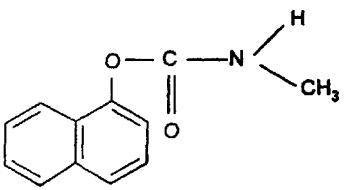
Утвержден 31.07.1973, № 1112—73

Колориметрическое определение севина в свежих плодах и ягодах, компотах и маринадах

Химически чистый севин (1-нафтил-N-метилкарбамат) – кристаллическое вещество белого цвета со слабым запахом. Относительная молекулярная масса 201,2. Севин устойчив на свету при повышенных температурах (до 70 °С) и хранении. В щелочных растворах быстро гидролизуется. В воде нерастворим, но растворяется в большинстве органических растворителей.



Севин

*Принцип метода**. Севин извлекают из продуктов хлороформом или петролейным эфиром. Примеси отделяют в метаноловом растворе путем добавления водного раствора хлористого аммония и последующего фильтрования через бумажный фильтр. Хроматографирование проводят на слое окиси алюминия. Выделенный севин гидролизуют щелочью. Образующийся 1-нафтол сочетают с хлористым *n*-нитрофенилдиазонием и получают азосоединение, по которому определяют количество севина в пробе. Точность метода ± 10 %, 5 чувствительность 0,05—0,1 мг/кг.

Реактивы и растворы

Хлороформ х. ч.
Эфир петролейный ($t_{кип}$ 40—60 °С).
Бензол х. ч. перегнанный.
Метанол х. ч.
2 %-ный водный раствор хлористого аммония х. ч.
Смесь метанола с 2 %-ным раствором хлористого аммония (1 : 1).
Окись алюминия для хроматографии II степени активности.
Натрий сернокислый безводный х. ч.
0,1 н. раствор едкого кали в метаноле.

---

* З. Н. Богомолова (Институт питания АМН СССР, М.), Л. М. Фукельман (ВНИИ биологических методов защиты растений).

gost.e-ecolog.ru

0,8 %-ный водный раствор нитрита натрия х. ч.

п-Нитроанилин.

п-Нитрофенилдиазоний солянокислый, свежеприготовленный: К 0,02 %-ному раствору *п*-нитроанилина в 0,1 н. соляной кислоте приливают в 10 раз меньший объем 0,8 %-ного водного раствора нитрита натрия. Раствор готовят в колбе, погруженной в ледяную воду.

Стандартный раствор севина. 10 мг севина х. ч. растворяют в 100 мл хлороформа. 10 мл этого раствора переносят в мерную колбу на 100 мл и доводят до метки хлороформом. 1 мл раствора содержит 10 мкг севина.

Приборы и посуда

Фотоэлектроколориметр.

Прибор для отгона растворителей.

Водоструйный насос.

Установка для хроматографирования, состоящая из колонки (зауженная книзу стеклянная трубка 17 × 400 мм) и колбы Бунзена. В колонке находится ватный тампон, слой окиси алюминия толщиной 5—7 см и слой безводного сульфата натрия толщиной 1,5—2 см. Подготовленную колонку промывают хлороформом (10—15 мл).

Центрифуга.

Аппарат для встряхивания.

Воронки делительные вместимостью 150—250 мл.

Колбы конические на 50, 100 и 250 мл.

Цилиндры мерные на 25, 50, 250 и 500 мл.

Пипетки на 1, 5 и 10 мл.

Сосуды для экстракции вместимостью 1,5—2 л.

Ход анализа. Плоды и ягоды. Пробу массой 1—1,5 кг измельчают и тщательно перемешивают. 100 г продукта заливают хлороформом или петролейным эфиром и оставляют на 16—18 ч. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр в колбу. Растворитель отгоняют при 35—40 °С. Последние порции растворителя отгоняют без нагревания. Для растворения сухого остатка в колбу приливают 10 мл метанола. Осторожно погружают колбу в горячую воду, слегка потирая дно стеклянной палочкой. Добавляют 10 мл 2 %-ного раствора хлористого аммония и помещают колбу в холодильник (лучше в замораживатель) на 20—30 мин.

При добавлении водного раствора хлористого аммония растворимость «восков» и пигментов в метаноле резко уменьшается, и они выделяются в виде хлопьев. Дальнейшую очистку экстракта можно проводить двумя способами:

а) после охлаждения содержимое колбы фильтруют через двойной бумажный фильтр. Фильтрование идет быстрее при использовании водоструйного насоса. Для этого стеклянную воронку с пробкой и плотно прилегающим фильтром (лучше двойным) вставляют в пробирку с отводом, который подключают к водоструйному насосу. Содержимое колбы количественно переносят в воронку. Колбу ополаскивают двумя порциями по 3—5 мл смеси метанола с 2 %-ным раствором хлористого аммония (1 : 1). Смесь должна быть охлаждена до температуры от 0 до +5 °С. Фильтрат из пробирки переносят в делительную воронку. Севин экстрагируют, энергично встряхивая воронку первый раз с 25 мл, второй – с 15 мл хлороформа. Экстракт хроматографируют через колонку. Сначала пропускают первую порцию экстракта (25 мл), затем вторую (15 мл). Промывают колонку 15 мл хлороформа. Полученный фильтрат количественно переносят в колбу и отгоняют хлороформ досуха;

