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

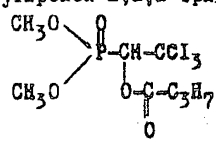
Л.Г.Александрова, Д.Б.Гиренко, А.А.Калинина (зам.председателя), М.А.Клисенко (председатель), Г.И.Короткова, В.Е.Кривенчук, Г.А.Хохолькова, А.М.Шмигидина.

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Главного Государственного санитарного врача СССР
А.И.ЗАЙЧЕНКО
"I2" мая 1983 г.
№ 2785-83

ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ФЕКАМА-ТРИБУФОНА МЕТОДАМИ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ И ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ В ВОДЕ, ПОЧВЕ И РИСЕ.

I. Краткая характеристика препарата.

Фекама-трибуфон (бутонат) - активное вещество О,О-диметил- (I-бутирокси-2,2,2-трихлорэтил)фосфонат.



Мол.масса 327,5

Технический продукт - прозрачная маслянистая жидкость от желтого до желто-коричневого цвета. Нерастворим в воде, растворим в большинстве органических растворителей. Устойчив в нейтральных и слабокислых водных средах. Летучесть 7I,7 мг/м^3 при 20^{0}С. $ЛД_{50}$ для крыс I780 мг/кг.

2. Методика определения фекама-трибуфона методами газожидкостной и тонкослойной хроматографии в воде, почве и рисе.

2.I. Основные положения.

Метод основан на извлечении препарата органическими растворителями, очистке экстрактов в системе жидкость-жидкость и последующем определении фекама-трибуфона газожидкостной и тонкослойной хроматографией. При газохроматографическом анализе избирательность метода обеспечивается использованием неподвижных фаз различной полярности; при тонкослойном-детектированием двумя проявляющими реагентами. ПДК для воды, почвы, ОДУ риса не установлены.

Определению не мешают наполнители технического препарата, некоторые хлорорганические пестициды (γ-ГХЦГ, ДДТ) и фосфорорганические (ДДВФ, хлорофос).

2.I.2. Метрологическая характеристика методов ГЖХ и ТСХ.

Таблица I

Метрологическая оценка методов

Анализируемый объект	Размах варьирования, % R	Среднее значение определения, %	Относительное стандартное отклонение, %	Доверительный интервал среднего, % при $n=5$; $P=0,95$	Предел обнаружения, мг/кг, мг/л	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг, мг/л
		ГЖХ				
вода	82,7-9I,I	87,0	8,6	87,0± 9,2	0.008	0,0I-0,2
почва	72,0-92,0	83,0	I5,I	83,0± I5,5	0,02	0.02-0,4
рис	78,0-96,0	87,5	I7,2	87,5± I8,6	0,02	0,02-0,4
		ТСХ				
вода	77,4-90,9	85,5	I8,8	85,5± I9,9	0,0I	0,0I-0,2
почва	72,7-90,9	80,3	I5,9	80,3± I7,2	0,03	0,03-0,2
рис	72,7-8I,8	75,8	I2,I	75,8± I4,3	0,03	0,03-0,2

Предел обнаружения в хроматографируемом объеме - 0,I мкг, ГЖХ - I,25 - 2,5 нг.

2.2 Реактивы и растворы.

Фекама-трибуфон, х.ч.

Основной стандартный раствор фекама-трибуфона, содержащий 500 мкг/мл в ацетоне. Хранят в течение 2-х месяцев в холодильнике.

Стандартный раствор фекама-трибуфона, содержащий I0 мкг/мл.

Ацетон, ч., ГОСТ 2603-79

Бензол, ГОСТ 5955-75, х.ч.

н-Гексан, х.ч., ТУ-6-09-3375-78

Натрия сульфат безводный, ч., ГОСТ 4I66-76

Кальций хлористый, ГОСТ 4I6I-77, х.ч.

