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.

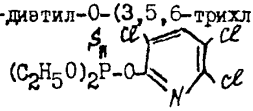
"УТВЕРЖДАЮ"
ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО САНИТАРНОГО ВРАЧА СССР
А.И.ЗАЙЧЕНКО
19 октября 1979г № 2097-79

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ДУРСБАНА В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ, ПОЧВЕ И ВОДЕ ТОНКОСЛОЙНОЙ И ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ

I. Краткая характеристика препарата

Дурсбан

0,0-диэтил-0-(3,5,6-трихлорпиридил)тиофосфат



$C_9H_{11}O_3NCl_3SP$

Мол. масса 350,59

Дауко 179, ЕНТ 27311, хлорпирифос

Чистое вещество дурсбана - белые кристаллы со слабым запахом меркаптана. Давление пара $1,9 \cdot 10^{-5}$ мм рт. ст. при 25°С. Растворимость в воде 0,0002 г в 100 мл. Хорошо растворим в большинстве органических растворителях.

Инсектицид стабилен длительный период при комнатной температуре в нейтральной и слабокислой среде. Скорость химического распада увеличивается пропорционально повышению температуры и pH. Устойчивость к воздействию УФ-света снижается при повышении влажности. Дурсбан 40% э.к. рекомендуется для испытаний на хлопчатнике против хлопковой совки, карадрины и сосущих вредителей (1,5-2,0 кг/га)

в борьбе с колорадским жуком на картофеле (I,2-2,0 кг/га) на плодовых культурах против яблонной плодожорки, клещей и тлей в концентрации 0,2%, на свекле в борьбе с обыкновенным свекловичным долгоносиком в дозировке I,5-2,0 кг/га.

Гранулированный дурсбан представляет интерес в борьбе с подгрызающими совками на табаке, хлопчатнике, а также с проволочниками на кукурузе, картофеле.

Дурсбан высокотоксичен для теплокровных. $ЛД_{50}$ для крыс при оральном введении - I35 - I63 мг/кг.

ПДК и ДОК дурсбана в продуктах питания, воде и почве еще не установлены.

2. Методика определения дурсбана

2.I. Основные положения

2.I.I. Принцип метода

Метод основан на экстракции дурсбана из проб смесью ацетона с 0,05 н водным раствором хлорида кальция (I:I), очистке перераспределением в н-гексан и хроматографическом (ТСХ И ГЖХ) определении.

Хроматографическое в тонком слое определение проводится на пластинках со слоем силикагеля марки КСК или на "Силуфоле - *UV* 254". Хроматографируют в системе н-гексан-ацетон (9:I), проявляют пластинки 2,6-дибром- *N* -хлорхинонимином или другими пригодными для фосфорорганических инсектицидов проявителями.

Для газохроматографического определения используют детекторы ЭЗИ, по захвату электронов (ДЭЗ) или постоянной скорости рекомбинации (ДПР), колонка стеклянная с 5% *S* Е-30 на хроматоне *N*- AW-ДМС*S* , длиной I м.

2.I.2. Метрологическая характеристика метода

	ТСХ	ГЖХ
Минимально детектируемое количество	0,5 - 3 мкг	I нг

	ТСХ	ГЖХ
Нижний предел определения	0,I-0,5мг/кг 0,I мг/л	0,005-0,0Iмг/кг 0,002 мг/л
P размах варьирования, %	± 4,0	± 4,0
$\bar{c}$ среднее значение определения,%	96,4%	96,4%
S стандартное отклонение, %	3,3	3,3
Доверительный интервал среднего при p=0,95 и n=5 , %	96±4	96±4

2.I.3. Избирательность метода

Другие ФОП не мешают определению.

2.2. Реактивы и растворы

Ацетон, ч. ГОСТ 2603-63

Гексан, х.ч., МРТУ 6-09-2937-66

Кальций хлористый, х.ч., ГОСТ 4I6I-67

Натрий сернокислый безводный, ч.д.а., ГОСТ 4I66-66

Уголь активированный марки КАД или ОУ-А

Силикагель КСК с флуоресцирующей добавкой или пластинки "Силуфол UV-254"

Окись алюминия для хроматографии МРТУ 6-09-5296-68-4

5% SE-30 на хроматоне N-AW-ДМСS (0,I6-0,20)

Проявляющие реактивы:

I. 0,5%-ный раствор 2,6-дибром- N -хлорхинонимина в гексане

2. I%-ный раствор 4-(р-нитробензил)пиридина в ацетоне; I0%-ный раствор тетраэтиленпентамина в ацетоне

3. Бромфеноловый синий (0,03 г бромфенолового синего растворяют в I0 мл ацетона, затем смесь разбавляют до I00 мл 0,5%-ным водно-ацетоновым раствором азотнокислого серебра /I ч. воды: 3 ч. ацетона/); 5%-ный раствор уксусной кислоты

Азот особой чистоты

Стандартные растворы дурсбана: 0,I - I,0 мкг/мл в гексане

2% полиэтиленгликольсукцинат на хроматоне N-AW-ДМСS (0,I6-0,2мм, (для альтернативной колонки).

