ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ МЕМЛЕКЕТТІК СТАНДАРТЫ

СУ, ТОПЫРАҚ, МАЛ АЗЫҒЫ, ӨСІМДІК ЖӘНЕ МАЛДАН АЛЫНАТЫН ТАМАҚ ӨНІМДЕРІ
Хроматографиялық әдістермен 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксисірке қышқылы) анықтау

ВОДА, ПОЧВА, ФУРАЖ, ПРОДУКТЫ ПИТАНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО И ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
Определение 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты) хроматографическими методами

ҚР СТ 2010-2010

Ресми басылым

Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігі Техникалық реттеу және метрология комитеті (Мемстандарт)

Астана

gost.e-ecolog.ru

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ МЕМЛЕКЕТТІК СТАНДАРТЫ

СУ, ТОПЫРАҚ, МАЛ АЗЫҒЫ, ӨСІМДІК ЖӘНЕ МАЛДАН АЛЫНАТЫН ТАМАҚ ӨНІМДЕРІ

Хроматографиялық әдістермен 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксисірке қышқылы) анықтау

ҚР СТ 2010-2010

Ресми басылым

Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігі
Техникалық реттеу және метрология комитеті
(Мемстандарт)

Астана

Алғысөз

1 Техникалық реттеу және метрология комитетінің «Қазақстан стандарттау және сертификаттау институты» республикалық мемлекеттік кәсіпорны және Экологиялық қауіпсіздік саласындағы стандарттау жөніндегі № 71 «Қоршаған орта объектілері. Өнеркәсіптік қалдықтар» ТК **ӘЗІРЛЕП ЕНГІЗДІ**

2 Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігінің Техникалық реттеу және метрология комитеті төрағасының 2010 жылғы 8 қарашадағы № 500-од бұйрығымен **БЕКІТІЛІП ҚОЛДАНЫСҚА ЕНГІЗІЛДІ**

3 Осы стандартта «Техникалық реттеу туралы» Қазақстан Республикасының 2004 жылғы 9 қарашадағы № 603-II Заңының ережелері жүзеге асырылды

4 БІРІНШІ ТЕКСЕРУ МЕРЗІМІ 2014 жыл
ТЕКСЕРУ КЕЗЕҢДІЛІГІ 5 жыл

5 АЛҒАШ РЕТ ЕНГІЗІЛДІ

Осы стандартқа енгізілетін өзгерістер туралы ақпарат «Стандарттау бойынша нормативтік құжаттар» сілтемесінде, ал өзгерістер мәтіні – ай сайынғы «Мемлекеттік стандарттар» ақпараттық сілтемесінде жарияланады. Осы стандартты қайта қараған немесе ауыстырған (жойған) жағдайда, тиісті ақпарат «Мемлекеттік стандарттар» ақпараттық сілтемесінде жарияланатын болады

Осы стандарт Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігі Техникалық реттеу және метрология комитетінің рұқсатынсыз ресми басылым ретінде толықтай немесе бөлшектеліп басылып шығарыла, көбейтіле және таратыла алмайды

Мазмұны

1 Қолданылу саласы 1

2 Нормативтік сілтемелер 1

3 Әдістің мәні 2

4 Әдістің метрологиялық сипаттамасы 2

5 Өлшеуді орындауға қойылатын талаптар 3

6 Сынамаларды іріктеу 4

7 Аппаратура, материалдар мен реактивтер 4

8 Газ сұйықтықты хроматография әдісімен сынақ өткізу 5

9 Жұқа қабатты хроматография әдісімен сынақ өткізу 11

10 Судағы 2,4-Д анықтау бойынша фазалық-айналатын жоғары тиімділіктегі сұйықтықты хроматографиямен сынақ өткізу 12

11 Өлшеулер дәлдігін бақылау 14

12 Сынақ хаттамасын рәсімдеу 14

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ МЕМЛЕКЕТТІК СТАНДАРТЫ

СУ, ТОПЫРАҚ, МАЛ АЗЫҒЫ, ӨСІМДІК ЖӘНЕ МАЛДАН АЛЫНАТЫН ТАМАҚ ӨНІМДЕРІ

Хроматографиялық әдістермен 2,4-Д 2,4-дихлорфеноксисірке қышқылы) анықтау

Енгізілген күні 2012-01-01

1 Қолданылу саласы

Осы стандарт газсұйықтықты, жұқа қабатты, фазалық-айналатын жоғары тиімділікті сұйықтықты хроматографиямен 2,4-дихлорфеноксисірке қышқылын (2,4-Д-амин тұзы) анықтау әдісін белгілейді.

Осы стандарт су, топырақ, мал азығы, өсімдік және жануарлардан алынатын тамақ өнімдеріне таралады.

Бақыланатын көрсеткішке қойылатын техникалық талаптар «Жем және жем қоспаларының қауіпсіздігіне қойылатын талаптар» техникалық регламентінде, «Тұрғын халыққа арналған ауыз су қауіпсіздігіне қойылатын талаптар» техникалық регламентінде, «Ет және ет өнімдерінің қауіпсіздігіне қойылатын талаптар» техникалық регламентінде, «Сүт және сүт өнімдерінің қауіпсіздігіне қойылатын талаптар» техникалық регламентінде, «Тамақ өнімдеріне қойылатын санитарлық-эпидемиологиялық талаптар» техникалық регламентінде белгіленген.

2 Нормативтік сілтемелер

Осы стандартты қолдану үшін мынадай сілтемелік нормативтік құжаттарды қолдану қажет:

Қазақстан Республикасы Үкіметінің 2009 жылғы 16 қаңтардағы № 14 қаулысымен бекітілген «Өрт қауіпсіздігіне қойылатын жалпы талаптар» атты техникалық регламент.

Қазақстан Республикасы Үкіметінің 2009 жылғы 16 қаңтардағы № 16 қаулысымен бекітілген «Объектілерді қорғауға арналған техниканың өрт қауіпсіздігіне қойылатын талаптар» атты техникалық регламент.

Қазақстан Республикасы Үкіметінің 2008 жылғы 18 наурыздағы № 263 қаулысымен бекітілген «Жем және жем қоспаларының қауіпсіздігіне қойылатын талаптар» атты техникалық регламент.

Қазақстан Республикасы Үкіметінің 2008 жылғы 13 мамырдағы № 456 қаулысымен бекітілген Тұрғын халыққа арналған ауыз су қауіпсіздігіне қойылатын талаптар» атты техникалық регламент.

ҚР СТ ИСО /ХЭК 17025-2007 Сынақ және калибрлеу зертханаларының біліктілігіне қойылатын жалпы талаптар.

ГОСТ 12.1.019-79 ЕҚСЖ. Электр қауіпсіздігі. Жалпы талаптар және қорғау түрлерінің номенклатурасы.

ГОСТ 1770-74 Зертханалық өлшейтін шыны ыдыс. Цилиндрлер, өлшектер, құтылар, сынауықтар. Жалпы техникалық шарттар.

ГОСТ 2156-76 Қос қышқылды натрий. Техникалық шарттар.

Ресми басылым

ГОСТ 2603-79 Реактивтер. Ацетон. Техникалық шарттар.

ГОСТ 3118-77 Реактивтер. Тұз қышқылы. Техникалық шарттар.

ГОСТ 3760-79.Реактивтер. Сулы аммиак. Техникалық шарттар.

ГОСТ 4166-76 Реактивтер. Күкірт қышқылды натрий. Техникалық шарттар.

ГОСТ 4201-79 Реактивтер. Көмір қышқылды натрий. Техникалық шарттар.

ГОСТ 4233-77 Реактивтер. Хлорлы натрий. Техникалық шарттар.

ГОСТ 6709-72 Тазартылған су. Техникалық шарттар.

ГОСТ 6995-77 Реактивтер. Метанол-у. Техникалық шарттар.

ГОСТ 9293-74 Газ тәрізді және сұйық азот. Техникалық шарттар.

ГОСТ 20015-88 Хлороформ. Техникалық шарттар.

ГОСТ 20292-74 Зертханалық өлшейтін шыны аспаптар. Өлшектер, тамшуырлар. Техникалық шарттар.

ГОСТ 24104-2001 Зертханалық таразылар. Жалпы техникалық талаптар.

ГОСТ 25336-82 Зертханалық шыны ыдыс және жабдық. Типтері, негізгі өлшемдері мен параметрлері.

ГОСТ 25706-83 Ұлғайтқыш шынылар. Типтері, негізгі параметрлері. Жалпы техникалық талаптар.

ГОСТ ИСО 5725-1-2003 Өлшеу әдістері мен нәтижелерінің дәлдігі (дұрыстығы және дәлме-дәлдігі). Негізгі ережелер мен анықтамалар.

ГОСТ ИСО 5725-2-2003 Өлшеу әдістері мен нәтижелерінің дәлдігі (дұрыстығы және дәлме-дәлдігі). Стандарттық өлшеу әдісінің қайталанғыштығы мен өндірімділігін анықтаудың негізгі әдісі.

«Тамақ өніміне қойылатын санитарлық-эпидемиологиялық талаптар», ҚР ДСМ 06.08.10ж. № 611 бұйрығы.

Ескертпе Осы стандартты пайдаланған кезде сілтемелік стандарттар мен жіктеуіштерді жыл сайын шығарылатын «Стандарттау жөніндегі нормативтік құжаттар сілтемесі» ақпараттық сілтемесін ағымдағы жылғы жай-күйі бойынша және ағымдағы жылы жарияланған ай сайын шығарылатын тиісті ақпараттық сілтемелер бойынша тексерген дұрыс. Егер сілтемелік құжат ауыстырылған (өзгертілген) болса, онда осы стандартты пайдаланғанда ауыстырылған (өзгертілген) құжатты басшылыққа алу қажет. Егер сілтемелік құжат ауыстырылмай жойылса, оған сілтеме берілетін ереже осы сілтемеге қатыссыз бөлімде қолданылады.

3 Әдістің мәні

3.1 Жұқа қабатты хроматография әдісі

Әдіс жұқа қабатты хроматография әдісімен қышқыл түріндегі немесе газсұйықтықты хроматография арқылы 2,4-Д метил эфирі түрінде кезекті анықтаумен органикалық еріткішпен ыдыратылған сынаманың 2,4-Д шайғындауға негізделген. Ұсынылатын әдіс арқылы бос түріндегі сияқты, эндогенді өсімдік заттары болатын конъюгат түріндегі күйінде де байланысатын талданатын сынамада болатын 2,4-Д анықтауға болады. 2,4-Д сандық анықтау ыдырауды жүргізер алдында сынамаға қосылатын ішкі стандарт әдісімен жүргізіледі. Ішкі стандарт ретінде 2,4,5-трихлорфеноксисірке қышқылы (2,4,5-Т) пайдаланылады.

3.2 Фазалық-айналатын жоғары тиімділікті сұйықтықты хроматография әдісі.

Әдіс фазалық-айналатын ЖТСХ арқылы сынамадағы 2,4-Д қоюлануына және препаратты кезекті анықтауға негізделген.

4 Әдістің метрологиялық сипаттамасы

4.1 Газсұйықтықты хроматография әдісі

Газсұйықтықты хроматографияны анықтаудың төменгі әдісі: суда 0,002 мг/дм^3, топырақта 0,01 мг/кг, шөпте 0,02 мг/кг, пішенде 0,1 мг/кг, астықта 0,02 мг/кг, сүтте 0,04

мг/кг, сары майда 0,1 мг/кг, етте (сиыр еті) 0,08 мг/кг құрайды.

4.2 Жұқа қабатты хроматография әдісі

Жұқа қабатты хроматография әдісімен анықтаудың төменгі шегі құрайды: 2,4-Д түрінде - суда 0,04 мг/дм^3, сүтте 0,4 мг/дм^3, топырақта 0,2 мг/кг, шөпте 0,06 мг/кг, пішенде 0,4 мг/кг, астықта 0,3 мг/кг, сары майда 0,8 мг/кг, етте (сиыр еті) 0,6 мг/кг; метил эфирі түрінде 2,4-Д - суда 0,01 мг/дм^3, сүтте 0,1 мг/дм^3, топырақта 0,05 мг/кг, шөпте 0,08 мг/кг, пішенде 0,1 мг/кг, астықта 0,08 мг/кг, сары майда 0,2 мг/кг, етте (сиыр еті) 0,15 мг/кг. Жұқа қабатты хроматография әдісімен анықтау дәрежесі: суда 90%-дан бастап 95%-ға дейін, топырақта 70%-дан бастап 80%-ға дейін, шөпте 60%, пішенде 60%, сүтте 80%, сары майда 70%, етте 75%, астықта 60% құрайды.

2 нг тұрақты қайта топтастыру жылдамдығының детекторы арқылы 2,4-Д метил эфирінің минималды детекторланатын саны желілік динамикалық детекторлау ауқымы 70 нг кем емес. Жұқа қабатты хроматограммалардағы 2,4-Д минималды ашылатын саны 1 мкг.

4.3 Фазалық-айналатын жоғары тиімділікті сұйықтықты хроматография әдісі

Фазалық-айналатын жоғары тиімділікті сұйықтықты хроматогрфия әдісімен судағы 2,4-Д анықтаудың орташа мәні - 90%, стандарттық ауытқуы - 8,06%, салыстырмалы стандарттық ауытқуы - 3,61%, сенімділік аралығы ± 2,95%, тазартылмаған және тазартылған сынамадағы байқау шегі 0,7 мг/дм бастап 0,002 мг/дм^3 дейін.

