Министерство здравоохранения Республики Беларусь
ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «РЕСПУБЛИКАНСКИЙ ЦЕНТР ГИГИЕНЫ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДОРОВЬЯ»
(РЦГЭиОЗ)
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГИГИЕНЫ, ТОКСИКОЛОГИИ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ

УДК 543.6:661.741.143-049.5
Рег. № НИОКТР 20241987

УТВЕРЖДАЮ
Директор научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья»
_____С. И. Сычик

«___» ноября 2025

ОТЧЕТ
О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕЖДУНАРОДНОГО ОПЫТА ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ В ОБЛАСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ГЕКСАМЕТИЛЕНДИАМИНА В ВОЗДУШНОЙ СРЕДЕ И РАЗРАБОТКА НА ЭТОЙ ОСНОВЕ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ МИГРАЦИИ, ВЫРАЖЕННОГО В ЕДИНИЦАХ МАССОВОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ, В ВОЗДУШНУЮ СРЕДУ ГЕКСАМЕТИЛЕНДИАМИНА, СОДЕРЖАЩЕГОСЯ В ИЗДЕЛИЯХ ИЗ ПОЛИАМИДОВ, В ЦЕЛЯХ ПРИМЕНЕНИЯ И ИСПОЛНЕНИЯ ТРЕБОВАНИЙ ТЕХНИЧЕСКИХ РЕГЛАМЕНТОВ ЕВРАЗИЙСКОГО ЭКОНОМИЧЕСКОГО СОЮЗА И ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ОЦЕНКИ СООТВЕТСТВИЯ ОБЪЕКТОВ ТЕХНИЧЕСКОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ ТРЕБОВАНИЯМ, УСТАНОВЛЕННЫМ В ОТНОШЕНИИ ДАННОГО ПОКАЗАТЕЛЯ В СООТВЕТСТВУЮЩИХ ТЕХНИЧЕСКИХ РЕГЛАМЕНТАХ

Договор № Н-16/303 от 11.11.2024
(заключительный)

Руководитель НИР,
директор НИИ ГТ ЭВМ РЦГЭиОЗ
канд. мед. наук, доцент _____ С. И. Сычик
«__._» ноября 2025 г.

Заведующий лабораторией
хроматографических исследований _____ Т. П. Крымская
«__._» ноября 2025 г.

Минск 2025

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель НИР, директор НИИ ГТ ЭВМ РЦГЭиОЗ канд. мед. наук, доцент	подпись, дата	С. И. Сычик (введение, разделы 1, 3, заключение)
Ответственный исполнитель, заведующий лабораторией хроматографических исследований	подпись, дата	Т. П. Крымская (введение, заключение разделы 1–7, приложения А–Г)
Исполнители: Научный сотрудник лаборатории хроматографических исследований	подпись, дата	М. С. Турко (разделы 1–7, приложения Б, В)
Ведущий химик лаборатории хроматографических исследований	подпись, дата	О.В. Саракач (приложения Б, В)
Химик лаборатории хроматографических исследований	подпись, дата	П. А. Станишевская (разделы 1–7, приложения А–К)
Химик лаборатории хроматографических исследований	подпись, дата	Д. Л. Гук (раздел 1, приложение А)
Химик лаборатории хроматографических исследований	подпись, дата	В. А. Жернакова (раздел 2, приложения Б, В)
Химик лаборатории хроматографических исследований	подпись, дата	С.Н. Гуд (раздел 1, приложение А)
Химик лаборатории хроматографических исследований	подпись, дата	Е. Л. Казакевич (раздел 1)
Химик лаборатории хроматографических исследований	подпись, дата	В. А. Хотин (разделы 1, 2)
Ведущий специалист лаборатории хроматографических исследований	подпись, дата	Е. В. Колосова-Шить (разделы 2, 3)

