

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.

УТВЕРЖДАЮ:

Заместитель Главного государственного  
санитарного врача СССР

А. И. Заиченко

" 19 " 3 1979 г.

№ 2085-79

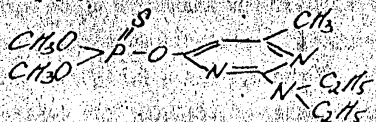
МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ АКТЕЛЛИКА В РАСТИТЕЛЬНОМ  
МАТЕРИАЛЕ, В ПОЧВЕ И В ВОДЕ ХРОМАТОГРАФИЕЙ В ТОНКОМ СЛОЕ И НА  
ГАЗОВОМ ХРОМАТОГРАФЕ.

I. Краткая характеристика препарата.

I.1. актеллик

I.2. 0,0-диметил-0-(диэтиламино-6-метилпиримидил-4)тиофосфат

I.3. Структурная формула



I.4. Пиримифо-метил, ПП-5II, актеллик

I.5. Химически чистое вещество актеллика представляет собой жидкость светло-желтого цвета. Хорошо растворяется в большинстве органических растворителей, слабо растворим в воде - 5 мг/л при температуре 30°. Удельный вес - 1,157 при 30°, давление пара -  $1 \cdot 10^{-4}$ . Разрушается в сильноокислых и щелочных средах.

Препарат митотоксичен для теплокровных животных - при оральном введении LD<sub>50</sub> для мышей составляет 1180 мг/кг. Препарат опасен для птиц (LD<sub>50</sub> 30-60 мг/кг) и рыб (LD<sub>50</sub> 0,3-27 мг/кг).

Выпускается в форме 25% концентрата эмульсии, 25% препарата для ультрамалоземного опрыскивания.

## 2. Методика определения актеллика.

### 2.1. Основные положения

#### 2.1.1. Принцип метода

Метод основан на извлечении актеллика из растительных проб и воды органическими растворителями (хлороформом, 10-20% ацетоном в гексане или 50% водным ацетоном). Из почвы экстрагируют инсектицид смесью ацетона с 0,05 в растворе  $\text{CaCl}_2$ . Очистка экстрактов способом перераспределения между двумя несмешивающимися растворителями и на хроматографических колонках. Количественное определение проводят хроматографическим в тонком слое методом или на газовом хроматографе с термомонным детектором.

#### 2.1.2. Метрологическая характеристика метода.

	ГХ	ТСХ
Минимально детектируемое количество	10нг	0,5-3 мкг
Нижний предел определения	0,002 мг/кг	0,1 мг/кг
R - размах варьирования, %		
в растениях	85,0- 91,0	86,0- 91,5
в почве	92,5- 97,5	92,5- 97,6
С - среднее значение определения, %		
в растениях	88,5	85,5
в почве	95,0	95,0
S - стандартное отклонение, %		
в растениях	2,5	2,5
в почве	2,5	2,5
Доверительный интервал среднего при R=0,95 и n=5, %		
для растений	88,5 ± 2,5	
для почвы	95,0 ± 2,5	

#### 2.1.3. Избирательность метода.

Другие фосфорорганические инсектициды определению не мешают.

## 2.2. Реактивы и растворы.

Хлороформ, х.ч. ГОСТ 3160-51 -  $CHCl_3$   
Гексан, х.ч. МРТУ 6-09-2937-66 -  $CH_3(CH_2)_4CH_3$   
Ацетон, ч. ГОСТ 2603-63 -  $CH_3COCH_3$   
Ацетонитрил, ч. МРТУ 6-05-6448-69 -  $CH_3CN$   
Диметилформамид, ч. МРТУ 6-09-2068-65 -  $HCON(CH_3)_2$   
Бензол, чда ГОСТ 5955-68 -  $C_6H_6$   
Натрий сернокислый, безводный, чда ГОСТ 4166-66 -  $Na_2SO_4$   
Уголь активированный марки КАД - молотый или ОУ-А  
Оксид алюминия для хроматографии МРТУ 6-09-5296-68-4 -  $Al_2O_3$   
Силикагель, КСК или пластинки "Силуфол ЛУ-254"  
5% SE-30 на хроматоне А/АВ - ДМС (0,16 - 0,20 мм)  
Азот ОСЧ  
Водород

