

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. ЗАИЧЕНКО

19 октября 1979г.

№ 2093-79

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ  
ВАЛЕКСОНА В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ, ПОЧВЕ И ВОДЕ ТОНКОСЛОЙНОЙ  
И ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ

I. Краткая характеристика препарата

I. 1. Валексон

I. 2. 0,0-диэтилтиофосфорил-0-( $\alpha$ -цианобензальдоксим)

I. 3.



Мол. масса 298,3

I.4. Фоксим, байтион, волатон, Bay-77488, ENT-27448

I. 5. В чистом виде жидкость светло-желтого цвета с Т. кип. 102°C при 0,01 мм рт. ст., Т. пл. 3-4°C. Хорошо растворяется в большинстве органических растворителей; растворимость в воде при 20°C - 7 мг/л.

Разрушается в сильных кислотах и щелочных средах.

Препарат малотоксичен для теплокровных. При оральном введе-

нии для крыс ЛД<sub>50</sub> 1900 - 2060 мг/кг.

Выпускается в форме 50%-ного концентратата эмульсии, 40%-ного смачивающегося порошка для борьбы с сосущими и грызущими насекомыми на капусте, картофеле, томатах, яблонях и др. культурах, а также в виде 5%-ных гранул для борьбы с почвенными вредителями.

ПДК валексона в продуктах питания, воде и почве не установлена.

## 2. Методика определения валексона

### 2.1. Основные положения

#### 2.1.1. Принцип метода

Метод основан на извлечении валексона из анализируемых проб органическим растворителем или для почвы смесью ацетона с 0,05 и водным раствором хлористого кальция. (смесь в соотношении 1:1), перераспределением между двумя несмешивающимися растворителями с последующим определением тонкослойной или газожидкостной хроматографией с ТИД. При определении методом тонкослойной хроматографии пробу дополнительно чистят на колонке.

#### 2.1.2. Метрологическая характеристика метода

	ГЖХ	:	ТСХ
Минимально детектируемое количество	1 нг	:	0,5 - 3 мкг
Нижний предел определения (чувствительность метода)	0,004 мг/кг 0,001 мг/л	:	0,1 мг/кг 0,05 мг/л
R размах варьирования, % в растениях	70,5-87,5		83-87
	в почвах	92-97	90-96
с среднее значение определения, %			
	в растениях	76,3	85,2
	в почвах	94	92
s стандартное отклонение, %			
	в растениях	7,9	3,3
	в почвах	3,5	3,5
Доверительный интервал среднего при p=0,95 и n=5, %, для растений	76,3±9,1		
	для почв	94±4	

## 2.1.3. Избирательность метода

Метафос, фталофос, фозалон, карбофос, диазинон, фосфамид, гардона, трихлорметафос-3 определению не мешают.

## 2.2. Реактивы и растворы

Ацетон, ч. ГОСТ 2603-63 -  $\text{CH}_3\text{COCH}_3$

Гексан, х.ч., МРТУ 6-09-2937-66 -  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$

Хлороформ, х.ч., ГОСТ 3160-51 -  $\text{CHCl}_3$

Бензол ч.д.а., ГОСТ 5955-68 -  $\text{C}_6\text{H}_6$

Ацетонитрил, ч., МРТУ 6-09-6448 -  $\text{CH}_3\text{CN}$

Диметилформамид, ч., МРТУ 6-09-2058-65 -  $\text{HCO}(\text{CH}_3)_2$

Хлористый натрий, х.ч. ГОСТ 4233-66 -  $\text{NaCl}$

Хлористый кальций, х.ч., ГОСТ 4161-67 -  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Сульфат натрия, безводный, ч.д.а. ГОСТ 4166-66 -  $\text{Na}_2\text{S O}_4$

Уголь активированный марки КАД-молотый или ОУ-А

Силикагель КСК с флюоресцирующей добавкой или пластинки "Силуфол-UV-254"

Оксис алюминия, для хроматографии МРТУ 6-09-5296-68-4 -  $\text{Al}_2\text{O}_3$

Проявляющие реактивы:

1. 0,5%-ный раствор 2,6-дибром-*N*-хлорхинонимина в гексане
2. 1%-ный раствор 4-(*p*-нитробензил)пиридина в ацетоне; 10%-ный раствор тетраэтиленпентамина в ацетоне
3. Смесь бромфенолового синего и азотокислого серебра в ацетоне:
  - A. 0,5%-ный водно-ацетоновый раствор азотокислого серебра (1 ч. воды : 3 ч. ацетона)
  - B. 0,03 г. бромфенолового синего растворяют в 10 мл ацетона, а затем разбавляют раствором А до 100 мл
  - B. 5%-ный раствор уксусной кислоты

Азот особой чистоты

Водород

Стандартные растворы валексона в ацетоне с содержанием 5 мкг/мл (для ТСХ) и в гексане с содержанием 0,5; 1,2; 5; 7; 10 мкг/мл (для ГЖХ).

