

ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ  
ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ,  
БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОСНАМИ 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  
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, агрохимических, 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.

**"УТВЕРЖДАЮ"**  
**ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО САНИТАРНОГО ВРАЧА СССР**

А.И.ЗАИЧЕНКО

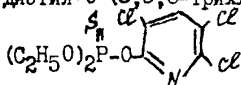
19 октября 1979г      № 2097-79

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ  
ДУРСБАНА В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ, ПОЧВЕ И ВОДЕ ТОНКОСЛОИСТОЙ  
И ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ**

I. Краткая характеристика препарата

Дурсбан

0,0-диэтил-0-(3,5,6-трихлорпиридил)тиофосфат



$C_9H_{11}O_3NCl_3P$

Мол. масса 350,59

Дауко 179, БНТ 27311, хлорпирифос

Чистое вещество дурсбана - белые кристаллы со слабым запахом меркаптана. Давление пара  $1,9 \cdot 10^{-5}$  мм рт. ст. при  $25^\circ C$ . Растворимость в воде 0,0002 г в 100 мл. Хорошо растворим в большинстве органических растворителях.

Инсектицид стабилен длительный период при комнатной температуре в нейтральной и слабокислой среде. Скорость химического распада увеличивается пропорционально повышению температуры и pH.

Устойчивость к воздействию УФ-света снижается при повышении влажности. Дурсбан 40% э.к. рекомендуется для испытаний на хлопчатнике против хлопковой совки, карадрины и сосущих вредителей (1,5-2,0 кг/га)

в борьбе с колорадским жуком на картофеле (1,2-2,0 кг/га) на плодовых культурах против яблонной плодовой гнили, клещей и тлей в концентрации 0,2%, на свекле в борьбе с обыкновенным свекловичным долгоносиком в дозировке 1,5-2,0 кг/га.

Гранулированный дурсбан представляет интерес в борьбе с подгрызающими совками на табаке, хлопчатнике, а также с проволочниками на кукурузе, картофеле.

Дурсбан высокотоксичен для теплокровных.  $LD_{50}$  для крыс при оральном введении - 135 - 163 мг/кг.

ПДд и ДОК дурсбана в продуктах питания, воде и почве еще не установлены.

## 2. Методика определения дурсбана

### 2.1. Основные положения

#### 2.1.1. Принцип метода

Метод основан на экстракции дурсбана из проб смесью ацетона с 0,05 н водным раствором хлорида кальция (1:1), очистке переразделением в н-гексан и хроматографическом (ТСХ и ГЖХ) определении.

Хроматографическое в тонком слое определение проводится на пластинках со слоем силикагеля марки КСК или на "Силуфол - UV 254". Хроматографируют в системе н-гексан-ацетон (9:1), проявляют пластинки 2,6-дибром-N-хлорхинонимином или другими пригодными для фосфорорганических инсектицидов проявителями.

Для газохроматографического определения используют детекторы ДИ, по захвату электронов (ДЭЗ) или постоянной скорости рекомбинации (ДПР), колонка стеклянная с 5% S E-30 на хроматоне N- AW-DMC, длиной 1 м.

#### 2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Минимально детектируемое количество	ТСХ 0,5 - 3 мкг	ГЖХ 1 нг
-------------------------------------	--------------------	-------------

	ТСХ	ГЖХ
Нижний предел определения	0,1-0,5 мг/кг 0,1 мг/л	0,005-0,01 мг/кг 0,002 мг/л
R размах варьирования, %	± 4,0	± 4,0
$\bar{x}$ среднее значение определения, %	96,4%	96,4%
S стандартное отклонение, %	3,3	3,3
Доверительный интервал среднего при $p=0,95$ и $n=5$ , %	96±4	96±4

### 2.1.3. Избирательность метода

Другие ФОП не мешают определению.

