Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды

Сборник методических указаний

Выпуск 4
Часть 7
МУК 4.1.1449—4.1.1452—03

Издание официальное

Москва • 2006

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды

Сборник методических указаний

Выпуск 4
Часть 7
МУК 4.1.1449—4.1.1452—03

ББК 51.23+51.21
О60

О60 **Определение** остаточных количеств пестицидов в пищевых продуктах, сельскохозяйственном сырье и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006.—48 с.—Вып. 4.—Ч. 7.

ISBN 5—7508—0649—9

1. Сборник подготовлен: Федеральным научным центром гигиены им. Ф. Ф. Эрисмана (чл.-корр. РАМН, проф. В. Н. Ракитский, проф. Т. В. Юдина); Московской сельскохозяйственной академией им. К. А. Тимирязева (проф. В. А. Калинин, к. хим. н. А. В. Довгилевич); при участии Департамента госсанэпиднадзора Минздрава России (А. П. Веселов). Разработчики методик указаны в конце каждой из них.

2. Методические указания рекомендованы к утверждению Комиссией по госсанэпиднормированию при Минздраве России.

3. Утверждены Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации, Первым заместителем Министра здравоохранения Российской Федерации, академиком РАМН Г. Г. Онищенко 24 июня 2003 г.

4. Введены с 30 июня 2003 г.

5. Введены впервые.

ББК 51.23+51.21

Редакторы Л. С. Кучурова, Е. И. Максакова
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 10.10.06

Формат 60x88/16 Печ. л. 3,0

Тираж 500 экз. Заказ 34

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

Оригинал-макет подготовлен к печати Издательским отделом
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
113105. Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел. 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2006
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006

Содержание

Определение остаточных количеств ацифлуорфена в почве, воде, зерне и масле сои хроматографическими методами 4
Определение остаточных количеств биспирибака-натрия в почве, воде, зерне и зеленой массе риса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии 17
Определение остаточных количеств глюфосината аммония и его метаболита в воде, семенах и масле подсолнечника газохроматографическим методом 26
Определение остаточных количеств дикамбы в зерне, соломе, зеленой массе растений, воде и почве газожидкостной и тонкослойной хроматографией 38

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный санитарный врач Российской Федерации,
Первый заместитель Министра здравоохранения Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
24 июня 2003 г.
Дата введения – 30 июня 2003 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение остаточных количеств ацифлуорфена в почве, воде, зерне и масле сои хроматографическими методами

Методические указания МУК 4.1.1449—03

1. Вводная часть

Фирма-производитель: «BASF» (Германия).

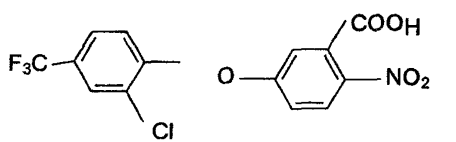
Торговое название препарата: Блазер 2С.

Название действующего вещества по ИСО: ацифлуорфен, ацифлуорфен-натрий.

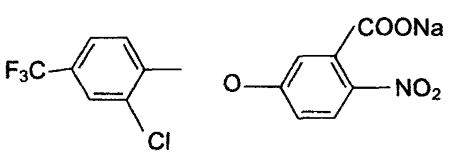
Название действующего вещества по ИЮПАК:

2-нитро-5-(4-трифторметил-2-хлорфенокси)бензойная кислота; 2-нитро-5-(4-трифторметил-2-хлорфенокси)бензоат натрия.

Структурные формулы:



ацифлуорфен



ацифлуорфен-натрий

Физико-химические свойства ацифлуорфена

Эмпирическая формула: $C_{14}H_7ClF_3NO_5$.

Молекулярная масса: 361,7.

Плотность: 1,546 г/см^3.

Агрегатное состояние: твердое вещество.

Цвет: светло-коричневый.

Температура плавления: 142—160 °С.

Летучесть (давление паров): < 0,01 мПа (при 20 °С).

Растворимость в воде: 120 мг/л (23—25 °С).

Растворимость в органических растворителях: (г/кг при 25 °С) ацетон – 600, этанол – 500, дихлорметан – 50, ксилол, керосин < 10.

Устойчивость: разлагается при 235 °С (твердое вещество); устойчив в кислой и щелочной среде в интервале pH 3—9 (40 °С); разлагается под УФ-светом (DT_{50} около 110 часов).

