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

"22" 5. 1985 г.
№3895-85

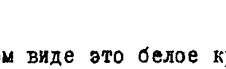
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ХЛОРОФОСА В КАРТОФЕЛЕ ХРОМАТОЭНЗИМНЫМ МЕТОДОМ

(Дополнение к №3185-85 от 03.01.85 г.)

I. Краткая характеристика препарата

Хлорофос - (трихлорфон, диптерекс, Дилокс) - фосфорорганический инсектицид, является эффективным средством борьбы со многими вредными членистоногими, в том числе - с колорадским жуком, на картофеле.

Действующее начало препарата - О,О (диметил (I-окси-2,2,2-трихлорэтил) фосфонат.



$C_4H_{I8}CI_3O_4P$

Мол.масса 257,45

В чистом виде это белое кристаллическое вещество, плавящееся при 82-83°С, температура кипения - I00°С при 0,I мм рт.ст. Растворимость препарата на I00 г: в воде- I5,4 (25°С), бензоле - I5,2, хлороформе - 75. Хорошо растворяется в спирте, плохо - в н-гексане, пентане, петролейном эфире. Хлорофос обладает умеренной токсичностью для теплокровных животных. $ЛД_{50}$ для мышей и крыс - 225-I 200 мг/кг. МДУ в растительных продуктах I мг/кг.

2. Методика определения хлорофоса в картофеле

2.I. Основные положения

2.I.I. Принцип метода

Метод основан на извлечении остаточных количеств хлорофоса из картофеля ацетоном с последующим определением ТСХ.

Хлорофос на хроматограммах проявляют биохимической реакцией. В качестве фермента используют эстеразу микробного происхождения. В качестве субстрата эстеразы - хромогенный субстрат - индофенилацетат.

Высокая чувствительность биохимической реакции позволяет исключить стадию очистки экстракта и его концентрирования.

2.I.2. Метрологическая характеристика метода

Предел обнаружения в хроматографируемой пробе - 0,I нг. Предел обнаружения - 0,I мг/кг. Процент определения 70-90%. Среднее значение $\bar{c}$ 80%. Стандартное отклонение ±7,5%. Доверительный интервал среднего при 0,95 и n=5,80±7,5%

2.2. Реактивы и растворы

Растворители: ацетон, гексан

Реактивы: натрий гидроокись - ОС I8-3,ГОСТ 6-0I-302-74

борная кислота - ОС I2-3, ТУ 6-09-597-77

Индофенилацетат ХЧ, ТУ 6-09-469-77

Эстераза микробная - технический регламент ВНИИ Биотехника,I982 г. Вышеволоцкий завод ферментных препаратов

2.2.I. Растворы: готовят борно-щелочной буфер 0,7 М с pH 9,5 смешением 0,7 М натрия гидроокиси и 0,7 М борной кислоты

2.2.2. Рабочий раствор фермента готовят при концентрации 0,5 мг/мл в 0,7 М борно-щелочном буфере, pH 9,5 (при исходной активности фермента - 0,5 + I,0 Е/мг по индофенилацетату).

2.2.3. Индофенилацетат растворяют в ацетоне до концентрации 2 мг/мл

2.2.4. Стандартный раствор хлорофоса в ацетоне $I \times I0^{-3}$ мг/мл и серия стандартных растворов с содержанием 0,5; I; 2; 3; 5; I0; 20; 50 x $I0^{-5}$ мг/мл (что при объеме пробы 20 мкл соответствует 0,I; 0,2; 0,4; 0,6; I,0; 2,0; 4,0; I0 нг на хроматографической пластинке).

2.3. Приборы и посуда

Колбы плоскодонные на 250 мл, ГОСТ I770-74

Мерные колбы на I00 и 50 мл, ГОСТ I770-74

Пипетки на 0,I; I и I0 мл, ГОСТ I770-74

Мерные цилиндры на 50 мл, ГОСТ I770-74

Прибор для встряхивания АВУ-I, ТУ 64-I-I0?I-73

Пористый фильтр №3

Микрошприцы на 50 мкл

Хроматографические камеры, ГОСТ I0565-75

Готовые пластинки для ТСХ - "Силуфол"

2.4. Ход анализа

2.4.1. Отбор проб

Пробы отбирают в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб "утвержденными Заместителем Главного Государственного санитарного врача СССР №2051-79 от 21.08.79. Для анализа из каждого вымытого клубня вырезают ножом кубики размером 0,5 х 0,5 см и отвешивают пробу 10 г.

2.4.2. Проведение определения

Навеску картофеля (10 г) помещают в плоскодонную колбу, добавляют 50 мл ацетона и экстрагируют хлорофос в течение 30 мин при помощи механического встряхивателя. Экстракт фильтруют в другую плоскодонную колбу. Повторяют экстракцию еще два раза 50 мл ацетона. Экстракты объединяют. Из объединенного экстракта наносят пробу 20 мкл микрошприцом на хроматографическую пластинку. Параллельно на пластинку наносят серию стандартных растворов с концентрацией 0,5, 1, 2, 3,5, 10, 20, 50×10^{-5} мг/мл (тоже по 20 мкл). Хроматограмму развивают в системе гексан-ацетон (1:1). После развития хроматограмму сушат, обрабатывают раствором фермента и помещают в влажную камеру на 40-60 мин., а затем обрабатывают раствором индофенилацетата.

Хлорофос проявляется в виде желтых пятен на сине-зеленом фоне (цвет фона впоследствии переходит в розово-синий). Причем пятна соответствующие количествам хлорофоса 0,1-1,0 нг стабильны в течение 10 минут, 1,0 нг - в течение 10 часов. R_f хлорофоса $0,56 \pm 0,02$. Нижний предел определения - 0,1 нг в хроматографируемой пробе.

2.5. Обработка результатов анализа

Количественное определение проводят путем сравнения размера и интенсивности пятен в рабочей пробе с пятнами стандартных растворов. Содержание хлорофоса в картофеле вычисляют по формуле:

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

A - количество хлорофоса, найденное в рабочей пробе на хроматограмме, мкг;

V_a - объем нанесенной на пластинку аликвоты в мл (0,02 мл=20 мкл);

V - конечный объем рабочего раствора, мл (150 мл)

P - взятая навеска картофеля в г (10 г).

ДДВФ определению не мешает,т.к. в данной системе имеет R_f =0,80

Примечание: При анализе старого картофеля на линии старта (R_f=0,0) могут проявляться пятна, вследствии образования при хранении картофеля токсинов, обладающих антиэстеразным действием.

3. Требования безопасности

Меры предосторожности при работе с хлорофосом - как со среднетоксичными пестицидами. Необходимо также соблюдать требования техники безопасности, принятые для работы с легковоспламеняющимися жидкостями.

4. Разработчики:

Методические указания разработаны в институте Химаналит, НПО "Химавтоматика", Ленинград, Вашкевич О.В.

Методические указания опробированы во ВНИИХСЗР (т.Новикова К.Ф.)

gost.e-ecolog.ru