Хлороформ, х.ч., ГОСТ 20015-74

Азотнокислое серебро, х.ч., ГОСТ I277-8I

Аммиак водный, ч., ГОСТ 3760-79
Пластинки "Силуфол" (Chemapol ,ЧССР)
Проявляющие реагенты:
1.а) 1% раствор 4-п-нитробензилпиридина в ацетоне;
б) 10% раствор тетраэтиленпентамина в ацетоне.
2. Азотнокислое серебро: 0,5г серебра азотнокислого растворяют в 5 мл воды, прибавляют 7 мл 25% аммиака, смесь доводят до 100 мл ацетоном.
Носитель для хроматографической колонки хроматон N-AW (0,16-0,20 мм) с нанесенной неподвижной фазой 5% SE-30
Для дополнительной идентификации используется смешанная неподвижная фаза 4% SE-30 + 6% QF -1.
Азот газообразный, особой чистоты, содержание O_2 не более 0.003%, ГОСТ 9293-74

2.3 Приборы и посуда

Прибор для отгонки растворителей (ротационный вакуумный испаритель) [illegible]
Лампа ПРК-4, ГОСТ 64-1-1618-77
Колбы конические со шлифами на 250-500 мл, ГОСТ 10394-72
Колбы круглодонные на 100 мл, ГОСТ 10397-22
Колбы мерные на 100 мл, ГОСТ 1770-74
Делительные воронки на 0,5-1 л, ГОСТ 8613-75
Фильтры бумажные ("красная лента"), ТУ 6-09-1678-77
Хроматографическая камера, ГОСТ 10565-75
Пульверизаторы, ГОСТ 10391-74
Пипетки на 0,1 и 1 мл, ГОСТ 20292-74
Цилиндры мерные на 50-100 мл, ГОСТ 1770-74
Газовый хроматограф с детектором по захвату электронов (детектор постоянной скорости рекомбинации - ДПР) марки "Цвет-106", "Цвет-110", Газохром 1109 и др.
Колонка стеклянная длиной 1 м, внутренний диаметр 3 мм.

2.4 Отбор, хранение и доставка проб

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов," утвержденными Заместителем Главного Государственного санитарного врача СССР № 2051-79 от 21.08.79 г.
Срок хранения не более 3-х суток в холодильнике.

2.5 Проведение определения

2.5.1 Экстракция и очистка экстрактов.

Вода. 500 мл пробы помещают в делительную воронку и экстрагируют фекама-трибуфон трижды по 50 мл хлороформа. Объединяют органический растворитель, сушат натрием сернокислым безводным (10-20г), концентрируют на ротационном испарителе до 0,2-0,3 мл при температуре бани не выше 40°С. Досуха упаривают на воздухе. Остаток в колбе растворяют в 1 мл гексана и хроматографируют (ГЖХ,ТСХ).

Почва. 25г пробы помещают в коническую колбу, заливают 50 мл смеси ацетон - 0,05н раствор $CaCl_2$ (1:1) и оставляют на ночь. Раствор фильтруют через бумажный фильтр ("красная лента"), пробу смывают дважды ацетоном по 30 мл, фильтруют. Раствор переносят в делительную воронку, прибавляют 100 мл дистиллированной воды и экстрагируют фекама-трибуфон трижды хлороформом по 50 мл. Экстракты объединяют, сушат натрием сернокислым безводным (10-20 г). Растворитель концентрируют на ротационном испарителе до объема 0,2-0,3 мл при температуре бани не выше 40°С, досуха упаривают на воздухе. Остаток в колбе растворяют в 1 мл гексана и хроматографируют (ГЖХ и ТСХ).

Рис. 25 г риса, измельченного в кофемолке, помещают в коническую колбу, заливают 50 мл ацетона и оставляют на 1 час. Раствор фильтруют через бумажный фильтр ("красная лента"), смывают пробу дважды 30 мл ацетона. Объединенный фильтрат переносят в делительную воронку, прибавляют 200 мл дистиллированной воды и экстрагируют фекама-трибуфон трижды хлороформом по 30 мл. Экстракты объединяют, сушат натрием сернокислым безводным (10-20 г), концентрируют на ротационном испарителе до объема 0,2-0,3 мл при температуре бани не выше 40°С, досуха упаривают на воздухе. Остаток в колбе растворяют в 1 мл гексана и хроматографируют (ГЖХ, ТСХ).

