ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ БОРЬБЫ
С ВРЕДИТЕЛЯМИ, БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОРНЯКАМИ ПРИ МСХ СССР

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, КОРМАХ И ВНЕШНЕЙ СРЕДЕ

Часть УП

Москва - 1976 г.

gost.e-ecolog.ru

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХЛОРОРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ В МЯСЕ, МЯСОПРОДУКТАХ И ЖИВОТНЫХ ЖИРАХ ХРОМАТОГРАФИЕЙ В ТОНКОМ СЛОЕ

Принцип метода.[x)]

Метод основан на экстракции пестицидов из пробы ацетоном, первичной очистке экстракта от основной части жира "вымораживанием", окончательной адсорбционной очистке экстракта путем колоночной хроматографии на силикагеле АСК и последующей хроматографии очищенных и сконцентрированных экстрактов в тонком слое окиси алюминия или силикагеля.

Чувствительность метода: 0,02-0,08 мг/кг продукта.

Реактивы и растворы.

Гексан, хч.

Петролейный эфир, (температура кипения 40-70°), ч.

Ацетон, ч.

Бензол, чда.

Натрий сернокислый безводный, хч, просушенный при 150° в течение 5 часов.

Натрий сернокислый - 2% водный раствор и насыщенный водный раствор.

Адсорбенты для тонкослойной хроматографии:

- окись алюминия II степени активности - адсорбент предварительно многократно промывают дистиллированной водой до отрицательной реакции на ион хлора и высушивают на воздухе, просеивают через сито 100 меш;

- силикагель марки КСК (очистку см. "Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, почве и воде", М., 1968);

- пластинки "Силуфол" (ЧССР), предварительно промытые водой в хроматографической камере и просушенные на воздухе, перед использованием активируют в сушильном шкафу при 65° в течение 4 мин.

Кальций сернокислый, просушенный при 150° в течение 6 часов.

---

x) Разработан Шумковой И.А., Карповой И.Н., Ликуновой С.А. и Рузанковой Л.Д. (Всесоюзный научно-исследовательский институт мясной промышленности).
Утверждено 23 января 1975 г., № 1222-75.

Стандартные растворы пестицидов:

- основной раствор: р,р-ДДТ и р,р-ДДЭ по I6 мг и α- и γ-ГХЦГ по 64 мг растворяют в I00 мл гексана;

- рабочие растворы готовят путем разведения основного раствора гексаном в 4 и 8 раз.

Силикагель АСК.

Этиловый спирт, гидролизный, высшей очистки.

Проявляющий реактив:

0,I г азотнокислого серебра растворяют в I мл дистиллированной воды, добавляют 2 мл раствора аммиака (уд.вес 0,9) и доводят объем ацетоном до 20 мл.

Гигроскопическая вата, обезжиренная в аппарате Сокслета.

Приборы и посуда.

Сито на I00 меш (диаметр отверстий 0,I47 мм).

Гомогенизатор или микроизмельчитель тканей.

Ртутно-кварцевая лампа (ПРК-2 или ПРК-4).

Прибор для отгонки органических растворителей или роторный испаритель.

Камера для хроматографирования (стеклянный сосуд с притертой крышкой или эксикатор).

Пульверизаторы стеклянные для опрыскивания пластинок.

Камера для опрыскивания.

Бани водяные.

Колбы с притертыми пробками на 250 мл.

Длительные воронки на I00, 250 и 500 мл.

Колбы мерные на 50 и I00 мл.

Пипетки на 5 и I0 мл.

Колбы круглодонные на I50, 250 и 500 мл.

Медицинские шприцы на I мл с делениями 0,020-0,025 мл для нанесения проб и стандартных растворов.

Стеклянные хроматографические колонки 400 х 20 мм.

Пластинки для хроматографии. Стеклянную пластинку 9хI2 см моют водой с содой, хромовой смесью, дистиллированной водой, сушат, перед использованием протирают спиртом.

Приготовление пластинок с тонким слоем адсорбента

Окись алюминия и сернокислый кальций тщательно небольшими порциями перетирают в фарфоровой ступке, переносят в колбу и встряхивают с бидистиллированной водой до образования однородной массы. Эта масса должна иметь консистенцию, позволяющую ей свободно растекаться по поверхности стеклянной пластинки без расслоения на твердую фазу и воду.

