ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРОПРОМЫШЛЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР

Государственная комиссия по химическим средствам борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками

МОСКОВСКАЯ ОРДЕНА ЛЕНИНА И ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ К. А. ТИМИРЯЗЕВА

ЦЕНТРАЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ АГРОХИМИЧЕСКОГО ОБСЛУЖИВАНИЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА В РАСТИТЕЛЬНОЙ ПРОДУКЦИИ И ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

(Часть 1)

МОСКВА АГРОПРОМИЗДАТ 1986

gost.e-ecolog.ru

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРОПРОМЫШЛЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
Государственная комиссия по химическим средствам борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками
МОСКОВСКАЯ ОРДЕНА ЛЕНИНА И ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ИМЕНИ К. А. ТИМИРЯЗЕВА
ЦЕНТРАЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ АГРОХИМИЧЕСКОГО ОБСЛУЖИВАНИЯ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ РЕГУЛЯТОРОВ РОСТА В РАСТИТЕЛЬНОЙ ПРОДУКЦИИ И ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

(Часть 1)

МОСКВА АГРОПРОМИЗДАТ 1986

УДК 632.95.028(0.83.131)

Методические указания по определению микроколичеств регуляторов роста в растительной продукции и объектах окружающей среды *(под ред. кандидата сельскохозяйственных наук И. К. Блиновского и доктора биологических наук В. Ф. Ладонина)* включают разработки ВНИИ гигиены и токсикологии пестицидов, полимерных и пластических масс и его филиала (г. Ереван), Московской сельскохозяйственной академии имени К. А. Тимирязева, ВНИИ химических средств защиты растений, Института физиологии растений АН СССР, Института физиологии растений АН УССР, Научно-исследовательского зонального института садоводства Нечерноземной полосы, Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Новосибирского института органической химии СО АН СССР, Узбекского НИИ санитарии, гигиены и профзаболеваний.

Методические указания одобрены лабораторным советом при Главном санитарно-эпидемиологическом управлении Министерства здравоохранения СССР и утверждены заместителем Главного государственного санитарного врача СССР в качестве официальных.

Методические указания предназначены для специалистов контрольно-токсикологических лабораторий, санитарно-эпидемиологических станций, осуществляющих контроль за применением регуляторов роста растений, и научно-исследовательских лабораторий, занимающихся определением микроколичеств регуляторов роста при разработке технологий их применения.

Члены редколлегии: *Ю. А. Бунятян, М. А. Клисенко, М. И. Лунев, С. В. Лопатко.*

Методические указания по определению микроколичеств регуляторов роста в растительной продукции и объектах окружающей среды (часть 1)

Зав. редакцией А. Я. Рогачева
Редактор Р. А. Антипина
Технический редактор Е. Э. Пчурова
Корректор Н. Я. Туманова

Сдано в набор 24.05.85. Подписано к печати. 06.02.86. Т03074.
Формат 84×108 1/32. Бумага тип. № 3. Гарнитура литературная. Печать высокая. Усл. печ. л. 4,2. Уч.-изд. л. 4,63. Усл. кр.-отт. 4,41.
Тираж 5000 экз. Заказ № 3322. Бесплатно.

Ордена Трудового Красного Знамени ВО «Агропромиздат» 107807, ГСП, Москва, Б-53, ул. Садовая-Спасская, 18.

170000, г. Калинин, Студенческий пер., 28.
Обл. типография.

© Государственный агропромышленный комитет СССР, 1986

Успехи, достигнутые в последние годы в области разработки теоретических основ и практического использования регуляторов роста и развития растений, определили их как самостоятельное и перспективное направление химизации земледелия.

В настоящее время применение синтетических регуляторов роста (химического, микробного или растительного происхождения) в целях повышения урожайности, устойчивости к неблагоприятным факторам внешней среды, качества и сохранности продукции становится важным звеном в технологиях возделывания многих сельскохозяйственных культур.

Разработанная в нашей стране целевая комплексная научно-техническая программа создания и широкого внедрения регуляторов роста растений, обеспечивающих повышение урожайности и качества сельскохозяйственных культур, нацеливает усилия химиков и биологов на поиск и создание препаратов, действующих на такие важнейшие процессы жизнедеятельности растений, как рост стебля (повышение устойчивости к полеганию, устранение перерастания рассады, ограничение крон многолетних растений и кустарников, увеличение биомассы и др.); плодоношение (ускорение у многолетних культур, повышение завязываемости и др.); устойчивость к стрессовым воздействиям (засухе, низким температурам, переувлажнению); рост корней (стимуляция при размножении черенками, рассадой, пересадке растений и др.); созревание (ускорение или замедление); накопление и распределение ассимилятов (повышение интенсивности фотосинтеза, усиление оттока ассимилятов к зерновкам, плодам); опадение плодов и листьев (облегчение механизированной уборки и дефолиация); покой (повышение лежкости при хранении или стимуляции прорастания); сексуализация (регулирование пола растений в сторону увеличения женских или мужских цветков); рост и дифференциация тканей (при размножении оздоровленного посадочного материала и в селекции).

При всем многообразии действия регуляторы роста и развития растений могут быть определены как вещества, которые влияют на жизненные процессы растений, не оказывая токсического действия, и не являются источником питания (в отличие от пестицидов и удобрений).

Большинство регуляторов роста в зависимости от культуры, времени и норм применения имеет многоцелевое назначение. Так, этиленпродуценты могут использоваться для торможения роста стебля (рожь, ячмень), стимулирования плодоношения (яблоня), ускорения созревания (вишня, томат), повышения лежкости (картофель, свекла), сдвига пола (огурец, плодовые культуры, хлопчатник), образования отделительного слоя (облегчение механизированной уборки и дефолиация).

