ГОСКОМИССИЯ ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ,
БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОРНЯКАМИ ПРИ МИНСЕЛЬХОЗЕ СССР

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

ЧАСТЬ XIII-я

Москва - 1983

gost.e-ecolog.ru

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 XIII

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-1983

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.

Срок действия временных методических указаний устанавливается до утверждения гигиенических регламентов.

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. Марциновского Е.И. и лабораторным советом при Главном санитарно-эпидемиологическом управлении Минздрава СССР.

"Утверждаю"
Заместитель Главного Государственного
санитарного врача СССР

А.И. Заиченко

" 6 " августа 1981г

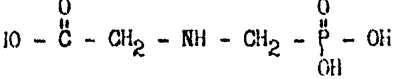
№ 2434-81

Методические указания по определению глифосата и его метаболита - аминометилфосфоновой кислоты методом хроматографии в воде, почве, растительном материале

I. Краткая характеристика препарата

N - (фосфонометил)глицин

Структурная формула:

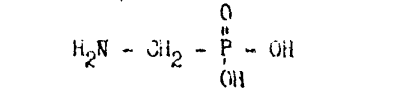


Эмпирическая формула: $C_3H_8O_5NP$

Молекулярная масса 138,1

Синонимы и торговые названия: глифосат, раундап

N-(фосфонометил)глицин - белое кристаллическое вещество, не летучее, стабильно при условии хранения. Выше 50°С разлагается. Растворимость в воде: 1% при 25°С. Нерастворим в большинстве органических растворителей. Удельный вес 1,18 г/см^3 (25°С). Естественным метаболитом N-(фосфонометил)глицина является аминометилфосфоновая кислота:



Острая оральная токсичность глифосата ($ЛД_{50}$) для белых крыс составляет 4900мг/кг.

ДСК глифосата в пищепродуктах - 0,3мг/кг, ПДК в воде - 0,1мг/л.

Глифосат послевсходовый, листовой гербицид, обладающий эффектив-

ным действием на многолетние, двулетние, однолетние травы и широколистные сорняки.

2. Методика определения глифосата и аминометилфосфоновой кислоты в воде, почве, растительном материале хроматографическим методом

2.I. Основные положения

2.I.I. Принцип метода

Метод основан на извлечении глифосата и его метаболита - аминометилфосфоновой кислоты, очистке экстрактов на ионообменных смолах и хроматографировании в тонком слое ионообменной смолы пластинок "Фиксион 50х8", с последующим проявлением нингидрином.

2.I.2. Метрологическая характеристика метода

Метрологические параметры	Определяемое вещество	Анализируемый объект: вода	почва	виноград	кукуруза
Диапазон определяемых концентраций, мг/л, мг/кг	глифосат	0,05-0,3	0,05-I,0	0,I - 0,5	0,I - I,0
	Метаболит	0,05-0,3	0,05-0,8	0,I - 0,4	0,I - 0,8
Предел обнаружения, мкг	глифосат	I,5	2,5	5,0	2,5
	Метаболит	I,5	2,5	5,0	2,5
Предел обнаружения, мг/л	глифосат	0,05	0,05	0,I	0,I
	Метаболит	0,05	0,05	0,I	0,I
Среднее значение определения стандартных количеств (C), %	глифосат	82,0	70,0	69,0	7I,0
	Метаболит	80,0	73,0	72,0	74,0
Стандартное отклонение, S	глифосат	4,6	3,46	3,86	3,86
	Метаболит	5,0	4,I9	3,86	4,II
Относительное стандартное отклонение, S_r, %	глифосат	5,6	4,9	5,6	5,4
	Метаболит	6,2	5,7	5,3	5,5
Доверительный интервал среднего при p=0,95, n=5, %	глифосат	5,7	4,3	4,8	4,8
	Метаболит	6,2	5,2	4,8	5,1
Погрешность определения, %	глифосат	6,9	6,I	6,9	6,7
	Метаболит	7,7	7,I	6,6	6,9

2.I.3. Избирательность метода

Определению глифосата мешают соединения, дающие цветную реакцию с нингидрином - аминокислоты, пептиды, первичные и вторичные амины, однако применяющиеся методы извлечения и очистки экстрактов на ко

лонках с ионообменными смолами позволяют считать метод обладающим высокой степенью избирательности.

