

ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ
ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ,
БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОСНАМИ 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

Зам. Главного Государственного
санитарного врача СССР

А.И. Заиченко

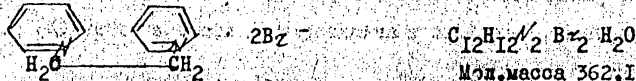
19 октября 1979 г.

№ 2073-79

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ДИКВАТА В СЕМЕНАХ ПОДСОЛНЕЧНИКА И МАСЛЕ ИЗ СЕМЯН ПОДСОЛ- НЕЧНИКА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Настоящие методические указания распространяются на опреде-
ление содержания диквата в семенах подсолнечника и масле из семян
подсолнечника. Указания предназначены для санитарного контроля.

1. Краткая характеристика препарата.



Дикват — действующее начало препарата "Реглон" (преглон) — I, I'-этилен-2, 2'-дипиридилий дибромид — кристаллическое вещество слобожелтого цвета, с т.пл. 335-340°C; при 20°C в 100 г воды растворяется 70 г диквата. Нерастворим в несмешивающихся с водой органических растворителях. Стабилен в кислой и нейтральной среде, в щелочной среде образует окрашенный продукт. Применяется в форме 20%-ного водного раствора для предпосевной обработки с целью уничтожения сорной растительности и послевсходовой борьбы с сорняками во фруктовых садах и виноградниках, для борьбы с водными сорняками и сорняками в лесоводстве, для обновления насаждений, для предуборочной десикации ряда культур. ДД₅₀ для крыс 280 мг/кг. ДОК диквата в семенах подсолнечника и масле из семян подсолнечника в настоящее время не установлены.

2. Методика определения диквата.

2.1. Принцип метода. Метод основан на гидролизе анализируемой пробы в горячем растворе серной кислоты, ионообменной адсорбции диквата из нейтрализованного гидролизата на колонке с катионообменной смолой, элюирования диквата из колонки и его спектрофотометрическом определении в элюате после восстановления в виде свободных радикалов.

2.2. Метрологическая характеристика метода приведена в таблице.

2.3. Реактивы и растворы.

Бумага универсальная индикаторная, ТУ 6-09-1181-71

Натр едкий, чда, ГОСТ 4328-66, 0,3 н водный раствор

Динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (трилон Б),

чда, ГОСТ 10652-63, 5%-ный водный раствор

Метабисульфит натрия, чда, ГОСТ 10575-63

Дитионит натрия, ч, ТУ МХП ГХП 126-56. Для приготовления вос-

станавливающего реактива растворяют 0,2 г дитионита натрия и

0,2 г метабисульфита натрия в 100 мл 0,3 н водного раствора

гидроксида натрия. Дитионит натрия нестабилен в присутствии влаги, поэтому он должен храниться в склянках с притертыми пробками в эксикаторе. Восстанавливающий реактив готовится непосредственно перед употреблением и может быть использован не более, чем в течение 1 часа после приготовления.

Серная кислота, хч, ГОСТ 4204-66, 18 М водный раствор

Хлористый аммоний, хч, ГОСТ 3773-60, 2,5%-ный и насыщенный водный раствор

Хлористый натрий, чда, ГОСТ 4233-66, насыщенный водный раствор

Целит 545

Стеклолоткань

Стандартные растворы диквата в насыщенном водном растворе хлористого аммония (эти растворы стабильны в обычных лабораторных условиях; следует избегать попадания на них прямых солнечных лучей):

- а) Основной раствор, 250 мг/л. Растворяют 0,1229 г чистого диквата дибромида (мономер C₁₂H₁₂N₂Br₂·H₂O, молекулярный вес 362,1; 50,9% - катиона) в 250 мл насыщенного водного раствора хлористого аммония
- б) Раствор А, 10 мг/л. Разбавляют 10 мл основного раствора до 250 мл насыщенным водным раствором хлористого аммония
- в) Раствор Б, 1,5 мг/л. Разбавляют 15 мл раствора А до 100 мл насыщенным водным раствором хлористого аммония
- г) Раствор В, 1,0 мг/л. Разбавляют 10 мл раствора А до 100 мл насыщенным водным раствором хлористого аммония
- д) Раствор Г, 0,5 мг/л. Разбавляют 5 мл раствора А до 100 мл насыщенным водным раствором хлористого аммония

е) Раствор Д, 0,25 мг/л. Разбавляют 2,5 мл раствора А до 100 мл насыщенным водным раствором хлористого аммония. Катионообменная смола КУ-2, Λ -форма, фракция 0,25-0,5 мм. Для приготовления ионообменной хроматографической колонки 3,5 г катионита КУ-2 в Λ -форме, предварительно отмытого от примесей железа и органических примесей, переносят с водой в бюретку на 25 мл, на дно которой предварительно помещают комочек стеклянной ваты или стеклоткани. Через колонку пропускают последовательно 20 мл насыщенного водного раствора хлористого натрия и 50 мл дистиллированной воды со скоростью 5 мл/мин. После этого колонка готова для использования. Для каждого определения приготавливается новая колонка.
н-Гексан, ч, МРТУ 6-09-2937-66; Каприловый спирт (октанол), ч, МРТУ 6-09-5533-68

2.4. Приборы и посуда.

