МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде

Сборник № 25

Москва
1997 г.

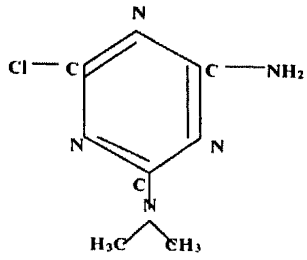
gost.e-ecolog.ru

ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ГИГИЕНЫ И ЭПИДЕМИОЛОГИИ
РОСПОТРЕБНАДЗОРА
105, Г. МОСКВА, ВАРШАВСКОЕ ШОССЕ, Д. 19-А

Утверждено
Министерством здравоохранения СССР
"29" июля 1991 г.
№ 6159-91

ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ 2-АМИНО-4-ДИМЕТИЛАМИНО-6-ХЛОР-1,3,5,-ТРИАЗИНА В ВОЗДУХЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ.

1. Краткая характеристика вещества.



$C_5H_8N_5Cl$

М.м. 173,61

2-амино-4-диметиламино-6-хлор-1,3,5-триазин (АДХТ) - метаболит и полупродукт синтеза грамекса.Белое кристаллическое вещество без запаха с Тпл 210-211° С. Растворимость в воде - 0,049% (25° С), ацетоне - 1,94%, хлороформе - 0,34%.

ОБУВ для воздуха рабочей зоны 1,5 мг/м³ .

2. Методика измерения концентраций АДХТ в воздухе рабочей зоны.

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Метод основан на использовании тонкослойной и газожидкостной хроматографии с применением пламенно-ионизационного детектора.

Отбор проб проводится с концентрированием на фильтр, в хлороформ и на полисорб.

2.1.2. Избирательность метода.

Измерению не мешают другие триазины - полупродукты производства производных сульфанилмочевин.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода.

Нижний предел измерения АДХТ в хроматографируемом объеме пробы 1 мкг (ТСХ) и 0,01 мкг (ГЖХ).

Нижний предел измерения АДХТ в воздухе 0,01 мг/м³ .

Разработчики: Чмиль В.Д., Бродская Н.М., Киреева Л.В., Шутова Т.В., УкрНИИГИНТОКС, г. Киев.

Диапазон измеряемых концентраций АДХТ в воздухе от 0,01 до 2 мг/м³ . Данные по метрологической характеристике методики представлены в таблице.

Суммарная погрешность измерения не превышает ±2,0%.

Время выполнения измерения, включая отбор проб, 2 часа (ГЖХ) и 3 часа (ТСХ).

Таблица

Метрологическая характеристика измерения концентрации 2-амино-4-диметиламино-6-хлор - 1,3,5 - триазина (АДХТ) в воздухе хроматографическими методами.

Метод измерения	Предел измерения, мг/м³	Процент определения,%	Средняя квадратичная ошибка определения, мкг	Доверительный интервал (P=0,95)
ГЖХ	0,01	65	±1,1	±0,8 ($n_в$ =4, m=4)
ТСХ	0,01	90	±0,5	±0,4 ($n_в$ =6, m=4)

2.2. Реактивы, растворы и материалы.

Ацетон, чда, ТУ 6-08-3513-75.
Бензол, чда, ГОСТ 5955-75.
Натрий сернокислый б/в, ч, ГОСТ 4106-76.
Этиловый эфир уксусной кислоты, чда, ГОСТ 1277-75.
Серебро азотнокислое, чда, ГОСТ 1277-75.
Бромфеноловый синий, чда, ТУ 6-09-37-9-83.
Лимонная кислота, осч, ТУ 6-09-584-75.
Силикагель КСК №2, ГОСТ 3956-76, ТУ 6-09-2523-72.
Силикагель ЛС 5/40 μ для тонкослойной хроматографии с 13% гипса (Хемапол, ЧССР).
Пластинки для тонкослойной хроматографии "Силуфол R" (Хемапол, ЧССР).
Калий йодистый, чда, ГОСТ 4232-74.
Крахмал растворимый, чда, ГОСТ 10163-76.
Калий марганцевокислый, чда, ГОСТ 20490-75, 3%-ный водный раствор.
Хлористоводородная кислота, хч, ГОСТ 18290-72, 12%-ный водный раствор.
Кальций сернокислый, чда, ГОСТ 3210-66.
Кальций хлористый, ч, ГОСТ 4460-77.
Азот особой чистоты, ГОСТ 9293-74.
Хроматон N-AW,0,16-0,20 мм с 5% ХЕ-60,промытый кислотой и силанизированный ДМСХ.
Хромосорб W-HP, 80/100 меш с 3% OV-17.
Полисорб С, 60/100, ТУ 6-05-24-1313-86.

