Министерство сельского хозяйства
Российской Федерации

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

Сборник № 21
Часть 1-ая

МОСКВА
ЦЕНТР НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ,
ПРОПАГАНДЫ И РЕКЛАМЫ
1994 г.

gost.e-ecolog.ru

УТВЕРЖДЕНО
МИНИСТЕРСТВОМ
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР
" 29 " июля 1991г.

№ 6075-91

ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ДИМИЛИНА В ЯБЛОКАХ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ

(дополнение к № 9481-81 от 22.10.1981)

1. Краткая характеристика препарата

Название по номенклатуре ИСС,СЭВ - дифлюбензурон

Химическое название N-(2,6-дифторбензил)-N-(4-хлорфенил)



$C_{14}H_9ClF_2N_2O_2$

М.м. 310,7

В чистом виде кристаллы белого цвета с Т.пл. 230-230^{0}С.

Давление паров при ^{0}С 0,013 мПа ($9{,}8\cdot10^{-8}$мм рт.ст.)

Растворимость в воде при 20^{0}С 0,1 мг/л.

в неполярных растворителях 10 г/л, в ацетоне 6,5 г/л при 25^{0}С, в диметилформамиде -104 г/л,диоксане 20 г/л.

$ЛД_{50}$ орально для мышей и крыс 4640 мг/кг,для кроликов 2000 мг/кг.

$СК_{50}$ для рыб 130-140 мг/л.

В США МДУ в пищевых продуктах 0,05мг/кг. Допустимое суточное потребление (ADJ) 0,02 мг/гк. В СССР МДУ в яблоках 0,1 мг/кг

Применяется в качестве инсектицида на яблонях,цитрусовых,овощах.

Разработчики: Т.В.Алдошина,К.Ф.Новикова,ВНИИХСЗР,г.Москва

2. Методика определения димилина в яблоках тонкослойной хроматографией.

2.1. Основные положения

2.1.1. Метод основан на извлечении димилина из яблок смесью гексан -ацетон, очистке экстракта кислотно-щелочным перераспределением димилина и определении тонкослойной хроматографией на пластинках"Силуфол".

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Диапазон измеряемых концентраций -0,03 - 3,30 мг/кг.

Предел обнаружения в хроматографируемой пробе - 0,2 мкг.

Предел обнаружения в яблоках - 0,03 мг/кг.

Среднее значение определения стандартных количеств димилина в яблоках при n=15 $\pm$ 10%.

Доверительный иетервал среднего определения при n=5 и p=0,95 87$\pm$12%.

Размах варьирования R 70-100%.

2.1.3. Избирательность метода

Метод селективен.Избирательность метода обеспечивается сочетанием двух систем подвижных растворителей различной полярности и двух проявляющих реагентов.

2.2.Реактивы и растворы

Ацетон, чда,ГОСТ 2603-79.

Этилацетат, хч, ГОСТ 22300-76.

Гексан, чда, ТУ 6-09-3375-78.

Бензол, чда, ГОСТ 5955-75.

Хлороводородная кислота, HCI, чда, ГОСТ 3118-74, концентрированная.

Гидроксид калия, ч, ГОСТ 24363-80.

Гилроксид натрия, NaOH ГОСТ 11078-78, очищенный 4н раствор.

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

о-Толидин, ч, ТУ 6-09-299-73.

Калий йодистый,KI,хч,ГОСТ 4232-74.

Натрий нитрит Na_2NO_3,хч, ГОСТ 4197-74.

Уксусная кислота, ГОСТ 61-75, ледяная.

а- Нафтол, чда, ГОСТ 5838-79.

Калий марганцевокислый, $KMnO_4$, ч, ГОСТ 20490-76.

Проявляющий реагент № 1. Растворяют 0,16 г о-толидина в 30 мл ледяной уксусной кислоты, добавляют 1 г KI и доводят до 500 мл дистилированной водой.Раствор хранить в темном месте. Срок годности 2 недели. На обработку одной хроматограммы идет около 1 мл реагента.

Проявляющий реагент № 2. Раствор А. К смеси,состоящей из 46 мл воды и 4 мл концентрированной HCl добавляют 1,5 г нитрита натрия. Раствор Б.Растворяют 2,8 г KOH в 50 мл дистилированной воды и прибавляют 0,3 г а-нафтола.

Растворы А и Б готовят перед использованием.

Стандартный раствор димилина в ацетоне с содержанием 1000 мг/мл (раствор 1) и 10 мкг/мл (раствор 2).

Стандартные растворы димилина стабильны при хранении в холодильнике в течение 6 месяцев.

Пластинки"Силуфол",производства Хемапол, ЧСФР, размером 150х150мм.

2.3. Приборы,температуры, посуда

Камеры хроматографические, стеклянные, с пришлифованными крышками, ГОСТ 25336-82Е или аналогичные.

Лампа УФ-света, ртутно-кварцевая, с широким диапазоном волн, ТУ 46-22-236-79 или аналогичная.

Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М, ТУ 25-11-917-76 или аналогичный.

Аппарат для встряхивания, ТУ 64-1-1081-73.

Пульверизаторы стеклянные,ГОСТ 25336-82.

Воронки делительные, ГОСТ 25336-82Е.

Колбы плоскодонные ГОСТ 25336-82,вместимостью 500,250 мл.

