

**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. И. Кароткова, В. Б. Кривачук,
Г. А. Хохолькова, А. М. Шмидтина.

"УТВЕРЖДАЮ"
 Заместитель Главного Государственного
 санитарного врача СССР
 _____ А.И.Замченко
 27 ноября 1984

 № 3160-84

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ НА ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДЕФОЛИАНТА
 ХЛОПЧАТНИКА БУТИФОСА В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ,
 СЫРЬЕ И ПРОДУКЦИИ МАСЛОЖИРОВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ
 МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

I. ХАРАКТЕРИСТИКА ПРЕПАРАТА

Бутифос (ДФФ) S, S, S - трибутилтрифтофосфат



Бутифос - олетжекеричневая жидкость с неприятным, резким запахом, температура кипения 154°C при 0,5 мм.рт.ст., практически нерастворим в воде, хорошо растворим в органических растворителях (бензол, толуол, спирт, хлороформ), летучесть препарата составляет 1мг/м³ при 20°C.

Препарат высокотоксичен: ЛД₅₀=170-250 мг/кг (для белых мышей), что связано с угнетением эстераз, обладает кумулятивными свойствами. ПДК в рабочей зоне составляет 0,2-0,1мг/м³, в атмосферном воздухе 0,01мг/м³, в воде водоемов санитарно-бытового назначения 0,0003мг/л, ^{МДУ} в хлопковом протее-3мг/кг, в других средах МДУ не установлены.

Бутифос применяется в хлопководстве для дефолиации хлоп-

чатника в виде 70% к.э.

2. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ БУТИФОСА В ПРИРОДНОЙ ВОДЕ,
ПОЧВЕ, ШЕЛУХЕ ХЛОПКОВЫХ СЕМЯН, ШРОТЕ И МАСЛЕ
МЕТОДОМ ГАЗОЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Методика основана на экстракции препарата из объекта органическим растворителем и последующим определении его в экстракте методом газожидкостной хроматографии с использованием фазы хроматен *N-AW* - ДМС S (0,12-0,16мм) + БЕ-30 (5%), на приборах, снабженных термометрическим детектором.

2.1.2 Метрологическая характеристика определения бутифоса методом газожидкостной хроматографии

Анализируемая проба	Предел обнаружения, мг/л, мг/кг	Среднее значение при определении, %	Стандартное отклонение, %	Относительное стандартное отклонение, %	Доверительный интервал при $P=0,95$ по Б
Вода	1×10^{-5}	95,6	6,2	0,06	$\pm 6,7$
Почва	0,1	100,8	12,4	0,12	$\pm 7,4$
Хлопковая шелуха	0,1	96,4	11,2	0,12	$\pm 17,8$
Хлопковый шрот	0,1	109,7	15,1	0,14	$\pm 23,5$
Хлопковое рафинированное масло	0,1	93,0	4,9	0,05	$\pm 7,9$

2.1.3. Избирательность методики

Метод избирателен в отношении 1000-кратного избытка хлороорганических пестицидов (ДДТ, ДДЕ, ДДД, α - и γ -ГХЦГ) и таких

фосфорорганических пестицидов, как метилмеркаптофос, фосфамид, метафос, антин, фозалан.

2.2. Реактивы, растворы, материалы

Бутифос 70% к.в.,

n-Гексан, перегнанный, ч, ТУ 6-09-3375-78.

Ацетон, хч, ГОСТ 2603-79.

Петрелыйный афюр (40-70°C), ч, ГОСТ II992-66.

Дистиллированная вода, ГОСТ 6709-72.

Алюминия окись II степени активности для хроматографии, ФУ ТУ 6-09-316-75.

Кремния окись для диоксида, ч, ТУ 6-09-3644-74.

Натрия селенистый, б/в, хч, ГОСТ 4166-76.

Азот технический, ГОСТ 9293-74.

Водород технический, ГОСТ 3022-80.

Воздух осушенный, очищенный на молекулярных ситах *NAH*.

Фильтровальная бумага, ГОСТ 12026-76.

Вата гигроскопическая, ГОСТ 5556-75.

