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 VIII

Москва - 1977 г.

gost.e-ecolog.ru

С О Д Е Р Ж А Н И Е

ХЛОРОРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

Стр.

Определение остаточных количеств хлорорганических препаратов в присутствии полихлорированных бифенилов в воде методом газо-жидкостной хроматографии с детектором по захвату электронов. I
Авторы: Ф.Р.Мельцер, К.Ф.Новикова

ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

Определение фталофоса, его метаболитов и промежуточных продуктов синтеза (фталамида, оксаметилфталамида и хлорметилфталамида) в биологических субстратах. 9
Авторы: М.А.Клисенко, М.В.Письменная

Хроматографический метод определения фталофоса и фозалона в воде и рыбе и фозалона в растительном материале и мясе. I4
Авторы: Г.А.Троицина, А.Ф.Конехов

Газо-хроматографический метод определения фозалона и мальбекса в биологическом материале теплокровных. 23
Авторы: Д.Б.Гиренко, З. Златев, М.А.Клисенко

Определение фозалона в молоке и тканях животных, траве, свекле, картофеле, комбикорме методом хроматографии в тонком слое. 26
Авторы: Г.А.Таланов, В.В.Лещев, Н.И.Рыженов

Определение фозалона в биологических субстратах с помощью газо-жидкостной хроматографии. 3I
Авторы: Г.А.Таланов, В.В.Лещев, Н.И.Рыженов

Определение хлорофоса и фосфамида в плодах шиповника методом тонкослойной хроматографии. 38
Авторы: Г.И.Крамаренко

Газо-адсорбционный метод определения хлорофоса в молоке, органах и тканях животных и яйцах кур. 42
Авторы: В.Б.Лещев, Г.А.Таланов, Т.А.Аббасов, В.В.Ермаков.

Определение карбофоса в молоке, органах и тканях животных методом тонкослойной хроматографии. 46
Авторы: Е.Г.Даурова, Г.А.Таланов, С.Д.Павлов.

Хроматографический метод определения корала в воде и биосубпродуктах. 50
Автор: Кухтина О.С.

Определение витакс и фосфамида в кормах. 55
Автор: А.Р.Конихов

Хроматографический метод определения в тонком слое сайфоса в растениях гороха, картофеля, томатах и почве. 59
Авторы: Кошатова Ф.И., Петрова Т.М.

ПРОИЗВОДНЫЕ МОЧЕВИНЫ

Газохроматографический метод определения линурона в эфирных маслах и маслосодержащем сырье. 64
Авторы: Тарасов Ю.С., Клисенко М.А., Хилих Л.А.

Хроматографический метод определения малорана в воде. 68
Авторы: М.А.Клисенко, М.Б.Письменная

Хроматографический метод определения линурана в сырье мака масличного. 73
Авторы: И.Б.Букина, Г.П.Пушкина

Определение остаточных количеств тенорана в ягодах земляники и в почве хроматографией в тонком слое. 77
Авторы: Т.С.Борисов, Б.А.Сигаева

ПРОИЗВОДНЫЕ СИМ-ТРИАЗИНОВ

Методы определения остаточных количеств симм-триазинов (симазина, атразина, прометрина, пропазина, карагарда, семерона, мезоранила) в зерне кукурузы, яблоках, винограде, мандаринах, капусте; почве, воде. 80

ПРОИЗВОДНЫЕ АРИЛОКСИАЛКИЛКАРБОНОВЫХ И КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Определение полиэтиленгликолевого эфира 2,4-Д в зерне пшеницы и воде методом газо-жидкостной хроматографии. 94
Авторы: И.И.Пиленкова, А.И.Зорова, А.Д.Фатьянова, В.Д.Чмиль.

Определение бензилового эфира 2,4-Д в зерне пшеницы и воде методом газо-жидкостной хроматографии. 102
Авторы: И.И.Пиленкова, А.И.Зорова, А.Д.Фатьянова, Г.К.Морина, В.Д.Чмиль.

