

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

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ПЕСТЬ-
ЦИДОВ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, КОРМАХ И ВНЕ-
НЕЙ СРЕДЕ

ЧАСТЬ XII-я

Москва - 1983

ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ
ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ,
БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОРНИКАМИ ПРИ МСХ СССР

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ
В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, КОРМАХ И ВНЕШНей СРЕДЫ

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

Настоящие методические указания предназначены для санитарно-эпидемиологических станций и научно-исследовательских учреждений Минздрава СССР, а также ветеринарных, агротехнических, 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 ИМПиТИ им. Мариновского Е.И. и лабораторным советом при Главном санитарно-эпидемиологическом управлении Минздрава СССР.

"Утверждай"

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

2.1. Основные положения

2.1.1. 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 кремнсовой 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 - 0,10 мг/кг. Минимально детектируемые количества алтосида - 0,04 нг, алтозара - 0,02 нг, п-бром-

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

2.1.2 Метрологическая характеристика метода приведена
в табл. 2*.

2.2. Реактивы и растворы

и-Гексан, ч., ТУ 6-09-3375-78

Циклогексан, ч., МРТУ 6-09-3112-66

Хлороформ, чда., ГОСТ 3160-54*4

Ацетон, чда., ГОСТ 2603-79

Метилен хлористый, ч., ТУ 6-19-3716-74

Этиловый эфир уксусной кислоты, чч., ГОСТ 5-1070-71

Диэтиловый эфир, для наркоза

Натрий сернокислый б/в, чч., ГОСТ 4166-66

Алюминия окись для хроматографии, II-ой стадии, МРТУ 6-09-5296-68

Кремневая кислота для тонкослойной хроматографии, чда., ГОСТ 4214-70

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

Пластинки Силуфол 150 x 150 мм или 5 x 150 мм (ЧССР)

5%-ный раствор фосфорно-малибденовой 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 реагент: 0,25 г азотнокислого серебра растворяют в
1 мл дист.воды, прибавляют 1,2 мл конц. аммиака (25%) и доводят
ацетоном до 25 мл. Хранят в холодильнике.

Соляная кислота, конц., чда., ГОСТ 3118-67

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

2%-ный раствор п-нитробензилпиридина (ч, МРТУ 6-09-А737-67) в ацетоне, хранят в холодильнике,

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

Азот, осн, МРТУ-6-02-375-66,

Водород.

Хроматон N-AW-HMDS (0,16-0,20 мл) с 5% SE-30,

Хроматон N-AW-HMDS (0,16-0,20 мл) 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

Гемогенизатор, тип 302 (ПНР) или любой другой

Ротационный испаритель

Apparat 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 КНКШ)

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

Воронки химические диаметром 4-8 см

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

Микропипетки на 0,1 и 0,2 мл

Пластины стеклянные для ТСХ размером 8 x 16 см или 20 x 20 см

Пульверизатор

Сосуды (камеры) для хроматографирования

Прибор для отгона растворителей

Газовый хроматограф серии "Цвет"

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

Микрометрии на 10 мкм

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 упаковывают 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 упаковывают 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 апи-

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 сусуде для микросублимации током воздуха полностью. Подключают прибор к вакууму и дистиллируют при 85⁰ 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 ГХХ 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 почечный 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 ГХХ определения.

2.5. Качественная идентификация

На расстояний 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-акетон (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 - розово-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%-й соляной кислоты с 5%-ным раствором марганцовокислого калия. Проветривают пластинку от избытка хлора в вытяжном шкафу. Затем опрыскивают ее проявляющим реагентом (раствором азотнокислого серебра и амиака 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 тетраэтиламинептамина в ацетоне. В этом случае п-бромфениловый эфир гераниола про-

является синим пятном на белом фоне.

Величины $\lambda_{\text{алтосида}}$, алтозара и п-бромфенилового эфира гераниола в разных системах подвижных растворителей представлены в таблице 3. 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-ДМДЗ (0,16-0,20 мм) с 5% ХЕ-30.

Для алтосида температура испарителя 220°C , колонки - 200°C , для алтозара, соответственно, - 200°C и 185°C . Поток азота 30 мл в мин., водорода 30 мл/мин, воздуха 24 л/ч, шкала электрометра - $2 \cdot 10^{-11}$ а.

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

стеклянная колонка длиной 2 м диаметром 3 мм заполнена Хроматоном N-AW-ДМДЗ (0,16-0,20 мм) с 5% ХЕ-60, температура испарителя 210°C , колонки - 175°C , поток азота - 60 мл/мин, водороде - 30 мл/мин, воздуха - 24 л/ч, шкала электрометра - $2 \cdot 10^{-11}$ а.

Скорость протяжки ленты 860 мм/ч.

Для количественного определения указанных веществ микроприемом 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 ювенильного гормона в анализируемой пробе упаривают очищенный экстракт до 1-2 мл и вновь вводят в колонку 2 мкл экстракта.

