

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.

№ 2424-81

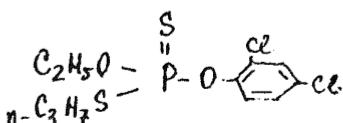
ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ПРОТИОФОСА  
В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ, ПОЧВЕ И ВОДЕ ТОНКОСЛОЙНОЙ И  
ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ

I. Краткая характеристика препарата.

I.1. Протиофос

I.2. 0-этил- $\beta$ - $\alpha$ -пропил-0-(2,4-дихлорфенил)тионотиофосфат

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°C. Растворимость в воде – 0,17 мг/100 г при 20°C. Хорошо растворим в органических растворителях.

Протиофос – контактно-кишечный инсектицид, LD<sub>50</sub> для крыс – 991 мг/кг. Эффективен против чешуекрылых, трипсов, червецов; обладает некоторой экарицидной и афицидной активностью.

## 2. Методика определения протиофоса

### 2.1. Основные положения

#### 2.1.1. Принцип метода

Метод основан на хроматографической (газожидкостной и тонкослойной хроматографии) определении протиофоса после экстракции из образца органическим растворителем, а для почвы – смесью ацетона с 0,05 н водным раствором хлористого кальция в соотношении 1:1, очистке путем перезэкстракции, 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 (4:1), проявляют пластинки 2,5-дигромхинонхлоримидом или другим реагентом, используемым для обнаружения фосфорорганических пестицидов.

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

#### 2.1.2. Метрологическая характеристика метода

	ТСХ	ГЖХ
Минимально детектируемое количество	0,5 мкг	1 нг
Нижний предел определения	0,05 мкг/кг, мг/л	0,01 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
δ - среднее значение определения, %		
в растениях	83,2	85,6
в почве	85,0	97,1
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  $\alpha = 0,95$  и  $t = 5 - 2,571$

2.1.3. 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 2015-74

Кислота уксусная, чда, ГОСТ 61-69

Алюминий окись, для хроматографии, ч., ТУ 6-09-3916-75

Кальций хлористый, х.ч., ГОСТ 4Т41-76

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

Палладий двуххлористый, 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 пластиинки "Силуфол" (*Chempur*, ЧССР)

5% SE-30 на хроматоне N-Super (0,125-0,160 мм) / *Chempur*, ЧССР /

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

3% OV-225 на хроматоне N-Super (0,200-0,250 мм) / *Chempur*, ЧССР /

5% ХЕ-60 на хроматоне N-AW (0,160-0,200 мм) / *Chempur*, ЧССР /

Азот особой чистоты

Водород

Сжатый воздух

Проявляющие реагенты:

- 0,2%-ный раствор 2,6-дибромхинонхлоримида в гексане
- 0,2%-ный раствор палладия двуххлористого в смеси вода-ацетон (1:1) с двумя каплями концентрированной соляной кислоты
- Бромфеноловый синий : 0,03 г бромфенолового синего растворяют в 10 мл ацетона, затем 0,5% водно-ацетоновым раствором азотнокислого серебра (1 ч. воды, 3 ч. ацетона) смесь доводят до 100 мл; 5%-ный раствор уксусной кислоты.

Стандартный раствор протиофоса в н-гексане - 1 мкг/мл для ГХХ и 100 мкг/мл для ТСХ.

2.3. Приборы и посуда

Хроматограф "Цвет-106" или аналогичный прибор с детекторами термо-ионным (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 10394-72

Колбы круглодонные со шлифами на 100-500 мл, ГОСТ 10394-72

Воронки, ГОСТ 8613-75

Делительные воронки на 0,5-1,0 л ГОСТ 8613-75

Колбы мерные на 100 мл, ГОСТ 1770-74

Колонки для адсорбционной хроматографии(500x15 мм), МРТУ 42-2590-66

Хроматографическая камера

Пульверизаторы стеклянные

Пипетки на 0,1 и 1,0 мл, ГОСТ 20292-74

Почвенное сито

Микрошприц на 10 мкл

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

Колонки стеклянные (1000x3 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 (1000x3 мм) заполняют хроматоном *N*-*Seferz* (0,200-0,250 мм), пропитанным 3% ОУ-225, хроматоном *N*-*Seferz* (0,125-0,160 мм), пропитанным 5% E-30, либо 5% E-30 на хевасорбе 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 профииоса во введенной вликвоте 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 ( $\text{мм}^2$  или  $\mu\text{V}\cdot\text{сек}$ ), а по оси абсциссе - абсолютное количество исследуемого, соответствующее данному пику.

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

## 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 хористого 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<sup>0</sup>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 дистилированной воды. Затем в течение 3-5 минут производят переэкстракцию протиофоса в н-гексан резными объемами при встряхивании. Объединенный гексановый экстракт высушивают безводным сернокислым натрием и концентрируют под вакуумом при 40<sup>0</sup>С.

Дальнейшую очистку растительных проб и проб из почвы производят на колонке (300x15 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 счи-

рут 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°C. 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°C).

Содержание протиофоса в исследуемом объекте вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A}{P} , \text{ где}$$

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

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

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

### 2.5.3. Условия газожидкостного хроматографирования

С помощью микроширица аликовтную часть исследуемого раствора (1-5 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 - 15-18 мл/мин, скорость воздуха - 170 мл/мин. При работе с ДЭЗ (ДПР) скорость газа-носителя - 40-50 мл/мин, скорость продувки - 120-150 мл/мин. При работе как с ДТИ, так и с ДЭЗ (ДПР) скорость диаграммной ленты 600 мм/час, температура термостата колонок 180-200<sup>0</sup>С.

Время удерживания протиофоса в указанных условиях на колонке с 5% SE-30 на хеласорбе AW (0,250-0,360) при температуре колонки 200<sup>0</sup>С - 2 минуты 10 секунд при работе с ДПР.

Количественное определение протиофоса во введенной аликовте проводят с помощью гр. дуировочного графика (см. 2.4.3.).

Содержание протиофоса в анализируемой пробе вычисляют по формуле:

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

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

C - общий объем раствора.. мл:

У - объем аликовты, вводимой в хроматограф, мкл;

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

Р - масса 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 отобранный аликовту 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

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 - аминометилбензойной 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