2.2. Реактивы и материалы

Пластинки хроматографические "Фиксион 50х8" (ВНР)

Вода бидистиллированная

Натрий тетраборнокислый, осч 3-4 ТУ 6-09-3970-75, 0,05М водный раствор (pH 9,18)

Нингидрин, чда, ТУ 6-09-10-1384-79

Ацетон, ГОСТ 2603-79

Кадмий уксуснокислый, чда, ГОСТ 5824-71

Уксусная кислота (ледяная), хч, ГОСТ 61-75

Этиловый спирт, хч, ТУ 6-09-1710-77

Медь (II) азотнокислая, чда, ТУ 6-09-3757-74

Азотная кислота, хч, ГОСТ 4461-77

Катионообменная смола AG 50W x8

Катионообменная смола КУ-2-8 ГОСТ 20298-74

Анионообменная смола Диолит А-101Д

Анионообменная смола АВ-17-8, ГОСТ 20301-74

Соляная кислота, хч, ГОСТ 3118-77, 25%-ный и 2М водные растворы

Натрий гидроокись, хч, ГОСТ 4328-77, 10% и 4% водные растворы

Аммоний углекислый кислый, чда, ГОСТ 3762-78, 0,5М и 1М водные растворы

Аммиак водный, чда, ГОСТ 3760-79, 0,5М водный раствор

Хлороформ, хч, ТУ 6-09-4263-76

Уголь активированный "БАУ", ТУ 6-09-3247-73

Сухой лед

Стекловата

Стандартный раствор глифосата с содержанием 1мг/мл хч вещества

Стандартный раствор аминометилфосфоновой кислоты с содержанием 1мг/мл хч вещества

Проявляющий реактив 1: 1%-ный раствор нингидрина в ацетоне

Проявляющий реактив 2: 1г кадмия уксуснокислого в смеси 50мл ледяной уксусной кислоты и 100мл воды

Проявляющий реактив 1а: 0,2% раствор нингидрина в этиловом спирте и 3мл ледяной уксусной кислоты

Проявляющий реактив 2а: 1мл насыщенного водного* раствора меди

* - Здесь и в дальнейшем вместо слов "бидистиллированная вода" будет употребляться слово "вода"

азотнокислой с 0,2мл 10%-ной азотной кислоты доводят до 100 мл этиловым спиртом

2.3. Приборы, аппаратура и посуда

Колбы мерные, ГОСТ 1770-59, на 100, 1000мл

Колбы конические, ГОСТ 10394-72, на 50 и 250мл

Колбы круглодонные, ГОСТ 10394-72, на 250мл

Стаканы химические, ГОСТ 10394-72, на 100 и 250мл

Пипетки, ГОСТ 20292-74, на 1,2,5мл

Баня водяная, ТУ 46-22-608-75

Прибор для отгонки растворителя под вакуумом, ТУ 25-11-917-74

Камера для хроматографирования, ГОСТ 1065-66

Ванна стеклянная термостатируемая для хроматографической камеры ЧКТ ТУ 25-11-1024-75

Пульверизаторы стеклянные, ГОСТ 19391-65

Хроматографическая колонка (внутренний диаметр 1,5см, высота 30 30см) для катионообменной смолы

Хроматографическая колонка (внутренний диаметр 1,2см, высота 30 см) для анионообменной смолы

Камера для опрыскивания

Микрошприц МШ-10, с ценой деления 0,2мкл

Шкаф сушильный

Шкаф вытяжной

Вентилятор или фен

Встряхиватель, ТУ 64-1-1081-73

Центрифуга (13т. об/мин), МРТУ 42-219-69

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Приготовление растворов

0,05М раствор натрия тетраборнокислого. Готовят из 19,05г натрия тетраборнокислого десятиводного растворением в воде и доведением до 1л водой.

10%-ный раствор азотной кислоты. Готовят из 57% (d = 1,351г/см^3), 14,8мл азотной кислоты разводят в 94мл воды.

25%-ный раствор соляной кислоты. 639мл соляной кислоты (35%, d = 1,175г/см^3) разводят в 300мл воды.

2% раствор соляной кислоты. 177,5мл соляной кислоты (35%, d=1,175 г/см^3) доводят до 1л водой.

10%-ный раствор гидроокиси натрия. 100г гидроокиси натрия растворить в 900мл воды.

4%-ный раствор гидроокиси натрия. 40г гидроокиси натрия растворить в 960мл воды.

