

**Министерство сельского хозяйства
Российской Федерации**

**Государственная комиссия
по химическим средствам борьбы
с вредителями, болезнями растений и сорняками**

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

**ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ
ПЕСТИЦИДОВ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ,
КОРМАХ И ВНЕШНЕЙ СРЕДЕ**

**Сборник № 21
Часть 1-ая**

**МОСКВА
ЦЕНТР НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ,
ПРОПАГАНДЫ И РЕКЛАМЫ
1994 г.**

Утверждено Министерством
здравоохранения СССР
№ 6078-91
" 29 июля 1991 г

ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОМУ
ОПРЕДЕЛЕНИЮ ИВИНА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ

(Дополнение к "Методическим указаниям по хроматографическому
определению ивина в воде и овощах" N4327-87 от 8.06.87 г.)

1. Краткая характеристика препарата

Краткую характеристику препарата ивина см на стр.136

2. Методика определения ивина в биологическом материале

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на извлечении ивина из проб органическим раство-
рителем, кислотной очистке экстрактов, реакстрации препарата и хро-
матографировании в тонком слое силикагеля. Зоны локализации препарата
обнаруживаются: водным раствором крахмала после УФ-облучения и обработ-
ки пластинок парами иода, альтернативно реактивом Паули после УФ-облу-
чения.

2.1.2. Избирательность метода

В предлагаемых условиях метод специфичен в присутствии близких по
области применения и структуре следующих соединений: гидрела, дигидрела,
хлорхолинхлорида, морфола, морфонола, алара, гибберелина и некоторых произ-
водных пиридина-нитрапирина, 6-хлорпиколиновой кислоты, 2-пиколиновой кис-
лоты, 2,6-дипиколиновой кислоты, 2,6- лутидина.

Разработчики: С. А. Джагацпаян, Ю. А. Бунатян, Фил. ВНИИГИНТОКС, г. Ереван

2.1.3. Метрологическая характеристика методики

($n=20$, $P=0,95$)

Метрологические параметры					
Анализируемый объект	Предел обнаружения мкг/г (мл)	Диапазон определения мкг/г (мл)	Среднее значение %определения	Стандартное отклонение %	Доверительный интервал среднего, %
Печень	0,2	0,2-2	84,5	+2,4	+5,2
Почки	0,2	0,2-2	81,7	+2,2	+4,7
Легкие	0,2	0,2-2	83,8	+2,4	+5,0
Мозг	0,2	0,2-2	82,1	+1,9	+4,0
Седезенька	0,2	0,2-2	85,7	+2,5	+5,3
Сердце	0,2	0,2-2	84,7	+2,1	+4,5
Кровь	0,2	0,2-2	86,4	+2,2	+4,7
Моча	0,4	0,4-2	78,6	+2,1	+4,5
Кал	0,4	0,4-2	77,7	+1,5	+3,2

2.2. Реактивы и материалы

Ивин, х.ч. Стандартный раствор в хлороформе , содержащий 100мкг/мл, действующего вещества, хранить в холодильнике не более 3-х месяцев

Хлороформ, х.ч., ГОСТ 20015-74.

Натр едкий, х.ч., ГОСТ 4328-77, 15%-ный водный раствор.

Кали едкий, х.ч., ГОСТ 4203-65, 10%-ный водный раствор.

Хлористоводородная кислота , ч., ГОСТ 3118-77, 1М водный расвор.

Натрий серноокислый безводный , ч., ГОСТ 4166-76.

Пластинки хроматографические "Силуфол" UV-254 (ЧССР).

Бензол, х.ч., ГОСТ 5955-69.

Уксусная кислота лед., ГОСТ 61-75.

Иод кристаллический, ч.д.а., ГОСТ 4139-79.

Крахмал, ГОСТ 10163-76, 1%-ный водный раствор.

Сульфаниловая кислота, ч.д.а., ГОСТ 5821-78.

Натрий азотистокислый, х.ч., ГОСТ 4197-74.

Спирт этиловый, х.ч., ТУ 6-1710-77.

Диэтиловый эфир, ч., ГОСТ 6265-74.

2.3. Приборы, аппаратура, посуда

Ртутно-кварцевая лампа ПРК-2 или ПРК-4, ТУ 16-535-280-74.

Прибор для отгонки растворителей, ТУ 25-11-917-76, тип ИР-1М.