Әдіс қоршаған ортаның ғаламдық ластандырғыштарына қатысуымен таңдалған - туынды циклопарафиндер (у-ГХЦГ және оның өлшемдері), дифенилметан қатарының қосылыстары (ДДТ және оның туындылары), сондай-ақ галакон, глифосат және астық дақылдарында қолданылатын басқа да гербицидтер.

5 Өлшеуді орындауға қойылатын талаптар

5.1 Жұмыстарды қауіпсіз жүргізу шарттары

5.1.1 Талдауларды іс тәжірибе жүзінде орындауға зертханада жұмыс істеген кезде қауіпсіздік техникасы бойынша нұсқамадан өтілген (нұсқама журналында белгіленіп) және осы стандартпен таныстырылған мамандар жіберіледі.

5.1.2 Электрлік қондырғылармен жұмыс істеген кездегі электр қауіпсіздігі ГОСТ 12.1.019 бойынша.

5.1.3 Зертхана үй-жайы «Өрт қауіпсіздігіне қойылатын жалпы талаптар» атты техникалық регламент бойынша өрт қауіпсіздігі талаптарына сәйкес болуға және объектілерді қорғауға арналған техниканың өрт қауіпсіздігіне қойылатын талаптар» атты техникалық регламентке сәйкес өрт сөндіру құралдары болуға тиіс.

5.2 Мамандар біліктілігіне қойылатын талаптар

Өлшеулерді зертханалық жұмыстар техникасын игерген және пайдаланылатын жабдықты пайдалану жөніндегі нұсқаулықты зерделеген маман өткізе алады.

5.3 Өлшеуді орындау шарттары:

- қоршаған ауа температурасы (20 ± 10)°С;
- атмосфералық қысым (84 - 106,7) кПа;
- салыстырмалы ылғалдылық (65 ± 15)%.

5.4 Органикалық еріткіштер, уытты заттар, қоюландырылған қышқылдармен жұмыс кезінде қауіпсіздік ережелерін сақтау қажет.

6 Сынамаларды іріктеу

Сынамаларды іріктеу және оларды талдауға дайындау – нақты өнімге арналған нормативтік құжаттамаға сәйкес.

7 Аппаратура, материалдар мен реактивтер

7.1 Аппаратура және материалдар

- электрондарды ұстайтын детектормен (ЭҰД) немесе тұрақты қайта топтастыру жылдамдығының детекторымен (ТҚД) жабдықталған газды хроматограф;
- «Милихром» типті шағын бағанды сұйықтықты хроматограф;
- 190 нм бастап 600 нм дейін толқындарды жұтатын ұзындық ауқымындағы сигналды тіркеуді қамтамасыз ететін спектрфотометрлік детектор;
- барынша үлкен шекте рұқсат етілетін абсолютті қателігі ± 0,001 г арнайы дәлдік класының аналитикалық таразылары ГОСТ 24104 бойынша;
- барынша үлкен шекте рұқсат етілетін абсолютті қателігі ± 0,01 г жоғары дәлдік класының зертханалық таразылары ГОСТ 24104 бойынша;
- біртектендіргіш (тіндерді майдалағыш);
- хроматографиялық УФС-254 сәуле түсіргіш немесе сынапты-кварцтық шам ПРК-4;
- ротациялық буландырғыш қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша;
- сіңіргіш құйылған стандарттық металл шағын бағана (50 мм х 2 мм);
- «Силасорб С», 5 мкм, «Силуфол», «Chemapol» (ЧССР), «Сорбфил», «Армсорб»;
- су моншасы;
- 0°С бастап 105^0С дейінгі электр түйіспелі термометр;
- вакуумдық су ағынды сорғы;
- сілкуге арналған аппарат;
- металл сызғыш ГОСТ 25706 бойынша;
- 500 $см^3$ және 250 $см^3$ дөңгелек түпті қос мойынды құтылар ГОСТ 25336 бойынша;
- 150; 500 $см^3$ бөлу құйғышыГОСТ 25336 бойынша;
- 500 $см^3$ Бунзен құтысы;
- 100 $см^3$ ыспаланған тығыны болатын конус тәрізді құтылар ГОСТ 25336 бойынша;
- 100 $см^3$ ыспасы болатын дөңгелек түпті құтылар ГОСТ 25336 бойынша;
- 250 $см^3$ жалпақ түпті құтылар ГОСТ 25336 бойынша;
- 1 $см^3$ өлшеу тамшуырлары ГОСТ 20292 бойынша;
- 10 $см^3$ өлшеу сынауықтары ГОСТ 1770 бойынша;
- 25; 100 $см^3$ өлшеу цилиндрлері ГОСТ 1770 бойынша;
- диаметрі 15 $см^3$ Бюхнер май құйғышы;
- 100 $см^3$ груша тәрізді құтылар;
- орталық үйірткілі сынауықтар;
- 5, 10 және 100 $см^3$ өлшеу құтылары;
- Либих тоңазытқышы;
- хроматографиялық камера;
- шағын тамшуырлар;
- индикаторлық әмбебап қағаз;
- «көк таспа» сүзгілер;
- 1 $см^3$ медициналық шприц;
- өлшемі 9 см х 12 см шыны тілімшелер;
- 100 меш (0,152 мм) капрон елек;
- шыны бүріккіш;
- секундтық межеліктің 0,2 с бөлу бағасы болатын секундөлшегіш.

7.2 Реактивтер

- тазартылған су ГОСТ 6709 бойынша;
- метанол, х.т. ГОСТ 6995 бойынша;
- газ тәрізді азот ГОСТ 9293 бойынша;
- азот қышқылды күміс ГОСТ 1277 бойынша, х.т.;
- ацетон ГОСТ 2603 бойынша, х.т., айдамаланған;
- сулы аммиак ГОСТ 3760 бойынша, т.ұ.т., 25 % су ерітіндісі;
- натрий бикарбонаты ГОСТ 2156 бойынша, 3%-дық су ерітіндісі;
- гексан х. т. (айдамаланған);
- гептан;
- хлороформ ГОСТ 20015 бойынша;
- диметилсульфат, абсолютті метил спиртіндегі 5%-дық (көлемдік пайыздағы) ерітінді;
- диэтил эфирі (айдамаланған);
- күкірт қышқылды кальций, х. т., 6 сағат бойы 160 °С қыздырылған;
- абсолютті метил спирті;
- құмырсқа қышқылы, х. т.;
- хлорлы натрий, х.т. ГОСТ 4233 бойынша, қанықтырылған су ерітіндісі;
- құмсірне КСК;
- тұз қышқылы, х. т., қоюландырылған ГОСТ 3118 бойынша;
- тұз қышқылы, 6 моль/дм^3 су ерітіндісі;
- тұз қышқылы, 2 моль/дм^3 су ерітіндісі;
- тұз қышқылы, су ерітіндісі (1:1);
- құрамы 100 мкг/см3 метанолдағы 2,4-Д стандарттық ерітінді;
- құрамы 2,5 мкг/ см^3 метанолдағы 2,4,5-Т стандарттық ерітіндісі;
- метанолдағы 2,4-Д (10 мкг/ см^3) және 2,4,5-Т (2,5 мкг/ см^3) метил эфирлерінің стандарттық ерітіндісі;
- концентрациясы 100 мкг/ см^3 гександағы 2,4-Д метил эфирінің стандарттық ерітіндісі;
- концентрациясы 10 мкг/см^3 судағы 2,4-Д стандарттық ерітіндісі;
- сусыз натрий сульфаты, х.т. ГОСТ 4166 бойынша;
- натрий гидрокарбонаты, т.ұ.т., ГОСТ 4201;
- фосфор-вольфрам қышқылы, х. т., 40%-дық су ерітіндісі;
- несепнәр қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша;
- метиламин қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша;
- метилрот қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша.

1-ескертпе: Ұқсас метрологиялық сипаттамалары болатын немесе жоғары аппаратура, өлшеу ыдысы, реактивтерді пайдалануға жол беріледі.

2-ескертпе: Қолданылатын өлшеу құралдары типін бекіту мақсатында сыналуға немесе мемлекеттік өлшем бірлігін қамтамасыз ету жүйесінің тізіліміне енгізу және салыстырып тексерілуге, метрологиялық аттестатталуға тиіс.

8 Газ сұйықтықты хроматография әдісімен сынақ өткізу

8.1 Сынаққа дайындау

8.1.1 Диазометанның эфирлік ерітіндісін дайындау

Анықтауға дайындау нитрозометилзернесептен диазометанды алумен байланысты. Бұл үшін ілініп тұрған дөңгелек түпті литрлік құтыға метиламиннің 24%-дық су ерітіндісінің 200 г салады (метиламин су ерітіндісі түрінде не хлоргидрат түрінде

пайдаланылады) және қышқыл реакцияға дейін 155 $см^3$ қоюландырылған тұз қышқылын салқындатқан кезде қосады (метилрот индикаторы). Сосын құтының ішіндегісінің массасы 500 г жететіндей су мөлшерін құяды және 300 г несепнәр қосады. Осыдан кейін құтының ішіндегісін кері тоңазытқышпен 2 сағ. 45 минут және қарқынмен 15 минут абайлап қайнатады. Құтының ішіндегісін бөлме температурасына дейін салқындатады, онда 95%-дық азот қышқылды натрийдің 110 г ерітеді және 0°С дейін салқындатады. 3-литрлік тостағанда 600 г мұз және 100 г қоюландырылған күкірт қышқылының қоспасын дайындайды, тостағанның ішіндегісін мұз және тұз қоспасымен салқындатады. Осы тостағанға араластыра отырып құтының ішіндегісін (зернесеп және натрий нитратының салқын ерітіндісі) температура 0°С жоғары көтерілмейтіндей жылдамдықпен құяды. Нитрозометилзернесепті алу мынадай реакциялар бойынша өтеді:

$$CH_3NH_2\ HC1 + H_2N—CO—NH_2 \rightarrow CH_3—NH—CO—NH_2 + NH_4C1;$$
$$CH_3—NH—CO—NH_2 + HNO_2 \rightarrow CH_3—N(NO)—CO—NH_2 + H_2O.$$

Нитрозометилнесепнәр Бюхнер құйғышында дереу сүзілетін және вакууммен жақсы сорылатын ұсақ қиыршықтар түрінде бетіне қалқып шығады. Сосын сүзгідегі қиыршықтарды тазартылған салқын судың 50 $см^3$ қойыртпақ пайда болғанша араластырады, сорғытады және вакуум-ылғалсорғышта кептіреді. Нитрозометилзернесептің теориялықтан шығуы 66%-дан бастап 72%-ға дейін (105 ± 115) г. Осылай алынған нитрозометилнесепнәрді тоңазытқышта ұзақ уақыт сақтауға болады. Оны 20°С жоғары температура кезінде 1 сағаттан артық сақтамау керек. 30°С температура кезінде нитрозометилнесепнәр газ тәрізді өнімдердің бөлінуінен ыдырауы мүмкін.

Нитрозометилнесепнәрден диазометан алу мынадай реакция бойынша жүреді:

$$CH_3N(NO)—CO—NH_2 + KOH \rightarrow CH_2N_2 + KCNO + 2H_2O.$$

100 $см^3$ дөңгелек түпті құтыға күйдіргіш калийдің 50%-дық су ерітіндісінің 3 $см^3$ және 10 $см^3$ диэтил эфирін салады. Қоспаны 5°С дейін салқындатады, содан кейін шайқаған кезде 1 г нитрозометилнесепнәр қосады, құтыны төменгі шеті резеңке тығын арқылы өтетін бұруы болатын шүмешпен жабдықталған және қабылдағыш түбінде эфир қабатына батырылған тоңазытқышқа қосады. Қабылдағышты мұз және тұз қоспасымен салқындатады.

Кертартпа құтыны 50 С. қыздырылған су моншасына салады. Құтыдағы эфир сығындысын қайнатады. Уақыт өте келе құтының ішіндегісін араластырады. Түссіз айдандының алғашқы тамшыларын алғаннан кейін айдамалауды тоқтатады.

8.1.2 Су сығындысын шайғындау және тазарту

250 $см^3$ бастап 1000 $см^3$ дейінгі су сынамасын бөліп құйғышқа орналастырады, pH 3 дейін тұз қышқылымен тотықтырады, концентрациясы 2,5 мкг/$см^3$ 2,4,5-Т 1 $см^3$ стандарттық ерітіндісін қосады және диэтил эфирінің үш бөлігімен шайғындайды (100, 50 және 50 $см^3$). Біріктірілген эфир шайғынын бөліп құйғышқа ауыстырады және натрий бикарбонатының 3%-дық су ерітіндісімен (немесе натрий гидроортофосфатының 5%-дық су ерітіндісі) шайғындайды (үш рет 50 $см^3$). Біріктірілген су ерітіндісін эфирдің (немесе гексан) екі үлесімен 50 $см^3$ шаяды, осы эфирді (гексан) төгіп тастайды, ал су ерітіндісін pH 3 дейін тұз қышқылымен тотықтырады және үш мәрте диэтил эфирімен 50 $см^3$ шайғындайды.

