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).

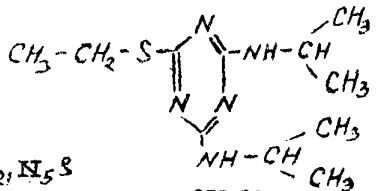
Методические указания согласованы и одобрены отделом перспективного планирования санэпидслужбы ИМПиТМ им.Е.И.Марциновского и лабораторным советом при Главном санитарно-эпидемиологическом управлении Минздрава СССР.

"Утверждаю"
Заместитель Главного государственного
санитарного врача СССР
А.И.Заиченко
"19"октября 1979г. №2092-79

Методические указания по определению котофора в семенах хлопчатника методом хроматографии в тонком слое

I. Характеристика анализируемого пестицида

Котофор, 2-этил-тио-4,6-бис-(изопропиламино)-симм-триазин, ПС I6068, санкап.



$C_{11}H_{21}N_5S$

Молекулярная масса 255,39.

Химически чистый препарат представляет собой белый порошок с температурой плавления I04-I06°С. Трудно растворяется в воде (I6 мг/л), хорошо - в органических растворителях - хлороформе, ацетоне, метаноле.

Технический препарат котофора представляет собой смачивающийся порошок, содержащий 80% действующего вещества.

Препарат котофор малотоксичен для теплокровных(для крыс $ЛД_{50}$ 4760мг/кг, для мышей $ЛД_{50}$ 2800мг/кг), относится к группе веществ умеренно кумулирующих ($k_{кум.}$ 2,6).

ДОК котофора в хлопковом масле 4,5мг/кг, в жмыхе - 0,38мг/кг. ПДК котофора в воде составляет I,0мг/л, а при поступлении в организм с водой 5,0 мг/л.

Как и прочие симм-триазины котофор стоек во внешней среде. В почве и воде он сохраняет свою активность от I0 до I4 месяцев в зависимости от внесенного количества.

2. Методика определения котофора в семенах хлопчатника методом тонкослойной хроматографии

2.I. Основные положения

2.I.I. Принцип метода

Методика основана на хроматографировании котофора в тонком слое пластинок "Силуфол" или тонком слое силикагеля КСК в системе н-гексан–ацетон или четыреххлористый углерод–диэтиловый эфир после экстракции метанолом и очистки экстракта I N соляной кислотой.

2.I.2. Метрологическая характеристика методики

Диапазон определяемых концентраций 0,06мг/кг–I,0мг/кг. Предел обнаружения 3мкг в анализируемой пробе, что соответствует 0,06мг/кг. Среднее значение определения стандартных количеств $\bar{C}$ = 84%, число параллельных определений n=5, дисперсия 28,6, стандартное отклонение S =5,348, величина точного измерения (доверительный интервал)$\Delta_{0,95;4}$=5, относительное стандартное отклонение S_x=5,9% (по величине точного измерения). Среднее значение определения стандартных количеств и доверительный интервал среднего (84± 5%) приведены для 3-х концентраций, находящихся в определяемом диапазоне концентраций (0,06мг/кг, 0,1мг/кг, 0,2мг/кг).

Определению остаточных количеств котофора в семенах хлопчатника близкие по строению и области применения пестициды (например, прометрин) не мешают.

2.2. Реактивы и материалы

Метиловый спирт, х.ч. ГОСТ 6995–67
Ацетон, ч.д.а. ГОСТ 2603–7I
н-Гексан, х.ч. ТУ6–09–3375–73
Хлороформ, ч.д.а. ГОСТ 3160–5I
Этиловый эфир, наркозный
Углерод четыреххлористый, х.ч. ГОСТ 20288–74
Натрий сернокислый безводный, х.ч. ГОСТ 4166–66
Силикагель КСК , ГОСТ 3956–76, ТУ6–09–2523–72
Кальций сернокислый, ч.д.а. ГОСТ 3210–66
Бромфеноловый синий водорастворимый, индикатор, ч.д.а. ТУ6–09–3719–74

Серебро азотнокислое, х.ч. ГОСТ 1277-75
Лимонная кислота, х.ч. ГОСТ 3652-69
Соляная кислота, х.ч. ГОСТ 3118-67
Натр едкий, х.ч. ГОСТ 4328-66
Фильтры бумажные 11,0см, ТУ6-09-1678-72
Пластинки для хроматографии "Силуфол"(ЧССР)
Вата обезжиренная (гигроскопическая)
Вода дистиллированная
Раствор бромфенолового синего в ацетоне-0,4%
Водный раствор азотнокислого серебра-2%
Водный раствор лимонной кислоты-1%
Водный раствор соляной кислоты-1 н
Водный раствор едкого натра-1н
Стандартный раствор котофора х.ч. в хлороформе - 100мкг/мл

