

**Министерство сельского хозяйства
Российской Федерации**

**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**

**МОСКВА
ЦЕНТР НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ,
ПРОПАГАНДЫ И РЕКЛАМЫ
1994 г.**

УТВЕРЖДЕНО

МИНИСТЕРСТВОМ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР

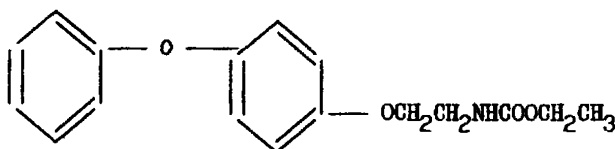
" 29" июля 1991г.

№ 6176-91

ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ФЕНОКСИКАРБА
(ИНСЕГАРА) В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ, ВОДЕ И ПОЧВЕ ХРОМАТОГРА-
ФИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

1. Краткая характеристика препарата

Инсегар - этил -2-(4-феноксифенокси) этилкарбамат.



М.м. 301,3

$C_{17}H_{19}NO_4$

Феноксикарб (инсегар) - кристаллическое вещество, пл.Тпл 53-54°C.
Растворим в большинстве органических растворителей, в гексане 5 г/л, в
воде при 20°C 6 ppm. Не гидролизуетс в водном растворе при pH 3,7 и 9
при 35°C.

Давление пара при 25°C - $1,7 \cdot 10^{-5}$ Pa ($1,3 \cdot 10^{-7}$ мм рт.ст.)

2. Методика определения феноксикарба в растительном материале, воде
и почве методом газожидкостной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Метод основан на извлечении феноксикарба из исследуемого объекта
ацетоном или хлороформом и последующим определением методом реакционной
газожидкостной хроматографии в виде ацильного производного.

Разработчики: Мурашко С.В., Щербакова И.П., ВНИИГИНТОКС, Киев

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Нижний предел определения ГЖХ- 0,1нг., ТСХ- 0,3мкг.

Исследуемый объект	Предел обнаружения мг/кг		Среднее значение опреде-я	Стандартное отклонение, %	Доверит-й интервал сред-го %
	ГЖХ	ТСХ			
Раститель- ный материал	0,005	0,01	89,2	4,5	$\pm 4,49$
Почва	0,001	0,006	90,3	4,99	$\pm 4,95$
Вода	0,001	0,001	90,5	4,5	$\pm 7,51$

2.1.3. Условия концентрации, очистки и последующего газохроматографического определения феноксикарба позволяют избирательно определять препарат в присутствии ФОС, пиретроидов.

2.2. Реактивы и материалы

Ацетон, ос.ч.ТУ- 3513-86.

Хлороформ, хч., ГОСТ 20015-74.

Бензол, хч., ГОСТ 5955-81.

Трифторуксусный ангидрид, ТУ 6-09-4135-75.

Пиридин, ч., ГОСТ 13647-78.

Сульфат натрия, безводный, ч., ГОСТ 4166-76.

Азот в баллоне, особой чистоты, ГОСТ 9293-74.

Неподвижная фаза 5% S E-30 на хроматоне N-AW-DMC S.

О-Толидин, ТУ 6-09-2232-75, 1%-ный раствор в ацетоне.

Уголь активированный, марки ОУ-"А".

Уксусная кислота, чда, ледяная, ГОСТ 61-75.

Калий марганцовокислый, чда, ГОСТ 20490-75.

Кислота соляная, хч, ГОСТ 4232-74.

Проявляющий реактив: 1% раствор о толидина в ацетоне.

Основной стандартный раствор (ОСР) феноксикарба с концентрацией 100 мкг/мл готовят взятием навески 10 мг (0,0100 г) х.ч. и растворением в ацетоне в мерной колбе емкостью 100 мл. Хранить в холодильнике в течение 2-х месяцев.

Рабочие стандартные растворы с содержанием 10 мкг/мл, 1 мкг/мл, 0,5 мкг/мл готовят соответствующим разбавлением ОСР ацетоном.

Хранить в холодильнике в течение 2-х месяцев.

2.3. Приборы, аппаратура и посуда

Газовый хроматограф серии "Цвет" с ДПР.

Колонки стеклянные длиной 1 м, диаметр 3,5 мм.