Хроматографические методы определения остаточных количеств γ-(2,4-дихлорфеноксн) масляной кислоты (2,4-ДМ) в воде, растительном материале и продуктах питания. 110
Авторы: В.Д.Чмиль, М.А.Клисенко

Хроматографические методы определения остаточных количеств 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты (2,4-Д) в воде, почве, фураже, продуктах питания растительного и животного происхождения. 118
Авторы: В.Д.Чмиль, Д.И.Чкаников, Н.Н.Павлова, А.М.Макеева

Метод определения остаточных количеств 4-хлор-2 метилфеноксиуксусной кислоты (2М-4Х) в воде, растительном материале и продуктах питания с помощью газо-жидкостной хроматографии. 133
Авторы: В.Д.Чмиль, М.А.Клисенко

Метод определения остаточных количеств трихлорацетата натрия и трихлоруксусной кислоты в воде, почве и растительном материале газо-жидкостной хроматографией. 138
Авторы: Е.Ч.Чмиль, Н.И.Глембицкий.

ПРОЧИЕ ПЕСТИЦИДЫ

Определение роданистого натрия в зерне люпина, в воде, дефолианте, биологическом материале (мышцы, паренхиматозные органы, головной мозг, кровь). 143
Авторы: А.Т.Иванов, Е.А.Павлович

Метод определения остаточных количеств суффикса (карахола) в воде и зерне пшеницы методом газо-жидкостной хроматографии. 149
Авторы: А.Д.Татьянова, О.В.Петрова, В.Д.Чмиль.

Экспрессный метод обнаружения тетраметилдисульфида (ТМТД) в зерне. 154
Авторы: С.Д.Анциферов, А.В.Николаев

Хроматографический и спектрофотометрический метод определения зоокумарина в мышечной ткани, крови животных, в препарате пенукомарине и приманках (кормах). 156
Авторы: В.В.Ермаков, Д.Ф.Траханов, Болоховец М.Ф.

Определение остаточных количеств нитрохлора в капусте и воде методом газо-жидкостной хроматографии с детектором по захвату электронов. 168
Авторы: К.Ф.Новикова, Л.И.Лещинская

Определение дактала в воде, картофеле, почве методом газо-жидкостной хроматографии. 172
Авторы: К.И.Пашкевич, Т.В.Платинина, Е.В.Кириченко.

Хроматографический метод определения препарата 680 в луке, моркови, томатах. 176
Авторы: И.И.Пиленкова, А.Д.Фатьянова, Г.К.Мормна.

Методические рекомендации по определению препарата Депра в воде и растительном материале. 181
Авторы: И.И.Пиленкова, А.Д.Фатьянова.

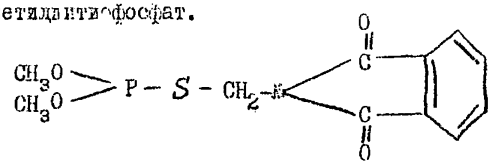
Определение пропоксура и фенеткарба в молоке и мясе методом тонкослойной хроматографии. 185
Авторы: И.А.Антонова.

Определение севина в биологических субстратах методом тонкоолойной хроматографии. 190
Автор: О.А.Малинин

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФТАЛОФОСА И ФОЗАЛОНА В ВОДЕ И РЫБЕ [x] И ФОЗАЛОНА В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ И МЯСЕ [xx]

Краткая характеристика препаратов

Фталофос (имидан, пролат, ИМП, сафадон, фосмет) -О.О-диметил-*S*-фталимидометилдитиофосфат.



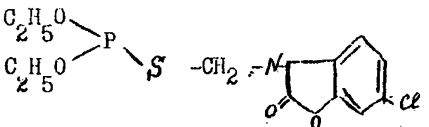
мол.вес 317,32

Химически чистый препарат- белое кристаллическое вещество с температурой плавления 72-72,7°.

Плохо растворим в воде (25 мг/л при 25°). Хорошо растворим в ацетоне, хлороформе, бензоле, ксилоле и др. органических растворителях. Хуже растворим в петролейном эфире.

В кислой среде фталофос устойчив к гидролизу, в щелочной - гидролизуется достаточно быстро.

Фозалон (золон, бензофосфат, рубитокс) -0,0-диэтил - *S* - (6-хлорбензоксазолинил - 3- метил) - дитиофосфат.



мол.вес 367,82

x) Г.А.Трофимина, xx) А.Ф.Конюхов (Всесоюзный ордена Ленина институт экспериментальной ветеринарии, г.Москва).

Утвержден 20 декабря 1976 г., № 1544-76.

В чистом виде представляет собой белые кристаллы с чесночным запахом и температурой плавления 45–47°. Плохо растворим в воде (10 мг/л), хорошо растворим в метаноле, этаноле, ацетоне, хлороформе, бензоле, толуоле. Мало летуч. Препарат относительно устойчив в кислой среде, а в щелочной быстро гидролизуется.

