Министерство сельского хозяйства СССР

Главное управление ветеринарии

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ДИАГНОСТИКЕ И ПРОФИЛАКТИКЕ ОТРАВЛЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ КАРБАМАТНЫМИ ПЕСТИЦИДАМИ

Москва "Колос" 1983

gost.e-ecolog.ru

УДК 636.03:615.9:616

Методические указания утверждены Главным управлением ветеринарии Министерства сельского хозяйства СССР (1977 г.)

© Министерство сельского хозяйства СССР, 1983

1. ХАРАКТЕРИСТИКА ОСНОВНЫХ ПРЕПАРАТОВ

Препараты группы производных карбаминовой кислоты широко применяются в сельском хозяйстве в качестве инсектицидов, фунгицидов, гербицидов, нематоцидов и бактерицидов. Они сравнительно малотоксичны для теплокровных животных и перспективны для борьбы с насекомыми и клещами, которые приобретают устойчивость к хлор- и фосфорорганическим соединениям.

В настоящее время в сельскохозяйственном производстве страны применяют 24 карбаматных препарата: бетанал, гексатиурам, гептатиурам, карбатион, карбин, купрозан, купроцин, мильтоксспециаль, поликарбацин, полимарцин, севин, тигам, тиллан, триаллат, ТМТД, фентиурам, фентиурам-молибдат, хлор-ИФК, цинеб, цирам, эдитон, эптам, ялан. Для борьбы с эктопаразитами животных в ветеринарной практике применяют дикрезил (производный карбаминовой кислоты).

Производные карбаминовой кислоты различаются по физико-химическим свойствам, стойкости во внешней среде, механизму и характеру действия на организм животных.

Большинство пестицидов этой группы обладают малой и средней токсичностью и слабо выраженной кумуляцией. Однако имеются высокотоксичные соединения и препараты с резко выраженными кумулятивными свойствами.

Для пестицидов (производных карбаминовой кислоты) характерно поражение нервной и кроветворной систем, эндокринных органов животных. Некоторые из них оказывают аллергенное, бластомогенное, мутагенное и эмбриотоксическое действие.

По химическому строению карбаматные соединения подразделяются на 4 группы: ариловые эфиры алкилкарбаминовых кислот, алкиловые эфиры арилкарбаминовых кислот, эфиры тиокарбаминовых кислот и производные дитиокарбаминовых кислот.

1.1. К ариловым эфирам алкилкарбаминовых кислот относятся: севин, пропоксур, дикрезил. Сюда же относятся такие перспективные препараты зарубежных фирм, как: асулам, банол, ме-

зурол, цектран, пиролан и др. Асулам является гербицидом, остальные препараты – активные инсектициды.

Препараты этой группы обладают антихолинэстеразной активностью, поражают эндокринные железы животных, нарушают окислительно-восстановительные процессы, обмен нуклеиновых кислот.

Севин (карбарил, карполин, арилат, севинокс, трикарнам) – 1-нафтил-N-метилкарбамат – белое кристаллическое вещество, растворимость в воде менее 0,1%, растворяется в большинстве органических растворителей. Устойчив к действию света и повышенной температуре. Относится к стойким препаратам, сохраняется в почве до одного года.

Выпускают в форме смачивающихся порошков, дустов, гранул (50 и 85%). Применяется как инсектоакарицид против вредителей сельскохозяйственных культур, садов и леса. Рекомендован для обработки крупного рогатого скота против иксодовых клещей. Лактирующих и беременных животных обрабатывать запрещается.

Токсичность севина для сельскохозяйственных животных колеблется в широких пределах. Наиболее чувствительны к нему лошади, $ЛД_{50}$ около 50 мг/кг. $ЛД_{50}$ для крупного рогатого скота составляет около 150 мг/кг, овец 225, свиней 500, кроликов 800, кур около 2000 мг/кг. Специфической особенностью токсического действия севина является выраженное влияние на регенеративную функцию.

Дикрезил. Технический препарат, содержащий 84% крезилкарбаматов (смесь 53% мета-, 25 пара- и 6% ортоизомеров), выпускается в виде 7-40%-ных концентратов эмульсии, смачивающихся порошков, дуста. Обладает выраженными инсектицидными и акарицидными свойствами. По данным некоторых авторов эффективен против иксодовых клещей. Среднетоксичен.

Пропоксур (байгон, байер 39007, блаттеникс, унден)– 2 изопропоксифенил – N – метилкарбамат. Эффективен против мух, комаров и других насекомых, а также против клещей, в том числе чесоточных. Выпускается в форме 50%-ного смачивающегося порошка, 20%-ного концентрата эмульсии, а также в виде дустов. Среднетоксичен.

1.2. К группе алкиловых эфиров арилкарбаминовых кислот относят: бетанал, ИФК, карбин, хлор-ИФК, а также препараты зарубежных фирм – ацилат и алипур. Все они активные гербициды.

Механизм токсического действия этих препаратов определяется образованием метгемоглобина, развитием анемии, изменением лейкопоэза, угнетением активности холинэстераз.

ИФК (агермин, карбагран, профам) – изопропил– N –фенилкар-

бамат. Растворимость в воде до 100 мг/л. Растворяется в спирте, ацетоне, бензоле. Умеренно стоек – в почве сохраняется до двух месяцев. Выпускается в виде смачивающегося порошка или концентрата эмульсии. Применяются в качестве корневого гербицида в посевах моркови, свеклы, лука, хлопчатника и других культур. Малотоксичен. Остатки ИФК в кормах не допускаются.

Хлор-ИФК имеет сходную с ИФК характеристику, однако более токсичен.

Карбин (барбан, хлоринат, карин) – 4-хлорбутин-2-ил-N,M-хлорфенилкарбамат. Растворимость в воде 110 мг/л, растворяется в органических растворителях. На растениях разлагается в течение 1-1,5 мес. Выпускается в виде 12%-ного концентрата эмульсии. Применяется в качестве гербицида для борьбы с овсюгом в посевах зерновых культур. Среднетоксичен. $ЛД_{50}$ для белых мышей, крыс, кроликов 600-820 мг/кг.

1.3. К эфирам тиокарбаминовой кислоты относят: триаллат, тиллан, эптам и ялан. Эти гербициды легко проникают в растения. Механизм токсического действия тиокарбаматов полностью не изучен. Эксперименты показывают, что в токсикодинамике определяющее значение имеют: угнетение в организме окислительно-восстановительных процессов, нарушение обмена нуклеиновых кислот, поражение желез внутренней секреции.

Триаллат (диптал, авадекс БВ) – S-2,3,3-трихлораллил-N,N-ди-(изопропил) тиокарбамат. Кристаллическое вещество светло-бурого цвета с неприятным запахом. Растворимость в воде 4 мг/л, растворяется в органических растворителях. Умеренно устойчив – в почве разрушается в течение 4-10 мес. Выпускается в виде концентрата эмульсии и гранул. Применяются в качестве гербицида против овсюга в посевах пшеницы, ячменя, льна, свеклы, гороха. Токсичность для разных видов животных различная: менее чувствительны к нему куры ($ЛД_{50}$ 2384 мг/кг), более чувствительны кролики ($ЛД_{50}$ 500 мг/кг) и овцы ($ЛД_{100}$ 600 мг/кг). Обладает слабовыраженным эмбриотоксическим действием, кумулятивные свойства выражены слабо (Кк 10).

