ЕВРАЗИЙСКИЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(EACC)
EURO-ASIAN COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(EASC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 33704— 2015

ОВОЩИ, КОРМА И ПРОДУКТЫ ЖИВОТНОВОДСТВА

Определение ртутьорганических пестицидов методами тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии

Издание официальное

Зарегистрирован
№ 11940
29 декабря 2015 г.

Минск
Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС) представляет собой региональное объединение национальных органов по стандартизации государств, входящих в Содружество Независимых Государств. В дальнейшем возможно вступление в ЕАСС национальных органов по стандартизации других государств.

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0–2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2–2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены».

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Республиканским государственным предприятием «Казахстанский институт стандартизации и сертификации» и Межгосударственным техническим комитетом МТК 534 «Обеспечение безопасности сельскохозяйственной продукции и продовольственного сырья на основе принципов НАССР»

2 ВНЕСЕН Комитетом технического регулирования и метрологии Министерства по инвестициям и развитию Республики Казахстан

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации по результатам голосования в АИС МГС (протоколом от 28 декабря 2015 г. №83-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Казахстан	KZ	Госстандарт Республики Казахстан
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Российская Федерация	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Настоящий стандарт разработан на базе национального стандарта Республики Казахстан СТ РК 2040-2010 «Овощи, корма и продукты животноводства. Определение ртутьорганических пестицидов хроматографическими методами».

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных (государственных) стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация также будет опубликована в сети Интернет на сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты».

Исключительное право официального опубликования настоящего стандарта на территории указанных выше государств принадлежит национальным (государственным) органам по стандартизации этих государств.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ОВОЩИ, КОРМА И ПРОДУКТЫ ЖИВОТНОВОДСТВА Определение ртутьорганических пестицидов хроматографическими методами

Vegetables, food and livestock products
Determination of organomercuric pesticides by thin layer chromatography and spectrophotometry methods

Дата введения –

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на овощи, корма и продукты животноводства и устанавливает метод определения ртутьорганических пестицидов с использованием тонкослойной хроматографии и спектрофотометрии.

Метод определения ртутьорганических пестицидов основан на реакции их йодистых солей с дитизоном, образовании окрашенных в оранжевый цвет дитизонатов алкил- и арилртути, которые разделяют в тонком слое оксида алюминия и количественно определяют спектрофотометрическим методом.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие межгосударственные стандарты:

ГОСТ 1770–74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 6709–72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9147–80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 24104–2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

ГОСТ 25336–82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 29169–91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

ГОСТ 29227–91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

Примечание – При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов на территории государства по соответствующему указателю стандартов, составленному по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный документ заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом, следует руководствоваться замененным (измененным) стандартом. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

Издание официальное

3 Принцип метода определения

Определение ртутьорганических пестицидов основано на:

– реакции их йодистых солей с дитизоном;

– образовании окрашенных в оранжевый цвет дитизонатов алкил- и арилртути, которые полуколичественно определяют в тонком слое оксида алюминия и количественно методом спектрофотометрии.

Для извлечения соединений ртути из биологических материалов применяют два способа.

Первый способ заключается в экстрактивной перегонке алкилртути из солянокислой среды с последующей экстракцией веществ толуолом.

Второй способ основан на жидкость-жидкостном распределении. Ртутьорганические пестициды извлекают смесью 1н соляной кислоты с этанолом, а из вытяжки вещества экстрагируют бензолом. Степень обнаружения 1 мкг фенилртути составляет от 55 % до 60 %, а 1 мкг метил-, этил- и метоксиэтилртути составляет от 80 % до 90 %.

Степень извлечения ртутьорганических пестицидов составляет 90 %. Относительная погрешность определения при полуколичественной оценке составляет от 30 % до 40 %. Предел определения – 0,5 мкг органической ртути в пробе массой 50 г (10 мкг/кг).

4 Оборудование и лабораторная посуда

Аппарат для дистилляции на шлифах, состоящий из реакционной колбы вместимостью 250 мл, холодильника длиной от 15 до 20 см и делительной воронки (приемника) вместимостью 250 мл.

Фотоэлектроколориметр или спектрофотометр пригодный для проведения определений при длине волны 485 нм.

Сушильный шкаф, который может поддерживать температуру 105 ºС.

Аналитические весы, специального класса I.

Сито BSS 100 меш.

Гомогенизатор.

Механический встряхиватель.

Хроматографическая камера вместимостью от 1 до 2 л.

Воронки для фильтрования диаметром от 5 до 10 см, по ГОСТ 25336.

Делительные воронки вместимостью 500; 250 и 50 мл, по ГОСТ 25336.

Мерные цилиндры на 25; 50 и 100 мл, по ГОСТ 1770, ГОСТ 25336.

Пипетки на 1; 2; 5 и 10 мл, по ГОСТ 25336, ГОСТ 29169, ГОСТ 29227.

