

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 ВНЕШ-
НЕЙ 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.

УТВЕРЖДАЮ:

Заместитель Главного Государственного
санитарного врача СССР

А.И.Ваиченко

« 6 » августа 1981 г.

№ 2424-81

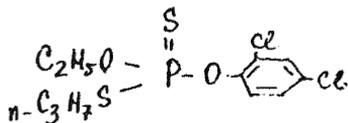
ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ПРОТИОФОСА
В РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ, ПОЧВЕ И ВОДЕ ТОНКОСЛОЙНОЙ И
ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИЕЙ

I. Краткая характеристика препарата

I.1. Протиофос

I.2. О-этил-S-п-пропил-O-(2,4-дихлорфенил)тионотиолфосфат

I.3. Структурная формула:



Мол. масса 345,2

I.4. Синонимы: *NTN* 8629, токутион

I.5. Технический продукт - бесцветная жидкость с температурой кипения 125-128°C. Растворимость в воде - 0,17 мг/100 г при 20°C. Хорошо растворим в органических растворителях.

Протиофос - контактно-кишечный инсектицид, LD₅₀ для крыс - 991 мг/кг. Эффективен против чешуекрылых, трипсов, червецов; обладает некоторой акарицидной и афидицидной активностью.

2. Методика определения протифоса

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Метод основан на хроматографическом (газожидкостная и тонко-слоиная хроматография) определении протифоса после экстракции из образца органическим растворителем, а для почвы - смесью ацетона с 0,05 н водным раствором хлористого кальция в соотношении 1:1, очистке путем переэкстракции, а также на колонке с окисью алюминия.

Хроматографическое определение в тонком слое проводится на пластинках со слоем силикагеля марки КСК или на пластинках "Силуфол". Хроматографируют в системе гексан-ацетон (4:1), проявляют пластинки 2,5-дибромхинонхлоримидом или другим реагентом, используемым для обнаружения фосфорорганических пестицидов.

Для газохроматографического определения используют термоионный детектор (ДИ) или детектор по захвату электронов (ДЭЭ) или постоянной скорости рекомбинации (ДСР), колонка стеклянная с носителями и фазами, указанными в разделе 2.4.2.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

	ТСХ	ГЖХ
Минимально детектируемое количество	0,5 мкг	1 нг
Нижний предел определения	0,05 мкг/кг, мкг/л	0,01 мкг/кг, л
R - размах варьирования, %		
в растениях	75,0-90,0	75,0-95,0
в почве	70,0-95,0	90,0-99,0
в воде	85,0-95,0	90,0-99,0
$\bar{\sigma}$ - среднее значение определения, %		
в растениях	83,2	85,6
в почве	85,0	97,0
в воде	89,4	97,0

- стандартное отклонение, %

в растениях	$\pm 5,3$	$\pm 4,9$
в почве	$\pm 5,7$	$\pm 5,2$
в воде	$\pm 4,4$	$\pm 4,8$

Доверительный интервал среднего при $\alpha = 0,95$ и $n = 5$ - 2,571

2.1.3. Избирательность метода: другие ФОИ не мешают определению.

2.2. Реактивы и растворы

Ацетон, ч.д.а., ГОСТ 2603-79

Ацетонитрил, ч., ТУ 6-09-3375-78

Бензол, х.ч., ГОСТ 5955-75

Гексан, х.ч., ТУ 6-09-3375-78

Диметилформамид, ч., ГОСТ 5703-70

Хлороформ, х.ч., ГОСТ 2015-74

Кислота уксусная, чда, ГОСТ 61-69

Алюминий окись, для хроматографии, ч., ТУ 6-09-3916-75

Кальций хлористый, х.ч., ГОСТ 4141-76

Натрий серноокислый, безводный, ч.д.а., ГОСТ 4166-76

Палладий двухлористый, ч., ТУ 6-09-2025-75

Серебро азотнокислое, ч.д.а., ГОСТ 1277-63

Бромфеноловый синий, водорастворимый, чда, ТУ 6-09-311-70

2,6-дибромхинонхлоримид, ч., МРТУ 6-09-3665-67

Силикагель КСК или пластинки "Силуфол" (Сетарол, ЧССР)

5% SE-30 на хроматоне N-Super (0,125-0,160 мм) (Сетарол, ЧССР)

5% SE-30 на хезасорбе AW (0,250-0,360 мм) (Сетарол, ЧССР)

3% ОУ-225 на хроматоне N-Super (0,200-0,250 мм) (Сетарол, ЧССР)

5% XE-60 на хроматоне N-AW (0,160-0,200 мм) (Сетарол, ЧССР)

Азот особой чистоты

Водород

Сжатый воздух

Проявляющие реагенты:

- 0,2%-ный раствор 2,6-дибромхинонхлоримида в гексане
- 0,2%-ный раствор палладия двухлористого в смеси вода-ацетон (1:1) с двумя каплями концентрированной соляной кислоты
- Бромфеноловый синий : 0,03 г бромфенолового синего растворяют в 10 мл ацетона, затем 0,5% водно-ацетоновым раствором азотнокислого серебра (1 ч. воды, 3 ч. ацетона) смесь доводят до 100 мл; 5%-ный раствор уксусной кислоты.