Хроматон *M-AW* -ДМС S (0,12-16мм) + SE-30 (5%).

2.3. Приборы и посуда

Хроматограф "Цвет-106" с ТИД или любой другой с ТИД

Стеклянная колонка, диаметр 3мм, длина 1,0м

Аппарат для встряхивания АВУ-1, ТУ 64-1-1081-73

Аппарат для экстракции (рис.1).

Колбы круглодонные с се шпифами для этенки растворителем вместимостью 250мл, 500мл, 2л, ГОСТ 10394-72.

Центрифуга ЦКС-2.

Магнитная мешалка МИЗМ.

Микрошприц МШ-10, ТУ -5Е2.833.024.

Медицинский шприц 2,5, 20мл, ГОСТ 18137-77.

Колонка У-образная, длина 250мм, диаметр 4мм, заземленная

стеклянными париками (рис.2)

II4

Холодильник на медно-трубки, диаметр 2мм, длиной 1,5м (рис.2)

Соединительные трубки из тефлона

Термостатируемая камера с устройством для подачи регулируемого потока газа (блок-термостат хроматографа ЛХМ-8МД)

Колбы марки 25, 100мл, ГОСТ 1770-74

Колбы конические и/л 29/31 250мл, 2л, ГОСТ 10394-72

Воронки долготельные 250мл, 2л, ГОСТ 8613-75

Пробирки градуированные с протертыми пробками, 10мл, ГОСТ 1773-74

Пипетки 1, 2, 5 мл, ГОСТ 20292-74

Весы аналитические ВЛА-200г-И, ТУ 64-1-1081-75

Баши водная, ТУ 46-22-608-75

Электропитание с закрытым обогревом, ГОСТ 306-76

2.4. Подготовка к определению

2.4.1. Приготовление стандартного раствора бутифоса

Смешивают 70% н.э. с н-гексаном в соотношении 1:5, затем в раствор добавляют точно алюминия в весовом соотношении 1:5:0,1 и периодически перемешивают в течение часа. Затем раствор фильтруют через вату в прибор для отгона растворителя. Н-Гексан отгоняют полностью. Полученный кубовый остаток считают 98,5%-ным бутифосом по хроматомасс-спектрометрическим данным.

Стандартный раствор бутифоса с концентрацией 0,1мг/мл в 1×10^{-3} мл/мл готовят из очищенного концентрата следующим образом: навеску 10,0мг взвешивают на аналитических весах и переносят в мерную колбу на 100мл, растворяют в н-гексане или ацетоне (раствор "А").

Рабочие растворы готовят путем последовательного разбавления раствора "А" в 10, 10², 10⁴ раз. Раствор "А" замораживают в аллюии и хранят в холодильнике в течение года. Рабочие растворы готовят раз в месяц и хранят в холодильнике.

2.4.2. Отбор и хранение проб

2.4.2.1. Отбор проб почвы, воды проводят в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроразнообразия пестицидов", утвержденными МЯ СССР за №2051-79 от 21.09.1979, отбор проб врата по ГОСТ 13979.0-68 "Химикаты, проты, горчициный порошок. Отбор проб", шелухи хлопковой по РСТ УзССР 455-80 "Шелуха хлопковая", масла хлопкового по ГОСТ 5471-59 "Масла растительные. Методы отбора проб".

2.4.2.2. Хранение проб почвы и воды

Почвенные образцы анализируют сразу после отбора. Одновременно производится анализ почвы на влажность для внесения поправки на все навески почвы.

Пробу воды можно хранить в холодильнике не более суток.

