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.
№ 2130-80

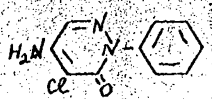
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по определению остаточных количеств феназона в почве, воде, свекле и растительных объектах газожидкостной хроматографией.

I. Краткая характеристика препарата.

Феназон, по номенклатуре СЭВ – пирамин – гербицид для борьбы с сорняками в посевах свеклы. Действующее начало препарата I-фенил-4амино-5 хлорпиридазон-6.

Структурная формула



$C_{10}H_8N_3OCl$

Мол.масса 221,7

Синонимы: хлоразон, пиразон.

В чистом виде – кристаллы белого цвета с Т.пл. 205-206°С. Растворимость при 20°С в воде 0,03 %, в метиловом спирте 3,6 %, ацетоне 2,8 %. Практически нерастворим в гексане.

$ЛД_{50}$ для крыс 3500 мг/кг.

ДОК феназона в свекле не установлена.

ПДК феназона в воде и почве также не установлена.

2. Методика определения феназона в воде, почве и растительном материале газожидкостной хроматографией

2.I. Основные положения

2.I.I. Принцип метода.

Методы основан.. на извлечении феназона из свеклы и почвы

ацетоном, очистке экстрактов перераспределением в системах двух несмешивающихся жидкостей и газохроматографическом определении с помощью детектора по захвату электронов. Из воды феназон извлекают этилацетатом и без очистки экстракта определяют газожидкостной хроматографией (3).

Для дополнительной идентификации феназона (I,2) можно проводить гидролитическое разложение гербицида, бромирование выделившегося анилина и определять последний газожидкостной хроматографией с детектором по захвату электронов.

2.I.2. Метрологическая характеристика метода.

Предел обнаружения по феназону I нг.

Диапазон измеряемых концентраций

вода	0,0005 - 0,006 мг/л
почва	0,02 - 0,24 мг/кг
свекла	0,02 - 0,24 мг/кг
растительный материал	- I,2 мг/кг

Среднее значение процента определения $\bar{c}$ при n = I5

вода	8I,3%
почва	74,8%
свекла	74,8%

Стандартное отклонение S

воде	± I3,3 %
почва	± I3,9 %
свекла	± I3,9 %

Относительное стандартное отклонение S_r

вода	± I6,3 %
почва	± I8,6 %
свекла	± I8,6 %

Доверительный интервал среднего при p = 0,95 и n = 5

вода	8I,3 ± I7,I %
почва	74,8 ± I7,9 %
свекла	74,8 ± I7,9 %

Размах варьирования R

вода	70 - I00 %
почва	60,2 - II7,0 %
свекла	60,2 - II7,0 %

2.1.3. Избирательность метода.

Метод селективен. Почие пестициды определению не мешают.

2.2. Реактивы и растворы.

Ацетон ГОСТ 2603-71, осч.

Гексан ТУ -6-09-3375-78, свежеперегнанный

Этилацетат ГОСТ 22300-76 хч

Сульфат натрия Na_2SO_4, ГОСТ 4166-76, безводный, хч

Соляная кислота ГОСТ 3118-67, 1н

Натр едкий NaOH ГОСТ 4328-60 10н

Хроматон-N- AW -ДМСS (0,20 - 0,25 мм) с 5% ХЕ-60, ЧССР

Стандартные растворы феназона в ацетоне с содержанием 100 мг/мл (раствор А) и 10 мкг/мл (раствор Б). Для приготовления стандартного раствора берут на аналитических весах навеску феназона 10 мг ± 0,0002 г помещают её в мерную колбу емкостью 100 мл. Навеску растворяют в 10-15 мл ацетона и доводят до метки тем же растворителем. Раствор А содержит 100 мкг/мл феназона. Из раствора А пипеткой переносят в мерную колбу на 100 мл 10 мл раствора и доводят до метки ацетона. Раствор Б содержит 10 мкг/мл феназона.

Растворы феназона стабильны при хранении в холодильнике в течение 6 месяцев.

