Министерство сельского хозяйства
Российской Федерации

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

МОСКВА
ЦЕНТР НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ,
ПРОПАГАНДЫ И РЕКЛАМЫ
1994 г.

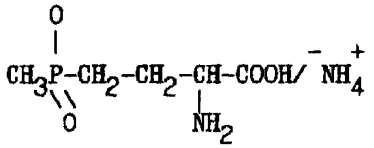
gost.e-ecolog.ru

Утверждено
Министерством здравоохранения СССР
"29" июля 1991 г.
№ 6106-91

ВРЕМЕННЫЕ МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ ГЛУФОСИНАТ АММОНИЯ (БАСТА) В ВОДЕ И РАСТИТЕЛЬНЫХ КУЛЬТУРАХ МЕТОДОМ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

1.Краткая характеристика

Глуфосинат аммоний (баста),ХОЕ 039866-DL-гомоаланин-4-ил-(метил)-фосфонат аммония (по номенклатуре ИЮПАК)



$C_5H_{15}N_2O_4P$

М.м. 198,19

Белое кристаллическое вещество, температура плавления 215^{0}С. Растворим в воде, не растворим в органических растворителях.ОДУ в воде водоемов 0,02 мг/л.

Гербицид для борьбы с широким спектром одно - и многолетних двудольных и злаковых сорняков в овощеводстве, виноградарстве, садоводстве.

2. Методика определения глуфосината аммония (баста) в воде и растительных культурах [x/]

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

Метод основан на концентрировании водного экстракта, очистке и выделении глуфосината аммония на колонке с полисорбом и определении препарата

Разработчики: Письменная М.В.,Гальперина С.Р.,ВНИИГИНТОКС,.Киев.

из аликвоты подготовленного экстракта хроматографией на пластинках "силуфол" с обнаружением басты по реакции с нингидрином.

2.1.2. Метрологическая характеристика метода

Минимально детектируемое количество - 0,1 мкг;

Нижний предел определения

вода 0,025 мг/л

растения:

овощи,фрукты 0,1 мг/кг

зерно 0,2 мг/кг

зеленая масса (травянистая растительность,хвоя) - 0,5мг/кг

Размах варьирования, %

вода 70-102

растения 66-105

Среднее значение определения, %

вода 87

растения 83

Стандартное отклонение,%

вода 5,6

растения 6,4

Доверительный интервал среднего при p=0,95; n=5

вода $\pm$ 15,6

растения $\pm$ 18

Поправочный коэффициент, учитывающий потери при концентрировании вымораживанием до 2-3 мл, равен 1,2

---

x/ Примечание: методика разрабатывалась на яблоках различных сортов, кожуре цитрусовых, травянистой растительности, хвое, зерне, картофеле; при определении в других культурах необходимо предварительно провести анализ контрольной пробы исследуемого продукта.

2.1.3.Избирательность метода

Определению не мешают другие ФОП,в том числе водорастворимые глифосат фосфамид.Определению могут мешать водорастворимые коэкстрактивные вещества,содержащие аминогруппу.В связи с этим проводится ТСХ анализ контрольного образца исследуемой культуры как описано ниже (п.2.5.1.).

2.2.Реактивы и растворы

Ацетон,х.ч.,ГОСТ 2603-79.

н-Гексан,х.ч.,ТУ 6-09-3375-78.

Полисорб С-60/100,ТУ 6-05-211-1313-86.

Метанол,х.ч.,ГОСТ 6995-77.

Аммиак водный,25%,ч.,ГОСТ 3760-79.

Этилацетат,х.ч.,ГОСТ 22300-81.

Этанол 96%,ГОСТ 5962-81.

Медь сернокислая,чда.,ГОСТ 19347-84,прокаленная при $t=160^{O}C$ до светлоголубого цвета.

Натрия хлорид,ч.,ГОСТ 4233-77.

Диэтиловый эфир,медицинский,ГОСТ 6265-74.

Вата обезжиренная (промытая эфиром).

Бинт или марля.

Глуфосинат аммоний с содержанием основного вещества не менее 99%.

Основной стандартный раствор (ОСР) глуфосината аммония:100 мг вещества растворяют в 100 мл 1%-ного водного раствора аммиака.Раствор хранить в холодильнике не более 3-х месяцев.

Рабочие стандартные растворы 1-100, 2-10 мкг/мл, 3-1 мкг/мл готовят разведением ОСР 1%-ным раствором аммиака.

Растворы хранить в холодильнике не более 2-х недель.

Проявляющий реагент:2%-ный раствор нингидрина в ацетоне.Хранить в темной склянке.

2.3.Приборы и посуда

Аппарат для встряхивания АВУ-1,ТУ 64-11081-83.

Ротационный вакуумный испаритель ИР-1М с набором колб,ТУ 25-11-917-74.

Вакуумный водоструйный насос.

Колба Бунзена емк.250 мл,ГОСТ 25336-82.

