МЕЖГОСУДАРТСВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

**ГОСТ EN 15452— 2013**

# УДОБРЕНИЯ

## Определение хелатированных агентов. Определение железа, хелатированного *o,p*-EDDHA посредством реверсивной фазы HPLC

(EN 15452:2008, IDT)

**Издание официальное**

**Москва**
**Стандартинформ**
**2013**

gost.e-ecolog.ru

## Предисловие

Цели, основные принципы и порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0–92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2–2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

**Сведения о стандарте**

1 ПОДГОТОВЛЕН Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский центр стандартизации, информации и сертификации сырья, материалов и веществ» (ФГУП «ВНИЦСМВ») на основе собственного аутентичного перевода на русский язык стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Межгосударственным техническим комитетом по стандартизации МТК 527 «Химия»

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации по переписке (протокол № 59-П от 27 сентября 2013 г.)

За принятие проголосовали:

| Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004–97 | Код страны по МК (ИСО 3166) 004– 97 | Сокращенное наименование национального органа по стандартизации |
|---|---|---|
| Азербайджан | AZ | Азстандарт |
| Армения | AM | Минэкономики Республики Армения |
| Беларусь | BY | Госстандарт Республики Беларусь |
| Кыргызстан | KG | Кыргызстандарт |
| Молдова | MD | Молдова-Стандарт |
| Российская Федерация | RU | Росстандарт |
| Узбекистан | UZ | Узстандарт |

4 Настоящий стандарт идентичен европейскому региональному стандарту EN 15452:2008 Fertilizers – Determination of chelating agents – Determination of iron chelated by *o,p*-EDDHA by reversed phase HPLC (Удобрения. Определение хелатированных агентов. Определение железа, хелатированного *o,p*-EDDHA, посредством реверсивной фазы HPLC).

Европейский стандарт разработан Европейским комитетом по стандартизации CEN/TC 260 «Удобрения и известковые материалы».

Перевод с английского языка (en).

Официальные экземпляры европейского стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и международных стандартов, на которые даны ссылки, имеются в Федеральном информационном фонде технических регламентов и стандартов.

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным стандартам приведены в дополнительном приложении Д.А.

Степень соответствия – идентичная (IDT)

5 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и

метрологии от 08 ноября 2013 г. № 1435-ст межгосударственный стандарт ГОСТ EN 15452—201 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 01 января 2015 г.

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта публикуется в ежемесячно издаваемом указателе «Национальные стандарты».*

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты»*

© Стандартинформ, 2013

В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

## Содержание

1 Область применения
2 Нормативные ссылки
3 Сущность метода
4 Влияющие факторы
5 Реактивы
6 Оборудование
7 Отбор и подготовка пробы
8 Проведение анализа
8.1 Подготовка раствора образца
8.2 Подготовка стандартных растворов
8.3 Хроматографический анализ
9 Обработка результатов
10 Точность
11 Протокол испытания
Приложение А (справочное) Типичная хроматограмма
Приложение В (справочное) Статистические результаты межлабораторных испытаний
Приложение С (справочное) Полные наименования хелатирующих агентов
Библиография
Приложение Д.А (справочное) Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным стандартам

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

# УДОБРЕНИЯ

## Определение хелатированных агентов. Определение железа, хелатированного *o,p*-EDDHA, посредством реверсивной фазы HPLC

Fertilizers. Determination of chelating agents. Determination of iron chelated by *o,p*- EDDHA by reversed phase HPLC

**Дата введения – 2015–01–01**

### 1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод хроматографического определения количества железа в хелатной форме каждого из отдельных изомеров хелатообразователя орто-пара EDDHA (*o,p*-EDDHA) в удобрениях. Метод позволяет идентифицировать этот хелатирующий агент и определить количество водорастворимой части железа, хелатированного этим хелатирующим агентом. Метод неприменим для определения количества свободного хелатообразователя.

Примечания

1 Было показано, что данный метод подходит для определения количества железа, хелатированного каждым из отдельных изомеров хелатирующего агента орто-орто EDDHA (*o,o*-EDDHA) в удобрениях.