2.3. Приборы, аппаратура и посуда.

Газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором.
Аспирационное устройство, ТУ 64-1-862-77.
Фильтродержатели.
Склянка Дрекселя вместимостью 250 мл.
Ротационный испаритель ИР-1М, ТУ 25-11-917-74.
Аппарат для встряхивания, ТУ 64-1-1081-73.
Водяная баня, ТУ 64-22-603-75.
Электроплитка, ТУ 92-275-76.
Поглотители Зайцева с пористой пластинкой, ТУ 25-11-1081-75.
Стеклянные концентрационные трубки (гофрированные).
Стеклянные пластинки, 15 х 15 см.
Сито капроновое, 100/120 меш.
Пульверизатор стеклянный для обработки пластинок.
Камера для обработки пластинок, ТУ 25-11-430-70.

Камера хроматографическая, ГОСТ 10565-63.
Эксикатор, ГОСТ 6471-73.
Сушильный шкаф, ТУ 69-1-1411-76.
Микрошприц емкостью 10 мкл, МШ-10.
Фарфоровая ступка (d=86), ГОСТ 9147-78.
Стеклянный водоструйный насос, МРТУ 42961-64.
Весы лабораторные ВЛА-200-М.
Колбы мерные, вместимостью 100 мл, ГОСТ 1770-74.

2.4. Отбор пробы воздуха.

Способ 1. Воздух с объемным расходом 2 л/мин аспирируют через последовательно соединенный бумажный фильтр "синяя лента" и склянку Дрекселя, содержащую 70 мл хлороформа и помещенную в охлаждающую смесь льда и хлорида натрия. Для определения 1/2 ПДК достаточно отобрать 4 л воздуха.

Способ 2. При использовании полисорба для поглощения АДХТ воздух с объемным расходом 3 л/мин аспирируют через последовательно соединенные фильтродержатель и концентрационную гофрированную трубку из стекла, содержащую 5 г полисорба.

Пробы можно хранить в холодильнике в течение двух недель.

2.5. Подготовка к измерению.

2.5.1. Приготовление пластинок с тонким слоем силикагеля для ТСХ.

35 г силикагеля КСК, просеянного через сито 100/120 меш, смешивают с 2г сернокислого кальция и 90 мл дистилированной воды в фарфоровой ступке или на аппарате для встряхивания в течение 15 минут. Около 10 г сорбционной массы наносят на стеклянную пластинку 15 х 15 см, и,покачивая, равномерно распределяют по поверхности. Пластинки сушат на воздухе в горизонтальном положении при комнатной температуре 12 часов и затем активируют в сушильном шкафу при 190°С в течение 30 минут. Хранят в эксикаторе над слоем хлористого кальция. При использовании для приготовления пластинок силикагеля ЛС 14 г этого силикагеля смешивают с 38 мл дистилированной воды. На одну пластинку наносят 5-7 г сорбционной массы и далее поступают так, как это описано выше.

2.5.2. Приготовление проявляющих реактивов для ТСХ.

Проявляющий реактив №1:

раствор №1 - в мерную колбу на 100 мл помещают 0,25 г йодистого калия и доводят до метки дистиллированной водой;

раствор №2 - 0,75 г растворимого крахмала заваривают в 25 мл дистиллированной воды и затем охлаждают;

пластинку обрабатывают смесью (1:1) растворов №1 и №2.Реактив готовят перед употреблением.

Проявляющий реактив №2:

раствор №1 - в мерную колбу на 100 мл помещают 0,4 г бромфенолового синего и доводят до метки дистиллированной водой;

раствор №2 - в мерную колбу на 100 мл помещают 2 г азотнокислого серебра и доводят до метки дистиллированной водой; пластинку обрабатывают смесью (1:1) растворов №1 и №2 и затем 4%-ным водным раствором лимонной кислоты.

Проявляющие растворы при хранении в плотно закрытых склянках без доступа света годны для применения в течение месяца.