Стандартный раствор противифоса в н-гексане - 1 мкг/мл для ГЖХ и 100 мкг/мл для ТСХ.

2.3. Приборы и посуда

Хроматограф "Цвет-106" или аналогичный прибор с детекторами термомонным (ДТИ), по захвату электронов (ДЭЭ) или постоянной скорости рекомбинации (ДПР)

Аппарат для ретраживаяния колб

Ротационный вакуумный испаритель, МРТУ 42-2589-66, или аналогичный прибор для отгонки растворителей под вакуумом

Колбы конические со шлифами и пробками на 250-500 мл, ГОСТ 10394-72

Колбы круглодонные со шлифами на 100-500 мл, ГОСТ 10394-72

Воронки, ГОСТ 8613-75

Делительные воронки на 0,5-1,0 л ГОСТ 8613-75

Колбы мерные на 100 мл, ГОСТ 1770-74

Колонки для адсорбционной хроматографии (300x15 мм), МРТУ 42-2590-66

Хроматографическая камера

Нульверизаторы стеклянные

Пипетки на 0,1 и 1,0 мл, ГОСТ 20292-74

Почвенное сито

Микрошприц на 10 мкл

Цилиндры мерные на 50-100 мл, ГОСТ 1770-64

Колонки стеклянные (1000x3 мм)

2.4. Отбор проб и подготовка к анализу

2.4.1. Отбор проб

Отбор проб производят 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 №2051-79.

Растительную продукцию (овощи: капусту, огурцы и др.; фрукты, зеленую массу растений) измельчают и отбирают квартованием среднюю пробу 25 г.

Почву в естественно влажном состоянии или воздушно-сухую тщательно перемешивают, измельчают, просеивают через почвенное сито и отбирают для анализа среднюю пробу 10-25 г.

Проба воды - 100 мл.

2.4.2. Приготовление хроматографических колонок.

Стеклянные хроматографические колонки (1000x3 мм) заполняют хроматоном *N-Spher* (0,200-0,250 мм), пропитанным 3% ОУ-225, хроматоном *N-Spher* (0,125-0,160 мм), пропитанным 5% Е-30, либо 5% Е-30 на хвэасорбе АW (0,250-0,360 мм) или 5% ХЕ-60 на хроматоне *N-AW* (0,160-0,200 мм).

2.4.3. Построение градуировочного графика.

Для количественного определения противояда во введенной аликвоте используют метод абсолютной калибровки, который заключается в построении графической зависимости высоты или площади хроматографического пика от содержания вещества в стандартной пробе. По оси ординат откладывают значения высот (площадей) хроматографических пиков в мм (мм² или мкВ·сек), а по оси абсцисс - абсолютное количество исследуемого, соответствующее данному пику.

Градуировочный график необходимо строить в день газохроматографического анализа проб в тех же условиях, особенно при работе с ДТИ.

2.5. Проведение определения.

2.5.1. Экстракция и очистка экстрактов

Из растительных проб протиофос извлекают 100 мл смеси ацетона с водой (1:1), из почвенных проб - 50 мл смеси ацетона с 0,05 н раствором чистого кальция (1:1), из воды - хлороформом, порциями по 50 мл дважды и 25 мл. Экстрагируют при встряхивании по 30 минут. После этого растительные экстракты помещают в холодильную камеру или в смесь соли и льда для вымораживания восков. Пробы далее фильтруют через бумажный фильтр. Из объединенного фильтрата протиофос переэкстрагируют в н-гексан, прибавляя последний порциями по 20 мл, каждый раз встряхивая в делительной воронке в течение 3-5 минут. Гексановые фракции высушивают путем фильтрования через слой безводного сернистого натрия, объединяют и концентрируют до небольшого объема (1,0-0,5 мл) под вакуумом при температуре 40°C.

Экстракты из растительных объектов в некоторых случаях нуждаются в дополнительной очистке. Для этого из пробы растворитель отгоняют полностью, к остатку прибавляют по 5 мл ацетонитрила дважды (вместо ацетонитрила можно использовать диметилформамид), каждый раз сливая растворитель в чистую колбу. К общему объему растворителя (10 мл) добавляют 40 мл дистиллированной воды. Затем в течение 3-5 минут производят переэкстракцию протиофоса в н-гексан равными объемами при встряхивании. Объединенный гексановый экстракт высушивают безводным сернистым натрием и концентрируют под вакуумом при 40°C.