### 2.2. Реактивы и растворы

Ацетон, ч. ГОСТ 2603-63

Гексан, х.ч., МРТУ 6-09-2937-66

Кальций хлористый, х.ч., ГОСТ 4161-67

Натрий сернохлоридный безводный, ч.д.а., ГОСТ 4166-66

Уголь активированный марки КАД или ОУ-А

Силикагель КСК с флуоресцирующей добавкой или пластинки  
"Силуфол ИУ-254"

Оксид алюминия для хроматографии МРТУ 6-09-5296-68-4

5% S E-30 на хроматоне N-AW-DMC S (0,16-0,20)

Проявляющие реактивы:

- 0,5%-ный раствор 2,6-дибром-N-хлорхинонимина в гексане
- 1%-ный раствор 4-(p-нитробензил)пиридина в ацетоне;  
10%-ный раствор тетраэтиленпентамина в ацетоне
- Бромфеноловый синий (0,03 г бромфенолового синего растворяют в 10 мл ацетона, затем смесь разбавляют до 100 мл 0,5%-ным водно-ацетоновым раствором азотнокислого серебра /1 ч. воды: 3 ч. ацетона/); 5%-ный раствор уксусной кислоты

Азот особой чистоты

Стандартные растворы дурсбана: 0,1 - 1,0 мкг/мл в гексане

2% полиэтиленгликольсукцинат на хроматоне N-AW-DMC S (0,16-0,20 мм.  
( для альтернативной колонки).

Водород

### 2.3. Приборы и посуда

Хроматограф Цвет-106 или аналогичный прибор с детектором термоионным или по захвату электронов (постоянной скорости рекомбинации)

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 250-500 мл

Колбы круглодонные на 100 - 500 мл

Делительные воронки на 0,5 -1,0 л

Колбы мерные на 100 мл

Колонки для адсорбционной хроматографии длиной 30 см, внутренним диаметром 10 мм

Хроматографическая камера

Камера для опрыскивания хроматограмм

Пульверизаторы

Пипетки на 0,1 мл, 1 мл, 5 мл, 10 мл

Почвенное сито

Микрошприц на 10 мкл

Центрифуга с центрифужными пробирками на 100 мл

Цилиндры мерные с притертой пробкой на 50 мл

### 2.4. Отбор проб и подготовка их к анализу

**Растительную пробу (картофель, лук, яблоки, сено, сляос и листья зеленых растений, в том числе хлопчатника)**

измельчают ножом на кусочки  $0,5 \text{ см}^3$  и отбирают среднюю пробу 25 г.

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

Проба воды - 100 мл.

### 2.5 Проведение определения

Анализируемые навески помещают в конические колбы, пробы воды - в делительные воронки, куда добавляют по 5 г хлористого кальция.

Из растений дурсбан экстрагируют смесью ацетона с водой (1:1) трижды по 40-50 мл, из почвы - 50 мл смеси ацетона с 0,05 н водным раствором хлористого кальция (1:1). К пробам воды в делительные воронки добавляют равный объем ацетона. Экстракцию инсектицида из проб производят с помощью механического встряхивания в течение 30 мин (для воды и растений) или 1-1,5 час. для почвы при комнатной температуре. Далее пробы центрифугируют при 3000 об/мин (центрифугование можно заменить фильтрованием). Объединенные экстракты из растительных проб, а также пробы воды охлаждают в холодильнике или в смеси льда с солью. Выпавший осадок отфильтровывают. Объем центрифугата (фильтрата) измеряют и количественно переносят (весь или aliquотную часть) в делительную воронку, куда приливают n-гексан в количестве, составляющем меньше половины объема, находящегося там центрифугата, взбалтывают 3-5 мин. После расслоения жидкостей, нижний водно-ацетоновый слой сливают в другую делительную воронку, а гексан-ацетоновую фракцию собирают в коническую колбу на 100 мл. Реэкстракцию гексаном проводят еще два раза. Объединенную гексан-ацетоновую смесь сушат над безводным сульфатом натрия и количественно переносят в колбу для отгона растворителей (слить гексановую фракцию можно путем фильтрования через безводный сернокислый натрий). Растворитель выпаривают на ротационном испарителе досуха при температуре не выше 40°C. Дальнейшее определение проводят хроматографическими методами.

В некоторых случаях для растительных проб требуется еще дополнительная очистка. С этой целью применяют колоночную хроматографию, а именно, пробу, сконцентрированную до 3-5 мл вносят в колонку (30 см x 1,5 см), заполненную слоем сернокислого натрия (2-3 см), смеси алюминия (3 см), активированного угля ИАД-модель или СВ-1



(3 см) и снова безводного сернокислого натрия (1 см). Предварительно через колонку пропускают 30-40 мл хлороформа для уменьшения сорбционной емкости. Из колонки дурсбан элюируют 100 мл хлороформа. Хлороформ удаляют под вакуумом, остаток растворяют в гексане и определяют количество инсектицида хроматографическими методами.

