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.
№ 2424-81

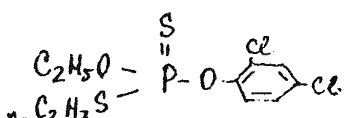
ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ПРОТИОФОСА В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ, ПОЧВЕ И ВОДЕ ТОНКОСЛОЙНОЙ И ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ

I. Краткая характеристика препарата

I.I. Протиофос

I.2. О-этил-S-n-пропил-О-(2,4-дихлорфенил)тионотиолфосфат

I.3. Структурная формула:



Мол. масса 345,2

I.4. Синонимы: NTN 8629, токутион

I.5. Технический продукт - бесцветная жидкость с температурой кипения 125-128°С. Растворимость в воде - 0,17 мг/100 г при 20°С. Хорошо растворим в органических растворителях.

Протиофос - контактно-кишечный инсектицид, $ЛД_{50}$ для крыс - 991 мг/кг. Эффективен против чешуекрылых, трипсов, червецов; обладает некоторой акарицидной и афицидной активностью.

2. Методика определения протиофоса

2.I. Основные положения

2.I.I. Принцип метода

Метод основан на хроматографическом (газожидкостная и тонкослойная хроматография) определении протиофоса после экстракции из образца органическим растворителем, а для почвы - смесью ацетона с 0,05 н водным раствором хлористого кальция в соотношении I:I, очистке путем переэкстракции, а также на колонке с окисью алюминия.

Хроматографическое определение в тонком слое проводится на пластинках со слоем силикагеля марки КСК или на пластинках "Силуфол". Хроматографируют в системе гексан-ацетон (4:I), проявляют пластинки 2,6-дибромхинонхлоримидом или другим реагентом, используемым для обнаружения фосфорорганических пестицидов.

Для газохроматографического определения используют термоионный детектор (ДТИ) или детектор по захвату электронов (ДЭЗ) или постоянной скорости рекомбинации (ДПР), колонка стеклянная с носителями и фазами, указанными в разделе 2.4.2.

2.I.2. Метрологическая характеристика метода

	ТСХ	ГЖХ
Минимально детектируемое количество	0,5 мкг	I нг
Нижний предел определения	0,05 мк/кг,мг/л	0,0I мг/кг,мг/л
P - размах варьирования, %%		
в растениях	75,0-90,0	75,0-95,0
в почве	70,0-95,0	90,0-99,0
в воде	85,0-95,0	90,0-99,0
$\bar{c}$ - среднее значение определения, %%		
в растениях	83,2	85,8
в почве	85,0	97,0
в воде	89,4	97,0

- стандартное отклонение, %

в растениях	± 5,3	± 4,9
в почве	± 5,7	± 5,2
в воде	± 4,4	± 4,8

Доверительный интервал среднего при α =0,95 и n =5 - 2,571

2.I.3. Избирательность метода: другие ФОИ не мешают определению.

2.2. Реактивы и растворы

Ацетон, ч.д.а., ГОСТ 2603-79

Ацетонитрил, ч., ТУ 6-09-3375-78

Бензол, х.ч., ГОСТ 5955-75

Гексан, х.ч., ТУ 6-09-3375-78

Диметилформамид, ч., ГОСТ 5703-70

Хлороформ, х.ч., ГОСТ 20I5-74

Кислота уксусная, чда, ГОСТ 6I-69

Алюминий окись, для хроматографии, ч., ТУ 6-09-39I6-75

Кальций хлористый, х.ч., ГОСТ 4T4I-76

Натрий сернокислый, безводный, ч.д.а., ГОСТ 4I66-76

Палладий двухлористый, ч., ТУ 6-09-2025-75

Серебро азотнокислое, ч.д.а., ГОСТ I277-63

Бромфеноловый синий, водорастворимый, чда, ТУ 6-09-3II-70

2,6-дибромхинонхлоримид, ч., МРТУ 6-09-3665-67

Силикагель КСК или пластинки "Силуфол" (Chemapol, ЧССР)

5% SE-30 на хроматоне N-Super (0,T25-0,I60 мм) /Chemapol, ЧССР)

5% SE-30 на хезасорбе AW (0,250-0,360 мм) /Chemapol ЧССР/

3% ОУ-225 на хроматоне N-Super (0,200-0,250 мм) /Chemapol, ЧССР/

5% ХЕ-60 на хроматоне N-AW-(0,I60-0,200 мм) /Chemapol, ЧССР/

Азот особой чистоты

Водород

Сжатый воздух

Проявляющие реагенты:

- 0,2%-ный раствор 2,6-дибромхинонхлоримида в гексане
- 0,2%-ный раствор палладия двухлористого в смеси вода-ацетон (I:I) с двумя каплями концентрированной соляной кислоты
- Бромфеноловый синий : 0,03 г бромфенолового синего растворяют в I0 мл ацетона, затем 0,5% водно-ацетоновым раствором азотнокислого серебра (I ч. воды, 3 ч. ацетона) смесь доводят до I00 мл; 5%-ный раствор уксусной кислоты.