2.4.2.3. Определение влажности почвы

Определение влажности проводят следующим образом: в бинке с притертой крышкой, предварительно взвешенный на аналитических весах, помещают навеску почвы 5-8г, взвешивают на аналитических весах и сушат в сушильном шкафу при 105°C с открытой крышкой, остужают и взвешивают снова. Расчет влажности проводят по формуле:

$$\text{Влажность, \%} = \frac{(\text{вес бинка с почвой до сушки, г}) - (\text{вес бинка с почвой после сушки, г})}{(\text{вес бинка с почвой после сушки, г}) - (\text{вес бинка с пустого, г})} \times 100\%$$

2.5. Проведение определения

2.5.1. Экстракция

Ведл. Из нефилърованной воды переносят в коническую колбу на 2л. Посуду из-под пробки тщательно спеласкивают 10-15мл ацетона и объединяют с пробой воды. К пробе добавляют 40-50мл n-гексана и перемешивают на магнитной мешалке в течение 10мин. Затем содержимое колбы переносят в делительную воронку на 2л и слои разделяют, водный (нижний) сливают в ту же колбу для повторной экстракции. Гексановый экстракт фильтруют через воронку с безводным сернистым натрием (около 3г с подложкой из обезжиренной ваты), промытый 5-7мл n-гексана. Повторную экстракцию проводят перемешиванием в течение 10мин пробой в 40мл смеси гексан:ацетон 4:1. Слои повторно разделяют в делительной воронке. Водный (нижний) отбраковывают, гексановый - фильтруют через ту же воронку с сернистым натрием и объединяют с предыдущей порцией экстракта. Концентрирование проводят путем отгонки растворителя при температуре бани не выше 70°C до объема 3-5мл. Остывший экстракт количественно переносят в градуированную пробирку с притертой пробкой. В хроматограф вводят 2-3мл полученного раствора.

При отсутствии магнитной мешалки экстракцию проводят путем двукратного встряхивания пробой в 40мл смеси гексан:ацетон 4:1.

Печва. 10-20г печвы с естественной влажностью помещают в коническую колбу на 250мл, увлажняют дистиллированной водой в отношении 1:2 (по весу) и оставляют ее закрытой на ночь. К увлажненной печве приливают 40мл смеси гексан:ацетон 4:1, перемешивают на магнитной мешалке в течение 15мин, затем переносят в центрифужные стаканы и центрифугируют 15мин при 1000-2000 об/мин. Жидкую часть декантируют в делительную воронку а к твердому остатку приливают 40 мл смеси гексан:ацетон 4:1 и повторяют экстракцию. После центрифугирования жидкую часть декантируют в делительную воронку. Нижний водный слой отбраковывают, а оставшийся экстракт

в н-гексанае фильтруют через воронку с сернистыми натрием, концентрируют путем выпаривания растворителя до объема 3-5мл. Остаточный экстракт количественно переносят в градуированную пробирку с притертой пробкой. В хроматограф вводят 2-3мл полученного раствора.

Хлоркопальный шрот, 10г шрота помещают в патрон из фильтровальной бумаги (высотой 80мм), предварительно залпненный обезжиренной ватой, окисью кремния (около 5г), помещают в аппарат (рис.1) и проводят экстракцию в течение 3-4 часов 100-150мл н-гексана при температуре кипения растворителя.

После охлаждения экстракт концентрируют до 1-2мл. В хроматограф вводят 3-5мл полученного раствора.

Хлоркопковая шелуха, Анализ хлоркопковой шелухи проводят также как анализ хлоркопкового шрота с той только разницей, что берут навеску шелухи 20г, делят ее на две равные части, каждую помещают в патрон и экстрагируют. Экстракты перед концентрированием объединяют.

Хлоркопковое рафинированное масло, Экстракцию бутифоса из масла проводят методом конденсации. Для этого собирают установку, включающую термостатируемую камеру с устройством для подачи газа, в которую помещена стеклянная U-образная колонка. Схема установки приведена на рисунке 2. Температуру колонки и камеры ввода пробы устанавливают 240°C, скорость подачи азота через систему - 45-50мл/мин.

