

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

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 по болезням растений и сорнякам

Москва- 1987 г.

Настоящие методические указания пред назначены для санитарно-эпидемиологических станций и научно-исследовательских учреждений Минздрава СССР, а также ветеринарных, агрономических, колхозально-химикологических лабораторий Госагропрома СССР и лабораторий других Министерств и ведомств, занимающихся определением остаточных количеств пестицидов и биопрепаратов в продуктах питания, кормах и вспомогательной среде.

Срок действия временных методических указаний устанавливается до утверждения гигиенических нормативов.

Методические указания одобрены 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.Калашник (зам. председателя),
М.А.Кищенко (председатель), Г.И.Изроткова, В.Е.Кривачук,
Г.А.Хохолькова, А.М.Шмитгудина.

У Т В Е Р И Д А Ъ

Заместитель Главного Государственного санитарного врача СССР
А.И. Зайченко

"31" июля 1984 г.
№ 3064-84

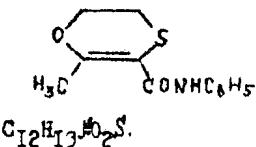
ВРЕМЕННЫЕ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ВИТАВАКСА В
ЗЕРНЕ И ВОДЕ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

I. Краткая характеристика пестицида.

Витавакс/карбоксин/ - 3-метил-2-фенилкарбамоил-5,6-дигидро-1,4-оксатин представляет собой белое кристаллическое вещество с т.пл. 91,5-92,5°C.

Растворимость в воде - 0,17 г в 100 г. Хорошо растворяется в хлороформе, ацетоне, бензоле, метаноле и этаноле.



Молекулярная масса: 235,3

ЛД₅₀ для мышей и крыс 3200 мг/кг.

ПДК в воздухе рабочей зоны I мг/м³, в продуктах питания - не допускается.

Используется для проправки сеяней зерновых культур в борьбе с пыльной головней. Эффективен также против ржавчинных грибов на различных культурах.

Выпускается в форме 75%-ного с.п.

При окислении его перекисью водорода получается пантвако / I /.

В растениях/в течение 6 недель/ витавакс подвергается окисление, образуя, в основном, сульфоксид /5,6-дигидро-2-метил-1,4-оксатин-3-карбоксанилид-4-оксид/ и в небольших количествах сульфон /5,6-дигидро-2-метил-1,4-оксатин-3-карбоксанилид-4,4-диоксид/. В воде при pH 2 и 4 через несколько недель обнаружены витавакс, сульфоксид и в незначительных количествах сульфон. В почве окисление витавакса до сульфоксида полностью завершается за 2 недели.

Окисление витавакса до сульфоксида наблюдается в растворах некоторых органических растворителей /2/.

2. Методика определения витавакса в зерне и воде.

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Вариант 1. Суммарное определение витавакса и его метаболитов.

Метод определения витавакса и его метаболитов основан на их экстракции органическим растворителем, окислении витавакса перманганатом калия до сульфоксида, очистке экстракта, перезэкстракции в органический растворитель и дальнейшем определении в тонком слое адсорбента /«Силуфол», силикагель/.

В качестве подвижной фазы используют смесь хлороформа и эфира в соотношении 5:2.

Обнаружение зон локализации сульфоксида витавакса в тонком слое сорбента основано на его УФ-разложении до аминосоединения, diazotировании нитритом натрия в солянокислой среде и азосочетании полученных солей фенилдиазония с $\text{N-1-нафтилэтилендиамином}$, либо $\text{N-нафтолом, N-нафтиламином}$.

Вариант 2. Определение витавакса.

Метод определения витавакса основан на экстракции его из ана-

лизируемой пробы органическим растворителем, очистке экстракта перерапределением пестицида в системе: органический растворитель - вода - органический растворитель с последующим определением в тонком слое силикагеля ИСК-2,5 или силуфола.

Подвижная фаза - смесь н-гексана и ацетона в соотношении 3:2 или н-гексана и эфира в соотношении 1:1.

Обнаружение зон локализации пестицида производят смесью реагентов: 0,05%-ного раствора бромфенолового синего в 50%-ном этаноле и 1%-ного раствора азотокислого серебра в воде с последующей обработкой пластинок 2%-ным раствором лимонной кислоты.