2 *o,o*-EDDHA и *o,p*-EDDHA являются сокращениями, используемыми в настоящем стандарте. Полные наименования приведены в приложении С.

**Издание официальное**

3 Вещества o,o-EDDHA и o,p-EDDHA существуют как разные стереоизомеры. Для o, o-EDDHA существуют мезоформа и d/l пара (рацемические изомеры), для o,p-EDDHA существует две разные d/l пары. В этом методе все четыре стереоизомера наблюдаются отдельно.

4 В настоящее время аналитически чистый стандартный образец существует только для o,o-EDDHA. Метод для o,p-EDDHA был разработан со стандартным образцом o,p-EDDHA, содержащим неопределенную концентрацию o,p-EDDHA.

## 2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходим следующий ссылочный документ. Для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного документа (включая все его изменения).

EN 1482-2 Fertilizers and liming materials — Sampling and sample preparation — Part 2: Sample preparation (Удобрения и известковые материалы. Отбор проб и подготовка проб. Часть 2. Подготовка проб)

## 3 Сущность метода

Используют обратную высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) с УФ-детектором при 277 нм. Образец разделяют на колонке для обращенно-фазовой хроматографии на основе диоксида кремния с использованием формиата натрия (молярная концентрация $c$=0,015 моль/дм$^3$, pH 3,0), и ацетонитрила в качестве подвижной фазы. Для *o,p*-EDDHA и *o,o*-EDDHA наблюдают два пика стереоизомера. Концентрацию железа, хелатированного *o,p*-EDDHA (*o,p*-Fe) определяют в соответствии с методом внешнего стандарта.

## 4 Влияющие факторы

Влияющих факторов не выявлено. Хелаты железа с EDTA, HEDTA, DTPA и EDDHMA не интерферируют.

## 5 Реактивы

### 5.1 Общие требования

a) Все реактивы должны быть аналитической степени чистоты.

b) Вода, используемая для приготовления элюентов, стандартных растворов и растворов образцов, должна соответствовать степени чистоты 1 по стандарту [4].

c) При использовании для приготовления стандартных растворов реактивов с заявленной чистотой (P) менее чем 99 % необходимо сделать поправку для получения требуемой концентрации раствора.

5.2 Натрия гидроксид, раствор $c$(NaOH) = 0,1 моль/дм$^3$: растворяют в воде, не содержащей диоксид углерода, 4 г гранулированного NaOH в мерной колбе вместимостью 1 дм$^3$, доводят до метки и гомогенизируют.

5.3 Кислота соляная, раствор $c$(HCl) = 4 моль/дм$^3$: разбавляют 395 г концентрированной соляной кислоты (37 %) до 1000 см$^3$ водой.

5.4 Кислота соляная, раствор $c$(HCl) = 0,1 моль/дм$^3$: разбавляют 25 см$^3$ соляной кислоты (5.3) до 1000 см$^3$ водой.

5.5 Железа (III) нитрат, раствор $\rho$(Fe) = 4200 мг/дм$^3$: растворяют 3,04 г нонагидрата нитрата железа (III) [$Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$] в 80 см$^3$ воды, добавляют 1 см$^3$ соляной кислоты (5.3), переносят в мерную колбу вместимостью 100 см$^3$, доводят до метки водой и гомогенизируют. Проверяют, что концентрация Fe этого раствора – (4200 ± 100) мг/дм$^3$, (например, AAS или йодометрическим титрованием). Этот раствор является стабильным примерно в течение одной недели.

