

**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**

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- 1967 г.

Настоящие методические указания предназначены для санитарно-эпидемиологических станций и научно-исследовательских учреждений Минздрава СССР, а также ветеринарных, агрохимических, популяционно-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 истекает с момента 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

И. Г. Александрова, Д. Б. Гиренко, А. А. Калашникова (зам. председателя),
М. А. Кулисанова (председатель), Г. Д. Кароткова, В. Б. Кривачук,
Г. А. Хохолькова, А. М. Шмидтина.

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Главного
Государственного са-
нитарного врача СССР

_____ А. И. Завченко

" 27 " ноября 1984

№ 3149-84

ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ОСТАТОЧНЫХ КОЛИЧЕСТВ ЦИКЛОФОСА В ОРГАНАХ
И ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

I. КРАТКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕПАРАТА

Циклофос – отечественный акарицид. Технический продукт представляет собой смесь тионного и тиольного изомеров диметилциклогексилтиофосфата. Химические формулы, некоторые физические константы и биологические свойства следующие:

тионный изомер	тиольный изомер	Технический продукт:
$\begin{array}{c} \text{S} \\ \parallel \\ \text{CH}_3\text{O}-\text{P}-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_{10} \\ \diagup \\ \text{CH}_3\text{O} \end{array}$	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3\text{S}-\text{P}-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_{10} \\ \diagup \\ \text{CH}_3\text{O} \end{array}$	смесь тион – 25% тиол – 15%
Молекулярная масса	224,26	224,26
Температура кипения в $^{\circ}\text{C}/\text{мм.рт.ст.}$	80/0,01	121/0,01
n_D^{20}	1,4845	1,4880
d_4^{20}	1,1320	1,1610
ЛД ₅₀ для белых мышей, в мг/кг	945	310
		380-1180

2. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦИКЛОФОСА В ОРГАНАХ И ТКАНЯХ ЖИВОТНЫХ МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Метод основан на извлечении циклофоса из биопробы органическими растворителями (ацетоном), очистке экстракта вымораживанием, перераспределением его на водно-ацетоновый раствор в гексан и последующем определении газожи́дкостной хроматографией с термомонным детектором (ТД).

Циклофос обнаруживается и регистрируется на хроматограмме сигналами тцион-тиол-изомеров.

Время удерживания тцион-изомера - 1 минута, а тиол-изомера - 1,5 минуты.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Метрологическая характеристика ГЖ-метода количественной определения циклофоса в продуктах животноводства приведена в таблице.

2.1.3. Избирательность метода

Прочие фосфорорганические вещества определяются не мешают.

2.2. Реагенты, растворы и материалы

Ацетон х.ч., ТУ 6-09-1707-77, и гексан х.ч. ТУ 6-09-1521-77.

Натрия сульфит безводный, ч.д.а., ГОСТ 6-09-1832-79.

Стандартный раствор циклофоса 1 мкг/мл в ацетоне.

Воздух особой чистоты - 97,5% O₂ - 2,5%, ГОСТ 9293 - 76.

Водород электролитический - источник газоснабжения типа СТС-2, ТУ 6-09-1550-044-72.

Таблица

Метрологическая характеристика ГХ-метода количественного определения циалофоса
в продуктах животноводства ("тиол" - тиольный изомер, "тион" - тионный изомер)

Анализируемый объект	Экстракт	Задано мг/кг	Число повторностей	обнаружено, %		S, %		S _{откл} , %		(C ± ΔC) %	
				тион	тиол	тион	тиол	тион	тиол	тион	тиол
Мышцы	Ацетон	5	4	85,9	33,0	3,9	2,0	4,8	6,1	81,3 ± 6,2	32,6 ± 3,1
				82,2	34,9						
				76,5	30,1						
				80,5	32,3						
		10	4	73,6	30,6	5,7	4,7	6,9	13,7	82,1 ± 9,1	34,3 ± 7,5
				85,2	35,9						
				85,9	31,1						
				83,5	40,2						
Печень	Ацетон	5	3	77,1	35,6	2,4	2,4	3,0	6,7	79,3 ± 6,0	35,9 ± 6,0
				81,9	40,2						
				79,0	31,8						
		10	4	89,0	40,7	5,9	6,7	17,2	14,7	81,7 ± 9,4	45,5 ± 10,6
				74,5	50,1						
				82,3	39,0						
				81,0	52,4						

Чувствительность метода - 0,05 мг/кг (мг/л). Предел обнаружения в мясе - 0,5 мкг в пробе.

