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).

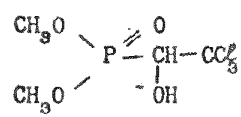
Методические указания согласованы и одобрены отделом перспективного планирования санэпидслужбы ИМПиТМ им. Марциновского Е.И. и лабораторным советом при Главном санитарно-эпидемиологическом управлении Минздрава СССР.

"УТВЕРЖДАЮ"
Заместитель Главного Государственного
санитарного врача СССР
А.И.Заиченко
6 августа 1981 г
№ 2417-81г

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

I. Хлорофос /трихлорфон, диптерекс, негувон, дилокс, тугон, фосхлор/ применяется как контактный и кишечный инсектицид.

Действующее начало препарата - 0,0-диметил-/I-окси-2,2,2,-трихлорэтил/-фосфонат.



Мол. вес 257,45

Хлорофос - белый кристаллический порошок. Растворимость в г на 100г в воде 12,3; в бензоле 15,2; в хлороформе 75. Трудно растворим в парафиновых углеводородах. Т.пл. 73-74°С, давление паров хлорофоса при 20°С составляет $7,8 \cdot 10^{-6}$мм рт.ст, летучесть при 20°С - 0,11мг/м$^3$. Хлорофос устойчив в кислой среде и быстро гидролизуется в щелочной. ПДК в воздухе рабочей зоны - 0,5мг/м$^3$. ПДК в воде водоемов - 0,05мг/л. ДОК в растительных продуктах питания - 0,1-0,2мг/кг. Остатки хлорофоса в продуктах животноводства не допускаются. ДОК в лекарственных травах не установлены.

## 2. Методика энзимно-хроматографического определения хлорофоса в листьях белладонны и траве мяты перечной

### 2.I. Основные положения.

2.I.I. Принцип метода. Метод основан на извлечении хлорофоса из исследуемой пробы органическим растворителем, очистке экстракта[I)] и определении методом хроматографии в тонком слое с энзимным проявлением после активации препарата на пластинке[2)]. Хлорофос, угнетающий холинэстеразу, проявляется в виде белых пятен на голубом фоне.

2.I.2. Метрологическая характеристика метода:

Диапазон определяемых концентраций - от I0нг до 50нг;

Предел обнаружения I0нг /0,0Iмкг/, 0,05мг/кг;

Среднее значение определения стандартных количеств пестицидов в белладонне - 85%, в мяте - 75% из 5 параллельных определений;

Стандартное отклонение $S$ =0,5

Относительное стандартное отклонение $S_r$ =5,8%

Доверительный интервал среднего при $P$ =0,95 и $n$ =5 равен $\pm$ 0,6I

2.I.3. Избирательность метода

Прочие фосфорорганические пестициды определению не мешают.

### 2.2. Реактивы и растворы

Ацетон ч.д.а. ГОСТ 2603-79

Хлороформ х.ч. ГОСТ 20I5-74

н-Гексан х.ч. ТУ 6-09-3375-76

Все растворители свежеперегнанные.

Натрий сернокислый безводный х.ч. ГОСТ 4I66-79

Этиловый спирт ректификат ТУ 6-09-I7-I0-77

Индоксилацетат ч.д.а. ТУ 6-09-07-II56-78

Калий железистосинеродистый ч. ГОСТ 4207-65 -0,05 М р-р (2,11г в 100 мл воды)

Калий железосинеродистый ч. ГОСТ 4206-75 -0,05 М р-р (1,645г в 100мл воды)

Аммиак водный 25% ч.д.а. ГОСТ 3760-79

Буферный раствор pH-8,69 - готовят раствор смеси ортофосфорной х.ч. ГОСТ 6552-80 (2 1мл), уксусной х.ч. ГОСТ 18290-72 (2,3мл) и борной ч.д.а. ГОСТ 9656-75 (2,47) кислот и доводят дистиллированной водой ГОСТ 6709-72 до 1 л. Для получения буфера pH-8,69 к 100мл указанной смеси прибавляют 62,5мл 0,2м р-ра едкого натра, который готовят растворением 0,800г $NaOH$ ч.д.а. ГОСТ 4328-77 в дистиллированной воде в мерной колбе емкостью 100мл.

