МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)

INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 32531— 2013

БЕНЗИДИН

Измерение концентрации бензидина в воде с помощью жидкость-жидкостной экстракции или твердофазной экстракции и обращеннофазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии/корпускулярно-лучевого интерфейса/масс-спектрометрии

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2014

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 РАЗРАБОТАН Федеральным бюджетным учреждением здравоохранения «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУЗ «Российский регистр потенциально опасных химических и биологических веществ» Роспотребнадзора);

Федеральным государственным унитарным предприятием «Всероссийский научно-исследовательский центр стандартизации, информации и сертификации сырья, материалов и веществ» (ФГУП «ВНИЦСМВ»)

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 14 ноября 2013 г., № 44-2013 приложение № 24)

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
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 ноября 2013 г. № 817-ст межгосударственный стандарт ГОСТ 32531—2013 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 августа 2014 г.

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок – в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования – на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2014

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

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

Межгосударственная система стандартизации
БЕНЗИДИН
измерение концентрации бензидина в воде с помощью жидкость-жидкостной экстракции или твердофазной экстракции и обращеннофазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии/корпускулярно-лучевого интерфейса/ масс-спектрометрии

Benzidine. Determination of concentration in water by liquid-liquid extraction or solid phase extraction and reverse phase high performance liquid chromatography/particle-beam interface/mass-spectrometry

Дата введения — 2014—08—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает процедуру измерения массовой концентрации бензидина (4,4'-диаминодифенила) в пробах воды с пределом обнаружения в конечном экстракте 2,5 мкг/л (диапазон измеряемых концентраций 5–250 мкг/л) методом жидкость-жидкостной экстракции/высокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии или с пределом обнаружения 5,3 мкг/л методом твердофазной экстракции/высокоэффективной жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии. Такие результаты достигаются при объеме аликвоты образца 1 л и конечном объеме экстракта 0,5 мл, то есть при концентрировании образца в 2000 раз.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 12.1.005–88 Система стандартов безопасности труда. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007–76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 12.1.019–2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты

ГОСТ 244–76 Натрия тиосульфат кристаллический. Технические условия

ГОСТ 1770–74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 3117–78 Реактивы. Аммоний уксуснокислый. Технические условия

ГОСТ 3118–77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия

ГОСТ 4166–76 Реактивы. Натрий сернокислый. Технические условия

ГОСТ 4233–77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия

ГОСТ 4328–77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия

ГОСТ 5644–75 Сульфит натрия безводный. Технические условия

ГОСТ 6709–72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 7995–80 Краны соединительные стеклянные. Технические условия

ГОСТ 12026–76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 23932–90 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Общие технические условия

ГОСТ 25336–82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 27068–86 Реактивы. Натрий серноватистокислый (натрия тиосульфат) 5-водный. Технические условия

ГОСТ 29169–91 (ИСО 648–77) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой

ГОСТ 29227–91 (ИСО 835-1–81) Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования

ГОСТ Р 51592–2000 Вода. Общие требования к отбору проб

ГОСТ Р 53228–2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

Примечание – При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Характеристики погрешности измерений

Относительная расширенная неопределенность измерений (при коэффициенте охвата $k = 2$) $U_{отн} = 15\ \%$.

Примечание – Указанная неопределенность соответствует границам относительной суммарной погрешности ± 15 % при доверительной вероятности $P = 0{,}95$.

4 Описание метода

4.1 Из образца 1 л воды аналит экстрагируют дихлорметаном либо сорбируют на картриджи, заполненные сорбентом, или экстракционные диски. Затем дихлорметан упаривают, пробу перерастворяют в небольшом количестве метанола либо элюируют с сорбента метанолом с последующим упариванием до небольшого объема. Аликвоту полученного раствора анализируют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на обращенно-фазовой колонке. Жидкостный хроматограф с помощью корпускулярно-лучевого (particle beam) интерфейса соединен с масс-спектрометром, с источником электронной ионизации, идентификация аналитов осуществляется масс-спектрометрическим методом.

