



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 116555

(13) U

(51) МПК

G01N 33/18 (2006.01)

B01D 15/08 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО  
ЕКОНОМІЧНОГО  
РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ  
УКРАЇНИ

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2016 12552</b>	(72) Винахідник(и): <b>Новожицька Юлія Миколаївна (UA), Євтушенко Тетяна Вікторівна (UA), Омельчун Юлія Анатоліївна (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>09.12.2016</b>	(73) Власник(и): <b>ДЕРЖАВНИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ З ЛАБОРАТОРНОЇ ДІАГНОСТИКИ І ВЕТЕРИНАРНО- САНІТАРНОЇ ЕКСПЕРТИЗИ, вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151 (UA)</b>
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>25.05.2017</b>	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>25.05.2017, Бюл.№ 10</b>	

## (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ХЛОРАЦЕТАНІЛІДІВ, ДІНІТРОАНІЛІНІВ ТА ХЛОРНІТРИЛІВ В ВОДІ ПИТНІЙ МЕТОДОМ ГАЗОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

### (57) Реферат:

Спосіб визначення хлорацетанілідів, динітроанілінів та хлорнітрилів в воді питній методом газової хроматографії, при цьому для дослідження беруть 1000 см<sup>3</sup> води питної і екстрагують 30 см<sup>3</sup> гексану 10 хв. на апараті для струшування з подальшим розділенням фаз в ділильній лійці і випаровуванням об'єднаного екстракту з доданими 100 мкл додекану, концентруванням до двох см<sup>3</sup> і хроматографуванням з подальшою ідентифікацією та кількісним визначенням з використанням детектора захвату електронів (ДЕЗ).

UA 116555 U



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

Спосіб не має зареєстрованих аналогів в Україні.

В основу корисної моделі поставлена задача розробки універсального способу визначення хлорацетанілідів (метазахлору, ацетохлору, алахлору, метолахлору), динітроанілінів (трифлураліну, пендиметаліну) та хлорнітрилів (хлороталонілу) 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 розробки методики, яка б давала можливість одночасно визначати всі перераховані показники в одному зразку однією методикою.

Процедурний підхід до ідентифікації вказаних пестицидів включає наступні елементи: для дослідження беруть 1000 см<sup>3</sup> зразку питної води, відібраного обов'язково в скляну ємність з ПТФЕ пробкою або притертою скляною пробкою, додають 30 см<sup>3</sup> гексану та екстрагують 10 хв. на апараті для струшування з подальшим розділенням фаз в ділильній лійці і випаровуванням об'єднаного гексанового екстракту після двох екстрагувань, з доданими 100 мкл додекану, до об'єму 2 см<sup>3</sup>. Отриманий екстракт переносять в скляну віялку для автосамплера і хроматографують. Ідентифікація та кількісне визначення здійснюється за допомогою методу газової хроматографії з використанням детектора захвату електронів (ДНЗ).

#### 20 1. Підготовка стандартних розчинів аналітів

Основні розчини стандартів пестицидів готують окремо кожен з концентрацією 100 мкг/мл в гексані і зберігають 1 рік при температурі +4 °С; проміжні розчини сумішей всіх досліджуваних аналітів готують з концентрацією 1 мкг/мл і зберігають 3 місяці при температурі +4 °С; робочі градувальні розчини пестицидів готують безпосередньо перед використанням по п'яти концентраціях: 0,005 мкг/мл, 0,01 мкг/мл, 0,05 мкг/мл, 0,1 мкг/мл, 0,2 мкг/мл.

#### 25 2. Підготовка зразку

Для дослідження беруть 1000 см<sup>3</sup> зразку питної води, відібраного обов'язково в скляну ємність з ПТФЕ пробкою, або з притертою скляною пробкою. Паралельно, аналогічно, готують для проведення внутрішнього лабораторного контролю якості досліджень - холосту пробу і пробу з добавкою, для добавки використовують 100 мкл суміші досліджуваних аналітів з концентрацією 1 мкг/см<sup>3</sup>.

#### 3. Екстракція

3.1. Підготовлені зразки екстрагують 30 см<sup>3</sup> гексану протягом 10 хв. на апараті для струшування.

3.2. Пробу переносять в ділильну лійку на 1000 см<sup>3</sup> для подальшого розділення шарів. Витримують 5 хв. Гексановий шар фільтрують у колбу для випаровування через скляну фільтрувальну лійку, в якій знаходиться фільтрувальний папір з безводним сульфатом натрію в кількості 10 г. 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 двох см<sup>3</sup>. Переносять пробу, змиваючи залишки її з колби для випаровування додатковими порціями розчинника, 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<sup>3</sup>.

#### 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

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

55 C - концентрація по градувальному графіку;  
V - об'єм отриманого кінцевого екстракту, см<sup>3</sup>;  
m - маса зразка, г.

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.

