ГОСКОМИССИЯ ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ,
БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОРНЯКАМИ ПРИ МИНСЕЛЬХОЗЕ СССР

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, КОРМАХ И ВНЕШНЕЙ СРЕДЕ

ЧАСТЬ XIII-я

Москва - 1983

gost.e-ecolog.ru

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 XIII

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-1983

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.

Срок действия временных методических указаний устанавливается до утверждения гигиенических регламентов.

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. Марциновского Е.И. и лабораторным советом при Главном санитарно-эпидемиологическом управлении Минздрава СССР.

"Утверждаю"
Заместитель Главного
государственного
санитарного врача СССР
А.И.Зайченко

19 октября 1979г № 2077-79

ВРЕМЕННЫЕ

Методические указания по определению остаточных количеств некоторых аналогов ювенильного гормона: алтосида, алтозара и п-бромфенилового эфира гераниола в растениях картофеля и почве методами тонкослойной и газо-жидкостной хроматографии

1. Краткая характеристика препаратов (см.табл.I).

2. Методика определения алтосида, алтозара и п-бромфенилового эфира гераниола в растениях картофеля и почве

2.I. Основные положения

2.I.I. Принцип метода. Метод основан на извлечении препаратов из растительной пробы и почвы органическим растворителем, очистке экстрактов методом микродистилляции в вакууме или колоночной хроматографией на окиси алюминия, качественной идентификации в тонком слое кремневой кислоты и количественном определении методом газо-жидкостной хроматографии. Предел определения методом ТСХ для алтосида и алтозара - 0,05 мг/кг, для п-бромфенилового эфира гераниола - 0,I0 мг/кг. Минимально детектируемые количества алтосида - 0,04 нг, алтозара - 0,02 нг, п-бром-

фенилового эфира гераниола - 0,08 нг в 2 мкл хроматографируемого экстракта.

2.I.2 Метрологическая характеристика метода приведена в табл. 2.

2.2. Реактивы и растворы

н-Гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78

Циклогексан, ч., МРТУ 6-09-3II2-66

Хлороформ, чда., ГОСТ 3I60-5I-74

Ацетон, чда., ГОСТ 2603-79

Метилен хлористый, ч., ТУ 6-09-37I6-74

Этиловый эфир уксусной кислоты, хч., ГОСТ 5-I070-7I

Диэтиловый эфир, для наркоза

Натрий сернокислый б/в, хч., ГОСТ 4I66-66

Алюминия окись для хроматографии, II-ой ст.акт., МРТУ 6-09-5296-68

Кремневая кислота для тонкослойной хроматографии, чда., ГОСТ 42I4-70

Кремний окись (IУ) для люминофоров, МРТУ 6-69-485-67

Пластинки Силуфол I50 х I50 мм или 5 х I50 мм (ЧССР)

5%-ный раствор фосфорно-молибденовой кислоты (ч., МРТУ 6-09-47-67) в 96%-ном этиловом спирте, готовят свежий еженедельно, хранят в холодильнике

2%-ный раствор ванилина в конц. серной кислоте (чда, ГОСТ 4204-66) готовят свежий каждые 2-3 дня хранят в холодильнике

Проявляющий реактив: 0,25 г азотнокислого серебра растворяют в I мл дист. воды, прибавляют I,2 мл конц. аммиака (25%) и доводят ацетоном до 25 мл. Хранят в холодильнике.

Соляная кислота, конц., чда., ГОСТ 3II8-67

5%-ный водный раствор калия марганцовокислого (чда, ГОСТ 4527-65),

2%-ный раствор п-нитробензилпиридина (ч, МРТУ 6-09-4737-67) в ацетоне, хранят в холодильнике,

10%-ный раствор тетраэтиленпентамина (ч, МРТУ 6-09-3206-66) в ацетоне, хранят в холодильнике,

Азот, осч, МРТУ-6-02-375-66,

Водород,

Хроматон N-AW-HMДS (0,16-0,20 мм) с 5% SE-30,

Хроматон N-AW-HMДS (0,16-0,20 мм) с 5% XE-60,

Стандартные растворы в гексане алтосида и алтозара (ч) - 100 и 10 мкг/мл и п-бромфенилового эфира гераниола в циклогексане - 100 мкг/мл.