Научный сотрудник сектора научно-организационного обеспечения программ (гигиена и токсикология)	подпись, дата	С. В. Касюль (приложения И–К)
Научный сотрудник лаборатории промышленной токсикологии	подпись, дата	В. О. Земцова (подраздел 1.2)
Научный сотрудник лаборатории прикладной токсикологии и безопасности изделий медицинского назначения	подпись, дата	У. С. Протасевич (пункт 3.6.1, приложение Б)
Младший научный сотрудник лаборатории прикладной токсикологии и безопасности изделий медицинского назначения	подпись, дата	А. А. Штурич (пункт 3.6.1, приложение Б)
Нормоконтроль	подпись, дата	Н. С. Иванова

Соисполнители:

Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения»

Заведующий отделом аналитических методов исследования, д-р биол. наук, доцент — подпись, дата — Т.В. Нурисламова (приложения А–Б)

Заведующий лабораторией методов жидкостной хроматографии, канд. биол. наук, доцент — подпись, дата — Т.Д. Карнажицкая (приложения А–Б)

РЕФЕРАТ

Отчет 289 с., 1 кн., 69 рис., 23 табл., 104 источн., 9 прил.

ГЕКСАМЕТИЛЕНДИАМИН, ВОЗДУШНЫЕ ВЫТЯЖКИ, ТОВАРЫ НАРОДНОГО ПОТРЕБЛЕНИЯ, МЕТОДИКА ИЗМЕРЕНИЙ, ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ, ФЛУОРИМЕТРИЧЕСКИЙ ДЕТЕКТОР, МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКИЙ ДЕТЕКТОР

Объекты исследований – градуировочные растворы гексаметилендиамина, воздушные вытяжки из товаров народного потребления с добавлением стандартного раствора гексаметилендиамина в качестве модельных объектов.

Цель НИР – разработка методики определения уровня миграции, выраженного в единицах массовой концентрации, в воздушную среду гексаметилендиамина, содержащегося в изделиях из полиамидов (далее – Методика), на основе применяемых в мировой практике методов и методик определения массовой концентрации гексаметилендиамина в воздушной среде

Проведен анализ международного опыта, научно-информационных источников и результатов теоретических и экспериментальных исследований в части применяемых методов и методик определения массовой концентрации гексаметилендиамина в воздушной среде из полиамидов.

Проведены исследования по подбору условий пробоподготовки воздушных вытяжек, условий хроматографического определения гексаметилендиамина в воздушных вытяжках.

Разработана методика измерений массовой концентрации гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде.

Принцип метода основан на извлечении гексаметилендиамина из исследуемого образца изделия, содержащего в своем составе полиамид, в воздушную среду, улавливании гексаметилендиамина из пробы воздуха путем аспирации через поглотительный прибор с пористой пластинкой, заполненный дистиллированной водой, проведении реакции дериватизации с дансилхлоридом в среде боратного буферного раствора и последующем анализе флуоресцентного производного гексаметилендиамина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием при длине волны возбуждения 338 нм и длине волны эмиссии 515 нм.

Проведен набор экспериментальных данных и рассчитаны метрологические характеристики методики.

Методика формализована в АМИ.МН 0225-2025 «Массовая концентрация гексаметлендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием», утверждена директором научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья» 05.08.2025, свидетельство об аттестации методики (метода) измерений № 031/2025 от 14.10.2025. Методика зарегистрирована на сайте Национального информационного фонда в области единства средств измерений http://oei.by.

