



УКРАЇНА

(19) UA (11) 34515 (13) C2

(51) 7 G01N30/02, 30/04, 30/38

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛИШКОВИХ КІЛЬКОСТЕЙ ГЕРБІЦИДУ СТОМП В ОБ'ЄКТАХ ДОВКІЛЛЯ ТА ПРОДУКЦІЇ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКОГО ВИРОБНИЦТВА

(21) 99063355

(22) 16.06.1999

(24) 15.03.2001

(46) 15.03.2001, Бюл. № 2, 2001 р.

(72) Моклячук Лідія Іванівна, Кавецький Володимир Миколайович, Макаренко Наталія Анатоліївна, Піскунова Лариса Едуардівна

(73) ІНСТИТУТ АГРОЕКОЛОГІЇ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ УКРАЇНСЬКОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК

(56) Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде. - Справочник. - Т 1/Сост. Клищенко М.А., Калинина А.А., Новикова К.Ф. и др. - М.: Колос, 1992. - С.205-207 (прототип).

(57) Спосіб визначення залишкових кількостей гербіциду стомп в об'єктах довкілля та продукції сільськогосподарського виробництва, який полягає у газохроматографічному визначенні залишків діючої речовини гербіциду стомп - пенноксаліну з детектором по рекомбінації електронів (ДПР) на нерухомій фазі SE-30 або XE-60 після вилучення пенноксаліну з проби розчином сірчаної кислоти, який **відрізняється** тим, що на стадії підготовки зразків до аналізу пенноксалін екстрагують двічі 18-22% розчином сірчаної кислоти протягом 30-60 хвилин, нейтралізують кислі екстракти розчином NaOH до рН=7, реекстрагують гексаном та випарюють гексанові екстракти до об'єму 1 мл.

Вінахід відноситься до області аналітичної хімії пестицидів, а саме, до нового способу визначення залишкових кількостей гербіциду стомп (синоніми: пендиметалін, провал, АС 92553). Може бути використаний для аналізу об'єктів довкілля та продукції сільського господарства.

Технічна назва діючої речовини гербіциду стомп - пенноксалін, хімічна назва: 3,4-диметил-2,6-динітро-N-(пентил-3)-анілін-кристалічна речовина оранжево-жовтого кольору. Брутто-формула $C_{13}H_{19}N_3O_4$. Молекулярна маса 281,3 в.о. У чистому вигляді - темно-оранжеві кристали, температура топлення 54-58°C, температура кипіння 330°C, тиск насиченої пари 3×10^{-5} мм рт.ст. при 25°C. Стейкий у кислому та лужному середовищі. Розчинність у воді 0,5 мг/л при 23°C, в ацетоні 699 г/л при 26°C, розчиняється в гексані, бензолі, толуолі, хлороформі, етанолі. Випускається у формі концентрата емульсії 33% д.р., 50 % змочувального порошка і 3 % гранульованого препарату. ЛД₅₀ для щурів 2700-2930 мг/кг. МДУ в сої, часнику, жмелі, соєвій і кукурудзяній олії - 0,1 мг/кг, в овочах (томати, морква, капуста, огірки, петрушка) - 0,05 мг/кг, в бавовниковій олії та цукрових буряках < 0,001 мг/кг (не допускається), ДДД 0,25мг/кг.

Процес визначення залишкових кількостей пестицидів у різних об'єктах методами газової хроматографії можна розділити на два основних етапи: підготовку зразків та аналіз екстрактів за допомогою приладів. Від того, як старанно

підготовані зразки, у великій мірі залежить якість аналізу, помилки на цьому етапі можуть призвести до некоректних результатів, а іноді не дають можливість провести визначення вмісту залишків пестицидів. Тому при підготовці зразків бажано обирати способи максимального вилучення залишків пестицидів і, при цьому, мінімального вилучення органічних складових об'єкту, що аналізується. У тому випадку, коли екстракція пестицидів супроводжується вилученням великої органічної матриці, проводять очистку екстрактів, але кожна додаткова операція дає можливість внести похибку в кінцевий результат аналізу.