Продукты окисления витавакса данным реагентом не обнаруживаются.

Возможно обнаружение витавакса по реакции, описанной выше /вариант I. УФ-разложение, диазотирование и азосочетание./

2.1.2. Метрологическая характеристика метода.

Нижний предел обнаружения сульфоконда витавакса с помощью реакции диазотирования и азосочетания - азосоставляющая *М/1*-нафтилэтилендиамин/ - 0,5-1,0 мкг и азосоставляющие *д*-нафтилмин, *д*-нафтол - 1,0-1,5 мкг.

Диапазон определяемых концентраций - 1-30 мкг.

Метрологическая характеристика метода представлена в таблице.

2.2. Реактивы и растворы.

Ацетон, х.ч., ТУ-6-09-3513-74.

н-гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78.

Гипо /кальций сернокислый $\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ / ГОСТ 3210-74. В течение 2 суток прокаливают при 180°C и просеивают через сито 100 мкм.

Калий едкий, ч.д.а., ГОСТ 9286-78.

Калий марганцовокислый, ч.д.а., ГОСТ 20490-75.

Таблица.

Метрологическая характеристика метода.

Наименование анализируемого объекта	Нижний предел обна- ружения, мл/л, мг/кг	Среднее значение ния, %	Стандарт- ное откло- ние, %	Доверительный интервал сред- него, %
Вода				
/I, II вариант/	0,02	88,0	2,6	88,0 ± 3,2
Зерно пшеницы				
/ I вариант /	0,1	85,0	8,0	85,0 ± 8,7
Зерно пшеницы				
/ II вариант /	0,1	83,0	4,0	83,0 ± 6,1

Крахмал водорастворимый, ч., ГОСТ 10163-76

Кислота соляная, ГОСТ 3116-77, отн.пл. I, I8

Натрий сернокислый безводный, ГОСТ 4166-76, х.ч.

Натрий азотистокислый, ГОСТ 4197-75, х.ч.

Спирт этиловый, сертификат 96%-ный, ТУ-6-09-1710-77

Хлороформ, х.ч., ГОСТ 200-15-74

Эфир для наркоза, Госфармаколей СССР.

Пластинки "Силуфол" /ЧССР/

Силикагель для хроматографии, ИСК-2,5, ТУ-6-09-2523-72. Измельчают, просеивают через сито 100 меш.

Приготовление проявляющих реагентов.

№ I.a/ К смеси, состоящей из 46 мл дистиллированной воды и 4 мл концентрированной соляной кислоты, прибавляют 1г азотистокислого натрия.

б/н - /I-нафтилэтилендиамин/ дигидрохлорид, ч. ТУ 6-09-2544-

-72, 1%-ный раствор в этиловом спирте.

в). *д*-нафтиламин, ч.д.а., ГОСТ 8827-74, 1%-ный раствор в этиловом спирте.

г). *д*-нафтол, ч.д.а., ГОСТ 5838-70, 3 г едкого калия растворяют в 50 мл дистилярированной воды, затем прибавляют 0,5 г *д*-нафтола.

Реактивы готовят непосредственно перед проявлением. Расход реактивов 4-5 мл на одну пластиинку.

№2.а). 0,05%-ный раствор бромфенолового синего (ч.д.а., ТУ 6-09-1058-76) в 50%-ном этаноле.

б). 1% водный раствор азотнокислого серебра (ч.д.а., ГОСТ 1277-75). Растворы а) и б) смешивают в соотношении 1:1.

в). 2% водный раствор лимонной кислоты .х.ч., ГОСТ 3652-69.

Растворы хранят в темной посуде в течение месяца.

Стандартный раствор витавакса готовят растворением 10 мг препарата в ацетоне /50 мл/. Раствор содержит 200 мкг/мл. Устойчив при хранении в холодильнике в течение 3-х месяцев.

2.3. Приборы и посуда.

Аппарат для встраивания, ТУ 64-1-1081-73

Баня водяная, ТУ 64-1-2650-76

Воронки химические, диаметр 6 см, ГОСТ 26-13-74

Воронки делительные, емк. 250, 500 мл. ГОСТ 10054-75

Камера для опрыскивания, ТУ 11-430-70

Камера для хроматографирования размером 150x200 мм.

