

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

к. 16, р. II

Данные методики апробированы и рекомендованы
в качестве официальных Группой экспертов при Госкомиссии
болезнями растений и сорняками

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Главного государственного санитарного врача СССР

Д.И. Заиченко

27.04

1984 г.

№ 3001-84

ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ПЛАНТВАКСА В ЗЕРНЕ И ВОДЕ

ХРОМАТОГРАФИЕЙ В ТОНКОМ СЛОЕ

I. Краткая характеристика препарата.

Плантвакс (оксикарбоксин)-2-метил-5,6-дигидро-1,4-экоктини-4,4-диоксид-5-карбоновой кислоты алилд.

Структурная формула:

Эмпирическая формула: $C_{12}H_{13}O_4S$

Молекулярная масса: 267,5

Температура плавления: 127,5-130°C

В I в растворителя растворяется (г в 1 мл растворителя): в воде I, в бензоле 34, в ацетоне 360, в метаноле 70, в этилоле 30.

Выпускается в виде 70%-ного р.в., 10%-ного дуста и 5%-ных гранул.

Д₅₀ для крыс - 2000 мг/кг.

Плантвакс - системный фунгицид, рекомендуемый для борьбы с ризктовой гнилью.

2. Методика определения плантвакса в зерне и воде.2.1. Основные положения.2.1.1. Принцип метода.

Метод основан на выделении пестицида на водорастворимой пробе

хлороформом и дальнейшем определении методом хроматографии в тонком слое адсорбента ("Силуфол", силикагель).

В качестве подвижного растворителя использовали смесь хлороформа и эфира в соотношении = 5:2.

Обнаружение зон локализации пестицида в тонком слое сорбента основано на термическом либо УФ-разложении препарата до аминосоединения, диазотировании его нитритом натрия в солянокислой среде и азосочетании полученных солей фенилдиазония с N (1-нафтилэтилендиамином) либо α -нафтиламином, α -нафтолом.

Возможно обнаружение зон локализации плантвакса другим способом: УФ-разложение препарата, N -галогенирование с последующим проявлением образующихся продуктов о-толидином (или йод-крахмальным реактивом).

2.1.2. Метрологическая характеристика метода.

Нижний предел обнаружения плантвакса с помощью реакции диазотирования и азосочетания - 0,2 мкг (N -1-нафтилэтилендиамин), 0,5 мкг (α -нафтиламин), 1,0 мкг (α -нафтол), с помощью реакции N -галогенирования - 0,5-1,0 мкг.

Чувствительность определения плантвакса в зерна - 0,07 мг/кг, в воде - 0,015 мг/л.

Средний процент определения заданных количеств пестицида (0,1 мг/л или мг/кг) - 68,0 (в зерне), 35,0 (в воде), стандартное отклонение 17,6% (зерно), 5% (вода).

Диапазон определяемых концентраций - 0,5-10 мкг.

Доверительный интервал среднего при $P=0,95$ и $n=5$ 85,0 \pm 4,9% (для воды) и 68,0 \pm 14,0% (для зерна)

2.2. Реактивы и растворы.

Алюминия окись II степени активности, МРТУ 6-09-5296-68

Ацетон, х.ч., ГОСТ 2603-71

Гипс (кальций сернокислый $CaSO_4 \cdot 2H_2O$). В течение 2 суток прокаливает при 180°C и просеивает через сито 100 меш.

Калия йодид, х.ч., ГОСТ 4232-74

Кислота соляная, х.ч., ГОСТ 3116-77

Калий едкий, ч.д.а., ГОСТ 9286-78

Крахмал водорастворимый, ч., ГОСТ 10163-76

Метилен хлористый, ТУ 6-09-3116-74, х.ч.

