

ГОСКОМИССИЯ ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ,
БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОРНЯКАМИ ПРИ МИНСЕЛЬХОЗЕ СССР

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ПЕСТИ-
ЦИДОВ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, КОРМАХ И ВНЕШ-
НЕЙ СРЕДЕ

ЧАСТЬ XII-я

Москва - 1983

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 XIII

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

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 био-препаратов в продуктах питания, кормах и внешней среде.

Срок действия временных методических указаний устанавливается до утверждения гигиенических регламентов.

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 ИМПТИ им. Маршановского Е.И. и лабораторным советом при Главном санитарно-эпидемиологическом управлении Минздрава СССР.

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Главного Государственного
санитарного врача СССР

_____ А.И. Заиченко

6 августа 1981 г.
№ 2429-81

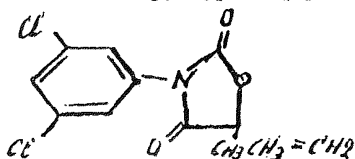
ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ
РОНИЛАНА В РАСТИТЕЛЬНОЙ ПРОДУКЦИИ, ПОЧВЕ И
В СДЕ ТОЖКОСЛОЙНОЙ И ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ.

1. Краткая характеристика препарата

1.1. Ронилан.

1.2. 5-винил-5-метил-3-(3,5-дихлорфенил)-1,3-оксазолидиндион
- 2,4.

1.3. Структурная формула



1.4. БАС 35200

Молекулярная масса 286,1

1.5. Химически чистое вещество представляет собой кристаллический порошок без запаха с температурой плавления 108°C. Плохо растворим в воде, хорошо в ацетоне, хлороформе, олеоэле, этаноле. Препарат молотоксичен для теплокровных животных. ДЛ₅₀ для крысы составляет 9875¹ мг/кг. Выпускается в форме 50 и 75%-го смачиваемого порошка.

2. Методика определения ронилана.

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Метод основан на извлечении ронилана из анализируемой про-

бы органическим растворителем, очистке экстракта с последующим определением тонкослойной или газожидкостной хроматографией.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

	ТСХ	ГЖХ
Минимальное детектируемое количество	1-2 мкг	1 нг
Нижний предел определения	0,05 мг/кг	0,005 мг/кг
R - размах варьирования, %		
в растениях	70,0-90,0	75,0-90,0
в почве	80,0-95,0	90,0-95,0
в воде	81,0-100,0	81,0-100,0
\bar{C} - среднее значение определения, %		
в растениях	78,6	93,0
в почве	87,5	97,0
в воде	89,5	89,5
σ - стандартное отклонение, %		
в растениях	$\pm 9,0$	$\pm 5,0$
в почве	$\pm 8,7$	$\pm 3,3$
в воде	$\pm 7,9$	$\pm 7,9$
Доверительный интервал среднего при $\lambda = 0,95$ и $n = 5\%$		
для растений	$78,6 \pm 9,0$	$93,0 \pm 5,0$
для почвы	$87,5 \pm 8,7$	$97,0 \pm 3,3$
для воды	$89,5 \pm 7,9$	$89,5 \pm 7,9$

2.1.3. Избирательность метода.

Метод специфичен, другие препараты в данных условиях хроматографирования определению не мешают.

2.2. Реактивы и растворы

Ацетон, х.ч. ГОСТ 2603-79

n-Гексан, ч. МРТУ-6-09-3375-78 (перегнанный)

Хлороформ, х.ч. ТУ 6-09-4263-76

Этиловый спирт, х.ч. ТУ 6-09-7710-77

Натрий сернохлорид безводный, ч.д.в. ГОСТ 4166-76

Пластинки "Silufel UV-254" Kavalier (ЧССР)

Азот особой чистоты

3% ХЕ-60 на хроматоне *N-ANUMCS* (0,20 0,25 м.л)

Натрий азотнокислый, ч. ГОСТ 4197-66

Кислота соляная, х.ч. ГОСТ 3118-67

d-нафтиламин, ч. ГОСТ 8827-74

О-толидин, ч. ТУ МХП 2626-5I

Калий марганцевоокислый, ч. ГОСТ 20490-76

Цинк серноокислый, х.ч. ГОСТ 4174-77

Калий железистосинеродистый, х.ч. ГОСТ 4207-75

Ронилан

Стандартный раствор ронилана в ацетоне - I мкг/мл для ГЖХ и 100 мкг/мл для ТСХ. Срок хранения I месяц.