4.2 Измерение массовой концентрации проводят методом внешнего стандарта: определяют площади пиков бензидина на калибровочных экспериментальных хроматограммах, расчет количества бензидина в пробе осуществляют исходя из площадей этих пиков и массы внешнего стандарта.

4.3 Для градуировки прибора и расчета калибровочной зависимости готовят серию из шести градуировочных растворов бензидина в воде, соответствующих требуемому диапазону концентраций, проводят экстракцию и анализ градуировочных растворов. Вычисляют фактор калибровки исходя из количеств бензидина и площадей соответствующих хроматографических пиков.

4.4 При определении бензидина в сложных матрицах, содержащих мешающие определению компоненты, калибровку проводят методом изотопного разбавления, используя добавку стандарта бензидина-d_8 к калибровочным растворам и анализируемым реальным пробам.

4.5 Метод селективен. Определению могут мешать вещества, коэлюирующиеся с бензидином, в этом случае необходимо подобрать хроматографические условия таким образом, чтобы разделить подобные компоненты.

4.6 Метод пригоден для определения и других азотсодержащих пестицидов, в том числе производных бензидина.

5 Средства измерений, реактивы и материалы

5.1 Средства измерений

Высокоэффективный жидкостный хроматограф, способный обеспечивать поток 0,2 — 0,4 мл/мин при градиентном элюировании от 100 % мобильной фазы А до 100 % мобильной фазы В, оборудованный емкостями для двух подвижных фаз. Очень желательно наличие автоинжектора, способного с высокой точностью вносить 1 – 10 мкл.

Хроматографическая колонка (например, Waters C-18 Novapak) из нержавеющей стали длиной 15 – 25 см, внутренним диаметром 2 мм, заполненная сорбентом (4 – 10 мкм), химически модифицированным октадецил(диметил)силильными (С-18) группами. Колонка должна быть кондиционирована перед началом анализов в течение ночи с помощью 0,05 мл/мин потока фазы 75 % — 100 % ацетонитрил:вода.

Предколонка с тем же наполнением, что и аналитическая колонка, желательна, но необязательна.

Корпускулярно-лучевой интерфейс должен обеспечивать снижение давления до значений, полностью совместимых с условиями электронной ионизации, обеспечивая при этом высокий уровень переноса аналита в источник ионизации. Все фоновые компоненты, имеющие наблюдаемые сигналы

с массами более 62 Да, должны давать относительную интенсивность любого из ионов не выше 10 % регистрируемых в спектрах аналитов.

Масс-спектрометр с источником ионизации электронами с номинальной энергией 70 эВ, способный сканировать диапазон масс 45 — 500 а.е.м. за 1,5 с или менее.

Система регистрации и обработки данных, способная интегрировать хроматографические пики, проводить статистическую обработку результатов градуировки и вычислять содержание аналитов по данным градуировки.

Весы лабораторные высокого класса точности по ГОСТ Р 53228.

Шприцы аналитические для жидкостной хроматографии вместимостью 10, 50 и 100 мкл.

Пипетки с одной отметкой (Мора) вместимостью 1 мл по ГОСТ 29169 с погрешностью ± 0,015 мл.

Пипетки градуированные вместимостью 2 мл по ГОСТ 29227 с погрешностью ± 0,01 мл.

Цилиндры мерные 2-10 и 2-1000 по ГОСТ 1770 с погрешностью ± 0,1 и ± 10 мл соответственно.

Колбы мерные 2-50-2, 2-10-2 по ГОСТ 1770 с погрешностью ± 0,12 и ± 0,025 мл соответственно.

Примечание – Допускается применение других типов средств измерений с метрологическими и техническими характеристиками не ниже указанных.

5.2 Реактивы и материалы

Метанол для ВЭЖХ (например, HPLC grade, Merck) либо по [2].

