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:

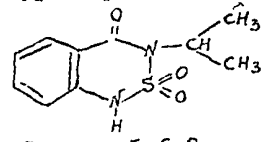
Зам. Главного Государственного
санитарного врача СССР

А.И.ЗАИЧЕНКО
19 октября 1979г. № 2090-79

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ГАЗОЖИДКОСТНО-ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОМУ ОПРЕДЕЛЕНИЮ БЕНТАЗОНА В ПОЧВЕ И РАСТЕНИЯХ

I. Характеристика анализируемого пестицида

Бентазон(синонимы: БАСФ-3)- активное вещество гербицида базаграна, используемого для уничтожения устойчивых к производным 2,4-Д сорняков на посевах зерновых, а также люцерны, сои, риса, льна. Химическое название: 3-изопропил-2,1,3-бензотиадиазинон-(4)-2,2-диоксид. Структурная формула:



Суммарная формула: $C_{10}H_{12}N_2SO_3$. Молекулярная масса 240,3. Точка плавления 137-139 °С. По внешнему виду представляет собой бесцветное кристаллическое вещество. Растворимость(в г на 100 г растворителя): ацетон-150,7; этанол-86,1; этилацетат-65,0; диэтиловый эфир-61,6; хлороформ-18,0; бензол-3,3; вода-0,05. Хорошо растворяется в водных растворах щелочей.

Малотоксичен для теплокровных животных. $ЛД_{50}$ для крыс - 1100 мг/кг веса.

2. Методика определения бентазона в почве и растениях.

2.I. Основные положения.

2.I.I. Принцип метода.

Метод основан на экстракции бентазона, очистке экстракта, метилировании диметилсульфатом с последующим определением на хроматографе с детектором по захвату электронов или постоянной скорости рекомбинации. Для повышения специфичности метода используют неподвижные фазы различной полярности: SE_{30} и полиэтиленгликоль 40 М.

Количественное определение проводят путем сравнения площадей пиков проб и стандартных растворов.

2.I.2. Метрологическая характеристика опыта.

Диапазон определяемых концентраций 0,002-0,02 мкг. Нижний предел детектирования- 0,00I мкг(высота пика равна 5% шкалы самописца). Чувствительность определения: для почвы- 0,03 мг/кг, для растений- 0,05 мг/кг. Среднее значение определения стандартных растворов гербицида: 89%(почва), 7I%(растения). Стандартное отклонение: 7,0%(почва), 8,3%(растения). Относительное стандартное отклонение: почва- 0,00; растения-0,I2.

Определению бентазона не мешают: линдан, 2,4-Д, 2М-4Х, симазин, атразин, пропазин, линурон, арезин, кэрб.

2.2. Реактивы и растворы.

Ацетон(CH_3COCH_3), ГОСТ 2603-7I, чда.

Гексан(C_6H_6), МРТУ 6-09-2937-66,хч.

Хлороформ($CHCl_3$), ГОСТ 3I60-5I, чда.

Метиловый спирт синтетический(CH_3OH),ГОСТ 6995-67, хч.

Диметилсульфат$(CH_3)_2SO_4$, МРТУ 6-09-3688-67, ч.

Кислота соляная(HCl), ГОСТ 3II8-67, хч.

Кислота серная(H_2SO_4), ГОСТ 4204-66, хч.

Алюминий окись(Al_2O_3), МРТУ 6-09-5296-68, II ст.активности, ч.

Натрий углекислый,безводный(Na_2CO_3), ГОСТ 83-63, хч.

Натрий сернокислый, безводный(Na_2SO_4), ГОСТ 4166-76, хч.

Натрий хлористый(NaCl), ГОСТ 4233-66, хч

Натр едкий(NaOH), ГОСТ 4328-66, хч.

Силикагель ЛС 5/40(ЧССР)

Хроматон N-AW (0,16 - 0,20 мм), ЧССР

Неподвижные жидкие фазы:Полиэтиленгликоль 40 М, SE -30(5%), нанесена на хроматон N-AW (0,16-0,20 мм), ЧССР

Азот газообразный, ГОСТ 9293-74, осч.

Метилирующий реагент: 1%-ный раствор диметилсульфата в абсолютном метаноле(Хранится в морозильной камере холодильника в плотно укупоренной бутыли в течение 1-2 месяцев).

Стандартный раствор бентазона: 10 мг перекристаллизованного бентазона растворяют в мерной колбе в 100 мл хлороформа.(Содержание бентазона 10 мкг/мл). Стандартный раствор хранится в темном прохладном месте в течение 2-3 месяцев без заметного разложения

2.3. Посуда и приборы.

Аппарат для встряхивания типа АВУ-1, ТУ 64-1-1081-73.

Испаритель ротационный ИР-1М, ТУ 25-11-917-74.

Газовый хроматограф "Цвет-106", "Газохром 1106 3" или другой с детектором постоянной скорости рекомбинации или детектором электронного захвата.

