

**ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ  
ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ  
БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОРНЯКАМИ**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ  
по определению микроколичеств  
пестицидов в продуктах питания,  
кормах и внешней среде**

**Данные методики апробированы и рекомендованы  
в качестве официальных Группой экспертов при Госкомиссии,  
болезнями растений и сорняками**

ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ  
ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ  
БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОРНЯКАМИ

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ  
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МИКРОКОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ  
В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, КОРМАХ И ВНЕШНЕЙ СРЕДЕ

Данные методики апробированы и рекомендованы  
в качестве официальных Группой экспертов при  
Госкомиссии, болезнями растений и сорняками

Москва- 1967 г.

Настоящие методические указания предназначены для санитарно-эпидемиологических станций и научно-исследовательских учреждений Минздрава СССР, а также ветеринарных, агрохимических, популяционно-токсикологических лабораторий Госагропрома СССР и лабораторий других Министерств и ведомств, занимающихся определением остаточных количеств пестицидов и биопрепаратов в продуктах питания, кормах и внешней среде.

Срок действия временных методических указаний истекает с момента утверждения гигиенических нормативов.

Методические указания апробированы и рекомендованы в качестве официальных Группой экспертов при Госкомиссии по химическим средствам борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками.

Методические указания согласованы и одобрены Лабораторным советом при Главном санитарно-эпидемиологическом управлении Минздрава СССР.

#### РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

И. Г. Александрова, Д. Б. Гиренко, А. А. Калашникова (зам. председателя),  
М. А. Кулисанова (председатель), Г. И. Кароткова, В. Б. Кривачук,  
Г. А. Хохолькова, А. М. Шмидтина.

"Утверждаю"

Заместитель Главного Государственного санитарного  
врача СССР

А.И.Зайченко

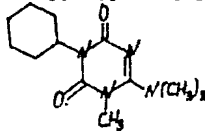
31 июля 1984 г.

№ 3065

ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ  
ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ВЕЛПАРА В ВОДЕ, ПОЧВЕ И  
ЛЕСНОМ РАЗНОТРАВЬЕ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ И ГАЗО-  
ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

## I. Краткая характеристика

Велпар (*Velpar*) - 3-циклогексил-6-(диметиламино)-1-метил-1,3,5-триазин-2,4(1H,3H)-дион. Активный ингредиент - ДРХ-3674 (гексазион). Структурная формула:



Эмпирическая формула  $C_{19}H_{20}N_4O_2$ . Молекулярная масса - 253,3.

Велпар - белое кристаллическое вещество с незначительным запахом. Температура плавления 115-117°C, давление пара -  $2,7 \cdot 10^{-5}$  Па при 25°C. Растворимость в воде - 33 г/л, ацетоне - 790 г/л, хлороформе - 388 г/л. Водные растворы стабильны при pH - 5,7,9 и температуре - 37°C.

Период полураспада от 2 до 6 месяцев. Выпускается в виде 90% порошка, 24 раствора и 10% таблеток. ПДК не установлены.

Рекомендуется для борьбы с сорняками и нежелательной растительностью при уходе за сосной обыкновенной, кедром сибирским, елью европейской, а также для уничтожения растительности на промышленных площадках, дорогах и аэродромах.

2. Методика определения вельпара в воде, почве и растительности, идущей на корм скоту, методом хроматографии в тонком слое и газо-жидкостной хроматографией

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода вельпара

Метод основан на определении методами газо-жидкостной и тонкослойной хроматографии после извлечения из анализируемой пробы органическим растворителем (дихлороформ, ацетон-вода) и очистке полученных экстрактов на колонке с сорбентами.

2.1.2. Метрологические характеристики для метода тонкослойной хроматографии

Диапазон определяемых на пластинке концентраций от 0,2 до 15 мкг.

Анализируемая проба	Размах варьирования в пробах стандартных количеств, %	Среднее значение определения стандартных количеств, %	Число параллельных определений	Доверительный интервал среднего при $P = 0,95$ и $n = 5$
Почва (расчет проведен для конц. 10 мкг на 100 г почвы). Предел обнаружения 1 мкг	74 - 94	84,8	5	$\pm 9,4$
Растительность, идущая на корм скоту (расчет проведен для конц. 0,5 мкг/кг) Предел обнаружения - 3 мкг	75 - 95	84,6	5	$\pm 3,7$

Метрологические характеристики для метода газо-жидкостной хроматографии

Диапазон определяемых концентраций: в почве 0,1-10,0 мкг/кг  
в воде - 0,01 - 10 мкг/л.  
Предел обнаружения - 0,01 мкг