Фталофос и фозалон являются перспективными заменителями ДДТ и других персистентных хлорорганических пестицидов.

Принцип метода.

Метод основан на извлечении препаратов из пробы органическим растворителем, очистке экстрактов из исследуемых объектов с помощью колоночной хроматографии и перераспределения в несмешивающихся растворителях, концентрировании экстрактов и хроматографическом определении фталофоса и фозалона на тонком слое сорбента. Обнаружение препаратов на хроматограмме проводят после обработки пластинок бромфеноловым проявляющим реактивом с последующим обесцвечиванием фона раствором лимонной или уксусной кислоты. Обнаружение фозалона проводят также по хлораминфенолу, образующемуся после щелочного гидролиза препарата, путем опрыскивания хроматограммы растворами 4-аминоантипирина и феррицианида калия.

Чувствительность определения пестицидов 0,5–3,0 мкг в пробе. Процент определения составляет 85 ± 9.

Реактивы и растворы:

Н-гексан, х.ч.

Хлороформ, х.ч.

Ацетон, х.ч.

Силикагель КСК или АСК

Бензол, х.ч.

Крахмал

Гипс

Проявляющие реактивы и стандартные растворы пестицидов:

Бромфеноловый реактив (0,05 г бромфенолового синего растворяют в 10 мл ацетона и доводят до 100 мл 1%-ным раствором азотно-кислого серебра в водном ацетоне (ацетон – вода 3:1).

Лимонная кислота, 1%-ный раствор

Уксусная кислота, 10%-ный раствор

4-аминоантипирин, 2%-ный раствор

Феррицианид калия, 10%-ный раствор

Едкий натр, 5%-ный раствор

Стандартные растворы фталофоса и фозалона в н-гексане с содержанием препарата 100 мкг/мл.

Приборы и посуда:

Колбы конические с притертыми пробками на 100–150 мл.

Цилиндры мерные на 100 мл.

Воронки делительные на 100–250 мл.

Воронки химические

Чашки фарфоровые на 20 и 100 мл

Ступка фарфоровая

Пульверизаторы стеклянные

Пластинки стеклянные (9 х 12 см)

Груши резиновые

Шприцы медицинские на 1 мл с ценой деления 0,02 мл

Палочки стеклянные

Пипетки градуированные на 1, 2, 5 и 10 мл

Ножницы

Хроматографическая камера (можно использовать эксикатор)

Камера для опрыскивания хроматограмм

Сито 100 меш.

Мельница для размалывания гранулированного силикагеля.

Весы технические

Весы аналитические

Сушильный шкаф

Прибор для встряхивания

Прибор для вакуумной отгонки растворителя

Баня водяная

Хроматографические пластинки "Силуфол" И $\mathcal{V}_{254}$ ЧССР (рефлектирующая алюминиевая фольга со слоем силикагеля, содержащего инертный люминесцентный индикатор, предназначенная для тонкослойной хроматографии.

Пластинки с тонким слоем силикагеля.

Хроматографические колонки высотой 25 см, внутренний диаметр 1,5 см.

Приготовление пластинок для хроматографирования

Стеклянные пластинки размером 9 х 12 см моют хромовой смесью, дистиллированной водой, сушат, протирают спиртом или эфиром и покрывают сорбционной массой. Для приготовления сорбционной массы используют две прописи: 1. Берут 20,0 г силикагеля КСК, просеянного через сито 100 меш, 0,5 г крахмала, 63 мл дистиллированной воды; крахмал заваривают в 10 мл воды, доливают остальную воду, засыпают силикагель и хорошо перемешивают. 2. Смешивают в фарфоровой ступке 35 г силикагеля, просеянного через сито 100 меш с 2 г гипса; смесь переносят в коническую колбу с притертой пробкой, приливают 90 мл дистиллированной воды и встряхивают в течение 15 минут.

Приготовленную массу в количестве 10 г (2 чайные ложки) наносят на каждую пластинку и равномерно распределяют по поверхности. Пластинки сушат в течение 16-20 часов при комнатной температуре в горизонтальном положении. Готовые пластинки хранят в эксикаторе.

Подготовка хроматографических колонок.

