

Д.Ю. Кирейчик

РУП «Институт защиты растений», аг. Прилуки, Минский р-н

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ФЛУРОХЛОРИДОНА В КЛУБНЯХ КАРТОФЕЛЯ МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Рецензент: канд. с.-х. наук Вабищевич Е.В.

Аннотация. Разработан метод определения микроколичеств действующего вещества флуорохлоридона в клубнях картофеля. Метод основан на экстракции определяемого вещества смесью ацетон-гексан, очистке экстрактов в системе несмешивающихся растворителей, дополнительной очистке проб путем колоночной хроматографии с последующим определением методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с детектором электронного захвата. Метод позволяет установить значение нижнего предела количественного определения и уровень извлечения, достаточный для детектирования остаточных количеств в клубнях картофеля ниже установленного максимально допустимого уровня (МДУ) содержания пестицида в культуре.

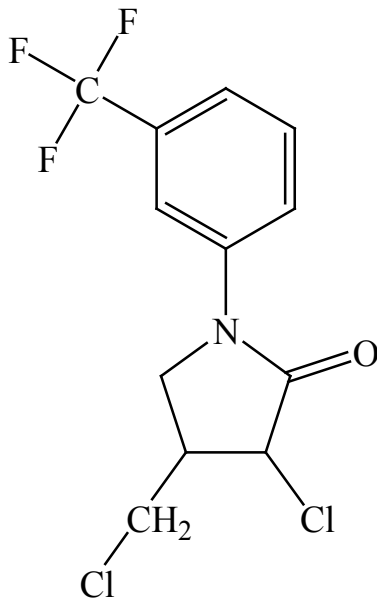
Ключевые слова: флуорохлоридон, газожидкостная хроматография, клубни картофеля, остаточные количества, методика определения, пестицид.

Введение. Флуорохлоридон является действующим веществом гербицида Рейсер, который разрешен в Беларуси для довсходового применения на посевах ржи, пшеницы, кукурузы, картофеля, подсолнечника, моркови, а также на смесевых посевах (овес+вика, овес+горох) [1]. Существующие методики определения остаточных количеств флуорохлоридона в эфирных маслах лаванды и мяты, в семенах и масле подсолнечника основаны на использовании капиллярных колонок с дорогостоящими и труднодоступными фазами, а также, не всегда доступных расходных материалов [2,3]. С целью расширения области применения методики для картофеля проведены исследования по подбору экстрагентов, по способам очистки экстрактов растительных образцов, по отработке режимов определения методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ). Физико-химические и санитарно-гигиенические характеристики флуорохлоридона приведены ниже [4].

Краткая характеристика флуорохлоридона:

Название действующего вещества по ИЮПАК (IUPAC – International Union of Pure and Applied Chemistry): (3*RS*,4*RS*;3*RS*,4*SR*)-3-хлоро-4-хлорметил-1-(α,α,α -трифтор-*m*-толил)-2-пирролидон.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{12}H_{10}Cl_2F_3NO$. Молекулярная масса: 312,12. Химически чистое вещество представляет собой кристаллический светло-бежевый порошок без запаха. Температура плавления (цис-изомер): 40,9 °C. Давление паров при 20 °C: $2,7 \times 10^{-4}$ Па. Растворимость в воде (мг/дм³, 20 °C): 21,9. Растворимость в органических растворителях (г/дм³, 20 °C): ацетон – 540, этилацетат – 592, метанол – 326, толуол – 616. Логарифм коэффициента распределения н-октанол-вода (при pH 7,0; 20 °C): $\lg P_{ow} = 3,36$.

Гигиенические нормативы максимально допустимого уровня содержания флуорохлорида для картофеля в Республике Беларусь установлены на уровне 0,1 мг/кг (в странах ЕС: картофель – 0,1 мг/кг) [5][6].

Результаты исследований и их обсуждение. В результате проведенных исследований были разработаны аналитические схемы извлечения флуорохлорида из образцов картофеля и очистки экстрактов. Изучено хроматографическое разделение флуорохлорида и подобраны оптимальные условия хроматографирования. Учитывая особенности строения молекулы флуорохлорида, а именно наличие атома хлора в составе молекулы, а также физико-химические свойства, хроматографирование осуществляли с использованием детектора электронного захвата, что позволило повысить чувствительность.