Стандартный раствор протиофоса в н-гексане - I мкг/мл для ГЖХ и I00 мкг/мл для ТСХ.

2.3. Приборы и посуда

Хроматограф "Цвет-I06" или аналогичный прибор с детекторами термоионным (ДТИ), по захвату электронов(ДЭЗ) или постоянной скорости рекомбинации (ДПР)

Аппарат для встряхивания колб

Ротационный вакуумный испаритель, МРТУ 42-2589-66, или аналогичный прибор для отгонки растворителей под вакуумом

Колбы конические со шлифами и пробками на 250-500 мл, ГОСТ I0394-72

Колбы круглодонные со шлифами на I00-500 мл, ГОСТ I0394-72

Воронки, ГОСТ 86I3-75

Делительные воронки на 0,5-I,0 л ГОСТ 86I3-75

Колбы мерные на I00 мл, ГОСТ I770-74

Колонки для адсорбционной хроматографии(300х15 мм),МРТУ 42-2590-66

Хроматографическая камера

Пульверизаторы стеклянные

Пипетки на 0,I и I,0 мл, ГОСТ 20292-74

Почвенное сито

Микрошприц на I0 мкл

Цилиндры мерные на 50-100 мл, ГОСТ 1770-64

Колонки стеклянные (1000х3 мм)

2.4. Отбор проб и подготовка к анализу

2.4.1. Отбор проб

Отбор проб производят в соответствии с унифицированными правилами отбора проб для определения микроколичеств пестицидов в сельскохозяйственной продукции, продуктах питания и объектах окружающей среды , утвержденными Заместителем Главного Государственного санитарного врача СССР 21.08.1979 №2051-79.

Растительную продукцию (овощи: капусту, огурцы и др.; фрукты, зеленую массу растений) измельчают и отбирают квартованием среднюю пробу 25 г.

Почву в естественно влажном состоянии или воздушно-сухую тщательно перемешивают, измельчают, просеивают через почвенное сито и отбирают для анализа среднюю пробу 10-25 г.

Проба воды - 100 мл.

2.4.2. Приготовление хроматографических колонок.

Стеклянные хроматографические колонки (1000х3 мм) заполняют хроматоном *N*-Super (0,200-0,250 мм), пропитанным 3% ОУ-225, хроматоном *N*- Super (0,125-0,160 мм), пропитанным 5% Е-30, либо 5% Е-30 на хезасорбе AW(0,250-0,360 мм) или 5% ХЕ-60 на хроматоне *N*-AW (0,160-0,200 мм).

2.4.3. Построение градуировочного графика.

Для количественного определения протиофоса во введенной аликвоте используют метод абсолютной калибровки, который заключается в построении графической зависимости высоты или площади хроматографического пика от содержания вещества в стандартной пробе. По оси ординат откладывают значения высот (площадей) хроматографических пиков в мм (мм^2 или мкВ•сек), а по оси абсцисс - абсолютное количество исследуемого , соответствующее данному пику.

Градуировочный график необходимо строить в день газохроматографического анализа проб в тех же условиях, особенно при работе с ДТИ.

2.5. Проведение определения.

2.5.1. Экстракция и очистка экстрактов

Из растительных проб протиофос извлекают 100 мл смеси ацетона с водой (1:1), из почвенных проб - 50 мл смеси ацетона с 0,05 н раствором хлористого кальция (1:1), из воды - хлороформом, порциями по 50 мл дважды и 25 мл. Экстрагируют при встряхивании по 30 минут. После этого растительные экстракты помещают в холодильную камеру или в смесь соли и льда для вымораживания восков. Пробы далее фильтруют через бумажный фильтр. Из объединенного фильтрата протиофос переэкстрагируют в н-гексан, прибавляя последний порциями по 20 мл, каждый раз встряхивая в делительной воронке в течение 3-5 минут. Гексановые фракции высушивают путем фильтрования через слой безводного сернокислого натрия, объединяют и концентрируют до небольшого объема(1,0-0,5 мл) под вакуумом при температуре 40°С.

Экстракты из растительных объектов в некоторых случаях нуждаются в дополнительной очистке. Для этого из пробы растворитель отгоняют полностью, к остатку прибавляют по 5 мл ацетонитрила дважды (вместо ацетонитрила можно использовать диметилформамид), каждый раз сливая растворитель в чистую колбу. К общему объему растворителя (10 мл) добавляют 40 мл дистиллированной воды. Затем в течение 3-5 минут производят переэкстракцию протиофоса в н-гексан равными объемами при встряхивании. Объединенный гексановый экстракт высушивают безводным сернокислым натрием и концентрируют под вакуумом при 40°С.

