Министерство сельского хозяйства
Российской Федерации

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

Сборник № 21
Часть 1-ая

МОСКВА
ЦЕНТР НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ,
ПРОПАГАНДЫ И РЕКЛАМЫ
1994 г.

gost.e-ecolog.ru

Министерство сельского хозяйства
Российской Федерации

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

Сборник № 21
Часть 1-ая

МОСКВА
ЦЕНТР НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ,
ПРОПАГАНДЫ И РЕКЛАМЫ
1994 г.

Государственная комиссия по химическим средствам борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками

Редакционная коллегия:

Новикова К.Ф.-начальник сектора ННХСЗР; Калинин В.А.-к.с.н., профессор, зав.кафедры ТСХА; Гиренко Д.Б.-к.х.н., зав.аналитической лаборатории УКР ВНИИГИНТОКС; Борисов Г.С.-зав. КТЛ РРСТАЗР; Устинова Т.Н.-ведущий специалист КТЛ РРСТАЗР.

Настоящие методические указания предназначены для санитарно-эпидемиологических станций и научно-исследовательских учреждений Минздрава РФ, а также ветеринарных, агрохимических, контрольно-токсикологических лабораторий Минсельхоза РФ и лабораторий других ведомств, занимающихся определением остаточных количеств пестицидов, регуляторов роста растений и биопрепаратов в продуктах питания, кормах и внешней среде.

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

Ответственный за выпуск - Орехов Д.А., заместитель председателя Госхимкомиссии -
тел. 207-63-90

Сборник подготовлен к изданию Российской республиканской станцией защиты растений "Главхимзащиты" МСХ РФ
г.Раменское Московской обл., ул.Нефтегазосъемки 11/41 тел.(246) 3-09-52

ОГЛАВЛЕНИЕ

Хлорорганические пестициды стр.

1. Методические указания по групповой идентификации хлорорганических пестицидов и их метаболитов в биоматериале, продуктах питания и объектах окружающей среды методом адсорбционной высокоэффективной жидкостной хроматографией.

29 июля 1991г. № 6129-91.....9..

2. Временные методические указания по определению модауна в эфирных маслах методом газожидкостной хроматографии.

29 июля 1991г, № 6109-91.....18..

Фосфорорганические пестициды

3. Методические указания по определению бициклада в растительном материале хроматографией в тонком слое.

29 июля 1991г, № 6113-91.....26...

4. Временные методические указания по определению офтанола-Т (по изофенфосу) в воде, почве, зерне и семенах сахарной свеклы.

29 июля 1991г, № 6105-91.....31...

5. Временные методические указания по определению метаболитов ФОП, производных тио- и дитиофосфорных кислот в биоматериале методом тонкослойной и газожидкостной хроматографии.

29 июля 1991г, № 6072-91.....36....

6. Методические указания по определению метаболитов фосфамида в биологических средах методом тонкослойной хроматографией.

29 июля 1991г, № 6133-91.....48....

7. Методические указания по определению этримфоса в зерновых культурах методом газожидкостной хроматографии.

29 июля 1991г, № 6129-91.....57....

8. Методические указания по газохроматографическому определению остаточных количеств этамона в столовой и сахарной свекле,зеленой массе

растений и почве.

29 июля 1991г, № 6094-91.....62.....

9. Методические указания по определению эфаля (этилфосфита алюминия и фосфористой кислоты) в растительных культурах, продуктах их переработки, воде, почве методом газожидкостной хроматографии.

29 июля 1991г, N 6132-91.....70...

Пиретроиды

10. Временные методические указания по определению изатрина в растительном материале методом тонкослойной хроматографии.

29 июля 1991г, N 6070-91.....85....

11. Временные методические указания по определению пиретроидов (перметрина, циперметрина, фенвалерата и декаметрина) в молоке и мясе методом газожидкостной хроматографии.

29 июля 1991г. N 6093-91.....91...

12. Временные методические указания по определению суми-α в биологическом материале методом газожидкостной хроматографии.

29 июля 1991г, N 6101-91.....103....

Гетероциклические соединения

13. Временные методические указания по определению остаточных количеств азовита в зерне злаковых, зеленой массе растений, сахарной свекле, яблоках, почве и воде газожидкостной и тонкослойной хроматографией.

