ГОСКОМИССИЯ ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ БОРЬБЫ
С ВРЕДИТЕЛЯМИ, БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОРНЯКАМИ
ПРИ МИНСЕЛЬХОЗЕ СССР

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, КОРМАХ И ВНЕШНЕЙ СРЕДЕ

Часть XV-я

Москва — 1984 г.

gost.e-ecolog.ru

"УТВЕРЖДАЮ"
Заместитель Главного Государственного санитарного врача СССР
А.И.ЗАЙЧЕНКО
"24 "августа 1983 г.
№ 2836-83

ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ КН-77 В ВОДЕ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

I. Краткая характеристика препарата

Активное вещество КН-77 - 4-метил-7-окси-8-метилен-бис-(β-хлорэтил)-аминокумарин.

КН-77 представляет собой порошок светло-желтого цвета. Растворим в хлороформе, ацетоне. Выпускается в виде 80%-99% порошка. ПДК в воде не установлена.

2. Методика определения КН-77

2.I. Основные положения

2.I.I. Принцип метода

Метод основан на извлечении КН-77 из воды хлороформом, отгонке растворителя и хроматографировании в тонком слое сорбента.

В качестве сорбента используют закрепленный гипсом силикагель КСК либо пластинки "Silufol".

Проявление хроматограммы можно осуществить диазоитированной сульфаниловой кислотой (сорбент-силикагель КСК, красные пятна) либо смесью I% водного раствора железосинеродистого калия и I% спиртового раствора хлорного железа в соотношении I:I (пластинки "Silufol", синие пятна).

Количественное определение КН-77 производится путем сравнения интенсивности окраски и размера пятен пробы и стандартных растворов.

2.I.2. Метрологическая характеристика метода

Диапазон определяемых концентраций I-20 мкг. Нижний предел обнаружения 0,005 мг/л.

Размах варьирования 75-I00%

Среднее значение определения - 90%

Стандартное отклонение ±9,2%

Относительное стандартное отклонение I0%

2.I.3. Избирательность метода

Определению не мешают наполнители технического препарата.

2.2. Реактивы и растворы

Ацетон,ч,ГОСТ 2603-79

Хлороформ,хч., ГОСТ 200I5-74

Гексан,хч.,ТУ 6-09-3375-78

Спирт метиловый,хч.,ГОСТ 6995-77

Этилацетат,хч.,ГОСТ 2230-76

Спирт этиловый,96%,ТУ 6-09-I7I0-77

Эфир диэтиловый (для наркоза),фармакопея СССР

Натрий сернокислый безводный,чда.,ГОСТ 4I66-76

Вата гигроскопическая

Железо хлорное,ч.,ТУ 6-09-0I-828-76,I% раствор в этиловом спирте

Калий железосинеродистый,хч.,ГОСТ 4206-75,I% раствор в дистиллированной воде

Проявляющий реактив №I. Смешивают в соотношении I:I I% водный раствор железосинеродистого калия и I% спиртовый раствор хлорного железа. Раствор устойчив в течение 5-6 часов.

Калий гидроокись,хч.,ГОСТ 6-0I-30I-74,I0% водный раствор

Натрий гидроокись,хч.,ГОСТ 4328-77, I5% водный раствор

Сульфаниловая кислота,чда.,ГОСТ 5821-78

Натрий нитрит,ГОСТ 4I97-74, I0% водный раствор

Соляная кислота,хч.,ГОСТ 3II8-77,разбавленная дистиллированной водой в соотношении I:I

Приготовление диазотированной сульфаниловой кислоты. 5 г сульфаниловой кислоты растворяют в 25 мл 10% водного раствора гидроокиси калия. Раствор охлаждают в течение 30 мин в холодильнике и смешивают с 20 мл 10% водного раствора нитрита натрия. Полученный раствор постепенно, по каплям, при перемешивании прибавляют к предварительно охлажденной в холодильнике, разбавленной дистиллированной водой, соляной кислоте (смешивают 10 мл, конц. соляной кислоты с 5 мл дистиллированной воды). Температура реакционной смеси не должны быть выше $8^{\circ}C$. Образующуюся диазониевую соль отсасывают на воронке Бюхнера, промывают последовательно 10-15 мл ледяной воды, этилового спирта, диэтилового эфира и высушивают при комнатной температуре в затемненном месте. Хранят соль в холодильнике, в банке из темного стекла.

Проявляющий реактив №2. Готовят растворением 1,25 г диазотированной сульфаниловой кислоты в 15% водном растворе гидроокиси натрия в мерной колбе на 100 мл. Применяют свежеприготовленный раствор.

Дистиллированная вода, ГОСТ 7602-72

Силикагель КСК, ГОСТ 3956-76, раздробленный и просеянный через сито 100 меш

Кальций сернокислый ($CaSO_4.2H_2O$), ГОСТ 3210-77, высушенный в течение 6 часов при температуре $160^{\circ}C$ и просеянный

Пластинки "Силуфол" (ЧССР)

Стандартный раствор КК-77 в ацетоне с содержанием 50 мкг/мл. Готовят растворением 5 мг хч. препарата в ацетоне в мерной колбе на 100 мл. Раствор хранят в холодильнике. Годен к употреблению в течение 2-х месяцев.

