

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
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.

"Утверждено"

Заместитель Главного Государственного санитарного врача СССР

А.И. Заиченко

" 19 октября 1979г

1979081 -79

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ГЕТЕРОФОСА В
ОВОЩНЫХ КУЛЬТУРАХ, ПОЧВЕ, ВОДЕ И ВОЗДУХЕ МЕТОДАМИ
ТОНКОСЛОЙНОЙ И ГАЗО-ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

1. Краткая характеристика препарата

Гетерофос - новый отечественный нематитцид и почвенный инсектицид, разработанный и синтезированный во ВНИИ химических средств защиты растений. Препарат рекомендуется к использованию для борьбы с вредителями картофеля, кукурузы, томатов, огурцов и др. главным образом путем внесения в почву в виде гранул.

Действующее вещество - бесцветная жидкость со специфическим запахом, температура кипения 120 °С при 0,3 мм рт.ст., $d_4^{20} = 1,143$. Хорошо растворим в алифатических и ароматических углеводородах, спиртах, ацетоне, хлорсодержащих растворителях.

Структурная формула
$$\begin{array}{c} C_1 H_5 O \\ \diagdown \\ C_6 H_5 O - P = O \\ \diagup \\ S C_3 H_7 \end{array}$$

Химическое название: 0-этил-0-фенил-5-пропилтиофосфат.

Гетерофос высокотоксичен для теплокровных - ЛД₅₀ ≈ 30-60 мг/кг.

ПДК в воздухе, воде и ДОК в пищевых продуктах не установлены.

Основная примесь, присутствующая в техническом продукте - 0-метил-0-этил-5-пропилтиофосфат.

2. Методика определения гетерофоса в растительных пробах, почве, воде и воздухе.

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Метод основан на извлечении препарата и его примеси органическими растворителями: гексаном - из воды, ацетоном с последующим перераспределением в гексан - из растительных проб и почвы; улавливание пестицида из воздуха производят с помощью пенополиуретана с последующей экстракцией гексаном из поглотителя. Идентификацию и количественное определение проводят с помощью ТСХ на пластинках "Силуфол" или методом ГЖХ с ТИД.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода.

Нижний предел определения составляет для метода ТСХ - 0,05 мг/кг в почве и овощах, 0,002 мг/л в воде, 0,02 мг/м³ в воздухе. При использовании метода ГЖХ чувствительность /нижний предел определения/ : повышается в 10 раз.

Минимально определяемые количества в пробе - 0,5 мкг гетерофоса, 1 мкг примеси /ТСХ/ и 0,2 нг гетерофоса, 0,5 нг примеси /ГЖХ/.

Процент определения гетерофоса в почве и овощах - 75-85%, в воде - 93-98%.

Доверительный интервал /при $\alpha = 0,95$, $n = 5$ / не более $\pm 5\%$.

2.1.3. Избирательность метода.

Другие фосфорорганические пестициды, применяемые на тех же культурах и вредителях, не мешают определению.

2.2. Реактивы и растворы.

Ацетон осч ТУ 6-09-3513-75

Гексан ТУ 6-09-3375-73

Натрий сернокислый безводный чда

Носитель для газовой хроматографии хроматон *N·AW 2/MS*
/0,16-0,20 мм/ с 5% ХВ-60 или 5% SE-30

Стандартные растворы гетерофоса и 0-метил-0-этил-S-пропилтиофосфата в ацетоне концентрацией 1 мг/мл /хранят в холодильнике в плотно закрытой колбе/. Срок хранения - 2 мес.

Проводящий реактив для ТСХ: 50 мг бромфенолового синего растворяют в 10 мл ацетона и доводят до 100 мл 1%-ным водно-ацетоновым раствором азотнокислого серебра /ацетон:вода, 3:1/

5%-ный раствор лимонной кислоты в дистиллированной воде.
Срок хранения - 2 дня.

2.3. Приборы и посуда.

