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).

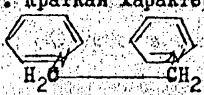
Методические указания согласованы и одобрены отделом перспективного планирования санэпидслужбы ИМПиТМ им.Е.И.Марциновского и лабораторным советом при Главном санитарно-эпидемиологическом управлении Минздрава СССР.

УТВЕРЖДАЮ
Зам.Главного Государственного
санитарного врача СССР
А.И.Зайченко
19 октября 1979 г.
№ 2073-79

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ДИКВАТА В СЕМЕНАХ ПОДСОЛНЕЧНИКА И МАСЛЕ ИЗ СЕМЯН ПОДСОЛНЕЧНИКА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Настоящие методические указания распространяются на определение содержания диквата в семенах подсолнечника и масле из семян подсолнечника. Указания предназначены для санитарного контроля.

1. Краткая характеристика препарата.



$2Br^-$ $C_{12}H_{12}N_2Br_2H_2O$

Мол.масса 362,1

Дикват- действующее начало препарата "Реглон" (преглон)-1,1'-этилен-2,2'-дипиридилий дибромид-кристаллическое вещество слабожелтого цвета, с т.пл.335-340°С;при 20°С в 100 г воды растворяется 70 г диквата. Нерастворим в несмешивающихся с водой органических растворителях. Стабилен в кислой и нейтральной среде, в щелочной среде образует окрашенный продукт. Применяется в форме 20%-ного водного раствора для предпосевной обработки с целью уничтожения сорной растительности и послевсходовой борьбы с сорняками во фруктовых садах и виноградниках, для борьбы с водными сорняками и сорняками в лесоводстве, для обновления пастбищ, для предуборочной десикации ряда культур. $ЛД_{50}$ для крыс 280 мг/кг. ДОК диквата в семенах подсолнечника и масле из семян подсолнечника в настоящее время не установлены.

2. Методика определения диквата.

2.1. Принцип метода. Метод основан на гидролизе анализируемой пробы в горячем растворе серной кислоты, ионообменной адсорбции диквата из нейтрализованного гидролизата на колонке с катионообменной смолой, элюировании диквата из колонки и его спектрофотометрическом определении в элюате после восстановления в виде свободных радикалов.

2.2. Метрологическая характеристика метода приведена в таблице.

2.3. Реактивы и растворы.

Бумага универсальная индикаторная, ТУ 6-09-1181-71

Натр едкий, чда, ГОСТ 4328-66,0,3 н водный раствор

Динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (трилон Б), чда, ГОСТ 10652-63,5%-ный водный раствор

Метабисульфит натрия, чда, ГОСТ 10575-63

Дитионит натрия, ч, ТУ МХП ГХП 126-56. Для приготовления восстанавливающего реактива растворяют 0,2 г дитионита натрия и 0,2 г. метабисульфита натрия в 100 мл 0,3 н водного раствора гидроокиси натрия. Дитионит натрия нестабилен в присутствии влаги, поэтому он должен хранится в склянках с притертыми пробками в эксикаторе. Восстанавливающий реактив готовится непосредственно перед употреблением и может быть использован не более, чем в течение 1 часа после приготовления.

Серная кислота, хч, ГОСТ 4204-66,18 М водный раствор

Хлористый аммоний,хч, ГОСТ 3773-60, 2,5%-ный и насыщенный водный раствор

Хлористый натрий, чда, ГОСТ 4233-66, насыщенный водный раствор

Целит 545

Стеклоткань

Стандартные растворы дихромата в насыщенном водном растворе хлористого аммония (эти растворы стабильны в обычных лабораторных условиях; следует избегать попадания на них прямых солнечных лучей):

а) Основной раствор, 250 мг/л. Растворяют 0,1229 г чистого дихромата дибромида (моногидрат $C_{12}H_{12}N_2Br_2H_2O$, молекулярный вес 362,1; 50,9% - катиона) в 250 мл насыщенного водного раствора хлористого аммония

б) Раствор А,10 мг/л. Разбавляют 10 мл основного раствора до 250 мл насыщенным водным раствором хлористого аммония

в) Раствор Б,1,5 мг/л. Разбавляют 15 мл раствора А до 100 мл насыщенным водным раствором хлористого аммония

г) Раствор В,1,0 мг/л.Разбавляют 10 мл раствора А до 100 мл насыщенным водчым раствором хлористого аммония

д) Раствор Г,0,5 мг/л.Разбавляют 5 мл раствора А до 100 мл насыщенным водным раствором хлористого аммония

е) Раствор Д,0,25 мг/л.Разбавляют 2,5 мл раствора А до 100 мл насыщенным водным раствором хлористого аммония

Катионообменная смола КУ-2, Na-форма, фракция 0,25-0,5 мм. Для приготовления монообменной хроматографической колонки 3,5 г катионита КУ-2 в Na-форме,предварительно отмытого от примесей железа и органических примесей,переносят с водой в бюретку на 25 мл, на дно которой предварительно помещают комок стеклянной ваты или стеклоткани.Через колонку пропускают последовательно 20 мл насыщенного водного раствора хлористого натрия и 50 мл дистиллированной воды со скоростью 5 мл/мин.После этого колонка готова для использования.Для каждого определения приготавливается новая колонка.

