Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение химических соединений и элементов в биологических средах, молочной продукции и объектах окружающей среды

Сборник методических указаний МУК 4.1.3474—4.1.3482—17

Выпуск 2

Издание официальное

Москва • 2018

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение химических соединений и элементов в биологических средах, молочной продукции и объектах окружающей среды

Сборник методических указаний
МУК 4.1.3474—4.1.3482—17

Выпуск 2

ББК 28.072
О62

О62 **Определение** химических соединений и элементов в биологических средах, молочной продукции и объектах окружающей среды: Сборник методических указаний. Вып. 2.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2018.—144 с.

ISBN 978–5–7508–1631–6

1. Подготовлены коллективом авторов ФГБНУ «Восточно-Сибирский институт медико-экологических исследований», Федеральным бюджетным учреждением науки ФНЦ «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения», ФБУН «Нижегородский НИИ гигиены и профпатологии» Роспотребнадзора, ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора.

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 22 декабря 2016 г. № 2).

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 15 июня 2017 г.

4. Введены впервые.

ББК 28.072

Редактор Л. С. Кучурова
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 29.05.18

Формат 60x84/16 Печ. л. 9,0

Тираж 100 экз. Заказ 30

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) 952-50-89

© Роспотребнадзор, 2018

Содержание

Введение 4
Измерение массовой концентрации тиодигликолевой кислоты в моче методом капиллярной газожидкостной хроматографии: МУК 4.1.3474—17 5
Измерение массовой концентрации тиодиуксусной кислоты в моче методом газовой хромато-масс-спектрометрии: МУК 4.1.3475—17 18
Измерение массовой концентрации фторид-ионов в пробах волос потенциометрическим методом с применением ионоселективного электрода: МУК 4.1.3476—17 31
Измерение массовой концентрации монохлоруксусной кислоты в пробах мочи методом капиллярной газовой хроматографии: МУК 4.1.3477—17 43
Измерение содержания летучих N-нитрозоаминов (N-нитрозодиметиламин, N-нитрозодиэтиламин) в молочной продукции (детские каши) хромато-масс-спектрометрическим методом: МУК 4.1.3478—17 55
Измерение массовых концентраций N-нитрозоаминов (N-нитрозодиметиламин, N-нитрозодиэтиламин) в крови методом капиллярной газовой хроматографии: МУК 4.1.3479—17 71
Измерение массовых концентраций химических элементов (кадмий, свинец, мышьяк, ртуть) в молоке и молочных продуктах методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой: МУК 4.1.3480—17 84
Измерение массовых концентраций химических элементов в атмосферном воздухе методом масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой: МУК 4.1.3481—17 106
Измерение массовой концентрации витамина К1 в сыворотке крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ): МУК 4.1.3482—17 132

Введение

Включенные в сборник 9 методических указаний по определению химических соединений в биологических средах, объектах окружающей среды и молочной продукции предназначены для использования в химико-аналитических исследованиях при проведении биомониторинга состояния здоровья населения, для практического использования в рамках социально-гигиенического мониторинга на территориях с высокой антропогенной нагрузкой, а также могут быть использованы для диагностических целей в рамках осуществления государственного санитарного надзора, контроля, экспертизы, расследований. Методические указания предназначены для специалистов химико-аналитических лабораторий системы Роспотребнадзора, научно-исследовательских институтов, работающих в области экологии человека, гигиены окружающей среды и защиты прав потребителей.

Методические указания, включенные в сборник, разработаны и подготовлены в соответствии с требованиями ГОСТ Р 8.563—96 «Государственная система обеспечения единства измерений. Методики выполнения измерений», ГОСТ Р 1.5—92 «ГСС. Общие требования к построению, изложению, оформлению и содержанию стандартов», МИ 2335—95 «Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа», МИ 2336—95 «Характеристики погрешности результатов количественного химического анализа. Алгоритм оценивания».

Все методики измерения прошли метрологическую аттестацию в соответствии с правилами ПР 50.2.002—94 «ГСИ. Порядок осуществления государственного метрологического надзора за выпуском, состоянием и применением средств измерений, аттестованными методиками выполнения измерений, эталонами и соблюдением метрологических правил и норм».