Біріктірілген эфир сығындысын (5 - 10) г сусыз натрий сульфатының үстінен 15 минуттан бастап 30 минутқа дейін кезеңдік сілкіген кезде кептіреді және 100 $см^3$ груша тәрізді құтыдағы ротациялық буландырғышта еріткішті алып тастайды, оның үстіне еріткіштің соңғы үлестерін құрғақ ауа тогымен жояды. Құтыдағы құрғақ қалдықты

диметилсульфат немесе диазометанды пайдалана отырып метилдейді.

8.1.3 Диметилсульфатпен метилдеу

Құтыдағы құрғақ қалдыққа абсолютті метил спиртіндегі диметилсульфаттың 5%-дық ерітіндісінің 3 $см^3$ құяды, құтының қабырғаларын мұқият шаяды, 1 г сусыз натрий сульфатын қосады, кері тоңазытқышты жалғайды және 10 минутқа 55°С температурамен су моншасына орналастырады. Метилдеу реакциясын аяқтаған соң, құтының ішіндегісін су құбырының суының астында салқындатады, хлорлы натрийдің қанықтырылған 3 $см^3$ ерітіндісін, 1 $см^3$ гексан құяды, 2 минут бойы қарқынмен сілкиді және фазалар жіктелген соң хроматографқа 3 мкл гексан қабатын енгізеді.

8.1.4 Диазометанмен метилдеу

Құтыдағы құрғақ қалдыққа сары түс пайда болғанша диазометанның эфирлік ерітіндісін (мұндайда құтының ішіндегісін сілкеді) және 10 минутқа қойып қояды. Сосын диэтил эфирін құрғақ ауа тогымен жояды, ал қалдығын 0,5 $см^3$ бастап 1,0 $см^3$ дейінгі гександа ерітеді және хроматографқа 1 мкл бастап 5 мкл дейін ерітінді енгізеді.

8.2 Хроматографтау

8.2.1 Газды хроматограф үлгісінде хроматографтау шарттары:

- DMCS силандалған хроматонмен-N (0,16 - 0,20) мм толтырылған серіппелі шыны баған (ұзындығы 2 м, ішкі диаметрі 3 мм), 5% SE-30.
- газ-тасымалдағыштың (ерекше таза азот) баған арқылы жылдамдығы 50 $см^3$/мин, детектор арқылы өтетін үрлеу газының жылдамдығы (ерекше таза азот) 150 $см^3$/мин.
- бағанашықтар термостатының температурасы 170°С, буландырғыш 220°С, детектор термостаты 220°С.
- аталған жағдайларда 2,4-Д метил эфирін абсолютті ұстау уақыты 4 мин.

8.2.2 Бір сынаманы хроматографтауды екі рет өткізеді. Хроматографтарда 2,4-Д және 2,4,5-Т метил эфирлерінің шыңдары немесе аудандарының биіктігін өлшейді, параллель анықтаулардан осы биіктіктердің (аудан) арақатынасының орташа мәнін есептейді және өлшемдеу графигінің теңдеуі бойынша судағы 2,4-Д құрамын табады.

Пайдаланылатын хроматографқа арналған программалық қамтамасыз етумен ДК басқаруында хроматограммалардың автоматты түрде өңделуі мүмкін. Хроматографиялық ақпаратты компьютерлік өңдеу жүйесі арқылы хроматограммалардың сандық есептен кемуін жүргізеді. Өңделген деректер негізінде осы ерітінділердегі пестицидтердің концентрациясына өлшемдеу ерітінділері шыңдарының биіктігінің (аудан) өлшемдеу тәуелділігін анықтайды.

8.2.3 Өлшемдеу графигін құру үшін су сынамаларына 5, 10, 15 және 20 мкг 2,4-Д (метил спиртіндегі ерітінді түрінде), құрамы 2,5 мкг/$см^3$ 2,4,5-Т 1 $см^3$ стандарттық ерітіндісін құяды және одан әрі 8.2.2 т. бойынша жасайды.

8.2.4 Хроматограммаларда 2,4-Д және 2,4,5-Т метил эфирлері шыңдарының биіктігін (аудан) өлшейді, параллель анықтаулардан осы биіктіктердің (аудан) арақатынасының орташа мәнін есептейді, судағы (мг/$дм^3$) 2,4-Д құрамынан 2,4-Д және 2,4,5-Т метил эфирлерінің хроматографтық шыңдарының биіктік (аудан) арақатынасының тәуелділік графигін құрады. Алынатын өлшемдеу графигін барынша аз квадраттар әдісі бойынша өңдейді және мынадай формула түріндегі өлшемдеу түзуінің теңдеуін алады:

$$V = A + BX, \quad (1)$$

мұндағы V - 2,4-Д және 2,4,5-Т метил эфирлерінің хроматографтық шыңдары биіктіктерінің арақатынасы;

X - судағы 2,4-Д құрамы, мг/$дм^3$;

А және В - барынша аз квадраттар әдісі бойынша өлшемдеу графигін өңдеген кезде алынатын коэффициенттер.

Ескертпе: Сынамаларды талдауға арналған 2,4-Д идентификациялау сенімділігін арттыру үшін, әр түрлі полярлықтағы қозғалмайтын фазалары болатын бағанашықтарды пайдаланған жөн (мысалы, SE-30 және XE-60, SE-30 және OV-17). Фенилметилсиликонды OV-17 пайдаланған кезде хроматографтау шарттары мынадай: DMCS силандалған хроматонмен-N (0,16 мм бастап 0,20 мм дейін) мм толтырылған серіппелі шыны баған (ұзындығы 2 м, ішкі диаметрі 3 мм), 5% OV-17. Газ-тасымалдағыштың (ерекше таза азот) баған арқылы жылдамдығы 50 $см^3$/мин, детектор арқылы өтетін үрлеу газының жылдамдығы (ерекше таза азот) 150 $см^3$/мин. бағанашықтар термостатының температурасы 170°С, буландырғыш 220°С, детектор термостаты 220°С. аталған жағдайларда 2,4-Д метил эфирін абсолютті ұстау уақыты 0,63. Абсолютті ұстап тұру уақыты 7 мин.

8.3 Шайғындау және тазарту

8.3.1 Шөп, пішен, астық сығындысын шайғындау және тазарту

50 г шөп өлшендісін 150 $см^3$ тазартылған суда біртектендіреді, гомогенатты 1 $дм^3$ дөңгелек түпті құтыға сандық ауыстырады және 38 $см^3$ қоюландырылған тұз қышқылын құяды. Сабан (50 г) немесе шөп (10 г) дәнінің ұнтақталған өлшендісін 1 $дм^3$ дөңгелек түпті құтыға салады және 2 моль/$дм^3$ тұз қышқылы ерітіндісінің 150 $см^3$ құяды. Дайындалған үлгілерге концентрациясы 2,5 мкг/$см^3$ 2,4,5-Т 1 $см^3$ стандарттық ерітіндісін қосады, араластырады, құтыға кері тоңазытқышты жалғайды және 1 сағатқа қайнап тұрған су моншасына салады.

Гидролизатты салқындатқан соң Бюхнер құйғышындағы қағаз сүзгі арқылы сүзеді, сүзгідегі тұнбаны тұз қышқылының 2 моль/$дм^3$ су ерітіндісінің 30 $см^3$ үш үлесімен араластырмай шаяды. Сүзіндіге концентрациясы 2%-дыққа дейінгі фосфор-вольфрамның 40%-дық су ерітіндісін қосады және Бюхнер құйғышындағы қағаз сүзгі арқылы сүзеді. Сүзгідегі тұнбаны 30 $см^3$ үлеспен тұз қышқылының 2 моль/$дм^3$ су ерітіндісімен үш рет шаяды. Біріктірілген сүзіндіні бөлу құйғышына ауыстырады және диэтил эфирінің үш үлесімен шайғындайды (эфирдің жалпы көлемі сүзіндінің көлеміне тең). Эфир сығындысын тазартылған судың 15 $см^3$ бастап 20 $см^3$ дейінгі шамалы мөлшерімен шайынды сулардың бейтарап реакциясына дейін шаяды және содан соң натрий гидроортофосфатының (немесе натрий бикорбонатының ерітіндісі) 5%-дық су ерітіндісінің үш үлесімен (50 $см^3$) шайғындайды.

Су шайғындарын біріктіреді, pH 1 дейін қоюландырылған тұз қышқылымен тотықтырады және диэтил эфирінің (75 + 50 + 50) $см^3$ үш үлесімен шайғындайды. Біріктірілген эфир сығындысын тазартылған судың 15 $см^3$ бастап 20 $см^3$ дейінгі шамалы мөлшерімен шайынды сулардың бейтарап реакциясына дейін шайғаннан кейін, кезеңдік сілку кезінде 15 минуттан бастап 30 минутқа дейін 5 г бастап 10 г дейінгі сусыз натрий сульфатымен кептіреді және еріткішті 100 $см^3$ груша тәрізді құтыдағы ротациялық буландырғышта жояды, еріткіштің соңғы үлестерін құрғақ ауа тогымен жояды.

Құрғақ қалдықты 0,5 $см^3$ ацетонда ерітеді және ерітіндіні КСК құмсірнесінің жұқа қабаты (0,4 мм) болатын шыны тілімшелерге (5 см × 20 см) жолақтар түрінде салады және гексан - диэтил эфирі – құмырсқа қышқылы (50:50:2) еріткіштері жүйесінде екі рет хроматографтайды. Сосын 0,5 - 0,6 тең Rf 2,4-Д болатын ауданы 1 $см^2$ тілімшеден құмсірнені алып тастайды және 50 $см^3$ тығыз қиюластырылған тығыны болатын конус тәрізді құтыға ауыстырады. Құтыдағы құмсірнені 1 $см^3$ тазартылған сумен сулайды, 4 $см^3$ бастап 5 $см^3$ дейін ацетон құяды, 1 минуттан бастап 2 минутқа дейін сілкиді және қағаз сүзгі арқылы сүзеді. Құмсірнені ацетонмен өңдеуді тағы да үш рет жүргізеді. Біріктірілген ацетон сығындысын сусыз натрий сульфатының үстінде кептіреді, ротациялық буландырғыштағы еріткішті жояды, сосын үлгіні метилдеуді және 8.2.2 бойынша 2,4-Д газхроматографиялық анықтауды жүргізеді.

Калибрлеу графигін құру үшін шөп, астық, пішен немесе сабан сынамаларына 10; 15; 20 және 25 мкг 2,4-Д, құрамы 2,5 мкг/см^3 2,4,5-Т 1 см^3 стандарттық ерітіндісін метил спирті түрінде енгізеді және одан әрі 8.2.2 және 8.2.4 бойынша жасайды.

8.3.2 Құрғақ топырақ сығындысын шайғындау және тазарту

8.3.2.1 Құрғақ топырақтың үгітілген және тесіктерінің өлшемі 1 мм елек арқылы еленген 100 г сынамасын жылтырлатылып тегістелген тығыны бар 500 см^3 конус тәрізді құтыға салады, 25 см^3 бастап 35 см^3 дейін тазартылған су, 5 см^3 қоюландырылған тұз қышқылын, құрамы 2,5 мкг/см^3 2,4,5-Т 1 см^3 стандарттық ерітіндісін құяды, мұқият араластырады, 150 см^3 ацетон қосады және сілку үшін 1 сағатқа аппаратқа салады.

8.3.2.2 Содан соң еріткішті қағаз сүзгі арқылы Бюхнер құйғышындағы вакуумның астында сүзеді, сүзгідегі топырақты 20 см^3 ацетонмен үш рет шаяды. Осыдан кейін ацетонды ротациялық буландырғышта жояды, қалдықты құтыдан 100 см^3 тазартылған суда бөлу құйғышына ауыстырады, диэтил эфирінің (75; 50 и 50 см^3) үш үлесімен шайғындайды және одан әрі 8.1.2, 8.2.2 т. бойынша жасайды.

Өлшемдеу графигін құру үшін топырақ сынамаларына метил спиртіндегі ерітінді түрінде 2,4-Д 10; 15; 20 және 25 мкг, құрамы 2,5 мкг/см^3 2,4,5-Т 1 см^3 стандарттық ерітіндісін енгізеді және одан әрі 8.2.2, 8.2.4 бойынша жасайды.

8.3.3 Дымқыл топырақ сығындысын шайғындау және тазарту

100 г бастап 200 г дейінгі дымқыл топырақ сынамасын қиюластырылған тығыны болатын конус тәрізді 500 см^3 құтыға салады, 5 см^3 бастап 10 см^3 дейін қоюландырылған тұз қышқылын, құрамы 2,5 мкг/см^3 2,4,5-Т 1 см^3 стандарттық ерітіндісін, 150 см^3 бастап 300 см^3 дейінгі ацетонды құяды, мұқият араластырады, сілку үшін 1 сағатқа аппаратқа орналастырады және одан әрі 8.3.2.2 бойынша; одан әрі 8.1.2 бойынша; одан әрі 8.2.2 бойынша жасайды.