Делительная воронка на 1 л, ГОСТ 8613-75
Круглодонная колба со шлифом на 1 л, ККШ, ГОСТ 10394-72
Колба Бунзена на 2 л, ГОСТ 6514-75
Мерные колбы на 50, 100, 250 и 100 мл, ГОСТ 1770-74
Стеклоанный лабораторный холодильник, ХПТ, ГОСТ 9499-70
Стеклоанные пробирки градуированные со шлифом на 25 мл, ГОСТ 10515-75
Стеклоанный стакан на 2 л, Бн, ГОСТ 10394-72
Спектрофотометр СФ-4А (любой другой спектрофотометр для измерения оптической плотности растворов в УФ-области спектра)
Коронка Бюхнера, диаметр 13 см, ГОСТ 9147-73
Хроматографическая колонка-стеклянная бюретка на 25 мл (высота 50 см, внутренний диаметр 10 мм), ГОСТ 20292-74
Электроплитка, ТУ 92-275-76
Насадка для экстрагирования твердых веществ типа НЭТ, ГОСТ 9777-74
Мельница электрическая для сельскохозяйственных культур, ТУ 46-22-236-76

2.5. Проведение определения.

150-200 г измельченных с помощью мельницы семян подсолнечника помещают в патроне из фильтровальной бумаги в насадку для экстрагирования (экстрактор Соколета), приливают в круглодонную колбу на 1 л 200-300 мл н-гексана (в зависимости от объема насадки), соединяют колбу с насадкой и помещают на кипящую водную баню. Экстракцию масла из семян проводят до тех пор пока следующая

порция слива n-гексана из экстрактора не становится бесцветной. После охлаждения содержимого колбы извлекают патрон из насадки и содержимое патрона сушат под тягой на листе фильтрованной бумаги, предотвращая попадание солнечных лучей. Упаривают гексан на ротационном испарителе и получают около 50 г масла.

50 г измельченных семян (для определения также могут быть взяты семена без предварительной экстракции из них масла в насадке для экстрагирования) помещают в круглодонную колбу на 1 л, приливают 450 мл дистиллированной воды, 15 мл 18 М раствора серной кислоты, 1 мл каприлового спирта, помещают несколько "кипятыльников" (кусочки пористого материала, например, глины или кирпича), перемешивают, присоединяют к колбе обратный холодильник и кипятят на электроплитке в течении 5 часов. Для предотвращения перегрева содержимое колбы периодически перемешивают встряхиванием. После охлаждения через холодильник приливают 50 мл дистиллированной воды (на этой стадии анализа может быть прерван и продолжен в любое удобное время) и фильтруют гидролизат через фильтр, приготовленный следующим образом: на смоченный водой фильтр из фильтровальной бумаги, помещенный в воронку Бунзера, приливают 150 мл водной суспензии, содержащей 10 г Целита 545 и при умеренном отсасывании фильтруют под вакуумом в колбу Бунзера; воду отбрасывают. После окончания фильтрации гидролизата остаток на фильтре промывают двумя порциями воды по 100 мл. При этом первая порция должна полностью пройти через фильтр перед прибавлением второй. (При отсутствии Целита 545 фильтрацию гидролизата можно осуществить через фильтр приготовленный следующим образом: на смоченный водой фильтр из фильтровальной бумаги помещают фильтр, вырезанный из стеклоткани, и при умеренном отсасывании под вакуумом фильтруют гидролизат.). Весь фильтрат переносят в 2-х литровый стакан и доводят pH фильтрата до 8-9 прибавлением твердой гидроокиси натрия (17-20 г) при медленной перемешивании. Затем прибавляют такое количество 5%-ного водного раствора трилона Б при перемешивании (50 мл), чтобы pH фильтрата было 6-7. Фильтруют содержимое стакана через фильтр из Целита 545 (или из стеклоткани), приготовленный так, как это описано выше и промывают фильтр 100 мл дистиллированной воды. Фильтрат переносят в делительную воронку на 1 л, присоединяют ее к ионообменной хроматографической колонке и пропускают фильтрат через колонку со скоростью 5-10 мл/мин. Затем колонку промывают 25 мл дистиллированной воды, 200 мл 2,5%-ного водного раствора хлористого аммония и 50 мл дистиллированной воды. Скорость про-

