Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение содержания N-нитрозоаминов (N-диметилнитрозоамин, N-метилэтилнитрозоамин, N-диэтилнитрозоамин, N-дипропилнитрозоамин, N-дибутилнитрозоамин, N-пиперидиннитрозоамин) в пищевой продукции (консервы из мяса, мясорастительные) методом хромато-масс-спектрометрии

Методические указания
МУК 4.1.3588—19

Издание официальное

Москва • 2020

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение содержания N-нитрозоаминов (N-диметилнитрозоамин, N-метилэтилнитрозоамин, N-диэтилнитрозоамин, N-дипропилнитрозоамин, N-дибутилнитрозоамин, N-пиперидиннитрозоамин) в пищевой продукции (консервы из мяса, мясорастительные) методом хромато-масс-спектрометрии

Методические указания
МУК 4.1.3588—19

ББК 51.23
И37

И37 **Измерение** содержания N-нитрозоаминов (N-диметилнитрозоамин, N-метилэтилнитрозоамин, N-диэтилнитрозоамин, N-дипропилнитрозоамин, N-дибутилнитрозоамин, N-пиперидиннитрозоамин) в пищевой продукции (консервы из мяса, мясорастительные) методом хромато-масс-спектрометрии: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2020.—20 с.

ISBN 978–5–7508–1724–5

1. Разработаны ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (Т. С. Уланова, Н. В. Зайцева, Т. В. Нурисламова, Н. А. Попова, О. А. Мальцева, Г. И. Терентьев).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 8 ноября 2019 г.

3. Введены впервые.

ББК 51.23

Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 29.01.2020

Формат 60x88/16 Печ. л. 1,25

Тираж 100 экз. Заказ 6

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
Федеральным центром гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 633-86-59

© **Роспотребнадзор, 2020**

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
8 ноября 2019 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение содержания N-нитрозоаминов (N-диметилнитрозоамин, N-метилэтилнитрозоамин, N-диэтилнитрозоамин, N-дипропилнитрозоамин, N-дибутилнитрозоамин, N-пиперидиннитрозоамин) в пищевой продукции (консервы из мяса, мясорастительные) методом хромато-масс-спектрометрии

Методические указания МУК 4.1.3588—19

Свидетельство о метрологической аттестации № 88-16207-083-RA.RU.310657-2016 от 26.12.2016.

I. Общие положения и область применения

1.1. Настоящие методические указания (далее – МУК) определяют порядок газохроматографического анализа с масс-селективным детектированием для измерения содержания N-нитрозоаминов (N-диметилнитрозоамин, N-дибутилнитрозоамин, N-пиперидиннитрозоамин) в пробах пищевой продукции (консервы из мяса, мясорастительные) в диапазоне концентраций 0,0002—0,0016 мг/кг.

1.2. МУК предназначены для органов и организаций Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, а также могут быть использованы организациями, осуществляющими исследования в области безопасности и качества пищевой продукции и продовольственного сырья.

1.3. МУК носят рекомендательный характер.

II. Физико-химические и токсикологические свойства

2.1. N-нитрозоамины, малоустойчивые соединения, стабильны только при температурах ниже 0 °С, являются жидкими или твердыми веществами жёлтого цвета. N-нитрозоамины являются высокотоксичными соединениями. При попадании в организм поражают печень, вызывают кровоизлияния. Большая часть N-нитрозосоединений обладает сильным канцерогенным действием даже при однократном действии, проявляют мутагенные свойства. N-нитрозодиметиламин обладает отдаленными эффектами: эмбриотропным, гонадотропным, мутагенным.

N-диметилнитрозоамин: CAS 62-75-9, формула $C_2H_6N_2O/(CH_3)_2NN{=}O$, молекулярная масса 148,0, $T_{кип}$, °С 153, растворимость в воде хорошая, давление паров, Па при 20 °С 360, класс опасности 1, характеристичные ионы, m/z N-нитрозодиметиламина 74-42.

N-метилэтилнитрозоамин: CAS 10595-95-6, формула $CH_3(C_2H_5)N{-}NO$, молекулярная масса 88,13, $T_{кип}$, °С 154,4, класс опасности 1, характеристичные ионы, m/z N-метилэтилнитрозоамина 88-42.

N-диэтилнитрозоамин: CAS 55-18-5, формула $C_2H_6N_2O/(C_2H_5)_2NN{=}O$, молекулярная масса 176,0, $T_{кип}$, °С 175, растворимость в воде, г/100 мл при 20 °С 10,6, класс опасности 1, характеристичные ионы, m/z N-диэтилнитрозоамина 102-57.

N-дипропилнитрозоамин: CAS 621-64-7, формула $(C_3H_7)_2N{-}NO$, молекулярная масса 130,19, $T_{кип}$, °С 206, характеристичные ионы, m/z N-нитрозодипропиламина 130-70.