Принцип метода пробоподготовки.

Метод основан на экстракции флуорохлорида из растительных проб ацетон-гексановой смесью, очистки экстрактов, с последующим определением способом газожидкостной хроматографии. Установлено, что помещение пробы во время экстракции в ультразвуковую ванну положительно сказывается на значении определения. Опытным путем подобраны оптимальные соотношения объемов гексана и водного ацетонитрила, а так же концентрации соответствующих фаз для очистки экстракта, основываясь на зависимости распределения флуорохлорида в системе водный раствор ацетонитрила и гексана.

Избирательность и метрологические характеристики метода

В предлагаемых условиях определения метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых в программах защиты картофеля.

Для получения метрологических характеристик метода, проводят по 2 параллельных определения с тремя уровнями содержания вещества, внесенных искусственно, в пробы. Осуществляют по три параллельных измерения каждого из образцов и находят среднее значение площади хроматографического пика для каждой концентрации. Метрологические характеристики метода представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Метрологические характеристики метода определения флуорохлорида

Анализируемый объект	Метрологические параметры, $P = 0,95$ $n = 6$				
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение (S), %	Доверительный интервал среднего, %
Картофель (клубни)	0,023	0,01-0,5	85,2	3,5	85,2 $\pm$ 3,6

,где P – доверительная вероятность (коэффициент надёжности);

n – размер выборки (число измерений).

Средства измерения, вспомогательные устройства, материалы и реактивы.

Флуорохлоридон с содержанием действующего вещества 99,0 % (ADAMA Registrations B.V., Нидерланды). Ацетон, ч.д.а., ГОСТ 2603-79. Гексан, х.ч., ТУ 2631-003-05807999-98. Ацетонитрил, о.с.ч., HPLC Gradient grade. Натрий хлористый, х.ч., ГОСТ 4233-77. Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72. Этилацетат, х.ч., ГОСТ 22300-76. Оксид алюминия 2-ой степени активности. Азот газообразный, осч, ГОСТ 9293-74. Весы аналитические первого (типа МВ 210-А) класса точности. Мерная колба 100 мл, ГОСТ 1770-74. Центрифужные пробирки

вместимостью 50 мл с завинчивающимися крышками. Шприц медицинский, пластиковый, объемом 10 мл. Вата медицинская. Колбы остродонные. Пипет-дозаторы с регулируемым объемом дозирования на 100-1000 мкл, 1000-5000 мкл. Центрифуга BiosanLMC-3000. Ультразвуковая ванна Сапфир ТТЦ 4л/1, ГОСТ 15150-69. Весы лабораторные ВЛКТ 500, ТУ 25-06.1101-79. Хроматограф газовый «Кристалл 5000.2» с детектором электронного захвата. Капиллярная колонка для газовой хроматографии Restek Rtx-5MS. Ротационный испаритель ИКА RV 05 Basic 1-B или аналогичный. Колбы остродонные вместимостью 50 мл, ГОСТ 25336-82.

Отбор проб.

Отбор проб осуществляют в соответствии с СТБ 1036-97 «Продукты пищевые и продовольственное сырье. Методы отбора проб для определения показателей безопасности» Отобранные пробы при необходимости хранят в морозильнике при -18°C .

Приготовление стандартных растворов.

Основной стандартный раствор флуорохлорида с концентрацией 100 мкг/мл готовят растворением 10 мг препарата в ацетоне в мерной колбе на 100 мл. Рабочие растворы с концентрациями 0,1; 0,5; 1,0; 2,0 и 5,0 мкг/мл готовят из основного стандартного раствора флуорохлорида соответствующим последовательным разбавлением ацетоном.

Приготовление растворов для элюирования.

Для приготвления 10 %-го раствора этилацетата в гексане для элюирования (далее раствор А), в плоскодонную колбу объемом 250 мл наливают 100 мл гексана с помощью мерного цилиндра и добавляют в него 11 мл этилацетата. Раствор хорошо перемешивают и закрывают пробкой.

Построение калибровочного графика.

Для построения калибровочного графика вводят в испаритель хроматографа по 1 мкл рабочих стандартных растворов флуорохлорида с концентрациями 0,1; 0,5; 1,0; 2,0 и 5,0 мкг/мл. Осуществляют три параллельных измерения и находят среднее значение площади хроматографического пика для каждой концентрации. Строят калибровочный график зависимости площадей хроматографических пиков от концентраций флуорохлорида в растворе в мкг/мл.

