МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА СССР
ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ
БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ, БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОРНЯКАМИ

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКРО-КОЛИЧЕСТВ ПЕСТИЦИДОВ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ, КОРМАХ И ВНЕШНЕЙ СРЕДЕ

Справочное
издание

Под редакцией
доктора биологических наук М. А КЛИСЕНКО

МОСКВА «КОЛОС» 1983

gost.e-ecolog.ru

А. П. Моргунова, Г. К. Морина, Ю. Ф. Моряков, В. И. Мочалов, В. И. Мурзой, А. А. Непоклонов, И. П. Нестерова, К. Ф. Новикова, Л. В. Новикова, Н. И. Павлова, Ф. И. Патрашку, К. Н. Пашкевич, С. Д. Павлов, Т. М. Петрова, Н. В. Перетолчин, Р. Д. Петухов, М. С. Петросян, А. Л. Перцовский, И. И. Пиленкова, М. В. Письменная, Т. В. Пластинина, Л. Р. Полищук, В. Н. Полякова Н. Г. Попова, Н. Я. Пестовский, Л. С. Прияутина, Ю. А. Присмотров, Н. В. Птицина, У. Ф. Пулатов, Г. П. Пушкина, Б. А. Рехтер, Л. Д. Рузанкова, Н. И. Ряженов, П. А. Самгин, Э. О. Сахкалян, В. А. Силаев, М. А. Стемпковская, Л. С. Самосват, Л. А. Смирнова, А. А. Сиверина, Л. К. Слепова, Ж. С. Степанян, Н. Г. Степанченко, В. В. Стеценко, Г. А. Таланов, С. М. Тихомиров, Г. А. Трондина, Г. П. Угрюмова, А. Д. Фатьянова, Б. Ф. Филимонов, М. М. Филимонова, Л. А. Хиляк, Л. И. Хлопина, В. Д. Чмиль, Д. И. Чканников, Л. Д. Чудакова, Э. П. Чурпий, Н. И. Шадрин, А. М. Шмигидина, А. И. Шумкова, З. Ф. Юркова.

Методические указания апробированы группой экспертов при Госкомиссии по химическим средствам борьбы с вредителями, болезнями растений и сорняками Министерства сельского хозяйства СССР, одобрены лабораторным советом при Министерстве здравоохранения СССР и утверждены заместителем Главного государственного санитарного врача СССР в качестве официальных.

Методические указания предназначены для контроля за содержанием остаточных количеств пестицидов и биопрепаратов в сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктах, кормах, объектах окружающей среды агрохимическими, ветеринарными, контрольно-токсикологическими лабораториями Министерства сельского хозяйства СССР, санитарно-эпидемиологическими станциями и научно-исследовательскими институтами Министерства здравоохранения СССР, лабораториями Госкомгидромета СССР, а также лабораториями научно-исследовательских институтов других министерств и ведомств, занимающихся определением остаточных количеств пестицидов и биопрепаратов в продуктах питания, кормах и внешней среде.

Утверждаю
Заместитель Главного
государственного санитарного
врача СССР
А. И. Заиченко
12.10.77 № 1766—77

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ХЛОРСОДЕРЖАЩИХ ПЕСТИЦИДОВ (ГЕКСАХЛОРБЕНЗОЛА, α- И γ-ИЗОМЕРОВ ГХЦГ, ДДЭ, ДДТ) В ПОЧВЕ МЕТОДОМ ГАЗО-ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ*

Краткая характеристика препаратов дана в таблице 1.

1. Физико-химические свойства пестицидов

Пестицид	Эмпирическая формула	Молекулярная масса	Т. пл., °С	Растворимость		ПДК в почве, мг/кг	$ЛД_{50}$ для крыс, мг/кг
				вода, мг/л (25°С)	органические растворители		
4,4′-дихлордифенилтрихлорметилметан-4,4′-ДДТ (*п, п′*-ДДТ)	$C_{14}H_9Cl_5$	354,5	108—109	0,005	Ацетон, гексан, бензол, ксилол, толуол, спирт, хлороформ	1,0	250—400
2,4′-дихлордифенилтрихлорметилметан-2,4-ДДТ (*о, п′*-ДДТ)	$C_{14}H_9Cl_5$	354,5		0,026	То же		
4,4′-дихлордифенилдихлорметилметан-4,4′-ДДТ (*п, п′*-ДДД)— метаболит ДДТ	$C_{14}H_{10}Cl_4$	320,0	112,0	0,020	Ацетон, бензол, гексан, метанол		3400
1,2,3,4,5,6-гексахлорциклогексан, α-ГХЦГ	$C_6H_6Cl_6$	290, 6	157—158	2,00	Бензол, гексан, эфир, четыреххлористый углерод, ацетон, хлороформ, ксилол, ацетон, эфир, метанол, дихлорэтан		

