

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.

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Главного Государственного
санитарного врача СССР

А.И. Заиченко

6 августа 1981 г.
№ 2429-81

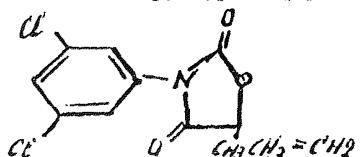
ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ
РОНИЛАНА В РАСТИТЕЛЬНОЙ ПРОДУКЦИИ, ПОЧВЕ И
ВСДЕ ТОНКОСЛОЙНОЙ И ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ.

1. Краткая характеристика препарата

1.1. Ронилан.

1.2. 5-винил-5-метил-3-(3,5-дихлорфенил)-1,3-оксазолидиндион
- 2,4.

1.3. Структурная формула



Молекулярная масса 286, I

1.4. БАС 35200

1.5. Химически чистое вещество представляет собой кристаллический порошок без запаха с температурой плавления 108°C. Плохо растворим в воде, хорошо в ацетоне, хлороформе, сензоле, этаноле. Препарат молотковичен для теплокровных животных. Д₅₀ для крыс составляет 9875 мг/кг. Выпускается в форме 50 и 75%-го сматывающегося порошка.

2. Методика определения ронилана.

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Метод основан на извлечении ронилана из анализируемой про-

бы органическим растворителем, очистке экстракта с последующим определением тонкослойной или газожидкостной хроматографией.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

	ТСХ	ГЖХ
Минимальное детектируемое количество	1-2 мкг	1 нг
Нижний предел определения	0,05 мг/кг	0,005 мг/кг
P - размах варьирования, %		
в растениях	70,0-90,0	75,0-90,0
в почве	80,0-95,0	90,0-95,0
в воде	81,0-100,0	81,0-100,0
С - среднее значение определения, %		
в растениях	78,6	93,0
в почве	87,5	97,0
в воде	89,5	89,5
Г - стандартное отклонение, %		
в растениях	±9,0	±5,0
в почве	±8,7	±3,3
в воде	±7,9	±7,9
Доверительный интервал среднего при $\alpha = 0,95$ и $n = 5$ %		
для растений	78,6±9,0	93,0±5,0
для почвы	87,5±8,7	97,0±3,3
для воды	89,5±7,9	89,5±7,9

2.1.3. Избирательность метода.

Метод специфичен, другие препараты в данных условиях хроматографированья определению не мешают.

2.2. Реактивы и растворы

Ацетон, х.ч. ГОСТ 2603-79

н-Гексан, ч. МРТУ-6-09-3375-78 (перегнанный)

Хлороформ, х.ч. ТУ 6-09-4263-76

Этиловый спирт, х.ч. ТУ 6-09-7710-77

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

Пластилин "Silvifil UV-254" Kavalier (ЧССР)

Азот особой чистоты

3% ХЕ-60 на хроматоне *N-AW3HCS* (0,20 0,25 м.1)

Натрий азотокислый, ч. ГОСТ 4197-66

Кислота соляная, х.ч. ГОСТ 3118-67

Л-нафтиламин, ч. ГОСТ 8827-74

О-толидин, ч. ТУ МХП 2626-51

Калий марганцевокислый, ч. ГОСТ 20490-76

Цинк сернокислый, х.ч. ГОСТ 4174-77

Калций железистосинеродистый, х.ч. ГОСТ 4207-75

Ронилан

Стандартный раствор ронилана в ацетоне - 1 мкг/мл для ГЖХ и 100 мкг/мл для ТСХ. Срок хранения 1 месяц.

2.2.1. Проявляющие реагенты

1. Свежеприготовленный 1%-ный раствор Л-нафтиламина в этиловом спирте.

2. 160 мг О-толидина растворяют в 30 мл ледяной уксусной кислоты, доводят дистиллированной водой до 500 мл и прибавляют 1 г йодистого калия; срок хранения проявляющего реагента не ограничен.

