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
"2I" ноября I985 г.
№4035-85

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ТИОДАНА И ПРОДУКТОВ ЕГО ПРЕВРАЩЕНИЯ В ВОДЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

(дополнение к "Методическим указаниям по определению тиодана и продуктов его превращения в растительном материале и почве хроматографическими методами" Утверждены Зам.Главного Государственного врача СССР А.И.Заиченко 5.06.I978, №I883 и к "Методическим указаниям по определению тиодана и продуктов его превращения в мясе,органах и тканях животных хроматографическими методами", Утверждены Зам. Главного Государственного санитарного врача СССР 24.УШ.I983 г.,№2828-83)

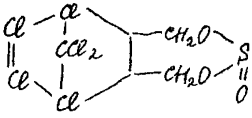
I. Краткая характеристика препарата

Тиодан - I,2,3,4,7,7 - гексахлор бицикло-(2,2,I)-гептан-2,5,6-бис-оксиметилен-сульфит - высокоэффективный инсектицид, рекомендован для применения на маточных плантациях ягодных культур с запрещением использования ягод, собранных с обработанных участков в пищу. Применяется также для обработки хлопчатника.

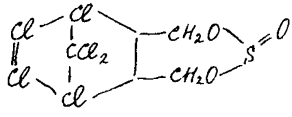
Тиодан (эндосульфан), молекулярная масса 406,4, белое кристаллическое вещество, существует в виде двух изомеров: альфа-

тиодана и бета-тиодана, температура кипения первого 108-109°, второго-296-298°С. Соотношение этих форм в техническом препарате 4:1, Технический препарат плавится при температуре от 70 до 100°С.

α-тиодан



β-тиодан

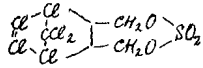
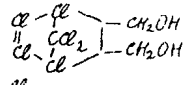
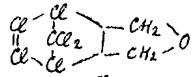
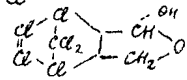
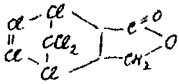


Тиодан практически не растворим в воде, умеренно растворим в большинстве органических растворителей.

$ЛД_{50}$ тиодана для крыс 40-100 мг/кг, он высокотоксичен для человека и теплокровных животных, довольно быстро выделяется из организма животных и не накапливается в жировой ткани. Под действием абиотических и биотических факторов тиодан может превращаться в тиодансульфат, тиоданалкоголь, эфиртиодан, гидроксиэфиртиодан и лактонтиодан (табл.I).

Таблица I

Продукты превращения тиодана

Название соединения	: Структурная формула
Тиодансульфат	
Тиоданалкоголь (тиодандиол)	
Эфиртиодан	
Гидроксиэфиртиодан	
Лактонтиодан	

Из продуктов превращения тиодана наиболее токсичен тиодансульфат; кислородсодержащие соединения, не имеющие в своей молекуле серу, в 100 раз менее токсичен.

2. Методика определения тиодана и продуктов его превращения в воде

2.I. Принцип метода

Метод основан на хроматографическом определении тиодана и продуктов его превращения в тонком слое пластинок "Силуфол" или газохроматографическом определении препаратов после экстракции их из проб воды н-гексаном.

Хроматографическое определение в тонком слое проводится на пластинках "Силуфол UV-254", импрегнированных о-толидином, который служит в качестве проявляющего реактива, или на пластинках "Силуфол" с использованием в качестве проявляющего реактива раствора азотнокислого серебра. Места локализации тиодана в виде двух его изомеров, а также продуктов его превращения обнаруживают после облучения пластинок ультрафиолетовым светом. Количественное определение проводят путем сравнения величины и интенсивности окраски пятен пробы и свидетелей.

Для газохроматографического определения используется хроматограф с детектором по захвату электронов (ДЭЗ) или постоянной скорости рекомбинации (ДПР), с колонкой длиной I м и насадкой - 5% SE-30 на хроматоне N-AW-ДМСS. Количественное определение проводят сравнением высот пиков анализируемых и стандартных растворов.

2.I.I. Метрологическая характеристика метода.

Метод ТСХ. Предел обнаружения альфа и бета-изомеров тиодана I мкг, предел определения 0,002 мг/л. Среднее значение степени определения 80,3%, относительное стандартное отклонение 8,I%. Доверительный интервал среднего при α-0,95 и n=5 I0,4%.

Метод ГЖХ. Предел обнаружения альфа- и бета-изомеров тиодана 0,05 нг, предел определения тиодана $5 \times I0^{-4}$ мг/л.

