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 — 1987 г.

gost.e-ecolog.ru

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- 1987 г.

Настоящие методические указания предназначены для санитарно-эпидемиологических станций и научно-исследовательских учреждений Минздрава СССР, а также ветеринарных, агрохимических, контрольно-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 устанавливается до 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

Л.Г.Александрова, Д.Б.Гиренко, А.А.Калинина (зам.председателя), М.А.Клисенко (председатель), Г.И.Короткова, В.Е.Кривенчук, Г.А.Хохолькова, А.М.Шмигидина.

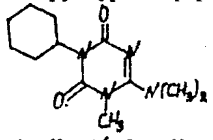
"Утверждаю"
Заместитель Главного Государственного санитарного врача СССР

А.И.Заиченко
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)- I - метил -I,3,5-триазин - 2,4 (I H,3H)-дион. Активный ингредиент - ДРХ-3674 (гексазион). Структурная формула:



Эмпирическая формула $C_{I9}H_{20}N_4O_2$. Молекулярная масса - 253,3. Велпар - белое кристаллическое вещество с незначительным запахом. Температура плавления II5-II7°С, давление пара - $2{,}7 \cdot I0^{-5}$ Па при 25°С. 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°С.

Период полураспада от 2 до 6 месяцев. Выпускается в виде 90% порошка, 24 раствора и I0% 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 велпара в воде, почве и растительности, идущей на корм скоту, методами хроматографии в тонком слое и газо-жидкостной хроматографией

2.I. Основные положения

2.I.I. Принцип метода

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

2.I.2. Метрологическая характеристика для метода тонкослойной хроматографии

Диапазон определяемых на пластинке концентраций от 0,2 до I5мкг.

Анализируемая проба	Размах варьирования в пробах стандартных количеств, %	Среднее значение определения стандартных количеств, %	Число параллельных определ.	Доверительный интервал среднего при P = 0.95 и n = 5
Почва (расчет проведен для конц. I0 мг на I00 г почвы). Предел обнаружения I мкг	74 - 94	84,8	5	± 9,4
Растительность, идущая на корм скоту (расчет проведен для конц. 0,5 мг/кг) Предел обнаружения - 3 мкг	75 - 95	84,6	5	± 3,7

Метрологическая характеристика для метода газо-жидкостной хроматографии

Диапазон определяемых концентраций: в почве 0,I-I0,0 мг/кг в воде - 0,0I - I0 мг/л.
Предел обнаружения - 0,0I мкг

Анализируемая проба	Концентрация препарата в пробе, мг/кг /в почве или мг/л /в воде/	Средние значения определения 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	± 6,2
	0,40	91,8	5	8,6	9,4	±10,2
	1,00	92,4	5	10,4	11,3	±12,9
Вода	0,01	92,0	5	16,4	17,8	±20,4
	0,08	92,3	5	11,7	12,7	±14,4
	0,10	91,0	5	8,1	8,9	±10,0

2.1.3. Избирательность метода

Другие пестициды, в том числе гербициды из классов 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

Аммиак водный 25%-ный, 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-DMCS (0,15 - 0,17 мм)

Метилсиликоновый эластомер OV-1 (3%)

Азот газообразный, особой чистоты, ГОСТ 9293-74

Водород, из баллона или получаемый из генератора водорода

Воздух, из баллона или нагнетаемый компрессором.

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

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

Вода дистиллированная,
Этилацетат, ГОСТ 22300-76, х.ч.
Нитрат висмута, ч.д.а., 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 (CHEMAPOL PRAHA-CZECHOSLO)
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 Драгендорфа. 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 25-11-917-76
Встряхиватель электромеханический, ТУ 64-1-1081-73
Насос вакуумный водоструйный, ГОСТ 10696-63
Хроматографическая колонка стеклянная длиной 180 см и внутренним диаметром 0,4 мм
Воронка Бюхнера № 1 (65 мм), ГОСТ 9147-73
Колба Бунзена на 0,25 л, ТУ-25-11-435-69
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 1-10