В нижнюю узкую часть колонки помещают небольшой тампон ваты, предварительно промытой в н-гексане и высушенной, затем насыпают силикагель АСК на высоту 18 см и уплотняют его, постукивая по колонке. Перед работой колонку промывают 20 мл н-гексана.

/2

Ход определения

I. Определение фталофоса и фозалона в воде и рыбе

Исследуемую пробу воды объемом 200 мл наливают в делительную воронку и трижды экстрагируют фталофос и фозалон хлороформом порциями по 30,20 и I0 мл, периодически встряхивая воронку в течение 30,20 и I0 минут соответственно; экстракты переносят в колбу, сушат безводным сульфатом натрия (I0 г) в течение 30 мин. и фильтруют в фарфоровую чашку или колбу для отгонки растворителя.

Колбу с сульфатом натрия дважды промывают хлороформом порциями по I0 мл, который пропускают через тот же фильтр. Затем растворитель испаряют либо из фарфоровой чашки на водяной бане при температуре 60^{0}, либо при использовании вакуумного ротационного испарителя.

Из колбы испарителя сухой остаток смывают I0 мл хлороформа, которые переносят в фарфоровую чашку. Хлороформ испаряют. После удаления растворителя из фарфоровой чашки сухой остаток со стенок смывают 2-5 мл хлороформа, который испаряют на воздухе, а затем проводят хроматографирование, как описано ниже.

Пробу рыбы (мышцы, стенки кишечника, почки, печень, жабры, кожа, кровь) массой 20 г тщательно измельчают ножницами, помещают в колбу с притертой пробкой и проводят экстрагирование препаратов н-гексаном дважды порциями по 30 и I0 мл, встряхивая в течение 60 и I0 минут соответственно. Экстракты объединяют и пропускают через колонку, заполненную силикагелем АСК. Затем колонку промывают I00 мл элюирующей смеси петролейного эфира и ацетона в соотношении (9:I), пропуская ее небольшими порциями (I5-20 мл). Экстракт концентрируют путем испарения растворителя либо при использовании вакуумного ротационного испарителя при температуре 50^{0}, либо на воздухе без нагревания. Сухой остаток смывают трижды по 5 мл дистиллированной водой, и раствор пропускают через фильтр, смоченный водой в делительную воронку.

Из водного раствора препараты извлекают хлороформом, экстрагируя двумя порциями растворителя по 10 мл в течение 30 и 10 минут соответственно. Хлороформные экстракты сливают в фарфоровую чашку через фильтр с безводным сульфатом натрия. Фильтр промывают двумя порциями хлороформа по 5 мл. Растворитель испаряют, как указано выше.

Сухой остаток, образовавшийся в фарфоровой чашке после испарения экстрактов из проб, смывают дважды порциями н-гексана по 0,2 мл, который с помощью шприца наносят на хроматографическую пластинку "Силуфол" или на пластинку с силикагелем, закрепленным крахмалом, на расстоянии 1,5 см от края в одну точку так, чтобы диаметр пятна не превышал 1 см. Слева и справа от пробы на расстоянии 2 см наносят стандартные растворы фталофоса и фозалона, содержащие предполагаемые в пробе количества (1-30 мкг).

Пластинку помещают в камеру для хроматографирования, куда за 30 минут до анализа наливают подвижный растворитель хлороформ-бензол (2:1). После того как фронт растворителя поднимается на 10 см от стартовой линии, пластинку вынимают и оставляют на несколько минут в вытяжном шкафу для испарения растворителя.

Хроматограмму опрыскивают оромфенсловым проявляющим реактивом, а через 5 минут 1%-ным раствором лимонной кислоты. При наличии в пробе фталофоса и фозалона на желтом фоне пластинки проявляются синие пятна, соответствующие по цвету и значению R_f пятнам стандартных растворов. Значение R_f фталофоса на пластинках "Силуфол" - 0,69±0,05, фозалона - 0,80±0,05; на тонком слое силикагеля - 0,4±0,05 и 0,6±0,05 соответственно. Метаболит фталофоса - фталимид проявляется на пластинках "силуфол" в виде пятна зеленоватого цвета с R_f 0,9±0,02.

Для идентификации фозалона на пластинках "силуфол" рекомендуется также использовать селективный проявляющий реактив - 4- амино-

антипирин. Пластинку опрыскивают 5%-ным раствором едкого натра и нагревают в термостате при 100° в течение 10 минут. Затем пластинку вынимают и опрыскивают последовательно 2%-ным раствором 4-аминоантипирина и 10%-ным раствором феррицианида калия. Фозалон проявляется в виде пятна бордово-коричневого цвета на слабо-желтом фоне пластинки.