Для проведения определения 1мл масла смешивают с 1мл н-гексана, набирают смесь шприцем и вводят в колонку в течение 1-2мин. Затем колонку с помощью шприца промывают 20мл н-гексана со скоростью 1,5-2мл/мин. Полученный экстракт концентрируют до 1-2мл. В хроматограф вводят 3-5мл полученного раствора:

2.5.2. Условья хроматографирования

Расход газа-носителя через колонку (азот)	33мл/мин
Расход водорода на ТИД (корректируется по фоновому току)	14-15мл/мин
Расход воздуха на ТИД	24л/час
Температура испарителя	240°C
температура термостата	220°C
Температура колонки	220°C
Рабочая шкала электрометра	2x10 ⁻¹⁰ А
Длина колонки	1м
Скорость протяжки ленты	600мм/час
Время удерживания бугифоса на колонке длиной 1м	3мин.40сек.
Линейный диапазон доэквивирования	0,01-8 мкг

2.5.3. Обработка результатов анализа

Содержание пестицида в пробе рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A \cdot N_x \cdot V_2}{N_{от} \cdot V_I \cdot P} \quad , \text{ где:}$$

X - количество бугифоса в пробе, мкг/кг, мг/л;

A - количество бугифоса в хроматографируемом объеме стандартного раствора, мкг;

N_{от} - высота пика бугифоса на хроматограмме стандартного раствора, мм;

N_x - высота пика на хроматограмме экстракта, мм;

V_I - хроматографируемый объем пробы, мл;

V₂ - общий объем анализируемого экстракта, мл;

P - масса анализируемой пробы, кг (с учетом остаточной влажности почвы).

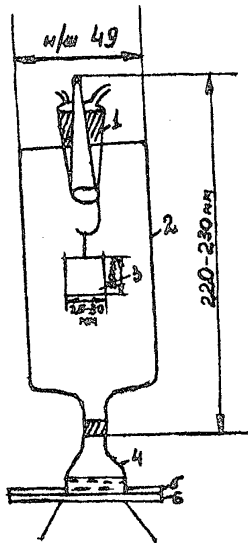


Рис. I. Аппарат для экстракции

1. Холодильник

5. Водная баня

2. Экстрактор

6. Электрическая

3. Патрон с навозкой пробой

4. Ножка плоскодонная, \varnothing 250 мм

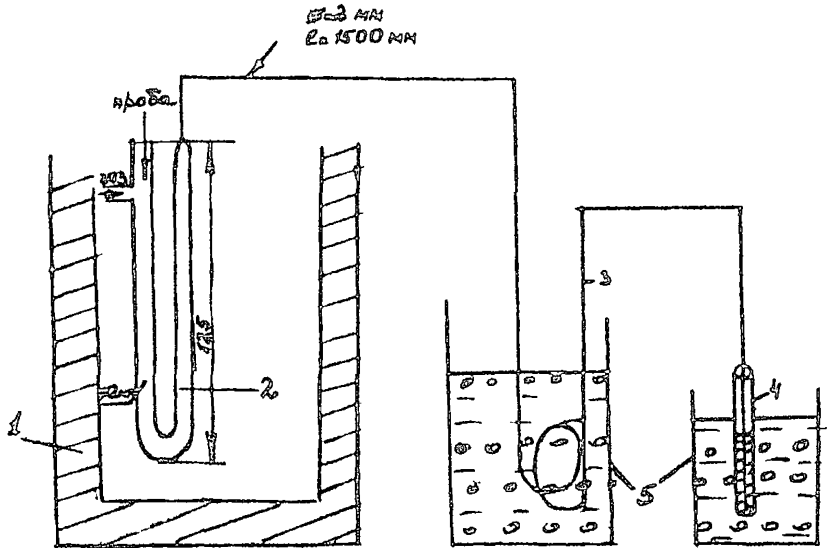


Рис.2. Схема установки для водноспиритации

1. Печь с регулятором температуры
2. Колонка стеклянная с варниками
3. Холодильник
4. Присосник эвстракта
5. Охлаждающая баня

3. Техника безопасности

Необходимо соблюдать общие правила техники безопасности при работе с химическими реактивами, токсическими веществами и едкими газами.

4. Разработчики

Белобородова И.Ф., Бергман Н.Г., Просмушкина Л.В. (Среднеазиатский региональный научно-исследовательский институт Зритель, В.А.Бу - гасова, г.Ташкент), Шейнина Р.И. (СРЕДАЗНИИПИЩПРОМ, г.Ташкент).