

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 XI

Москва - 1981

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 XI-я

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 - 1981

Настоящие методические указания предназначены для санитарно-эпидемиологических станций и научно-исследовательских учреждений Минздрава СССР, а также ветеринарных, аграрохимических, 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.

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 И.А.Клисенко).

Методические указания согласованы и одобрены отделом перспективного планирования санэпидслужбы ИМПиТМ им. Е.И.Марциновского и лабораторным советом при Главном санитарно-эпидемиологическом управлении Минздрава СССР.

УТВЕРДИЛ

Заместитель Главного государствен-
ного санитарного врача СССР

А.И.Занченко

"28" января 1980 г.

№ 2124-80

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОКОЛИЧЕСТВ
ПРОПАНИДА, ЛИНУРОНА, МОНОЛИНУРОНА И ИХ МЕТАБО-
ЛИТОВ В ВОДЕ, ПОЧВЕ И РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ^{*)}

I. Характеристика анализируемых пост到账ов.

Линурон и 3,4-дихлорамилил (3,4-ДХА) представляют собой белые кристаллические вещества, плохо растворимые в воде (75 и 659 мг/л соответственно) и хорошо - в большинстве органических растворителей (низких спиртах, ацетоне, ароматических углеводородах).

Активное вещество гербицида линуриона -/- (3,4-дихлорфенил) -/- метокси -/- метилмочевина. Температура плавления линуриона -93-94°, 3,4-ДХА -71-72° (I,2). Линурон применяется как гербицид избирательного действия для уничтожения однолетних злаковых и двудольных сорняков на посевах кукурузы, сои, картофеля, льна и моркови. Линурон малотоксичен для теплокровных (IV пр. г.к.), LD₅₀ для белых мышей и крыс - 2,17 - 2,40 г/кг. ДОК в картофеле - 0,1 кг/кг; в моркови наличие остатков гербицидов не допускается.

Монолинурон представляет собой белое кристаллическое вещество с температурой плавления 79-80°. Растворимость в воде - 580 мг/л при 20°, хорошо растворяется в этаноле, ацетоне, бензоле и других органических растворителях, кроме предельных углеводородов. Активное вещество монолинурона/- (4-хлорфенил) -/- метокси -/- метилмочевина (I,3). Химически чистый 4-хлоренимии (4-ХА) - белое кристаллическое вещество с температурой плавления 70-71°. Монолинурон применяется для уничтожения сорняков из посадок картофеля и льна-дол-

^{*)} Л.Л.Кныр, В.Л.Сухопарова, М.С.Соколов
(Институт агробиологии и почвоведения АН СССР, г.Пущино)

гунца. Соединение малотоксично для теплокровных: LD₅₀ для мышей и крыс - 2,0-2,5 г/кг. ДОК в клубнях картофеля - 0,11 мг/кг.

Пропанил - белое кристаллическое вещество, лишенное запаха, с т.пл. 92-93°C (технический продукт плавится при 88-91°C), мол. масса 218,08 (3). Растворимость в воде - 225 мг/л (при 22°C), в бензole - 70 г/л; в ацетоне - 1700 г/л. Хорошо растворим в хлороформе, изобороне (60% при 25°C), этаноле (54% при 25°C), Сензине, петролейном и диэтиловом эфирах, хорошо растворяется в метаноле. Упругость паров - 0,008 мм рт.ст. при 40°C, по другим данным - 0,001 мм рт.ст. при 50°C. Активное вещество пропанида - 3,4-дихлоранилид пропионовой кислоты. Электронный спектр поглощения спиртового раствора пропанила характеризуется тремя максимумами (λ, макс) в ультрафиолетовой области: 247-250; 252,5 и 287,5; водного раствора - 248 нм.

Пропанил среднетоксичен для теплокровных животных, LD₅₀ для крыс при пероральном введении - 1384±100 мг/кг; по другим данным - 1300-2270 мг/кг, токсичная концентрация для рыб - 10 мг/л. По некоторым данным пропанил обладает кумулятивным действием - коэффициент кумуляции 1,2 при введении 1/50 LD₅₀.

Пропанил - высокоэффективный гербицид для избирательного уничтожения злаковых просо-видных сорняков на посевах риса. ДОК в рисе - 0,3 мг/кг.

