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

Часть 17-я

Данные методики апробированы и рекомендованы в качестве официальных Группой экспертов при Госкомиссии по химическим средствам борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками

Москва — 1988

gost.e-ecolog.ru

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Главного государственного санитарного врача СССР
А.И.Заиченко
"21" ноября 1985г.
№ 4038-85

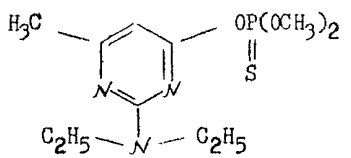
ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ АКТЕЛЛИКА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

(дополнение к № 2085-79)

I. Краткая характеристика пестицида.

Актеллик - (пиримифос-метил),его активное вещество - 0,0-диметил-0-(2-диэтиламино-6-метилпиримидил-4)-тиофосфат.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{11}H_{20}O_3N_3PS$.

Молекулярная масса: 305,35

Актеллик представляет собой светло-желтую жидкость,температура плавления 15-18°С.Разлагается сильными кислотами,щелочами, а также при температуре 100°С.

Актеллик хорошо растворяется во многих органических растворителях и слабо в воде.Давление пара $1,1 \cdot 10^{-4}$мм рт.ст. при 30°С. Показатель преломления - $n^{25}=1,527$.

Применяется в виде порошка, содержащего 2% актеллика; 25 %-ного концентрата эмульсии - "Актеллик 25ЕС(ТУ 2520); 50%-ного концентрата эмульсии - "Актеллик 50 ЕС" (ТУ 2764).

Актеллик эффективен против вредителей хлебных злаков; рекомендован для борьбы с эктопаразитами птиц. Он отличается быстрым проявлением инсектицидной активности при сравнительно невысокой норме его расхода.

Актеллик мало токсичен. При внесении внутрь крысам $ЛД_{50}$ - 2050 мг/кг. При нанесении на кожу $ЛД_{50}$ - 2000 мг/кг. Он не кумулируется в жировых тканях. МДУ актеллика в мясе и яйцах кур не установлен.

Допустимая суточная доза актеллика для человека установлена на уровне 0,0I мг/кг массы тела в сутки, что составляет примерно 0.5-0,7 мг/человека/сутки (данные ФАО/ВОЗ).

2. Методика определения актеллика.

2.I. Основные положения.

2.I.I. Принцип метода.

Метод основан на извлечении актеллика из исследуемой пробы смесью ацетона и воды(I:I), очистке экстракта и определении методом хроматографии в тонком слое с энзимным проявлением либо методом газо-жидкостной хроматографии.

2.I.2. Метрологическая характеристика метода.

(приведена в таблице).

2.2. Реактивы и растворы.

Ацетон, ч.д.а., ГОСТ 2603-79

н-Гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78

Натрий сернокислый безводный, ч.д.а., ГОСТ 4I66-76

Бром, ч., ГОСТ 4I09-74

Силикагель марки КСК, ГОСТ 3956-77 , дробленный и просеянный через сито I00 меш. или пластинки "Силуфол"

Кальций сернокислый ($CaSO_4 \cdot 2H_2O$), ч.д.а., ГОСТ 3270-77, просушенный в шкафу при температуре I60°С в течение 6 часов.

Индоксилацетат, ч.д.а., ТУ 6-09-07-II56-78 или фирмы "Хемапол" (Чехословакия).

Буферный раствор (pH=8,69). К 2,I мл ортофосфорной кислоты прибавляют 2,3 мл уксусной и 2,47 г борной кислот, доводят дис-

Таблица

Метрологическая характеристика метода.

Метод анализа	Наименование объекта	Диапазон определяемых концентраций, мкг	Нижний предел обнаруж. мг/кг	Среднее значение определ. %	Стандартное откл.	Доверительный интервал среднего, %
Энзимно-хроматографический	Мясо кур	0,005-0,I	0,02	78	4,0	78 ± 6,I
	Яйца кур	-"-	-"-	65	3,I	65 ± 5,2
Газо-жидкостная хроматография	Мясо кур	0,000I-0.002	0,00I	80	2,6	80 ± 3,2
	Яйца кур		-"-	68	3,2	68 ± 5,4

тиллированной водой до I л.Для получения буфера с pH=8.69 к I00 мл указанной смеси прибавляют 65 мл 0,2 н.раствора едкого натра.

Уксусная кислота,х.ч.,ГОСТ I8290-72

Ортофосфорная кислота,х.ч.,ГОСТ 6552-80

Борная кислота,х.ч.,ГОСТ 9656-75

Натрий серноватистокислый,ч.д.а., 0,I М водный раствор.

Калий железосинеродистый,х.ч.,ГОСТ 4206-75, I,6%-ный водный раствор.

