

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

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ПЕСТЬ-
ЦИДОВ 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

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.

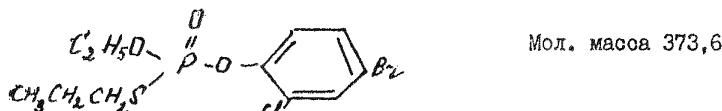
УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Главного Государственного
санитарного врача СССР

А.И.Заиченко

22 октября 1981 г.
№ 2467-81

ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ СЕЛЕКРОНА В РАСТИТЕЛЬНОЙ ПРОДУКЦИИ,
ПОЧВЕ И ВОДЕ ТОНКОСЛОЙНОЙ И ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ.

I. Краткая характеристика препарата
Селекрон - 0-этил-0-(2-хлор-4-бромфенил)- γ -пропилфосфат (поликром, куракрон).



Химически чистое соединение - светло-желтая жидкость, с температурой кипения 100°С. Растворимость в воде 20 мг/л. Хорошо растворяется в метаноле, метиленхлориде, бензоле, гексане, хлороформе.

Препарат среднетоксичен для теплокровных животных. LD₅₀ при оральном введении составляет 300 мг/кг.

Выпускается в форме 50%-ного концентратса эмульсии и 3%-ных гранул.

2. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ СЕЛЕКРОНА

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Метод основан на извлечении селекрона из растительных проб, почвы и воды органическим растворителем (акетон, метанол, н-гексан), очистке экстракта путем вымораживания вооков или колоночной хроматографией. Количественное определение проводят хроматографическими в тонком слое или газожидкостными методами.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода.

	ТСХ	ГЖХ
Минимальное детектируемое количество	1-2 мкг	1-2 нг
Нижний предел определения	0,02 мг/кг	0,001 мг/кг
P - размах варьирования, % в растениях	86,0-91,5	86,0-91,5
в почве	92,5-97,5	92,5-97,5
C - среднее значение определения, %		
в растениях	85,5	85,5
в почве	95,0	95,0
C - стандартное отклонение, %		
в растениях	85,5	85,5
в почве	95,0	95,0
C - стандартное отклонение, %		
в растениях	2,5	2,5
в почве	2,5	2,5
Доверительный интервал среднего при Р=95	$\alpha = 5$	
для растений	$85,5 \pm 2,5$	
для почв	$95,5 \pm 2,5$	

2.1.3. Избирательность метода

Метод специфичен, другие фосфорорганические соединения в дачных условиях хроматографирования определению не мешают.

2.2. Реактивы и растворы.

- Натрий хлористый х.ч., ГОСТ 4233-77
Ацетон х.ч., ГОСТ 2603-79
Оксись алюминия, ч ТУ 6-09-3916-81
n-Гексан, х.ч., ТУ 6-09-3375-78
Хлороформ, х.ч., ТУ 6-09-4263-81
Серебро азотнокислое, х.ч., ГОСТ 1277-81
Метанол, х.ч., ТУ 6-09-1709-77
Натрий сернокислый, без юодий, х.ч., ГОСТ 4166-76
Бензол ч.л.а., ГОСТ 5956-81
Аммиак, ТУ 6-09-1709-77
5% С-30 на хроматоне NAP-ДМС (ЧОСР)
Кислота о-тетрафторная, ч., ГОСТ 6552-80
Хлористый метилен, ч.л.а., ТУ 6-09-3716-74
Аммоний хлористый, х.ч., ГОСТ 3073-81

Уголь активированный

Кислота соляная, х.ч., ГОСТ 3118-77

Азот особой чистоты в баллонах с редуктором ГОСТ 9293-59

ОУ-225, нанесенный в количестве 3% на газ-хром \varnothing (0,15-0,18 мм)

Водород в баллонах с редуктором ГОСТ 3022-70

Силикагель для хроматографии 4 ГОСТ/Г60 (ЧССР)

Стандартный раствор селекрона с содержанием 10 и 100 мкг препарата в н-гексане или ацетоне

Метилсиликон ХЕ-60, нанесенный в количестве 5% на силанизированный хроматон $N - AW$ (0,2-25 мм) (ЧССР)

Проявляющий реагент 0,5 г азотнокислого серебра растворяют в 5 мл дистиллированной воды, прибавляют 7 мл аммиака и доводят до 100 мл ацетоном.

Осаждающий раствор. 5 г хлористого аммония растворяют в 100 мл дистиллированной воды, смешивают с 10 мл 85%-ной ортофосфорной кислоты и доводят водой до одного литра.

2.3. Посуда и приборы.

