ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ, БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОРНЯКАМИ ПРИ МОСКОВСКОМ СОВЕТЕ

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

Часть VIII

Москва - 1977 г.

gost.e-ecolog.ru

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

Утверждено
Министерством здравоохранения
СССР
1976 г.

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

Часть УIII

Данные методики апробированы и рекомендованы в качестве официальных группой экспертов при Госкомиссии по химическим средствам борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками при МСХ СССР

Москва - 1977 г.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ γ-/2,4-ДИХЛОРФЕНОКСИ /-МАСЛЯНОЙ КИСЛОТЫ / 2,4-ДМ / В ВОДЕ, РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ И ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ

Краткая характеристика препарата



$C_{10}H_{10}O_3Cl_2$ Мол.вес 261,56

Белое кристаллическое вещество, т.пл. 117 - 119°С. Растворимость в воде при 25°С 46 мг/л, в ацетоне 10%. Растворима в бензоле, этаноле и эфире. Соли щелочных металлов и аминные соли растворимы в воде, но в жесткой воде выпадают в осадок в виде кальциевых и магниевых солей. В растениях и почве 2,4 - ДМ образовывает 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту / 2,4 - Д /.

Принцип метода*

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

Чувствительность определения в воде 0,005 мг/л / газо-жидкостная хроматография /, 5 мкг в пробе / тонкослойная хроматография /; в растительном материале 0,01 мкг / газо-жидкостная хроматография /, 5 мкг в пробе / тонкослойная хроматография /; в сливочном масле 0,03 мг/кг / газо-жидкостная хроматография /, 7 мкг в пробе / тонкослойная хроматография /. Минимально детектируемое количество метилового эфира 2,4-ДМ 3 нг, линейный динамический диапазон до 70 нг метилового эфира 2,4-ДМ.

---

* В.Д.Чмиль, М.А.Клисенко, ВНИИГИНТОКС, утвержден 20 декабря, № 1536-76.

Реактивы и растворы

Безводный сульфат натрия, х.ч.
Н-гексан, х.ч. / перегнанный /
Диэтиловый спирт, х.ч.
Бикарбонат натрия, х.ч., 5%-ный водный раствор
Диметилсульфат, х.ч., 5%-ный / %%-объемные / раствор в абсолютном метиловом спирте
Метиловый спирт, абсолютный
Хлористый натрий, х.ч., насыщенный водный раствор
Силиконовый эластомер S E-30
Серная кислота, 10%-ный водный раствор
Соляная кислота, концентрированная, х.ч.
Смесь растворителей I:I ч. 10%-ного водного раствора серной кислоты + 1,5 ч. 95%-ного этилового спирта + 2,5 ч. петролейного эфира + 7,5 ч. диэтилового эфира
Петролейный эфир, т.кип. 40-70°С
Н-гептан, х.ч.
Ацетон, х.ч.
Хроматон N , 0,16 - 0,20 мм, промытый кислотой и силанизированный ДМХС
Кальций сернокислый, х.ч., прокаленный при 160°С в течение 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 мкг/мл
Стандартный раствор 2,4-ДМ в метаноле с содержанием 25 мкг/мл, в диэтиловом эфире с содержанием 50 мкг/мл.
фосфорно-вольфрамовая / фосфорно-молибденовая / кислота, х.ч., 40%-ный водный раствор

Приборы и посуда

Газовый хроматограф с электронно-захватным детектором

/ ЦВЕТ-5, ЦВЕТ-106, СС-1С-фирмы Шимадзу и др. /
Делительные воронки на 500, 1000 и 1500 мл
Стеклянная колонка длиной 20 см и с внутренним диаметром 3 см
Колба Бунзена на 500 мл
Воронка Бюхнера, диаметр 15 см
Грушевидные колбы на 100 мл
Аппарат для встряхивания
Ротационный испаритель ИР-1
Колбы конические с притертой пробкой на 250 мл
Водяная баня
Контактный термометр на 100°С
Мерные колбы на 10 и 100 мл
Вакуумный водоструйный насос
Холодильник Либиха
Камера хроматографическая
Микропипетки
Медицинский шприц на 1 мл
Стеклянные пластинки 9х12 мм
Сито капроновое, 100 меш
Пульверизатор стеклянный

Ход анализа

Газо-жидкостная хроматография.