8.3.5 Сүт сығындысын шайғындау және тазарту

25 см^3 бастап 50 см^3 дейінгі сүт сынамасына құрамы 2,5 мкг/см^3 2,4,5-Т 1 см^3 стандарттық ерітіндісін енгізеді, 4,4 см^3 бастап 8,8 см^3 дейін қоюландырылған тұз қышқылын қосады, 250 см^3 дөңгелек құтыға салады, кері тоңазытқышты қосады және ыдырату үшін 1 сағатқа қайнап тұрған су моншасына салады. Салқындаған соң құтыға фосфорлы-вольфрам қышқылының 40%-дық су ерітіндісінің 15 см^3 құяды, мұқият сілкеді, сосын 100 см^3 тазартылған су қосады және ішіндегісін Бюхнер құйғышында вакуум астында сүзеді. Сүзгідегі қалдықты тұз қышқылының 2 моль/дм^3 су ерітіндісімен шаяды, сүзіндіні үш рет 50 см^3 диэтил эфирімен шайғындайды. Біріктірілген эфир сығындысын кезеңдік сілку кезінде 15 минуттан 30 минутқа дейін сусыз натрий сульфатының үстінде кептіреді және еріткішті 100 см^3 груша тәрізді құтыдағы ротациялық буландырғышта жояды, еріткіштің соңғы үлестерін құрғақ ауа тогымен жояды. Қалдықты гексанның 0,5 см^3 бастап 1,0 см^3 дейін ерітеді және хроматографқа 1 мкл бастап 5 мкл дейін ерітіндіні 8.2.2 бойынша енгізеді.

25 см^3 бастап 50 см^3 дейінгі сүт сынамасында өлшемдеу графигін құру үшін, 2, 5, 10 және 20 мкг 2,4-Д (метил спиртіндегі ерітінді түрінде), құрамы 2,5 мкг/см^3 2,4,5-Т 1 см^3 стандарттық ерітіндісін, 4,4 см^3 бастап 8,8 см^3 дейінгі қоюландырылған тұз қышқылын енгізеді және одан әрі 8.2.2; 8.2.4 бойынша жасайды.

8.3.6 Сары май сығындысын шайғындау және тазарту

25 г май сынамасын 100 см^3 гександа ерітеді, құрамы 2,5 мкг/см^3 2,4,5-Т 1 см^3 стандарттық ерітіндісін енгізеді, 500 см^3 түбі дөңгелек қос ауызды құтыға салады, 100 см^3 6 моль/дм^3 тұз қышқылын құяды, құтының ішіндегісін электр бұлғауыш арқылы араластыра отырып, кері тоңазытқышты қосады және ыдырату үшін 1 сағатқа қайнап тұрған су моншасына салады. Құтының ішіндегісі салқындаған соң, қабаттарды бөлу құйғышында бөледі және су қабатын 2 реттен 50 см^3 диэтил эфирімен шайғындайды. Гексан қабатын 6 моль/дм^3 тұз қышқылының 100 см^3 шайғындайды. Сосын су қабатын екі

реттен 50 $см^3$ диэтил эфирімен шайғындайды және аталған сығындыны бастапқы эфир сығындысымен біріктіреді. Осыдан кейін 2,4-Д біріктірілген эфир сығындысынан 0,4 моль/$дм^3$ йод ерітіндісімен натрий бикарбонатын шығарып тастайды және одан әрі сүттегі гербицидті анықтаған кезде сипатталған сияқты жасайды.

Өлшемдеу графигін құру үшін 100 $см^3$ гександа ерітілген 25 г май сынамасына метил спирті ерітіндісі түріндегі 2,4-Д концентрациясы 2,5 мкг/ $см^3$, 10, 15, 20 және 2,4,5-Т 1 $см^3$ стандарттық ерітіндісін 25 мкг енгізеді. Одан әрі 8.2.2; 8.2.4 бойынша жасайды.

8.3.7 Ет сығындысын шайғындау және тазарту

25 г бастап 50 г дейінгі ет сынамасын ет тартқыш арқылы майдалайды, 500 $см^3$ салады, концентрациясы 2,5 мкг/ $см^3$, 10, 15, 20 және 2,4,5-Т 1 $см^3$ стандарттық ерітіндісін енгізеді, 100 $см^3$ бастап 200 $см^3$ дейін 6 моль/$дм^3$ тұз қышқылын құяды, кері тоңазытқышты жалғайды және құтының ішіндегісін электр бұлғауыш арқылы араластыра отырып, 1 сағатқа су моншасына орналастырады (100°С температурамен). Құтыға салқындағаннан кейін фосфорлы-вольфрам қышқылының 40%-дық су ерітіндісінің 15 $см^3$, 100 $см^3$ тазартылған су құяды және құтының ішіндегісін Бюхнер құйғышында вакуум астында сүзеді. Сүзгідегі қалдықты тұз қышқылының 2 моль/$дм^3$ су ерітіндісімен шаяды, сүзіндіні 50 $см^3$ үш мәрте диэтил эфирімен шайғындайды. Біріктірілген эфир сығындысын сілку кезінде 15 минуттан 30 минутқа дейін 5 г сусыз натрий сульфатының үстінен кептіреді және еріткішті 100 $см^3$ груша тәрізді құтыдағы ротациялық буландырғышта жояды, еріткіштің соңғы үлестерін құрғақ ауа тогымен жояды. Қалдықты гексанның 0,5 $см^3$ бастап 1,0 $см^3$ дейін ерітеді және хроматографқа 1 мкл бастап 5 мкл дейін ерітіндіні 8.2.2 бойынша енгізеді.

Ет сынамасында өлшемдеу графигін құру үшін құрамы 2,5 мкг/$см^3$ 2,4,5-Т стандарттық ерітіндісінің 1 $см^3$, 10, 15, 20 және 25 мкг 2,4-Д метил спиртіндегі ерітінді түрін енгізеді және одан әрі 8.2.2; 8.2.4 бойынша жасайды.

8.4 Нәтижелерді өңдеу

Сынамалардағы 2,4-Д құрамын (Х, мг/$дм^3$ немесе мг/кг) мынадай формула бойынша анықтайды:

$$X = \frac{V - A}{B}, \qquad (2)$$

мұндағы V - 2,4-Д және 2,4,5-Т метил эфирлерінің хроматографиялық шыңдарының биіктігінің (аудан) арақатынасы;

А және В – барынша аз квадраттар әдісі бойынша өлшемдеу графиктерін өңдеу кезінде алынатын коэффициенттер.

9 Жұқа қабатты хроматография әдісімен сынақ өткізу

9.1 Айқындағыш реактивті дайындау

100 $см^3$ өлшеу құтысына 0,5 г азот қышқылды күміс, 5 $см^3$ тазартылған су, 7 $см^3$ аммиакты (25%-дық су ерітіндісі) салады және ацетонмен таңбаға дейін жеткізеді.

9.2 Сығындыларды шайғындау және тазарту

Жұқа қабатты хроматография әдісімен 2,4-Д құрамын сандық анықтау кезінде үлгіні дайындау және сығындыны тазартуды, сынамаларға 2,4,5-Т енгізбейтінін есептемегенде, газхроматографиялық әдіспен нербицидті талдаған кездегі сияқты өткізеді.

Тазартудан кейін алынған біріктірілген эфир сығындысын сусыз натрий сульфатының үстінен кептіреді және ротациялық буландырғыштағы еріткішті 100 $см^3$ груша тәрізді құтыда шамалы көлемге дейін (1 - 2) $см^3$ булайды.

9.3 Хроматографтау

Буландырылған сығындыны қылтүтік немесе медициналық шприц арқылы 1 $см^3$ ғанышпен бекітілген КСК құмсірненің жұқа қабаты болатын хроматографиялық тілімшеге (9 см×12 см) сандық етіп салады. Сосын хроматографиялық тілімшеге ацетон ерітіндісі түріндегі 2,4-Д 2,5 мкг және 10 мкг салады және эфир (немесе гексан) - диэтил эфирі – құмырсқа қышқылы (50:50:2) еріткіштері жүйесінде хроматографтау жүргізеді. Хроматографтау процесін аяқтаған соң, тілімшені хроматографиялық камерадан шығарады және тартпа қораптағы ауада кептіреді. Оқшаулау аймағын байқау үшін 2,4-Д тілімшесін тазартылған су, аммиак және ацетон қосылған қоспада азот қышқылды күміс ерітіндісімен өңдейді, кептіреді және 10 минуттан 15 минутқа дейін ультракүлгін жарықпен сәуле түсіреді.

Егер сынамада 2,4-Д болатын болса, онда тілімшеде Rf 0,5 шамамен ақшыл реңдегі сұр-қара түсті дақ пайда болады. 2,4-Д сандық анықтауды сынама дағымен стандарт дағының бояуының өлшемі мен қарқынын көзбен шолып салыстыру арқылы өткізеді. Хроматографиялық тілімшеде минималды детекторланатын 2,4-Д саны 1 мкг.

Сериялық талдаулар өткізер алдында әдістің ашылуын анықтау қажет, яғни, гербицидтің әр түрлі мөлшері алдын ала қосылған бақылау сынамаларынан 2,4-Д қайту пайызы.

2,4-Д идентификациялау сенімділігін арттыру үшін, әсіресе, ластану сбептері белгісіз сынамаларды талдаған кезде, гербицид құрамына газхроматографиялық талдау өткізгеннен кейін сынаманың қалған бөлігін жұқа қабатты хроматография арқылы талдаған жөн. Бұл үшін гексан сығындысын КСК құмсірнесінің жұқа қабаты болатын хроматографиялық тілімшеге (9 см×12 см) салады, қасынан гександағы ерітінді түрінде 2,4-Д метил ерітіндісін 2 мкг бастап 10 мкг дейін салады және гептан - ацетон (9:3) еріткіштері жүйесінде хроматографтайды. Одан әрі жоғарыда сипатталған сияқты жасайды. 2,4-Д метил эфирінің Rf шамасы 0,46 - 0,47.

4-Д метил эфирінің Rf шамасының және ұстап тұру уақытының шамасының стандарттық қосылыс үшін алынған осы көрсеткіштермен салыстырғанда үйлесуі талданатын сынамалардағы 2,4-Д қалдық мөлшерін анықтауды барынша сенімді өткізуге мүмкіндік береді.

9.4 Жұқа қабатты хроматография кезінде нәтижелерді өңдеу

Жұқа қабатты хроматография әдісімен сынамадағы 2,4-Д құрамын анықтау үшін (X, мг/$дм^3$ немесе мг/кг) мынадай формуланы қолданады:

$$X = \frac{A}{P}, \qquad (3)$$

мұндағы А – стандартпен салыстырылып табылған сынамадағы 2,4-Д саны, мкг;

Р – сынаманың көлемі немесе массасы, $см^3$ немесе г.

Натрий, диметилдиэтил немесе триэтаноламин тұздарының сынамасындағы 2,4-Д құрамын анықтау үшін алынатын нәтижені тиісінше 1,1; 1,46 және 1,67 көбейту керек.

10 Судағы 2,4-Д анықтау бойынша фазалық-айналатын жоғары тиімділікті сұйықтықты хроматографиямен сынақ өткізу

10.1 Аластаушыны дайындау

7:3 көлемдік арақатынасындағы су-метанол аластаушы қоспасы хроматографиялық талдау өткізер алдында ертерек дайындалады. Сыйымдылығы 100 $см^3$ цилиндрмен сыйымдылығы 100 $см^3$ жылтыратылып тегістелген тығыны бар түбі дөңгелек құтыға құйып алатын 70 $см^3$ тазартылған сумен өлшейді; соған 30 $см^3$ метанолды құяды, құтыны тығынмен жабады, ішіндегісін жеңіл сілкіп араластырады және қоспаны 30 минуттан 40 минутқа дейін тұндырып қояды, содан кейін аластаушыға арналған ыдысқа сүзіп алады. Аластаушыны әлі бірнеше уақыт тұндырады (ыдыс қабырғаларында ауа көпіршіктерінің пайда болуы тоқтағанша) және талдауға арналған аспаптың хроматографиялық жүйесін дайындауға кіріседі.

10.2 2,4-Д анықтау жүргізуге хроматографиялық жүйені әзірлеу. Аспапты хроматографиялық талдауға дайындауды сорғыны жаңадан дайындалған аластаушымен шаюдан бастайды, содан кейін сорғыны су - метанол (7:3) аластаушы қоспасымен толтырады және хроматографиялық жүйені шаю және салыстыру астаушығын аластаушымен толтыруға кіріседі. Хроматографты дайындау детектордың біркелкі нөлдік шығыс сигналын белгілегенше және шуларды барынша азайтқанша жалғасады.

10.3 Препаратты талданатын сынамадан шайғындау

Судың таза (мөлдір және түссіз) сынамасын торлы сүзгі арқылы сүзеді және бағанашыққа 5 мкл бастап 40 мкл дейін енгізе отырып, тазартылмаған сынамаға хроматографиялық талдау жүргізеді (енгізілетін көлем оператордың қалауынша алынады, бірақ 40 мкл артық емес).