Широкий спектр действия регуляторов роста предполагает постоянное расширение сферы их применения в растениеводстве. При этом увеличивается потенциальная опасность загрязнения ими сельскохозяйственной продукции и объектов окружающей среды. Постановлением Совета Министров СССР о дополнительных мерах по усилению контроля за применением в народном хозяйстве пестицидов и регуляторов роста растений в целях недопущения вредного воздействия их на здоровье населения предложено ужесточить требования к применению в народном хозяйстве пестицидов и регуляторов роста растений, усилить контроль за соблюдением установленных правил хранения, транспортировки и применения их, разработать и осуществить дополнительные мероприятия по предотвращению загрязнения окружающей природной среды пестицидами, регуляторами роста растений и основными токсичными продуктами их разложения исходя из необходимости охраны здоровья населения.

В настоящие указания включены методы определения микроколичеств регуляторов роста растений, уже разрешенных для применения в сельском хозяйстве (или проходящих государственные испытания).

Учитывая важность отбора представительной пробы анализируемой растительной продукции, в указания включено извлечение из «Унифицированных правил отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», утвержденных Министерством здравоохранения СССР 21.08. 1979 г. (приложение 1).

Публикация подобных материалов будет осуществляться периодически, по мере внедрения в сельскохозяйственное производство новых регуляторов роста, разработки методов контроля за их применением и появления более совершенных и унифицированных методов определения микроколичеств препаратов в сельскохозяйственной продукции, кормах и объектах внешней среды.

Утверждаю:

заместитель Главного государственного санитарного врача СССР

А. И. ЗАЙЧЕНКО

27.09. 1978 № 1909—78

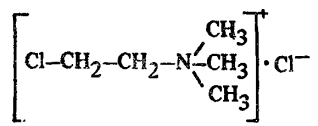
Методические указания по определению хлорхолинхлорида в растительной продукции, воде и почве методом тонкослойной ионообменной хроматографии *

1. КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕПАРАТА

Хлорхолинхлорид (ХХХ, ССС) — хлорид (2-хлорэтил) — триметил аммония — действующее вещество рострегулирующих препаратов ретардантной группы, выпускаемых под названиями: тур, ЗАР, берцема ССС, хлормекват и др.

Хлорхолинхлорид применяется на посевах и для обработки семян озимой и яровой пшеницы и с 1982 г. разрешен для опытно-производственного применения на яблоне и груше (зимние сорта), землянике, винограде (сорта с рыхлой и среднеплотной гроздью), рассаде томатов.

Структурная формула



Эмпирическая формула $C_5H_{13}NCl_2$.

Молекулярная масса — 158,07.

Химически чистый хлорхолинхлорид — белое кристаллическое вещество с высокой гигроскопичностью, практически без запаха.

Температура плавления ХХХ 240°С (плавится с разложением), растворимость в воде — 74,2, этиловом

* Методические указания разработали *В. П. Тучков* и *И. К. Блиновский* (ТСХА).

спирте — 35,1, эфире — 0,59, дихлорэтане — 0,48, бензоле — 0,18 г/100 мл при 20°С.

Хлорхолинхлорид имеет среднюю токсичность для теплокровных животных ($ЛД_{50}$ для крыс при введении через рот — 470—720 мг/кг), высоко стабилен в воде при pH менее 4,0. Максимально допустимые уровни (МДУ) остаточных количеств в зерне — 0,1 мг/кг, в плодах и овощах — 0,05 мг/кг. Предельно допустимая концентрация в воде водоемов — 0,2 мг/л, в воздухе рабочей зоны — 0,03 мг/м^3.

2. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода. Метод включает экстракцию из измельченных твердых образцов хлорхолинхлорида ацетоном или этанолом, подкисленными соляной кислотой, очистку на колонке с мелкопористым силикагелем марки МСМ и ионообменное хроматографирование в тонком слое катионита.

Количество хлорхолинхлорида вычисляют из величин оптических плотностей хроматограмм анализируемого образца и стандартных растворов (градуировочный график), измеренных на спектрофотометре в проходящем свете при длине волны 730 нм.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода. Предел обнаружения хлорхолинхлорида составляет 0,5 мкг, в растительных образцах — 0,05 мг/кг, в воде — 0,01 мг/л, в почве — 0,025 мг/кг.

Стандартное отклонение результатов анализа для концентраций, равных удвоенному пределу обнаружения (0,1 мг/кг), который совпадает с величиной МДУ для зерновых, при $n=8$ составляет 0,026 мг/кг. Относительное стандартное отклонение равно 26%, доверительный интервал среднего при $P_{095}\pm22\%$, полнота определения 80—90%.

2.1.3. Избирательность метода. Органические амины, которые могут присутствовать в экстрактах некоторых растений, не мешают определению: холин и триметиламин имеют Rf соответственно 0,34 и 0,36; бетаин не проявляется данным методом.

Определению не мешают присутствие других регуляторов роста (пикс, морфол, морфонол), относящихся к четвертичным солям аммония.

2.2. Реактивы и материалы

Ацетон х. ч., ГОСТ 2603—79, 80%-ный и 50%-ный растворы в воде.

Вода дистиллированная, ГОСТ 6709—72.

Гексан нормальный х. ч., ТУ 6-09-3375—73.

Масло вазелиновое 71/273/2.

Олово двухлористое х. ч., ГОСТ 36—78, 1%-ный раствор в 0,2 н. соляной кислоте.

Серная кислота х. ч., ГОСТ 4204—77, 23%-ный раствор в воде.

Силикагель мелкопористый МСМ, ТУ 6-09-2525—72.

Соляная кислота х. ч., ГОСТ 3118—77, 0,2 н. и 2,0 н. растворы в воде.

Фосфорномолибденовая кислота ч.д.а., ТУ 6-09-3540—78, 11%-ный раствор в воде.

Хлорхолинхлорид кристаллический, содержание основного вещества 99,7%.

Этиловый спирт х. ч., ТУ 6-09-1710—77, 80%-ный раствор в воде.