Физико-химические свойства ацифлуорфен-натрия

Эмпирическая формула: $C_{14}H_6ClF_3NNaO_5$.

Молекулярная масса: 383,6.

Плотность: 0,4—0,5 г/см^3 (насыпная плотность).

Температура плавления: 274—278 °С (с разложением).

Летучесть (давление паров): < 0,01 мПа (при 25 °С).

Растворимость в воде (г/100 г при 25 °С): незабуференной – 62,07, при pH 7 – 50,81, при pH 9 – 60,71.

Растворимость в органических растворителях (г/100мл при 25 °С): октанол – 5,37; метанол – 64,15, гексан – $< 5 \times 10^{-5}$.

Коэффициент распределения в системе октанол/вода K_{ow} log$P$ 1,19 (pH 5 при 25 °С).

Устойчивость: устойчив > 2 лет при 20—25 °С.

Период полуразложения в почве: от 108 сут. (в песчаной почве) до 200 сут. (в суглинистой почве). В воде ацифлуорфен стабилен в темноте, на свету быстро разлагается фотогидролитически с периодом полураспада около 2 ч.

В России установлены следующие гигиенические нормативы:

ОДК в почве – 0,2 мг/кг;

ПДК в воде – 0,002 мг/л;

МДУ в семенах сои – 0,1 мг/кг, в масле сои – 0,02 мг/кг.

Препарат запрещается применять в пределах санитарной зоны вокруг рыбохозяйственных водоемов.

Область применения

Препарат Блазер 2С (24 % д.в.) на основе ацифлуорфена проходит перерегистрацию в России в качестве гербицида для подавления двудольных сорняков в посевах сои в фазу 2—4 листьев культуры (однократная обработка) при норме расхода при опрыскивании 1,5—2,5 л/га.

Разрешено применение для борьбы с сорняками в посевах сои смесей ацифлуорфена с бентазоном.

2. Методика определения остаточных количеств ацифлуорфена в почве, воде, зерне и масле сои хроматографическими методами

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на определении ацифлуорфена методами тонкослойной хроматографии с применением пластинок «Силуфол» и газожидкостной хроматографии с использованием детектора постоянной скорости рекомбинации ионов (ДПР) после извлечения ацифлуорфена из исследуемой пробы органическими растворителями, очистке экстракта с помощью высокоскоростного центрифугирования с охлаждением. Очищенный экстракт анализируется непосредственно (тонкослойная хроматография) или метилируется диазометаном с образованием метилового эфира ацифлуорфена (газожидкостная хроматография).

2.1.2. Избирательность метода

В предлагаемых условиях анализа метод специфичен и может применяться для определения остаточных количеств ацифлуорфена в воде, почве и растительном материале сои (зерно и масло), обрабатываемых другими пестицидами, в частности, фенилмочевинными и симм-триазиновыми гербицидами.

2.1.3. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода представлена в табл.

Таблица

Метрологическая характеристика метода

Субстрат (матрица)	Тип анализируемого объекта	Метрологические параметры ($P = 0,95$; $n = 24$)				
		предел обнаружения, мг/кг (мг/л)	диапазон определяемых концентраций, мг/кг (мг/л)	среднее значение определения, %	стандартные отклонения ± S, %	доверительный интервал среднего результата, %
Газожидкостная хроматография						
Вода	питьевая	0,001	0,001—0,008	83,2	3,2	83,2 ± 1,2
Почва	дерново-подзолистая	0,1	0,1—0,8	84,2	1,9	84,2 ± 4,9
	чернозем обыкновенный	0,1	0,1—0,8	85,8	1,1	85,8 ± 2,9
Растительный материал	зерно сои	0,05	0,05—0,4	66,0	2,3	66,0 ± 0,9
	масло сои	0,01	0,01—0,08	77,7	0,6	77,7 ± 0,6
Тонкослойная хроматография						
Вода	питьевая	0,05	0,05—0,4	91,8	2,3	91,8 ± 3,0
Почва	дерново-подзолистая	0,1	0,1—0,7	84,5	3,6	84,5 ± 5,0
Растительный материал	зерно сои	0,2	0,2—1,2	80,0	3,8	80,0 ± 5,0

2.2. Реактивы, растворы, материалы и оборудование

2.2.1. Реактивы, материалы и растворы

Ацифлуорфен аналитический стандарт с содержанием 99,8 % д.в., производства фирмы BASF AG