5.6 o,p-Fe-EDDHA, стандартный раствор $\rho(o,p\text{-Fe})$ = 100 мг/дм$^3$: в стакане вместимостью 100 см$^3$ взвешивают с точностью до 0,1 мг (64,5 ± 1,0) мг · 100/$P$ [где $P$ – комплексонометрическая чистота стандартного образца в процентах кислотной формы $o,p$-$H_4$-EDDHA, полученного ручным или автоматическим фотометрическим титрованием со стандартным раствором Fe (III) при постоянном pH 6 (непрерывная система контроля pH)], $o,p$-$H_4$-EDDHA ($m^c_{o,p}$ – см. 5.1,). Добавляют 5 см$^3$ NaOH (5.2) и тщательно растворяют образец путем перемешивания. После полного растворения добавляют 35 см$^3$ воды и 2,5 см$^3$ раствора нитрата железа (III) (5.5). Доводят pH раствора до 3,0, используя NaOH (5.2) или HCl (5.4). Количественно переносят раствор в мерную колбу вместимостью 100 см$^3$. Доводят до метки водой и гомогенизируют.

5.7 Элюент раствор: растворяют 1,0 г формиата натрия в 800 см$^3$ воды. Доводят значение pH до 3,0, используя HCl (5.3 или 5.4). Переносят раствор в мерную колбу вместимостью 1000 см$^3$. Разбавляют до метки водой и гомогенизируют. Фильтруют раствор через мембранный фильтр пористостью 0,45 мкм. Смешивают 915 см$^3$ раствора формиата натрия (pH 3,0) с 85 см$^3$ ацетонитрила. Гомогенизируют и дегазируют раствор.

Примечание – Качество и состояние колонки может влиять на время удерживания. Чтобы настроить время удержания, может варьируют соотношение раствора формиата натрия и ацетонитрила.

## 6 Оборудование

### 6.1 Общие положения

Используют обычное лабораторное оборудование, посуду и:

6.2 Магнитную мешалку с магнитами.

6.3 Хроматограф, оборудованный:

a) изократическим насосом, доставляющим элюент при скорости потока 1,0 мл/мин;

b) нагнетательным клапаном с петлевым дозатором 20 мкл;

c) модифицированной капиллярной кварцевой колонкой C18 (ODS-2); 250 x 4,6 мм ID; $d^p = 5$ мкм[1)];

d) защитной колонкой C18 (ODS-2) (рекомендуется использовать);

e) UV/VIS-детектором с фильтром пористостью 277 нм;

f) интегратором.

6.4 Фильтры микромембранные, устойчивые к водным растворам, пористостью 0,45 мкм.

## 7 Отбор и подготовка пробы

Отбор пробы не является частью метода, установленного в настоящем стандарте. Рекомендованный метод отбора пробы приведен в стандарте [1].

Подготовку пробы проводят в соответствие с EN 1482-2.

Примечание – Для уменьшения размера образцов с большим количеством хелатирующих агентов не рекомендуется использовать высокоскоростную лабораторную мельницу. Более удобно измельчать образец в ступке до размера частиц менее чем 1 мм.

[1)] Spherisorb ODS-2 от Waters или Allsphere ODS-2 от Alltech являются примерами подходящих продуктов, доступных на коммерческой основе. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не свидетельствует о поддержке CEN данного продукта.

## 8 Проведение анализа

### 8.1 Подготовка раствора образца

Взвешивают с точностью до 0,1 мг примерно (250 ± 10) мг образца ($m_s$) в химическом стакане вместимостью 250 см$^3$. Добавляют 200 см$^3$ воды и растворяют образец перемешиванием в течение 30 мин. Количественно переносят раствор в мерную колбу вместимостью 250 см$^3$. Доводят до метки водой и гомогенизируют.

Примечание – Если концентрация *o,p*-Fe менее 0,5 % или более 5 %, то концентрация этих хелатов железа будет находиться за пределами диапазона градуировки. Для более точного определения ввод должен быть соответственно увеличен или уменьшен.

### 8.2 Подготовка стандартных растворов

Отбирают пипеткой объем стандартного раствора *o,p*-Fe-EDDHA V (см$^3$) (5.6) (см. таблицу 1) в шесть мерных колб вместимостью 50 см$^3$. Доводят до метки водой и гомогенизируют. Эти растворы содержат хелатированное *o,p*-EDDHA железо в апроксимированных концентрациях, приведенных в таблице 1.

