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

т. 16, р. II

Данные методики апробированы и рекомендованы
в качестве официальных Группой экспертов при Госкомисси
болезнями растений и сорняками

Москва — 1987 г.

gost.e-ecolog.ru

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Главного государственного санитарного врача СССР

_____ Л.И.Заиченко

27.04 1984 г.

№ 3001-84

ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ПЛАНТВАКСА В ЗЕРНЕ И ВОДЕ ХРОМАТОГРАФИЕЙ В ТОНКОМ СЛОЕ

I. Краткая характеристика препарата.

Плантвакс (оксикарбоксин)-2-метил-5,6-дигидро-I,4-оксатиин-4,4-диоксид-5-карбоновой кислоты анилид.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_{12}H_{13}NO_4S$

Молекулярная масса: 267,3

Температура плавления: 127,5-130°С

В I л растворителя растворяется (г плантвакса): в воде I, в бензоле 34, в ацетоне 360, в метаноле 70, в этаноле 30.

Выпускается в виде 20%-ного к.э., 10%-ного дуста и 5%-ных гранул.

$ЛД_{50}$ для крыс - 2000 мг/кг.

Плантвакс - системный фунгицид, рекомендуемый для борьбы с ржавчинной инфекцией.

2. Методика определения плантвакса в зерне и воде.

2.I. Основные положения.

2.I.I. Принцип метода.

Метод основан на извлечении пестицида из исследуемой пробы

хлороформом и дальнейшем определении методом хроматографии в тонком слое адсорбента ("Силуфол", силикагель).

В качестве подвижного растворителя использовали смесь хлороформа и эфира в соотношении = 5:2.

Обнаружение зон локализации пестицида в тонком слое сорбента основано на термическом либо УФ-разложении препарата до аминосоединения, диазотировании его нитритом натрия в солянокислой среде и азосочетании полученных солей фенилдиазония с N(1-нафтилэтилендиамином) либо α-нафтиламином, α-нафтолом.

Возможно обнаружение зон локализации плантвакса другим способом: УФ-разложение препарата, N-галогенирование с последующим проявлением образующихся продуктов о-толидином (или йод-крахмальным реактивом).

2.1.2. Метрологическая характеристика метода.

Нижний предел обнаружения плантвакса с помощью реакции диазотирования и азосочетания - 0,2 мкг (N-1-нафтилэтилендиамин), 0,5 мкг (α-нафтиламин), 1,0 мкг (α- нафтол), с помощью реакции N-галогенирования - 0,5-1,0 мкг.

Чувствительность определения плантвакса в зерне - 0,07 мг/кг, в воде - 0,015 мг/л.

Средний процент определения заданных количеств пестицида (0,1 мг/л или мг/кг) - 68,0 (в зерне), 35,0 (в воде), стандартное отклонение 17,6% (зерно), 5% -(вода).

Диапазон определяемых концентраций - 0,5-10 мкг.

Доверительный интервал среднего при P=0,95 и n=5

85,0±4,9% (для воды) и 68,0±14,0% (для зерна)

2.2. Реактивы и растворы.

Алюминия окись II степени активности, МРТУ 6-09-5296-68

Ацетон, х.ч., ГОСТ 2603-71

Гипс (кальций сернокислый $CaSO_4 \times 2H_2O$). В течение 2 суток прокаливают при 180°С и просеивают через сито 100 меш.

Калия йодид, х.ч., ГОСТ 4232-74

Кислота соляная, х.ч., ГОСТ 3118-77

Калий едкий, ч.д.а., ГОСТ 9286-78

Крахмал водорастворимый, ч., ГОСТ 10163-76

Метилен хлористый, ТУ 6-09-3716-74, х.ч.

Натрий азотистокислый, х.ч., ГОСТ 4197-75
Пластинки "Силуфол" (ЧССР)
Натрий сернокислый безводный, ГОСТ 4166-76, х.ч.
Калия перманганат, ГОСТ 20490-75, х.ч.
α - нафтиламин, ч.д.а., ГОСТ 8827-74
α -нафтол, ч.д.а., ГОСТ 5838-70
N -(1-нафтилэтилендиамин)дигидрохлорид, ч., ТУ 6-09-2544-72
О -толидин, МРТУ 6-09-6337-69
Силикагель "Д" (5-40 мк), (ЧССР)
Хлороформ, х.ч., ГОСТ 200-15-74
Эфир для наркоза, Госфармакопея СССР

Проявляющие реагенты (готовят непосредственно перед проявлением). №1. а)[x] К смеси, состоящей из 46 мл дистиллированной воды и 4 мл концентрированной соляной кислоты, прибавляют 1 г азотистокислого натрия.

б). N-(1-нафтилэтилендиамин)дигидрохлорид, 1%-ный раствор в этиловом спирте.

в). α-нафтиламин, 10%-ный раствор в этиловом спирте

г). α-нафтол (3г едкого калия растворяют в 50 мл дистиллированной воды, прибавляют 0,5 г α-нафтола).

№2. Хлорирующий реагент. Готовят смесь равных объемов 1,5%-ного раствора перманганата калия и 12%-ного раствора соляной кислоты.

О-Толидиновый реагент. а). 0,1 г о-толидина растворяют в 0,1 мл уксусной кислоты. б). 0,4 г йодистого калия растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды.

Растворы а) и б) объединяют и разбавляют водой до 100 мл.

Йод-крахмальный реагент. Готовят 1%-ный раствор йодистого калия и 2%-ный водный раствор крахмала, последний заваривают. Смешивают эти растворы в соотношении 1:1.

Стандартный раствор плантвакса готовят растворением 10 мг препарата в ацетоне (50 мл). Раствор содержит 200 мкг/мл.

2.3. Приборы и посуда.