0,2%-ный раствор нингидрина в этиловом спирте. 0,2г нингидрина растворить в 126,2мл этилового спирта.

1М раствор аммония углекислого кислого. 79г аммония углекислого кислого растворяют в воде и доводят до 1л.

0,5М раствор аммония углекислого кислого. 39,5г аммония углекислого кислого растворяют в воде и доводят до 1л.

0,5М раствор аммиака. 173,8мл водного аммиака (22%, d=0,915г/см^3) доводят до 1 литра водой.

2.4.2. Приготовление ионообменных колонок

Ионообменная хроматографическая колонка с катионитом AG 50Wx8 или КУ-2-8. Катионит с размером зерен 0,4-1,5мм, помещают в химический стакан емкостью 250мл, заливают бидистиллированной водой и оставляют на 24часа для набухания. Воду затем сливают, а катионит заливают 25%-ной соляной кислотой и встряхивают на встряхивателе в течение 1часа, затем промывают трижды водой и осторожно переносят вместе с водой в хроматографическую колонку (высота столбика смолы 16-17см). Сверху катионит уплотняют тампоном из стекловаты. Через колонку пропускают 50мл 25%-ной соляной кислоты при скорости элюации 3-4мл/мин и промывают водой до pH 7. Переведенный таким образом в H^+- форму катионит готов для проведения хроматографических разделений.

Для регенерации катионита после хроматографического разделения, колонку заливают 10%-ным водным раствором едкого натра, оставляя его в контакте с катионитом в течение 30-40минут. После этого раствор из колонки удаляют, а к катиониту прибавляют свежую порцию раствора щелочи. Такую обработку катионита проводят 2-3 раза. Затем катионит промывают бидистиллированной водой и переводят в H^+-форму как описано выше.

Ионообменная хроматографическая колонка с анионитом Дауэкс 1ОХД или АВ-17-8. Анионит суспензируют с водой в течение 1часа и переносят в хроматографическую колонку (1,2х30см), заполненную на треть водой (высота столбика смолы 20см). Сверху анионит уплотняют тампоном из стекловаты. Затем анионит промывают водным раствором гидрокарбоната аммония пока исчезнут видимые остатки после выпаривания взятой пробы элюата (выпаривание проводят трехкратно добавляя каждый раз 50мл воды), обычно на приведенную колонку расходуется 1,5-2л 1М раствора гидрокарбоната аммония. Затем промывают смолу 4 раза

100мл водой. Переведенный таким образом в HCO_3^--форму анионит готов для проведения хроматографических разделений.

Для регенерации анионита после хроматографического разделения, колонку заливают 4%-ным водным раствором гидроокиси натрия, оставляя его в контакте 20-30минут. После этого раствор из колонки удаляют, а к аниониту приливают свежую порцию раствора щелочи. Такую обработку повторяют 2-3раза. Далее анионит отмывают от щелочи водой до нейтральной реакции по фенолфталеину, переводя затем в HCO_3^--форму, как описано выше.

2.4.3 Отбор пробы

Отбор проб осуществляется в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов", утвержденным Зам.Главного Государственного санитарного врача СССР за № 2051-79 от 21.08.1979 г.

2.5 Проведение определения

Вода. 1-1,5л предварительно отфильтрованной воды проводят через анионообменную смолу со скоростью 10-12мл/мин, промывают 3х100мл воды и затем вытесняют 4х25мл (Диоли́т А-101Д) или 6х25мл (АВ-17-8) 0,5М раствором гидрокарбоната аммония. Собранный элюат (100мл в одном случае и 150мл в другом) выпаривают в вакууме досуха при температуре не выше 40°С. Если в колбе остается белый осадок, то содержимое колбы растворяют в 50мл воды и выпаривают повторно. Остаток растворяют в 5мл воды и переносят в колонку с катионитом непосредственно на поверхность катионита. Элюат собирают сразу после внесения первой 5мл порции раствора. Колбу смывают 2-5мл водой и также переносят непосредственно на поверхность катионита. После того, как экстракт войдет в слой смолы, промывают колонку еще 50мл воды и собирают в тот же стакан. Содержимое стакана переносят в круглодонную колбу на 250мл, ополаскивают стакан 10-15мл воды и переносят в ту же колбу. Подсоединяют колбу к прибору для отгонки растворителя под вакуумом и нагревают на водяной бане не выше 40°С, поднимая температуру медленно от комнатной. Сухой остаток растворяют в минимальном количестве воды и количественно переносят микрошприцем на хроматографическую пластинку.