Водород

2.3. Приборы и посуда

Хроматограф Цвет-106 или аналогичный прибор с детектором термоионным или по захвату электронов (постоянной скорости рекомбинации)

Аппарат для встряхивания

Ротационный вакуумный испаритель или другой прибор для отгонки растворителей под вакуумом

Хроматоскоп (хемоскоп) с излучением 250-280 нм

Колбы конические со шлифами на 250-500 мл

Колбы круглодонные на 100 - 500 мл

Делительные воронки на 0,5 -1,0 л

Колбы мерные на 100 мл

Колонки для адсорбционной хроматографии длиной 30 см, внутренним диаметром 15 мм

Хроматографическая камера

Камера для опрыскивания хроматограмм

Пульверизаторы

Пипетки на 0,1 мл, 1 мл, 5 мл, 10 мл

Почвенное сито

Микрошприц на 10 мкл

Центрифуга с центрифужными пробирками на 100 мл

Цилиндры мерные с притертой пробкой на 50 мл

2.4. Отбор проб и подготовка их к анализу

Растительную пробу (картофель, лук, яблоки, сено, силос и листья зеленых растений, в том числе хлопчатника)

измельчают ножом на кусочки 0,5 $см^3$ и отбирают среднюю пробу 25 г.

Почву в естественно-влажном состоянии или воздушно-сухую просеивают через почвенное сито и отбирают для анализа среднюю пробу 10 г

Проба воды - 100 мл.

2.5 Проведение определения

Анализируемые навески помещают в конические колбы, пробы воды - в делительные воронки, куда добавляют по 5 г хлористого кальция.

Из растений дурсбан экстрагируют смесью ацетона с водой (I:I) трижды по 40-50 мл, из почвы - 50 мл смеси ацетона с 0,05 н водным раствором хлористого кальция (I:I). К пробам воды в делительные воронки добавляют равный объем ацетона. Экстракцию инсектицида из проб производят с помощью механического встряхивания в течение 30 мин (для воды и растений) или I-I,5 час. для почвы при комнатной температуре. Далее пробы центрифугируют при 3000 об/мин (центрифугирование можно заменить фильтрованием). Объединенные экстракты из растительных проб, а также пробы воды охлаждают в холодильнике или в смеси льда с солью. Выпавший осадок отфильтровывают. Объем центрифугата (фильтрата) замеряют и количественно переносят (весь или аликвотную часть) в делительную воронку, куда приливают н-гексан в количестве, составляющем меньше половины объема, находящегося там центрифугата, взбалтывают 3-5 мин. После расслоения жидкостей, нижний водно-ацетоновый слой сливают в другую делительную воронку, а гексан-ацетоновую фракцию собирают в коническую колбу на 100 мл. Реэкстракцию гексаном проводят еще два раза. Объединенную гексан-ацетоновую смесь сушат над безводным сульфатом натрия и количественно переносят в колбу для отгона растворителей (сушить гексановую фракцию можно путем фильтрования через безводный сернокислый натрий). Растворитель выпаривают на ротационном испарителе досуха при температуре не выше 40°С. Дальнейшее определение проводят хроматографическими методами.

В некоторых случаях для растительных проб требуется еще дополнительная очистка. С этой целью применяют колоночную хроматографию, а именно, пробу, сконцентрированную до 3-5 мл вносят в колонку (30 см х I,5 см), заполненную слоем сернокислого натрия (2-3см), окиси алюминия (3 см), активированного угля АГ-3 или СУ-2

(3 см) и снова безводного сернокислого натрия (I см). Предварительно через колонку пропускают 30–40 мл хлороформа для уменьшения сорбционной емкости. Из колонки дурсбан элюируют I00 мл хлороформа. Хлороформ удаляют под вакуумом, остаток растворяют в гексане и определяют количество инсектицида хроматографическими методами.