Егер су сынамасы кір болса (лай немесе боялған немесе талдау өткізуге әсер ететін табиғи органикалық қосылыстар, басқа пестицидтердің тиісті қоспалары), былай жасайды: 100 $см^3$ сүзіліп алынған сынаманы сыйымдылығы 250 $см^3$ жалпақ түпті конус тәрізді құтыға салады, сонда техникалық таразыларда өлшенген 4 г натрий гидрокарбонатын қосады және ерітіндіні араластырған кезде оны сынамада ерітеді, содан кейін құтының ішіндегісін сыйымдылығы 250 $см^3$ бөлу құйғышына ауыстырады. Құтыдан талдауға әсер ететін қоспаларды алып тастау үшін, алдымен хлороформ (25 $см^3$ 2 рет), содан соң құйғыш ішіндегісін 1 минут бойы шайқаған кезде н-гексанға (25 $см^3$ 2 рет) оларды қайта шайғындау жүргізіледі. Сынаманың ілеспе қоспалары болатын еріткіштерді лақтырып тастайды, ал су ерітіндісін сыйымдылығы 250 $см^3$ құтыға ағызып алады және соған біртіндеп 1 $см^3$ хлорсутек қышқылын құяды, ерітіндіні жеңіл шайқап араластырады. Көмірқышқыл газы бөлінуін тоқтатқан соң, ерітіндіні бөлу құйғышына ауыстырады және 1 минуттай диэтил эфирінде (20 $см^3$ 2 рет) 2,4-Д қайта шайғындау жүргізеді. Су ерітіндісін лақтырып тастайды, ал біріктірілген эфир сығындысын тазартылған сумен шаяды (бейтарап pH дейін), сыйымдылығы 100 $см^3$ тегістеуі болатын дөңгелек түпті құтыға қыздырылған натрий сульфаты арқылы сүзеді, шамалы мөлшеріне дейін 30°С бастап 35°С дейін ротациялық буландырғышта булайды, өлшеу сынауығына ауыстырады және кепкенше ерекше таза азот тогында булайды. Құрғақ сынама қалдығын,2 $см^3$ тазартылған суда ерітеді және хроматографиялық талдау өткізеді.

10.4 Хроматографтау шарттары:

Хроматографты жұмысқа дайындауды пайдалану жөніндегі нұсқауға сәйкес іске

асырады.

2,4-Д сандық анықтауын мынадай хроматографтау жағдайларында жүргізеді: қозғалмайтын фаза – «Силасорб С», 5 мкм; қозғалмалы фаза - метанолмен 7:3 көлемдік арақатынастағы су.

Ұсынылатын хроматографтау шарттары:

- аластаушы ағынның жылдамдығы - 200 мин/мкл.;
- өлшеу сезімталдығының ішкі ауқымы - 0,2 А;
- шығыс сигналды өлшеу уақыты - 0,6 с;
- жарық ағынын жұтатын толқын ұзындығы - 280 нм;
- ұстап қалу көлемі - 235 мкл.

Ескертпе. Осы стандартта белгіленген метрологиялық сипаттамалармен талдау орындауды қамтамасыз ететін кезде хроматографтау шарттарын өзгертуге жол беріледі.

10.5 Хроматографтау

Аспапты талдауға дайындауды аяқтаған соң, 5 мкл бастап 40 мкл дейінгі көлемдегі (5, 10, 15, 20, 30, 40 мкл) 2,4-Д (10 мкг/см^3) өлшемдеу ерітіндісін, ал содан соң қоюландырылмаған сияқты, қоюландырылғанда да (қажет болған кезде) препаратты (бірақ 40 мкл артық емес) байқау үшін қажетті көлемдегі су сынамасын хроматографтау жүргізіледі. Егер сынама ішіндегі жоғарғы байқау шегінде болса, оның бөлігін тазартылған судың белгілі бір мөлшерінде ерітеді және талдауды сондай хроматографтау жағдайында қайталайды.

10.6 Талдау нәтижелерін талдау

Аспапқа арналған программалық қамтамасыз етуді немесе өлшемдеу сипаттамаларын өңдеу үшін тағайындалған компьютерлік бағдарламаларды пайдалана отырып, мынадай формула бойынша талданатын су үлгісіндегі және стандарттық ерітіндідегі шыңдардың ауданын салыстыру арқылы, стандарттармен арақатынас әдісімен 2,4-Д сандық анықтауды өткізеді:

$$X = \frac{S_1 VC}{S_2 P}, \qquad (4)$$

мұндағы S_1 – сынамадағы 2,4-Д шыңының ауданы, кв. мм;

S_2 – стандарттық ерітінді шыңының ауданы, кв. мм;

С – стандарттық ерітінді концентрациясы, мкг/см^3;

V – талданатын сынама көлемі, см^3;

Р – бастапқы сынаманың соңғы көлемі, см^3.

10.7 Өлшемдеу сипаттамаларының тұрақтылығын бақылау

Өлшемдеу сипаттамаларының тұрақтылығын бақылауды күн сайын өткізеді. Бақылау құралы ретінде 13.3 бойынша өлшемдеу ерітінділерінің біреуін пайдаланады. 2,4-Д массалық концентрациясының берілетін және өлшенетін мәндерінің арасындағы айырма рұқсат етілетін салыстырмалы айырманың 10%-ынан аспайтын болса, өлшемдеу сипаттамасы тұрақты болып саналады.

Рұқсат етілетін айырмалар артатын жағдайда, себептерін анықтайды және жаңадан дайындалған өлшемдеу ерітінділерін пайдалана отырып, аспапқа қайта өлшемдеу өткізеді.

10.8 Ұстап тұру уақытының тұрақтылығын бақылау

2,4-Д Ұстап тұру уақытының тұрақтылығын бақылауды жұмыстық сынамаларды талдауды кезектестіре отырып, жұмыс күні ішінде 2 реттен 3 ретке дейін талданатын 13.5т. бойынша өлшемдеу ерітінділерінің хроматограммалары бойынша өткізеді.

Мұндайда бастапқыдан ұстап тұру уақыты мәндерінің ауытқу 10%-дан артық болмауға тиіс.

10.9 Судағы 2,4-Д массалық концентрациясының өзгеру нәтижесі ретінде екі дәлқойыр су сынамасында параллель екі өлшеу нәтижелерінің орташа арифметикалық мәнін қабылдайды. Анықтау нәтижесінің қолданылуын оның r (қайталану шегінің мәні) барынша аз немесе тең жағдайына байланысты бағалайды.

10.10 Екі зертханада өлшеу нәтижелерін алған кезде оның R (өндірімділік шегінің мәні) аз немесе тең болу шартын орындаған кезде қанағаттанарлық деп санайды.

10.11 Метрологиялық сипаттама

Әдіс P = 0,95 сенімді ықтималдық кезінде 1-кестеде берілген мәндерден аспайтын метрологиялық сипаттамалары болатын өлшеу нәтижелерінің алынуын қамтамасыз етеді.

1-кесте - Әдістің метрологиялық сипаттамасы

2,4-Д массалық концентрациясын өлшеу ауқымы, мг/дм^3	Салыстырмалы қателік P = 0,95% сенімді ықтималдықпен болатын аралық шекаралары	Қайталанғыштық шегінің салыстырмалы мәні r, % n = 2 кезінде	Өндірімділік шегінің салыстырмалы мәні R, %, n = 2 кезінде
0,7 бастап және 0,002 қоса алғанда	26	28	33

11 Өлшеулер дәлдігін бақылау

Өлшеулер дәлдігін бақылауды (қайталанғыштық және өндірімділік) ГОСТ ИСО 5725-1 және ГОСТ ИСО 5725-2 талаптарына сәйкес өткізеді.

12 Сынақ хаттамасын рәсімдеу

Сынақ нәтижелері ҚР СТ ИСО/ХЭК 17025 талаптарына сәйкес рәсімделетін сынақ хаттамасында тіркеледі.

ӘОЖ 502.5+612.39.7/.8:[547.51:543.544]:006.35 **13.060.01 13.080 65.120 67.040**

Түйінді сөздер: пестицидтер, жұқа қабатты хроматография, фазалық-айналатын жоғары тиімділікті сұйықтықты хроматография, газсұйықтықты хроматография, хроматографиялық бағандар.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ВОДА, ПОЧВА, ФУРАЖ, ПРОДУКТЫ ПИТАНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО И ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Определение 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты) хроматографическими методами

СТ РК 2010-2010

Издание официальное

Комитет технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан (Госстандарт)

Астана

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН республиканским государственным предприятием «Казахстанский институт стандартизации и сертификации» Комитета технического регулирования и метрологии и ТК по стандартизации № 71 в области экологической безопасности «Объекты окружающей среды. Промышленные отходы».

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Председателя Комитета технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан от 08 ноября 2010 г. № 500-од.

3 В настоящем стандарте реализованы положения Закона Республики Казахстан «О техническом регулировании» от 9 ноября 2004 года № 603-II.

4 СРОК ПЕРВОЙ ПРОВЕРКИ 2014 год
ПЕРИОДИЧНОСТЬ ПРОВЕРКИ 5 лет

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в указателе «Нормативные документы по стандартизации», а текст изменений – в ежемесячных информационных указателях «Государственные стандарты». В случае пересмотра (отмены) или замены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована в информационном указателе «Государственные стандарты»

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Комитета технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан

Содержание

1 Область применения 1

2 Нормативные ссылки 1

3 Сущность метода 2

4 Метрологическая характеристика метода 2

5 Требования к выполнению измерений 3

6 Отбор проб 4

7 Аппаратура, материалы и реактивы 4

8 Проведение испытаний методом газожидкостной хроматографии 5

9 Проведение испытаний методом тонкослойной хроматографии 11

10 Проведение испытания обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографией по определению 2,4-Д в воде 12

11 Контроль точности измерений 14

12 Оформление протокола испытаний 14

ГОСУДАРТСВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ВОДА, ПОЧВА, ФУРАЖ, ПРОДУКТЫ ПИТАНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО И ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Определение 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты) хроматографическими методами

Дата введения 2012-01-01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает методы определения 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д-аминная соль) газожидкостной, тонкослойной, обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографией.

Настоящий стандарт распространяется на воду, почву, фураж, продукты питания растительного и животного происхождения.

Технические требования к контролируемому показателю установлены в Техническом регламенте «Требования к безопасности кормов и кормовых добавок», Техническом регламенте «Требования к безопасности питьевой воды для населения», Техническом регламенте «Требования к безопасности мяса и мясной продукции», Технический регламент «Требования к безопасности молока и молочной продукции», «Санитарно-эпидемиологические требования к пищевой продукции».

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные нормативные документы:

Технический регламент «Общие требования к пожарной безопасности» от 16.01.2009 № 14, утвержден Постановлением Правительства Республики Казахстан.

Технический регламент «Требования к безопасности пожарной техники для защиты объектов» от 16.01.2009 № 16, утвержден Постановлением Правительства Республики Казахстан.

Технический регламент «Требования к безопасности кормов и кормовых добавок» от 18 марта 2008г. № 263, утвержден Постановлением Правительства Республики Казахстан.

Технический регламент «Требования к безопасности питьевой воды для населения» от 13.05.2008г. № 456, утвержден Постановлением Правительства Республики Казахстан.

СТ РК ИСО /МЭК 17025-2007 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий.

ГОСТ 12.1.019-79 ССБТ. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия.

ГОСТ 2156-76 Натрий двууглекислый. Технические условия.

ГОСТ 2603-79 Реактивы. Ацетон. Технические условия.

ГОСТ 3118-77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия.

Издание официальное

ГОСТ 3760-79.Реактивы. Аммиак водный. Технические условия.

ГОСТ 4166-76 Реактивы. Натрий сернокислый. Технические условия.

ГОСТ 4201-79 Реактивы. Натрий углекислый кислый. Технические условия.

ГОСТ 4233-77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 6709-72 - Вода дистиллированная. Технические условия.

ГОСТ 6995-77 Реактивы. Метанол-яд. Технические условия.

ГОСТ 9293-74 Азот газообразный и жидкий. Технические условия.

ГОСТ 20015-88 Хлороформ. Технические условия

ГОСТ 20292-74 Приборы мерные лабораторные стеклянные. Бюретки, пипетки. Технические условия.

ГОСТ 24104-2001 Весы лабораторные. Общие технические требования.

ГОСТ 25336-82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 25706-83 Лупы. Типы, основные параметры. Общие технические требования

ГОСТ ИСО 5725-1-2003 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Основные положения и определения.

ГОСТ ИСО 5725-2-2003 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений.

«Санитарно-эпидемиологические требования к пищевой продукции», Приказ МЗ РК № 611 от 6.08.10г.

ПРИМЕЧАНИЕ При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов по ежегодно издаваемому информационному указателю «Нормативные документы по стандартизации» по состоянию на текущий год и соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный документ заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться замененным (измененным) документом. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающий эту ссылку.

3 Сущность метода

3.1 Метод тонкослойной хроматографии

Метод основан на экстракции 2,4-Д из гидролизованной пробы органическим растворителем с последующим определением в виде метилового эфира 2,4-Д с помощью газожидкостной хроматографии или в виде кислоты методом тонкослойной хроматографии. С помощью предлагаемого метода можно определить 2,4-Д, находящуюся в анализируемой пробе как в свободном, так и в связанном состоянии в виде конъюгатов с эндогенными веществами растений. Количественное определение 2,4-Д проводится методом внутреннего стандарта, который добавляется к пробе перед проведением гидролиза. В качестве внутреннего стандарта используется 2,4,5-трихлорфеноксиуксусная кислота (2,4,5-Т).