5%<sup>5</sup>E-30 и 3% ХЕ-60 на хроматофоре N(80-100 меш), силанизированный

2% полиэтиленгликольсукинат на хроматоне N-AW-Дис (0,16-0,20мм)

#### 2.3. Приборы и посуда

Хроматорраф Цвет-10б или аналогичный прибор с ТИД

Аппарат для встряхивания

Ротационный вакуумный испаритель или другой прибор для отгонки растворителей под вакуумом

Хроматоскоп (хемоскоп) с излучением 250-280 нм

Колбы конические со шлифами на 500 мл

Колбы круглодонные на 500 мл

Делительные воронки на 2 л, 1 л и 0,5 л

Колбы мерные на 200 мл и 100 мл

Колонки для адсорбционной хроматографии длиной 30 см, внутренним диаметром 15 мм

Хроматографическая камера

Камера для опрыскивания хроматограмм

Пульверизаторы

Пипетки на 0,1 мл, 1 мл, 5 мл, 10 мл

Почвенное сито

Микрощипцы на 10 мкл

#### 2.4. Отбор и подготовка проб

Растительную пробу (овощи, фрукты, зеленую массу растений) измельчают ножом на кусочки 0,5x0,5x0,5 см и отбирают среднюю пробу 25 г.

Почву в естественно-влажном состоянии или воздушно-сухую просеивают через почвенное сито и для анализа отбирают среднюю пробу 10 г.

Проба воды - 100 мл.

## 2.5 Проведение определения

Анализируемые навески помещают в конические колбы емкостью 250 мл, пробы воды - в делительные воронки, куда добавляют по 10 г хлористого натрия.

Из растений валексон экстрагируют 100 мл смеси ацетона с водой (1:1), из почв - 50 мл смеси ацетона с 0,05 н водным раствором хлористого кальция (1:1). Из воды экстракцию валексона проводят хлороформом порциями по 120, 100 и 75 мл., экстракты объединяют.

Экстракцию инсектицида из образцов производят с помощью механического встряхивания в течение 30 мин. Растительные экстракты охлаждают в холодильнике или в смеси соли со льдом. Пробы отфильтровывают от растительных и почвенных остатков в делительные воронки через бумажный фильтр. Экстракцию повторяют еще два раза тем же количеством растворителя. Объединенный экстракт подвергается очистке. Для этого в делительную воронку приливают гексан четыре раза по 20 мл. После встряхивания 3-5 мин и расслоения жидкостей собирают гексановую фракцию в круглодонную колбу, высушивают путем фильтрования через безводный сернокислый натрий. Объединенный гексановый экстракт концентрируют под вакуумом при температуре не выше 40° до объема 0,5 - 1,0 мл.

При определении методом ТСХ или в случае, если методом ГЖХ получаются "грязные" хроматограммы, проводят дополнительную очистку. Это относится в основном к образцам из растительных объектов. Для этого в пробы добавляют 5 мл ацетонитрила (ацетонитрил можно заменить диметилформамидом, однако с первым растворителем очистка проходит значительно лучше) и доводят общий объем до 50 мл водой. Пробы встряхивают 1 - 2 мин, далее производят переэкстракцию валексона в гексан. С этой целью пробы переносят в делительную воронку, прили-

вают 20 мл гексана, встряхивают 1 - 2 мин и после разделения слоев гексановый сливают в круглодонную колбу для отгонки, фильтруя через безводный сернокислый натрий, а водно-ацетонитрильный еще два раза промывают гексаном. Объединенные гексановые экстракты концентрируют под вакуумом при 40° до 5 мл и проводят количественное определение.

В случае если проба нуждается еще в очистке, то следует применить колоночную хроматографию, а именно, пробу вносят в колонку (30 см x 1,5 см), заполненную слоем сернокислого натрия (2 - 3 см), окиси алюминия для хроматографии (3 см), активированного угля КАД-молотый или ОУ-А (3 см) и безводного сернокислого натрия (1 см). Предварительно через колонку пропускают 30-40 мл хлороформа для уменьшения сорбционной емкости. Из колонки валексон элюируют 100 мл хлороформа при отсасывании с помощью водоструйного насоса. Хлороформ удаляют под вакуумом, остаток растворяют в гексане и определяют количество валексона хроматографическими методами.

Пробы воды, проэкстрагированные хлороформом, если необходимо, то чистят подобным способом.

(1,3)

#### Условия определения тонкослойной хроматографией

Проба с помощью капилляра или микропипетки наносится на хроматографическую пластинку. Паралельно на пластинку наносят серию стандартных растворов с содержанием 1, 2 и 5 мкг валексона. Хроматограмму развивают в системе гексан-ацетон (4:1), подсушивают на воздухе и обрабатывают одним из трех проявляющих реагентов.