Дихлорметан (метилен хлористый) чистотой не менее 99 %, например х.ч. для хроматографии по [3].

Ацетонитрил для ВЭЖХ (например, HPLC grade, Merck) либо ос.ч. по [4].

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Сульфат натрия безводный, ч.д.а., по ГОСТ 4166.

Стандарты бензидина (ч.д.а. по [5]) либо бензидина дигидрохлорида (ч.д.а. по [6]), а также бензидин-d_8 (изотопно-замещенный по фенильным кольцам) (например, 98 atom % D, Sigma-Aldrich).

Соляная кислота концентрированная по ГОСТ 3118.

Восстанавливающие агенты для хлорированной воды: сульфит натрия (ГОСТ 5644) либо тиосульфат натрия (ГОСТ 244 или ГОСТ 27068), либо арсенит натрия (≥ 90 %, Aldrich).

Хлорид натрия (ч.д.а. по ГОСТ 4233), ацетат аммония (ГОСТ 3117), гидроксид натрия (ГОСТ 4328).

Для проведения твердофазной экстракции необходимы:

- картриджи из инертного пластика (например, полипропилена), не содержащие органических загрязнителей, переходящих в метанол. Картридж должен содержать сорбент с химически привитой фазой C_{18}. При приложении слабого (~130 мм рт. ст.) вакуума 1 л воды должен проходить через картридж примерно за 2 ч. Допускается более высокая скорость прокачивания воды, если при этом сохраняется высокая степень извлечения аналитов;
- экстракционные диски (Empore) — тонкие фильтры с C_{18} – модифицированным силикагелем либо нейтральным полистирол/ дивинилбензольным полимером, внедренным в тефлон или другой инертный материал. Диски не должны содержать органических веществ, переходящих в метанол. 1 л воды должен проходить через диск за 5 – 20 мин при приложении пониженного (~ 660 мм рт. ст.) давления.

Примечание – Допускается применение реактивов, изготовленных по другой нормативно-технической документации, с квалификацией чистоты не ниже указанной.

5.3 Вспомогательные устройства

Воронки делительные из химически стойкого стекла группы ХС: ВД-1-2000, или ВД-2-2000, или ВД-3-2000 по ГОСТ 25336, оборудованные притертыми кранами по ГОСТ 7995 и тефлоновыми пробками.

Емкости для отбора проб воды из темного стекла вместимостью не менее 1 л, емкости для хранения стандартных растворов вместимостью не менее 250 мл и не менее 1 мл по [1].

Испаритель ротационный ИР-1М2 по [7].

Колбы круглодонные и конические объемами от 50 до 500 мл по ГОСТ 23932.

Фильтры из фильтровальной бумаги по ГОСТ 12026.

Вакуумная колба вместимостью не менее 1 л и водоструйный насос для осуществления твердофазной экстракции.

Примечание – Допускается применение аналогичного вспомогательного оборудования с техническими характеристиками не ниже указанных.

6 Требования безопасности

6.1 Используемые в работе реактивы относятся к веществам 1-го и 2-го класса опасности. При работе с ними необходимо соблюдать требования безопасности, установленные для работ с токсичными, едкими и легковоспламеняющимися веществами по ГОСТ 12.1.005.

6.2 Эксплуатация жидкостного хроматографа и проведение соответствующих измерений требуют соблюдения правил электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019 и инструкцией по эксплуатации прибора.

7 Требования к квалификации персонала

7.1 К приготовлению градуировочных растворов допускаются лица, имеющие квалификацию химика, инженера- или техника-химика и опыт работы в химической лаборатории.

7.2 К выполнению измерений допускаются лица, имеющие квалификацию не ниже инженера-химика или химика, прошедшие соответствующие курсы обучения и стажировку в лабораториях, аккредитованных на выполнение анализов с применением настоящего стандарта.

7.3 Весь персонал должен пройти проверку знаний по технике безопасности, в том числе при работе в химической лаборатории, включая общие правила работы с едкими и токсичными веществами, правила пожарной безопасности и промышленной санитарии.

