



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 116554

(13) U

(51) МПК

G01N 33/18 (2006.01)

G01N 30/96 (2006.01)

B01D 15/08 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО
ЕКОНОМІЧНОГО
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ
УКРАЇНИ

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**(21)** Номер заявки: **u 2016 12547****(22)** Дата подання заявки: **09.12.2016****(24)** Дата, з якої є чинними
права на корисну
модель: **25.05.2017****(46)** Публікація відомостей
про видачу патенту: **25.05.2017, Бюл.№ 10****(72)** Винахідник(и):**Новожицька Юлія Миколаївна (UA),
Євтушенко Тетяна Вікторівна (UA),
Омельчун Юлія Анатоліївна (UA),
Щур Наталія Володимирівна (UA)****(73)** Власник(и):**ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ
ІНСТИТУТ З ЛАБОРАТОРНОЇ
ДІАГНОСТИКИ І ВЕТЕРИНАРНО-
САНІТАРНОЇ ЕКСПЕРТИЗИ,
вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151 (UA)****(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ФОСФОРОРГАНІЧНИХ ПЕСТИЦИДІВ (АЗИНФОС-МЕТИЛУ, ДІАЗИНОНУ, МАЛАТІОНУ, ПАРАТІОНУ-МЕТИЛУ, ФЕНТІОНУ, ФЕНІТРОТІОНУ, ХЛОРПІРИФОСУ-ЕТИЛУ, ТОКУТІОНУ, ЕТОПРОФОСУ, ХЛОРФЕНВІНФОСУ) В ВОДІ ПИТНІЙ МЕТОДОМ ГАЗОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ****(57)** Реферат:

Спосіб визначення фосфорорганічних пестицидів (азинфосу-метилу, діазинону, малатіону, паратіону-метилу, фентіону, фенітротіону, хлорпірифосу-етилу, токутіону, етопрофосу, хлорфенвінфосу) в воді питній методом газової хроматографії включає дослідження 1000 см³ води питної і екстрагування 50 см³ дихлорметану 10 хв. на апараті для струшування з подальшим розділенням фаз в ділильній лійці і випаровуванням дихлорметанового екстракту з доданими 100 мкл додекану до об'єму 3-5 см³ та додаванням 1 см³ гексану, з подальшим концентруванням та ідентифікацією. Потім здійснюють кількісне визначення методом газової хроматографії з використанням детектора захвату електронів.

UA 116554 U

Корисна модель належить до галузі ветеринарної медицини, зокрема до токсикології, і може бути використана в роботі науково-виробничих лабораторій.

Корисна модель не має зареєстрованих аналогів в Україні.

Задачею корисної моделі є розробка способу визначення фосфорорганічних пестицидів (азинфосу-метилу, діазинону, малатиону, паратиону-метилу, фентіону, фенітротіону, хлорпірифосу-етилу, токутіону, етопрофосу, хлорфенвінфосу) у питній воді, межа кількісного визначення якого забезпечувала б вимоги Директиви Ради 98/83/ЕС про якість води, призначеної для споживання людиною, де встановлений максимальний допустимий рівень загального вмісту пестицидів, які будуть визначатись в зразку - 0,5 мкг/л і окремо для кожного - 0,1 мкг/л, та розробка методики, яка б давала можливість одночасно визначати всі перераховані показники в одному зразку однією методикою.

Поставлена задача корисної моделі вирішується тим, що спосіб визначення фосфорорганічних пестицидів (азинфосу-метилу, діазинону, малатиону, паратиону-метилу, фентіону, фенітротіону, хлорпірифосу-етилу, токутіону, етопрофосу, хлорфенвінфосу) в воді питній методом газової хроматографії, у якому для дослідження беруть 1000 см³ води питної і екстрагують 50 см³ дихлорметану 10 хв. на апараті для струшування з подальшим розділенням фаз в ділильній лійці і випаровуванням дихлорметанового екстракту з доданими 100 мкл додекану до об'єму 3-5 см³ та додаванням 1 см³ гексану з подальшим концентруванням, ідентифікацією та кількісним визначенням методом газової хроматографії з використанням детектора захвату електронів (ДЕЗ).

Процедурний підхід до ідентифікації вказаних пестицидів включає наступні елементи: для дослідження беруть 1000 см³ зразку питної води, відібраного обов'язково в скляну ємність з ПТФЄ пробкою, або притертою скляною пробкою, додають 50 см³ дихлорметану та екстрагують 10 хв. на апараті для струшування з подальшим розділенням фаз в ділильній лійці і випаровуванням об'єднаного дихлорметанового екстракту після двох екстрагувань, з доданими 100 мкл додекану, до об'єму 3-5 см³, додають 1 см³ гексану, і далі концентрують приблизно до 0,5 см³. Загальний об'єм екстракту, який хроматографують має бути 1 см³. Ідентифікація та кількісне визначення здійснюється за допомогою методу газової хроматографії з використанням детектора захвату електронів (ДЕЗ).