Диэтиленгликоль щелочной. 1 г гранулированного едкого кали растворяют в 1 мл дистиллированной воды и доводят до 25 мл диэтиленгликолем.

Диэтиленгликоль МРТУ 6-09-6131 -69,4

Кали едкий ГОСТ 4203-65, гранулированный

Серная кислота ГОСТ 4204-66, 1 н

Калий бромид - ГОСТ 4160-65 чда 20%-ный раствор в 1 н серной кислоте. Хранить в темном, холодном месте.

Калий бромат ГОСТ 4457-65 х.ч., 1%-ный водный раствор. Хранить в темном холодном месте.

Толуол ГОСТ 5987-69, хч.

Мезидин (2,4,6-триметиланилин), 0,2 %-ный раствор в 1н растворе серной кислоты. Хранить в темном холодном месте.

Азот особой чистоты ГОСТ 9293-74, газообразный из баллона с редуктором.

Хроматон N-AW-ДМСS (0,20-0,25 мм) с 5% ХЕ-60.

Хроматон N-AW-ДМСS (0,16 - 0,20 мм) с 5% SE-30.

2.3. Приборы и посуда.

Хроматограф ЛХ – ЗМДП с детектором по захвату электронов или другой хроматограф, имеющий непосредственный вход из колонки в детектор.

Аппарат для встряхивания.

Ротационный вакуумный испаритель, ИР-1М.

Делительные воронки на 500 мл и 150 мл ГОСТ 10054-75

Колбы круглодонные ГОСТ 10394-72 на 100 мл и 50 мл.

Колбы плоскодонные ГОСТ 10394-72 на 100 мл и 500 мл.

Мерные цилиндры ГОСТ 1770-74 на 100 мл.

Микрошприц на 100 мкл МШ-1.

Пипетки ГОСТ 1770-74 на 2 и 1 мл

Мерные колбы ГОСТ 1770-74 на 50 и 100 мл.

Почвенное сито.

2.4. Подготовка к определению.

Подготовку газожидкостного хроматографа к работе проводят согласно инструкции. Свежую, откондиционированную колонку перед работой "насыщают" большими количествами феназона, вводя последовательно 10 раз по 10 мкл раствора А, содержащего 100 мкг/мл феназона. Колонку насыщают до получения воспроизводимых по величине пиков.

Отбор и подготовка проб.

Отбор проб для анализа проводят в соответствии с утвержденным МЗ СССР "Методическими указаниями по отбору проб для определения остатков пестицидов".

Для анализа отбирают среднюю пробу воды – 1 л; почвы, известной влажности – 25 г (просеивают через почвенное сито);

Свеклы после измельчения на крупной терке – 100 г.

2.5. Проведение определения.

2.5.1. Определение по феназону.

Растительная масса, почва. 10-25 г. измельченной растительной массы помещают в круглодонную колбу на 250 мл или 25 г почвы, заливают 50 мл ацетона, колбу помещают на водяную баню с температурой 70-75°С. К колбе подсоединяют обратный холодильник и выдерживают пробы в этих условиях в течение 1 часа. Содержание колб охлаждают и отфильтровывают. Остаток в колбе промывают дважды небольшими порциями ацетона. Ацетоновый экстракт упаривают с помощью ротационного вакуумного испарителя до объема ~ 20 мл. К остатку добавляют 60 мл 1 н раствора соляной кислоты и 25 мл гексана. Со-

