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.

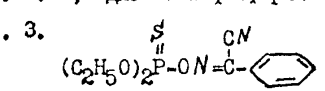
"УТВЕРЖДАЮ"
ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО САНИТАРНОГО ВРАЧА СССР
А.И. ЗАИЧЕНКО
19 октября 1979г.
№ 2093-79

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

I. Краткая характеристика препарата

I. I. Валексон

I. 2. 0,0-диэтилтиофосфорил-О-(α-цианобензальдоксим)

I. 3. 

$C_{12}H_{15}O_3N_2PS$

Мол. масса 298,3

I.4. Фоксим, байтион, волатон, Bay-77488, ENT-27448

I. 5. В чистом виде жидкость светло-желтого цвета с Т. кип. 102°С при 0,01 мм рт. ст., Т. пл. 3-4°С. Хорошо растворяется в большинстве органических растворителей; растворимость в воде при 20°С - 7 мг/л.

Разрушается в сильных кислотах и щелочных средах.

Препарат малотоксичен для теплокровных. При оральном введе-

нии для крыс $ЛД_{50}$ 1900 - 2060 мг/кг.

Выпускается в форме 50%-ного концентрата эмульсии, 40%-ного смачивающегося порошка для борьбы с сосущими и грызущими насекомыми на капусте, картофеле, томатах, яблонях и др. культурах, а также в виде 5%-ных гранул для борьбы с почвенными вредителями.

ПДК валексона в продуктах питания, воде и почве не установлена.

2. Методика определения валексона

2.I. Основные положения

2.I.I. Принцип метода

Метод основан на извлечении валексона из анализируемых проб органическим растворителем или для почвы смесью ацетона с 0,05 н водным раствором хлористого кальция (смесь в соотношении I:I), перераспределением между двумя несмешивающимися растворителями с последующим определением тонкослойной или газожидкостной хроматографией с ТИД. При определении методом тонкослойной хроматографии пробу дополнительно чистят на колонке.

2.I.2. Метрологическая характеристика метода

	ГЖХ	ТСХ
Минимально детектируемое количество	I нг	0,5 - 3 мкг
Нижний предел определения (чувствительность метода)	0,004мг/кг 0,001мг/л	0,I мг/кг 0,05 мг/л
R размах варьирования, % в растениях	70,5-87,5	83-87
в почвах	92-97	90-95
$\bar{c}$ среднее значение определения, %		
в растениях	76,3	85,2
в почвах	94	92
S стандартное отклонение, %		
в растениях	7,9	3,3
в почвах	3,5	3,5
Доверительный интервал среднего при $p=0,95$ и $n=5$, %, для растений	$76,3 \pm 9,I$	
для почв	94 ± 4	

2.I.3. Избирательность метода

Метафос, фталофос, фозалон, карбофос, диазинон, фосфамид, гардона, трихлорметафос-3 определению не мешают.

2.2. Реактивы и растворы

Ацетон, ч. ГОСТ 2603-63 -CH_3COCH_3

Гексан, х.ч., МРТУ 6-09-2937-66 - $CH_3(CH_2)_4CH_3$

Хлороформ, х.ч., ГОСТ 3160-51 -$CHCl_3$

Бензол ч.д.а., ГОСТ 5955-68 - C_6H_6

Ацетонитрил, ч., МРТУ 6-09-6448 - CH_3CN

Диметилформамид, ч., МРТУ 6-09-2058-65 - $HCO(CH_3)_2$

Хлористый натрий, х.ч. ГОСТ 4233-66 -$NaCl$

Хлористый кальций, х.ч., ГОСТ 4161-67 - $CaCl_2 \cdot 2H_2O$

Сульфат натрия, безводный, ч.д.а. ГОСТ 4166-66 - Na_2SO_4

Уголь активированный марки КАД-молотый или СУ-А

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

Окись алюминия, для хроматографии МРТУ 6-09-5296-68-4 - Al_2O_3

Проявляющие реактивы:

1. 0,5%-ный раствор 2,6-дибром-N-хлорхинонимина в гексане
2. 1%-ный раствор 4-(р-нитробензил)пиридина в ацетоне; 10%-ный раствор тетраэтиленпентамина в ацетоне
3. Смесь бромфенолового синего и азотнокислого серебра в ацетоне:
   - А. 0,5%-ный водно-ацетоновый раствор азотнокислого серебра (1 ч. воды : 3 ч. ацетона)
   - Б. 0,03 г. бромфенолового синего растворяют в 10 мл ацетона, а затем разбавляют раствором А до 100 мл
   - В. 5%-ный раствор уксусной кислоты

Азот особой чистоты

Водород

Стандартные растворы валексона в ацетоне с содержанием 5 мкг/мл (для ТСХ) и в гексане с содержанием 0,5; 1; 2; 5; 7; 10 мкг/мл (для ГЖХ).