Методика пробоподготовки

Экстракция из картофеля.

Образец измельченной картофеля массой 10,0 г помещают в полипропиленовую центрифужную пробирку с завинчивающейся крышкой на 50 мл. В пробирку добавляют 4 г хлорида натрия и 35 мл смеси

ацетон:гексан (50:50 по объему) и встряхивают в течение 2 минут, после чего помещают в ультразвуковую ванну и выдерживают 10 минут. После пробирку помещают в центрифугу и смесь центрифугируют в течение трех минут при скорости вращения 3000 об/мин. Пробирку осторожно извлекают из центрифуги. Из верхнего ацетон-гексанового слоя отбирают аликвоту объемом 25 мл в остродонную колбу. Отобранный ацетон-гексановый экстракт упаривают досуха. Далее проводят очистку экстракта.

Очистка экстракта.

К сухому остатку в колбе после упаривания добавляют 2,5 мл 90 %-ного раствора ацетонитрила в воде и 2,5 мл гексана, насыщенного ацетонитрилом, и колбу встряхивают в течение 1 минуты. После расслоения фаз, нижний водно-ацетонитрильный слой переносят в другую остродонную колбу, добавляют к нему 25 мл дистиллированной воды и 1 мл насыщенного раствора NaCl. Флуорохлоридон экстрагируют дважды из полученного раствора гексаном порциями по 10 мл последовательно, встряхивая смесь в течение 2-х минут и отбирая верхний гексановый слой органического растворителя. Экстракты объединяют и упаривают досуха.

Подготовка колонки с оксидом алюминия.

На дно медицинского шприца объемом 10 мл помещают ватный тампон, смоченный гексаном. Взвешивают 3,0 г оксида алюминия с точностью до 0,1 г. В шприц наливают 5 мл 10 %-го (по объему) раствора этилацетата в гексане (раствор А), носик шприца предварительно закрывают и всыпают взвешенный оксид алюминия через стеклянную воронку, аккуратно потряхивая шприц. Дают оксиду алюминия осесть ровным слоем на вату и открывают носик. После того как растворитель стечет, колонку промывают еще 15 мл раствора А, после чего колонка готова к использованию.

Очистка на колонке с оксидом алюминия.

Сухой остаток при помощи раствора А, приготовленного согласно пункту «приготовление стандартных растворов» трижды по 1 мл переносят на заранее подготовленную хроматографическую колонку для очистки экстрактов с оксидом алюминия. Препарат элюируют 30 мл вышеуказанного раствора А. Элюат собирают и упаривают досуха.

Полученный сухой остаток растворяют в 1 мл ацетона. Аликвоту объемом 1 мкл вводят в хроматограф.

Условия хроматографирования.

Хроматограф газожидкостный «Кристалл – 5000.2» с электронозахватным детектором (ДЭЗ) и программным обеспечением Unichrom

или аналогичный. Хроматографическая колонка для капиллярной хроматографии Restek Rtx-5MS, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм. Время анализа: 12,3 мин. Температурные режимы термостата колонки – 230 °С в течение 6 минут, поднятие до 270 °С со скоростью 30 градусов в минуту, изотермический участок при 270 °С в течение 4 минут для кондиционирования колонки и удаления возможных интерферирующих пиков с последующими заколами. Температура испарителя – 270 °С. Температура детектора – 310 °С. Газ-носитель – азот. Давление газа на входе – 140 кПа. Сброс, мл/мин: постоянный 40 мл/мин. Скорость потока на входе 46,6 мл/мин. Объем вводимой пробы – 1 мкл. Время выхода флуорохлорида 3,5 мин.

Количественное определение проводится методом абсолютной калибровки.

Образцы, дающие пики большие, чем стандартный раствор с концентрацией 5,0 мкг/мл, разбавляют ацетоном.