держимое колб охлаждают и отфильтровывают. Остаток в колбе промывают дважды небольшими порциями ацетона. Ацетоновый экстракт упаривают с помощью ротационного вакуумного испарителя до объёма ~ 20 мл. К остатку добавляют 60 мл 1н раствора соляной кислоты и 25 мл гексана. Содержимое воронки хорошо встряхивают. Гексановый слой отбрасывают. Экстракцию гексаном повторяют еще два раза. К водно-ацетоновому кислому раствору пипеткой добавляют 10 н раствор едкого натра до pH ~ 10-11 и экстрагируют феназон этилацетатом тремя порциями по 20 мл. Фракции этилацетана объединяют, сушат над безводным сульфатом натрия, порциями фильтруют в грушевидную колбу ёмкостью 25 мл. Каждую порцию с помощью ротационного вакуумного испарителя концентрируют до объёма 1-2 мл. Сульфат натрия в колбе и на фильтрате промывают небольшим количеством этилацетата. Последнюю порцию фильтрата отгоняют досуха. К сухому остатку от растительной массы пипеткой добавляют в зависимости от окраски остатка 1-5 мл ацетона. К почвенному сухому остатку пипеткой добавляют 1 мл ацетона. Колбу закрывают пришлифованной пробкой, стенки колбы тщательно обмывают растворителем, в хроматограф вводят 5 мкл полученных растворов.

Свекла (3)(столовая, сахарная, кормовая)

Навеску свеклы заливают 100 мл ацетона и экстрагируют феназон с помощью механического встряхивания в течение 30 минут. Экстракцию повторяют трижды. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр в плоскодонную колбу на 500 мл. Объединный экстракт оставляют на 30 минут, при этом происходит коагуляция коэкстрактивных примесей, нерастворимых в ацетоне. Через 30 минут ацетоновый экстракт аккуратно фильтруют в колбу ротационного вакуумного испарителя и упаривают до 30 мл. Упаренный экстракт количественно с помощью ацетона перечосят в делительную воронку на 150 мл и прибавляют 30 мл 1н соляной кислоты и 20 мл гексана. Содержимое воронки хорошо встряхивают и гексановый слой отбрасывают. Экстракцию гексаном повторяют 3 раза. К водно-ацетоновому раствору приливают 5-10 мл 10н NaOH до pH-9, осторожно встряхивают и добавляют 200 мл дистиллированной воды, затем феназон экстрагируют 40 мл этилацетана. [illegible]

...этатом повторяют трижды. Раствор этилацетата промывают водой 2 раза по 20 мл. Этилацетатный экстракт сушат над безводным сульфатом натрия и упаривают досуха. К сухому остатку пипеткой добавляют 2 мл ацетона, колбу закрывают пробкой на шлифе, тщательно смывают стенки колбы растворителем и вводят в хроматограф 5 мкл полученного раствора.

Вода (I-3). К I л воды, помещенной в делительную воронку, ёмкостью I,5 л добавляют I5 мл Iн едкого натра, приливают I00 мл этилацетата и хорошо встряхивают, происходит насыщение воды этилацетатом. Затем феназон экстрагируют этилацетатом 3 раза по I00 мл. Раствор этилацетата сушат над безводным сульфатом натрия. Отгоняют растворитель досуха, приливают I мл ацетона и хроматографируют 5 мкл.

Условия хроматографирования (3)

Хроматограф ЛХ - 8МДП с ДЗЗ

Скорость протяжки ленты самописца 0,33 см/мин

Рабочая шкала электрометра 3

Стеклянная колонка длиной I20 см, внутренним диаметром 3,5 мм заполнена хроматоном N-AW-ДМСС (0,20 -0,25 мм) с 5% ХЕ-60. Температура колонки, испарителя и детектора 250°С.

Скорость азота 80 мл/мин. Время удерживания 9 мин 47 с.

В хроматограф вводят 5мкл рабочего раствора.

Линейность детектирования I-I2 нг. Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки по градуировочному графику.

Для построения градуировочного графика готовят серию стандартных растворов. Для этого в серию пробирок на I0 мл с приплифованной пробкой из раствора Б пипеткой приливают 0,2; 0,5; I,0, 2,0 и 3,0 мл, что соответствует 2,5, I0, 20 и 30 мкг. В пробирки соответственно добавляют 9,8; 9,5; 9,0; 8;7 мл ацетона. Пробирки закрывают пробками, хорошо перемешивают их содержимое. Полученные растворы соответственно содержат 0,2; 0,5; I; 2 и 3 мкг/мл (нг/мкл).