2.3. Приборы и посуда

Гомогенизатор, тип 302 (ПНР) или любой другой

Ротационный испаритель

Аппарат для встряхивания (АВУ-1, АВУ-2 или аналогичный)

Прибор для микросублимации

Вакуумный насос масляный

Колбы конические со ст.шл.29 мм, емкостью 500 и 250 мл (тип КНШ)

Колбы круглодонные со ст.шл. 29 мм, емкостью 500 и 250 мл (тип КНШ)

Воронки химические диаметром 4-8 см

Пробирки градуированные с притертыми пробками со ст.шл. 14,5 мм, емкостью 10 мл (тип ПКШ)

Микропипетки на 0,1 и 0,2 мл

Пластинки стеклянные для ТСХ размером 8 х 16 см или 20 х 20 см

Пульверизатор

Сосуды (камеры) для хроматографирования

Прибор для оттона растворителей

Газовый хроматограф серии "Цвет"

Колонки стеклянные: длина 1-2 м, диаметр 3 мм

Микрошприцы на 10 мкл

Секундомер

Колонки стеклянные хроматографические: длина 40 см, диаметр 18 мм

Мерные цилиндры на 100 мл

2.4. Ход анализа

2.4.1. Извлечение алтосида и алтозара из проб растительного происхождения

Отвешивают 20 г из измельченной средней пробы растений картофеля в стакан гомогенизатора, заливают 100 мл н-гексана и гомогенизируют 1 минуту при 6-7 тыс.оборотов. Фильтруют экстракт через бумажный фильтр в круглодонную колбу. Ополаскивают 2-3 раза растительный остаток и фильтр 50 мл гексана, присоединяя его к основному экстракту. Объединенный фильтрат упаривают на ротационном пленочном испарителе при 40° С до 5-7 мл. Остаток экстракта переносят количественно в сосуд для микродистилляции в вакууме.

2.4.2. Извлечение п-бромфенилового эфира гераниола из проб растительного происхождения

Отвешивают 20 г из измельченной средней пробы растений картофеля в стакан гомогенизатора, заливают 100 мл циклогексана и гомогенизируют 1 минуту при 6-7 тыс. оборотов. Фильтруют экстракт через бумажный фильтр в круглодонную колбу. Остаток растительной массы 2-3 раза ополаскивают при перемешивании 50 мл циклогексана, присоединяя его к основному экстракту. Объединенный фильтрат упаривают на ротационном пленочном испарителе до 5-7 мл.

2.4.3. Извлечение алтосида, алтозара и п-бромфенилового эфира гераниола из почвы

Отвешивают из средней пробы измельченной и подготовленной для анализа почвы 100 г, помещают в коническую колбу, заливают 200 мл хлороформа или хлористого метилена и встряхивают на аппа-

рате для встряхивания в течение 1-2 часов. Фильтруют экстракт через бумажный фильтр. Ополаскивают почву и фильтр 2-3 раза по 50 мл растворителем. Объединенный экстракт упаривают на ротационном пленочном испарителе до 5-7 мл. Остаток используют для очистки.

2.4.4. Очистка экстрактов от примесей

Пробы, содержащие алтосид и алтозар. Упаривают остаток растворителя в сосуде для микросублимации током воздуха полностью. Подключают прибор к вакууму и дистиллируют при 85° С и 1-2 мм рт.ст. в течение 30 минут. После окончания микросублимации отключают вакуум, смывают дистиллят с "пальца" 5-7 мл свежеперегнанного диэтилового эфира. Добавляют до метки эфир. Используют очищенный экстракт для ТСХ качественной идентификации и для количественного ГЖХ определения.

Пробы, содержащие п-бромфениловый эфир гераниола. Упаривают остаток растворителя в токе азота досуха. Растворяют экстракт пробы в 10 мл циклогексана и очищают на хроматографической колонке. В хроматографическую колонку вкладывают ватный тампон, толщина слоя 3 - 5 мм, затем насыпают сверху слой сернокислого натрия б/в - 2 см, слой окиси алюминия для хроматографии II-ой ст. активности - 7 см, снова слой сернокислого натрия б/в - 2 см. Предварительно пропустив через колонку 20-25 мл циклогексана, вносят в колонку растительный или почвенный экстракт и элюируют п-бромфениловый эфир гераниола 100 мл циклогексана. Упаривают растворитель до 3-5 мл на ротационном пленочном испарителе. Очищенный экстракт после упаривания переносят количественно из колбы в градуированную пробирку и доливают растворитель до определенного объема. Используют очищенный экстракт для ТСХ качественной идентификации и количественного ГЖХ определения.