Анализируемая проба	Концентрация препарата в пробе, мг/кг /в почве или мг/л /в воде/	Средние значения определенных стандартных количеств, %	Число параллельных определений	Стандартное отклонение, %	Относительное стандартное отклонение, %	Доверительный интервал среднего значения при $P = 0,95$ $n = 5$
Почва	0,10	92,8	5	5,0	5,4	$\pm 6,2$
	0,40	91,8	5	8,6	9,4	$\pm 10,2$
	1,00	92,4	5	10,4	11,3	$\pm 12,9$
Вода	0,01	92,0	5	16,4	17,8	$\pm 20,4$
	0,08	92,3	5	11,7	12,7	$\pm 14,4$
	0,10	91,0	5	8,1	8,9	$\pm 10,0$

### 2.1.3. Избирательность метода

Другие пестициды, в том числе гербициды из класса триазинов (атразин, симазин, пропазин, тербутилазин) определению велпара не мешают).

### 2.2. Реактивы, материалы и растворы

Ацетон, ч.д.а., ГОСТ 2603-79

Хлористоводородная кислота 0,1н, х.ч., ч.д.а., ч., ГОСТ 3118-77

Амиачная водная 25%-ная, ГОСТ 3760-79

Хлороформ, х.ч., ТУ 6-09-4263-76, свежеперегнанный (хранят в течение суток)

Этанол, ГОСТ 5962-81, х.ч.

Метанол, х.ч., ГОСТ 6995-77

Сульфат натрия безводный, х.ч., ГОСТ 4166-76

Хроматон *N-AW-DMS* (0,15 - 0,17 мм)

Метилсиликоновый эластомер *ОВ-1* (3%)

Азот газообразный, особой чистоты, ГОСТ 9293-74

Водород, из баллона или получаемый из генератора водорода

Воздух, из баллона или выгнетаемый компрессором.

Стандартный раствор велпара в метаноле концентрации 0,1 мг/мл для ГУХ (хранят в холодильнике в течение 3 месяцев)

Привилдский спирт, х.ч., ТУ-6-09-4344-77

Вода дистиллированная,  
 Этилацетат, ГОСТ 22300-76, х.ч.  
 Нитрат висмута, ч.д.в., ГОСТ 4110-75  
 Оксид алюминия для хроматографии, II ст. акт. ТУ 6-09-3916-75  
 Серная кислота, ч., ГОСТ 4204-77  
 Йодид калия, ГОСТ 4232-74, х.ч.  
 Силикагель ЛС 5/40 + 13% гипса (СНЕМАРОВ АРАНА-СРЕЧНОСЛАВ)  
 Уголь активированный БАУ (СКТ) для ТХС

Основной стандартный раствор готовят из химически чистого препарата в хлороформе. Концентрация - 1 мг/л, срок хранения 2 месяца. Рабочие стандартные растворы готовят из основного стандартного раствора; концентрации 0,1 мг/мл и 0,01 мг/мл.

Реактив Драганнорфа. 850 мг нитрата висмута растворяют в смеси состоящей из 40 мл дистиллированной воды и 10 мл 40% серной кислоты. К этому раствору прибавляют раствор, содержащий 8 г йодида калия в 20 мл воды. Непосредственно перед применением к 6 мл полученной смеси прибавляют 6 мл 20%-й серной кислоты и 3-4 мл воды.

### 2.3. Приборы, аппаратура и посуда

Газожидкостный хроматограф с пламенным ионизационным детектором  
 Вакуумный ротационный испаритель, ТУ 25-II-917-76  
 Встряхиватель электромеханический, ТУ 64-I-1081-73  
 Насос вакуумный водоструйный, ГОСТ 10696-63  
 Хроматографическая колонка стеклянная длиной 180 см и внутренним диаметром 0,4 мм  
 Воронка Бюхнера № I (65 мм), ГОСТ 9147-73  
 Колба Бунзена на 0,25 л, ТУ-25-II-435-69  
 Воронки делительные на 1 л, ГОСТ 8613-75  
 Воронки делительные на 0,25 л, ГОСТ 10054-75  
 Стакан на 0,1 л, ГОСТ 10394-72  
 Колбы плоскодонные ПКШ на 100мл, 250мл, 500мл, ГОСТ 10394-72  
 Воронки конусообразные № 4 /70мм/ и № 5 /100мм/ ГОСТ 8613-64  
 Цилиндры измерительные на 0,1; 0,25 и 0,5 л, ГОСТ 1770-64  
 Колбы круглодонные ККШ на 0,1, 0,25 и 0,5 л. ГОСТ 10394-72  
 Колбы мерные на 50 и 100 мл, ГОСТ 1770-74  
 Сито 0,5 мм из набора сит "Физприбор"  
 Секундомер, ГОСТ 16820-71  
 Бумага универсальная индикаторная, pH I-10

Фильтры бумажные, ТУ 609-1706-72

Фильтры бумажные плотные /омная лента/

Пульверизаторы стеклянные, ГОСТ 10391-74

Камера для хроматографирования,  $\varnothing$  75 см,  $h = 20$  см, ГОСТ 10565-74

Микрошпигетки, ГОСТ 177074

Бани водяная, ТУ 46-22-608-75

Термометр ртутный, ГОСТ 6079-51

Камера для опрыскивания, СТУ30-6192-62

Стеклянные пластинки размером 9x12 см

Колонки стеклянные  $\varnothing$  1,8 см,  $h \neq 18-10$  см.

