Министерство сельского хозяйства
Российской Федерации

Государственная комиссия
по химическим средствам борьбы
с вредителями, болезнями растений и сорняками

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, КОРМАХ И ВНЕШНЕЙ СРЕДЕ

Сборник № 24

МОСКВА
ЦЕНТР НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ,
ПРОПАГАНДЫ И РЕКЛАМЫ
1996 г.

gost.e-ecolog.ru

"Утверждено" Министерством здравоохранения СССР

"29" июля 1991 г

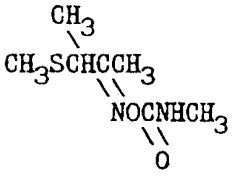
N 6209-91.

Временные методические указания по определению бутоксикарбоксима и его метаболитов в почве, семенах, листьях и волокне хлопка газожидкостной хроматографией.

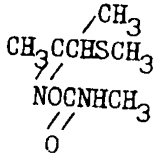
1. Краткая характеристика препарата.

Бутоксикарбоксим -3-(метилсульфонил)-2- бутанон- 0-[(метиламино) карбарил)]оксим - является действующим веществом инсектицидного и акарицидного препарата "Дравин 755" ф. Вакер, Германия.

Структурная формула:



(E)



(Z)

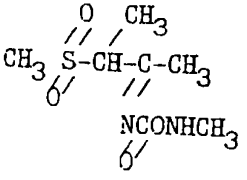
Эмпирическая формула: $C_7H_{14}N_2O_2S$

Молекулярная масса: 190,3.

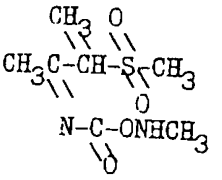
Белое кристаллическое вещество, Тпл 35-37° С. Растворимость в воде ~3%, хорошо растворим в большинстве органических растворителей. Технический продукт представляет собой коричневую жидкость или кристаллы с Тпл 22-28° С с неприятным специфическим запахом. Устойчив в водном растворе при pH 4-7, разрушается при нагревании в растворах сильных кислот и щелочей. Основной метаболит - бутоксикарбоксим (плантпин) -0 - (N-метилкарбомоил) оксим -3-(метилсульфонил) бутанон-2.

Разработчики: "Тойо Менка Кайша" Япония. Модифицирована С.А.Поляковой и С.И.Беспаленко (г. Киев).

Структурная формула:



(E)



(Z)

Эмпирическая формула: $C_7H_{14}N_2O_4S$

Молекулярная масса 222,3.

Белое кристаллическое вещество, Тпл 85-86 ° С. Хорошо растворим в воде и полярных органических растворителях, умеренно растворим в ароматических углеводородах, практически не растворим в четыреххлористом углероде и петролейном эфире.

Бутокарбоксим применяется в качестве системного инсектицида и акарицида против тлей, трипсов, кокцид и растительных клещей при нормах расхода 1,5-2,5 кг/га.

$ЛД_{50}$ для крыс 158 мг/кг. Токсичен для пчел и других насекомых.

2. Методика определения бутокарбоксима в почве, семенах, листьях и волокне хлопка.

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Метод основан на извлечении бутокарбоксима и его метаболитов из исследуемых объектов метанолом, экстракции бутокарбоксима и его метаболитов смесью толуол-вода, реэкстракции метаболитов бутокарбоксима (сульфоксида и бутоксикарбоксима) из водной фракции в хлороформ, очистке толуольного экстракта на колонке с флоризилом, дериватизации веществ метанольным раствором щелочи с получением метиловых эфиров N-метилкарбаминовой кислоты и определении производных препарата методом газожидкостной хроматографии с термоионным детектором.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода.

Таблица:

Определяемое вещество	Исследуемый объект	Нижний предел обнаружения мг/кг	Размах варьирования, %	Среднее значение определения %	Относит. стандарт. отклонение, %
Бутокарбоксим (Дравин 755)	почва	0,015	78-100	85	9,0
	хлопок (волокна)	0,01	80-100	86	9,3
	листья	0,01	80-100	92	8,7
	семена	0,01	75-100	90	10,1

Нижний предел обнаружения (чувствительность детектора) - 10 нг.

2.2. Реактивы и материалы.

Метанол, х.ч., ГОСТ 6995-77, перегнанный, безводный (на 1 литр метанола добавляют 5 г магниевой стружки, после окончания реакции кипятят 2-3 часа с обратным холодильником, а затем метанол отгоняют).

Гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78.

Толуол, чда., ГОСТ 5789-69.

Бутоксикарбоксим,ан.стандарт, фирма Вакер.

Бутоксикарбоксим, ан. стандарт, фирма Вакер.

Бутоксикарбоксим сульфоксид, ан.стандарт, фирма Вакер.

Ацетонитрил, ч., ТУ 6-09-3534-82.

Хлорид натрия, ч., ГОСТ 4233-77.

Хлороформ, чда, ГОСТ 20015-74.

Сульфат натрия безводный, ч., ГОСТ 4166-66.

Флоризил.

Вода дистиллированная.

Фильтры, МРТУ 6-09-2411-65.

Натр едкий, х.ч., ГОСТ 4328-77, 2М метанольный раствор.

Фаза неподвижная: Карбовакс - 20 М.

Носитель инертный: Хроматон N-AW.

Азот газообразный, о.с.ч., ГОСТ 9293-74.

Водород газообразный, ГОСТ 3022-70.

2.3. Приборы и посуда.

Газовый хроматограф "Цвет-164" с термоионным детектором или аналогичный.

Вытяжной шкаф.

Холодильник.

Ротационный испаритель вакуумный типа ИР-1М, ТУ 25-11-917-76. Аппарат для встряхивания АВУ-60, ТУ 64-1-2451-78.

Воронки делительные на 500-1000 мл, ГОСТ 8613-75.

Воронки конические диаметром 3 и 5 см, ГОСТ 8613-75.

Воронки Бюхнера.

Колбы Бунзена.

Колбы конические с притертой пробкой на 50, 100, 250 мл, ГОСТ 10394-72.

Пипетки 0,1; 1; 5 мл, ГОСТ 1770-74.

Цилиндры мерные на 10 и 50 мл, ГОСТ 1770-74.

Колбы круглодонные на шлифе 50 мл, ГОСТ 10394-72.

Пробирки мерные - цена деления 0,1 мл, ГОСТ 1770-74.

Колонки для адсорбционной хроматографии размером 500х25 мм.

Колбы мерные на 10, 25, 50 мл, ГОСТ 1770-74.

Микрошприц на 10 мкл, МШ-10, ТУ Е-2.833.024.

2.4. Подготовка к определению.

2.4.1. Отбор проб.

Отбор, хранение и доставка проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов", утвержденных заместителем Главного Государственного санитарного врача СССР N 2051-79 от 21.08.79 г.

2.4.2. Приготовление стандартных растворов.

Основной стандартный раствор (ОСР). I способ: полученную навеску 5 мг бутокарбоксима (х.ч.) помещают в круглодонную колбу со шлифом, приливают 4 мл метанола и 2 мл 2М метанольного раствора гидроксида натрия. К колбе подсоединяют обратный холодильник и смесь нагревают на кипящей водяной бане в течение 45 минут. После охлаждения содержимое переносят в мерную колбу на 50 мл и доводят до метки абсолютизированным метиловым спиртом. Концентрация метилового эфира N-метилкарбаминовой кислоты 100 мкг/мл. Рабочий стандартный раствор "а" бутокарбоксима (РСР "а") готовят внесением 2,5 мл ОСР в мерную колбу на 25 мл и доведением до метки безводным метанолом.

II способ:получение N-метилкарбаминовой кислоты метилового эфира из метилизоцианата.

500 мл метанола помещают в 1 л 3-х горлую колбу и снабженную мешалкой, термометром и капельной воронкой. К содержимому в колбе прибавляют несколько капель триэтиламина, а затем по каплям 50 мл метилизоцианата при хорошем перемешивании в течение 30 мин. При повышении температуры реакции свыше 30° С производят охлаждение реакционной смеси с помощью бани со льдом. Оставляют реакционную смесь на ночь. Избыток метанола упаривают при помощи ротационного испарителя и полученный остаток перегоняют в вакууме (водоструйный насос) при 60° С. Выход метилового эфира N-Метилкарбаминовой кислоты составляет 50 г.

2.5. Описание определения.

2.5.1. Экстракция.