8 Условия выполнения измерений

При приготовлении растворов, подготовке проб и выполнении измерений соблюдают следующие условия: температура окружающего воздуха (20 ± 5) °С; атмосферное давление 84,0 – 106,7 кПа (630 – 800 мм рт.ст.); относительная влажность воздуха при 25 °С ниже 85 %; напряжение в сети питания переменного тока (220 ± 22) В.

Другие условия измерений должны соответствовать инструкции по эксплуатации прибора.

9 Подготовка к выполнению измерений

9.1 Подготовка посуды

Использованную стеклянную посуду перед дальнейшим употреблением ополаскивают применявшимся растворителем и тщательно моют горячей водой с содой, ополаскивают водопроводной, а затем дистиллированной водой.

9.2 Приготовление растворов

Приготовление растворов проводят в вытяжном шкафу при температуре окружающего воздуха 18 °С – 22 °С.

9.2.1 Исходный раствор бензидина

Готовят раствор бензидина в ацетонитриле высокой концентрации. Для этого навеску 100 мг бензидина помещают в мерную колбу на 50 мл, содержащую ~25 мл ацетонитрила, встряхиванием добиваются растворения бензидина, затем доводят раствор до метки ацетонитрилом и перемешивают встряхиванием. Получают раствор бензидина концентрацией 2 г/л.

В случае использования бензидина дигидрохлорида обязательно производят пересчет концентрации полученного раствора на свободное основание. Например, при использовании навески 100 мг бензидина дигидрохлорида, содержащего 71,6 мг свободного основания, приведенным выше способом получают раствор бензидина концентрацией 1,43 г/л.

Приготовленные растворы хранят в морозильной камере при температуре ниже 0 °С.

9.2.2 Обогащенный раствор изотопно-меченного стандарта

В емкость из темного стекла вместимостью не менее 1 мл пипеткой помещают 1 мл ацетонитрила и навеску 5 мг бензидина-d_8, смесь перемешивают встряхиванием до полного растворения. Получают раствор концентрацией 5 г/л (5 мкг/мкл).

Раствор хранят в морозильной камере при температуре ниже 0 °С.

9.2.3 Градуировочные растворы бензидина

Готовят серию из шести калибровочных растворов бензидина в ацетонитриле в диапазоне от 2 до 100 значений предела обнаружения бензидина по используемому методу. Для жидкость-жидкостной экстракции это диапазон 5 – 250 мкг/л.

В мерные колбы на 10 мл, содержащие примерно по 5 мл ацетонитрила, с помощью шприца вносят рассчитанные объемы исходного раствора бензидина. Доводят растворы ацетонитрилом до метки и перемешивают встряхиванием. Пример расчета объема исходного раствора при приготовлении градуировочных растворов приведен в таблице 1.

Таблица 1 – Пример характеристик градуировочных растворов бензидина

№ раствора	Концентрация исходного раствора бензидина (в пересчете на свободное основание), г/л	Объем исходного раствора бензидина, мкл	Конечный объем раствора, мл	Конечная концентрация бензидина мг/л
1	2	12,5	10	2,5
2	2	31,3	10	6,25
3	2	62,5	10	12,5
4	2	156,3	10	31.25
5	2	312,5	10	62,5
6	2	625	10	125

Приготовленные растворы хранят в морозильной камере при температуре ниже 0 °С.

9.2.4 Градуировочные растворы для метода изотопного разбавления

Градуировочные растворы для метода изотопного разбавления готовят способом, аналогичным 9.2.3 (используя мерные колбы вместимостью 10 мл), перед доведением объема до метки добавляя к каждому градуировочному раствору рассчитанное количество раствора бензидина-d_8 по 8.2.2. Концентрация бензидина-d_8 в конечных растворах должна составлять 25 – 50 значений предела обнаружения бензидина для данного метода, например 25 мг/л при использовании жидкость-жидкостной экстракции. Пример расчета объемов при приготовлении градуировочных растворов приведен в таблице 2.