Эптам – (ЭПТК, эптам-6-Е, эптам 5-Г) S-этил-N,N-ди(-н-пропил) тиокарбамат. Прозрачная жидкость с неприятным запахом, плохо растворяется в воде, смешивается с органическими растворителями. Умеренно стойкое вещество – в почве сохраняется около 3 мес. Выпускается в форме концентрата эмульсии и в виде гранул. Применяется в качестве предвсходового гербицида в посевах люцерны, фасоли, свеклы, моркови, капусты, картофеля, льна и других культур. Относится к препаратам

средней токсичности со значительными колебаниями видовой чувствительности. Обладает слабовыраженным эмбриотоксическим действием.

1.4. Производные дитиокарбаминовой кислоты представляют большую группу пестицидов, которые применяют в качестве фунгицидов. Сюда относят: карбатион, цирам, цинеб, ТМТД, поликарбацин, а также комбинированные препараты, содержащие дитиокарбаматы (купроцин-1, купрозан, мильтокс-специаль, гексатиурам, гептатиурам, тигам, полимарцин, фентиурам, фентиурам-молибдат). По токсичности для разных видов животных производные дитиокарбаминовой кислоты могут быть отнесены к различным группам гигиенической классификации. Многие из них в организме животных подвергаются деструкции с образованием более токсичных продуктов (сероуглерод, сероводород, диметиламин, метилизотиоцианат и др.). У препаратов (ТМТД, цирам) в значительной мере выражены кумулятивные свойства. Они обладают эмбрио- и гонадотоксическими, тератогенными, бластомогенными и мутагенными свойствами. Наиболее выражены эти свойства у манеба (применение в СССР запрещено), цирама и ТМТД (применение строго регламентируется). При длительном поступлении в организм животных дитиокарбаматы могут выделяться с молоком, накапливаться в органах.

Тетраметилтиурамдисульфид (ТМТД) (тиурам, арозан, тирам, терзан, тетратион А). Кристаллическое вещество белого или кремового цвета, не растворяется в воде, но хорошо растворимо в органических растворителях. Устойчив к действию окислителей и высоких температур. Во внешней среде сохраняется около одного года. Выпускается в виде 50–80%-ных смачивающихся порошков, а также в комбинациях с другими препаратами. Применяется как протравитель семян зерновых, зернобобовых, технических, овощных культур, лекарственных и цветочных растений. Среднетоксичен для большинства видов животных. $ЛД_{50}$ для кроликов 210–250 мг/кг, овец 225, свиней около 500 мг/кг. При однократном скармливании животным 3-4 кг концентрированных кормов, приготовленных из протравленного зерна, ТМТД выделяется с молоком коров до 15 дней. В органах и тканях свиней и овец он обнаруживается в течение 15–20 дней после однократного скармливания протравленного зерна. Обладает выраженной гонадотропностью и эмбриотоксичностью. При скармливании свиньям в период беременности комбикорма, содержащего 1/20 часть протравленного зерна, отход молодняка достигает 80%. У кур резко снижается яйценоскость до полного прекращения яйцекладки. У самцов сельскохозяйственных животных обнаружены явления некро- и тератоспермии. Молодняк от родителей, получавших ТМТД в малых дозах, от-

стает в росте и развитии. Длительное хранение в холодильнике мяса, содержащего остатки ТМТД и кулинарная обработка продуктов не устраняют ТМТД.

Цинеб (аспор, дитан, новозир, паразат, цинкмикс) – этилен-1,2-бис-дитиокарбамат цинка. Белые или слегка желтоватые кристаллы с неприятным запахом. В воде не растворяется. Плохо растворяется в органических растворителях. Под действием тепла и влаги быстро разрушается. Длительное хранение в плохо проветриваемом помещении может привести к взрыву. Выпускается в форме смачивающегося порошка. Применяется в качестве фунгицида для обработок овощных, зерновых, технических, бахчевых и плодовых культур, виноградников и табака. Малотоксичен. Овцы переносят препарат при введении его внутрь до 5000 мг/кг, а лабораторные животные до 16000 мг/кг. Опасность цинеба для животных состоит в избирательном эмбриотоксическом действии, которое проявляется у свиней массовым мертворождением приплода, а у кур – отставанием молодняка в росте и развитии.

2. ПУТИ ПОСТУПЛЕНИЯ КАРБАМАТНЫХ ПЕСТИЦИДОВ В ОРГАНИЗМ И УСЛОВИЯ, ПРИВОДЯЩИЕ К ОТРАВЛЕНИЮ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Ядовитые вещества, как правило, попадают в организм животных с кормом и водой. Реже они проникают через органы дыхания и кожный покров.

Основная причина, приводящая к отравлению животных – неправильное и бесконтрольное применение пестицидов, с нарушением существующих инструкций и наставлений.

Животные отравляются карбаматами при следующих обстоятельствах: неправильное хранение и перевозка пестицидов (яды или протравленное зерно хранят в одном складе с кормами, для перевозки пестицидов и кормов используют одни и те же транспортные средства, животные имеют свободный доступ к складам пестицидов или местам приготовления растворов и заправки опрыскивающей аппаратуры);

отсутствие своевременной информации животноводов о предстоящих химических обработках сельскохозяйственных угодий;

скармливание животным протравленного ТМТД посевного зерна, зеленой массы, полученной на обработанных карбаматами участках или выпас на них животных, несоблюдение установленных "сроков ожидания" пастьбы после обработки препаратами,

отсутствие контроля загрязненности кормов пестицидами, несоблюдение установленных ДОК пестицидов в кормах;

промывание опрыскивающей аппаратуры производится в водоемах, предназначенных для поения животных, разведения рыб и водоплавающей птицы, использование тары из-под пестицидов для перевозки хранения воды, отсутствие контроля за качеством воды, несоблюдение установленных ПДК пестицидов в воде;

нарушение соответствующих инструкций и наставлений при обработках животных карбаматными пестицидами.

3. НАКОПЛЕНИЕ КАРБАМАТОВ В ТКАНЯХ И СРОКИ ВЫВЕДЕНИЯ ИХ ИЗ ОРГАНИЗМА ЖИВОТНЫХ

3.1. Большинство карбаматных пестицидов относятся к слабокумулятивным соединениям и быстро выводятся из организма. Исключение составляют ТМТД, цирам и изопропилфенилкарбамат (ИФК), обладающие выраженными кумулятивными свойствами.

При остром отравлении животных севином его остатки полностью выводятся из организма кроликов через 4 суток, овец и крупного рогатого скота в течение 15, свиней через 30 суток. Убивать на мясо после острого отравления разрешается кроликов через 10 суток, овец и крупный рогатый скот - 20, свиней - 35 суток.

Выведение севина с молоком после острого отравления продолжается не более 7 суток.

При обработках кожных покровов коров севином и дикрезилом в концентрациях 0,8-1% его остатки выделяются с молоком в течение 2-3 суток. Поэтому обработка этими препаратами лактирующих коров запрещена.

При остром отравлении животных ТМТД (в том числе при скармливании протравленного зерна), его обнаруживают в организме кроликов в течение 15 суток, у кур до 18, овец и крупного рогатого скота до 20 (выделение с молоком до 15 суток), свиней до 30 суток. Убивать животных на мясо после отравления разрешается (со дня обнаружения симптомов интоксикации): кроликов - через 20 суток, кур - 25 (такие же сроки начала реализации яиц), овец и крупный рогатый скот - 30, свиней - 40 суток. Молоко от коров, перенесших отравление ТМТД, разрешается употреблять в пищу через 30 суток с момента интоксикации.

Цинеб выделяется из организма животных в течение 10-20 суток. Поэтому убой животных разрешается проводить через 25 суток.

3.2. Другие пестициды - производные карбаминовой кислоты

выводятся из организма в течение 7–8 суток и убивать животных на мясо разрешается через 10–12 суток.