Среднее значение степени определения 90,0%, относительное стандартное отклонение 7,7%. Доверительный интервал среднего при α-0,95 и n=5 6,48%

2.2. Реактивы и растворы

Петролейный эфир ч., (фракция 40-70°С),ГОСТ 11992-71

Ацетон х.ч., ГОСТ 2603-79

н-Гексан ч., ТУ 6-09-3375-78

Натрий сернокислый безводный ч.,ГОСТ 4166-76

Хроматон N-AW-ДМСS (0,16-0,20 мм) с 5% SE-30 ЧССР

Этиловый спирт, 96%-ный, ТУ 6-09-1710-77

о-Толидин ч., 0,1%-ный раствор в ацетоне

Уголь активированный, КАД-молотый

Пластинки Силуфол UV-254, Kavalier ,ЧССР

Серебро азотнокислое х.ч., ГОСТ 1277-81

Аммиак концентрированный х.ч., ГОСТ 3760-79

2-феноксиэтанол ч.

Азот, газообразный ,чда, ГОСТ 9293-74

Стандартный образец тиодана, стандартный раствор тиодана в гексане, содержащий 5 мкг/мл.

2.3. Приборы и посуда

Вакуумно-ротационный испаритель, ТУ 25-11-917-74 или прибор для отгонки растворителей

Воронки химические диаметром 6 см, ГОСТ 86-13-81

Пробирки градуированные со шлифом, 10-15 мл, ГОСТ 16515-75

Камера для хроматографирования, размером 150 х 200 мм, ГОСТ 10565-75

Колбы н/ш, круглодонные, емкостью 100,150 и 200 мл, ГОСТ 10394-75

Воронки делительные (цилиндрические или грушевидные) емкостью 250, 500 и 1000 мл, ГОСТ 8613-75

Микропипетки, ГОСТ 1770-71

Пипетки или шприцы для нанесения проб

Пипетки емкостью 1,5,10 мл, ГОСТ 1774-74

Микрошприцы на 5 и 10 мкл

Колонки хроматографические стеклянные для очистки экстрактов 15 х 1,5 см

Камера для хроматографирования, ГОСТ 10563-75

Прибор для облучения УФ-светом с лампой ПРК-4 или другого типа

Пульверизатор стеклянный, ГОСТ 10391-74

Камера для опрыскивания, ТУ 25-11-430-70

Газовый хроматограф серии "Газохром" или "Цвет", снабженный детекторами электронного захвата (ДЭЗ) или постоянной скорости рекомбинации (ДПР)

Колонки стеклянные для газовой хроматографии длиной 1 м, внутренним диаметром 3 мм

Секундомер, ГОСТ 5072-79

Бумажные фильтры, ТУ 6-09-1687-77

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Приготовление пластинок "Силуфол" перед использованием импрегнируют о-толидином. Для этого каждую пластинку опускают на 0,5 см в 0,1%-ный раствор о-толидина в ацетоне, налитый в камеру для хроматографирования в объеме, равном 60 мл при использовании стандартной камеры для хроматографирования. После того, как фронт растворителя поднимется до верхнего края пластинки, ее вынимают и высушивают на воздухе, избегая прямых лучей солнечного света. После этого пластинки готовы к употреблению, их также можно хранить в эксикаторе.

При использовании альтернативного способа обнаружения препаратов с помощью проявляющих реактивов применяют пластинки "си-

луфол", не импрегнированные о-толидином.

2,4.2. Приготовление проявляющих реактивов

I. 0,2I г азотнокислого серебра растворяют в 0,5 мл дистиллированной воды, добавляют I,2 мл 2-феноксиэтанола и доводят объем до 25 мл ацетоном.

2. 0,2I г азотнокислого серебра растворяют в I,2 мл дистиллированной воды, добавляют I,2 мл 25% аммиака и доводят до 25 мл (общий объем) ацетоном.

2.4.3. Приготовление хроматографических колонок для очистки экстрактов

В нижнюю часть хроматографической колонки помещают около 500 мг обезжиренной органическим растворителем и высушенной ваты и засыпают I,3 мл сульфата натрия б/в (высота слоя около I см) и 2,5 мл активированного угля (высота слоя в колонке 2 см). Перед употреблением колонки промывают 20 мл н-гексана.