Таблица 2 – Пример характеристик градуировочных растворов бензидина для метода изотопного разбавления

№ раст-вора	Концентрация исходного раствора бензидина (в пересчете на свободное основание), г/л	Объем исход-ного раство-ра бензи-дина, мкл	Концент-рация раствора бензиди-на-d_8, мг/мл	Объем раствора бензидина-d_8, мкл	Конечный объем раствора, мл	Конечная концентрация бензидина, мг/л	Конечная концентрация бензидина -d_8, мг/л
1	2	12,5	5	50	10	2,5	25
2	2	31,3	5	50	10	6,25	25
3	2	62,5	5	50	10	12,5	25
4	2	156,3	5	50	10	31,25	25
5	2	312,5	5	50	10	62,5	25
6	2	625	5	50	10	125	25

9.3 Подготовка прибора к выполнению измерений

Включают и настраивают хроматограф в соответствии с инструкцией по эксплуатации и описанием, прилагаемыми к прибору. Устанавливают рабочие параметры, необходимые для проведения измерений. Рабочие параметры приборов должны быть постоянными при измерении во всем диапазоне концентраций.

Перед началом работы может быть проведена оптимизация пропускающей способности интерфейса, чувствительности и стабильности работы системы с использованием калибровочного раствора бензидина средней концентрации. Найденные рабочие параметры приборов должны быть постоянными при измерении во всем диапазоне концентраций. Примерные начальные настройки приведены ниже.

9.3.1 Условия измерения для хроматографа

Элюенты: подвижная фаза А — 75:25 объем вода ацетонитрил, подвижная фаза В – ацетонитрил.

Градиент элюирования: 0–1 мин – 25 % фазы В, 1–30 мин – 25 % – 70 % фазы В.

Поток газа мобильной фазы: 0,3 мл/мин.

Объем вводимого раствора (экстракта): 5 мкл.

При таких условиях среднее время удерживания бензидина с колонкой Waters C18 Novapak 15 см х 2 мм составляет 4,3 мин на хроматографе Hewlett-Packard 1090 и 4,9 мин на хроматографе Waters 600 MS.

Температура десольватирующей камеры: 45 °С – 80 °С.

9.3.2 Условия измерения для масс-спектрометра

Температура ионного источника: 250 °С – 290 °С.

Номинальная энергия электронов: 70 эВ.

Сканирование: 62 – 465 а.е.м. со скоростью 0,5 – 1 $с^{-1}$.

9.4 Градуировка

9.4.1 Градуировка с внешним стандартом

Градуировку прибора осуществляют непосредственно перед измерениями концентрации в пробах в начале каждого рабочего дня. Используют подвижную фазу из той же емкости, что будет использована далее для проведения аналитических измерений и контроля качества измерений.

Проводят анализ по 20 мкл пяти градуировочных растворов в случайном порядке или в порядке возрастания концентрации, определяют площади пиков на хроматограммах (A_{Ci}: A_{C1} – A_{C5}) и времена удерживания ДФП t_{Ri}.

Для каждого измерения рассчитывают фактор отклика RF_i по формуле

$$RF_i = \frac{A_{Ci}}{(C_i \cdot V)}, \quad (1)$$

где C_i – концентрация i-го калибровочного раствора, мкг/мл;

V – введенный в хроматограф объем (0,005 мл).

В дальнейших расчетах используют среднеарифметическое значение $RF_{ср}$, относящееся к полному диапазону измеряемых концентраций:

$$RF_{ср} = \frac{\sum_{i=1}^{n} RF_i}{n}. \quad (2)$$

Также рассчитывают среднеарифметическое значение времени удерживания.

Затем рассчитывают среднеквадратическое (стандартное) отклонение (*СКО*) и соответствующее относительное *СКО* фактора отклика:

$$СКО = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (RF_i - RF_{ср})^2}{n-1}}. \quad (3)$$

Относительное $СКО = \frac{СКО}{RF_{ср}} \times 100\ \%$.