Дальнейшую очистку растительных проб и проб из почвы производят на колонке (300х15 мм), заполненной последовательно сернокислым натрием (3-4 г), окисью алюминия (5 г) и снова сернокислым натрием(2 г). Предварительно колонку промывают хлороформом (30/40 мл). Протиофос элю-

руют бензолом (50 мл). Растворитель отгоняют под вакуумом до объема 0,3-0,5 мл. Количество инсектицида определяют хроматографическими методами. Для ГЖХ очистка экстрактов из растений и почвы на колонках, как правило, не требуется.

2.5.2.. Условия хроматографирования в тонком слое

Проба с помощью капилляра или микропипетки наносится на хроматографическую пластинку со слоем силикагеля или на "Силуфол". Параллельно на пластинку наносят серию стандартных растворов с содержанием 3, 5, 10 мкг действующего вещества протиофоса. Хроматографируют в системе гексан-ацетон (4:1), проветривают и опрыскивают одним из проявляющих реагентов:

- Хроматограмму опрыскивают 0,2%-ным раствором 2,6-дибромхинонхлоримида в гексане, затем нагревают в течение 30 секунд в термостате при температуре 110-120°С. Протиофос проявляется в виде красных пятен на белом фоне. Нижний предел определения протиофоса в листьях капусты - 0,5 мкг.

- Хроматограмму опрыскивают 0,2%-ным раствором хлористого палладия. Протиофос проявляется в виде желтых пятен с коричневой окантовкой на светлом фоне. Нижний предел обнаружения протиофоса в листьях капусты - 3 мкг.

- Хроматограмму обрабатывают бромфеноловым синим с последующим обесцвечением фона раствором лимонной кислоты. Протиофос проявляется в виде серо-синих пятен на желтом фоне. Нижний предел обнаружения протиофоса в листьях капусты 5 мкг.

Значение R_f протиофоса в системе н-гексан-ацетон(4:1) равно $0,52 \pm 0,02$, в системе бензол-хлороформ (1:1) $0,65 \pm 0,03$ (при температуре 18°С).

Содержание протиофоса в исследуемом объекте вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A}{P}$$, где

А - количество препарата, найденное по хроматограмме при сравнении со стандартами, мкг;

Р - навеска исследуемой пробы, мг, или объем воды, мл;

Х - содержание протиофоса в пробе, мкг/кг или мг/л.

2.5.3. Условия газожидкостного хроматографирования

С помощью микрошприца аликвотную часть исследуемого раствора (I-5 мкл) вводят в испаритель хроматографа.

Для количественного определения протиофоса используют хроматограф с термоионным детектором(ДТИ) или по захвату электронов (ДЭЗ) или постоянной скорости рекомбинации (ДПР), фазы и носители описаны в разделе 2.4.2.

При работе с ДТИ скорость газа-носителя - азота особой чистоты - 25 мл/мин, скорость водорода - I5-I8 мл/мин, скорость воздуха - I70 мл/мин. При работе с ДЭЗ (ДПР) скорость газа-носителя - 40-50 мл/мин, скорость продувки - I20-I50 мл/мин. При работе как с ДТИ, так и с ДЭЗ (ДПР) скорость диаграмной ленты 600 мм/час, температура термостата колонок I80-200°С.

Время удерживания протиофоса в указанных условиях на колонке с 5% SE-30 на хезасорбе AW (0,250-0,360) при температуре колонки 200°С - 2 минуты I0 секунд при работе с ДПР.

Количественное определение протиофоса во введенной аликвоте проводят с помощью градуировочного графика (см. 2.4.3.).

Содержание протиофоса в анализируемой пробе вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C \times K}{У \times P}$$, где

Х - содержание протиофоса в анализируемой пробе, мг/кг или мг/л;

С - общий объем раствора, мл:

У - объем аликвоты, вводимой в хроматограф, мкл;

К - количество препарата в аликвоте, определенное по градуировочному графику, нг;

Р - навеска анализируемого вещества, 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 или разбавляя отобранную аликвоту до определенного объема.

2.6. Обработка результатов анализа приведена в 2.5.2. и 2.5.3.

3. Требования безопасности

Общепринятые требования при работе с горючими растворителями и фосфорорганическими пестицидами.

Методические указания разработаны:

Петрова Т.М., Красникова Н.Г., Мельникова З.В. - Всесоюзный научно-исследовательский институт защиты растений, Ленинград.

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