3.3. Максимальные количества карбаматных пестицидов накапливаются в печени, почках, легких, кишечнике, мозге, гениталиях, эндокринных железах, которые при убое животных, перенесших отравления карбаматами, бракуются.

4. ДОПУСТИМЫЕ ОСТАТОЧНЫЕ КОЛИЧЕСТВА (ДОК) КАРБАМАТОВ В КОРМАХ И ПРОДУКТАХ ЖИВОТНОВОДСТВА

4.1. Молоко, мясо и другие продукты животноводства, содержащие остатки карбаматных пестицидов, для питания не используются.

4.2. Лабораторное определение карбаматных пестицидов проводят по официальным методам (приложения 2–8).

При определении остатков карбаматных пестицидов, не упомянутых в приложениях 2–8, используют методы, изложенные в книге "Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и объектах внешней среды" (М., "Колос", 1977).

4.3. Для обеспечения получения продуктов животноводства, свободных от остатков пестицидов, необходимо соблюдать регламенты применения пестицидов в растениеводстве.

Не допускаются остатки в кормах следующих препаратов: ТМТД, гексатиурама, гептатиурама, тигама, фентиурама, фентиурам-молибдата, цинеба, ширама. Кроме того, в кормах для племенных, лактирующих животных и яйценоской птицы не допускаются остатки хлор-ИФК и севина.

В кормах для откормочных животных допускают содержание остатков севина не более 1,0 мг/кг.

Корма, содержащие допустимые остаточные количества карбаматных пестицидов, следует заменять для продуктивных животных каждые 2–3 недели на корма, не содержащие остатков пестицидов. Для откормочных животных скармливание кормов, содержащих ДОК карбаматов, необходимо прекращать не позднее чем за 30 суток до убоя.

5. ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ЭКСПЕРТИЗА МЯСА ЖИВОТНЫХ, ВЫНУЖДЕННО УБИТЫХ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ КАРБАМАТАМИ

5.1. При обнаружении в мышечной ткани и паренхиматозных органах остатков карбаматных пестицидов туша вместе с внутренними органами подлежит технической утилизации.

5.2. Мясо животных, вынужденно убитых при отравлении кар-

баматами, если в нем не обнаружены остатки пестицидов, используют согласно пунктам 68, 116, 120, предусмотренным в "Правилах ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов", утвержденных ГУВ МСХ СССР (1969 г.)

6. ДИАГНОСТИКА ОТРАВЛЕНИЯ ЖИВОТНЫХ КАРБАМАТАМИ

6.1. Диагноз при отравлении животных карбаматными пестицидами ставится с учетом анамнестических данных, клинической картины, патологоанатомических изменений (приложение 1), характера течения заболевания и результатов химико-токсикологического анализа кормов, воды и патологического материала с обязательным исключением инфекционных болезней.

6.2. При подозрении на отравление животных необходимо срочно направить в ветеринарную лабораторию патологический материал, пробы кормов и воды с сопроводительными документами согласно пунктам 99, 100, 102, 103, 105, 125-139, 141 "Правил взятия патологического материала, крови, кормов и пересылки их для лабораторных исследований", утвержденных ГУВ МСХ СССР (1971 г.).

6.3. Лабораторное определение карбаматных пестицидов в кормах и патологическом материале проводят методами, приведенными в приложениях 2-8.

6.4. При диагностике хронических отравлений особое внимание обращают на воспроизводительную функцию животных (большое количество яловых самок, мертворожденное потомство, уродства, рождение нежизнеспособного молодняка, в птицеводстве - яйца без скорлупы, прекращение яйцекладки, ухудшение инкубационных качеств яиц).

7. ЛЕЧЕНИЕ ОТРАВЛЕНИЙ

7.1. Специфическое лечение животных при отравлении карбаматными пестицидами не разработано.

При отравлении севином животным подкожно вводят сульфат атропина в дозах: лошадям 0,02-0,08 г, крупному рогатому скоту 0,01-0,06, овцам и свиньям 0,005-0,05 г на голову в сочетании с подкожным введением бензогексония в дозе 1-5 мг/кг.

При отравлении ТМТД внутривенно вводят аскорбиновую кислоту в дозах: лошадям и крупному рогатому скоту 0,5-1,5 г, мелким животным 0,02-0,1 г на голову; подкожно вводят пиридоксин (витамин B_6) - 1 мг/кг.

7.3. Симптоматическое лечение (промывание желудка и т.п.), как при других отравлениях.

8. МЕРОПРИЯТИЯ ПО ПРОФИЛАКТИКЕ ОТРАВЛЕНИЯ ЖИВОТНЫХ КАРБАМАТНЫМИ ПЕСТИЦИДАМИ И ПРЕДУПРЕЖДЕНИЮ ЗАГРЯЗНЕНИЯ ИМИ ПРОДУКТОВ ЖИВОТНОВОДСТВА

8.1. В совхозах и колхозах необходимо строго соблюдать инструкции, методические указания и правила хранения, транспортировки и применения пестицидов в сельскохозяйственном производстве.

Категорически запрещается скармливать протравленные семена сельскохозяйственным животным, сдавать такие семена на комбикормовые заводы и хлебоприемные пункты. Протравленные семена хранят согласно правилам хранения пестицидов и используют только для посевных целей. В случае потери всхожести протравленные семена должны быть уничтожены.

Не допускается хранение кормов в помещениях, где находятся протравленные семена и пестициды, а также использование тары и транспорта, загрязненных пестицидами, для перевозки кормов.

Склады пестицидов, места приготовления рабочих растворов, а также обработанные пестицидами участки должны быть надежно ограждены от доступа животных.

Запрещается промывать опрыскивающую аппаратуру с пестицидами в водоемах, используемых для водопоя животных, разведения водоплавающей птицы и рыбы. Места для работы с пестицидами должны подбираться таким образом, чтобы не было стока в указанные водоемы.

8.2. Ветеринарные специалисты обязаны знать, какие пестициды применяются в хозяйствах, а также систематически осуществлять контроль за соблюдением правил хранения и использования кормов, полученных с обработанных пестицидами участков, чтобы не допустить скармливания животным фуража, загрязненного карбаматными пестицидами.

8.3. Запрещается убирать на корм животным культуры, обработанные карбаматными пестицидами, ранее установленных сроков.

8.4. Ветеринарные специалисты ветеринарных учреждений, колхозов и совхозов обязаны систематически направлять в лаборатории пробы кормов для анализа на обнаружение остатков пестицидов. В случае выявления остатков карбаматов в кормах необходимо руководствоваться пунктом 4 настоящих методических указаний.

8.5. Убой животных и реализация продуктов животноводства при возникновении отравления животных карбаматными пестицидами разрешается в сроки, указанные в пункте 3 методических указаний.

8.6. Ветеринарные обработки животных и животноводческих помещений карбаматными пестицидами (севин, дикрезил, пропоксур и др.) должны проводиться под непосредственным руководством ветеринарного врача хозяйства или ветеринарного учреждения в строгом соответствии с действующими наставлениями и инструкциями.

8.7. Ветеринарные специалисты обязаны вести систематическую разъяснительную работу по профилактике отравлений пестицидами среди населения и работников животноводства.

