"Утверждено" Министерством здравоохранения СССР

"29" июля 1991 г.

N 6245-91.

Временные методические указания по определению остаточных количеств имазетапира в сое, горохе, сырье лекарственных культур, почве, воде методом тонкослойной хроматографии.

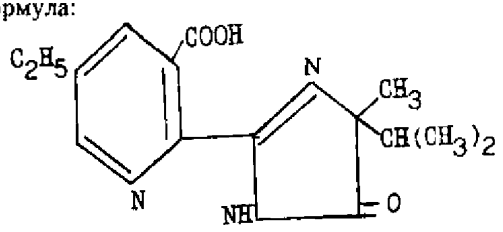
1. Краткая характеристика препарата.

Имазетапир- действующее вещество гербицида пивот, ф.Цианамид,США.

Химическое название: (RS)-5-этил-2-(4-изопропил-4-метил-5-оксо-2-имидозолин-2-ил) никотиновая кислота.

Молекулярная формула: $C_{15}H_{19}N_3O_3$

Структурная формула:



М.м. 289,34.

Химически чистый препарат пивота представляет собой порошок от белой до желтой окраски с легким кисловатым запахом. Тпл 169-173° С, Ткип 180° С. Растворимость при 25° С (г/100мл): в ацетоне - 4,82; диметилсульфоксиде - 42,25; метаноле - 10,5; пропаноле - 1,73; воде - 0,14. Давление паров - 1.10^{-7} мм.рт.ст.

Препарат малотоксичен для теплокровных. $ЛД_{50}$ для кроликов и мышей при оральном введении 5000 мг/кг. При прямом контакте не оказывает раздражающего действия на кожу.

МДУ пивота в бобах сои - 0,5 мг/кг, ПДК пивота в почве - 0,1 мг/кг, в воде 0,7 мг/л, ОБУВ в воздухе рабочей зоны - 2,0 мг/$м^3$, в атмосферном воздухе - 0,04 мг/$м^3$.

Пивот применяется в борьбе с сорной растительностью в посевах бобовых культур.

Разработчики: Г.П.Пушкина, НПО "ВИЛАР", Киевский институт усовершенствования врачей.

gost.e-ecolog.ru

2.1. Основные положения.

2.1.1. Принцип метода.

Метод определения имазетапира основан на извлечении гербицида из бобов и травы сои подкисленным водным этанолом, из травы лекарственных культур и гороха (зерно) -70% водным ацетоном,из почвы смесью ацетона и 0,05 н $CaCl_2$, очистке экстрактов путем переэкстракции с последующим определением вещества тонкослойной хроматографией.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода.

I. В качестве проявляющего реагента - 0-толидин. Минимально определяемое количество имазетапира в пробе - 0,5 мкг.Нижний предел определения пивота в лекарственном сырье (трава) и горохе (зерно) - 0,08 мг/кг, в почве - 0,05 мг/кг, в воде - 0,01 мг/кг, % обнаружения пивота в сырье- 68-70%, в почве - 75-80%. **II.** В качестве проявляющего реагента - бромфеноловый синий.Минимально определяемое количество пивота в пробе 3 мкг.Нижний предел обнаружения пивота в сырье бобов сои 0,3 мг/кг, в траве - 0,30 мг/кг, в почве - 0,15 мг/кг, в воде - 0,07 мг/кг.

2.1.3. Избирательность метода.

Метод селективен. Прочие пестициды не мешают определению.

2.2. Реактивы и растворы.

Ацетон, х.ч., ГОСТ 22300-76.

Хлороформ, х.ч., ГОСТ 22300-76, перегнанный.

Имазетапир, ан. станд., фирма Цианамид.

н-Гексан, ч.д.а., ТУ 6-09-3375-78.

Сульфат натрия, х.ч., ТУ 6-09-3675-74, безводный.

Соляная кислота, ч., ГОСТ 3118-77.

О-толидин, ТУ 6-09-2223-75.

Этиловый спирт, ректиф. ГОСТ 5962-67.

Уксусная кислота, ч., ГОСТ 18270-72, ледяная.

Перманганат калия, ГОСТ 20490-75.

Четыреххлористый углерод.

Йодид калия, ч., ГОСТ 4222-74.

Серная кислота.

Азотнокислое серебро, ч.д.а., ГОСТ 1277-81.

Бромфеноловый синий, ч.д.а., ТУ 6-09-113-2.

Проявляющие реагенты:**I.**Растворяют 0,16 г о-толидина в 30 мл ледяной уксусной кислоты, доводят до 500 мл дистиллированной водой и прибавляют 1 г иодида калия. Раствор хранят в темной склянке.Годен к употреблению в течение длительного времени.**II.** 0,05 г бромфенолового синего растворяют в 10 мл ацетона и доводят до 100 мл 1% раствором нитрата серебра в водном ацетоне (ацетон:вода, 3:1).