* Методические указания разработаны Э. И. Бабкиной, Ц. И. Бобовниковой, Г. В. Миронюк, В. В. Егоровым (Институт экспериментальной метеорологии).

Продолжение

Пестицид	Эмпирическая формула	Молекулярная масса	Т. пл., °С	Растворимость		ПДК в почве, мг/кг	$ЛД_{50}$ для крыс, мг/кг
				вода, мг/л (25°С)	органические растворители		
1,2,3,4,5,6-гексахлорциклогексан. γ-ГХЦГ	$C_6H_6Cl_6$	290,86	112,8	7,80	То же	1,0	125
1,2,3,4,5,6-гексахлорбензол—гексахлорбензол	C_6Cl_6	284,8	228—231	0,005	Бензол, спирт, хлороформ, гексан		3500
4,4′-дихлордифенилдихлорэтилен-4,4′-ДДЭ (*п,п′*-ДДЭ) — метаболит ДДТ	$C_{14}H_9Cl_3$	318,0		0,014	Ацетон, гексан, бензол		

Методика определения хлорорганических пестицидов в почве газо-жидкостной хроматографией. Основные положения. Принцип метода. Метод основан на извлечении хлорорганических пестицидов из исследуемой пробы почвы, предварительно увлажненной, экстракции пестицидов органическими растворителями — смесью гексана и ацетона (4 : 1), перераспределении пестицидов из водно-ацетонового раствора в гексан с последующей сернокислотной очисткой и количественном определении методом газо-жидкостной хроматографии с детектором по захвату электронов. *Нижний предел определения* 0,005—0,07 мг/кг. *Минимально детектируемые* количества гексахлорбензола и α-ГХЦГ в хроматографируемом объеме (4 мкл)— 0,003 нг, γ-ГХЦГ — 0,004 нг, *п,п′*-ДДЭ — 0,012 нг, *п,п′*-ДДД — 0,02 нг, *о,п′*-ДДТ — 0,05 нг, *п,п′*-ДДТ — 0,06 нг. Степень определения пестицидов в пробах почв разного типа показана в таблице 2.

2. Значение К (степень определения) хлорорганических пестицидов в почвах разного типа при экстракции различными органическими растворителями, %

Тип почвы	Экстрагент	4,4′-ДДТ	2,4′-ДДТ	4,4′-ДДД	4,4′-ДДЭ	γ-ГХЦГ	α-ГХЦГ	ГХБ
Дерново-подзолистая	Ацетон	90,0	90,0	90,0	50,0	65,0	65,0	65,0
	Гексан:ацетон*	80,0	95,0	80,0	80,0	65,0	65,0	50,0
Пойменная	Ацетон	70,0	90,0	80,0	80,0	70,0	70,0	70,0
	Гексан:ацетон	45,0	70,0	50,0	50,0	45,0	65,0	35,0
Каштановая	Ацетон	70,0	70,0	70,0	70,0	60,0	60,0	50,0
	Гексан:ацетон	80,0	80,0	80,0	80,0	70,0	65,0	35,0
Чернозем	Ацетон	68,0	65,0	65,0	65,0	55,0	55,0	30,0
	Гексан:ацетон	75,0	75,0	70,0	80,0	65,0	65,0	40,0
Сероземы	Ацетон	90,0	95,0	90,0	90,0	50,0	55,0	50,0
	Гексан:ацетон	70,0	80,0	65,0	70,0	50,0	55,0	40,0

*Экстрагент — гексан:ацетон (4:1).

Метрологическая характеристика метода приведена в таблице 3. Определению хлорорганических пестицидов мешают полихлорбифенилы.