Вода. Пробу воды / 250 - 1000 мл / помещают в делительную воронку, подкисляют соляной кислотой до pH ~ 3 / индикаторная бумага /, прибавляют 1 мл стандартного раствора 2,4,5 -Т / внутренний стандарт / и экстрагируют тремя порциями диэтилового эфира / 100, 50 и 50 мл /.

Объединенный экстракт переносят в делительную воронку, прибавляют 75 мл 3%-ного водного раствора бикарбоната натрия и экстрагируют 3 минуты. После расслоения фаз собирают нижний водный слой. Повторяют экстракцию еще двумя порциями раствора бикарбоната. Объединенный экстракт промывают двумя порциями по 50 мл петролейного эфира, отбрасывая этот эфир. Бикарбонатный раствор подкисляют 10%-ным водным раствором серной кислоты до pH ~ 3 и трижды экстрагируют диэтиловым эфиром по 50 мл. Объединенный эфирный экстракт сушат, процус-

кая через стеклянную колонку, заполненную безводным сульфатом натрия. 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 1 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 окончания реакции метилирования колбу с содержимым охлаждают под водопроводной водой, прибавляют 3 мл насыщенного водного раствора хлористого натрия, 1 мл н-гексана, энергично встряхивают и после расслоения фаз вводят в хроматограф 3 мкл гексанового слоя.

Условия хроматографирования: стеклянная спиральная колонка / длина 2 м, внутренний диаметр 3 мм /, заполненная Хроматоном N 0,16 - 0,20 мм, промытым кислотой и силанизированным ДМХС с 5% SE-30; скорость газа-носителя / азот особой чистоты / через колонку - 50 мл/мин, скорость продувочного газа через детектор 150 мл/мин / хроматограф ЦВЕТ-106/, температура термостата колонок 190°С, температура термостата детектора постоянной скорости рекомбинации 220°С, температура испарителя 220°С, шкала электрометра $20 \cdot 10^{-12}$а, скорость диаграммной ленты потенциометра 240 мм/час. Хроматографирование одной пробы проводят дважды. Порядок выхода из колонки хроматографируемых веществ: н-гексан / растворитель /, метиловый эфир 2,4,5-Т, метиловый эфир 2,4-ДМ. Абсолютное время удерживания в этих условиях метилового эфира 2,4,5-Т - 5 мин. 60 сек, метилового эфира 2,4-ДМ - 7 мин. 25 сек. Относительное время удерживания метилового эфира 2,4-ДМ - 1,18. Измеряют на хроматограммах высоты пиков метиловых эфиров 2,4-Д1 и 2,4,5-Т, вычисляют среднее значение отношения этих высот и по уравнению калибровочного графика находят содержание 2,4-ДМ в воде.

Для построения калибровочного графика к пробам воды прибавляют 1 мл стандартного раствора 2,4,5-Т, 5, 10, 15, 20 мкг

2,4-ДМ в виде раствора в метиловом спирте и далее поступают так, как описано выше. Для построения калибровочного графика используют водопроводную воду. Измеряют на хроматограммах высоты пиков метиловых эфиров 2,4-ДМ 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-ДМ и 2,4,5-Т от концентрации 2,4-ДМ в воде / мг/л/. Калибровочный график обрабатывают по методу наименьших квадратов и получают уравнение калибровочной прямой в виде

$$У = А + ВХ,$$

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

Х - концентрация 2,4-ДМ в воде, мг/л

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

Растительный материал. В измельченную пробу / 50 г / вносят I мкл стандартного раствора 2,4,5-Т и экстрагируют тремя порциями по 50 мл смеси растворителей I в конической колбе с притертой пробкой на аппарате для встряхивания. Продолжительность каждой экстракции - I5 минут. Пробы с низким содержанием влаги увлажняют перед экстракцией дистиллированной водой / I5 - 25 мл /.