б) для удаления выпавших «восков» в колбу добавляют 10 мл петролейного эфира и содержимое колбы взбалтывают 2—3 мин. Эту процедуру повторяют 3 раза. Чтобы не допустить образования эмульсии, в делительную воронку добавляют 2—3 г хлористого натрия. Из водно-метанолового раствора севин трижды экстрагируют бензолом при встряхивании. Первый раз добавляют 100 мл бензола, второй и третий – по 50 мл. Бензольный экстракт сушат безводным сернокислым натрием, бензол отгоняют досуха.

К сухому остатку, полученному первым или вторым способом, приливают 5 мл 0,5 н. метанолового раствора едкого кали и, помешав стеклянной палочкой, оставляют на 5 мин. Образующийся в результате гидролиза 1-нафтол может быть определен в щелочной или кислой среде. При определении 1-нафтола в щелочной среде в колбу, где протекал гидролиз севина, добавляют 1 мл солянокислого раствора *п*-нитрофенилдиазония. При взаимодействии 1-нафтола и солянокислого раствора *п*-нитрофенилдиазония образуется азосоединение синего цвета. В колбочку приливают 5 мл метанола и ставят ее в холодильник на 30 мин. Затем раствор фильтруют через бумажный фильтр и фотометрируют при оранжевом светофильтре и длине волны 590 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

Если конечная окраска искажена до фиолетовой или красной, определение рекомендуется проводить в кислой среде. Для этого в колбу, где протекал щелочной гидролиз севина, приливают 14 мл ледяной уксусной кислоты и 1 мл свежеприготовленного солянокислого раствора *п*-нитрофенилдиазония. В кислой среде образуется азосоединение оранжевого цвета. Полученный раствор оставляют на 30 мин при комнатной темпе-

ратуре, затем его фильтруют через бумажный фильтр и фотометрируют при зеленом светофильтре и длине волны 475 нм в кювете с толщиной слоя 2 см.

В качестве холостой пробы при фотометрировании используют дистиллированную воду. Содержание севина рассчитывают по калибровочному графику, для построения которого в колбы вносят последовательно 0,5, 1, 2,5, 5, 7,5 и 10 мл стандартного раствора севина (10 мкг/мл). Растворитель отгоняют над водяной баней с помощью водоструйного насоса. Далее поступают, как при определении севина в плодах и ягодах, начиная с гидролиза севина.

Компоты и маринады. 100 г пробы (сироп с ягодами или плодами) после измельчения и тщательного перемешивания количественно переносят в колбу с притертой пробкой и заливают хлороформом (на один объем пробы берут два объема хлороформа). Экстрагируют севин 3 раза (30, 20 и 15 мин) на аппарате для встряхивания. Если образуется стойкая эмульсия, для разделения слоев следует применять центрифугу. Центрифугирование продолжается 30 мин при 3500 об/мин. После центрифугирования верхний слой (сироп с частицами ягод и плодов) удаляют, пользуясь пипеткой Мора и резиновой грушей. Нижний хлороформный слой сушат с помощью безводного сульфата натрия. Высушенный экстракт помещают в колбу для отгона растворителей. Хлороформ удаляют над водяной баней с помощью водоструйного насоса. Дальнейший ход анализа аналогичен определению севина в свежих плодах и ягодах.

Раздельное определение севина и 1-нафтола. Ход анализа на содержание 1-нафтола в плодах и ягодах аналогичен определению севина, с той лишь разницей, что из заключительного этапа исключен щелочной гидролиз. В колбу с сухим остатком (после очистки экстракта и удаления растворителя) вместо щелочного раствора едкого кали вносят метанол (5 мл), а также уксусную кислоту (14 мл) и солянокислый раствор *п*-нитрофенилдиазония (1 мл). Содержащийся в растворе севин не гидролизуется и, следовательно, не определяется. При наличии свободного 1-нафтола развивается оранжевая окраска, как и при определении севина. Окрашенный раствор фотометрируют в кюветах с толщиной слоя 2 см при длине волны 475 нм.

Одновременно следует проводить анализ той же пробы на общее содержание севина (севин + 1-нафтол-метаболит). После фотометрирования из величин оптической плотности вычитают показания оптической плотности 1-нафтол-метаболита. Разность величин, преобразованная с помощью калибровочной кривой в микрограммы, представляет собой истинное содержание севина в исследуемом объекте.

gost.e-ecolog.ru