Утверждено
Заместитель Главного государственного
санитарного врача СССР
29 июля 1991 г. № 6230-91

Временные методические указания по определению остаточных количеств диметилового эфира аминофумаробой кислоты в воде, почве, яблоках, виноградном соке, эфирных маслах, рисе, картофеле методом газовой хроматографии*

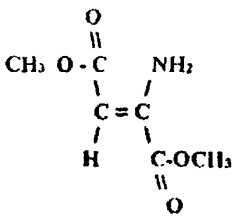
1. Краткая характеристика препарата.

Торговое наименование: Фумар.

Производитель: Россия, Украина.

Действующее вещество: диметиловый эфир аминофумаровой (дигидроаспарагиновой кислоты.

Структурная формула:



Эмпирическая формула: $C_6H_9NO_4$.

Молекулярная масса: 159.

Желтая жидкость, растворимая в большинстве органических растворителей (спирте, бензоле, хлороформе, ацетоне), воде. Температура плавления 28—29 °С, температура кипения 82 °С при 2 мм рт. ст. Негорюча, невзрывоопасна, слаболетуча. Выдерживает длительное нагревание при 50 °С. После замерзания не теряет своих свойств.

---

* Разработчики: А. С. Москаленко, А. В. Просяник, Н. Ю. Кольцов, А. П. Плешкова, г. Днепропетровск, химико-технологический институт.

gost.e-ecolog.ru

Используется в виде 10 % раствора в диметилсульфоксиде.

Малотоксичен. $ЛД_{50}$ для крыс 6 000 мг/кг, не обладает мутагенными и канцерогенными свойствами, не раздражает кожу и слизистые оболочки.

Гигиенические нормативы:

ДСД 0,00001 мг/кг.

МДУ (виноград, яблоня) – не требуется.

ОБУВ воздух рабочей зоны – 0,5 мг/м^3.

Атмосферный воздух – не требуется.

ПДК в воде водоемов – 0,000003 мг/дм^3.

ПДК в почве – не требуется.

Область применения препарата.

Фумар, 10 % р.в. ДМСО – регулятор роста растений, рекомендован для опытно-производственного применения на черенках виноградной лозы, яблони, эфиро-маслячных культур. Для улучшения срастаемости привоя и подвоя их срезы обмакивают в раствор препарата при норме расхода 0,1—15 мл/л.

2. Методика определения остаточных количеств диметилового эфира дигидроаспарагиновой кислоты в воде, почве, яблоках, виноградном соке, эфирных маслах, рисе, картофеле методом газовой хроматографии.

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип метода.

Метод основан на газохроматографическом определении препарата фумар с применением селективных азотно-фосфорных детекторов после извлечения его из субстатов метиленхлоридом, перераспределения в этанол и очистки активированным углем. Извлечение препарата из эфирных масел основано на его перераспределении в системе двух несмешивающихся жидкостей.

Метод позволяет селективно определять содержание фумара на фоне различных примесей. Предел обнаружения фумара 0,000001 мг/мл в растворе в этиловом спирте, что соответствует его содержанию в исследуемых субстратах 0,0000002 мг/кг (л).

Для определения использовался газовый хроматограф Mega 5300 с селективным азотно-фосфорным детектором (NPD) фирмы Carlo Erba Strument (Италия), позволяющий селективно определять азотсодержащие соединения. Линейный диапазон детектора 1000. Определение про-

водили на капиллярной колонке с привитой жидкой фазой FFAP (США). Запись хроматограмм и измерение площадей хроматографических пиков проводили на интеграторе SP 4290 фирмы Spectra Physics (США). Пробу дозировали микрошприцем Hamilton (США). Фумар идентифицировали на хромато-масс-спектрометре М80А фирмы Hitachi (Япония) с использованием вышеуказанной капилярной колонки при ионизирующем напряжении 20 ЭВ, в токе эмиссии электронов 10 мА (M/Z , приведены пики относительной интенсивностью > 10 %): 159 (М), 128, 101, 100, 69, 68, 59, 41, 40.