N-дибутилнитрозоамин: CAS 924-16-3, формула $(C_4H_9)_2N{-}NO$, молекулярная масса 158,25, характеристичные ионы, m/z N-дибутилнитрозамина 84-57.

N-пиперидиннитрозоамин: CAS 100-75-4, формула $(CH_2)_5N{-}NO$, молекулярная масса 114,15, характеристичные ионы, m/z N-пиперидиннитрозоамина 114-55.

III. Требования к показателям точности измерений

3.1. При соблюдении всех регламентированных условий и проведения анализа в точном соответствии с данной методикой значения погрешности (и ее составляющих) измерений не превышают значений, приведенных в табл. 1.

Таблица 1

Диапазоны измерений, значения показателей точности, правильности, повторяемости, внутрилабораторной прецизионности

Диапазон измерений, нг	Показатели прецизионности (относительные значения), %		Показатель правильности (границы относительной систематической погрешности при доверительной вероятности 0,95), $\pm\delta_{Сл}$, %	Показатель точности (границы относительной погрешности при вероятности $P = 0.95$), $\pm\delta_{л}$, %
	стандартное отклонение повторяемости, σ_r, %	стандартное отклонение внутрилабораторной прецизионности, $\sigma_{Rл}$, %		
N-диметилнитрозоамин				
от 10 до 80 вкл.	3,0	6,0	12,0	17,0
N-метилэтилнитрозоамин				
от 10 до 80 вкл.	5,0	6,0	8,0	14
N-диэтилнитрозоамин				
от 10 до 80 вкл.	4,0	7,0	8,0	16,0
N-дипропилнитрозоамин				
от 10 до 80 вкл.	5,0	7,0	8,0	16,0
N-дибутилнитрозоамин				
от 10 до 80 вкл.	4,0	8,0	7,0	17,0
N-пиперидиннитрозоамин				
от 10 до 80 вкл.	5,0	8,0	7,0	17,0

Значения показателя точности используют при:

– оформлении результатов измерений, выдаваемых лабораторией;

– оценке деятельности лабораторий на предмет качества проведения измерений;

– оценке возможности использования результатов измерений при реализации методики измерений в конкретной лаборатории.

IV. Метод измерений

4.1. Измерение содержания N-нитрозоаминов (N-диметилнитрозоамин, N-метилэтилнитрозоамин, N-диэтилнитрозоамин, N-дипропилнитрозоамин, N-дибутилнитрозоамин, N-пиперидиннитрозоамин) в пищевой продукции (консервы из мяса, мясорастительные) выполняют методом газохроматографического анализа с масс-спектрометрическим детектированием. Извлечение и концентрирование N-нитрозоаминов из проб пищевой продукции проводят методом дистилляции с водяным паром в кислой среде с высаливающими реагентами, концентрированием N-нитрозоаминов на картриджах с помощью системы твердофазной

экстракции (далее – ТФЭ), идентификации веществ по масс-спектрам и времени выхода; количественном хромато-масс-спектрометрическом определении методом абсолютной калибровки.

Определению не мешают углеводороды, спирты. Длительность измерений составляет 30 минут.

V. Требования к средствам измерений, вспомогательным устройствам, реактивам и материалам

5.1. При выполнении измерений и подготовке проб применяют средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы, приведенные в табл. 2.

Таблица 2

Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы и реактивы

Наименование средств измерений, вспомогательных устройств, реактивов и материалов	Обозначение и наименование документов, в соответствии с которыми выпускают средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы
1	2
Средства измерений	
Хромато-масс-спектрометрическая система, включающая нижеперечисленные блоки, модули и программы:	
Хроматограф с полным электронным контролем газовых потоков и режимом цифрового контроля давления и потоков с автоматическим определением параметров колонки и поиск утечек по каналу газа-носителя Диапазон массовых чисел от 1,6 до 700 а.е.м. СКО выходного сигнала при автоматическом дозировании: – по высотам пиков: 4 %; – по временам удерживания: 0,008 %; СКО выходного сигнала при ручном дозировании: – по высотам: 6 % – по временам удерживания: 0,1 %	–
– автосамплер (высокотехнологичное устройство, предназначенное для автоматического ввода жидких проб)	–
– программное обеспечение, контролирующее работу всего прибора, обеспечивающее сбор и хранение всех масс-спектров в процессе проведения хромато-масс-спектрометрического анализа, обеспечивающее обработку результатов измерений, вывод и расчет хроматограмм, вывод и вычитание фона масс-спектров, количественный анализ, поиск и сравнение с библиотекой масс-спектров	