#### 2.4. Подготовка к определению

##### 2.4.1. Отбор, хранение и доставка проб

Отбор и хранение проб производят в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб...", утвержденными заместителем Главного Государственного санитарного врача СССР А.И.Зайченко за № 2051-79 от 21 августа 1979 г.

##### 2.4.2. Получение чистого вещества велпара из технического препарата

5 г 90%-го технического препарата растворяют в 40 мл дистиллированной воды с добавлением 1,5 мл этанола при нагревании в термостойком стекле и непрерывном перемешивании. Горячий раствор фильтруют через воронку Бюхнера с помощью вакуумного водоструйного насоса. Полученный раствор охлаждают. Образовавшийся кристаллический осадок отфильтровывают и высушивают в сушильном шкафу при 50°C до постоянного веса. Хроматографически чистый велпар (Т пл. - 116°C) используют для приготовления стандартного раствора.

2.4.3. Подготовка пластинок. На тщательно вымытые и обезжиренные эфиром и ацетоном стеклянные пластинки наносят 20-15 г сорбционной массы (40г силикагеля с гипсом и 80 мл воды) и равномерно распределяют по всей поверхности пластинки. Пластинки сушат в горизонтальном положении в течение 24 часов. Хранят в эксикаторе.

2.4.4. Подготовка колонок. Вымытые и высушенные колонки заполняют ватой (0,5 см), осторожно постукивая по стенкам, углем (3 см), сульфатом натрия безводным (4 см), оксидом алюминия для хроматографии (11 см).



### 2,5.1. Проведение определения методом газо-жидкостной хроматографии

П о ч в а. Пробу почвы (100 г) помещают в плоскодонную колбу на 0,5 л и экстрагируют 250 мл смеси ацетон-вода в соотношении 8:2 на электромеханическом встряхивателе в течение 1 часа. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр в круглодонную колбу на 0,5 л. Экстракцию повторяют еще 2 раза, добавляя к почве 100 мл той же смеси и проводя каждый раз встряхивание по 1 часу. Объединенный ацетон-водный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани 40°C. Сухой остаток растворяют в 1-2 мл ацетона, добавляют 20 мл 0,1 н раствора хлористоводородной кислоты и фильтруют через плотный бумажный фильтр в делительную воронку. Колбу и фильтр промывают дважды по 15 мл того же раствора хлористоводородной кислоты. Фильтрат подщелачивают 8-10 каплями 25%-ного водного аммиака до pH 8-9. Определяемое вещество экстрагируют из фильтрата тремя порциями по 30 мл сведеперегнанного хлороформа. Объединенный хлороформный экстракт фильтруют через безводный сульфат натрия на плотном бумажном фильтре в круглодонную колбу на 100 мл и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха. Сухой остаток растворяют в 0,3 мл метанола, тщательно обмывая им колбу и аликвоту (1-10 мкл) вводят в хроматограф.

В о д а. Пробу воды (500 мл) помещают в делительную воронку на 1 л и трижды экстрагируют сведеперегнанным хлороформом каждый раз используя для этого в количестве 75 мл и встряхивают делительную воронку по 2 мин. Объединенный хлороформный экстракт фильтруют через бумажный плотный фильтр с безводным сульфатом натрия в круглодонную колбу на 0,25 л и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха. Сухой остаток растворяют в 0,3 мл метанола, тщательно обмывая им колбу и полученный раствор хроматографируют.

#### 2.5.1.1. Условия хроматографирования для метода газо-жидкостной хроматографии

Хроматограф с ионизационно-пламенным детектором. Подложка стеклянная длиной 180 см, внутренний диаметр 4 мм, заполнена хроматоном *N-AW-DMCS* (0,15-0,17 мм) с 3% *OV-1*. Скорость движения ленты самописца 0,5 см/мин. Расход газов: азота - 35 мл/мин водорода - 45 мл/мин, воздуха - 250 мл/мин. Температура термоста-

тов колонки, детектор - испарителя - 250°C. Линейность детектирования соблюдается в пределах 1-10 нг. Время удерживания велпара 4 мин.30сек. ± 7 сек.