1. Підготовка стандартних розчинів аналітів

Основні розчини стандартів пестицидів готують окремо кожен з концентрацією 100 мкг/мл в ацетоні, зберігають 1 рік при температурі -18 °С, проміжні розчини суміші всіх досліджуваних аналітів готують з концентрацією 1 мкг/мл і зберігають 1 місяць при температурі +4 °С; робочі градувальні розчини сумішей фосфорорганічних пестицидів готують безпосередньо перед використанням по п'яти концентраціях, а саме: 0,01 мкг/мл, 0,05 мкг/мл, 0,1 мкг/мл, 0,15 мкг/мл, 0,2 мкг/мл, що відповідає в перерахунку на зразок - 0,01 мкг/л; 0,05 мкг/л; 0,1 мкг/л; 0,15 мкг/л і 0,2 мкг/л.

2. Підготовка зразку

Для дослідження беруть 1000 см³ зразку питної води, відібраного обов'язково в скляну ємність з ПТФЄ пробкою, або з притертою скляною пробкою.

Паралельно, аналогічно, готують для проведення внутрішньо лабораторного контролю якості досліджень, холосту пробу і пробу з добавкою. Для добавки використовують 100 мкл суміші досліджуваних аналітів з концентрацією 1 мкг/см.

3. Екстракція

3.1. Підготовлені зразки екстрагують 50 см³ дихлорметану протягом 10 хв. на апараті для струшування.

3.2. Пробу переносять в ділильну лійку на 1000 см³ для подальшого розділення шарів. Витримують 5 хв. Дихлорметановий шар фільтрують у колбу для випаровування через скляну фільтрувальну лійку, в якій знаходиться фільтрувальний папір з безводним сульфатом натрію в кількості 10 г., а екстрагування повторюють.

4. Концентрування екстракту

До отриманого об'єднаного екстракту додають 100 мкл додекану, для попередження втрат високолетких сполук при випаровуванні, і випаровують на ротаційному випаровувачі при температурі 40 °С приблизно до об'єму 2-5 см³, далі додають 1 см³ гексану, і продовжують концентрування екстракту до 0,5 см. Загальний об'єм кінцевого гексанового екстракту, має бути 1 см³. Переносять пробу в віялку автосамплера газового хроматографа і хроматографують.

Паралельно, аналогічно, готують для проведення внутрішньо-лабораторного контролю якості досліджень - холосту пробу і пробу з добавкою, для добавки використовують 100 мкл суміші досліджуваних аналітів з концентрацією 1 мкг/см.

5. Ідентифікація та кількісне визначення за допомогою методу ГХ/ДЕЗ

Ідентифікація пестицидів здійснюється за часом утримання, а кількісне Визначення - методом зовнішніх стандартів.

- Проведення розрахунків може бути проведено автоматично за допомогою аналітичного програмного забезпечення хроматографа і з роздрукуванням на хроматограмі результату досліджень в перерахунку на зразок, або за формулою

$$\omega = \frac{C \cdot V}{m}, \text{ де}$$

C - концентрація по градувальному графіку;

V - об'єм отриманого кінцевого екстракту, см.

m - маса зразка, г.

- 10 Перевіряється чутливість системи за одним з градувальних розчинів.

Перед початком і в кінці дослідження, а також, якщо це необхідно, через кожні десять досліджень.

Якщо розходження між результатами досліджень градувальних розчинів більше ніж 20 %, проводиться необхідне технічне обслуговування приладу.

- 15 Для контролю лінійності будують градувальний графік.

Оперативний контроль збіжності проводиться один раз в квартал шляхом порівняння різниці результатів двох паралельних визначень при виконанні аналізу проби, що містить суміш досліджуваних аналітів, з нормативом контролю збіжності. Умови збіжності включають виконання аналізу однієї і тієї ж проби за одних і тих же самих умов, одним виконавцем, на одному приладі. Збіжність результатів паралельних визначень d вважається задовільною, якщо виконується умова

$$d = 100(\rho_1 - \rho_2) / \rho_{\text{сер}} \leq d_n,$$

де ρ_1, ρ_2 - більший і менший результат із двох паралельних визначень для кожного аналізу, виконаних в умовах збіжності, мг/кг;

- 25 $\rho_{\text{сер}}$ - середнє арифметичне результатів двох паралельних визначень для кожного аналізу, виконаних в умовах збіжності, мг/кг;

d_n - норматив контролю збіжності: ≤ 20 %.

