ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ БОРЬБЫ
С ВРЕДИТЕЛЯМИ, БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОРНЯКАМИ ПРИ МСХ СССР

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, КОРМАХ И ВНЕШНЕЙ СРЕДЕ

Часть УП

Москва - 1976 г.

gost.e-ecolog.ru

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ 2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ(2,4-Д) В ВОДЕ, РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ И ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ.[x/]

Краткая характеристика препарата

$C_8H_6O_3Cl_2$ Мол.вес 221,04

2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота(2,4-Д) - белое кристаллическое вещество, стабильное при хранении. Температура плавления 141°С, температура кипения 160°С(0,4 мм рт.ст.). Константа диссоциации $2,3.10^{-3}$. Стабильна при хранении в растворах различных органических растворителей и в кристаллическом состоянии. При 20°С 540 мг кислоты растворяется в 1 л воды, 243 г кислоты в 100 мл эфира, 130 г кислоты в 100 мл этилового спирта; хорошо растворима в ацетоне, четыреххлористом углероде и бензоле.

Принцип метода

Метод основан на экстракции 2,4-Д из анализируемой пробы органическим растворителем с последующим определением в виде метилового эфира 2,4-Д с помощью газо-жидкостной и тонкослойной хроматографии. При необходимости определения содержания в пробе натриевой или аминной солей 2,4-Д используются методы, которые приведены ниже, поскольку при экстракции из пробы соль 2,4-Д превращается в 2,4-Д кислоту.

[x/] Метод разработали В.Д.Чмиль, Р.Д.Васягина, М.А.Клисенко (ВНИИГИНТОКС, г.Киев)

Утверждено 22 сентября 1975 г., № 1350-75.

Чувствительность определения в воде:газо-жидкостная хроматография(ПИД) - 0,01 мг/л и 0,002 мг/л(ЭЗД),тонкослойная хроматография - 3 мкг в пробе; в растительном материале:газо-жидкостная хроматография - 0,4 мг/кг(ПИД) и 0,01 мг/кг(ЭЗД), тонкослойная хроматография - 5 мкг в пробе; в сливочном масле:газо-жидкостная хроматография 0,05мг/кг (ЭЗД),тонкослойная хроматография - 5 мкг в пробе.

Реактивы и растворы

Безводный сульфат натрия,х.ч.

Н-гексан,х.ч.(перегнанный)

Диэтиловый эфир,х.ч.

Бикарбонат натрия,3%-ный водный раствор

Диметилсульфат,5%-ный(4% объемные) раствор в абсолютном метиловом спирте

Метиловый спирт,абсолютный

Хлористый натрий,х.ч.,насыщенный водный раствор

Силиконовый эластомер SE-30

Серная кислота,10%-ный водный раствор

Соляная кислота,концентрированная,х.ч.

Смесь растворителей I: I ч.10%-ного водного раствора серной кислоты + I,5 ч. 95%-ного этилового спирта + 2,5 ч. петролейного эфира + 7,5 ч. диэтилового эфира

Смесь растворителей II: I ч.диэтилового эфира + I ч.петролейного эфира

Петролейный эфир

Н-гептан,х.ч.

Ацетон, х.ч.

Хлороформ, х.ч.

Хлористый натрий, х.ч.

Хромасорб W, 80/100 меш, промытый кислотой и силанизированный ДМХС

Хроматон N, 0,16-0,20 мм, промытый кислотой и силанизированный ДМХС

Кальций сернокислый, х.ч., прокаленный при 160°С в течении 6 часов

Силикагель КСК

Проявляющий реактив: в мерную колбу на 100 мл помещают 0,5 г азотнокислого серебра, 5 мл дистиллированной воды, 7 мл аммиака (25%-ный водный раствор) и доводят до метки ацетоном

Азотнокислое серебро, Х.ч.

Аммиак, 25%-ный водный раствор

Стандартный раствор 2,4,5-Т (2,4,5-трихлорфеноксиуксусная кислота) в этаноле с содержанием 2,5 и 100 мкг/мл

Стандартный раствор 2,4-Д в этаноле с содержанием 5 и 100 мкг/мл

Фосфорно-вольфрамовая (фосфорно-молибденовая) кислота, х.ч., 40%-ный водный раствор

Приборы и посуда

Газовый хроматограф с дифференциальным пламенно-ионизационным и электронно-захватным детекторами (Цвет-3, Цвет-5, Цвет-106 и т.п.)