В хроматограф вводят последовательно в 3-х повторностях по 5 мкл полученных растворах, т.е. I; 2,5; 5; I0 и I5 нг, после чего строят график зависимости высоты пика от концентрации.

Если при введении в хроматограф рабочих растворов получаются слишком большие пики или происходит "зашкаливание", готовят менее концентрированные растворы, добавляя к конечному объёму пипеткой замеренное количество дополнительно ацетона.

2.5.2 Определение по бромированному продукту щелочного гидролиза феназона (по бромированному анилину) (I-2)

Извлечение феназона и очистку экстракта проводят по схеме, указанной в п. 2.5.I. После удаления растворителя к сухому остатку прибавляют I мл щелочного диэтиленгликоля и пробы помещаются в термостат с температурой I80° на I5 мин. Концентраторы должны быть плотно закрыты пришлифованными пробками во все время термостатирования.

К охлажденной пробе после гидролиза прибавляют I0 мл Iн раствора серной кислоты, 0,5 мл 0,2% раствора мезидина, после чего добавляют 20% раствор бромида калия и в последнюю очередь I% раствор бромата калия. Соотношение объёмов этих двух растворов должно быть одинаковым. Обычно добавляют по 0,2 мл этих растворов, но в случае большего содержания примесей объёмы можно довести до I мл. Содержимое колб тщательно перемешивают , и колбы в закупоренном виде помещают в темноту на I5 мин. По окончании бромирования избыток выделившегося брома удаляют небольшими количествами натрия сульфата б/в до обесцвечивания растворов.

Раствор подщелачивают I0н раствором едкого натра (около I,5 мл) и экстрагируют 5 мл толуола хроматографируют 2 мкл полученного толуольного экстракта.

Условия хроматографирования

	5%SE-30	5 % XE-60
Размеры колонки	I м х 3мм	2 м х 3 мм
Материал колонки	стеклянная	
Расходы газа-носителя: через колонку	40	60
на поддувку, мл/мин	I20	I50
Температура - термостата колонок	I60°	I90°
- термостата детекторов	2I0°	230°
- испарителя	2I0°	230°
Хроматографируемый объект, мкл	2	2
Время удерживания, мин.	2 мин I5 сек.	

2.6 . Обработка результатов анализа.

Содержание феназона в анализуемой пробе в мг/кг вычисляют по формуле:

$$C = \frac{C_{рп} \cdot У}{Уа \cdot А} \text{ мг/кг, где}$$

$C_{рп}$ – количество феназона, найденное по градуировочному графику в нг

Уа – объём аликвоты, которую вводят в хроматограф в мкл

У – объём рабочего раствора в мл

А – навеска анализируемой пробы в г или объём анализируемой воды в мл.

3. Требования безопасности.

При выполнении операций по определению пирамина следует руководствоваться требованиями безопасности при работе с соединениями 2-го и 3-го класса токсичности (мезидин, феназон), а также с легкогорючими растворителями.

4. Литература

I. Новикова К.Ф., Мельцер Ф.Р., Эйнисман Л.И. "Определение феназона и дихлорпиридазона в воздухе рабочей зоны при производстве феназона" в сб. "Методические указания на определения вредных веществ в воздухе рабочей зоны", вып. I6, в печати.

5. А в т о р ы

Настоящая методика включает разработки авторских коллективов.

I. Кофман И.Ш., Институт физиологии растений АН УССР, г. Киев.

2. Кофанов В.Л., ИКХХВ АН УССР, г. Киев.

3. Новикова К.Ф., Эйнисман Л.И., ВНИИ химических средств защиты растений, г. Москва.

6. Дополнение

Настоящие Методические указания рекомендуются в дополнение к "Колориметрическому методу определения пирамина (феназона) в свекле, почве, воде", разработанному В.Э. Эгерт, А.А. Лиелгадзе и "Хроматографическому методу определения пирамина в сахарной свекле", разработанному М.А. Клисенко, В.Заборовской, утвержденным МЗО СССР 3 марта 1971 г. и опубликованным в МУ часть УІ, том П стр. 541-545 и 546-550.

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