2.5. Качественная идентификация

На расстоянии 2 см от нижнего края пластинки на стартовую линию наносят очищенные экстракты из проб, соответствующие 2-5 г растений и 10-20 г почвы. Рядом наносят серию стандартных растворов препарата. Пластинки помещают в камеру для хроматографирования и проявляют алтосид и алтозар в системе гексан-этилацетат (9:1), а п-бромфениловый эфир гераниола в системе гексан-этилацетат (1:1) или гексан-ацетон (4:1). Вынимают пластинку и сушат на воздухе. Для обнаружения алтосида и алтозара пластинку опрыскивают из пульверизатора 5%-ным спиртовым раствором фосфорно-молибденовой кислоты или 2%-ным раствором ванилина в конц. серной кислоте. Нагревают пластинку в термостате 5 минут при 110° С. Алтосид и алтозар при проявлении фосфорно-молибденовой кислотой обнаруживаются в виде синих пятен на желтом фоне, при использовании ванилина - розовато-сиреневых пятен на белом фоне.

Для обнаружения п-бромфенилового эфира гераниола пластинку после проветривания на воздухе от следов органического растворителя помещают в сосуд над газообразным хлором, получаемым смешением 12%-ной соляной кислоты с 5%-ным раствором марганцовокислого калия. Проветривают пластинку от избытка хлора в вытяжном шкафу. Затем опрыскивают ее проявляющим реактивом (раствором азотнокислого серебра и аммиака в ацетоне). Облучают пластинку ультрафиолетовым светом. п-Бромфениловый эфир гераниола обнаруживается в виде пятна серого цвета на белом фоне.

При наличии п-нитробензилпиридина п-бромфениловый эфир гераниола можно обнаруживать опрыскиванием пластинки 2%-ным раствором п-нитробензилпиридина в ацетоне, нагреванием в течение 5 минут при 150° С и последующей обработкой 10%-ным раствором тетраэтиленпентамина в ацетоне. В этом случае п-бромфениловый эфир гераниола про-

является синим пятном на белом фоне.

Величины R_f алтосида, алтозара и п-бромфенилового эфира гераниола в разных системах подвижныхрастворителей представлены в таблице 8. Алтозар и алтосид не мешают обнаружению п-бромфенилового эфира гераниола.

2.6. Количественное определение

Условия для хроматографирования алтозара и алтосида на газовом хроматографе "Цвет-106" с пламенно-ионизационным детектором:

Стеклянная колонка длиной 1 м диаметром 3 мм заполнена Хроматоном N-AW-ДМДС (0,16-0,20 мм) с 5% SE-30.

Для алтосида температура испарителя 220° С, колонки - 200° С, для алтозара, соответственно, - 200°и 185° С. Поток азота 30 мл в мин, водорода 30 мл/мин, воздуха 24 л/ч, шкала электрометра - 2.10^{-11} а.

Условия для хроматографирования п-бромфенилового эфира гераниола на Хроматографе "Цвет-106" с пламенно-ионизационным детектором:

стеклянная колонка длиной 2 м диаметром 8 мм заполнена Хроматоном N-AW-ДМДС (0,16-0,20 мм) с 5% ХЕ-60, температура испарителя 210°С, колонки - 175° С, поток азота - 60 мл/мин, водорода - 30 мл/мин, воздуха - 24 л/ч, шкала электрометра - 2.10^{-11} а.

Скорость протяжки ленты 360 мм/ч.

Для количественного определения указанных веществ микрошприцем вводят в колонку газового хроматографа 2 мкл очищенного экстракта и сравнивают высоты пика анализируемой пробы с высотами пиков серии стандартных растворов препаратов, содержащих различные количества действующего вещества. В случае низкого содержания аналогов овенильного гормона в анализируемой пробе упаривают очищенный экстракт до 1-2 мл и вновь вводят в колонку 2 мкл экстракта.