Точную массовую концентрацию хелатированного *o,p*-EDDHA железа, мг/дм$^3$, рассчитывают по формуле

$$\rho_{o,p\text{-}Fe} = \rho_{дл\text{-}1} + \rho_{дл\text{-}2} \ , \qquad (1)$$

где

$$\rho_{дл\text{-}1} = \rho_{дл\text{-}2} = 0{,}5 \cdot \frac{V}{50} \cdot \frac{m^c_{o,p}}{0{,}1} \cdot \frac{P}{100} \cdot \frac{55{,}847}{360{,}35} \ , \qquad (2)$$

где $V$ – количество использованного стандартного раствора, см$^3$;

$m^c_{o,p}$ – количество *o,p*-$H_4$-EDDHA, использованного для подготовки стандартного раствора, мг;

$P$ – чистота стандартного образца для градуировки, %.

Примечание - Предполагается, что стандартный образец *o,p*-EDDHA кислоты содержит равное количество двух стереоизомеров.

Таблица 1 – Подготовка стандартных растворов

| Раствор | *V*, см$^3$ | o,p-EDDHA | |
|---|---|---|---|
| | | d/l изомер-1 | d/l изомер -2 |
| | | Fe, мг/дм$^3$ | Fe, мг/дм$^3$ |
| 1 | 2,5 | 2,5 | 2,5 |
| 2 | 5 | 5,0 | 5,0 |
| 3 | 10 | 10,0 | 10,0 |
| 4 | 15 | 15,0 | 15,0 |
| 5 | 20 | 20,0 | 20,0 |
| 6 | 25 | 25,0 | 25,0 |

**8.3 Хроматографический анализ**

Непосредственно перед введением все растворы должны быть отфильтрованы через мембранный фильтр (6.4) пористостью 0,45 мкм. Вводят стандартные растворы (8.2) в хроматографическую систему (6.3). Измеряют время удерживания и площади двух изомеров o,p-Fe-EDDHA (d/l-1 и d/l-2) для всех растворов. Проводят разную линию калибровки для каждого из двух изомеров со значениями площадей пиков стандартных растворов в сопоставлении с точной концентрацией Fe (мг/дм$^3$), хелатированного каждым изомером хелатирующего агента.

Вводят раствор образца (8.1). Идентифицируют различные изомеры по времени удерживания полученных пиков (рисунок А.1, приложение А). Измеряют площадь пика для каждого изомера. Определяют концентрацию железа в хелатной форме (мг/дм$^3$) для каждого изомера, используя соответствующую линию калибровки.

## 9 Обработка результатов

Рассчитывают массовую долю железа Fe, хелатированного *o,p*-EDDHA, *w*, %, в удобрении по формуле

$$\omega_{o,p-Fe} = \frac{\rho_{o,p-dl1-1} + \rho_{o,p-dl1-2}}{m_s} \cdot 25, \quad (3)$$

где $\rho_{o,p-dl-1}$ – массовая концентрация Fe, хелатированного первой группой стереоизомеров (d/l-1) *o,p*-EDDHA, мг/дм$^3$;

$\rho_{o,p-dl-2}$ – массовая концентрация Fe, хелатированного второй группой стереоизомеров (d/l-2) *o,p*-EDDHA, мг/дм$^3$;

$m_s$ – масса образца, взятого для анализа, мг.

## 10 Точность

### 10.1 Межлабораторное испытание

В 2005 г. 12 лабораториями было проведено межлабораторное испытание 4 разных товарных проб. Результаты этого межлабораторного испытания приведены в приложении В. Повторяемость и воспроизводимость были рассчитаны в соответствии со стандартом [2].

### 10.2 Повторяемость

Абсолютное расхождение двух результатов независимых единичных испытаний, полученных одним и тем же методом на идентичном анализируемом материале в одной лаборатории одним и тем же лаборантом, с использованием одного и того же оборудования в течение короткого интервала времени, будет не более чем в 5 % случаев превышать значения *r*, приведенные в таблице 2.