Делительная воронка на 1500, 1000, 500 мл

Стеклянная колонка длиной 20 см и внутренним диаметром 3 см

Колба Бунзена на 500 мл

Воронка Бюхнера диаметром 15 см

Грушевидные колбы на 100 мл

Аппарат для встряхивания

Ротационный испаритель ИР-1

Колбы конические с пришлифованной пробкой на 250 мл

Водяная баня

Контактный термометр на 100°С

Мерные колбы на 5, 10 и 100 мл

Фарфоровая чашка

Песчаная баня

Вакуумный водоструйный насос

Холодильник Либиха

Камера хроматографическая

Микропипетки

Медицинский шприц на 1 мл

Стеклянные пластинки 9х12 см

Сито капроновое 100 мек

Пульверизатор стеклянный

Ход анализа

Газо-жидкостная хроматография.

Вода.

а)Пламенно-ионизационный детектор.

Пробу воды(250-1000 мл) помещают в делительную воронку, прибавляют соляную кислоту(1:1) до pH~3(индикаторная

бумага), I мл стандартного раствора 2,4,5-Т(внутренний стандарт) с содержанием 100 мкг/мл и экстрагируют тремя порциями хлороформа(100,50 и 50 мл).Объединенный хлороформенный экстракт сушат,пропуская через стеклянную колонку,заполненную безводным сульфатом натрия(20 г).Растворитель удаляют на ротационном испарителе в грушевидной колбе на 100 мл;последние порции растворителя удаляют с помощью резиновой груши.Затем приливают в колбу 3 мл 5%-ного раствора диметилсульфата в абсолютном метиловом спирте,тщательно ополаскивают стенки колбы,прибавляют I г безводного сульфата натрия,присоединяют к колбе обратный холодильник и помещают на водяную баню(температура 55°С) на 10 минут.(Диметилсульфат - сильный яд!Поэтому с этим реактивом необходимо работать под тягой и промывать использованную для реакций посуду раствором аммиака в метиловом спирте).После окончание реакции метилирования содержимое колбы охлаждают под водопроводной водой,прибавляют 3 мл насыщенного водного раствора хлористого натрия,I мл н-гексана,энергично встряхивают в течении 2-х минут и после расслоения фаз вводят в хроматограф 3 мкл гексанового слоя.

Условия хроматографирования:стеклянная измерительная колонка(длина 2 м,внутренний диаметр 3 мм),заполненная Хромасорбом W,80/100 меш,промытым кислотой и силанизированным ДМХС с 10% SE-30 + 0,2 % эпикота 1001; сравнительная колонка(стеклянная или металлическая),заполненная аналогичной набивкой; скорость газа-носителя(азот) через колон-

ки - 60 мл/мин; расход воздуха через детектор - 300 мл/мин, водорода - 30 мл/мин; температура термостата колонок - 186° С, температура испарителя 230°С, шкала электрометра $1 \cdot 10^{-10}$а, скорость диаграммной ленты потенциометра 360 мм/час.

Порядок выхода из колонки хроматографируемых веществ: н-гексан (растворитель), метиловый эфир 2,4-Д, метиловый эфир 2,4,5-Т. Относительное время удерживания метилового эфира 2,4-Д по отношению к внутреннему стандарту - 0,58.

Хроматографирование одной пробы проводят дважды. Измеряют на хроматограммах высоты пиков метиловых эфиров 2,4-Д и 2,4,5-Т, вычисляют среднее значение отношения этих высот и по уравнению калибровочного графика находят содержание 2,4-Д в воде (мг/л).

Для построения калибровочного графика поступают следующим образом. К пробам воды прибавляют 25, 50, 75 и 100 мкг 2,4-Д (в виде раствора в этиловом спирте), 1 мл стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 100 мкг/мл, подкисляют соляной кислотой до pH~3 и далее поступают так, как это описано выше. Измеряют на хроматограммах высоты пиков метиловых эфиров 2,4-Д и 2,4,5-Т, вычисляют среднее значение их отношения из трех параллельных определений и строят график зависимости отношения высот хроматографических пиков метиловых эфиров 2,4-Д и 2,4,5-Т от содержания 2,4-Д в воде (мг/л). Калибровочный график обрабатывают по методу наименьших квадратов и получают уравнение калибровочной прямой в виде

$$Y = A + BX$$

где У - отношение высот хроматографических пиков метиловых эфиров 2,4-Д и 2,4,5-Т

Х - концентрация 2,4-Д в воде, мг/л

А и В - коэффициенты, которые получают при обработке калибровочного графика по методу наименьших квадратов.