Экстрагирующая смесь: 1 часть 1М HCl, 39 частей H_2O и 60 частей этанола.

Стандартные растворыио имазетапира в ацетоне с содержанием 100 мкг/мл и 10 мкг/мл.

2.3. Приборы, аппаратура, посуда.

Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М ТУ 11-97-76.

Лампа УФ света МРТУ 42-1618.

Хроматографическая камера с пришлифованной крышкой.

Мерные колбы, ГОСТ 1770-74, вместимостью 100 мл.

Делительные воронки, ГОСТ 25336-82, вместимостью 500 мл, 250 мл.

Пульверизаторы стеклянные.

Чашки Петри, ГОСТ 25336-82.

Эксикатор, ГОСТ 25336-82.

Пипетки градуированные, ГОСТ 20292-74 на 10, 1 и 0,1 мл.

Градуированные пробирки, ГОСТ 1770-74, с пробками на шлифах вместимостью 10 мл.

Колбы плоскодонные, ГОСТ 25335-82, вместимостью 500 и 250 мл.

Цилиндры мерные, ГОСТ 1770-74, вместимостью 100 и 25 мл.

Микрошприцы на 100 мкл, ГОСТ 20292.

Почвенное сито.

Хроматографические пластинки "Silufol", Чехословакия.

Хроматографические пластинки "Сорбфил", ТУ 26-11-17-89 ПКБ Пластмаш, МВС АН России г.Краснодар.

Зерновая мельница или кофемолка.

2.4. Подготовка к определению.

2.4.1. Подготовка камеры для хлорирования.

Хлорирующий раствор готовят быстрым смешиванием четыреххлористого углерода, 3% раствора перманганата калия и 12% раствора HCl (1:1:1).

2.4.2. Подготовка хроматографических камер.

Хроматографическая камера заполняется смесью подвижных растворителей:I. Н-гексан:хлороформ:уксусная кислота:этиловый спирт (20:2:2:4) (для лекарственного сырья).

II. Н-гексан:этанол:хлороформ:уксусная кислота (30:10:5:1) (для сои). для насыщения камеры парами подвижных растворителей необходимо 1-1,5 часа при температуре не менее 20-25° С.

2.5. Отбор проб.

Отбор проб для проведения определения проводится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов внешней среды для определения микроколичеств пестицидов", утвержденными Минздравом СССР 21 августа 1979 года N 2051-79.

2.6. Подготовка проб к анализу.

Сухое сырье (трава) лекарственных культур, травы и бобов сои, зерна гороха измельчают на зерновой мельнице или кофемолке, сырое сырье режут ножницами, навеску бобов (сырую) растирают в ступке.

Сырую почву растирают в ступке, а сухую просеивают через сито.

2.7. Проведение определения.

Лекарственное сырье (трава), горох (зерно).

Навеску сырой травы 50 г или сухой 10 г, зерен гороха (сухой) - 10 г помещают в плоскодонную колбу вместимостью 250 мл. Пробу заливают 100 и 50 мл 70% подкисленного HCl ацетона соответственно и оставляют на ночь. Экстракт фильтруют и повторяют экстракцию 2 раза по 50 и 25 мл растворителя.

Объединенные экстракты переносят в делительную воронку, добавляют 50 мл дистиллированной воды, подкисляют концентрированной H_2SO_4 до pH=2 и приливают 30 мл гексана. Содержимое взбалтывают в течение 2-х минут. Гексановую фракцию отбрасывают, в делительную воронку к оставшейся водно-ацетоновай фракции добавляют 30 мл хлороформа и пивот экстрагируют путем встряхивания в течение 2-х минут.

Повторяют экстракцию еще 2 раза по 25 мл. Хлороформные экстракты объединяют и переносят в делительную воронку, приливают 25 мл 50% водного раствора бикарбоната натрия, встряхивают содержимое в течение 2-х минут. После разделения слоев хлороформ отбрасывают, а в бикарбонат добавляют 1М H_2SO_4 до pH=2. Жидкость перемешивают до полной дегазации.

Далее в бикарбонатный раствор добавляют 25 мл хлороформа и 10 г хлористого натрия. Воронку встряхивают. После разделения фаз хлороформный слой переносят в отгонную колбу, пропуская его через слой безводного сернокислого натрия. Повторяют экстракцию порциями хлороформа по 15 мл. Хлороформ отгоняют под вакуумом при 40°С досуха.

Сухой остаток растворяют в 0,5 мл ацетона.

Соя,(трава, бобы). Навеску бобов сои 50 г сырых и 20 г сухих заливают экстрагирующей смесью (HCl 1М:H_2O :этанол, (1:39:60)) 100 и 50 мл соответственно и оставляют на ночь.