Рассчитывают содержание аналогов ювенильного гормона в анализируемом объекте по уравнению:

$$C = \frac{C_{ст} \cdot H_I \cdot a \cdot 1000}{H_{ст} \cdot v \cdot n}, \text{ где}$$

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

H_I - высота пика анализируемого вещества, мм,

$H_{ст}$ - высота пика стандартного раствора вещества, мм,

a - объем вводимого в колонку хроматографа вещества, мкл,

n - 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.Вылегжаниной (ВНИИМЗР):

3. Требования безопасности

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

ТАБЛИЦА I

Физико-химические свойства аналогов ивенильного гормона

Название аналога ивениль- ного гормона	Эмпири- ческая формула	Молеку- лярный вес	Удель- ный вес	Упругость пара при 25° мм рт. ст.	при 40° мм рт. ст.	Растворимость вода : органические лг/д : растворители :(25°C):	ДД ₅₀ : через ПДК : рот : мг/кг для крыс:	
Изопропи- локси-3,7,II-три- метил-2, ⁴ -додека- диеноат (алтосид, -515)	C ₁₉ H ₃₄ O ₃	310	0,9261	2,37·10 ⁻⁵	1,60·10 ⁻⁴	1,39	Ацетон, хлоро- форм, бензол, спирт, гексан и др.	5000 Не уста- новле- но
Этил-3,7,II-три- метил-2, ⁴ -додека- диеноат (алтозар, -512)	C ₁₇ H ₃₀ O ₂	266	0,8643	1,88·10 ⁻⁴	1,03·10 ⁻³	0,54	Ацетон, хлоро- форм, бензол, спирт, гексан и др.	3000 Не уста- новле- но
I-(4'-бромфенокси)- -3,7-дистил-2,6- октадиен	C ₁₆ H ₂₁ OBr	309				плохо	Ацетон, хлоро- форм, бензол, этилацетат, спирт, гексан, никлогексан	НЕ установ- лено уста- нов- лено

ТАБЛИЦА 2

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

Препарат	Объект исследования	Предел обнаружения, нг	Число определений n	Среднее значение \bar{X}	Средняя квадратичная ошибка единичного измерения S_n	Средняя квадратичная ошибка единично-го измерения, % $S\bar{X} : \bar{W}$	Коэффициент вариации w	Доверительный интервал, % ΔX	Относительная погрешность измерения, %
									ε_x
Алтосид	растения картофеля	0,04	9	83,52	3,91	1,30	4,68	3,58	2,99
	почва	0,12	9	73,10	11,30	3,77	15,45	11,90	8,70
Алтозар	растения картофеля	0,02	9	91,85	12,31	4,10	14,30	10,30	9,46
	почва	0,06	12	84,65	5,07	1,46	5,3	3,79	3,21
п-Бром-фениловый эфир гераниола	растения картофеля	0,08	12	113,76	10,48	3,02	9,21	5,83	6,65
	почва	0,24	6	90,93	9,88	4,07	10,77	11,50	10,46

ТАБЛИЦА 3

Величины R_f препаратов в различных системах подвижных растворителей

Препарат	Подвижный растворитель			
	Гексан-этиловый эфир уксусной кислоты : гексан- ацетон			
	(9:1)	(1:1)	(4:1)	(4:1)
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

ХЛОРООРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

Стр.

1. Временные методические указания по определению ХОП (ДДТ, ДДЭ, ДДА, -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 ГХХ.	12
3. Временные методические указания по определению остаточных количеств митрана в воде, сливах и яблоках методом ТСХ.	23
ФОСФОРОГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ	
1. Методические указания по определению афоса в воздухе рабочей зоны методами ГХХ и ТСХ.	29
2. Временные методические указания по определению болстара в ботве и клубнях картофеля, листьях и стеблях хлопчатника, капусте, почве и воде ТСХ и ГХХ.	36
3. Методические указания по определению глифосата и его метаболита - аминометилбензойновой кислоты методом хроматографии в воде, почве, растительном материале.	46
4. Методические указания по определению остаточных количеств дуробана в воде, почве, лесной растительности и биосредах методом ТСХ.	54
5. Временные методические указания по определению каунтара в растениях сахарной свеклы и почве методом ТСХ.	61

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

АЗОТСОДЕРЖАНИЕ 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

- | | | |
|----|--|-----|
| 1. | Временные методические указания по определению геранилбутирата 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 маргания в почве, воде, растениях (подсолнечнике, лука) и в воздухе полярографическим и хроматографическим (ТСХ) методами.	230
7. Временные методические указания по определению остаточных количеств некоторых аналогов юенильного горючона (алтосида, алтозара и п-бромфенилового эфира гераниола) в растениях картофеля и почве методами ТСХ и ГЖХ.	247
Дополнения	258

Л- 71958 от 20.1.83 г. Тираж 2000 экз., заказ № 1873
Типография ВАСХНИЛ