В методических указаниях, включенных в сборник, приведены методы определения 6 органических соединений в биологических средах (моча, кровь) и молочной продукции, 4 тяжелых металлов в молочной продукции и 20 тяжелых металлов и элементов в атмосферном воздухе. Определение токсичных веществ и элементов основано на использовании современных высокочувствительных методов физико-химического анализа – капиллярной газожидкостной хроматографии, хромато-масс-спектрометрии, масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, высокоэффективной жидкостной хроматографии, потенциометрии с применением ионселективного электрода.

Методические указания рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
А. Ю. Попова
15 июня 2017 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Измерение содержания летучих N-нитрозоаминов (N-нитрозодиметиламин, N-нитрозодиэтиламин) в молочной продукции (детские каши) хромато-масс-спектрометрическим методом

Методические указания МУК 4.1.3478—17

Свидетельство об аттестации методики № 88-16207-046-RA.RU. 310657-2016 от 25.05.2016.

1. Назначение и область применения

1.1. Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода газохроматографического анализа с масс-селективным детектированием для измерения содержания N-нитрозоаминов (N-нитрозодиметиламин, N-нитрозодиэтиламин) в пробах молочной продукции в диапазоне концентраций от 0,0004 до 0,0032 мкг/г.

1.2. Методические указания по измерению содержания N-нитрозоаминов (N-нитрозодиметиламин, N-нитрозодиэтиламин) в пробах молочной продукции предназначены для проведения лабораторных исследований безопасности пищевой продукции предприятиями и учреждениями, осуществляющими контроль качества и исследование пищевых продуктов и продовольственного сырья.

1.3. Методические указания носят рекомендательный характер.

2. Физико-химические и токсикологические свойства

N-нитрозоамины – малоустойчивые вещества, стабильны только при температурах ниже 0 °С, являются жидкими или твердыми веществами желтого цвета.

N-нитрозоамины являются высокотоксичными соединениями. При попадании в организм поражают печень, вызывают кровоизлияния. Большая часть N-нитрозоаминов обладает сильным канцерогенным действием даже при однократном действии, проявляет мутагенные свойства. N-нитрозодиметиламин обладает отдаленными эффектами: эмбриотропным, гонадотропным, мутагенным.

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

N-нитрозодиэтиламин: CAS 55-18-5, формула $C_2H_6N_2O/(C_2H_5)_2NN{=}O$, молекулярная масса: 176,0, $T_{кип}$: 175 °С, растворимость в воде, г/100 $см^3$, при 20 °С: 10,6, класс опасности: 1-й, характеристичные ионы, m/z N-итрозодиэтиламина 102-57.

3. Метрологические характеристики методики выполнения измерений

При соблюдении всех регламентированных условий и проведения анализа в точном соответствии с данной методикой погрешность (и ее составляющие) измерений не превышает значений, приведенных в табл. 1.

Таблица 1

Диапазон измерений содержания N-нитрозоаминов в пробах молочной продукции, значения показателей точности, правильности и прецизионности измерений

Диапазон измерений, мкг/г	Показатель точности (границы относительной погрешности при $P = 0,95$), $\pm \delta_л$, %	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель внутрилабораторной прецизионности, (относительное среднеквадратическое отклонение внутрилабораторной прецизионности), $\sigma_{R_л}$, %	Показатель правильности (границы относительной систематической погрешности при $P = 0,95$), $\pm \delta_{Cл}$, %
N-нитрозодиметиламин				
От 0,0004 до 0,0032 вкл.	10	1,3	4,7	4,3
N-нитрозодиэтиламин				
От 0,0004 до 0,0032 вкл.	9,2	1,5	3,8	5,3

Значения показателя точности используют:

– при оформлении результатов измерений, выдаваемых лабораторией;

– при оценке деятельности лабораторий по вопросу качества проведения измерений;

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

4. Метод измерения

Измерение содержания N-нитрозоаминов (N-нитрозодиметиламин, N-нитрозодиэтиламин) в пробе молочной продукции выполняют методом газохроматографического анализа с масс-спектрометрическим детектированием. Извлечение и концентрирование N-нитрозоаминов (N-нитрозодиметиламин, N-нитрозодиэтиламин) из проб молочной продукции проводят методом дистилляции с водяным паром в кислой среде с высаливающими реагентами, концентрированием N-нитрозоаминов на картриджах с помощью системы твердофазной экстракции (ТФЭ), идентификации веществ по масс-спектрам и времени выхода с последующим количественным хромато-масс-спектрометрическим определением по градуировочному графику.

Определению не мешают углеводороды, спирты. Длительность измерений – 30 мин.

5. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

При выполнении измерений и подготовке проб применяют следующие средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы:

5.1. Средства измерений

Хромато-масс-спектрометрическая система, включающая ниже перечисленные 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;
– масс-спектрометрический детектор с квадрупольным масс-анализатором;
– 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; – библиотека масс-спектров	
Термометр жидкостный стеклянный	ГОСТ 28498—90
Секундомер: 60-минутная шкала с ценой деления 1 мин, 60-секундная шкала с ценой деления 0,2 с	ТУ 25-1894.003—90
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—2000
Весы лабораторные равноплечие 2-го 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—08
Меры массы	ГОСТ OIML R 111-1—09
Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры	ГОСТ 25336—82
Колбы мерные вместимостью 2-100-2, 2-1000-2 $см^3$	ГОСТ 1770—74
Пипетки градуированные 1-го класса точности вместимостью 1-2-1-1, 1-2-1-2, 1-2-2-5 $см^3$	ГОСТ 29227—91
Дозаторы жидкости механические с погрешностью ± 0,1 $мм^3$, объемом дозирования 1—10 $см^3$, 100—1 000 $мм^3$, 20—200 $мм^3$ с одноразовыми наконечниками	ГОСТ 28311—89

Примечание. Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

5.2. Реактивы

Вода для лабораторного анализа бидистиллированная	ГОСТ Р 52501—05
Калий двухромовокислый, чда	ГОСТ 4220—75
Кислота серная, хч	ГОСТ 4204—77
Натрий хлористый, хч	ГОСТ 4233—77
Сульфат натрия кристаллизационный	ГОСТ 21458—75
Сульфаминовая кислота, хч	ТУ 2121-278-00204197—01
Спирт метиловый	ГОСТ 2222—95
Кислота бромистоводородная	ГОСТ 2062—77
Кислота уксусная ледяная	ГОСТ 61—75
Метилен хлористый, массовая доля ≥ 99,90 %	CAS 75-09-2 ТУ 263161168410
N-нитрозодиметиламин, массовая доля основного вещества 99,9 %	ГСО 7881—01
N-нитрозодиэтиламин, массовая доля основного вещества 99,9 %	ГСО 7881—01
Гелий газообразный, в баллонах	ТУ 0271-001-459055715—02

Примечание. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией.

5.3. 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—97
Установка для перегонки с водяным паром	
Колба КТС (100, 200, 500, 1 000 $см^3$)	ГОСТ 25336—82
Холодильник с алонжем	ГОСТ 25336—82
Парообразователь	
Стакан В-1-2000 ТС	ГОСТ 25336—82
Облучатель-рециркулятор ультрафиолетовый бактерицидный	
Система очистки воды, позволяющая получить дистиллированную и деионизованную воду	ГОСТ Р 52501—05
Азот газообразный, осч 1-й сорт, объемная доля азота, %, не менее 99,999	ГОСТ 9293—74

Бумага фильтровальная лабораторная ГОСТ 12026—76

Примечание. Допускается использование вспомогательных устройств и материалов с аналогичными или лучшими техническими характеристиками.

6. Требования безопасности и охраны окружающей среды

6.1. При выполнении работ необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007—76.

6.2. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией и соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91, и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83.

6.3. При выполнении измерений с использованием хромато-масс-спектрометра соблюдают правила электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019—09 и инструкцию по эксплуатации прибора.

6.4. При работе с сосудами, работающими под давлением, необходимо соблюдать правила их устройства и безопасной эксплуатации в соответствии с федеральными нормами и правилами в области промышленной безопасности «Правила промышленной безопасности опасных производственных объектов, на которых используется оборудование, работающее под избыточным давлением».

6.5. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать допустимых значений по ГОСТ 12.1.005—88, ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и ГН 2.2.5.2308—07.

6.6. Организуют обучение работающих безопасности труда по ГОСТ 12.0.004—90.

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

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

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

6.10. N-нитрозоамины хранят в специальном холодильнике в отсутствии анализируемых проб.

7. Требования к квалификации операторов

Измерения в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист, имеющий опыт работы на хромато-масс-спектрометре, освоивший данную методику и подтвердивший экспериментально соответствие получаемых результатов нормативам контроля погрешности измерений.

8. Требования к условиям измерений

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.

