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.

"УТВЕРЖДАЮ"
ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО
САНИТАРНОГО ВРАЧА СССР
А.И.ЗАЙЧЕНКО
"27" апреля 1984 г.
№ 3014-84

ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ КН-77 В СОЕ 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. МДУ в сое не установлена.

2. Методика определения КН-77 в сое методом тонкослойной хроматографии

2.I. Основные положения

2.I.I. Принцип метода

Метод основан на извлечении КН-77 из сои хлороформом, отгонке растворителя и хроматографировании в тонком слое сорбента (силикагель КСК).

Проявление хроматограммы осуществляется диазотированной сульфаниловой кислотой (красные пятна).

Количественное определение КН-77 производится сравнением интенсивности окраски и размера пятен пробы и стандартного раствора.

2.I.2. Метрологическая характеристика метода

Диапазон определяемых концентраций 3 - 50 мкг.

Нижний предел обнаружения - 0,06 мг/кг

Размах варьирования - 76-90%

Среднее значение определения - 85%

Стандартное отклонение ± I0,6%

Относительное стандартное отклонение ± I2,8%

2.I.3. Избирательность метода

Определению не мешают наполнители технического препарата.

2.2. Реактивы и растворы

Бензол,чда,ГОСТ 5955-75
Хлороформ,хч.,ГОСТ 20015-74
Ацетон,хч., ГОСТ 2603-79
Метиловый спирт,хч.,ГОСТ 6995-77
Натрий сернокислый безводный,чда,ГОСТ 4166-76
Бумага фильтровальная,
Вата гигироскопическая,
Натрий нитрит,хч.,ТУ 38-10274-79
Калий гидроокись,хч., ОСТ 6-01-301-74, 10% водный раствор
Натрий гидроокись,хч.,ГОСТ 4328-77,15% водный раствор
Серная кислота,хч.,ГОСТ 4204-77,0,1 н водный раствор
Соляная кислота,хч.,ГОСТ 3118-77, разбавленная дистиллированной водой в соотношении 1:1
Спирт этиловый,96%, ТУ-6-09-1710-77
Эфир диэтиловый (для наркоза),фармакопея СССР
Сульфаниловая кислота,чда, ГОСТ 5821-78
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 должна быть выше 8^{0}С. Образующуюся диазониевую соль отсасывают на воронке Бихнера, 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. 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°С и просеянный
Стандартный раствор КН-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. Приборы и посуда

Баня водяная, ТУ 64-1-2850-76
Воронки химические, диаметр 6 см, ГОСТ 8613-75
Воронка Бюхнера, диаметр 13 см, ГОСТ 9147-73
Воронка делительная, 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
Посуда градуированная по ГОСТ 1770-74
Колбы н/ш емк. 100, 250 мл, ГОСТ 10394-72
Пластинки стеклянные размером 9 х 12 см
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 коническую колбу вместимостью 250 мл помещают 50 г сои, прибавляют 2 мл 0,1 н серной кислоты, перемешивают пробу и заливают таким количеством хлороформа, чтобы его уровень под слоем сои составлял 1 см. Содержимое колбы периодически встряхивают вручную или на аппарате для встряхивания в течение 15-20 минут. Полученный экстракт отделяют фильтрованием через бумажный фильтр в делительную воронку, а пробу дважды обрабатывают хлороформом, как описано выше. Объединенный в делительной воронке хлороформный экстракт промывают дважды дистиллированной водой, порциями по 50 мл и фильтруют через слой безводного сульфата натрия (8-10 г) в химической воронке в круглодонную колбу вместимостью 150 мл или фарфоровую чашку. Растворитель испаряют на водяной бане при температуре 60-65°С до объема 1 мл. Остаток растворителя удаляют потоком сухого воздуха с помощью резиновой груши.

2.5.2. Хроматографирование

Полученный концентрат стеклянным капилляром или микропипеткой с помощью ацетона количественно наносят на хроматографическую пластинку (линия старта). Рядом с пробой наносят по 0,06, 0,10, 0,2 мл стандартного раствора, что соответствует содержанию 3,0, 5,0, 10,0 мкг КН-77 в пятне. После нанесения пробы и стандартного раствора пластинку 15-20 мин выдерживают на воздухе. Для получения компактных зон препарата на хроматограмме с краев пластинки слева и справа (по вертикали, вдоль направления движения растворителя) снимают слой сорбента шириной 2-3 мм. Пластинку с нанесенными пробами помещают в хроматографическую камеру с бензолом (30 мл). После подъема фронта растворителя на высоту 11-12 см хроматографирование прекращают. Пластинку выдерживают на воздухе в течение 15-20 мин для испарения бензола и проводят повторное хроматографирование в камере, предварительно насыщенной в течение 30-40 мин парами подвижного растворителя хлороформ-метанол в соотношении 50:0,2. Для насыщения камеры стенки обкладывают фильтровальной

бумагой, которая пропитывается подвижным растворителем, налитым на дно камеры (берут 50,2 мл подвижного растворителя). После окончания процесса хроматографирования (высота подъема фронта растворителя от линии старта составляет 10 см) пластинку извлекают из камеры и сушат в вытяжном шкафу. Для обнаружения зон локализации препарата КН-77 пластинку обрабатывают проявляющим реактивом (расход проявляющего реактива на пластинку составляет 8-10 мл). При этом КН-77 проявляется в виде красного пятна спустя 3-5 мин после обработки пластинки проявляющим реактивом. R_f составляет 0,48-0,50.

2.6. Обработка результатов анализа

Количество препарата в пробе определяют сравнением интенсивности окраски и площади пятен препарата из пробы и стандартного раствора. Ввиду нестабильности окраски количественное определение КН-77 проводят сразу после проявления пятен.

Измерение площади проводят с помощью миллиметровой бумаги или вычисляют аналогично площади прямоугольника. Прямолинейная зависимость между площадью пятна и содержанием КН-77 в пятне соблюдается в интервале 3-10 мкг. При более высоком содержании препарата в пробе хроматографируют аликвоту концентрата.

Содержание КН-77 в анализируемой пробе в мг/кг 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 – навеска образца, г.

2.7. Требования техники безопасности

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

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

gost.e-ecolog.ru