

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).

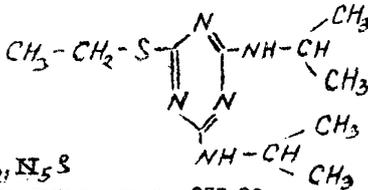
Методические указания согласованы и одобрены отделом перспективного планирования санэпидслужбы ИМПИТМ им.Е.И.Марциновского и лабораторным советом при Главном санитарно-эпидемиологическом управлении Минздрава СССР.

"Утверждаю"  
Заместитель Главного государственного  
санитарного врача СССР  
А.И.Зяченко  
"19" октября 1979г. №2092-79

Методические указания по определению  
котофора в семенах хлопчатника методом хроматографии в тонком слое

### I. Характеристика анализируемого пестицида

Котофор, 2-этил-тио-4,6-бис-(изопропиламино)-симм-триазин,  
TC 16068, санкап.



$C_{11}H_{21}N_5S$

Молекулярная масса 255,39.

Химически чистый препарат представляет собой белый порошок с температурой плавления 104-106°С. Трудно растворяется в воде (16 мг/л), хорошо - в органических растворителях - хлороформе, ацетоне, метаноле.

Технический препарат котофора представляет собой смачивающийся порошок, содержащий 80% действующего вещества.

Препарат котофор малотоксичен для теплокровных (для крыс LD<sub>50</sub> 4760 мг/кг, для мышей LD<sub>50</sub> 2800 мг/кг), относится к группе веществ умеренно кумулирующих (k<sub>кум.</sub> 2,6).

Док котофора в хлороформе мале 4,5 мг/кг, в жмыхе - 0,38 мг/кг. ПНК котофора в воде составляет 1,5 мг/л, а при поступлении в организм с водой 5,0 мг/л.

Как и прочие симм-триазины котофор стоек во внешней среде. В воде и воде он сохраняет свою активность от 10 до 14 месяцев в зависимости от внесенного количества.

## 2. Методика определения котофора в семенах хлопчатника методом тонкослойной хроматографии

### 2.1. Основные положения 2.1.1. Принцип метода

Методика основана на хроматографировании котофора в тонком слое пластинок "Силуфол" или тонком слое силикагеля КСК в системе н-гексан-ацетон или четыреххлористый углерод-диэтиловый эфир после экстракции метанолом и очистки экстракта 1 N соляной кислотой.

### 2.1.2. Метрологическая характеристика методики

Диапазон определяемых концентраций 0,06мг/кг-1,0мг/кг. Предел обнаружения 5мкг в анализируемой пробе, что соответствует 0,06мг/кг. Среднее значение определения стандартных количеств  $\bar{C} = 84\%$ , число параллельных определений  $n=5$ , дисперсия 28,6, стандартное отклонение  $\bar{S} = 5,348$ , величина точного измерения (доверительный интервал)  $\Delta_{0,95} = 5$ , относительное стандартное отклонение  $S_r \approx 5,9\%$  (по величине точного измерения). Среднее значение определения стандартных количеств и доверительный интервал среднего ( $84 \pm 5\%$ ) приведены для 3-х концентраций, находящихся в определяемом диапазоне концентраций (0,06мг/кг, 0,1мг/кг, 0,2мг/кг).

Определению остаточных количеств котофора в семенах хлопчатника близкие по строению и области применения пестициды (например, прометрин) не мешают.

## 2.2. Реактивы и материалы

Метилловый спирт, х.ч. ГОСТ 6995-67  
Ацетон, ч.д.а. ГОСТ 2603-71  
н-Гексан, х.ч. ТУ6-09-3375-73  
Хлороформ, ч.д.а. ГОСТ 3160-51  
Этиловый эфир, наркотичный  
Углерод четыреххлористый, х.ч. ГОСТ 20288-74  
Натрий серноокислый безводный, х.ч. ГОСТ 4166-66  
Силикагель КСК, ГОСТ 3956-76, ТУ6-09-2523-72  
Кальций серноокислый, ч.д.а. ГОСТ 3210-66  
Бромфеноловый синий водорастворимый, индикатор, ч.д.а.  
ТУ6-09-3719-74

Серебро азотнокислое, х.ч. ГОСТ 1277-75  
Лимонная кислота, х.ч. ГОСТ 3652-69  
Соляная кислота, х.ч. ГОСТ 3118-67  
Натр едкий, х.ч. ГОСТ 4328-66  
Фильтры бумажные II, Осм, ТУ6-09-1678-72  
Пластинки для хроматографии "Силуфол"(ЧССР)  
Вата обезжиренная (титроскопическая)  
Вода дистиллированная  
Раствор бромфенолового синего в ацетоне-0,4%  
Водный раствор азотнокислого серебра-2%  
Водный раствор лимонной кислоты-1%  
Водный раствор соляной кислоты-I н  
Водный раствор едкого натра-I н  
Стандартный раствор кофеина х.ч. в хлороформе - 100мкг/мл

