

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА СССР
ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ
БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ, БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОРНЯКАМИ

МЕТОДЫ
ОПРЕДЕЛЕНИЯ
МИКРО -
КОЛИЧЕСТВ
ПЕСТИЦИДОВ
В ПРОДУКТАХ
ПИТАНИЯ,
КОРМАХ
И ВНЕШНЕЙ
СРЕДЕ

Справочное
издание

Под редакцией
доктора биологических наук М. А. КЛИСЕНКО



МОСКВА «КОЛОС» 1983

ББК 44

М54

УДК 632.95.028(031)

Члены редколлегии: Л. Г. Александрова, Д. Б. Гиренко, А. А. Калинина, К. Ф. Новикова, Т. М. Петрова, В. Н. Полякова, В. И. Федотова, Г. А. Хохолькова.

Методы определения микроколичеств пестицидов в М 54 продуктах питания, кормах и внешней среде: Справочное издание/М-во сел. хоз-ва СССР. Гос. комис. по хим. средствам борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками; Под ред. М. А. Клисенко. — М.: Колос, 1983. — 304 с., ил.

В справочник включены официально утвержденные Министерством здравоохранения СССР методы определения остаточных количеств хлорорганических, фосфорорганических, симм-триазиновых, ртутьорганических и других групп пестицидов, а также биопрепаратов в продуктах питания, кормах и внешней среде. Для специалистов химических лабораторий.

М $\frac{3802020000-133}{035(01)-83}$ 158—83

ББК 44
632

Утверждаю
Заместитель Главного
государственного санитарного
врача СССР
А. И. Заиченко
28.01.1980 № 2142—80

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ
ХЛОРООРГАНИЧЕСКИХ ПЕСТИЦИДОВ В ВОДЕ, ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ,
КОРМАХ И ТАБАЧНЫХ ИЗДЕЛИЯХ МЕТОДОМ ХРОМАТОГРАФИИ
В ТОНКОМ СЛОЕ ***

Краткая характеристика пестицидов. Свойства пестицидов описаны в таблицах I и II.

Гигиенические регламенты хлорорганических пестицидов приведены в таблицах 12, 13.

* В настоящих методических указаниях обобщены следующие методики определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов в пищевых продуктах:

1) М. А. Клисенко, З. Ф. Юркова (ВНИИГИНТОКС), Л. А. Стемпковская (Киевский НИИ гигиены питания), В. В. Молочников, В. И. Мочалов, А. П. Моргунова (ВНИИМП). Определение ДДТ, ДДЭ, ДДД, альдрина, дильдрина, гептахлора, метоксихлора, эфирсульфоната и других ядохимикатов в воде, продуктах питания и биологических средах хроматографией в тонком слое. Утверждено 30.07.73, № 1112—73;

2) А. Б. Белова, Л. В. Новикова, Н. И. Шадрин (ВНИИ жиров). Определение ДДТ, ГХЦГ, альдрина и гексахлорбензола в обогащенных и необогащенных липидами хлопковых шротах. Утверждено 30.07.73, № 1112—73;

3) Э. И. Бабкина, Ц. И. Бобовникова, В. В. Егоров, Г. В. Миронюк. Методические указания по контролю загрязнения почв. Утверждено 12.10.77, № 1766.

4) А. И. Шумкова, И. Н. Карпова, С. А. Ликунова, Л. Д. Рузанкова (ВНИИМП), Н. В. Перетолчин, Г. П. Угрюмова

2* 11. Физико-химические свойства пестицидов

Пестицид	Химическое название	Эмпирическая формула	Молекулярная масса	Температура, °С		Растворимость в воде, мг/л	Органические растворители, в которых растворяется пестицид
				плавления	кипения, мм рт. ст.		
Альдрин	1, 2, 3, 4, 10, 10-гексахлор-1, 4-эндо-5, 8-экзо-диметилен-1, 4, 4а, 5, 8, 8а-гексагидронафталин	$C_{12}H_8Cl_6$	364,92	104—105		Н. р.	Гексан, бензол, ацетон, спирты и др.
Гептахлор	1, 4, 5, 6, 7, 8-гептахлор-4, 7-эндо-метилен-3а, 4, 7, 7а-тетрагидроинден	$C_{10}H_8Cl_7$	373,5	95—96	117—196 (0,05)	Н. р.	Циклогексан, ксилол, четыреххлористый углерод, керосин, бензол
Дактал	Диметилтетрахлортерефталат	$C_{10}H_6O_4Cl_4$	332,0	156		Н. р.	Ацетон, гексан, бензол, хлороформ
Кельтан (хлорэтанол)	4, 4'-дихлордифенилтрихлорметилкарбинол	$C_{14}H_9OCl_5$	370,5	78,5—79,5	225	Н. р.	Толуол, хлороформ, серный эфир, гексан, бензол, спирты
Метоксихлор	4, 4'-диметоксидифенилтрихлорметилметан	$C_{16}H_{15}O_2Cl_3$	345,65	70—85		Тр. р.	Ацетон, четыреххлористый углерод, хлороформ, бензол и др.
Тедион	4-хлорфенил-2, 4, 5-трихлорфенилсульфон	$C_{12}H_6O_2Cl_4S$	356,07	146—147		0,02 (56)	Бензол, ксилол, толуол, хлороформ
Эфирсульфонат	4-хлорфенил-4-хлорбензолсульфонат	$C_{12}H_8O_3Cl_2S$	303,06	86,5		Н. р.	Ацетон, дихлорэтан, ксилол, циклогексан, четыреххлористый углерод

35 Примечание. Н. р. — нерастворимы, Тр. р. — труднорастворимы.

