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
" 22 " октября 1981г.
№ 2470-81

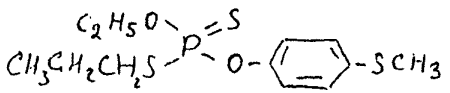
ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ БОЛСТАРА В БОТВЕ И КЛУБНЯХ КАРТОФЕЛЯ, ЛИСТЬЯХ И СТЕБЛЯХ ХЛОПЧАТНИКА, КАПУСТЕ, ПОЧВЕ И ВОДЕ ТОНКОСЛОЙНОЙ И ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ

I.I.Краткая характеристика препарата.

I.I. Болстар, хелатион, супрофос

I.2. О-(4 метилтиофенил)- пропил-О-этилдитиофосфат.

I.3. Структурная формула:



М.м. 322,I7

I.4. Химически чистый болстар – светлая маслянистая жидкость со специфическим запахом тиофосфатов. Плохо растворим в воде, хорошо растворим в большинстве органических растворителей, легко гидролизуется в растворах щелочей. Т.кип. – I25°.

Выпускается в виде 72% эмульсионного концентрата. Высоко токсичен. $ЛД_{50}$ для крыс I07 мг/кг. Препарат предложен в качестве контактного инсектицида в борьбе с вредителями на хлопчатнике, табаке, томатах, люцерне и ряде других культур.

Активен против чешуекрылых, клопов и других вредителей ДОК

и ПДК не установлены.

2.Методика определения болотара

2.I. Основные положения

2.I.I. Принцип метода

Метод основан на извлечении болотара из анализируемых проб органическим растворителем (хлороформ, гексан, петролейный эфир), очистке экстракта при извлечении препарата из ботвы картофеля, листьев и стеблей хлопчатника на хроматографической колонке или путем вымораживания вооков охлажденным ацетоном при определении из капусты с последующим определением методом тонкослойной или газожидкостной хроматографией.

2.I.2. Метрологическая характеристика метода

	ТСХ	ГЖХ	
		ТИД	ДЭЗ
Минимально детектируемое количество	I-2 мкг	I-2 нг	0,5 нг
Нижний предел определения	0,0I мг/кг	0,00I	0,0005
Р-размах варьирования,%			
в растениях	70-90	73-98	78-84
в почве	70-90	72-99	85-95
в воде	80-I00	82-I00	87-98
С-среднее значение определения,%			
в растениях	83,2	90,8	83,7
в почве	8I,0	85,9	90,4
в воде	90,0	95,0	94,5
-стандартное отклонение,%			
в растениях	± 9,4	± 3,5	± 6,2
в почве	± 8,8	± 7,9	± 3,9
в воде	± 7,8	± 3,9	± 3,7

Доверительный интервал среднего
при P=0,95 и n=5%

для растений	83,2±12,1	90,8±4,5	83,7±5,1
для почвы	81,0±11,3	85,9±10,2	90,4±4,7
для воды	90,0±10,0	95,0±5,0	94,5±4,2

2.1.3. Избирательность метода

Метод специфичен, другие фосфорорганические соединения, ГХЦГ, ДДТ в данных условиях хроматографирования определению не мешают.

2.2. Реактивы и растворы

Болстар, х.ч., В мерную колбу на 50 мл наливают 10-15 мл гексана, взвешивают, добавляют 2-3 капли болотара, снова взвешивают и доводят до метки гексаном, расчитывают содержание препарата в 1 мл раствора. Из этого раствора готовят стандартные растворы болотара в гексане, содержащие 100, 10 и 1 мкг в мл.