Рассчитывают содержание аналогов овенильного гормона в анализируемом объекте по уравнению:

$$C = \frac{C_{ст} \cdot n_I \cdot a \cdot 1000}{n_{ст} \cdot в \cdot н}, \text{ где}$$

$C_{ст}$ – конц. стандартного раствора вещества, мг/мл,

n_I – высота пика анализируемого вещества, мм,

$n_{ст}$ – высота пика стандартного раствора вещества, мм,

а – объем вводимого в колонку хроматографа вещества, мкл,

н – навеска анализируемой пробы, г.

Если при введении в хроматограф получаются слишком большие пики или происходит "зашкаливание", готовят менее концентрированные растворы, добавляя в анализируемый очищенный экстракт замеренное количество дополнительного растворителя.

2.7. Настоящие методические указания разработаны Г.Ф.Выегжаниной (ВНИИВМЗР).

3. Требования безопасности

Соблюдаются требования безопасности, рекомендуемые для работы с органическими растворителями, концентрированными кислотами и сжатыми газами.

ТАБЛИЦА I

Физико-химические свойства аналогов ювенильного гормона

Название аналога ювенильного гормона	Эмпирическая формула	Молекулярный вес	Удельный вес	Упругость пара при 25° мм рт. ст.	Упругость пара при 40° мм рт. ст.	Растворимость: вода мг/л (25°С)	Растворимость: органические растворители	$ЛД_{50}$ через рот для крыс	ПДК мг/кг
Изопропил-II-метокси-3,7,II-триметил-2,4-додекадиеноат (алтосид, -515)	$C_{19}H_{34}O_3$	310	0,9261	$2,37.10^{-5}$	$1,60.10^{-4}$	1;39	Ацетон, хлороформ, бензол, спирт, гексан и др.	5000	Не установлено
Этил-3,7,II-триметил-2,4-додекадиеноат (алтозар, -512)	$C_{17}H_{80}O_2$	266	0,8643	$1,88.10^{-4}$	$1,03.10^{-3}$	0,54	Ацетон, хлороформ, бензол, спирт, гексан и др.	3000	Не установлено
I-(4'-бромфенокси)-3,7-диметил-2,6-октадиен	$C_{16}H_{21}OBr$	309				плохо	Ацетон, хлороформ, бензол, этилацетат, спирты, гексан, циклогексан	НЕ установлено	Не установлено

ТАБЛИЦА 2

Метрологическая характеристика метода определения аналогов ювенильного гормона с помощью газо-жидкостной хроматографии (доверительная вероятность $\alpha = 0,95$)

Препарат	Объект исследования	Предел обнаружения, нг	Число определений n	Среднее значение определения, % $\bar{X}$	Средняя квадратичная ошибка единичного измерения S_n	Средняя квадратичная ошибка среднего арифметического $S_{\bar{X}}$	Коэффициент вариации единичного измерения, % W	Доверительный интервал, % ΔX	Относительная погрешность измерения, % ε_α
Алтосид	растения картофеля	0,04	9	83,52	3,91	I,30	4,68	3,58	2,99
	почва	0,I2	9	73,I0	II,30	3,77	I5,45	II,90	8,70
Алтозар	растения картофеля	0,02	9	9I,85	2,3I	4,I0	I4,30	I0,30	9,46
	почва	0,06	I2	84,65	5,07	I,46	5,-3	3,79	3,2I
п-Бромфениловый эфир гераниола	растения картофеля	0,08	I2	II3,76	I0,48	3,02	9,2I	5,83	6,65
	почва	0,24	6	90,93	9,88	4,07	I0,77	II,50	I0,46

ТАБЛИЦА 3

Величины R_f препаратов в различных системах подвижных растворителей

Препарат	Подвижный растворитель			
	гексан-этиловый эфир уксусной кислоты			гексан- ацетон
	(9:I)	(I:I)	(4:I)	(4:I)
Алтосид	0,30	0,80	0,80	0,82
Алтозар	0,72	0,77	0,78	0,85
п-Бромфениловый эфир гераниола	0,64	0,57	-	0,40

С О Д Е Р Ж А Н И Е

ХЛОРОРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

Стр.