Индикаторная бумага универсальная pH-10, ТУ 6-09-1181—76.

Пластины хроматографические Фиксион 50×8, ВНР.

Фильтры бумажные, ТУ 6-09-1705—77.

2.3. Приборы и посуда

Бюретка на 50 мл, ГОСТ 20292—74.

Весы технические с погрешностью не более 0,5 г, ГОСТ 19491—74.

Весы аналитические с погрешностью не более 0,001 г, ТУ 25-06-1131—75.

Гомогенизатор для измельчения тканей, ТУ 46-43-937—74.

Делительная воронка на 500 мл, ГОСТ 8613—75.

Испаритель ротационный, ТУ 25-11-917—74 или по рис. 2.

Колонка хроматографическая 12×300 мм (рис. 3).

Колбы мерные на 500 мл, ГОСТ 1770—74.

Колбы плоскодонные со шлифом НШ-29 на 300 мл, ГОСТ 10394—72.

Микропипетки на 0,1 мл с ценой деления 0,001 мл, ГОСТ 20292—74.

Фен.

Камера хроматографическая, ГОСТ 1065—66, или стеклянный прямоугольный или цилиндрический сосуд с притертой крышкой.

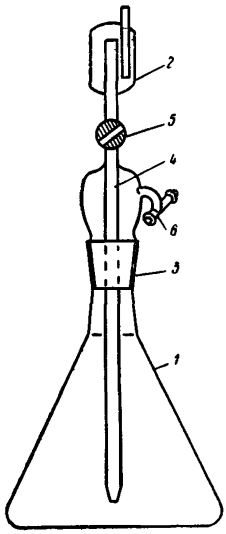


Рис. 2. Испаритель:
1 — колба для выпаривания; *2* — водяной фильтр; *3* — шлиф НШ-29; *4* — продувочная трубка; *5* — двухходовой кран; *6* — отводная трубка.

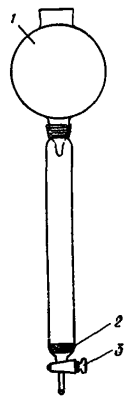


Рис. 3. Хроматографическая колонка:
1 — питающий сосуд; *2* — стеклянный фильтр № 2; *3* — кран.

Набор сит от 0,3 до 3,0 мм, ТУ 46-47-885—73.

Насос водоструйный, ГОСТ 10396—75.

Цилиндры мерные на 10, 100 и 500 мл, ГОСТ 1770—74.

Воронка Бюхнера, ГОСТ 8613—75.

Стаканы химические на 400 мл, ГОСТ 10394—72.

Ступки фарфоровые, ГОСТ 9147—73.

Пипетки на 0,5, 1 и 5 мл, ГОСТ 20292—74.

Спектрофотометр (СФ-4, СФ-16, СФ-26 или др.).

Экстрактор (см. рис. 4).

Электроплитки, ТУ 92-208—74.

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Построение градуировочного графика. На аналитических весах взвесить 1 г хлорхолинхлорида с точностью до 0,01 г. Навеску перенести в мер-

ную колбу на 500 мл и растворить в 0,2 н. соляной кислоте, доведя объем до метки. С помощью бюретки перенести в четыре мерные колбы на 500 мл соответственно 5, 15, 25 и 35 мл полученного стандартного маточного раствора XXX и разбавить до 500 мл дистиллированной водой. Маточный раствор пригоден для использования в течение шести месяцев.

Катионитовые пластины заводского изготовления марки Фиксион 50×8 разрезать ножницами на пластинки (70×100 мм). Параллельно одной из меньших сторон, на расстоянии 15 мм от нее, мягким карандашом поверх катионита провести стартовую линию, на которой разместить зоны нанесения стандартных растворов XXX — четыре зоны шириной 5 мм с интервалами в 10 мм. С помощью микропипеток на размеченные зоны нанести (путем многократного касания катионита только пузырьком раствора, выступающим на заостренном конце микропипетки, с периодическим высушиванием под феном) разбавленные стандартные растворы по 0,05 мл в порядке увеличения концентрации, что составит градацию количества XXX по зонам соответственно 1,0; 3,0; 5,0; 7,0 мкг. Нельзя дотрагиваться концом микропипетки до катионита во избежание соскабливания последнего. Для ускорения можно пользоваться четырьмя микропипетками на пластинку, а наносить сразу на две-три пластинки в 3-кратной повторности.

В хроматографическую камеру налить 25±1%-ную серную кислоту слоем 5—7 мл; затем в камеру поставить катионитовые пластинки на ребро, вдоль которого нанесен XXX. После продвижения фронта раствора кислоты на высоту 80 мм от стартовой линии вынуть пластинки из камеры и осушить капли кислоты фильтровальной бумагой.

В химических стаканах на 400 мл приготовить по 300 мл 11%-ного раствора фосфорномолибденовой кислоты в воде и 1%-ного раствора двухлористого олова в 2,0±0,2 н. соляной кислоте.

Для проявления хроматограмм опустить пластинки на ¾ их высоты в 11%-ный раствор фосфорномолибденовой кислоты, выдержать 2—3 с и промыть в шести порциях воды (первые пять в водопроводной, последнюю — в дистиллированной), выдерживая в них пластинки по 5 мин. Погружение в проявляющий раствор

должно быть непрерывным, при промежуточных задержках образуются сорбционные полосы.

После промывки пластинки осушить фильтровальной бумагой, не касаясь катионита выше стартовой линии, и обработать 1%-ным раствором двухлористого олова аналогично первой процедуре, увеличив выдержку до полного развития окраски хроматограмм. На светло-голубом фоне образуются темно-синие пятна восстановленного фосфорномолибдата 2-хлорэтил-триметиламмония на расстоянии 16±1 мм от стартовой линии (R_f = =0,20±0,01).