При перевищенні нормативу оперативного контролю збіжності дослідження повторюється, а при повторному перевищенні вказаного нормативу аналізуються причини, що привели до отримання незадовільних результатів контролю, і усуваються.

- 30 Контроль внутрішньої лабораторної відтворюваності здійснюється при впровадженні змін до корисної моделі стосовно пробопідготовки, а зовнішньої лабораторна відтворюваність обраховується за результатами участі в раунді міжлабораторних порівнянь.

- 35 Проби аналізуються у відповідності до методики, використовуючи різні партії реактивів, різний час проведення аналізу, залучаючи різних аналітиків, на різних приладах. Отримуються два результати аналізу (ρ_1, ρ_2) в умовах внутрішньої лабораторної відтворюваності.

Відносна різниця між двома результатами аналізу D не повинна бути більшою значення нормативу контролю відтворюваності:

$$D = 100(\rho_1 - \rho_2) / \rho_{\text{сер}} \leq D_n,$$

- 40 де ρ_1, ρ_2 - більший і менший результат із двох паралельних визначень для кожного аналізу, виконаних в умовах відтворюваності, мг/кг;

$\rho_{\text{сер}}$ - середнє арифметичне результатів двох паралельних визначень для кожного аналізу, виконаних в умовах відтворюваності, мг/кг;

D_n - норматив контролю відтворюваності: ≤ 20 %.

- 45 При перевищенні нормативу контролю відтворюваності (≤ 20 %) дослідження повторюється, а при повторному перевищенні вказаного нормативу аналізують причини, що привели до отримання незадовільних результатів контролю, і усувають їх.

- 50 Кожного разу виконуються експерименти повернення (проба з добавкою), до одного з зразків від партії вноситься 100 мкл суміш досліджуваних пестицидів з концентрацією 1 мкг/мл, згідно з МДР, в перерахунку на наважку. Ступені повернення для звичайного скринінгу для всіх сполук будуть в діапазоні 60-140 %. Ті аналіти, що випадають із прийнятного діапазону повернення, реєструють в документі з контролю якості, щоб установити тенденції для повторних помилок.

- 55 Якщо отримані ступені повернення не прийнятні, екстракт проби зі стандартною добавкою можна повторно проаналізувати, або приготувати інший зразок для перевірки повернення. Якщо ступені повернення усе ще не прийнятні, результати для зразків, проаналізованих від партії, подають в звіті тільки для тих сполук, для яких були отримані прийнятні повернення.

Постійно проводиться експеримент з холостою пробою, або контроль реактивів.

Конфігурація газового хроматографа Varian CP 3800: автосамплер, інжектор, термостат колонок, електронно-захватний детектор. Прилад готують до роботи, згідно з інструкцією з експлуатації, та задають робочі параметри.

5

Таблиця 1

Конфігурація приладу та режим роботи

Конфігурація	Режим роботи
Газовий хроматограф	Varian CP 3800
Капілярна колонка:	Varian CPSill-8 CB, 30 m×0,25 mm×0,25 µm
Стаціонарна фаза:	5 % фенілметилполісилоксан
Температура інжектора:	260 °C
Температура детектора:	290 °C
Температура колонки:	програмована
Режим введення проби:	Splitless
Об'єм інжектування:	1 мкл
Газ-носії:	Азот, чистотою 99,999 % (1,0 мл/хв.)

Таблиця 2

Програмований температурний режим термостату колонок

Швидкість нагріву, °C/хв.	Температура, °C	Час, хв.	Загальний час, хв.
Початкова	80	5	5,00
15	200	0	13,00
4	218	0	17,50
0,5	220	3,50	25,00

Таблиця 3

Час утримування аналітів

№ п/п	Назва аналіту	Час утримування, хв.
1	Азинфос-метил	31,89
2	Діазинон	15,42
3	Малатіон	17,48
4	Паратіон-метил	16,68
5	Фентіон	17,89
6	Фенітротіон	17,80
7	Хлорпірифос-етил	17,94
8	Токутіон	20,97
9	Етопрофос	13,79
10	Хлорфенвінфос	12,97

10 Час виходу фосфорорганічних пестицидів залежить від хроматографічної системи та заданих параметрів методу: швидкості потоку газу - носія через хроматографічну колонку, типу колонки, її розмірів, заданих температурних параметрів методу, тощо.

