуюся водную фракцию переносят в химический стакан и подкисляют раствором хлористоводородной кислоты с молярной концентрацией 1 моль/дм$^3$ до pH 2, контролируя кислотность раствора с помощью иономера. Раствор переносят в делительную воронку вместимостью 100 см$^3$, приливают 30 см$^3$ дихлорметана и смесь интенсивно встряхивают в течение 1 мин. После полного разделения фаз органический слой фильтруют через слой безводного сульфата натрия, помещенный на бумажном фильтре в химическую воронку, в круглодонную колбу вместимостью 100 см$^3$. Экстракцию водной фазы повторяют еще два раза, используя 30 и 20 см$^3$ дихлорметана. Объединенную дихлорметановую фракцию, содержащую феноксапроп-П, упаривают

досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Далее проводят очистку экстракта по п. 10.3.

### *10.3. Очистка экстракта на колонке с силикагелем*

Остаток в колбе, полученный при упаривании очищенных по п. 10.2 экстрактов зерна и соломы, растворяют в 3 $см^3$ смеси гексан-ацетон в объемном соотношении 2 : 8 и раствор вносят в подготовленную хроматографическую колонку (п. 8.7). Колбу обмывают 5 $см^3$ смеси этих же растворителей и также наносят на колонку. Промывают колонку 40 $см^3$ смеси гексан–ацетон (2 : 8, по объему) со скоростью 1—2 капли в секунду, элюат отбрасывают. Феноксапроп-П элюируют 25 $см^3$ ацетонитрила и собирают элюат в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Раствор упаривают досуха на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток экстрактов зерна и соломы растворяют соответственно в 2 и 1 $см^3$ подвижной фазы для ВЭЖХ (п. 8.2.2) и анализируют на содержание феноксапроп-П по п. 11.1.

Полнота извлечения феноксапроп-П при проведении всех операций подготовки пробы не менее 84 %.

## 11. Выполнение измерений

11.1. В инжектор хроматографа вводят 5 $мм^3$ очищенного экстракта анализируемой пробы (пп. 10.1—10.3), анализируют при условиях п. 7.2 и регистрируют хроматограмму. Каждый экстракт хроматографируют дважды.

11.2. Для каждого образца зерна и соломы повторяют операции по пп. 10.1—10.3, 11.1.

## 12. Обработка результатов измерений

12.1. Для обработки результатов хроматографического анализа используют программу сбора и обработки хроматографической информации.

*Альтернативная обработка результатов.*

Массовую долю феноксапроп-П X, мг/кг в образцах зерна и соломы рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot A \cdot V}{0{,}84 \cdot S_0 \cdot m}, \text{ где} \qquad (2)$$

$S_1$ – площадь пика феноксапроп-П в образце, мкВ × с;
$S_0$ – площадь пика феноксапроп-П в градуировочном растворе, мкВ × с;
$A$ – массовая концентрация градуировочного раствора феноксапроп-П, мкг/см³;
$V$ – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см³;
$m$ – масса анализируемой части образца, соответствующая доле экстракта, использованной для очистки на колонке с силикагелем и последующего хроматографического определения, г;
0,84 – коэффициент извлечения феноксапроп-П, учитывающий все процедуры подготовки пробы.

При расчете содержания феноксапроп-П в эквивалентах феноксапроп-П-этила полученное значение X умножают на 1,04.

12.2. За результат измерений принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, если выполняется условие приемлемости:

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{X_1 + X_2} \le r, \text{ где} \qquad (3)$$

$X_1, X_2$ – результаты параллельных определений массовой доли феноксапроп-П, мг/кг;
$r$ – значение предела повторяемости, % (табл.).

Если условие (3) не выполняется, выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и повторяют выполнение измерений в соответствии с требованиями методики измерений.

12.3. Результат анализа в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде:

$$\overline{X} \pm 0{,}01 \cdot \delta \cdot \overline{X}, \text{ при P} = 0{,}95, \text{ где}$$

$\overline{X}$ – среднее арифметическое значение результатов $n$ определений, признанных приемлемыми, мг/кг;
$\pm\delta$ – границы относительной погрешности измерений, % (табл.).

В случае, если полученный результат измерений ниже нижней границы диапазона измерений, результат анализа представляют в виде:

*«массовая доля феноксапроп-П в зерне и соломе гречихи менее 0,05 мг/кг».*

Экстракты, при хроматографировании которых получают аналитический сигнал феноксапроп-П, превышающий аналитический сигнал, получаемый при хроматографировании градуировочного раствора с массовой концентрацией 0,5 мкг/см$^3$, разбавляют подвижной фазой, но не более, чем в 10 раз, и анализируют в соответствии с данной методикой.

## 13. Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

13.1. Проверку приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости проводят:

а) при возникновении спорных ситуаций между двумя лабораториями;

б) при проверке совместимости результатов измерений, полученных при сличительных испытаниях (при проведении аккредитации лабораторий и инспекционного контроля).

13.2. Для проведения проверки приемлемости результатов измерений в условиях воспроизводимости каждая лаборатория использует пробы, оставленные на хранение.

13.3. Расхождение между результатами измерений, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), не должно превышать предел воспроизводимости (R).

$$\frac{2 \cdot |X_1 - X_2| \cdot 100}{X_1 + X_2} \le R, \text{ где} \qquad (4)$$

$X_1, X_2$ – результаты измерений массовой доли феноксапроп-П, выполненных в условиях воспроизводимости (разное время, разные операторы, разные лаборатории), мг/кг;

$R$ – значение предела воспроизводимости, % (табл.).

Если предел воспроизводимости не превышен, то приемлемы все результаты измерений и в качестве окончательного результата используют их среднеарифметическое значение. Если

предел воспроизводимости превышен, то выполняют процедуры, изложенные в ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 (п. 5.3.3).

При разногласиях руководствуются ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 (п. 5.3.4).

## 14. Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

Контроль качества результатов измерений в лаборатории при реализации методики осуществляют по ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 («Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений»), используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения повторяемости по п. 6.2.2 ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002 и показателя правильности по п. 6.2.4 ГОСТ Р ИСО 5725-6—2002.

Рекомендуется устанавливать контролируемый период так, чтобы количество результатов контрольных измерений было от 20 до 30.

При неудовлетворительных результатах контроля, например, при превышении предела действия или регулярном превышении предела предупреждения, выясняют причины этих отклонений, в том числе проводят смену реактивов, проверяют работу оператора.

**Измерение остаточного содержания феноксапроп-П-этила по метаболиту феноксапроп-П в зерне и соломе гречихи методом высокоэффективной жидкостной хроматографии**

**Методические указания**
**МУК 4.1.3198—14**

Редактор Л. С. Кучурова
Технический редактор А. А. Григорьев

Подписано в печать 24.09.15

Формат 60×88/16 Печ. л. 1,25
Заказ 61

Тираж 125 экз.

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер. д. 18/20

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а

gost.e-ecolog.ru