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.Заиченко

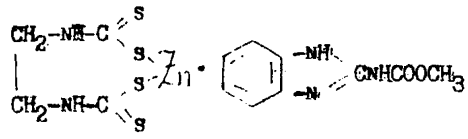
"27" апреля 1984г.

N 3007-84

ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ БИОЦИНА (БОЛЕТИНА) В ОВОЩАХ, ФРУКТАХ, СВЕКЛЕ (СТОЛОВОЙ, КОРМОВОЙ, САХАРНОЙ) САХАРЕ, ЖОМЕ, МЕЛАССЕ, ВОДЕ И ПОЧВЕ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ

I. Краткая характеристика препарата

Биоцин (болетин) – новый отечественный фунгицид, хорошо показавший себя в борьбе с грибковыми заболеваниями овощных и фруктовых культур. Действующее начало препарата – двойная цинковая соль этиленбисдитиокарбаминовой кислоты и N-метилбензимидозолилкарбамата.



$C_{13}H_{15}N_5O_2S_4$

Мол. масса 466,95

В чистом виде кристаллы светложелтого цвета, разлагающиеся при температуре выше 200°С. В воде биоцин практически нерастворяется. Растворимость при 20°С в ацетоне 0,07%, ксилоле 0,03%, хлороформе 0,04%, циклогексаноне 0,05%.

МДУ биоцина в сахарной свекле 0,1 мг/кг, в овощах, фруктах, прочей сельскохозяйственной продукции и почве еще не установлены. ПДК в воде 0,005 мг/л.

2. Методика определения биоцина в овощах, фруктах, свекле, сахаре, мелассе, жоме, воде и почве тонкослойной хроматографией

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Метод основан на извлечении фунгицида из анализируемого объекта этилацетатом, очистке экстракта перераспределением биоцина в солянокислую среду, а после подщелачивания – в этилацетат и определении ТСХ.

2.I.2. Метрологическая характеристика метода

Предел обнаружения в хроматографируемой пробе:
на пластинках с УФ-добавкой, в УФ свете – 3мкг, при проявлении бромфеноловым прявителем – 3-5 мкг.

Предел обнаружения в овощах, фруктах – 0,I5 мг/кг, сахаре –0,I5 мг/кг, жмых – 0,3 мг/кг, мелассе – 0,6 мг/кг, почве – 0,I5 мг/кг, воде –0,004мг/л.

Среднее значение определения стандартных количеств биоцина во всех объектах $\bar{C}$ при n=I5 80%.

Стандартное отклонение s при n=I5 ±7,I%.

Доверительный интервал среднего определения для всех объектов при p=0,95 и n=5 80,0±8,8%.

Размах варьирования R для всех объектов 70-90%.

2.I.3. Избирательность метода

Метод селективен. Цирам, цинеб, ТМТД, каптан и другие фунгициды определению не мешают. Мешают определению БМК и беналат, т.к. определение биоцина также проводится по БМК.

2.2. Реактивы и растворы

Гексан, хч, ТУ 6-09-3375-78, свежеперегнанный.
Хлороформ, хч, ГОСТ 20015-74.
Ацетон, хч, ГОСТ 2603-79..
Этилацетат, хч, ГОСТ 22300-76, свежеперегнанный.
Едкий натр, чда, ГОСТ 4328-77, 4н.
Сернокислый натрий, хч, ГОСТ 4166-76, безводный.
Соляная кислота, хч, ГОСТ 3118-77, 0,Iн.
Кислота уксусная ледяная, хч, ГОСТ 6I-75.
Азотнокислое серебро, чда, ГОСТ I277-75.
Бромфеноловый синий, индикатор, чда, ТУ 6-09-I058-76.
Проявляющий реактив. Растворяют 0,05 г бромфенолового синего в I0 мл ацетона и доводят до I00 мл I%-ным раствором $AgNO_3$ в смеси ацетона с водой (3:I). Хранят в темном месте.
Аммонная кислота, чда, ГОСТ 3652-69, 2,5%-ный раствор.
Пластинки "Силуфол" с УФ и без флюоресцентной добавки.
Стандартный раствор биоцина в ацетоне с содержанием I00 мкг/мл. Стандартный раствор стабилен при хранении в холодильнике в течение 6 месяцев.