Сушильный шкаф ШС-40 М, МРТУ-42-1359-67.

Баня песочная ТУ 46-775-77

Водоструйный насос КМ 1230, ТУ 64-1-861-72.

Воронки делительные ВД 3-500-ГОСТ 8613-75 и ВД3-1000-ГОСТ8613-75

Колбы КНШ-500-29/32 ТС, ГОСТ 10394-72.

Колбы остродонные ОКШ-50-14/23 ТС, ГОСТ 10394-72.

Стеклянные бюксы СН 34/12, ГОСТ 7148-70.

Пробирки П 40 17-ОС, ГОСТ 10515-75.

Колбы мерные, ГОСТ 1770-74(100 $см^3$).

Стеклянная колонка для колоночной хроматографии длиной 250-300мм (внутренний диаметр 25 мм), в которую впаян стеклянный фильтр по ГОСТ 9775-69, кл.ПОР 40.

Колонка стеклянная спиральная для газовой хроматографии(длина 1500 мм, внутренний диаметр 3,5 мм)

Колонка стеклянная U-образная для газовой хроматографии(длина 650 мм, внутренний диаметр 3,5 мм).

2.4. Подготовка к определению.

2.4.1. Выделение и очистка бентазона из технического препарата базаграна.

К 20 мл препарата базагран с содержанием бентазона 480 г/л добавляют 50 мл воды, 3 мл конц. H_2SO_4 и перемешивают. Раствор мутнеет, выпадает осадок красноватого цвета. Надосадочную жидкость отсасывают, осадок промывают водой(3х50 мл), промывные воды и надосадочную жидкость отбрасывают. Осадок растворяют в хлороформе и переносят на колонку с силикагелем АСК 5/40, предварительно промытую хлороформом(50 мл). Высота столба сорбента 7 см. Для элюирования бентазона через колонку пропускают 300 мл хлороформа. Хлороформный экстракт упаривают до 150 мл, переносят в химический стакан на 500 мл, добавляют малыми порциями гексан до устойчивого помутнения раствора и ставят в холодильник. Через 20 мин выпадает игольчатые кристаллы бентазона. Выход элюс 5,5 г(56% от расчетного).

Кристаллическую массу растворяют в 50 мл хлороформа, добавляют 250 мл гексана и оставляют для кристаллизации в холодильнике на 16-18 час. Кристаллы отфильтровывают через плотный бумажный фильтр, промывают на фильтре охлажденным гексаном и высушивают

в термостате при 90-100 °С до постоянного веса. Полученный кристаллический бентазон используют для приготовления стандартного раствора.

2.4.2. Приготовление хроматографических колонок и их кондиционирование.

2,5 г полиэтиленгликоля 40 М растворяют в 100 мл хлороформа и переносят в круглодонную колбу(500 $см^3$), в которую предварительно помещают 47,5 г хроматона. Растворитель отгоняют на ротационном испарителе досуха. Полученным носителем заполняют хроматографическую колонку, после чего, не подключая к детектору, колонку кондиционируют при температуре 215 °С в течение 18 час.

Колонку, заполненную SE-30 кондиционируют 18 час при температуре 250 °С.

2.5. Проведение определения.

2.5.1. Экстракция и очистка экстрактов.

Зеленая масса люцерны, солома ячменя. Навеску 10 г тщательно измельченной массы переносят в коническую колбу с притертой пробкой, заливают 100 мл хлороформа и настаивают в течение ночи. Хлороформ фильтруют через бумажный фильтр, остаток промывают хлороформом(2х50 мл), встряхивая по 30 мин. Объединенный хлороформный экстракт упаривают на ротационном испарителе до 2-3 мл и количественно переносят в стеклянный бюкс, в который предварительно насыпается 10 г Al_2O_3. Бюкс помещают на песочную баню, нагретую до 50-60 °С и выдерживают до полного улетучивания хлороформа. Затем стеклянной палочкой тщательно перемешивают сорбент в бюксе(перетирая все комочки) до получения однородной по цвету массы. После этого сорбент переносят в колонку.

Для элюирования бентазона через колонку пропускают 40 мл смеси концентрированной HCl и воды(1:20 по объему). Скорость вытекания 100-120 капель в мин. Из солянокислого раствора бентазон экстрагируют хлороформом(3х40 мл), энергично встряхивая в течение 2 мин. Объединенные хлороформные экстракты фильтруют через бумажный фильтр с безв. Na_2SO_4 и упаривают досуха в конической колбочке с оттянутым дном на ротационном испарителе.