12. Предельно допустимые остаточные количества пестицидов в пищевых продуктах и методы их определения

Препарат	Пищевые продукты	ПДК, мг/кг или мг/л	Метод определения
Альдрин Гамма-изомер ГХЦГ (линдан)	Все пищевые продукты	Не допускается	ГЖХ
	Картофель, горох, зерновые	0,5	ТСХ
	Масло сливочное	0,2	ТСХ
	Жир	0,2	ТСХ
	Рыба	0,2	ТСХ
Гексахлоран (сум- ма изомеров)	Молоко, молочные продукты, мя- со (мышечная ткань), яйца, сахар	0,005	ГЖХ
	Картофель и овощи	0,5	ТСХ
	Зерновые	0,2	ТСХ
	Масло сливочное	0,2	ТСХ
	Рыба	0,2	ТСХ
Гептахлор ДДТ и его метаболиты (применять в се- льском хозяйст- ве запрещено)	Молоко, молочные продукты, мясо, яйца, сахар	0,005	ГЖХ
	Все пищевые продукты	Не допускается	ГЖХ
	Фрукты, овощи, картофель	0,1	ТСХ
	Рыба	0,2 (временно) вместе с ПХБ	ТСХ
	Рыбные консервы	0,2 (временно)	ТСХ
	Зерновые	0,02	ТСХ
	Молоко, молочные продукты детского и диетического пита- ния	0,005 (вре- менно)	ГЖХ
	Мясо, яйца, ягоды, сахар	0,005 (вре- менно)	ГЖХ
	Продукты переработки молока (творог, сметана, сливки, масло)	1,25 (в перес- чете на жир)	ТСХ
	Табак и табачные изделия	0,7	ТСХ

(ВНИИПП). Определение хлорорганических пестицидов в животных жи-
рах, мясе, яйцах и продуктах их переработки хроматографией в тонком
слое. Утверждено 23.01.75, № 1222—75;

5) Л. В. Васьковская, А. Л. Бурштейн (ВНИИГИНТОКС). Ме-
тоды определения ДДТ, его метаболитов и ГХЦГ в табачных изделиях спо-
собом хроматографии в тонком слое. Утверждено 22.09.75, № 1350—75;

6) В. Н. Полякова, Г. А. Трондина, Р. Д. Петухов (ВИЭВ).
Определение ДДТ, ДДД, ДДЭ и гамма-изомера ГХЦГ в мясе, рыбе, ор-
ганах и тканях животных, комбикормах, меде и воде методом тонкослойной
хроматографии.

С введением в действие настоящих методических указаний считать
утратившими силу «Методы определения гептахлора в растениях методом

13. Предельно допустимые остаточные количества (ДОК) пестицидов в кормах для сельскохозяйственных животных*, мг/кг

Пестицид	Молочный скот, яйценоская птица	Откормочные животные и птица
Альдрин (дильдрин)	Не допускается	Не допускается
ГХЦГ (сумма изомеров)	0,05	0,2
Гептахлор (эпоксид, гептахлор)	Не допускается	Не допускается
ДДТ (сумма изомеров и метаболитов)	0,05	0,05
Полихлоркамфен	Не допускается	0,25
Полихлорпинен	Не допускается	0,25

* Утверждено Главным государственным ветеринарным инспектором СССР А. Д. Третьяковым, 1977 г., согласовано с заместителем Главного государственного санитарного врача СССР А. И. Заиченко 31. 03. 1977 г.

Предельно допустимые остаточные количества пестицидов в почве, утвержденные заместителем Главного государственного санитарного врача СССР 12.12.1973 г. за № 1134—73 и 11.8.1976 г. за № 1496—76, следующие, мг/кг:

ДДТ0,1
Гексахлоран0,1
Гамма-изомер ГХЦГ0,1
Полихлорпинен0,5
Полихлоркамфен0,5

Методика определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов тонкослойной хроматографией. Основные положения. Настоящие методические указания распространяются на определение содержания ДДТ, ДДЭ, ДДД, гексахлорана, альдрина, кельтана, гептахлора, метоксихлора, дактала, тедиона и эфирсульфоната в воде, почве, вине, овощах, фруктах, грибах, зерне, комбикормах, корнеклубнеплодах и зеленых кормах, рыбе, мясе, мясопродуктах, внутренних органах, молоке и молочных продуктах, животном жире, сливочном и растительных маслах, жмыхах, шротах, лузге, меде, сахаре, яйцах и яйцепродуктах, а также в табачных изделиях. Принцип метода. Метод основан на хроматографии хлорсодержащих пестицидов в тонком слое окиси алюминия, силикагеля или пластинок «Силуфол» в различных системах подвижных растворителей после экстракции их из исследуемых образцов и очистке экстрактов. Подвижным растворителем служит гексан или гексан в смеси с ацетоном. Места локализации препаратов обнаруживаются после опрыскивания пластинок раствором аммиака серебра с последующим ультрафиолетовым облучением или после облучения ультрафиолетовым светом пластинок «Силуфол», содержащих о-толидин.

Метрологическая характеристика метода приведена в таблице 14.