3. Метрологическая характеристика метода определения хлорорганических пестицидов с помощью газо-жидкостной хроматографии. Анализируемая проба — почва, $n = 4$, доверительная вероятность $\alpha = 0{,}95$

Препарат	Предел обнаружения, нг	Среднее значение степени определения, %	Средняя квадратичная ошибка единичного изменения S_n	Средняя квадратичная ошибка среднего арифметического $S_{\bar{x}}$	Коэффициент вариации единичного измерения W, %	Доверительный $\Delta\bar{x}$ интервал, %	Относительная погрешность Σ_α измерения, %
ГХБ	0,003	63,1	9,62	4,80	15,20	11,50	18,25
α-ГХЦГ	0,003	72,5	3,44	1,72	4,74	4,12	5,68
γ-ГХЦГ	0,004	70,1	4,25	2,12	6,07	5,08	7,25
п,п'-ДДЭ	0,012	78,9	6,45	3,22	8,25	7,72	9,90
п,п'-ДДД	0,020	90,0	4,71	2,36	5,23	5,66	6,28
о,п'-ДДТ	0,050	84,5	5,40	2,70	6,39	6,48	7,70
п,п'-ДДТ	0,060	76,5	8,92	4,96	11,66	7,93	10,43

Реактивы и растворы. Гексан х. ч. Петролейный эфир (40—70°С) ч., перегнанный (используется только фракция 38—55°С). Ацетон х. ч. Кислота серная х. ч., удельная масса 1,84. Натрия бикарбонат х. ч. Натрий сернокислый безводный х. ч. Вата обезжиренная (вату несколько раз промывают диэтиловым эфиром, высушивают и хранят в стеклянной посуде). Стандартные растворы х. ч. альдрина, гексахлорбензола (ГХБ), α- и γ-ГХЦГ в гексане, мкг/мл: 0,020; *п, п'*-ДДД и *п, п'*-ДДЭ — 0,100; *о, п'*- и *п, п'*-ДДТ—0,20, приготовленные из стандартных растворов в гексане, содержащих 100 мкг/мл пестицида. Носитель — хроматон-N-AW DMCS (0,16—0,20 мм). Неподвижная фаза — метилсиликон SE-30 (5%); метилнитрилсиликон, XE-60 (5%). Индикаторная бумага универсальная.

Приборы и посуда. Газовый хроматограф «Газохром 1106-Э», «Газохром 1109-ЭТ», «Цвет-106», «Цвет-5» с детектором по захвату электронов. Колонки стеклянные: длина 1,0—1,5 м, диаметр 3 мм. Микрошприцы на 10 мкл. Фарфоровая ступка с пестиком. Сито с диаметром отверстий 0,5 мм. Колбы конические на 250, 500 мл с притертыми пробками. Мерные цилиндры на 100 мл. Колбочка с Г-образным отводом для отгона гексана (см. рис. 1). Круглодонные колбочки на 50 мл с притертыми пробками для сбора экстракта (рис. 1, *А*). Пипетки на 2, 5 и 10 мл. Воронки химические диаметром 4—8 см. Баня водяная. Аппарат для встряхивания (АВУ-1, АВУ-2) или аналогичный. Центрифуга ЦЛС-3.

Подготовка к определению. Отбор пробы. Из воздушно-сухого почвенного образца методом квартования берут среднюю пробу. Для этого весь образец высыпают ровным слоем на лист бумаги, делят на четыре равные части по диагонали, две из них ссыпают в коробку, оставшиеся совмещают и вновь квартуют. Оставшуюся пробу делят на квадратики и из каждого квадратика берут произвольное количество пробы для навесок (около 200 г). Отобранную среднюю пробу растирают в ступке, просеивают через сито 0,5 мм и помещают в картонную коробку. Из просеянной пробы берут для анализа 10—50 г.

Ход анализа. Экстракция смесью гексана и ацетона (4 : 1). Воздушно-сухую почву (10 г), отобранную методом квартования, помещают в коническую колбу на 250 мл, добавляют 20 мл дистиллированной воды и оставляют закрытой на сутки. Затем к увлажненной почве приливают 50 мл смеси гексана (или петролейного эфира, т. кип. 38—55°С) и ацетона (40 мл гексана и 10 мл ацетона). Смесь в колбе энергично перемешивают в течение часа на аппарате для встряхивания или вручную, после чего ее из колбы переносят в центрифужные пробирки, центрифугируют 15 мин и декантируют жидкую часть в делительную воронку на 500 мл.