Значения относительного *СКО* не должны превышать 15 %.

9.4.2 Градуировка с изотопным разбавлением (опционально)

Аналогично 9.4.1 анализируют шесть калибровочных растворов, содержащих бензидин-d_8 (9.2.4). Регистрируют площади пиков, перестроенных по иону с *m/z* 184 (бензидин) A_{ci} и по иону с *m/z* 192 (бензидин-d_8) A_{di}, вычисляют относительные факторы калибровки $RF_{iотн}$:

$$RF_{i-отн} = \frac{A_{Ci} \cdot C_{di}}{(A_{di} \cdot C_i \cdot V)}, \quad (4)$$

где C_{di} – концентрация бензидина-d_8 в *i*-м калибровочном растворе, мкг/л;

C_i – концентрация бензидина в *i*-м калибровочном растворе, мкг/л;

V – введенный в хроматограф объем (5 мкл).

Вычисляют среднеарифметическое значение фактора калибровки $RF_{ср.отн}$ аналогично 9.4.1.

10 Подготовка образцов для измерений

10.1 Пробоотбор

Пробы отбирают по ГОСТ Р 51592. Дополнительно руководствуются следующими требованиями.

Пробы отбирают в чистые склянки из темного стекла. Склянки с пробами воды снабжают этикетками, на которых указывают номер и вид пробы, дату и место отбора. Склянки плотно

закрывают крышками либо пробками, стараясь уменьшить время контакта проб с воздухом, а также избегая встряхивания образцов.

В каждой точке отбора отбирают не менее двух проб воды объемом не менее 1 л.

Пробы можно хранить до пяти дней при температуре от 0 °С до 5 °С в защищенном от света месте. Дополнительная консервация не требуется. Подготовку проб проводят при температуре окружающего воздуха 18 °С – 22 °С. Перед обработкой по 10.2 пробы выдерживают при этой температуре не менее 1 ч.

В случае хлорированных образцов воды к каждому литру пробы добавляют 40 – 50 мг сульфита натрия, тиосульфата натрия или арсенита натрия и перемешивают до полного растворения.

10.2 Жидкость-жидкостная экстракция

Помещают образец воды в мерный цилиндр, записывают объем пробы V_i, затем образец переносят в делительную воронку вместимостью 2 л. pH пробы доводят до 7,0 добавлением соляной кислоты либо водного раствора гидроксида натрия, контролируя значение pH с помощью электронного pH-метра. Добавляют 100 г хлорида натрия и встряхиванием добиваются его растворения.

Вносят в делительную воронку 60 мл дихлорметана, встряхивают в течение 5 мин, позволяют смеси расслоиться и отделяют слой дихлорметана в колбу. Повторяют экстракцию 60 мл дихлорметана и объединяют органические фазы. Объединенную органическую фазу пропускают через слой безводного сульфата натрия на бумажном фильтре, затем промывают слой 20 мл дихлорметана. Объединенную органическую фазу помещают в круглодонную колбу и упаривают на ротационном испарителе при невысокой (25 °С) температуре до объема ~ 2 мл, останавливают упаривание, добавляют 20 мл метанола и упаривают раствор далее до объема ~ 2 мл. Если используют метод изотопного разбавления, добавляют 10 мкл раствора изотопно-меченного бензидина по 9.2.2 и перемешивают встряхиванием. Измеряют объем остатка с помощью градуированной пипетки, записывают полученный результат.

10.3 Твердофазная экстракция

Помещают образец воды в мерный цилиндр, записывают объем пробы V_i, затем образец переносят в делительную воронку вместимостью 2 л. pH пробы доводят до 7,0 аналогично 10.2. Добавляют 0,77 г ацетата аммония и встряхивают до растворения.

