УДК 632.954:633.63

П.М. Кислушко, С.А. Арашкович
РУП «Институт защиты растений», аг. Прилуки, Минский р-н

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ С-МЕТОЛАХЛОРА В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ, ПОЧВЕ И ВОДЕ МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Рецензент: канд. с.-х. наук Крупенько Н.А.

Аннотация. Разработан метод определения микроколичеств гербицида С-метолахлор в растениях свеклы, картофеля, почве и воде. Метод основан на экстракции С-метолахлора из воды хлороформом, из растительных проб и почвы смесью вода-ацетон, бромировании сухого остатка с последующим определением способом газожидкостной хроматографии. Предел обнаружения (мг/кг): вода – 0,001; почва - 0.01; сахарная свекла – 0,005-0,01; картофель – 0,005.

Ключевые слова. С-метолахлор, свекла, картофель, почва, вода, газожидкостная хроматография, остаточные количества, методы анализа.

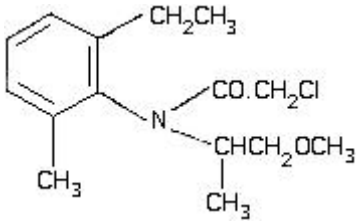
Введение. С-метолахлор входит в состав семи препаративных форм гербицидов, в том числе производимых в Беларуси (Дуал Голд, КЭ; Камикс, СЭ; Примэкстра Голд, TZ, СК; Экстракорн, СЭ; Люмакс, СЭ; Камелот, СЭ; Гербисан, СЭ). Гербицидные препараты на основе С-метолахлора используются в программах защиты сахарной, столовой, кормовой свеклы, картофеля, кукурузы, подсолнечника, люпина узколистного, суданской травы [1].

Существующие методы определения остаточных количеств С-метолахлора в растительной продукции основаны на использовании газожидкостной хроматографии с использованием насадочных и капиллярных колонок и термоионного или электронзахватного детекторов [2, 3]. С целью повышения чувствительности и селективности определения С-метолахлора в различных средах целесообразно использовать методы, основанные на использовании газожидкостной хроматографии химических производных, позволяющих в ряде случаев существенно повысить чувствительность определения пестицида [4-6].

Физико-химические и санитарно-гигиенические характеристики С-метолахлора приведены ниже [7]. Название действующего вещества по ИСО: С-метолахлор.

Название д.в. по номенклатуре ИЮПАК: 2-хлоро-6’-этил-N-(2-метокси-1-метил-этил) ацет-о-толуидид.

Структурная формула С-метолахлора:



Эмпирическая формула д.в.: $C_{15}H_{22}ClNO_2$.

Молекулярная масса д.в.: 283,8.

Химически чистое вещество: вязкая бесцветная жидкость.

Плотность д.в. при 20 °С: 1,12 г/см.

Давление паров д.в. при 20 °С: 1,7 мПа

Растворимость д.в. (г/л) при 20 °С: в воде – 0,53, хорошо растворим в бензоле, дихлорметане, гексане, метаноле, октаноле.

С-метолахлор устойчив к действию света и УФ-излучения, не разлагается до температуры +300 °С. Стабилен в водных растворах с pH 1-9. Период полураспада в почве 30 дней.

МДУ, мг/кг: бахчевые, огурцы – 0,05*; табак, хмель сухой – 1,0*; хлопчатник (масло), соя (масло), капуста – 0,02; кукуруза (зерно), соя (бобы), подсолнечник (семена), свекла столовая, рапс (зерно, масло) – 0,1; подсолнечник (масло), свекла сахарная – 0,05; кукуруза (масло) – 0,1 [8]. Все гербицидные препараты на основе С-метолахлора относятся к третьему классу опасности [1].

Результаты исследований. Выбор условий экстракции, очистки экстрактов и хроматографического разделения препарата в значительной степени определялся химической структурой с-метолахлора. С целью повышения чувствительности анализа методом газожидкостной хроматографии с использованием детекторов электронного захвата (ДЭЗ) или постоянной скорости рекомбинации (ДПР) были проведены исследования по модификации молекулы С-метолахлора, в частности, путем бромирования в парах брома. Данная процедура позволила существенно (примерно в 14-15 раз) снизить уровень минимального детектируемого количества препарата при использовании детекторов ДЭЗ и ДПР (таблица 1).