2.5.2 Идентификация и количественное определение фекама-трибуфона.

2.5.2.1 Метод газожидкостной хроматографии

Вводимый объем - 5 мкл.

Таблица 2

Условия ГЖХ определения

Хроматографические параметры	ДПР	ДПР	ТИД
1	2	3	4
Неподвижная фаза	5% SE-30	4% SE-30+6% OV-1	5% SE-30

1	2	3	4
Температура колонки термостата	180°С	180°С	200°С
Температура испарителя термостата	220°С	210°С	210°С
Температура детектора	220°С	230°С	210°С
Время удерживания	2 мин	3 мин	2 мин 23 сек
Линейный диапазон детектирования	2,6-10 нг	1,25-8нг	
Минимально детектируемое кол-во	2,6 нг	1,25 нг	
Скорость газа-носителя (азот)	70 л/мин	70л/мин	24л/мин
Скорость воздуха			400л/мин
Шкала электрометра		$20 \cdot 10^{-12}$а	

Количественное определение проводят путем сравнения рассчитываемого пика с пиком, полученным при введении известного количества стандартного вещества при условии, что пики близки по величине и определение ведется в диапазоне линейности детектора. Площадь пика на хроматограмме рассчитывают, умножая высоту пика на ширину, измеренную на половине высоты.

Содержание пестицида в исследуемом объекте ведут по формуле:

$$X = \frac{C_{ст} \cdot V_2 \cdot S_1}{S_{ст} \cdot V_1 \cdot P}$$, где;

X - количество препарата в пробе, мг/кг (мг/л);

$C_{ст}$ - количество препарата во введенном в хроматограф стандартном растворе, мкг;

$S_{ст}$ - площадь пика на хроматограмме стандартного раствора препарата, введенного в хроматограф, $мм^2$;

S_I - площадь пика на хроматограмме исследуемого раствора, $мм^2$;

V_I - объем экстракта, введенный в хроматограф, мкл;

V_2 - общий объем экстракта после упаривания, мл;

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

2.5.2.2 Метод тонкослойной хроматографии

Пробу, сконцентрированную до 0,2-0,3 мл, количественно переносят на пластинку "Силуфол". Параллельно наносят серию стандартных растворов с содержанием 3, 5 и 10 мкг действующего вещества фенама-трибуфона. Хроматографируют в системе

бензол-ацетон (3:1), просушивают на воздухе и обрабатывают одним из проявляющих реактивов:

1) хроматограмму обрабатывают 5 мл 1% раствором 4-(п-нитробензил)пиридином, нагревают пластинку в течение 5 мин при температуре 110°С, затем обрабатывают 5 мл 10% раствора тетраэтиленпентамина.

Фекама трибуфон проявляется в виде ярко фиолетово-синих пятен на белом фоне.

2) Хроматограмму обрабатывают 10 мл раствора азотнокислого серебра в ацетоне, затем помещают под источник УФ-света на 3 мин.

Фекама-трибуфон проявляется в виде черных пятен на сером фоне.

R_f фекама-трибуфона в системе бензол-ацетон (3:1) составляет 0,68 ± 0,05.

В качестве подвижного растворителя можно использовать смесь гексан-ацетон (1:1), R_f равно 0,68.

Количественная оценка хроматограмм проводится путем сравнения площадей и интенсивности окраски пятен проб и стандартных растворов.

Содержание фекама-трибуфона в исследуемом образце вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A}{P}$$ мг/кг, (мг/л), где:

X-количество фекама-трибуфона в пробе, мг/кг (мг/л);
A- количество препарата, найденное на хроматограмме при сравнении со стандартами, мкг;
P- масса или объем пробы, г (мл).

2.6. Техника безопасности

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

3. Методика разработана З.А.Лейка и Д.Б.Гиренко (НИИГИНТОКС, Киев).

gost.e-ecolog.ru