Приложение 1

КЛИНИЧЕСКАЯ КАРТИНА И ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ЖИВОТНЫХ КАРБАМАТАМИ

Большинство карбаматных пестицидов относят к категории малотоксичных ($ЛД_{50}$ 1000,0 мг/кг), а севин, карбатион, бетанал, ТМТД, ялан, эдитон, купрозан, пропоксур и дикрезил – среднетоксичные ($ЛД_{50}$ 200–1000,0 мг/кг). При остром отравлении севином, пропоксуром, дикрезилом уже через несколько минут у животных отмечается одышка, гиперсаливация, тремор вначале отдельных групп мышц, а затем и всего тела. Тремор сменяется приступами клонико-тонических судорог, появляются признаки отека легких (хрипы, синюшность слизистых оболочек). Смерть наступает через 1–3 ч от асфиксии. Сердце продолжает сокращаться 1,5–2 мин после остановки дыхания. Если асфиксия не достигает критического развития, то через 6–7 ч состояние животных начинает улучшаться, через 10–16 ч восстанавливается координация движений, через 2–3 суток наступает выздоровление.

Клиническая картина отравления животных тиокарбаматами характеризуется слюнотечением, потливостью, учащением дыхания, тремором, нарушением координации движений. Эти признаки появляются через 3–7 ч после введения препаратов. Смерть наступает через 2–10 суток.

Характерным отличием острого отравления дитиокарбаматами (ТМТД, карбатион, купрозан) является медленное развитие интоксикации. У животных наблюдается угнетение, малоподвижность, диарея, атаксия, гипотермия, резко ослабляется сердечная деятельность. Животные погибают в состоянии глубокой комы. При благоприятном течении выздоровление наступает на 7–10-й день. За этот период животные теряют в весе до 30%.

Хроническое отравление протекает ссимптомно, но имеет последствие – необратимое гонадотоксическое и эмбриотоксичес-

кое действие. Под влиянием ежедневного поступления малых доз севина, цинеба, ТМТД, цирама, манеба и других карбаматов резко снижается оплодотворяющая способность самцов, подвижность и переживаемость сперматозоидов. У самок нарушается эстральный цикл. Развивающиеся плоды погибают, снижается плодовитость самок, увеличивается количество мертворожденного приплода, а потомство, родившееся живым, оказывается нежизнеспособным.

В результате хронического действия карбаматов изменяется иммунобиологическая реактивность организма (снижается сопротивляемость к возбудителям болезней). Некоторые карбаматы (цирам) являются бластомогенами.

При патологоанатомическом вскрытии трупов животных, павших от отравления различными карбаматами, обнаруживается в основном сходная картина более или менее выраженных гемодинамических расстройств, различные виды дистрофии, очаги некроза и некробиоза в печени, почках, мышце сердца, головном и спинном мозге. При отравлении севином гистохимическим методом отмечается резкое снижение количества гликогена в печени.

При отравлении ТМТД животные, как правило, истощены.

Приложение 2

МЕТОД ЭКСПРЕССНОГО ОБНАРУЖЕНИЯ СЕВИНА В ТКАНЯХ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Принцип метода. Экспрессный метод обнаружения севина основан на извлечении его из тканей животных ацетоном, омылении едким натром до 1-нафтола и сочетании последнего с парадиазобензосульфокислотой с образованием розово-красного окрашивания.

Чувствительность метода 1 мг севина в 1 кг исследуемой ткани.

Реактивы, растворы и посуда.

Ацетон (по ГОСТ 2603-63).
Сульфаниловая кислота (по ГОСТ 5821-69).
Натрий углекислый (по ГОСТ 83-63), 5%-ный раствор.
Натрий азотнокислый (по ГОСТ 4197-66).
Соляная кислота (по ГОСТ 3118-67), 20%-ный раствор.
Этиловый спирт (по ТУ ИРЕА 20-66).
Натрий гидроокись (по ГОСТ 4328-66), 5%-ный раствор.
Фильтровальная бумага.
Стеклянный пульверизатор.
Банки с притертыми крышками.

Приготовление парадиазобензосульфокислоты. 4 г сульфаниловой кислоты растворяют в 60 мл 5%-ного раствора углекислого натрия и прибавляют 2 г нитрита натрия. Раствор охлаждают льдом и в него медленно (по каплям) вливают 20 мл 20%-ной соляной кислоты, охлажденной льдом. Выпавший осадок отмывают этиловым спиртом и сушат фильтровальной бумагой.

Для работы готовят 0,5%-ный раствор парадиазобензосульфокислоты в 5%-ном растворе едкого натра. Раствор пригоден в течение суток.

Определение. 10 г ткани тщательно измельчают и заливают 20 мл ацетона в стеклянном сосуде с притертой пробкой. После тщательного перемешивания раствор оставляют стоять на 1-2 ч при температуре плюс 4°С. Затем содержимое фильтруют, фильтрат упаривают воздухом до объема 0,5-1 мл.

На полоску фильтровальной бумаги наносят 0,05-0,1 мл концентрированного экстракта так, чтобы диаметр пятна не превышал 1 см.

Полоску бумаги подсушивают на воздухе, а затем обрабатывают с помощью пульверизатора 0,5%-ным раствором парадиазобензосульфокислоты в 5%-ном растворе едкого натра. При наличии в органе или ткани животного севина пятно окрашивается в розовато-красный цвет.

Приложение 3

КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕВИНА И 1-НАФТОЛА В ТКАНЯХ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ И МОЧЕ

Принцип метода.

а) Метод определения севина основан на экстрагировании севина и его метаболита 1-нафтола из патологического материала (органы животных, содержимое желудка и т.д.) бензолом или хлороформом, упаривании последнего воздухом, переводом сухого остатка в этиловый спирт, в котором севин, гидролизованный щелочью до 1-нафтола, соединяется с диазобензосульфокислотой с образованием изокраски красного цвета. Интенсивность окраски в пределах 0,2-20 мкг в 1 мл колориметрируемой реакционной смеси подчиняется закону Ламберта-Бера.

б) Метод определения севина в моче основан на очистке ее с помощью уксуснокислого свинца и последующей экстракции препарата из фильтрата н-гексаном.

Определение севина и продукта его метаболизма 1-нафтола производится в спиртовой среде путем реакции соединения его с диазотированным диметил-п-фенилендиамином.

Чувствительность метода 0,15–0,20 мг/л или 3 мкг свинца в анализируемой пробе.

Реактивы и оборудование.

Бензол (по ГОСТ 5955–68).

Хлороформ (по ГОСТ 3160–51).

Сульфаниловая кислота (по ГОСТ 5821–69).

Соляная кислота (по ГОСТ 3118–67), 20%–ный раствор.

Натрий углекислый (по ГОСТ 83–63), 5%–ный раствор.

Натрий гидроокись (по ГОСТ 4328–66), 10%–ный раствор.

Этиловый спирт (по ТУ ИРЕА 20–66).

н–Гексан (по МРТУ 6–09–2937–66).

Свинец уксуснокислый средний 3–водный (по ГОСТ 1027–67), 20%–ный раствор на дистиллированной воде или 20%–ный раствор основного уксуснокислого свинца (по МРТУ 6–09–6388–69) на 10%–ной уксусной кислоте.

Кислота уксусная (по ГОСТ 61–69).

Натрий сернокислый безводный (по ГОСТ 4166–66).

Глицерин (по ГОСТ 6259–52), 10%–ный раствор на этиловом спирте.

Калия гидроокись (по ГОСТ 4203–65).

Натрий азотнокислый (по ГОСТ 4197–66).

Диметил–п–фенилендиамин сернокислый (по ТУ 7911–910–63), 0,05%–ный раствор в 1 н. соляной кислоте, раствор сохраняется в холодильнике 2–3 дня при 0–5°С.

Фотоэлектроколориметр (ФЭК–М или ФЭК–56 и т.п.).

Выпаривательные чашки.

Химическая посуда (разная).