Семена льна. Семена размалывают на мельнице, взвешивают 10 г и настаивают в конической колбе со 100 мл ацетона в течение ночи. Ацетон фильтруют через плотный, складчатый бумажный фильтр. Остаток дважды промывают ацетоном по 50 мл, встряхивая каждый раз 30 мин. Ацетоновые экстракты переносят на тот же фильтр, после чего упаривают до тех пор, пока на дне колбы не останется не спаряющийся маслянистый остаток. К остатку приливают 30 мл 1 %-ного раствора NaOH и переносят в делительную воронку. Колбу дважды смывают раствором щелочи по 30 мл и переносят в ту же воронку. Раствор щелочи дважды энергично встряхивают с 50 мл гексана в течение 2 мин. Гексановый экстракт отбрасывают. Остаток подкисляют 7 мл конц. HCl, перемешивают и трижды встряхивают с хлороформом (по 20 мл). Хлороформный экстракт фильтруют через бумажный фильтр, упаривают до 1-2 мл и дальше очищают на колонке как описано выше.

Почва. 20 г воздушно-сухой, измельченной и просеянной почвы заливают в колбе на 500 мл смеси ацетона и воды(1:3 по объему) в количестве 150 мл и встряхивают в течение часа. После отстаивания жидкость фильтруют через бумажный фильтр, а остаток дважды промывают той же смесью по 100 мл, встряхивая каждый раз 30 мин. Объединенные экстракты подкисляют 5 мл HCl(конц.) и трижды встряхивают с 40 мл хлороформа каждый раз в течение 2 мин. Хлороформный экстракт пропускают через бумажный фильтр и упаривают досуха.

2.5.2. Метилирование бентазона.

Сухой остаток из колбочки смывают 1%-ным раствором диметилсульфата в метаноле(трижды по 1 мл, тщательно смывая стенки колбочки) и переносят в пробирку с притертой пробкой, в которую предварительно помещают 0,1 г Na_2CO_3(безводный). Пробирку закрывают обратным холодильником и помещают на 15 мин в водяную баню при t=55 °С(через каждые 5 мин пробирку осторожно встряхивают). Затем в пробирку добавляют 5 мл насыщенного раствора NaCl, закрывают обратным холодильником и выдерживают в водяной бане 10 мин. при той же температуре. После охлаждения в пробирку добавляют 1 мл(точно) гексана, закрывают пробкой и энергично встряхивают 2 мин. Верхний гексановый слой вводят в хроматограф(2 - 5 мкл).

Одновременно в конические колбочки вносят стандартный раствор бентазона в хлороформе(1, 5 и 10 мкг), хлороформ испаряют в токе воздуха, а все дальнейшие этапы проводят как описано выше для проб. В хроматограф вводят 2 - 5 мкл гексанового слоя.

2.5.3. Условия хроматографирования

Хроматографы "Цвет 106", "Газохром-3106 3" или другие с ДЗЗ или аналогичными детекторами.

При работе на "Цвет-106": детектор постоянной скорости рекомбинации, шкала $ИКТ-10x10^{-12}$, скорость протяжки диаграммы-1см/мин., Колонка стеклянная, U-образная, 650х3,5 мм, заполненная полиэтиленгликолем 40 М(5%). Температура колонки 180 °С, испарителя и детектора 225 °С. Газ-носитель - азот особой чистоты(60 мл/мин), газ для поддува детектора - азот осч.(145 мл/мин). Линейность детектора в пределах 0,002 - 0,02 мкг, чувствительность 0,001 мкг(высота пика равна 5% шкалы самописца), время удерживания бентазона 6 минут.

Хроматограф "Газохром-1106.3": детектор электронного захвата, множитель 1:1, скорость диаграммной ленты 1см/мин. Колонка стеклянная(1500х3,5 мм), заполненная 5% SE-30. Температура колонки 190 °С, детектора и испарителя 225 °С. Газ-носитель - азот особой чистоты(40 мл/мин), поддув детектора-60мл/мин. Линейность детектора 0,002-0,02 мкг, чувствительность - 0,001 мкг. Время удерживания 3,5 мин.

2.6. Обработка результатов анализа.

Количественное определение проводят путем сравнения площадей пиков проб и стандартных растворов, причем для сравнения выбирают пики, различающиеся по своим размерам не более чем в 1,5-2 раза. Содержание бентазона в анализируемой пробе в мг/кг (X) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{M_{ст.} \cdot S_{пр.} \cdot V_к}{S_{ст.} \cdot V_х \cdot M},$$

где $M_{ст.}$ - содержание гербицида в стандартном растворе, мкг

$S_{ст.}$ - площадь пика стандартного раствора, $мм^2$

$S_{пр.}$ - площадь пика пробы, $мм^2$

$V_х$ - объем экстракта, введенного в хроматограф, мкл

$V_к$ - объем конечного экстракта, в котором растворен сухой остаток, мкл

M - навеска пробы, г

2.8. Настоящие методические указания составлены по материалам Белорусского НИИ защиты растения (канд. биол. наук П.М.Кислушко, канд. с.-х. наук А.Ф.Скурьят, Ф.Е.Иштык).

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