### Проявляющие реагенты:

0,5% раствор 2,6-дибром-N-хлорхинонимина в гексане, после опрыскивания нагревание пластинки при  $110^\circ$  в течение 5 мин.  
0,5% раствор бриллиантового зеленого в ацетоне, затем экспозиция пластинки в парах брома 20-30 сек.  
0,05% раствор бромфенолового синего в 0,5% растворе азотнокислого серебра, приготовленного на ацетоне. После проветривания хроматограммы и прогревания её в термостате при  $35 - 40^\circ$ , вновь опрыскивают 5% раствором уксусной кислоты (лимонной кислоты).  
2% раствор 4-(Р-нитробензил)пиридина в ацетоне, после нагревания хроматограммы при  $110^\circ$  в течение 5 мин. вновь опрыскивают 10% раствором тетраэтиленпентамина в ацетоне.  
Реактив Драгендорфа: раствор А - 0,85 г азотнокислого висмута растворяют в смеси 40 мл дистиллированной воды и 100 мл 40% серной кислоты (серную кислоту можно заменить 10 г винной кислоты);  
раствор Б - 8 г иодистого калия растворяют в 20 мл воды. Растворы А и Б смешивают. Перед употреблением к 6 мл полученной смеси при-

ливают 6 мл 20% серной кислоты (или 12 г винной кислоты) и доводят объем до 25 мл водой.

Стандартный раствор актеллика в ацетоне или в гексане - 1,0-5,0 мкг/мл

### 2.3. Приборы и посуда.

Колбы кочические со шлифами и пробками на 50 и 250 мл, ГОСТ 10394-72

Колбы круглодонные со шлифами для отгонки растворителей,

ГОСТ 10394-72

Делительные воронки на 50 и 100 мл, ГОСТ 8613-75

Воронки, ГОСТ 8613-75

Колбы мерные, ГОСТ 1770-74

Колонки для адсорбционной хроматографии (300x 15 мм),

МРТУ 42-2590-66

Аппарат для встряхивания коло

Ротационный вакуумный испаритель, МРТУ 42-2589-66

Холодильник бытовой

Термостат

Хроматографическая камера, ГОСТ 10565-63

Микропипетки 0,1 - 0,2 мл, ГОСТ 20292-74

Хроматоскоп (хемоскоп)

Камера для опрыскивания, ГОСТ 10565-63

Опрыскиватель, ГОСТ 19391-68

Микрошприцы на 10 мкл

Газовый хроматограф с термоионным детектором (ДИ)

### 2.4. Подготовка к определению.

Растительную пробу (овощи, фрукты, зеленую массу) измельчают ножом на кусочки 0,5 x 0,5 x 0,5 см<sup>3</sup> и отбирают среднюю пробу 25 г.

Почву в естественном состоянии или воздушно-сухую просеивают через сито и для анализа отбирают 10 г.

Проба воды - 100 мл.

## 2.5. Проведение определения.

### 2.5.1. Экстракция и очистка экстрактов.

Анализируемые навески помещают в конические колбы ёмкостью 250 мл, пробы воды - в делительные воронки, куда добавляют по 10 г хлористого натрия.

Из растений актеллик экстрагируют трижды по 50 мл 20% ацетона в гексане, либо 50% водным ацетоном, либо 50 мл хлороформа; из почвы - 50 мл смеси ацетона с 0,05 н водным раствором хлористого кальция (1 : 1); из воды - хлороформом, порциями: 120, 100, 75 мл. Экстрагируют при встряхивании в течение 1 часа. Экстракты отфильтровывают через бумажный фильтр. Объединенные экстракты помещают на 1 час в холодильник. При выпадении осадка пробу следует отфильтровать вторично. Экстракты подвергаются очистке:

а) очистка после экстракции 20% ацетоном в гексане. Экстракт помещают в делительную воронку и отделяют водно-ацетоновую фракцию от гексановой. Водно-ацетоновую фракцию промывают гексаном ещё два раза. Объединенные гексановые экстракты фильтруют через слой безводного сернокислого натрия, концентрируют под вакуумом при 40-50° до 5 мл. После охлаждения добавляют к ним 5 мл холодного ацетонитрила. Ацетонитрил можно заменить диметилформамидом, однако с первым растворителем очистка происходит значительно лучше. Пробу встряхивают 1-2 мин. Гексановый слой отделяют в делительной воронке и вторично дважды чистят пробу ацетонитрилом (диметилформамидом), если это необходимо. Ацетонитрильные (диметилформамидные) экстракты объединяют, переносят в делительную воронку, добавляют к ним 30 мл воды и 20 мл гексана, встряхивают 1-2 мин. и после разделения слоев гексановый отделяют, а водно-ацетонитрильный ещё раз промывают гексаном и отбрасывают. Объединенные гексановые экстракты сушат безводным сернокислым натрием путем фильтрования и концентрируют под вакуумом до 5 мл. Если проба очищена недостаточно, то ее следу-



ет пропустить через колонку (30 см x 1,5 см), заполненную слоем сернистого натрия (2 - 3 см), окиси алюминия для хроматографии (3 см), активированного угля КАД - молотый или ОУ-А (3 см) и безводного сернистого натрия (1 см). Предварительно через колонку пропускают 40 - 50 мл хлороформа для уменьшения сорбционной емкости угля. Из колонки элюируют 120 мл хлороформа при отсасывании с помощью водоструйного насоса. Хлороформ концентрируют до объема 0,3 - 0,5 мл и количество инсектицида определяют хроматографическими методами;

