

**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
" 29 " июля 1991г.

№ 6075-91

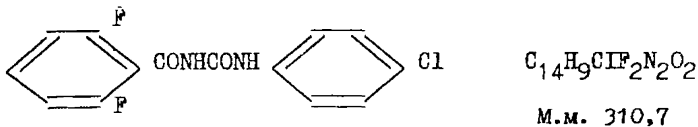
ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ДИМИЛИНА
В ЯБЛОКАХ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ

(дополнение к № 9481-81 от 22.10.1981)

1. Краткая характеристика препарата

Название по номенклатуре ИСС,СЭВ - дифлюбензурон

Химическое название N-(2,6-дифторбензил)-N-(4-хлорфенил)



В чистом виде кристаллы белого цвета с Т.пл. 230-230⁰С.

Давление паров при ⁰С 0,013 мПа ($9,8 \cdot 10^{-8}$ мм рт.ст.)

Растворимость в воде при 20⁰С 0,1 мг/л.

в неполярных растворителях 10 г/л, в ацетоне 6,5 г/л при 25⁰С, в диметилформамиде -104 г/л, диоксане 20 г/л.

LD₅₀ орально для мышей и крыс 4640 мг/кг, для кроликов 2000 мг/кг.
СК₅₀ для рыб 130-140 мг/л.

В США МДУ в пищевых продуктах 0,05мг/кг. Допустимое суточное потребление (ADJ) 0,02 мг/гк. В СССР МДУ в яблоках 0,1 мг/кг

Применяется в качестве инсектицида на яблонях, цитрусовых, овощах.

Разработчики: Т.В.Алдошина, К.Ф.Новикова, ВНИИХСЭР, г.Москва

2. Методика определения димилина в яблоках тонкослойной хроматографией.

2.1. Основные положения

2.1.1. Метод основан на извлечении димилина из яблок смесью гексан-ацетон, очистке экстракта кислотнo-щелoчным перераспределением димилина и определении тонкослойной хроматографией на пластинках "Силуфол".

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Диапазон измеряемых концентраций - 0,03 - 3,30 мг/кг.

Предел обнаружения в хроматографируемой пробе - 0,2 мкг.

Предел обнаружения в яблоках - 0,03 мг/кг.

Среднее значение определения стандартных количеств димилина в яблоках при $n=15 \pm 10\%$.

Доверительный интервал среднего определения при $n=5$ и $p=0,95$ $87 \pm 12\%$.

Размах варьирования R 70-100%.

2.1.3. Избирательность метода

Метод селективен. Избирательность метода обеспечивается сочетанием двух систем подвижных растворителей различной полярности и двух проявляющих реагентов.

2.2. Реактивы и растворы

Ацетон, чда, ГОСТ 2603-79.

Этилацетат, хч, ГОСТ 22300-76.

Гексан, чда, ТУ 6-09-3375-78.

Бензол, чда, ГОСТ 5955-75.

Хлороводородная кислота, НСІ, чда, ГОСТ 3118-74, концентрированная.

Гидроксид калия, ч, ГОСТ 24363-80.

Гидроксид натрия, NaOH ГОСТ 11078-78, очищенный 4н раствор.

Сульфат натрия, хч, ГОСТ 4166-76, безводный.

о-Толидин, ч, ТУ 6-09-299-73.

Калий йодистый, KI, хч, ГОСТ 4232-74.

Натрий нитрит Na_2NO_3 , хч, ГОСТ 4197-74.

Уксусная кислота, ГОСТ 61-75, ледяная.

а- Нафтол, чда, ГОСТ 5838-79.

Калий марганцевоокислый, KMnO_4 , ч, ГОСТ 20490-76.

Проявляющий реагент № 1. Растворяют 0,16 г о-толидина в 30 мл ледяной уксусной кислоты, добавляют 1 г KI и доводят до 500 мл дистиллированной водой. Раствор хранить в темном месте. Срок годности 2 недели. На обработку одной хроматограммы идет около 1 мл реагента.

Проявляющий реагент № 2. Раствор А. К смеси, состоящей из 46 мл воды и 4 мл концентрированной HCl добавляют 1,5 г нитрита натрия. Раствор Б. Растворяют 2,8 г KOH в 50 мл дистиллированной воды и прибавляют 0,3 г а-нафтола. Растворы А и Б готовят перед использованием.

Стандартный раствор димилина в ацетоне с содержанием 1000 мг/мл (раствор 1) и 10 мкг/мл (раствор 2).

Стандартные растворы димилина стабильны при хранении в холодильнике в течение 6 месяцев.

Пластинки "Силуфол", производства Хемапол, ЧСФР, размером 150x150мм.

2.3. Приборы, температуры, посуда

Камеры хроматографические, стеклянные, с пришлифованными крышками, ГОСТ 25336-82Е или аналогичные.

Лампа УФ-света, ртутно-кварцевая, с широким диапазоном волн, ТУ 46-22-236-79 или аналогичная.

Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М, ТУ 25-11-917-76 или аналогичный.

Аппарат для встряхивания, ТУ 64-1-1081-73.

Пульверизаторы стеклянные, ГОСТ 25336-82.

Воронки делительные, ГОСТ 25336-82Е.

Колбы плоскодонные ГОСТ 25336-82, вместимостью 500,250 мл.