Воронка Бюхнера,d=75 мм,ГОСТ 9147-80.

Электроплитка с закрытой спиралью.

Холодильник бытовой с морозильной камерой.

Колбы конические,250,50 мл,ГОСТ 25336-82.

Колбы мерные,100,50 мл,ГОСТ 1770-74.

Цилиндры мерные,50,100 мл,ГОСТ 1770-74.

Пробирки мерные,10 мл,ГОСТ 1770-74.

Выпарительные чашки 40-50 мл, ГОСТ 9147-80.

Колонки хроматографические α =18 мм, высота 20 см.

Пипетки на 1-10 мл, ГОСТ 1770 -74.

Микропипетки на 0,1; 0,2 мл, ГОСТ 1770-74,
или дозаторы пипеточные на 0,1; 0,2 мл, III, ТУ 84-1-3329-81, или шприц на 1 мл.

2.4. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с "Унифицированными правилами отбора проб для определения микроколичеств пестицидов в сельскохозяйственной продукции, продуктах питания и объектах окружающей среды", утвержденными Заместителем Главного государственного санитарного врача СССР 21.08.1979, № 2051-79.

2.5. Проведение определения

2.5.1. Экстракция глуфосината аммония из воды и растений

Вода. 200 мл анализируемой пробы помещают в круглодонную колбу емкостью 500 мл. Присоединяют колбу к ротационному испарителю, помещают

ее в баню с мелко раздробленным льдом с солью (10:3)[x"]. Вращают колбу на ротационном испарителе (без включения вакуума), чтобы вода в колбе начала кристаллизоваться. Кристаллизацию проводят до тех пор, пока в колбе не останется ≈ 20 мл воды. Оставшуюся воду переносят в отгонную колбу емкостью 50-100 мл и продолжают кристаллизацию до тех пор, пока в колбе не останется 2-3 мл. Быстро сливают воду в мерную пробирку (V_1). Либо оставшуюся воду (≈20 мл) сливают в выпарительную чашку и упаривают на кипящей водяной бане до объема ≈ 2 мл (Осторожно! Не выпаривать досуха чашку периодически ополаскивают водой, оставшейся в чашке). Переносят оставшуюся воду в мерную пробирку. Измеряют объем (V_1). Отбирают 1 мл пробы, прибавляют к нему 1 мл этанола и 1 мл (1,2 г) прокаленной сернокислой меди, перемешивают, дают отстояться и аликвоту 0,1-0,3 мл наносят на хроматографическую пластинку.

Растительные продукты. Овощи, фрукты, траву измельчают до 0,5-1 см, зерно до 2-3 мм (отсеивают от муки) и отбирают среднюю пробу: овощи, фрукты 100 г, травы 20 г, зерна 50 г. Пробу помещают в плоскодонную колбу и заливают точно измеренным объемом воды: овощи, фрукты - 150 мл, траву зерно - 100мл. Встряхивают пробу в течение 1 часа на аппарате для встряхивания. Отбирают часть экстракта (овощи, фрукты 80-90 мл, зерно, трава-60-70 мл), фильтруя его под вакуумом водоструйного насоса в колбу Бунзена через двойной слой марли, вложенной в воронку Бюхнера. Из колбы Бунзена отбирают в цилиндр точно половину прибавленного к исследуемому образцу объема воды: овощи, фрукты-75 мл (соответствует массе "Р"-50 г), трава, зерно - 50 мл (масса 10 и 25 г соответственно). Измеренный водный экстракт переносят в делительную воронку и промывают этилацетатом 2 х 30 мл;этил-

---

x" /Примечание:Приготовленную смесь лед с солью можно повторно заморозить в холодильнике,чтобы использовать в дальнейшем.

ацетат (верхний слой) отбрасывают.Водный экстракт переносят в колбу для отгонки растворителей емкостью 100-150 мл и концентрируют вымораживанием до 2-3 мл,как описано для воды.Далее проводят очистку образца на колонке, как описано ниже.

Одновременно с анализируемым образцом подготавливают экстракт аналогичного контрольного образца.

Очистку экстрактов проводят на колонке с полисорбом.

Подготовка колонки. Колонку присоединяют к колбе Бунзена, соединенной с водоструйным насосом.В колонку помещают тампон из обезжиренной ваты, насыпают 15 $см^3$ полисорба,наливают 10 мл ацетона и включают водоструйный насос. Затем на слой полисорба помещают ватный тампон и промывают слой еще 40 мл ацетона при легком просасывании водоструйным насосом,чтобы полностью удалить ацетон.Затем насос отключают.