Калий железистосинеродистый,х.ч.,ГОСТ 4207-75, 2%-ный водный раствор.

Этиловый спирт,96%,ТУ 6-09-I7-I0-77

Ферментный препарат получают из печени крупного рогатого скота.Свежую,однократно замороженную и сохраняемую в дальнейшем в холодильнике печень можно использовать в течение 6 месяцев.

Для приготовления ферментного раствора I г печени гомогенизируют с 9 мл буферного раствора и фильтруют через вату.К I мл полученной сыворотки прибавляют 4 мл буферного раствора.Этот раствор используют для опрыскивания пластинок. Раствор готовят непосредственно перед обработкой.

Основной стандартный раствор "А" актедлика,концентрация I00 мкг/мл.

Рабочие стандартные растворы "Б" - 5,0 мкг/мл и "В" - I,0 мкг/мл. готовят разбавлением основного стандартного раствора в ацетоне.

Проявляющий раствор.I0 мг индоксилацетата растворяют в 6 мл этанола,прибавляют 6 мл буферного раствора pH=8,6°, 2 мл железосинеродистого и 2 мл железистосинеродистого калия и хорошо перемешивают.Раствор готовят непосредственно перед обработкой пластинок.

2.3. Приборы и посуда.

Баня водяная, ТУ 64-I-2850-76

Воронки фильтровальные,ГОСТ 8613-75

Воронки делительные емкостью I000 мл,500 мл,ГОСТ 8613-75

Испаритель ротационный с набором колб,тип ИР-I,ТУ 25-II 917.76

Камера для хроматографирования,ГОСТ I0585-75
Камера для опрыскивания,ТУ 25-II-430-70
Колбы мерные емкостью 25,50,I00,I000 мл, ГОСТ I770-74
Колба Бунзена, ГОСТ 65I4-75
Пластинки стеклянные, 9хI2 см
Пробирки мерные на шлифах емкостью 5-I0 мл,ГОСТ I770-74
Пипетки на I мл, 5 мл, I0 мл, ГОСТ I770-74
Пульверизатор стеклянный,ГОСТ I039I-74
Микрошприц емк.I0 мкл,МШ-I0,ТУ 5Е-2,833.024 или микропипетка на 0,I мл,ГОСТ I770-74
Ступка керамическая, d =I0 см
Шкаф сушильный, ТУ 64-I-I4II-76
Хроматограф " Цвет-I64" с пламенно-фотометрическим детектором(или "Цвет-I06" с термоионным детектором).

2.4.I. Подготовка к определению.

2.4.I. Приготовление пластинок.

Для приготовления пластинок берут 35 г. силикагеля"КСК", 2 г. сернокислого кальция и 90 мл дистиллированной воды.Силикагель с гипсом растирают в фарфоровой ступке,прибавляют воду и размешивают до образования однородной массы.I0г.суспензии наносят на пластинку и равномерно распределяют по поверхности.Сушат пластинки в горизонтальном положении в течение I8-20 часов при комнатной температуре,хранят в эксикаторе

2.4.2. Подготовка проб.

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции,продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов", утв.№205I-79 от 2I.09.I979.

2.5. Проведение определения.

2.5.I. Экстракция и очистка экстракта.

Навеску анализируемого объекта (20 г.мяса кур или 5 г. желтка яйца) тщательно измельчают(желток перемешивают) и помещают в коническую колбу,приливают 20 мл смеси ацетона и воды(I:I) и экстрагируют в течение I часа при перемешивании пробы.Экстракцию повторяют дважды по 30 мин.в тех же условиях.

Фильтруют пробы через бумажный фильтр(синяя лента) на воронке Бюхнера либо через стеклянный фильтр Шотта№4.Экстракт помещают в холодильник на 2 часа.Фильтруют экстракт,фильтр промывают смесью ацетона и воды(I:I).Объединяют фильтраты,прибавляют дисдиллированную воду (I00 мл).Проводят переэкстракцию пестицида в н-гексан.Для этого к ацетоно-водному экстракту добавляют 30-40 мл н-гексана и встряхивают 2-3 мин.После разделения слоев гексановый отделяют,а к ацетоно-водному прибавляют такое же количество н-гексана,как указано выше.Встряхивают снова 2-3 мин. и слои разделяют.Переэкстракцию в н-гексан повторяют ещё раз. Гексановые экстракты объединяют,сушат безводным сернокислым натрием и упаривают до небольшого объема (I-2 мл) на ротационном испарителе.Из данного объема аликвотную часть (I0-30 мкл) наносят на пластинку или 3-5 мкл вводят в газовый хроматограф.

2.5.2. Определение энзимно-хроматографическим методом.