2.3. Приборы, аппаратура, посуда

Аппарат для встряхивания жидкости в лабораторной посуде ТУ 64-1-1081-73
Шкаф вытяжной химический
Шкаф сушильный электрический общелабораторного назначения ТУ 16-531-299-71
Испаритель ротационный ИР-1М, ТУ 25-11-917-74
Баня водяная ТУ 46-22-608-75
Камера для опрыскивания
Камера для хроматографирования ГОСТ 10565-75
Пульверизатор стеклянный
Воронка делительная на 250мл ГОСТ 8613-75
Воронки простые конусообразные с коротким стеблем №5 ГОСТ 8613-75, ТУ 25-11-1061-75
Колбы лабораторные конические на 250мл ГОСТ 10394-72
Колбы лабораторные круглодонные короткогорлые на 100мл ГОСТ 10394-72
Колбы мерные с коническим шлифом на 100мл ГОСТ 1770-74
Капилляры стеклянные
Пипетки с делениями на 10мл ГОСТ 20292-74
Микропипетки на 0,1мл с ценой деления 0,001мл
Сито лабораторное с диаметром отверстий 2 мм
Пластинки стеклянные для нанесения тонкого слоя сорбента 90 х 120мм
Колбы мерные с коническим шлифом на 1000мл ГОСТ 1770-74

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Приготовление стандартного и других растворов

Приготовление стандартного раствора. 10 мг котофора х.ч. растворяют в 100мл хлороформа. В 1мл такого раствора содержится 100мкг котофора. Хранят в холодильнике в плотно закрытой склянке. Срок хранения 3 месяца. Химически чистый котофор можно получить из технического препарата. Способ очистки технического препарата, содержащего 80% действующего вещества, заключается в двукратной перекристаллизации из хлороформа. Полнота очистки контролируется по температуре плавления 104-106°С.

Приготовление 1н раствора соляной кислоты. 83мл 36% соляной кислоты ($d = 1,1789 г/см^3$) доводят в мерной колбе до 1л дистиллированной водой. Раствор можно приготовить из фиксанала. Хранить в прохладном месте в плотно закрытой склянке. Срок хранения 3 месяца.

Приготовление 1н раствора едкого натра. 40г едкого натра растворяют в дистиллированной воде и доводят до 1л. Рекомендуется использовать свежеприготовленные растворы едкого натра.

Приготовление 0,4%-ного раствора бромфенолового синего в ацетоне. 0,4 г бромфенолового синего растворяют в 125,9мл ацетона. Хранят в холодильнике в плотно закрытой склянке. Срок хранения 2 недели.

Приготовление 2%-ного водного раствора азотнокислого серебра. 2г азотнокислого серебра растворяют в 98 мл дистиллированной воды. Хранят в холодильнике в плотно закрытой склянке. Срок хранения 1 неделя.

Приготовление проявляющего реактива №1. Смешивают равные объемы 0,4%-ного раствора бромфенолового синего в ацетоне и 2%-ного водного раствора азотнокислого серебра. Рекомендуется свежеприготовленная смесь.

Приготовление 4%-ного водного раствора лимонной кислоты (проявляющий реактив №2). 4г лимонной кислоты растворяют в 96 мл дистиллированной воды. Хранить в холодильнике в плотно закрытой склянке. Срок хранения 1 месяц.

2.4.2. Приготовление хроматографических пластинок

Тщательно промытую содой, хромовой смесью, дистиллированной водой и высушенную стеклянную пластинку 90х120мм протирают этиловым спиртом или диэтиловым эфиром и покрывают сорбционной массой, приготовляемой из 35г силикагеля КСК, 2г кальция сернокислого и 90 мл дистиллированной воды. Силикагель предварительно очищают от примеси. Для чего заливают на 18–20 часов разбавленной соляной кислотой (1:1), кислоту сливают, промывают силикагель водой и кипятят 2–3 часа с разбавленной азотной кислотой (1:1), промывают водопроводной водой, затем дистиллированной водой до нейтральной реакции промывных вод, сушат в сушильном шкафу 4–6 часов при температуре 130°С. Силикагель дробят и просеивают через сито 100меш. Хранят в склянке с притертой пробкой.

10 г сорбционной массы равномерно распределяют по всей поверхности пластинки путем ее покачивания. Сушат пластинки при комнатной температуре 18–20 часов. Хранят в эксикаторе.