5% SE-30 и 3% XE-60 на хроматонбе N(80-100 меш), силанизированный

2% полиэтиленгликольсукцинат на хроматоне N-AW-ДМСS (0,16-0,20мм)

2.3. Приборы и посуда

Хроматограф Цвет-106 или аналогичный прибор с ТИД

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 500 мл

Колбы круглодонные на 500 мл

Делительные воронки на 2 л, 1 л и 0,5 л

Колбы мерные на 200 мл и 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

2.4. Отбор и подготовка проб

Растительную пробу (овощи, фрукты, зеленую массу растений) измельчают ножом на кусочки 0,5x0,5x0,5 см и отбирают среднюю пробу 25 г.

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

Проба воды - 100 мл.

2.5 Проведение определения

Анализируемые навески помещают в конические колбы емкостью 250 мл, пробы воды - в делительные воронки, куда добавляют по 10 г хлористого натрия.

Из растений валексон экстрагируют 100 мл смеси ацетона с водой (1:1), из почв - 50 мл смеси ацетона с 0,05 н водным раствором хлористого кальция (1:1). Из воды экстракцию валексона проводят хлороформом порциями по 120, 100 и 75 мл., экстракты объединяют.

Экстракцию инсектицида из образцов производят с помощью механического встряхивания в течение 30 мин. Растительные экстракты охлаждают в холодильнике или в смеси соли со льдом. Пробы отфильтровывают от растительных и почвенных остатков в делительные воронки через бумажный фильтр. Экстракцию повторяют еще два раза тем же количеством растворителя. Объединенный экстракт подвергается очистке. Для этого в делительную воронку приливают гексан четыре раза по 20 мл. После встряхивания 3-5 мин и расслоения жидкостей собирают гексановую фракцию в круглодонную колбу, высушивают путем фильтрования через безводный сернокислый натрий. Объединенный гексановый экстракт концентрируют под вакуумом при температуре не выше 40° до объема 0,5 - 1,0 мл.

При определении методом ТСХ или в случае, если методом ГЖХ получаются "грязные" хроматограммы, проводят дополнительную очистку. Это относится в основном к образцам из растительных объектов. Для этого в пробы добавляют 5 мл ацетонитрила (ацетонитрил можно заменить диметилформамидом, однако с первым растворителем очистка проходит значительно лучше) и доводят общий объем до 50 мл водой. Пробы встряхивают 1 - 2 мин, далее производят переэкстракцию валексона в гексан. С этой целью пробы переносят в делительную воронку, прили-

вают 20 мл гексана, встряхивают I - 2 мин и после разделения слоев гексановый сливают в круглодонную колбу для отгонки, фильтруя через безводный сернокислый натрий, а водно-ацетонитрильный еще два раза промывают гексаном. Объединенные гексановые экстракты концентрируют под вакуумом при 40° до 5 мл и проводят количественное определение.

В случае если проба нуждается еще в очистке, то следует применить колоночную хроматографию, а именно, пробу вносят в колонку (30 см х I,5 см), заполненную слоем сернокислого натрия (2 - 3 см), окиси алюминия для хроматографии (3 см), активированного угля КАД-молотый или ОУ-А (3см) и безводного сернокислого натрия (I см). Предварительно через колонку пропускают 30-40 мл хлороформа для уменьшения сорбционной емкости. Из колонки валексон элюируют I00 мл хлороформа при отсасывании с помощью водоструйного насоса. Хлороформ удаляют под вакуумом, остаток растворяют в гексане и определяют количество валексона хроматографическими методами.

Пробы воды, проэкстрагированные хлороформом, если необходимо, то чистят подобным способом.

