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

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

Москва — 1987 г.

gost.e-ecolog.ru

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

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

Москва- 1987 г.

Настоящие методические указания предназначены для санитарно-эпидемиологических станций и научно-исследовательских учреждений Минздрава СССР, а также ветеринарных, агрохимических, контрольно-токсикологических лабораторий Госагропрома СССР и лабораторий других Министерств и ведомств, занимающихся определением остаточных количеств пестицидов и биопрепаратов в продуктах питания, кормах и внешней среде.

Срок действия временных методических указаний устанавливается до утверждения гигиенических нормативов.

Методические указания апробированы и рекомендованы в качестве официальных Группой экспертов при Госкомиссии по химическим средствам борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками.

Методические указания согласованы и одобрены Лабораторным советом при Главном санитарно-эпидемиологическом управлении Минздрава СССР.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Л.Г.Александрова, Д.Б.Гиренко, А.А.Калинина (зам.председателя), М.А.Клисенко (председатель), Г.И.Короткова, В.Е.Кривенчук, Г.А.Хохолькова, А.М.Шмигидина.

У Т В Е Р Ж Д А Ю

Заместитель Главного Государственного санитарного врача СССР

_____ А.И.Заиченко

"31" июля 1984 г.

№ 3064-84

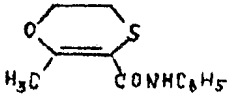
В Р Е М Е Н Н Ы Е

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ВИТАВАКСА В ЗЕРНЕ И ВОДЕ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

I. Краткая характеристика пестицида.

Витавакс/карбоксин/ - 3-метил-2-фенилкарбамоил-5,6-дигидро-I,4-оксатиинпредставляет собой белое кристаллическое вещество с т.пл. 9I,5-92,5°С.

Растворимость в воде - 0,I7 г в I00 г. Хорошо растворяется в хлороформе, ацетоне, бензоле, метаноле и этаноле.



$C_{I2}H_{I3}NO_2S$.

Молекулярная масса: 235,3

$ЛД_{50}$ для мышей и крыс 3200 мг/кг.

ПДК в воздухе рабочей зоны I мг/м^3, в продуктах питания - не допускается.

Используется для протравливания семян зерновых культур в борьбе с пыльной головней. Эффективен также против ржавчинных грибов на различных культурах.

Выпускается в форме 75%-ного с.п.

При окислении его перекисью водорода получается плантвако /I/.

В растениях/в течение 6 недель/ витавакс подвергается окислению, образуя, в основном, сульфоксид /5,6-дигидро-2-метил-I,4-оксатиин-3-карбоксанилид-4-оксид/ и в небольших количествах сульфон /5,6-дигидро-2-метил-I,4-оксатиин-3-карбоксанилид-4,4-диоксид/. В воде при pH 2 и 4 через несколько недель обнаружены витавакс, сульфоксид и в незначительных количествах сульфон. В почве окисление витавакса до сульфоксида полностью завершается за 2 недели.

Окисление витавакса до сульфоксида наблюдается в растворах некоторых органических растворителей /2/.

2. Методика определения витавакса в зерне и воде.

2.I. Основные положения.

2.I.I. Принцип метода.

Вариант I. Суммарное определение витавакса и его метаболитов.

Метод определения витавакса и его метаболитов основан на их экстракции органическим растворителем, окислении витавакса перманганатом калия до сульфоксида, очистке экстракта, перэкстракции в органический растворитель и дальнейшем определении в тонком слое адсорбента /"Силуфол", силикагель/.

В качестве подвижной фазы используют смесь хлороформа и эфира в соотношении 5:2.

Обнаружение зон локализации сульфоксида витавакса в тонком слое сорбента основано на его УФ-разложении до аминосоединения, диазотировании нитритом натрия в солянокислой среде и азосочетании полученных солей фенилдиазония с N-/I-нафтилэтилендиамином/ либо α-нафтолом, α-нафтиламином.

Вариант 2. Определение витавакса.

Метод определения витавакса основан на экстракции его из ана-

лизируемой пробы органическим растворителем, очистке экстракта перераспределением пестицида в системе: органический растворитель - вода - органический растворитель с последующим определением в тонком слое силикагеля КСК-2,5 или силуфола.