СОДЕРЖАНИЕ

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ 9
ВВЕДЕНИЕ 11
1 Литературный обзор 13
1.1 Физико-химические свойства и токсичность гексаметилендиамина 13
1.2 Способы приготовления воздушных вытяжек из товаров народного потребления для определения миграции гексаметилендиамина 21
1.3 Историография по исследуемой проблематике определения уровня миграции, выраженного в единицах массовой концентрации, в воздушную среду гексаметилендиамина, содержащегося в изделиях из полиамидов, на основе применяемых в мировой практике методов и методик определения массовой концентрации гексаметилендиамина в воздушной среде 26
1.4 Анализ международного опыта, научно-информационных источников и результатов теоретических и экспериментальных исследований в части применяемых методов и методик определения массовой концентрации, в водных и воздушных средах, биологическом материале гексаметилендиамина, содержащегося в изделиях из полиамидов, и результатов теоретических и экспериментальных исследований в указанной области 28
1.5 Анализ международных стандартов, региональных документов, а также законодательства экономически развитых государств (США, Великобритания, Германия, Китай, Япония), научно-информационных источников и результатов теоретических и экспериментальных исследований в части применяемых методов и методик определения массовой концентрации, в водных и воздушной средах, биологическом материале, содержащегося в изделиях из полиамидов, и результатов теоретических и экспериментальных исследований в указанной области 75
1.6 Итоги первого этапа 79
2 Материалы и методы исследований 80
3 Результаты исследований и их обсуждение 83
3.1 Выбор и обоснование метода определения ГМДА 83
3.2 Выбор дериватизирующего реагента для последующего хроматографического определения ГМДА 83
3.3 Изучение спектральных характеристик ГМДА и его производных 91
3.4 Выбор условий определения ГМДА методом обращено-фазовой ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием 92
3.5 Итоговые параметры хроматографического определения 95
3.6 Выбор оптимальных условий реакции дериватизации ГМДА 97
3.6.1 Значение pH 97
3.6.2 Концентрация реагента 99
3.6.3 Температура реакции 102
3.6.4 Порядок проведения реакции дериватизации 103

3.7 Подтверждение структуры полученных производных 104
3.8 Построение градуировочного графика 105
3.9 Проведение исследований по разработке методики измерений ГМДА в воздушной среде 106
3.9.1 Подготовка воздушных вытяжек 106
3.9.2 Отбор проб воздушных вытяжек 107
3.9.3 Определение времени и скорости отбора проб воздуха 109
3.10 Обработка и контроль точности результатов измерений 110
3.11 Итоги второго этапа 112
4 Результаты проверки пригодности проекта методики измерений уровня миграции, выраженного в единицах массовой концентрации, в воздушную среду гексаметилендиамина, содержащегося в изделиях из полиамидов в испытательных лабораториях 113
5 Обоснование применения имеющегося утвержденного стандартного образца гексаметилендиамина, необходимого для выполнения измерений по методике определения уровня миграции, выраженного в единицах массовой концентрации, в воздушной среде гексаметилендиамина, содержащегося в изделиях из полиамидов 117
6 Рассмотрение проекта методики уполномоченными органами государств – членов Союза в сфере стандартизации и в соответствующих сферах регулирования 118
7 Процедуры и этапы метрологической аттестации 122
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 123
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ 125
ПРИЛОЖЕНИЕ А Методика измерений «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием» 136
ПРИЛОЖЕНИЕ Б Отчет о проведении экспериментальных исследований показателей точности методики измерений «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием» 176
ПРИЛОЖЕНИЕ В Ответы на рекомендации по доработке отчетных документов от представителя Комитета технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан 247
ПРИЛОЖЕНИЕ Г Результаты проверки пригодности проекта методики в ООО «Ин-лаб», в том числе предложения по ее доработке 252
ПРИЛОЖЕНИЕ Д Результаты проверки пригодности проекта методики в ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», в том числе предложения по ее доработке 258

ПРИЛОЖЕНИЕ Е Документы об утверждении типа стандартного образца и материалы, подтверждающие представление стандартного образца на утверждение в статусе Межгосударственного стандартного образца 264
ПРИЛОЖЕНИЕ Ж Экспертные заключения от уполномоченных органов государств – членов Союза в сфере стандартизации и в соответствующих сферах регулирования по проекту методики 269
ПРИЛОЖЕНИЕ И Свидетельство об аттестации методики (метода) измерений 284
ПРИЛОЖЕНИЕ К Свидетельство о метрологической аттестации методики (метода) измерений в соответствии с требованиями Порядка метрологической аттестации методики (метода) измерений, утвержденного Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 17 марта 2016 г. № 21 287

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В настоящем отчете о НИР применяют следующие сокращения и обозначения:

