

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 VIII

Москва - 1977 г.

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

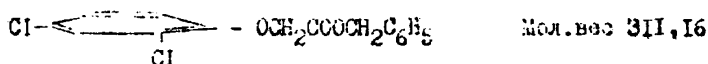
Часть УІІІ

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.

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ БЕНЗИЛОВОГО
ЭФИРА 2,4-ДИХЛОРБЕНЗОКСИМЛОВОЙ КИСЛОТЫ / 2,4-Д /
В ВОДЕ И ЗЕРНЕ ШЕПЧИЦЫ МЕТОДОМ ГАЗО-ЖИДКОСТНОЙ ХРО-
МАТОГРАФИИ *

Краткая характеристика препарата



Бензидовый эфир 2,4-Д - белый кристаллический порошок с т.пл. 46°C и т.кип. 189 - 190°C / 1 мм рт.ст. Давление насыщенных паров при 20°C $0,73 \cdot 10^{-5}$ мм рт.ст., при 40°C - $7,1 \cdot 10^{-5}$ мм рт.ст. В воде нерастворим, мало растворим в бензоле и дихлорэтаноле, хорошо растворим в диэтиловом эфире. Растворимость / вес. % / при 20°C составляет: в метаноле - 3,05, ацетоне - 5,4, этаноле - 7,84, бензиловом спирте - 14,5, циклогексаноне - 36,0, хлороформе - 32,6, ксилоле - 74,5.

Препарат бензидового эфира 2,4-Д выпускается в форме 40%-ного эмульгирующего концентрата. Применяется в качестве гербицида в посевах зерновых культур, в районах хлопководства.

Препарат среднетоксичен для теплокровных животных и человека: LD₅₀ - 1300 мг/кг / по данным Башкирского мединститута /.

Принцип метода *

Метод основан на экстракции бензидового эфира 2,4-Д из анализируемых проб органическими растворителями, омыления экстракта спиртовой щелочью до 2,4-Д, экстракции 2,4-Д из омыленной пробы, метилирования 2,4-Д диазометаном с последующим газохроматографическим определением метилового эфира 2,4-Д с помощью электронно-захватного детектора.

* И.И.Шилленкова, А.Д.Затянова, Г.К.Морина, А.И.Зарова,
В.Д.Чмиль, утвержден 20 декабря, №1530-76.

Количественное определение метилового эфира 2,4-д проводится методом внутреннего стандарта. Минимально детектируемое количество метилового эфира 2,4-д с помощью электронно-захватного детектора 1 нг / в пересчете на бензиловый эфир 2,4-д - 1,3 нг /. Наибольший динамический диапазон детектирования метилового эфира 2,4-д с помощью электронно-захватного детектора не менее 50 нг.

Чувствительность определения бензилового эфира 2,4-д составляет: в воде - 0,002 мг/л / ДПР /; в зерне - 0,05 мг/кг / ДПР /. Процент определения бензилового эфира 2,4-д в зробах составляет 93,0 - 99,0%. Относительная ошибка определения, найденная с надежностью 0,95, составляет $\pm 2,0\%$.

Реактивы и растворы

Безводный сульфат натрия, х.ч.

Н-гексан, перегнанный, х.ч.

Диэтиловый эфир, х.ч., перегнанный

Хлороформ, х.ч.

Уксусная кислота, ледяная

Спирт этиловый, 95%-ный

Соляная кислота, х.ч.

Натрий едкий, х.ч. 0,5 N и 5 N водные растворы

Фосфорно-молибденовая кислота, х.ч. 40%-ный водный раствор

Хроматон N-AW-DMS , 0,16 - 0,20 мм с 5% метилсиликона 5E-30

Азот особой чистоты, МРТУ 6-02-375-66

Стандартный раствор бензилового эфира 2,4-д в этаноле / рас-

творяют 0,01 г бензилового эфира 2,4-д в 10 мл этанола /

Стандартный раствор 2,4,5-трихлорфеноксисукусной кислоты

/ 2,4,5-Т /: растворяют 0,0150 г в 10 мл этанола

Экстракционный раствор: растворяют фиксанал буферного раство-

ра для рН-метрии с рН = 6,85 / калий фосфорнокислый однозаме-

щенный и натрий фосфорнокислый двузамещенный / в 1000 мл во-

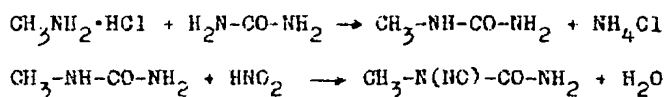
ды

Эфирный раствор диазометана

Получение диазометана

Получение диазометана осуществляют из нитрозометилмочевины.