Хлороформ, х.ч., ТУ 6-09-4263-81

Эфир диэтиловый (для наркоза) Фармакопея СССР

Ацетон, ч.д.а., ч.,ГОСТ 2603-79

Н-гексан, х.ч., ТУ 6-09-3375-78

Эфир петролейный, х.ч., ТУ-МХП-1867-73

Натрий сернокислый безводный., ч.д.а., ГОСТ 4166-76

Алюминия окись П степени активности ТУ 6-09-3916-81

Уголь активированный марки КАД молотый или ОУ-А

Орто-фосфорная кислота, ч., ГОСТ 6552-80

Аммоний хлористый, х.ч., ГОСТ 3773-81

Азот особой чистоты ГОСТ 9293-74

Силуфоловые пластинки "ИУ - 254" (ЧССР)

Водород

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

Раствор для осаждения. 5г хлористого аммония растворяют в 1000 мл воды, смешивают с I0 мл 85%-ной ортофосфорной кислоты и доводят до литра водой.

2.2.I. Проявляющие реагенты:

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

2. 0,2%-ный раствор хлористого палладия. 0,2г., хлористого палладия помещают в колбочку емкостью в I00 мл, прибавляют 2 капли концентрированной соляной кислоты, опускают колбу в нагретую до 60-70°С водяную баню на I0-I5 мин, переодически встряхивая, после полного растворения содержимое колбы доводят до I00 мл водой.

3. 50мг бромфенолового синего растворяют в I0 мл ацетона и доводят до I00 мл I% водно-ацетоновым раствором азотнокислого серебра (ацетон:вода - 3:I) 5% уксусная кислота или 5% лимонная кислота.

2.3. Приборы, аппаратура и посуда

Газовый хроматограф с ДЭЗ и ТИД

Хроматографическая камера, ГОСТ I0565-73

Камера для опрыскивания, ГОСТ I0565-63

Пульверизатор стеклянный, ГОСТ I770-74

Испаритель ротационный, ИР-Iм, ТУ-25-II-9I7-74

Аппарат для встряхивания, АВУ-I, ТУ 64-I-I08I-73

Прибор для облучения УФ-светом с лампой ПРК-4,

Микрошприц на I0 мкл, МШ-I0, ТУ 5 -2.833.0,24

Колонка хроматографическая стеклянная длиной 1м и внутренним диаметром 3 мм

Колонка для адсорбционной хроматографии (300 х 15 мм) МРТУ 42-2690-66

Воронки делительные ВД-3-250, ГОСТ 8613-75

Колбы конические нормального шлифа ГОСТ 10394-72

Колбы остродонные ОНТ-60-14/23 Т , ГОСТ 10394-72

Колбы мерные на 50 и 100 мл ГОСТ 1770-74

Микропипетки, 0,1 мл, ГОСТ 1770-74

Химическая, стеклянная посуда, согласно ГОСТ 1770-74

Баллоны газовые

Секундомер

Лупа и линейка измерительные

2.4. Отбор, хранение и доставка проб

2.4.1. Отбор проб производится в соответствии с унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов, утвержденными Заместителем Главного Государственного Санитарного врача СССР 21.08.1979г. за № 2051-79.

2.5. Проведение определения

2.5.1. Экстракция

ВОДА. 200 мл анализируемой воды помещают в делительную воронку и трижды экстрагируют петролейным эфиром или н-гексаном по 50, 40 и 25 мл в течении 5 мин. Объединенный экстракт, сушат безводным сернокислым натрием, концентрируют на ротационном испарителе до 0,2-0,3 мл (гексановый экстракт при темпера-

туре + 40°С, а петролейный эфир при Т.+25°С). Остаток удаляют в токе воздуха.

ПОЧВА. 50г воздушно-сухой почвы заливают 80 мл гексана или петролейного эфира и встряхивают в течении 30 мин, фильтруют через слой безводного сернокислого натрия (операцию повторяют еще дважды), отгоняют на испарителе до 0,2-0,3 мл, остаток удаляют в токе воздуха.

БОТВА. 25г картофельной ботвы тщательно измельчают, заливают 50 мл хлороформа (анализ ТСХ и ГЖХ с ТИД). Экстракцию провдят путем встряхивания, трижды по 15 мин со свежей порцией растворителя, фильтруя через бумажный фильтр с безводным сернокислым натрием. Объединенный экстракт отгоняют на ротационном испарителе до объема 0,2-0,3 мл и пропускают через хроматографическую колонку.