2.3. Посуда и приборы

Баня водяная, ТУ 64-1-2850-76

Воронки химические, диаметр 6 см, ГОСТ 8613-75

Воронка Бюхнера, диаметр 13 см, ГОСТ 9147-73

Воронки делительные, емк. 500 мл, ГОСТ 10054-75

Вакуумный водоструйный насос, ГОСТ 10396-75

Испаритель вакуумный ротационный, ИР-1М, ТУ 25-11-917-74

Камера для опрыскивания, ТУ 11-413-70

Камера для хроматографирования размером 150 х 200 мм

Колба Бунзена емк., 500 мл, ГОСТ 6514-75

Колбы мерные емк. 50, 100 мл, ГОСТ 1770-74
Колбы н/ш емк. 250 мл, 100 мл, ГОСТ 10394-72
Колбы круглодонные н/ш емк. 100 мл, ГОСТ 10394-72
Микропипетки емк. 0,1, 0,2 мл, ГОСТ 1770-74
Пластинки стеклянные размером 9 х 12 см
Пипетки емк. 1, 5, 10 мл, ГОСТ 1770-74
Цилиндры градуированные емк. 25, 50, 100 мл, 1 л, ГОСТ 1770-74
Часовое стекло
Чашка фарфоровая, ГОСТ 9147-73
Ступка фарфоровая с пестиком
Пульверизатор стеклянный, ГОСТ 10391-74
Сито капроновое (размер отверстий 0,0149 мм (100 меш)
Эксикатор (для хранения пластинок), ГОСТ 6371-73

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Приготовление пластинок

14 г просеянного силикагеля смешивают в ступке с 1 г сернокислого кальция и суспендируют смесь в ступке в 40 мл дистиллированной воды. Периодически помешивая, полученную суспензию равномерно наносят на 7-8 тщательно вымытых стеклянных пластинок размером 9 х 12 см. Сушат пластинки при комнатной температуре в течение 17-18 часов, хранят в эксикаторе над слоем осушителя (гранулированный силикагель КСК, 100 г).

2.4.2. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов", утвержденными Заместителем Главного Государственного санитарного врача СССР 21.08.1979 г. за №2051-79.

2.5. Проведение определения

2.5.1. Экстракция

В делительную воронку емкостью 500 мл помещают 200 мл исследуемой воды, подкисляют до pH 3-4 разбавленной соляной кислотой, экстрагируют КН-77 тремя порциями хлороформа по 25 мл в течение 2-3 мин каждый раз. После четкого разделения фаз экстракты

объединяют в другой делительной воронке, промывают 25 мл дистиллированной воды.

Очищенный экстракт фильтруют через слой безводного сернокислого натрия (7-8 г) в химической воронке в колбу или фарфоровую чашку.

Растворитель испаряют на водяной бане до объема I мл. Остаток растворителя удаляют током сухого воздуха с помощью резиновой груши. Сухой остаток растворяют в I мл ацетона.

2.5.2. Хроматографирование

Полученный концентрат при помощи стеклянного капилляра количественно, наносят на хроматографическую пластинку, покрытую тонким слоем сорбента (силикагель КСК, пластинки "Силуфол"). Рядом с пробой наносят по 0,02, 0,06, 0,2 мл стандартного раствора, что соответствует содержанию I,0, 3,0, I0,0 мкг КН-77 в пятне. После нанесения пробы и стандартного раствора пластинку I5-20 мин выдерживают на воздухе. Затем помещают в хроматографическую камеру, куда за I0 мин до хроматографирования наливают подвижный растворитель.

При использовании пластинок "*silufol*" применяют смесь растворителей, гексан-этилацетат в соотношении I:I (25 мл), при использовании силикагеля КСК в качестве сорбента применяют смесь растворителей хлороформ-метиловый спирт в соотношении 25:0,I (25,I мл).

После подъема фронта растворителя на высоту I0 см от линии старта хроматографирование прекращают. Пластинку помещают в камеру для опрыскивания и после испарения растворителя (выдерживают I5-20 мин) обрабатывают одним из проявляющих реактивов в зависимости от применяемого сорбента. Расход проявляющего реактива на пластинку "*silufol*" составляет 5-6 мл, на пластинку с силикагелем КСК - 8-I0 мл.

На пластинке "*silufol*" КН-77 проявляется в виде синего пятна R_f 0,42-0,45, на силикагеле КСК красного пятна (через 3 мин после обработки слоя), R_f 0,50-0,55.

2.6. Обработка результатов анализа

Количество препарата в пробе определяют сравнением интенсивности окраски и площади пятен пробы и стандартного раствора.

Измерение площади производится с помощью миллиметровой бумаги. Прямолинейная зависимость между площадью пятна и содержанием КН-77 в пятне соблюдается в интервале I-IO мкг. При более высоком содержании препарата в пробе воды хроматографируют аликвотную часть концентрата.

Содержание КН-77 в анализируемой пробе в мг/л вычисляют по формуле

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

A – количество КН-77 в пятне стандарта, близком по окраске к пятну пробы, мкг;

S_1 – площадь пятна препарата стандарта, близкого по окраске к пятну пробы, $мм^2$;

S_2 – площадь пятна препарата пробы, $мм^2$;

P – объем анализируемой пробы, мл;

2.7. Требования техники безопасности

Необходимо соблюдать общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями и токсическими веществами.

2.8. Методика разработана А.М.Шмигидиной, Л.Е.Запорожец, Н.В.Суперсон, ВНИИ гигиены и токсикологии пестицидов, полимерных и пластических масс, г.Киев

gost.e-ecolog.ru