Мерные колбы, ГОСТ 1770-74, вместимостью 100 и 500 мл.

Пипетки с делениями, ГОСТ 20292-74Е.

Пробирки градуированные с пробками на шлифах, ГОСТ 1770-74Е, вместимостью 5 мл.

Эксикатор, ГОСТ 25336-82Е, вместимостью не менее 2 л.

Микрошприц на 100 мкл или микропипетка ГОСТ 20392-74Е на 0,1 мл.

2.4. Подготовка к определению

Хроматографическую камеру за один час до начала хроматографирования заполняют смесью подвижных растворителей гексан:ацетон (2:1) и бензол : этилацетат (6:1) для насыщения камер парами подвижного растворителя. Объем подвижного растворителя в камере должен по высоте находиться не выше, чем на 0,7-1,0 см от уровня дна камеры.

Камеру для хроматографирования готовят следующим образом: на дно эксикатора помещают чашку Петри с 5 г $KMnO_4$ а затем к ее содержанию осторожно приливают 15 мл концентрированной HCl . Камеру закрывают шлифованной крышкой. Камера может быть использована через 5-10 минут.

2.5. Отбор проб

Отбор проб проводится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов", утвержденными Минздравом ССР 21.08.1979, № 2051-79.

2.6. Проведение определения

Пробу измельченных яблок (30 г) помещают в плоскодонную колбу вместимостью 500 мл, добавляют 70 мл смеси гексана с ацетоном (2:1) и 0,2 мл концентрированной HCl . Димилин экстрагируют при помощи механического встряхивания колбы в течение 30 мин. Экстракт пропускают

через пористый фильтр со слоем безводного сульфата натрия в плоскодонную колбу вместимостью 500 мл. Экстракцию димилина повторяют еще два раза тем же количеством растворителя. Объединенный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия (№ 10г), а затем фильтруют через пористый фильтр в круглодонную колбу вместимостью 500 мл. Сульфат натрия промывают 2-3 раза смесью гексан-ацетон (2:1) общим объемом № 10 мл и полученный раствор также переносят в круглодонную колбу. С помощью ротационного вакуумного испарителя полностью отгоняют растворитель. Остаток из колбы количественно с помощью 10 мл ацетона переносят в делительную воронку на 500 мл, добавляют 250 мл дистиллированной воды и около 0,5 мл 4 N NaOH до pH 10. Экстракт промывают три раза гексаном, порциями по 50 мл. Гексановую фазу отбрасывают. К водной фазе пипеткой добавляют около 0,5 мл концентрированной HCl до pH-1. И трижды экстрагируют димилин гексаном, порциями по 50 мл. Объединенный гексановый экстракт сушат над безводным сульфатом натрия (~5 г), а затем порциями фильтруют в грушевидную колбу вместимостью 50 мл. Каждую порцию концентрируют с помощью ротационного вакуумного испарителя до объема 1-2 мл. Последнюю порцию гексана удаляют полностью. К сухому остатку пипеткой добавляют 1 мл гексана. Колбочку закрывают пробкой на шлифе и тщательно обмывают стенки колбы растворителем. Для хроматографирования отбирают с помощью микрошприца на 100 мкл или микропипеткой на 0,1 мл аликвотную часть раствора (0,1-0,2 мл) и наносят на хроматографическую пластинку "Силуфол". Справа и слева от рабочей пробы, таким же образом по 0,1 мл наносят серию стандартных растворов с содержанием 0,2; 0,4; 0,6... 1,0 мкл димилина, подготовленных следующим образом: в ряд градуированных пробирок вместимостью 5 мл пипеткой на 1 мл из стандартного раствора № 2 переносят 1, 2, 3... мл и доводят до метки гексаном.

Хроматограмму развивают в системе гексан:ацетон (2:1) или бензол:этилацетат (6:1). После развития хроматограмму на 15 минут помещают под лампу УФ света, затем после полного выветривания паров хлора, хроматограмму обрабатывают проявляющим реагентом № 1.

Димилин на хроматограммах проявляется в виде темно-серых пятен сначала на белом, а затем на бежевом фоне с $R_f 0,40 \pm 0,05$ - в первой системе подвижных растворителей и $0,35 \pm 0,02$ - во второй. Линейный диапазон определения 0,2-1,0 мкг в хроматографируемой пробе. Пятна стабильны в течение нескольких месяцев.

В качестве альтернативного проявления, используют проявляющий реагент №2. Хроматограмму после облучения в УФ свете последовательно обрабатывают раствором А и Б. Димилин проявляется в виде красных пятен на бледно-желтом фоне. Линейный диапазон определения - 0,5-10 мкг. Пятна стабильны в течение длительного времени.

2.7. Обработка результатов анализа

Количественное определение димилина в анализируемой пробе проводят путем сравнения площади и интенсивности пятен рабочей пробы и серии стандартных растворов и содержание его (X) в мг/кг вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot V}{V_a \cdot P}, \text{ (мг/кг), где:}$$

A - количество димилина, найденное в хроматографической пробе, мкг;

V - общий объем раствора, мл;

V_a - объем аликвоты, взятой для хроматографирования, мл;

P - навеска анализируемой пробы, г.

3. Требования безопасности

Соблюдать все необходимые требования безопасности, принятые для работы с пестицидами и горючими растворителями.