2.3. Приборы, посуда и аппаратура

Хроматографическая камера с пришлифованной крышкой.
Ротационный вакуумный испаритель.
Делительные воронки, ГОСТ I0054-75, на I500, 500 и 300 мл.
Колбы конические, ГОСТ 9737-70, на 250 мл.

Колбы плоскодонные, ГОСТ 9737-70, 500 и 250 мл.

Мерные колбы, ГОСТ 1770-74, на 100 мл.

Пробирки градуированные с оттянутым дном и пробками на шлифах, ГОСТ 1770-74, на 10 мл.

Пипетки на 10 и 1 мл, ГОСТ 1770-74.

Лампа УФ-света типа "Хроматоскоп" или аналогичная с диапазоном светового излучения 250-260 нм.

Пульверизаторы стеклянные.

Стаканы стеклянные, ГОСТ 10394-72, на 250 мл.

2.4. Подготовка к определению

Хроматографические камеры за один час до начала хроматографирования заполняют смесью подвижных растворителей: гексан-ацетон-ледяная уксусная кислота (30:20:1) или этилацетат-хлороформ-ледяная уксусная кислота (50:50:10) для насыщения камер парами подвижных растворителей. Объем подвижного растворителя должен по высоте находиться не выше 0,7-1,0 см от уровня дна камеры.

2.5. Отбор проб

Отбор проб для анализа проводят в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов", утвержденными Минздравом СССР 21 августа 1979 г. № 2051-79.

2.6. Подготовка проб к анализу

Для анализа картофеля, огурцов, яблок, цитрусовых, лука, свеклы из средней пробы подготавливают три параллельные навески массой 20 г. Картофель, огурцы, свеклу, яблоки измельчают ножом на кубики с размером грани около 5 см. Цитрусовые, томаты, лук измельчают на маленькие дольки. Сахар анализируют в виде песка или молотого сахара и отбирают навеску массой 20г. Если анализируют в естественном виде, отбирая навески массой 10 г. Почву просеивают через почвенное сито и отбирают навески массой 20 г.

2.7. Проведение определения

Картофель, огурцы, томаты, яблоки, цитрусовые, свекла, лук, мед, сахар. Навеску анализируемой пробы помещают в плоскодонную колбу на 250 мл, заливают 100 мл этилацетата и извлекают фунгицид экстракцией с помощью механического встряхивания колбы в течение 20 мин. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр в делительную воронку емкостью 500 мл. Повторяют экстракцию еще два раза этилацетатом порциями по 75 мл. Из объединенного экстракта фунгицид извлекают 0,1н соляной кислотой три раза порциями по 50 мл. Объединенный солянокислотный экстракт промывают дважды 50 мл хлороформа.

Хлороформный слой отбрасывают. К солянокислому раствору добавляют 4 мл 4н раствора NaOH (до pH 10) и экстрагируют фунгицид этилацетатом трижды, порциями по 50 мл. Этилацетатный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия (15-20г), фильтруют через бумажный фильтр в круглодонную колбу на 200 мл и с помощью ротационного вакуумного испарителя полностью отгоняют растворитель.

Мелассa. Навеску мелассы (5г) растворяют в 100 мл дистиллированной воды, добавляют 0,5-1 мл 4н NaOH до pH10 и экстрагируют фунгицид в делительной воронке на 500 мл этилацетатом, насыщенным водой, трижды, порциями по 50 мл. Этилацетатный экстракт промывают водой (50 мл два раза), а затем экстрагируют образующийся БМК 0,1н HCl три раза, порциями по 50 мл. Солянокислотный экстракт дважды промывают хлороформом, порциями по 50 мл, а затем подщелачивают до pH 10 2-3 мл 4н NaOH. Из щелочной среды БМК экстрагируют этилацетатом три раза, порциями по 50 мл. Полученный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия (15-20г), затем фильтруют и с помощью ротационного вакуумного испарителя полностью отгоняют растворитель.