Продолжение табл. 2

1	2
– капиллярная колонка, режим программирования от 50 °С–120 °С – 220 °С	
– библиотека масс-спектров	
Секундомер: 60-минутная шкала с ценой деления 1 мин, 60-секундная шкала с ценой деления 0.2 с	ТУ 25-1894.003
Микрошприцы, диапазон дозируемого объема, мм^3 1—10 с ценой деления 0,2 мм^3, предел допускаемого относительного СКО случайной составляющей погрешности: ± 1 %	ТУ 2.833.106
Весы лабораторные второго класса точности; наибольший предел взвешивания 200 г, диапазон взвешивания по шкале мг от 0 до 100 мг, цена деления делительного устройства – 0,05 мг. Погрешность взвешивания по шкале мг± 0,15 мг	ГОСТ Р 53228
Меры массы	ГОСТ OIML R 111-1
Метеоскоп-М, давление воздуха (80—110 кПа), влажность воздуха (3—97 %), температура воздуха (–40… +85)	ТУ 43 1110-003-18446736—11
Посуда и оборудование лабораторные стеклянные	ГОСТ 25336
Колбы мерные вместимостью: 2-100-2, 2-1000-2 см^3	ГОСТ 1770
Пипетки градуированные 1-го класса точности вместимостью: 1-2-1-1, 1-2-1-2, 1-2-2-5 см^3	ГОСТ 29227
Дозаторы жидкости механические с погрешностью ± 0,1 мм^3 объемом дозирования: 1—10 см^3, 100—1000 мм^3, 20—200 мм^3 с одноразовыми наконечниками	ГОСТ 28311
Примечание. Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.	
Реактивы	
Вода для лабораторного анализа бидистиллированная	ГОСТ Р 52501
Калий двухромовокислый, чда	ГОСТ 4220
Кислота серная, хч	ГОСТ 4204
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233
Сульфат натрия кристаллизационный	ГОСТ 21458

Продолжение табл. 2

1	2
Сульфаминовая кислота, хч	ТУ 2121-278-00204197
Спирт метиловый	ГОСТ 2222
Кислота бромистоводородная	ГОСТ 2062
Кислота уксусная ледяная	ГОСТ 61
Метилен хлористый (CAS 75-09-2) массовая доля ≥ 99,90 %	ТУ 263161168410
Смесь N-нитрозоаминов (N-диметилнитрозоамин, N-метилэтилнитрозоамин, N-диэтилнитрозоамин, N-дипропилнитрозоамин, N-дибутилнитрозоамин, N-пиперидиннитрозоамин) 2 000 мкг/мл в метаноле	ГСО 7881
Гелий газообразный, в баллонах	ТУ 0271-001-459055715
Азот газообразный особой чистоты, 1 сорт, объемная доля азота, %, не менее 99,999	ГОСТ 9293
Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией.	
Вспомогательные устройства и материалы	
Колонка хроматографическая капиллярная из кварцевого стекла с внутренним диаметром 0,25 мм длиной 30 м и толщиной пленки 0,25 мкм с полярной неподвижной фазой	
Автоматическая система ТФЭ	–
Картридж на угольной основе	–
Редуктор кислородный	ТУ 3645-032-00220531
Установка для перегонки с водяным паром	–
Колба К ТС (100, 200, 500, 1000 $см^3$)	ГОСТ 25336
Холодильник Либиха ХПТ-1-100-14/23-14/23 с алонжем	ГОСТ 25336
Парообразователь	–
Стакан В-1-2000 ТС	ГОСТ 25336
Облучатель-рециркулятор ультрафиолетовый бактерицидный	–
Система очистки воды, позволяющая получить дистиллированную и деионизованную воду	–
Материалы	
Лакмусовая бумага	–
Бумага фильтровальная лабораторная	ГОСТ 12026
Примечание. Допускается использование других вспомогательных устройств и материалов аналогичного назначения, технические характеристики которых не уступают указанным.	

VI. Требования безопасности

6.1. При выполнении работ необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007.

6.2. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией и соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004, иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

6.3. При выполнении измерений с использованием хромато-масс-спектрометра соблюдают правила электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019 и инструкции по эксплуатации прибора.

6.4. При работе с сосудами, работающими под давлением, необходимо соблюдать правила их безопасной эксплуатации[1].

6.5. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать гигиенических нормативов[2], а также соответствовать ГОСТ 12.1.005.

6.6. Работу с N-нитрозоаминами, стандартами, другими химическими соединениями и растворителями следует проводить в вытяжном шкафу с использованием индивидуальных средств защиты (очки, перчатки и др.).

6.7. В лаборатории, где проводится работа с летучими N-нитрозоаминами, необходимо всегда иметь 2—3 % раствор газообразного бромоводорода (HBr) в уксусной кислоте для разрушения N-нитрозоаминов при попадании их на рабочие места и пол.