н-Гексан,ч,МРТУ 6-09-2937-66;Каприловый спирт(октанол),ч,МРТУ 6-09-5533-68

2.4.Приборы и посуда.

Делительная воронка на 1 л,ГОСТ 8613-75
Круглодонная колба со шлифом на 1 Л,ККШ,ГОСТ 10394-72
Колба Бунзена на 2 л,ГОСТ 6514-75
Мерные колбы на 50,100 ,250 и 100 мл,ГОСТ 1770-74
Стеклянный лабораторный холодильник,ХПТ,ГОСТ 9499-70
Стеклянные пробирки градуированные со шлифом на 25 мл,ГОСТ 10515-75
Стеклянный стакан на 2 л,Вн,ГОСТ 10394-72
Спектрофотометр СФ-4А(любой другой спектрофотометр для измерения оптической плотности растворов в УФ-области спектра)
Воронка Бюхнера,диаметр 13 см,ГОСТ 9147-73
Хроматографическая колонка-стеклянная бюретка на 25 мл(высота 50 см,внутренний диаметр 10 мм),ГОСТ 20292-74
Электроплитка, ТУ 92-275-76
Насадка для экстрагирования твердых веществ типа НЭТ,ГОСТ 9777-74
Мельница электрическая для сельскохозяйственных культур, ТУ 46-22-236-76

2.5.Проведение определения.

150-200 г измельченных с помощью мельницы семян подсолнечника помещают в патроне из фильтровальной бумаги в насадку для экстрагирования (экстрактор Сокслета),приливают в круглодонную колбу на 1 л 200-300 мл н-гексана (в зависимости от объема насадки),соединяют колбу с насадкой и помещают на кипящую водяную баню.Экстракцию масла из семян проводят до тех пор пока следующая

порция слива н-гексана из экстрактора не становится бесцветной. После охлаждения содержимого колбы извлекают патрон из насадки и содержимое патрона сушат под тягой на листе фильтрованной бумаги, предотвращая попадание солнечных лучей. Упаривают гексан на ротационном испарителе и получают около 50 г масла.

50 г измельченных семян (для определения также могут быть взяты семена без предварительной экстракции из них масла в насадке для экстрагирования) помещают в круглодонную колбу на 1 л, приливают 450 мл дистиллированной воды, 15 мл 18 М раствора серной кислоты, 1 мл каприлового спирта, помещают несколько "кипятильников" (кусочки пористого материала, например, глины или кирпича), перемешивают, присоединяют к колбе обратный холодильник и кипятят на электроплитке в течении 5 часов. Для предотвращения перегрева содержимое колбы переодически перемешивают встряхиванием. После охлаждения через холодильник приливают 50 мл дистиллированной воды (на этой стадии анализ может быть прерван и продолжен в любое удобное время) и фильтруют гидролизат через фильтр, приготовленный следующим образом: на смоченный водой фильтр из фильтровальной бумаги, помещенный в воронку Бюхнера, приливают 150 мл водной суспензии, содержащей 10 г Целита 545 и при умеренном отсасывании фильтруют под вакуумом в колбу Бунзена; воду отбрасывают. После окончания фильтрации гидролизата остаток на фильтре промывают двумя порциями воды по 100 мл. При этом первая порция должна полностью пройти через фильтр перед прибавлением второй. (При отсутствии Целита 545 фильтрацию гидролизата можно осуществить через фильтр приготовленный следующим образом: на смоченный водой фильтр из фильтровальной бумаги помещают фильтр, вырезанный из стеклоткани, и при умеренном отсасывании под вакуумом фильтруют гидролизат.). Весь фильтрат переносят в 2-х литровый стакан и доводят pH фильтрата до 8-9 прибавлением твердой гидроокиси натрия (17-20 г) при медленном перемешивании. Затем прибавляют такое количество 5%-ного водного раствора трилона Б при перемешивании (50 мл), чтобы pH фильтрата было 6-7. Фильтруют содержимое стакана через фильтр из Целита 545 (или из стеклоткани), приготовленный так, как это описано выше и промывают фильтр 100 мл дистиллированной воды. Фильтрат переносят в делительную воронку на 1 л, присоединяют ее к ионообменной хроматографической колонке и пропускают фильтрат через колонку со скоростью 5-10 мл/мин. Затем колонку промывают 25 мл дистиллированной воды, 200 мл 2,5%-ного водного раствора хлористого аммония и 50 мл дистиллированной воды. Скорость про-