Подвижная фаза - смесь н-гексана и ацетона в соотношении 3:2 или н-гексана и эфира в соотношении I:I.

Обнаружение зон локализации пестицида производят смесью реактивов: 0,05%-ного раствора бромфенолового синего в 50%-ном этаноле и I%-ного раствора азотнокислого серебра в воде с последующей обработкой пластинок 2%-ным раствором лимонной кислоты.

Продукты окисления витавакса данным реактивом не обнаруживаются.

Возможно обнаружение витавакса по реакции, описанной выше /вариант I, УФ-разложение, диазотирование и азосочетание./

2.I.2. Метрологическая характеристика метода.

Нижний предел обнаружения сульфоксида витавакса с помощью реакции диазотирования и азосочетания - азосоставляющая N-/I-нафтил/этилендиамин/ - 0,5-I,0 мкг и азосоставляющие α-нафтиламин, α-нафтол - I,0-I,5 мкг.

Диапазон определяемых концентраций - I-30 мкг.

Метрологическая характеристика метода представлена в таблице.

2.2. Реактивы и растворы.

Ацетон, х.ч., ТУ-6-09-3513-74.

н-гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78.

Гипс /кальций сернокислый $CaSO_4 \cdot H_2O$/ ГОСТ 3210 -74. В течение 2 суток прокаливают при 180°С и просеивают через сито 100 меш.

Калий едкий, ч.д.а., ГОСТ 9286-78.

Калий марганцевокислый, ч.д.а., ГОСТ 20490-75.

Таблица.

Метрологическая характеристика метода.

Наименование анализируемого объекта	Нижний предел обнаружения, мл/л, мг/кг	Среднее значение определения, %	Стандартное отклонение, %	Доверительный интервал среднего, %
Вода /I, II вариант/	0,02	88,0	2,6	88,0 ± 3,2
Зерно пшеницы / I вариант /	0,I	85,0	8,0	85,0 ± 8,7
Зерно пшеницы / II вариант /	0,I	83,0	4,0	83,0 ± 6,I

Крахмал водорастворимый, ч., ГОСТ 10163-76

Кислота соляная, ГОСТ 3118-77, отн. пл. 1,18

Натрий сернокислый безводный, ГОСТ 4166-76, х.ч.

Натрий азотистокислый, ГОСТ 4197-75, х.ч.

Спирт этиловый, ректификат 96%-ный, ТУ-6-09-1710-77

Хлороформ, х.ч., ГОСТ 200-15-74

Эфир для наркоза, Госфармакопея СССР.

Пластинки "Силуфол" /ЧССР/

Силикагель для хроматографии, КСК-2,5, ТУ-6-09-2523-72. Измельчают, просеивают через сито 100 меш.

Приготовление проявляющих реактивов.

№ I.а/ К смеси, состоящей из 46 мл дистиллированной воды и 4 мл концентрированной соляной кислоты, прибавляют 1г азотистокислого натрия.

б/ N - /1-нафтилэтилендиамин/ дигидрохлорид, ч. ТУ 6-09-2544-

-72, I%-ный раствор в этиловом спирте.

в). α-нафтиламин, ч.д.а., ГОСТ 8827-74, I%-ный раствор в этиловом спирте.

г). α-нафтол, ч.д.а., ГОСТ 5838-70, 3 г едкого кали растворяют в 50 мл дистиллированной воды, затем прибавляют 0,5 г α-нафтола .

Реактивы готовят непосредственно перед проявлением. Расход реактивов 4-5 мл на одну пластинку.

№2.а). 0,05%-ный раствор бромфенолового синего (ч.д.а., ТУ 6-09-1058-76) в 50%-ном этаноле.

б). I% водный раствор азотнокислого серебра (ч.д.а., ГОСТ 1277-75). Растворы а) и б) смешивают в соотношении I:I.

в). 2% водный раствор лимонной кислоты, х.ч., ГОСТ 3652-69.

Растворы хранят в темной посуде в течение месяца.