тонкослойной хроматографии» и «Метод определения ДДТ, ГХЦГ, альдрина и гексахлорбензола в хлопковых шротах, обогащенных и не обогащенных липидами», утвержденные заместителем Главного санитарного врача СССР в 1971 г., а также «Методическое письмо об определении ДДТ, гамма-ГХЦГ, ДДД, альдрина, гептахлора и некоторых других хлорорганических пестицидов в воде, продуктах питания и биологических средах методом хроматографии в тонком слое», утвержденное заместителем Главного санитарного врача СССР в 1968 г.

14. Метрологическая характеристика метода определения хлорорганических пестицидов

Анализируемая проба	Предел обнаружения, мг/л или мг/кг	Число параллельных определений n	Размах варьирования $R, \%$	Среднее значение степени определения $\bar{c}, \%$	Стандартное отклонение $S, \%$	Относительное стандартное отклонение $Sr, \%$	Доверительный интервал при $n = 5$ и $\alpha = 0,95, \%$
Вода	0,005	7	20	93	10	10,7	$93,0 \pm 7,7$
Вино	0,005	7	25	90	12	13,3	$90,0 \pm 9,0$
Овощи	0,050	7	20	83	12	14,4	$83,0 \pm 9,0$
Фрукты	0,050	6	20	81	9	11,1	$81,0 \pm 7,4$
Зерно	0,050	7	25	75	10	13,3	$75,0 \pm 7,5$
Трава	0,025	10	30	74	12	16,2	$74,0 \pm 7,6$
Рыба	0,050	10	24	83	12	14,4	$83,0 \pm 7,6$
Мясо	0,050	10	30	87	15	17,2	$87,0 \pm 9,5$
Животный жир	0,040	6	26	82	12	14,6	$82,0 \pm 9,9$
Молоко, сливки, творог	0,040	13	30	86	16	18,6	$86,0 \pm 8,9$
Сливочное масло	0,050	8	30	83	17	20,0	$83,0 \pm 12,0$
Сахар	0,020	6	6	97	5	5,1	$97,0 \pm 4,13$

Примечание. Диапазон определяемых концентраций 0,005 — 2,0 мг/кг или мг/л.

Реактивы и растворы. Ацетон х.ч. Аммиак водный х.ч. Алюминия окись II степени активности для хроматографии (А) ч. Просеивают через сито 100 меш. Алюминия окись, пропитанная серной кислотой (Б). Две весовые части окиси алюминия (или окиси кремния) помещают в фарфоровую ступку, заливают одной объемной частью серной кислоты и тщательно перемешивают. Смесь готовят непосредственно перед подготовкой колонок для очистки экстрактов из проб шротов, жмыха, лузги. Бензол х.ч. Гексан ч. Калий щавелевокислый ч.д.а. Кальций сернокислый ч.д.а. Просушивают 6 ч в сушильном шкафу при 160°C. Просеивают через сито 100 меш. Кремния окись для люминофоров ч. Натрий сернокислый безводный, ч. Натрий углекислый кислый, х.ч. Натрий хлористый х.ч., насыщенный раствор. Петролейный эфир (т. кип. 40—70°C). Перекись водорода х.ч. (30%-ный водный раствор).

Проявляющий реактив № 1: 0,5 г азотнокислого серебра растворяют в 5 мл дистиллированной воды, прибавляют 7 мл аммиака и доводят объем раствора до 100 мл ацетоном; в готовый раствор добавляют 0,2 мл перекиси водорода. Раствор следует хранить в колбе с притертой пробкой в темном месте в течение 3 дней. На пластинку 9×12 см расходуется 8—10 мл раствора. Проявляющий реактив № 2: 0,5 г азотнокислого серебра растворяют в 5 мл дистиллированной воды, добавляют 10 мл 2-феноксизтанола и доводят объем раствора до 200 мл ацетоном, затем добавляют 6 капель 30%-ной перекиси водорода.

Серебро азотнокислое ч. д. а. Серная кислота ч. Силикагель АСК (Воскресенского химкомбината). Силикагель КСК, просеянный через сито 100 меш.

Стандартные образцы: ДДТ, ДДД, ДДЭ, альдрин, изомеры ГХЦГ, гепта-хлор, метоксихлор, кельтан, эфирсульфонат, дактал, тедион х.ч. Стандартные растворы: 10 мг соответствующего пестицида растворяют в мерной колбе на 100 мл в гексане и доводят до метки этим растворителем. Стандартные растворы необходимо хранить в стеклянной посуде с притертыми пробками в холодильнике.

Стеклянная вата, очищенная концентрированной серной кислотой, промытая дистиллированной водой и высушенная. о-Толидин ч., 1%-ный раствор в аце-

тоне. 2-феноксиэтанол. Этиловый спирт-ректификат. Хлороформ х.ч. Четыреххлористый углерод х.ч. Диэтиловый эфир (для наркоза). Натрий серноокислый, 2%-ный водный раствор. Натрий серноокислый, насыщенный раствор.

Приборы и посуда. Баня водяная. Вакуумно-ротационный испаритель или прибор для отгонки растворителей. Воронки химические диаметром 6 см. Воронки делительные на 100, 250, 500 мл. Гомогенизатор или измельчитель тканей. Камера для опрыскивания. Камеры для хроматографирования размером 150×200, 105×165 мм. Колбы мерные на 50 и 100 мл. Колбы на шлифах емкостью 100, 250 и 500 мл. Колбы круглодонные на шлифах емкостью 150, 250 и 500 мл. Микропипетки (для нанесения стандартных растворов). Пипетки или шприцы для нанесения проб. Пипетки на 1, 5 и 10 мл. Прибор для встряхивания. Пластинки стеклянные 9×12, 13×18 см. Пульверизаторы стеклянные для опрыскивания пластинок. Сито на 100 меш (диаметр отверстий 0,147 мм). Стеклянные хроматографические колонки (диаметр×высота, мм) 20×400, 15×150. Ртутно-кварцевая лампа ПРК-4. Цилиндры мерные на 25, 50, 100, 250 и 500 мл. Чашки выпарительные № 3 и № 4.