2. Определение фозалона в растительном материале и мясе

Исследуемую пробу растительного материала (люцерна, кукуруза, овес, корнеплоды, разнотравье, комбикорма) или мяса измельчают, отбирают по 10 г, помещают в коническую колбу с притертой пробкой, заливают 30 мл н-гексана и встряхивают на Шуттель-аппарате или руками в течение 15 минут. Экстракт сливают в фарфоровую выпаривательную чашку через бумажный фильтр, смоченный н-гексаном. Для полноты извлечения пестицида экстракцию выполняют дважды. Экстракты объединяют и концентрируют на водяной бане при 45-50° до 1-2 мл, а затем досуха при комнатной температуре. В чашку приливают 2 мл ацетона, растирают остаток стеклянной палочкой и сливают в делительную воронку через бумажный фильтр, смоченный ацетоном. Для количественного переноса ядохимиката из чашки в делительную воронку, эту процедуру выполняют трижды. К 3-х кратному ацетоновому раствору (6 мл) приливают 12 мл дистиллированной воды и 15 мл хлороформа, затем энергично встряхивают одну минуту и отделившийся нижний хлороформно-ацетоновый слой сливают в фарфоровую выпаривательную чашку через бумажный фильтр, заполненный безводным сернокислым натрием, смоченным хлороформом.

Хлороформно-ацетоновый раствор выпаривают на водяной бане при 45-50° до 1 мл, а затем при комнатной температуре до 0,1-0,2 мл, который забирают медицинским шприцом или микропипеткой и наносят на пластинку с силикагелем, закрепленным гипсом. Фарфоровую чашку, в которой концентрируют экстракт, смывают еще два раза

0,2 мл ацетона и наносят на пластинку в ту же точку.

Для идентификации пестицида и количественного определения на ту же пластинку наносят из стандартного раствора 2,5; 5 и 10 мкг фозалона и помещают ее в камеру с подвижной фазой: гексан-ацетон (2:1). Камеру предварительно выдерживают в течение часа в закрытом состоянии для насыщения парами подвижного растворителя. После подъема подвижной фазы на 10 см от линии старта пластинку вынимают и сушат при комнатной температуре в вытяжном шкафу в течение 20-30 минут. Затем пластинку опрыскивают проявителем из пульверизатора до насыщения слоя сорбента и помещают на 5-7 минут в сушильный шкаф при температуре 50°, после чего ее охлаждают и опрыскивают 10%-ным раствором уксусной кислоты для обесцвечивания темно-синего фона.

Фозалон проявляется на желтоватом фоне пластинки в виде темно-синих пятен с R_f=0,41-0,49. Частично неотделившиеся коэкстрактивные вещества проявляются в виде слабого синего следа ниже фозалона.

Количественное определение пестицидов в воде, рыбе, мясе и растительном материале проводят путем сравнения площадей пятен пробы и стандарта при измерении их на миллиметровой бумаге, учитывая визуально интенсивность их окрасок.

Необходимо отметить, что количественное определение фозалона и фталофоса с надежной точностью можно проводить лишь до 20-30 мкг в пробе. При большем содержании препаратов, зоны их локализации получаются размытыми, что затрудняет сравнение их со стандартами. В этом случае для исследования следует брать меньшую пробу или аликвотную часть экстракта.

Расчет производят по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot A \cdot K}{S_2 \cdot B},$$

где: X- содержание препарата, мг/кг, мг/л;

S_1- площадь пятна исследуемой пробы, $мм^2$;

S_2- площадь пятна стандарта, $мм^2$;

A- количество препарата в стандарте; мкг;

B- навеска пробы, г, мл;

K- коэффициент пересчета на объем всего анализируемого экстракта.

Чувствительность определения фталофоса и фозалона при использовании пластинок "силуфол" составляет 0,025 мг/кг рыбы и 0,005 мг/л воды. На пластинках с тонким слоем силикагеля чувствительность в 4 раза ниже. Чувствительность определения фозалона в растительном материале и мясе составляет 0,3 мг/кг.

Л-91892 от 23.8.77. Заказ 3824 Тираж 2600 Формат 60x84/16

Типография ВАСХНИЛ

gost.e-ecolog.ru