### 10.3 Воспроизводимость

Абсолютное расхождение двух результатов независимых единичных испытаний, полученных одним и тем же методом на идентичном анализируемом

материале в различных лабораториях разными лаборантами с использованием разного оборудования, будет не более чем в 5 % случаев превышать значения *R*, приведенные в таблице 2.

Таблица 2 — Средние значения, пределы повторяемости и воспроизводимости

| Образец | *o,p*-Fe, % | *p* | *n* | *r* | *R* |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2,17 | 10 | 2 | 0,037 | 0,25 |
| 2 | 1,33 | 10 | 2 | 0,051 | 0,29 |
| 3 | 0,47 | 9 | 2 | 0,047 | 0,16 |
| 4 | 0,15 | 8 | 2 | 0,0070 | 0,25 |

Примечание – В настоящей таблице использованы следующие условные обозначения:

*o,p*-Fe – среднее значение концентрации в процентах Fe, хелатированного *o,p*-EDDHA;

*p* – количество участвующих лабораторий;

*n* – количество повторных испытаний.

Примечание – Пределы воспроизводимости, полученные для более низких концентраций Fe, хелатированного *o,p*-EDDHA, выше, чем допустимые значения, принятые регламентом [3] для содержания микроэлементов.

## 11 Протокол испытания

Протокол испытаний должен содержать:

a) всю информацию, необходимую для полной идентификации образца;

b) используемый метод испытания со ссылкой на настоящий стандарт;

c) результаты испытания вместе с единицами измерения;

d) дату окончания испытания;

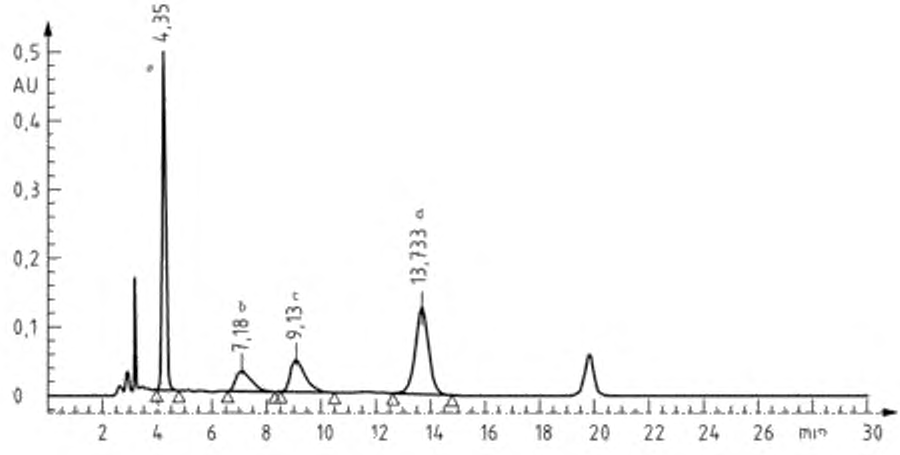
e) информацию о том, выполнены ли требования по пределу воспроизводимости;

f) все этапы методики, не указанные в настоящем стандарте, или рассматриваемые как необязательные, а также данные о любых отклонениях от метода настоящего стандарта, которые могут повлиять на результаты испытания.

## Приложение А

## (справочное)

## Типичная хроматограмма




a – рацемический o,o-Fe-EDDHA; b – d/l-1 o,p-Fe-EDDHA; c – d/l-2 o,p-Fe-EDDHA; d – мезо o,o-Fe-EDDHA

Рисунок А.1 — Типичная хроматограмма товарного продукта Fe-EDDHA

## Приложение В

## (справочное)

## Статистические результаты межлабораторных испытаний

Статистические результаты межлабораторных испытаний приведены в таблице В.1.