Аппарат для встряхивания АВУ-1, ТУ-64-1-1081-73

Испаритель ротационный ИР-1М, ТУ 25-II-917-74

Воронка делительная ВД-3-250, ГОСТ 8613-75

Сушильный шкаф

Стаканы химические на 100 и 250 мл ГОСТ 10394-74

Хроматографическая камера

Камера для опрыскивания

Опрыскиватель стеклянный

Колбы конические нормального шлифа ГОСТ 10394-72

Колбы остродонные ОНТ-50-14/32 ТС, ГОСТ 10394-72

Колбы мерные 100 мл ГОСТ 1770-74

Пластинки

Воронки химические ГОСТ 8613-75

Микропипетки 0,1 мл, 0,2 мл ГОСТ 20292-74

Прибор для облучения УФ-светом с лампой ПРК-4, любого типа

Газовый хроматограф "Цвет 10б" с термоионным детектором

Микрошлипци на 10 мкл МШ-10

Колонки хроматографические, стеклянные длиной 100 мм и внутренним диаметром 3 мм

Колонка для адсорбционной хроматографии 50 x 15 мм

Секундомер

Стекловата
Бумажные фильтры
Хомодильник "ЗИЛ" или другой марки

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Подготовка колонки для адсорбционной хроматографии

- №1. В адсорбционную колонку помещают небольшой тампон из стекловаты, затем 7 г силикагеля и сверху 7 г безводного сернокислого натрия. Колонку предварительно промывают 50 мл бензола.
- № 2. Можно использовать и другую колонку, которую заполняют следующим образом. Снизу помещают кусочек стеклоткани, затем слой безводного сернокислого натрия (2 см), далее окись алюминия второй степени активности (2 см), слой активированного угля (1,0 - 1,5 см) и слоев безводный сернокислый натрий. Через подготовленную колонку пропускают 30 мл н-гексана.
- Подготовка хроматографической колонки для ГХ.
- Колонка заполняется общепринятым хроматографии способом, предварительно в течение 48 часов продувается азотом при температуре 250⁰С

2.4.2. Отбор и подготовка 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 21.08.1979 г. № 2051-79.

2.5. Проведение определения.

2.5.1. Экстракция и очистка экстрактов.

Вода. 200 мл воды помещают в делительную воронку, прибавляют 10 г хлористого натрия. Экстракцию селектроном проводят хлороформом (н-гексаном) трижды по три минуты, порциями по 50 мл.

Экстрат объединяют, сушат над безводным сернокислым натрием и отгоняют досуха на ротационной испарителе при температуре 40⁰С.

Песчано-растительный материал. Из 50 г воздушноухой почвы, подкисленной 10 мл 0,1оляной кислоты или измельченного растительного материала (капуста, яблоки, зерно, сахарная свекла, томаты, виноград) селектрон экотрагируют тремя порциями ацетона, метанола или гексана по 50 мл в течение 30 минут.

Объединенный гексановый экстракт сушат безводным сернокислым натрием и концентрируют на ротационном испарителе до объема 0,2-0,3 мл. Остаток удаляют в токе воздуха.

метанольный или ацетоновый экстракты объединяют и концентрируют до 200 мл при температуре воды 35-40°C. К сконцентрированному раствору прибавляют 10 мл насыщенного раствора хлористого натрия и 50 мл дистиллированной воды. Из водно-ацетоновой или водно-метанольной смеси препарат экстрагируют тремя порциями хлороформа или хлористого метилена по 50 мл. Экстракты объединяют, сушат над безводным сернокислым натрием и отгоняют досуха при температуре воды 35-40°C.

2.5.2. Очистка экстракта. Сухой остаток из зерна, капусты, корней сахарной свеклы растворяют в 5 мл охлажденного ацетона. В колбу приливают 5 мл дистиллированной воды и 25-30 мл осаждающего раствора. Колбу на 40 минут помещают в холодильник. После охлаждения содержимое колбы отфильтровывают через плотный бумажный фильтр. Из водно-ацетонового раствора селекрон экстрагируют тремя порциями н-гексана по 40 мл, в течение 3-х минут. Объединенный гексановый экстракт сушат над безводным сернокислым натрием и концентрируют на ротационном испарителе до 0,2-0,3 мл. Остаток удаляют в токе воздуха.

Пробы из почвы, томатов, винограда, яблок очищают на хроматографической колонке №1. Остаток переносят с помощью 25 мл бензола (5 х 5 мл). Коэкстрактивные вещества вымывают из колонки 50 мл бензола. Препарат элюируют 100 мл смеси бензол:ацетон (9:1). Растворитель упаривают досуха. Очистку из зеленой массы проводят на хроматографической колонке №2. Сухой остаток растворяют в 5 мл гексана и переносят на колонку после чего приливают 20 мл н-гексана. Гексан отбрасывают. Затем через колонку пропускают 75 мл хлороформа, который концентрируют затем на ротационном испарителе до объема 0,2-0,3 мл. Остаток удаляют в токе воздуха.