Структурные формулы:

ЛГУРОН	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2\text{Cl}_2 \text{O}=\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{H})-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{H})-\text{CH}_3$	мол. масса 249,1
ЛНОМИДОН	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2\text{Cl} \text{O}=\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{H})-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{H})-\text{CH}_3$	мол. масса 241,8
ПРОПАНИД	$\text{C}_9\text{H}_{10}\text{ON}_2\text{Cl} \text{O}=\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{H})-\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{H})-\text{CH}_3$	мол. масса 218,03
3,4-ДИХЛОРАНИЛИД	$\text{C}_7\text{H}_5\text{NCl}_2 \text{O}=\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{H})-\text{CH}_3$	мол. масса 162,0
4-ХЛОРПАНИД	$\text{C}_7\text{H}_6\text{NCl} \text{O}=\text{C}(=\text{O})-\text{N}(\text{H})-\text{CH}_3$	мол. масса 167,5

2. Принцип метода.

Определение пропаницида, линуриона, монолинуриона, 3,4-ДХА и 4-ХА в одной пробе методом хроматографии в тонком слое основано на извлечении соединений смесью органических растворителей, их упаривании, переэкстракции гербицидов в н-гексане из строго контролируемой кислоты среди их упаривания (4). Упаренный экстракт очищают на колонке с цеолитом 4A (щелочная форма) (5) и хроматографируют на пластинках силуфол.

В качестве подвижных фаз используют бензол : ацетон (60:1; 5) или н-гексан : диэтиловый эфир (1:2), в качестве азосоставляющей используют 1-нафтилэтилендиамин (3,7). Полуколичественное определение производят путем визуального сравнения интенсивности окраски и размера пятен пробы и стандартных растворов.

Чувствительность метода: для воды – 0,5–1,0 мкг/л, для почвы – 5–10 мкг/кг, для растительного материала – 0,2–0,3 мкг/кг. Ошибка определения $\pm 5\text{--}10\%$.

3. Преимущество метода.

В основу предлагаемого метода положены разработанные и усовершенствованные элементы анализа, пригодные как для метода ТСХ, так и для количественного фотометрического определения. Способ заключается в очистке гексанового экстракта, содержащего исследуемые соединения на колонке с цеолитом 4A (щелочная форма), что позволяет количественно разделять гербициды и почвенные и растительные пигменты.

Преимущество рассматриваемого метода, в отличие от известных, заключается в его экспрессности, хорошей воспроизводимости, достаточно высокой чувствительности, возможности раздельного опре-

деление в одной пробе гербицида и его основного метаболита.

4. Реактивы и растворы.

I. Едкий натр "чда", 10н водный раствор (400 г NaOH растворяют, раствор доливают водой до 1 л, перемешивают).

2. Серная кислота "хч", 50%-ный водный раствор (275 мл конц. H_2SO_4 ул. веса 1,84 осторожно вливают в 500 мл дистиллированной воды, охлаждают, перемешивают).

3. Натрий сернокислый безводный "чда".

4. Бензол "хч".

5. Ацетон "хч".

6. n-Гексан "хч".

7. Диэтиловый эфир "хч".

8. Хлороформ "чда".

9. Изопропиловый спирт "чда".

10. Проявляющие реагенты:

№1 - к 20 мл конц. HCl (σ -I, 10) прибавляют 80 мл этилового спирта;

№2 - 1 г азотистокислого натрия растворяют в 2 мл воды и доводят до 100 мл этиловым спиртом;

№3 - 1 г дигидрохлорида 1-нафтилэтilenдиамина растворяют при нагревании на водяной бане в 2 мл воды и доводят до 100 мл этиловым спиртом.

II. Стандартные растворы: 20 мг пропанила, линуриона, монолинуриона, 3,4-дихлоранилина и 4-хлоранилина растворяют в 100 мл этилового спирта; концентрация этого раствора 200 мкг/мл.

5. Аппаратура и оборудование.

Роторный испаритель или выпаритель-концентриатор.

Аппарат для встряхивания.

Камера для хроматографирования - стеклянный цилиндрический или прямоугольный сосуд с притертой крышкой.

Пульверизаторы стеклянные.

Шприцы медицинские туберкулиновые емкостью 1 мл.

Сите металлическое почвенное с диаметром отверстий 0,1-1,0 мм.

6. Приготовление сорбционной колонки.

Стеклянную хроматографическую колонку диаметром 15 мм, длиной 150 мм заполняют стекловатой, имеющей волокна 1-2 см (толщина слоя 0,3-0,5 мм). Далее колонку на 4-5 см заполняют предварительно измельченным (фракция 0,1-0,5 мм) цеолитом 4A (щелочная форма).

7. Подготовка проб к определению.

Экстракция гербицидов.

а). Из воды: анализируемый образец воды (до 1 л) после отстаивания сливают в стакан, подщелачивают 20%-ным NaOH до pH 10, переносят в делительную воронку и экстрагируют хлороформом (3x50 мл). Объединенный экстракт высушивают, пропуская через безводный сернокислый натрий, и растворитель упаривают до суха.

б). Из сухой или влажной почвы и почвенной суспензии: 100-500 г почвы или суспензии, освобожденной от растительных остатков, заливают 100-300 мл ацетона, 3-5 мл 20%-ного NaOH, тщательно перемешивают палочкой, после чего встряхивают в течение часа. Затем водно-ацетоновый экстракт фильтруют через воронку Бихнера, колбу очищают ацетоном, почву на фильтре промывают ацетоном (3x15-20

мл). Ацетон отгоняют на роторном испарителе, водную часть экстракта подщелачивают 20%-ным NaOH до pH 10, переносят в делительную воронку и токсиканты экстрагируют хлороформом (3x20-30 мл). Объединенный экстракт высушивают, пропуская через безводный сернокислый натрий, и растворитель упаривают досуха.

в). Из растительного материала (водоросли, корнеплоды моркови): 50 г измельченного материала (морковь, водоросли) заливают 150 мл смеси н-гексан: ацетон (9:1), встряхивают в течение 1 ч и фильтруют. Остаток на фильтре трижды промывают смесью растворителей (3x15-20 мл). Из объединенного экстракта отгоняют органические растворители, жидкую фазу, оставшуюся после отгонки растворителей, количественно переносят в делительную воронку. Колбу несколько раз обмывают дистиллированной водой, сливая ее затем в воронку, и доводят общий объем пробы до 100 мл. Приливают 18 мл 50%-ной серной кислоты, экстрагируют гербициды хлороформом (3x10 мл), отгоняют органический растворитель и следы хлороформа удаляют током воздуха.

8. Экстракция 3,4-ДХА и 4-ХА.

После экстракции гербицидов сернокислый раствор (100 мл) нейтрализуют, пощелачивают до pH 10 (~ 30 мл 10% NaOH) и экстрагируют 3,4-ДХА(4-ХА) хлороформом (3x20 мл), отгоняют органический растворитель и следы хлороформа удаляют током воздуха.

9. Очистка экстрактов, содержащих гербициды.³⁾

Сухие остатки в колбах, содержащих гербициды растворяют в 10 мл ³⁾ Очистку на колонке с горбентом проводят только для проб, содержащих пропаинид, линурон и монолинурон, а пробы с 3,4-ДХА (4-ХА), полученные при раздельной экстракции, в очистке не нуждаются.

н-гексана и для отделения пигментов раствор пропускают через колонку с цеолитом со скоростью 2-4 мл/мин. После подсушивания сорбента вакуумом соединения вымывают 50 мл смеси растворителей н-гексан: диэтиловый эфир (3:1), затем элкет упаривают досуха и далее соединение анализируют.

9. Хроматографирование.

Сухие остатки, содержащие анализируемые соединения количественно переносят диэтиловым эфиром на пластинки силуфол, пластинки помещают в камеру для хроматографирования, подвижный растворитель - бензол:acetон (60:1,5). Край пластинки погружают в растворитель на глубину 5-7 мм. Когда фронт растворителя поднимается на высоту 10 см, пластинку ополаскивают, вновь заполняют смесь растворителей и производят повторное хроматографирование. Затем пластинки термостатируют при 160⁰С: для определения пропанила в течение 40 мин, для определения линурона и монолинурона - 5 мин. После этого пластинки охлаждают и опрыскивают последовательно проявляющими реагентами № 1,2,3. При наличии в пробе ароматических аминов, пропанила, линурона и монолинурона появляются яркие пятна на белом фоне. R_f для 3,4-ДХА - 0,64±0,02; для линурона 0,42 ± 0,02; для монолинурона - 0,26±0,02; для 4-ХА - 0,36±0,02 для пропанила - 0,25±0,02.

10. Обработка результатов анализа.

Содержание токсикантов рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A}{B}$$

где X - содержание препарата в пробе (мг/кг или мг/л);

A - количество препарата, найденное путем визуального сравнения размера и интенсивности окраски пятен пробы и стандартных растворов, мкг;

B - навеска пробы(г) или объем аликовты (мл).

Место термостатирования можно оставить пластинки хроматоскопом типа БУ-3 (расстояние от лампы 15 см, экспозиция 10 мин).