К оставшейся почве приливают 10 мл дистиллированной воды и 10 мл ацетона и все переносят в первую колбу для встряхивания. Затем приливают 40 мл гексана (или петролейного эфира) и образец встряхивают 30 мин. Снова

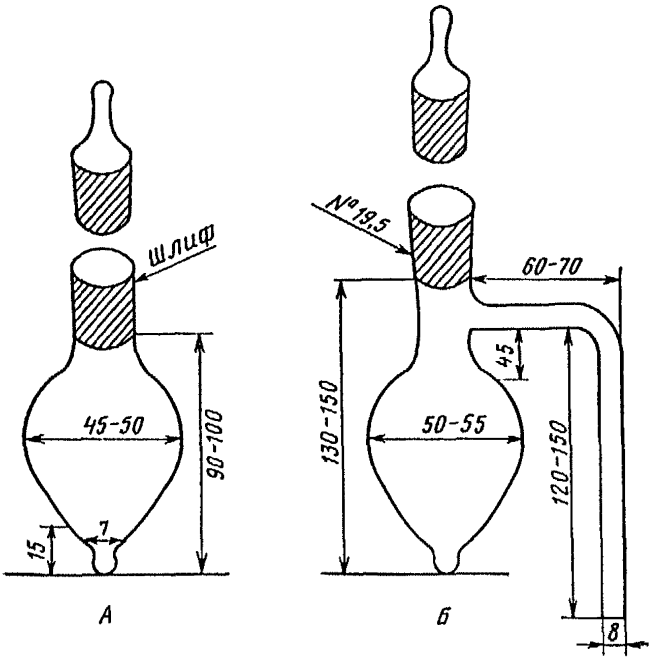

Рис. 1. Колба для испарения гексана (*А*) до конечного объема (1—5 мл) или досуха после очистки экстракта; колба для отгонки гексана (*Б*). Размеры указаны в миллиметрах.

центрифугируют, жидкую часть декантируют в делительную воронку к первой партии экстракта, а оставшуюся в центрифужной пробирке почву обмывают 10 мл гексана (или петролейного эфира) и сливают в воронку. К содержимому в делительной воронке добавляют 80 мл воды, встряхивают и водно-ацетоновый слой сливают в стакан, гексановый — в колбу для сбора экстракта, фильтруя его через безводный сульфат натрия, предварительно смоченный гексаном (20—30 г сульфата натрия помещают в химическую воронку с подложкой из обезжиренной ваты); сульфат натрия промывают 5—7 мл гексана и отжимают стеклянной пробкой.

Водно-ацетоновый слой экстрагируют еще 10 и 5 мл гексана по 2 мин. Объединенные гексановые экстракты концентрируют, испаряя гексан из колбочек с Г-образным отводом на водяной бане при температуре 72—75°С (60—65°С для петролейного эфира) (см. рис. 1, *Б*). При повышении температуры бани выше 78°С происходит заметное улетучивание ГХЦГ.

Конечный объем концентрированного экстракта 3—5 мл переносят в делительную воронку на 50 мл, прибавляют 3—5 мл концентрированной серной кислоты и смесь осторожно перемешивают движением вверх — вниз, оставляют для разделения слоев и нижний слой отработанной серной кислоты сливают. Очистку повторяют до получения бесцветного слоя серной кислоты. К гексановому экстракту в делительной воронке добавляют 2—4 мл 2%-ного раствора $NaHCO_3$, осторожно перемешивают, нижний слой сливают, а гексановый экстракт промывают дистиллированной водой до нейтральных промывных вод.

Экстракт сушат путем фильтрования через воронку с безводным сульфатом натрия (сульфат предварительно смачивают гексаном), после фильтрования слой осушителя промывают 2—3 мл гексана и отжимают стеклянной пробкой. Затем экстракт упаривают на водяной бане при температуре 40—50°С до 3—5 мл и (или) до 1 мл при комнатной температуре, перед хроматографированием

измеряют объем. Аликвотную (гексановую) часть этого экстракта вводят в хроматограф.