хождение жидкости на этих стадиях через колонку 3-4 мл/мин. На этом этапе анализ может быть прерван и продолжен на следующий день при условии покрытия слоя ионообменной смолы водой. Затем элюируют дикват из колонки насыщенным водным раствором хлористого аммония со скоростью 1 мл/мин. Собирают первые 50 мл элюата в мерную колбу на 50 мл и перемешивают. Для определения 10 мл элюата помещают в стеклянную пробирку с притертой пробкой, приливают 2 мл восстанавливающего реактива, перемешивают и измеряют в течении 5 минут после прибавления восстанавливающего реактива оптическую плотность окрашенного раствора свободных радикалов диквата (окраска элюата зеленого цвета, образованная свободными радикалами диквата, стабильна в течении 5-7 минут и затем медленно исчезает) на спектрофотометре в киветах с $l=5$ см при 4-х длинах волн - 375, 379, 383 и 385 нм против раствора сравнения состоящего из 10 мл насыщенного водного раствора хлористого аммония и 2 мл восстанавливающего реактива. Оптическую плотность элюата E рассчитывают при помощи двух уравнений.

$$E_{379}^I = 3,79E_{379} - 2,28E_{375} - 1,52E_{385}$$

$$E_{379}^{II} = 2,49(2E_{379} - E_{375} - E_{383}).$$

Находят среднее значение оптической плотности элюата при 379 нм $(E_{379}^I + E_{379}^{II})/2$ и по калибровочному графику определяют концентрацию элюата.

Для построения калибровочного графика 10 мл раствора диквата определенной концентрации (растворы Б, В, Г и Д) помещают в стеклянные пробирки со шлифами, приливают 2 мл восстанавливающего реактива, перемешивают и измеряют оптическую плотность окрашенного раствора свободных радикалов диквата в киветах с $l=5$ см на спектрофотометре при длине волны 379 нм. В качестве раствора сравнения используют смесь 10 мл насыщенного водного раствора хлористого аммония и 2 мл восстанавливающего реактива. Оптическую плотность каждого раствора измеряют трижды, берут среднее арифметическое и строят график зависимости оптической плотности от концентрации растворов диквата. Полученный калибровочный график обрабатывают по методу наименьших квадратов и в дальнейшем анализе используют уравнение калибровочного графика для нахождения концентрации элюата. Это уравнение имеет следующий вид:

$$Y = A + BX,$$

где Y - оптическая плотность растворов диквата

X — концентрация растворов диквата, взятых для построения калибровочного графика, мкг/мл

A и B — коэффициенты, получаемые при обработке калибровочного графика по методу наименьших квадратов.

При определении диквата в масле для анализа берут 50 г и поступают так, как это описано при определении в семенах подсолнечника.

Перед проведением анализов необходимо проделать серию экспериментов по определению процента возврата диквата из проб семян и масла, к которым был прибавлен чистый дикват.

2.6. Обработка результатов анализа.

Для определения содержания диквата в анализируемых пробах пользуются следующей формулой

$$O = \frac{V}{P} \cdot C \cdot \frac{100}{R}, \text{ где}$$

O — содержание диквата в пробе, мкг/кг

V — объем элюата, мл

P — количество пробы, г

C — концентрация элюата, найденная по калибровочному графику, мкг/мл

R — процент определения (возврата) диквата, найденный предварительно, %.

3. Настоящие методические указания составлены и разработаны В.Д.Чмылем (ВНИИ гигиены и токсикологии пестицидов, полимерных и пластических масс, г.Киев).

4. Требования безопасности.

Соблюдаются требования безопасности обычно рекомендуемые для работы с химическими реактивами.

5. Литература.

I.

1961, 86, стр.569.

2. В.Д.Чмыль. Определение остаточных количеств диквата в воде. В сборнике "Методы определения пестицидов в воде", Гидрометеоиздат, Л., 1973, стр.112.

3. В.Д.Чмыль. Спектрофотометрическое определение диквата в воде, пищевых продуктах и кормах. В сборнике "Методы определения микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кормах и внешней среде", М., "Колос", 1977, стр.194.

Таблица

Метрологическая характеристика метода определения
диквата

Диапазон определяемых концентраций 0,05-0,1 мкг/кг

Анализируемая проба	Предел обнаружения, мкг/кг	Число параллельных определений	Размах вариирования %	Среднее значение определения, %
Семена подсолнечника, масло из семян подсолнечника	0,05	5	50-70	60

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
---	-----

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, монолинурана и их метаболитов в воде, почве и растительном материале 289
2. Методические указания по определению актеллика растительной продукции, почве и воде 296