Приготовление диазотированной сульфаниловой кислоты. Навеску 4 г сульфаниловой кислоты растворяют в 60 мл 5%–ного раствора углекислого натрия и прибавляют 2 г нитрита натрия. Затем смесь охлаждают на льду и в раствор медленно (по каплям) вливают 20 мл 20%–ной соляной кислоты, охлажденной льдом. Выпавший осадок отфильтровывают, отмывают на фильтре 50–100 мл этилового спирта и высушивают при комнатной температуре на фильтровальной бумаге до воздушно–сухого состояния.

Перед постановкой реакции готовится 0,5%–ный раствор диазобензосульфокислоты в 10%–ном растворе едкого натра. Реактив пригоден в течение одного дня.

Ход определения.

а) Определение свинца в тканях животных.

Навеску ткани 10 г измельчают, помещают в банку с притертой пробкой, заливают 10 мл бензола или хлороформа, переме-

шивают стеклянной палочкой и ставят в холодильник (4°С) для экстракции не менее чем на 12 ч. После этого бензол или хлороформ сливают в фарфоровые чашки и в исследуемый материал снова добавляют 10 мл бензола или хлороформа и экстракцию повторяют в течение 3–4 ч. Затем экстракты объединяют и испаряют досуха воздухом.

Сухой остаток растворяют в 2–3 мл этилового спирта и сливают в пробирку, после этого фарфоровую чашку дополнительно ополаскивают несколько раз небольшими порциями спирта с таким расчетом, чтобы общее количество спирта для растворения остатка составляло 10 мл.

К спиртовому раствору исследуемого материала добавляют 0,05 мл 0,5%-ной диазобензосульфокислоты в 10%-ном растворе едкого натра. Пробирку встряхивают, содержимое фильтруют через бумажный фильтр и оставляют в штативе. Через 30 мин пробы колориметрируют на фотоэлектроколориметре в кюветах с расстоянием между рабочими гранями 5 мм при длине волны 490 нм (зеленый светофильтр). В качестве контрольной жидкости используют этиловый спирт.

Расчет суммарного количества севина и 1-нафтола проводится по калибровочному графику. Строят его следующим образом: готовят стандартные растворы севина в этиловом спирте с концентрацией 0,1–20 мкг/мл объемом по 10 мл каждый. В стандартные растворы добавляют 0,05 мл 0,5%-ной диазобензосульфокислоты в 10%-ном растворе едкого натра и через 30 мин колориметрируют в кюветах с расстоянием рабочих граней 5 мм при длине волны 490 нм.

Для контроля используют этиловый спирт. На каждую концентрацию делают не менее трех измерений. Значения оптической плотности откладывают на оси X, концентрации на оси У Поскольку для определения севина и 1-нафтола всегда берется 10 г ткани, а для колориметрии 10 мл спиртового экстракта, значения мкг/мл по графику соответствуют значениям миллиграмм севина и нафтола на 1 кг ткани. Это исключает дополнительные пересчеты.

б) Определение севина в моче.

Кислую мочу разводят 0,25 н. уксусной кислотой в соотношении 1:1. Щелочную мочу разводят 0,5 н. уксусной кислотой (1:1 или 1:2) до кислой реакции. Для очистки от балластных веществ к разведенной моче прибавляют раствор уксуснокислого свинца из расчета 1 мл 20%-ного раствора на каждые 10 мл разведенной мочи. После этого мочу фильтруют через бумажный фильтр. 2,2 мл фильтрата при этом будут соответствовать 1 мл неразведенной мочи, взятой для исследований.

Фильтрат в количестве, эквивалентном 10 или 20 мл неразведенной мочи, переносят в делительную воронку емкостью 100–250 мл и трижды экстрагируют н-гексаном, используя каждый раз 20–30 мл экстрагента. Экстракты объединяют и осушают путем добавления 1–2 г безводного сернокислого натрия. После этого н-гексановый экстракт сливают в выпаривательную чашку, а оставшийся осадок дважды промывают н-гексаном, который сливают в ту же чашку.

Выпаривание экстрагента (н-гексана) производят теплым воздухом. Когда в чашке остается 5–10 мл экстракта, добавляют 0,2 мл 1.0%-ного раствора глицерина в этиловом спирте. Оставшийся н-гексан осторожно выпаривают, продувая над чашкой слабую струю теплого воздуха. После выпаривания н-гексана в чашку добавляют 3 мл 60%-ного этилового спирта и переносят раствор в колориметрическую пробирку. Чашку второй раз промывают 2 мл 60%-ного этилового спирта и сливают его в ту же колориметрическую пробирку. К раствору в колориметрических пробирках (смыв 5 мл 60%-ного этилового спирта) добавляют по 1 мл раствора едкого калия и охлаждают пробы до 0–5°С. К охлажденному раствору в каждую пробирку добавляют 1 мл диазореактива.

Диазореактив готовится перед употреблением путем смешивания предварительно охлажденных до 0–5°С растворов – 0,05%-ного раствора диметил-п-фенилендиамина сернокислого в 1 н. соляной кислоте и 2%-ного раствора нитрита натрия (10:1).

Через 3–5 мин после добавления диазореактива в каждую пробирку добавляют еще 5,0 мл 60%-ного этилового спирта и пробы помещают в холодильник на 30–60 мин при 0–5°С. Колориметрирование проводят, используя в качестве контроля 60%-ный этиловый спирт, едкий калий и диазореактив в тех же соотношениях и в той же последовательности, что и в опытных пробах (но без севина) при синем светофильтре, в кюветах с рабочей длиной 20 мм. Окраска устойчива в течение 6–8 ч (специфическая окраска – малиновая).

Количественное определение препарата в пробах производится по калибровочному графику, выведенному с внесением стандартных количеств севина в мочу и последующего анализа ее по описанной методике. Предварительно готовится стандартный раствор севина с содержанием 100 мкг препарата в 1 мл спирта. Из стандартного раствора в пробы мочи (10–20 мл) вносят соответственно 2, 3, 5, 10, 20 и 30 мкг севина. Пробы анализируются по описанной выше схеме. Реакцию ставят 3 раза. Стандартный раствор препарата для этих целей готовят

каждый раз отдельно. Полученные данные обобщают и по средним величинам строят калибровочный график. Перерасчет содержания севина в мг на 1 *л* мочи проводят по формуле

$$X = \frac{A}{C},$$

где X – содержание препарата в 1 *л* мочи, мг; A – содержание препарата в пробе, мкг; C – количество мочи, взятой для анализа, мл.

Приложение 4

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СЕВИНА В МОЛОКЕ МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ С ДЕТЕКТОРОМ ПО ЗАХВАТУ ЭЛЕКТРОНОВ

Принцип метода. Метод основан на определении севина в молоке путем гидролиза очищенного от примесей экстракта с последующим бромированием 1-нафтола и газохроматографического определения с детектором по захвату электронов. Чувствительность метода – 0,02 мг/кг. Процент определения – 75–95.

Реактивы и растворы.

н-гексан (по МРТУ 6-09-2937-66), х.ч., перегнанный.

Ацетон (по ГОСТ 2603-63), х.ч., перегнанный.

Хлороформ (по ГОСТ 3160-51), х.ч., перегнанный.

Бензол (по ГОСТ 5955-68), х.ч., перегнанный.

Диметилформамид (по ТУ-71-11-69), насыщенный водой (3:1).

Натрий сернокислый (по ГОСТ 4166-66), ч.д.а., безводный.

Натрий хлористый (по ГОСТ 4233-66), х.ч., насыщенный раствор.

Калия оксалат (по ГОСТ 5868-68), х.ч., 5%-ный водный раствор.