#### 2.5.1 Методы аналитического определения

Проба с помощью капилляра или микропипетки наносится на хроматографическую пластинку со слоем силикагеля или на "Силуфол". Параллельно на пластинку наносят серию стандартных растворов с содержанием 1, 5 и 10 мкг дурсбана. Хроматографируют в системе гексан-ацетон (9:1). Когда фронт растворителя поднимется от линии старта на 10 см, пластинку вынимают, проветривают и опрыскивают одним из проявляющих реагентов:

1. Хроматограмму опрыскивают 0,5%-ным раствором 2,6-дибром-~~н~~-хлорхинонимина в гексане, затем нагревают в течение 5-7 мин в термостате при 110°. Дурсбан проявляется в виде оранжевых пятен на светлом фоне. Нижний предел обнаружения 0,5 мкг;

2. Хроматограмму опрыскивают 1%-ным раствором 4-(p-нитробензил)-пиридина, нагревают в термостате 3-5 мин при 110°, затем снова опрыскивают 10%-ным раствором тетраэтиленпентамина в ацетоне. Дурсбан проявляется в виде сине-фиолетовых пятен на светлом фоне. Нижний предел обнаружения 0,5 мкг.

3. Хроматограмму опрыскивают бромфеноловым реагентом с последующим снятием фона обработкой пластинки 5%-ным раствором уксусной кислоты. На пластинке проявляются сине-фиолетовые пятна дурсбана на светло-желтом фоне. Нижний предел обнаружения 3 мкг.

Пластинки со слоем силикагеля, в которых внесен флуоресцирующий краситель, или "Силуфол-UV 254" можно без проявления просматривать в хемоскопе. Инсектицид определяют по тусклому флуоресценции. Нижний предел обнаружения 1 мкг.

Rf для дурсбана в указанной системе растворителей на "Силу-фол" 0,65.

Содержание дурсбана в пробе вычисляют по формуле:

$$C = \frac{C_{\text{пр}}}{A}, \text{ где}$$

C<sub>пр</sub> - количество препарата, найденное по хроматограмме при сравнении со стандартами, мкг;

A - навеска исследуемой пробы в мг или объем воды в мл;

C - содержание дурсбана в пробе : кг/кг или мг/л.

#### Условия определения газожидкостной хроматографией

После отгонки растворителя к сухому остатку добавляют 1-2 мл гексана, колбу закрывают пробкой, тщательно обмывают внутреннюю поверхность колбы. Аликвотную часть раствора (2-5 мкл) вводят в испаритель хроматографа.

Для количественного определения дурсбана используют хроматограф Цвет 106 или другой модели с детекторами ДТИ или ДЭЗ (ДПР), колонки стеклянные (1000 x 3 мм), заполненные 5% E-30 на хроматононе AW-ДМС (0,16-0,20 мм). Температура испарителя 220° (для ДЭЗ) или 250° (для ДТИ), температура колонки 190° (для ДЭЗ) или 210° (для ДТИ), температура детектора 220° (для ДЭЗ). Скорость газа-носителя при работе на ДЭЗ (ДПР) 60 мл/мин, продув детектора 150 мл/мин; скорости газов при работе на ДТИ - азота 21 мл/мин, водорода 15 мл/мин, воздуха 420 мл/мин. Рабочая шкала электрометра 1 x 10<sup>-10</sup> **Скорость** движения ленты самописца 240 мм/час (при работе на ДЭЗ) или 600 мм/час (при работе на ДТИ).

Время удерживания дурсбана в указанных условиях работы ДЭЗ (ДПР) 3 мин 5 с или в указанных условиях работы ДТИ 6 мин. 20 сек.

Количество дурсбана в пробе проводят методом соотношения со стандартами по высоте пиков.

В хроматограф вводят 2 мкл рабочего раствора. Линейность де-

тектирования сохраняется в пределах 1-20 нг.