Микропипетки от 0,1 до 0,2 мл, по ГОСТ 25336, ГОСТ 29169, ГОСТ 29227.

Пробирки вместимостью 10 мл, градуированные, с притертыми пробками, по ГОСТ 1770, ГОСТ 25336.

Чашки фарфоровые для выпаривания № 5 и № 10, по ГОСТ 9147.

Колбы вместимостью 250 и 500 мл, по ГОСТ 1770, ГОСТ 25336.

Примечание – Допускается применять другое оборудование, лабораторную посуду с метрологическими и техническими характеристиками не ниже указанных.

5 Приготовление растворов и реактивов

5.1.1 Приготовление раствора соляной кислоты (1:1).

Раствор готовят из концентрированной соляной кислоты (плотность 1,19 г/см^3), добавляя 100 мл соляной кислоты к 100 мл дистиллированной воды. Раствор устойчив в течение трех месяцев.

5.1.2 Приготовление 0,05 М раствора тиосульфата натрия

Готовят из фиксанала и хранят в склянке из темного стекла. Раствор устойчив в течение трех месяцев.

5.1.3 Приготовление рабочего 0,0025 М раствора тиосульфата натрия в этаноле

Готовят перед употреблением, смешивая 5 мл 0,05 М раствора, 45 мл дистиллированный воды и 50 мл этилового спирта.

5.1.4 Приготовление 0,2 %-ного раствора дитизона в хлороформе

В делительной воронке растворяют в 100 мл хлороформа 50 мг дитизона, прибавляют 200 мл дистиллированой воды и 5–10 мл концентрированного аммиака. Смесь энергично встряхивают 2 минуты. После разделения слоев хлороформный слой отбрасывают, водный раствор дитизона промывают 20 мл хлороформа, слой хлороформа отбрасывают. Трубку делительной воронки высушивают фильтровальной бумагой, прибавляют в воронку 200 мл хлороформа и разбавленную (1:1) соляную кислоту до получения pH равно 5 (по универсальному индикатору). Смесь встряхивают до тех пор, пока дитизон не перейдет в хлороформ (слой хлороформа окрашивается в темно-зеленый цвет, водная фаза обесцвечивается). Хлороформный слой отделяют в другую делительную воронку и промывают трижды порциями воды по 50 мл. Раствор дитизона в хлороформе сливают в склянку из темного стекла и хранят в темноте на холоде. Раствор устойчив в течение месяца.

5.1.5 Приготовление 0,002 %-ного раствора дитизона в хлороформе

Готовят перед употреблением путем разбавления основного раствора хлороформом в 100 раз.

5.1.6 Приготовление 1н раствора гидроксида натрия

Готовят растворением 40 г гидроксида натрия в 1 л дистиллированной воды. Раствор устойчив в течение трех месяцев.

5.1.7 Приготовление 3 М раствора йодида калия

10,0 г йодида калия растворяют в 20 мл воды и добавляют 2 капли 1 н. раствора гидроксида натрия. Используют свежеприготовленный раствор.

5.1.8 Приготовление 1 н. раствора соляной кислоты

50 мл концентрированной соляной кислоты (плотностью 1,19 г/см^3) смешивают с 550 мл дистиллированной воды. Раствор устойчив в течение трех месяцев.

5.1.9 Смесь 1 н. соляной кислоты с этанолом (7:3 по объему). Раствор устойчив в течение трех месяцев.

5.1.10 Приготовление 0,5 М раствор хлорида меди в 2,5 н. соляной кислоте

5,0 г хлорида меди растворяют в 20 мл концентрированной соляной кислоты и добавляют 80 мл дистиллированной воды. Раствор устойчив в течение трех месяцев.

5.1.11 Приготовление основных стандартных растворов ртутьорганических пестицидов

По 10 мг метилмеркурйодида, этилмеркурхлорида, метоксиэтилмеркурацетата или фенилмеркурацетата взвешивают с точностью до 0,1 мг, растворяют в 10 мл бензола.

При использовании препаративных форм пестицидов взвешивают количество препарата, эквивалентное 10 мг действующего вещества, и вносят в 10 мл бензола. Растворы хранят в холодильнике при температуре не выше плюс 10 °С не более трех месяцев.

5.1.12 Приготовление рабочих растворов ртутьорганических пестицидов (2 мкг/мл)

0,1 мл основного раствора пестицида вносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем до метки ацетоном. Растворы хранят в холодильнике при температуре не выше плюс 10 °С. Растворы устойчивы две недели.

5.1.13 Реактивы: бензол, толуол, хлороформ х.ч. или ч.д.а.

Примечание – Допускается применять другое оборудование, лабораторную посуду и химические реактивы с метрологическими и техническими характеристиками не ниже указанных.