2.1.2. Избирательность метода.

Метод избирателен в присутствии других росторегуляторов (гоббеллин, гетероауксин, ивин).

2.1.3. Метрологическая характеристика метода для определения фумара в:

а) воде

Число параллельных определений – 5.

Среднее значение определения – 96 %.

Относительное стандартное отклонение – 4,2 %.

Доверительный интервал при $P = 0,95$ – ± 5,5 %).

б) почве

Число параллельных определений – 5.

Среднее значение определения – 93 %.

Относительное стандартное отклонение – 7,1 %.

Доверительный интервал при $P = 0,95$ – ± 7,9 %.

в) яблоках

Число параллельных определений – 5.

Среднее значение определения – 90 %.

Относительное стандартное отклонение – 10,6 %.

Доверительный интервал при $P = 0,95$ – ± 11,0 %.

г) виноградном соке

Число параллельных определений – 5.

Среднее значение определения – 91 %.

Относительное стандартное отклонение – 11,2 %.

Доверительный интервал при $P = 0,95$ – ± 11,5 %.

д) эфирных масла

Число параллельных определений – 5.

Среднее значение определения – 87 %.

Относительное стандартное отклонение – 13,3 %.

Доверительный интервал при $P = 0,95$ – ± 13,9 %.

е) рисе

Число параллельных определений – 5.

Среднее значение определения – 91 %.

Относительное стандартное отклонение – 9,9 %.

Доверительный интервал при $P = 0,95$ – ± 10,6.

ж) картофеле

Число параллельных определений – 5.

Среднее значение определения – 89 %.

Относительное стандартное отклонение – 10,4 %.

Доверительный интервал при $P = 0,95$ – ± 11,1 %.

Гарантированный предел обнаружения для всех случаев – 0,0000005 мг/кг.

2.2. Реактивы и материалы

Метиленхлорид, х.ч.	ТУ 6-09-3716—80
Этиловый спирт, х.ч.	ТУ 6-09-1710—77
Уголь активированный марки КАД молотый или OV-A	
Стандартный раствор диметилового эфира аминофумаровой кислоты в этиловом спирте конц. 0,005 мг/мл	
Натрий сернокислый безводный, ч.	ГОСТ 4166—76

2.3. Приборы и посуда

Газовый хроматограф Mega 5300 с селективным азотно-фосфорным детектором MDP фирмы Carlo Erba Strument (Италия)	
Разделяющая капилярная колонка, кварцевая, длиной 25 м, внутренним диаметром 0,3 мм, покрытая жидкой фазой FFAP (США), толщина пленки 0,3 микрона	
Интегратор SP 4290 фирмы Spectra Physics (США)	
Весы лабораторные, равноплечие второго класса ВЛР-200	ТУ 25-86-11—79Е
Воронка химическая, 60 мм	ГОСТ 20-292—74
Гири второго класса набора Г-2-210	ГОСТ 73-28—73
Ротационный вакуум-испаритель	ТУ 25-11-917—76
Холодильник бытовой	
Гомогенизатор	
Колба Бунзена	ГОСТ 6514—75

Воронка Бюхнера	ГОСТ 9147—73
Колбы конические со шлифом на 3 л, 500, 100, 50 мл	ГОСТ 10394—72
Вакуумный водоструйный насос	ГОСТ 10696—75
Цилиндры мерные на 1 000, 500, 100, 50 мл	ГОСТ 1770—74
Воронки делительные на 2 л	ГОСТ 86613—75
Фильтры бумажные	ТУ 6-60-1678—77

2.4. Отбор проб

Отбор проб производится в соответствии с «Унифицированными правилами отбора проб сельскохозяйственной продукции, пищевых продуктов и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов», утвержденными заместителем Главного Государственного санитарного врача СССР 21.08.1979 за № 2051-79.