3.2 Метод обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии

Метод основан на концентрировании 2,4-Д в пробе и последующем определении препарата с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ.

4 Метрологическая характеристика метода

4.1 Метод газожидкостной хроматографии

Нижний предел определения газожидкостной хроматографией составляет: в воде 0,002 мг/дм^3, в почве 0,01 мг/кг, в траве 0,02 мг/кг, в сене 0,1 мг/кг, в зерне 0,02 мг/кг, в

молоке 0,04 мг/кг, в сливочном масле 0,1 мг/кг, в мясе (говядина) 0,08 мг/кг.

4.2 Метод тонкослойной хроматографии

Нижний предел определения методом тонкослойной хроматографии составляет: в виде 2,4-Д - в воде 0,04 мг/дм^3, в молоке 0,4 мг/дм^3, в почве 0,2 мг/кг, в траве 0,06 мг/кг, в сене 0,4 мг/кг, в зерне 0,3 мг/кг, в сливочном масле 0,8 мг/кг, в мясе (говядина) 0,6 мг/кг; в виде метилового эфира 2,4-Д - в воде 0,01 мг/дм^3, в молоке 0,1 мг/дм^3, в почве 0,05 мг/кг, в траве 0,08 мг/кг, в сене 0,1 мг/кг, в зерне 0,08 мг/кг, в сливочном масле 0,2 мг/кг, в мясе (говядина) 0,15 мг/кг. Степень определения методом тонкослойной хроматографии составляет: в воде от 90 % до 95 %, в почве от 70 % до 80%, в траве 60 %, в сене 60 %, в молоке 80 %, в сливочном масле 70 %, в мясе 75 %, в зерне 60 %.

Минимально детектируемое количество метилового эфира 2,4-Д с помощью детектора постоянной скорости рекомбинации 2 нг, линейный динамический диапазон детектирования не менее 70 нг. Минимально открываемое количество 2,4-Д на тонкослойных хроматограммах 1 мкг.

4.3 Метод обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии

Среднее значение определения 2,4-Д в воде методом обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии - 90 %, стандартное отклонение - 8,06 %, относительное стандартное отклонение - 3,61 %, доверительный интервал ± 2,95 %, предел обнаружения в неочищенной и очищенной пробе от 0,7 мг/дм до 0,002 мг/дм^3.

Метод избирателен в присутствии глобальных загрязнителей окружающей среды - производных циклопарафинов (у-ГХЦГ и его изомеры), соединений дифенилметанового ряда (ДДТ и его производные), а также галакона, глифосата и других гербицидов, применяемых на зерновых культурах.

5 Требования к выполнению измерений

5.1 Условия безопасного проведения работ

5.1.1 К практическому выполнению анализов допускаются специалисты, прошедшие инструктаж по технике безопасности при работе в лаборатории (с отметкой в журнале инструктажа) и ознакомившиеся с настоящим стандартом.

5.1.2 Электробезопасность при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019.

5.1.3 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по Техническому регламенту «Общие требования к пожарной безопасности» и иметь средства пожаротушения в соответствии с Техническим регламентом «Требования к безопасности пожарной техники для защиты объектов».

5.2 Требования к квалификации специалистов

Измерения может проводить специалист, владеющий техникой лабораторных работ и изучивший инструкцию по эксплуатации, используемого оборудования.

5.3 Условия выполнения измерений

- температура окружающего воздуха (20 ± 10) °С;
- атмосферное давление (84 - 106,7) кПа;
- относительная влажность (65 ± 15) %.

5.4 Необходимо соблюдать правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, концентрированными кислотами.

6 Отбор проб

Отбор проб и подготовка их к анализу - в соответствии с нормативной документацией на конкретную продукцию.

7 Аппаратура, материалы и реактивы

7.1 Аппаратура и материалы

- газовый хроматограф, оснащенный детектором захвата электронов (ДЭЗ) или детектором постоянной скорости рекомбинации (ДПР);
- хроматограф микроколоночный жидкостный типа «Милихром»;
- спектрофотометрический детектор, обеспечивающий регистрацию сигнала в диапазоне длин волн поглощения от 190 нм до 600 нм;
- весы аналитические специального класса точности с наибольшим пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,001 г, по ГОСТ 24104;
- весы лабораторные высокого класса точности с наибольшим пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,01 г, по ГОСТ 24104;
- гомогенизатор (измельчитель тканей);
- облучатель хроматографический УФС-254 или ртутно-кварцевая лампа ПРК-4;
- ротационный испаритель по действующей нормативной документации;
- Микроколонка стандартная металлическая (50 мм х 2 мм) с сорбентом
- «Силасорб С», 5 мкм, «Силуфол», «Chemapol» (ЧССР), «Сорбфил», «Армсорб»;
- водяная баня;
- электроконтактный термометр от 0 °С до 105^{0}С;
- вакуумный водоструйный насос;
- аппарат для встряхивания;
- линейка металлическая по ГОСТ 25706.;
- колбы двугорлые, круглодонные на 500 см^3 и 250 см^3 по ГОСТ 25336;
- делительная воронка на 150; 500 см^3 по ГОСТ 25336;
- колба Бунзена на 500 см^3;
- колбы конические с пришлифованной пробкой 100 см^3 по ГОСТ 25336;
- колбы круглодонные со шлифом 100 см^3 по ГОСТ 25336;
- колбы плоскодонные на 250 см^3 по ГОСТ 25336;
- пипетки мерные на 1 см^3 по ГОСТ 20292;
- пробирки мерные на 10 см^3 по ГОСТ 1770;
- цилиндры мерные на 25; 100 см^3 по ГОСТ 1770;
- воронка Бюхнера диаметром 15 см^3;
- грушевидные колбы на 100 см^3;
- центрифужные пробирки;
- мерные колбы на 5, 10 и 100 см^3;
- холодильник Либиха;
- камера хроматографическая;
- микропипетки;
- универсальная индикаторная бумага;
- фильтры «синяя лента»;
- медицинский шприц на 1 см^3;
- стеклянные пластинки размером 9 см х 12 см;
- сито капроновое 100 меш (0,152 мм);
- пульверизатор стеклянный;
- секундомер с ценой деления секундной шкалы 0,2 с.

7.2 Реактивы

- вода дистиллированная, ГОСТ 6709;
- метанол, х.ч. по ГОСТ 6995;
- азот газообразный по ГОСТ 9293;
- серебро азотнокислое по ГОСТ 1277, х.ч.;
- ацетон по ГОСТ 2603, х.ч., перегнанный;
- аммиак водный по ГОСТ 3760, ч.д.а., 25 % водный раствор;
- бикарбонат натрия, по ГОСТ 2156, 3%-ный водный раствор;
- гексан х. ч. (перегнанный);
- гептан;
- хлороформ по ГОСТ 20015;
- диметилсульфат, 5 %-ный (в объемных процентах) раствор в абсолютном метиловом спирте;
- диэтиловый эфир (перегнанный);
- кальций сернокислый х. ч., прокаленный при 160 °С в течение 6 ч;
- метиловый спирт абсолютный;
- муравьиная кислота х. ч.;
- натрий хлористый, х.ч. по ГОСТ 4233, насыщенный водный раствор;
- силикагель КСК;
- соляная кислота х. ч., концентрированная по ГОСТ 3118;
- соляная кислота, 6 моль/дм^3 водный раствор;
- соляная кислота, 2 моль/дм^3 водный раствор;
- соляная кислота, водный раствор (1:1);
- стандартный раствор 2,4-Д в метаноле с содержанием 100 мкг/см^3;
- стандартный раствор 2,4,5-Т в метаноле с содержанием 2,5 мкг/ см^3;
- стандартный раствор метиловых эфиров 2,4-Д (10 мкг/ см^3) и 2,4,5-Т (2,5 мкг/ см^3) в метаноле;
- стандартный раствор метилового эфира 2,4-Д в гексане с концентрацией 100 мкг/см^3;
- стандартный раствор 2,4-Д в воде с концентрацией 10 мкг/см^3;
- натрия сульфат безводный, х.ч. по ГОСТ 4166;
- натрия гидрокарбонат, ч.д.а., ГОСТ 4201;
- фосфорно-вольфрамовая кислота х. ч., 40%-ный водный раствор;
- мочевина по действующей нормативной документации;
- метиламин по действующей нормативной документации;
- метилрот по действующей нормативной документации.

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Допускается использовать аппаратуру, мерную посуду, реактивы имеющие аналогичные метрологические характеристики или выше.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Применяемые средства измерений подлежат испытаниям с целью утверждения типа или метрологической аттестации, поверке и внесению в реестр в государственной системы обеспечения единства измерений.

8 Проведение испытаний методом газожидкостной хроматографии

8.1 Подготовка к испытанию

8.1.1 Подготовка эфирного раствора диазометана

Подготовка к определению связана с получением диазометана из нитрозометилмочевины. Для этого во взвешенную литровую круглодонную колбу помещают 200 г 24 %-ного водного раствора метиламина (метиламин используется либо в виде водного раствора, либо в виде хлоргидрата) и добавляют при охлаждении 155 см^3

концентрированной соляной кислоты до кислой реакции (индикатор метилрот). Затем приливают такое количество воды, чтобы масса содержимого колбы достигла 500 г, и прибавляют 300 г мочевины. После этого содержимое колбы осторожно кипятят с обратным холодильником 2 ч 45 мин и энергично 15 мин. Раствор в колбе охлаждают до комнатной температуры, растворяют в нем 110 г 95%-ного азотнокислого натрия и охлаждают до 0 °С. В 3-литровом стакане готовят смесь 600 г льда и 100 г концентрированной серной кислоты, охлаждают содержимое стакана смесью льда и соли. В этот стакан при перемешивании приливают содержимое колбы (холодный раствор метилмочевины и нитрата натрия) с такой скоростью, чтобы температура не поднималась выше 0 °С. Получение нитрозометилмочевины проходит по следующим реакциям:

$$CH_3NH_2 \cdot HC1 + H_2N—CO—NH_2 \rightarrow CH_3—NH—CO—NH_2 + NH_4C1;$$
$$CH_3—NH—CO—NH_2 + HNO_2 \rightarrow CH_3—N(NO)—CO—NH_2 + H_2O.$$

Нитрозометилмочевина всплывает на поверхность в виде мелких кристаллов, которые немедленно отфильтровывают на воронке Бюхнера и хорошо отсасывают под вакуумом. Затем кристаллы на фильтре размешивают до образования пасты с 50 $см^3$ холодной дистиллированной воды, отсасывают и сушат в вакуум-эксикаторе. Выход нитрозометилмочевины от 66 % до 72 % (105 ± 115) г от теоретического. Полученную таким образом нитрозометилмочевину можно хранить в холодильнике длительное время. При температуре выше 20 °С ее не следует хранить более 1 ч. При температуре 30 °С нитрозометилмочевнпа может разложиться с выделением газообразных продуктов.

Получение диазометана из нитрозометилмочевины проходит по следующей реакции:

$$CH_3N(NO)—CO—NH_2 + KOH \rightarrow CH_2N_2 + KCNO + 2H_2O.$$

В круглодонную колбу на 100 $см^3$ помещают 3 $см^3$ 50 %-ного водного раствора едкого кали и 10 $см^3$ диэтилового эфира. Смесь охлаждают до 5 °С, после чего при взбалтывании прибавляют 1 г нитрозометилмочевины, колбу присоединяют к холодильнику, нижний конец которого снабжен алонжем с отводом, проходящим через резиновую пробку и погруженным в слон эфира на дне приемника. Приемник охлаждают смесью льда и соли.

Реакционную колбу помещают на водяную баню, нагретую до 50 °С. Эфирный раствор в колбе доводят до кипения. Время от времени содержимое колбы перемешивают. Отгонку прекращают после получения первых капель бесцветного дистиллята.

8.1.2 Экстракция и очистка экстракта из воды

Пробу воды от 250 $см^3$ до 1000 $см^3$ помещают в делительную воронку, подкисляют соляной кислотой до pH 3, прибавляют 1 $см^3$ стандартного раствора 2,4,5-Т с концентрацией 2,5 мкг/$см^3$ и экстрагируют тремя порциями диэтилового эфира (100, 50 и 50 $см^3$). Объединенный эфирный экстракт переносят в делительную воронку и экстрагируют 3 %-ным водным раствором бикарбоната натрия (или 5 %-ным водным раствором гидроортофосфата натрия) (трижды по 50 $см^3$). Объединенный водный раствор промывают двумя порциями эфира (или гексана) по 50 $см^3$, отбрасывают этот эфир (гексан), а водный раствор подкисляют соляной кислотой до pH 3 и трижды экстрагируют диэтиловым эфиром по 50 $см^3$.

Объединенный эфирный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия (5 - 10) г от 15 мин до 30 мин при периодическом встряхивании и удаляют растворитель на ротационном испарителе в грушевидной колбе на 100 $см^3$, причем последние порции растворителя удаляют током сухого воздуха. Сухой остаток в колбе метилируют,

используя диметилсульфат или диазометан.

