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 XI

Москва - 1981

gost.e-ecolog.ru

Государственная комиссия по химическим средствам борьбы
вредителями, болезнями растений и сорняками при МСХ СССР

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

Часть XI-я

Данные методики апробированы и рекомендованы
в качестве официальных группой экспертов при
Госкомиссии по химическим средствам борьбы с
вредителями, болезнями растений и сорняками
при МСХ СССР

Москва - 1981

Настоящие методические указания предназначены для санитарно-эпидемиологических станций и научно-исследовательских учреждений Минздрава СССР, а также ветеринарных, агрохимических, контрольно-токсикологических лабораторий Минсельхоза СССР и лабораторий других Министерств и ведомств, занимающихся анализом остаточных количеств пестицидов и биопрепаратов в продуктах питания, кормах и внешней среде.

Методические указания апробированы и рекомендованы в качестве официальных группой экспертов при Госкомиссии по химическим средствам борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками при МСХ СССР. (Председатель группы экспертов М.А.Клисенко).

Методические указания согласованы и одобрены отделом перспективного планирования санэпидслужбы ИМПиТМ им.Е.И.Марциновского и лабораторным советом при Главном санитарно-эпидемиологическом управлении Минздрава СССР.

УТВЕРЖДАЮ:
Заместитель Главного государственного
санитарного врача СССР
_____ А.И.Заиченко
"19" 2 1979 г.
№ 2085-79

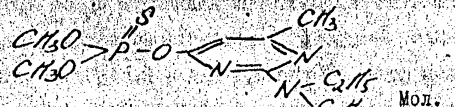
# МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ АКТЕЛЛИКА В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ, В ПОЧВЕ И В ВОДЕ ХРОМАТОГРАФИЕЙ В ТОНКОМ СЛОЕ И НА ГАЗОВОМ ХРОМАТОГРАФЕ.

## I. Краткая характеристика препарата.

I.I. Актеллик

I.2. О,О-диметил-О-(диэтиламино-6-метилпиримидил-4)тиофосфат

I.3. Структурная формула



Мол. масса= 305,35

I.4. Пиримифос-метил, ПП-511, актеллик

I.5. Химически чистое вещество актеллика представляет собой жидкость светло-желтого цвета. Хорошо растворяется в большинстве органических растворителей, слабо растворим в воде - 5мг/л при температуре 30°. Удельный вес - I,I57 при 30°, давление пара - $I \cdot IO^{-4}$. Разрушается в сильнокислых и щелочных средах.

Препарат малотоксичен для теплокровных животных - при оральном введении $ЛД_{50}$ для мышей составляет II80 мг/кг. Препарат опасен для птиц ($ЛД_{50}$ 30-60 мг/кг) и рыб ($ЛД_{50}$ 0,3-27 мг/кг).

Выпускается в форме 25% концентрата эмульсии, 25% препарата для ультрамалообъемного опрыскивания.

## 2. Методика определения актеллика.

### 2.1. Основные положения

#### 2.1.1. Принцип метода

Метод основан на извлечении актеллика из растительных проб и воды органическими растворителями (хлороформом, 10-20% ацетоном в гексане или 50% водным ацетоном ). Из почвы экстрагируют инсектицид смесью ацетона с 0,05 н раствором $CaCl_2$. Очистка экстрактов способом перераспределения между двумя несмешивающимися растворителями и на хроматографических колонках. Количественное определение проводят хроматографическим в тонком слое методом или на газовом хроматографе с термоионным детектором.

#### 2.1.2. Метрологическая характеристика метода.

| | ГЖХ | ТСХ |
|---|---|---|
| Минимально детектируемое количество | 10нг | 0,5-3 мкг |
| Нижний предел определения | 0,002 мг/кг | 0,1 мг/кг |
| $P$ - размах варьирования, % | | |
| в растениях | 85,0- 91,0 | 86,0- 91,5 |
| в почве | 92,5- 97,5 | 92,5- 97,6 |
| $\bar{c}$ - среднее значение определения, | | |
| в растениях | 88,5 | 85,5 |
| в почве | 95,0 | 95,0 |
| $S$ - стандартное отклонение, % | | |
| в растениях | 2,5 | 2,5 |
| в почве | 2,5 | 2,5 |
| Доверительный интервал среднего при $P=0,95$ и $n=5$, % | | |
| для растений | 88,5 ± 2,5 | |
| для почвы | 95,0 ± 2,5 | |

#### 2.1.3. Избирательность метода.

Другие фосфорорганические инсектициды определению не мешают.

