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
"28" января 1980 г.
№ 2124-80

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ПРОПАНИДА, ЛИНУРОНА, МОНОЛИНУРОНА И ИХ МЕТАБОЛИТОВ В ВОДЕ, ПОЧВЕ И РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ*)

I. Характеристика анализируемых пестицидов.

Линурон и 3,4-дихлоранилин (3,4-ДХА) представляют собой белые кристаллические вещества, плохо растворимые в воде (75 и 659 мг/л соответственно) и хорошо - в большинстве органических растворителей (низших спиртах, ацетоне, ароматических углеводородах). Активное вещество гербицида линурона -N- (3,4-дихлорфенил) -N'- метокси -N- метилмочевина. Температура плавления линурона 93-94°, 3,4-ДХА 71-72° (I,2). Линурон применяется как гербицид избирательного действия для уничтожения однолетних злаковых и двудольных сорняков на посевах кукурузы, сои, картофеля, льна и моркови. Линурон малотоксичен для теплокровных (IУ пр. г.к.), $ЛД_{50}$ для белых мышей и крыс - 2,17 - 2,40 г/кг. ДОК в картофеле - 0,1 кг/кг; в моркови наличие остатков гербицидов не допускается.

Монолинурон представляет собой белое кристаллическое вещество с температурой плавления 79-80°. Растворимость в воде - 580 мг/л при 20°, хорошо растворяется в этаноле, ацетоне, бензоле и других органических растворителях, кроме предельных углеводородов. Активное вещество монолинурона -N- (4-хлорфенил) -N- метокси -N'- метилмочевина (I,3). Химически чистый 4-хлоранилин (4-ХА) - белое кристаллическое вещество с температурой плавления 70-71°. Монолинурон применяется для уничтожения сорняков на посадках картофеля и льна-дол-

*) Л.Л.Кныр, В.П.Сухопарова, М.С.Соколов (Институт агрохимии и почвоведения АН СССР, г.Пущино)

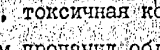
гунца. Соединение малотоксично для теплокровных: $ЛД_{50}$ для мышей и крыс – 2,0–2,5 г/кг. ДОК в клубнях картофеля – 0,II мг/кг.

Пропанид – белое кристаллическое вещество, лишенное запаха, с т.пл. 92–93°С (технический продукт плавится при 88–91°С), мол. масса 218,08 (3). Растворимость в воде – 225 мг/л (при 22°С), в бензоле – 70 г/л; в ацетоне – 1700 г/л. Хорошо растворим в хлороформе, изофороне (60% при 25°С), этаноле (54% при 25°С), бензине, петролейном и диэтиловом эфирах, хорошо растворяется в метаноле. Упругость паров – 0,008 мм рт.ст. при 40°С, по другим данным – 0,001 мм рт.ст. при 50°С. Активное вещество пропанида – 3,4-дихлоранилид пропионовой кислоты. Электронный спектр поглощения спиртового раствора пропанида характеризуется тремя максимумами ($\lambda_{макс}$) в ультрафиолетовой области – 247–250; 252,5 и 287,5; водного раствора – 248 нм.

Пропанид среднетоксичен для теплокровных животных. $ЛД_{50}$ для крыс при пероральном введении – 1384±100 мг/кг; по другим данным – 1300–2270 мг/кг, токсичная концентрация для рыб – 10 мг/л. По некоторым данным пропанид обладает кумулятивным действием – коэффициент кумуляции 1,2 при введении 1/50 $ЛД_{50}$.

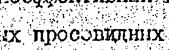
Пропанид – высокоэффективный гербицид для избирательного уничтожения злаковых просовидных сорняков на посевах риса. ДОК в рисе – 0,3 мг/кг.

Структурные формулы:

ЛИНУРОН $C_9H_{10}N_2O_2Cl_2$  мол. масса 249,1

МОНОЛИНУРОН $C_9H_{11}N_2O_2Cl$  мол. масса 241,8

ПРОПАНИД $C_9H_9ONCl_2$  мол. масса 218,03

3,4-дихлоранилин $C_6H_5NCl_2$  мол. масса 162,0

4-хлоранилин C_6H_6NCl  мол. масса 127,5

2.Принцип метода.