Стандартный раствор витавакса готовят растворением I0 мг препарата в ацетоне /50 мл/. Раствор содержит 200 мкг/мл. Устойчив при хранении в холодильнике в течение 3-х месяцев.

2.3. Приборы и посуда.

Аппарат для встряхивания, ТУ 64-I-1081-73

Баня водяная, ТУ 64-I-2850-76

Воронки химические, диаметр 6 см, ГОСТ 26-I3-74

Воронки делительные, емк. 250, 500 мл. ГОСТ I0054-75

Камера для опрыскивания, ТУ II-430-70

Камера для хроматографирования размером I50х200 мм.

Колбы мерные, емк. 50, I00 мл. ГОСТ I7-762-74.

Колбы круглодонные со шлифами, емк. I50, 200 мл, ГОСТ I0-394-72.

Лампа кварцевая ПРК-4 или ПРК-7.

Микропипетка, ГОСТ I770-74 /для нанесения стандартного раствора/

Пластинки стеклянные размером 90х 120мм.
Пипетки емкостью I, 5, I0 мл,ГОСТ I770-74.
Прибор для отгонки растворителя, ТУ 25-II-9I7-76
Пульверизатор стеклянный, ГОСТ I039I-74
Цилиндры мерные, емк.25,50,I00,250 мл,ГОСТ I770-74.

2.4.Подготовка к определению.

2.4.I.Приготовление пластинок.

40 г силикагеля марки "Д" либо КСК-2,5 растирают в фарфоровой ступке с 2 г гипса. Прибавляют воду /90 мл/ небольшими порциями и размешивают до образования однородной массы. На пластинку размером 9 х I2 см наносят 5 г массы, равномерно распределяют ее по поверхности. Сушат пластинки на воздухе в течение суток при комнатной температуре.

2.4.2.Приготовление "свидетеля".

В колбочку вносят 0,025-0,05 мл стандартного раствора витавакса /200 мкг/мл/, что соответствует 5-I0 мкг препарата, упаривают в токе теплого воздуха досуха, прибавляют I0 мл 0,I%-ного раствора марганцевокислого калия .Оставляют раствор на I5 мин. Затем прибавляют I0 мл 0,3%-ного раствора соляной кислоты и 5 мл I н щавелевой кислоты и ждут до тех пор, пока раствор обесцветится. Экстрагируют хлороформом трижды по 50 мл в течение 3-5 мин. каждый раз.Экстракты объединяют, сушат безводным сернокислым натрием и упаривают до небольшого объема.Сконцентрированную пробу количественно наносят на пластинку.

2.4.3.Отбор проб.

Отбор проб должен проводиться в соответствии с "Унифициро-

ванными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов".

2.5. Проведение определения.

2.5.1. Экстракция.

Вода. 200 мл анализируемой пробы воды помещают в делительную воронку и экстрагируют хлороформом трижды по 50 мл в течение 5 мин. каждый раз. Экстракты объединяют и фильтруют через слой безводного сернокислого натрия и упаривают досуха на ротационном испарителе.

При необходимости определения в воде суммы витавакса и его метаболитов /I вариант/ к сухому остатку прибавляют 10 мл 0,1%-ного раствора марганцевокислого калия и делают дальше так, как описано в приготовлении "Свидетеля".

При определении только метаболитов растворы марганцевокислого калия и щавелевой кислоты не прибавляют /остальное делают также/.

Для определения только витавакса в воде по II варианту сконцентрированный хлороформенный экстракт /описано выше/ наносят на пластинку, покрытую тонким слоем адсорбента и производят хроматографирование.

Зерно. 50-100 г зерна пшеницы помещают в коническую колбу, прибавляют 60-120 мл хлороформа и экстрагируют 2 часа на аппарате для встряхивания. Экстракцию повторяют еще раз в течение 30 мин. Экстракты объединяют, сушат безводным сернокислым натрием, фильтруют через бумажный фильтр /синяя лента/ и упаривают досуха на ротационном испарителе.

