

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

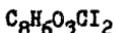
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В
ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, КОРМАХ И ВНЕШНЕЙ СРЕДЕ

Часть II

Москва - 1976 г.

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

Краткая характеристика препарата



Мол.вес 221,04

2,4-дихлорфеноксимуксусная кислота(2,4-Д) - белое кристаллическое вещество, стабильное при хранении. Температура плавления 141°C, температура кипения 160°C(0,4 мм рт.ст.). Константа диссоциации $2,3 \cdot 10^{-3}$. Стабильна при хранении в растворах различных органических растворителей и в кристаллическом состоянии. При 20°C 540 мг кислоты растворяется в 1 л воды, 243 г кислоты в 100 мл эфира, 130 г кислоты в 100 мл этилового спирта; хорошо растворима в ацетоне, четыреххлористом углероде и бензоле.

Принцип метода

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

^{x/} Метод разработали В.Д. Чмиль, Р.Д. Васягин, М.А. Клясико (ВНИИГИНТОКС, г.К-9в)

Утверждено 22 сентября 1975 г. № 1350-75.

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

Реактивы и растворы

Безводный сульфат натрия, х.ч.

Н-гексан, х.ч.(перегнанный)

Диэтиловый эфир, х.ч.

Бикарбонат натрия, 3%-ный водный раствор

Диметилсульфат, 5%-ный (1% объемные) раствор в абсолютном метиловом спирте

Метиловый спирт, абсолютный

Хлористый натрий, х.ч., насыщенный водный раствор

Смаконовый эластомер SE-30

Серная кислота, 10%-ный водный раствор

Болъная кислота, концентрированная, х.ч.

Смесь растворителей I: 1 ч. 10%-ного водного раствора серной кислоты + 1,5 ч. 95%-ного этилового спирта + 2,5 ч. петролейного эфира + 7,5 ч. диэтилового эфира

Смесь растворителей II: 1 ч. диэтилового эфира + 1 ч. петролейного эфира

Петролейный эфир

Н-гептан, х.ч.

Ацетон, х.ч.

Хлороформ, х.ч.

Хлористый натрий, х.ч.

Хромасорб W, 60/100 меш, промывный кислотой и силианизированный ДМХС

Хроматон N, 0, 16-0, 20 мм, промывный кислотой и силианизированный ДМХС

Кальций сернокислый, х.ч., прокаленный при 160°C в течение 6 часов

Силикагель ХСК

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

Азотнокислое серебро, х.ч.

Аммиак, 25%-ный водный раствор

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

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

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

Приборы и посуда

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

Делительная воронка на 1500, 1000, 500 мл

Стеклянная колонка длиной 20 см и внутренним диаметром
 3 см
 Колба Бунзена на 500 мл
 Воронка Бюхнера диаметром 15 см
 Грушевидные колбы на 100 мл
 Аппарат для встряхивания
 Ротационный испаритель ИР-1
 Колбы конические с пришлифованной пробкой на 250 мл
 Водяная баня
 Контактный термометр на 100°C
 Мерные колбы на 5, 10 и 100 мл
 Фарфоровая чашка
 Печеная баня
 Вакуумный водоструйный насос
 Холодильник Либиха
 Камера хроматографическая
 Микропипетки
 Медицинский шприц на 1 мл
 Стеклянные пластинки 9x12 см
 Сито капроновое 100 меш
 Пульверизатор стеклянный

Ход анализа

Газо-жидкостная хроматография.

Вода.

а) Пламенно-ионизационный детектор.

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

бумага), 1 мл стандартного раствора 2,4,5-Т (внутренний стандарт) с содержанием 100 мкг/мл и экстрагируют тремя порциями хлороформа (100, 50 и 50 мл). Объединенный хлороформенный экстракт сушат, пропуская через стеклянную колонку, заполненную безводным сульфатом натрия (20 г). Растворитель удаляют на ротационном испарителе в грушевидной колбе на 100 мл; последние порции растворителя удаляют с помощью резиновой груши. Затем приливают в колбу 3 мл 5%-ного раствора диметилсульфата в абсолютном метиловом спирте, тщательно споласкивают стенки колбы, прибавляют 1 г безводного сульфата натрия, присоединяют к колбе обратный холодильник и помещают на водяную баню (температура 50°C) на 10 минут. (Диметилсульфат — сильный яд! Поэтому с этим реактивом необходимо работать под тягой и промывать использованную для реакции посуду раствором аммиака в метиловом спирте). После окончания реакции метилирования содержимое колбы охлаждают под водопроводной водой, прибавляют 3 мл насыщенного водного раствора хлористого натрия, 1 мл н-гексана, энергично встряхивают в течение 2-х минут и после расслоения фаз вводят в хроматограф 3 мл гексанового слоя.