Картридж с сорбентом присоединяют к вакуумной колбе. Промывают картридж 10 мл метанола. Образец воды наносят на картридж так, чтобы образец полностью покрывал сорбент, включают слабый (~130 мм рт. ст.) вакуум и периодически прибавляют образец по мере прохождения его через картридж. После окончания прохождения образца промывают воронку и картридж 10 мл дистиллированной воды. Затем картридж отсоединяют от вакуумной колбы и присоединяют к колбе – приемнику образца. Ополаскивают использованную делительную воронку 15 мл метанола и этим метанолом в две порции по 7,5 мл элюируют аналиты с картриджа. Объединенный элюат можно упарить на ротационном испарителе до объема ~ 2 мл. Если используют метод изотопного разбавления, добавляют 10 мкл раствора изотопно-меченного бензидина по 9.2.2 и перемешивают встряхиванием. Конечный объем образца измеряют с помощью градуированной пипетки и записывают.

В случае использования сорбирующего диска диск помещают в фильтровальную воронку, наносят небольшое количество метанола и не позволяют диску высыхать на протяжении всего процесса экстракции и элюирования. Экстракцию выполняют аналогично описанной выше процедуре для картриджей, используя слабый (~660 мм рт. ст.) вакуум. Элюирование бензидина с диска осуществляют тремя аликвотами по 5 мл метанола: использованную делительную воронку промывают 5 мл метанола, этот метанол переносят на фильтр, прокачивают примерно половину объема метанола с помощью пониженного давления, затем пониженное давление отключают и дают диску постоять под слоем метанола 1 мин, затем снова подключают вакуум и пропускают остаток метанола. Объединенный элюат от трех промываний можно упарить на ротационном испарителе до объема ~ 2 мл. Если используют метод изотопного разбавления, добавляют 10 мкл раствора изотопно-меченного бензидина по 9.2.2 и перемешивают встряхиванием. Конечный объем образца измеряют с помощью градуированной пипетки и записывают.

11 Выполнение измерений

Измерения проводят в тех же условиях и в той же подвижной фазе, в которых проведена градуировка прибора (9.4). Для этого 5 мкл экстракта, находящегося при комнатной температуре, вводят в жидкостный хроматограф, регистрируют полученные времена удерживания и площади всех пиков на хроматограмме.

Наблюдаемое время удерживания должно находиться в интервале ± 10 с от среднего t_R, полученного для градуировочных растворов в 9.4, либо в интервале между максимальным и минимальным t_{Ri} в 9.4.

Вычисляют концентрацию C_S бензидина в определяемом образце:

$$C_s = \frac{A_s \cdot V_f}{(RF_{ñç} \cdot V_s \cdot V_i)}, \quad (5)$$

где V_f – конечный объем экстракта (0,002 л);

V_S – объем использованной для экстракции пробы (1 л);

V_i – введенный в хроматограф объем ($5 \cdot 10^{-6}$ л).

В случае использования метода изотопного разбавления концентрацию бензидина вычисляют, используя относительный фактор калибровки $RF_{ср.отн}$, площадь сигнала дейтерированного бензидина на экспериментальной хроматограмме A_d и известную заранее концентрацию бензидина-d_8 C_d в образце:

$$C_s = \frac{A_s \cdot C_d \cdot V_f}{(RF_{ср.отн} \cdot V_s \cdot V_i)}. \quad (6)$$

12 Оформление результатов измерений

Результат измерения содержания ДФП представляют в следующем виде:

$$(C_s \pm 0{,}15 \cdot C_s) \text{ мкг/л}. \quad (7)$$

13 Контроль погрешности

13.1 Проверка чувствительности хроматографа

При подозрительных результатах измерений или резком уменьшении регистрируемых сигналов проверяют чувствительность прибора по градуировочному раствору с наименьшей массовой концентрацией в условиях измерений, указанных в 10.4. Отношение сигнал/шум для определяемого соединения должно быть не менее 10:1. Чувствительность прибора восстанавливают в соответствии с рекомендациями, изложенными в руководстве по его эксплуатации.

