

**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**

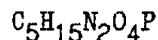
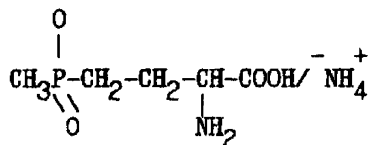
**МОСКВА
ЦЕНТР НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ,
ПРОПАГАНДЫ И РЕКЛАМЫ
1994 г.**

Утверждено
Министерством здравоохра-
нения 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)



М.м. 198,19

Белое кристаллическое вещество, температура плавления 215⁰С.

Растворим в воде, не растворим в органических растворителях. ОДВ в воде
водоемов 0,02 мг/л.

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

2. Методика определения глуфосината аммония (баста) в воде и расти-
тельных культурах х/

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода

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

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

из аликвоты подготовленного экстракта хроматографией напластинках "силу-фол" 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) - 0,5 мг/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 ± 18

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

х/

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.

n-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 $t=160^{\circ}\text{C}$ 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 $d=18$ 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 глүфосината 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)^х". 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 сернистой 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 – 100 мл. 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 x 30 мл; этил-

^х /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 см³ 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 вес 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, подсоединяют 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 ($t+4-6^{\circ}\text{C}$). 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 глүфосината 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 глүфосината аммония. Далее прибавляют по 1 мл этанола и поступают как описано выше для исследуемого образца.

2.5.2. Тонкослойная хроматография

Пластинку "силуфол" размером 15 x 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 глүфосинатом 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 40⁰С. Затем вынимают из шкафа и оставляют при комнатной температуре (исключить прямое попадание солнечного света). Через 5-7 минут проявляются сиренево-красного цвета пятна глүфосината 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 V₁=10 мл) и повторить ТСХ определение как описано выше в п.2.5.2.

Расчет результатов содержания баста в образце проводят по следующей формуле:

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

X-содержание баста в образце, мг/кг;

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

V₁-общий объем водного элюата, мл;

B-кратность разведения V₁;

V₂-объем этанольного экстракта, нанесенного на пластинку, мл;

P-масса анализируемой пробы, мл или г (для растений с учетом взятой aliquоты 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.