КАПУСТА и клубни картофеля. Навеску капусты и клубней картофеля (25г) заливают 30 мл гексана или петролейного. Экстракцию проводят путем встряхивания в течении 15 мин, растворитель отфильтровывают через бумажный фильтр со слоем безводного сернокислого натрия, экстракцию проводят дважды. Объединенный экстракт концентрируют на ротационном испарителе до 0,2-0,3мл. Остаток удаляют в токе воздуха.

ЛИСТЬЯ и стебли хлопчатника. Навеску 30г листьев и стеблей хлопчатника заливают 50 мл гексана, встряхивают 30 мин, растворитель отфильтровывают через бумажный фильтр со слоем безводного сернокислого натрия, экстракцию проводят трижды. Объединенный экстракт концентрируют на ротационном испарителе до объема 0,2-0,3 мл и пропускают через хроматографическую колонку.

2.5.2. Очистка экстракта. Сухой остаток из капусты растворяют в 5 мл охлажденного ацетона, приливают 5 мл дистиллированной воды, затем прибавляют 30 мл охлажденного осаждающего раствора и помещают колбу на 40 минут в холодильник. Содержимое колбы отфильтровывают через плотный бумажный фильтр. Из водного раствора болотара экстрагируют н-гексаном трижды по 3 минуты порциями по 25 мл. Объединенный экстракт сушат безводным сернокислым натрием и концентрируют до объема 0,2-0,3 мл. Остаток удаляют в токе воздуха.

Экстракт из ботвы очищают на хроматографической колонке диаметром 20 мм, которую готовят следующим образом: в нижнюю часть колонки помещают кусочек стекловолокна, далее слой окиси алюминия II степени активности по Брокману (1,5 см), затем смесь из 1г окиси алюминия и 1г активированного угля и снова слой окиси алюминия (1,5 см) сверху-кусочек стекловолокна. В целях снижения адсорбционной емкости через колонку пропускают 50 мл хлороформа.

Сухой остаток растворяют в 5 мл хлороформа переносят в колонку. Элюирование проводят 75 мл хлороформа под разряжением водоструйного насоса, элюат отгоняют на ротационном испарителе до объема 0,2-0,3 мл. Остаток удаляют в токе воздуха.

Экстракт из листьев и стеблей хлопчатника очищают на хроматографической колонке диаметром 15 мм и длиной 30 см, заполненную слоем (2-3 см) безводного сернокислого натрия далее слоем (3-4 см) активированного угля марки БАУ или КАД молотый. Для уменьшения сорбционной емкости через колонку пропускают 30 мл гексана.

Пробу растворяют в 2 мл гексана и элюируют 50 мл гексана под разряжением водоструйного насоса, элюат концентрируют на ротационном испарителе до объема 0,2-0,3 мл, остаток удаляют в токе воздуха.

2.5.3. Идентификация и количественное определение болстара

2.5.3.I. Метод газожидкостной хроматографии с ТИД.

Используют колонку Iм, диаметр 3 мм, носитель хроматон N-AW-ДМСS (0,2-0,25 мм) с неподвижной фазой 5% S E-30. Температура колонки 220°С, детектора 230°С, испарителя 230°С. Расход газа-носителя 22 мл/мин, водорода I0-I2 мл/мин, воздуха 400 мл/мин. Шкала усилителя $I \cdot I0^{-I0}$а, скорость движения ленты самописца 200 мм/час. Время удерживания в указанных условиях хроматографирования 6 мин I5 сек.

Сухой остаток растворяют в точно известном количестве гексана (5-I0 мл) и используют для определения. В колонку вводят 2-3 мкл рабочего раствора. Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,I-2,5 нг.