29 июля 1991г, N 5371-91.....110.....

14. Методические указания по определению байфидана в зерновых и лекарственных культурах, воде и почве методами газожидкостной и тонкослойной хроматографии.

29 июля 1991г, N 6131-91.....123....

15. Методические указания по определению бутизана С в воде и почве ме-

тодом газожидкостной хроматографии.

29 июля 1991г, N 6139-91.....131....

16. Временные методические указания по хроматографическому определению ивина и его метаболита, 2,6-лутидина в воде, овощах (картофель,огурцы,томаты).

29 июля 1991г, N 6079-91.....136.....

17. Временные методические указания по хроматографическому определению ивина в биологическом материале.

29 июля 1991г, N 6078-91.....143.....

18. Временные методические указания по определению остаточных количеств ивина и его комплексов в воде методом тонкослойной хроматографии.

29 июля 1991г. N 6077-91.....149.....

19. Временные методические указания по определению кентавра в воде методом хроматографии в тонком слое.

29 июля 1991г, N 6100-91.....155....

20. Временные методические указания по определению лентаграна в эфирных маслах методом тонкослойной хроматографии.

29 июля 1991г, N 6111-91.....162.....

21. Временные методические указания по определению рейсера в эфирных маслах лаванды и мяты методом газожидкостной хроматографии

29 июля 1991 г, N 6074-91.....168.....

22. Методические указания по определению топаза в сельскохозяйственных культурах газожидкостной и тонкослойной хроматографией.

8 июня 1989г, N 5009-89.....174....

23. Временные методические указания по определению харелли в воде методом хроматографии в тонком слое.

29 июля 1991г, N 6102-91.....182...

24. Временные методические указания по определению экспромта в воде методом хроматографии в тонком слое.

29 июля 1991г, N 6107-91.....191...

25. Методические указания по определению эллипса в почве, зерне зерновых культур методами газожидкостной и тонкослойной хроматографии.

29 июля 1991г, N 6273-91.....199...

Нитрофенолы и их производные

26. Методические указания по определению акрекса и диносеба в крови и моче тонкослойной хроматографией.

4 октября 1988г, N 4707-88.....210...

27. Методические указания по определению трефлана в зеленой массе и зерне зерновых культур методом газожидкостной хроматографии.

29 июля 1991г, N 6125-91.....215..

Производные мочевины и карбаминовой кислоты

28. Временные методические указания по определению остаточных количеств димилина в яблоках тонкослойной хроматографией.

29 июля 1991г, N 6075-91.....222..

29. Временные методические указания по определению остаточных количеств картолина-2 в зерне ячменя, пшеницы и других злаков,гречихи, бобах сои,сухих кормовых травах, почве и воде тонкослойной хроматографией.

29 июля 1991г. N 6097-91.....228.

30. Методические указания по определению картолина-2 в биосубстратах методом тонкослойной хроматографией.

29 июля 1991г, N 6115-91.....240.

Алканкарбоновые кислоты и их производные

31. Методические указания по ускоренному определению 2,4-Д и ТХА в биоматериале (органы и ткани мелких наземных и почвенных животных) методом газожидкостной хроматографии.

29 июля 1991г, N 6128-91.....247..

32. Методические указания по определению 2,4-Д в воде методом обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии.

29 июля 1991г. N 6127-91.....253..

Прочие пестициды

33. Временные методические указания по определению набу в эфирных маслах методом тонкослойной хроматографии.

29 июля 1991г, N 6110-91.....260..

34. Временные методические указания по определению остаточных количеств нафталевого ангидрида в зерне кукурузы, льна и воде тонкослойной хроматографией.

29 июля 1991 г, N 6096-91.....265...

Методические указания по измерению концентраций пестицидов и полупродуктов их получения в воздухе рабочей зоны

1. Методические указания по газохроматрографическому измерению концентраций бутизана в воздухе рабочей зоны.

29 июля 1991г, N 6138-91.....272....

2. Методические указания по хроматографическому измерению концентраций виджила в воздухе рабочей зоны.