Відомо декілька способів визначення пенноксаліну у об'єктах довкілля методом газової хроматографії. Так, спосіб, розроблений Т.А. Пережогіною для визначення стомпу у тютюні, оснований на газохроматографічному визначенні пенноксаліну з детектором по рекомбінації електронів (ДПР) на нерухомій фазі ECSS-X після екстракції сумішшю вода - хлористоводнева кислота - етанол, очистці екстракту перерозподілом між двома рідинами, що не змішуються в гексан та наступній очистці на колонці з силкагелем. Недоліком цього методу є те, що при екстракції зразків запропонованою сумішшю розчинників відбувається вилучення, крім цільового продукту, великої кількості органічних речовин, що заважають хроматографічному визначенню стомпу. Тому зразки необхідно піддавати двостадійній очистці. Але ускладнення

процесу за рахунок збільшення кількості операцій підготовки зразків може призвести до втрати діючої речовини і заниження результатів аналізу.

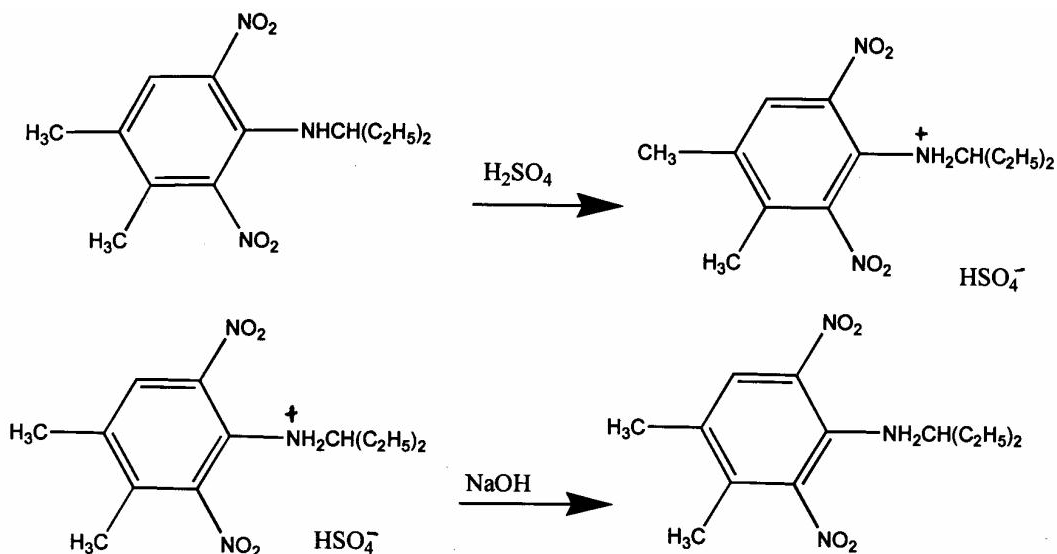
Найближчим до запропонованого способу визначення пенноксаліну є спосіб, розроблений Ю.С. Барановим для визначення цього препарату у ефірних оліях та ефіроолійних рослинах, оснований на газохроматографічному визначенні пенноксаліну з детектором по рекомбінації електронів (ДПР), на нерухомій фазі SE-30 та XE-60 після вилучення пенноксаліну з рослин ацетоном, очистці рослинних екстрактів спочатку за допомогою перерозподілу між двома розчинниками, що не змішуються, а потім на колонці з силікагелем. Недоліком цього методу є те, що при екстракції зразків ацетоном відбувається вилучення, крім цільового продукту, великої кількості органічних речовин, що заважають хроматографічному визначенню стомпу. Тому зразки необхідно піддавати двостадійній очистці. А збільшення кількості операцій підготовки зразків може призвести до втрати діючої речовини і заниження результатів аналізу.

У випадку ефірних олій запропоновано вилучення діючої речовини з розведеної гексаном олії концентрованою сірчаною кислотою, розведенням сірчанокислого екстракту у 14 разів, реекстракції діючої речовини гексаном.

Недоліком цього методу, по-перше, є те, що при змішуванні олії з концентрованою сірчаною кислотою відбувається гідроліз ефірів жирних кислот і в результаті цього утворюються стійкі емульсії, це ускладнює проведення аналізу, і також відбувається екстракція органічних складових проби, це може викликати помилки у визначенні залишків пенноксаліну. По-друге, запропоновано реекстрагувати пенноксалін гексаном з сірчанокислих екстрактів, розведених приблизно до концентрації 10% H_2SO_4 без попередньої нейтралізації кислоти. Як відомо, у сірчанокислому розчині аміни знаходяться у вигляді солей, і екстракція відбуватись не буде, у цьому випадку екстрагуються речовини, що заважають визначенню пенноксаліну газохроматографічним методом.

