

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.

УТВЕРЖАЮ

Заместитель Главного государственного санитарного врача СССР

А.И.Зачченко

"28" января 1980 г.

№ 2124-80

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ПРОПАНИДА, ЛИНУРОНА, МОНОЛИНУРОНА И ИХ МЕТАБО- ЛИТОВ В ВОДЕ, ПОЧВЕ И РАСТИТЕЛЬНОМ МАТЕРИАЛЕ¹⁾

I. Характеристика анализируемых пестицидов.

Линурон и 3,4-дихлоранилин (3,4-ДХА) представляют собой белые кристаллические вещества, плохо растворимые в воде (75 и 659 мг/л соответственно) и хорошо - в большинстве органических растворителей (низких спиртах, ацетоне, ароматических углеводородах). Активное вещество гербицида линурина - N - (3,4-дихлорфенил) - N '-метокси - N '-метилочевина. Температура плавления линурина - $93-94^{\circ}$, 3,4-ДХА - $71-72^{\circ}$ (1,2). Линурон применяется как гербицид избирательного действия для уничтожения однолетних злаковых и двудольных сорняков на посевах кукурузы, сои, картофеля, льна и моркови. Линурон малотоксичен для теплокровных (IV пр. г.к.), LD_{50} для белых мышей и крыс - 2,17 - 2,40 г/кг. ДОК в картофеле - 0,1 мг/кг; в моркови наличие остатков гербицидов не допускается.

Монолинурон представляет собой белое кристаллическое вещество с температурой плавления $79-80^{\circ}$. Растворимость в воде - 580 мг/л при 20° , хорошо растворяется в этаноле, ацетоне, бензоле и других органических растворителях, кроме предельных углеводородов. Активное вещество монолинурола - (4-хлорфенил) - N '-метокси - N '-метилочевина (1,3). Химически чистый 4-хлоранилин (4-ХА) - белое кристаллическое вещество с температурой плавления $70-71^{\circ}$. Монолинурон применяется для уничтожения сорняков на посадках картофеля и льна-дол-

¹⁾ Л.Л.Кныр, В.П.Сухопарова, М.С.Соколов
(Институт агрохимии и почвоведения АН СССР, г.Пущино)

гунда. Соединение малотоксично для теплокровных: LD_{50} для мышей и крыс - 2,0-2,5 г/кг. ДОК в клубнях картофеля - 0,11 мг/кг.

Пропанил - белое кристаллическое вещество, лишенное запаха, с т.пл. 92-93°C (технический продукт плавится при 88-91°C), мол. масса 218,08 (3). Растворимость в воде - 225 мг/л (при 22°C), в бензоле - 70 г/л; в ацетоне - 1700 г/л. Хорошо растворим в хлороформе, изофороне (60% при 25°C), этаноле (54% при 25°C), бензине, петролейном и диэтиловом эфирах, хорошо растворяется в метаноле. Упругость паров - 0,008 мм рт.ст. при 40°C, по другим данным - 0,001 мм рт.ст. при 50°C. Активное вещество пропанида - 3,4-дихлоранилин пропионовой кислоты. Электронный спектр поглощения спиртового раствора пропанида характеризуется тремя максимумами ($\lambda_{\text{макс}}$) в ультрафиолетовой области - 247-250; 252,5 и 287,5; водного раствора - 248 нм.

Пропанил среднетоксичен для теплокровных животных. LD_{50} для крыс при пероральном введении - 1384 \pm 100 мг/кг; по другим данным - 1300-2270 мг/кг, токсичная концентрация для рыб - 10 мг/л. По некоторым данным пропанил обладает кумулятивным действием - коэффициент кумуляции 1,2 при введении 1/50 LD_{50} .

Пропанил - высокоэффективный гербицид для избирательного уничтожения злаковых просявидных сорняков на посевах риса. ДОК в рисе - 0,3 мг/кг.

Структурные формулы:

ЛАЗЕРОН	$C_9H_{10}N_2O_2$		мол. масса 249,1
БЕНЗОЛАЗЕРОН	$C_9H_{11}N_2O_2$		мол. масса 241,8
ПРОПАНИЛ	$C_9H_9ONCl_2$		мол. масса 218,08
3,4-ДИХЛОРАНИЛИН	$C_6H_6NCl_2$		мол. масса 162,0
4-ХЛОРАНИЛИН	C_6H_6NCl		мол. масса 129,5

2. Принцип метода.