Дальнейшую очистку растительных проб и проб из почвы производят на колонке (300x15 мм), заполненной последовательно сернистым натрием (3-4 г), окисью алюминия (5 г) и снова сернистым натрием (2 г). Предварительно колонку промывают хлороформом (33/40 мл). Протиофос выки-

руют бензолом (50 мл). Растворитель отгоняют под вакуумом до объема 0,3-0,5 мл. Количество инсектицида определяют хроматографическими методами. Для ГЖХ очистка экстрактов из растений и почвы на колонках, как правило, не требуется.

2.5.2. Условия хроматографирования в тонком слое

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 3, 5, 10 мкг действующего вещества протиофоса. Хроматографируют в системе гексан-ацетон (4:1), проветривают и опрыскивают одним из проявляющих реагентов:

- Хроматограмму опрыскивают 0,2%-ным раствором 2,6-дибромхинонхлоримида в гексане, затем нагревают в течение 30 секунд в термостате при температуре 110-120°C. Протиофос проявляется в виде красных пятен на белом фоне. Нижний предел определения протиофоса в листьях капусты

- 0,5 мкг.

- Хроматограмму опрыскивают 0,2%-ным раствором хлористого палладия. Протиофос проявляется в виде желтых пятен с коричневой окантовкой на светлом фоне. Нижний предел обнаружения протиофоса в листьях капусты

- 3 мкг.

- Хроматограмму обрабатывают бромфеноловым синим с последующим обесцвечиванием фона раствором лимонной кислоты. Протиофос проявляется в виде серо-синих пятен на желтом фоне. Нижний предел обнаружения протиофоса в листьях капусты 5 мкг.

Значение R_f протиофоса в системе н-гексан-ацетон(4:1) равно $0,52 \pm 0,02$, в системе бензол-хлороформ (1:1) $0,65 \pm 0,03$ (при температуре 18°C).

Содержание протиофоса в исследуемом объекте вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A}{P}, \text{ где}$$

A - количество препарата, найденное по хроматограмме при сравнении со стандартами, мкг;

P - навеска исследуемой пробы, мг, или объем воды, мл;

X - содержание противоядия в пробе, мкг/кг или мг/л.

2.5.3. Условия газожидкостного хроматографирования

С помощью микрошприца аликвотную часть исследуемого раствора (I-5 мкл) вводят в испаритель хроматографа.

Для количественного определения противоядия используют хроматограф с термоионным детектором (ДТИ) или по захвату электронов (ДЭЭ) или постоянной скорости рекомбинации (ДПР), фазы и носители описаны в разделе 2.4.2.

При работе с ДТИ скорость газа-носителя - азота особой чистоты - 25 мл/мин, скорость водорода - 15-18 мл/мин, скорость воздуха - 170 мл/мин. При работе с ДЭЭ (ДПР) скорость газа-носителя - 40-50 мл/мин, скорость продувки - 120-150 мл/мин. При работе как с ДТИ, так и с ДЭЭ (ДПР) скорость диаграмной ленты 600 мм/час, температура термоста-та колонок 180-200°C.

Время удерживания противоядия в указанных условиях на колонке с 5% SE-30 на хезасорбе $A_{\text{H}}(0,250-0,360)$ при температуре колонки 200°C - 2 минуты 10 секунд при работе с ДПР.

Количественное определение противоядия во введенной аликвоте проводят с помощью гравиметрического графика (см. 2.4.3.).

Содержание противоядия в анализируемой пробе вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C \times K}{U \times P}, \text{ где}$$

X - содержание противоядия в анализируемой пробе, мг/кг или мг/л;

C - общий объем раствора, мл;

У - объем аликвоты, вводимой в хроматограф, мкл;

К - количество препарата в аликвоте, определенное по градуировочному графику, нг;

Р - навеска анализируемого вещества, 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 или разбавляя отобранную аликвоту до определенного объема.

2.6. Обработка результатов анализа приведена в 2.5.2. и 2.5.3.

3. Требования безопасности

Общепринятые требования при работе с горючими растворителями и фосфорорганическими пестицидами.

Методические указания разработаны:

Петрова Т.М., Красникова Н.Г., Мельникова Э.В. - Всесоюзный научно-исследовательский институт защиты растений, Ленинград.

С О Д Е Р Ж А Н И Е

ХЛОРООРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

	Стр.
1. Временные методические указания по определению ХОП (ДДТ, ДДЭ, ДДД, -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 ботвы 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 - аминометилфосфоновой 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 роваля методом ТСХ в воде, почве, поматах, 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 этиримола 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 цитрусовых 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