

**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. Калыгина (зам. председателя),
М. А. Кулисанко (председатель), Г. Д. Кароткова, В. Б. Кривачук,
Г. А. Хохолькова, А. М. Шмидтина.

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

2.1.2. Метрологическая характеристика методов ГХХ и ТСХ.

Таблица I

Метрологическая оценка методов

Анализируемый объект	Размах варьирования, %	Среднее значение	Носитель	Доверительный интервал	Предел обнаружения	Диапазон
	R	определенное	стандартное	вал	мг/кг	определенных
		%,	отклонение, %	среднее	г ₀ , %	концентрации
				при $\rho=0,95$		трации
						мг/кг
						мг/л

ГХХ

вода	82,7-91,1	87,0	8,6	87,0 \pm 9,2	0,008	0,01-0,2
почва	72,0-92,0	83,0	15,1	83,0 \pm 15,5	0,02	0,02-0,4
рис	78,0-96,0	87,5	17,2	87,5 \pm 18,6	0,02	0,02-0,4

ТСХ

вода	77,4-90,9	85,5	18,8	85,5 \pm 19,9	0,01	0,01-0,2
почва	72,7-90,9	80,3	15,9	80,3 \pm 17,2	0,03	0,03-0,2
рис	72,7-81,8	75,8	12,1	75,8 \pm 14,3	0,03	0,03-0,2

Предел обнаружения в хроматографируемом объеме - 0,1 мкг,
ГХХ - 1,25 - 2,5 нг.

2.2 Реактивы и растворы.

Фекама-грибуфон, х.ч.

Основной стандартный раствор фекама-грибуфона, содержащий 500

мкг/мл в ацетоне. Хранят в течение 2-х месяцев в холодильнике.

Стандартный раствор фекама-грибуфона, содержащий 10 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 4166-76

Кальций хлористый, ГОСТ 4161-77, х.ч.

Хлороформ, х.ч., ГОСТ 20015-74

Азотнокислое серебро, х.ч., ГОСТ 1277-81

Аммиак водный, ч., ГОСТ 3760-79
 Пластинки "Силуфол" (Сhemapol, ЧССР)

Проявляющие реагенты:

1. а) 1% раствор 4-п-нитробензилпиперидина 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 -I.

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) ЛС 28-11-511-76

Лампа ПРК-4, ГОСТ 64-I-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

Деликатные 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 микроанальзов 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 сернистым безводным (10-20г), концентрируют на ротационном испарителе до 0,2-0,3 мл при температуре бани не выше 40°C. Досушка упаривают на воздухе. Остаток в колбе растворяют в 1 мл гексана и хроматографируют (ГХХ, 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 сернистым безводным (10-20 г). Растворитель концентрируют на ротационном испарителе до объема 0,2-0,3 мл при температуре бани не выше 40°C, досушка упаривают на воздухе. Остаток в колбе растворяют в 1 мл гексана и хроматографируют (ГХХ 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 сернистым безводным (10-20 г), концентрируют на ротационном испарителе до объема 0,2-0,3 мл при температуре бани не выше 40°C, досушка упаривают на воздухе. Остаток в колбе растворяют в 1 мл гексана и хроматографируют (ГХХ, ТСХ).

2.5.2 Идентификация и количественное определение фекама-трибуфона.

2.5.2.1 Метод газожидкостной хроматографии

Вводимый объем - 5 мкл.

Таблица 2

Условия ГХХ определения

Хроматографические параметры	ДПР	с	ДПР	ТВД
I	2	:	3	4
Неподвижная фаза	5% SE-30	:	4% SE-30+6% QF-1	5% SE-30

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

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:

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

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

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

S_{ст} - площадь пика на хроматограмме стандартного раствора препарата, введенного в хроматограф, мм²;

S_I - площадь пика на хроматограмме исследуемого раствора, мм²;

V_I - объем экстракта, введенный в хроматограф, мл;

V₂ - 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-нитробензид)пиридином, нагревают пластинку в течение 5 мин при температуре 110°C, затем обрабатывают 5 мл 10% раствора тетраэтиленпентамина.

Фенила 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 $0,68 \pm 0,05$.

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:

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

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 В.А.Дейка и Д.Б.Гиренко (НИИГНТОКС, Киев).