Завданням нашого винаходу є спрощення процедури аналізу та підвищення точності і достовірності визначення пенноксаліну у продукції сільськогосподарського виробництва та об'єктах довкілля.

Поставлена задача вирішується у нашому винаході таким способом. Метод ґрунтується на газохроматографічному визначенні стомпу з детектором по рекомбінації електронів на нерухомій фазі SE-30 або XE-60 після вилучення з подрібненої проби залишкових кількостей діючої речовини гербіциду Стомп - пенноксаліну [хімічна назва - 3,4-диметил-2,6-динітро-N-(пентил-3)-анілін], що належить до класу вторинних амінів. Вторинні аміни здатні утворювати з мінеральними кислотами солі, що добре розчиняються у воді і не розчиняються у неполярних органічних розчинниках. При взаємодії водних розчинів таких солей з розчинами лугів, аміни виділяються у молекулярній формі і їх можна екстрагувати гексаном, хлороформом або іншим розчинником, що не змішується з водою. 3,4-Диметил-2,6-динітро-N-(пентил-3)-анілін стійкий до дії кислот та лугів і здатний утворювати розчинні у воді солі з сірчаною кислотою. Екстракцію проводили розчинами сірчаної кислоти різної концентрації від 98% до 10%. Найбільш повне вилучення гербіциду з проби при мінімальній екстракції речовин, що заважають визначенню цільового продукту відбувається при застосуванні сірчаної кислоти концентрації 18-22%. Нейтралізували кислий екстракт розчином луґу до $pH=7,0$. Для нейтралізації екстрактів використовували розчини луґу концентрації від 18 до 22%, така концентрація є оптимальною. Застосування менш концентрованих розчинів призводить до втрат цільового продукту за рахунок збільшення об'єму проби, а збільшення концентрації луґу викликає розпад та екстракцію побічних продуктів, які можуть заважати визначенню пенноксаліну. З нейтральних розчинів реекстрагували молекулярну форму аміна гексаном. Отримані гексанові екстракти не вміщують домішок здатних негативно вплинути на якість аналізу, тому не потребують очистки, випарюють їх до об'єму 1 мл.



Метрологічна характеристика запропонованого способу не поступається метрологічним характеристикам раніше описаних методик, його застосування значно спрощує процес виконання хімічного визначення пенноксаліну за рахунок зменшення кількості операцій очистки розчинів, має меншу ймовірність отримання некоректних результатів за рахунок зменшення впливу сторонніх домішок та помітно зменшує витрату органічних розчинників, що дасть можливість знизити вартість аналізу.

Приклад:

Спосіб визначення пенноксаліну у ґрунті, волокні, олії та насінні бавовника методом газорідної хроматографії.

Мінімальна кількість, що детектується методом ГРХ: детектор ДПР-0,0001 мкг.

Вибірковість метода. Інші пестициди, що належать до класу ароматичних амінів визначенню не заважають. Реактиви та розчини:

- н-гексан, ч.
- сульфат натрію безводний, ч.
- 20% розчин сірчаної кислоти
- 20% розчин гідроксиду натрію
- азот марки ОСЧ
- хроматон N-супер (0,16-0,20 меш) 5% SE-30
- хроматон N-супер (0,16-0,20 меш) 5% XE-60
- пенноксалін, аналітичний стандарт фірми Ці-анамід з вмістом діючої речовини 99,6%.

Стандартні розчини пенноксаліну в гексані містять 100,0; 10,0; 1,0 і 0,1 мкг/мл. Для приготування стандартного розчину беруть на аналітичних терезах наважку пенноксаліну 10 мг \pm 0,2 мг і вміщують її в мірну колбу місткістю 100 мл. Наважку спочатку розчиняють у 10-15 мл гексану, а потім доводять до мітки тим же розчинником. В розчині міститься 100 мкг/мл пенноксаліну. Із колби переносять піпеткою 10 мл розчину в іншу мірну колбу на 100 мл і знову доводять до мітки гексаном. Концентрація пенноксаліну в даному розчині становить 10,0 мкг/мл.