2.4.3. Условия хроматографирования и способ количественного определения

Пробу и стандартные растворы наносят на хроматографическую пластинку так, чтобы размер пятна не превышал 10–12мм. Центр пятна должен находиться на расстоянии 15мм от нижнего края пластинки. Нанесение пробы на пластинку производится с помощью пипеток с оттянутым концом или капилляров. Стандартные растворы наносятся микропипеткой. Пластинки с нанесенными пробами помещаются в хроматографическую камеру, представляющую собой стеклянный сосуд с притертой стеклянной крышкой, либо в эксикатор. Камера содержит смесь растворителей н-гексана и ацетона (10:3), либо четыреххлористого углерода и диэтилового эфира (4:1). Перед хроматографированием камера насыщается парами системы подвижных растворителей в течение 30 минут. После подъема фронта растворителей на высоту 10 см хроматографирование прекращается. В вытяжном шкафу удаляются пары растворителей. Затем обрабатывают хроматографическую пластинку в камере под вытяжным шкафом с помощью пульверизатора проявляющим реактивом №1. Пластинку подсушивают на воздухе и обрабатывают проявляющим реактивом №2.

Котофор обнаруживается на пластинках в виде синих пятен со следующими величинами R_f:

Система подвижных растворителей	R_f	
	Силикагель	Силуфол
Гексан + ацетон (10:3)	0,52 ± 0,01	0,50 ± 0,01
Четыреххлористый углерод + диэтиловый эфир (4:1)	0,21 ± 0,01	0,29 ± 0,01

Количество котофора в пробе определяют сравнением размеров и интенсивности окраски пятен пестицида на хроматограммах пробы и стандартного раствора.

2.4.4. Отбор проб

Отбор пробы производится в соответствии с "Правилами отбора проб для анализа пестицидов", рекомендуемыми специалистами СЭВ. Отобранные пробы семян хлопчатника должны содержаться в сухом месте, в укупоренной, защищенной от света (стеклянной или полиэтиленовой) таре.

В процессе подготовки к анализу семена хлопчатника необходимо освободить от волокон ваты, очистить от кожуры и измельчить.

2.5. Проведение определения

50 г измельченных семян хлопчатника помещают в коническую колбу на 250мл, заливают метиловым спиртом до покрытия пробы и оставляют на ночь. Препарат трижды экстрагируют метиловым спиртом порциями по 75мл. Метаноловые экстракты объединяют и сливают их через слой безводного сернокислого натрия. Упаривают метаноловый экстракт на водяной бане до небольшого объема (0,1 – 0,2мл). Остатку метилового спирта дают испариться полностью при комнатной температуре. К сухому остатку прибавляют 5мл 1н раствора соляной кислоты, тщательно очищая стенки колбы стеклянной палочкой. Смыв сливают в делительную воронку через слой ваты. Колбу еще трижды ополаскивают 1н раствором соляной кислоты по 5мл и сливают в ту же делительную воронку. Водный раствор котофора в ионизированной форме дважды промывают в делительной воронке хлороформом и органические вытяжки отбрасывают. Затем в делительную воронку приливают 1н раствор едкого натра до нейтральной реакции (по индикаторной бу-

маге). После этого в воронку прибавляют равный объем хлороформа, предварительно насыщенного водой и встряхивают 1-2 минуты. Хлороформный экстракт сливают через воронку с безводным сернокислым натрием в колбу для отгонки растворителя. Экстракцию хлороформом повторяют трижды, сливая хлороформ в ту же колбу. Хлороформ отгоняют на водяной бане, либо на приборе для отгонки растворителя до небольшого объема (0,1 - 0,2мл). Этот объем наносят на хроматографическую пластинку, после чего еще трижды ополаскивают колбу хлороформом (небольшими объемами), смывы также наносят на пластинку в центр пятна.

Затем пластинка (силикагелевая или "Силуфол") помещается в хроматографическую камеру. Далее определение проводят в условиях изложенных в подразделе 2.4.3.

2.6. Обработка результатов

Содержание остатков котофора в анализируемой пробе вычисляют как среднее из двух параллельных определений.

Допустимое расхождение результатов параллельных определений не должно превышать $2,8 \times S$.

Расчет содержания остаточных количеств котофора проводят по формуле:

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

где: X - содержание котофора в анализируемой пробе, мг/кг;

A - количество котофора, найденное путем сравнения с стандартными количествами, мкг;

P - масса пробы, г.

3. Требования безопасности

При определении остаточных количеств котофора необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с ядовитыми, взрыво- и огнеопасными веществами.

---

4. Методика разработана М.С.Петросян, Л.А.Гунятян, С.Г.Геворкян (Арм. филиал ВНИИГИПТОКС, Ереван)

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