6.8. В целях разрушения летучих N-нитрозоаминов в воздухе по окончании работы помещение необходимо обработать ультрафиолетовым светом.

6.9. N-нитрозоамины хранят в специальном холодильнике в отсутствие анализируемых проб.

6.10. При работе с продуктами питания соблюдают требования санитарно-эпидемиологических правил[3].

---

[1] Приказ Ростехнадзора от 25.03.2014 № 116 «Об утверждении Федеральных норм и правил в области промышленной безопасности «Правила промышленной безопасности опасных производственных объектов, на которых используется оборудование, работающее под избыточным давлением».

[2] ГН 2.2.5.3532—18 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны»; ГН 2.2.5.2308—07 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны».

[3] СанПиН 2.3.2.1078—01 «Продовольственное сырье и пищевые продукты. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов».

VII. Требования к квалификации операторов

7.1. К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются специалисты, имеющие квалификацию не ниже инженера-химика и опыт работы в химической лаборатории, прошедшие обучение и владеющие техникой проведения хромато-масс-спектрометрометрического анализа.

VIII. Условия измерений

8.1. При выполнении измерений в лаборатории соблюдают следующие условия:

– температура окружающего воздуха (20 ± 5) °С;

– атмосферное давление от 84,0 до 106,7 кПа (630—800 мм рт. ст.);

– относительная влажность воздуха от 30 до 80 %;

– напряжение в сети (220 ± 10) В;

– частота переменного тока (50 ± 10) Гц.

Выполнение измерений на хромато-масс-спектрометре проводят в условиях, рекомендованных технической документацией к прибору.

XI. Подготовка к выполнению измерений

9.1. Подготовка посуды.

9.1.1. Приготовление 3%-го раствора калия двухромовокислого в серной кислоте.

В термостойкий стакан вместимостью 2 $дм^3$ помещают 50 г калия двухромовокислого, осторожно приливают по палочке частями 1 $дм^3$ концентрированной серной кислоты, тщательно перемешивая.

9.1.2. Используемую посуду необходимо замочить в свежеприготовленном 3 % растворе калия двухромовокислого в серной кислоте, затем промыть проточной водопроводной водой, ополоснуть бидистиллированной водой и высушить в сушильном шкафу при температуре 105 °С.

9.2. Подготовка хроматографической системы.

Подготовку хроматографа к работе осуществляют в соответствии с инструкцией по эксплуатации хроматографа.

9.2.1. Кондиционирование кварцевой капиллярной колонки.

Новую кварцевую капиллярную колонку предварительно кондиционируют, нагревая в термостате хроматографа ступенчато с 70 до 250 °С в течение 2 часов, и выдерживают при 250 °С в течение суток. После охлаждения термостата до комнатной температуры выход колонки подсоединяют к устройству сопряжения с масс-спектрометром и проверяют стабильность нулевой линии при рабочей температуре термостата колонок.

9.2.2. Устанавливают режим работы хромато-масс-спектрометра в соответствии со следующими условиями:

Таблица 3

Параметры и условия режима работы хромато-масс-спектрометра

Параметры	Условия
Температура термостата колонки:	50 °С – 1 мин 8 °С/мин до 120 °С – 0 мин 120 °С/мин до 185 °С – 0 мин 25 °С до 240 °С – 5 мин
Температура испарителя	270 °С
Температура переходной линии	220 °С
Режим импульсный без деления потока	1 мин
Скорость газа-носителя – гелия	20 мл/мин
Скорость газа-носителя – гелия через колонку	1,0 мл/мин
Температура ионного источника	230 °С
Температура квадрупольного масс-анализатора	150 °С
Ток эмиссии	70 эВ
Режим сканирования	
N-диметилнитрозоамина	по масс-селективному иону – 74
N-метилэтилнитрозоамин	по масс-селективному иону – 88
N-диэтилнитрозоамин	по масс-селективному иону – 102
N-дипропилнитрозоамин	по масс-селективному иону – 130
N-дибутилнитрозоамин	по масс-селективному иону – 84
N-пиперидиннитрозоамин	по масс-селективному иону – 114
Объем пробы	2 мкл
Время удерживания:	
N-диметилнитрозоамин	(7,279 ± 0,05) мин
N-метилэтилнитрозоамин	(8,210 ± 0,05) мин
N-диэтилнитрозоамин	(8,621 ± 0,02) мин
N-дипропилнитрозоамин	(10.594 ± 0,02) мин
N-дибутилнитрозоамин	(12,944 ± 0,02) мин
N-пиперидиннитрозоамин	(13,189 ± 0,02) мин

Записывают нулевую линию при установленных режимных параметрах. При отсутствии флуктуации приступают к работе.

9.3. Приготовление растворов.

9.3.1. Приготовление раствора серной кислоты.