Азот, осч — ГОСТ 9293—74

Аммония окись безводная — ТУ 6-09-426—83

Аммония хлорид, хч — ГОСТ 3773—60

Ацетон, хч — ГОСТ 2603—79

Вода дистиллированная — ГОСТ 7602—72

Н-гексан, ч — ТУ 6-09-3375—78

Диэтиловый эфир (медицинский), хч — ГОСТ 6262—79

Индиго-5,5'-дисульфокислоты дикалиевая соль (индигодисульфонат калия), чда, 0,1 %-й раствор	ТУ 6-09-07-545—85
Кальций хлористый, хч	ТУ 6-09-1252—76
N-метил-N-нитрозо-р-толуолсульфамид (диазальд), для получения диазометана, фирмы Merck или отечественного производства, ч	ТУ 6-09-10-1226—88
(для синтеза диазометана можно использовать также N-метил-N-нитрозомочевину, ч	ТУ 6-09-11-1643—82
Метанол, хч	ТУ 6-09-11-1643—82
Натр едкий, чда, 20 %-й раствор	ГОСТ 4328—77
Натрия сульфат безводный, хч	ГОСТ 4166—76
Серебро азотно-кислое, хч	ГОСТ 1277—81
Серная кислота, хч	ГОСТ 4204—77
Спирт этиловый, ректифицированный	
Стандартный раствор ацифлуорфена в ацетоне – 500 мкг/мл (хранить в холодильнике, срок годности 3 месяца)	
Фосфорная кислота (орто), хч	ГОСТ 6552—80
Хлороводородная (соляная) кислота, хч	ГОСТ 4461—77
Этилацетат, хч	ТУ 6-09-6515—70
Подвижные фазы для тонкослойной хроматографии: смеси гексан–ацетон (59 : 41) или изопропиловый спирт–бензол (25 : 75)	
Неподвижная фаза для газожидкостной хроматографии: Супелкопорт (80—100 меш) с 3 % OV-225 (Супелко, США) или Хроматон-N-AW-DMCS (0,16—0,20 мм) с 5 % XE-60 (Хемапол, Чехия)	

2.2.2. Приборы, аппаратура, посуда

Хроматограф газовый «Tracor» с детектором постоянной скорости рекомбинации ионов (ДПР) или другой аналогичного типа	
Хроматографическая колонка стальная или стеклянная длиной 1,8 м с внутренним диаметром 2 мм	
Аппарат для встряхивания проб АВУ-1 или другой аналогичного типа	ТУ 64-1-1081—71
Испаритель ротационный Rotavapor R110 Buchi или ИР-1М с водяной баней или другой аналогичного типа	ТУ 25-11-917—74
Вентилятор воздушный	

Весы аналитические FX-40 A &D Company, АД-20, ВЛА-200 или другие аналогичного типа	ГОСТ 34104—80Е
Весы лабораторные технические ВЛТК-500 или другие аналогичного типа	
Иономер модель И-135, ТЗАП или другой аналогичного типа	
Центрифуга с охлаждением Beckman, model J2-21 или другая аналогичного типа	
Облучатель ОКН-11 с УФ-лампой ртутно-кварцевой ПРК-2 или ПРК-4 (для УФ-облучения хроматограмм)	
Самописец, модель 1202-0000 «Cole-Palmer», Chicago II, USA	
Воронки химические	ГОСТ 25336—82Е
Воронки делительные на 250 мл	ГОСТ 10054—75
Воронки Бюхнера	ГОСТ 9147—81
Камера хроматографическая	ГОСТ 10565—75
Камера для опрыскивания хроматограмм	ТУ 25-11-430—70
Колбы конические плоскодонные, вместимостью 250 и 500 мл	ГОСТ 10394—72
Колбы мерные, вместимостью 50 и 100 мл	ГОСТ 1770—74
Колбы Бунзена	ГОСТ 6514—74
Колбы грушевидные (концентраторы)	ГОСТ 10394—74
Мельница (для размола зерна сои)	
Микропипетки (для нанесения растворов), вместимостью 0,1—0,2 мл	ГОСТ 20-292—74
Микрошприцы Гамильтон, вместимостью 10 и 100 мкл или другие аналогичного типа	
Палочки стеклянные	
Пипетка цифровая автоматическая с максимальной емкостью 5 мл, Aldrich, Wheaton или другая аналогичного типа	
Пульверизаторы стеклянные	ГОСТ 10391—74
Пластины хроматографические «Силуфол», Хемапол, Чехия	
Сита с отверстиями 0,1 и 1мм	
Стаканы химические, вместимостью 100 мл	ГОСТ 6236—72
Скальпель медицинский или нож	
Цилиндры мерные, вместимостью 25 и 100 мл	ГОСТ 1770—74Е
Проявляющие растворы и операции для тонкослойной хроматографии	