2.2. Реактивы и растворы.

Хлороформ, х.ч. ГОСТ 3160-51 - $CHCl_3$

Гексан, х.ч. МРТУ 6-09-2937-66 - $CH_3(CH_2)_4CH_3$

Ацетон, ч. ГОСТ 2603-63 - $CH_3COCH_3$

Ацетонитрил, ч. МРТУ 6-09-6448-69 - $CH_3CN$

Диметилформамид, ч. МРТУ 6-09-2068-65 - $HCON(CH_3)_2$

Бензол, чда ГОСТ 5955-68 - $C_6H_6$

Натрий сернокислый, безводный, чда ГОСТ 4166-66 - $Na_2SO_4$

Уголь активированный марки КАД - молотый или ОУ-А

Окись алюминия для хроматографии МРТУ 6-09-5296-68-4 - $Al_2O_3$

Силикагель КСК или пластинки "Силуфол UV-254"

5% SE-30 на хроматоне N AW -ДМСS (0,16 - 0,20 мм)

Азот ОСЧ

Водород

Проявляющие реагенты:

0,5% раствор 2,6-дибром-N-хлорхинонимина в гексане, после опрыскивания нагревание пластинки при 110° в течение 5 мин.

0,5% раствор бриллиантового зелёного в ацетоне, затем экспозиция пластинки в парах брома 20-30 сек.

0,05% раствор бромфенолового синего в 0,5% растворе азотнокислого серебра, приготовленного на ацетоне. После проветривания хроматограммы и прогревания её в термостате при 35 - 40°, вновь спрыскивают 5% раствором уксусной кислоты (лимонной кислоты).

2% раствор 4- (Р-нитробензил)пиридина в ацетоне, после нагревания хроматограммы при 110° в течение 5 мин. вновь опрыскивают 10% раствором тетраэтиленпентамина в ацетоне.

Реактив Драгендорфа: раствор А - 0,85 г азотнокислого висмута растворяют в смеси 40 мл дистиллированной воды и 100 мл 40% серной кислоты (серную кислоту можно заменить 10 г винной кислоты); раствор Б - 8 г иодистого калия растворяют в 20 мл воды. Растворы А и Б смешивают. Перед употреблением к 6 мл полученной смеси при-

ливают 6 мл 20% серной кислоты (или 12 г винной кислоты) и дово-
дят объём до 25 мл водой.

Стандартный раствор актеллика в ацетоне или в гексане - 1,0-5,0 мкг/мл

2.3. Приборы и посуда.

Колбы конические со шлифами и пробками на 50 и 250 мл, ГОСТ 10394-72

Колбы круглодонные со шлифами для отгонки растворителей,
ГОСТ 10394-72

Делительные воронки на 50 и 100 мл, ГОСТ 8613-75

Воронки, ГОСТ 8613-75

Колбы мерные, ГОСТ 1770-74

Колонки для адсорбционной хроматографии (300х 15 мм),
МРТУ 42-2590-66

Аппарат для встряхивания колб

Ротационный вакуумный испаритель, МРТУ 42-2589-66

Холодильник бытовой

Термостат

Хроматографическая камера, ГОСТ 10565-63

Микропипетки 0,1 - 0,2 мл, ГОСТ 20292-74

Хроматоскоп (хемоскоп)

Камера для опрыскивания, ГОСТ 10565-63

Опрыскиватель, ГОСТ 19391-68

Микрошприцы на 10 мкл

Газовый хроматограф с термоионным детектором (ДТИ)

2.4. Подготовка к определению.

Растительную пробу (овощи, фрукты, зелёную массу) измельчают но-
жом на кусочки 0,5 х 0,5 х 0,5 $см^3$ и отбирают среднюю пробу 25 г.

Почву в естественном состоянии или воздушно-сухую просеивают че-
рез сито и для анализа отбирают 10 г.

Проба воды - 100 мл.

2.5. Проведение определения.

2.5.I. Экстракция и очистка экстрактов.

Анализируемые навески помещают в конические колбы ёмкостью 250 мл, пробы воды - в делительные воронки, куда добавляют по I0 г хлористого натрия.