2.2.1. Проявляющие реагенты

I. Свежеприготовленный I%-ный раствор *d*-нафтиламина в этиловом спирте.

2. 160 мг О-толидина растворяют в 30 мл ледяной уксусной кислоты, доводят дистиллированной водой до 500 мл и прибавляют I г йодистого калия; срок хранения проявляющего реактива не ограничен.

2.3. Приборы, аппаратура и посуда

Ротационный испаритель ИР-1М, ТУ 25-II-917-74

Мерные колбы на 100 мл ГОСТ 1770-74

Делительные воронки ГОСТ 8613-75

Водяная баня ТУ 46-22-603-75

Аппарат для встряхивания ТУ 64-21-1081-73

Микропипетки ГОСТ 1770-74

Круглодонные колбы на 250 мл со шлифом, ГОСТ 10394-72

Колбы конические со шлифом на 250 и 500 мл ТС ГОСТ 10394-72

Хроматограф "Цвет-106" или другой марки с детектором постоянной скорости рекомбинации.

Пробирки с делениями и шлифами на 10 мл.

Баллон

Секундомер

Микрошприц на 10 мкл МШ-10 ТУ 5Е-2.833.0.24

Камера для хроматографирования ГОСТ 10565-63

Камера для опрыскивания ГОСТ 10565-73

Бороски химические ГОСТ 8613-64

Пульверизатор стеклянный ГОСТ 1770-74

Источник УФ-света типа ЦРК-4

Хроматографические стеклянные колонки длиной I м и внутренним диаметром 3 мм.

2.4. Отбор проб.

Отбор проб производится в соответствии с Унифицированными правилами отбора проб для определения микроколичеств пестицидов в сельскохозяйственной продукции, продуктах питания и объектах окружающей среды, утвержденными Заместителем Главного Государственного санитарного врача СССР № 205I-79.

2.5. Проведение определения

2.5.1. Экстракция

Вода. 200 мл воды помещают в делительную воронку. Ронилац экстрагируют тремя порциями хлороформа по 50 мл каждый раз в течение 5 минут. Объединенные экстракты фильтруют через слой безводного сернокислого натрия, отгоняют растворитель при температуре 40°C до объема 0,2-0,3 мл. Остаток удаляют в токе воздуха.

Почва. 100 г почвы помещают в коническую колбу с притертой пробкой и приливают 100 мл хлороформа. Препарат экстрагируют путем энергичного встряхивания колбы в течение одного часа. Растворитель отфильтровывают через слой безводного сернокислого натрия. Колбу и фильтр трижды промывают по 25 мл растворителя. Экстракт удаляют в токе воздуха.

Растительный материал. Измельченную навеску (25г) растительного материала помещают в коническую колбу, приливают 150 мл ацетона и помещают на аппарат для встряхивания на 1 час. Ацетоновый экстракт отделяют от массы фильтрованием через бумажный фильтр со слоем безводного сульфата натрия. Колбу и фильтр трижды промывают по 25 мл ацетона. Объединенный экстракт упаривают до объема 20 мл. Затем в колбу приливают 80 мл дистиллированной воды и далее поступают так, как это описано при определении в почве.

Семена подсолнечника. 5 г измельченных семян помещают в коническую колбу, заливают 50 мл хлороформа и экстрагируют встряхиванием в течение одного часа. Экстракт отфильтровывают через слой безводного сернокислого натрия, пробу промывают трижды хлороформом по 20 мл. Растворитель отгоняют под вакуумом.

2.5.2. Очистка экстракта

К сухому остатку из почвы приливают 20 мл ацетона и 80 мл

дистиллированной воды, к ацетоновому раствору из растительного материала также приливают 80 мл воды. К сухому остатку из семян подсолнечника приливают 20 мл этанола, хорошо перемешивают стеклянной палочкой в течение 10 минут и приливают 80 мл воды.

Для осаждения коэкстрактивных веществ в полученные растворы приливают 1 мл 30%-ного раствора сульфата цинка и 1 мл 15%-ного раствора железистосинеродистого калия, тщательно перемешивают и через 5-7 минут отфильтровывают через плотный бумажный фильтр в делительную воронку. Остаток на фильтре из семян подсолнечника промывают трижды по 10 мл водного раствора этанола (1:1 по объему). Пробы из почвы и растительного материала промывают 10 мл воды.