В термостойкий химический стакан помещают 36 $см^3$ бидистиллированной воды, при непрерывном помешивании приливают 60 $см^3$ концентрированной серной кислоты. Раствор охлаждают. Срок хранения не ограничен.

9.3.2. Приготовление 2%-го раствора сульфаминовой кислоты.

Растворяют 2 г сульфаминовой кислоты в 100 $см^3$ бидистиллированной воды. Срок хранения 1 месяц.

9.3.3. Приготовление исходного раствора N-нитрозоаминов.

Исходный раствор N-нитрозоаминов готовят из смеси N-нитрозоаминов ГСО 7881 (С = 2 $мг/см^3$). В мерную колбу, содержащую 25 $см^3$ метилового спирта, вводят микрошприцем 2 $мм^3$ смеси N-нитрозоаминов ГСО. Массовая концентрация N-нитрозоаминов в исходном растворе составляет 0,16 $мкг/см^3$. Срок хранения раствора 5 часов.

9.3.4. Приготовление градуировочных растворов.

Градуировочные растворы N-нитрозоаминов готовят в мерных колбах объемом 50 $см^3$. Для этого в каждую колбу вносят по 50 $см^3$ бидистиллированной воды и добавляют исходный раствор для градуировки в соответствии с табл. 3, содержимое колбы доводят до метки бидистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Таблица 4

Растворы для установления градуировочной характеристики

Градуировочный раствор	1	2	3	4	5
Объем рабочего раствора, $см^3$	0,0625	0,125	0,25	0,375	0,5
Содержание N-диметилнитрозоамина, нг	10	20	40	60	80
Концентрация N-диметилнитрозоамина (навеска 50 г), мкг/г	0,0002	0,0004	0,0008	0,0012	0,0016
Содержание N-метилэтилнитрозоамина, нг	10	20	40	60	80
Концентрация N-метилэтилнитрозоамина (навеска 50 г), мкг/г	0,0002	0,0004	0,0008	0,0012	0,0016
Содержание N-диэтилнитрозоамин, нг	10	20	40	60	80
Концентрация N-диэтилнитрозоамина (навеска 50 г), мкг/г	0,0002	0,0004	0,0008	0,0012	0,0016
Содержание N-дипропилнитрозоамина, нг	10	20	40	60	80
Концентрация N-дипропилнитрозоамина (навеска 50 г), мкг/г	0,0002	0,0004	0,0008	0,0012	0,0016
Содержание N-дибутилнитрозоамина, нг	10	20	40	60	80
Концентрация N-дибутилнитрозоамин (навеска 50 г), мкг/г	0,0002	0,0004	0,0008	0,0012	0,0016
Содержание N-пиперидиннитрозоамина, нг	10	20	40	60	80
Концентрация N-пиперидиннитрозоамина (навеска 50 г), мкг/г	0,0002	0,0004	0,0008	0,0012	0,0016

9.4. Построение градуировочной характеристики.

9.4.1. Градуировочные характеристики устанавливают на градуировочных растворах N-нитрозоаминов методом абсолютной градуировки. Приготовленные растворы хроматографируют на капиллярной колонке не менее 5 раз. На полученной хроматограмме определяют площади пиков молекулярных ионов компонентов и по средним результатам измерений по 5 концентрациям для градуировки строят градуировочную характеристику. Она выражает зависимость площади пика молекулярных ионов N-нитрозоаминов на хроматограмме (мВ - при автоматическом обсчете с использованием программно-аппаратного комплекса) от содержания (нг).

9.4.2. Градуировочный раствор (табл. 3) помещают в перегонную колбу объемом 500 см^3, подкисляют 2,5 см^3 2 % сульфаминовой и 0,5 см^3 60 % раствором серной кислоты до pH = 3 (по лакмусовой бумажке). Затем добавляют высаливающие реагенты (5 г сульфата натрия и 5 г хлорида натрия). С помощью перегретого водяного пара ($t_{парообразователя}$ = (100 ± 5) °С и $t_{колбы\ с\ градуировочным\ раствором}$ = (80 ± 5) °С), образуемого в парообразователе, выполняют процедуру отгонки. Дистиллят, сконденсированный в холодильнике, собирают в объеме 70 см^3 в коническую колбу-приемник. Затем дистиллят пропускают через угольный картридж 6 см^3 автоматической системы ТФЭ, элюирование осуществляют хлористым метиленом объемом 2,5 см^3. По истечении 30 минут экстракт хлористого метилена объемом 2 мм^2 через испаритель вводят в хроматографическую колонку хроматографа и анализируют при условиях по п. 9.2.2. Каждый градуировочный раствор хроматографируют два раза. Процедуру повторяют аналогично для каждого градуировочного раствора. На полученной хроматограмме определяют площади пиков молекулярных ионов для N-нитрозоаминов m/z, рассчитывают средние значения площади пиков N-нитрозоаминов для каждого градуировочного раствора и проверяют приемлемость результатов параллельных определений площадей пиков.