Объем рабочего раствора, вводимого в испаритель хроматографа - 1-2 мкг (0,2-0,4 нг).

Воздух от компрессора с внутренним давлением ГСВ-0,6/12 модели 155-265.

Твердая фаза - носитель-целлюл- 545 (70-100 меш).

Стандартные жидкие фазы: SE-30 (диметилсилоксановый каучук), ПЭГ-600 (полиэтиленгликоль), QF-I (полиметилтрифторпропилаксан)

Спирт этиловый гидролизный, ГОСТ 59-62-67.

Стандартный раствор циклофоса в ацетоне 1-5 мг/мл.

2.3. Приборы и посуда

Газовый хроматограф марки "ЦВЕТ-106" или аналогичный прибор, снабженный термоионным детектором ДТИ-2,722.063.

Компрессор К-10, ГОСТ 8318-57.

Микроизмельчитель тканей РТ-2,220 Б, 150-В-А, ТУ 64-11505-72.

Вытяжной шкаф типа ЛФ - 116/А.

Хроматографическая колонка стеклянная 900 x 2,8 мм.

Делительные воронки емк. 250 мл., ГОСТ 861-3-75.

Микрошприц емк. 10 мкл. МШ-10., ТУ 5Е2.833.024.

Склянки с притертой пробкой на 100 мл.

Пипетки от 0,1 до 10 мл., ГОСТ 20292-74.

Цилиндры мерные от 50 до 100 мл, ГОСТ 50/2-75.

Шкаф сушильный электрический 2Б-151, ТУ 64-1-1411-76.

Пробирки с притертой пробкой 5-20 мл 14/27.

Фарфоровые чашки, ГОСТ 9147-73.

Колбы мерные от 10 до 150 мл, ГОСТ 22524-77.

Фильтры обезволенные, ТУ 6-09-1678-72.

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Отбор, хранение и доставка проб

Отбор проб мяса и органов убойных животных проводят выборочно от 3 животных при партии 100 голов. От каждой туши по 0,3-0,5 кг. Согласно действующим нормативов ГОСТ 3622-68.

2.4.2. Подготовка стеклянной колонки

Для приготовления неподвижной фазы твердый носитель целит-545 (массой 10 г) равномерно покрывают комбинированным составом неподвижных фаз состоящим из 0,3 г 6E-30; 0,12 г ЦЭГ-6000 и 0,075 г GF-I, растворенных в 25-45 мл ацетона, который удаляют в вакууме при тщательном перемешивании, а затем сорбент сушат на воздухе.

Колонку заполняют приготовленным сорбентом, уплотняя его при воздействии вибрации от постукивания в вакууме.

Заполненные колонки кондиционируют в термостате хроматографа при 50°C и расходе азота 10-12 мл/мин в течение 18 часов, периодически устраняя мертвые зоны, образующиеся от уплотнения сорбента под влиянием высоких давлений и температур, а затем окончательно стабилизируют в условиях рабочего режима.