Натрий азотиотокислий, х.ч., ГОСТ 4197-75
 Пластинки "Силуфол" (ЧССР)
 Натрий сернокислий безводный, ГОСТ 4166-76, х.ч.
 Калия перманганат, ГОСТ 20490-75, х.ч.
 α - нафтиламин, ч.д.а., ГОСТ 8827-74
 α -нафтол, ч.д.а., ГОСТ 5838-70
 M -(1-нафтилэтилендиамин)дигидрохлорид, ч,ТУ 6-09-2544-72
 O -толидин, МРТУ 6-09-6337-69
 Силикагель "Д" (5-40 мк), (ЧССР)
 Хлороформ, х.ч., ГОСТ 200-15-74
 Эфир для наркоза, Госфармакопия СССР

Проявляющие реагенты (готовят непосредственно перед применением). №1. а) К смеси, состоящей из 46 мл дистиллированной воды и 4 мл концентрированной соляной кислоты, прибавляют 1 г азотиотокислого натрия.

б). M-(1-нафтилэтилендиамин)дигидрохлорид, 1%-ный раствор в этиловом спирте.

в). α-нафтиламин, 10%-ный раствор в этиловом спирте

г). α-нафтол (3г едкого калия растворяют в 50 мл дистиллированной воды, прибавляют 0,5 г α-нафтола).

№2. Хлорирующий реагент. Готовят смесь равных объемов 1,5%-ного раствора перманганата калия и 12%-ного раствора соляной кислоты.

О-Толидиновый реагент. а). 0,1 г о-толидина растворяют в 0,1 мл уксусной кислоты.

б). 0,4 г йодистого калия растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды.

Растворы а) и б) объединяют и разбавляют водой до 100 мл.

Йод-крахмальный реагент. Готовят 1%-ный раствор йодистого калия и 2%-ный водный раствор крахмала, последний заваривают. Смешивают эти растворы в соотношении 1:1.

Стандартный раствор пивнтракоза готовят растворением 10 мг препарата в ацетоне (50 мл). Раствор содержит 200 мкг/мл.

2.3. Приборы и посуда.

Баня водяная, ТУ 64-1-2850-76

Воронки химические, диаметр 6 см., ГОСТ 26-13-64

х) Расход реагентов на одну пластинку - 5 мл

Воронки делительные, емк. 250, 500 мл, ГОСТ 10054-75
 Камера для опрыскивания, ТУ II-430-70
 Камера для хроматографирования размером 150-200 мм
 Колбы мерные, емк. 50, 100 мл, ГОСТ 1776-74
 Колбы круглодонные, н/ш, емк. 150, 200 мл, ГОСТ 10-394-63
 Лампа кварцевая ПРК-4 или ПРК-7
 Микропипетка, ГОСТ 1770-74 (для нанесения стандартного раствора).

Пластинки стеклянные размером 90x 120 мм
 Пипетки емк. 1, 5, 10 мл, ГОСТ 1770-74
 Прибор для отгонки растворителя,
 Пульверизаторы стеклянные, ГОСТ 10391-74
 Цилиндры мерные, емк. 25, 50, 100, 250 мл, ГОСТ 1770-74

2.4. Подготовка к определению.

2.4.1. Приготовление пластинок.

1,5 г растворимого крахмала заваривают в 15 мл воды, прибавляют 110 мл воды и 40 г оксида железа "Л" (или 60 г оксид алюминия), размешивают до образования однородной массы и по 5 г наносят на стеклянные пластинки, равномерно распределяя ее по поверхности. Сушат пластинки на воздухе в течение суток при комнатной температуре.

2.4.2. Отбор проб.

Пробы для проведения анализа отбираются согласно унифицированным правилам отбора сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов, утвержденным ^{санитарного} Зам. Главного государственного врача СССР №2051-79г.

2.5. Проведение определения.

2.5.1. Экстракция, очистка экстракта.

Зерно. 25-50г. зерна (пшеница, овес) помещают в коническую колбу, приливают хлороформ в таком количестве, (~ 50 мл), чтобы проба была полностью покрыта им и экстрагируют в течение 1 часа, периодически перемешивая пробу.