1. Хроматограмму опрыскивают 0,5%-ным раствором 2,6-дибром-N-хлорхинонимина в гексане, а затем нагревают в течение 5-7 мин в термостате при 110°С. Валексон проявляется в виде оранжевых пятен на белом фоне. Нижний предел обнаружения 0,5 мкг.

2. Хроматограмму опрыскивают 1%-ным раствором 4-(p-нитробензил)-пиридина, нагревают в сушильном шкафу 3-5 мин при 110°С, затем снова

опрыскивают 10%-ным раствором тетраэтиленпентамина в ацетоне. Валексон проявляется в виде сине-фиолетовых пятен на светлом фоне. Нижний предел обнаружения 0,5 мкг.

3. Хроматограмму опрыскивают бромфеноловым реагентом с последующим снятием фона в результате обработки пластинки 5%-ным раствором уксусной кислоты. Валексон проявляется в виде сине-фиолетовых пятен на светло-желтом фоне. Нижний предел обнаружения 3 мкг.

Пластинки со слоем силикагеля, в который внесен флуоресцирующий краситель или пластинки "Силуфол-UV254" можно, не проявляя их, просматривать в хроматоскопе. Инсектицид определяют по тушению флуоресценции. Нижний предел обнаружения 1 мкг.

$R_f$  валексона в системе гексан-ацетон (4:1) на пластинках "Силуфол" составляет  $0,5 \pm 0,02$ .

Содержание валексона в исследуемой пробе вычисляют по формуле:

$$C = \frac{C_{\text{пр}}}{A} \quad \text{мкг/кг (мг/л)}, \text{ где}$$

$C_{\text{пр}}$  - количество препарата, найденное по хроматограмме при сравнении со стандартами, мкг;

$A$  - навеска исследуемой пробы в мг или объем воды в мл. (1,2)

#### Условия определения газожидкостной хроматографией

Хроматограф Цвет И06 или другой модели с ТМД.

Скорость протяжки ленты самописца  $10^{-10}$  см/мин.

Рабочая шкала электрометра  $20 \times 10^{-10}$  А.

Стеклянная колонка длиной 100 см и внутренним диаметром 3 мм, заполненная хроматоном *N-AW-DMCS* (0,16-0,20 мм) с 5%SE-30. Температура колонки и испарителя  $130^{\circ}\text{C}$ . Скорость азота 25 мл/мин, водорода 15 мл/мин, воздуха 150 мл/мин. Время удерживания валексона 3 мин 22 сек. Прочие ФЭИ выходят позже.

В хроматограф вводят 2 мкл рабочего раствора. Жижиность де-

тектирования сохраняется в пределах 1-20 нг.

2.6 Количествоное определение проводят методом соотношения со стандартом по высоте пиков. Содержание валексона в анализируемой пробе вычисляют по формуле:

$$C = \frac{H_{\text{пр}} \cdot C_{\text{ст}} \cdot Y}{H_{\text{ст}} \cdot Y_a \cdot A} \quad \text{мг/кг (мг/л), где}$$

$H_{\text{пр}}$  - высота пика анализируемой пробы, мм

$H_{\text{ст}}$  - высота пика стандарта, мм

$C_{\text{ст}}$  - содержание валексона в стандарте, нг

$Y_a$  - объем аликовты, выводимой в хроматограф, мкл (2 мкл)

$Y$  - общий объем рабочего раствора, мл (2 мл)

$A$  - навеска анализируемой пробы (в пересчете на сухое вещество), 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.

(2)

#### Альтернативная колонка

Колонка стеклянная длиной 2 м, внутренним диаметром 3 мм, заполнена хроматоном  $N\text{-AW-Дис'}$  (0,16-0,20 мм) с 2% полидиэтилен-гликольсуцинатом. Температура колонки  $190^{\circ}\text{C}$ , испаритель  $200^{\circ}\text{C}$ .

Время удерживания валексона 1 мин 37 сек. Прочие ФАП определению не мешают, т.к. выходят значительно позже, например, время удерживания метабоса 7 мин.

#### АНТОРН

Настоящая методика входит в разработки авторских коллективов:

И. Петрова Т.М., Федорова И.С., Всесоюзный научно-исследовательский

- институт защиты растений, г. Ленинград.
2. Лещинская Л.И., Новикова К.Ф., Косачева Е.И., Всесоюзный научно-исследовательский институт химических средств защиты растений, Москва.
3. Швец Д.А. , Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, пос. Рамонь, Воронежской обл.

Требования безопасности.

Общепринятые требования безопасности при работе с горючими растворителями и фосфорорганическими пестицидами. Осторожно обращаться с ацетонитрилом, т.к. он ядовит.

## 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 ( $N,N'$ -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 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