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

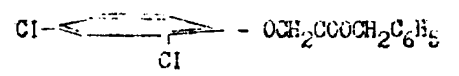
Часть VIII

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-ДИХЛОРФЕНОКСИУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ / 2,4-Д / В ВОДЕ И ЗЕРНЕ ПШЕНИЦЫ МЕТОДОМ ГАЗО-ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ *

Краткая характеристика препарата



Мол.вес 311,16

Бензиловый эфир 2,4-Д - белый кристаллический порошок с т.пл. 46°С и т.кип. 189 - 190°С/ 1 мм рт.ст. Давление насыщенных паров при 20°С $0,73 \cdot 10^{-5}$ мм рт.ст., при 40°С - $7,1 \cdot 10^{-5}$ мм рт.ст. В воде нерастворим, мало растворим в бензоле и дихлорэтане, хорошо растворим в диэтиловом эфире. Растворимость / вес. % / при 20°С составляет: в метаноле - 3,05, ацетоне - 5,4, этаноле - 7,84, бензиловом спирте - 14,5, циклогексаноне - 26,0, хлороформе - 32,6, ксилоле - 74,5.

Препарат бензилового 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: $ЛД_{50}$ - 1300 мг/кг / по данным Башкирского мединститута /.

Принцип метода *

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

---

* И.Н.Пиленкова, А.Д.Фатьянова, Г.К.Морина, Ж.И.Зорова, 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 I нг / в пересчете на бензиловый эфир 2,4-Д - I,3 нг /. Линейный 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 пробах составляет 96,0 - 99,0%. Относительная ошибка определения, найденная с надежностью 0,95, составляет ± 2,0%.

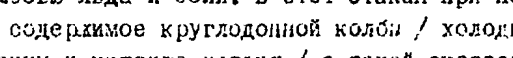
Реактивы и растворы

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-DMCS , 0,16 - 0,20 мм с 5% метилсиликона SE-30
Азот особой чистоты, МРТУ 6-02-375-66
Стандартный раствор бензилового эфира 2,4-Д в этаноле / растворяют 0,01 г бензилового эфира 2,4-Д в 10 мл этанола /
Стандартный раствор 2,4,5-трихлорфеноксиуксусной кислоты / 2,4,5-Т /: растворяют 0,0150 г в 10 мл этанола
Экстракционный раствор: растворяют фиксанал буферного раствора для pH-метрии с pH = 6,85 / калий фосфорнокислый однозамещенный и натрий фосфорнокислый двузамещенный / в 1000 мл воды
Эфирный раствор диазометана

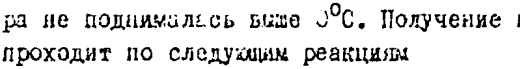
Получение диазометана

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 хлоргидрата / 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°С. 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 5°С. Получение нитрозометилмочевины проходит по следующим реакциям



$$CH_3NH_2 \cdot HCl + H_2N\text{-}CO\text{-}NH_2 \rightarrow CH_3\text{-}NH\text{-}CO\text{-}NH_2 + NH_4Cl$$

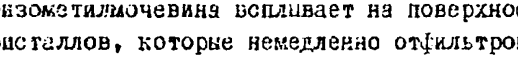


$$CH_3\text{-}NH\text{-}CO\text{-}NH_2 + HNO_2 \longrightarrow CH_3\text{-}N(NO)\text{-}CO\text{-}NH_2 + H_2O$$

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

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

Получение диазометана из нитрозометилмочевины проходит по следующей реакции



$$CH_3N(NO)\text{-}CO\text{-}NH_2 + KOH \longrightarrow CH_2N_2 + KCNO + 2H_2O$$

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

Реакционную колбу помещают на водяную баню, нагретую до 50°С. 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-Даниша или ротационный испаритель
Аппарат для встряхивания
Колбы конические с притертой 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 химические, 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 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 бензилового эфира 2,4-Д до 2,4-Д. После окончания гидролиза смывают 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 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 азота особой чистоты через детектор постоянной скорости рекомбинации 150 мл/мин, температура термостата колонок 170°С, температура термостата детектора 220°С, температура испарителя 220°С, 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 I 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 I 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 количеств 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 I мл ледяной уксусной кислоты. Твердые частицы отфильтровывают на воронке Бюхнера под вакуумом, колбу споласкивают небольшим количеством смеси растворителей хлороформ-диэтиловый эфир / I:I /. Фильтрат сушат безводным сульфатом натрия и удаляют растворитель на ротационном испарителе до объема 3-5 мл. Последние порции растворителей удаляют током воздуха. С ухой 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 бензилового эфира 2,4-Д до 2,4-Д. После окончания гидролиза смывают 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 3 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

$$X = \frac{K\ H\ P_{ст}}{H_{ст}\ \varepsilon}, \text{ где}$$

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;

в - количество анализируемой пробы, л или кг;
Н - 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.