

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

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ  
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ПЕСТЬ-  
ЛИДОВ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, КОРМАХ И ВНЕ-  
НЕЙ СРЕДЕ

ЧАСТЬ XII-я

Москва - 1983

ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ  
ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ,  
БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОРНИКАМИ ПРИ МСХ СССР

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ  
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ  
В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, КОРМАХ И ВНЕШНЕЙ СРЕДЫ

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

Москва-1983

Настоящие методические указания предназначены для санитарно-эпидемиологических станций и научно-исследовательских учреждений Минздрава СССР, а также ветеринарных, агротехнических, 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.

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 ИМПиТИ им. Мариновского 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

№ 2417-81г

Временные

методические указания по определению хлорофоса  
энзимно-хроматографическим методом в листьях  
белладонны и траве мяты перечной

I. Хлорофос /трихлорфон, диптерекс, негувон, дилокс, тугон,  
фосклор/ применяется как контактный и кишечный инсектицид.

Действующее начало препарата - 0,0-диметил-/1-окси-2,2,2,-  
трихлорэтил/-фосфонат.



Хлорофос - белый кристаллический порошок. Растворимость в г на 100г в воде 12,3; в бензоле 15,2; в хлороформе 75. Трудно растворим в парабиновых углеводородах. Т.пл. 73-74°C, давление паров хлорофоса при 20°C составляет  $7,8 \cdot 10^{-6}$  мм рт.ст, летучесть при 20°C - 0,11мг/м³. Хлорофос устойчив в кислой среде и быстро гидролизуется в щелочной. ПДК в воздухе рабочей зоны - 0,5мг/м³. ПДК в воде водоемов - 0,05мг/л. ДОК в растительных продуктах питания - 0,1-0,2мг/кг. Остатки хлорофоса в продуктах животноводства не допускаются. ДОК в лекарственных травах не установлены.

## 2. Методика энзимно-хроматографического определения хлорофоса в листьях белладонны и траве мяты перечной

### 2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода. Метод основан на извлечении хлорофоса из исследуемой пробы органическим растворителем, очистке экстракта<sup>1)</sup> и определении методом хроматографии в тонком слое с энзимным проявлением после активации препарата на пластинке<sup>2)</sup>. Хлорофос, угнетающий холинэстеразу, проявляется в виде белых пятен на голубом фоне.

### 2.1.2. Метрологическая характеристика метода:

Диапазон определяемых концентраций - от 10нг до 50нг;

Предел обнаружения 10нг /0,01мкг/, 0,05мг/кг;

Среднее значение определения стандартных количеств пестицидов в белладонне - 85%, в мяте - 75% из 5 параллельных определений;

Стандартное отклонение  $s'$  = 0,5

Относительное стандартное отклонение  $s_2$  = 5,8%

Доверительный интервал среднего при  $P = 0,95$  и  $n = 5$  равен  $\pm 0,61$

### 2.1.3. Избирательность метода

Прочие фосфорорганические пестициды определению не мешают.

## 2.2. Реактивы и растворы

Ацетон ч.д.а. ГОСТ 2603-79

Хлороформ х.ч. ГОСТ 20015-74

и-Гексан х.ч. ТУ 6-09-3375-76

Все растворители свежеперегнанные.

Натрий сернистый безводный х.ч. ГОСТ 4166-79

Этиловый спирт ректификат ТУ 6-09-17-10-77

Индоксилацетат ч.д.а. ТУ 6-09-07-II56-73

Калий железистосимеродистый ч. ГОСТ 4207-65 -0,05 М р-р (2,11г в 100 мл воды)

Калий железосимеродистый ч. ГОСТ 4206-75 -0,05 М р-р (1,645г в 100мл воды)

Аммиак водный 25% ч.д.а. ГОСТ 3760-79

Буферный раствор pH-8,69 - готовят раствор смеси ортофосфорной к.ч. ГОСТ 6552-80 (2 Имл), уксусной к.ч. ГОСТ 18290-72 (2,3мл) и борной ч.д.а. ГОСТ 9656-75 (2,47) кислот и доводят дистиллированной водой ГОСТ 6709-72 до 1 л. Для получения буфера pH-8,69 к 100мл указанной смеси прибавляют 62,6мл 0,2м р-ра едкого натра, который готовят растворением 0,800г NaOH ч.д.а. ГОСТ 4328-77 в дистиллированной воде в мерной колбе ёмкостью 100мл.

Ферментный препарат готовят из свежей однократно замороженной печени крупного рогатого скота, которую можно использовать в течение 6 месяцев при дальнейшем ее хранении в холодильнике. 1г печени растирают в ступке с 9мл буферного раствора, фильтруют через вату и разбавляют полученную сыворотку (к 1мл сыворотки добавляют 4мл буферного раствора) и используют этот свежеприготовленный раствор для опрыскивания пластиночек.