Подготовка к определению. Приготовление пластинок для хроматографирования. Тщательно промытую хромовой смесью, содой, дистиллированной водой и высушенную пластинку протирают этиловым спиртом или эфиром и покрывают сорбционной массой. Массу готовят следующим образом: а) 50 г просеянной через сито 100 меш окиси алюминия смешивают в фарфоровой ступке с 5 г серноокислого кальция, прибавляют 75 мл дистиллированной воды и перемешивают в ступке или колбе до образования однородной массы. На пластинку 9×12 см наносят 10 г сорбционной массы (на пластинку 13×18 см — 20 г) и, покачивая, равномерно распределяют по всей пластинке. Пластинки сушат при комнатной температуре 18—20 ч, можно сушить 20 мин при комнатной температуре, а затем 45 мин в сушильном шкафу при температуре 110°C; б) 35 г силикагеля КСК, просеянного через сито 100 меш, смешивают с 2 г серноокислого кальция и 90 мл дистиллированной воды и перемешивают в ступке или колбе до однородной массы. Наносят на пластинки и сушат, как указано выше. Порция рассчитана на 10 пластинок.

Если пластинки с тонким слоем силикагеля темнеют после облучения ультрафиолетовым светом, силикагель перед употреблением следует очистить от примесей. Для этого силикагель заливают на 18—20 ч разбавленной соляной кислотой (1:1), кислоту сливают, промывают силикагель водой и кипятят в круглодонной колбе 2—3 ч с разбавленной азотной кислотой (1:1), промывают проточной водопроводной, затем дистиллированной водой до нейтральной реакции промывных вод, сушат в сушильном шкафу 4—6 ч при температуре 130°C. Силикагель дробят и просеивают через сито 100 меш.

Пластинки для хроматографии «Силуфол UV₂₅₄» производства ЧССР перед использованием импрегнируют о-толидином. Для этого каждую пластинку погружают в 0,1%-ный раствор о-толидина в ацетоне, налитого в камеру для хроматографирования. После того как фронт растворителя поднимется до верхнего края пластинки, ее вынимают и высушивают на воздухе, избегая прямого солнечного света, — пластинка готова к употреблению. Пластинки, импрегнированные о-толидином, хранят в эксикаторе.

Пластинки «Силуфол UV₂₅₄» производства ЧССР предварительно промывают дистиллированной водой в хроматографической камере, высушивают на воздухе и непосредственно перед использованием активируют в сушильном шкафу при температуре 65°C в течение 4 мин.

Подготовка хроматографических колонок для очистки экстрактов. *Хроматографическая колонка для очистки от молочного жира.* В нижнюю часть хроматографической колонки (размером 20×400 мм) помещают стекловату или 500 мг обезжиренной ваты. Затем засыпают в колонку силикагель АСК (75 мл для очистки экстрактов из проб свиного жира и 70 мл для всех остальных проб) и уплотняют силикагель постукиванием по колонке. Колонку промывают 50 мл гексана или петролейного эфира, прошедший через нее растворитель отбрасывают. После этого колонка готова для хроматографической очистки экстрактов из проб рыбы, мяса и мясопродуктов, молока и молокопродуктов, меда, яиц и т. п.

Хроматографическая колонка для очистки экстрактов из проб шротов (не

обогащенных липидами), жмыхов и лузги. Хроматографическую колонку заполняют на высоту 1 см стеклянной ватой, затем в колонку вносят просеянную окись алюминия (А) слоем 2,5 см или окись кремния слоем 3,5 см, далее засыпают, не утрамбовывая, комочки окиси алюминия (кремния), пропитанные серной кислотой, высота слоя (Б) 2,5 см. Каждый слой последовательно промывают гексаном (всего 30 мл). Для анализа жмыхов и шротов, обогащенных липидами, слой окиси алюминия следует увеличить соответственно до 5 (А) и 3 см (Б), а при использовании окиси кремния — до 6 (А) и 3 см (Б).

Ход анализа. Экстракция и очистка экстракта из воды и вина. Пробу 200 мл помещают в делительную воронку и экстрагируют пестициды, встряхивая в течение 3 мин, гексаном или петролейным эфиром тремя порциями по 30 мл, или диэтиловым эфиром тремя порциями по 50 мл. В объединенные экстракты насыпают 10 г безводного сернокислого натрия или фильтруют через воронку, заполненную на $\frac{2}{3}$ сернокислым натрием. Экстракты переносят в прибор для отгонки растворителей и отгоняют растворитель до объема 0,2—0,3 мл. В случае необходимости экстракт чистят серной кислотой.

Экстракция и очистка экстракта из овощей и фруктов. Измельченную пробу 20 г помещают в колбу с притертой пробкой и проводят экстрагирование пестицидов трижды в течение 15 мин на аппарате для встряхивания гексаном или петролейным эфиром порциями по 30 мл. Объединенные экстракты сушат безводным сернокислым натрием, переносят в прибор для отгонки растворителей, отгоняют растворитель до объема 0,2—0,3 мл и наносят на пластинку.