Так как различные партии адсорбента часто отличаются по своим свойствам, количество добавляемой воды подбирают опытным путем, варьируя его в небольших пределах.

При этом критерием служит консистенция получающейся сорбционной массы.

Соотношение компонентов - окись алюминия: сернокислый кальций: вода = 50:4:90 - I00; силикагель: сернокислый кальций: вода = 35:2:90.

I0 г сорбционной массы (2 чайных ложки) наливают на пластинку и равномерно распределяют по всей поверхности. Пластинки сушат при комнатной температуре I8-20 часов и хранят в эксикаторе.

О п и с а н и е о п р е д е л е н и я

Подготовка пробы.

200-250 г образца I-3 раза измельчают на мясорубке, тщательно перемешивают.

Рекомендуется дополнительное более тонкое измельчение образцов (кроме жировой ткани) в гомогенизаторе.

Экстракция пестицидов и первичная очистка экстрактов.

25 г измельченного образца заливают 50 мл ацетона, тщательно перемешивают и нагревают на горячей водяной бане до закипания растворителя. Колбу охлаждают, добавляют в нее I0 мл охлажденного 2% раствора сернокислого натрия, перемешивают и охлаждают 30 минут в ледяной бане. Затем сливают ацетоновый слой в круглодонную колбу через слой обезжиренной ваты. Экстракцию ацетоном с последующим вымораживанием жира повторяют еще 2 раза. Из объединенных экстрактов отгоняют ацетон на

роторном испарителе или в приборе для отгонки органических растворителей температура бани не более 70 ± 2^{0}) и трижды экстрагируют петролейным эфиром: порциями 20 мл, I0 мл и I0 мл. Продолжительность I-й экстракции I час, последующих - I5 минут. При этом каждый раз перемешивают содержимое в течение 2-х минут, дают слоям разделиться и слой петролейного эфира переносят в делительную воронку (емкость - 500 мл) с 40 мл 2% раствора сернокислого натрия. Смесь осторожно перемешивают в течение 2 минут, дают слоям разделиться и водную фазу отбрасывают. Для улучшения разделения слоев можно добавить несколько мл насыщенного раствора сернокислого натрия. Операцию промывки экстракта повторяют еще 2 раза, после чего петролейный эфир сливают в стакан с 20 г безводного сернокислого натрия, споласкивают делительную воронку дважды 5 мл петролейного эфира. Подсушенный экстракт количественно переносят в мерный цилиндр на 50 мл и доводят петролейным эфиром до 30 мл. Стакан с сернокислым натрием сохраняют.

Колоночная хроматография

В нижнюю часть хроматографической колонки помещают около 500 мг обезжиренной ваты. Затем насыпают силикагель АСК (75 мл для очистки экстрактов свиного жира и 70 мл - для всех остальных).

Силикагель слегка уплотняют постукиванием. Колонку промывают 50 мл петролейного эфира и отжимают сорбент с помощью резиновой груши. Наносят на колонку 30 мл экстракта, дают жидкости стечь и снова отжимают сорбент. Прошедший через колонку растворитель отбрасывают.

Пестициды элюируют II0 мл смеси бензол-петролейный эфир (30:80). Элюирующую смесь вносят порциями по 30 мл, споласкивая каждый раз цилиндр из-под экстракта и стаканчик с безводным сернокислым натрием, в котором под ушивали экстракт.

Элюат собирают в круглодонную колбу на I50 мл. Через I0 мин. после стекания последней порции растворителя отжимают сорбент с помощью резиновой груши.

Элюат упаривают до объема 0,I мл и наносят на хроматографическую пластинку.

Все органические растворители, остающиеся после упаривания проб и промывки колонок могут использоваться повторно после перегонки над активированным углем или азотнокислым серебром (I г/л).

Хроматография в тонком слое.

Перед нанесением проб хроматографические пластинки размечают по трафарету, как показано на рис.I. Слой в 3 мм с вертикальных сторон удаляют, что способствует выравниванию фронта растворителя и улучшает разделение веществ.

Пробу и стандартные растворы наносят медицинским шприцом строго в одну точку, чтобы диаметр пятна не превышал 5-6 мм.

Для получения количественных данных каждый образец анализируют дважды: первый раз на пластинку по обе стороны от пробы наносят в три точки стандартный раствор с содержанием пестицидов I; 5 и I0 мкг (по ДДТ); второй раз содержание пестицидов в "стандарте" подбирается с учетом данных первого определения.