Проявленные хроматограммы высушить под феном и просветлить вазелиновым маслом посредством мазков мягкой (беличьей) кисточкой не позднее чем за два часа до измерения их оптической плотности. Кисточка должна быть обильно смочена в масле, а двигать ее по катионитовому слою необходимо достаточно медленно (для равномерной его пропитки) и непрерывно (для исключения сорбционных полос).

В случае получения неравномерно окрашенного (мозаичного) фона при проявлении исходные катионитовые пластины следует обработать 0,1 н. натриевой щелочью (восходящим током в хроматографической камере или выдерживанием в растворе в течение 5—6 мин) и затем промыть в трех порциях дистиллированной воды по 5 мин и высушить до воздушно-сухого состояния в термостате при 80°С или на воздухе при комнатной температуре.

Раствор фосфорномолибденовой кислоты сохраняет активность около двух месяцев, а раствор двухлористого олова — до двух недель при хранении их в темноте.

В держатель твердых образцов (пластин, пленок), поставляемых в комплекте со спектрофотометрами, вставить диафрагму из тонкого картона, прессшпана или других непрозрачных материалов, окрашенных в черный цвет. Диафрагма должна иметь продольный вырез, проходящий через все окна держателя. Высота выреза — 8 мм, и размещаться он должен также на расстоянии 8 мм от нижней кромки окон держателя при вставленной до упора в основание диафрагме (в ее рабочем положении).

Для соответствующего размещения проявленной хроматограммы в держателе катионитовую пластинку нужно обрезать ножницами на расстоянии 10 мм от

нижней границы окрашенных пятен 2-хлорэтил-триметиламмония, а сверху — на высоте 4 см от нижнего обреза. В верхней части пластинки над каждым пятном написать количество микрограммов нанесенного препарата (а при выполнении анализа — шифр образца). Вставить хроматограмму в задиафрагмированный держатель (подложкой к корпусу) так, чтобы каждое пятно оказалось в центре отверстия диафрагмы.

Установить держатель в кюветное отделение спектрофотометра и измерить оптическую плотность пятен хроматограммы при 730 нм относительно фона под каждым пятном. Для этого в указанной последовательности необходимо выполнить следующие операции: 1) выдвинуть из держателя хроматограмму вверх по вертикальной оси на 8 мм; 2) приравнять величину поглощения света фоном под первым пятном к «0» оптической плотности по шкале прибора посредством установки соответствующей ширины выходной щели монохроматора; 3) опустить хроматограмму на первоначальное место; 4) измерить оптическую плотность первого пятна (измерение повторить трижды для каждого пятна).

Построить градуировочный график, откладывая по оси абсцисс количества XXX в мкг, нанесенные на пластинки, а по оси ординат — соответствующие им величины оптических плотностей пятен хроматограмм (средние из девяти измерений: 3 пластинки по 3 измерения).

2.4.2. Приготовление колонок с силикагелем. Из кускового силикагеля марки МСМ выделить фракцию 0,5—1,5 мм путем просеивания через соответствующий набор сит. Закрепить на штативе стеклянные хроматографические колонки (рис. 3) в количестве, определяемом требуемой производительностью и условиями лаборатории. Заполнить колонки на 1/2 высоты дистиллированной водой, затем через воронку засыпать силикагель, постукивая по колонке концом стеклянной палочки, на которую надета резиновая трубка. При обнаружении пузырьков воздуха среди зерен силикагеля после окончания набивки колонку снимают со штатива, закрывают пробкой и, встряхивая в горизонтальном положении, распределяют силикагель по всей колонке. После высвобождения воздуха из разрыхленной массы силикагеля колонку медленно переводят в вертикальное положение, закрепляют на штативе и уплотняют силикагель постукиванием по колонке

стеклянной палочкой. Высота уплотненной набивки силикагеля должна быть 15 см.

Установить на колонки питающие сосуды и промыть силикагель 2,0 н. соляной кислотой в объеме 1 л со скоростью 2—3 мл/мин, оставить колонки, заполненные раствором кислоты, на сутки. Затем повторить промывку в том же режиме. Далее промыть колонки дистиллированной водой до нейтрального показателя pH по индикаторной бумаге.

(Внимание! Смену промывочных жидкостей, а также последующие внесения анализируемых растворов осуществлять при высоте предыдущей жидкости, превышающей высоту набивки на 0,5—0,4 см).

Пропустить через колонки со скоростью 2—3 мл/мин 20 мл водного раствора, содержащего 80 мкг XXX. Элюат собрать в плоскодонные колбы на 300 мл. Со скоростью 20—30 мл/мин собрать четыре порции элюата по 50 мл 50%-ного раствора ацетона в воде. Вымыть адсорбированный силикагелем хлорхолинхлорид 0,2 н. соляной кислотой, собрав также в плоскодонные колбы (300 мл) со скоростью 2—3 мл/мин четыре порции: первая 150 мл, три последующих по 50 мл.

Собранные порции элюатов выпарить досуха в ротационном испарителе или в собранных в батарею испарителях, количество которых равно числу установленных колонок.

Испаритель (см. рис. 2) работает следующим образом. В вытяжном шкафу на штативе над нагревательным прибором, создающим температуру 140—160°С (наиболее удобна песчаная баня), закрепить водяные фильтры *2* с пробкой шлифа *3* и краном *5* на продувочной трубке *4*. Водяные фильтры *2* на 2/3 заполнить водой. Соединить отрезками вакуумного шланга отводные трубки *6* между собой, а один из крайних испарителей батареи соединить с водоструйным насосом (или механическим насосом через соответствующие ловушки ацетона и соляной кислоты), а второй заглушить пробкой или резиновой трубкой с зажимом. Присоединить колбы *1* с выпариваемыми жидкостями к пришлифованной пробке *3*, включить нагревательные приборы и водоструйный насос и с помощью кранов *5* отрегулировать скорости продувки всех колб по интенсивности движения пузырьков-воздуха в них (скорость продувки — 3—4 пузырька воздуха в секунду).

