

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 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.

У Т В Е Р І Д А О:

Зам. Главного Государственного
санитарного врача СССР

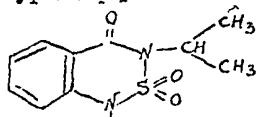
А.И.ЗАИЧЕНКО

19 октября 1979г. № 2090-79

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ГАЗОЖИДКОСТНО-ХРОМАТОГРАФИЧЕС-
КОМУ ОПРЕДЕЛЕНИЮ БЕНТАЗОНА В ПОЧВЕ И РАСТЕНИЯХ

I. Характеристика анализируемого пестицида

Бентазон (синоним: БАСФ-3) – активное вещество гербицида базаграна, используемого для уничтожения устойчивых к производным 2,4-Д сорняков на посевах зерновых, а также люцерны, сои, риса, льна. Химическое название: 3-изопропил-2,1,3-бензотиадиазин-4-
2,2-дисоуд. Структурная формула:



Суммарная формула: $C_{10} H_{12} N_2 S O_3$. Молекулярная масса 240,3.

Точка плавления 137-139 °С. По внешнему виду представляет собой бесцветное кристаллическое вещество. Растворимость (г на 100 г растворителя): ацетон-150,7; этанол-86,1; этилацетат-65,0; диэтиловый эфир-61,6; хлороформ-18,0; бензол-3,3; вода-0,05. Хорошо растворяется в водных растворах щелочей.

Малотоксичен для теплокровных животных. LD₅₀ для крыс – 1100 мг/кг веса.

2. Методика определения бентазона в почве и
растениях.

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Метод основан на экстракции бентазона, очистке экстракта, метилирования диметилсульфатом с последующим определением на хроматографе с детектором по захвату электронов или постоянной скорости рекомбинации. Для повышения специфичности метода используют неподвижные фазы различной полярности: SE₃₀ и полиэтиленгликоль 40 М.

Количественное определение проходит путем сравнения площадей пиков проб и стандартных растворов.

2.1.2. Метрологическая характеристика опыта.

Диапазон определяемых концентраций 0,002-0,02 мкг. Нижний предел детектирования- 0,001 мкг(высота пика равна 5% шкалы самописца). Чувствительность определения: для почвы- 0,03 мг/кг, для растений- 0,05 мг/кг. Среднее значение определения стандартных растворов гербицида: 89%(почва), 71%(растения). Стандартное отклонение: 7,0%(почва), 8,9%(растения). Относительное стандартное отклонение: почва- 0,00; растения-0,12.

Определение бентазона не мешают: линдан, 2,4-Д, 2М-4Х, симазин, атразин, дропазин, лизурон, арезин, керб.

2.2. Реактивы и растворы.

Ацетон(CH_3COCH_3), ГОСТ 2603-71, чда.

Гексан(C_6H_6), МРТУ 6-09-2937-66, хч.

Хлороформ(CHCl_3), ГОСТ 3160-51, чда.

Метиловый спирт синтетический(CH_3OH), ГОСТ 6995-67, хч.

Диметилсульфат($(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$), МРТУ 6-09-3588-67, ч.

Кислота соляная(HCl), ГОСТ 3118-67, хч.

Кислота серная(H_2SO_4), ГОСТ 4294-66, хч.

Алюминий окись(Al_2O_3), МРТУ 6-09-5296-68, II ст. активности, ч.

Натрия углекислый, безводный(Na_2CO_3), ГОСТ 83-63, хч.

Натрий сернокислый, безводный (Na_2SO_4), ГОСТ 4166-76, хч.

Натрий хлористый ($NaCl$), ГОСТ 4233-66, хч

Натр едкий ($NaOH$), ГОСТ 4328-66, хч.

Силикагель ЛС 5/40(ЧССР)

Хроматон N -AW (0,16 - 0,20 мм), ЧССР

Неподвижные жидкости: Полиэтиленгликоль 40 М, СЕ -30(5%),

макенесана на хроматон N -AW (0,16-0,20 мм), ЧССР

Азот газообразный, ГОСТ 9293-74, осч.

Мембранирующий реагент: 1%-ный раствор диметилсульфата в абсолютном метаноле. Хранится в морозильной камере холодильника в плотно укупоренной бутыли в течение 1-2 месяцев).

Стандартный раствор бентазона: 10 мг перекристаллизованного бентазона растворяют в мерной колбе в 100 мл хлороформа. (Содержание бентазона 10 мкг/мл). Стандартный раствор хранится в темном прохладном месте в течение 2-3 месяцев без заметного разложения

2.3. Посуда и приборы.

Аппарат для встраивания типа АВУ-1, ТУ 64-1-1081-73.

Испаритель ротационный ИР-1М, ТУ 25-И-917-74.

Газовый хроматограф "Цвет-Ю6", "Газохром II06 Э" или другой с детектором постоянной скорости рекомбинации или детектором амперного захвата.

Сушильный шкаф ШС-40 М, НРТУ-42-1359-67.

Баня песочная ТУ 46-775-77

Водоструйный насос КМ 1250, ТУ 64-1-861-72.