Умови виконання вимірювань та черговість виходу аналітів підлягають перевірці і, при потребі, корегуванню в таких випадках:

15 при використанні капілярної хроматографічної колонки з іншими параметрами та іншою стаціонарною фазою;

після ремонту вузлів хроматографа, що впливають на чутливість детектора, або заміни детектора;

при використанні іншої моделі газового хроматографа.

20 Газовий хроматограф градуують по п'яти різних концентраціях градувальних розчинів сумішей фосфорорганічних сполук, які розчинені в такому ж розчиннику, в якому і готові проби. Готують градувальні розчини перед використанням.

Таблиця 4

Оцінювання придатності корисної моделі

Назва кислоти	Межа кількісного визначення методу, мкг/л	Процент повернення, %	Збіжність (S_r), %	Внутрішньо лабораторна відтворюваність (S_r), %
Азинфос-метил	0,01	89	12,1	17,6
Діазинон	0,01	91	10,4	15,4
Малатіон	0,01	94	14,6	18,3
Паратіон-метил	0,01	90	16,7	19,5
Фентіон	0,01	92	12,9	17,8
Фенітротіон	0,01	94	15,2	18,9
Хлорпірифос-етил	0,01	95	9,6	15,7
Токутіон	0,01	87	11,5	16,2
Етопрофос	0,01	91	14,3	19,1
Хлорфенвінфос	0,01	93	13,8	16,5

Розширена невизначеність вимірювань складає 30 %, що не перевищує нормативного значення для розширеної невизначеності методів визначення залишкових кількостей пестицидів, а саме 50 % (згідно з документом, в якому регламентуються норми критеріїв оцінювання придатності для методів визначення пестицидів SANTE/11945/2015 Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed (Керівництво для аналітичного контролю якості оцінювання придатності методів аналізу пестицидів в продовольстві (сировині))).

Дані наведені в таблиці 4 та 5 свідчать про те, що методика розроблена в ДНДІЛДВСЕ придатна для визначення фосфорорганічних пестицидів в воді питній.

Корисна модель дозволяє дослідити одночасно фосфорорганічні пестициди (азинфос-метил, діазинон, малатіон, паратіон-метил, фентіон, фенітротіон, хлорпірифос-етил, токутіон, етопрофос, хлорфенвінфос) в воді питній, що значно економить час та реактиви, а межа кількісного визначення якої забезпечує вимоги Директиви Ради 98/83/ЕС про якість води, призначеної для споживання людиною. Перелік фосфорорганічних сполук може збільшуватись, при умові проведення верифікації.

Таблиця 5

Участь у міжлабораторних порівняльних дослідженнях (програма Вет-Тест)

№ програми	Найменування матеріалу	Показник	Приписане значення, мкг/л	Результат дослідження, мкг/л	Z-індекс
2/2015	Вода питна	Паратіон-метил	0,1	0,0970	0,2

Результати, отримані нами під час дослідження тестового матеріалу, є вірогідними і знаходяться в межах приписаного значення.

Джерела інформації:

1. Commission regulation (EC) № 1881/2006 °F 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, O.J. Europ. Comm. L 364, 5-94.

2. SANTE/11945/2015 Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed (Керівництво для аналітичного контролю якості оцінювання придатності методів аналізу пестицидів в продовольстві (сировині), від 13 листопада 2015 року.

3. Настанова з оцінювання невизначеності вимірювання результатів кількісних випробувань. Технічний звіт EUROLAB №1/2006 //Пер. з англ. Київ, Євролаб-Україна, 2008.

4. Директива Ради 98/83/ЄС "Про якість води, призначеної для споживання людиною" від 3 листопада 1998 року. Офіційний переклад.

5. EN 12918:1999 Water quality-Determination of parathion, parathion-methyl and some other organophosphorus compounds in water by dichloromethane extraction and gas chromatographic analysis, first edition, 1999-12-05.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення фосфорорганічних пестицидів (азинфосу-метилу, діазинону, малатиону, паратиону-метилу, фентіону, фенітротіону, хлорпірифосу-етилу, токутіону, етопрофосу, хлорфенвінфосу) в воді питній методом газової хроматографії, у якому для дослідження беруть 1000 см³ води питної і екстрагують 50 см³ дихлорметану 10 хв. на апараті для струшування з подальшим розділенням фаз в ділильній лійці і випаровуванням дихлорметанового екстракту з доданими 100 мкл додекану до об'єму 3-5 см³ та додаванням 1 см³ гексану з подальшим концентруванням, ідентифікацією та кількісним визначенням методом газової хроматографії з використанням детектора захвату електронів (ДЕЗ).

Комп'ютерна верстка Л. Литвиненко

Міністерство економічного розвитку і торгівлі України, вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601