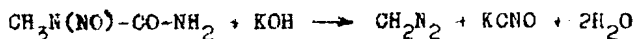
Для получения нитрозометилмочевины во взвешенную литровую круглодонную колбу помещают 200 г 24%-ного водного раствора метиламина / метиламин используется либо в виде водного раствора, либо в виде хлоридрата / и добавляют при охлаждении 155 мл концентрированной соляной кислоты до кислой реакции / индикатор метилрот /. Затем приливают такое количество воды, чтобы вес содержимого колбы достиг 500 г и прибавляют 300 г мочевины. Затем содержимое колбы осторожно кипятят с обратным холодильником 2 часа 45 минут и энергично 15 минут. Раствор в колбе охлаждают до комнатной температуры, растворяют в нем 110 г 95%-ного азотистокислого натрия и охлаждают до 0°C. В 3-х литровом стакане готовят смесь 600 г льда и 100 г концентрированной серной кислоты, охлаждая содержимое стакана смесью льда и соли. В этот стакан при перемешивании приливают содержимое круглодонной колбы / холодный раствор метилмочевины и нитрита натрия / с такой скоростью, чтобы температура не поднималась выше 30°C. Получение нитрозометилмочевины проходит по следующим реакциям



Нитрозометилмочевина всплывает на поверхность в виде мелких кристаллов, которые немедленно отфильтровывают на воронке Лехнера и хорошо отсасывают под вакуумом. Затем кристаллы на фильтре размешивают до образования пасты с 50 мл холодной дистиллированной воды, отсасывают и сушат в вакуумэкзикаторе. Выход нитрозометилмочевины 66-72% / 105-115 г / от теоретического.

Полученную таким образом нитрозометилмочевину можно хранить в холодильнике длительное время. При температуре выше 20°C ее не следует хранить более 1 часа. При температуре 30°C нитрозометилмочевина может разложиться без взрыва, но с выделением газообразных продуктов.

Получение диазометана из нитрозометилмочевины проходит по следующей реакции



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

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

Ни в коем случае не следует отгонять весь эфир!

Приборы и посуда

Газовый хроматограф с электронно-захватным детектором /Цвет-5, Цвет-106 и др. /

Делительные воронки на 1500, 500 и 250 мл

Колба мерная, 1 л

Колба Бунзена, 0,5 л

Воронка Бюхнера, диаметр 15 см

Прибор Кудерна-Данаши или ротационный испаритель

Аппарат для встряхивания

Колбы конические с шлифованной пробкой на 500 и 250 мл

Баня водяная

Холодильник Либиха

Электроплитка

Вакуумный водоструйный насос

Вакуумный масляный насос

Грушевидные и круглодонные колбы на 100 мл

Пробирки, 5 мл

Стаканы хамчатские, 50 мл

Мельница лабораторная / кофемолка /

Ход анализа

Вода. Пробу воды / 250 - 1000 мл / помещают в делительную воронку, прибавляют 1 мл соляной кислоты и экстрагируют

тремя порциями диэтилового эфира / 100, 50 и 50 мл /. Объединенные эфирные экстракты сушат безводным сульфатом натрия. Растворитель удаляют на ротационном испарителе или в приборе Кудерна-Даниша до объема 3-5 мл. Последние порции растворителя удаляют током воздуха / для этой цели можно использовать резиновую грушу /. Сухой остаток растворяют в 40 мл этанола, переносят в коническую колбу на 300 мл, прибавляют 5 н водный раствор едкого натра до слабощелочной реакции / универсальная индикаторная бумага /, присоединяют к колбе обратный холодильник и помещают на 2-2,5 часа на кипящую водяную баню для гидролиза бензилового эфира 2,4-Д до 2,4-Д. После окончанья гидролиза снимают обратный холодильник этанолом, давая смыву стечь в колбу, прибавляют 50 мл хлороформа и переносят содержимое колбы в делительную воронку на 500 мл. Экстрагируют 2,4-Д сначала 20 мл 5 N водного раствора едкого натра и 50 мл воды, а затем дважды 5 мл 5 N водного раствора едкого натра и 50 мл воды. Продолжительность каждой экстракции 3 мин. Органический растворитель отбрасывают, а объединенный водный экстракт трижды промывают хлороформом по 30 мл, отбрасывая хлороформ. Затем водный экстракт подкисляют 20 мл концентрированной соляной кислоты и экстрагируют 2,4-Д диэтиловым эфиром дважды по 50 мл. Эфирный экстракт сушат безводным сульфатом натрия и удаляют растворитель на ротационном испарителе. Последние порции растворителя удаляют током воздуха. К сухому остатку в круглодонной колбе на 100 мл прибавляют 5 мкг 2,4,5-Т / в виде раствора в диэтиловом эфире / и приливают эфирный раствор диазометана / при этом взбалтывая содержимое колбы / до обесцвечивания прекращения раствора в колбе. Затем удаляют растворитель досуха, остаток растворяют в 1 мл н-гексана и аликвоту хроматографируют при следующих условиях /хроматограф Цвет-106 /: стеклянная спиральная колонка / длина 1 м, внутренний диаметр 3 мм /, заполненная Хроматон Н, 0,16 - 0,20 мм, промытым кислотой и силианизированным ДМХС с 5% SE-30; скорость газа-носителя / азот особой чистоты / через колонку 50 мл/мин, скорость азота особой чистоты через детектор постоянной скорости рекомбинации 150 мл/мин, температура термостата колонок 170°C, температура термостата детектора 220°C, температура испарителя 220°C, шкала электрометра