Боронки делительные ВД 3-500-ГОСТ 8613-75 и ВД3-1000-ГОСТ 8613-75
Борозда КБК-500-29/32 ТС, ГОСТ 10394-72.

Лопаты остродисковые ОКМ-50-14/23 ТС, ГОСТ 10394-72.

Стеклянные боксы СН 34/12, ГОСТ 7148-70.

Проборки П 40 ИУ-88, ГОСТ 10515-75.

Колбы мерные, ГОСТ 1770-74(100 см³).

Стеклянная колонка для колоночной хроматографии длиной 250-300мм (внутренний диаметр 25 мм), в которую вставляют стеклянный фильтр по ГОСТ 9775-69, кл.ПОР 40.

Колонка стеклянная спиральная для газовой хроматографии(длина 1500 мм, внутренний диаметр 3,5 мм)

Колонка стеклянная U -образная для газовой хроматографии(длина 650 мм, внутренний диаметр 3,5 мм).

2.4. Подготовка к определению.

2.4.1. Выделение и очистка бентазона из технического препарата базаграна.

К 20 мл препарата базагран с содержанием бентазона 460 г/л добавляют 50 мл воды, 3 мл конц. H_2SO_4 и перемешивают. Раствор мутнеет, выпадает осадок красноватого цвета. Надосадочную жидкость отсасывают, осадок промывают водой(3х50 мл), промывные воды и надосадочную жидкость отбрасывают. Осадок растворяют в хлороформе и переносят на колонку с силикагелем ЛС 5/40, предварительно промытым хлороформом(50 мл). Высота столба сорбента 7 см. Для элюирования бентазона через колонку пропускают 300 мл хлороформа. Хлороформный экстракт упаривают до 150 мл, переносят в химический стакан на 500 мл, добавляют малыми порциями гексан до устойчивого помутнения раствора и ставят в холодильник. Через 20 мин выпадает игольчатые кристаллы бентазона. Выход сырья 5,5 г(56% от расчетного).

Кристаллическую массу растворяют в 50 мл хлороформа, добавляют 250 мл гексана и оставляют для кристаллизации в холодильнике на 16-18 час. Кристаллы отфильтровывают через плотный бумажный фильтр, промывают на фильтре охлажденным гексаном и высушивают.

в термостате при 90-100 °C до постоянного веса. Полученный кристаллический белтазон используют для приготовления стандартного раствора.

2.4.2. Приготовление хроматографических колонок и их кондиционирование.

2,5 г полиэтиленгликоля 40 М растворяют в 100 мл хлороформа и переносят в круглодонную колбу (500 см³), в которую предварительно помещают 47,5 г хроматона. Растворитель отгоняют на ротационном испарителе досуха. Полученным носителем заполняют хроматографическую колонку, после чего, не подкручивая к детектору, колонку кондиционируют при температуре 215 °C в течение 18 час.

Колонку, заполненную SE-30 кондиционируют 18 час при температуре 250 °C.

2.5. Проведение определения.

2.5.1. Экстракция и очистка экстрактов.

Зеленая масса люцерны, солома ячменя. Навеску 10 г тщательно измельченной массы переносят в коническую колбу с притертой пробкой, заливают 100 мл хлороформа и настаивают в течение ночи. Хлороформ фильтруют через бумажный фильтр, остаток промывают хлороформом (2x50 мл), встраивая по 30 мин. Объединенный хлороформный экстракт упаривают на ротационном испарителе до 2-3 мл и качественно переносят в стеклянный бокс, в который предварительно насыпается 10 г Al₂O₃. Бокс помещают на песочную баню, нагретую до 50-60 °C и выдерживают до полного улетучивания хлороформа. Затем стеклянной палочкой тщательно перемешивают сорбент в боксе (перетирая все комочки) до получения однородной по цвету массы. После этого сорбент переносят в колонку.

Для зпирорования бентазона через колонку пропускают 40 мл смеси концентрированной HCl и воды (1:20 по объему). Скорость вытекания 100-120 капель в мин. Из солянокислого раствора бентазон экстрагируют хлороформом (3x40 мл), энергично встряхивая в течение 2 мин. Объединенные хлороформные экстракты фильтруют через бумажный фильтр с безв. Na_2SO_4 и упаривают досуха в конической колбочке с оттянутым дном на ротационном испарителе.

Семена льна. Семена размалывают на мельнице, взвешивают 10 г и настаивают в конической колбе со 100 мл ацетона в течение ночи. Ацетон фильтруют через плотный, складчатый бумажный фильтр. Остаток дважды промывают ацетоном по 50 мл, встряхивая каждый раз 30 мин. Ацетоновые экстракты переносят на тот же фильтр, после чего упаривают до тех пор, пока на две колбы не останется не спарывающийся маслянистый остаток. К остатку приливают 30 мл 1 %-ного раствора $NaOH$ и переносят в делительную воронку. Колбу дважды смывают раствором щелочи по 30 мл и переносят в ту же воронку. Раствор щелочи дважды энергично встряхивают с 50 мл гексана в течение 2 мин. Гексановый экстракт отбрасывают. Остаток подкисляют 7 мл конц. HCl, перемешивают и трижды встряхивают с хлороформом (по 20 мл). Хлороформный экстракт фильтруют через бумажный фильтр, упаривают до 1-2 мл и дальше очищают на колонке как описано выше.