Сухие остатки в колбе после охлаждения до комнатной температуры растворить в 0,1—0,2 мл воды и полностью нанести на катионитовые пластинки. Размер пластинок, нанесение и получение хроматограмм такие же, как при построении градуировочного графика.

На основании полученных результатов определить рабочие объемы: первый для промывки колонок (от коэкстрактивных веществ при выполнении анализов), равный сумме объемов порций 50%-ного ацетона, в которых не обнаружен ХХХ, второй — для вытеснения адсорбированного препарата, равный сумме объемов порций 0,2 н. соляной кислоты, в которых обнаружен хлорхолинхлорид. Например, в 50%-ном ацетоне обнаружен препарат в четвертой порции, а в 0,2 н. кислоте в первой, второй и третьей порциях. Следовательно, промывать колонки от коэкстрактивных веществ 50%-ным ацетоном нужно в объеме не более 150 мл, а вытеснять адсорбированный хлорхолинхлорид 0,2 н. соляной кислотой в объеме не менее 250 мл. Первая порция — проход воды при внесении раствора препарата в колонку — нужна для контроля полноты адсорбции ХХХ силикагелем. Колонки, промытые дистиллированной водой от 0,2 н. соляной кислоты, готовы к работе. Подготовленные и апробированные таким образом колонки с силикагелем можно использовать постоянно без замены набивки. При этом необходимо не реже двух раз в год проверять и уточнять рабочие объемы для промывки и вытеснения ХХХ.

2.4.3. Приготовление катионитовых пластинок. В тех случаях, когда нет готовых катионитовых пластин, их можно приготовить в лабораторных условиях. Для этого 50 г катионитовой смолы типа КУ-2-8, КБ/4, КРС-8п и другие, аналогичные им, размалывают на шаровой мельнице и просеивают через сито с отверстиями 0,1 мм. 40 г просеянной смолы переносят в коническую колбу на 250 мл, заливают 100 мл 0,1 н. раствора едкого натра и взбалтывают в течение часа. Затем смолу промывают на бумажном фильтре в воронке Бюхнера дистиллированной водой до нейтрального показателя pH. Заваривают 1 г крахмала или поливинилового спирта в 15—20 мл дистиллированной воды, нагретой до 60°С, затем охлаждают и разбавляют дистиллированной водой до 110 мл. В полученный коллоидный раствор засыпают катионообменную смолу, переведенную в H^+-форму, и

перемешивают. Полученную однородную массу разливают на горизонтально выставленные стеклянные (1,0—1,5 мм) или полистироловые (0,20 мм) пластинки и помогают равномерному растеканию гидрозольной суспензии смолы, перекатывая стеклянную палочку или покачивая пластины Затем пластинки укладывают на плоскость, установленную горизонтально, строго по уровню, и сушат в течение 12—14 ч.

2.5. Проведение определения

В растительных продуктах. 50 г анализируемой средней пробы, измельченной на гомогенизаторе на частицы размером не более 1 мм, внести в экстрактор (рис. 4) и экстрагировать 80%-ным ацетоном, подкисленными до pH 2,0 по индикаторной бумаге.

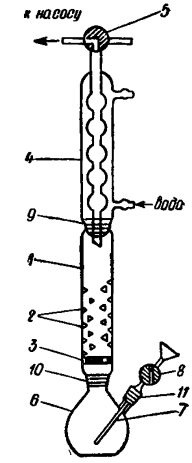


Рис. 4. Экстрактор:
1 — экстракционная камера; *2* — конические выступы; *3* — стеклянный фильтр № 2; *4* — холодильник; *5* — трехходовой кран; *6* — испарительная колба; *7* — капилляр; *8* — двухходовой кран; *9* — шлиф НШ-45; *10* — шлиф НШ-29; *11* — шлиф НШ-14,5.

Экстрактор работает следующим образом. Закрепить на штативе холодильник *4* в количестве, равном числу подготовленных колонок, соединить их с водопроводом и через трехходовой кран *5* с водоструйным насосом (присоединение к насосу должно быть параллельным, например, с помощью нескольких стеклянных тройников). Холодильники должны размещаться над нагревательными приборами (или над одним многогнездным нагревателем) на высоте, достаточной для установки между нагревателем и холодильником экстракционной камеры *1* и колбы для растворителя *6*.

Для внесения навески анализируемого образца соединить экстракционную камеру *1* с колбой *6* посредством конусного шлифа *10* и закрепить на отдельном (заправочном) штативе. Из колбы *6* вынуть капилляр *7*, через верхний конусный шлиф *9* засыпать (или залить, если сочный продукт) образец, в колбу *6* через конус-

ный шлиф *11* залить 150 мл выбранного для экстракции растворителя, вставить в колбу капилляр *7* и закрыть кран *8*.

Влить в экстракционную камеру через шлиф *9* 100 мл растворителя и затем перенести колбу *6* с экстракционной камерой *1* на нагреватель, присоединить к ним холодильник *4* посредством конусного шлифа *9*, заправив и собрав подобным образом все экстракторы, включить нагреватели, подать воду для охлаждения холодильников, включить водоструйный насос, переключить краны *5* на насос (как показано на рисунке 4) и отрегулировать кранами *8* одинаковую продувку экстракторов аналогично регулировке продувки испарителей (см. рис. 2). Таким образом экстракторы запущены в работу.

Пар кипящего растворителя током воздуха из капилляра *7* продувается через стеклянный фильтр *3* и экстрагируемый материал в холодильник *4*, в котором конденсируется и стекает в экстракционную камеру *1*. Восходящий поток паровоздушной смеси через фильтр препятствует фильтрации растворителя из экстракционной камеры в колбу *6*. В результате растворитель накапливается в экстракционной камере, а непрерывный восходящий поток воздуха создает эффект кипящего слоя, что значительно интенсифицирует процесс экстракции. Конические выступы на внутренней поверхности необходимы для предотвращения образования пробки и усиления перемешивания экстрагируемой массы.