2.6 Содержание дурсбана в анализируемой пробе вычисляют по формуле:

$$C = \frac{H_{\text{пр}} \cdot C_{\text{ст}} \cdot U}{H_{\text{ст}} \cdot U_a \cdot A}, \text{ где}$$

$C$  - содержание дурсбана в анализируемой пробе мг/кг (мг/л);

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

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

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

$U_a$  - объем аликвоты, вводимой в хроматограф, мкл (2 мкл);

$U$  - общий объем рабочего раствора, 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.

В качестве альтернативной колонки можно использовать стеклянную колонку длиной 2 м и внутренним диаметром 3 мм, заполненную хроматоном  $N AW-DMC_5$  (0,16-0,20 мм) с 2% полидиэтиленгликольсукцинатом.

#### Требования безопасности

Общепринятые требования безопасности при работе с горючими растворителями и фосфорорганическими пестицидами.

#### АВТОРЫ

Петрова Т.М., Андреев Ю.Б. - Всесоюзный научно-исследовательский институт защиты растений, Ленинград.

## СО Д Е Р Ж А Н И Е

Стр.

### Хлорсодержащие пестициды

1. Методические указания по определению неорона 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

### Фосфорсодержащие пестициды

1. Методические указания по определению остаточных количеств вольфсона 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 дуробана 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 динитрооксона в зерне и продуктах переработки зерна хромато-эпизимом и газохроматографическим методом . . . . . 84

	Стр.
6. Методические указания по определению остаточных количеств рицида "П" в рисе и воде газожидкостной хроматографией . . . . .	93
7. Методические указания по определению метилнитрофоса, фенилнитрооксона и п-нитрокрезола 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

I. Производные мочевины, гуанидина, дитиокарбаминовой кислоты, анилиды карбоновых кислот, нитропроизводные, дитиокарбаты

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 малорана 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 тендкса в воде и почве . . . . .	136
5. Методические указания по определению ФДН (N,N'-диметил-N-(3-хлорфенил)-гуанидина) в огурцах и воде методом тонкослойной хроматографии . . . . .	139
6. Методические указания по определению дитена М-45 в продуктах питания растительного происхождения и воде . . . . .	149

II. Гетероциклические соединения

7. Методические указания по определению базаграна в воде, почве, зерне и растительном материале . . . . .	152
---	-----

	Стр.
8. Методические указания по определению фунгицида байлетона методом ТСХ в почве, корнях, зеленых листьях, плодах томатов и огурцов . . . . .	159
9. Методические указания по газожидкостно-хроматографическому определению бентазона в почве и растениях . . . . .	166
10. Методические указания по определению диквата в семенах подсолнечника и масле из семян подсолнечника спектрофотометрическим методом . . . . .	174
11. Методические указания по определению метазина в воде, почве, овощах и биологическом материале методом хроматографии в тонком слое сорбента . . . . .	181
12. Методические указания по определению остаточных количеств симм-триазиновых гербицидов (симезина, атразина, пропазина, прометрина, семазона, мезорантала, метазина, метопротрина) в почве газожидкостной хроматографией . . . . .	188
13. Методические указания по определению котофора в семенах хлопчатника методом хроматографии в тонком слое . . . . .	198
14. Методические указания по определению ронстарга (оксидизона) в рисе методами газовой и тонкослойной хроматографии . . . . .	205
15. Методические указания по определению тагигагена 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 трифторина в воде . . . . .	220
18. Методические указания по определению остаточных количеств текто(тиабендазола) в картофеле и свекле тонкослойной хроматографией . . . . .	227
19. Методические указания по определению остаточных количеств феназона в почве, воде, свекле и растительных объектах газожидкостной хроматографией . . . . .	234

### Прочие пестициды

1. Методические указания по определению остаточных количеств хлората магния полярографическим методом ... 243
2. Методические указания по определению нортрона в воде, черноземной почве и сахарной свекле ..... 248
3. Методические указания по определению содержания общей ртути в рче, 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 вируса ядерного полиэдроза капустной совки на растительных объектах иммунофлюоресцентным методом ..... 280

### Дополнения

1. Хроматографическое определение микроколичеств гропанида, линурона, монолинурана и их метаболитов в воде, почве и растительном материале ..... 289
2. Методические указания по определению актеллика растительной продукции, почве и воде ..... 296