Кислота уксусная (по ГОСТ 61-69), х.ч., ледяная.

Серная кислота (по ГОСТ 4204-66), х.ч.

Йод кристаллический (по ГОСТ 4159-64).

Бром жидкий (по ГОСТ 4109-64), 5%-ный раствор в уксусной кислоте, насыщенный кристаллами йода.

Стандартные растворы с содержанием севина по 25 мкг/мл и 5 мкг/мл в ацетоне.

Приборы и посуда.

Микрошприц на 5,10 мкл.

Стеклювата.

Колбы мерные на 100 мл.

Колбы круглодонные со шлифом емкостью 100 и 250-300 мл.
Цилиндры мерные на 100 и 50 мл.
Воронки делительные на 350-400 мл.
Воронки химические.
Пробирки термостойкие.
Держатель для пробирок.
Пипетки на 1,2,5 мл.
Баня масляная с контактным термометром на 100°С.
Ротационный испаритель.
Хроматографическая колонка длиной 1,5 м, диаметром 3 мм.
Газожидкостной хроматограф с детектором по захвату электронов.

Ход определения.

25 мл молока помещают в делительную воронку на 250-300 мл, приливают 5 мл оксалата калия и 5 мл насыщенного раствора натрия хлористого, перемешивают, приливают 100 мл ацетона, энергично встряхивают в течение 1-2 мин, затем добавляют 100 мл хлороформа и вновь встряхивают 2-3 мин. Оставляют воронку в покое до полного разделения фаз (5 мин), нижний слой раствора сливают в круглодонную колбу на 250 мл и выпаривают досуха на ротационном испарителе при температуре водяной бани 45-50°С. К сухому остатку приливают 5 мл диметилформамида, насыщенного водой (3:1), охлаждают под струей холодной воды и фильтруют через слой, состоящий из 5-7 г безводного сульфата натрия в делительную воронку на 250-300 мл. Промывают колбу и сульфат натрия 15 мл того же диметилформамида порциями по 5 мл, приливают 60 мл дистиллированной воды, 5 мл насыщенного раствора хлористого натрия и 75 мл бензола. Встряхивают 1-3 мин. Нижний слой отделяют, а верхний бензольный слой дважды промывают дистиллированной водой по 50 мл. Затем бензольную фракцию высушивают, фильтруя через безводный сульфат натрия в круглодонную колбу со шлифом на 100 мл. Делительную воронку и сульфат натрия промывают 20 мл бензола порциями по 10 мл. Бензол выпаривают на ротационном испарителе досуха. К сухому остатку приливают 2 мл ледяной уксусной кислоты, добавляют 10 капель концентрированной серной кислоты и оставляют на 5 мин. Затем приливают 0,2 мл уксусной кислоты, насыщенной кристаллами йода и содержащей 5% жидкого брома (по объему). В колбу с содержимым присоединяют обратный холодильник и нагревают 10 мин при 120-130°С, промывают холодильник 5 мл дистиллированной воды, охлаждают содержимое колбы и вносят 2 мл гексана. Встряхивают 1 мин, сливают содержимое

в пробирку и 1 мл верхнего слоя переносят в пробирку с притертой пробкой. Выпаривают гексан до тех пор, пока весь йод не будет устранен (достаточно 1–2 выпариваний). Остаток растворяют в 2 мл гексана и 5,0 мкг этого раствора вводят в хроматограф.

Условия хроматографирования. Хроматограф ЛХМ–8 МД "П", снабженный детектором по захвату электронов. Источник радиоактивности – N^{63}, скорость протяжки ленты – 0,6 см/мин. Напряжение питания Д30 – 5 В. Рабочая шкала электрометра – цена одного деления $3{,}5 \cdot 10^{-11}$. Длина стеклянной колонки 1,5 м, внутренний диаметр 3 мм, колонка заполнена хромосорбом (100–120 меш), показатель крупности частиц, промытым кислотой, силанизированным и содержащим 5% ПМФС–4. Перед работой колонка продувается при t = 230°С в течение 5–7 ч при скорости газа (азота) 40 мл/мин. Температура колонки – 210°С, испарителя – 250°С, детектора – 240°С. Скорость газа-носителя – 80 мл/мин. Время удерживания производного севина составляло 6,5 мин.

Количественное определение севина (С) проводят методом соотношения со стандартами по высоте пиков и вычисляют по формуле

$$\text{С севина} = \frac{\text{Нм} \cdot V \cdot \text{С ст}}{\text{Н ст} \cdot V_a \cdot \text{А}} \quad \text{мг/кг},$$

где Нм – высота пиков анализируемых проб, мм; Н ст – высота пика стандарта, мм; V – объем гексанового раствора, из которого отбирали аликвоту для ввода в хроматограф (2 мл); V_a – объем аликвоты (5 мкл); А – навеска анализируемого молока, мл; С ст – концентрация стандартного раствора, нг.

Линейность детектирования соблюдается в пределах 0,6 нг – 5 нг. Нижний предел определения для молока 0,6 нг севина в 5 мкл.

Приложение 5

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ДИКРЕЗИЛА В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Принцип метода. Метод основан на экстракции пестицида из исследуемых проб, хроматографическом разделении в тонком слое окиси алюминия, гидролизе щелочью до крезолов и соединении их с диазотированным пара-нитроанилином. При появлении хроматограмм дикрезил и его метаболиты обнаруживаются в виде

оранжевых пятен. Величина Rf для крезила составляет 0,55–0,60; для мета- и параксрезилов (основные метаболиты) – 0,32–0,34. Чувствительность методики 0,3 мкг в нанесенной пробе.

Реактивы и растворы.

Окись алюминия (по МРТУ 6-09-5296-68) квалификации "Хроматография".

Кальций сернокислый безводный (по МРТУ 6-09-1821-64).

Пара-нитроанилин (по ТУ 6-09-258-70), перекристаллизованный из горячей воды.

Азотистокислый натрий (по ГОСТ 4197-66), х.ч.

Бензол (по ГОСТ 5955-68).

Метилэтилкетон (по ТУ ИРЕА 19-66).

Хлороформ (по ГОСТ 3160-51).

Метанол (по ГОСТ 6995-67).

Кислота уксусная (по ГОСТ 61-69).

Кислота соляная (по ГОСТ 3118-67).

Калия гидроокись (по ГОСТ 4203-65).

Бутиловый спирт (по ГОСТ 6006-51).

Приготовление реактивов.

Реактив № 1:1,5 н. КОН в смеси метилового и Н-бутилового спиртов, в сотношении 1:1.

Реактив № 2: а) 0,1%-ный раствор пара-нитроанилина в 0,1 н. соляной кислоты; б) 4%-ный раствор нитрата натрия.

Растворы а и б перед использованием смешивают в соотношении 10:1 (реактив № 1, растворы а и б готовят заранее и хранят в холодильнике).

Растворители для разгонки – бензол – метилэтилкетон в отношении 19:1.

Стандартный 0,01%-ный бензольный раствор дикрезила (0,01мл раствора содержит 0,001 мг дикрезила).

Стандартный 0,01%-ный раствор мета-крезила (0,01 мл раствора содержит 0,001 мг мета-крезола).

Приборы и посуда.

Хроматографическая камера (герметически закрывающийся стеклянный цилиндр).

Гомогенезатор для измельчения тканей.

Бюксы емкостью 25–30 мл.

Делительные воронки на 100–200 мл.

Микропипетки на 0,1 мл.

Пульверизаторы.

Стеклянный или металлический валик с ограничительными кольцами для нанесения слоя сорбента нужной толщины.