Ферментный препарат готовят из свежей однократно замороженной печени крупного рогатого скота, которую можно использовать в течение 6 месяцев при дальнейшем ее хранении в холодильнике. 1г печени растирают в ступке с 9мл буферного раствора, фильтруют через вату и разбавляют полученную сыворотку (к 1мл сыворотки добавляют 4мл буферного раствора) и используют этот свежеприготовленный раствор для опрыскивания пластинок.

Силикагель марки КСК ТУ 6-09-2523-72 дробленный и просеянный через сито 100меш

$CaSO_4 \cdot 2H_2O$ ч.д.а. ГОСТ 3210-46 просушенный в сушильном шкафу при $t$=160°С в течение 6 часов

Хлорофос х.ч. ГОСТ 19856-74

2.2.1. Стандартные растворы хлорофоса

Основной стандартный раствор хлорофоса (А) - 100мкг/мл (10 мг

химически чистого препарата /100%/ растворяют в 100мл ацетона); Рабочий стандартный раствор (Б) готовят разбавлением основного раствора "А" -1мл раствора "А" доводят в мерной колбе до 100мл ацетоном (содержание препарата составляет 1мкг/мл)

2.2.2. Проявляющие реактивы

10мг индоксилацетата растворяют в 6мл этанола, прибавляют 6мл буферного раствора, 1мл раствора железосинеродистого калия и 1мл раствора жилезистосинеродистого калия. Проявляющий реактив готовят непосредственно перед опрыскиванием.

2.2.3. Лекарственное растительное сырье

Лист белладонны ГФ X издания, ст.276.

Листья мяты перечной обмолоченные ГОСТ 23-768-79

2.3. Приборы и посуда

Колбы конические плоскодонные на 250мл ГОСТ 10394-72

Колбы круглодонные на 250мл со шлифом ГОСТ 10394-72

Воронки делительные на 500мл ГОСТ 8613-75

Воронки стеклянные ГОСТ 8613-75

Колбы мерные на 100мл ГОСТ 1770-74

Цилиндры мерные ГОСТ 1770-74

Мерные пробирки со шлифом ГОСТ 1770-74 ем. 5-10мл

Эксикаторы ГОСТ 6371-73

Камера для хроматографирования

Стеклянные пластинки 9х12см

Пульверизаторы стеклянные

Компрессорная установка УК-40-2, МРТУ 64-1-2749-73

Микропипетки ГОСТ 1770-74

Испаритель ротационный ИР-1М ТУ -25-11-917-76

Аппарат для встряхивания марки АВУ-I ТУ-64-I-24-5I-72
Шкаф сушильный лабораторный ГОСТ 7365-55
Холодильники стеклянные лабораторные ГОСТ 9499-73
Шаровая мельница

2.4. Подготовка к определению

2.4.I. Приготовление пластинок

35г силикагеля КСК растирают с 2г гипса и 90мл воды дистиллированной до образования однородной массы. Состав указан на I2 пластинок. I0г суспензии наносят на пластинку и равномерно распределяют по поверхности. Сушат пластинки в строго горизонтальном положении, хранят в эксикаторе.

2.4.2. Отбор проб

Для проведения исследований отбирается средняя проба лекарственного растительного сырья весом I кг. Из каждой пробы для анализа методом квартования отбирается три навески по I0г.