Из растений актеллик экстрагируют трижды по 50 мл 20% ацетона в гексане, либо 50% водным ацетоном, либо 50 мл хлороформа; из почвы - 50 мл смеси ацетона с 0,05 н водным раствором хлористого кальция (I : I); из воды - хлороформом, порциями: I20, I00, 75 мл. Экстрагируют при встряхивании в течение I часа. Экстракты отфильтровывают через бумажный фильтр. Объединенные экстракты помещают на I час в холодильник. При выпадении осадка пробы следует отфильтровать вторично. Экстракты подвергаются очистке:

а) очистка после экстракции 20% ацетоном в гексане. Экстракт помещают в делительную воронку и отделяют водно-ацетоновую фракцию от гексановой. Водно-ацетоновую фракцию промывают гексаном ещё два раза. Объединенные гексановые экстракты фильтруют через слой безводного сернокислого натрия, концентрируют под вакуумом при 40-50° до 5 мл. После охлаждения добавляют к ним 5 мл холодного ацетонитрила. Ацетонитрил можно заменить диметилформамидом, однако с первым растворителем очистка происходит значительно лучше. Пробу встряхивают I-2 мин. Гексановый слой отделяют в делительной воронке и вторично дважды чистят пробу ацетонитрилом (диметилформамидом), если это необходимо. Ацетонитрильные (диметилформамидные) экстракты объединяют, переносят в делительную воронку, добавляют к ним 30 мл воды и 20 мл гексана, встряхивают I-2 мин. и после разделения слоев гексановый отделяют, а водно-ацетонитрильный ещё раз промывают гексаном и отбрасывают. Объединенные гексановые экстракты сушат безводным сернокислым натрием путем фильтрования и концентрируют под вакуумом до 5 мл. Если проба очищена недостаточно, то ее следу-

ет пропустить через колонку (30 см x 1,5 см), заполненную слоем сернокислого натрия (2 – 3 см), окиси алюминия для хроматографии (3 см), активированного угля КАД – молотый или ОУ-А (3 см) и безводного сернокислого натрия (1 см). Предварительно через колонку пропускают 40 – 50 мл хлороформа для уменьшения сорбционной ёмкости угля. Из колонки актеллик элюируют 120 мл хлороформа при отсасывании с помощью водоструйного насоса. Хлороформ концентрируют до объёма 0,3 – 0,5 мл и количество инсектицида определяют хроматографическими методами;

б) очистка после экстракции хлороформом. Полученный экстракт фильтруют через слой безводного сернокислого натрия и концентрируют под вакуумом до 0,5 – 1,0 мл. Остаток растворителя испаряют на воздухе. К сухому остатку приливают 30 мл смеси ацетона с 0,05 н $CaCl_2$ (соотношение компонентов 1 : 1), пробу переносят в делительную воронку, фильтруя через бумажный фильтр, колбу споласкивают ещё 20 мл смеси ацетона с $CaCl_2$. В воронку добавляют 30 мл гексана для извлечения токсиканта. Гексановую фракцию отделяют, водосолеацетоновую промывают ещё два раза гексаном по 20 мл. Объединённый гексановый экстракт фильтруют через безводный сернокислый натрий и концентрируют до 0,5 – 1,0 мл. Если проба очищена недостаточно, то её дополнительно чистят на колонке, как указано выше;

в) очистка после экстракции водным ацетоном. Объединённые экстракты переносят в делительную воронку, добавляют 30 мл гексана для извлечения токсиканта. Далее поступают так, как описано в способе очистки б).

Экстракты из почвы очищают путём переэкстракции в н-гексане (смотри способ б).

2.5.2. Хроматография в тонком слое.

На расстоянии 2 см от нижнего края хроматографической плас-

тинки с тонким слоем силикагеля, в который внесён флуоресцеин, или на "Силуфол-UV-254" наносят сконцентрированные экстракты проб и стандартный раствор актеллика в виде пятен диаметром не более 0,5 см. Если в пробе содержится много инсектицида, то рекомендуется брать часть пробы или наносить экстракт в 4- 5 точек. Стенки колб тщательно смывают несколькими каплями растворителя, который также наносят в центр пятна. Хроматографические пластинки ставят в камеру для хроматографирования и ожидают пока фронт растворителя поднимется на высоту 10 см. Хроматографируют в системе гексан-ацетон (5:1) или гексан-этилацетат (7:3). Далее пластинку подсушивают на воздухе и проявляют одним из проявляющих реагентов. Следует указать, что наибольшей чувствительностью обладает проявитель с 2,6-дибром-N-хлорхинониминон и 4-(Р-нитробензил)пиридином.