Розчини з концентраціями 1,0 і 0,1 мкг/мл готують відповідно із вихідних розчинів з концентраціями 10 і 1,0 мкг/мл, відбираючи по 10 мл розчину в мірну колбу на 100 мл і доводять до мітки гексаном. Розчини пенноксаліну стабільні при зберіганні в холодильнику на протязі 6 місяців.

Прилади і посуд:

• хроматограф газовий з детектором ДПР, колонки скляні розміром 1000 x 3 мм, заповнені хроматоном N-AW-HMDS (0,16-0,20 мм) с 5% SE-30 і 5% XE-60

- апарат для струшування
- терези аналітичні, 2-й клас точності
- терези технічні, 4-й клас точності
- ротаційний вакуумний випарювач IP-1M
- ділильні воронки тип ВД
- воронки лабораторні тип В
- колби плоскодонні конічні тип КНКШ
- колби грушовидні гостродонні тип ОКШ
- мірні колби на 100 мл
- мензурки на 50 і 100 мл
- піпетки на 1 і 10 мл
- мікрошприци на 1 мкл (МШ-1) і 10 мкл (МШ-10)

Відбір зразків.

Відбір зразків для аналізу проводять у відповідності з "Уніфікованими правилами відбору проб сільськогосподарської продукції, продуктів харчування і об'єктів навколишнього середовища для визначення мікрोकількостей пестицидів" № 2051-79.

Проведення визначення.

Ґрунт. Наважку проби повітряно сухого ґрунту масою 20 г вміщували у конічну колбу і екстрагували пенноксалін 20 мл сірчаної кислоти концентрації 18-22%, у апараті для струшування на протязі 1 години. Розчин декантували через фільтр, процедуру екстракції повторили ще один раз 10 мл сірчаної кислоти такої ж концентрації. Залишок промили 10 мл дистильованої води. Об'єднані кислотні екстракти нейтралізували 18-22% розчином NaOH до pH=7. Нейтралізований розчин перенесли у ділильну воронку і екстрагували 20, 15 та 10 мл гексану 5, 3 та 3 хвилини, відповідно. Сушили відстоюванням над 15 г MgSO₄. Висушений гексановий екстракт поміщали у круглодонну колбу і випарювали до об'єму 1 мл, 2 мкл вводили у хроматограф.

Волокно бавовника. Наважку проби подрібненого повітряно-сухого волокна масою 10 г поміщали у конічну колбу і екстрагували пенноксалін 20 мл 18-22% сірчаної кислоти 30 хвилин при постійному перемішуванні. Екстракт декантували у колбу, процедуру екстракції повторили ще один раз 10 мл сірчаної кислоти такої ж концентрації, волокно промивали 10 мл дистильованої води, промивний розчин декантували також, волокно ретельно віджимали. Об'єднані кислотні екстракти нейтралізували 18-22% розчином NaOH до pH=7. Нейтралізований розчин перенесли у ділильну воронку і екстрагували 20, 15 та 10 мл гексану 5, 3 та 3 хвилини, відповідно. Сушили відстоюванням над 15 г MgSO₄. Висушений гексановий екстракт поміщали у круглодонну колбу і випарювали до об'єму 1 мл, 2 мкл вводили у хроматограф.

Насіння бавовника. Наважку проби насіння масою 15 г ретельно розтирали у ступі, вміщували у конічну колбу і екстрагували пенноксалін 20 мл 18-22% сірчаної кислоти на протязі 1 години. Суміш відфільтрували через скляний фільтр під вакуумом, процедуру екстракції повторили ще один раз 10мл сірчаної кислоти такої ж концентрації, залишок промили 10мл дистильованої води, ретельно віджимали. Об'єднані кислотні екстракти нейтралізували 18-22% розчином NaOH до pH=7. Нейтралізований розчин перенесли у ділильну воронку і екстрагували 20, 15 та 10 мл гексану 5, 3 та 3 хвилини, відповідно. Сушили відстоюванням над 15 г MgSO₄. Висушений гексановий екстракт поміщали у круглодонну колбу і випарювали до об'єму 1 мл, 2 мкл вводили у хроматограф.