На пластинку,покрытую тонким слоем силикагеля или на пластинку "Силуфол" на расстоянии I,5 см от нижнего и бокового края наносят 5-I0 мкл стандартного раствора актеллика с концентрацией 5,0 мкг/мл,что соответствует 0,02-0,05 мкг действующего начала. На расстоянии I,5-2,0 см от точки нанесения стандартного раствора наносят анализируемую пробу.Производят хроматографирование в системе растворителей н-гексан+ацетон=9:I. Сушат пластинку на воздухе и активируют парами брома.Для этого пластинку на I мин. помещают в эксикатор,насыщенный парами брома.После удаления избытка брома с пластинки (~60 мин.) производят ингибирование. Для этого пластинку опрыскивают свежеприготовленным ферментным раствором и инкубируют в течение 40-60 мин. в насыщенном водными парами термостате при температуре 38°С.Для увлажнения в термостате ставят чашку Петри с водой.После инкубации пластинку опрыскивают проявляющим раствором (индоксилацетат) и снова помещают пластинку в термостат,нагретый до 38°С на 2-3 мин.Актеллик проявляется в виде белых пятен на голубом фоне с величиной R_f=0,52.

Количественное определение производят путем сравнения площади пятна с наиболее близкой к ней по величине площадью стан-

дарта.

Содержание препарата в пробе (мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot S_2 \cdot У \cdot I000}{P \cdot S_I \cdot У_I}$$

А - количество препарата в стандарте, мкг,

S_I - площадь пятна стандарта, $мм^2$

S_2 - площадь пятна пробы, $мм^2$

$У_I$ - объем экстракта, нанесенного на пластинку, мкл

У - общий объем экстракта, мл

Р - масса пробы, взятой для анализа, г.

2.5.3. Определение методом газо-жидкостной хроматографии.

Из подготовленного экстракта пробы отбирают аликвотную часть (3-5 мкл) и вводят в испаритель хроматографа.

Условия хроматографирования: хроматограф с пламенно-фотометрическим детектором:

стеклянная колонка длиной I00 см и диаметром 3 мм, заполненная 5% SE-30 на хроматоне N-AW-ДМСS (0,I6-0,20 мм). Температура испарителя - 220°С, температура колонки - I90°С;

скорость газа-носителя (азота) - 40 мл/мин.,

скорость водорода - 66 мл/мин.,

скорость воздуха - I20 мл/мин.,

время удерживания актеллика в указанных условиях - 4 мин. 35 сек.,

входное сопротивление - $I0^8$ ом,

шкала множителя - $4 \cdot I0^{-2}$ в,

шкала по току - $4 \cdot I0^{-I0}$ а,

скорость движения ленты самописца - 240 мм/ч.

Условия хроматографирования при использовании хроматографа с термоионным детектором приведены в сборнике "Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде", ч.XI, I98Iг., с.296-303.

Содержание препарата в пробе (мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{H_2 \cdot У_I \cdot A \cdot У_3}{H_I \cdot У_2 \cdot P}$$

A – количество препарата в стандарте, мкг/мл
H_I – высота пика стандарта, мм
H_2 – высота пика препарата в пробе, мм
$У_I$ – объем стандартного раствора, введенного в хроматограф, мкл
$У_2$ – объем анализируемого раствора, введенного в хроматограф, мкл
$У_3$ – объем экстракта пробы для анализа, мл
P – навеска пробы, г.

2.6. Обработка результатов анализа приведена в разделах 2.5.2. и 2.5.3.

3. Требования техники безопасности.

Соблюдать требования техники безопасности, обычно рекомендуемые для работы с органическими растворителями, бромом.

4. Настоящие методические указания подготовлены: Н.И.Киселевой и С.И.Гнед (ВНИИГИНТОКС, г.Киев).

5. *Дополнение.*

Настоящие методические указания рекомендуются в дополнение к "Энзимно-хроматографическому методу определения фосфорорганических пестицидов в растительных продуктах и биосубстратах", разработанному М.В.Письменной (ВНИИГИНТОКС, г.Киев), утв. I9 октября I979 г. за №2086-79 и к "Методическим указаниям по определению актеллика в растительном материале, в почве и в воде хроматографией в тонком слое и на газовом хроматографе", разработанным Т.М.Петровой, Ю.Б.Андреевым (ВНИИ защиты растений, г.Ленинград), Красных А.А.(Всероссийский НИИ защиты растений, пос.Рамонь, Воронежской обл.), утв. I9 октября I979г. за №2085-79.

6. Методические указания апробированы в институтах: Всесоюзный институт защиты растений, г. Ленинград (Петрова Т.М.); Всесоюзный институт экспериментальной ветеринарии, г. Москва (Полякова В.Н.).

gost.e-ecolog.ru