1) 0,1 %-й раствор индигосульфоната калия,
2) 1 %-й раствор азотнокислого серебра в этаноле,
3) ультрафиолетовое облучение.

2.3. Подготовка к определению

2.3.1. Подготовка и кондиционирование колонок для газожидкостной хроматографии

Готовую насадку (3 % OV-225 на Супелкопорте или 5 % ХЕ-60 на Хроматоне-N-AW-DMCS) насыпают в колонку порциями с уплотнением под вакуумом, колонку устанавливают в термостат хроматографа, не подсоединяя к детектору, и стабилизируют (кондиционируют) в токе азота (2—3 мл/мин) при температуре 260 и 230 °С соответственно в течение 10—12 ч.

2.3.2. Приготовление диазометана (метилирующего агента)

В двугорлую круглодонную колбу, снабженную обратным холодильником и капельной воронкой на 10 мл, помещают 5 г N-метил-N-нитрозо-р-толуолсульфамида или N-метил-N-нитрозомочевины, 8 мл диэтилового эфира и 8 мл метанола. К выходу обратного холодильника присоединяют газоотводную трубку, конец которой помещают в цилиндр с 50 мл диэтилового эфира. В капельную воронку помещают 3 мл 20 %-го раствора NaOH. Щелочь по каплям осторожно добавляют в круглодонную колбу. Выделяющийся газообразный диазометан насыщает эфир до появления ярко-желтого окрашивания реакционной смеси. Время насыщения диэтилового эфира диазометаном около 20 мин.

2.3.3. Приготовление стандартных растворов (для построения градуировочного графика и идентификации образцов)

В мерной колбе на 50 мл взвешивают 50 мг аналитического стандарта ацифлуорфена. Навеску растворяют в ацетоне и доводят объем до метки ацетоном (стандартный раствор № 1, концентрация 1 000 мкг/мл). Раствор стабилен при хранении в холодильнике не более 3 месяцев.

Методом последовательного разбавления ацетоном раствора № 1 готовят стандартные растворы ацифлуорфена с концентрацией 0,025; 0,05; 0,10; 0,25 и 0,50 мкг/мл. В конические пробирки со шлифом помещают по 1 мл указанных стандартных растворов и испаряют досуха. Приливают по 1 мл раствора диазометана в диэтиловом эфире и оставляют на 15 мин при комнатной температуре, эфир выпаривают в токе воздуха и сухие остатки растворяют в 1 мл гексана. Полученные растворы используют для абсолютной калибровки.

При оценке полноты открываемости ацифлуорфена в модельных матрицах используют ацетоновые растворы гербицида соответствующей концентрации.

2.3.4. Построение градуировочного графика

Для построения градуировочного графика в инжектор хроматографа вводят по 2 мкл растворов метилированных диазометаном ацифлуорфена с концентрацией 0,025; 0,05; 0,10; 0,25 и 0,50 мкг/мл. Проводят не менее 5 параллельных измерений для каждой концентрации и находят среднее значение высоты хроматографического пика.

По полученным данным строят градуировочный график зависимости высоты хроматографического пика в мм от концентрации метилового эфира ацифлуорфена в растворе в мкг/мл.

2.4. Отбор и хранение проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», утвержденными Минздравом СССР от 21.08.79 № 2051-79.

Пробы воды в стеклянной или инертной полиэтиленовой таре (полиэтилен высокого давления) хранят при температуре 0—4 °С в течение не более 7 суток, для длительного хранения пробы замораживаются и хранятся при –18 °С. Отобранные пробы зерна сои подсушивают до стандартной влажности и хранят в стеклянной или полиэтиленовой таре при температуре 0—4 °С. Пробы масла сои хранят в холодильнике при 0—4 °С и используют для анализа без предварительной подготовки. Для длительного хранения пробы почвы подсушивают при комнатной температуре в отсутствие прямого солнечного света. Сухие почвенные образцы могут храниться в течение года. Перед анализом сухую почву просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм, зерно сои измельчают на лабораторной мельнице.

