

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.

"Утверждаю"

Заместитель Главного государственного
санитарного врача СССР

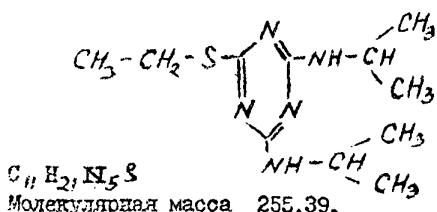
А.И.Заяченко

"19" октября 1979г. №2092-79

Методические указания по определению
котофора в семенах хлопчатника методом хроматографии в тонком слое

I. Характеристика анализируемого пестицида

Котофор, 2-этил-тио-4,6-бис-(изопропиламино)-симм-триазин,
ГС №6068, санжар.



Химически чистый препарат представляет собой белый порошок с температурой плавления 104-106°С. Трудно растворяется в воде (16 мг/л), хорошо - в органических растворителях - хлороформе, ацетоне, метаноле.

Технический препарат котофора представляет собой смачивающийся порошок, содержащий 80% действующего вещества.

Препарат котофор малотоксичен для теплокровных (для крыс LD₅₀ 476мг/кг, для мышей LD₅₀ 2300мг/кг), относится к группе веществ умеренно кумулирующих (Kum. 2,6).

ДОК котофора в хлопковом масле 4,5мг/кг, в жмыхе - 0,38мг/кг. ПНК котофора в воде составляет 1,0мг/л, а при поступлении в организм с водой 5,0 мг/л.

Как и прочие симм-триазины котофор стоек во внешней среде. В пленке и форме ОК сохраняет свою активность от 10 до 14 месяцев в зависимости от внесенного количества.

2. Методика определения котофора в семенах хлопчатника методом тонкослойной хроматографии

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на хроматографировании котофора в тонком слое пластиноч "Силуфол" или тонком слое силикагель КСК в системе н-гексан-акетон или четыреххлористый углерод-диэтиловый эфир после экстракции метанолом и очистки экстракта I Н соляной кислотой.

2.1.2. Метрологическая характеристика методики

Диапазон определяемых концентраций 0,06мг/кг-1,8мг/кг. Предел обнаружения 3мкг в анализируемой пробе, что соответствует 0,06мг/кг. Среднее значение определения стандартных количеств $\bar{C} = 84\%$, число параллельных определений $n=5$, дисперсия 28,6, стандартное отклонение $S = 5,348$, величина точного измерения (доверительный интервал) $\Delta_{0,95,4} = 5$, относительное стандартное отклонение $S_x = 5,9\%$ (по величине точного измерения). Среднее значение определения стандартных количеств и доверительный интервал среднего ($84 \pm 5\%$) приведены для 3-х концентраций, находящихся в определяемом диапазоне концентраций (0,06мг/кг, 0,1мг/кг, 0,2мг/кг).

Определению остаточных количеств котофора в семенах хлопчатника близкие по строению и области применения пестициды (например, прометрин) не мешают.

2.2. Реактивы и материалы

Метиловый спирт, х.ч. ГОСТ 6995-67

Ацетон, ч.д.а. ГОСТ 2603-71

н-Гексан, х.ч. ТУ6-09-3375-73

Хлороформ, ч.д.а. ГОСТ 3160-51

Этиловый эфир, наркозный

Углерод четыреххлористый, х.ч. ГОСТ 20288-74

Натрий сернокислый безводный, х.ч. ГОСТ 4166-66

Силикагель КСК, ГОСТ 3956-76, ТУ6-09-2523-72

Кальций сернокислый, ч.д.а. ГОСТ 3210-65

Бромфеноловый синий водорастворимый, индикатор, ч.д.а.

ТУ6-09-3719-74

Серебро азотнокислое, х.ч. ГОСТ 1277-75
Лимонная кислота, х.ч. ГОСТ 3652-69
Соляная кислота, х.ч. ГОСТ 3118-67
Натр едкий, х.ч. ГОСТ 4328-66
Фильтры бумажные II, 0 см, ТУ6-09-1678-72
Пластинки для хроматографии "Силуфол" (ЧССР)
Вата обезжиренная (тигроскопическая)
Вода дистилированная
Раствор бромфенолового синего в ацетоне-0,4%
Водный раствор азотнокислого серебра-2%
Водный раствор лимонной кислоты-4%
Водный раствор соляной кислоты-I и
Водный раствор едкого натра-II
Стандартный раствор котофора х.ч. в хлороформе - 100мкг/мл

2.3. Приборы, аппаратура, посуда

Аппарат для встряхивания жидкости в лабораторной посуде
ТУ 64-1-1081-73
Штраф вытяжной химический
Штраф сушильный электрический общелабораторного назначения
ТУ 16-531-299-71
Испаритель ротационный ИР-1М, ТУ 25-И-917-74
Баня водяная ТУ 46-22-608-75
Камера для опрыскивания
Камера для хроматографирования ГОСТ 10565-75
Нульверизатор стеклянный
Воронка делительная на 250мл ГОСТ 8613-75
Воронки простые конусообразные с коротким стеблем №5
ГОСТ 8613-75, ТУ 25-И-1061-75
Колбы лабораторные конические на 250мл ГОСТ 10394-72
Колбы лабораторные круглодонные короткогорлые на 100мл
ГОСТ 10394-72
Колбы мерные с коническим шлифом на 100мл ГОСТ 1770-74
Капилляры стеклянные
Пипетки с делениями на 10мл ГОСТ 20292-74
Микропипетки на 0,1мл с ценой деления 0,001мл
Сите лабораторное с диаметром отверстий 3 мм
Пластинки стеклянные для нанесения тонкого слоя сорбента
90 x 120мм
Колбы мерные с коническим шлифом на 1000мл ГОСТ 1770-74

2:4. Подготовка к определению

2.4.1. Приготовление стандартного и других растворов

Приготовление стандартного раствора. 10 мг котофора х.ч. растворяют в 100 мл хлороформа. В 1 мл такого раствора содержится 100 мг котофора. Хранят в холодильнике в плотно закрытой склянке. Срок хранения 3 месяца. Химически чистый котофор можно получить из технического препарата. Способ очистки технического препарата, содержащего 80% действующего вещества, заключается в двукратной перекристаллизации из хлороформа. Полнота очистки контролируется по температуре плавления 104–106°C.

Приготовление I н раствора соляной кислоты. 83 мл 36% соляной кислоты ($d_4 = 1,1789 \text{ г/см}^3$) доводят в мерной колбе до I л дистиллированной водой. Раствор можно приготовить из фиксанала. Хранить в прохладном месте в плотно закрытой склянке. Срок хранения 3 месяца.

Приготовление I н раствора едкого натра. 40 г едкого натра растворяют в дистиллированной воде и доводят до I л. Рекомендуется использовать свежеприготовленные растворы едкого натра.

Приготовление 0,4%-ного раствора бромфенолового синего в ацетоне. 0,4 г бромфеноловового синего растворяют в 125,9 мл ацетона. Хранят в холодильнике в плотно закрытой склянке. Срок хранения 2 недели.

Приготовление 2%-ного водного раствора азотнокислого серебра. 2 г азотнокислого серебра растворяют в 98 мл дистиллированной воды. Хранят в холодильнике в плотно закрытой склянке. Срок хранения 1 неделя.

Приготовление пропилюющего реактива №1. Смешивают равные объемы 0,4%-ного раствора бромфенолового синего в ацетоне и 2%-ного водного раствора азотнокислого серебра. Рекомендуется свежеприготовленная смесь.

Приготовление 4%-ного водного раствора лимонной кислоты (проявляющий реагент №2). 4 г лимонной кислоты растворяют в 96 мл дистиллированной воды. Хранить в холодильнике в плотно закрытой склянке. Срок хранения 1 месяц.

2.4.2. Приготовление хроматографических пластиинок

Тщательно промытую содой, хромовой смесью, дистиллированной водой и высушенную стеклянную пластинку 90x120мм протирают этиловым спиртом или диэтиловым эфиром и покрывают сорбционной массой, приготавляемой из 35г силикагеля КСК, 2г кальция сернокислого и 90 мл дистиллированной воды. Силикагель предварительно очищают от примеси. Для чего заливают на 18-20 часов разбавленной соляной кислотой (1:1), кислоту сливают, промывают силикагель водой и кипятят 2-3 часа с разбавленной азотной кислотой (1:1), промывают водопроводной водой, затем дистиллированной водой до нейтральной реакции промывных вод, сушат в сушильном шкафу 4-6 часов при температуре 130°C. Силикагель дробят и просеивают через сито 100меш. Хранят в склянке с притертой пробкой.

10 г сорбционной массы равномерно распределяют по всей поверхности пластиинки путем ее покачивания. Сушат пластиинки при комнатной температуре 18-20 часов. Хранят в экскаторе.

2.4.3. Условия хроматографирования и способ количественного определения

Пробу и стандартные растворы наносят на хроматографическую пластиинку так, чтобы размер пятна не превышал 10-12мм. Центр пятна должен находиться на расстоянии 15мм от нижнего края пластиинки. Нанесение пробы на пластиинку производится с помощью шприцок с оттянутым концом или капилляров. Стандартные растворы наносятся микропипеткой. Пластиинки с нанесенными пробами помещаются в хроматографическую камеру, представляющую собой стеклянный сосуд с притертой стеклянной крышкой, либо в экскатор. Камера содержит смесь растворителей н-тексана и ацетона (10:3), либо четыреххлористого углерода и диэтилового эфира (4:1). Перед хроматографированием камера насыщается парами системы подвижных растворителей в течение 30 минут. После подъема фронта растворителей на высоту 10 см хроматографирование прекращается. В вытяжном шкафу удаляются пары растворителей. Затем обрабатывают хроматографическую пластиинку в камере под вытяжным шкафом с помощью пульверизатора пропыленным реагентом №1. Пластиинку подсушивают на воздухе и обрабатывают пропыленным реагентом №2.

Котфор обнаруживается на пластиинках в виде синих пятен с следующими величинами R_f:

Система подвижных растворителей	R _f	
	Силикагель	Силуфол
Тексан + ацетон (10:3)	0,52 ± 0,01	0,50 ± 0,01
Четыреххлористый углерод + диэтиловый эфир (4:1)	0,21 ± 0,01	0,29 ± 0,01

Количество котофора в пробе определяют сравнением размеров и интенсивности окраски пятен пестицида на хроматограммах пробы и стандартного раствора.

2.4.4. Отбор проб

Отбор пробы производится в соответствии с "Правилами отбора проб для анализа пестицидов", рекомендуемыми специалистами СЭВ. Отобранные пробы семян хлопчатника должны содержаться в сухом месте, в укупоренной, защищенной от света (стеклянной или полистиленовой) таре.

В процессе подготовки к анализу семена хлопчатника необходимо освободить от волокон ваты, очистить от кожуры и измельчить.

2.5. Проведение определения

50 г измельченных семян хлопчатника помешают в коническую колбу на 250 мл, заливают метиловым спиртом до покрытия пробы и оставляют на ночь. Препарат трижды экстрагируют метиловым спиртом порциями по 75 мл. Метаноловые экстракты объединяют и сливают их через слой безводного сернокислого натрия. Упаривают метаноловый экстракт на водяной бане до небольшого объема (0,1 - 0,2 мл). Остатку метилового спирта дает испариться полностью при комнатной температуре. К сухому остатку прибавляют 5 мл 1% раствора соляной кислоты, тщательно очищая стенки колбы стеклянной палочкой. Смесь сливается в делительную воронку через слой ваты. Колбу еще трижды ополаскивают 1% раствором соляной кислоты по 5 мл и сливают в ту же делительную воронку. Водный раствор котофора в центрированной форме дважды промывают в делительной воронке хлороформом и органические вытяжки отбрасывают. Затем в делительную воронку приливают 1% раствор селевого натра до нейтральной реакции (по индикаторной бумаге).

маге). После этого в воронку прибавляют равный объем хлороформа, предварительно насыщенного водой и встрихивают 1-2 минуты. Хлороформный экстракт сливают через воронку с безводным сернокислым натрием в колбу для отгонки растворителя. Экстракцию хлороформом повторяют трижды, сливая хлороформ в ту же колбу. Хлороформ отгоняют на водяной бане, либо на приборе для отгонки растворителя до небольшого объема (0,1 - 0,2мл). Этот объем наносят на хроматографическую пластинку, после чего еще трижды ополаскивают колбу хлороформом (небольшими объемами), смывы также наносят на пластинку в центр пятна.

Затем пластина (силикагелевая или "Силуфол") помещается в хроматографическую камеру. Далее определение проводят в уходящих изложенных в подразделе 2.4.3.

2.6. Обработка результатов

Содержание остатков котофора в анализируемой пробе вычисляют как среднее из двух параллельных определений.

Допустимое расхождение результатов параллельных определений не должно превышать 2,8%.

Расчет содержания остаточных количеств котофора проводят по формуле:

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

где: X - содержание котофора в анализируемой пробе, мг/кг;

A - количество котофора, найденное путем сравнения с стандартными количествами, мкг;

P - масса пробы, г.

3. Требования безопасности

При определении остаточных количеств котофора необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с ядовитыми, взрыво- и огнеопасными веществами.

4. Методика разработана М.С.Петросян,
Л.А.Буняян, С.Г.Гегоркин (Арм. филиал ВНИИГИПТОКС, Ереван)

СОДЕРЖАНИЕ

Стр.

Хлорсодержание пестициды

1. Методические указания по определению неорона 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