

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

соединением примесей раствором фосфорно-вольфрамовой кислоты с последующим определением тонкослойной хроматографией.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Диапазон измеряемых концентраций 10-40 мкг.

Предел обнаружения 10 мкг.

Предел обнаружения 0,4 мг/кг в овощах и 0,01 мг/л в воде.

Среднее значение определения стандартных количеств церкоцида

\bar{C} при $n=15$ в овощах 84,4%, в воде 96,0%.

Стандартное отклонение S при $n=15$ в овощах $\pm 5,0\%$, в воде $\pm 5,1\%$.

Доверительный интервал среднего при $p=0,95$ и $n=5$

в овощах $84,4 \pm 6,2\%$, в воде $96,0 \pm 6,3\%$

Размах варьирования R в овощах 80-90%, в воде 85-100%.

2.1.3. Избирательность метода

Кроме картецида (фитона) другие пестициды не мешают определению.

2.2. Реактивы и материалы

Этиловый спирт, хч, ГОСТ 5962-77, 96%-ный.

Метиловый спирт, хч, ГОСТ 6995-77.

Хлороформ, хч, ГОСТ 20015-77.

Бензол, хч, ГОСТ 5955-75.

HCl, хч, ГОСТ 3118-77, концентрированная, 0,1н. 2н.

Фосфорно-мolibденовая кислота, чда, ТУ 6-09-3540-78, 40%-ный раствор.

твр.

Гидроксиламин солянокислый, чда, ГОСТ 5456-79.

Едкий натр, хч, ГОСТ 4328-77, 1н.

Хлорид железа, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$, чда, ГОСТ 4147-74.

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

Проявляющие реактивы. Реактив 1. Растворяют 2г гидроксиламина солянокислого в 100 мл воды. Перед обработкой хроматограмм омывают 20 мл полученного раствора с 5 мл 1н едкого натра. Реактив 2. К 85 мл воды добавляют 15 мл 2н HCl и растворяют 10 г хлорида железа.

Оксид алюминия, Al_2O_3 . По степени активности по Брэкману, нейтральная, ВНР, „Реаким“ или аналогичная.

Пластини силуфол УФ 254.

Стандартные растворы церкоцида в этиловом спирте с содержанием 100 мкг/мл (раствор А) и 10 мкг/мл (раствор Б). Растворы стабильны при хранении в холодильнике в течение трех месяцев.

2.3. Приборы, аппаратура, посуда

Ротационный вакуумный испаритель, ТУ 25-И-9И7-76

Аппарат для встряхивания, ТУ 64-И-1081-73

Камера для хроматографирования, ГОСТ 10565-74

Хроматографическая колонка длиной 10 см и внутренним диаметром 0,8 см с краном.

Сушильный шкаф, ТУ 64-И-1411-76

Колбы плоскодонные, ГОСТ 9737-70, на 250 и 500 мл.

Далительные мерники, ГОСТ 10054-75, на 25, 250 и 1500 мл.

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

Пультверизаторы стеклянные, ГОСТ 10391-74

Пипетки на 1 и 10 мл с делениями, ГОСТ 1770-74.

Пробирки конические градуированные, ГОСТ 1770-74, на 10 мл.

2.4. Подготовка к определению

Хроматографические камеры за час до начала хроматографирования заполняют смесью подвижных растворителей хлороформ:метилловый спирт (50:4)

бензол:этиловый спирт (30:4) для мажущения камеры подвижным растворителем.

Хроматографическую колонку заполняют 2г окиси алюминия в 15 мл хлороформа. Избыток хлороформа сливают с подсоседающим слабым вакуумом, оставляя слой растворителя на уровне 1-2 мм над поверхностью сорбента.

2.5. Отбор проб

Отбор проб проводят в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микрочислителя пестицидов", утвержденными Минздравом СССР 21 августа 1979г., № 2051-79.

Для анализа картофеля и огурцов подготавливают три параллельные навески массой 25г предварительно измельченные до кубики с размером граней около 5 мм. Помидоры предварительно измельчают ножом на мелкие кусочки, отбирая от каждого помидора узкий сегмент. Каждая из трех навесок также составляет 25 г.

2.6. Проведение определения

Картофель. Навеску анализируемой пробы помещают в плоскодонную колбу на 500 мл, заливают 50 мл 0,1N HCl и экстрагируют циркуляцией с помощью механического встряхивания колбы в течение 30 мин. Экстракт пропускают через бумажный фильтр в плоскодонную колбу на 250 мл.

Экстракцию картофеля проводят еще два раза тем же количеством растворителя. К объединенному экстракту добавляют 10 мл 40%-ного раствора фосфорно-молибденовой кислоты. Раствор выдерживают при комнатной температуре в течение 20-30 мин, после чего отфильтровывают полученный белый осадок через бумажный фильтр, собирая фильтрат в делительной воронке емкостью 250 мл. Препарат из солянокислого раствора извлекают экстракцией хлороформом три раза, порциями по 50 мл. Объединенный хлороформный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия, порциями фильтруют в грушевидную колбу емкостью 25 мл и концентрируют с помощью ротационного вакуумного испарителя до объема 0,1-0,2 мл.