Станочек для фиксации пластинок при нанесении на них сорбента.

Стеклянные пластинки 13х18 см (или другого размера) с матовой поверхностью.

Сито (размер 1 отверстия - 150 меш).

Стеклянные колбы на 0,5 л.

Приготовление хроматографических пластинок. 95 г окиси алюминия (1-2 степени активности по Брокману) инактивируют путем добавления 5 мл ледяной уксусной кислоты с последующим встряхиванием смеси в плотно закрытой колбе в течение трех минут. Добавляют 5 г гипса и хорошо перемешивают. Приготовленный таким образом сорбент может сохраняться в колбе с плотно закрытой пробкой длительное время, не теряя своих свойств.

На матовую поверхность стеклянной пластинки насыпают сорбент и с помощью валика наносят ровный слой толщиной 0,3 мм (толщина слоя соответствует толщине ограничительных колец).

Для получения закрепленного слоя сорбента приготовленные пластинки орошают дистиллированной водой из пульверизатора до полного насыщения сорбента (появление слоя на глянцевой водной поверхности).

Высушивание пластинок проводят в горизонтальном положении при комнатной температуре (20-22°С) 12 ч.

Ход анализа. 5 г исследуемой ткани (печени, почек, мышц, крови) гомогенизируют и заливают 10 мл хлороформа. Экстрагируют в плотно закрытых бюксах 2 ч при 20-22°С. При однократном экстрагировании хлороформом извлекают из гомогенатов тканей 40-44% дикрезила. Из молока, мочи и меланжа препарат лучше экстрагировать в делительных воронках.

При определении дикрезила в молоке к 10 мл пробы приливают 20 мл хлороформа и встряхивают 2 ч, при этом экстрагируется 56% препарата. Для обнаружения дикрезила в яйцах кур в качестве экстрагента используют н-Гексан (1 часть меланжа и 2,5 части н-Гексана). За 2 ч н-Гексан экстрагирует 30% дикрезила.

При экстрагировании из жидких сред (молоко, моча, меланж) не следует допускать сильного встряхивания их с экстрагентом, достаточно легкого покачивания делительной воронки.

После экстрагирования экстракт от биологических сред отделяют фильтрованием через обезжиренные бумажные фильтры или осторожным сливанием в стакан. Полученные экстракты выпаривают досуха под струей воздуха в вытяжном шкафу. Сухие остатки растворяют в 0,2 мл метанола и наносят на хромато-

графические пластинки по общепринятым правилам тонкослойной хроматографии. Смывание сухого остатка метанолом проводят 2–3 раза.

Хроматографирование. Хроматографические пластинки с нанесенными пробами помещают в хроматографическую камеру с системой растворителей–бензолметилэтилкетон.

После подъема фронта растворителя на высоту 10–12 см от линии старта пластинки вынимают из камеры, подсушивают на воздухе, обрабатывают из пульверизатора реактивом № 1, затем снова подсушивают на воздухе. После обработки из пульверизатора реактивом № 2 (диазотированный пара–нитроанилин), при наличии в исследуемых пробах дикрезила или его метаболитов, на хроматограмме появляются пятна оранжевого цвета. По величине и окраске пятен проводится качественное определение дикрезила и его метаболитов.

Сравнением полученных на хроматограмме пятен со шкалой стандартов, с учетом процента экстракции препарата, можно количественно определять его содержание в исследуемом материале.

Шкалу стандартов готовят параллельно с исследованием проб, для чего на хроматографическую пластинку наносят чистый стандартный раствор с содержанием в пробе 1, 2, 5, 10, 15,20 мкг препарата. После разгонки и проявления хроматограмм сравнивают пятна исследуемых проб со шкалой стандартов.

Приложение 6

МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТЕТРАМЕТИЛТИУРАМ ДИСУЛЬФИДА (ТМТД) В КОРМАХ

Принцип метода. Метод основан на разрушении красящих растительных пигментов под воздействием водного раствора щелочи с последующим извлечением препарат гексаном, взаимодействия пестицида с реактивным силикагелем, импрегнированным сульфатом меди с образованием тиурамата меди.

Реактивы и растворы.

Натрия гидроокись (по ГОСТ 4328-66), 0,5%-ный раствор.
н-Гексан (по МРТУ 6-09-2937-66).
Силикагель марки КСМ (ГОСТ 3956-54).
Соляная кислота (по ГОСТ 3118-67).
Сульфат меди (по ГОСТ 897-68), 1%-ный раствор.
Фильтровальная бумага.

Приготовление реактивного силикагеля. Силикагель (марки КСК или КСМ) заливают на 18–20 ч соляной кислотой (разбавленной 1:1), затем кислоту сливают, силикагель промывают

водой и кипятят в течение 2–3 ч с разбавленной 1:1 азотной кислотой.

Дают силикагелю отстояться, сливают азотную кислоту и промывают дистиллированной водой до нейтральной реакции промывных вод и сушат при температуре 130°С в течение 4–6 ч в сушильном шкафу. После этого силикагель измельчают, просеивают через сито с отверстиями 0,2 и 0,04 мм. Просеянный силикагель заливают на один час 1%-ным раствором сульфата меди. Жидкость сливают, силикагель подсушивают на фильтровальной бумаге, а затем в сушильном шкафу при 100°С. Хранят силикагель в плотно закрытых склянках.

Приборы и посуда.

Сушильный шкаф.

Набор сит.

Стаканы химические.

Склянки с широким горлом с притертыми пробками для экстрагирования на 100–200 мл.

Пробирки центрифужные с притертыми стеклянными или полиэтиленовыми пробками.

Описание определения. 10 г исследуемого растительного материала в зависимости от вида исследуемого объекта заливают 10–20 мл 0,5%-ного раствора едкого натра (зерно – 10 мл, сено, комбикорм – 20 мл), периодически встряхивают 30 мин. Затем добавляют 10 мл н-Гексана и встряхивают 30 мин (при исследовании гороха и комбикорма не следует встряхивать, так как образуется стойкая эмульсия).

После того как слои экстрагентов будут хорошо разделяться, экстракт гексана декантируют и фильтруют через двойной бумажный фильтр. К фильтрату прибавляют 0,2 г реактивного силикагеля и встряхивают 30–60 сек. В присутствии ТМТД силикагель окрашивается в зеленый цвет.

Приложение 7

МЕТОД КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТРИАЛЛАТА В МЯСЕ, ТКАНЯХ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ЖИВОТНЫХ

Принцип метода. Колориметрический метод основан на извлечении триаллата из исследуемой пробы н-Гексаном, адсорбционной очистки экстракта, испарении гексана и взаимодействии пестицида с пиридином в щелочной среде с образованием окрашенного в вишнево-сиреневый цвет соединения, которое определяют колориметрическим путем.

В данных условиях альдрин, линдан, ДДТ не дают цветной ре-

акции, хлордан и гептахлор образуют соединения, окрашенные в желтовато-коричневый цвет, а полихлорпинен образует комплексы коричневато-красного цвета.

Чувствительность метода 5 мкг триаллата в пробе или 0,5 мг/кг. Процент определения - 90.

Реактивы и растворы.

Ацетон (по ГОСТ 2603-63).

н-Гексан (по МРТУ 6-09-2937-66).

Диэтиловый эфир.

Калия гидроокись (по ГОСТ 4203-65), 10%-ный раствор, свежеприготовленный.

Пиридин чистый (по ГОСТ 2747-44). В бутыль с пиридином засыпают сухой едкий калий и оставляют на сутки, затем декантируют в колбу пиридин для отгонки и перегоняют при температуре 115°С.

Силикагель марки АСК (по ГОСТ 3956-54).