26 февраля 1991г, N 5325-91.....276....

3. Методические указания по хроматографическому измерению концентраций глина в воздухе рабочей зоны.

29 июля 1991г, N 6134-91.....281.....

4. Временные методические указания по хроматографическому измерению концентраций грамекса в воздухе рабочей зоны.

29 июля 1991г. N 6082-91.....285.....

5. Временные методические указания по хроматографическому измерению концентраций гранстара в воздухе рабочей зоны.

29 июля 1991г, N 6090-91.....289....

6. Методические указания по измерению концентраций оксиме дикамбы в воздухе рабочей зоны тонкослойной хроматографией.

29 июля 1991г, N 6117-91.....295.....

7. Временные методические указания по хроматографическому измерению концентраций дикната и адила в воздухе рабочей зоны.

29 июля 1991г, N 6154-91.....300.....

8. Методические указания по измерению концентраций C_7- C_9 - эфиров 2,4-ДМ; 2,4-Д и 2,4,5 - ТП- кислот в воздухе рабочей зоны методом тонкослойной хроматографии.

29 июля 1991г, N 6119-91.....308.....

9. Временные методические указания по измерению концентраций дуала в воздухе рабочей зоны методом фотометрии, тонкослойной и газожидкостной хроматографии.

29 июля 1991 г, N 6086-91.....314.....

10 Временные методические указания по хроматографическому измерению концентраций кентавра в воздухе рабочей зоны

29 июля 1991 г, № 6085-91.....323.....

11.Временные методические указания по хроматографическому измерению концентраций лондакса в воздухе рабочей зоны.

29 июля 1991г, N 6104-91.....329.....

12.Методические указания по хроматографическому измерению концентраций 4-нитро-о-ксилола и 3-нитро-о-ксилола в воздухе рабочей зоны.

29 июля 1991г, N 6116-91.....334.....

13.Методические указания по газохроматографическому измерению концентраций омайта в воздухе рабочей зоны.

29 июля 1991г, N 6269-91.....339....

14.Временные методические указания по газохроматографическому измерению концентраций офтанола-Т (по изофенфосу) в воздухе рабочей зоны

29 июля 1991г, N 6087-91.....344....

15.Методические указания по хроматографическому измерению концентраций 4-родан-2-нитроанилина в воздухе рабочей зоны.

29 июля 1991г, N 6118-91.....349.....

16.Временные методические указания по измерению коонцентраций тиадиазола в воздухе рабочей зоны методом тонкослойной хроматографии

29 июля 1991г, N 6084-91.....354.....

17.Временные методические указания по хроматографическому измерению концентраций тотрила в воздухе рабочей зоны.

29 июля 1991г, N 6089-91.....358.....

18.Временные методические указания по измерению концентраций фоликура в воздухе рабочей зоны методом тонкослойной хроматографии

29 июля 1991г, N 6112-91.....362.....

19.Временные методические указания по газохроматографическому измерению концентраций фюзилада в воздухе рабочей зоны.

29 июля 1991г, N 6088-91.....369.....

20.Временные методические указания по хроматографическому измерению концентраций харэлли в воздухе рабочей зоны.

29 июля 1991г, № 6071-91. ....373.....

21.Временные методические указания по измерению концентраций экспромта в воздухе методом газожидкостной хроматографии

29 июля 1991г, № 6081-91.....378.....

22.Временные методические указания по хроматографическому измерению концентраций эллипса в воздухе рабочей зоны.

29 июля 1991г, № 6083-91.....383.....

23.Методические указания по измерению концентраций эфаля в воздухе рабочей зоны фотометрическим и газохроматографическим методом.

29 июля 1991г, № 6120-91.....387.....

ХЛОРОРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

Утверждено Министерством
здравоохранения СССР

" 29"июля 1991 г
№ 6072-91

ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ МЕТАБОЛИТОВ ФОП,ПРОИЗВОДНЫХ ТИО-И ДИТИОФОСФОРНЫХ КИСЛОТ В БИОМАТЕРИАЛЕ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ И ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

1.Краткая характеристика препарата

Производные тио-и дитиофосфорных кислот являются основными метаболитами фосфорорганических пестицидов. Характеристика метаболитов ФОП представлена в таблице 1.