Экстракция и очистка экстракта из зерна и грибов. Из измельченных проб отбирают 20 г зерна, 50 г сырых или 10 г сухих грибов и помещают в колбы с притертыми пробками. Экстракцию пестицидов проводят трижды на приборе для встряхивания гексаном или петролейным эфиром порциями по 30 мл. Объединенные экстракты переносят в делительную воронку, прибавляют 10 мл насыщенного раствора безводного сернокислого натрия в серной кислоте и осторожно встряхивают несколько раз. Отделяют органический слой и повторяют обработку до тех пор, пока кислота не станет бесцветной. Экстракт промывают дистиллированной водой, сушат безводным сернокислым натрием и отгоняют растворитель.

Экстракция и очистка экстракта из яблок, капусты, травы и сена. Пробы 20 г измельченных яблок, 20 г капусты, 40 г травы и 20 г сена заливают 100 мл ацетона в колбах с притертой пробкой. Встряхивают 2—3 мин, прибавляют 20 мл дистиллированной воды и охлаждают на льду 30 мин. Экстракт сливают и фильтруют холодным, экстракцию повторяют. Из объединенных водно-ацетоновых экстрактов отгоняют ацетон, а из водного остатка экстрагируют препараты гексаном тремя порциями по 10 мл в течение 10 мин. Гексановые экстракты очищают серной кислотой, насыщенной безводным сернокислым натрием. Сушат безводным сернокислым натрием. Отгоняют растворитель до небольшого объема и наносят на пластинку. Если очистка неполная (после испарения растворителя на колбе остается белый налет), экстракт испаряют досуха, остаток смывают холодным ацетоном 3 раза порциями по 0,2 мл и сразу наносят на пластинку.

Экстракция и очистка экстракта из комбикорма. Для исследования берут навеску 40 г, увлажняют ее в колбе 60 мл дистиллированной воды. Увлажненную навеску оставляют на ночь в колбе с закрытой пробкой. Экстракцию пестицидов проводят дважды 50—100 мл смеси гексана и ацетона (1:1) при встряхивании в течение 2 ч. Экстракты объединяют в делительной воронке на 500 мл, прибавляют дважды по 50 мл дистиллированной воды и после разделения слоев нижний водный слой сливают в другую делительную воронку и экстрагируют пестициды 40 мл гексана. Водный слой сливают. Гексановые экстракты объединяют, фильтруют через воронку с бумажным фильтром, заполненным на $\frac{2}{3}$ безводным сернокислым натрием. Экстракты упаривают на ротационном испарителе до объема 20—30 мл или досуха, растворяя затем сухой остаток в 20—30 мл гексана или петролейного эфира. Экстракт переносят в делительную воронку и производят очистку серной кислотой, как описано выше.

Экстракция и очистка экстракта из шрота, лузги

жмыха. Навески шрота, обогащенного липидами, жмыха (15 г), не обогащенного липидами, и лузги (20 г) делят на равные части и помещают в колбы вместимостью 100—250 мл с притертыми пробками, заливают гексаном (три объема гексана на одну весовую часть шрота), встряхивают на приборе для встряхивания 30 мин. Экстракт фильтруют через воронку Бюхнера, не перенося осадок на воронку. В колбу повторно заливают указанное количество гексана, встряхивают 30 мин, фильтруют, количественно переносят осадок на воронку Бюхнера с помощью 30 мл гексана (3 раза по 10 мл). Полученный экстракт выпаривают до 30 мл на ротационном испарителе или в токе воздуха при температуре не выше 40°C, остаток делят на две равные части и помещают в морозильную камеру холодильника на 1 ч (не менее). Каждую часть пропускают через отдельную колонку с окисью алюминия или окисью кремния, пропитанных серной кислотой, со скоростью 2 мл/мин промывают колбу и колонку 50 мл охлажденной смеси этилового эфира с гексаном (15:85). Данную операцию необходимо проводить без перерыва, не оставляя на следующий день.

Очищенные экстракты объединяют и упаривают до объема 1 мл. Остаток из колбы переносят количественно микропипеткой с помощью резиновой груши в пробирку на 1 мл, колбу и микропипетку 2—3 раза промывают небольшим количеством гексана (всего 0,3—0,5 мл), сливая его в ту же пробирку. Затем осторожно выпаривают гексан из пробирки на водяной бане при температуре 50°C почти досуха (конечный объем приблизительно 2—3 капли). Если общий объем экстракта и промывной жидкости превышает 1 мл, то сначала выпаривают экстракт, постепенно прибавляя к нему промывную жидкость. При наличии в упаренном экстракте белого мазеобразного осадка в пробирку добавляют 5—6 капель гексана и помещают ее на 15—20 мин в морозильную камеру холодильника, затем декантируют дважды таким же количеством гексана и снова упаривают до конечного объема 2—3 капли.

Параллельно с исследуемыми образцами готовят два модельных экстракта. Каждый экстракт получают из одного грамма шрота, не содержащего пестицидов (соотношение сухого вещества и пестицида то же, что и в исследуемых образцах). В один из экстрактов перед очисткой на колонке вносят микрошприцем (микропипеткой) определяемые пестициды в количестве 3 мкг, в другой — 0,75 мкг. Упаренные исследуемые и модельные экстракты с помощью микрошприца или микропипетки количественно наносят на пластинку, трижды смывая пробирку небольшим количеством гексана.