2.5.4. Условия определения тонкослойной хроматографией. Сухой остаток растворяют в 0,2-0,3 мл н-гексана, который с помощью микропипетки наносят на пластинку "Silicel" на расстоянии 2 см от нижнего края. Стенки колбы тщательно смывают несколькими каплями того же растворителя, который наносят в центр пятна. Параллельно наносят ряд стандартных растворов пестицида. Пятна должны быть диаметром не более 0,5 см. Хроматографические пластинки ста-

вят в камеру для хроматографирования с системой подвижных растворителей гексан:ацетон, в соотношении 2:1, по объему. После подъема фронта подвижного растворителя на высоту 10 см, пластиинку вынимают из камеры, сушат на воздухе и помещают на 5 минут под источник УФ-света. После этого ее опрыскивают проявляющим реагентом и снова облучают УФ-светом до четкого проявления пятен препарата, которые имеют темно-серую окраску. Величина R_f селекрона в данных условиях хроматографирования равна 0,53-0,57.

Содержание препарата в исследуемой пробе вычисляют по формуле

$$X = \frac{A}{P} ;$$

где X - содержание препарата в пробе мг/кг; мг/мл
A - количество препарата, найденное в пробе, мкг
P - наческа исследуемой пробы. г; мл.

2.5.3. Условия определения газо-жидкостной хроматографии.

Сухой остаток растворяют в 5-10 мл ацетона или н-гексана, и хроматографируют ыликовту (2-5 мкл).

Условия хроматографирования:

Хроматограф "Цвет-106" или аналогичный прибор с термоионным детектором.

Температурный режим колонки 190°C, испарителя 225°C.

Скорость газа-носителя (азот) - 45 мл/мин, воздуха 500 мл/мин, 30 мл/мин.

Рабочая шкала электрометра 50 $\times 10^{-12}$ а.

Скорость диаграммной ленты 240 мм/час.

Стеклянная хроматографическая колонка размером 1000 x 3 мм с ОУ-225, нанесенной в количестве 3% на газ-хром Q . В качестве альтернативной колонки - ХЕ-60, нанесенный в количестве 5% на силанизированный хроматон.

Линейность делектирования на ОУ-225 1-100 нг, на ХЕ-60 - 2-130 нг.

Время удержания селекрона на ОУ-225 7¹47¹¹; ХЕ-60 - 4¹56¹¹;

Можно использовать также хроматографическую колонку с 5% Е-30 на хроматоне $\text{N}-\text{AW-DMCS}'$.

Температура колонки 185°C; детектора - 200°C; испарителя - 220°C.

Расход газов: азота - 25 мл/мин; водорода - 17-20 мл/мин; воздуха - 300 мл/мин. Шкала электрометра IX 10^{-10} . Скорость движения ленты самописца - 200 мм/час.

Время удержания селекрона - $7I_{45}II$.

2.6. Обработка результатов анализа.

Содержание препарата в пробе определяют методом соотношения со стандартом по площади пика по формуле:

$$X = \frac{C \cdot S_1 \cdot V_1}{S_2 \cdot V_2 \cdot P \cdot 1000}$$

где X - количество препарата в пробе, мг/л или мг/кг;

C - концентрация стандартного раствора д.в. препарата, мкг/мл;

S_1 - площадь пика стандартного раствора препарата, введенного в хроматограф, мм^2 ;

S_2 - площадь пика д.в. препарата в пробе, мм^2 ;

V_1 - объем стандартного раствора, введенного в хроматограф, мкл;

V_2 - объем экстракта, введенного в хроматограф, мкл;

P - общий объем экстракта после упаривания, мкл;

P - навеска анализируемой растительной пробы и почвы, г или объем анализируемой воды, мл;

1000 - коэффициент для перехода от мкг к мг.

2.7. Требования безопасности

При проведении исследований по вышеизложенной методике соблюдать правила предосторожности, необходимые при работе с ядовитыми, взрывоопасными и легковоспламеняющимися веществами.

3. Методические указания подготовлены:

1. Бунягин Юрий Андреевич, Петросян Маргарита Суреновна - Армянский филиал ВНИИГИТОКСа
2. Красных Александр Алексеевич, Павлова Людмила Григорьевна, Логачев Владимир Федорович - Всероссийский НИИ зоологии растений, Рамонь Воронежской области.

С О Д Е Р Ж А Н И Е

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 ГЖХ.	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 ГЖХ и ТСХ.	29
2. Временные методические указания по определению болистара в ботве и клубнях картофеля, листьях и стеблях хлопчатника, капусте, почве и воде ТСХ и ГЖХ.	36
3. Методические указания по определению глифосата и его метаболита - аминометилбензойновой 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 каунтара 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 ПЕСТИЦИДЫ

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 ГЖХ. | 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 ГЖХ 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 ГЖХ. | 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 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 юенильного 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