Метаболиты ФОП практически нерастворимы в воде, растворимы в ацетоне диэтиловом эфире,этилацетате, спиртах. $ЛД_{50}$ для белых крыс диметилдитиофосфорной кислоты -1460 мг/кг, карбофоса 2000 мг/кг (перорально).

2.Методика определения метаболитов ФОП,производных тио- и дитиофосфорных кислот в биологическом материале

2.1.Основные положения

2.1.1.Принцип метода

Методика основана на определении алкилпроизводных тио- и дитиофосфорных кислот методом тонкослойной и газо-жидкостной хроматографии после экстракции всех анализируемых соединений из биосубстратов этилацетатом (10млх3).

ТСХ - определение проводят на пластинках "Силуфол" в подвижной фазе (ПФ) гексан:ацетон (3:1).В качестве проявляющих реагентов использовали:

1)4-(п-нитробензил)пиридин + тетраэтиленпентамин
(синие пятна на белом фоне);

2)Тиокетон Михлера + хлорамин
(салатовые пятна на желтом фоне);

Разработчики:И.Л.Ястреб,ВНИИГИНТОКС,М.А.Клисенко,КНИИГТ и ПЗ,г.Киев

3)2,6-дибром-N-хлорхинонимин

(красно-кирпичные пятна на белом фоне);

4)Бромкрезоловый зеленый

(желтые пятна на зеленом фоне);

5)Нингидрин

(красные пятна на белом фоне);

6)Диметиламинобензальдегид

(белые пятна на желтом фоне).

ГЖХ определение проводят на газовом хроматографе "Цвет-100", снабженным термоионным детектором. В качестве неподвижной фазы используют 3% OV-17 на хроматоне N-AW-HMDCS.Разделение данных метаболитов проводят в изотермическом режиме при Тк=120°С,Т исп=160°С.

2.1.2.Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика метода определения метаболитов ФОП при внесении веществ in vitro в организм и ткани животных, мочу, кровь приведена в таблице П.

2.1.3.Избирательность метода

Фосфорорганические пестициды не мешают определению амилпроизводных тио- и дитиофосфорных кислот.

2.2.Реактивы и растворы

Этилацетат, х.ч.,ГОСТ 22300-76

Этиловый спирт, ректификат, 96%-ный, ТУ 6-09-1710-77

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

4-(п-Нитробензил)пиридин, ч, ТУ 6-09-1593-74

Тетраэтиленпентамин, ч, ТУ 6-09-8293-73

Тиокетон Михлера

Хлорамин

2,6-Дибром-N-хлорхинонимин, ТУ 6-09-0563-73

Бромкрезоловый зеленый, ТУ 6-09-4530-77

Нингидрин, ТУ 6-09-10-1384-79

Диметиламинобензальдегид, чда, ТУ 6-09-3272-77

Проявляющие реактивы: № 1 0,2% раствор 4-(п-нитробензил)пиридина в ацетоне и 10% раствор тетраэтиленпентамина в ацетоне; № 2 0,1% водный раствор хлорамина и 0,1% метанольный раствор тиокетона Михлера; № 3 0,5% раствор 2,6-дибром-N-хлоркинонимина в гексане; № 4 0,3% раствор бромкрезолового зеленого в 80% метаноле смешивают с 8 каплями 30% раствора NaOH на 100 мл раствора; № 5 0,25% раствор нингидрина в спирте; № 6 10 мл 0,25% раствора п-диметиламинобензальдегида в этаноле смешивают перед употреблением с 1 мл ледяной уксусной кислоты.

Ацетон, х.ч.,ГОСТ 2603-79,свежеперегнанный

Гексан, х.ч., ТУ 6-09-3375-78, свежеперегнанный

Метиловый спирт, х.ч., ГОСТ 6996-77

Натрий гидроксид, х.ч., ГОСТ 4328-77

Уксусная кислота, осч, ГОСТ 18270-72, ледяная

Неподвижная фаза: 3% OV-17 на хроматоне N-AW-HMDCS (0,16-0,20 мм, Хемапол, ЧССР)

Азот особой чистоты, содержание O_2 не более 0,003%,ГОСТ 9293-79

Водород газообразный из баллона, ГОСТ 3022-80

Воздух газообразный из баллона,ГОСТ 9-010-80 или нагнетаемый компрессором

Основные стандартные растворы метаболитов ФОП в ацетоне по 100 мкг/мл.Хранят в холодильнике 2 мес.Рабочие стандартные растворы метаболитов ФОП, производных тио- и дитиофосфорной кислот по 100 мкг/мл и 1 мкг/мл.Хранят в холодильнике в течение 2-х месяцев.