Ротационный испаритель типа ИР-1М, ТУ 25-11-917-76.

Колбы грушевидные, ГОСТ 25336-82, емкостью 500, 250, 100, 50 мл.

Колбы мерные, ГОСТ 1770-74, емкостью 50, 100 мл.

Пробирки мерные на шлифах, ГОСТ 1770-74, вместимостью 5 и 10 мл.

Аппарат для встряхивания, ТУ 25-11-917-79.

Колба Бунзена, ГОСТ 25336-82.

Воронка Бюхнера, ГОСТ 9147-80.

Делительная воронка, ГОСТ 25336-82, емкостью 500 мл.

Колбы конические, ГОСТ 25336-82, емкостью 500 мл.

Пипетки, ГОСТ 20292-74, на 0,1; 0,2; 1; 5; 10 мл.

Микрошприц на 10 мкл, МШ-10, ТУ SE-2833.024.

Секундомер СД Спр.1.2000, ГОСТ 5072-79.

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Отбор проб

Отбор, хранение и доставка проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколи-

честв пестицидов", утвержденных Минздравом СССР № 2057-79 от 21.08.79.

2.4.2. Подготовка колонки для ГЖХ

Колонку заполняют стандартной фазой (5% SE-30 на хроматоне N-AW-DMCS), подключив ее к вакууму водоструйного насоса. Заполненную колонку кондиционируют в термостате колонок в течение 6 часов без подключения к детектору, продувая азотом (≈ 60 мл/мин) и постепенно поднимая температуру от 100°C до 250°C . Затем колонку присоединяют к детектору.

2.4.3. Приготовление камеры для хроматографирования

На дно эксикатора помещают чашку Петри с 3-5 г KMnO_4 и добавляют туда 8-10 мл концентрированной HCl . Через 3-4 мин камера готова для проведения хлорирования.

2.5. Описание определения

2.5.1. Экстракция, очистка и получение ацильного производного феноксикарба:

Почва. 1.50 г анализируемой пробы помещают в плоскодонную колбу емкостью 500 мл, заливают 100 мл ацетона и 5-10 мл воды. Смесь перемешивают на аппарате для встряхивания в течение 1 час, фильтруют на воронке Бюхнера с фильтром "синяя лента". Фильтрат сушат безводным сульфатом натрия и упаривают в вакууме водоструйного насоса досуха. К сухому остатку прибавляют 2 мл смеси ацетон:бензол (3:1) и 0,1 г угля марки ОУ-"А", встряхивают в течение 3-5 мин. Фильтрат упаривают в вакууме водоструйного насоса при температуре водяной бани -50°C досуха. К сухому остатку прибавляют 100 мкл трифторуксусного ангидрида, 20 мкл пиридина. Выдерживают реакционную смесь в течение ~ 40 мин, затем к ней прибавляют 1 мл бензола и 5 мл дистиллированной воды, встряхивают в течении ~ 2 -х мин. После разделения фаз проводят хроматографический анализ бензольного верхнего слоя.

II. 50 г анализируемой пробы помещают в плоскодонную колбу емкостью 500 мл, заливают 100 мл хлороформа и 15-20 мл воды. Смесь перемешивают на аппарате для встряхивания в течение ~ 1 час., после чего фильтруют на воронке Бюхнера. Фильтрат разделяют в делительной воронке. Нижний слой хлороформа сушат безводным сульфатом натрия и упаривают в вакууме водоструйного насоса досуха при температуре бани 60⁰С. Далее как 1 вариант.

Растительный материал. Вариант I, 25 г измельченных плодов помещают в плоскодонную колбу емкостью 500 мл, заливают 100 мл ацетона и 10 мл воды. Смесь перемешивают на аппарате для встряхивания в течение 1 часа, затем фильтруют на воронке Бюхнера с бумажным фильтром "синяя лента". Фильтрат сушат безводным сульфатом натрия и затем упаривают в вакууме водоструйного насоса досуха. К сухому остатку прибавляют 2 мл смеси ацетон-бензол (3:1) и 0,1 г активированного угля марки ОУ-"А", встряхивают в течение 3-5 мин. Фильтруют через бумажный фильтр, тщательно промывая 30 мл смеси ацетон-бензол (3:1). Фильтрат упаривают в вакууме водоструйного насоса при температуре водяной бани 50⁰С досуха. К сухому остатку прибавляют 100 мкл трифторуксусного ангидрида, 20 мкл пиридина сухого. Реакционную смесь выдерживают в течение ~ 40 мин, затем к ней прибавляют 1 мл бензола и 5 мл дистиллированной воды, встряхивают в течение 2-х минут. После разделения фаз проводят хроматографический анализ бензольного верхнего слоя.