Определение пропанида, линурона, монолинурона, 3,4-ДХА и 4-ХА в одной пробе методом хроматографии в тонком слое основано на извлечении соединений смесью органических растворителей, их упаривании, переэкстракции гербицидов в н-гексан из строго контролируемой кислой среды и их упаривании (4). Упаренный экстракт очищают на колонке с цеолитом 4А (щелочная форма) (5) и хроматографируют на пластинках силуфол.

В качестве подвижных фаз используют бензол : ацетон (60:1;5) или н-гексан : диэтиловый эфир (1:2), в качестве азосоставляющей используют 1-нафтилетилениамина (5,7). Полуколичественное определение производят путем визуального сравнения интенсивности окраски и размера пятен проб и стандартных растворов.

Чувствительность метода: для воды - 0,5-1,0 мкг/л, для почвы - 5-10 мкг/кг, для растительного материала - 0,2-0,3 мг/кг. Ошибка определения \pm 5-10%.

3. Преимущество метода.

В основу предлагаемого метода положены разработанные и усовершенствованные элементы анализа, пригодные как для метода ТСХ, так и для количественного фотометрического определения. Способ заключается в очистке гексанового экстракта, содержащего исследуемые соединения на колонке с цеолитом 4А (щелочная форма), что позволяет количественно разделять гербициды и почвенные и растительные пигменты.

Преимущество рассматриваемого метода, в отличие от известных, заключается в его экспрессности, хорошей воспроизводимости, достаточно высокой чувствительности, возможности раздельного опре-

деление в одной пробе гербицида и его основного метаболита.

4. Реактивы и растворы.

1. Едкий натр "чда", 10% водный раствор (400 г NaOH растворяют, раствор доливают водой до 1 л, перемешивают).
2. Серная кислота "хч", 50%-ный водный раствор (276 мл конц. H_2SO_4 уд. веса 1,84 осторожно вливают в 500 мл дистиллированной воды, охлаждают, перемешивают).
3. Натрий серноокислый безводный "чда".
 1. Бензол "хч".
 5. Ацетон "хч".
 6. н-Гексан "хч".
 7. Диэтиловый эфир "хч".
 8. Хлороформ "чда".
 9. Изопропиловый спирт "чда".

10. Проявляющие реактивы:

№1 - к 20 мл конц. HCl ($d = 1,10$) прибавляют 80 мл этилового спирта;

№2 - 1 г азотистокислого натрия растворяют в 2 мл воды и доводят до 100 мл этиловым спиртом;

№3 - 1 г дигидрохлорида 1-нафтилетиленамина растворяют при нагревании на водяной бане в 2 мл воды и доводят до 100 мл этиловым спиртом.

II. Стандартные растворы: 20 мг пропачида, линурона, монолинурона,

3,4-дихлоранилина и 4-хлоранилина растворяют в 100 мл этилового спирта; концентрация этого раствора 200 мкг/мл.

5. Аппаратура и оборудование.

Роторный испаритель или выпаритель-концентратор.

Аппарат для встряхивания.

Камера для хроматографирования - стеклянный цилиндрический или прямоугольный сосуд с притертой крышкой.

Пульверизаторы стеклянные.

Шприцы медицинские туберкулиновые емкостью 1 мл.

Сито металлическое почвенное с диаметром отверстий 0,1-1,0 мм.

6. Приготовление сорбционной колонки.

Стеклянную хроматографическую колонку диаметром 15 мм, длиной 150 мм заполняют стекловатой, имеющей волокна 1-2 см (толщина слоя 0,3-0,5 мм). Далее колонку на 4-5 см заполняют предварительно измельченным (фракция 0,1-0,5 мм) цеолитом 4А (щелочная форма).

7. Подготовка проб к определению.

Экстракция гербицидов.

а) Из воды: анализируемый образец воды (до 1 л) после отстаивания сливают в стакан, подщелачивают 20%-ным NaOH до pH 10, переносят в делительную воронку и экстрагируют хлороформом (3x50 мл). Объединенный экстракт высушивают, пропуская через безводный сернистый натрий, и растворитель упаривают досуха.