8.1.3 Метилирование диметилсульфатом

К сухому остатку в колбе приливают 3 $см^3$ 5 %-ного раствора диметилсульфата в абсолютном метиловом спирте, тщательно ополаскивают стенки колбы, прибавляют 1 г безводного сульфата натрия, присоединяют обратный холодильник и помещают на водяную баню с температурой 55 °С на 10 мин. После окончания реакции метилирования содержимое колбы охлаждают под водопроводной водой, приливают 3 $см^3$ насыщенного раствора хлористого натрия, 1 $см^3$ гексана, энергично встряхивают в течение 2 мин и после расслоения фаз вводят в хроматограф 3 мкл гексанового слоя.

8.1.4 Метилирование диазометаном

К сухому остатку в колбе приливают эфирный раствор диазометана до появления желтоватой окраски (при этом встряхивают содержимое колбы) и оставляют на 10 мин. Затем диэтиловый эфир удаляют током сухого воздуха, а остаток растворяют в от 0,5 $см^3$ до 1,0 $см^3$ гексана и вводят в хроматограф от 1 мкл до 5 мкл раствора.

8.2 Хроматографирование

8.2.1 Условия хроматографирования на примере газового хроматографа:

- стеклянная спиральная колонка (длина 2 м, внутренний диаметр 3 мм), заполненная хроматоном-N (0,16 - 0,20) мм, силанизированным DMCS, с 5 % SE-30.
- скорость газа-носителя (азот особой чистоты) через колонку 50 $см^3$/мин, скорость продувочного газа (азот особой чистоты) через детектор 150 $см^3$/мин.
- температура термостата колонок 170 °С, испарителя 220 °С, термостата детектора 220 °С.
- абсолютное время метилового эфира 2,4-Д в данных условиях удерживания 4 мин.

8.2.2 Хроматографирование одной пробы проводят дважды. Измеряют на хроматограммах высоты пиков или площади метиловых эфиров 2,4-Д и 2,4,5-Т, вычисляют средние значения отношений этих высот (площадей) из параллельных определений и по уравнению градуировочного графика находят содержание 2,4-Д в воде.

Возможна обработка хроматограмм автоматически под управлением ПК с программным обеспечением на используемый хроматограф. С помощью компьютерной системы обработки хроматографической информации проводят количественный обсчет хроматограмм. На основании обработанных данных определяют градуировочную зависимость высот (площадей) пиков градуировочных растворов от концентрации пестицида в этих растворах.

8.2.3 Для построения градуировочного графика к пробам воды приливают 5, 10, 15 и 20 мкг 2,4-Д (в виде раствора в метиловом спирте), 1 $см^3$ стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/$см^3$ и далее поступают по п. 8.2.2.

8.2.4 Измеряют на хроматограммах высоты (площадей) пиков метиловых эфиров 2,4-Д и 2,4,5-Т, вычисляют среднее значение отношений этих высот (площадей) из параллельных определений, строят график зависимости отношения высот (площадей) хроматографических пиков метиловых эфиров 2,4-Д и 2,4,5-Т от содержания 2,4-Д в воде (мг/$дм^3$). Полученный градуировочный график обрабатывают по методу наименьших квадратов и получают уравнение градуировочной прямой в виде формулы:

$$V = A + BX, \quad (1)$$

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

X - содержание 2,4-Д в воде, мг/$дм^3$;

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

ПРИМЕЧАНИЕ Чтобы повысить надежность идентификации 2,4-Д, для анализа проб целесообразно использовать колонки с неподвижными фазами различной полярности (например, SE-30 и XE-60, SE-30 и OV-17). Условия хроматографирования при использовании фенилметилсиликона OV-17 следующие: стеклянная спиральная колонка (длина 2 м, внутренний диаметр 3 мм), заполненная хроматоном-N (от 0,16 мм до 0,20 мм), силанизированным DMCS, с 5% OV-17. Скорость тока газа-носителя (азот особой чистоты) через колонку 50 $см^3$/мин, скорость тока продувочного газа (азот особой чистоты) через детектор 150 $см^3$/мин. Температура испарителя 220 °С, термостата колонок 200 °С, термостата детектора 220 °С. Относительное время удерживания метилового эфира 2,4-Д в этих условиях 0,63. Абсолютное время удерживания 7 мин.

8.3 Экстракция и очистка

8.3.1 Экстракция и очистка экстракта из травы, сена, зерна

Навеску травы 50 г гомогенизируют в 150 $см^3$ дистиллированной воды, гомогенат количественно переносят в круглодонную колбу на 1 $дм^3$ и приливают 38 $см^3$ концентрированной соляной кислоты. Навеску измельченного зерна (50 г) соломы или сена (по 10 г) помещают в круглодонную колбу на 1 $дм^3$ и приливают 150 $см^3$ 2 моль/$дм^3$ раствора соляной кислоты. К подготовленным образцам добавляют по 1 $см^3$ стандартного раствора 2,4,5-Т с концентрацией 2,5 мкг/$см^3$, перемешивают, к колбе присоединяют обратный холодильник и помещают на кипящую водяную баню на 1 ч.

После охлаждения гидролизат фильтруют через бумажный фильтр на воронке Бюхнера, промывают осадок на фильтре без перемешивания тремя порциями по 30 $см^3$ 2 моль/$дм^3$ водного раствора соляной кислоты. К фильтрату добавляют 40 %-ный водный раствор фосфорно-вольфрамовой кислоты до 2 %-ной концентрации и фильтруют через бумажный фильтр на воронке Бюхнера. Осадок на фильтре трижды промывают 2 моль/$дм^3$ водным раствором соляной кислоты порциями по 30 $см^3$. Объединенный фильтрат переносят в делительную воронку и экстрагируют тремя порциями диэтилового эфира (общий объем эфира равен объему фильтрата). Эфирный экстракт промывают небольшими количествами от 15 $см^3$ до 20 $см^3$ дистиллированной воды до нейтральной реакции промывных вод и затем экстрагируют тремя порциями (по 50 $см^3$) 5%-ного водного раствора гидроортофосфата натрия (или раствора бикарбоната натрия).

Водные экстракты объединяют, подкисляют концентрированной соляной кислотой до pH 1 и экстрагируют тремя порциями диэтилового эфира (75 + 50 + 50) $см^3$. Объединенный эфирный экстракт после промывания небольшими от 15 $см^3$ до 20 $см^3$ порциями дистиллированной воды до нейтральной реакции промывных вод сушат над безводным сульфатом натрия от 5 г до 10 г от 15 мин до 30 мин при периодическом встряхивании и растворитель удаляют на ротационном испарителе в грушевидной колбе на 100 $см^3$, последние порции растворителя удаляют током сухого воздуха.

Сухой остаток растворяют в 0,5 $см^3$ ацетона, и раствор наносят в виде полосы на стеклянную пластинку (5 см × 20 см) с тонким слоем (0,4 мм) силикагеля КСК и дважды хроматографируют в системе растворителей гексан - диэтиловый эфир - муравьиная кислота (50:50:2). Затем снимают силикагель с пластинки площадью 1 $см^2$ с Rf 2,4-Д равной 0,5 - 0,6 и количественно переносят в коническую колбу с притертой пробкой на 50 $см^3$. Смачивают силикагель в колбе 1 $см^3$ дистиллированной воды, приливают от 4 $см^3$ до 5 $см^3$ ацетона, встряхивают от 1 мин до 2 мин и фильтруют через бумажный фильтр. Обработку силикагеля ацетоном проводят еще трижды. Объединенный ацетоновый экстракт сушат над безводным сульфатом натрия, удаляют растворитель на ротационном испарителе, затем проводят метилирование образца и газохроматографическое определение 2,4-Д по 8.2.2.

Для построения калибровочного графика в пробы травы, зерна, сена или соломы вносят 10; 15; 20 и 25 мкг 2,4-Д в виде раствора в метиловом спирте, 1 $см^3$ стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/$см^3$ и далее поступают по 8.2.2, и 8.2.4.

8.3.2 Экстракция и очистка экстракта из сухой почвы

8.3.2.1 Пробу сухой почвы 100 г, растертой и просеянной через сито с отверстиями размером 1 мм, помещают в коническую колбу на 500 $см^3$ с пришлифованной пробкой, приливают от 25 $см^3$ до 35 $см^3$ дистиллированной воды, 5 $см^3$ концентрированной соляной кислоты, 1 $см^3$ стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/$см^3$, тщательно перемешивают, прибавляют 150 $см^3$ ацетона и помещают на аппарат для встряхивания на 1 ч.

8.3.2.2 Затем растворитель отфильтровывают под вакуумом на воронке Бюхнера через бумажный фильтр, почву на фильтре трижды промывают ацетоном по 20 $см^3$. После этого ацетон удаляют на ротационном испарителе, остаток из колбы переносят в 100 $см^3$ дистиллированной воды в делительную воронку, экстрагируют тремя порциями диэтилового эфира (75; 50 и 50 $см^3$) и далее поступают по 8.1.2, 8.2.2.

Для построения градуировочного графика в пробы почвы вносят 10; 15; 20 и 25 мкг 2,4-Д в виде раствора в метиловом спирте, 1 $см^3$ стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/ $см^3$ и далее поступают по 8.2.2, 8.2.4.

8.3.3 Экстракция и очистка экстракта из влажной почвы

Пробу влажной почвы от 100 г до 200 г помещают в коническую колбу на 500 $см^3$ с притертой пробкой, приливают от 5 $см^3$ от 10 $см^3$ концентрированной соляной кислоты, 1 $см^3$ стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/$см^3$, от 150 $см^3$ до 300 $см^3$ ацетона, тщательно перемешивают, помещают на аппарат для встряхивания на 1 ч и далее поступают по 8.3.2.2; далее по 8.1.2; далее по 8.2.2.

8.3.5 Экстракция и очистка экстракта из молока

В пробу молока от 25 $см^3$ до 50 $см^3$ вносят 1 $см^3$ стандартного раствора 2,4,5-Т с концентрацией 2,5 мкг/$см^3$, прибавляют концентрированную соляную кислоту от 4,4 $см^3$ до 8,8 $см^3$, помещают в круглодонную колбу на 250 $см^3$, присоединяют обратный холодильник и помещают на кипящую водяную баню на 1 ч для гидролиза. После охлаждения в колбу приливают 15 $см^3$ 40 %-ного водного раствора фосфорно-вольфрамовой кислоты, тщательно встряхивают, затем добавляют 100 $см^3$ дистиллированной воды и содержимое фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера. Остаток на фильтре промывают 2 моль/$дм^3$ водным раствором соляной кислоты, фильтрат экстрагируют диэтиловым эфиром трижды по 50 $см^3$. Объединенный эфирный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия от 5 г до 10 г от 15 мин до 30 мин при периодическом встряхивании и удаляют растворитель на ротационном испарителе в грушевидной колбе на 100 $см^3$, причем последние порции растворителя удаляют током сухого воздуха. Остаток растворяют в от 0,5 $см^3$ до 1,0 $см^3$ гексана и вводят в хроматограф от 1 мкл до 5 мкл раствора по 8.2.2.

Для построения градуировочного графика в пробе молока 25 $см^3$ до 50 $см^3$ вносят 2, 5, 10 и 20 мкг 2,4-Д (в виде раствора в метиловом спирте), 1 $см^3$ стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/ $см^3$, концентрированную соляную кислоту от 4,4 $см^3$ до 8,8 $см^3$ и далее поступают по 8.2.2; 8.2.4.

8.3.6 Экстракция и очистка экстракта из сливочного масла

Пробу масла 25 г растворяют в 100 $см^3$ гексана, вносят 1 $см^3$ стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/$см^3$, помещают в двугорлую круглодонную колбу на 500 $см^3$, приливают 100 $см^3$ 6 моль/$дм^3$ соляной кислоты, присоединяют обратный холодильник и помещают на кипящую водяную баню на 1 ч, перемешивая содержимое колбы с помощью электромешалки. После охлаждения содержимого колбы, слои разделяют в делительной воронке и водный слой экстрагируют диэтиловым эфиром 2 раза

по 50 $см^3$. Гексановый слой экстрагируют 100 $см^3$ 6 моль/$дм^3$ соляной кислоты. Затем водный слой экстрагируют диэтиловым эфиром дважды по 50 $см^3$ и данный экстракт объединяют с первоначальным эфирным экстрактом. После этого из объединенного эфирного экстракта 2,4-Д извлекают 0,4 моль/$дм^3$ йодным раствором бикарбоната натрия и далее поступают так, как описано при определении гербицида в молоке.

Для построения градуировочного графика в пробы масла 25 г, растворенные в 100 $см^3$ гексана, вносят 1 $см^3$ стандартного раствора 2,4,5-Т с концентрацией 2,5 мкг/ $см^3$, 10, 15, 20 и 25 мкг 2,4-Д в виде раствора в метиловом спирте. Далее поступают по 8.2.2; 8.2.4.

8.3.7 Экстракция и очистка экстракта из мяса.