Выходные сигналы считают приемлемыми при выполнении условия:

$$S_{max} - S_{min} \leq 0,01 \cdot r_s \cdot \frac{S_{max} + S_{min}}{2}, \text{ где} \qquad (1)$$

S_{max} – максимальная площадь пика для соответствующего градуировочного раствора, мВ;

S_{min} – минимальная площадь пика для соответствующего градуировочного раствора, мВ;

r_s – предел повторяемости площади пика градуировочного раствора, r_s = 20 %.

Результат проверки признаётся положительным при выполнении условия (1). Если условие не выполняется, то градуировку прибора проводят повторно.

По средним результатам из 5 серий строят градуировочную характеристику.

Процедуру градуировки проводят при внедрении методики в практику лаборатории, после ремонта хромато-масс-спектрометра, смене партии реактивов, а также при отрицательных результатах контроля стабильности градуировочной характеристики по п. 9.5.

9.5. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят 1 раз в квартал в анализируемой серии измерений. Образцами для контроля стабильности являются градуировочные растворы, выбранные таким образом, чтобы массовая концентрация N-нитрозоаминов соответствовала нижней, верхней границам и середине диапазона построения градуировочной характеристики. Градуировка признается стабильной при выполнении условия:

$$\left|m_{IX\,m} - m_{IX}\right| \le 0{,}14 \cdot m_{IX}\text{, где} \qquad (2)$$

m_{IX} – расчетное содержание N-нитрозоаминов в градуировочном растворе, нг;

$m_{IX\,m}$ – результат измерения содержания N-нитрозоаминов в образце для градуировки, нг.

При невыполнении условия стабильности градуировочной характеристики эксперимент повторяют с другим градуировочным раствором. При повторном невыполнении условия стабильности градуировочной характеристики требуется установление причин, приводящих к неудовлетворительным результатам, и устранение причин нестабильности градуировочной характеристики.

X. Выполнение измерений

10.1. Отбор проб

Для составления исходного образца консервированных пищевых продуктов, расфасованных в стеклянную тару, отбирают для вскрытия не менее 5 единиц упаковки. Отбор единиц упаковки производят из разных мест партии. Выборки отдельных единиц расфасовки объединяют, и они являются исходным образцом. Отбор проб образцов консервированных пищевых продуктов и испытания выполняются в соответствии с ГОСТ 8756.0.

Для физико-химических испытаний от каждого образца отбирают по 40—50 г продукта в одну емкость для получения усредненной пробы. После тщательного перемешивания пробы продукта отбирают навеску для испытаний массой 40—50 г мясных и мясорастительных консервов.

Допускается хранение отобранных образцов в морозильной камере при температуре от –8 до –18 °С от 1 до 3 суток в зависимости от сроков реализации продукции.

10.2. Выполнение измерений пробы пищевого продукта (консервы из мяса, мясорастительные)

Навеску 40—50 г продукта помещают в перегонную колбу объемом 500 см^3, соединенную с паровиком и прямым холодильником. К пищевому продукту добавляют высаливающие реагенты (5 г сульфата натрия и 5 г хлорида натрия), 50—100 см^3 дистиллированной воды, 2,5 см^3 2% сульфаминовой и 0,5 см^3 60% раствора серной кислоты до pH = 3 и N-нитрозоамины отгоняют с перегретым водяным паром ($t_{парообразователя}$ = (100 ± 5) °С и $t_{колбы\ с\ образцом\ пищевого\ продукта}$ = (80 ± 5) °С), собирая 70 см^3 дистиллята. Полученный дистиллят пропускают через угольный картридж 6 см^3 автоматической системы ТФЭ. Элюирование осуществляют хлористым метиленом объемом 2,5 см^3. Экстракт хлористого метилена, содержащий нитрозоамины, получают на выходе угольного картриджа.

По истечении 30 минут экстракт хлористого метилена объемом 2 мм^3 через испаритель вводят в хроматографическую колонку хроматографа и анализируют при условиях по п. 9.2.2.

Процедуру повторяют аналогично для второго образца и проводят измерение двух параллельных проб пищевого продукта. Условия выполнения измерений аналогичны условиям при установлении градуировочной характеристики (п. 9.2.2).

XI. Обработка (вычисление) результатов измерений

11.1. На хроматограмме рассчитывают площадь пика и по градуировочной характеристике определяют содержание N-нитрозоаминов в анализируемом растворе пробы.