9. Подготовка к выполнению измерений

При подготовке к выполнению измерений проводят следующие работы: подготовка стеклянной посуды, подготовка хроматографической системы, приготовление растворов для градуировки, установление градуировочной характеристики, отбор проб.

9.1. Подготовка посуды

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

Используемую посуду необходимо замочить в свежеприготовленном 3%-м растворе калия двухромовокислого в серной кислоте, промыть проточной водопроводной водой, ополоснуть дистиллированной 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:

– температура термостата колонки:	50 °С – 1 мин; 8 °С/мин до 120 °С; 20 °С/мин до 220 °С – 2 мин
– температура испарителя	270 °С
– температура переходной линии	220 °С
– режим импульсный без деления потока	1 мин
– скорость газа-носителя – гелия	15 $см^3$/мин
– скорость газа-носителя – гелия через колонку	1,0 $см^3$/мин
– температура ионного источника	230 °С
– температура квадрупольного масс-анализатора	150 °С
– ток эмиссии	70 эВ
– режим сканирования N-нитрозодиметиламина по масс-селективному иону	74
– режим сканирования N-нитрозодиэтиламина по масс-селективному иону	102
– время до начала сканирования	6 мин
– объем пробы	2 $мм^3$
– время удерживания:	
◦ N-нитрозодиметиламин	(7,9 ± 0,05) мин
◦ N-нитрозодиэтиламин	(10,5 ± 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 неограничен.

9.3.2. Приготовление раствора 2%-го сульфаминовой кислоты. Растворяют 2 г сульфаминовой кислоты в 100 $см^3$ бидистиллированной воды. Срок хранения 1 месяц.

9.3.3. Приготовление 2—3%-го раствора бромоводорода (HBr) в уксусной кислоте. Растворяют 1,4 $см^3$ бромоводорода (HBr) в 100 $см^3$ уксусной кислоты (с учетом плотности бромоводорода). Срок хранения раствора 5 дней.

9.3.4. Приготовление исходного раствора N-нитрозоаминов. Готовят из реактивов с известной массовой долей основного вещества. В мерную пробирку объемом 10 $см^3$ дозатором добавляют метилового спирта в объеме 10 $см^3$, вводят микрошприцем по 2 $мм^3$ N-нитрозоаминов (N-нитрозодиметиламин, N-нитрозодиэтиламин). Весовое содержание компонентов в исходном растворе составляет (с учетом плотности и содержания основного вещества): N-нитрозодиметиламин – 0,2 $мг/см^3$, N-нитрозодиэтиламин – 0,2 $мг/см^3$. Срок хранения раствора 30 дней.

9.3.5. Приготовление рабочего раствора. В мерную колбу объемом 50 $см^3$, содержащую бидистиллированную воду в объеме 50 $см^3$, вводят дозатором 2 $мм^3$ исходного раствора N-нитрозоаминов. Массовая концентрация N-нитрозодиметиламина в рабочем растворе составляет 0,008 $мкг/см^3$ и N-нитрозодиэтиламина – 0,008 $мкг/см^3$. Срок хранения раствора 5 часов.

9.3.6. Приготовление исходного раствора N-нитрозоаминов. Готовят из реактивов с известной массовой долей основного вещества. В мерную пробирку объемом 10 $см^3$ дозатором добавляют метилового спирта в объеме 10 $см^3$, вводят микрошприцем по 2 $мм^3$ N-нитрозоаминов (N-нитрозодиметиламин, N-нитрозодиэтиламин). Весовое содержание компонентов в исходном растворе составляет (с учетом плотности и содержания основного вещества): N-нитрозодиметиламин – 0,2 $мг/см^3$, N-нитрозодиэтиламин – 0,2 $мг/см^3$. Срок хранения раствора 30 дней.

9.3.7. Приготовление рабочего раствора. В мерную колбу объемом 50 $см^3$, содержащую бидистиллированную воду в объеме 50 $см^3$, вводят дозатором 2 $мм^3$ исходного раствора N-нитрозаминов. Массовая концентрация N-нитрозодиметиламина в рабочем растворе составляет 0,008 $мкг/см^3$ и N-нитрозодиэтиламина – 0,008 $мкг/см^3$. Срок хранения раствора 5 часов.