Периодически, по мере заполнения экстракционной камеры, растворитель сливают в колбу. Для этого закрывают кран *8* и через 1—2 минуты переключают кран *5* на атмосферу. При этом в холодильнике и экстракционной камере давление повышается до атмосферного, а в колбе сохраняется остаточный вакуум, созданный насосом при закрытом кране *8*. Под действием избыточного давления растворитель фильтруется через фильтр *3* из экстракционной камеры в колбу для растворителя. Если остаточного разряжения в колбе не хватает на фильтрацию всего объема растворителя, кран *5* переключают на насос и через несколько минут опять переводят на атмосферу. После полного сливания растворителя краны возвращают в рабочее положение и экстрагируемая масса смачивается новой порцией чистого растворителя. Процесс экстракции повторяют 5—6 раз в течение 6—7 ч.

Экстракт профильтровать через бумажный фильтр в делительную воронку на 500 мл и смешать с 50 мл гексана (или петролейного эфира) путем энергичного встряхивания в течение пяти минут. Закрепить делительную воронку в штативе и после расслоения растворителей нижнюю фазу слить в другую делительную воронку и повторить процесс очистки новой порцией гексана. Повторение очистки продолжают до получения бесцветного гексанового слоя.

Очищенный гексаном экстракт (нижняя фаза) пропустить через колонку с силикагелем со скоростью 2—3 мл/мин. Проход отбросить, промыть колонку со скоростью 20—30 мл/мин 50%-ным раствором ацетона в объеме, установленном при апробации колонки, как описано выше. Промывной ацетоновый раствор отбросить, а поглощенный силикагелем ХХХ вытеснить 0,2 н. соляной кислотой в объеме, установленном при апробировании колонок, с той же скоростью. Солянокислый элюат собрать в колбу соответствующего объема и затем выпарить на ротационном испарителе. Сухой остаток растворить в 0,5 мл дистиллированной воды. 0,1 мл полученного раствора с помощью микропипеток в 2-кратной повторности нанести на тонкослойную катионообменную хроматографическую пластинку. Нанесение на пластинку и все дальнейшие операции выполнить так, как при получении градуировочного графика. Колонки с силикагелем после промывки до нейтральной pH пригодны для последующих анализов.

В почве. 100 г воздушно-сухой почвы, измельченной и просеянной через сито с отверстиями 2—3 мм, поместить в экстракционную камеру. Провести экстракцию и все последующие операции, как описано при анализе растительных продуктов.

В воде. 250 мл воды подкислить соляной кислотой до pH 2,0 и выпарить на ротационном испарителе до объема 20—30 мл. Остаток профильтровать через бумажный фильтр, трижды промыв колбу и фильтр 3—4 мл дистиллированной воды. Фильтрат количественно перенести в питающий сосуд колонки с силикагелем и провести очистку и все дальнейшие операции, как при анализе растительных продуктов.

2.6. Обработка результатов анализа

Содержание хлорхолинхлорида в анализируемых пробах определяют по формуле

$$C = \frac{5 \cdot A}{P},$$

где С — содержание хлорхолинхлорида в пробе, мг/кг или мг/л; 5 — коэффициент, равный отношению объема раствора сухого остатка (0,5 мл) к объему этого раствора, нанесенного на хроматографическую пластинку (0,1 мл); А — количество хлорхолинхлорида, определенное на хроматограмме по градуировочному графику, мкг; Р — масса или объем анализируемой пробы, г или мг.

За окончательный результат анализа принимается среднее из двух параллельных определений.

Проявленные предлагаемым методом хроматограммы отличаются очень высокой стабильностью оптической плотности, изменения которой не выходят за пределы 10% в течение нескольких лет при нормальных условиях хранения. Полученные в результате проведения анализа хроматограммы могут служить наглядным свидетельством гигиенического качества продукции, выращенной с применением хлорхолинхлорида.

3. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ

При проведении исследований по вышеприведенной методике необходимо соблюдать правила предосторожности при работе с кислотами, щелочами, ядовитыми и легковоспламеняющимися веществами.

Приложение 1

Отбор проб растительного материала на корню
(из «Унифицированных правил отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», утвержденных заместителем Главного государственного санитарного врача А. И. Заиченко 21.08.1979 г. № 2051—79).

Максимальная величина поля или партии при отборе проб	Растительный материал	Способ отбора проб *	Величина средней пробы или исходного образца	Подготовка среднего образца	Величина среднего образца, кг
		Зерновые и зернобобовые (на корню)			
100 га	Злаковые	ОШ (0,5 кг в каждой точке)	3 кг	Зерно отделить, измельчить, тщательно перемешать и выделить средний образец	0,25—0,50
		Кормовые культуры (на корню)			
100 га	Кукуруза	СС (не менее 18 растений)	Початки с 18 растений	Зерно отделить, измельчить и отвесить средний образец	0,25—0,50
50 га	Кормовые бобы	ПД	1000 бобов	То же	0,5 —1,0