2.3.Приборы и посуда

Газовый хроматограф с термоионным детектором (ТИД) марки "Цвет-100"

Микроизмельчитель тканей РТ-2, ТУ 64-1-1505-79

Прибор для отгонки растворителей (ротационный вакуумный испаритель) типа ИР-1-М, ТУ 25-11-917-76 или аналогичный

Микрошприцы на 10 мкл, МШ-10, ТУ 5Е-2-833.024

Механический встряхиватель, ТУ 64-1-1081-73 или аналогичный

Хроматографическая камера с притертой крышкой,ГОСТ 25336-82

Мерные колбы,ГОСТ 1770-74 на 100 и 50 мл

Пипетки на 1, 5, 10 мл, ГОСТ 20292-74

Пробирки с пробками на шлифах,градуированные,ГОСТ 1770-74 на 10 мл

Круглодонные колбы,ГОСТ 25336-82,на 100, 50 мл

Плоскодонные колбы,ГОСТ 25336-82,на 100 мл

Чашки Петри,ГОСТ 25336-82

Мерные цилиндры,ГОСТ 1770-74,на 100 мл

Делительные воронки на 100, 250 мл, ГОСТ 25336-82

Воронки химические, ГОСТ 25336-82

2.4.Подготовка и определение

2.4.1.Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб для определения микроколичеств пестицидов в сельскохозяйственной продукции, продуктах питания и объектах окружающей среды", утвержденными Заместителем Главного Государственного санитарного врача СССР 21.08.1979 г за № 2051-79.

2.4.2.Подготовка к определению

Хроматографические камеры за 1 час до начала хроматографирования заполняют смесью растворителей гексан-ацетон (3:1) для подвижной фазы.Обьем подвижного растворителя в камере должен по высоте находиться не выше , чем 1 см от уровня дна камеры. Для ГЖХ-определения колонка заполняется общепринятым в хроматографии способом, кондиционируется в течение 48 часов при температуре

на 20° выше рабочей температуры колонки.

2.5.Описание определения

2.5.1.Экстракция и очистка экстракта

Органы и ткани (печень, почки, легкие, головной мозг)

Исследуемые органы и ткани измельчают в микроизмельчителе тканей или на мясорубке.Отбирают 2-5 г средней пробы, заливают в зависимости от взятой навески 15-50 мл этилацетата и оставляют на 1 час периодически перемешивая пробу стеклянной палочкой или ставят на 30 мин на аппарат для встряхивания.Затем растворитель сливают в круглодонную колбу для упаривания, фильтруя экстракт через фильтр с безводным сульфатом натрия.Заливают пробу новой порцией растворителя и экстрагируют еще 30 мин.Экстракт объединяют. Упаривают экстракт на ротационном вакуумном испарителе при температуре водяной бани 40-45°С до 1 мл.Переносят остаток в мерную пробирку со шлифом, ополаскивая колбу небольшими порциями (по 0,3-0,4 мл) этилацетата.Доводят объем в пробирке этилацетатом точно до 2 мл, перемешивают и аликвоту хроматографируют.

Кровь. 2-5 мл цельной крови выливают в фарфоровую чашку. Затем прибавляют при непрерывном помешивании безводный сернокислый натрий (20 г) и тщательно растирают пестиком.Приливают20-30 мл этилацетата и перемешивают пробу с этилацетатом в течение 10 мин. Сливают этилацетат в колбу для отгонки растворителей,фильтруя через фильтр "красная лента".Экстракцию повторяют еще раз. Экстракты объединяют, упаривают на ротационном испарителе при температуре бани 40-45 °С до 1-2 мл.Переносят остаток в мерную пробирку и доводят объем в пробирке этилацетатом до 2 мл. Аликвоту хроматографируют.