13.2 Контроль помех по результатам холостого опыта

Холостой опыт проводят с дистиллированной дегазированной водой через каждые 10 – 20 проб, чтобы убедиться в отсутствии загрязнений и помех, источниками которых могут быть измерительная система, реактивы и материалы.

Проба в холостом опыте должна быть проведена через все соответствующие стадии пробоподготовки и анализа.

В случае обнаружения загрязнений, проявляющихся в появлении сигнала бензидина на хроматограмме по иону с *m/z* 184 при подходящем времени удерживания с отношением сигнал:шум, превышающим 3:1, определяют источник помех, контролируя используемые реактивы и проверяя условия подготовки проб и проведения измерений.

13.3 Подтверждение калибровки

Периодически (как минимум, каждый рабочий день) необходимо проверять точность начальной калибровки во избежание дрейфа показателей азотно-фосфорного детектора.

Для этого проводят анализ третьего или четвертого из шести калибровочных растворов. Вычисляют для него значение фактора отклика RF_V аналогично 10.4.

Если разность D по формуле

$$D = \frac{RF_{ср.} - RF_V}{RF_{ср.}} \cdot 100\ \% \quad (8)$$

не превышает 15 %, анализ образцов может быть продолжен, в противном случае требуется заново провести калибровку метода.

13.4 Контроль правильности методом добавок

Контроль проводят для установления возможности выполнения в данной лаборатории измерений с приемлемой точностью и достоверностью. Контроль необходимо проводить через каждые 10 – 20 анализов природных образцов либо не реже одного раза в месяц.

Для контроля к четырем пробам дистиллированной дегазированной воды добавляют раствор с высокой концентрацией бензидина (см. 9.2.1), чтобы получить концентрации ~ 10–50 пределов обнаружения метода (25–125 мкг/л для жидкость-жидкостной экстракции). Например, к пробам объемом 1 л добавляют по 50 мкл раствора бензидина концентрацией 2 г/л, чтобы получить раствор концентрацией 100 мкг/л. Определяют содержание бензидина в четырех аликвотах по 10.2 либо 10.3 и 11 и для каждой пробы получают результаты измерений C_S.

Для каждой пробы вычисляют степень извлечения R бензидина

$$R = \frac{C_S}{C_n} \cdot 100\ \%, \qquad (9)$$

где C_n – теоретически вычисленное содержание бензидина в пробе.

Вычисляют среднее значение степени извлечения $R_{ср}$ и относительное стандартное отклонение степени извлечения (по формулам в 9.4). Значение $R_{ср}$ должно находиться в пределах 30 % – 130 %, относительное стандартное отклонение степени извлечения не должно превышать 30 % (при доверительном интервале 0,95). Если данные условия не удовлетворяются, необходимо проинспектировать рабочий процесс, устранить выявленные ошибки и повторить контроль методом добавок.

Библиография

[1] ТУ 6-19-45 Склянки толстостенные с притертыми пробками. Технические условия
[2] ТУ 6-09-1709–77 Метанол (метиловый спирт) химически чистый для хроматографии
[3] ТУ 6-09-2662–77 Метилен хлористый (дихлорметан) для хроматографии химически чистый
[4] ТУ 6-09-14-2167–84 Ацетонитрил (особой чистоты для жидкостной хроматографии)
[5] ТУ 6-09-4221–76 Бензидин
[6] ТУ 6-09-4222–76 Бензидин солянокислый
[7] ТУ 25-1173.102–84 Испаритель ротационный ИР-1М2. Технические условия
[8] ПНД Ф 12.13.1–03 Техника безопасности при работе в аналитических лабораториях (общие положения). Методические рекомендации

УДК 661.7:006.86:547.626 МКС 13.040

Ключевые слова: бензидин, водная среда, экстракция, высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия

Подписано в печать 01.10.2014. Формат 60x84 1/8.
Усл. печ. л. 1,40. Тираж 32 экз. Зак. 3995.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»

123995 Москва, Гранатный пер., 4.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru