

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
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, агрохимических, 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 М.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

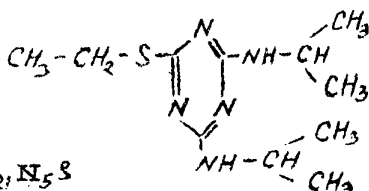
А.И. Зайченко

"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,
ПС 16068, санкап.



$C_{11}H_{21}N_5S$

Молекулярная масса 255,39.

Химически чистый препарат представляет собой белый порошок с температурой плавления 104–106°C. 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 LD_{50} 4760 мг/кг, для мышей LD_{50} 2300 мг/кг), относится к группе веществ умеренно кумулирующих ($k_{\text{кумуля}} 2,6$).

Док котофора в хлороформе малая 4,5 мг/кг, в жмыхе – 0,38 мг/кг. ПНК котофора в воде составляет 1,5 мг/л, а при поступлении в организм с водой 5,0 мг/л.

Как и прочие симм-триазины котофор стоек во внешней среде. В воде и воде он 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 пластинок "Силуфол" или тонком слое силикагеля КСК в системе н-гексан-ацетон или четыреххлористый углерод-диэтиловый эфир после экстракции метанолом и очистки экстракта 1 N соляной кислотой.

2.1.2. Метрологическая характеристика методики

Диапазон определяемых концентраций 0,06мг/кг-1,0мг/кг. Предел обнаружения 5мкг 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 $\bar{S} = 5,348$, величина точного измерения (доверительный интервал) $\Delta_{0,95} = 5$, относительное стандартное отклонение $S_z = 5,9\%$ (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

Метилловый 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, наркотический
Углерод четыреххлористый, х.ч. ГОСТ 20288-74
Натрий серноокислый безводный, х.ч. ГОСТ 4166-66
Силикагель КСК, ГОСТ 3956-76, ТУ6-09-2523-72
Кальций серноокислый, ч.д.а. ГОСТ 3210-66
Бромфеноловый синий водорастворимый, индикатор, т.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, Осм, ТУ 6-09-1678-72
Пластины для хроматографии "Силуфол" (ЧССР)
Вата обезжиренная (титрокопическая)
Вода дистиллированная
Раствор бромфенолового синего в ацетоне-0,4%
Водный раствор азотнокислого серебра-2%
Водный раствор лимонной кислоты-1%
Водный раствор соляной кислоты-I н
Водный раствор едкого натра-I н
Стандартный раствор кофеина х.ч. в хлороформе - 100мкг/мл

2.3. Приборы, аппаратура, посуда

Аппарат для встряхивания жидкости в лабораторной посуде
ТУ 64-I-1081-73
Шкаф вытяжной химический
Шкаф сушильный электрический общелабораторного назначения
ТУ 16-531-299-71
Испаритель ротационный ИР-1М, ТУ 25-II-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-II-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
Сито лабораторное с диаметром отверстий 2 мм
Пластины 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 мкг 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 1N раствора соляной кислоты. 86 мл 36% соляной кислоты ($d = 1,1789 \text{ г/см}^3$) доводят в мерной колбе до 1 л дистиллированной водой. Раствор можно приготовить из фиксанала. Хранить в прохладном месте в плотно закрытой склянке. Срок хранения 3 месяца.

Приготовление 1N раствора едкого натра. 40 г едкого натра растворяют в дистиллированной воде и доводят до 1 л. Рекомендуется использовать свежеприготовленные растворы едкого натра.

Приготовление 0,4%-ного раствора бромфенолового синего в ацетоне. 0,4 г бромфенолового 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 проявляющего 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 реактив №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 пластинок

Тщательно промытую содой, хромовой смесью, дистиллированной водой и высушенную стеклянную пластинку 90x120 мм протирают этиловым спиртом или диэтиловым эфиром и покрывают сорбционной массой, приготовляемой из 35 г силикагеля КСК, 2 г кальция сернокислого и 90 мл дистиллированной воды. Силикагель предварительно очищают от примесей. Для чего заливают на 18-20 часов разбавленной соляной кислотой (1:1), кислоту сливают, промывают силикагель родой 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 100 меш. Хранят в паклянке с притертой пробкой.

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

2.4.3. Условия хроматографирования и способ качественного определения

Пробу и стандартные растворы наносят на хроматографическую пластинку так, чтобы размер пятна не превышал 10-12 мм. Центр пятна должен находиться на расстоянии 15 мм от нижнего края пластинки. Нанесение пробы на пластинку производится с помощью пинеток с оттянутым концом или капилляров. Стандартные растворы наносятся микропипеткой. Пластинки с нанесенными пробами помещаются в хроматографическую камеру, представляющую собой стеклянный сосуд с притертой стеклянной крышкой, либо в эксикатор. Камера содержит смесь растворителей н-гексана 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 пластинку в камере под вытяжным шкафом с помощью пульверизатора проявляющим реактивом №1. Пластинку подсушивают на воздухе и обрабатывают проявляющим реактивом №2.

Кототор обнаруживается на пластинках в виде синих пятен с следующими величинами R_F:

Система подвижных растворителей	R _f	
	Силикагель	Силуфол
Гексан + 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 пробы

Отбор пробы производится в соответствии с "Правилами отбора проб для анализа пестицидов", рекомендуемыми специалистами СЗВ. Отобранные пробы семян хлопчатника должны содержаться в сухом месте, в укупоренной, защищенной от света (стеклянной или полиэтиленовой) 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 помещают в коническую колбу на 250мл, заливают метиловым спиртом до покрытия пробы и оставляют на ночь. Препарат трижды экстрагируют метиловым спиртом порциями по 75мл. Метаноловые экстракты объединяют и сливают их через слой безводного сернистого натрия. Упаривают метаноловый экстракт на водяной бане до небольшого объема (0,1 - 0,2мл). Остатку метилового спирта дают испариться полностью при комнатной температуре. К сухому остатку прибавляют 5мл 1н раствора соляной кислоты, тщательно очищая стенки колбы стеклянной палочкой. Смесь сливают в делительную воронку через слой ваты. Колбу еще трижды ополаскивают 1н раствором соляной кислоты по 5мл и сливают в ту же делительную воронку. Водный раствор котофора в концентрированной форме дважды промывают в делительной воронке хлороформом и органические вытяжки отбрасывают. Затем в делительную воронку приливают 1н раствор однок. натра до нейтральной реакции (по индикаторной бу-

маге). После этого в воронку прибавляют равный объем хлороформа, предварительно насыщенного водой и встряхивают 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 - 0,2 мл). Этот объем наносят на хроматографическую пластинку, после чего еще трижды ополаскивают колбу хлороформом (небольшими объемами), смывы также наносят на пластинку в центр пятна.

Затем пластинка (силикателевая или "Силуфол") помещается в хроматографическую камеру. Далее определение проводят в условиях 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 2,8х5.

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.Бунятян, С.Г.Гераскин (Арм. филиал ВНИИГИПТОКС, Ереван)

СО Д Е Р Ж А Н И Е

Отр.

Хлорсодержащие 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

Фосфорсодержащие 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 дуробана 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 динитрооксона в зерне и продуктах переработки зерна хромато-энзимным и газохроматографическим методом	84

	Стр.
6. Методические указания по определению остаточных количеств рицида "П" в рисе и воде газожидкостной хроматографией	93
7. Методические указания по определению метилнитрофоса, фенитрооксона и п-нитрокрезола 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 малорана 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 тендекса в воде и почве	136
5. Методические указания по определению ФДН (N',N'-диметил-N-(3-хлорфенил)-гуанидина) в огурцах и воде методом тонкослойной хроматографии	139
6. Методические указания по определению дитена М-45 в продуктах питания растительного происхождения и воде	149

II. Гетероциклические соединения

7. Методические указания по определению базаграна в воде, почве, зерне и растительном материале	152
---------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----

	Стр.
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-хроматографическому определению бентазона в почве и растениях	166
10. Методические указания по определению диквата в семенах подсолнечника и масле из семян подсолнечника спектрофотометрическим методом	174
11. Методические указания по определению метазина в воде, почве, овощах и биологическом материале методом хроматографии в тонком слое сорбента	181
12. Методические указания по определению остаточных количеств симм-триазиновых гербицидов (симезина, атразина, пропазина, прометрина, семерона, мезоран-ла, метазина, метопротрина) в почве газожидкостной хроматографией	188
13. Методические указания по определению котофора в семенах хлопчатника методом хроматографии в тонком слое	198
14. Методические указания по определению ронстар (оксидизона) в рисе методами газовой и тонкослойной хроматографии	205
15. Методические указания по определению тагигарена в воде методом тонкослойной хроматографии	209
16. Методические указания по определению тербацила в эфирных маслах и эфиромасличном сырье методом газожидкостной хроматографии	214
17. Методические указания по определению трифторина в воде	220
18. Методические указания по определению остаточных количеств текто(тиабендазола) в картофеле и свекле тонкослойной хроматографией	227
19. Методические указания по определению остаточных количеств феназона в почве, воде, свекле и растительных объектах газожидкостной хроматографией	234

Прочие пестициды

1. Методические указания по определению остаточных количеств хлората магния полярографическим методом ... 243
2. Методические указания по определению нортрона 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 вируса ядерного полиэдроза капустной совки на растительных объектах иммунофлюоресцентным методом 280

Дополнения

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