6 Приготовление хроматографических пластин

Используют готовые пластины для ТСХ. При необходимости можно приготовить следующим образом: 50 г оксида алюминия (II степени активности для хроматографии), просеянного через сито 100 меш, смешивают в фарфоровой ступке с 3,5 г просеянного и прокаленного гипса. Смесь высыпают в колбу объемом 500 мл и добавляют 60 мл воды. Смесь встряхивают 2 минуты. Свободную от пузырьков воздуха массу распределяют на пластинках 9х12 см (по две чайные ложки) и высушивают на воздухе. Перед употреблением пластинки со слоем адсорбента выдерживают 2 часа в сушильном шкафу при 105 °С. Хранят пластинки в эксикаторе над безводным хлоридом кальция.

7 Процедура проведения анализа

7.1 Экстракция метил- и этилмеркурхлорида из пробы

Собирают перегонную установку, состоящую из круглодонной колбы, холодильника и делительной воронки в качестве приемника.

От 10 до 20 г гомогенизированной или растертой пробы (зерно, корм, рыба, мясо) помещают в круглодонную колбу вместимостью 250 мл, добавляют от 60 до 120 мл 1 н. раствора соляной кислоты, 2 мл 0,5 М раствора хлорида меди и несколько кусочков пемзы или стеклянных капилляров. Сухие образцы увлажняют от 10 до 20 мл воды. Колбу присоединяют к холодильнику с помощью шлифа и нагревают на электроплитке с асбестовой прокладкой. При появлении пены верхнюю часть колбы охлаждают холодной водой. Как только вспенивание прекратится, нагревание усиливают.

Отгон (дистиллят) в объеме от 50 до 100 мл собирают в делительную (первую) воронку, куда предварительно наливают 6 мл толуола. Колбу охлаждают, вносят в нее 20 мл толуола, присоединяют к холодильнику и повторяют дистилляцию в ту же

делительную воронку. Холодильник промывают 5 мл смеси 1 н. соляной кислоты с этанолом (7:3) и раствор сливают в приемник (ту же воронку). Отгон энергично встряхивают 5 минут. После разделения слоев нижнюю фазу отбрасывают, а толуольный экстракт промывают 25 мл воды, встряхивая воронку 3–4 раза. Затем экстракт фильтруют через стекловату или промытую толуолом обычную вату во вторую делительную воронку вместимостью 50 мл. Фильтр промывают 5 мл растворителя.

К экстракту добавляют 5 мл 0,0025 М раствора тиосульфата натрия в этаноле, смесь энергично встряхивают 2 минуты. После разделения фаз нижний слой сливают в третью делительную воронку, а толуольный экстракт еще раз обрабатывают 5 мл раствора тиосульфата натрия. К объединенным этанольным растворам тиосульфата натрия добавляют 2,5 мл 3 М раствора йодида калия и 5 мл бензола. Содержимое воронки энергично встряхивают 2 минуты. Верхний бензольный экстракт сливают в фарфоровую чашку. Если конечный экстракт содержит воду, то бензол осторожно переносят в другую сухую чашку, оставляя водную фазу. Экстракт концентрируют – упаривают на ротационном испарителе с водяной баней – до от 0,1 до 0,2 мл, предварительно добавив к нему 3–4 капли 0,02 %-ного раствора дитизона. Раствор обычно приобретает зеленоватый оттенок. Если экстракт желтеет, следует добавить еще 3–4 капли раствора дитизона до устойчивой зеленоватой окраски.

7.2 Экстракция метил-, этил-, метоксиэтил- и фенилртути из пробы экспресс-методом

Объем пробы зависит от вида анализируемого продукта.

25 г растертой или гомогенизированной пробы (рыба, мясо) или 50 г овощей, целого зерна, почвы, зеленых кормов помещают в колбу на 250 мл. Приливают 100 мл горячей (80 °С) смеси 1 н. соляной кислоты с этанолом (7:3) и 2 мл раствора хлорида меди.

25 г комбикорма в колбе вместимостью 250 мл смачивают 20 мл воды.

В колбу вместимостью 250 мл вливают 50 мл молока, добавляют 50 мл спирта, 2 мл раствора хлорной меди и 10 мл концентрированной соляной кислоты. Содержимое колбы быстро перемешивают, добавляют 50 мл кипящей воды и опять перемешивают.

Колбы встряхивают на механическом встряхивателе в течение часа. Вносят 10 мл 40 %-ного раствора фосфорновольфрамовой кислоты. Содержимое колбы перемешивают и через 10 минут фильтруют через складчатый бумажный фильтр. Остаток на фильтре промывают 50 мл смеси соляной кислоты с этанолом (7:3). Фильтрат собирают в чистую колбу на 500 мл, добавляют к нему 50 мл бензола и встряхивают 1,5 часа. Содержимое колбы переносят в делительную воронку вместимостью 250 мл, используя 10 мл бензола. После разделения слоев отбрасывают нижнюю водную фазу, а экстракт промывают 50 мл воды, слегка перемешивая его 3–4 раза. Нижнюю водную фазу опять отбрасывают, а бензольный экстракт фильтруют через вату, промытую бензолом, в другую делительную воронку.