Пробу мяса от 25 г до 50 г измельчают с помощью мясорубки, помещают в двугорлую круглодонную колбу на 500 $см^3$, вносят 1 $см^3$ стандартного раствора 2,4,5-Т с концентрацией 2,5 мкг/$см^3$, приливают от 100 $см^3$ до 200 $см^3$ 6 моль/$дм^3$ соляной кислоты, присоединяют обратный холодильник и помещают на водяную баню (с температурой 100 °С) на 1 ч, перемешивая содержимое колбы с помощью электромешалки. После охлаждения в колбу приливают 15 $см^3$ 40 %-ного водного раствора фосфорно-вольфрамовой кислоты, 100 $см^3$ дистиллированной воды и содержимое колбы фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера. Остаток на фильтре промывают 2 моль/$дм^3$ водным раствором соляной кислоты, фильтрат экстрагируют диэтиловым эфиром трижды по 50 $см^3$. Объединенный эфирный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия от 5 г до 10 г от 15 мин до 30 мин при периодическом встряхивании и удаляют растворитель на ротационном испарителе в грушевидной колбе на 100 $см^3$, причем последние порции растворителя удаляют током сухого воздуха. Остаток растворяют в от 0,5 $см^3$ до 1,0 $см^3$ гексана и вводят в хроматограф от 1 мкл до 5 мкл раствора по 8.2.2.

Для построения градуировочного графика в пробы мяса вносят 1 $см^3$ стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/$см^3$, 10, 15, 20 и 25 мкг 2,4-Д в виде раствора в метиловом спирте и далее поступают по 8.2.2; 8.2.4.

8.4 Обработка результатов

Содержания 2,4-Д в пробах (X, мг/$дм^3$ или мг/кг) определяют по формуле:

$$X = \frac{V - A}{B}, \qquad (2)$$

где V - отношение высот (площадей) хроматографических пиков метиловых эфиров 2,4-Д и 2,4,5-Т;

A и B - коэффициенты, которые получают при обработке градуировочных графиков по методу наименьших квадратов.

9 Проведение испытаний методом тонкослойной хроматографии

9.1 Подготовка проявляющего реактива

В мерную колбу на 100 $см^3$ помещают 0,5 г азотнокислого серебра, 5 $см^3$ дистиллированной воды, 7 $см^3$ аммиака (25 %-ный водный раствор) и доводят до метки ацетоном.

9.2 Экстракция и очистка экстрактов

При количественном определении содержания 2,4-Д методом тонкослойной хроматографии подготовку образца и очистку экстракта проводят таким же образом как при анализе гербицида газохроматографическим методом, за исключением того, что 2,4,5-Т в пробы не вносят.

Полученный после очистки объединенный эфирный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия и упаривают растворитель на ротационном испарителе в грушевидной колбе на 100 $см^3$ до небольшого объема (1 - 2) $см^3$.

9.3 Хроматографирование

Упаренный экстракт с помощью капилляра или медицинского шприца на 1 $см^3$ количественно наносят на хроматографическую пластинку (9 см ×12 см) с тонким слоем силикагеля КСК, закрепленного гипсом. Затем на хроматографическую пластинку наносят 2,5 мкг и 10 мкг 2,4-Д в виде раствора ацетона и проводят хроматографирование в системе растворителей эфир (или гексан) - диэтиловый эфир - муравьиная кислота (50:50:2). После окончания процесса хроматографирования пластинку извлекают из хроматографической камеры и сушат на воздухе в вытяжном шкафу. Для обнаружения зоны локализации 2,4-Д пластинку обрабатывают раствором азотнокислого серебра в смеси с дистиллированной водой, аммиаком и ацетоном, сушат и облучают ультрафиолетовым светом в течение от 10 мин до 15 мин.

Если в пробе есть 2,4-Д, то на пластинке появляется серо-черное пятно на белом, фоне с величиной Rf 0,5. Количественное определение 2,4-Д проводят путем визуального сравнения размера и интенсивности окраски пятен стандарта с пятном пробы. Минимально детектируемое количество 2,4-Д на хроматографической пластинке 1 мкг.

Перед проведением серийных анализов необходимо определить открываемость метода, т. е. процент возврата 2,4-Д из контрольных проб, к которым предварительно были добавлены различные количества гербицида.

Для повышения надежности идентификации 2,4-Д, особенно при анализе проб с неизвестными обстоятельствами загрязнения, целесообразно после проведения газохроматографического определения содержания гербицида оставшуюся часть пробы анализировать с помощью тонкослойной хроматографии. Для этого гексановый экстракт наносят на хроматографическую пластинку (9 см ×12 см) с тонким слоем силикагеля КСК, рядом наносят от 2 мкг до 10 мкг метилового раствора 2,4-Д в виде раствора в гексане и хроматографируют в системе растворителей гептан - ацетон (9:3). Далее поступают так, как это описано выше. Величина Rf метилового эфира 2,4-Д 0,46 - 0,47.

Сочетание величины времени удерживания и величины Rf метилового эфира 2,4-Д в сравнении с этими же показателями, полученными для стандартного соединения, позволяет более надежно проводить определение остаточных количеств 2,4-Д в анализируемых образцах.

9.4 Обработка результатов при тонкослойной хроматографии

Для определения содержания 2,4-Д в пробе (X, $мг/дм^3$ или мг/кг) методом тонкослойной хроматографии применяют следующую формулу:

$$X = \frac{A}{P}, \quad (3)$$

где А - количество 2,4-Д в пробе, найденное сравнением со стандартом, мкг;

Р - объем или масса пробы, $см^3$ или г.

Для определения содержания в пробе натриевой, диметилдиэтил- или триэтаноламинных солей 2,4-Д полученный результат необходимо соответственно умножить на 1,1; 1,46 и 1,67.

10 Проведение испытания обращено-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографией по определению 2,4-Д в воде

10.1 Приготовление элюента

Элюирующая смесь вода - метанол в объемном соотношении 7:3 готовится заранее, перед проведением хроматографического анализа. Цилиндром вместимостью 100 $см^3$ отмеряют 70 $см^3$ дистиллированной воды, которую выливают в плоскодонную колбу с пришлифованной пробкой вместимостью 100 $см^3$; туда же приливают 30 $см^3$ метанола, колбу закрывают пробкой, содержимое перемешивают при легком взбалтывании и дают смеси отстояться в течение от 30 мин до 40 мин., после чего фильтруют в сосуд для элюента. Элюент отстаивают еще некоторое время (до прекращения образования пузырьков воздуха на стенках сосуда) и приступают к подготовке хроматографической системы прибора к анализу.

10.2 Подготовка хроматографической системы к проведению определения 2,4-Д. Подготовку прибора к хроматографическому анализу начинают с промывки насоса свежеприготовленным элюентом, после чего насос заполняют элюирующей смесью вода - метанол (7:3) и приступают к промывке хроматографической системы и заполнению кюветы сравнения элюентом. Подготовка хроматографа продолжается до установления равномерного нулевого выходного сигнала детектора и снижения шумов до минимума.

10.3 Экстракция препарата из анализируемой пробы

Чистую пробу воды (прозрачная и бесцветная) фильтруют через складчатый фильтр и проводят хроматографический анализ неочищенной пробы, вводя в колонку от 5 мкл до 40 мкл (вводимый объем берется по усмотрению оператора, но не более 40 мкл).

Если проба воды грязная (мутная и окрашена или содержит сопутствующие примеси природных органических соединений, других пестицидов, влияющих на проведение анализа), поступают следующим образом: 100 $см^3$ отфильтрованной пробы помещают в плоскодонную коническую колбу вместимостью 250 $см^3$, туда же добавляют 4 г гидрокарбоната натрия, взвешенного на технических весах, и, при перемешивании раствора, его растворяют в пробе, после чего содержимое колбы переносят в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$. Для удаления из пробы влияющих на анализ примесей проводится их переэкстракция сначала в хлороформ (2 раза по 25 $см^3$), а затем в н-гексан (2 раза по 25 $см^3$) при взбалтывании содержимого воронки в течение 1 мин. Растворители, содержащие сопутствующие примеси пробы, отбрасывают, а водный раствор сливают в колбу вместимостью 250 $см^3$ и постепенно приливают туда 1 $см^3$ хлористоводородной кислоты, раствор перемешивают при легком взбалтывании. После прекращения выделения углекислого газа раствор переносят в делительную воронку и проводят переэкстракцию 2,4-Д в диэтиловый эфир (2 раза по 20 $см^3$) в течение 1 мин. Водный раствор отбрасывают, а объединенный эфирный экстракт отмывают дистиллированной водой (до нейтрального pH), фильтруют через прокаленный сульфат натрия в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 100 $см^3$, упаривают на ротационном испарителе от 30 °С до 35 °С до небольшого объема, переносят в мерную пробирку и

упаривают в токе азота особой чистоты досуха. Сухой остаток пробы растворяют в 0,2 $см^3$ дистиллированной воды и проводят хроматографический анализ.

10.4 Условия хроматографирования:

Подготовку хроматографа к работе осуществляют в соответствии с руководством по эксплуатации.

Количественное определение 2,4-Д проводят при следующих условиях хроматографирования: неподвижная фаза – «Силасорб С», 5 мкм; подвижная фаза - вода с метанолом в объемном соотношении 7:3.

Рекомендуемые условия хроматоргафирования:

- скорость элюирующего потока - 200 мкл/мин.;
- поддиапазон чувствительности измерений - 0,2 А;
- время измерения выходного сигнала - 0,6 с;
- длина волны поглощения светового потока - 280 нм;
- объем удерживания - 235 мкл.

ПРИМЕЧАНИЕ Допускается изменять условия хроматографирования при обеспечении выполнения анализа с метрологическими характеристиками, установленными в настоящем стандарте.

10.5 Хроматографирование

После окончания подготовки прибора к анализу проводится хроматографирование градуировочного раствора 2,4-Д (10 $мкг/см^3$) в объеме от 5 мкл до 40 мкл (5, 10, 15, 20, 30, 40 мкл), а затем пробы воды в объеме, необходимом для обнаружения препарата (но не более 40 мкл), как в несконцентрированной, так и в сконцентрированной (при необходимости) пробе. Если содержание в пробе находится за пределом верхней границы обнаружения, часть ее разбавляют в определенном объеме дистиллированной воды и анализ повторяют при тех же условиях хроматографирования.

10.6 Обработка результатов анализа

Используя программное обеспечение к прибору или компьютерные программы, предназначенные для обработки градуировочных характеристик проводят количественное определение 2,4-Д проводят методом соотношения со стандартами, путем сравнения площадей пиков в анализируемом образце воды и стандартном растворе по формуле:

$$X = \frac{S_1 VC}{S_2 P}, \qquad (4)$$

где S_1 - площадь пика 2,4-Д в пробе, кв. мм;

S_2 - площадь пика стандартного раствора, кв. мм;

C - концентрация стандартного раствора, $мкг/см^3$;

V - объем анализируемой пробы, $см^3$;

P - конечный объем исходной пробы, $см^3$.

10.7 Контроль стабильности градуировочной характеристики

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят ежедневно. В качестве средства контроля используют один из градуировочных растворов по 13.3. Градуировочную характеристику считают стабильной, если расхождения между заданным и измеренным значениями массовой концентрации 2,4-Д не превышает допускаемого относительного расхождения 10 %.

В случае превышения допускаемых расхождений выясняют причины и проводят повторную градуировку прибора, используя свежеприготовленные градуировочные растворы.

10.8 Контроль стабильности времени удерживания

Контроль стабильности времени удерживания 2,4-Д проводят по хроматограммам градуировочного раствора по п. 13.5, который анализируют от 2 раз до 3 раз в течение рабочего дня, чередуя с анализом рабочих проб. При этом отклонение значений времени удерживания от первоначального должно быть не более 10 %.

10.9 За результат измерений массовой концентрации 2,4-Д в воде принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений в двух аликвотных пробах воды. Приемлемость результата определения оценивают исходя из условия, что он менее или равен r (значение предела повторяемости).

10.10 При получении результатов измерений в двух лабораториях результат измерений считают удовлетворительным при выполнении условия, что он менее или равен R (значение предела воспроизводимости).

10.11 Метрологическая характеристика

Метод обеспечивает получение результатов измерения с метрологическими характеристиками, не превышающими значений, приведённых в Таблице 1 при доверительной вероятности P = 0,95.

Таблица 1 - Метрологическая характеристика метода

Диапазон измерений массовой концентрации 2,4-Д, мг/дм^3	Границы интервала, в котором относительная погрешность находится с доверительной вероятностью P = 0,95, %	Относительное значение предела повторяемости r, % при n = 2	Относительное значение предела воспроизводимости R, %, при n = 2
От 0,7 и 0,002 включ	26	28	33

11 Контроль точности измерений

Контроль точности измерений (повторяемость и воспроизводимость) производят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-1 и ГОСТ ИСО 5725-2.

12 Оформление протокола испытаний

Результаты испытаний регистрируются в протоколе испытаний, который оформляют в соответствии требованиями СТ РК ИСО/МЭК 17025.

УДК 502.5+612.39.7/.8:[547.51:543.544]:006.35 **13.060.01 13.080 65.120 67.040**

Ключевые слова: пестициды, тонкослойная хроматография, обращено-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография, газожидкостная хроматография, хроматографические колонки.

Для заметок

Басуға _____ ж. қол қойылды Пішімі 60х84 1/16
Қағазы офсеттік. Қаріп түрі «KZ Times New Roman»,
«Times New Roman»
Шартты баспа табағы 1,86. Таралымы ____ дана. Тапсырыс ____

«Қазақстан стандарттау және сертификаттау институты»
республикалық мемлекеттік кәсіпорны
010000, Астана қаласы, Орынбор көшесі, 11 үй,
«Эталон орталығы» ғимараты
Тел.: 8 (7172) 79 33 24

gost.e-ecolog.ru