2.3. Приборы, аппаратура и посуда

Ротационный испаритель ИР-ИМ, ТУ 25-И-917-74

Мерные колбы на 100 мл ГОСТ 1770-74

Делительные воронки ГОСТ 8613-75

Водяная баня ТУ 46-22-603-75

Аппарат для встряхивания ТУ 64-21-1081-73

Микропипетки ГОСТ 1770-74

Круглодонные колбы на 250 мл со шлифом, ГОСТ 10394-72

Колбы конические со шлифом на 250 и 500 мл ТС ГОСТ 10394-72

Хроматограф "Цвет-106" или другой марки с детектором постоянной скорости рекомбинации.

Пробирки с делениями и шлифами на 10 мл.

Баллон

Секундомер

Микрошлипц на 10 мкл МШ-10 ТУ 5Е-2.833.0.24

Камера для хроматографирования ГОСТ 10565-63

Камера для опрыскивания ГОСТ 10565-73

Воронки химические ГОСТ 8613-64

Пульверизатор стеклянный ГОСТ 1770-74

Источник УФ-света типа ПРК-4

Хроматографические стеклянные колонки длиной 1 м и внутренним диаметром 3 мм.

2.4. Отбор проб.

Отбор проб производится 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 № 2051-79.

2.5. Проведение определения

2.5.1. Экстракция

Вода. 200 мл воды помещают в делительную воронку. Ронилан экстрагируют тремя порциями хлороформа по 50 мл каждый раз в течение 5 минут. Объединенные экстракты фильтруют через слой безводного сернокислого натрия, отгоняют растворитель при температуре 40⁰С до объема 0,2-0,3 мл. Остаток удалают в токе воздуха.

Почва. 100 г почвы помещают в коническую колбу с притертой пробкой и приливают 100 мл хлороформа. Препарат экстрагируют путем энергичного встряхивания колбы в течение одного часа. Растворитель отфильтровывают через слой безводного сернокислого натрия. Колбу и фильтр трижды промывают по 25 мл растворителя. Экстракт удаляют в токе воздуха.

Растительный материал. Измельченную навеску (25г) растительного материала помещают в коническую колбу, приливают 150 мл ацетона и помещают на аппарат для встряхивания на 1 час. Ацетоновый экстракт отделяют от массы фильтрованием через бумажный фильтр со слоем безводного сульфата натрия. Колбу и фильтр трижды промывают по 25 мл ацетона. Объединенный экстракт упаривают до объема 20 мл. Затем в колбу приливают 80 мл дистиллированной воды и далее поступают так, как это описано при определении в почве.

Семена подсолнечника. 5 г измельченных семян помещают в коническую колбу, заливают 50 мл хлороформа и экстрагируют встряхиванием в течение одного часа. Экстракт отфильтровывают через слой безводного сернокислого натрия, пробу промывают трижды хлороформом по 20 мл. Растворитель отгоняют под вакуумом.

2.5.2. Очистка экстракта

К сухому остатку из почвы приливают 20 мл ацетона и 80 мл

дистиллированной воды, к ацетоновому раствору из растительного материала также приливают 80 мл воды. К сухому остатку из семян подсолнечника приливают 20 мл этанола, хорошо перемешивают отеклянной палочкой в течение 10 минут и приливают 80 мл воды.

Для осаждения коэкстрактивных веществ в полученные растворы приливают 1 мл 30%-ного раствора сульфата цинка и 1 мл 15%-ного раствора железистосинеродистого калия, тщательно перемешивают и через 5-7 минут отфильтровывают через плотный бумажный фильтр в делительную воронку. Остаток на фильтре из семян подсолнечника промывают трижды по 10 мл водного раствора этанола (1:1 по объему). Пробы из почвы и растительного материала промывают 10 мл воды.

Ронилан экстрагируют хлороформом трижды по 5 минут, порциями по 50 мл. Экстракт объединяют, сушат безводным сернокислым натрием и концентрируют до объема 0,2-0,3 мл. Остаток удаляют в токе воздуха.

2.5.3. Идентификация и количественное определение ронилана

2.5.3.1. Условия хроматографирования в тонком слое.