Навеску травы сои 50 г сырой и 50 г сухой также заливают экстрагирующей смесью и оставляют на ночь.

Экстракты фильтруют через воронку Бюхнера, промывая пробу экстрагирующей смесью дважды по 50 мл.

Объединеные экстракты переносят в делительную воронку, доводят pH раствора до 1-2 и приливают 30 мл смеси гексана. Далее определение проводят так как в случае лекарственного сырья.

Почва. Навеску сырой почвы 100 г, навеску сухой почвы 50 г заливают смесью ацетона и 0,05 н $CaCl_2$ (2:1) и оставляют на ночь.

Количество смеси: 100 мл в случае сырой почвы, 50 мл в случае сухой.

Экстракт фильтруют в делительную воронку. Экстракцию повторяют еще 2 раза по 50 и 25 мл растворителя. Объединенные в делительной воронке экстракты подкисляют 1М H_2SO_4 до pH=2, добавляют 50 мл хлороформа и пивот экстрагируют при перемешивании в течение 2-х минут.

Далее определение вещества проводят аналогично описанному для лекарственного сырья.

Вода. 200 мл воды помещают в делительную воронку на 500 мл, подкисляют конц. H_2SO_4 до pH=2.Имазетапир экстрагируют трижды по 30 мл хлороформа.

Объединенные хлороформные экстракты пропускают через слой безводного сернокислого натрия. Растворитель упаривают досуха при температуре t=40° С. Остаток растворяют в 0,5 мл ацетона.

2.7.1. Хроматографирование.

На хроматографические пластинки "Силуфол" и "Сорбфил" с помощью микропипетки на 0,1 мл наносят 0,1 мл раствора. Справа и слева наносят серию стандартных растворов имазетапира с содержанием вещества 0,4; 0,5; 0,6; 0,8; 1,0 мкг в случае проявляющего реагента о-толидина. Градуировочные растворы готовят в мерных пробирках на 10 мл согласно таблице 1.

Таблица 1.

Стандартные растворы имазетапира при проявляющем реагенте о-толидин.

	Номер стандарта				
	1	2	3	4	5
Взято стандартного раствора имазетапира 10 мкг/мл	4	5	6	8	10
Добавлено ацетона в мл	6	5	4	2	0
Содержание имазетапира в 0,1 мл в мкг	0,4	0,5	0,6	0,8	1

В случае проявляющего реагента бромфенолового синего, стандартные растворы определяемого соединения наносятся с содержанием 2; 3; 4; 5; 7 мкг. Градуировочные растворы готовят в мерных пробирках на 10 мл согласно таблице 2.

Таблица 2.

Стандартные растворы имазетапира при проявляющем реагенте бромфеноловый синий.

	Номер стандарта				
	1	2	3	4	5
Взято стандартного раствора имазетапира 100 мкг/мл	2	3	4	5	7
Добавлено ацетона в мл	8	7	6	5	3
Содержание имазетапира в 0,1 мл в мкг	2	3	4	5	7

Хроматографирование осуществляют в системах:

I. Н-гексан:хлороформ:уксусная кислота:этанол (20:2:2:1) (для лекарст-

венного сырья, почвы и воды).

II. Н-гексан:этанол:хлороформ:уксусная кислота (30:10:5:1) (для сои, почвы и воды).

При подъеме фронта растворителя на 10 см на пластинках "Силуфол" и на 5 см на пластинках "Сорбфил", пластинки вынимают из хроматографической камеры, сушат на воздухе. Далее пластинки обрабатывают проявляющим реагентом:

I. Пластинку помещают под УФ-лампу на 10 минут, а затем на 10-15 минут в хлорирующую камеру. После удаления избытка хлора, пластинку обрабатывают из пульверизатора о-толидином.

II. Пластинку обрабатывают бромфеноловым синим, подсушивают и опрыскивают 2% раствором лимонной кислоты.

Пивот проявляется в виде синего пятна на желтоватом фоне. Окраска сохраняется в течение 5-10 минут.

R_f препарата 0,35. Если температура будет ниже 20° С, то значение R_f может быть ниже указанной величины.

2.8. Обработка результатов анализа.

Количественное определение содержания имазетапира в пробе проводят путем сравнения площади интенсивности окраски пятен рабочей пробы и серии стандартных растворов.

Содержание имазетапира в анализируемой пробе (X) мг/кг вычисляют по формуле:

$$X=\frac{C.V}{V_1.P}, мг/кг$$

C - содержание имазетапира, найденное в хроматографируемой пробе, мкг;

V - общий объем раствора, мл;

V_1 - объем аликвоты нанесенной на пластинку, мл;

P - навеска анализируемой пробы в г.

3. Требования техники безопасности.

Соблюдать требования техники безопасности, принятые для работы с растворителями, легковоспламеняющимися жидкостями и пестицидами.

gost.e-ecolog.ru