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

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

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

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

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

$$Y = A + BX$$

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

X - концентрация 2,4-Д в воде, мг/л

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

б) Электронно-захватный детектор.

пробу воды (250-500 мл) помещают в делительную воронку, подкисляют соляной кислотой до pH~3, прибавляют 1 мл стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/мл и экстрагируют тремя порциями диэтилового эфира (100, 50 и 50 мл).

Объединенный эфирный экстракт переносят в делительную воронку, прибавляют 75 мл 3%-ного водного раствора бикарбоната натрия и экстрагируют в течение 3-х минут. После расслоения фаз собирают нижний водный слой. Повторяют экстракцию еще двумя порциями по 50 мл раствора бикарбоната. Объединенный экстракт промывают двумя порциями по 50 мл петroleйного эфира, отбрасывая этот эфир. Затем бикарбонатный раствор подкисляют 10%-ным водным раствором серной кислоты до pH~3 и трижды экстрагируют диэтиловым эфиром по 50 мл. Объединенный эфирный экстракт сушат, пропуская через стеклянную колонку, заполненную безводным сульфатом натрия. Растворитель удаляют на ротационном испарителе в грушевидной колбе на 100 мл; последние порции растворителя удаляют с помощью груши. Затем приливают в колбу 3 мл 5%-ного раствора диметилсульфата в абсолютном метиловом спирте и далее поступают так, как это описано

выше. Условия хроматографирования: стеклянная спиральная колонка (длина 1 м, внутренний диаметр 3 мм), заполненная Хроматоном N, O, I6-O, 20 мм, промытым кислотой и силианизированным ДМХС с 5% SE-30; скорость газа-носителя (азот особой чистоты) через колонку 50 мл/мин, скорость продувочного газа (азот особой чистоты) через детектор - 150 мл/мин, температура термостата колонок - 170°C, температура испарителя - 220°C, температура термостата детектора - 220°C, шкала электрометра $20 \cdot 10^{-12}$ а, скорость диаграммной ленты потенциометра 240 мм/час. Хроматографирование одной пробы проводят дважды. Измеряют на хроматограммах высоты пиков метиловых эфиров 2,4-Д и 2,4,5-Т, вычисляют среднее значение отношения этих высот и по уравнению калибровочного графика находят содержание 2,4-Д в воде. Для построения калибровочного графика к пробам воды прибавляют 5, 10, 15 и 20 мкг 2,4-Д (в виде раствора в этиловом спирте), 1 мл стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/мл, подкисляют соляной кислотой до pH ~ 3 и далее поступают так, как это описано выше.

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

Растительный материал.

а) Пламенно-ионизационный детектор.

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

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

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

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

$$Y = A + BX$$

где Y - отношение высот хроматографических пиков метило-

ных эфиров 2,4-Д и 2,4,5-Т, X - содержание 2,4-Д в пробе, мг/кг; А и В - коэффициенты.

а) Электронно-захватный детектор.

В измельченную пробу (50 г) вносят 1 мл стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/мл и далее поступают так, как это описано выше.

Для построения калибровочного графика к пробам растительного материала прибавляют 10, 15, 20 и 25 мкг 2,4-Д (в виде раствора в этиловом спирте), 1 мл стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 2,5 мкг/мл и далее поступают так, как это описано выше.

Сливочное масло.

Электроно-захватный детектор.

Пробу масла (25-50 г) растворяют в 250 мл петролейного эфира и трижды экстрагируют 3%-ным водным раствором бикарбоната натрия (3x75 мл). Объединенный бикарбонатный экстракт промывают четырьмя порциями петролейного эфира, отбрасывая этот эфир. Бикарбонатный раствор подкисляют 10%-ной серной кислотой до pH=3 и далее поступают так, как это описано при определении 2,4-Д в растительном материале.

Для хроматографирования используют спиральную стальной колонку (длина 2 м, внутренний диаметр 3 мм), запечатанную Хромаломом У, 0, 16-0, 20 мк, силикагелевыми ДКС с Ш SE-30. Основные условия хроматографирования аналогичны вышеописанным. Для более точного определения 2,4-Д и при необходимости методов абсолютной калибровки.

Тонкослойная хроматография

Вода.

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

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

Растительный материал.

Подготовка пробы и проведение определения аналогичны описанным выше.

Сливочное масло.

Подготовка пробы и проведение определения аналогичны описанным выше.

Расчет результатов анализа

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

$$X = \frac{Y - A}{B}$$

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

Y, A, B - см. обозначения в тексте.