Пластинки со слоем силикагеля, в который внесён флуоресцирующий краситель, или пластинки "Силуфол-UV-254" можно просматривать в хроматоскопе, не проявляя их. Инсектицид определяют по туше-нию флуоресценции.

$R_f$ актеллика в системе гексан-ацетон (5:1) составляет 0,73, в системе гексан-этилацетат (7:3) - 0,51.

Содержание актеллика в исследуемом объекте вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \times 1000}{P}$$, где -

X - содержание препарата в пробе, мг/кг;

A - количество препарата, найденное в пробе при сравнении со стандартом, мкг;

P - навеска исследуемой пробы, г.

3.3. Газо-хроматографическое определение.

После отгонки растворителя к сухому остатку добавляют 1 или мл гексана, колбу закрывают пробкой, тщательно обмывая ее

внутреннюю поверхность. Аликвотную часть пробы (2-5 мкл) вводят в испаритель хроматографа.

Условия хроматографирования. хроматограф с термоионным детектором (ДТИ), колонка стеклянная, заполненная 5% SE-30 на хроматоне NAW-ДМСS (0,I6 -0,20 мм). Температура колонки I90°, испарителя 230°. Скорость газа-носителя азота 60 мл/мин. Фоновый ток $(I-4)\cdot I0^{-II}$ А, рабочая шкала электрометра $2,5\cdot I0^{-I0}$ А. Время удерживания актеллика в указанных условиях 2,8 мин.

Содержание актеллика в пробе определяют методом стандартов и рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{H_2 \cdot У_I \cdot C_I \cdot У_3}{H_I \cdot У_2 \cdot P}, \text{ где}$$

X - количество препаратов в пробе, мг/кг;

$C_I$ - количество препарата в стандартном растворе, мкг/мл;

$H_I$ - высота пика стандартного раствора, мм;

$H_2$ - высота пика анализируемого раствора, мм;

$У_I$ - объём стандартного раствора, введённого в хроматограф, мкл;

$У_2$ - объём анализируемого раствора, введённого в хроматограф, мкл;

$У_3$ - объём экстракта пробы для анализа, мл;

P - навеска пробы, г.

2.6. Обработка результатов анализа приведена в 2.5.2. и 2.5.3.

2.7. Авторы.

*Настоящая методика включает разработки авторских коллективов.*

I. Петрова Т.М., Андреев Ю.Б., Всесоюзный научно-исследовательский институт защиты растений, г. Ленинград.

2. Красных А.А., Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, пос. Рамонь Воронежской области.

# С О Д Е Р Ж А Н И Е

Стр.

Хлорсодержащие пестициды

1. Методические указания по определению неорона в меде методом газовой хроматографии . . . . . I
2. Методические указания по определению нитрохлора и префорана в эфирных маслах и эфиромасличном сырье методом газожидкостной хроматографии . . . . . 8
3. Методические указания по определению ЭФ-2 в воде и почве газожидкостной хроматографией . . . . . 14
4. Методические указания по определению хлорорганических пестицидов в воде, продуктах питания, кормах и табачных изделиях хроматографией в тонком слое . . 22
5. Методические указания по определению полихлорированных бифенилов в присутствии хлорорганических пестицидов в птицепродуктах методом газовой хроматографии . . . . . 45

Фосфорсодержащие пестициды

1. Методические указания по определению остаточных количеств волексона в растительном материале, почве и воде тонкослойной и газожидкостной хроматографией . 52
2. Методические указания по определению остаточных количеств гетерофоса в овощных культурах, почве и воздухе методами тонкослойной и газожидкостной хроматографии . . . . . 61
3. Методические указания по определению остаточных количеств дурсбана в растительном материале, почве и воде тонкослойной и газожидкостной хроматографией . 67
4. Методические указания по определению остаточных количеств изофоса-3 в рисе, почве и воде газожидкостной и тонкослойной хроматографией . . . . . 75
5. Методические указания по определению метилнитрофоса и фенитрооксона в зерне и продуктах переработки зерна хромато-энзимным и газохроматографическим методом . . . . . 84

Стр.