Продолжение

Максимальная величина поля или партии при отборе проб	Растительный материал	Способ отбора проб *	Величина средней пробы или исходного образца	Подготовка среднего образца	Величина среднего образца, кг
		Технические культуры			
50 га/30 т	Рапс, сурепица, горчица	СС (0,5 кг в каждой точке)	3 кг	Семена вышелушить, измельчить, перемешать и отвесить средний образец	0,25
50 га/30 т	Мак масличный	СС (0,5 кг в каждой точке)	3 кг	То же	0,25
50 га/30 т	Подсолнечник	СС (по 5 корзинок в каждой точке)	20—30 корзинок	»	0,25
20 га/30 т	Лен	СС	1 кг коробочек	»	0,25
20 га/30 т	Хмель	ПД (несколько шишек)	0,30 кг шишек	Шишки измельчить, перемешать и выделить средний образец	0,25
20 га	Табак	СС (по 4 листа в каждой точке)	Около 20 (1 кг) листьев	Листья измельчить, перемешать и взять средний образец	0,25
		Зеленые корма			
100 г/100 т	Мелкосеменные, мотыльковые, стручковые, зерновые, травы и другие растения, входящие в состав смесей	ПД (срезать целые растения — 10—15 — через равные промежутки)	5 кг	Общую пробу измельчить, перемешать и выделить средний образец	0,5—1,0
100 г/100 т	Кукуруза, подсолнечник, кормовая капуста	СС (срезать по 3 растения в каждой точке)	3 кг	Собранный материал измельчить, перемешать и выделить $^1/_4$ часть, которую снова измельчить, тщательно перемешать и выделить средний образец	0,5—1,0
		Корнеплоды и клубнеплоды			
50 га/100 т	Сахарная свекла	ПД (не менее 15 целых растений)	Не менее 15 растений (не менее 10 кг)	Отделить листья от корней. Листья считать отдельной пробой. Корни вымыть, обсушить, почетвертовать. Взять $^1/_4$ каждого корня, четвертинки измельчить, перемешать и отвесить средний образец. Листья измельчить, перемешать и выделить средний образец	0,5
50 га/100 т	Кормовая свекла, брюква	ПД (не менее 15 целых растений)	Не менее 15 корней (не менее 3 кг)	Корни вымыть, обсушить, почетвертовать. Взять $^1/_4$ каждого корня, четвертинки измельчить, перемешать и отвесить средний образец	0,5

Продолжение

Максимальная величина поля или партии при отборе проб	Растительный материал	Способ отбора проб *	Величина средней пробы или исходного образца	Подготовка среднего образца	Величина среднего образца, кг
50 га/100 т	Картофель	ПД (из 15 точек взять выборочно около 50 гнезд)	Не менее 3 кг	Клубни вымыть, обсушить, взять $^1/_2$ или $^1/_4$ каждого клубня измельчить и отвесить средний образец	0,5
		Овощные культуры			
2—5 га	Овощные корнеплоды (морковь, петрушка, сельдерей, столовая свекла, редис, редька и др.)	ПД, корни (овощей, используемых в ранний период развития (петрушка, столовая свекла) целые растения	Крупные 3 кг, мелкие — 1 кг, ранние — 0,25—0,5 кг	Отбросить несъедобные части растений, остатки материала вымыть, обсушить, крупные овощи разделить на 4 части и взять $^1/_4$. Пробу измельчить, перемешать и выделить средний образец	0,5—0,25
20 га	Капуста белая, красная, савойская	ПД (не менее 10 растений или не менее 4 кг)	4 кг	Взять $^1/_4$ каждого кочана. Перед измельчением четвертинок срезать и отбросить поверхность предыдущего среза, отбросить несъедобные листья, измельчить и выделить средний образец	0,5
5—10 га	Капуста цветная	ПД (не менее 10 растений или не менее 2 кг)	2 кг	Отбросить несъедобные части, остальное измельчить, перемешать и выделить средний образец	0,25
5 га	Капуста кольраби	ПД (не менее 10 растений или не менее 0,5 кг)	0,75 кг	То же	0,5
5 га	Капуста брюссельская	ПД (учитывая головки, растущие на разной высоте и разных частях растения, не менее 10 растений)	Не менее 1 кг	Измельчить, перемешать, выделить средний образец	0,25
5 га	Салат, шпинат, щавель	ПД (не менее 10 растений)	Салат — 0,5 кг, щавель — 0,25 кг	Отбросить несъедобные части, растения вымыть, очистить, измельчить и выделить средний образец	0,25
5 га	Укроп	ПД (только листья)	0,25 кг	Отбросить непригодные части, измельчить, перемешать и отвесить средний образец	0,25
5 га	Молодой укроп, укроп для засолки	ПД (целые растения)	0,5 кг	Измельчить целые растения, перемешать и отвесить средний образец	0,25
10 га	Лук, чеснок, лук-порей	ПД (в полной зрелости)	Лук, лук-порей — 1 кг чеснок — 0,5 кг	Отбросить несъедобные части, растения измельчить, перемешать и отвесить средний образец. Для лука и лука-порея с каждой штуки взять половину	0,25

Продолжение

Максимальная величина поля или партии при отборе проб	Растительный материал	Способ отбора проб *	Величина средней пробы или исходного образца	Подготовка среднего образца	Величина среднего образца, кг
5 га	Лук-резанец, лук-батун, лук-порей в ранней стадии развития	ПД (целые растения)	Лук, лук-порей — 0,5—1 кг; лук-резанец, лук-батун — 0,25 кг	То же	0,25
5 га	Фасоль, горох, бобы	То же	0,5—1 кг бобов	Семена выделить, измельчить и выделить средний образец	0,5
50 га	Фасоль «зеленый боб»	»	0,5 кг	Целые бобы измельчить, перемешать и выделить средний образец	0,5
20 га/30 т	Помидоры, перец	ПД (целые растения)	Мелкие овощи 0,5—2 кг, крупные — 2 кг	Овощи вымыть, измельчить и выделить средний образец	0,5
20 га/500 т	Огурец и бахчевые	То же	10 овощей, масса пробы крупных бахчевых — 0,5—3 кг	Овощи вымыть, измельчить и выделить средний образец, из крупных бахчевых взять вырезки	0,5
5 га	Спаржа	»	0,5 кг	Растения вымыть, измельчить и выделить средний образец	0,25—0,5
5 га	Ревень	ПД (выборочно листья)	2 кг (без листовых пластинок)	После удаления листовых пластинок растения вымыть, высушить и выделить средний образец	0,5
			Грибы		
—	Шампиньоны и другие грибы	К (руководствоваться правилами сбора грибов)	Не менее 0,5 кг	Грибы измельчить, перемешать и отвесить средний образец	0,5
			Плодово-ягодные, орехоплодные, виноград		
200 га/500 т	Семечковые	До 30 деревьев — выборочно, свыше 30 ПД в зависимости от площади, с 20—30 деревьев (плоды следует снимать с разных сторон дерева, с разной высоты и глубины кроны)	До 30 деревьев — 5 кг, до 1 га — 7 кг, 1—10 га — 10 кг, 10—30 га — 12 кг, свыше 30 га — 15 кг	Плоды почетвертовать, от каждого плода взять ¼, четвертинки измельчить, перемешать и отвесить средний образец	
До 200 га/200 т	Косточковые персик, абрикос, слива	До 30 деревьев — выборочно, свыше 30 деревьев — ПД с 15—20 деревьев	До 30 деревьев — 4 кг; до 1 га — 6 кг, свыше — 1 га 8 кг	Плоды поделить пополам, от каждого взять половину без косточки, измельчить, перемешать и выделить средний образец	0,5
До 200 га/100 т	Косточковые вишня, черешня, слива	То же	До 30 деревьев — 1,5 кг; до 1 га — 2 кг, свыше 1 га — 2,5 кг	Косточки удалить, плоды измельчить, перемешать и отвесить средний образец	0,5
	Орехи (грецкие, лещина)	»	До 30 растений — 1 кг, свыше 30 — 1,5 кг	Из орехов вынуть ядра, измельчить их, перемешать и отвесить средний образец	0,25—0,5