### 2.3. Приборы, аппаратура, посуда

Аппарат для встряхивания жидкости в лабораторной посуде  
ТУ 64-I-1081-73  
Шкаф вытяжной химический  
Шкаф сушильный электрический общелaborаторного назначения  
ТУ 16-531-299-71  
Испаритель ротационный ИР-1М, ТУ 25-II-917-74  
Баня водяная ТУ 46-22-608-75  
Камера для опрыскивания  
Камера для хроматографирования ГОСТ 10565-75  
Нульверизатор стеклянный  
Воронка делительная на 250мл ГОСТ 8613-75  
Воронки простые конусообразные с коротким стеблем №5  
ГОСТ 8613-75, ТУ 25-II-1061-75  
Колбы лабораторные конические на 250мл ГОСТ 10394-72  
Колбы лабораторные круглодонные корочегорлые на 100мл  
ГОСТ 10394-72  
Колбы мерные с коническим шлифом на 100мл ГОСТ 1770-74  
Капильяры стеклянные  
Пипетки с делениями на 10мл ГОСТ 20292-74  
Микропипетки на 0,1мл с ценой деления 0,001мл  
Сито лабораторное с диаметром отверстий 2 мм  
Пластинки стеклянные для нанесения тонкого слоя сорбента  
90 x 120мм  
Колбы мерные с коническим шлифом на 1000мл ГОСТ 1770-74

## 2.4. Подготовка к определению

### 2.4.1. Приготовление стандартного и других растворов

Приготовление стандартного раствора. 10 мг котофора х.ч. растворяют в 100 мл хлороформа. В 1 мл такого раствора содержится 100 мкг котофора. Хранят в холодильнике в плотно закрытой склянке. Срок хранения 3 месяца. Химически чистый котофор можно получить из технического препарата. Способ очистки технического препарата, содержащего 80% действующего вещества, заключается в двукратной перекристаллизации из хлороформа. Полнота очистки контролируется по температуре плавления 104–106°С.

Приготовление 1н раствора соляной кислоты. 86 мл 36% соляной кислоты ( $d = 1,1789 \text{ г/см}^3$ ) доводят в мерной колбе до 1 л дистиллированной водой. Раствор можно приготовить из фиксаля. Хранить в прохладном месте в плотно закрытой склянке. Срок хранения 3 месяца.

Приготовление 1н раствора едкого натра. 40 г едкого натра растворяют в дистиллированной воде и доводят до 1 л. Рекомендуется использовать свежеприготовленные растворы едкого натра.

Приготовление 0,4%-ного раствора бромфенолового синего в ацетоне. 0,4 г бромфенолового синего растворяют в 125,9 мл ацетона. Хранят в холодильнике в плотно закрытой склянке. Срок хранения 2 недели.

Приготовление 2%-ного водного раствора азотнокислого серебра. 2 г азотнокислого серебра растворяют в 98 мл дистиллированной воды. Хранят в холодильнике в плотно закрытой склянке. Срок хранения 1 неделя.

Приготовление проявляющего реактива №1. Смешивают равные объемы 0,4%-ного раствора бромфенолового синего в ацетоне и 2%-ного водного раствора азотнокислого серебра. Рекомендуется свежеприготовленная смесь.

Приготовление 4%-ного водного раствора лимонной кислоты (проявляющий реактив №2). 4 г лимонной кислоты растворяют в 96 мл дистиллированной воды. Хранить в холодильнике в плотно закрытой склянке. Срок хранения 1 месяц.

#### 2.4.2. Подготовка хроматографических пластинок

Тщательно промытую содой, хромовой смесью, дистиллированной водой и высушенную стеклянную пластинку 90x120 мм протирают этиловым спиртом или диэтиловым эфиром и покрывают сорбционной массой, приготовляемой из 35 г силикагеля КСК, 2 г кальция сернокислого и 90 мл дистиллированной воды. Силикагель предварительно очищают от примеси. Для чего заливают на 18-20 часов разбавленной соляной кислотой (1:1), кислоту сливают, промывают силикагель водой и кипятят 2-3 часа с разбавленной азотной кислотой (1:1), промывают водопроводной водой, затем дистиллированной водой до нейтральной реакции промывных вод, сушат в сушильном шкафу 4-6 часов при температуре 130°C. Силикагель дробят и просеивают через сито 100 меш. Хранят в оклянке с притертой пробкой.

10 г сорбционной массы равномерно распределяют по всей поверхности пластинки путем ее покачивания. Сушат пластинки при комнатной температуре 18-20 часов. Хранят в эксикаторе.