9.3.8. Приготовление градуировочных растворов. Градуировочные растворы N-нитрозоаминов готовят в мерных колбах объемом 100 $см^3$. Для этого в каждую колбу вносят по 50 $см^3$ бидистиллированной воды и добавляют рабочий раствор для градуировки в соответствии с табл. 2, содержимое колбы доводят до метки бидистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Таблица 2

Растворы для установления градуировочной характеристики

Градуировочный раствор	1	2	3	4	5
Объем рабочего раствора, $см^3$	2,5	5,0	7,5	10,0	20,0
Содержание N-нитрозодиметиламина, нг	20	40	60	80	160
Концентрация N-нитрозодиметиламина (навеска 50 г), мкг/г	0,0004	0,0008	0,0012	0,0016	0,0032
Содержание N-нитрозодиэтиламина, нг	20	40	60	80	160
Концентрация N-нитрозодиэтиламина (навеска 50 г), мкг/г	0,0004	0,0008	0,0012	0,0016	0,0032

9.4. Построение градуировочной характеристики

Градуировочные характеристики устанавливают на градуировочных растворах N-нитрозодиметиламина и N-нитрозодиэтиламина 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-нитрозодиметиламина и N-нитрозодиэтиламина на хроматограмме (мВ – при автоматическом обсчете с использованием программно-аппаратного комплекса) от содержания (нг).

Градуировочный раствор (табл. 4) помещают в круглодонную колбу объемом 500 $см^3$, подкисляют 2,5 $см^3$ 2%-й сульфаминовой кислоты и 0,5 $см^3$ 60%-м раствором серной кислоты до pH = 3. Затем добавляют высаливающие реагенты (5 г сульфата натрия и 5 г хлорида натрия). С помощью перегретого водяного пара (t^2 = (100 ± 5) °С и t^3 = (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 картридж на угольной основе автоматической системы ТФЭ, элюирование осуществляют хлористым метиленом.

По истечении 30 мин экстракт хлористого метилена объемом 2 $мм^2$ через испаритель вводят в хроматографическую колонку хроматографа и анализируют по п. 9.2.2.

---

[2] Температура парообразователя.

[3] Температура колбы с градуировочным раствором.

Каждый градуировочный раствор хроматографируют два раза. Процедуру повторяют аналогично для каждого градуировочного раствора. На полученной хроматограмме определяют площади пиков (безразмерные компьютерные единицы, бке) молекулярных ионов для N-нитрозодиметиламина – 74 m/z, N-нитрозодиэтиламина – 102 m/z, рассчитывают средние значения площади пиков N-нитрозодиметиламина и N-нитрозодиэтиламина 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, $r_s = 16$ %.

Результат проверки признается 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 1 раз в 3 месяца, а также при внедрении методики в практику лаборатории, после ремонта хромато-масс-спектрометра, 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-нитрозаминов соответствовала нижней, верхней границам и середине диапазона построения градуировочной характеристики. Градуировка признается стабильной при выполнении условия:

$$|m_{ГХm} - m_{ГХ}| \leq 0{,}08 \cdot m_{ГХ}, \text{ где} \qquad (2)$$

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

$m_{ГХm}$ – 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 выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики.

10.1. Отбор проб

Отбор проб сухих детских молочных каш проводят согласно ГОСТ 26809—86. Отбор проб сухой фасованной продукции в потребительской таре производится в количестве 3 единиц фасовки от каждой однородной партии (в начале, середине и конце фасовки). Затем от каждого образца отбирают точечные пробы продукта в одну емкость для получения усредненной пробы для анализа массой около 300 г. Допускается хранение отобранных образцов в морозильной камере при температуре –8... –18 °С от 1 до 3 суток.

10.2. Подготовка проб

Навеску 40—50 г продукта помещают в круглодонную 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%-й сульфаминовой кислоты и 0,5 $см^3$ 60%-го раствора серной кислоты до pH = 3; N-нитрозоамины отгоняют с перегретым водяным паром ($t^4 = (100 \pm 5)$ °С и $t^5 = (80 \pm 5)$ °С), собирая 70 $см^3$ дистиллята. Затем дистиллят пропускают через картридж на угольной основе автоматической системы ТФЭ. По истечении 30 мин экстракт хлористого метилена объемом 2 $мм^2$ через испаритель вводят в хроматографическую колонку хроматографа и анализируют при условиях по п. 9.2.2.

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

---

[4] Температура парообразователя.

[5] Температура колбы с градуировочным раствором.