2.4.4. Отбор и подготовка проб для анализа

Отбор и подготовка проб для анализа производятся в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов", утвержденными Зам.Главного Государственного санитарного врача СССР 2I.08.79, №205I-79

2.5. Проведение определения

Ход анализа. Из анализируемого образца воды отбирают пробу 500 мл и помещают в делительную воронку. Препараты экстрагируют в делительной воронке гексаном трижды по 30 мл. Объединенный гексановый экстракт фильтруют через бумажный фильтр, заполненный на 2/3 безводным сульфатом натрия, промывают 20 мл гексана. Затем растворитель отгоняют с помощью ротационного испарителя или в струе воздуха на водяной бане при температуре не выше 50°С. К

сухому остатку добавляют пипеткой 2-5 мл или другое точно отмеренное количество гексана. Колбу закрывают притертой пробкой, тщательно ополаскивают растворителем стенки колбы. В хроматограф вводят 5 мкл полученного раствора. Для определения методом ТСХ на пластинку наносят часть раствора или испаряют анализируемый раствор досуха, сухой остаток смывают трижды порциями гексана по 0,2 мл и наносят их на хроматографическую пластинку в одну точку. Если гексановый экстракт из воды содержит муть или другие примеси, то его концентрируют до 5-6 мл и пропускают через насадку колонки с сульфатом натрия и активированным углем. Тиодан и продукты его превращения элюируют из колонки 30 мл н-гексана, концентрируют раствор под вакуумом до 5-10 мл и используют для анализа методом ТСХ или ГЖХ. При отсутствии гексана его можно заменить петролейным эфиром.

2.5.1. Хроматографическое определение тиодана в тонком слое

Для хроматографического определения отбирают аликвотную часть экстракта или весь экстракт, предварительно сконцентрировав его до объема 0,3 мл. На хроматографическую пластинку, импрегнированную о-толидином, шприцем или пипеткой наносят исследуемую пробу в одну точку так, чтобы диаметр пятна не превышал 2 см. Сухой остаток смывают двумя порциями (по 0,2 мл) гексана или диэтилового эфира и наносят в центр первого пятна. Справа и слева от пробы на расстоянии 2 см наносят стандартные растворы, содержащие 1 и 5 мкг тиодана или другие, близкие к определяемым концентрации.

Пластинки с нанесенными растворами помещают в камеру для хроматографирования, на дно которой на 30 мин до хроматографирования наливают 50 мл подвижного растворителя - смеси н-гексана с этиловым спиртом в соотношении 3:1.

После того, как фронт растворителя поднимется на 10 см, пластинку вынимают из камеры и спустя несколько минут подвергают воздействию УФ-света, располагая пластинку на расстоянии 20 см от источника света.

При наличии тиодана и продуктов его превращения на пластинке появляются пятна сине-голубого цвета. R_f альфа-тиодана 0,15, R_f бэта-тиодана 0,40, R_f кислородсодержащих продуктов превращения тиодана 0,08-0,1, R_f тиодансульфата 0,50.

При определении препаратов альтернативным способом образец и свидетели наносят на пластинку "силуфол", не обработанную о-толидином, и хроматографируют в петролейном эфире. После развития хроматограммы пластинку опрыскивают одним из проявляющих реактивов. После высушивания на воздухе ее подвергают УФ-облучению. Препараты обнаруживаются на пластинке в виде пятен коричневого цвета. Более четкие результаты получаются при использовании первого проявителя. R_f альфа-тиодана-0,1, бэта-тиодана0,36, тиодансульфата - 0,44.

Содержание препарата в пробе вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A}{P}, \text{ где}$$

X - содержание препарата в пробе, мг/л;

A - количество препарата, найденное в пробе на пластинке, мкг;

P - количество (объем) исследуемой пробы, мл.

2.5.2. Проведение газохроматографического анализа

Условия определения: температура испарителя-220°С, термостата детектора-210°С, термостата колонок-190°С.

Скорость газа-носителя - 100 мл/мин. Шкала электрометра - $0,25 \cdot 10^{-10}$а.

Время удерживания альфа-тиодана-3,2 мин, бэта-тиодана-4,3 мин, тиодансульфата-7 мин, эфиртиодана-I,2 мин, гидроксиэфиртиодана-2,5 мин.

Количественное определение проводят, сравнивая высоты или площади пиков исследуемых и стандартных растворов.

В колонку хроматографа вводят 5 мкл раствора.

Содержание препарата вычисляют по формуле:

$$X = \frac{H_2 \cdot У_I \cdot C_I \cdot У_3}{H_I \cdot У_2 \cdot P}$$, где

X - количество препарата, мг/л;

C - концентрация стандартного раствора, мкг/мл;

H_I и H_2 - высоты пиков стандартного и анализируемого растворов, мм;

$У_I$ и $У_2$ - объемы стандартного и анализируемого растворов, введенные в колонку хроматографа, мкл;

P - объем пробы воды, взятый для анализа, мл;

$У_3$ - объем экстракта пробы для анализа, мл.

3. Требования безопасности

Соблюдаются требования безопасности обычно рекомендуемые для работы с химическими реактивами и хлорорганическими пестицидами.

4. Настоящие методические указания разработаны
Поляковой В.Н., к.т.н., ВИЭВ (г.Москва);
Петровой Т.М., к.б.н., ВНИИ защиты растений (г.Ленинград).

gost.e-ecolog.ru