$20 \cdot 10^{-12}$ а, скорость диаграммной ленты потенциометра 240 мм/ч
Порядок выхода из колонки хроматографируемых веществ: н-гексан / растворитель /, метиловый эфир 2,4-Д, метиловый эфир 2,4,5-Т. Время удерживания метилового эфира 2,4-Д 1 мин. 45 сек. 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 калибровочному графику находят содержание 2,4-Д в упаренном экстракте. Для построения калибровочного графика в круглодонные колбы на 100 мл помещают 5, 10, 15, 20 мкг 2,4-Д в виде раствора в диэтиловом эфире и в каждую колбу помещают 1 мл стандартного раствора 2,4,5-Т с содержанием 5 мкг/мл / в диэтиловом эфире / и далее поступают так, как это описано выше. На хроматограммах измеряют высоты пиков метиловых эфиров 2,4-Д и 2,4,5-Т и строят график зависимости отношения этих высот от отношения количества 2,4-Д и 2,4,5-Т в единице объема раствора.

Растительный материал. Навеску зерна пшеницы / 20 г /, измельченного в муку на лабораторной мельнице, помещают в коническую колбу с притертой пробкой / объем колбы 500 мл / и встряхивают на аппарате для встряхивания в течение часа со смесью растворителей, состоящей из 50 мл диэтилового эфира, 50 мл хлороформа и 1 мл ледяной уксусной кислоты. Твердые частицы отфильтровывают на воронке Бюхнера под вакуумом, колбу споласкивают небольшим количеством смеси растворителей хлороформ-диэтиловый эфир / 1:1 /. Фильтрат сушат безводным сульфатом натрия и удаляют растворитель на ротационном испарителе до объема 3-5 мл. Последние порции растворителей удаляют током воздуха. Сухой остаток растворяют в 40 мл этанола, переносят в коническую колбу на 300 мл, прибавляют 5 N водный раствор едкого натра до слабощелочной реакции / универсальная индикаторная бумага /, присоединяют к колбе обратный холодильник и помещают на 2 - 2,5 часа на кипящую водяную баню для гидролиза безазотного эфира 2,4-Д до 2,4-Д. После окончания гидролиза снимают обратный холодильник этанолом, давая смыву стечь в колбу, прибавляют 50 мл хлороформа и переносят содержимое колбы в делительную воронку на 500 мл. Экстрагируют 2,4-Д сначала 20 мл 5 N водного раствора едкого натра и 50 мл воды, а затем дважды 5 мл 5 N вод-

ного раствора едкого натра и 50 мл воды. Продолжительность каждой экстракции 5 минуты. Органический растворитель отбрасывают, а объединенный водный экстракт трижды промывают хлороформом по 30 мл, отбрасывая хлороформ. Затем водный экстракт подкисляют 20 мл концентрированной соляной кислоты и экстрагируют 2,4-Д диэтиловым эфиром дважды по 50 мл. Водную фазу отбрасывают, а эфирный экстракт переносят в делительную воронку на 250 мл и экстрагируют 2,4-Д тремя порциями 0,5 N водного раствора едкого натра / 50, 25 и 25 мл /. Объединенный щелочной экстракт промывают тремя порциями хлороформа по 10 мл, отбрасывая этот хлороформ. Щелочной экстракт подкисляют 10 мл концентрированной соляной кислоты, приливают 5 мл 40%-ного водного раствора фосфорно-молибденовой кислоты и извлекают 2,4-Д тремя порциями хлороформа по 10 мл. Из объединенного хлороформенного экстракта извлекают 2,4-Д тремя порциями экстракционного раствора по 25 мл. Объединенный экстракт промывают тремя порциями хлороформа по 10 мл, подкисляют 2 мл концентрированной соляной кислоты и извлекают 2,4-Д тремя порциями диэтилового эфира / 25, 10 и 10 мл /. Объединенный эфирный экстракт сушат безводным сульфатом натрия и удаляют растворитель на ротационном испарителе. Последние порции растворителя удаляют потоком воздуха. К сухому остатку в круглодонной колбе на 100 мл прибавляют 5 мкг 2,4,5-Т / в виде раствора в диэтиловом эфире /, приливают эфирный раствор диазометана и далее поступают так, как это описано при определении в воде.

Расчет результатов анализа

Для определения содержания 2,4-Д в пробе используют следующую формулу

$$X = \frac{K \cdot N \cdot P_{ст}}{N_{ст} \cdot \epsilon}, \text{ где}$$

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

K - поправочный коэффициент, равный тангенсу угла наклона калибровочного графика;

$P_{ст}$ - количество внесенной 2,4,5-Т, мг;

δ - количество анализируемой пробы, л или кг;

H - высота пика метилового эфира 2,4-Д, мм;

$H_{ст}$ - высота пика метилового эфира 2,4,5-Т, мм.

Для пересчета содержания в пробе бензилового эфира 2,4-Д необходимо полученные результаты умножить на 1,4077.