2.5. Проведение определения

2.5.1. Вода

2.5.1.1. Тонкослойная хроматография.

1) 100 мл анализируемой воды помещают в колбу ротационного вакуумного испарителя и выпаривают досуха. Препарат извлекают небольшими порциями (0,1—0,3 мл) этилацетата и наносят на хроматографическую пластинку.

2) К 100 мл анализируемой воды прибавляют 50 мл этилацетата и ставят на аппарат для встряхивания на 20—30 мин. Этилацетат сливают, прибавляют его новую порцию (25 мл) к воде и снова встряхивают на качалке. Эту операцию повторяют еще раз и через делительную воронку отделяют этилацетатные экстракты. Последние проводят через безвод-

ный серно-кислый натрий, переносят в колбу для отгонки растворителя, упаривают и хроматографируют.

Примечание. При работе вторым способом иногда при сильном встряхивании образуются стойкие эмульсии, которые можно устранить добавкой небольшого количества (до 1 мл) этилового спирта.

2.5.1.2. Газожидкостная хроматография.

Образец воды объемом 100 мл фильтруют через двойной складчатый фильтр (синяя лента) в делительную воронку на 250 мл, подкисляют 1 М HCl до pH 2—3 и проводят экстракцию ацифлуорфена диэтиловым эфиром (3 × 50 мл). Встряхивают две минуты. Объединенные экстракты, пропускают через прокаленный Na_2SO_4, сушат и выпаривают при 45 °С на ротационном вакуумном испарителе до сухого остатка, к которому прибавляют 1 мл раствора диазометана в диэтиловом эфире. Метилирование проводят в течение 15 мин при комнатной температуре. Реакционную смесь выпаривают в токе воздуха досуха. Сухой остаток растворяют в 1 мл гексана.

Анализируют метиловый эфир ацифлуорфена на газожидкостном хроматографе (п. 2.7).

2.5.2. Почва

2.5.2.1. Тонкослойная хроматография.

100 г воздушно-сухой почвы, предварительно просеянной через сито, заливают водой (до покрытия пробы) и оставляют на ночь или ставят на аппарат для встряхивания на два часа. Воду отфильтровывают через воронку Бюхнера. Полученную водную вытяжку выпаривают досуха, а препарат извлекают небольшими порциями (по 0,3 мл) этилацетата и наносят на хроматографическую пластинку.

2.5.2.2. Газожидкостная хроматография.

Навеску почвы 20 г (в пересчете на воздушно-сухую почву) помещают в коническую колбу на 100 мл, прибавляют 0,2 г $CaCl_2$ (для кислых почв) или 0,2 г NaCl (для щелочных почв) и перемешивают стеклянной палочкой. В колбу последовательно приливают 15 мл дистиллированной воды и 35 мл ацетона. Ацифлуорфен экстрагируют при перемешивании в течение 1 ч. Экстракт фильтруют через двойной складчатый фильтр «синяя лента» в колбу на 100 мл. Экстракцию повторяют с 15 мл дистиллированной воды и 35 мл ацетона (перемешивают 20 мин). Экстракты объединяют и отбирают аликвотную порцию объемом 50 мл. Раствор подкисляют 1 М HCl до pH 3—4 и при температуре 45 °С, используя ротационный вакуумный испаритель, выпаривают до водного остатка. Остаток экстракта переносят в делительную воронку на 250 мл и смесь экстрагируют (3 × 15 мл) диэтиловым эфиром. Встряхивают две

минуты. Полученные экстракты фильтруют через фильтр «красная лента» с $Na_2SO_{4(безв)}$ и объединяют. При 45 °С на ротационном вакуумном испарителе выпаривают до сухого остатка, к которому добавляют 1 мл раствора диазометана в диэтиловом эфире.

Далее процедура анализа ацифлуорфена в почве аналогична описанной выше в п. 2.5.1.2.

2.5.3. Зерно сои

2.5.3.1. Тонкослойная хроматография.