2.5. Проведение определения

2.5.I. Экстракция

I0г пробы помещают в колбу с притертой пробкой, заливают 80мл хлороформа и экстрагируют I,5 часа на аппарате для встряхивания. Хлороформный экстракт отделяют от растительной массы через бумажный фильтр, фильтрат собирают в колбу. Растительную массу на фильтре трижды промывают хлороформом по 30мл. Промывные порции хлороформа объединяют с фильтратом и отгоняют досуха на водяной бане при температуре не более 40°С. Остаток не должен содержать хлороформа, после чего обрабатывают его 3-4 раза теплой водой дистиллированной по I5-20мл, фильтруют через бумажный фильтр

"синяя лента". Фильтрат собирают в делительную воронку. Из водного раствора хлорофос экстрагируют хлороформом трижды равным объемом. Хлороформные экстракты собирают вместе, сушат б/в сульфатом натрия, отфильтровывают, растворитель отгоняют до ~1мл. Переносят остаток в мерную пробирку с притертой пробкой, смывают хлороформом в колбу для отгонки и доводят объем экстракта в пробирке до 2мл и хорошо перемешивают.

2.5.2. Хроматографирование

Для уменьшения краевого эффекта с хроматографической пластинки снимают с краев вдоль направления движения растворителя (со стороны 12см) по 2-3мм слой адсорбента. Затем пластинку делят на 4 равные части. На 1-ую и 3-ю полосы на расслоянии 1,5см от нижнего края наносят по 5-10мкл стандартного раствора "Б", т.е. 5нг и 10нг хлорофоса, на 2-ю и 4-ю - 2мкл и 40мкл соответственно пробы. Пластинку с нанесенными растворами помещают в хроматографическую камеру, в которую налита смесь ацетона с гексаном 1:1 за 30 минут до хроматографирования. Когда фронт растворителя поднимется на высоту 10см, пластинку вынимают из камеры и дают растворителю испариться. Затем пластинку опрыскивают разбавленным раствором аммиака (1 ч.аммиака + 4 ч.воды) до слабого увлажнения слоя. Экспозиция 15 минут при комнатной температуре. После активации и высушивания при комнатной температуре пластинки обрабатывают свежеприготовленным ферментным раствором и выдерживают в течение 60 мин в насыщенном водными парами термостате при температуре 38°С (для увлажнения в сушильный шкаф ставят чашку Петри с водой). После инкубации пластинки обрабатывают проявляющим реактивом и помещают в термостат при той же температуре. Хлорофос проявляется в течение 10мин., в виде

белых пятен на голубом фоне. $R_f$=0,34

Чувствительность определения - 0,01 мкг на пластинке, что при навеске 10г и общем объеме экстракта 2 мл составляет 0,05 мг/кг. В случае необходимости чувствительность метода можно увеличить до 0,025мг/кг за счет уменьшения общего объема экстракта до 1мл.

2.6. Обработка результатов анализа.

Количественное определение проводят путем сравнения площадей пятен пробы и стандартов. Причем, если пятно меньшего объема пробы (2мкл) четко видно и приближается по площади к пятну стандарта 5нг, количественный расчет проводят по этому пятну пробы. Пропорциональная зависимость площади пятна от концентрации соблюдается в пределах от 10нг до 50нг.

Содержание препаратов в пробе (мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot S_2 \cdot V \cdot 1000}{S_1 \cdot V_1 \cdot P}$$

$A$ - содержание препарата в стандарте, мкг

$S_1$ - площадь пятна стандарта, мм$^2$

$S_2$ - площадь пятна пробы, мм$^2$

$V_1$ - объем экстракта, нанесенного на пластинку, мкл

$V$ - общий объем экстракта, мл

$P$ - масса пробы, взятой для анализа, г

3.0. Требования безопасности.

Соблюдаются требования безопасности обычно рекомендуемые для работы с химическими реактивами и ФОС. Обработку пластинок индоксилацетатом следует проводить в вытяжном шкафу.

4.0. Настоящие методические указания разработаны

Письменной М.В. /ВНИИГИНТОКС, Киев/,

Красаренко Г.И., Горлачевой С.С. /ВИЛР, Москва/

# 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