Таблица 1 – Влияние бромирования на чувствительность определения С-метолахлора

Массовая доля гербицида, введенного в хроматограф, нг	Площадь пика, мм^2	
	Без бромирования	С бромированием
10.0	5.0	75.0
20.0	12.0	168.0

Ранее нами были проведены исследования и разработаны методы определения микроколичеств гербицидов бетанальной группы в растениях свеклы (фенмедифам, десмедифам, этофумесат, метамитрон) [4-6]. Некоторые методические подходы были использованы при разработке метода определения С-метолахлора.

Принцип метода определения. Метод основан на экстракции С-метолахлора из воды хлороформом, из растительных проб и почвы смесью вода-ацетон, бромировании сухого остатка с последующим определением способом газожидкостной хроматографии.

Избирательность и метрологические характеристики метода. В предлагаемых условиях определения метод специфичен в присутствии пестицидов, применяемых в системах защиты свеклы и картофеля. Метрологические характеристики представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Метрологические характеристики метода определения С-метолахлора

Анализируемый объект	Метрологические параметры, P = 0,95 n = 6					
	Предел обнаружения, мг/кг	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение (S), %	Относительное стандартное отклонение, (DS), %	Доверительный интервал среднего, %
Вода	0,001	0,001-0,01	88,0	4,69	0,05	88,0 ± 6,52
Почва	0,01	0,01-0,1	82,0	6,27	0,08	82,0 ± 8,72
Сахарная свекла, ботва	0,01	0,01-0,1	76,5	1,29	0,02	76,5 ± 1,79
Сахарная свекла, корнеплод	0,005	0,005-0,05	92,5	5,26	0,06	92,5 ± 7,31
Картофель, клубни	0,005	0,005-0,05	85,5	5,00	0,06	85,5 ± 6,95

Средства измерения, вспомогательные устройства, материалы и реактивы. С-метолахлор, аналитический стандарт с массовой долей действующего вещества 98,6 %. Вода дистиллированная, ГОСТ 7602-72. Азот газообразный, осч, ГОСТ 9293-74. Ацетон, чда, ГОСТ 2603-7. Хлороформ, ТУ 2631-026-78119972-2010. Стекловата (стеклоткань). Хроматон N-супер (0,100-0,125 мм). Фильтры бумажные, синяя лента, ТУ 2642-001-68085491-2011. Фильтры бумажные, черная лента ТУ 2642-001-42624157-98. Хроматограф газовый, Цвет-800 с детектором постоянной скорости рекомбинации или HEWLETT PACKARD с детектором электронного захвата. Колонка хроматографическая стеклянная, 1500 х 2 мм, заполненные неподвижными фазами OV-17 (3 %) на хроматоне N-супер; колонка составная, 1500 мм (OV-1, 50 % +

OV-17, 50 %) на хроматоне N-super (0.125-0.160 мм). Микрошприц емкостью 10 мкл МШ-10Ф по ТУ 64-1-2850 или аналогичный. Весы аналитические типа ВЛР-200, ГОСТ 19401-74. Встряхиватель механический, ТУ 64-1-1081-73 или аналогичный. Размельчитель тканей РТ-1 по ТУ 64-1-1505-79 или аналогичный. Ротационный испаритель тип ИР-1М, ТУ 25-11-917-76 или аналогичный. Воронки для фильтрования стеклянные, ГОСТ 8613-75. Колбы конические с притертыми пробками вместимостью 250 см^3, ГОСТ 25336-82. Колбы мерные вместимостью 100 и 250 см^3, ГОСТ 1770-74. Колбы грушевидные вместимостью 100 см^3, ГОСТ 25336-82. Пробирки вместимостью 25 см^3, ГОСТ 1770-74. Пробирки градуированные с притертыми пробками вместимостью 5 см^3, ГОСТ 10515-75. Пипетки мерные вместимостью 0,1 и 1 см^3, ГОСТ 20292-74Е. Бюксы стеклянные КШ 24/10.

Отбор проб. Отбор проб осуществлялся в соответствии с СТБ 1036-97 «Продукты пищевые и продовольственное сырье. Методы отбора проб для определения показателей безопасности». Отобранные пробы хранят в стеклянной таре в холодильнике при температуре +2...+5 °С. Для длительного хранения (30 и более суток) пробы помещают в морозильную камеру при температуре не выше – 15 °С.

Приготовление стандартных растворов. Основной стандартный раствор С-метолахлора с концентрацией 40 мкг/см^3 готовят растворением 10 мг препарата в ацетоне в мерной колбе на 250 см^3. Рабочие растворы с концентрациями 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 мкг/см^3 готовят путем разбавления соответственно 1,25; 2,5; 5,0; 10,0 см^3 основного раствора ацетоном в мерной колбе до 100 см^3. Все растворы хранят в холодильнике при температуре +2...+5 °С не более одного месяца.