1) К 5 г сои (грубый помол с частицами в 1—2 мм) добавляют оводненный ацетон (60 %), оставляют на ночь или ставят на качалку на 30 мин. Отфильтровывают через воронку Бюхнера и ставят на выпаривание до маслянистого остатка. Остаток обмывают 10—15 мл 1 %-го раствора NaOH. Эту манипуляцию повторяют дважды. Полученный щелочный раствор помещают в делительную воронку и дважды энергично встряхивают с гексаном. Гексан отбрасывают, а раствор щелочи подкисляют соляной кислотой до нейтральной реакции. Из последнего препарат извлекают этилацетатом по 20 мл трижды. Этилацетатные экстракты объединяют, проводят через безводный серно-кислый натрий и выпаривают досуха, затем наносят на пластинку.

2) К 5 г сои (грубый помол с частицами в 1—2 мм) добавляют воду и равное количество коагулирующей смеси: 5 г хлорида аммония растворяют в 10 мл дистиллированной воды, приливают 10 мл 85 %-й ортофосфорной кислоты и доводят дистиллированной водой до 1 л. Раствор ставят на качалку на 30 мин, затем отфильтровывают, доводят до нейтральной реакции 10 %-м раствором NaOH и извлекают этилацетатом по 25 мл трижды. Этилацетатные экстракты объединяют, высушивают безводным сернокислым натрием и выпаривают на ротационном вакуумном испарителе до 0,1 мл. Препарат извлекают небольшими порциями этилацетата и наносят на пластинку.

2.5.3.2. Газожидкостная хроматография.

Измельченную растительную пробу (зерно – 5 г) помещают в коническую колбу на 250 мл и приливают 50 мл 95 %-го водного метанола, подщелачивают 20 % NaOH до pH 7—8. Ацифлуорфен экстрагируют при перемешивании в течение 30 мин. Экстракт фильтруют через двойной складчатый фильтр (синяя лента) в цилиндр на 100 мл. Экстракцию повторяют с 50 мл растворителя в течение 30 мин. Экстракты объединяют, отбирают аликвотную порцию объемом 50 мл, которую разбавляют водой до соотношения метанол : вода = 2 : 1. Затем при температуре 45 °С, используя ротационный вакуумный испаритель, выпаривают до получения водного остатка, который подкисляют 1 М HCl до pH 2—

3, помещают в пластиковые тубы и центрифугируют в течение 25 мин при 20 тыс. об/мин с охлаждением до 0 °С.

Супернатант переносят в делительную воронку на 100 мл и экстрагируют ацифлуорфен диэтиловым эфиром (3 × 15 мл). Встряхивают 2 мин. Объединенные экстракты сушат над прокаленным Na_2SO_4.

Далее процедура анализа ацифлуорфена в зерне сои аналогична описанной выше п. 2.5.1.2.

2.5.4. Масло сои

2.5.4.1. Газожидкостная хроматография.

Навеску масла сои (10 г) помещают в делительную воронку вместимостью 500 мл, перемешивают с 50 мл н-гексана. Воронку встряхивают вручную и оставляют на 20 мин для полного растворения масла в растворителе. Далее ацифлуорфен экстрагируют 0,1 М раствором NaOH (3 × 50 мл). Для лучшего разделения слоев в воронку вносят 5 г NaCl. Из объединенного водного экстракта отбирают 50 %-ю аликвоту (75 мл), пробу промывают 50 мл н-гексана и водный слой выпаривают на ротационном испарителе до объема 20—25 мл. Остаток подкисляют разбавленной (1 : 1) HCl до pH 1—2 и экстрагируют диэтиловым эфиром (3 × 10 мл). Соединенный эфирный экстракт осушают пропусканием через бумажный фильтр с 1-см слоем $Na_2SO_{4(безв)}$, испаряют досуха на ротационном вакуумном испарителе и остаток метилируют реакцией с диазометаном. Образующийся метиловый эфир ацифлуорфена анализируют на газожидкостном хроматографе (п. 2.5.1.2).

2.6. Условия хроматографирования

2.6.1. Тонкослойная хроматография

Пробу количественно переносят на хроматографическую пластинку «Силуфол». Рядом наносят стандартный раствор с различным содержанием ацифлуорфена (10—20 мкг). Пластинку помещают в камеру для хроматографирования, предварительно наполненную растворителем. Перед каждой хроматограммой растворитель следует менять на свежеприготовленный. Подвижной фазой для ацифлуорфена является смесь гексана с ацетоном в соотношении 59 : 41 или изопропиловый спирт с бензолом – 25 : 75. После поднятия линии фронта на 12—13 см пластинку из камеры вынимают, высушивают на воздухе до полного удаления растворителя.