Баня водяная, ТУ 64-1-2850-76
Воронки химические, диаметр 6 см., ГОСТ 26-13-64

x) Расход реагентов на одну пластинку - 5 мл

Воронки делительные, емк.250,500 мл,ГОСТ 10054-75
Камера для опрыскивания,ТУ 11-430-70
Камера для хроматографирования размером 150-200 мм
Колбы мерные,емк.50,100 мл,ГОСТ 1776-74
Колбы круглодонные,н/ш,емк.150,200 мл,ГОСТ 10-394-63
Лампа кварцевая ПРК-4 или ПРК-7
Микропипетка,ГОСТ 1770-74 (для нанесения отандартного раствора).
Пластинки стеклянные размером 90х 120 мм
Пипетки емк.1,5,10 мл, ГОСТ 1770-74
Прибор для отгонки растворителя,
Пульверизаторы стеклянные, ГОСТ 10391-74
Цилиндры мерные,емк.25,50,100,250 мл,ГОСТ 1770-74

2.4. Подготовка к определению.

2.4.1. Приготовление пластинок.

1,5 г растворимого крахмала заваривают в 15 мл воды,прибавляют 110 мл воды и 40 г силикагеля "Л" (или 60 г окиси алюминия), размешивают до образования однородной массы и по 5 г наносят на стеклянные пластинки, равномерно распределяя ее по поверхности.Сушат пластинки на воздухе в течение суток при комнатной температуре.

2.4.2. Отбор проб.

Пробы для проведения анализа отбираются согласно Унифицированным правилам отбора сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов,утвержденным Зам.Главного государственного санитарного врача СССР №2051-79г.

2.5. Проведение определения.

2.5.1. Экстракция,очистка экстракта.

Зерно. 25-50г. зерна (пшеница,овес) помещают в коническую колбу,приливают хлороформ в таком количестве,(~50 мл), чтобы проба была полностью покрыта им и экстрагируют в течение 1 часа, периодически перемешивая пробу.

Экстракцию повторяют еще дважды по 50 мл растворителя, проводя экстракцию в течение 30мин каждый раз.Экстракты объ-

единяют и фильтруют через бумажный фильтр (синяя лента). Упаривают на ротационном испарителе досуха. Колбы охлаждают. Прибавляют 20 мл смеси, воды и ацетона в соотношении 3:1. Помещают колбы в морозильную камеру холодильника на 1,5-2 часа. Производят фильтрование растворов через плотный бумажный фильтр (синяя лента). Прибавляют несколько капель соляной кислоты (конц.) до pH=1 и производят экстракцию хлороформом трижды по 20 мл каждый раз в течение 5 мин. Экстракты объединяют и пропускают через воронку, заполненную б/в сернокислым натрием. Упаривают на ротационном испарителе до небольшого объема (0,05 мл) и наносят на хроматографическую пластинку. В качестве свидетеля наносят стандартный раствор плантвакса (200 мкг/мл) в количестве 5-10 мкг.

Вода. 200 мл анализируемой воды помещают в делительную воронку, подкисляют соляной кислотой до pH=1 и экстрагируют хлороформом или хлористым метиленом трижды по 50 мл. Экстракты объединяют и фильтруют через слой безводного сернокислого натрия и упаривают до небольшого объема (0,05 мл). Сконцентрированную пробу количественно наносят на хроматографическую пластинку.

2.5.2. Хроматографирование.

Производят хроматографирование экстрактов в системе растворителей хлороформ+эфир = 5:2[x]. Когда фронт растворителя поднимется на высоту 10 см, пластинку вынимают, сушат на воздухе и облучают УФ-светом в течение 30 мин. на расстоянии 25 см от источника. Обрабатывают пластинку проявляющим реактивом №1 (вначале реактивом а), через 1 мин. - реактивом б) или д), г). При наличии плантвакса появляются пятна сиреневого (N-1-нафтилэтилендиамин) или розового цвета (α-нафтиламин, β-нафтол). Величина R_f плантвакса 0,38-0,40 ("Силуфол"), 0,77 (силикагель) и 0,70 (окись алюминия).

Другой метод обнаружения плантвакса состоит в следующем. После УФ-разложения препарата производят хлорирование, поместив пластинку в эксикатор, на дне которого находится хлорирующий реактив, в течение 3-х минут. Пластинку вынимают из эксикатора и оставляют в вытяжном шкафу в течение 1 часа для удаления избытка хлора. Обрабатывают пластинку о-толидиновым или йод-крахмальным реактивом. Сушат пластинку на воздухе и облучают УФ-светом в течение 5 мин. При наличии плантвакса появляются пятна сине-фиолетового цвета.

---

[x] - Объем подвижной фазы на камеру размером h=20см, d=14см, составляет 50 мл.

2.6. Обработка результатов анализа.

Количественное определение производится путем сравнения интенсивности окраски и размера пятен пробы и стандартных растворов.

Пропорциональная зависимость между площадью пятна и концентрацией препарата наблюдается до 10 мкг. При большем содержании на пластинку наносят часть раствора.

Содержание препарата в анализируемой пробе рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot S_2}{P \cdot S_1}$$

где: X - содержание препарата в анализируемой пробе, мг/кг;
A - содержание препарата в стандартном растворе, мкг;
S_1 - площадь пятна стандартного раствора, $мм^2$;
S_2 - площадь пятна пробы, $мм^2$;
P - масса пробы, взятой на анализ, г

27. Требования техники безопасности.

Соблюдать требования техники безопасности, обычно рекомендуемые для работы с органическими растворителями, УФ-светом.

2.8 Разработчики
Киселева Н.И, Тимошенко В.А., ВНИИГИНТОКС, г. Киев

gost.e-ecolog.ru