Реэкстрагируют соединения ртути двумя порциями по 10 мл 0,0025 М раствора тиосульфата натрия каждый раз в течение 2 минут. К реэкстракту добавляют 5 мл 3 М раствора йодида калия. Ртутьорганические пестициды извлекают 5 мл бензола в течение 2 минут. Бензольный экстракт концентрируют, как

и при первом способе, добавив к нему 3–4 капли раствора дитизона, и/или используют его для хроматографического анализа.

7.3 Приготовление свидетелей

От 0,5 до 1 мл стандартного разбавленного ацетоном раствора этилмеркурхлорида (5.1.12) или других соединений (от 1 до 4 мкг) вносят в делительную воронку вместимостью 50 мл, содержащую 10 мл 0,0025 М раствора тиосульфата натрия. Содержимое воронки перемешивают, добавляют 2,5 мл 3 М раствора йодида калия и 5 мл бензола. Экстракция соединений ртути продолжают 2 минуты. Экстракты упаривают после обработки их 0,02 %-ным раствором дитизона до объема от 0,1 до 0,2 мл.

7.4 Полуколичественное определение с использованием ТСХ

Экстракт проб и свидетели наносят на пластинку микропипеткой или пипеткой Пастера в следующей последовательности:

– свидетель (1 мкг);
– проба (I повторность);
– проба (II повторность);
– свидетель (2 мкг).

Остаток со стенок чашки смывают 0,002 %-ным раствором дитизона в хлороформе и наносят на пластинку. Размер пятен не должен превышать 5 мм. Пятна наносят на расстоянии от 1,5 до 2 см от края пластинки. Часть пластинки с пятнами не погружают в растворитель.

В камеру для хроматографирования наливают 50 мл смеси гексана с ацетоном (4:1), помещают ленту фильтровальной бумаги шириной 5 см, так чтобы края ее достигали верхней кромки сосуда. Смачивают ленту смесью растворителей и через интервал времени от 20 до 30 минут ставят в камеру пластинку в вертикальном положении. Камеру герметично закрывают, смазав крышку апиезоном или высоковакуумной смазкой. После того как растворитель поднимется на высоту от 9 до 10 см, пластинку вынимают, отмечают фронт растворителя и высушивают при комнатной температуре.

Органические соединения ртути выявляются в виде желто-оранжевых пятен со следующими значениями R_f:

– фенилртуть 0,35±0,02;
– этилртуть 0,45±0,02;
– метоксиэтилртуть 0,42±0,02;
– метилртуть 0,48±0,02.

Значение R_f ртутьорганических соединений может колебаться в зависимости от условий хроматографирования, поэтому идентификацию органической ртути в пробах следует проводить с учетом R_f свидетелей. Количество органической ртути в пробе определяют визуально путем сравнения интенсивности окраски и площадей пятен свидетелей и проб не позже чем через час после высушивания хроматограмм (иначе пятна обесцвечиваются).

7.5 Количественное определение методом спектрофотометрии

Для количественного определения веществ с пластинки соскабливают зоны, соответствующие пятнам органической ртути. Адсорбент помещают на промытый

хлороформом бумажный фильтр, дитизонаты элюируют 2 мл хлороформа. Измеряют оптическую плотность экстракта с синим светофильтром на фотоэлектроколориметре или на спектрофотометре при длине волны 485 нм. Параллельно измеряют оптическую плотность свидетелей (от 1 до 5 мкг). Для сравнения используют хлороформ.

Количественное определение проводят с использование калибровочного графика в координатах: оптическая плотность – количество органической ртути (мкг).

8 Вычисления результатов анализа (расчет)

Массовую долю органических соединений ртути (*X*) вычисляют по формуле

$$X = \frac{A}{P} \quad , \qquad (1)$$

где *X* – содержание метил-, этил-, метоксилэтил- или фенилртути в исследуемой пробе, мг/ кг;

A – содержание органической ртути в пробе, мкг;

P – масса пробы, г.

9 Оформление результатов анализа

Полученные результаты регистрируют в протоколе, в котором указывают:

– обозначение настоящего стандарта;

– порядковый номер пробы;

– отклонения при проведении определения, если таковые имелись, и факторы, отрицательно влияющие на результаты анализа;

– дату отбора пробы и проведения анализа;

– результат анализа;

– фамилию исполнителя.

УДК 63.6:543.3:006.354 МКС 65.120

Ключевые слова: овощи, корма, продукты животноводства, определение ртутьорганических соединений, метод хроматографии.

gost.e-ecolog.ru