2.5. Описание определения

2.5.1. Экстракция циклофоса из проб

Навеску органа или ткани массой 10 г тщательно размельчают на микроизмельчителе РТ-2, переносят в склянку с притертой пробкой, заливают 30 мл ацетона, активно перемешивают стеклянной палочкой и помещают в холодильник на 30 минут. Охлажденный экстракт гомогениза фильтруют через бумажный фильтр в делительную воронку. Склянку ополаскивают 10 мл ацетона, смывом промывают гомогенат на фильтре, объединяя его с основной частью. К фильтрату добавляют 30 мл дистиллированной воды, 30 мл n-гексана, энергично встряхивают в течение одной минуты и ставят в штатив для разделения слоев. Если расслоение происходит медленно, то в делительную воронку добавляют каплями до 5 мл 96% спирта. После разделения слоев нижний мутный отбрасивают, верхний сливают в фарфоровую чашку, добавляют в нее 1 г безводного сульфата натрия и упаривают потоком воздуха в вытяжном шкафу до 2-3 мл.

Экстракт переносят пипеткой в пробирку с притертой пробкой, остаток ополаскивают 2-3 мл гексана, смыв присоединяют к основному концентрату и доводят объем до 5 мл. Полученный экстракт вводят в испаритель хроматографа от 1 до 3 мкл.

2.5.2. Условия хроматографирования

Хроматограф "Цвет -106" с ТИД.

Температурный режим термостата - 180°C, испарителя - 220°C.

Расход азота - 22 мл/мин, водорода - 16-18 мл/мин и воздуха - 180-200 мл/мин.

Хроматографическая колонка стеклянная 900 x 2,8 мм, заполненная целитом -545 (80-100 меш) покрытым смешанным составом стандартных неподвижных фаз, состоящих из SE-30; 1,2% ПЭГ- 6000 и 0,75% QF -I. В колонку через испаритель хроматографа вводят 1-2 мкл (0,2 или 0,4 мг) стандартного раствора или экстракта анализируемой пробы. Рабочая шкала электрометра - $2 \cdot 10^{-10}$ А. Скорость протяжки ленты самописца - 20 мм/час.

2.5.3. Обработка результатов анализа.

Количественное определение проводят методом соотношения сумм высот пиков изомеров пиклофоса последующего экстракта и стандартного раствора.

Содержание пиклофоса в анализируемой пробе рассчитывают по формуле

$$C_x = \frac{H_x \cdot C_{ст} \cdot U}{H_{ст} \cdot U_d \cdot A} \cdot K_{изм.}, \text{ где:}$$

C_x - содержание пестицида в анализируемой пробе, мг/лг
(сумма изомеров), $C_x = \Sigma (C_x \text{ тпала} + C_x \text{ тлома})$.

H_x - высота пика на хроматограмме пробы, в мм (сумма изомеров),

$$H_x = E (H_x \text{ тиола} + H_x \text{ тиона}).$$

$C_{ст}$ - содержание препарата в хроматографируемом объеме стандартного раствора, мкг (сумма изомеров), $C_{ст} = E (C_{ст} \text{ тиола} + C_{ст} \text{ тиона})$.

$У$ - общий объем анализируемого экстракта, в мл.

$K_{извл.}$ - коэффициент извлечения препарата (например, при 80% извл. = 1,25, т.е. $\frac{100\%}{80\%} = 1,25$).

$H_{ст}$ - высота пика на хроматограмме стандарта, мм, (сумма изомеров), $H_{ст} = E (H_{ст} \text{ тиола} + H_{ст} \text{ тиона})$.

$У_a$ - хроматографируемый объем пробы, в мл.

A - масса пробы, в г (или объем, в мл).

3. ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ

Следует соблюдать предосторожности приняты для работы с фосфорорганическими пестицидами.

Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях системы МСХ и МЗ СССР № 2455-81 от 20.10.81.

4. РАЗРАБОТЧИКИ :

Б.А.Королев, Н.И.Иванов (ВНИИВЭА, г.Тюмень), В.Н.Кусов, В.И.Барabanов, В.А.Талан, И.М.Шермергорн, В.М.Макушенко (КБИ, г.Казань).

5. АПРОБАТОРЫ :

М.Байрамов, Тур. НИИ животноводства и ветеринарии, Анкара, 05.02.83; М.С.Вигдергауз, ИОФХ им. А.Е.Арбузова, КИАН СССР, Казань. 06.01.81 г.