Определение пропанида, линурона, монолинурона, 3,4-ДХА и 4-ХА в одной пробе методом хроматографии в тонком слое основано на извлечении соединений смесью органических растворителей, их упаривании, переэкстракции гербицидов в н-гексан из строго контролируемой кислой среды и их упаривании(4). Упаренный экстракт очищают на колонке с цеолитом 4А (щелочная форма) (5) и хроматографируют на пластинках силуфол.

В качестве подвижных фаз используют бензол : ацетон (60:1,5) или н-гексан : диэтиловый эфир (1:2), в качестве азосоставляющей используют 1-нафтилэтилендиамин (6,7). Полуколичественное определение производят путем визуального сравнения интенсивности окраски и размера пятен пробы и стандартных растворов.

Чувствительность метода: для воды - 0,5-1,0 мкг/л, для почвы - 5-10 мкг/кг, для растительного материала - 0,2-0,3 мг/кг. Ошибка определения ± 5-10%.

3.Преимущество метода.

В основу предлагаемого метода положены разработанные и усовершенствованные элементы анализа, пригодные как для метода ТСХ, так и для количественного фотометрического определения. Способ заключается в очистке гексанового экстракта, содержащего исследуемые соединения на колонке с цеолитом 4А (щелочная форма), что позволяет количественно разделять гербициды и почвенные и растительные пигменты.

Преимущество рассматриваемого метода, в отличие от известных, заключается в его экспрессности, хорошей воспроизводимости, достаточно высокой чувствительности, возможности раздельного опре-

деление в одной пробе гербицида и его основного метаболита.

4. Реактивы и растворы.

1. Едкий натр "чда", 10н водный раствор (400 г NaOH растворяют, раствор доливают водой до 1 л, перемешивают).
2. Серная кислота "хч", 50%-ный водный раствор (275 мл конц. H_2SO_4 - уд. веса 1,84 осторожно вливают в 500 мл дистиллированной воды, охлаждают, перемешивают).
3. Натрий сернокислый безводный "чда".
4. Бензол "хч".
5. Ацетон "хч".
6. н-Гексан "хч".
7. Диэтиловый эфир "хч".
8. Хлороформ "чда".
9. Изопропиловый спирт "чда".
10. Проявляющие реактивы:

№1 – к 20 мл конц. HCl (d=1,10) прибавляют 80 мл этилового спирта;

№2 – 1 г азотистокислого натрия растворяют в 2 мл воды и доводят до 100 мл этиловым спиртом;

№3 – 1 г дигидрохлорида 1-нафтилэтилендиамина растворяют при нагревании на водяной бане в 2 мл воды и доводят до 100 мл этиловым спиртом.

11. Стандартные растворы: 20 мг пропанида, линурона, монолинурона, 3,4-дихлоранилина и 4-хлоранилина растворяют в 100 мл этилового спирта; концентрация этого раствора 200 мкг/мл.

5. Аппаратура и оборудование.

Роторный испаритель или выпариватель-концентратор.

Аппарат для встряхивания.

Камера для хроматографирования - стеклянный цилиндрический или прямоугольный сосуд с притертой крышкой.

Пульверизаторы стеклянные.

Шприцы медицинские туберкулиновые емкостью 1 мл.

Сито металлическое почвенное с диаметром отверстий 0,1-1,0 мм.

6. Приготовление сорбционной колонки.

Стеклянную хроматографическую колонку диаметром 15 мм, длиной 150 мм заполняют стекловатой, имеющей волокна 1-2 см (толщина слоя 0,3-0,5 мм). Далее колонку на 4-5 см заполняют предварительно измельченным (фракция 0,1-0,5 мм) цеолитом 4Å (щелочная форма).

7. Подготовка проб к определению.

Экстракция гербицидов.

а). Из воды: анализируемый образец воды (до 1 л) после отстаивания сливают в стакан, подщелачивают 20%-ным NaOH до pH 10, переносят в делительную воронку и экстрагируют хлороформом (3х50 мл). Объединенный экстракт высушивают, пропуская через безводный сернокислый натрий, и растворитель упаривают досуха.