После окончания последней экстракции пробу отфильтровывают на воронке Бюхнера под вакуумом, а остаток на фильтре промывают двумя порциями по 50 мл смеси растворителей II. Объединенный экстракт переносят в делительную воронку, прибавляют I5 мл 40%-ного водного раствора фосфорно-молибденовой / фосфорно-вольфрамовой / кислоты, I5 мл концентрированной соляной кислоты и содержимое периодически встряхивают в течение I5 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.

Для построения калибровочного графика к пробам раститель-

ного материала прибавляют I мл стандартного раствора 2,4,5-Т, 5,I0,I5 и 20 мкг 2,4-ДМ / в виде раствора в метиловом спирте/, отстаивают на 3 часа и далее поступают так, как это описано выше. Калибровочный график обрабатывают по методу наименьших квадратов и получают уравнение калибровочной прямой в виде

$$У = А + ВХ,$$

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

Х - содержание 2,4-ДМ в пробе, мг/кг

А и В - коэффициенты.

Сливочное масло. К пробе масла / 25-50 г / прибавляют I мл стандартного раствора 2,4,5-Т, растворяют в 250 мл петролейного эфира и трижды экстрагируют 3%-ным водным раствором бикарбоната натрия / 3х75 мл /. Объединенный водный экстракт промывают четырьмя порциями петролейного эфира, отбрасывая этот эфир. Бикарбонатный раствор подкисляют I0%-ным водным раствором серной кислоты до pH ~ 3 и далее поступают так, как это описано при определении 2,4-ДМ в растительном материале.

Для построения калибровочного графика к пробам масла прибавляют I мл стандартного раствора 2,4,5-Т, 5,I0,I5 и 20 мкг 2,4-ДМ в виде раствора в метиловом спирте и далее поступают так, как это описано выше.

Тонкослойная хроматография

Вода. Подготовка пробы аналогична описанной выше. Конечный гексановый экстракт наносят на хроматографическую пластинку с тонким слоем силикагеля КСК, скрепленного гипсом с помощью капилляра или медицинского шприца на I мл. Затем на хроматографическую пластинку наносят 5 и I0 мкг метилового эфира, 2,4-ДМ 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 камеры и сушат на воздухе в вытяжном шкафу. Для обнаружения зон локализации метилового эфира 2,4-ДМ пластинку обрабатывают проявляющим реактивом и облучают УФ-светом в течение I0-I5 минут. При наличии в пробе метилового эфира 2,4-ДМ на пластинке появляется серо-черное

пятно на белом фоне с величиной R_f = 0,41 - 0,42. Количественное определение метилового эфира 2,4-ДМ проводят путем визуального сравнения размера и интенсивности окраски пятен стандарта с пятном пробы.

Перед проведением серийных анализов необходимо провести эксперименты по определению процента определения / процента возврата / 2,4-ДМ из проб воды, к которым были предварительно добавлены различные количества 2,4-ДМ. Возврат в пределах 80-85% считается удовлетворительным. Минимально детектируемое количество метилового эфира 2,4-ДМ на хроматографической пластинке 4 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-ДМ в пробе методом газожидкостной хроматографии используют следующую формулу

$$X = \frac{У - А}{В}$$

где X - содержания 2,4-ДМ в пробе, мг/л или мг/кг
У,А,В - см.обозначения в тексте.

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

$$Д = \frac{10^5 А}{а \quad R}$$

где Д - содержание 2,4-ДМ метилового эфира 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 определения, найденный предварительно, %

Для определения содержания в пробе 2,4-ДМ или ее натриевой соли полученный результат необходимо соответственно умножить на 0,95 или 1,02.

gost.e-ecolog.ru