Почва. Навеску почвы растирают в ступке, переносят в плоскодонную колбу на 500 мл, увлажняют из пипетки 5 мл дистиллированной воды. Биоцин экстрагируют 100 мл этилацетата с помощью механического встряхивания колбы в течение одного часа. Повторяют экстракцию этилацетатом еще два раза, порциями по 50 мл. Каждую порцию экстракта фильтруют в делительную воронку и дальнейшее определение проводят по схеме, описанной выше.

Вода. Из одного л воды биоцин извлекают экстракцией в делительной воронке емкостью 1,5л этилацетатом, порциями по 100мл и два раза по 50 мл. Для лучшего разделения слоев в делительную воронку добавляют около 5г NaOH. Очистку экстракта и определение проводят по схеме, описанной выше.

Хроматографирование. Сухой остаток после удаления растворителя смывают количественно с помощью 2-3 мл ацетона в пробирку с оттянутым дном. В пробирку помещают заплавленный в верхней части стеклянный капилляр и удаляют ацетон нагреванием пробирки на горячей водяной бане до объема $\sim$0,1 мл. Остаток с помощью того же капилляра, но с отломанным заплавленным концом, наносят на хроматографическую пластинку. Параллельно на пластинку наносят серии стандартных растворов биоцина с содержанием 3,4,5 ... 10 мкг. Хроматограмму развивают в системе гексан:ацетон:ледяная уксусная кислота (30:20:1) или этилацетат:хлороформ:ледяная уксусная кислота (50:50:10). В первом случае R_f препарата 0,48±0,02, во втором - 0,37±0,02.

Если хроматограмму развивали на пластинках с флюоресцентной добавкой, то после высушивания ее помещают под лампу УФ-света. Фунгицид проявляется в виде сиреневых пятен на лимонном флюоресцирующем поле. Нижний предел определения 3 мкг. Линейность определения в пределах 3 - 10 мкг. Если хроматограмму развивали на обычных пластинках силуфол, то хроматограмму

обрабатывают из пульверизатора бромфеноловым проявителем, а затем, после высушивания пластинки - 2,5%-ным раствором лимонной кислоты. Фунгицид проявляется в виде синих пятен на лимонно-желтом фоне. Нижний предел определения 3 мкг. Линейный диапазон определения 3-15 мкг.

2.7. Обработка результатов анализа

Количественное определение биоцина в пробе проводят путем сравнения площади и интенсивности окраски пятен рабочей пробы и серии стандартов. При большом содержании биоцина на пластинку наносят аликвотную часть раствора, концентрируя конечный раствор в пробирке не до $\sim$0,01 мл, а большего замеренного в градуированной пробирке объема.

Содержание биоцина в анализируемой пробе (X) мг/кг или мг/л вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot V}{V_a \cdot P}$$ мг/кг (мг/л), где

A - количество биоцина, найденное в хроматографируемой пробе, мкг;
V - общий объем раствора, из которого отбирают аликвоту, мл;
V_a - объем аликвоты, нанесенной на хроматографическую пластинку, мл (при нанесении всей пробы $V = V_a$);
P - навеска анализируемой пробы в г или объем анализируемой воды в мл.

3. Требования безопасности

Соблюдать требования безопасности, принятые для работы с легковоспламеняющимися жидкостями, крепкими кислотами и пестицидами.

4. Разработчики

Методические указания разработаны Т.В.Алдошиной, Л.Н.Ленинской, К.Ф.Новиковой (ВНИИ химических средств защиты растений с опытным заводом г.Москва), А.И.Галушкой (Государственный Львовский медицинский)

5. Апробаторы

Методические указания апробированы во Всесоюзном институте экспериментальной ветеринарии, Москва

gost.e-ecolog.ru