

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

к. 16, р. II

Данные методики апробированы и рекомендованы
в качестве официальных Группой экспертов при Госкомиссии
болезнями растений и сорняками

"УТВЕРЖДАЮ"

Заместитель Главного Государственного
санитарного врача СССР

А.И.ЗАИЧЕНКО

"27" ноября 1984 г.

№3163-84

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по определению остаточных количеств ромуцида в воде, почве и растительном материале (огурцах, пшенице и сахарной свекле) методом тонкослойной хроматографии

I. Краткая характеристика препарата

Синонимы и торговые названия: ромуцид, 20-ний эмульгирующий концентрат

Химически чистый препарат ромуцид представляет собой кристаллическое вещество желтого цвета, имеющее температуру плавления $73-74^{\circ}$ (технический продукт, содержащий не ниже 93% ромуцида, имеет температуру плавления не ниже 63°C).

Ромуцид плохо растворяется в воде, хорошо в этаноле, ацетоне, дioxане, бензоле, ксилоле, толуоле и хлороформе. Устойчив при 20°C и влажности 80% длительное время в герметично закрытой посуде.

Под действием щелочей и сильных кислот гидролизуеться.

Ромуцид малотоксичен - ДД₅₀-4400 (4000-4800) мг/кг на белых мышах перорально.

Препарат предложен как высокоэффективный фунгицид для наземного опрыскивания посевов огурцов, сахарной свеклы и пшеницы против мучнистой росы. Проявляет заметную активность против ржавчины пшеницы. Провыкания микроорганизмов к препарату не зарегистрировано.

2. Методика определения ромуцида в воде, почве и растительном материале

2.1. Основные положения

2.1.2. Принцип метода

Метод основан на экстракции ромуцида из проб органическими растворителями, очистке экстрактов от мешающих веществ оксидом алюминия и определении содержания ромуцида с помощью тонкослойной хроматографии.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода приводится в таблице I.

Таблица I

Метрологические параметры	Анализируемый объект				
	вода	почва	огурцы	пшеница	свекла
Предел обнаружения в пробе, мкг	3	5	5	3	3
Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	0,012-800	0,20-800	0,125-1000	0,15-1500	0,1-1000
Среднее значение определения стандартных кол-в, %	99,4	78,0	82,8	84,7	89,0
Стандартное отклонение	12,40	4,8	11,3	6,20	5,04
Относительное стандартное отклонение, %	12,50	11,3	11,8	7,32	5,66
Доверительный интервал среднего, %	±5,06	±2,14	±5,04	±2,53	±1,78
Количество повторностей, шт.	6	5	5	6	8

2.1.2. Избирательность метода

Определению не мешают препараты коллоидной серы, применяемые, как и ромуцид, против мучнистой росы.

2.2. Реактивы, растворы и материалы

Ромуцид, ч.д.а., ТУ 88 СССР 192.030.83 (п.4.2.3 "Примечание")

Ромуцид, технический, ТУ 88 СССР 192.030.83

Ацетон, ч., ГОСТ 2603-79

n-Гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78

Хлороформ, х.ч., ТУ 6-09-4263-76

Дистиллированная вода

Гидроксид натрия, ч.д.а., ГОСТ 4328-77

Петролейный эфир, х.ч., ГОСТ 11992-66

Бензол, ч.д.а., ГОСТ 5955-75

Оксид алюминия (для хроматографии), ТУ 6-09-3916-75

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

Пропанол-2 (изо-Пропиловый спирт), ч., ТУ 6-09-402-81

Хроматографические пластинки типа "Силуфол" ИУ-254 (ЧССР)

Фильтры бумажные, ТУ 6-09-1706-77

Этанол, ГОСТ 5962-67

Проявляющий реагент: 6%-ный раствор гидроксида натрия в этаноле, 6 г гидроксида натрия растворяют в 5 мл дистиллированной воды и доводят 96% этанолом до 100 мл. Раствор хранят в холодильнике.

Стандартные растворы ромуцида: навески ромуцида 10 и 100 мг растворяют в 100 мл ацетона. Растворы стабильны в течение 2-х недель при хранении в холодильнике в герметично закрытой посуде.

2.3. Приборы, аппаратура и посуда

Весы технические, ГОСТ 19491-74

Весы аналитические, ВАР-200 г, ТУ 25.06.1131-75

Делительные воронки на 1000 мл, ГОСТ 8613-75

Мерные колбы на 100 мл, ГОСТ 1770-74

Конические колбы на 100 и 250 мл с притрифованными пробками

Микрошприц на 10 мл типа МШ-10

Микропипетки, ГОСТ 20292-74

Мерные цилиндры на 25 мл, 50 мл, ГОСТ 1770-74

Кофемолка механическая

Пulьверизатор стеклянный, ГОСТ 19391-65

Сита почвенные, ТУ 46-47885-73

Камера хроматографическая

Эксикатор

Ротационный испаритель ИР-1 М, ТУ 25-11-917-74

Водяная баня, ТУ 46-22-603-75

Вакуумный водоструйный насос, ГОСТ 10696-75

Компрессор мембранный

Воронки Бюхнера, ГОСТ 9147-73

2.4. Подготовка к определению

Хроматографические камеры за два часа до начала хроматографирования заполняют смесью подвижных растворителей для насыщения камеры парами подвижных растворителей. В качестве подвижных растворителей для проб воды, почвы, огурцов и свеклы используют смесь *n*-гексана и ацетона (4:1); для проб пшеницы - сначала петролейный эфир, а затем смесь *n*-гексана и ацетона (4:1). Объем подвижного растворителя в камере должен по высоте находиться не выше, чем 0,7-1 см от уровня дна камеры.

