

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 ВНЕ-
ШНЕЙ 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.

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 экстракта¹⁾ и определении методом хроматографии в тонком слое с энзимным проявлением после активации препарата на пластинке²⁾. Хлорофос, угнетающий холинэстеразу, проявляется в виде белых пятен на голубом фоне.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода:

Диапазон определяемых концентраций - от 10нг до 50мг;

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

n-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 6-09-07-1156-78

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

Калий железосинеродистый 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 х.ч. ГОСТ 6552-80 (2 лмл), уксусной х.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 62,5мл 0,2м р-ра едкого натра, который готовят растворением 0,800г NaOH ч.д.а. ГОСТ 4328-77 в дистиллированной воде в мерной колбе емкостью 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 пластинок.

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

CaSO₄ · 2H₂O ч.д.а. ГОСТ 3210-46 просушенный в сушильном шкафу при t = 160°C в течение 6 часов

Хлорофис х.ч. ГОСТ 19856-74

2.2.1. Стандартные растворы хлорофиса

Основной стандартный раствор хлорофиса^(А) - 100мкг/мл (10 мг

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

2.2.2. Проявляющие реактивы

10мг индоксилацетата растворяют в 6мл этанола, прибавляют 6мл буферного раствора, 1мл раствора железосинеродистого калия и 1мл раствора железистосинеродистого калия. Проявляющий реактив 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-1М ТУ -25-11-917-76

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 пластинки 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°C. 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 пластинки снимают с краев вдоль направления движения растворителя (со стороны 12см) по 2-3мм слой адсорбента. Затем пластинку делят на 4 равные части. На 1-ую и 3-ю полосы на расстоянии 1,5см от нижнего края наносят по 5-10мкл стандартного раствора "Б", т.е. 5нг и 10нг хлорофоса, на 2-ю и 4-ю - 2мкл и 40мкл соответственно пробы. Пластинку 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, пластинку вынимают из камеры и дают растворителю испариться. Затем пластинку 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 пластинки 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 пластинки обрабатывают проявляющим реактивом и помещают в термостат при той же температуре. Хлорофос проявляется в течение 10мин., в виде

белых пятен на голубом фоне. $R_k^2=0,34$

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 0,025мг/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 5нг, 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:

$$X = \frac{A \cdot S_2 \cdot V \cdot 1000}{S_1 \cdot V_1 \cdot P}$$

A - содержание препарата в стандарте, мкг

S_1 - площадь пятна стандарта, мм²

S_2 - площадь пятна пробы, мм²

V_1 - объем экстракта, нанесенного на пластинку, мкл

V - 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 ФЭС. Обработку пластинок иноксидацетатом следует проводить в вытяжном шкафу.

4.0. Настоящие методические указания разработаны

Ишменной М.В., ВНИИГИТОКС, Киев/,

Красаренко Г.И., Горлачевой С.С. ВНИР, Москва/

С О Д Е Р Ж А Н И Е

ХЛОРООРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

	Стр.
1. Временные методические указания по определению ХОП (ДДТ, ДДЭ, ДД, -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 бопастара 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 - аминокетилфосфоновой 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 рон-раля 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 ГЭХ. 175
8. Временные методические указания по определению эвисекта в растительной продукции, почве и в воде ТСХ. 182
9. Временные методические указания по определению этиримла 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 citrusовых 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 омаита 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