хождения жидкости на этих стадиях через колонку 3–4 мл/мин. На этом этапе анализ может быть прерван и продолжен на следующий день при условии покрытия слоя ионообменной смолы водой. Затем элюируют дикват из колонки насыщенным водным раствором хлористого аммония со скоростью I мл/мин. Собирают первые 50 мл элюата в мерную колбу на 50 мл и перемешивают. Для определения I0 мл элюата помещают в стеклянную пробирку с притертой пробкой, приливают 2 мл восстанавливающего реактива, перемешивают и измеряют в течении 5 минут после прибавления восстанавливающего реактива оптическую плотность окрашенного раствора свободных радикалов диквата (окраска элюата зеленого цвета, образованная свободными радикалами диквата, стабильна в течении 5–7 минут и затем медленно исчезает) на спектрофотометре в кюветах с ℓ=5 см при 4-х длинах волн – 375, 379, 383 и 385 нм против раствора сравнения состоящего из I0 мл насыщенного водного раствора хлористого аммония и 2 мл восстанавливающего реактива. Оптическую плотность элюата E рассчитывают при помощи двух уравнений.

$$E^{I}_{379} = 3{,}79E_{379} - 2{,}28E_{375} - 1{,}52E_{385}$$

$$E^{II}_{379} = 2{,}49(2E_{379} - E_{375} - E_{383}).$$

Находят среднее значение оптической плотности элюата при 379 нм $(E^{I}_{379} + E^{II}_{379})/2$ и по калибровочному графику определяют концентрацию элюата.

Для построения калибровочного графика I0 мл раствора диквата определенной концентрации (растворы Б, В, Г и Д) помещают в стеклянные пробирки со шлифами, приливают 2 мл восстанавливающего реактива, перемешивают и измеряют оптическую плотность окрашенного раствора свободных радикалов диквата в кюветах с ℓ=5 см на спектрофотометре при длине волны 379 нм. В качестве раствора сравнения используют смесь I0 мл насыщенного водного раствора хлористого аммония и 2 мл восстанавливающего реактива. Оптическую плотность каждого раствора измеряют трижды, берут среднее арифметическое и строят график зависимости оптической плотности от концентрации растворов диквата. Полученный калибровочный график обрабатывают по методу наименьших квадратов и в дальнейшем анализе используют уравнение калибровочного графика для нахождения концентрации элюата. Это уравнение имеет следующий вид:

$$Y = A + BX,$$

где Y – оптическая плотность растворов диквата

X-концентрация растворов диквата, взятых для построения калибровочного графика, мкг/мл

A и B – коэффициенты, получаемые при обработке калибровочного графика по методу наименьших квадратов.

При определении диквата в масле для анализа берут 50 г и поступают так, как это описано при определении в семенах подсолнечника.

Перед проведением анализов необходимо проделать серию экспериментов по определению процента возврата диквата из проб семян и масла, к которым был прибавлен чистый дикват.

2.6. Обработка результатов анализа.

Для определения содержания диквата в анализируемых пробах пользуются следующую формулу

$$O = \frac{V}{P} \cdot C \frac{100}{R}$$, где

O – содержание диквата в пробе, мг/кг

V – объем элюата, мл

P – количество пробы, г

C – концентрация элюата, найденная по калибровочному графику, мкг/мл

R – процент определения (возврата) диквата, найденный предварительно, %.

3. Настоящие методические указания составлены и разработаны В.Д.Чмилем (ВНИИ гигиены и токсикологии пестицидов, полимерных и пластических масс, г.Киев).

4. Требования безопасности.

Соблюдаются требования безопасности обычно рекомендуемые для работы с химическими реактивами.

5. Литература.

I.

I96I, 86, стр.569.

2. В.Д.Чмиль.Определение остаточных количеств диквата в воде. В сборнике "Методы определения пестицидов в воде", Гидрометеоиздат, Л.,I973, стр.II2.

3. В.Д.Чмиль.Спектрофотометрическое определение диквата в воде, пищевых продуктах и кормах. В сборнике "Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде", М., "Колос", I977, стр.I94.

Таблица

Метрологическая характеристика метода определения диквата

Диапазон определяемых концентраций 0,05-0,I мк/кг

Анализируемая проба	Предел обнаружения, мг/кг	Число параллельных определений	Размах варьирования %	Среднее значение определения,%
Семена подсолнечника, масло из семян подсолнечника	0,05	5	50-70	60

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