б)Электронно-захватный детектор.

Пробу воды (250-500 мл) помещают в делительную воронку, подкисляют соляной кислотой до pH~3, прибавляют I мл стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/мл и экстрагируют тремя порциями диэтилового эфира (I00, 50 и 50 мл).

Объединенный эфирный экстракт переносят в делительную воронку, прибавляют 75 мл 3%-ного водного раствора бикарбоната натрия и экстрагируют в течение 3-х минут. После расслоения фаз собирают нижний водный слой. Повторяют экстракцию еще двумя порциями по 50 мл раствора бикарбоната. Объединенный экстракт промывают двумя порциями по 50 мл петролейного эфира, отбрасывая этот эфир. Затем бикарбонатный раствор подкисляют I0%-ным водным раствором серной кислоты до pH~3 и трижды экстрагируют диэтиловым эфиром по 50 мл. Объединенный эфирный экстракт сушат, пропуская через стеклянную колонку, заполненную безводным сульфатом натрия. Растворитель удаляют на ротационном испарителе в грушевидной колбе на I00 мл; последние порции растворителя удаляют с помощью груши. Затем приливают в колбу 3 мл 5%-ного раствора диметилсульфата в абсолютном метиловом спирте и далее поступают так, как это описано

выше. Условия хроматографирования: стеклянная спиральная колонка (длина 1 м, внутренний диаметр 3 мм), заполненная Хроматоном N, 0,160-0,200 мм, промытым кислотой и силанизированным ДМХС с 5% SE-30; скорость газа-носителя (азот особой чистоты) через колонку 50 мл/мин, скорость продувочного газа (азот особой чистоты) через детектор-150 мл/мин, температура термостата колонок - 170°С, температура испарителя - 220°С, температура термостата детектора - 220°С, шкала электрометра $20 \cdot 10^{-12}$ а, скорость диаграммной ленты потенциометра 240 мм/час. Хроматографирование одной пробы проводят дважды. Измеряют на хроматограммах высоты пиков метиловых эфиров 2,4-Д и 2,4,5-Т, вычисляют среднее значение отношения этих высот и по уравнению калибровочного графика находят содержание 2,4-Д в воде. Для построения калибровочного графика к пробам воды прибавляют 5, 10, 15 и 20 мкг 2,4-Д (в виде раствора в этиловом спирте), 1 мл стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/мл, подкисляют соляной кислотой до pH~3 и далее поступают так, как это описано выше.

Минимально детектируемое количество метилового эфира 2,4-Д - 2 нг. Линейный динамический диапазон - не менее 50 нг метилового эфира 2,4-Д.

Растительный материал.

а) Пламенно-ионизационный детектор.

В измельченную пробу (50 г) вносят 1 мл стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 100 мкг/мл и экстрагируют тремя порциями по 50 мл смеси растворителей I в количес-

в конической колбе с пришлифованной пробкой на аппарате для встряхивания. Продолжительность каждой экстракции 15 минут. Пробы с низким содержанием влаги увлажняют перед экстракцией дистиллированной водой (15–25 мл).

После окончания последней экстракции пробу отфильтровывают на воронке Бюхнера под вакуумом, а остаток на фильтре промывают двумя порциями растворителей II (по 50 мл). Объединенный экстракт переносят в делительную воронку, прибавляют 15 мл 40%-ного водного раствора фосфорно-молибденовой (фосфороно-вольфрамовой) кислоты, 15 мл концентрированной соляной кислоты и содержимое периодически встряхивают в течении 15 минут. После разделения слоев нижний (водный) слой однократно экстрагируют 30 мл смеси растворителей II и этот экстракт объединяют с верхним слоем. Объединенный экстракт переносят в делительную воронку, прибавляют 75 мл 3%-ного водного раствора бикарбоната натрия и далее поступают так, как это описано при определении в воде с электронно-захватным детектором.

Для построения калибровочного графика к пробам растительного материала прибавляют 25, 50, 75 и 100 мкг 2,4-Д (в виде раствора в этиловом спирте), 1 мл стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/мл и далее поступают так как это описано выше. Калибровочный график обрабатывают по методу наименьших квадратов и получают уравнение калибровочной прямой в виде:

$$Y = A + BX$$

где Y – отношение высот хроматографических пиков метило-

мых эфиров 2,4-Д и 2,4,5-Т, X - содержание 2,4-Д в пробе, мг/кг; A и B - коэффициенты.