Мерные колбы, ГОСТ 1770-74, вместимостью 100 и 500 мл.

Пипетки с делениями, ГОСТ 20292-74Е.

Пробирки градуированные с пробками на шлифах, ГОСТ 1770-74Е, вместимостью 5 мл.

Эксикатор, ГОСТ 25336-82Е, вместимостью не менее 2 л.

Микрошприц на 100 мкл или микропипетка ГОСТ 20392-74Е на 0,1 мл.

2.4. Подготовка к определению

Хроматографическую камеру за один час до начала хроматографирования заполняют смесью подвижных растворителей гексан:ацетон (2:1) и бензол : этилацетат (6:1) для насыщения камер парами подвижного растворителя. Обьем подвижного растворителя в камере должен по высоте находиться не выше,чем на 0,7-1,0 см от уровня дна камеры.

Камеру для хроматографирования готовят следующим образом: на дно эксикатора помещают чашку Петри с 5 г $KMnO_4$ а затем к ее содержимому осторожно приливают 15 мл концентрированной HCl. Камеру закрывают пршлифованной крышкой. Камера может быть использована через 5-10 минут.

2.5. Отбор проб

Отбор проб проводится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции,продуктов питания и обьектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов", утвержденными Минздравом СССР 21.08.1979, № 2051-79.

2.6. Проведение определения

Пробу имельченных яблок (30 г)помещают в плоскодонную колбу вместимостью 500 мл, добавляют 70 мл смеси гексана с ацетоном (2:1) и 0,2 мл концентрированной HCl. Димилин экстрагируют при помощи механического встряхивания колбы в течение 30 мин. Экстракт пропускают

через пористый фильтр со слоем безводного сульфата натрия в плоскодонную колбу вместимостью 500 мл. Экстракцию димилина повторяют еще два раза тем же количеством растворителя. Объединенный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия (№ 10г), а затем фильтруют через пористый фильтр в круглодонную колбу вместимостью 500 мл.Сульфат натрия промывают 2-3 раза смесью гексан-ацетон (2:1) общим объемом № 10 мл и полученный раствор также переносят в круглодонную колбу. С помощью ротационного вакуумного испарителя полностью оттоняют растворитель. Остаток из колбы количественно с помощью 10 мл ацетона переносят в делительную воронку на 500 мл, добавляют 250 мл дистилированной воды и около 0,5 мл 4 Н NaOH до pH 10.Экстракт промывают три раза гексаном,порциями по 50 мл.Гексановую фазу отбрасывают.К водной фазе пипеткой добавляют около 0,5 мл концентрированной HCI до pH-1. И трижды экстрагируют димилин гексаном, порциями по 50 мл. Объединенный гексановый экстракт сушат над безводным сульфатом натрия (~5 г), а затем порциями фильтруют в грушевидную колбу вместимостью 50 мл. Каждую порцию концентрируют с помощью ротационного вакуумного испарителя до объема 1-2 мл.Последнюю порцию гексана удаляют полностью. К сухому остатку пипеткой добавляют 1 мл гексана.Колбочку закрывают пробкой на шлифе и тщательно обмывают стенки колбы растворителем.Для хроматографирования отбирают с помощью микрошприца на 100 мкл или микропипеткой на 0,1 мл аликвотную часть раствора (0,1-0,2 мл) и наносят на хроматографическую пластинку"Силуфол".Справа и слева от рабочей пробы,таким же образом по 0,1мл наносят серию стандартных растворов с содержанием 0,2;0,4;0,6...1,0 мкл димилина,подготовленных следующим образом: в ряд градуированных пробирок вместимостью 5 мл пипеткой на 1 мл из стандартного раствора № 2 переносят 1,2,3... мл и доводят до метки гексаном.

Хроматограмму развивают в системе гексан:ацетон (2:1) или бензол: этилацетат (6:1).После развития хроматограмму на 15 минут помещают под лампу УФ света,затем после полного выветривания паров хлора, хроматограмму обрабатывают проявляющим реагентом № 1.

Димилин на хроматограммах проявляется в виде темно-серых пятен сначала на белом, а затем на бежевом фоне с $R_f 0,40 \pm 0,05$- в первой системе подвижных растворителей и $0,35 \pm 0,02$ - во второй.Линейный диапазон определения 0,2-1,0 мкг в хроматографируемой пробе. Пятна стабильны в течение нескольких месяцев.

В качестве альтернативного проявления,используют проявляющий реагент №2.Хроматограмму после облучения в УФ свете последовательно обрабатывают раствором А и Б. Димилин проявляется в виде красных пятен на бледно-желтом фоне.Линейный диапазон определения - 0,5-10 мкг.Пятна стабильны в течение длительного времени.

2.7. Обработка результатов анализа

Количественное определение димилина в анализируемой пробе проводят путем сравнения площади и интенсивности пятен рабочей пробы и серии стандартных растворов и содержание его (X) в мг/кг вычисляют по формуле:

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

A- количество димилина, найденное в хроматографической пробе, мкг;

V- общий обьем раствора, мл;

V_a - обьем аликвоты, взятой для хроматографирования, мл;

P - навеска анализируемой пробы, г.

3. Требования безопасности

Соблюдать все необходимые требования безопасности, принятые для работы с пестицидами и горючими растворителями.

gost.e-ecolog.ru