Экстракция и очистка экстракта из рыбы, мяса и мясопродуктов. Мясо и мясопродукты пропускают через мясорубку. Рыбу очищают от чешуи, внутренних органов и тоже пропускают через мясорубку. Пробу 20 г перемешивают с безводным сернокислым натрием и помещают в колбу с притертой пробкой. Пестициды экстрагируют дважды смесью гексана и ацетона или петролейного эфира и ацетона в соотношении 1:1 порциями по 50 мл в течение 1,5 ч при встряхивании. Экстракт фильтруют через воронку с бумажным фильтром, заполненным на $\frac{2}{3}$ безводным сернокислым натрием, затем растворитель отгоняют, сухой остаток растворяют в 20 мл гексана и вносят его в колонку с силикагелем АСК. После впитывания экстракта в сорбент пестицид элюируют 110 мл смеси бензола с гексаном в соотношении 3:8 порциями по 25—30 мл. Элюат собирают в круглодонную колбу со шлифом емкостью 250—300 мл. Через 10 мин после впитывания последней порции растворителя сорбент отжимают с помощью груши. Элюат отгоняют до объема 0,1 мл и наносят на хроматографическую пластинку.

В том случае, если пробы мяса или рыбы содержат большое количество жира, после испарения первого экстрагента (смеси ацетона с гексаном) и растворения сухого остатка в гексане следует провести очистку гексанового экстракта серной кислотой, а затем колоночную очистку, как описано выше.

Экстракция и очистка экстракта животного жира, яйца, яичного порошка. Жир измельчают на мясорубке, яичный порошок тщательно перемешивают, в яйце отделяют желток от белка, взвешивают желток и белок, а для анализа берут только желток. Конечный расчет содержания хлорорганических пестицидов в яйце приводят на все яйцо. Желтки тщательно перемешивают. Пробу 25 г из подготовленного образца заливают 50 мл ацетона, перемешивают и нагревают на горячей водяной бане до закипания раствори-

теля. Колбу охлаждают, добавляют в нее 10 мл охлажденного 2%-ного раствора сернокислого натрия, перемешивают и охлаждают 45 мин на 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 ротационном испарителе или в приборе для отгонки растворителей (температура бани не более $70 \pm 2^\circ\text{C}$) и трижды экстрагируют петролейным эфиром порциями 20, 10 и 10 мл. Продолжительность первой экстракции 1 ч, последующих 15 мин. Петролейный эфир переносят в делительную воронку с 40 мл 2%-ного водного раствора сернокислого натрия, перемешивают содержимое в течение 2 мин, дают слоям разделиться и водную фазу отбрасывают. Чтобы улучшить разделение слоев, можно добавить несколько миллилитров насыщенного раствора сернокислого натрия.

Операцию промывки экстракта повторяют еще 2 раза, после чего петролейный эфир сливают в стакан с 20 г безводного сернокислого натрия, ополаскивают делительную воронку дважды 5 мл петролейного эфира. Подсушенный экстракт количественно переносят в мерный цилиндр на 50 мл и доводят объем раствора петролейным эфиром до 30 мл.

Далее наносят 30 мл экстракта в колонку с силикагелем АСК, как указано выше. Для проб свиного жира насыпают 75 мл силикагеля АСК, для всех остальных проб — 70 мл. Очистку экстрактов проводят так же, как описано для проб мяса. Элюат собирают в круглодонную колбу на 150 мл, растворитель упаривают до объема нескольких капель и наносят на хроматографическую пластинку.

Экстракция и очистка экстракта из меда. Пробу меда 30 г смешивают с 3 г безводного сернокислого натрия и трижды экстрагируют пестициды гексаном порциями по 30 мл каждый раз по 15 мин, тщательно растирая мед стеклянной палочкой в узком химическом стакане. Экстракты объединяют и отгоняют гексан до объема 30 мл или до небольшого объема, далее доводят экстракт до 30 мл гексаном. 30 мл экстракта вносят в хроматографическую колонку с силикагелем АСК и проводят очистку экстракта и испарение растворителя так, как описано выше.

Экстракция и очистка экстракта из сахара. Из навески 50 г сахара, предварительно растворенного в воде, пестициды экстрагируют в делительной воронке на 250 мл гексаном. Экстракцию пестицидов проводят трижды по 50, 25 и 25 мл растворителя, каждый раз встряхивая по 5 мин. Объединенные гексановые экстракты очищают от коэкстрактивных веществ (красящие, аминокислоты, липиды) сернокислотным способом.

Экстракция и очистка экстракта из молока и цельномолочных продуктов. Для подготовки проб можно использовать один из приведенных способов. *Первый способ.* Он применим для работы со сливками, сметаной, молоком и другими цельномолочными продуктами. Для анализа берут 20 г сливок и сметаны, которые разводят равным объемом дистиллированной воды, к 50 мл молока, кефира прибавляют концентрированную серную кислоту (30—40 мл) до полного почернения пробы. Охлажденный до $10-15^\circ\text{C}$ раствор переносят в делительную воронку и экстрагируют препараты гексаном 2 раза порциями по 25 мл. Для полного извлечения воронку встряхивают 2 мин, затем оставляют ее на 30 мин до полного разделения слоев. Если образуется эмульсия, прибавляют 1—2 мл этилового спирта. К объединенным экстрактам в делительной воронке прибавляют 10 мл концентрированной серной кислоты, насыщенной сернокислым натрием, и осторожно встряхивают несколько раз. Очистку продолжают до получения бесцветной серной кислоты.

При анализе творога и сыра 50 г творога или 10 г измельченного на терке сыра заливают 40 мл гексана или петролейного эфира, непрерывно встряхивают 2—3 мин и оставляют на 30 мин. Экстракцию повторяют. Объединенные экстракты в делительной воронке очищают серной кислотой, как указано выше.