Экстракция ацетоном. 10 г воздушно-сухой почвы помещают в коническую колбу на 250 мл, добавляют 20 мл дистиллированной воды и оставляют на сутки колбу закрытой. Через сутки к увлажненной почве приливают 40 мл ацетона и колбу встряхивают в течение часа на устройстве для встряхивания или вручную. После этого экстракт отделяют от почвы центрифугированием или фильтрованием смеси через складчатый фильтр из фильтровальной бумаги (предварительно промытый гексаном), помещенный в химическую воронку диаметром 7—8 см.

После фильтрования почву на фильтре промывают 10 мл ацетона (в ту же делительную воронку на 500 мл, в которую фильтровали раньше), затем почву с фильтра переносят в исходную коническую колбу, добавляют 10 мл дистиллированной воды и 30 мл ацетона и встряхивают колбу со смесью 30 мин на аппарате или вручную. Фильтрование производят в делительную воронку с первоначальным фильтром. После фильтрования колбу, в которой проводили встряхивание образца почвы, промывают 10 мл ацетона и этим же ацетоном промывают почву на фильтре.

К объединенным фильтратам в делительной воронке на 500 мл добавляют 450 мл дистиллированной воды и 40 мл гексана (или петролейного эфира, т. кип. 38—55°С) и экстрагируют водно-ацетоновую смесь этим гексаном 5—10 мин осторожным движением вверх — вниз. После экстракции водно-ацетоновую смесь сливают в химический стакан, а гексановый экстракт — в коническую колбу. Затем водно-ацетоновый слой возвращают в делительную воронку, добавляют 30 мл гексана (или петролейного эфира) и экстрагируют таким же образом 5 мин.

Каждый раз при сливании гексанового экстракта в коническую колбу его пропускают через безводный сульфат натрия, предварительно смоченный гексаном (для двух экстрактов одного и того же образца 20—30 г сульфата натрия, помещенного в химическую воронку с подложкой из обезжиренной ваты), промывая его затем 5—7 мл гексана и отжимая стеклянной пробкой. Объединенные гексановые экстракты далее концентрируют так, как описано выше.

Условия хроматографирования на хроматографе «Цвет-106». Скорость протяжки ленты 10 мм/мин. Рабочая шкала электрометра $2 \cdot 10^{-10}$ А. Колонка стеклянная, 1 м×3 мм. Температурные режимы: испарителя 220°С, колонки 200°С, детектора 230°С. Скорость газа-носителя азота 30 мл/мин.

Относительное время удерживания пестицидов $t_{отн}$.

Пестицид	Фаза SE-30		Фаза XE-60	
	по альдрину	по *п, п'*-ДДЭ	по альдрину	по *п, п'*-ДДЭ
Гексахлорбензол	0,53	0,26	0,48	0,17
α-ГХЦГ	0,43	0,31	1,00	0,35
γ-ГХЦГ	0,53	0,26	1,45	0,51
Альдрин	1,00	0,50	1,00	0,35
п, п'-ДДЭ	2,02	1,00	2,83	1,00
о, п'-ДДТ	2,61	1,30	3,74	1,33
п, п'-ДДД	2,67	1,33	7,00	2,48
п, п'-ДДТ	3,22	1,60	6,40	2,26

Линейность детектирования соблюдается в пределах от 0,01 до 0,30 нг для альдрина, α- и γ-изомеров ГХЦГ и от 0,10 до 3,00 нг для ДДТ и его метаболитов.

Обработка результатов анализа. Количественное определение проводят методом соотношения со стандартом по высоте пиков, расчет содержания пестицидов (X, мг/кг) ведут по формуле:

$$X = \frac{AH_2V_2\,100}{H_1V_1PK},$$

где A — количество препарата (пестицида) в стандартном растворе, введенном в хроматограф, мг; H_1 — высота пика стандартного раствора пестицида, введенного в хроматограф, мм; H_2 — высота пика пестицида на хроматограмме экстракта, мм; V_1 — объем экстракта, введенный в хроматограф, мкл; V_2 — общий объем экстракта после упаривания или разведения, мл; P — навеска анализируемой пробы почвы, кг; K — процент определения каждого пестицида в данном типе почвы (см. табл. 2), обусловленный как удерживающей способностью почвы, так и потерями при отгонке гексана из Г-образных колбочек. При отгонке на ротационном испарителе (ИР-1) K увеличивается для ДДТ и его метаболитов на 5—8%, для ГХЦГ и ГХБ на 10—15%.

gost.e-ecolog.ru