Силикагель марки КСК ТУ 6-09-2523-72 дробленный и просеянный через сито 100меш

$\text{CaSiO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  ч.д.а. ГОСТ 3210-46 просушенный в сушильном шкафу при  $t = 160^\circ\text{C}$  в течение 6 часов

Хлорофилс к.ч. ГОСТ 19856-74

2.2.1. Стандартные растворы хлорофоса

Основной стандартный раствор хлорофоса <sup>(A)</sup> - 100мкг/мл (10 мг

химически чистого препарата /100%/ растворяют в 100мл ацетона); Рабочий стандартный раствор (Б) готовят разбавлением основного раствора "А" -1мл раствора "А" доводят в мерной колбе до 100мл ацетоном (содержание препарата составляет 1мкг/мл)

#### 2.2.2. Проявляющие реактивы

10мг индоксилацетата растворяют в 6мл этианола, прибавляют 6мл буферного раствора, 1мл раствора железосинеродистого калия и 1мл раствора железистосинеродистого калия. Проявляющий реагент готовят непосредственно перед опрыскиванием.

#### 2.2.3. Лекарственное растительное сырье

Лист белладонны ГФ X издания, ст.276.

Листья мяты перечной обмолоченные ГОСТ 23-768-79

#### 2.3. Приборы и посуда

Колбы конические плоскодонные на 250мл ГОСТ 10394-72

Колбы круглодонные на 250мл со шлифом ГОСТ 10394-72

Воронки делительные на 500мл ГОСТ 8613-75

Воронки стеклянные ГОСТ 8613-75

Колбы мерные на 100мл ГОСТ 1770-74

Цилиндры мерные ГОСТ 1770-74

Мерные пробирки со шлифом ГОСТ 1770-74 ем. 5-10мл

Эксикаторы ГОСТ 6371-73

Камера для хроматографирования

Стеклянные пластинки 9x12см

Пульверизаторы стеклянные

Компрессорная установка УК-40-2, МРТУ 64-1-2749-73

Микропипетки ГОСТ 1770-74

Испаритель ротационный ИР-ИМ ТУ -25-И-917-76

Аппарат для встряхивания марки АВУ-1 ТУ-64-1-24-51-72

Шкаф сушильный лабораторный ГОСТ 7365-55

Холодильники стеклянные лабораторные ГОСТ 9499-73

Шаровая мельница

#### 2.4. Подготовка к определению

##### 2.4.1. Приготовление пластинок

35г силикагеля КСК растирают с 2г гипса и 90мл воды дистиллированной до образования однородной массы. Состав указан на 12 пластинок. 10г суспензии наносят на пластинку и равномерно распределяют по поверхности. Сушат пластиинки в строго горизонтальном положении, хранят в эксикаторе.

##### 2.4.2. Отбор проб

Для проведения исследований отбирается средняя проба лекарственного растительного сырья весом 1 кг. Из каждой пробы для анализа методом квартования отбирается три навески по 10г.

#### 2.5. Проведение определения

##### 2.5.1. Экстракция

10г пробы помещают в колбу с притертой пробкой, заливают 80мл хлороформа и экстрагируют 1,5 часа на аппарате для встряхивания. Хлороформный экстракт отделяют от растительной массы через бумажный фильтр, фильтрат собирают в колбу. Растительную массу на фильтре трижды промывают хлороформом по 30мл. Промывные порции хлороформа объединяют с фильтратом и отгоняют досуха на водяной бане при температуре не более 40<sup>0</sup>С. Остаток не должен содержать хлороформа, после чего обрабатывают его 3-4 раза теплой водой дистиллированной по 15-20мл, фильтруют через бумажный фильтр

"синяя лента". Фильтрат собирают в делительную воронку. Из водного раствора хлорофос экстрагируют хлороформом трижды равным объемом. Хлороформные экстракты собирают вместе, сушат б/в сульфатом натрия, отфильтровывают, растворитель отгоняют до ~1мл. Переносят остаток в мерную пробирку с притертой пробкой, смывают хлороформом в колбу для отгонки и доводят объем экстракта в пробирке до 2мл и хорошо перемешивают.

### 2.5.2. Хроматографирование

Для уменьшения краевого эффекта с хроматографической пластиинки снимают с краев вдоль направления движения растворителя (со стороны 12см) по 2-3мм слой адсорбента. Затем пластиинку делят на 4 равные части. На 1-ую и 3-ю полосы на расстоянии 1,5см от нижнего края намосят по 5-10мкл стандартного раствора "Б", т.е. 5нг и 10нг хлорофоса, на 2-ю и 4-ю - 2мкл и 40мкл соответственно пробы. Пластиинку с нанесенными растворами помещают в хроматографическую камеру, в которую налита смесь ацетона с гексаном 1:1 за 30 минут до хроматографирования. Когда фронт растворителя поднимется на высоту 10см, пластиинку вынимают из камеры и дают растворителю испариться. Затем пластиинку опрыскивают разбавленным раствором аммиака (1 ч.аммиака + 4 ч.воды) до слабого увлажнения слоя. Экспозиция 15 минут при комнатной температуре. После активации и высушивания при комнатной температуре пластиинки обрабатывают свежеприготовленным ферментным раствором и выдерживают в течение 60 мин в насыщенном водными парами термостате при температуре 38°C (для увлажнения в сушильный шкаф ставят чашку Петри с водой). После инкубации пластиинки обрабатывают проявляющим реагентом и помещают в термостат при той же температуре. Хлорофос проявляется в течение 10мин., в виде