Второй способ. Его применяют для анализа молока, кефира, простокваши, кумыса и других цельномолочных продуктов. Пробу продукта (25 мл) помещают в делительную воронку на 300 мл, приливают по 5 мл щавелевокислого калия и насыщенного раствора хлористого натрия, перемешивают, приливают

100 мл ацетона, встряхивают 2 мин. Приливают 100 мл хлороформа и встряхивают 2 мин. Воронку оставляют до полного разделения слоев. Верхнюю фазу отбрасывают, а нижнюю выливают в круглодонную колбу со шлифом и испаряют растворитель досуха. Остаток смывают 30 мл гексана.

Экстракция и очистка экстракта из сгущенного молока, 10%- и 20%-ных сливок. К 10 г продукта прибавляют 10 мл насыщенного раствора хлористого натрия и выливают в делительную воронку вместимостью 150 мл. К смеси приливают 40 мл ацетона, встряхивают 2 мин, приливают 60 мл хлороформа, встряхивают 2—3 мин и оставляют до разделения фаз. Далее поступают, как при определении пестицидов в молоке.

Экстракция и очистка экстракта из сгущенных молочных продуктов. Навеску продукта 10 г помещают в стаканчик, заливают 10 мл воды температурой 45—50°C, перемешивают и переносят в делительную воронку на 150 мл, добавляют 5 мл щавелевокислого калия. Содержимое воронки перемешивают, приливают 80 мл ацетона и встряхивают 2—3 мин. Добавляют 100 мл хлороформа и встряхивают 5—7 мин. После разделения фаз нижнюю фазу сливают в круглодонную колбу, растворители отгоняют, а сухой остаток растворяют в 30 мл петролейного эфира.

Экстракция и очистка экстракта из сухих молочных продуктов. Навеску сухих молочных продуктов 3 г (сливок 2 г) высыпают в стаканчик, приливают 15 мл дистиллированной воды температурой 40—45°C, размешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 300 мл, приливают по 5 мл щавелевокислого калия и насыщенного раствора хлористого натрия. Содержимое воронки перемешивают, добавляют 80 мл ацетона и встряхивают 3—5 мин, приливают 100 мл хлороформа, встряхивают 5 мин и оставляют на 3—5 мин (до разделения фаз). Нижнюю фазу сливают в круглодонную колбу, растворитель отгоняют, а остаток смывают 30 мл гексана.

Экстракция и очистка экстракта из сметаны, 30%- и 40%-ных сливок. Навеску продукта 5 г отвешивают в стаканчик, приливают 10 мл насыщенного раствора хлористого натрия и переносят в делительную воронку вместимостью 150 мл. Стаканчик обмывают 40 мл ацетона, смывы переносят в делительную воронку, которую встряхивают 2—3 мин, добавляют 70 мл хлороформа и встряхивают 2 мин. Воронку оставляют на несколько минут до разделения фаз, нижнюю фазу сливают в колбу для отгонки растворителей, растворители отгоняют, а остаток смывают 30 мл гексана.

Экстракция и очистка экстракта из творога и сыра. Навеску 10 г творога или измельченного на терке сыра растирают с 10 мл насыщенного раствора хлористого натрия и переносят в делительную воронку на 250—300 мл. Прибавляют 80 мл ацетона, встряхивают 2 мин, приливают 100 мл хлороформа и вновь встряхивают. Нижнюю фазу используют для анализа после отгонки растворителей, растворив остаток в 30 мл гексана.

Далее проводят очистку экстрактов из проб молока и молочных продуктов от молочного жира, подготовленных по второму способу. Для этого 30 мл экстракта вносят в колонку с 70 мл силикагеля АСК. После впитывания экстракта в сорбент пестицид элюируют 110 мл смеси бензола с гексаном (3:8) порциями по 25—30 мл. Элюат собирают в круглодонную колбу на 250—300 мл. Через 10 мин после впитывания последней порции растворителя сорбент отжимают с помощью резиновой груши. После очистки растворители отгоняют под вакуумом.

Экстракция и очистка экстракта из сливочного масла. Сливочное масло (20 г) растапливают на водяной бане в круглодонной колбе, прибавляют 50 мл ацетона, тщательно перемешивают до растворения жира, прибавляют 10 мл ледяной дистиллированной воды и охлаждают на льду до затвердения жира (примерно 30 мин). Сливают ацетоновый экстракт и процедуру повторяют еще 2 раза. Из объединенных экстрактов в круглодонной колбе ацетон отгоняют на водяной бане. Пестициды экстрагируют из оставшегося водного экстракта гексаном тремя порциями по 10 мл в течение 5 мин. Объединенные гексановые экстракты в делительной воронке обрабатывают серной кислотой с серноокислым натрием. Очищенный экстракт сушат безводным серноокислым натрием и упаривают.

Экстракция и очистка экстракта из почвы. К навеске

воздушно-сухой почвы 10 г, помещенной в коническую колбу на 250 мл, приливают 10 мл 1%-ного водного раствора хлористого аммония и оставляют на сутки закрытой. Затем приливают смесь 30 мл ацетона и 30 мл гексана и встряхивают колбу в течение 1 ч на встряхивающем устройстве. Содержимое колбы переносят в центрифужные пробирки. После центрифугирования жидкую часть сливают в конические колбы, почву с помощью 10 мл 1%-ного раствора хлористого аммония и 30 мл ацетона переносят в исходные конические колбы, добавляют 30 мл гексана и проводят экстракцию еще в течение 30 мин. Затем экстракты объединяют. К объединенным экстрактам в делительной воронке приливают 250 мл дистиллированной воды, осторожно встряхивают в течение 5—7 мин, дают жидкостям расслоиться и нижний водный слой сливают в коническую колбу. Гексановый слой пропускают через безводный сульфат натрия (30—40 г сульфата натрия).