Моча. 20 мл мочи переносят в делительную воронку, прибавляют 20 мл этилацетата. Осторожно встряхивают в течение 2 мин. Дают отсто-

ятся. Отделяют верхний слой этилацетата, сливая его через сернокислый натрий. Операцию экстрагирования повторяют дважды. Объединенные экстракты переносят в колбу для отгонки растворителей и далее поступают, как описано для крови.

2.5.2. Хроматографическое определение

Условия хроматографического определения

ТСХ.

Остаток после концентрирования рабочей пробы наносят с помощью капилляра на пластинку "Силуфол". Аналогичным путем наносят серию стандартных растворов.

Хроматограмму развивают в системе гексан–ацетон (3:1). После развития хроматограммы пластинку сушат, а затем проявляют одним из проявляющих реагентов.

При проявлении пластин проявляющим реагентом №1 хроматограмму сначала обрабатывают 0,2% раствором 4-(п-нитробензил)пиридина в ацетоне. Затем помещают в термостат при температуре 110°С в течение 10 мин и обрызгивают 10% раствором тетраэтиленпентамина в ацетоне. Метаболиты проявляются в виде насыщенно-синих пятен на белом фоне с R_f : ДМТФ – 0,22; ДЭТФ – 0,60; ДМДТФ – 0,36; ДЭДТФ – 0,80. Линейный диапазон определения 0,1–2 мкг.

При проявлении хроматограмм проявляющим реагентом № 2 хроматограмму обрабатывают 0,1% водным раствором хлорамина и через 10 мин 0,1% раствором тиокетона Михлера в метаноле или этаноле. Зоны локализации метаболитов обнаруживаются в виде салатных пятен на желтом фоне. Линейный диапазон определения 0,1–10 мкг.

При проявлении пластин проявляющим реагентом № 3 пластины обрабатывают 0,5% раствором 2,6-дибром-N-хлорхинонимина в гексане и нагревают 3–5 мин при температуре 110–140°С. Изучаемые соединения

образуют красные пятна на белом фоне. Линейный диапазон - 1-20 мкг.

Проявляющий реактив № 4 готовят перед опрыскиванием смешиванием 0,3% раствора бромкрезолового зеленого в 80% метаноле с 8 каплями 30% раствора NaOH на 100 мл раствора. После опрыскивания тио- и дитиофосфорные кислоты проявляются в виде желтых пятен на зеленом фоне. Линейный диапазон определения 1-20 мкг.

При проявлении пластинки проявляющим реактивом № 5 10 мл 0,25% раствора нингидрина в спирте смешивают с 1 мл концентрированной уксусной кислоты и обрабатывают пластинку. Метаболиты ФОП проявляются в виде красных пятен на белом фоне. Линейный диапазон определения - 1-10 мкг.

При проявлении хроматограмм проявляющим реагентом № 6 смешивают 10 мл 0,25% раствор п-диметиламинобензальдегида в этаноле с 1 мл ледяной уксусной кислоты и равномерно обрабатывают пластинку. Затем помещают в сушильный шкаф, нагретый до температуры 110°С на 7-10 мин. Метаболиты образуют белые пятна на желтом фоне.

ГЖХ

Хроматограф марки "Цвет-100" с термоионным детектором;

Колонка стеклянная спиральная, длина 1 м, диаметр 3 мм, заполненная 3% OV-17 на хроматоне N-AW-HMDCS (0,16-0,20 мм);

Рабочая шкала электрометра при работе с ТИД 2.10^{-10} а;

Скорость протяжки диаграммной ленты 240 мм/час;

Расход газа-носителя азота 22 мл/мин, водорода 14-17 мл/мин; воздуха 400 мл/мин;

Температура колонки 120°С, температура испарителя 160°С.

Время удерживания и пределы обнаружения исследуемых соединений при указанных выше условиях ГЖХ определения приведены в таблице 3.

2.6. Обработка результатов

Метод ТСХ

Количественное определение проводят путем сравнения площади и интенсивности пятен рабочей пробы и серии стандартов.