Бавовникова олія. Наважку олії 10 г поміщали у конічну колбу і екстрагували пенноксалін 20 мл 18-22% сірчаної кислоти 30 хвилин при постійному перемішуванні на апараті для струшування. Після 20 хвилинного відстоювання суміш поміщали у ділильну воронку і відділяли водний шар, процедуру екстракції повторили ще один раз 10 мл сірчаної кислоти такої ж концентрації, олію промивали двічі по 10 мл дистильованої води. Об'єднані кислотні екстракти нейтралізували 18-22% розчином NaOH до pH=7. Нейтралізований

розчин перенесли у ділільну воронку і екстрагували 20, 15 та 10 мл гексану 5, 3 та 3 хвилини, відповідно. Сушили відстоюванням над 15 г

MgSO₄. Висушений гексановий екстракт поміщали у круглодонну колбу і випарювали до об'єму 1 мл, 2 мкл вводили у хроматограф.

Умови хроматографування

Детектор по рекомбінації електронів	рідка фаза - 5% SE-30	рідка фаза -5% XE-60
1	2	3
Розмір колонки, мм	1000x3	1000x3
Матеріал колонки	скло	скло
Форма колонки	спіраль	спіраль
Витрата газу-носія, мл/хв	45	45
Температура випарювача, °С	230	230
Температура термостата колонок, °С	180	180
Температура термостата детекторів, °С	250	250
Об'єм, що хроматографується, мкл	2	2
Час утримання пенексаліну, хв.	4,61	2,69
Лінійний динамічний діапазон, нг	0,1-10	0,1-10

Обробка результатів аналізу

Метрологічна характеристика методу визначення пенексаліну в насінні та волокні бавовника

Параметри	Об'єкт, що аналізується			
	грунт	волокно	насіння	олія
Діапазон концентрацій, що визначаються, мг/кг	00,2-0,2	00,2-0,2	00,2-0,2	00,2-0,2
Нижня границя визначення, мг/кг	0,002	0,001	0,002	0,002
Середнє значення визначення стандартних кількостей (с) при n=5, %	91	97	93	92
Стандартне відхилення S, ±%	8,22	6,41	11,54	10,21
Відносне стандартне відхилення, ±	0,09	0,07	0,11	0,13
Довірчий інтервал середнього при p=0,95, n=5, ±%	8,94	6,88	10,05	10,39

Визначення кількості пенексаліну (X, мг/кг) у зразку, що аналізується, проводять за наступною формулою:

$$X = \frac{1000A_2V_2}{H_1V_1P}, \text{ або } X = \frac{1000AS_2V_2}{S_1V_1P}$$

де X - кількість пенексаліну в зразку, мг/кг;
 A - кількість пенексаліну у стандарті, мкг;
 H₁ - висота піка стандартного розчину пенексаліну, мілівольт;
 H₂ - висота піка препарату в пробі, що аналізується, мілівольт;
 S₁ - площа піка стандартного розчину пенексаліну, мілівольт-секунда,
 V₁ - об'єм екстракту введеного в хроматограф, мкл;
 V₂ - загальний об'єм екстракта;

P - наважка, г.

Вміст стомпу в пробах рахують як середню величину трьох паралельних визначень. Отже, запропонований спосіб дозволяє:

1. Значно спростити процедуру проведення аналізу, проминути стадію очистки екстрактів.
2. Підвищити повноту вилучення пенексаліну, і тим самим підвищити якість результатів аналізу, середнє значення визначення становить у олії 92% (прототип 72%).
3. Зменшити кількість вилучених органічних речовин.
4. Знизити вартість аналізу, наприклад: на один зразок бавовникової олії витрачають 45 мл гексану, 30 мл 20% H₂SO₄, 60 мл 20% NaOH та 15 г осушувача, тоді як за прототипом на один зразок олії витрачають 80 мл гексану, 1,2 мл ацетону, 20 мл концентрованої H₂SO₄, 6 г Al₂O₃ для хроматографії та 100 г осушувача.

Тираж 50 екз.
Відкрите акціонерне товариство «Патент»
Україна, 88000, м. Ужгород, вул. Гагаріна, 101
(03122) 3 – 72 – 89 (03122) 2 – 57 – 03