Почва. 20 г воздушно-сухой, измельченной и просеянной почвы заливают в колбе на 500 мл смеси ацетона и воды (1:3 по объему) в количестве 150 мл и встряхивают в течение часа. После отстаивания жидкость фильтруют через бумажный фильтр, а остаток дважды промывают той же смесью по 100 мл, встряхивая каждый раз 30 мин. Объединенные экстракты подкисляют 5 мл HCl (конц.) и трижды встряхивают с 40 мл хлороформа каждый раз в течение 2 мин. Хлороформный экстракт пропускают через бумажный фильтр и упаривают досуха.

2.5.2. Метилирование бентазона.

Сухой остаток из колбочки смывают 1%-ным раствором диметилсульфата в метаноле(трижды по 1 мл, тщательно смывая стекки колбочки) и переносят в пробирку с притертой пробкой, в которую предварительно помещают 0,1 г Na_2CO_3 (безводный). Пробирку закрывают обратным холодильником и помещают на 15 мин в водяную баню при $t=55$ $^{\circ}\text{C}$ (через каждые 5 мин пробирку осторожно встряхивают). Затем в пробирку добавляют 5 мл насыщенного раствора NaCl , закрывают обратным холодильником и выдерживают в водяной бане 10 мин. при той же температуре. После охлаждения в пробирку добавляют 1 мл(точно) гексана, закрывают пробкой и энергично встряхивают 2 мин. Верхний гексановый слой вводят в хроматограф(2 - 5 мкл).

Одновременно в конические колбочки вносят стандартный раствор бентазона в хлороформе(1, 5 и 10 мкг), хлороформ испаряют в токе воздуха, а все дальнейшие этапы проводят как описано выше для проб. В хроматограф вводят 2 - 5 мкл гексанового слоя.

2.5.3. Условия хроматографирования

Хроматографы "Цвет И06", "Газохром-II06 3" или другие с ДЭЗ или аналогичными детекторами.

При работе на "Цвет-И06": детектор постоянной скорости рекомбинации, шкала ИМТ-10х10⁻¹², скорость протяжки диаграммы-1см/мин., Колонка стеклянная, U-образная, 650х3,5 мм, заполненная полизтиленгликолем 40 %(5%). Температура колонки 180 $^{\circ}\text{C}$, испарителя и детектора 225 $^{\circ}\text{C}$. Газ-носитель - азот особой чистоты(60 мл/мин), газ для поддува детектора - азот осч.(145 мл/мин). Линеяность детектора в пределах 0,002 - 0,02 мкг, чувствительность 0,001 мкг(высота пика равна 5% шкалы самописца), время удерживания бентазона 6 минут.

Хроматограф "Газохром-IIО6 Э": детектор электронного захвата, множитель 1:1, скорость диаграммной ленты 1см/мин. Колонка стеклянная (1500x3,5 мм), заполненная 5% 5 Е-90. Температура колонки 190 °С, детектора и испарителя 225 °С. Газ-носитель - азот особой чистоты (40 мл/мин), поддув детектора - 60мл/мин. Линейность детектора 0,002-0,02 мкг, чувствительность - 0,001 мкг. Время удерживания 3,5 мин.

2.6. Обработка результатов анализа.

Количественное определение проводят путем сравнения площадей пиков проб и стандартных растворов, причем для сравнения выбирают пики, различающиеся по своим размерам не более чем в 1,5-2 раза. Содержание бентазона в анализируемой пробе в мг/кг (X) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{M_{ст} \cdot S_{пр.} \cdot V_k}{S_{ст.} \cdot V_x \cdot M}$$

где $M_{ст.}$ - содержание гербицида в стандартном растворе, мкг

$S_{ст.}$ - площадь пика стандартного раствора, мм^2

$S_{пр.}$ - площадь пика пробы, мм^2

V_x - объем экстракта, введенного в хроматограф, мкл

V_k - объем конечного экстракта, в котором растворен сухой остаток, мкл

M - навеска пробы, г

2.8. Настоящие методические указания составлены по материалам Белорусского НИИ защиты растений (канд. биол. наук П.М.Кислушки, канд. с.-х. наук А.Ф.Скурыйт, Ф.Е.Иштык).

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
<u>Хлорсодержание пестициды</u>	
1. Методические указания по определению нафона 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
<u>Фосфорсодержание пестициды</u>	
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 фенилнитрофосона 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, фенинитрооксона 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 (N,N' -диметил- N -(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 базагрена 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, овощах 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 тэрбацила 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(тиабендиназола) 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 витамицина А в воздухе методом тонкослойной хроматографии	276
3. Методические указания по определению полиэдров ви-руса ядерного полиэдроза капустной совки на растите-льных объектах иммунофлюоресцентным методом	280

Дополнения

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