Фильтры бумажные, ТУ 609-1706-72
Фильтры бумажные плотные /синяя лента/
Пульверизаторы стеклянные ,ГОСТ 10391-74
Камера для хроматографирования, ⌀ 15 см, h= 20 см,ГОСТ 10565-74
Микропипетки, ГОСТ 17709-74
Баня водяная ,ТУ 46-22-608-75
Термометр ртутный, ГОСТ 6079-51
Камера для опрыскивания, СТУ30-6192-62
Стеклянные пластинки размером 9х12 см
Колонки стеклянные ⌀ 1,8 см, h ≠ 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.Заиченко 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 40мл дистиллированной воды с добавлением 1,5 мл этанола при нагревании в термостойком стакане 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°С до постоянного веса. Хроматографически чистый велпар (Т пл.- 116°С) 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 течении 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.I. Проведение определения методом газо-жидкостной хроматографии

П о ч в а Пробу почвы (I00 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 I часа. Экстракт фильтруют через бумажный фильтр в круглодонную колбу на 0,5 л. Экстракцию повторяют еще 2 раза, добавляя к почве I00 мл той же смеси и проводя каждый раз встряхивание по I часу. Объединенный ацетоно-водный экстракт упаривают досуха на ротационном вакуумном испарителе при температуре бани 40°С. Сухой остаток растворяют в I-2 мл ацетона, добавляют 20 мл 0,I н раствора хлористоводородной кислоты и фильтруют через плотный бумажный фильтр в делительную воронку. Колбу и фильтр промывают дважды по I5 мл того же раствора хлористоводородной кислоты. Фильтрат подщелачивают 8-I0 каплями 25%-ного водного аммиака до pH 8-9. Определяемое вещество экстрагируют из фильтрата тремя порциями по 30 мл свеженеперегнанного хлороформа. Объединенный хлороформный экстракт фильтруют через безводный сульфат натрия на плотном бумажном фильтре в круглодонную колбу на I00 мл и упаривают на ротационном вакуумном испарителе досуха. Сухой остаток растворяют в 0,3 мл метанола, тщательно обмывая им колбу и аликвоту (I-I0 мкл) вводят в хроматограф.

В о д а. Пробу воды (500 мл) помещают в делительную воронку на I л и трижды экстрагируют свеженеперегнанным 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 обмывают им колбу и полученный раствор хроматографируют.

2.5.I.I. Условия хроматографирования для метода газо-жидкостной хроматографии

Хроматограф с ионизационно-пламенным детектором. Колонка стеклянная длиной I80 см, внутренний диаметр 4 мм, заполнена хроматоном *N-AW-DMCS* (0,I5-0,I7 мм) с 3% *OV-I* . 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, детект[illegible] и испарителя - 250°С. Линейность детектирования соблюдается в пределах I-I0 нг. Время удерживания велпара 4 мин.30сек. ± 7 сек.

2.5.I.2. Обработка результатов анализа методом газо-жидкостной хроматографии

Содержание велпара в анализируемых пробах вычисляют по формуле:

$$X = \frac{C \cdot V_I \cdot S_2 \cdot V_3}{S_I \cdot V_2 \cdot P \cdot K}$$

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, $мм^2$;
- S_1 - площадь пика стандартного раствора, $мм^2$;
- 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. Исследуемую воздушносухую навеску почвы - I00гр. помещают в плоскодонную колбу, заливают I00-I50 мл хлороформа и оставляют на I час, периодически помешивая (или не 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 I0-I5 мл. Полученный фильтрат упаривают в ротационном испарителе до объема 5 мл при температуре бани не более 60°С. Оставшиеся 5-7 мл фильтрата вносят в хроматографическую колонку. Элюируют препарат смесью раст-

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.

Растительность. 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 воска через бумажный фильтр с натрием сернокислым 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 дважду 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 19:1 (фронт растворителя в первой система 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

Потемкина Н.М., Манько Н.А. (ВНИИ гигиены и токсикологии пестицидов, полимеров и пластических масс, г.Киев), Самыгин П.А., Марков А.В., Макеенкова Л.И. (Ленинградский НИИ лесного хозяйства, г.Ленинград)

2.8 Апробаторы

Карпатский филиал Укр НИИ лесного хозяйства

gost.e-ecolog.ru