Продолжительность хранения отобранных проб при температуре 0 ± 5 °С:

а) воды – 7 суток;
б) почвы – 6 суток;
в) яблок – 2 суток;
г) виноградного сока – 2 суток;
д) эфирных масел – 30 суток;
е) риса – 30 суток;
ж) картофеля – 10 суток;

2.5. Подготовка к определению

2.5.1. Приготовление градуировочных растворов.

Для приготовления градуировочных растворов из стандартного раствора диметилового эфира аминофумаровой кислоты готовят калибровочные растворы с содержанием определяемого вещества от 0,005 до 0,000001 мг/мл методом последовательного разбавления. Продолжительность хранения стандартных калибровочных растворов – 1 месяц.

2.6. Описание определения

2.6.1. Экстракция и очистка экстрактов.

2.6.1.1. *Почва.*

5 кг измельченного образца почвы разделяют на 5 частей (~ по 1 кг каждого), помещают в 5 конических колб емкостью 3 л и экстрагируют каждую часть 1 л метиленхлорида. Смесь фильтруют под вакуумом на воронке Бюхнера, дважды промывая остаток на фильтре 0,5 л метиленхлорида. Фильтрат дважды промывают 100 мл воды, сушат сульфатом натрия, фильтруют. Растворитель отгоняют на ротационном испарителе

до объема 3—5 мл, добавляют 20 мл этилового спирта, 0,5 г активированного угля, встряхивают в течение 5 мин, помещают на 0,5 ч в холодильник (температура 0 ± 5 °С). Раствор фильтруют через бумажный фильтр и отгоняют этанол до объема ~ 0,5 мл. Чистым этанолом объем пробы доводят до 1 мл.

2.6.1.2. *Вода.*

5 литров пробы разделяют на 5 частей (~ по 1 л). В делительную воронку емкостью 2 л помещают 200 мл метиленхлорида и по очереди экстрагируют все 5 частей. Экстракцию повторяют еще дважды на свежих порциях (по 200 мл) метиленхлорида. Объединенный экстракт сушат безводным сульфатом натрия, фильтруют, упаривают до объема 1—2 мл, добавляют 20 мл этанола и упаривают до объема ~ 0,5 мл. Чистым этанолом объем пробы доводят до 1 мл.

2.6.1.3. *Яблоки.*

Для анализа 5 кг яблок измельчают в гомогенизаторе до однородной массы, которую затем разделяют на 5 частей (~ по 1 кг). В делительную воронку емкостью 2 л помещают 0,6 л метиленхлорида и по очереди экстрагируют все 5 частей пробы. Экстракцию проводят еще дважды на свежих порциях метиленхлорида (по 0,5 л). Объединенные фильтраты дважды промывают 0,5 л воды и сушат безводным сульфатом натрия. Хлористый метилен отгоняют на ротационном испарителе до объема 2—3 мл, добавляют 20 мл этанола, 0,5 г активированного угля, встряхивают в течение 5 мин и помещают в холодильник (температура 0 ± 5 °С). Раствор фильтруют через бумажный фильтр и отгоняют до объема ~ 0,5 мл и чистым этанолом доводят до 1 мл.

2.6.1.4. *Виноградный сок.*

5 литров виноградного сока разделяют на 5 частей (~ по 1 л). В делительную воронку емкостью 2 л помещают 300 мл метиленхлорида и по очереди экстрагируют все 5 частей. Экстракцию повторяют еще дважды (по 300 мл метиленхлорида). Экстракты объединяют. Объединенные фильтраты дважды промывают 0,5 л воды и сушат безводным сульфатом натрия. Хлористый метилен отгоняют на ротационном испарителе до объема 2—3 мл, добавляют 20 мл этанола, 0,5 г активированного угля, встряхивают в течение 5 мин и помещают в холодильник (температура 0 ± 0,5° С). Раствор фильтруют через бумажный фильтр и отгоняют до объема ~ 0,5 мл и чистым этанолом доводят до 1 мл.