6. Методические указания по определению остаточных количеств рицида "П" в рисе и воде газожидкостной хроматографией . . . . . 93
7. Методические указания по определению метилнитрофоса, фенитроксона и п-нитрокрезола в зерне и продуктах переработки зерна методом хроматографии в тонком слое . . . . . 103
8. Энзимно-хроматографический метод определения фосфорорганических пестицидов в растительных продуктах и биосубстратах . . . . . 109

Азотсодержащие пестициды

I. Производные мочевины, гуанидина, дитиокарбаминовой кислоты, анилиды карбоновых кислот, нитропроизводные, дитиокарбаматы

1. Методические указания по определению дуала в растительном материале, почве и воде хроматографией в тонком слое . . . . . 118
2. Методические указания по определению остаточных количеств гербицида малорана в почвах с различным содержанием гумуса методом ТСХ . . . . . 124
3. Методические указания по определению остаточных количеств НЕ-166 в огурцах хроматографией в тонком слое и фотометрическим методом . . . . . 129
4. Методические указания по определению остаточных количеств тендекса в воде и почве . . . . . 136
5. Методические указания по определению ФДН (*N',N'*-диметил-*N*-(3-хлорфенил)-гуанидина) в огурцах и воде методом тонкослойной хроматографии . . . . . 139
6. Методические указания по определению дитана М-45 в продуктах питания растительного происхождения и воде . . . . . 149

II. Гетероциклические соединения

7. Методические указания по определению базаграна в воде, почве, зерне и растительном материале . . . . 152

Стр.

8. Методические указания по определению фунгицида байлетона методом ТСХ в почве, корнях, зеленых листьях, плодах томатов и огурцов . . . . . I59
9. Методические указания по газожидкостно-хроматографическому определению бентазона в почве и растениях I66
I0. Методические указания по определению диквата в семенах подсолнечника и масле из семян подсолнечника спектрофотометрическим методом . . . . . I74
II. Методические указания по определению метазина в воде, почве, овощах и биологическом материале методом хроматографии в тонком слое сорбента . . . . . I8I
I2. Методические указания по определению остаточных количеств симм-триазиновых гербицидов (симазина, атразина, пропазина, прометрина, семерона, мезоранила, метазина, метопротрина) в почве газожидкостной хроматографией . . . . . I88
I3. Методические указания по определению котофора в семенах хлопчатника методом хроматографии в тонком слое . . . . . I98
I4. Методические указания по определению ронстара (оксидиазона) в рисе методами газовой и тонкослойной хроматографии . . . . . 205
I5. Методические указания по определению тачигарена в воде методом тонкослойной хроматографии . . . . . 209
I6. Методические указания по определению тербацила в эфирных маслах и эфиромасличном сырье методом газожидкостной хроматографии . . . . . 2I4
I7. Методические указания по определению трифорина в воде . . . . . 220
I8. Методические указания по определению остаточных количеств текто(тиабендазола) в картофеле и свекле тонкослойной хроматографией . . . . . 227
I9. Методические указания по определению остаточных количеств феназона в почве, воде, свекле и растительных объектах газожидкостной хроматографией . . . . 234

## Прочие пестициды

I. Методические указания по определению остаточных количеств хлората магния полярографическим методом ... 243
2. Методические указания по определению нортрона в воде, черноземной почве и сахарной свекле ..... 248
3. Методические указания по определению содержания общей ртути в мясе, яйцах, рыбе, молочных продуктах, почве ..... 255

## Бактериальные пестициды

I. Методические указания по определению микробиологических инсектицидов не прямым иммунофлюоресцентным методом ..... 268
2. Методические указания по определению витамицина А в воздухе методом тонкослойной хроматографии ..... 276
3. Методические указания по определению полиэдров вируса ядерного полиэдроза капустной совки на растительных объектах иммунофлюоресцентным методом ..... 280

## Дополнения

I. Хроматографическое определение микроколичеств пропанида, линурона, монолинурона и их метаболитов в воде, почве и растительном материале ..... 289
2. Методические указания по определению актеллика растительной продукции, почве и воде ..... 296

gost.e-ecolog.ru