

**ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОМИССИЯ
ПО ХИМИЧЕСКИМ СРЕДСТВАМ БОРЬБЫ С ВРЕДИТЕЛЯМИ
БОЛЕЗНЯМИ РАСТЕНИЙ И СОРНЯКАМИ**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
по определению микротом количеств
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 по болезням растений и сорнякам

Москва - 1987 г.

Настоящие методические указания пред назначены для санитарно-эпидемиологических станций и научно-исследовательских учреждений Минздрава СССР, а также ветеринарных, агрономических, колхозально-технических лабораторий Госагропрома СССР и лабораторий других Министерств и ведомств, занимающихся определением остаточных количеств пестицидов и биопрепаратов в продуктах питания, кормах и пищевой среде.

Срок действия временных методических указаний устанавливается до утверждения гигиенических нормативов.

Методические указания одобрены 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.Калашник (зам. председателя),
М.А.Кышсанто (председатель), Г.И.Изроткова, В.Е.Кривачук,
Г.А.Хохольская, А.М.Шмитгудина.

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель Главного Государственного санитарного врача СССР

А.И.ЗАЙЧЕНКО

"12" мая

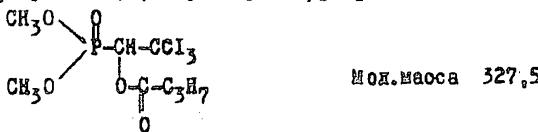
1983 г.

№ 2785-83

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

I. Краткая характеристика препарата.

Фекама-трибуфон (бутонат) – активное вещество 0,0-диметил- (1-бутирокси-2,2,2-трихлорэтоксил)фофонат.



Технический продукт – прозрачная маслянистая жидкость от желтого до желто-коричневого цвета. Нерастворим в воде, растворим в большинстве органических растворителей. Ёмкость в нейтральных и слабокислых водных средах. Давучесть 71,7 мг/м³ при 20°C. LD₅₀ для крыс 1780 мг/кг.

2. Методика определения фекама-трибуфона методами газохидроскопии 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 газохидроскопией и тонкослойной хроматографией. При газохроматографическом анализе избирательность метода обеспечивается использованием неподвижных фаз различной полярности; при тонкослойном детектировании двумя проявляющими реагентами. ПДК для воды, почвы, риса не установлены.

В пределах не мешают наполнители технического препарата, некоторые хлорогранические пестициды (γ -ГХЦГ, ДДТ) и фосфорогранические (ДДВФ, хлорофос).

2.1.2. Метрологическая характеристика методов ГХХ и ТСХ.

Таблица I

Метрологическая оценка методов

Анализи- руемый объект	Размах вары- ния, %	Среднее значе- ние оп- ределен- ия, %	Соотве- тствует ли оценке данных в интер- вале опре- деления средне- ним, %	Довери- тельный интер- вал: мг/кг; доля ошибки, %	Предел обнару- жения: мг/кг; концен- траций: мг/л	Диапа- сумма от- клонений от сред- ней: % при $r=0,95$
R						

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-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 10 мкг/мл.

Ацетон, ч., ГОСТ 2603-79

Бензол, ГОСТ 5955-75, х.ч.

и-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" (Chetapol, 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-I.

Авог газообразный, особой чистоты, содержание О₂ не более 0,003%, ГОСТ 9293-74

2.3 Приборы и посуда

Прибор для отгонки растворителей (ротационный вакуумный концентрирователь) ТУ 25-11-574-76

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-ИО6", "Цвет-ИО9", Газохром ИО9 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 микроличества 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-трибуфоном 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°C. 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-трибуфоном 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°C, 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-трибуфоном 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°C, 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	
I	:	2	:	3	:	4
Неподвижная фаза	5% SE-30		4% SE-30+6% QF-1		5% SE-30	

I	:	2	:	3	:	4
Температура колонки термостата		180°C		180°C		200°C
Температура испарителя		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		1,25-8нг		
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				20·10 ⁻¹² _a		

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:

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

X - количество препарата в пробе, мг/нг (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, мм²;

S₁ - площадь пика на хроматограмме исследуемого раствора, мм³;

V₁ - 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 фекама-трибуфона. Хроматографируют в системе

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

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

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

2) Хроматограмму обрабатывают 10 мл раствора азотиокислого 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 бензод-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 З.А.Ляйка и Д.Б.Гиренко (НИИГИМОКС, Киев).