Концентрацию C, мг/кг N-нитрозоаминов в пробах пищевого продукта (консервы из мяса, мясорастительные) рассчитывают по формуле:

$$C = \frac{m_{ГХ}}{m \cdot 1000}, \text{ где} \qquad (3)$$

$m_{ГХ}$ – содержание N-нитрозоаминов, установленное по градуировочной характеристике, нг;

m – навеска пробы пищевого продукта, взятая для анализа, г;

1000 – коэффициент перевода нг в мкг.

В методике определяют отдельные N-нитрозоамины. Суммирование N-нитрозосоединений не проводят.

11.2. За окончательный результат измерения принимают среднее арифметическое значение $\overline{C}$ двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости C_1, C_2 (параллельных определений), для которых выполняется условие:

$$|C_1 - C_2| \le 0{,}01 \cdot r \cdot \frac{C_1 + C_2}{2}, \text{ где} \qquad (4)$$

r – предел повторяемости. Значения предела повторяемости приведены в табл. 4.

При невыполнении условия (4) получают дополнительно еще два результата измерений. За результат измерений принимают среднее арифметическое четырех результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, для которых выполняется условие:

$$\left|C_{max\,4} - C_{min\,4}\right| \le 0{,}01 \cdot \mathrm{CR}_{0{,}95}(4) \cdot \frac{C_1 + C_2 + C_3 + C_4}{4}$$ где

$CR_{0,95}(4)$ – критический диапазон. Значения критического диапазона приведены в табл. 4.

При невыполнении условия (5) в качестве окончательного результата измерений принимают медиану четырех результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (параллельных определений). Дополнительно выявляют и устраняют причины, приводящие к невыполнению условий (4) и (5).

Таблица 5

Диапазоны измерений, значения пределов повторяемости, критического диапазона, внутрилабораторной прецизионности при доверительной вероятности $P = 0{,}95$

Диапазон измерений, мг/кг	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в одной лаборатории в условиях повторяемости), r, %	Критический диапазон (относительное значение допускаемого расхождения между наибольшим и наименьшим из четырех результатов измерений, полученных в одной лаборатории в условиях повторяемости), $CR_{0,95}(4)$, %	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), R, %
N-диметилнитрозоамин			
от 0,0002 до 0,0016 вкл.	8	11	19
N-метилэтилнитрозоамин			
от 0,0002 до 0,0016 вкл.	14	18	19
N-диэтилнитрозоамин			
от 0,0002 до 0,0016 вкл.	11	15	22
N-дипропилнитрозоамин			
от 0,0002 до 0,0016 вкл.	14	18	22
N-дибутилнитрозоамин			
от 0,0002 до 0,0016 вкл.	11	15	25
N-пиперидиннитрозоамин			
от 0,0002 до 0,0016 вкл.	14	18	25

XII. Оформление результатов измерений

12.1. Результат измерений представляют в виде:

$$(\overline{C} \pm \Delta) \text{ мг/кг, } P = 0{,}95, \text{ где}$$

$\overline{C}$ – результат измерений, полученный в соответствии с процедурами разделов 10, 11, мг/кг;

Δ – характеристика погрешности, мг/кг при $P = 0{,}95$.

Значение Δ рассчитывают по формуле:

$$\Delta = \frac{\delta \cdot \overline{C}}{100}, \text{ где} \qquad (6)$$

δ – относительное значение характеристики погрешности измерений концентрации N-нитрозоаминов, % (табл. 1).

XIII. Процедуры обеспечения достоверности измерений

13.1. Обеспечение достоверности измерений в пределах лаборатории организуют и выполняют путем проверки приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях повторяемости, воспроизводимости, оперативного контроля процедуры измерений и контроля стабильности результатов измерений в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-6.

13.2. Проверка приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях воспроизводимости.

Образцами для проверки приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях воспроизводимости, являются образцы продукта (консервы из мяса, мясорастительные) с внесенными в них добавками растворов N-нитрозоаминов, подготовленные в соответствии с п. 10.1.

Проверку приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях внутрилабораторной прецизионности воспроизводимости (результаты измерений получены в разных лабораториях), проводят по результатам измерений массовых концентраций N-нитрозоаминов в образцах продукции с одинаковым содержанием N-нитрозоаминов.

Результаты измерений признают приемлемыми при выполнении условия:

$$\frac{|C_1 - C_2|}{(C_1 + C_2)/2} \cdot 100\% \le R, \text{ где} \qquad (7)$$

C_1 и C_2 – результаты измерений концентраций N-нитрозоаминов, полученные в условиях воспроизводимости, мг/кг;

R – предел воспроизводимости, значения которого приведены в табл. 4.

Если условие (7) не выполняется, процедуру повторяют. При повторном превышении предела воспроизводимости устанавливаются причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимаются меры по их устранению.

13.3. Оперативный контроль процедуры измерений с использованием метода добавок.