Огурцы. Навеску огурцов помещают в плоскодонную колбу емкостью 500 мл заливают 50 мл 0,1N HCl и экстрагируют церкюид с помощью механического встряхивания колбы в течение 30 мин. Экстракт пропускают через бумажный фильтр в делительную воронку емкостью 250 мл. Экстракцию церкюида повторяют еще два раза тем же количеством соляной кислоты. Из объединенного экстракта выделившийся капредактам экстрагируют хлороформом, порциями по 30 мл три раза. Объединенный хлороформный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия, порциями фильтруют в круглодонную колбу емкостью 50 мл и с помощью ротационного вакуумного испарителя концентрируют раствор до объема ~ 1 мл. Остаток переносят на хроматографическую кромку. Кран колонки открывают, дают возможность экстракту впитаться в сорбент, колбочку несколько раз промывают хлороформом и полученный раствор каждый раз переносят на хроматографическую колонку. Капредактам адсорбируют с колонки с подсоединением слабого вакуума со скоростью 2 см/с. Общий объем элюата 15 мл, отбирают элюат в грушевидную колбочку емкостью 25 мл. Полученный раствор концентрируют с помощью ротационного вакуумного испарителя до объема 0,1-0,2 мл.

Помидоры. Навеску томатов помещают в плоскодонную колбу емкостью 250 мл, добавляют 10-15 г безводного сульфата натрия, полученную массу тщательно перемешивают, приливают 50 мл 0,1N HCl и далее определение проводят по схеме, описанной для огурцов.

Вода. Один литр воды помещают в делительную воронку емкостью 1,5-2 л, добавляют 5 мл концентрированной соляной кислоты и проводят экстракцию хлороформом четыре раза, порциями по 50 мл. Объединенный хлороформный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия, порциями фильтруют в круглодонную колбу емкостью 50 мл и с помощью ротационного вакуумного испарителя концентрируют раствор до объема ~ 1 мл. Очистку экстракта и дальнейшее определение проводят по схеме, описанной для огурцов.

Объём, полученный после очистки экстракта, с помощью стеклянного капилляра количественно переносит на хроматографическую пластинку. Параллельно на пластинку наносят серию стандартных растворов церкозида с содержанием 10, 15, 20...40 мкг, которые готовят следующим образом. В серию делительных воронек ёмкостью 25 мл, которые содержат по 10 мл 0,1N HCl помещают соответственно 1; 1,5; 2; ...4 мл стандартного раствора Б с концентрацией церкозида 10 мкг/мл. Выделившийся капролактан экстрагируют хлорформом три раза, порциями по 10 мл. Хлорформные экстракты сушат над безводным сульфатом натрия, фильтруют в грушевидные колбочки ёмкостью 25 мл и с помощью ротационного вакуумного испарителя концентрируют раствор до объёма 0,1-0,2 мл. Хроматограмму развивают в системе хлорформ:метилевый спирт (50:4) или безвод:Этиловый спирт (30:4). После развития хроматограммы пластинку сушат на воздухе, а затем обрабатывают из пульверизатора раствором гидроксидов натрия (реактив I). Влажную хроматограмму выдерживают в сушильном шкафу при температуре 120°C в течение 15-20 мин, а затем обрабатывают 10%-ным раствором FeCl₃ (реактивом 2). Капролактан проявляется на пластинках в виде коричневых пятен на желтом фоне с R_f 0,40±0,05 в первой и 0,28±0,03 - во второй. Пятна стабильны в течение 5-7 мин.

2.7. Обработка результатов анализа

Количественное определение церкозида проводят путем сравнения площади и интенсивности окраски пятен рабочей пробы и серии стандартов. При большом содержании церкозида на пластинку наносят аликвотную часть раствора.

Содержание церкозида в анализируемой пробе (X) в мг/кг или мг/л вычисляют по формуле

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

A - количество церкозида, найденное в хроматографируемой пробе, мкг;

V - общий объем раствора, из которого при необходимости отбирают аликвоту, мл;

V_a - аликвота, нанесенная на пластинку, мл (при нанесении всей пробы V = V_a);

P - навеска пробы в г или объем пробы воды в мл.

3. Требования безопасности

Соблюдать требования техники безопасности, установленные для работы с легко воспламеняющимися жидкостями и работы с метилловым опартом.

4. Разработчики

Методические указания разработаны Ф.Р.Мельцер, К.Ф.Новиковой, Т.В.Алдошиной (Всероссийский НИИ химических средств защиты растений с опытным заводом, г. Москва)