Почва. Просеянную почву (2,3-2,5мм) с содержанием 10-20% влаж-

ности в количестве 25-50г помещают в центрифужную бутыль на 250мл и заливают 150мл 0,5М водного раствора аммиака. Помешивают 15минут, а затем центрифугируют 15 минут со скоростью 11000об/мин. Водный слой отделяют в двухлитровую колбу, а в центрифужную бутыль заливают повторно порцию 0,5М раствора аммиака. Экстракцию повторяют четыре раза. Объединенные экстракты доводят до 1,5-1,8л и пропускают со скоростью 10-12мл/мин через колонку с анионитом, продолжая исследование аналогично воде. Собранный элюат обрабатывают 2г активированного угля в течение 15 минут встряхиванием. Затем раствор отфильтровывают на стеклянном фильтре с отсосом, промывают колбу и фильтр 2х10мл 0,5М раствора гидрокарбоната аммония и выпаривают досуха, повторяя выпаривание с дополнительным количеством воды (50мл), до тех пор пока не исчезнет в колбе белый осадок. Далее анализ проводят аналогично анализу воды.

Кукуруза (зеленая масса,зерно). Пробу зерна или сухой массы замораживают сухим льдом, измельчают и к навеске в 25г в центрифужной бутыле приливают 50мл хлороформа и 90мл воды. Помешивают 1 минуту и центрифугируют 15мин при 12-13тыс.об/мин, декантируют верхний водный слой. Подобную экстракцию повторяют трижды. Объединенные экстракты доводят водой до 1,5-1,8л и продолжают исследование аналогично почве.

Виноград. 50г винограда, предварительно превращенного в кашицу, заливают в центрифужной пробирке на 250мл 50мл хлороформа и 90мл воды, встряхивают 10-15минут и экстрагируют 20 минут на центрифуге при 4000об/мин. Верхний слой декантируют, а к остатку добавляют свежую порцию воды. Проэкстрагировав навеску трижды, водные вытяжки доводят до 1200мл и продолжают анализ аналогично почве.

Хроматографирование. Водные растворы наносят микрошприцем на пластинку "Фиксион 50х8" на 2см от нижнего края пластинки, не повреждая слоя смолы и пятном не более 0,5см в диаметре, подсушивая рассеянной струей воздуха. Пластинку помещают в хроматографическую камеру с 1см слоем 0,05М раствора натрия тетраборнокислого в воде. Хроматографическую камеру предварительно помещают в термостатируемую водяную ванну (50°С). Термостатирование осуществляется на все время развития хроматограммы восходящим способом. После окончания хроматографирования (около 90 минут), пластинку высушивают на воздухе и обрабатывают проявляющими растворами. Проявление производят двумя возможными вариантами: 1. обрабатывают пластинку смесью проявляющих растворов 1 и 2 (5:2 по объему), высушивают на воздухе, а затем в сушильном шкафу 5мин при температуре 110°С; 2. обрабатывают пластинку проявляющим реактивом 1а, высушивают на воздухе и в сушильном шка-

фу 5мин при температуре 110°С, а затем обрабатывают проявляющим реактивом 2а.

Глифосат и аминометилфосфоновая кислота проявляются в виде сиреневых или красных пятен (цвет - в зависимости от вариантов обработки) на светло-желтом фоне пластинки с R_f соответственно 0,82±0,01 и 0,71±0,01.

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

2.6 Обработка результатов анализа

Концентрацию глифосата и метаболита в анализируемых средах определяют по следующим формулам:

для воды - $X = \frac{a}{У}$; для почвы и растительного материала - $X = \frac{a}{Р}$,

где X - содержание глифосата или метаболита в анализируемой среде, мг/л или мг/кг;

а - количество глифосата или метаболита, найденное в анализируемой навеске пробы, мкг;

У - объем воды, взятой для анализа, мл;

Р - навеска почвы, растительного материала, г.

3. Требования безопасности

При проведении исследований по данной методике соблюдать правила предосторожности необходимые при работе с ядовитыми, взрыво- и легковоспламеняющимися веществами.

Методические указания разработаны:

1. Бунятян Юрий Андраникович, Армянский филиал ВНИИГИНТОКС,а, г. Ереван;
2. Геворкян Анжела Амбарцумовна, Армянский филиал ВНИИГИНТОКС,а, г. Ереван.