2.5.3.2. Метод газожидкостной хроматографии с ДЭЗ. Используют колонку длиной Iм, диаметр 3,5мм, носитель хроматон N-AW-ДМСS (0,I6-0,2 мм) с неподвижной фазой 5% S E-30. Температура термостата колонок 250°С, испарителя 270°С, детектора 275°С. Расход газа-носителя 3 л/час, скорость движения ленты самописца 360 мм/час. Шкала усилителя $0,25 \cdot I0^{-I0}$а. Время удерживания болстара 4 мин 36 сек. Сухой остаток растворяют в I мл гексана и используют для определения. В колонку вводят 2 мкл раствора. Линейность детектирования сохраняется в пределах 0,5-5нг.

2.5.3,3. Условия определения тонкослойной хроматографией.

Сухой остаток растворяют в 0,2-0,3 мл гексана и с помощью микропипетки наносят на пластинку. Стенки колбы смывают несколькими каплями растворителя, который наносят в центр пятна. Рядом с пробой наносят стандартные растворы, после чего пластинку помещают в хроматографическую камеру. После подъема фронта подвижных растворителей на 10 см пластинку вынимают из камеры, сушат на воздухе и помещают на 10 мин под источник УФ-света, затем ее опрыскивают одним из окрашивающих реагентов. 0,2% раствор хлористого палладия. 0,5% раствор 2.6 дибром N -хлор хинонимина в н-гексане. Болотар проявляется в виде красных или желтых пятен на светло-желтом фоне с величиной R_f=0,45± 0,05 при хроматографировании в системе подвижных растворителей: гексан-хлороформ 2:1, R_f =0,5 - в системе гексан-ацетон 3:1, R_f 0,75 в системе гексан-диэтиловый эфир 3:1.

При развитии хроматограмм в системе гексан-ацетон 4:1, R_f 0,65±0,02. Пластинку высушивают при комнатной температуре обрабатывают проявляющим реактивом - бромфеноловым реагентом и 5% уксусной кислоты. Для закрепления и лучшего проявления сушат 10 минут при температуре 100°. На синем фоне проявляются четкие желтые пятна. Окраска устойчива долгое время.

2.6.Обработка результатов

Содержание препарата при определении ГЖХ расчитывают по формуле:

$$X=\frac{H_1 \cdot V_1 \cdot C_1 \cdot V_3}{H_2 \cdot V_2 \cdot P}$$, где

X-количество препарата в пробе, мг/кг, мг/л

C -количество препарата в стандартном растворе, мг/мл

H_I – высота (или площадь пика в одучае с ДЭЗ) стандартного раствора мм, $мм^2$

H_2 – высота (или площадь в случае с ДЭЗ) пика анализируемого раствора мм, $мм^2$

$У_1$ – объем стандартного раствора, введенного в хроматограф, мкл

$У_2$ – объем анализируемого раствора, введенного в хроматограф, мкл

$У_3$ – объем экстракта анализируемой пробы

Р – навеска или объем пробы г, мл

Содержание болстара при определении ТСХ расчитывается по формуле:

$$X=\frac{A \cdot S_2}{P \cdot S_1}, \text{ где}$$

Х – содержание болстара в пробе мг/кг, мг/мл

А – содержание препарата в стандартном растворе

Р – вес или объем анализируемой пробы г или мл

S_1 – площадь пятна стандартного раствора $мм^2$

S_2 – площадь пятна пробы $мм^2$

3.Требование безопасности

Соблюдать все требования безопасности, обычно рекомендуемые для работы с органическими растворителями и УФ-светом.

4.Настоящие методические указания подготовлены кандидатами с/х наук А.А.Красных, М.Ф.Зелениной, В.С.Шустровым (ВНИИЗР – Всероссийский НИИ защиты растений пос.Рамонь, Воронежской области)

м.н.с. Чепкуновым А.Б., м.н.с. Эшанходжаевым Д.Ю. (УзНИИСТиПз-Узбекский НИИ санитарии, гигиены и профзаболеваний г.Ташкент)

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