Экстракти с помощью пипетки наносят на пластинку "Силуфол". Рядом с пробой наносят стандартные растворы ронилана содержащие 1, 5, 10 мкг препарата. Хроматографируют в системе растворителей н-гексан - ацетон - петролейный эфир (2:I:I) или н-гексан - ацетон (2:I по объему). После того, как фронт растворителя поднимется на 12 см, пластинку вынимают из камеры, отмечают линию фронта растворителя и оставляют на несколько минут на воздухе для удаления паров растворителя. Далее пластинку выдерживают в УФ-свете в течение 20 минут, после чего ее помешают в камеру, на дно которой в стаканчик внесено 4-5 г кристаллического нитрита натрия. В стаканчик осторожно приливают 20 мл 20%-ной соляной кислоты. Камеру закрывают крышкой и выдерживают пластинку в течение 5 минут. Далее ее осторожно опрыскивают свежеприготовленным 1%-ным раствором α -нафт.амина. При наличии ронилана в пробе на хроматограмме проявляются четкие малиново-красные пятна на белом фоне с величиной $Rf = 0,55 \pm 0,05$ в системе н-гексан-ацетон-петролейный эфир (2:I:I), а в системе н-гексан-ацетон (2:I) - с величиной $Rf = 0,75 \pm 0,05$. Возможно проявление хроматограмм также следующим образом: после хроматографирования и высушивания пластинку в течение 20 минут облучают УФ-светом,

а затем хроматограмму на 5-7 минут помещают в камеру, насыщенную парами хлора.

Для получения хлора на дно эсикатора насыпают 7-10 г перманганата калия и добавляют 15-20 мл концентрированной соляной кислоты. После улетучивания паров хлора пластинку опрыскивают раствором О-толидина. При этом ронилан обнаруживается в виде **фиолетовых пятен** на светло-желтом фоне.

2.5.3.2. Условия газожидкостного хроматографирования.

Ронилан можно определить на хроматографе с детектором по захвату электронов (постоянной скорости рекомбинации). Для этого может быть использована колонка с 3% ХЕ-60 на хроматоне *N-NW* (0,20-0,25 мл) длиной 100 см и внутренним диаметром 3 мм. Температура колонки 190°C; детектора - 190°C; испарителя - 220°C. Расход газа носителя (азот) - 40 мл/мин; воздуха - 200 мл/мин. Рабочая шкала электрометра - $I \times 10^{-10}$; скорость протяжки ленты - 200 мм/час. Время удержания - 6,25 мин.

Очищенный сухой остаток растворяют в 3-х мл ацетона, переносят в градуированную пробирку и доводят объем ацетона до 10 мл. в колонку вводят микрошприцем 2-5 мкл раствора.

2.6 Обработка результатов.

Содержание пестицида в пробе при определении методом ТСХ расчитывают по формуле:

$$X = \frac{A}{P} ,$$

где X - содержание препарата в пробе, мг/кг, мг/л;

A - количество препарата, найденное в пробе, мкг;

P - навеска или объем пробы, г, мл.

Содержание пестицида в пробе при определении методом ГХХ расчитывают по формуле:

$$X = \frac{H_2 \cdot Y_1 \cdot C_1 \cdot Y_3}{H_1 \cdot Y_2 \cdot P}$$

где X - содержание препарата в пробе, мг/кг, мг/л;

C_1 - концентрация стандартного раствора, мкг/мл;

H_1 и H_2 - высоты пиков стандартного и анализируемого растворов, мм;

- y_1 и y_2 - объемы стандартного и анализируемого растворов вводимых в хроматограф, мкл;
 y_3 - объем экстракта пробы, мл;
 P - навеска или объем анализируемой пробы, г, мл.

3. Требования безопасности.

Соблюдать требования безопасности обычно рекомендуемые для работы в химических лабораториях с органическими растворителями и УФ-светом.

4. Настоящие методические указания подготовлены:

Кандидатом с.-х. наук Красных А.А.
Кандидатом с.-х. наук Шустровым В.С.
Кулинцовой Э.В.
(Всероссийский НИИ защиты растений, пос Рамонь Воронежской обл.,
ВНИИЗР).

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 остаточного 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 гормона (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