Продолжение

Максимальная величина поля или партии при отборе проб	Растительный материал	Способ отбора проб *	Величина средней пробы или исходного образца	Подготовка среднего образца	Величина среднего образца, кг
10 га	Смородина, крыжовник	До 30 кустов пробу взять с каждого куста с разной его стороны и глубины, свыше 30 кустов — метод СС с 25—35 кустов	До 30 кустов не менее 1 кг (с крупными плодами — не менее 1,5 кг), свыше 30 кустов — не менее 1,5 кг	Из тщательно перемешанного исходного образца взять половину, измельчить ее, перемешать и отвесить средний образец	0,5
До 200 га	Виноград	СС, боковые части кистей	1,5 кг	Взять отдельные от основания боковые части кистей, тщательно перемешать исходный образец и взять половину, измельчить ее, перемешать и отвесить средний образец	0,5
До 1 га	Земляника, малина	ПД	До 500 м² — 1,5 кг, 500 м² — 0,25 га — 2,5 кг, свыше 0,25 га — 2,5 кг	Тщательно перемешать исходный образец, взять половину, измельчить ее, перемешать и отвесить средний образец	0,5

* В приложении приняты следующие условные обозначения способа отбора проб: ПД — по диагонали; СС — по смежным сторонам поля; К — метод конверта; ОШ — отбор штук.

Приложение 2

Максимально допустимые уровни (МДУ) регуляторов роста в пищевых продуктах, предельно допустимые концентрации (ПДК) в воде водоемов и в воздухе рабочей зоны, утвержденные Министерством здравоохранения СССР

Регулятор роста	МДУ, мг/кг	ПДК в воде водоемов, мг/л	ПДК в воздухе рабочей зоны и ОБУВ, мг/м³
Гидрел	Томаты, огурцы, картофель, яблоки, черешня, мандарины, хлопковое масло — 0,15	0,25	1,0
Дигидрел	—	0,05	0,8
ДЯК	Яблоки — 3,0	0,05	1,7
Кампозан М	Томаты, огурцы, зерно хлебных злаков — 0,5	3,0	—
Кротонолактон-сырец	Зерно (пшеница, кукуруза) — 0,2	—	—
МГ-натрия	Картофель, свекла, лук, чеснок, морковь, томаты, арбузы (в кожуре), табак — 8,0	—	—
Хлорхолинхлорид	Томаты, яблоки, груши, виноград — 0,05, зерно хлебных злаков — 0,1	0,2	0,03
Фоспинол	Картофель — 0,2	—	3,0

СОДЕРЖАНИЕ

Определение микроколичеств регуляторов роста в растительной продукции, воде и почве 5

Методические указания по определению кампозана М (этефона) и его производных (гидрела, дигидрела) в яблоках, огурцах, томатах, семенах хлопка и хлопковом масле методом газожидкостной хроматографии 5

Методические указания по определению хлорхолинхлорида в растительной продукции, воде и почве методом тонкослойной ионообменной хроматографии 14

Временные методические указания по определению пикса и морфонола в воде, почве и растительных образцах методом тонкослойной ионообменной хроматографии 27

Методические указания по определению ДЯКа, ГМК-Na, гидрела и дигидрела в воде и растительном материале унифицированным спектрофотометрическим методом . . . 30

Временные методические указания по определению гибберсиба в воде и почве методом тонкослойной хроматографии . 37

Временные методические указания по определению дикурина в воде методом тонкослойной хроматографии 42

Временные методические указания по определению гаметана в зерне методом газожидкостной хроматографии . . . 48

Определение микроколичеств регуляторов роста растений в воздухе рабочей зоны 53

Методические указания по фотометрическому определению ДЯКа в воздухе рабочей зоны 53

Временные методические указания по фотометрическому определению ГМК-Na в воздухе рабочей зоны 57

Методические указания по спектрофотометрическому измерению концентраций дигидрела в воздухе рабочей зоны . 61

Методические указания по фотометрическому измерению концентраций гидрела в воздухе рабочей зоны 66

Временные методические указания по хроматографическому измерению концентраций розалина в воздухе рабочей зоны 69

Приложение 1. Отбор проб растительного материала на корню 73

Приложение 2. Максимально допустимые уровни (МДУ) регуляторов роста в пищевых продуктах, предельно допустимые концентрации (ПДК) в воде водоемов и в воздухе рабочей зоны, утвержденные Министерством здравоохранения СССР 81

gost.e-ecolog.ru