Подготовка и кондиционирование колонок. Неподвижные фазы (таблица 3), нанесенные на Хроматон N-супер, засыпают в стеклянные колонки длиной 1500 – 2000 мм и уплотняют под вакуумом. Составную колонку длиной 1500 мм заполняют неподвижной фазой OV-1(750 мм) и OV-17(750 мм), нанесенные на Хроматон N-супер. Все колонки (кроме Карбовакс 20М) кондиционируют при температуре 280 °С в течение 16-20 часов. Колонку, заполненную Карбовакс 20М кондиционируют 16-20 часов при температуре 225 °С.

Построение калибровочного графика. Для построения калибровочного графика в стеклянные бюксы вносят по 1 мл стандартных растворов С-метолахлора с содержанием препарат 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 мкг/см^3, выдувают растворитель током холодного воздуха, проводят бромирование по п. 2.7.1.3. Сухие остатки после бромирования растворяют в 2 мл ацетона и 2 мкл вводят в испаритель хроматографа, при этом осуществляют

не менее 5 измерений по каждой концентрации. Определяют среднее значение площади пика для каждой концентрации и по полученным значениям строят график зависимости площади пика от концентрации С-метолахлора в растворе.

Экстракция С-метолахлора, подготовка к ГЖХ-определению

Вода. 50 мл воды экстрагируют хлороформом (3 раза по 30 мл, встряхивая каждый раз по 1 мин). Объединенные хлороформные экстракты фильтруют через двойной бумажный фильтр «синяя лента» и упаривают досуха. Сухие остатки количественно переносят ацетоном в стеклянные бюксы и упаривают под вентилятором досуха.

Почва. 20 г почвы встряхивают 2 часа с 80 мл смеси вода-ацетон 3:1 по объему в конических колбах на 250 мл. Центрифугируют в течение 3 мин при 4000 об./мин. Центрифугат отделяют, осадок переносят 80 мл смеси вода-ацетон (3:1) в коническую колбу на 250 мл, встряхивают 30 мин, центрифугируют при 4000 об./мин в течение 3 мин.

К центрифугату в делительной воронке добавляют 30 г NaCl, перемешивают до полного растворения соли. Водный раствор трижды экстрагируют хлороформом (40, 30, 30 мл), встряхивая каждый раз по 1 мин. Хлороформные экстракты пропускают через двойной бумажный фильтр «синяя лента», упаривают досуха. Сухие остатки количественно переносят ацетоном в стеклянные бюксы и упаривают досуха под вентилятором.

*Сахарная свекла (корнеплод, ботва), картофель (клубни)***.** Зеленую массу измельчают ножом, корнеплоды свеклы и клубни картофеля натирают на терке. 10-20 г пробы встряхивают 1 час с 80 мл смеси вода-ацетон (3:1 по объему) в конических колбах на 250 мл. Фильтруют через бумажный фильтр «черная лента». К твердому остатку добавляют 80 мл смеси вода-ацетон (3:1), встряхивают 30 мин. Фильтруют через бумажный фильтр «черная лента». Объединенные экстракты переносят в делительную воронку, добавляют 30 г NaCl, перемешивают до полного растворения соли и трижды экстрагируют хлороформом (40, 30, 30 мл), встряхивая каждый раз по 1 мин. Хлороформные экстракты пропускают через двойной бумажный фильтр «синяя лента», упаривают досуха. Сухие остатки количественно переносят ацетоном в стеклянные бюксы и упаривают досуха под вентилятором.

Бромирование С-метолахлора. Открытые бюксы с сухими остатками проб помещают в эксикатор, в который помещают стеклянный бюкс с внесенными в него 10 каплями жидкого брома. Эксикатор закрывают крышкой, помещают в темное место и выдерживают в течение 10-12 часов (можно оставлять для бромирования на ночь).

Примечание. Бромирование образцов проб и стандартных образцов с известным содержанием с-метолахлора проводят одновременно.

Внимание! Все работы с бромом необходимо проводить в вытяжном шкафу

После бромирования бюксы с пробами и стандартными образцами продувают током холодного воздуха в течение 10-20 мин, растворяют содержимое в 2 мл ацетона и вводят в испаритель хроматографа 2 мкл раствора.