#### 2.4.3. Условия хроматографирования и способ количественного определения

Пробу и стандартные растворы наносят на хроматографическую пластинку так, чтобы размер пятна не превышал 10-12 мм. Центр пятна должен находиться на расстоянии 15 мм от нижнего края пластинки. Нанесение пробы на пластинку производится с помощью шпатель с оттянутым концом или капилляров. Стандартные растворы наносятся микропипеткой. Пластинки с нанесенными пробами помещаются в хроматографическую камеру, представляющую собой стеклянный сосуд с притертой стеклянной крышкой, либо в эксикатор. Камера содержит смесь растворителей n-гексана и ацетона (10:3), либо четыреххлористого углерода и диэтилового эфира (4:1). Перед хроматографированием камера насыщается парами системы подвижных растворителей в течение 30 минут. После подъема фронта растворителей на высоту 10 см хроматографирование прекращается. В вытяжном шкафу удаляются пары растворителей. Затем обрабатывают хроматографическую пластинку в камере под вытяжным шкафом с помощью пульверизатора проявляющим реактивом #1. Пластинку подсушивают на воздухе и обрабатывают проявляющим реактивом #2.

Кототор обнаруживается на пластинках в виде синих пятен с следующими величинами R<sub>f</sub>:

Система подвижных растворителей	R <sub>1</sub>	
	Силикагель	Силуфол
Гексан + ацетон (10:3)	0,52 ± 0,01	0,50 ± 0,01
Четыреххлористый углерод + диэтиловый эфир (4:1)	0,21 ± 0,01	0,29 ± 0,01

Количество котофора в пробе определяют сравнением размеров и интенсивности окраски пятен пестицида на хроматограммах пробы и стандартного раствора.

#### 2.4.4. Отбор пробы

Отбор пробы производится в соответствии с "Правилами отбора проб для анализа пестицидов", рекомендуемыми специалистами СЗВ. Отобранные пробы семян хлопчатника должны содержаться в сухом месте, в укупоренной, защищенной от света (стеклянной или полиэтиленовой) таре.

В процессе подготовки к анализу семена хлопчатника необходимо освободить от волокон ваты, очистить от кожуры и измельчить.

#### 2.5. Проведение определения

50 г измельченных семян хлопчатника помещают в коническую колбу на 250мл, заливают метиловым спиртом до покрытия пробы и оставляют на ночь. Препарат трижды экстрагируют метиловым спиртом порциями по 75мл. Метаноловые экстракты объединяют и сливают их через слой безводного сернистого натрия. Упаривают метаноловый экстракт на водяной бане до небольшого объема (0,1 - 0,2мл). Остатку метилового спирта дают испариться полностью при комнатной температуре. К сухому остатку прибавляют 5мл 1н раствора соляной кислоты, тщательно очищая стенки колбы стеклянной палочкой. Смесь сливают в делительную воронку через слой ваты. Колбу еще трижды ополаскивают 1н раствором соляной кислоты по 5мл и сливают в ту же делительную воронку. Водный раствор котофора в концентрированной форме дважды промывают в делительной воронке хлороформом и органические вытяжки отбрасывают. Затем в делительную воронку приливают 1н раствор едкого натра до нейтральной реакции (по индикаторной бу-

маге). После этого в воронку прибавляют равный объем хлороформа, предварительно насыщенного водой и встряхивают 1-2 минуты. Хлороформный экстракт сливают через воронку с безводным сернистым натрием в колбу для отгонки растворителя. Экстракцию хлороформом повторяют трижды, сливая хлороформ в ту же колбу. Хлороформ отгоняют на водяной бане, либо на приборе для отгонки растворителя до небольшого объема (0,1 - 0,2 мл). Этот объем наносят на хроматографическую пластинку, после чего еще трижды ополаскивают колбу хлороформом (небольшими объемами), смывы также наносят на пластинку в центр пятна.

Затем пластинка (силикагелевая или "Силуфол") помещается в хроматографическую камеру. Далее определение проводят в условиях изложенных в подразделе 2.4.3.

## 2.6. Обработка результатов

Содержание остатков кофотора в анализируемой пробе вычисляют как среднее из двух параллельных определений.

Допустимое расхождение результатов параллельных определений не должно превышать 2,8x S.

Расчет содержания остаточных количеств кофотора проводят по формуле:

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

где: X - содержание кофотора в анализируемой пробе, мг/кг;

A - количество кофотора, найденное путем сравнения с стандартными количествами, мкг;

P - масса пробы, г.

## 3. Требования безопасности

При определении остаточных количеств кофотора необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с ядовитыми, взрыво- и огнеопасными веществами.

4. Методика разработана М.С. Петросян,

Л.А. Буянтян, С.Г. Геворкян (Арм. филиал ВНИИГИПТОКС, Ереван)

## 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-элюзивным 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
---	-----

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