Хроматограф газовый "Газохром" ИЮБ Т или любой другой с термодионным детектором

Генератор водорода

Аспирационное устройство для протягивания воздуха через поглотитель

Микрошприцы на 10 мкл

Пластинки для ТСХ "Силуфол" /ЧССР/, промытые ацетоном и высушенные при 120°C в течение 2 час. /хранят в эксикаторе/

Прибор для отгонки растворителей /ротационный вакуумный испаритель РИ-1/

Аппарат для встряхивания

Хроматографическая колонка стеклянная длиной 1 м, внутренним диаметром 4 мм. Черед работой заполненная носителем колонка продувается при температуре 220°C в течение 20 час.

Аллонж стеклянные

Мерные колбы на 100 мл

Колбы плоскодонные с притрифованными пробками на 250 мл

Делительные воронки на 250 и 500 мл

Колбы круглодонные на 50 и 100 мл

Пульверизаторы стеклянные

Камера для хроматографирования /стеклянный сосуд с притрифованным стеклом/

Стеклянные капилляры или микропипетки для нанесения проб на пластинку

Воронки химические

Цилиндры мерные

Фильтры АФА-В-18

2.4 Подготовка к определению

Воздух со скоростью 3 л/мин. протягивают в течение 15-20 мин. через аллонж, заполненный последовательно 2-3 фильтрами АФА-В-18 /для улавливания пыли, содержащей пестицид/ и пробкой из пенополиуретана, которому готовят следующим образом: вырезают из пенополиуретановой губки пробку размером ~3 см и толщиной

2 см, заливают ацетоном на 15-20 мин., ацетон отжимают, еще раз промывают ацетоном, высушивают в струе сухого воздуха. Подготовленные таким образом пробочки хранят в эксикаторе или в плотно закрытой склянке.

Отбор почвенных и растительных проб и воды производят в соответствии с разработанными для отбора проб методическими указаниями.

2.5 Ход анализа

Воздух. Пенополуретан и фильтры переносят в химический стакан и трижды промывают ацетоном или гексаном порциями по 15 мл, тщательно отжимая растворитель пинцетом и сливая его в круглодонную колбу для сгона растворителей. Упаривают экстракт с помощью ротационного испарителя до объема 0,2-0,3 мл.

Вода. 500 мл воды помещают в делительную воронку и трижды экстрагируют гексаном порциями по 30 мл, встряхивая пробу 5 мин. Объединенный экстракт сушат безводным сернокислым натрием /~5-7 г/ и отгоняют растворитель до небольшого объема.

Почва. Навеску воздушно-сухой почвы 30 г помещают в колбу для экстракции, слегка увлажняют, заливают 60 мл ацетона и оставляют на ночь /либо экстрагируют на приборе для встряхивания, 30 мин./ Экстракт фильтруют через слой безводного сульфата натрия. Экстрагируют еще дважды порциями ацетона по 40 мл, встряхивая колбу 10 мин. Объединенный экстракт переносят в делительную воронку, разбавляют 4-кратным объемом воды и экстрагируют гетерофос из водно-ацетонового слоя гексаном порциями по 15-20 мл в течение 5 мин. 3 раза. Гексановые экстракты сушат безводным сернокислым натрием, упаривают.

Овощи. 30 г мелко измельченной ножом растительной массы /огурцы, картофель, томаты и т.д./ помещают в колбу емкостью 250 мл, заливают 60 мл ацетона и экстрагируют. Все операции - как и при экстракции из почвы.

2.6 Методы аналитического определения

Определение пестицида методом ТСХ

После упаривания исследуемый раствор и стандартные растворы наносят на пластинку и хроматографируют. /Подвижный растворитель необходимо заливать в хроматографическую камеру за 20-30 мин. до начала хроматографирования/.

После поднятия фронта растворителя на 10-12 см пластинку вынимают из камеры, просушивают на воздухе до испарения растворителя и обрабатывают проявляющим реактивом. Гетерофос и 0-метил-0-этил-S-пропилтиофосфат проявляются в виде сине-фиолетовых пятен на серо-синем фоне. Для закрепления пластинки сушат 10 мин. при температуре около 80°C в сушильном шкафу и обрабатывают 5%-ным раствором лимонной кислоты. На желтом фоне проявляются четкие синие пятна. Окраска устойчива в течение нескольких суток.