Ронилян экстрагируют хлороформом трижды по 5 минут, порциями по 50 мл. Экстракт объединяют, сушат безводным сернистым натрием и концентрируют до объема 0,2-0,3 мл. Остаток удаляют в токе воздуха.

2.5.3. Идентификация и количественное определение ронилана

2.5.3.1. Условия хроматографирования в тонком слое.

Экстракты с помощью пипетки наносят на пластинку "Силуфол". Рядом с пробой наносят стандартные растворы ронилана содержащие 1, 5, 10 мкг препарата. Хроматографируют в системе растворителей н-гексан - ацетон - петролейный эфир (2:1:1) или н-гексан - ацетон (2:1 по объему). После того, как фронт растворителя поднимется на 12 см, пластинку вынимают из камеры, отмечают линию фронта растворителя и оставляют на несколько минут на воздухе для удаления паров растворителя. Далее пластинку выдерживают в УФ-свете в течение 20 минут, после чего ее помещают в камеру, на дно которой в стаканчик внесено 4-5 г кристаллического нитрита натрия. В стаканчик осторожно приливают 20 мл 20%-ной соляной кислоты. Камеру закрывают крышкой и выдерживают пластинку в течение 5 минут. Далее ее осторожно опрыскивают свежеприготовленным 1%-ным раствором α -нафт-ламина. При наличии ронилана в пробе на хроматограмме проявляются четкие малиново-красные пятна на белом фоне с величиной $R_f = 0,55 \pm 0,05$ в системе н-гексан-ацетон-петролейный эфир (2:1:1), а в системе н-гексан-ацетон (2:1) - с величиной $R_f = 0,75 \pm 0,05$. Возможно проявление хроматограмм также следующим образом: после хроматографирования и высушивания пластинку в течение 20 минут облучают УФ-светом,

а затем хроматограмму на 5-7 минут помещают в камеру, насыщенную парами хлора.

Для получения хлора на дно эксикатора насыпают 7-10 г перманганата калия и добавляют 15-20 мл концентрированной соляной кислоты. После улетучивания паров хлора пластинку опрыскивают раствором 0-толидина. При этом ронилан обнаруживается в виде синих пятен на светло-желтом фоне.

2.5.3.2. Условия газожидкостного хроматографирования.

Ронилан можно определить на хроматографе с детектором по захвату электронов (постоянной скорости рекомбинации). Для этого может быть использована колонка с 3% ХЕ-60 на хроматоне *N-AW* (0,20-0,25 мл) длиной 100 см и внутренним диаметром 3 мм. Температура колонки 190°C; детектора - 190°C; испарителя - 220°C. Расход газа носителя (азот) - 40 мл/мин; воздуха - 200 мл/мин. Рабочая шкала электрометра - $I \times 10^{-10}$; скорость протяжки ленты - 200 мм/час. Время удержания - 6,25 мин.

Очищенный сухой остаток растворяют в 3-х мл ацетона, переносят в градуированную пробирку и доводят объем ацетона до 10 мл. в колонку вводят микрошприцем 2-5 мкл раствора.

2.6 Обработка результатов.

Содержание пестицида в пробе при определении методом ТСХ рассчитывают по формуле:

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

где X - содержание препарата в пробе, мг/кг, мг/л;
 A - количество препарата, найденное в пробе, мкг;
 P - навеска или объем пробы, г, мл.

Содержание пестицида в пробе при определении методом ГЖХ рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{H_2 \cdot y_1 \cdot C_1 \cdot y_3}{H_1 \cdot y_2 \cdot P}$$

где X - содержание препарата в пробе, мг/кг, мг/л;
 C_1 - концентрация стандартного раствора, мкг/мл;
 H_1 и H_2 - высоты пиков стандартного и анализируемого растворов, мм;

- U_1 и U_2 - объемы стандартного и анализируемого растворов вводимых в хроматограф, мкл;
 U_3 - объем экстракта пробы, мл;
 P - навеска или объем анализируемой пробы, г, мл.

3. Требования безопасности.

Соблюдать требования безопасности обычно рекомендуемые для работы в химических лабораториях с органическими растворителями и УФ-светом.

4. Настоящие методические указания подготовлены:

Кандидатом с.-х. наук Красных А.А.

Кандидатом с.-х. наук Шустровым Э.С.

Кулицовой Э.В.

(Всероссийский НИИ защиты растений, пос Рамонь Воронежской обл., ВНИИЗР).