2.5.3. Приготовление стандартного раствора.

Стандартный раствор АДХТ в ацетоне с содержанием 100 мкг/мл готовят растворением 10,0 мг вещества в мерной колбе на 100 мл.

2.5.4. Приготовление хроматографической колонки.

Стеклянную спиральную хроматографическую колонку (длина 1 м, внутренний диаметр 3 мм) заполняют хромосорбом W-HP с 3% OV-17 под вакуумом и конденционируют при 180^0 С в течение 8-10 часов в токе азота.

2.5.5. Построение градуировочного графика для определения АДХТ методом ГЖХ.

Количественный анализ с помощью газовой хроматографии АДХТ проводят методом абсолютной калибровки. Для этого градуировочные растворы с содержанием АДХТ 3,4,10 и 15 мкг/мл готовят соответствующим разбавлением стандартного раствора ацетоном. Градуировочные растворы устойчивы в течение месяца при хранении в холодильнике.

2 мкл каждого градуировочного раствора вводят в хроматограф и хроматографируют при следующих условиях (хроматограф "Цвет-106" с пламенно-ионизационным детектором): температура термостата колонок 150^0 С, температура термостата испарителя 260^0 С, скорость потока газа-носителя (азот особой чистоты) 40 мл/мин, шкала электрометра $10 . 10^{-12}$ а, скорость диаграммной ленты потенциометра 240 мм/час. Время удерживания АДХТ в этих условиях 6 мин.

Хроматографирование одного стандартного раствора производят трижды. Измеряют на хроматограммах высоты пика (мм) АДХТ и строят график зависимости высоты пика АДХТ от его концентрации (мкг/мл). Полученные данные обрабатывают по методу наименьших квадратов и получают уравнение калибровочного графика в виде

$$H=A + B.x$$

где H - высота пика АДХТ на хроматограмме, мм;

X - содержание АДХТ в ацетоне, мкг/мл;

A и B - коэффициенты, которые получают при обработке калибровочного графика по методу наименьших квадратов.

2.6. Описание измерения.

2.6.1. Измерение АДХТ с помощью тонкослойной хроматографии.

При отборе пробы воздуха по способу 1 фильтр извлекают из фильтродержателя, переносят в стакан на 100 мл, заливают 30 мл хлороформа и оставляют на 10 минут периодически перемешивая стеклянной палочкой. Хлороформ сливают в круглодонную колбу со шлифом на 250 мл через слой безводного сульфата натрия (10 г), помещенного в воронку, а фильтр промывают двумя порциями хлороформа по 10 мл, сливая эти порции и хлороформ из склянки Дрекселя в ту же колбу, упаривают растворитель на ротационном испарителе при температуре водяной бани 45^0 С до объема ~ 1 мл. Остаток количественно наносят на хроматографическую пластинку с тонким слоем силикагеля (могут быть использованы пластинки, приготовленные в лабораторных условиях и пластинки "Силуфол R"). На эту же пластинку наносят стандартные количества (1 и 2 мкг) АДХТ в виде раствора в ацетоне и проводят хроматографирование в системе растворителей этилацетат-хлороформ (1:1) в хроматографической камере, насыщенной в течение 2 часов парами подвижных растворителей. Для насыщения стенки камеры обкладываются фильтровальной бумагой, которая пропитывается смесью подвижных растворителей. После окончания процесса хроматографирования пластинку извлекают из камеры и сушат на воздухе в вытяжном шкафу. Для обнаружения АДХТ пластинку обрабатывают смесью №1 и №2 (1:1) проявляющего реактива №2 и затем 4%-ным водным раствором лимонной кислоты. АДХТ обнаруживается в виде синих пятен на желтом фоне с величиной R_f =0,61±0,05.

Для повышения надежности идентификации АДХТ хроматографирование может быть также проведено в системе растворителей ацетон-бензол (3:2). Для обнаружения АДХТ пластинку предварительно помещают в эксикатор (камера для хлорирования) на 2 минуты, на дне которого наливают смесь (1:1) 3%-ного водного раствора марганцевокислого калия и 12%-ного водного раствора хлористоводородной кислоты (камера насыщается парами хлора через 5-10 минут после помещения в нее растворов

марганцевокислого калия и хлористоводородной кислоты). Затем пластинку вынимают из эксикатора, помещают в вытяжной шкаф на 40 минут для удаления паров хлора и обрабатывают проявляющим реактивом №1. АДХТ обнаруживается в виде синих пятен на светло-голубом фоне с величиной R_f =0,82±0,05 (пластинки "Силуфол R").

