

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.

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

Принцип метода. х)

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, чх.

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

Ацетон, ч.

Бензол, чда.

Натрий сернокислый безводный, чх, 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);

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

Хальций сернокислый, просушенный при 150° в течение 6 час.

х) 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 16 мг и α - и γ -ГХИГ по 64 мг растворяют в 100 мл гексана;
- рабочие растворы готовят путем разведения основного раствора гексаном в 4 и 8 раз.

Силинагель АСК.

Этиловый спирт, гидролизный, высшей очистки.

Проявляющий реагент:

0,1 г азотнокислого серебра растворяют в 1 мл дистиллированной воды, добавляют 2 мл раствора амиака (уд.вес 0,9) и доводят объем ацетоном до 20 мл.

Гигроскопическая вата, обезжиренная в аппарате Сохслета.

Приборы и посуда.

Сито на 100 меш (диаметр отверстий 0,147 мм).

Ромогенизатор или микрогибмельчитель 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 аксиликатор).

Бульверизаторы стеклянные для опрыскивания пластинок.

Камера для опрыскивания.

Бани водяные.

Колбы с притертными пробками на 250 мл.

Длительные воронки на 100, 250 и 500 мл.

Колбы мерные на 50 и 100 мл.

Пипетки на 5 и 10 мл.

Колбы круглодонные на 150, 250 и 500 мл.

Медицинские шприцы на 1 мл с делениями 0,020-0,025 мл для нанесения проб и стандартных растворов.

Стеклянные хроматографические волонки 400 x 20 мм.

Пластинки для хроматографии. Стеклянную пластинку 9x12 см моют водой с щадящей 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 встраивают с бидистиллированной водой до образования однородной массы. Эта масса должна иметь консистенцию, позволяющую ей свободно растекаться по поверхности стеклянной пластиинки 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 - 100; силикагель: сернокислый кальций: вода = 35:2:90.

10 г сорбционной массы (2 чайных ложки) наливают на пластиинку и равномерно распределяют по всей поверхности. Пластиинки сушат при комнатной температуре 18-20 часов и хранят в эксикаторе.

Описание определенияПодготовка пробы.

200-250 г образца 1-3 раза измельчают на мясорубке, тщательно перемешивают.

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

Экстракция пестицидов и первичная очистка экстрактов.

25 г измельченного образца заливают 50 мл ацетона, тщательно перемешивают и нагревают на горячей водяной бане до растворения растворителя. Колбу охлаждают, добавляют в нее 10 мл сухожденного 2% раствора сернокислого натрия, перемешивают и охлаждают 30 минут в ледяной бане. Затем сливают ацетоновый слой в круглодонную колбу через слой обезжиренной салы. Экстракцию ацетоном с последующим вымогаживанием жира повторяют еще 2 раза. Из объединенных экстрактов отгоняют ацетон на

раторном испарителе или в приборе для отгонки органических растворителей температура бани не более $70\pm2^{\circ}$) и трижды экстрагируют петролейным эфиром: порциями 20 мл, 10 мл и 10 мл. Продолжительность I-й экстракции 1 час, последующих - 15 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 доведают 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 оставшихся).

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

Пестициды элюируют 110 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.

Элюят собирают в круглодонную колбу на 150 мл. Через 10 мин. после стекания последней порции растворителя отжимают сорбент с помощью розовой груши.

Элюят уваривают до объема 0,1 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 (1 г/л).

Хроматография в тонком слое.

Перед нанесением проб хроматографические пластиинки 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 10 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 ^{сами} 0,5 мкг анализ повторяют, как указано выше.

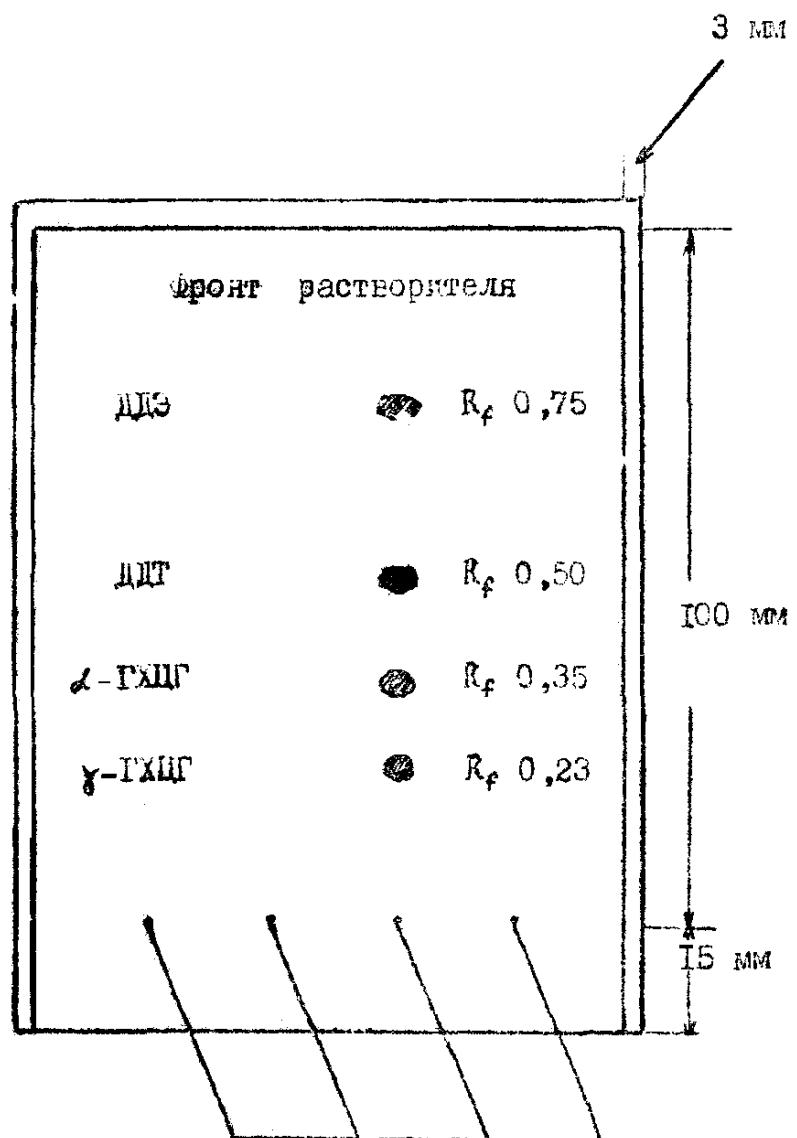
В качестве подвижного растворителя используют 1%-й раствор ацетона в гексане.

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):

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

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