б)Электронно-захватный детектор.

В измельченную пробу(50 г) вносят I мл стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/мл и далее поступают так, как это описано выше.

Для построения калибровочного графика к пробам растительного материала прибавляют 10, 15, 20 и 25 мкг 2,4-Д(в виде раствора в этиловом спирте), I мл стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/мл и далее поступают так, как это описано выше.

Сливочное масло.

Электронно-захватный детектор.

Пробу масла(25-50 г) растворяют в 250 мл петролейного эфира и трижды экстрагируют 3%-ным водным раствором бикарбоната натрия(3х75 мл). Объединенный бикарбонатный экстракт промывают четырьмя порциями петролейного эфира, отбрасывая этот эфир. Бикарбонатный раствор подкисляют 10%-ной серной кислотой до pH-3 и далее поступают так, как это описано при определении 2,4-Д в растительном материале.

Для хроматографирования используют спиральную стеклянную колонку(длина 2 м, внутренний диаметр 3 мм), заполненную Хроматоном N, 0,160-0,200 мк, силанизированным ДМХС с 5% SE-30. Остальные условия хроматографирования аналогичны вышеописанным. Количественное определение 2,4-Д и прочие расчеты методом абсолютной калибровки.

Тонкослойная хроматография

Вода.

Подготовка пробы аналогична описанной выше. Конечный гексановый экстракт наносят на хроматографическую пластинку с тонким слоем силикагеля КСК скрепленного гипсом с помощью капиляра или медицинского шприца на 1 мл. Затем на хроматографическую пластинку наносят 1,5 и 10 мкг метилового эфира 2,4-Д (в виде раствора в диэтиловом эфире) и проводят хроматографирование в системе растворителей н-гептан-ацетон в соотношении 9:3. После окончания процесса хроматографирования пластинку извлекают из хроматографической камеры и сушат на воздухе в вытяжном шкафу. Для обнаружения зон локализации метилового эфира 2,4-Д пластинку обрабатывают проявляющим реактивом и облучают УФ-светом в течение 10-15 минут. При наличии в пробе метилового эфира 2,4-Д на пластинке появляется серо-черное пятно на белом фоне с величиной R_f = 0,46-0,47. Количественное определение метилового эфира 2,4-Д проводят путем визуального сравнения размера и интенсивности окраски пятен стандарта с пятном пробы.

Пред проведением серийных анализов необходимо провести эксперименты по определению процента извлечения 2,4-Д из проб к которым были предварительно добавлены различные количества 2,4-Д. Извлечение в пределах 80%-86% считается удовлетворительным. Минимально детектируемое количество метилового эфира 2,4-Д на хроматографической пластинке 1 мкг

Растительный материал.

Подготовка пробы и проведение определения аналогичны описанным выше.

Сливочное масло.

Подготовка пробы и проведение определения аналогичны описанным выше.

Расчет результатов анализа

Для определения содержания 2,4-Д в пробе методом газожидкотсной хроматографии по способу внутреннего стандарта используют следующую формулу

$$X = \frac{У - А}{В}$$

где X - содержание 2,4-Д в пробе, мг/л или мг/кг

У, А, В - см. обозначения в тексте.

Для определения содержания 2,4-Д в пробе методом газожидкостной хроматографии по способу абсолютной калибровки используют следующую формулу

$$X = \frac{100\ A\ H_2\ V_2}{H_1\ P\ V_1\ R}$$ где

X - количество препарата в пробе, мг/л или мг/кг

A - количество стандарта, введенное в хроматограф, мг

H_1 - высота пика стандарте мм

H_2 - высота пика препарата в пробе, мм

V_1 - объем экстракта, введенный в хроматограф, мкл

V_2 - общий объем упаренного экстракта, мкл

P - количество анализируемой пробы, л или кг

R - процент извлечения, найденный предварительно, %

Для определения содержания в пробе метилового эфира 2,4-Д методом тонкослойной хроматографии используют следующую формулу

$$Д = \frac{10^5 \cdot A}{a \cdot R}$$ где

Д – содержание метилового эфира 2,4-Д в пробе, мг/л или мг/кг

А – количество метилового эфира 2,4-Д в пробе, найденное визуальным сравнением со стандартом, мг

а – объем или вес пробы, мл или г

R – процент извлечения, найденный предварительно, %

Для определения содержания в пробе 2,4-Д натриевой, диметиламинной или триэтаноламинной солей 2,4-Д полученный результат необходимо соответственно умножить на 0,94, 1,03, 1,37 или 1,57.