С О Д Е Р Ж А Н И Е

ХЛОРООРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

	Стр.
1. Временные методические указания по определению ХОП (ДДТ, ДДЭ, ДДД, -ГХЦГ) в рыбе и рыбной продукции методом газожидкостной хроматографии.	I
2. Методические указания по определению ХОП и симтриазиновых пестицидов при их совместном присутствии в почве с помощью ГЛХ.	12
3. Временные методические указания по определению остаточных количеств митрана в воде, сливах и яблочках методом ТСХ.	23

ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

1. Методические указания по определению азота в воздухе рабочей зоны методами ГЛХ и ТСХ.	29
2. Временные методические указания по определению ботвы в ботве и клубнях картофеля, листьях и стеблях хлопчатника, капусте, почве и воде ТСХ и ГЛХ.	36
3. Методические указания по определению глифосата и его метаболита - аминометилфосфоновой кислоты методом хроматографии в воде, почве, растительном материале.	46
4. Методические указания по определению остаточных количеств дурсбана в воде, почве, лесной растительности и биосредах методом ТСХ.	54
5. Временные методические указания по определению каунтора в растениях сахарной свеклы и почве методом ТСХ.	61

6. Методические указания по определению метилмеркапто-
фоса в воде, почве, винограде и зеленой массе хме-
ля ГЖХ и ТСХ. 67
7. Временные методические указания по определению офу-
нака методами ГЖХ и ТСХ в почве, растениях, воде водое-
мов. 76
8. Временные методические указания по определению протио-
фоса в растительном материале, почве и воде методами
ГЖХ и ТСХ. 82
9. Временные методические указания по определению се-
лекрона в растительной продукции, почве и воде ТСХ
и ГЖХ. 91
10. Временные методические указания по определению хлоро-
фоса энзимно-хроматографическим методом в листьях
белладонны и траве мяты перечной. 98
11. Методические указания по определению в зерне и про-
дуктах его переработки ФОП, применяемых для обеззаражи-
вания зерна и зернохранилищ, хроматографическими мето-
дами. 105

АЗОТСОДЕРЖАЩИЕ ПЕСТИЦИДЫ

1. Методические указания по определению остаточных коли-
честв акрекса, диносеба, каратана, ДНОКа в воде, почве,
и растительном материале хроматографическими методами. 119
2. Временные методические указания по определению байгона
методом ГЖХ в молоке. 138
3. Временные методические указания по определению барнона
в воде, почве, растениях методом ГЖХ. 148

4. Методические указания по определению кронетона в воде, почве, корнеклубнеплодах и растительном материале ТСХ. 154
5. Временные методические указания по определению ридомила методом хроматографии в воде, почве, растительном материале. 160
6. Временные методические указания по определению роваля методом ТСХ в воде, почве, поматах, картофеле, винограде, виноградном соке и вине. 168
7. Временные методические указания ронилана в растительной продукции, почве и воде ТСХ и ГЭХ. 175
8. Временные методические указания по определению эвисекта в растительной продукции, почве и в воде ТСХ. 182
9. Временные методические указания по определению этиримола в растительной продукции, почве и воде ТСХ. 188

ПРОЧИЕ ПЕСТИЦИДЫ

1. Временные методические указания по определению геранилбутирата методом ГЭХ и ТСХ в почве, воде, корнеплодах и листьях сахарной свеклы. 195
2. Временные методические указания по определению бромпропилата(неорона) в яблоках и цитрусовых методом газовой хроматографии. 206
3. Временные методические указания по определению иллоксана в воде и почве методом ГЭХ. 211
4. Временные методические указания по хроматографическому определению изатрина в почве и воде. 217

- | | |
|---|-----|
| 5. Временные методические указания по определению омайта методами ГЖХ и ТСХ в почве, в воде и растениях. | 224 |
| 6. Методические указания по определению хлората магния в почве, воде, растениях (подсолнечнике, луке) и в воздухе полярографическим и хроматографическим (ТСХ) методами. | 230 |
| 7. Временные методические указания по определению остаточных количеств некоторых аналогов ювенильного гормона (алтосида, алтозара и п-бромфенилового эфира гераниола) в растениях картофеля и почве методами ТСХ и ГЖХ. | 247 |
| Дополнения | 258 |

Л- 71958 от 20. I. 83г Тираж 2000 экз., заказ № 1873

Типография ВАСХНИЛ