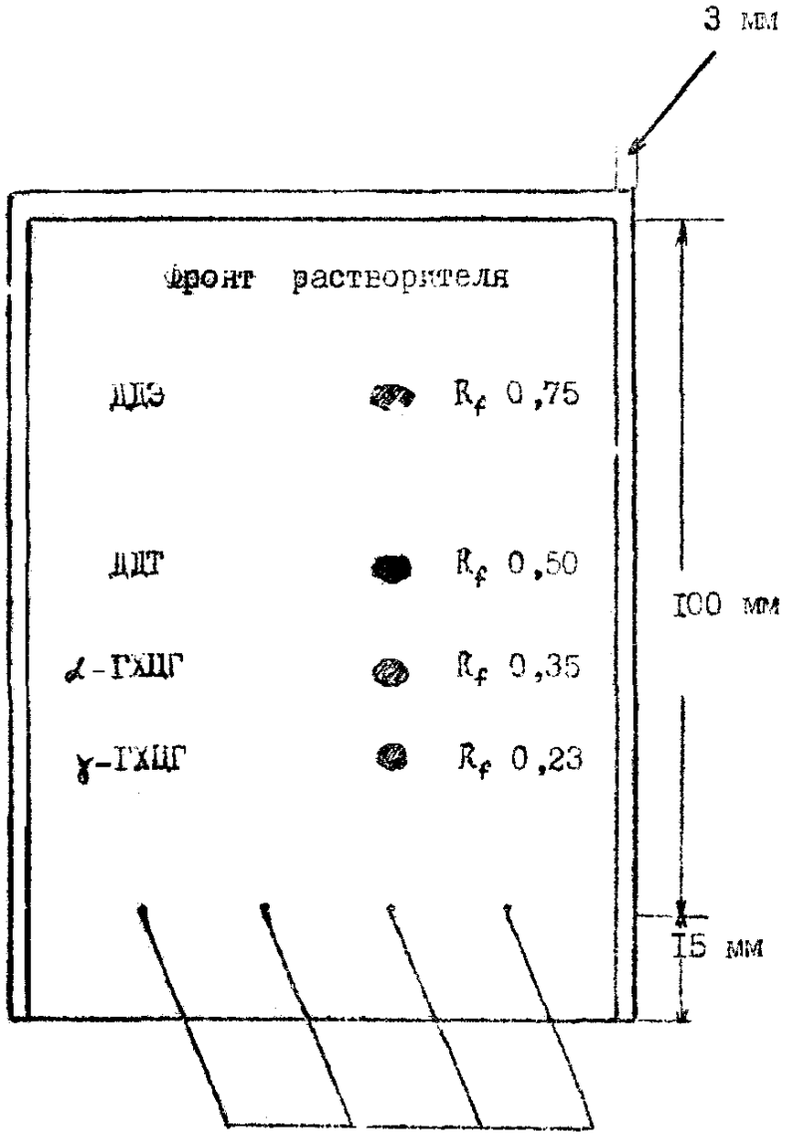
В случае необходимости проведения серийного анализа в производственных условиях можно наносить в одну точку стандартный раствор с содержанием ДДТ-0,5 мкг и три испытуемых пробы. При необходимости количественной характеристики проб с остатками пестицидов больше 0,5 мкг анализ повторяют, как указано выше.

В качестве подвижного растворителя используют I%-ый раствор ацетона в гексане.

Содержание остатков пестицидов определяют путем измерения на хроматограммах площадей пятен веществ исследуемой пробы и стандарта со строго одинаковой интенсивностью окраски. Для измерения площадей с хроматограммы снимают копию на кальку, просветленную вазелиновым маслом. Площадь пятен определяют путем наложения копий на кальке на миллиметровую бумагу. Формула для расчета содержания остатков пестицидов в исследуемом образце (в мк/кг):

$$X = \frac{S_n \cdot A \cdot 1000}{S_c \cdot 25 \cdot 1000}$$

где S_n - площадь пятна вещества испытуемой пробы;
S_c - площадь пятна вещества стандарта;
A - содержание вещества в пятне стандарта в мкг;
25 - навеска образца, взятая для определения в г.



Точки нанесения.

Рис. I

gost.e-ecolog.ru