К подготовленному как описано выше экстракту (2-3 мл) прибавляют 50 мл ацетона и хорошо перемешивают. Пропускают полученный ацетоновый раствор через колонку под вакуумом водоструйного насоса, промывают колонку 20 мл ацетона (под вакуумом),затем 20 мл смеси ацетон-вода 9:1 (под вакуумом) и весь элюат отбрасывают.Колбу отключают от вакуума,пропускают через колонку 15 мл воды при прокапывании без отсоса.Когда над слоем сорбента останется ~ 0,5 см воды,подключают колбу с колонкой к водоструйному насосу.Сливают элюат из колбы в мерную пробирку и измеряют точно

Примечание: Можно (за исключением образцов, содержащих крахмал, например картофель, зерно) вместо концентрирования вымораживанием использовать только способ концентрирования упариванием, но при этом использовать небольшие выпарительные чашки, а пробу доливать в чашку по мере упаривания. Упаривать осторожно, чтобы остаток в чашке каждый раз был не менее 2 мл). При этом способе концентрирования перед очисткой на колонке экстракт в чашке (2-3 мл) охлаждают 10 минут в холодильнике (t+4-6°C). К охлажденному экстракту прибавляют ацетон как описано ниже.

объем-V_1 (должно быть ~10 мл).Отбирают 1 мл экстракта,прибавляют к нему 1 мл этанола и 1 мл (1,2 г) прокаленной сернокислой меди,перемешивают,дают отстояться и аликвоту 0,1-0,2 мл анализируют методом ТСХ.

Одновременно готовят элюат контрольного образца.Из полученного контрольного элюата (10 мл) отбирают в две пробирки по 1 мл,в одну из которых прибавляют микропипеткой 1 мкг глуфосината аммония (0,1 мл рабочего стандартного раствора 2).Если нет возможности подготовить экстракт контрольного образца (см п.2.1.3.),то обязательно от полученного элюата исследуемого образца отбирают 1 мл и прибавляют в него микропипеткой 1 мкг глуфосината аммония.Далее прибавляют по 1 мл этанола и поступают как описано выше для исследуемого образца.

2.5.2.Тонкослойная хроматография

Пластинку "силуфол" размером 15 х 15 см делят на 5 полосок шириной 3 см.С нижнего края пластинки,на расстоянии 1,5 см от края,по центру каждой полосы,наносят микропипеткой (шприцом) или пипеточным дозатором по 0,2 мл контрольного элюата,элюата с внесенным глуфосинатом аммония,элюата исследуемого образца, 0,2 мл рабочего стандартного раствора 3,что соответствует (0,2 мкг) и 0,1 мл рабочего стандартного раствора 2,что соответствует 1 мкг.Пластинку при нанесении проб и стандартов для более быстрого испарения воды можно подогревать на электрогрелке.Когда вода испарится,пластинку помещают в хроматографическую камеру,в которую налита смесь метанол-аммиак (7:3).Дают растворителю подняться на 10 см от старта и вынимают пластинку из камеры.Помещают ее под УФ свет на 25 минут,располагая на расстоянии 20 см от источника света.После облучения опрыскивают пластинку проявляющим реагентом и помещают на 1 мин в сушильный шкаф при тем-

---

Примечание:при увеличении температуры и времени прогрева,а также при более длительном хранении (уже после проявления стандартов) в некоторых образцах проявляются коэкстрактивные вещества с R_f $0,68^{\pm}0,05$ и $0,72^{\pm}0,05$, $0,5^{\pm}0,05$.

пературе 40°С.Затем вынимают из шкафа и оставляют при комнатной температуре (исключить прямое попадание солнечного света).Через 5-7 минут проявляются сиренево-красного цвета пятна глуфосината аммония с R_f 0,7±0,5, в том числе стандарт,внесенный в контрольный экстракт (или элюат исследуемого образца).Сразу после проявления стандартов проводится оценка содержания пестицида в исследуемом образце.

2.6.Обработка результатов анализа

Количественное определение проводится путем визуального сравнения интенсивности окраски и размера пятен пробы и пятен стандартных растворов. При этом следует обратить внимание на пятно стандарта,содержащего 0,2 мкг и пятно,где 0,2 мкг внесено в пробу.Наиболее точно (ошибка ±11%) количественная оценка достигается при концентрациях 0,2-1 мкг.При большем содержании баста в исследуемом образце необходимо разбавить элюат (исходный объем V_1=10 мл) и повторить ТСХ определение как описано выше в п.2.5.2.

Расчет результатов содержания баста в образце проводят по следующей формуле:

$$X=\frac{A \cdot V_1 \cdot B \cdot K}{V_2 \cdot P}$$,где

X-содержание баста в образце,мг/кг;

A-содержание баста,найденное в образце на пластинке,мкг;

V_1-общий объем водного элюата,мл;

B-кратность разведения V_1;

V_2-объем этанольного экстракта,нанесенного на пластинку,мл;

P-масса анализируемой пробы,мл или г (для растений с учетом взятой аликвоты соответствует 1/2 навески);

K-коэффициент,учитывающий потери при концентрировании вымораживанием до объема 2-3 мл,равен 1,2.

3.Техника безопасности.

Соблюдаются обычные требования по технике безопасности,необходимые при работе с органическими растворителями,кислотами и щелочами.

gost.e-ecolog.ru