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

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

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

A - количество стандарта, введенное в хроматограф, мг

H₁ - высота пика стандарта мм

H₂ - высота пика препарата в пробе, мм

V₁ - объем экстракта, введенный в хроматограф, мл

V₂ - общий объем упаренного экстракта, мл

P - количество анализируемой пробы, л или кг

R - процент извлечения, найденный предварительно, %

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

$$\bar{X} = \frac{10^5 A}{a R} \quad \text{где}$$

\bar{X} - содержание метилового эфира 2,4-Д в пробе, мг/л или мг/кг

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

a - объем или вес пробы, мл или г

R - процент извлечения, найденный предварительно, %

Для определения содержания в пробе 2,4-Д, натриевой, диметилдетила или триэтанололаминной солей 2,4-Д полученный результат необходимо соответственно умножить на 0,94,

1,03, 1,37 или 1,57,

СОДЕРЖАНИЕ

120

Стр.

ХЛОРООРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

- Метод определения ДДТ, его метаболитов и ГХЦГ в табочных изделиях способом хроматографии в тонком слое** 1
авторы: Л.Ф. Васьковская, А.Е. Бурштейн
- Определение остатков кельтана в молоке** 7
авторы: В.В.Молочников, В.И.Мочалов.
- Определение хлороорганических пестицидов в мясе, мясопродуктах и животных жирах хроматографией в тонком слое** 11
авторы: И.А.Шумкова, И.Н.Карпова, С.А.Ликунова, Л.Д.Рузанкова.
- Определение остатков хлороорганических пестицидов в сырье для производства сухих детских молочных смесей** 18
авторы: В.В.Молочников, В.И.Мочалов, Л.Н.Чудакова.
- Определение остаточных количеств ЭФ-2 в зерне методом газожидкостной хроматографии с детектором по захвату электронов** 24
авторы: К.Ф.Новикова, Л.И.Лещинская.

ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

- Определение анти и фосфамида в меде** 29
автор: Р.Д.Петухов.
- Газо-хроматографический метод определения валексона в молоке, органах и тканях животных** 33
авторы: В.В.Лещев, Б.А.Королев.
- Методика определения варбекса в молоке и тканях животных с помощью газ-жидкостной хроматографии** 38
авторы: А.А.Непоклонов, К.Ф.Заболотный, .
- Определение остаточных количеств ДЦВФ в молоке и воде методом газ-жидкостной хроматографии с термодионным детектором** 42
авторы: Ф.Р.Мельцер, К.Ф.Новикова.
- Методик определения дифоса(абата) в мясе, молоке и в воде хроматографией в тонком слое** 46
авторы: Н.П.Бирякова, П.Ф.Моряков, А.А.Непоклонов.

- Газо-хроматографический метод определения метафоса в капусте и карбофоса в зерне.** 51
авторы: Д.Б.Гиренко, М.А.Клисенко
- Методика определения метилнитрофоса в мясе,молоке и яйцах с помощью газо-жидкостной хроматографии** 55
Автор: Т.Г.Аббасов
- Газо-хроматографический метод определения рогора и антио в яблоках, сливе, смородине** 59
авторы: Д.Б.Гиренко, М.А.Клисенко

РТУТЬОРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

- Газохроматографический метод определения метил- и этил-ртутихлорида в пищевых продуктах,кулинарно обработанных суточных пищевых рационах,кормах и почве** 62
автор: В.Л.Ермаков
- Хроматографический метод определения ртутьорганических пестицидов в кормах,овошах,продуктах животноводства и патматериале** 68
автор: В.В.Ермаков
- Хроматографический метод определения ртути в робе и молочных продуктах** 75
авторы: А.М.Шмигидина, М.А.Клисенко, Э.П.Чурпий.

ПРОЧИЕ ПЕСТИЦИДЫ

- СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ гатнона в воде и некоторых продуктах растительного происхождения** 81
авторы: В.Е.Кириченко,К.И.Паткевич,И.Я.Постовский
- Хроматографические методы определения остаточных количеств 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты(2,4-Д) в воде, растительном материале и продуктах питания** 86
авторы: В.Д.Чиль, Р.Д.Васильева, М.А.Клисенко
- Определение сероуглерода в винограде** 99
авторы: С.А.Акоряко, М.Ш.Векштейн.

- Определение остаточных количеств севина в молоке и молочных продуктах методом газо-жидкостной хроматографии с детектором по захвату электронов I04
авторы: Л.И.Маневич, В.В.Молочников, Н.И.Жаворонков
- Колориметрический метод определения севина и I-нафталя в тканях животи его происхождения и моче I10
авторы: Н.И.Жаворонков, О.А.Малинин
- Определение гербицидов энтама и тиллама в воде, почве, свекле и ее ботве методом газо-жидкостной хроматографии I16
авторы: А.М.Ботвиньева, А.Д.Перцовский