2.5.I Методы аналитического определения

Проба с помощью капиляра или микропипетки наносится на хроматографическую пластинку со слоем силикагеля или на "Силуфол". Параллельно на пластинку наносят серию стандартных растворов с содержанием I, 5 и I0 мкг дурсбана. Хроматографируют в системе гексан-ацетон (9:I). Когда фронт растворителя поднимется от линии старта на I0 см, пластинку вынимают, проветривают и опрыскивают одним из проявляющих реагентов:

I. Хроматограмму опрыскивают 0,5%-ным раствором 2,6-дибром-*N*-хлорхинонимина в гексане, затем нагревают в течение 5–7 мин в термостате при II0°. Дурсбан проявляется в виде оранжевых пятен на светлом фоне. Нижний предел обнаружения 0,5 мкг;

2. Хроматограмму опрыскивают I%-ным раствором 4-(р-нитробензил)-пиридином, нагревают в термостате 3–5 мин при II0°, затем снова опрыскивают I0%-ным раствором тетраэтиленпентамина в ацетоне. Дурсбан проявляется в виде сине-фиолетовых пятен на светлом фоне. Нижний предел обнаружения 0,5 мкг.

3. Хроматограмму опрыскивают бромфеноловым реагентом с последующим снятием фона обработкой пластинки 5%-ным раствором уксусной кислоты. На пластинке проявляются сине-фиолетовые пятна дурсбана на светло-желтом фоне. Нижний предел обнаружения 3 мкг.

Пластинки со слоем силикагеля, в который внесен флуоресцирующий краситель, или "Силуфол-*UV* 254" можно без проявления просматривать в хемоскопе. Инсектицид определяют по тушению флуоресценции. Нижний предел обнаружения I мкг.

R_f для дурсбана в указанной системе растворителей на "Силуфоле" 0,65.

Содержание дурсбана в пробе вычисляют по формуле:

$$C = \frac{C_{пр}}{A}, \text{ где}$$

$C_{пр}$ - количество препарата, найденное по хроматограмме при сравнении со стандартами, мкг;

А - навеска исследуемой пробы в мг или объем воды в мл;

С - содержание дурсбана в пробе в мг/кг или мг/л.

Условия определения газожидкостной хроматографией

После отгонки растворителя к сухому остатку добавляют 1-2 мл гексана, колбу закрывают пробкой, тщательно обмывают внутреннюю поверхность колбы. Аликвотную часть раствора (2-5 мкл) вводят в испаритель хроматографа.

Для количественного определения дурсбана используют хроматограф Цвет 106 или другой модели с детекторами ДТИ или ДЭЗ (ДПР), колонки стеклянные (1000х 3 мм), заполненные 5% SE-30 на хроматоне N -AW-ДМСС (0,16-0,20 мм). Температураиспарителя 220° (для ДЭЗ) или 250°(для ДТИ), температура колонки 190°(для ДЭЗ) или 210° (для ДТИ), температура детектора 220°(для ДЭЗ). Скорость газа-носителя при работе на ДЭЗ (ДПР) 60 мл/мин, продув детектора 150 мл/мин; скорости газов при работе на ДТИ - азота 21 мл/мин, водорода 15 мл/мин, воздуха 420 мл/мин. Рабочая шкала электрометра 1×10^{-10} Скорость движения ленты самописца 240 мм/час (при работе на ДЭЗ) или 600мм/час (при работе на ДТИ).

Время удерживания дурсбана в указанных условиях работы ДЭЗ(ДПР) 3 мин 5 с или в указанных условиях работы ДТИ 6 мин. 20 сек.

Количество дурсбана в пробе проводят методом соотношения со стандартами по высоте пиков.

В хроматограф вводят 2 мкл рабочего раствора. Линейность де-

тектирования сохраняется в пределах I-20 нг.

2.6 Содержание дурсбана в анализируемой пробе вычисляют по формуле:

$$C = \frac{H_{пр} \cdot C_{ст} \cdot У}{H_{ст} \cdot У_{а} \cdot А}$$, где

С - содержание дурсбана в анализируемой пробе мг/кг (мг/л);

$H_{пр}$ - высота пика анализируемой пробы, мм;

$H_{ст}$ - высота пика стандарта, мм;

$C_{ст}$ - содержание дурсбана в стандарте, нг;

$У_{а}$ - объем аликвоты, вводимой в хроматограф, мкл (2 мкл);

У - общий объем рабочего раствора, мл;

А - навеска анализируемой пробы (в пересчете на сухое вещество), г или объем воды мл.

Если при введении в хроматограф получаются слишком большие пики или происходит "зашкаливание", готовят более разбавленные растворы, добавляя к конечному раствору пипеткой известное количество гексана.

В качестве альтернативной колонки можно использовать стеклянную колонку длиной 2 м и внутренним диаметром 3 мм, заполненную хроматоном N AW-ДМСS (0,I6-0,20 мм) с 2% полидиэтиленгликольсукцинатом.

Требования безопасности

Общепринятые требования безопасности при работе с горючими растворителями и фосфорорганическими пестицидами.

АВТОРЫ

Петрова Т.М., Андреев Ю.Б. - Всесоюзный научно-исследовательский институт защиты растений, Ленинград.

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