I. Временные методические указания указания по определению ХОП (ДДТ, ДДЭ, ДДД, -ГХЦГ) в рыбе и рыбной продукции методом газожидкостной хроматографии. I

2. Методические указания по определению ХОП и симтриазиновых пестицидов при их совместном присутствии в почве с помощью ГЖХ. I2

3. Временные методические указания по определению остаточных количеств митрана в воде, сливах и блоках методом ТСХ. 23

ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

I. Методические указания по определению афоса в воздухе рабочей зоны методами ГЖХ и ТСХ. 29

2. Временные методические указания по определению бомстара в ботве и клубнях картофеля, листьях и стеблях хлопчатника, капусте, почве и воде ТСХ и ГЖХ. 36

3. Методические указания по определению глифосата и его метаболита- аминометилфосфоновой кислоты методом хроматографии в воде, почве, растительном материале. 46

4. Методические указания по определению остаточных количеств дурсбана в воде, почве, лесной растительности и биосредах методом ТСХ. 54

5. Временные методические указания по определению каунтора в растениях сахарной свеклы и почве методом ТСХ. 6I

6. Методические указания по определению метилмеркаптофоса в воде, почве, винограде и зеленой массе хмеля ГЖХ и ТСХ. 67

7. Временные методические указания по определению офунака методами ГЖХ и ТСХ в почве, растениях, воде водоемов. 76

8. Временные методические указания по определению протиофоса в растительном материале, почве и воде методами ГЖХ и ТСХ. 82

9. Временные методические указания по определению селекрона в растительной продукции, почве и воде ТСХ и ГЖХ. 91

10. Временные методические указания по определению хлорофоса энзимно-хроматографическим методом в листьях белладонны и траве мяты перечной. 98

11. Методические указания по определению в зерне и продуктах его переработки ФОП, применяемых для обеззараживания зерна и зернохранилищ, хроматографическими методами. 105

АЗОТСОДЕРЖАЩИЕ ПЕСТИЦИДЫ

1. Методические указания по определению остаточных количеств акрекса, диносеба, каратана, ДНОКа в воде, почве и растительном материале хроматографическими методами. 119

2. Временные методические указания по определению байгона методом ГЖХ в молоке. 138

3. Временные методические указания по определению барнона в воде, почве, растениях методом ГЖХ. 148

4. Методические указания по определению кронетона в воде,почве,корнеклубнеплодах и растительном материале ТСХ. 154

5. Временные методические указания по определению ридомила методом хроматографии в воде,почве,растительном материале. 160

6. Временные методические указания по определению ровраля методом ТСХ в воде,почве,томатах,картофеле,винограде,виноградном соке и вине. 168

7. Временные методические указания ронилана в растительной продукции,почве и воде ТСХ и ГЖХ. 175

8. Временные методические указания по определению эвисекта в растительной продукции,почве и в воде ТСХ. 182

9. Временные методические указания по определению этиримола в растительной продукции,почве и воде ТСХ. 188

ПРОЧИЕ ПЕСТИЦИДЫ

I. Временные методические указания по определению гранилбутирата методом ГЖХ и ТСХ в почве,воде,корнеплодах и листьях сахарной свеклы. 195

2. Временные методические указания по определению бромпропилата(неорона) в яблоках и цитрусовых методом газовой хроматографии. 206

3. Временные методические указания по определению иллоксана в воде и почве методом ГЖХ. 211

4. Временные методические указания по хроматографическому определению изатрина в почве и воде. 217

5. Временные методические указания по определению омайта методами ГЖХ и ТСХ в почве, в воде и растениях. 224

6. Методические указания по определению хлората магния в почве, воде, растениях (подсолнечнике, луке) и в воздухе полярографическим и хроматографическим (ТСХ) методами. 230

7. Временные методические указания по определению остаточных количеств некоторых аналогов ювенильного гормона (алтосида, алтозара и п-бромфенилового эфира гераниола) в растениях картофеля и почве методами ТСХ и ГЖХ. 247

Дополнения 258

М- 71958 от 20.I.83г Тираж 2000 экз., заказ № 1873
Типография ВАСХНИЛ

gost.e-ecolog.ru