2.5. Отбор проб

Отбор проб проводится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов" (Москва, 1980 г., Б2061-79 от 21.08.79 г.). Отобранные пробы хранить в стеклянной или полиэтиленовой таре в прохладном месте.

2.6. Проведение определения

2.6.1. Экотракция и очистка

2.6.1.1. Вода

Пробу воды 250 мл помещают в делительную воронку на 1000 мл и экотрагируют ромунид 50 мл хлороформа, энергично встряхивая в те-

чение 3-5 минут. Эту операцию повторяют дважды. Объединенный экстракт фильтруют через бумажный фильтр, в воронку которого помещают 4-6 г сульфата натрия безводного и 2-3 г оксида алюминия. Растворитель упаривают на ротационном испарителе до сухого остатка.

2.6.1.2. Почва

25 г воздушно-сухой почвы, растертой и просеянной через сито с размером отверстий 1 мм, помещают в коническую колбу с притрифованной пробкой на 250 мл, прибавляют 50 мл изо-пропанола и помещают на аппарат для встряхивания на 1 час. После отстаивания экстракт сливают в колбу через складчатый бумажный фильтр. Остаток в колбе промывают дважды порциями изо-пропанола по 25 мл, сливая растворитель после отстаивания через складчатый фильтр.

Для очистки фильтрат пропускают через оксид алюминия (8-10 г) и натрий серноокислый безводный (2-3 г), которые помещают в фильтрующую воронку со стеклянным фильтром. Содержимое воронки промывают растворителем два раза по 30 мл. Объединенный экстракт упаривают на ротационном испарителе до сухого остатка.

2.6.1.3. Огурцы

40 г мелко нарезанных огурцов помещают в коническую колбу на 250 мл с притрифованной пробкой и приливают 100 мл хлороформа или бензола. Экстрагирование ромуцида проводят в течение 20-30 минут, периодически перемешивая гомогенат. По истечении времени экстракт очищают, пропуская его через слой молселекта-15 или 25 (12-15) и сульфата натрия безводного (20 г), помещенных в воронку со стеклянным фильтром. Операцию повторяют трижды. Объединенный экстракт упаривают на ротационном испарителе до сухого остатка.

2.6.1.4. Свекла

Пробу 30 г измельченных корнеплодов сахарной свеклы помещают в коническую колбу на 250 мл с притрифованной пробкой и добавляют

100 мл хлороформа. Экстрагирование проводят в течение 30 минут, периодически перемешивая. Экстракт фильтруют через складчатый фильтр, в воронке которого находится 3-5 г сульфата натрия безводного и 2-3 г оксида алюминия. Остаток свеклы промывают двумя порциями растворителя по 30 мл. Объединенный экстракт упаривают до сухого остатка на ротационном испарителе.

2.6.1.5. Пшеница

Пробу измельченного на кофемолке зерна пшеницы в количестве 20 г помещают в коническую колбу на 100 мл с пришлифованной пробкой, прибавляют 50 мл ацетона и экстрагируют 30 минут, постоянно перемешивая гомогенат. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр, содержащий 1-2 г сульфата натрия безводного и 6-8 г оксида алюминия. Остаток промывают двумя порциями ацетона по 40 мл. Объединенный экстракт упаривают на ротационном испарителе. После удаления растворителя в колбе находится остаток вязкой консистенции.

2.6.2. Хроматографирование и проявление ромуцида.

После удаления растворителя остаток растворяют в 0,5 мл ацетона и упаривают до 0,1-0,15 мл током воздуха, количественно наносят на хроматографическую пластинку при помощи микрошприца или микрошпательки. Рядом наносят 3, 5, 7, и 10 мкг ромуцида в ацетоне. После испарения растворителя пластинку помещают в хроматографические камеры с подвижным растворителем. После подъема растворителя на 10 см пластинку вынимают из хроматографической камеры и помещают в вытяжной шкаф на 5-10 минут для удаления следов подвижной фазы.

Проявление ромуцида проводят 6%-ным раствором гидроксида натрия в этаноле, опрыскивая пластинки с помощью стеклянного пульверизатора. Ромуцид проявляется в виде ярко-желтых пятен на белом фоне.

Ввиду того, что пятна после испарения этанола несколько бледнеют, их контуры обводят иглой. Р для проб воды, почвы, огурцов и свеклы составляет $0,35 \pm 0,02$, для проб пшеницы - $0,26 \pm 0,02$.

Оценку содержания ромуцида в пробе проводят путем сравнения размера и интенсивности окраски пятен стандарта с пятнами пробы. При большом содержании препарата в пробе экстракты хроматографируют без упаривания.

2.7. Обработка результатов анализа

Содержание ромуцида в анализируемой пробе рассчитывают по формуле:

$$A = \frac{B \cdot 10^5}{a \cdot C}, \text{ где:}$$

A - содержание ромуцида в пробе, мг/л или мг/кг;

B - количество ромуцида в пробе, найденное сравнением со стандартом, мг;

C - процент определения, найденный предварительно, %

a - объем или вес пробы, мл или г.

3. Требования безопасности

При работе с ромуцидом - беречь глаза от попадания порошка, руки мыть с мылом, а также соблюдать требования безопасности, необходимые при работе с горячими, взрывоопасными, легковоспламеняющимися веществами, едкими щелочами.

4. Разработчики

Клисенко М.А., ВНИИТИНТОКС, г.Киев

Несынов Е.П., ИОХ АН УССР, г.Киев, Мозговая Г.П., Петренко В.С., ИОХ АН УССР.

Метод апробирован в НИИ химических средств защиты растений

(Новикова К.Ф., Алдошина).