Проявление зон локации ацифлуорфена на хроматограмме производят одним из указанных проявителей.

Ацифлуорфен на пластинках «Силуфол» проявляется в виде двух пятен: Rf верхнего пятна – 0,45; нижнего – чуть отделяется от пятна.

Примечание. В случае проб сои можно использовать многоступенчатую (3—4 раза) вытеснительную хроматографию (хроматограмму опускают в ту же подвижную фазу после просушивания и удлинения фронта разгона), чтобы отгонять ближе к фронту нежелательные компоненты.

2.6.2. Газожидкостная хроматография

Стальная колонка с Supelcoport 3 % OV – 225 (80—100 меш), с внутренним диаметром 2 мм и длиной 1,8 м;

температура колонки: 220 °С;

температура детектора: 350 °С;

температура инжектора: 250 °С;

газ-носитель – азот осч;

скорость тока азота – 40 мл/мин;

тип детектора – детектор постоянной скорости рекомбинации ионов (ДПР);

скорость движения ленты самописца – 20 см/ч;

электрометрические ослабления – $0,5 \times 10^{-9}$ А;

чувствительность самописца – 5 мВ;

объем вводимой пробы – 2 мкл;

время удерживания метилового эфира ацифлуорфена – 5 мин;

линейный диапазон детектирования – 0,01—1,00 нг.

Альтернативные условия:

Хроматограф газовый «Кристалл 2000 М» с электронозахватным детектором (ДЭЗ);

капиллярная кварцевая колонка HP-5 (Crosslinked 5 % PH ME Siloxane), длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм, толщина пленки 0,25 мкм;

температура колонки: 240 °С;

температура детектора: 360 °С;

температура инжектора: 280 °С;

газ 1 – тип регулятора расхода газа РРГ-11, давление 82,58 кПа;

газ 2 (гелий) — 50 мл/мин, режим нормальный, расход 0,5 мл/мин, сброс 1 : 100;

газ 3 (азот, поддув детектора) – 30 мл/мин.

Продувка детектора и испарителя проводится при скорости 60 мл/мин в течение 2 мин при температуре колонки, равной 230 °С.

Каждую анализируемую пробу вводят в хроматограф 3 раза и вычисляют среднюю высоту пика. Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 0,5 мкг/мл, разбавляют гексаном.

2.7. Обработка результатов анализов

2.7.1. Тонкослойная хроматография

Содержание ацифлуорфена в исследуемой пробе вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A}{m}, \text{ где}$$

A – количество препарата, найденное на хроматограмме при сравнении со стандартом, мкг;

m – навеска пробы, г;

X – содержание ацифлуорфена в пробе, мг/кг или мг/л.

2.7.2. Газожидкостная хроматография

Содержание ацифлуорфена в пробах воды, почвы, зерне, масле сои рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{H_1 \cdot A \cdot V \cdot D}{100 \cdot H_0 \cdot m} P, \text{ где}$$

X – содержание вещества в пробе, мг/кг;

H_1, H_0 – высота пика образца и стандарта соответственно, мм;

A – концентрация стандартного раствора, мкг/мл;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, мл;

D – коэффициент пересчета, учитывающий взятие аликвоты, равен 2;

m – масса или объем анализируемого образца, г или мл;

P – содержание ацифлуорфена в аналитическом стандарте, мкг/мл.

3. Требования к технике безопасности

Необходимо соблюдать общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами и электронагревательными приборами.

4. Разработчики

Н. В. Бажанова, М. Г.Алтунян, Ж. А. Арутюнян.

Научно-исследовательский институт защиты растений. Вода, почва, зерно сои (тонкослойная хроматография), 1984 г.

Ю. Я. Спиридонов, С. Г. Жемчужин, Ларина Г. Е.

143050, Московская обл., Одинцовский р-он, п/о Большие Вяземы, ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт фитопатологии Россельхозакадемии, отдел гербологии. Вода, почва, зерна, масло сои.

Телефон\факс: (096)33-4-11-07.

E-mail: gost.e-ecolog.ru

В. А. Калинин, О. И. Рыбакова.

Московская сельскохозяйственная академия им. К. А. Тимирязева, кафедра химических средств защиты растений. Масло сои (капиллярная [illegible] хроматография), 2000 г.

gost.e-ecolog.ru