### 2.5.1.2. Обработка результатов анализа методом газо-жидкостной хроматографии

Содержание велпара в анализируемых пробах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C \cdot V_1 \cdot S_2 \cdot V_3}{S_1 \cdot V_2 \cdot P \cdot K}$$

- где: C - концентрация стандартного раствора, нг ;  
 $V_1$  - объем стандартного раствора, вводимого в хроматограф, мкл;  
 $V_3$  - общий объем экстракта, мл;  
 K - коэффициент открываемости, определяемый предварительно (т.е. средние значения определения заданных количеств велпара в почве, воде, выраженные в долях единицы);  
 $V_2$  - объем раствора анализируемой пробы, вводимого в хроматограф, мкл;  
 X - количество препарата в пробе, мг/л, мг/кг;  
 $S_2$  - площадь пика анализируемой пробы, мм<sup>2</sup>;  
 $S_1$  - площадь пика стандартного раствора, мм<sup>2</sup>;  
 P - навеска анализируемой пробы, г или объем воды, мл

### 2.5.2. Экстракция и очистка на колонке для метода тонкослойной хроматографии

П о ч в а. Исследуемому воздушносухую навеску почвы - 100гр. помещают в плоскодонную колбу, заливают 100-150 мл хлороформа и оставляют на 1 час, периодически помешивая (или же встряхивая в течение 30 мин на электромеханическом встряхивателе). Затем экстракт фильтруют через бумажный фильтр, пробу также переносят на фильтр и промывают 2 раза хлороформом порциями по 10-15 мл. Полученный фильтрат упаривают в ротационном испарителе до объема 5 мл при температуре бани не более 60°C. Оставшиеся 5-7 мл фильтрата вносят в хроматографическую колонку. Элюируют препарат смесью рст-

ворителей хлороформ-ацетон 10:1. Первую фракцию - 10 мл отбрасывают, последующие 50 мл собирают. Упаривают в ротационном испарителе до объема 0,2-0,3 мл.

Работительность. Исследуемую навеску растительности - 20 гр измельчают, помещают в плоскодонную колбу, заливают 150-200 мл хлороформа и оставляют на 1 час, периодически встряхивая. Фильтруют экстракт через бумажный фильтр с сульфатом натрия. Пробу также переносят на фильтр и промывают 2 раза хлороформом порциями по 10-15 мл. Фильтрат упаривают в ротационном испарителе досуха, растворяют сухой остаток небольшим количеством ацетона и оставляют на ночь в холодильнике. Затем отфильтровывают воск через бумажный фильтр с натрем сернистым безводным, осадок на фильтрате промывают охлажденным ацетоном. Очистку проводят в хроматографической колонке так же как и для экстрактов из почвы. После очистки в колонке собирают первые 40 мл и упаривают до объема 0,2 - 0,3 мл в ротационном испарителе.

#### 2.5.2.1. Хроматографирование в тонком слое.

Оставшиеся 0,2-0,3 мл фильтрата наносят на пластинку (если предполагаются количества препарата превышающие 15 мкг, то на пластинку наносят аликвоту). Колбу дважды промывают хлороформом порциями по 0,2 мл и также наносят на пластинку. В качестве свидетеля на ту же пластинку, что и пробу наносят рабочий стандартный раствор препарата в количестве, соответствующем предполагаемому количеству препарата в пробе.

Пробы доочищают хроматографируя в системе этилацетат-метанол 9:1. После того, как пластинка просохнет в вытяжном шкафу (20 мин) ее помещают в систему пропанол-вода 10:1 (фронт растворителя в первой системе поднимается на 10 см, во второй на 8 см). Сушат пластинки в вытяжном шкафу (до исчезновения запаха).

Затем хроматограмму помещают в камеру для опрыскивания и проявляют реактивом Драгендорфа. Препарат проявляется в виде оранжевых пятен на бледно-желтом фоне с  $R_f = 0.7 \pm 0.06$ . Оценивают визуально в течение 20 минут по размеру пятна и интенсивности окраски.

Пропорциональная зависимость количества препарата от площади пятна наблюдается в интервале от 0,2 мкг до 15 мкг.

### 2.5.2.2. Обработка результатов анализа для метода тонкослойной хроматографии

Содержание пестицида в пробе ( $X$  мг/кг) рассчитывают по формуле:

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

где:  $A$  - содержание пестицида в пробе, найденное по сравнению со стандартом, мкг;

$P$  - масса пробы, взятая для анализа (г)

### 2.6. Требования техники безопасности

Необходимо соблюдать правила техники безопасности, рекомендованные при работе с химическими веществами.

### 2.7 Разработчики

Вотсенина И.М., Маньяк П.А. (ВНИИ гигиены и токсикологии пестицидов, полимеров и пластических масс, г. Киев), Сынтин П.А., Дарков А.В., Мажохлова Л.И. (Ленинградский НИИ лесного хозяйства, г. Ленинград)

### 2.8 Апробаторы

Карпатский филиал Укр НИИ лесного хозяйства