С О Д Е Р Ж А Н И Е

ХЛОРОРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

Стр.

I. Временные методические указания указания по определению ХОП (ДДТ, ДДЭ, ДДД, -ГХЦГ) в рыбе и рыбной продукции методом газожидкостной хроматографии. I

2. Методические указания по определению ХОП и симтриазиновых пестицидов при их совместном присутствии в почве с помощью ГЖХ. I2

3. Временные методические указания по определению остаточных количеств митрана в воде, сливах и блоках методом ТСХ. 23

ФОСФОРОРГАНИЧЕСКИЕ ПЕСТИЦИДЫ

I. Методические указания по определению афоса в воздухе рабочей зоны методами ГЖХ и ТСХ. 29

2. Временные методические указания по определению бомстара в ботве и клубнях картофеля, листьях и стеблях хлопчатника, капусте, почве и воде ТСХ и ГЖХ. 36

3. Методические указания по определению глифосата и его метаболита- аминометилфосфоновой кислоты методом хроматографии в воде, почве, растительном материале. 46

4. Методические указания по определению остаточных количеств дурсбана в воде, почве, лесной растительности и биосредах методом ТСХ. 54

5. Временные методические указания по определению каунтора в растениях сахарной свеклы и почве методом ТСХ. 6I

6. Методические указания по определению метилмеркаптофоса в воде, почве, винограде и зеленой массе хмеля ГЖХ и ТСХ. 67

7. Временные методические указания по определению офунака методами ГЖХ и ТСХ в почве, растениях, воде водоемов. 76

8. Временные методические указания по определению протиофоса в растительном материале, почве и воде методами ГЖХ и ТСХ. 82

9. Временные методические указания по определению селекрона в растительной продукции, почве и воде ТСХ и ГЖХ. 91

10. Временные методические указания по определению хлорофоса энзимно-хроматографическим методом в листьях белладонны и траве мяты перечной. 98

11. Методические указания по определению в зерне и продуктах его переработки ФОП, применяемых для обеззараживания зерна и зернохранилищ, хроматографическими методами. 105

АЗОТСОДЕРЖАЩИЕ ПЕСТИЦИДЫ

1. Методические указания по определению остаточных количеств акрекса, диносеба, каратана, ДНОКа в воде, почве и растительном материале хроматографическими методами. 119

2. Временные методические указания по определению байгона методом ГЖХ в молоке. 138

3. Временные методические указания по определению барнона в воде, почве, растениях методом ГЖХ. 148

4. Методические указания по определению кронетона в воде,почве,корнеклубнеплодах и растительном материале ТСХ. 154

5. Временные методические указания по определению ридомила методом хроматографии в воде,почве,растительном материале. 160

6. Временные методические указания по определению ровраля методом ТСХ в воде,почве,томатах,картофеле,винограде,виноградном соке и вине. 168

7. Временные методические указания ронилана в растительной продукции,почве и воде ТСХ и ГЖХ. 175

8. Временные методические указания по определению эвисекта в растительной продукции,почве и в воде ТСХ. 182

9. Временные методические указания по определению этиримола в растительной продукции,почве и воде ТСХ. 188

ПРОЧИЕ ПЕСТИЦИДЫ

I. Временные методические указания по определению гранилбутирата методом ГЖХ и ТСХ в почве,воде,корнеплодах и листьях сахарной свеклы. 195

2. Временные методические указания по определению бромпропилата(неорона) в яблоках и цитрусовых методом газовой хроматографии. 206

3. Временные методические указания по определению иллоксана в воде и почве методом ГЖХ. 211

4. Временные методические указания по хроматографическому определению изатрина в почве и воде. 217

5. Временные методические указания по определению омайта методами ГЖХ и ТСХ в почве, в воде и растениях. 224

6. Методические указания по определению хлората магния в почве, воде, растениях (подсолнечнике, луке) и в воздухе полярографическим и хроматографическим (ТСХ) методами. 230

7. Временные методические указания по определению остаточных количеств некоторых аналогов ювенильного гормона (алтосида, алтозара и п-бромфенилового эфира гераниола) в растениях картофеля и почве методами ТСХ и ГЖХ. 247

Дополнения 258

М- 71958 от 20.I.83г Тираж 2000 экз., заказ № 1873
Типография ВАСХНИЛ

gost.e-ecolog.ru