5 Для контролю лінійності будують градувальний графік по 5-ти концентраціях, а саме: 0,005 мкг/мл, 0,01 мкг/мл, 0,05 мкг/мл, 0,1 мкг/мл, 0,2 мкг/мл, що відповідає в перерахунку на зразок - 0,01 мкг/л; 0,02 мкг/л; 0,1 мкг/л; 0,2 мкг/л і 0,4 мкг/л.

10 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 передбачають 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

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

15 де  $\rho_1$ ,  $\rho_2$  - більший і менший результат із двох паралельних визначень для кожного аналізу, виконаних в умовах збіжності, мг/кг;

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

$d_n$  - норматив контролю збіжності:  $\leq 20$  %.

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.

Контроль внутрішньолабораторної відтворюваності здійснюється при впровадженні змін до даної методики стосовно пробопідготовки, а зовнішньо-лабораторна відтворюваність обчислюється за результатами участі в раунді міжлабораторних порівнянь.

25 Проби аналізуються у відповідності до методики, використовуючи різні партії реактивів, різний час проведення аналізу, залучаючи різних аналітиків, на різних приладах. Отримуються два результати аналізу ( $\rho_1$ ,  $\rho_2$ ) в умовах внутрішньолабораторної відтворюваності.

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

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

де  $\rho_1$ ,  $\rho_2$  - більший і менший результат із двох паралельних визначень для кожного аналізу, виконаних в умовах відтворюваності, мг/кг;

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

$D_n$  - норматив контролю відтворюваності:  $\leq 20$  %

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

40 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.

45 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.

50 Постійно проводиться експеримент з холостою пробю, 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.

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
Стационарна фаза:	5 % фенілметилполісилоксан
Температура інжектора:	260 °C
Температура детектора:	310 °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 аналізів

№ п/п	Назва аналіту	Час утримування, хв.
1	Хлороталоніл	15,78
2	Ацетохлор	16,54
3	Алахлор	16,74
4	Метолахлор	17,73
5	Метазахлор	18,78
6	Пендиметалін	18,89
7	Трифлуралін	21,05

5

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

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

- при використанні іншої моделі газового хроматографа;
- при використанні капілярної хроматографічної колонки з іншими параметрами та іншою стаціонарною фазою;
- після ремонту вузлів хроматографа, що впливають на чутливість детектора, або заміні детектора.

15

Газовий хроматограф градуують по п'яти різних концентраціях градувальних розчинів.

Таблиця 4

## Оцінювання придатності методу

Назва кислоти	Межа кількісного визначення методу, мкг/л	Процент повернення, %	Збіжність ( $S_r$ ), %	Внутрішньо лабораторна відтворюваність ( $S_R$ ), %
Хлороталоніл	0,01	89	4,1	9,6
Ацетохлор	0,01	91	7,4	15,4
Алахлор	0,01	94	9,6	12,3
Метолахлор	0,01	90	8,7	13,5
Метазахлор	0,01	92	7,9	14,8
Пендиметалін	0,01	94	9,2	15,9
Трифлуралін	0,01	95	5,3	10,7

Розширена невизначеність вимірювань методики 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 ДНДІДВСЕ придатна для визначення пестицидів груп хлорацетанілідів, хлорнітрилів та динітроанілінів в воді питній.

Наша методика дозволяє одночасно дослідити пестициди різних груп, що економить час та реактиви, а межа кількісного визначення якої забезпечує вимоги Директиви Ради 98/83/ЕС про якість води, призначеної для споживання людиною, де встановлений максимальний допустимий рівень для кожного з пестицидів - 0,1 мкг/л.

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	Метолахлор	0,1	0,0983	-0,2
		Хлороталоніл	0,1	0,1065	0,6
		Пендиметалін	0,1	0,0919	-0,8

Результати, отримані нами під час дослідження тестового матеріалу, є вірогідними і знаходяться в межах приписаного значення. Отже, відпрацьована нами методика одночасного виявлення хлорацетанілідів, динітроанілінів та хлорнітрилів у воді питній не поступається методикам, які використовуються в лабораторіях Європейської спільноти.

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. ISO 6468 Water quality-Determination of certain organochlorine insecticides, polychlorinated biphenyls and chlorobenzenes-Gas chromatographic method after liquid-liquid extraction, first edition, 1996-12-05.

# ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5 Спосіб визначення хлорацетанідів, динітроанілінів та хлорнітрилів в воді питній методом газової хроматографії, при цьому для дослідження беруть 1000 см<sup>3</sup> води питної і екстрагують 30 см<sup>3</sup> гексану 10 хв. на апараті для струшування з подальшим розділенням фаз в ділильній лійці і випаровуванням об'єднаного екстракту з доданими 100 мкл додекану, концентруванням до двох см<sup>3</sup> і хроматографуванням з подальшою ідентифікацією та кількісним визначенням 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