белых пятен на голубом фоне.  $Rf=0,34$

Чувствительность определения - 0,01 мкг на пластинке, что при навеске 10г и общем объеме экстракта 2 мл составляет 0,05 мг/кг. В случае необходимости чувствительность метода можно увеличить до 0,026мг/кг за счет уменьшения общего объема экстракта до 1мл.

## 2.6. Обработка результатов анализа.

Количественное определение проводят путем сравнения площадей пятен пробы и стандартов. Причем, если пятно меньшего объема пробы (2мкл) четко видно и приближается по площади к пятну стандарта 5мг, количественный расчет проводят по этому пятну пробы. Пропорциональная зависимость площади пятна от концентрации соблюдается в пределах от 10нг до 50нг.

Содержание препаратов в пробе (мг/кг) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot S_4 \cdot V}{S_1 \cdot V_1 \cdot P} \cdot 1000$$

$A$  - содержание препарата в стандарте, мкг

$S_4$  - площадь пятна стандарта,  $\text{мм}^2$

$S_1$  - площадь пятна пробы,  $\text{мм}^2$

$V$  - объем экстракта, нанесенного на пластинку, мкл

$V_1$  - общий объем экстракта, мл

$P$  - масса пробы, взятой для анализа, г

## 3.0. Требования безопасности.

Соблюдаются требования безопасности обычно рекомендуемые для работы с химическими реактивами и ФОС. Обработку пластинок индоксилацетатом следует проводить в вытяжном шкафу.

## 4.0. Настоящие методические указания разработаны

Имельменной М.В., ВНИИПТОКС, Киев/,

Кравченко Г.И., Горлачевой С.С. НИЛР, Москва/

## СОДЕРЖАНИЕ

### ХЛОРООРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

Стр.

1. Временные методические указания по определению ХОП (ДДТ, ДДЭ, ДДА, -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 ГХХ.	12
3. Временные методические указания по определению остаточных количеств митрана в воде, сливах и яблоках методом ТСХ.	23
 ФОСФОРОГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ	
1. Методические указания по определению афоса в воздухе рабочей зоны методами ГХХ и ТСХ.	29
2. Временные методические указания по определению болстара в ботве и клубнях картофеля, листьях и стеблях хлопчатника, капусте, почве и воде ТСХ и ГХХ.	36
3. Методические указания по определению глифосата и его метаболита - аминометилбензойной кислоты методом хроматографии в воде, почве, растительном материале.	46
4. Методические указания по определению остаточных количеств дуробана 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 метилмеркаптофоса в воде, почве, винограде и зеленой массе хмеля ГЖХ и ТСХ.	67
7.	Временные методические указания по определению обунака методами ГЖХ и ТСХ в почве, растениях, воде водоемов.	76
8.	Временные методические указания по определению протиофоса в растительном материале, почве и воде методами ГЖХ и ТСХ.	82
9.	Временные методические указания по определению селекрона в растительной продукции, почве и воде ТСХ и ГЖХ.	91
10.	Временные методические указания по определению хлорофоса энзимно-хроматографическим методом в листьях белладонны и траве мяты перечной.	98
11.	Методические указания по определению в зерне и продуктах его переработки ФОП, применяемых для обеззараживания зерна и зернохранилищ, хроматографическими методами.	105

#### АЗОТСОДЕРЖАНИЕ ПЕСТИЦИДОВ

1.	Методические указания по определению остаточных количеств 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 ровраля методом ТСХ в воде, почве, томатах, картофеле, винограде, виноградном соке и вине. | 168 |
| 7. Временные методические указания ронилана в растительной продукции, почве и воде ТСХ и ГХХ.  | 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 ГХХ 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 ГХХ.   | 211 |
| 4. Временные методические указания по хроматографическому определению изатрина в почве и воде.  | 217 |

5. Временные методические указания по определению остаточного методами ГЖХ и ТСХ в почве, в воде и растениях.	224
6. Методические указания по определению хлората маргания в почве, воде, растениях (подсолнечнике, лука) и в воздухе полярографическим и хроматографическим (ТСХ) методами.	230
7. Временные методические указания по определению остаточных количеств некоторых аналогов ивенильного горючона (алтосида, алтозара и п-бромфенилового эфира гераниола) в растениях картофеля и почве методами ТСХ и ГЖХ.	247
Дополнения	258

Л- 71958 от 20.1.83 г. Тираж 2000 экз., заказ № 1873  
Типография ВАСХНИЛ