2.6.1.5. *Эфирные масла.*

Навеску 0,5 кг эфирного масла мяты, лаванды, розы, шалфея помещают в делительную воронку емкостью 2 л и встряхивают в течение

5 мин с 500 мл диметилсульфоксида. К образовавшемуся раствору добавляют 500 мл гексана, встряхивают 5 мин и отделяют верхний слой. Операцию повторяют еще 4 раза. Оставшийся раствор переносят в делительную воронку с 1 л 10 %-ного раствора сульфата натрия и экстрагируют полученную смесь метиленхлоридом (5 × 300 мл). Объединенные экстракты промывают водой (5 × 200 мл), сушат сульфатом натрия. Хлористый метилен отгоняют досуха к остатку добавляют 0,1 мл чистого этилового спирта.

2.6.1.6. *Рис.*

5 кг семян риса измельчают в гомогенизаторе до однородной массы, которую затем разделяют на 5 примерно равных частей. Каждую часть помещают в 3-литровую коническую колбу, добавляют по 1 л метиленхлорида и размешивают в течение 20 мин. Смесь фильтруют в вакууме на воронке Бюхнера, остаток на фильтре дважды промывают 300 мл метиленхлорида. Все экстракты объединяют и упаривают на ротационном испарителе до объема 3—5 мл, добавляют 20 мл этилового спирта, 0,5 г активированного угля, встряхивают в течение 5 мин, помещают на 0,5 ч в холодильник (температура 0 ± 5 °С). Раствор фильтруют через бумажный фильтр и отгоняют этанол до объема ~ 0,5 мл. Чистым этанолом объем пробы доводят до 1 мл.

2.6.1.7. *Картофель.*

Для анализа 5 кг клубней картофеля измельчают в гомогенизаторе до однородной массы, которую затем разделяют на 5 частей (~ по 1 кг). В делительную воронку емкостью 2 л помещают 0,6 л метиленхлорида и по очереди экстрагируют все 5 частей пробы. Экстракцию проводят еще дважды на свежих порциях метиленхлорида (по 0,5 л) Объединенные фильтраты дважды промывают 0,5 л воды и сушат безводным сульфатом натрия. Хлористый метилен отгоняют на ротационном испарителе до объема 2—3 мл, добавляют 20 мл этанола, 0,5 г активированного угля, встряхивают в течение 5 мин и помещают в холодильник (температура 0 ± 5 °С). Раствор фильтруют через бумажный фильтр и отгоняют до объема ~0,5 мл и чистым этанолом доводят до 1 мл.

2.6.2. *Условия хроматографирования.*

Разделяющая колонка длиной 25 м, кварцевая, внутренним диаметром 0,3 мм, покрыта жидкой фазой FFAP, толщина пленки 0,3 микрона.

Газ-носитель – гелий

Скорость потока газа-носителя – 10 мл/мин.

Температура детектора и испарителя – 310 °С.

Температура колонки программируется от 50 до 230 °С со скоростью 5°/мин.

Загрубление множителя шкалы чувствительности усилителя 1

Объем вводимой пробы от 1 до 10 мкл.

Время выхода диметилового эфира дигидроаспарагиновой кислоты 21 мин 57 с.

Органические примеси, не содержащие азота, детектором не фиксируются.

Используя калибровочные растворы строят график зависимости показаний интегратора (отн.ед) от концентрации диметилового эфира дигидроаспарагиновой кислоты в мг/мл этанола, после чего анализируют пробы с неизвестным содержанием препарата и по калибровочному графику исходя из показаний интегратора определяют его содержание в исследуемом этанольном растворе. При анализе объем вводимой пробы должен быть таким же как и при построении калибровочного графика. Проводят три параллельных определения и вычисляют среднее значение. При определении содержания в этанольных растворах в концентрациях < 0,00001 мг/мл, объем вводимой пробы должен составлять 10 мкл.

2.7. Обработка результатов анализа

Полученное значение концентрации диметилового эфира дигидроаспарагиновой кислоты в этанольном растворе делят на 5 и получают содержание препарата в исследуемой пробе в мг/кг (л).

3. Техника безопасности

Необходимо соблюдать общепринятые правила безопасности при работе с органическими растворителями и токсичными веществами.

gost.e-ecolog.ru