Таблица В.1 — Статистические результаты

| Образец | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|---|---|---|---|
| Количество лабораторий | 11 | 11 | 11 | 9 |
| Количество выбросов | 1 | 1 | 2 | 1 |
| Оставшиеся лаборатории | 10 | 10 | 9 | 8 |
| Среднее значение, г/100 г | 2,17 | 1,33 | 0,47 | 0,15 |
| Стандартное отклонение повторяемости $s_r$, г/100 г | 0,013 | 0,018 | 0,017 | 0,0025 |
| Предел повторяемости $r$, г/100 г | 0,037 | 0,051 | 0,047 | 0,0070 |
| $RSD_r$, % | 0,61 | 1,4 | 3,6 | 1,7 |
| Стандартное отклонение воспроизводимости $s_R$, г/100 г | 0,089 | 0,10 | 0,057 | 0,090 |
| Предел воспроизводимости $R$, г/100 г | 0,25 | 0,29 | 0,16 | 0,25 |
| $RSD_R$, % | 4,1 | 7,8 | 12,3 | 61,2 |
| Значение Хорвица $RSD_H$, % | 3,6 | 3,8 | 4,5 | 5,3 |
| Коэффициент Хоррата | 1,15 | 2,04 | 2,75 | 11,5 |

## Приложение С

## (справочное)

## Полные наименования хелатирующих агентов

о,о-EDDHA – этилендиамин-ди-(*о*-гидроксифенил) уксусная кислота

$C_{18}H_{20}N_2O_6$ № CAS 1170-02-1

о,р-EDDHA – этилендиамин -N-[(*о*-гидроксифенил) уксусная кислота]-N′-[(пара-гидроксифенил) уксусная кислота]

$C_{18}H_{20}N_2O_6$ № CAS 1170-02-1

EDTA – этилендиаминтетрауксусная кислота

$C_{10}H_{16}N_2O_8$ № CAS 60-00-4

HEDTA – гидроксиэтилэтилендиамин ацетилацетоуксусная кислота

$C_{10}H_{18}N_2O_7$ № CAS 150-39-0

DTPA – диэтилентриаминпентауксусная кислота

$C_{14}H_{23}N_3O_{10}$ № CAS 67-43-6

о,о-EDDHMA – этилендиамин-ди-(*о*-гидрокси-*п*-метилфенил) уксусная кислота

$C_{20}H_{24}N_2O_6$ № CAS 109172-81-8

## Библиография

[1] EN 1482-1 Fertilizers and liming materials — Sampling and sample preparation — Part 1: Sampling (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Общие принципы и определения)

[2] ISO 5725-2 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method (Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерения)

[3] Regulation (EC) No 2003/2003 of the European Parliament and of the Council of 13 October 2003 relating to fertilisers, Official Journal L 304, 21/11/2003 Pp. 1–194 (Регламент (ЕС) № 2003/2003 Европейского парламента и совета 13 октября 2003, относящийся к удобрениям, официальный журнал L 304, 21/11/2003 стр. 1–194)

[4] EN ISO 3696:1995 Water for analytical laboratory use – Specification and test methods (ISO 3696:1987) [Вода для аналитического лабораторного использования. Технические требования и методы испытаний (ИСО 3696:1987)]

## Приложение Д.А

## (справочное)

## Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным стандартам

Таблица Д.А.1

| Обозначение и наименование ссылочного стандарта | Степень соответствия | Обозначение и наименование межгосударственного стандарта |
|---|---|---|
| EN 1482-2:2007 Удобрения и известковые материалы. Отбор проб и подготовка проб. Часть 2. Подготовка проб | IDT | ГОСТ EN 1482-2 Удобрения и известковые материалы. Отбор проб и подготовка проб. Часть 2. Подготовка проб |
| Примечание – В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов:<br>IDT – идентичные стандарты. | | |

УДК 631.8:006.354 МКС 65.080 IDT

Ключевые слова: удобрения, определение содержания, хелатированные агенты, тонкость измельчения, сухой способ, испытание, реверсивная фаза HPLC

Руководитель организации-разработчика
И.о. директора
ФГУП «ВНИЦСМВ» Д.О. Скобелев

Руководитель разработки
Начальник отдела 120
ФГУП «ВНИЦСМВ» Н.М. Муратова

Ответственный исполнитель
Инженер отдела 120
ФГУП «ВНИЦСМВ» И.А. Косоруков

gost.e-ecolog.ru