II вариант аналогично подготовке анализируемого образца почвы.

Вода. 200 мл анализируемой пробы воды помещают в плоскодонную колбу емкостью 500 мл, заливают 100 мл хлороформа. Смесь перемешивают на аппарате для встряхивания в течении ~ 1 часа, затем отделяют в делительной воронке нижний слой хлороформа. Его сушат безводным сульфатом натрия и упаривают в вакууме водоструйного насоса досуха при температуре бани 60⁰С. К сухому остатку прибавляют 100 мкл трифторуксусного ангидрида, 20 мкл

пиридина. Реакционную смесь выдерживают в течение ~ 40 минут, затем к н прибавляют 10 мл бензола и 5 мл дистиллированной воды, встряхивают в течение ~ 2-х мин. После разделения фаз проводят хроматографический анализ верхнего бензольного слоя.

2.5.2. Хроматографический анализ

Газовый хроматограф серии "Цвет" с ДПР

Колонка хроматографическая стеклянная 1 м с внутренним диаметром 3,5 мм

Неподвижная фаза 5% SE-30 на хроматоне N-AW-DMCS.

Температура колонки - 220°C

Температура испарителя - 250°C

Температура детектора - 270°C

Газ-носитель - азот с расходом 65-70 мл/мин

Вводимый объем - 3 мкл

Шкала множителя - $20 \cdot 10^{12}$

Скорость диаграммной ленты 600 мм/час

Время удерживания 2,20 мин

Количественную оценку проводят методом *соотношения*

со стандартом феноксикарба, из которого получено ацильное производное, по схеме, указанной для рабочих проб.

Расчет результатов анализа проводят по формуле:

$$X = \frac{C \cdot H_2 \cdot V_1 \cdot V_3}{H_1 \cdot V_2 \cdot P} \text{ , где}$$

X-содержание феноксикарба в анализируемой пробе, мг/кг, мг/л;

C-концентрация стандартного раствора для ГЖХ, вводимого в хроматограф, мкг/мл;

H_1 -высота пика стандартного раствора, мм;

H_2 -высота пика пробы, мм;

V_1 -объем анализируемого экстракта пробы, мл;

V_2 —объем стандартного ацилированного раствора, введенного в хроматограф, мкл;

V_3 —объем ацилированной пробы, введенный в хроматограф, мкл;

P—навеска анализируемой пробы, г.

2.5.3. Метод тонкослойной хроматографии

Пробу сконцентрированную до 0,5 мл количественно переносят на пластинку "Силуфол". Параллельно наносят серию стандартных растворов с содержанием 0,3; 0,5; 1,0 мкг действующего вещества феноксикарба. Хроматографируют в системе растворителей гексан: этилацетат : уксусная кислота (66:35:1). После высушивания пластинку помещают на 1-2 с в камеру с хлором. Затем пластинку вынимают из камеры и оставляют на воздухе до исчезновения запаха хлора. После обработки пластинки 1%-ным раствором о-толидина в ацетоне феноксикарб проявляется в виде голубых пятен на белом фоне, при нагревании пластинки в сушильном шкафу при 60-80°C в течение 20 мин цвет пятен изменяется. Феноксикарб проявляется в виде коричневых пятен на горчичном фоне. $R_f = 0,42 \pm 0,04$.

Содержание инсектара в исследуемой пробе вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A}{P}, \text{ мкг/кг (мг/л)}, \text{ где}$$

A—количество препарата, найденное на хроматограмме при сравнении со стандартом, мкг;

P—навеска пробы в мл.

3. Техника безопасности

Соблюдать все необходимые требования безопасности при работе в химических лабораториях, а также правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемиологического режима и личной гигиены при работе в лабораториях, отделениях, отделах санитарно-эпидемиологических учреждений систем МЗ СССР № 2455-81 от 20.10.81.