11. Обработка (вычисление) результатов измерений

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

Концентрацию *С*, мкг/г N-нитрозоаминов в пробах пищевого продукта (детские молочные каши) рассчитывают по формуле:

$$C = \frac{m_{ГХ}}{m \cdot 1\,000}, \text{ где} \qquad (3)$$

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

1 000 – коэффициент перевода нг в мкг.

m – навеска пробы молочного продукта, взятая для анализа, г.

11.2. За окончательный результат измерения принимают среднее арифметическое значение $\overline{C}$ двух результатов измерений (C_1, C_2), полученных в условиях повторяемости (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. 3.

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:

$$|C_{max.4} - C_{min.4}| \le 0{,}01 \cdot \mathrm{CR}_{0.95}(4) \cdot \frac{C_1 + C_2 + C_3 + C_4}{4}, \text{ где} \qquad (5)$$

$CR_{0,95}(4)$ – критический диапазон. Значения критического диапазона приведены в табл. 3.

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 3

Диапазон измерений содержания N-нитрозоаминов в пробах молочной продукции, значения пределов повторяемости, критического диапазона, внутрилабораторной прецизионности при доверительной вероятности $P = 0,95$

Диапазон измерений, мкг/г	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 внутрилабораторной прецизионности (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в одной лаборатории в разное время, разными операторами), $R_л$, %
N-нитрозодиметиламин			
От 0,0004 до 0,0032 вкл.	3,6	4,7	13
N-нитрозодиэтиламин			
От 0,0004 до 0,0032 вкл.	4,2	5,5	11

12. Оформление результатов измерений

Результат измерений представляют в виде: ($\overline{C} \pm \Delta_л$), мкг/г, где

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

$\Delta_л$ – характеристика погрешности, мкг/г, при $P = 0,95$, значение $\Delta_л$ рассчитывают по формуле:

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

$\delta_л$ – относительное значение характеристики погрешности измерений концентрации N-нитрозодиметиламина и N-нитрозодиэтиламина, % (табл. 1).

13. Процедуры обеспечения достоверности измерений

13.1. Обеспечение достоверности измерений в пределах лаборатории организуют и проводят путем проведения проверки приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях повторяемости, внутрилабораторной прецизионности, оперативного контроля процедуры изме-

рений и контроля стабильности результатов измерений в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-6—02.

13.2. Проверка приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях внутрилабораторной прецизионности.

Образцами для проверки приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях внутрилабораторной прецизионности, являются образцы продукта (детские молочные каши) с внесенными в них добавками растворов N-нитрозоаминов, подготовленных в соответствии с п. 9.3.7.

Проверку приемлемости результатов измерений, получаемых в условиях внутрилабораторной прецизионности (в пределах одной лаборатории, разными операторами, в разное время), проводят по результатам измерений массовых концентраций N-нитрозоаминов в образцах продукции с одинаковым содержанием N-нитрозоаминов.

Результаты измерений признают приемлемыми при выполнении условия:

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

C_1 и C_2 – результаты измерений концентраций N-нитрозоаминов, полученные в условиях внутрилабораторной прецизионности, т. е. в одной лаборатории, в разное время, разными операторами, мкг/г;

$R_л$ – предел внутрилабораторной прецизионности, значения предела внутрилабораторной прецизионности приведены в табл. 3.

Если условие (7) не выполняется, процедуру повторяют. При повторном превышении предела внутрилабораторной прецизионности выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают 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:

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

$\bar{C}'$ – 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);

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

$C_д$ – величина добавки.

В качестве добавки используют растворы N-нитрозоамина, приготовленные по п. 9.3.5.

Норматив контроля K рассчитывают по формуле:

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

$\Delta_{л,C'_{ср}}$, $\Delta_{л,C_{ср}}$ – значения характеристики погрешности результатов измерений.

Процедуру измерений признают удовлетворительной, при выполнении условия:

$$K_к \le K \quad (10)$$

При невыполнении условия (10) контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (10) выясняют 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.

Примечание. При использовании настоящей методики измерений целесообразно проверить действие ссылочных стандартов на территории Российской Федерации по соответствующему указателю стандартов, составленному на 1 января текущего года, и по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный документ заменен (изменен), то при пользовании настоящей методикой измерений следует руководствоваться замененным (измененным) стандартом. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

Методические указания разработаны Федеральным бюджетным учреждением науки ФНЦ «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (Уланова Т. С., Зайце- мова Т. В., Попова Н. А., Мальцева О. А., Терентьев Г. И.).

gost.e-ecolog.ru