б) Из сухой или влажной почвы и почвенной суспензии: 100-500 г почвы или суспензии, освобожденной от растительных остатков, заливают 100-300 мл ацетона, 3-5 мл 20%-ного NaOH , тщательно перемешивают палочкой, после чего встряхивают в течение часа. Затем полностью ацетоновый экстракт фильтруют через воронку Бюхнера, колбу ополаскивают ацетоном, почву на фильтре промывают ацетоном (3x15-20

мл). Ацетон отгоняют на роторном испарителе, водную часть экстракта подщелачивают 20%-ным NaOH до pH 10, переносят в делительную воронку и токсиканты экстрагируют хлороформом (3x20-30 мл) Объединенный экстракт высушивают, пропуская через безводный сернокислый натрий, и растворитель упаривают досуха.

в). Из растительного материала (водоросли, корнеплоды моркови): 50 г измельченного материала (морковь, водоросли) заливают 150 мл смеси н-гексан: ацетон (9:1), встряхивают в течение 1 ч и фильтруют. Остаток на фильтре трижды промывают смесью растворителей (3x15-20 мл). Из объединенного экстракта отгоняют органические растворители, жидкую фазу, оставшуюся после отгонки растворителей, количественно переносят в делительную воронку. Колбу несколько раз обмывают дистиллированной водой, сливая ее затем в воронку, и доводят общий объем пробы до 100 мл. Приливают 18 мл 50%-ной серной кислоты, экстрагируют гербициды хлороформом (3x10 мл), отгоняют органический растворитель и следы хлороформа удаляют током воздуха.

8. Экстракция 3,4-ДХА и 4-ХА.

После экстракции гербицидов сернокислый раствор (100 мл) нейтрализуют, подщелачивают до pH 10 (~ 30 мл 10н NaOH) и экстрагируют 3,4-ДХА(4-ХА) хлороформом (3x20 мл), отгоняют органический растворитель и следы хлороформа удаляют током воздуха.

9. Очистка экстрактов, содержащих гербициды.^{ж)}

Сухие остатки в колбах, содержащих гербициды растворяют в 10 мл ж) Очистку на колонке с сорбентом проводят только для проб, содержащих пропанцид, линурон и монолинурон, а пробы с 3,4-ДХА (4-ХА), полученные при отдельной экстракции, в очистке не нуждаются.

н-гексана и для отделения пигментов раствор пропускают через колонку с цеолитом со скоростью 2-4 мл/мин. После подсушивания сорбента вакуумом соединения вымывают 50 мл смеси растворителей н-гексан: диэтиловый эфир (3:1), затем элюат упаривают досуха и далее соединение анализируют.

9. Хрома эграфирование.

Сухие остатки, содержащие анализируемые соединения количественно переносят диэтиловым эфиром на пластинки силифол, пластинки помещают в камеру для хроматографирования; подвижный растворитель - бензол:ацетон (60:1,5). Край пластинки погружают в растворитель на глубину 5-7 мм. Когда фронт растворителя поднимается на высоту 10 см, пластинку ополаскивают, вновь заполняют смесью растворителей и производят повторное хроматографирование. Затем пластинки термостатируют при 130°C: для определения пропапида в течение 40 мин; для определения линурона и монолинурона - 5 мин. После этого пластинки охлаждают и опрыскивают последовательно проявляющими реактивами № 1, 2, 3. При наличии в пробе ароматических аминов, пропапида, линурона и монолинурона появляются фиолетовые пятна на белом фоне. R_f для 3,4-ДХА - 0,64±0,02; для линурона 0,42 ±0,02; для монолинурона - 0,26±0,02; для 4-ХА - 0,36±0,02; для пропапида - 0,25±0,02.

10. Обработка результатов анализа.

Содержание токсикантов рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A}{B}$$

где X - содержание препарата в пробе (мг/кг или мг/л);

A - количество препарата, найденное путем визуального сравнения размера и интенсивности окраски пятен пробы и стандартных растворов, мкг;

B - навеска пробы (г) или объем аликвоты (мл).

Вместо термостатирования можно облучать пластинки хроматооскопом типа БУС-3 (расстояние от лампы 15 см, экспозиция 10 мин)

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-элюзимом 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
---	-----

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 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