При определении в зерне суммы витавакса и его метаболитов /I вариант/ к сухому остатку добавляют 10 мл 0,1%-ного раствора

марганцевокислого калия. Оставляют раствор на 15 минут. Затем прибавляют 10 мл 0,3%-ного раствора соляной кислоты и 5 мл 1 н. раствора щавелевой кислоты и ждут до тех пор, пока раствор обесцветится. Прибавляют 20 мл ацетона и ставят в морозильную камеру на 60 мин. Фильтруют раствор через плотный бумажный фильтр /синяя лента/. Экстрагируют хлороформом трижды по 50 мл в течение 3-5 мин. каждый раз. Экстракты объединяют, сушат безводным сернокислым натрием и упаривают до небольшого объема. Сконцентрированную пробу количественно наносят на пластинку.

В случае определения в пробе одних метаболитов в ходе анализа марганцевокислый калий и щавелевую кислоту не прибавляют.

Для определения в зерне витавакса по II варианту к сухому остатку, полученному после упаривания сконцентрированного хлороформенного экстракта, добавляют дистиллированную воду (30-35 мл), тщательно перемешивают стеклянной палочкой и оставляют на 2 часа, периодически перемешивая. Водный экстракт переносят в делительную воронку на 250 мл через бумажный фильтр /синяя лента/. Экстракцию витавакса повторяют еще 2 раза в течение 30 мин. и переносят экстракт в ту же воронку. В воронку прибавляют 0,1 г хлорида натрия, 15 мл хлороформа и встряхивают содержимое в течение 5 мин. Хлороформенный слой отделяют. Экстракцию витавакса из водного раствора повторяют еще три раза. Экстракты объединяют, сушат безводным сернокислым натрием и упаривают на ротационном испарителе до небольшого объема /~0,1 мл/. Остаток наносят на хроматографическую пластинку.

2.5.2. Хроматографирование.

При определении в анализируемых пробах суммы витавакса и его

метаболитов /I вариант/ используют подвижную фазу хлороформ + эфир /5:2/. В качестве "свидетеля" наносят стандартные растворы витавакса, обработанные марганцевокислым калием /как описано выше - приготовление "свидетеля"/. После хроматографирования пластинку сушат и облучают УФ-светом в течение 20 мин. Обнаружение зон локализации сульфоксида витавакса производят путем последовательной обработки пластинки раствором нитрита натрия в солянокислой среде и раствором *N*-/1-нафтилэтилендиамина/ либо *α*-нафтиламина /*α*-нафтола/. При наличии витавакса /метаболитов/ появляются пятна фиолетового либо розового цвета соответственно. Величина R_f сульфоксида 0,38 /"силуфол"/ и 0,65 /силикагель/.

При определении витавакса по II варианту в качестве подвижной фазы используют смесь н-гексана и ацетона в соотношении 3:2 или н-гексана и эфира в соотношении I:I.

В качестве "свидетеля" наносят стандартный раствор витавакса /200 мкг/мл/ в количестве 0,005-0,05 мл, что соответствует I-I0 мкг пестицида. После хроматографирования пластинку сушат и обрабатывают смесью растворов бромфенолового синего в ацетоне и азотнокислого серебра в воде в соотношении I:I. Для устранения фона пластинку обрабатывают раствором лимонной кислоты. Расход проявляющих реактивов на одну пластинку составляет 4-5 мл. Витавакс проявляется в виде синих пятен на светло-желтом фоне. Величина R_f витавакса - 0,50 /н-гексан + ацетон в соотношении 3:2/ на силикагеле $\frac{0,38}{\text{и}\ 0,65}$ /н-гексан + эфир в соотношении I:I/ на "силуфоле" и силикагеле соответственно.

Возможно также обнаружение зон локализации витавакса по реакции диазотирования и азосочетания /I вариант/.

2.6. Обработка результатов анализа.

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

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/л, 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 - объем пробы /или вес/, взятый на анализ, мл /г/.

2.7. Требования техники безопасности.

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

Методические указания подготовили канд.хим.наук Н.И.Киселевой, В.А.Тивоненко (Всесоюзный научно-исследовательский институт гигиены и токсикологии пестицидов, полимеров и пластических масс, г.Киев), канд.хим.наук В.Н.Кавецкий и ст. инженер-химик Г.В.Фузик (Украинский научно-исследовательский институт защиты растений, г.Киев).

gost.e-ecolog.ru