Стандартный раствор триаллата. Растворяют 10 мг триаллата по активному действующему веществу в небольшом количестве н-Гексана в мерной колбе на 100 мл и доводят объем до метки растворителем.

Триаллат.

Этиловый спирт (по ТУ ИРЕА 20-66).

Посуда и приборы.

Воронки.

Колбы конические с притертыми пробками.

Мерные колбы на 100 мл.

Колонки хроматографические - высота 25 см, внутренний диаметр 1 см.

Пробирки химические.

Чашки фарфоровые.

Цилиндры мерные емкостью 10 и 25 мл.

Вакуумный ротационный испаритель.

Фотоэлектроколориметр ФЭК-56.

Колонки хроматографические. В нижнюю узкую часть хроматографических колонок помещают небольшой тампон ваты, предварительно промытой в н-Гексане и высушенной. Затем насыпают силикагель "АСК" (18 см по высоте) и уплотняют его. Перед работой колонки промывают 10-20 мл н-Гексана.

Ход определения. Исследуемую пробу мяса или внутренних органов (печень, почки, сердце, содержимое желудка, легкие, селезенка) массой 5-10 г измельчают и проводят экстрагирование триаллата н-Гексаном в течение 1,5-2 ч два раза по 20-25 мл при встряхивании. Экстракты объединяют и пропускают через колонку, заполненную силикагелем "АСК". Затем колонку

промывают 100 мл смеси н-Гексана и диэтилового эфира в объемном отношении 6:4. Хроматографирование экстракта и элюирующей смеси через колонку проводят небольшими порциями (около 20 мл). После очистки экстрактов растворитель испаряют вакуумным ротационным испарителем при температуре 50°С, либо на воздухе без нагревания. Сухой остаток переносят в пробирку, растворяют одним миллилитром н-Гексана (два раза по 0,5 мл), прибавляют 1 мл придина; 0,5 мл свежеприготовленного отфильтрованного 10%-ного раствора КОН энергично встряхивают и нагревают на кипящей водяной бане в течение 2 мин. Содержимое пробирки после охлаждения растворяют в 2 мл этилового спирта, фильтруют через бумажный фильтр, промывают фильтр спиртом, доводят объем фильтрата до 5 мл и колориметрируют в кюветах с расстоянием между рабочими гранями 1 см при длине волны 490 нм (ФЭК-56, светофильтр № 5). Для контроля служит этиловый спирт. Содержание пестицида определяют по калибровочному графику.

Для построения калибровочного графика в пробирки вносят 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 мл стандартного раствора технического препарата, который содержит в 1 мл 100 мкг активнодействующего вещества (АДВ) триаллата, добавляют 1 мл пиридина; 0,5 мл 10%-ного раствора КОН и выполняют все операции, как описано выше.

Для построения кривой на оси абсцисс откладывают количество триаллата (мкг), а на оси ординат соответствующие значения оптической плотности.

Расчет результатов анализов. Содержание триаллата в пробе определяют по формуле

$$X = \frac{A}{P},$$

где X – содержание триаллата в анализируемой пробе, мг/кг; A – количество пестицида, определенное по калибровочному графику, мкг; P – навеска пробы, г.

Приложение 8

КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ КУПРАЦИНА-1, КУПРАЦИНА-П, МАНЕБА, МАРЦИНА, ПОЛИМАРЦИНА, ПОЛИКАРБАЦИНА, ТИАЗОНА, ТМТД, ЦИНЕБА, ЦИРАМА, ЭДИТОНА В БИОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДАХ

Принцип метода. Метод основан на кислотном гидролизе фунгицидов, очистке выделяющегося сероуглерода от сопутствующих соединений, адсорбции сероуглерода спиртовым раствором диэтиламина, взаимодействии продукта реакции с ацетатом меди, ко-

лориметрическом определении образующегося дитиокарбамата меди, окрашенного в желто-коричневый цвет.

Чувствительность определения 15-20 мкг пестицидов в пробе, что составляет 0,03-0,1 мг/кг продукта. Воспроизводимость метода - 90%.

Реактивы и растворы.

Диэтиламин (по ТУ 6-09-68-70), 1,5%-ный спиртовой раствор.

Кислота серная (по ГОСТ 4204-66), 7 н. раствор для определения поликарбацина и 5 н. раствор для определения цирама, манеба, тиазона, эдитона, купрацина-1, купрацина-П, полимарцина, манеба, марцина, ТМТД.

Медь уксуснокислая (по ГОСТ 5852-51), 0,05%-ный спиртовой раствор.

Свинец уксуснокислый (по ГОСТ 1027-67), 10%-ный раствор.

Стандартные растворы препарата, 0,01 г препарата х.ч. растворяют в 0,1 н. растворе едкого натра в мерной колбе на 100 мл. 1 мл раствора содержит 100 мкг препарата.

Спирт этиловый (по ТУ ИРЕА 20-66).

Приборы и посуда.

Мерный цилиндр на 10 мл.

Отводная трубка, доходящая до дна колбы.

Пипетки разные.

Поглотители.

Поглотительная колонка на 300-500 мл, заполненная аскаритом или натронной известью и активированным углем.

Фотоэлектроколориметр.

Холодильник Либиха.

Широкогорлая колба с боковым отростком.

Ход анализа. Экстракция пестицидов. Фильтр с пробой воздуха, 200-500 г измельченного продукта (яблоки, виноград, груши, огурцы и др.) или 5-10 г биоматериала (печень, кал и др.) помещают в двугорлую колбу (колба с широким горлом и боковым отростком) и приливают 100 мл 5 н. раствора серной кислоты, а при определении поликарбацина - 100 мл 7 н. раствора серной кислоты. Колбы соединяют с обратным холодильником. Отводную трубку, доходящую до дна колбы, соединяют с поглотительной колонкой. Отводную трубку холодильника последовательно соединяют с двумя поглотителями. Последний поглотитель присоединяют к аспиратору. В первый поглотитель наливают 5 мл 10%-ного раствора ацетата свинца, во второй - 5 мл 1,5%-ного спиртового раствора диэтиламина. Содержимое

колбы подогревают до кипения. Включают аспиратор и с небольшой скоростью (1 пузырек в сек) протягивают воздух в течение одного часа, при определении цирама и цинеба – в течение полутора часов. Выделяющийся сероуглерод увлекается воздухом и адсорбируется во втором поглотителе. Первый поглотитель служит для очистки сероуглерода от H_2S и других сульфидов. Затем содержимое второго поглотителя переносят в пробирку и приливают 0,5 мл 0,05%-ного спиртового раствора ацетата меди (лучше свежеприготовленного). Общий объем раствора составляет 10 мл. В присутствии сероуглерода образуется окрашенный в желто-бурый цвет раствор дитиокарбамата меди.

Колориметрирование. Через 2–3 мин после развития окраски раствор колориметрируют на ФЭК-М с синим светофильтром в кюветах с толщиной слоя 5 или 10 мм в зависимости от интенсивности окраски.

Количественную оценку полученных результатов проводят по калибровочной кривой, построенной в координатах. Оптическая плотность конечного колориметрируемого раствора – концентрация препарата. Для построения калибровочной кривой вносят 10, 25, 50, 75, 100, 500 мкг препарата в навеску продукта и проводят определение по вышеописанной методике.

Расчет результатов анализа. Количество препарата в пробе вычисляют по формуле

$$X = \frac{A}{P},$$

где X – содержание препарата в пробе, мг/кг;
A – количество препарата, найденное по калибровочному графику, мкг;
P – навеска пробы, г.

gost.e-ecolog.ru