При отборе пробы воздуха по способу 2 полисорб из концентрационной гофрированной трубки из стекла помещают в бюретку на 25 мл (диаметр 10 мм) с краном на конце и АДХТ элюируют 60 мл ацетона со скоростью 1-2 мл/мин. Элюат сушат над безводным сульфатом натрия (5-10 г) в течение 0,5-1,0 часа при периодическом помешивании, удаляют растворитель на ротационном испарителе до объема ~1 мл и далее поступают так, как описано выше.

2.6.2. Измерение АДХТ с помощью газожидкостной хроматографии.

Подготовка проб для измерения проводится так же, как это описано для тонкослойной хроматографии (п.2.6.1.).

При отборе пробы воздуха по способу 1 объединенный хлороформный раствор сушат над безводным сульфатом натрия (5-10 г) в течение 0,5-1,0 часа при периодическом перемешивании и удаляют растворитель на ротационном испарителе при температуре водяной бани 45^0 С до объема ~0,5 мл. Остаток растворителя током теплого воздуха удаляют досуха и сухой остаток количественно переносят ацетоном (~1 мл) в градуировочную центрифужную пробирку на 10 мл. Током теплого воздуха упаривают содержимое пробирки до 0,2 мл и 2 мкл вводят в хроматограф. Хроматографирование одной пробы проводят дважды, измеряют среднее значение высоты пика АДХТ и по калибровочному графику находят содержание АДХТ. При отборе пробы воздуха по способу 2 остаток ацетона (~1 мл) из круглодонной колбы на 250 мл количественно переносят в градуировочную центрифужную пробирку на 10 мл и током теплого воздуха упаривают содержимое до 0,2 мл. 2 мкл ацетонового раствора вводят в хроматограф и далее поступают так, как это описано выше.

2.7. Обработка результатов анализа.

2.7.1. Метод ТСХ.

Концентрацию АДХТ в воздухе С мг/м^3 при измерении с помощью тонкослойной хроматографии вычисляют по формуле:

$$C = \frac{A \cdot 10^3}{V_{20}}$$

где А - количество АДХТ в анализируемом объеме пробы, мг;

V_{20} - объем воздуха, отобранный для анализа и приведенный к стандартным условиям, л.

Приведение объема воздуха к стандартным условиям проводят по следующей формуле:

$$V_{20} = \frac{V_t(273 + 20) \cdot P}{(273 + t) \cdot 101{,}33}$$

где V_t - объем воздуха, отобранный для анализа, л;

P - барометрическое давление, кПа (101,33 кПа = 760 мм.рт.ст).

t - температура воздуха в месте отбора пробы, ^{0}C .

Количественную оценку АДХТ на хроматограммах проводят путем сравнения интенсивности окраски и площадей пятен пробы и стандартных растворов АДХТ или по величине площади пятен по формуле:

$$A = A_2 - \frac{A_2 - A_1}{S_2 - S_1}(S_2 - S)$$

где A,S - количество (мкг) и площадь (мм^2) пятна АДХТ в анализируемой пробе;

A_1 ,A_2 , S_1 , S_2 - количество (мкг) и площадь ($мм^2$) пятен стандартных растворов АДХТ с большим и меньшим содержанием по сравнению с анализируемой пробой.

Величину площади пятен определяют, накладывая на пластинку прозрачную бумагу или кальку, очерчивают контур пятна, переносят его на миллиметровку и подсчитывают число $мм^2$,входящих в контур.

2.7.2. Метод ГЖХ.

Концентрацию АДХТ в воздухе С, $мг/м^3$ при измерении газожидкостной хроматографии вычисляют по формуле:

$$C=\frac{(H - A) \cdot 10^3 \cdot V}{B \cdot V_{20}}$$

где Н - высота пика АДХТ на хроматограмме анализируемой пробы, мм (среднее значение из двух параллельных определений);

V - общий объем ацетонового раствора пробы АДХТ, мл;

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

3. Требования безопасности.

Соблюдаются требования безопасности, рекомендуемые при работе в химических лабораториях.

gost.e-ecolog.ru