Условия хроматографирования. Режимы хроматографического определения С-метолахлора приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Условия ГЖХ-хроматографического определения С-метолахлора

Режимы ГЖХ-анализа				Время удержива-ния, мин
Хроматограф, тип колонки	Температура, °С			
	колонка	испаритель	детектор	
«Цвет-800», OV-17, 3 %, 1,5 м	190	230	250	2.6
«Цвет-800», Составная, 1.5 м (OV-1 + OV-17)	200	230	250	2.4
HEWLETT PACKARD, OV-101, 2 м,	240	240	270	5.4
HEWLETT PACKARD, Карбовакс 20 М, 2 м	200	200	240	1.3

Обработка результатов анализа. Содержание С-метолахлора в пробе рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{C_{ст} \times S_{пр} \times V_{к}}{S_{ст} \times V_{хр} \times M},$$

где X – содержание препарата в пробе , мг/кг (л);

$C_{ст}$ – содержание препарата в стандартном растворе, нг;

$S_{ст}$ – площадь пика стандартного раствора гербицидов, мм^2;

$S_{пр}$ – площадь пика пробы, мм^2;

$V_{к}$ – объем конечного раствора, в котором растворена проба, мл;

$V_{хр}$ – объем экстракта пробы, введенный в испаритель, мкл;

M – навеска пробы, г.

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.

Работа с растворами метанола, ацетона, хлороформа, а также с жидким бромом проводится под вытяжной системой.

Заключение. В результате проведенных исследований разработан метод определения остаточных количеств гербицида С-метолахлор в растениях свеклы, картофеля, почве и воде. Отличительные особенности определения С-метолахлора заключаются в особенностях подготовки пробы, что позволяет с достаточной чувствительностью анализировать препарат методом газожидкостной хроматографии с использованием детектора постоянной скорости рекомбинации или детектора электронного захвата. В предложенном варианте метод дает возможность проводить селективное определение С-метолахлора в присутствии других пестицидов, используемых в программах защиты сахарной свеклы и картофеля.

Список литературы

1. Государственный Реестр средств защиты растений (пестицидов) и удобрений, разрешенных к применению на территории Республики Беларусь / Сост. А.В Пискун [и др.]. – Минск: «Промкомплекс», 2017. – 688 с.

2. Методичні вказівки з визначення методахлору в коренеплодах цукрового буряка методами газоридинной та тонкошаровой хроматографій // Методичні вказівки з визначення мікрокількостей пестицидів в продуктах харчування кормах та наваколишньому середовищі. – Київ, 2004. – Зб.№ 39. – С. 237–244.

3. Методические указания по определению метолахлора в кукурузе, сое, подсолнечнике, масле методом газожидкостной хроматографии // Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в пищевых продуктах, кормах и внешней среде. – Киев, 2001. – Сб.№ 29. – С. 97–100.

4. Кислушко, П.М. Определение остаточных количеств фенмедифама и десмедифама при совместном присутствии в растениях свеклы / П.М. Кислушко // Защита растений: сб. научн. тр. / РУП «Ин-т защиты растений». – Несвиж, 2009. – Вып.33. – С. 398–405.

5. Кислушко, П.М. Определение микроколичеств метамитрона в растениях свеклы, почве и воде методом газожидкостной хроматографии / П.М. Кислушко// Защита растений: сб. научн. тр. / РУП «Ин-т защиты растений». – Несвиж, 2009. – Вып.33. –С. 390–397.

6. Кислушко, П.М. Определение остаточных количеств этофумесата в растениях свеклы, почве и воде методом газожидкостной хроматографии / П.М.Кислушко // Защита растений: сб. научн. тр. / РУП «Ин-т защиты растений». – Несвиж, 2012. –Вып.36. – С. 235–242.

7. Мельников, Н.Н. Пестициды и регуляторы роста: справочное издание / Н.Н. Мельников, К.В. Новожилов, С.Р. Белан. – М.: Химия, 1995. – 576 с.

8. Гигиенические нормативы содержания действующих веществ пестицидов (средств защиты растений) в объектах окружающей среды, продовольственном сырье, пищевых продуктах: http:// www.iso14000.by / library /low / industry / 376

P.M. Kislushko, S.A. Arashkovich

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

C-METOLACHLOR RESIDUES DETERMINATION IN PLANT MATERIAL, SOIL AND WATER BY GAS - LIQUID CHROMATOGRAPHY METHOD

Annotation. The method of c-metolachlor herbicide microqualities determination in sugar beet, potato, soil and water is developed. The method is based on c-metolachlor extraction from water by chloroform , from plant samples and soil by water – acetone mixture, dry residues bromating with the subsequent determination by gas-liquid chromatography. Limit of discovery (mg/kg): water – 0,001; soil – 0,01; sugar beet – 0,005-0,01; potato – 0,005.

Key words. C-metolachlor, sugar beet, potato, soil, water, gas-liquid chromatography, residues, methods of analysis.