Колбы мерные, емк. 50, 100 мл. ГОСТ 17-762-74.

Ковы круглодонные со штифами, емк. 150, 200 мл. ГОСТ 10-394-72.

Лампа кварцевая ПРК-4 или ПРК-7.

Микропипетка, ГОСТ 1770-74 /для нанесения стандартного раствора/

Пластинки стеклянные размером 90x 120мм.

Пипетки ёмкостью 1, 5, 10 мл, ГОСТ 1770-74.

Прибор для отгонки растворителя, ТУ 25-И-917-76

Пульверизатор стеклянный, ГОСТ 10391-74

Цилиндры мерные, ёмк. 25, 50, 100, 250 мл, ГОСТ 1770-74.

2.4. Подготовка к определению.

2.4.1. Приготовление пластинок.

40 г силикагеля марки "Д" либо НСК-2,5 растирают в фарфоровой ступке с 2 г гипса. Прибавляют воду /90 мл/ небольшими порциями и размешивают до образования однородной массы. На пластинку размером 9 x 12 см наносят 5 г массы, равномерно распределяют ее по поверхности. Сушат пластинки на воздухе в течение суток при комнатной температуре.

2.4.2. Приготовление "свидетеля".

В колбочку вносят 0,025-0,05 мл стандартного раствора витавакса /200 мкг/мл/, что соответствует 5-10 мкг препарата, упаривают в токе теплого воздуха досуха, прибавляют 10 мл 0,1%-ного раствора марганцевокислого калия. Оставляют раствор на 15 мин. Затем прибавляют 10 мл 0,3%-ного раствора соляной кислоты и 5 мл 1 н щавелевой кислоты и ждут до тех пор, пока раствор обесцветится. Экстрагируют хлороформом трижды по 50 мл в течение 3-5 мин. каждый раз. Экстракты объединяют, сушат безводным сернокислым натрием и упаривают до небольшого объема. Сконцентрированную пробу количественно наносят на пластинку.

2.4.3. Отбор проб.

Отбор проб должен проводиться в соответствии с "Унифициро-

ванными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов".

2.5. Проведение определения.

2.5.1. Экстракция.

Вода. 200 мл анализируемой пробы воды помещают в делительную воронку и экстрагируют хлороформом трижды по 50 мл в течение 5 мин. каждый раз. Экстракты объединяют и фильтруют через слой безводного сернокислого натрия и упаривают досуха на ротационном испарителе.

При необходимости определения в воде суммы витавакса и его метаболитов /I вариант/ к сухому остатку прибавляют 10 мл 0,1%-ного раствора марганцевокислого калия и делают дальше так, как описано в приготовлении "Свидетеля".

При определении только метаболитов ^{растворы} марганцевокислого калия и шавелевой кислоты не прибавляют /остальное делают также/.

Для определения только витавакса в воде по II варианту сконцентрированный хлороформенный экстракт /описано выше/ наносят на пластинку, покрытую тонким слоем адсорбента и производят хроматографирование.

Зерно. 50-100 г зерна пшеницы помещают в коническую колбу, прибавляют 60-120 мл хлороформа и экстрагируют 2 часа на аппарате для встраивания. Экстракция повторяют еще раз в течение 30 мин. Экстракты объединяют, сушат безводным сернокислым натрием, фильтруют через бумажный фильтр /синяя лента/ и упаривают досуха на ротационном испарителе.

При определении в зерне суммы витавакса и его метаболитов /I вариант/ к сухому остатку добавляют 10 мл 0,1%-ного раствора

марганцевокислого калия. Оставляют раствор на 15 минут. Затем прибавляют 10 мл 0,3%-ного раствора соляной кислоты и 5 мл 1 н. раствора щавелевой кислоты и ждут до тех пор, пока раствор обесцветится. Прибавляют 20 мл ацетона и ставят в морозильную камеру на 60 мин. Фильтруют раствор через плотный бумажный фильтр /синяя лента/. Экстрагируют хлороформом трижды по 50 мл в течение 3-5 мин. каждый раз. Экстракты объединяют, сушат безводным сернокислым натрием и упаривают до небольшого объема. Сконцентрированную пробу количественно наносят на пластинку.