Содержание метаболитов в анализируемой пробе X в мг/кг вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C \times V}{Va \times P}$$,где

C- количество метаболита, найденного в хроматографируемой пробе,мкг;

V- общий объем раствора, мл;

Va-объем аликвоты, отобранный для хроматографирования, мл;

P- навеска пробы, г.

ГЖХ

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки Для этого до и после анализа проб вводят в хроматограф по 3-5 мкл рабочих стандартных растворов (см.табл.3).Измеряют высоту пиков и вычисляют среднее арифметическое из 5 определений.Если при введении в хроматограф аликвотной части (3-5 мкл) конечного экстракта пробы получают слишком большие пики, пробу разбавляют ЭА.Для определения метаболитов ФОП анализ проб следует проводить при температуре колонки (120°C) использовав соответствующие стандарты (см.табл.3).

Расчет результатов анализа проводят по следующей формуле:

$$X = \frac{C_{ст} \cdot V_1 \cdot H \cdot V_3}{V_2 \cdot H_{ст}, P}$$

где:

X - содержание метаболита в пробе, мг/кг (мг/л);

$C_{ст}$-количество метаболита в стандартном растворе,введенном в хроматограф, мкг/мл;

V_1-объем стандартного раствора,введенного в хроматограф,мкл;

$H_{ст}$-высота пика стандартного раствора, введенного в хроматограф, мм;

H - высота пика исследуемого раствора, мм;

V_2- объем экстракта, введенного в хроматограф, мкл;

V_3- объем анализируемого экстракта, мл;

P - навеска или объем анализируемой пробы, г (мл).

3.Техника безопасности

Необходимо соблюдать общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями и токсическими веществами.

Таблица 1

Физико-химические свойства исследуемых соединений

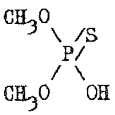
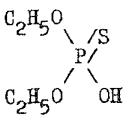
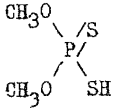
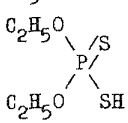
Химическое название	Структурная формула	Мол.вес	Т кип., °С	Показатель преломления при 20°С
0,0-Диметилтиофосфорная кислота		142	62-63°С 4,5 мм рт.ст.	1,5343
0,0-диэтилтиофосфорная кислота		170	81-82°С 5 мм рт.ст.	1,5076
0,0-диметилдитиофосфорная кислота		158		
0,0-диэтилдитиофосфорная кислота		186	97-98°С 2 мм рт.ст.	1,5105

Таблица 2

Метрологическая характеристика метода ТСХ и ГЖХ алкилпроизводных тио- и дитиофосфорных кислот в биосубстратах[X] при внесении веществ (p=0,95, n=3)

№ пп	Определяемое вещество	ТСХ				ГЖХ			
		нижний предел обнаружения мг/л	среднее значен. определения, %	Относ. станд отклонение	довер. интервал среднего, %	нижний предел обнаружения мг/л	Среднее значение определения,%	относ. станд. отклонение	довер. интервал среднего %
1.	Диметилтиофосфорная кислота	0,01	68	5,1	2,3	0,001	69	5,3	2,4
2.	Диэтилтиофосфорная кислота	0,01	69	4,7	2,5	0,001	70	4,6	2,5
3.	Диметилдитиофосфорная кислота	0,02	71	3,8	1,7	0,001	72	5,0	2,5
4.	Диэтилдитиофосфорная кислота	0,02	70	4,6	2,0	0,001	71	5,1	2,4

Таблица 3

Время удерживания, предел обнаружения метаболитов ФОП

Вещество	Т уд.	Неподвижная фаза	Т кол. ^{O}C	Т исп. ^{O}C	Нижний предел обнаружения, мкг
О,О-диметилтиофосфорная кислота	1,25	3% OV-17	120	160	0,02
О,О-диметилдитиофосфорная кислота	1,56	3% OV-17	120	160	0,05
О,О-диэтилтиофосфорная кислота	2,85	3% OV-17	120	160	0,02
О,О-диэтилдитиофосфорная кислота	2,11	3% OV-17	120	160	0,05

gost.e-ecolog.ru