Из водно-ацетонового слоя экстракцию пестицидов проводят еще дважды 15 и 10 мл гексана, который затем сушат через тот же сульфат натрия. Гексановые экстракты объединяют.

Концентрирование экстрактов проводят либо на ротационно-вакуумном испарителе при температуре бани не более 40°C и времени отгонки 9—11 мин, либо из колбочек с Г-образным отводом при температуре водяной бани 72—75°C.

Очистку сконцентрированных гексановых экстрактов из проб почв проводят серной кислотой так, как описано выше для других проб, и испаряют растворитель.

Экстракция и очистка экстракта из табака и табачных изделий. Навеску табака 5 г помещают в стеклянный стакан на 500 мл, заливают 50 мл концентрированной серной кислоты и стеклянной палочкой тщательно размешивают до полного равномерного обугливания пробы. Спустя 10—15 мин в колбу добавляют 25 мл гексана, тщательно размешивают содержимое и прибавляют 25 мл четыреххлористого углерода. Экстракцию пестицидов из пробы проводят в течение 15 мин трижды, после чего экстракт последовательно переносят в делительную воронку для однократной или двукратной дополнительной очистки серной кислотой.

Хроматографирование. На хроматографическую пластинку на расстоянии 1,5 см от ее края шприцем или пипеткой наносят исследуемую пробу в одну точку так, чтобы диаметр пятна не превышал 1 см. Остаток экстракта в колбочке смывают тремя порциями (по 0,2 мл) диэтилового эфира, которые наносят в центр первого пятна. Справа и слева от пробы на расстоянии 2 см наносят стандартные растворы, содержащие 10, 5 и 1 мкг исследуемых препаратов (или другие количества, близкие к определяемым концентрациям препаратов).

Пластинки с нанесенными растворами помещают в камеру для хроматографирования, на дно которой за 30 мин до начала хроматографирования наливают подвижный растворитель. При использовании пластинок с тонким слоем окиси алюминия или силикагеля в качестве подвижного растворителя применяют гексан или смесь гексана с ацетоном (6 : 1) для препаратов, у которых величина R_f в гексане ниже 0,3. При использовании пластинок «Силуфол» подвижный растворитель — 1%-ный раствор ацетона в гексане, а на пластинках «Силуфол», импрегнированных о-толидином, — гексан с диэтиловым эфиром (49 : 1). Край пластинки с нанесенными растворами может быть погружен в подвижный растворитель не более чем на 0,5 см.

После того как фронт растворителя поднимется на 10 см, пластинку вынимают из камеры и оставляют на несколько минут для испарения растворителя. Далее пластинку орошают проявляющим реактивом и подвергают действию ультрафиолетового света в течение 10—15 мин (лампа ПРК-4). Пластинки следует располагать на расстоянии 20 см от источника света. При наличии хлорорганических пестицидов на пластинке появляются пятна серо-черного цвета.

При использовании для анализа пластинок «Силуфол», импрегнированных о-толидином, их непосредственно после хроматографирования подвергают облучению ультрафиолетовым светом в течение нескольких минут. При наличии хлорорганических пестицидов в этом случае проявляются пятна сине-голубого цвета. Величины R_f пестицидов приведены в таблице 15.

15. Величина R_f хлорорганических пестицидов

Пестицид	Подвижный растворитель	Величина R_f	
		на окиси алюминия	на силикагеле
Гексахлорбензол	Гексан	0,90	—
Альдрин	»	0,83	0,68
ДДЭ	»	0,78	0,66
ДДЭ	Гексан + ацетон (6 : 1)	0,87	—
Гептахлор	Гексан	0,76	0,65
o, n'-ДДТ	»	0,67	0,54
n, n'-ДДТ	»	0,61	0,50
n, n'-ДДТ	Гексан + ацетон (6 : 1)	0,75	—
Линдан	Гексан	0,34	0,20
ДДД	»	0,30	0,40
ДДД	Гексан + ацетон (6 : 1)	0,62	—
Метоксихлор	Гексан	0,15	—
»	Гексан + ацетон (6 : 1)	0,60	—
Кельтан	Гексан	0,05	—
»	Гексан + ацетон (6 : 1)	0,40	—
»	Бензол	0,44	—
Тедион	Гексан	0,03	—
»	Гексан + ацетон (6 : 1)	0,55	—
Эфирсульфонат	Гексан	0,00	—
»	Гексан + ацетон (6 : 1)	0,45	—
Дактал	То же (2 : 1)	0,90	—

Обработка результатов анализа. Количественное определение осуществляют сравнением площадей пятен пробы и стандартных растворов. Между количеством препарата в пробе, не превышающим 20 мкг, и площадью его пятна на пластинке существует прямая пропорциональная зависимость. При большем содержании препарата следует использовать пропорциональную часть исследуемого экстракта.

Количество препарата в пробе (X , мг/кг или мг/л) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A_1 S_2}{P S_1},$$

где A_1 — содержание препарата в стандартном растворе, мкг; S_1 — площадь пятна стандартного раствора, мм²; S_2 — площадь пятна пробы, мм²; P — масса или объем исследуемой пробы, г или мл,