В случае определения в пробе одних метаболитов в ходе анализа марганцевокислый калий и щавелевую кислоту не прибавляют.

Для определения в зерне витавакса по II варианту к сухому остатку, полученному после упаривания сконцентрированного хлороформенного экстракта, добавляют диэтилированную воду (30-35 мл), тщательно перемешивают стеклянной палочкой и оставляют на 2 часа, периодически перемешивая. Водный экстракт переносят в делительную воронку на 250 мл через бумажный фильтр /синяя лента/. Экстракцию витавакса повторяют еще 2 раза в течение 30 мин. и переносят экстракт в ту же воронку. В воронку прибавляют 0,1 г хлорида натрия, 15 мл хлороформа и встряхивают содержимое в течение 5 мин. Хлороформенный слой отделяют. Экстракцию витавакса из водного раствора повторяют еще три раза. Экстракты объединяют, сушат безводным сернокислым натрием и упаривают на ротационном испарителе до небольшого объема /~0,1 мл/. Остаток наносят на хроматографическую пластинку.

2.5.2. Хроматографирование.

При определении в анализируемых пробах суммы витавакса и его

метаболитов /I вариант/ используют подвижную фазу хлороформ + эфир /5:2/. В качестве "свидетеля" наносят стандартные растворы витавакса, обработанные марганцовокислым калием /как описано выше - приготовления "свидетеля"/. После хроматографирования пластинку сушат и облучают УФ-светом в течение 20 мин. Обнаружение зон локализации сульфоксида витавакса производят путем последовательной обработки пластинки раствором нитрата натрия в солянокислой среде и раствором M_1 -/I-нафтилэтандинамина/ либо L_1 -нафтиламина / M_1 -нафтола/. При наличии витавакса /метаболитов/ появляется пятна фиолетового либо розового цвета соответственно. Величина R_f сульфоксида 0,38 /"силифоль"/ и 0,65 /силикагель/.

При определении витавакса по II варианту в качестве подвижной фазы используют смесь н-гексана и ацетона в соотношении 3:2 или н-гексана и эфира в соотношении 1:1.

В качестве "свидетеля" наносят стандартный раствор витавакса /200 мкг/мл/ в количестве 0,005-0,05 мл, что соответствует 1-10 мкг пестицида. После хроматографирования пластинку сушат и обрабатывают смесь растворов бромфенолового синего в ацетоне и азотнокислого серебра в воде в соотношении 1:1. Для устранения фона пластинку обрабатывают раствором лимонной кислоты. Расход проявляющих реагентов на одну пластинку составляет 4-5 мл. Витавакс проявляется в виде синих пятен на светло-желтом фоне. Величина R_f витавакса - 0,50 /н-гексан + ацетон в соотношении 3:2/ на силикагеле и $0,38$ /н-гексан + эфир в соотношении 1:1/ на "силифоле" и силикагеле соответственно.

Возможно также обнаружение зон локализации витавакса по реакции диазотирования и азосочетания /I вариант/.

2.6. Обработка результатов анализа.

Количественное определение производится путем сравнения интенсивности окраски и размера пятен пробы и стандартных растворов.

Содержание препарата в анализируемой пробе рассчитывает по формуле

$$X = \frac{A \cdot S_2}{P \cdot S_1}$$

где: X - содержание препарата в анализируемой пробе, мг/л, мг/кг.

A - содержание препарата в стандартном растворе, мкг.

S_1 - площадь пятна стандартного раствора, мм^2

S_2 - площадь пятна пробы, мм^2 .

P - объем пробы /или вес/, взятый на анализ, мл /г/.

2.7. Требования техники безопасности.

Соблюдать требования техники безопасности, обычно рекомендуемые для работы с органическими растворителями и УФ-светом.

Методические указания подготовлены канд.хим.наук Н.И.Киваловой, В.А.Тищенко (Всеукраинский научно-исследовательский институт гигиены и токсикологии пестицидов, полимеров и пластических масс, г.Киев), канд.хим.наук В.Н.Кавецким и ст. инженером-химиком Г.В.Фузицк (Украинский научно-исследовательский институт защиты растений, г.Киев).