Колбы мерные, ГОСТ 1770-74, на 100 мл.

Колбы конические , ГОСТ 25336-82, на 100 мл.

Колбы круглодонные, ГОСТ 25336-82, на 100 мл.

Воронки делительные, ГОСТ 25336-82, вместимостью 250 мл.

Воронки химические, ГОСТ 25336-82.

Микропипетки, ГОСТ 20292-74, на 0,1 мл.

Цилиндры мерные, ГОСТ 1770-74, емк. 50; 100 мл.

Камера хроматографическая, ГОСТ 25336-82.

Пульверизаторы стеклянные, ГОСТ 25336-82.

Фильтры бумажные "синяя лента".

Камера с парами йода (10-20г кристаллического йода помещают на дно герметически закрытой камеры).

2.4. Подготовка к определению

Приготовление проявляющего реактива Паули: к раствору 25 г сульфаниловой кислоты в 125 мл 10%-ного раствора кали едкого добавляют (при охлаждении) 100 мл раствора нитрита натрия, 40 мл концентрированной хлористоводородной кислоты и 20 мл воды. Полученную соль промывают последовательно ледяной водой, этанолом, диэтиловым эфиром и высушивают. При хранении в темной склянке в холодильнике соль устойчива несколько месяцев. Для опрыскивания готовят 0,1 г диазониевой соли в 20 мл 15%-ного раствора едкого натра. Раствор готовят перед употреблением.

2.5. Описание определения

2.5.1. Экстракция и очистка

5 г. измельченного биологического материала (мозг, печень, почки легкие, кал, сердце, селезенка) или 5 мл крови, мочи помещают в плоскодонную колбу и экстрагируют хлороформом трижды по 20 мл. Объединенные экстракты отфильтровывают через бумажный фильтр с безводным сернокислым натрием в колбу для выпаривания. Растворитель отгоняют на ротационном испарителе досуха при температуре не выше 60⁰С. К сухому остатку добавляют 10 мл 1 М раствора хлористоводородной кислоты, тщательно смывая остаток со стенок колбы. Раствор фильтруют через фильтр "синяя лента" в делительную воронку. Колбу еще дважды ополаскивают по 5 мл 1М раствором хлористоводородной кислоты и сливают в ту же воронку.

Кислотный экстракт нейтрализуют 15% раствором едкого натра и реэкстрагируют ивин хлороформом 3x30 мл. Хлороформный экстракт высушивают безводным сернокислым натрием и отгоняют растворитель на ротационном испарителе досуха при температуре не выше 60⁰С.

2.5.2. Хроматографирование и проявление

После отгонки растворителя остаток с помощью хлороформа количественно наносят на пластинку "Силуфол" (ЧССР) на расстоянии 1 см от нижнего края пластины. Сначала хроматографирование проводят в бензоле. При этом ивин остается на старте, а примеси, содержащиеся в пробе, продвигаются вверх. Пластинку высушивают на воздухе и проводят вторичное хроматографирование в том же направлении в смеси бензол-уксусная кислота в соотношении 1:1,5. После хроматографирования пластинку высушивают и выдерживают под ртутно-кварцевой лампой в течение 10-15 минут.

Затем пластинку или помещают в камеру с парами иода и обрабатывают раствором крахмала, или сразу обрабатывают реактивом Паули. Зоны локализации ивина обнаруживаются в виде синих пятен (пары иода-крахмал) или в виде розовых пятен (реактив Паули) с величиной R_f $0,58 \pm 0,02$.

2.6. Обработка результатов анализа

Количественная оценка проводится путем сравнения площадей и интенсивности окраски проб и стандартных растворов.

Содержание ивина в пробе определяют по следующей формуле:

$$X = \frac{A \times S_2}{P \times S_1}, \text{ где:}$$

X - содержание ивина в пробе, мг/г (мл);

A - количество ивина содержащегося в пятне стандартного раствора, мкг
(в диапазоне линейности);

S_1 - площадь пятна стандартного раствора, мм^2 ;

S_2 - площадь пятна пробы, мм^2 ;

P - количество анализируемой пробы, г (мл);

3. Требования техники безопасности

Соблюдать все необходимые требования безопасности при работе в химических лабораториях, а также правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях, отделениях, отделах санитарно-эпидемиологических учреждений системы МЗ СССР (№ 2455-81 от 20.10.81).