б). Из сухой или влажной почвы и почвенной суспензии: 100-500 г почвы или суспензии, освобожденной от растительных остатков, заливают 100-300 мл ацетона, 3-5 мл 20%-ного NaOH, тщательно перемешивают стеклянной палочкой, после чего встряхивают в течение часа. Затем водно-ацетоновый экстракт фильтруют через воронку Бюхнера, колбу ополаскивают ацетоном, почву на фильтре промывают ацетоном (3х15-20

мл). Ацетон отгоняют на роторном испарителе, водную часть экстракта подщелачивают 20%-ным NaOH до pH 10, переносят в делительную воронку и токсиканты экстрагируют хлороформом (3x20–30 мл) Объединенный экстракт высушивают, пропуская через безводный сернокислый натрий, и растворитель упаривают досуха.

в). Из растительного материала (водоросли, корнеплоды моркови): 50 г измельченного материала (морковь, водоросли) заливают 150 мл смеси н-гексан: ацетон (9:1), встряхивают в течение 1 ч и фильтруют. Остаток на фильтре трижды промывают смесью растворителей (3x15-20) мл). Из объединенного экстракта отгоняют органические растворители, жидкую фазу, оставшуюся после отгонки растворителей, количественно переносят в делительную воронку. Колбу несколько раз обмывают дистиллированной водой, сливая ее затем в воронку, и доводят общий объем пробы до 100 мл. Приливают 18 мл 50%-ной серной кислоты, экстрагируют гербициды хлороформом (3x10 мл), отгоняют органический растворитель и следы хлороформа удаляют током воздуха.

8. Экстракция 3,4-ДХА и 4-ХА.

После экстракции гербицидов сернокислый раствор (100 мл) нейтрализуют, подщелачивают до pH 10 (~ 30 мл 10н NaOH) и экстрагируют 3,4-ДХА(4-ХА) хлороформом (3x20 мл), отгоняют органический растворитель и следы хлороформа удаляют током воздуха.

9. Очистка экстрактов, содержащих гербициды.*)

Сухие остатки в колбах, содержащих гербициды растворяют в 10 мл

*) Очистку на колонке с сорбентом проводят только для проб, содержащих пропанид, линурон и монолинурон, а пробы с 3,4-ДХА (4-ХА), полученные при раздельной экстракции, в очистке не нуждаются.

н-гексана и для отделения пигментов раствор пропускают через колонку с цеолитом со скоростью 2-4 мл/мин. После подсушивания сорбента вакуумом соединения вымывают 50 мл смеси растворителей н-гексан: диэтиловый эфир (3:1), затем элюат упаривают досуха и далее соединение анализируют.

9. Хроматографирование.

Сухие остатки, содержащие анализируемые соединения количественно переносят диэтиловым эфиром на пластинки силуфол, пластинки помещают в камеру для хроматографирования; подвижный растворитель - бензол:ацетон (60:1,5). Край пластинки погружают в растворитель на глубину 5-7 мм. Когда фронт растворителя поднимается на высоту 10 см, пластинку ополаскивают, вновь заполняют смесью растворителей и производят повторное хроматографирование. Затем пластинки термостатируют при 150°С: для определения пропанида в течение 40 мин, для определения линурона и монолинурона - 5 мин. После этого пластинки охлаждают и опрыскивают последовательно проявляющими реактивами № 1,2,3. При наличии в пробе ароматических аминов, пропанида, линурона и монолинурона появляются фиолетовые пятна на белом фоне. R_f для 3,4-ДХА - 0,64±0,02; для линурона 0,42 ±0,02; для монолинурона - 0,26±0,02; для 4-ХА - 0,36±0,02 для пропанида - 0,25±0,02.

10. Обработка результатов анализа.

Содержание токсикантов рассчитывают по формуле:

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

где X - содержание препарата в пробе (мг/кг или мг/л);

A - количество препарата, найденное путем визуального сравнения размера и интенсивности окраски пятен пробы и стандартных растворов, мкг;

B - навеска пробы (г) или объем аликвоты (мл).

Вместо термостатирования можно облучать пластинки хроматоскопом типа БУФ-3 (расстояние от лампы 15 см, экспозиция 10 мин).

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