Экстракцию повторяют еще дважды по 50 мл растворителя, проводя экстракцию в течение 30^{мин} каждый раз. Экстракты объе

единицы и фильтруют через бумажный фильтр (синяя лента). Упаривают на ротационном испарителе досуха. Колбы охлаждают. Прибавляют 20 мл смеси, воды и ацетона в соотношении 3:1. Помещают колбы в морозильную камеру холодильника на 1,5-2 часа. Производят фильтрацию растворов через плотный бумажный фильтр (синяя лента). Прибавляют несколько капель соляной кислоты (конц.) до $\text{pH}=1$ и производят экстракцию хлороформом трижды по 20 мл каждый раз в течение 5 мин. Экстракты объединяют и пропускают через воронку, наполненную б/в сернокислым натрием. Упаривают на ротационном испарителе до небольшого объема (0,05 мл) и наносят на хроматографическую пластинку. В качестве свидетеля наносят стандартный раствор платвакса (200 мкг/мл) в количестве 5-10 мкг.

Вода. 200 мл анализируемой воды помещают в делительную воронку, подкисляют соляной кислотой до $\text{pH}=1$ и экстрагируют хлороформом или хлористым метилом трижды по 50 мл. Экстракты объединяют и фильтруют через слой безводного сернокислого натрия и упаривают до небольшого объема (0,05 мл). Сконцентрированную пробу количественно наносят на хроматографическую пластинку.

2.5.2. Хроматографирование.

Производят хроматографирование экстрактов в системе растворителя хлороформ+эфир = 5:2^х. Когда фронт растворителя поднимется на высоту 10 см, пластинку вынимают, сушат на воздухе и облучают УФ-светом в течение 30 мин. на расстоянии 25 см от источника. Обработывают пластинку проявляющим реактивом №1 (вначале реактивом а), через 1 мин. - реактивом б) или д), г). При наличии платвакса появляются пятна сиреневого (M_1 -I-нафтилэтилendiамин) или розового цвета (d-нафтиламин, d'-нафтол). Величина R_f платвакса 0,38-0,40 ("Силуфол"), 0,77 (силикагель) и 0,70 (окись алюминия)

Другой метод обнаружения платвакса состоит в следующем. После УФ-разложения препарата производят хлорирование, помещают пластинку в эксикатор, на дне которого находится хлорирующий реактив, в течение 3-х минут. Пластинку вынимают из эксикатора и оставляют в вытяжном шкафу в течение 1 часа для удаления избытка хлора. Обработывают пластинку о-толидиновым или вод-крахмальным реактивом. Сушат пластинку на воздухе и облучают УФ-светом в течение 5 мин. При наличии платвакса появляются пятна сине-фиолетового цвета.

^х - Объем подвижной фазы на камеру размером $h=20\text{ см}$, $d=1\text{ см}$, составляет 50 мл.

2.6. Обработка результатов анализа.

Количественное определение производится путем сравнения интенсивности окраски и размера пятен пробы и стандартных растворов.

Пропорциональная зависимость между площадью пятна и концентрацией препарата наблюдается до 10 мкг. При большем содержании на пластинку наносят часть раствора.

Содержание препарата в анализируемой пробе рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot S_2}{P \cdot S_1}$$

где: X - содержание препарата в анализируемой пробе, мг/кг;
 A - содержание препарата в стандартном растворе, мкг;
 S_1 - площадь пятна стандартного раствора, мм²;
 S_2 - площадь пятна пробы, мм²;
 P - масса пробы, взятой на анализ, г

2.7. Требования техники безопасности.

Соблюдать требования техники безопасности, обычно рекомендуемые для работы с органическими растворителями, УФ-облучением.

2.8 Разработчики

Киселева Н.И., Тивомежко В.А., ВНИИГИНТОКС, г. Емва