(I,3)

Условия определения тонкослойной хроматографией

Проба с помощью капилляра или микропипетки наносится на хроматографическую пластинку. Парралельно на пластинку наносят серию стандартных растворов с содержанием I, 2 и 5 мкг валексона. Хроматограмму развивают в системе гексан-ацетон (4:I), подсушивают на воздухе и обрабатывают одним из трех проявляющих реагентов.

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

2. Хроматограмму опрыскивают I%-ным раствором 4-(р-нитробензил)-пиридина, нагревают в сушильном шкафу 3-5 мин при II0°С, затем снова

опрыскивают 10%-ным раствором тетраэтиленпентамина в ацетоне. Валексон проявляется в виде сине-фиолетовых пятен на светлом фоне. Нижний предел обнаружения 0,5 мкг.

3. Хроматограмму опрыскивают бромфеноловым реагентом с последующим снятием фона в результате обработки пластинки 5%-ным раствором уксусной кислоты. Валексон проявляется в виде сине-фиолетовых пятен на светло-желтом фоне. Нижний предел обнаружения 3 мкг.

Пластинки со слоем силикагеля, в который внесен флуоресцирующий краситель или пластинки "Силуфол-UV254" можно, не проявляя их, просматривать в хроматоскопе. Инсектицид определяют по тушению флуоресценции. Нижний предел обнаружения I мкг.

R_f валексона в системе гексан-ацетон (4:I) на пластинках "Силуфол" составляет 0,5 ± 0,02.

Содержание валексона в исследуемой пробе вычисляют по формуле:

$$C = \frac{C_{пр}}{A} \text{ мкг/кг (мг/л), где}$$

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

A - навеска исследуемой пробы в мг или объем воды в мл.

(I,2)

Условия определения газожидкостной хроматографией

Хроматограф Цвет 106 или другой модели с ТИД.

Скорость протяжки ленты самописца I см/мин.

Рабочая шкала электрометра 20×10^{-10} А.

Стеклянная колонка длиной 100 см и внутренним диаметром 3 мм, заполненная хроматоном N-AW-ДМСS (0,16-0,20 мм) с 5% SE-30. Температура колонки и испарителя 130°С. Скорость азота 25 мл/мин, водорода 15 мл/мин, воздуха 150 мл/мин. Время удерживания валексона 3 мин 22 сек. Прочие ФОП выходят позже.

В хроматограф вводят 2 мкл рабочего раствора. Линейность де-

тектирования сохраняется в пределах 1-20 нг.

2.6 Количественное определение проводят методом соотношения со стандартом по высоте пиков. Содержание валексона в анализируемой пробе вычисляют по формуле:

$$C = \frac{H_{пр} \cdot C_{ст} \cdot У}{H_{ст} \cdot У_а \cdot А}$$ мг/кг (мг/л), где

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

$H_{ст}$ - высота пика стандарта, мм

$C_{ст}$ - содержание валексона в стандарте, нг

$У_а$ - объем аликвоты, вводимой в хроматограф, мкл 2 мкл)

У - общий объем рабочего раствора, мл (2 мл)

А - навеска анализируемой пробы (в перасчете 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.

(2)

Альтернативная колонка

Колонка стеклянная длиной 2 м, внутренним диаметром 3 мм, заполнена хроматоном N-AW-ДМСS (0,I6-0,20 мм) с 2% полидиэтиленгликольсукцинатом. Температура колонки I90°С, испарителя 200°С.

Время удерживания валексона I мин 37 сек. Прочие ФОП определению не мешают, т.к. выходят значительно позже, например, время удерживания метафоса 7 мин.

АВТОРЫ

Настоящая методика выполнена разработки авторских коллективов:

I. Петрова Т.М., Федорова И.С., Всесоюзный научно-исследовательский

институт защиты растений, г. Ленинград.

2. Лещинская Л.И., Новикова К.Ф., Косачева Е.И., Всесоюзный научно-исследовательский институт химических средств защиты растений, Москва.
3. Швец Д.А. , Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, пос. Рамонь, Воронежской обл.

Требования безопасности.

Общепринятые требования безопасности при работе с горючими растворителями и фосфорорганическими пестицидами. Осторожно обращаться с ацетонитрилом, т.к. он ядовит.

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