Оперативный контроль процедуры измерений с использованием метода добавок проводят путем сравнения результата отдельно взятой контрольной процедуры $K_к$ с нормативом контроля K.

Результат контрольной процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \left|\overline{C}' - \overline{C} - C_д\right|, \text{ где} \qquad (8)$$

$\overline{C}'$ – результат измерений концентрации N-нитрозоаминов в пробе с известной добавкой – среднее арифметическое двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, расхождение между которыми удовлетворяет условию (4), мг/кг

$\overline{C}$ – результат измерений концентрации N-нитрозоамина в исходной пробе – среднее арифметическое двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, расхождение между которыми удовлетворяет условию (4), мг/кг.

$C_д$ – величина добавки, мг/кг.

В качестве добавки используют растворы N-нитрозоаминов, приготовленные по п. 9.3.3

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,C'_{ср}} + \Delta^2_{л,C_{ср}}} \qquad (9)$$

$\Delta_{л,C'_{ср}}$, $\Delta_{л,C_{ср}}$ – значения характеристики погрешности результатов измерений, установленные в лаборатории при реализации методики, соответствующие концентрации N-нитрозоамина в пробе с известной добавкой и в исходной пробе соответственно.

Примечание. Допустимо характеристику погрешности результатов измерений при внедрении методики в лаборатории устанавливать на основе выражений:

$$\Delta_{л,\overline{C'}} = 0{,}84 \cdot 0{,}01 \cdot \delta \cdot \overline{C'}, \qquad (10)$$

$$\Delta_{л,\overline{C}} = 0{,}84 \cdot 0{,}01 \cdot \delta \cdot \overline{C}, \qquad (11)$$

с последующим уточнением по мере накопления информации в процессе контроля стабильности результатов измерений.

Процедуру измерений признают удовлетворительной при выполнении условия:

$$K_к \leq K \qquad (12)$$

При невыполнении условия (10) контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (10) устанавливают причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

13.4. Оперативный контроль процедуры измерений, а также реализуемые процедуры контроля стабильности результатов выполняемых измерений приводят в документах лаборатории, устанавливающих порядок и содержание работ по организации методов контроля стабильности результатов измерений в пределах лаборатории.

Нормативные и методические документы

1. СанПиН 2.3.2.1078—01 «Продовольственное сырье и пищевые продукты. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов».

2. ГН 2.2.5.3532—18 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны».

3. ГН 2.2.5.2308—07 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны».

4. Приказ Ростехнадзора от 25.03.2014 № 116 «Об утверждении Федеральных норм и правил в области промышленной безопасности «Правила промышленной безопасности опасных производственных объектов, на которых используется оборудование, работающее под избыточным давлением».

5. ГОСТ Р ИСО 5725-6 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике».

6. ГОСТ Р 53228 «Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания».

7. ГОСТ 12.1.019 «Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты».

8. ГОСТ 12.0.004 «Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения».

9. ГОСТ 12.1.004 «Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования».

10. ГОСТ 12.1.005 «Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны».

11. ГОСТ 12.1.007 «Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности».

12. ГОСТ 12.4.009 «Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание».

13. ГОСТ 1770 «Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия».

14. ГОСТ 2222 «Спирт метиловый. Технические условия».

15. ГОСТ 4204 «Кислота серная. Технические условия».

16. ГОСТ 4220 «Реактивы. Калий двухромовокислый. Технические условия».

17. ГОСТ 4233 «Натрий хлористый. Технические условия».

18. ГОСТ OIML R 111-1 «Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Гири классов E(1), E(2), F(1), F(2), M(1), M(1-2), M(2), M(2-3) и M(3). Часть 1. Метрологические и технические требования».

19. ГОСТ 12026 «Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия».

20. ГОСТ 21458 «Сульфат натрия кристаллизационный. Технические условия».

21. ГОСТ 25336 «Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры».

22. ГОСТ 29227 «Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования».

23. ГОСТ Р 52501 «Вода для лабораторного анализа. Технические условия».

24. ГОСТ Р 52501—2005 «Вода для лабораторного анализа. Технические условия».

25. ГОСТ 8756.0 «Продукты пищевые консервированные. Отбор проб и подготовка их к испытанию».

26. ТУ 2.833.106 «Микрошприцы серии МШ-10».

27. ТУ 2121-278-00204197 «Сульфаминовая кислота».

28. ТУ 16-531.743 «Электрошкаф СНВ С-4,5.4,5.4/3-И1. Технические условия».

29. ТУ 25-11.1630 «Шкаф вытяжной химический».

30. ТУ 0271-001-45905715 «Гелий газообразный высокой чистоты (сжатый). Технические условия».

31. ТУ 3645-032-00220531 «Редукторы баллонные одноступенчатые малогабаритные для газопламенной обработки».

gost.e-ecolog.ru