Обработка результатов анализа

Содержание флуорохлорида в пробе (X, мг/кг) рассчитывают методом абсолютной калибровки по формуле:

$$X = \frac{C_{\text{экстр}} \times V_{\text{экстр}}}{m_{\text{пр}} \times r \times K} \times 100 \%,$$

где $C_{\text{экстр}}$ – концентрация действующего вещества в экстракте, определяемая программным обеспечением хроматографа, мкг/мл;

$V_{\text{экстр}}$ – конечный объем экстракта анализируемой пробы перед введением в хроматограф, мл;

$m_{\text{пр}}$ – масса анализируемой пробы измельченного картофеля, г;

r – степень извлечения флуорохлорида, определяемая сравнением контрольного образца с образцом с искусственно добавленным флуорохлоридом, %;

K – коэффициент, учитывающий отбор аликвоты ацетон-гексанового слоя после стадии центрифугирования (25/35).

Требования безопасности.

При работе с приборами, оборудованием и реактивами должны соблюдаться требования безопасности, установленные в технических нормативных правовых актах.

Предельно допустимые концентрации применяемых при работе токсичных, едких и легко воспламеняющихся веществ в воздухе рабочей зоны не должны превышать значений, указанных в ГОСТ 12.1.005-88 «Система стандартов безопасности труда: Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны» (далее – ГОСТ 12.1.005-88)

и Санитарных правилах и нормах (далее – СанПиН) 11-19-94 «Перечень регламентированных в воздухе рабочей зоны вредных веществ», утвержденных Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 09 марта 1994 г.

Параметры микроклимата на рабочих местах должны соответствовать требованиям СанПиН 9-80-98 «Гигиенические требования к микроклимату производственных помещений», утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь от 25 марта 1999 г. № 12 и ГОСТ 12.1.005-88.

Заключение. В результате проведенных исследований разработан метод определения остаточных количеств флуорохлорида в клубнях картофеля. Отличительные особенности определения флуорохлорида заключаются в подготовке и очистке пробы, что позволяет с достаточной чувствительностью анализировать препарат методом газожидкостной хроматографии с использованием детектора электронного захвата. В предложенном варианте метод дает возможность проводить селективное определение флуорохлорида с удовлетворительной степенью извлечения в присутствии других пестицидов, используемых в программах защиты картофеля. Метод также позволяет избавиться от мешающих интерферирующих пиков коэкстрактивных веществ и получить нижний предел количественного определения ниже максимально допустимого уровня содержания пестицида в клубнях картофеля.

Список литературы

1. Государственный реестр средств защиты растений и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь / сост. А. В. Пискун [и др.]. – Минск: Промкомплекс, 2017. – 688 с.
2. Методы контроля. Химические факторы: методические указания. МУК 4.1.2593-10 Изд. офиц. – М., 2010. – 179 с.
3. Временные методические указания по определению Рейсера в эфирных маслах лаванды и мяты методом газожидкостной хроматографии (дополнение к № 4446-87) // Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. – М., 1993. – сб. № 21. – С. 168–173.
4. Мельников, Н.Н. Пестициды и регуляторы роста / Н.Н. Мельников, К.В. Новожилов, С.Р. Белан. – Справочное издание. – М.: Химия, 1995. – 576 с.
5. Гигиенические нормативы содержания действующих веществ пестицидов (средств защиты растений) в объектах окружающей среды, продовольственном сырье, пищевых продуктах: постановление Министерства здравоохранения Республики Беларусь, 27 сент. 2012 г., № 149. // Законодательство / Центр экологических услуг [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.iso14000.by/library/low/industry/376>. – Дата доступа: 18.03.2019.
6. EU Pesticides database, Last update: 07.04.2016 [Electronic resource]. – Mode of access: <http://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public>. – Date of access: 18.03.2019.

D. Yu. Kireychik

RUE «Institute of Plant Protection», a/c Priluki, Minsk district

DETERMINATION OF FLUROCHLORIDONE RESIDUES IN POTATO TUBERS BY THE GAS- LIQUID CHROMATOGRAPHY METHOD

Annotation. A method has been developed for the determination of the the active ingredient fluorchloridone microquantities in potato tubers. The method is based on the extraction of the determined compound with an acetone-hexane mixture, purification of extracts in a system of immiscible solvents, additional purification of samples by column chromatography, followed by determination by gas-liquid chromatography (GLC) with an electron capture detector. The method allows you to set the value of the lower limit of quantification and the level of extraction sufficient for detecting the residues in potato tubers below the determined maximum permissible level (MPL) of the pesticide content in the crop.

Keywords: fluorchloridone, gas-liquid chromatography, potato tubers, residual quantities, determination method, pesticide.