б) очистка после экстракции хлороформом. Полученный экстракт фильтруют через слой безводного сернистого натрия и концентрируют под вакуумом до 0,5 - 1,0 мл. Остаток растворителя испаряют на воздухе. К сухому остатку приливают 30 мл смеси ацетона с  $CaCl_2$  (соотношение компонентов 1 : 1); пробу переносят в делительную воронку, фильтруя через бумажный фильтр, колбу споласкивают еще 20 мл смеси ацетона с  $CaCl_2$ . В воронку добавляют 30 мл гексана для извлечения токсиканта. Гексановую фракцию отделяют, водосолеацетоновую промывают еще два раза гексаном по 20 мл. Объединенный гексановый экстракт фильтруют через безводный сернистый натрий и концентрируют до 0,5 - 1,0 мл. Если проба очищена недостаточно, то ее дополнительно чистят на колонке, как указано выше;

в) очистка после экстракции водным ацетоном. Объединенные экстракты переносят в делительную воронку, добавляют 30 мл гексана для извлечения токсиканта. Далее поступают так, как описано в способе очистки б).

Экстракты из почвы очищают путем переэкстракции в н-гексане (смотри способ б).

#### 2.5.2. Хроматография в тонком слое.

На расстоянии 2 см от нижнего края хроматографической плас-

тинки с тонким слоем силикагеля, в который внесён флуоресцеин, или на "Силуфол-УУ-254" наносят сконцентрированные экстракты пробы и стандартный раствор актеллика в виде пятен диаметром не более 0,5 см. Если в пробе содержится много инсектицида, то рекомендуется брать часть пробы или наносить экстракт в 4-5 точек. Стенки колоб тщательно смывают несколькими каплями растворителя, который также наносят в центр пятна. Хроматографические пластинки ставят в камеру для хроматографирования и ожидают пока фронт растворителя поднимется на высоту 10 см. Хроматографируют в системе гексан-ацетон (5:1) или гексан-этилацетат (7:3). Далее пластинку подсушивают на воздухе и проявляют одним из проявляющих реагентов. Следует указать, что наибольшей чувствительностью обладает проявитель с 2,6-дибром-N-хлорхинонином и 4-(Р-нитробензил)пиридином.

Пластинки со слоем силикагеля, в который внесён флуоресцирующий краситель, или пластинки "Силуфол-УУ-254" можно просматривать в хроматоскопе, не проявляя их. Инсектицид определяют по тушению флуоресценции.

$R_f$  актеллика в системе гексан-ацетон (5:1) составляет 0,73, в системе гексан-этилацетат (7:3) - 0,51.

Содержание актеллика в исследуемом объекте вычисляют по формула:

$$X = \frac{A \times 1000}{P}, \text{ где}$$

X - содержание препарата в пробе, мг/кг;

A - количество препарата, найденное в пробе при сравнении со стандартом, мкг;

P - навеска исследуемой пробы, г.

### 5.3. Газо-хроматографическое определение.

После отгонки растворителя к сухому остатку добавляют 1 или мл гексана, колобу закрывают пробкой, тщательно обмывая ее

внутреннюю поверхность. Аликвотную часть пробы (2-5 мкл) вводят в испаритель хроматографа.

Условия хроматографирования. хроматограф с термостатным детектором (ДТИ), колонка стеклянная, заполненная 5% SE-30 на хроматоне NAW-DMCS (0,16 - 0,20 мм). Температура колонки 190<sup>0</sup>, испарителя 230<sup>0</sup>. Скорость газа-носителя азота 60 мл/мин. Фоновый ток  $(1-4) \cdot 10^{-11}$  А, рабочая шкала электрометра  $2,5 \cdot 10^{-10}$  А. Время удерживания актеллика в указанных условиях 2,8 мин.

Содержание актеллика в пробе определяют методом стандартов и рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{H_2 \cdot Y_1 \cdot C_1 \cdot Y_3}{H_1 \cdot Y_2 \cdot P}, \text{ где}$$

X - количество препаратов в пробе, мг/кг;

$C_1$  - количество препарата в стандартном растворе, мкг/мл;

$H_1$  - высота пика стандартного раствора, мм;

$H_2$  - высота пика анализируемого раствора, мм;

$Y_1$  - объём стандартного раствора, введённого в хроматограф, мкл;

$Y_2$  - объём анализируемого раствора, введённого в хроматограф, мкл;

$Y_3$  - объём экстракта пробы для анализа, мл;

P - навеска пробы, г.

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

2.7. Авторы.

Настоящая методика включает разработки авторских коллективов.

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

2. Красных А.А., Бсероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, пос. Рамонь Воронежской области.

## 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-элюзионной 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, 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