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Хлорсодержание пестициды

1. Методические указания по определению нафрана в меде методом газовой хроматографии	I
2. Методические указания по определению нитрохлора и префорана в эфирных маслах и эфиромасличном сырье методом газожидкостной хроматографии	8
3. Методические указания по определению ЭФ-2 в воде и почве газожидкостной хроматографией	14
4. Методические указания по определению хлорорганических пестицидов в воде, продуктах питания, кормах и табачных изделиях хроматографией в тонком слое . .	22
5. Методические указания по определению полихлорированных бифенилов в присутствии хлорорганических пестицидов в птицепродуктах методом газовой хроматографии	45

Фосфорсодержание пестициды

1. Методические указания по определению остаточных количеств волексона в растительном материале, почве и воде тонкослойной и газожидкостной хроматографией .	52
2. Методические указания по определению остаточных количеств гетерофоса в овощных культурах, почве и воздухе методами тонкослойной и газожидкостной хроматографии	61
3. Методические указания по определению остаточных количеств дурсбиона в растительном материале, почве и воде тонкослойной и газожидкостной хроматографией .	67
4. Методические указания по определению остаточных количеств изофоса-3 в рисе, почве и воде газожидкостной и тонкослойной хроматографией	75
5. Методические указания по определению метилнитрофоса и фенитрооксона в зерне и продуктах переработки зерна хромато-энзимным и газохроматографическим методом	84

6. Методические указания по определению остаточных количеств рицида "Н" в рисе и воде газожидкостной хроматографией	93
7. Методические указания по определению метилнитрофоса, фениндроксона и п-нитрокреазола в зерне и продуктах переработки зерна методом хроматографии в тонком слое	103
8. Энзимно-хроматографический метод определения фосфорорганических пестицидов в растительных продуктах и биосубстратах	109

Азотсодержащие пестициды

1. Производные мочевины, гуанидина, дитиокарбаминовой кислоты, анилиды карбоновых кислот, нитропроизводные, дитиокарбаматы	
1. Методические указания по определению дуала в растительном материале, почве и воде хроматографией в тонком слое	118
2. Методические указания по определению остаточных количеств гербицида малорена в почвах с различным содержанием гумуса методом ТСХ	124
3. Методические указания по определению остаточных количеств НЕ-166 в огурцах хроматографией в тонком слое и фотометрическим методом	129
4. Методические указания по определению остаточных количеств тенекса в воде и почве	136
5. Методические указания по определению ФДН (<i>N,N'</i> -диметил- <i>N</i> -(3-хлорфенил)-гуанидин) в огурцах и воде методом тонкослойной хроматографии	139
6. Методические указания по определению дитана М-45 в продуктах питания растительного происхождения и воде	149
 П. Гетероциклические соединения	
7. Методические указания по определению базаграна в воде, почве, зерне и растительном материале	152

8. Методические указания по определению фунгицида бай- летона методом ТСХ в почве, корнях, зеленых листьях, плодах томатов и огурцов	159
9. Методические указания по газожидкостно-хроматогра- фическому определению бентазона в почве и растениях	166
10. Методические указания по определению диквата в се- менах подсолнечника и масле из семян подсолнечника спектрофотометрическим методом	174
II. Методические указания по определению метазина в во- де, почве, овоцах и биологическом материале методом хроматографии в тонком слое сорбента	181
12. Методические указания по определению остаточных ко- личеств сим-триазиновых гербицидов (симазина, эт- разина, пропазина, прометрина, семерона, мезорани- ла, метазина, метопротрина) в почве газожидкостной хроматографией	188
13. Методические указания по определению котофора в се- менах хлопчатника методом хроматографии в тонком слое	198
14. Методические указания по определению ронстара (ок- сидазона) в рисе методами газовой и тонкослойной хроматографии	205
15. Методические указания по определению тачигарена в воде методом тонкослойной хроматографии	209
16. Методические указания по определению тербацила в эфирных маслах и эфиромасличном сырье методом газо- жидкостной хроматографии	214
17. Методические указания по определению трифорина в воде	220
18. Методические указания по определению остаточных ко- личеств текто(тиабендазола) в картофеле и свекле тонкослойной хроматографией	227
19. Методические указания по определению остаточных ко- личеств фоназона в почве, воде, свекле и раститель- ных объектах газожидкостной хроматографией	234

Прочие пестициды

1. Методические указания по определению остаточных количеств хлората магния полярографическим методом ...	243
2. Методические указания по определению нитрона в воде, черноземной почве и сахарной свекле	248
3. Методические указания по определению содержания общей ртути в мясе, яйцах, рыбе, молочных продуктах, почве	255

Бактериальные пестициды

1. Методические указания по определению микробиологических инсектицидов не прямым иммунофлюоресцентным методом	268
2. Методические указания по определению витамина А в воздухе методом тонкослойной хроматографии	276
3. Методические указания по определению полиэдров ви-руса ядерного полиэдроза капустной совки на растительных объектах иммунофлюоресцентным методом	280

Дополнения

1. Хроматографическое определение микроколичеств грапанида, линурона, монолинуриона и их метаболов в воде, почве и растительном материале	289
2. Методические указания по определению актеллика растительной продукции, почве и воде	296