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

ХЛОРОРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

Метод определения ДДТ, его метаболитов и ГХЦГ в табочных изделиях способом хроматографии в тонком слое I
авторы: Л.Ф. Васьковская, Л.Е. Бурштейн

Определение остатков кельтана в молоке 7
авторы: В.В.Молочников, В.И.Мочалов.

Определение хлорорганических пестицидов в мясе, мясопродуктах и животных жирах хроматографией в тонком слое II
авторы: И.А.Шумкова,И.Н.Карпова,С.А.Ликунова,Л.Д.Рузанкова.

Определение остатков хлорорганических пестицидов в сырье для производства сухих детских молочных смесей I8
авторы: В.В.Молочников,В.И.Мочалов,Л.Н.Чудакова.

Определение остаточных количеств ЭФ-2 в зерне методом газожидкостной хроматографии с детектором по захвату электронов- авторы:К.Ф.Новикова, Л.И.Лещинская. 24

ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

Определение антио и фосфамида в меде 29
автор: Р.Д.Петухов.

Газо-хроматографический метод определения валексона в молоке, органах и тканях животных 33
авторы: В.В.Лещев, Б.А.Королев.

Методика определения варбекса в молоке и тканях животных с помощью газ -жидкостной хроматографии 38
авторы: А.А.Непоклонов, К.Ф.Заболотный,.

Определение остаточных количеств ДДВФ в молоке и воде 42
методом газо-жидкостной хроматографии с термоионным детектором
авторы: Ф.Р.Мельцер, К.Ф.Новикова.

Методика определения дифоса(абата) в мясе, молоке и в воде 46
хроматографией в тонком слое
авторы: Н.П.Бирюкова, Ю.Ф.Моряков,А.А.Непоклонов.

Газо-хроматографический метод определения метафоса в капусте и карбофоса в зерне. 51
авторы: Д.Б.Гиренко, М.А.Клисенко

Методика определения метилнитрофоса в мясе,молоке и яйцах с помощью газо-жидкостной хроматографии 55
Автор: Т.Г.Аббасов

Газо-хроматографический метод определения рогора и антио в яблоках, сливе, смородине 59
авторы: Д.Б.Гиренко, М.А.Клисенко

РТУТЬОРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

Газохроматографический метод определения метил- и этилмеркурхлорида в пищевых продуктах,кулинарно обработанных суточных пищевых рационах,кормах и почве 62
автор: В.В.Ермаков

Хроматографический метод определения ртутьорганических пестицидов в кормах,овощах,продуктах животноводства и патматериале 68
автор: В.В.Ермаков

Хроматографический метод определения ртути в рыбе и молочных продуктах 75
авторы: А.М.Шмигидина, М.А.Клисенко, Э.П.Чурпий.

ПРОЧИЕ ПЕСТИЦИДЫ

СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ гатнона в воде и некоторых продуктах растительного происхождения 81
авторы: В.Е.Кириченко,К.И.Пяткевич,И.Я.Постовский

Хроматографические методы определения остаточных количеств 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты(2,4-Д) в воде, растительном материале и продуктах питания 86
авторы: В.Д.Чмиль, Р.Д.Васянина, М.А.Клисенко

Определение сероуглерода в винограде 99
авторы: С.Л.Акоренко, М.Ш.Векштейн.

Определение остаточных количеств севина в молоке и молочных продуктах методом газо-жидкостной хроматографии с детектором по захвату электронов 104
авторы: И.И.Маневич, В.В.Молочников, Н.И.Жаворонков

Колориметрический метод определения севина и 1-нафтола в тканях животного происхождения и моче 110
авторы: Н.И.Жаворонков, О.А.Малинин

Определение гербицидов эптама и тиллама в воде,почве,свекле и ее ботве методом газо-жидкостной хроматографии 116
авторы: А.М.Ботвиньева, А.Л.Перцовский

Печатный цех МСХ СССР тираж 2000 экз.заказ № 1134
Л- 87948 от 5.У-76 г.

gost.e-ecolog.ru