Коэкстрактивные вещества, в небольшом количестве оставшиеся в экстракте после переэкстракции из водно-ацетоновой среды в гексан, не мешают определению, так как остаются при хроматографировании практически на старте.

В качестве подвижных растворителей можно использовать одну из трех смесей, приведенных в таблице вместе с величинами R_f :

Подвижный растворитель	R_f	
	гетерофос	0-метил-0-этил-S-пропилтиофосфат
Гексан + ацетон 5:1	0,70	0,58
Гексан + ацетон 3:1	0,83	0,76
Гексан + ацетон 1:1	0,94	0,81

Количество препарата и примеси вычисляют по следующим формулам:

в воздухе
$$\chi = \frac{A \cdot (273 + t) \cdot 760}{V_0 \cdot 273 \cdot P} \quad /\text{мг}/\text{м}^3/;$$

в воде
$$\chi = \frac{A}{V} \quad /\text{мг}/\text{л}/;$$

в почве овощей
$$\chi = \frac{A}{M} \quad /\text{мг}/\text{кг}/;$$

где A, — количество препарата, найденное путем визуального сравнения размера и интенсивности окрашивания пятен пробы и стандартных растворов, мкг; V_0 — объем воздуха, отобранного при анализе (t, P), л; P — атмосферное давление в месте отбора пробы, мм рт.ст.; t — температура воздуха в месте отбора пробы, °C; V — объем отобранной для анализа пробы воды, мл; M — навеска почвы или растительной массы, г.

Определение методом ГЖХ.

Условия хроматографирования

Хроматограф "Газохром" с ТИД

Стеклянная колонка I м x 0,4 см., заполненная хроматоном *N-AN-DHCS* с 5% XE-60 / альтернативная колонка - 5% SE-30/.

Расход газов: азота- 60 мл/ мин., водорода- 23 мл/ мин., воздуха- 200 мл/мин.

Температуры: колонки 170 °C, испарителя- 220°C.

Скорость протяжки ленты самописца 600 мм/ час.

Рабочая шкала электрометра I x 10⁻¹⁰ А

Линейность детектирования 0,01-20 нг в пробе $\sqrt{2}$ мкл

При указанных условиях время удерживания гетерофоса составляет 2,6 мин., 0-метил-0- этил - *S*^г - пропилтиофосфата - 1,1 мин.

Количественное определение пестицида и примеси проводят путем сравнения площади пика исследуемого раствора гетерофоса с пиком, соответствующим эталонному раствору известной концентрации / при условии, что пики близки по величине и работа ведется в диапазоне линейности ТИД/:

$$A = V_i \cdot C_x = \frac{C_{эт}}{S_{эт}} \cdot S_x \cdot V_x$$

где C_x - концентрация исследуемого экстракта, мкг/мл;

$C_{эт.}$ - концентрация эталонного раствора, мкг/мл;

S_x - площадь пика раствора неизвестной концентрации, мм²;
 $S_{эт.}$ - площадь пика эталонного раствора, мм² V_x - объем экстракта, мл

Площадь пиков определяют как произведение высоты пика на ширину, измеренную на половине высоты.

Времена удерживания других ФОП в приведенных условиях определению методом ГЖХ не мешают.

3. Настоящие методические указания разработаны Заманской И.Ш. и "аром К.А. / ВНИИ химических средств защиты растений/.

4. Требования безопасности.

Соблюдаются требования безопасности, обычно при работе с ЛЗХ. Кроме того, следует учесть, что гетерофос - высокотоксичный препарат, поэтому при работе с ним требуется особая осторожность.

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-элизином 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, семерона, 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 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 вируса ядерного полиэдроза капустной совки на растительных объектах иммунофлюоресцентным методом 280

Дополнения

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