Почва. 100 г. воздушно-сухой почвы помещают в коническую колбу, заливают 150 мл метанола и препарат экстрагируют в течение 1 часа на аппарате для встряхивания. Экстракт фильтруют через воронку Бюхнера с плотным фильтром в колбу Бунзена под вакуумом. К остатку в колбе приливают еще 80 мл метанола и препарат повторно экстрагируют. Экстракты объединяют в концентраторе и метанол упаривают досуха на ротационном испарителе. Колбы с сухими остатками помещают в морозильную камеру на 1,5-2 часа.

Хлопок (волокна, семена, листья). Для исследования отбирают 5 г волокон хлопка, 20 г образцов семян и листьев, тщательно измельчают, помещают в колбу с притертой пробкой, заливают 150 мл метанола и препарат экстрагируют на шутель-аппарате в течение 1 часа. Дальнейшие процедуры аналогичны описанным для почвы.

2.5.2. Разделение бутоксикарбоксима и его метаболитов.

Сухой остаток в колбе, извлеченной из морозильной камеры, смывают 2-3

раза предварительно охлажденным ацетонитрилом (25-30 мл). Раствор переносят в делительную воронку, приливают 150 мл насыщенного водного раствора сернокислого натрия и бутокарбоксим экстрагируют толуолом (30-40 мл) в течение 5 мин. Экстракцию повторяют дважды.

Толуольные экстракты объединяют, сушат безводным сернокислым натрием и растворитель упаривают на ротационном испарителе досуха. Из оставшейся водно-солевой фазы тремя порциями хлороформа (по 50 мл) экстрагируют метаболиты бутоксикарбоксима (сульфоксид и бутоксикарбоксим). Объединенные хлороформные экстракты сушат безводным сернокислым натрием и растворитель упаривают на ротационном испарителе досуха.

2.5.3. Очистка экстрактов от коэкстрактивных веществ.

В адсорбционную хроматографическую колонку помещают небольшой ватный тампон и насыпают такое количество безводного сернокислого натрия, чтобы высота слоя в колонке составила 1 см, затем 15 г флоризила и снова безводный сернокислый натрий (1 см). Упаренный толуольный экстракт (см.гл.2.5.2.), содержащий бутокарбоксим, растворяют в 10 мл хлороформа и переносят в колонку. Вещество элюируют 150 мл хлороформа и элюат упаривают досуха на ротационном испарителе.

2.5.4. Получение метилового эфира N-метилкарбаминовой кислоты.

Сухие хлороформные экстракты бутоксикарбоксима и его метаболитов смывают небольшим количеством метанола, объединяют и доводят количество метанола до 4 мл. Метанольный раствор переносят в круглодонную колбу и приливают 2 мл 2М раствора едкого натра в метиловом спирте. Смесь нагревают на кипящей водяной бане в течение 45 минут в круглодонной колбе с обратным холодильником. После охлаждения смеси аликвоту хроматографируют. При необходимости образцы разбавляют метиловым спиртом.

2.5.5. Условия хроматографирования.

Хроматограф марки "Цвет" с термоионным детектором.

Колонка стеклянная спиральная, длина 1 м, диаметр 3 мм, заполненная фазой 5% Карбовакс 20 М на хроматоне N-AW 0,16-0,20 мм.

Рабочая шкала электрометра 20.10^{-12} А.

Скорость протяжки диаграммной ленты 240 мм/час.

Расход газа-носителя (азота) 30 мл/мин.

Расход водорода 12 мл/мин.

Температура термостата колонки 100° С.

Температура испарителя 150° С.

Вводимый объем 3-5 мкл.

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки.

2.5.6. Обработка результатов анализа.

Содержание препарата в образце рассчитывают по формуле:

$$X=\frac{Сст.Уст.Нпр.Уобщ}{Нст.Упр.Р}, \text{где}$$

X - количество препарата в пробе (мг/кг);

Сст - количество пестицида в хроматографируемом объеме стандартного раствора, мкг;

Yст - объем стандарта, введенный в хроматограф, мкл;

Нпр - высота (площадь) пика исследуемой пробы, ($мм^2$);

Нст - высота (площадь) пика при хроматографировании стандартного раствора препарата, ($мм^2$);

Yпр - объем экстракта анализируемой пробы, введенный в хроматограф, мкл;

Yобщ - общий объем экстракта анализируемой пробы, мл;

Р - навеска анализируемой пробы, г.

3. Техника безопасности.

Необходимо соблюдать общепринятые правила техники безопасности при работе с органическими растворителями и токсическими веществами.

gost.e-ecolog.ru