АДФ – аденозиндифосфат

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматогафия

ГМДА – гексаметилендиамин

ГОСТ – межгосударственный стандарт

ГФМА – гептафтормасляный ангидрид

ГФМК – гептафтормасляная кислота

ГХ – газовая хроматография

ДБА – ди-н-бутиламина

ДМД – диодно-матричный детектор

ДМСО – диметилсульфоксид

ДМФ – диметилформамид

ДЭЗ – детектор электронного захвата

ЕС – европейский союз

ЖХ – жидкостная хроматография

ИЮПАК – Международный союз теоретической и прикладной химии

ЛОС – летучие органические соединения

МС – масс-спектрометр

МУК, МУ – методические указания

ОФ ВЭЖХ – обращенно-фазовая высокоэффективная жидкостная хроматография

ПГМГ – полигексагуанидин

ПДК – предельно допустимая концентрация

ПИД – пламенно-ионизационный детектор

ПКО – предел количественного определения

ПО – предел обнаружения

ПФПА – пентафторпропионовый ангидрид

СИ – система единиц

США – Соединенные Штаты Америки

ТИД – термоионный детектор

ТР ТС – технический регламент Таможенного союза

ТФК – трифторуксусная кислота

ТФУ – трифторуксусная кислота

ТФЭ – твердофазная экстракция

УВЭЖХ – ультравысокоэффективная жидкостная хроматография

УФ-детектор – ультрафиолетовый детектор

ФМОХ – 9-флуоренилметилхлорформиат

ФЛД – флуорометричсекий детектор

ЭСП-МС – масс-спектрометрический детектор с электроспреем

BSC – бензолсульфонилхлорид

CAS – Chemical Abstracts Service – уникальный численный идентификатор химических соединений, полимеров, биологических последовательностей нуклеотидов или аминокислот, смесей и сплавов, внесённых в реестр Chemical Abstracts Service

ECHA – European Chemicals Agency (Европейское химическое агентство)

EPA – United States Environmental Protection Agency (Агентство по охране окружающей среды)

ВВЕДЕНИЕ

Гексаметилендиамин (далее – ГМДА) относится к классу алифатических диаминов. Имеет две аминогруппы на конце шестиуглеродной цепи, что делает его важным мономером для производства полимерных материалов.

ГМДА используют в качестве сырья при изготовлении полиамидов. Их используют для изготовления волокон и пленок, деталей машин и оборудования в мясомолочной промышленности, для производства покрытий, фильтрующих тканей, тары для продуктов, фасонных деталей и труб в водопроводном строительстве, при производстве различных товаров народного потребления (упаковка, игрушки, легкая промышленность, товары для детей и подростков и т. д.). Полиамиды обладают хорошими физико-химическими свойствами, высокой прочностью, стойкостью к ударным нагрузкам и относительно высокой химической стабильностью благодаря амидной связи [1, 2].

Большое распространение получили полиамиды, образующиеся путем гетерополиконденсации ГМДА с адипиновой (полиамид-66), себациновой (полиамид-610), декандикарбоновой (полиамид-612), терефталевой (полиамид-6/6Т) кислотами и другими [3, 4, 5].

Определяющим моментом при использовании полиамидов является их химическая стабильность и возможность миграции из них вредных веществ в воздушную среду. Уровень миграции вредных химических веществ, в том числе ГМДА, должен соответствовать требованиям гигиенической безопасности. Указанное делает особо актуальной задачу лабораторного контроля уровня миграции мономера из изделий из полиамидов в воздушную среду.

ГМДА является физиологически активным, токсичным и опасным веществом, которое может вызывать у человека ожоги, экземоподобные дерматиты, заболевания нервной системы и желудочно-кишечного тракта. По степени воздействия на организм человека ГМДА относится ко второму классу опасности. Он внесен в список опасных веществ Европейским химическим агентством (ECHA), Агентством по охране окружающей среды, США (EPA) [6, 7].

Показатель миграции ГМДА, выделяющегося из изделий из полиамидов, в воздушной среде регламентируется рядом технических регламентов Таможенного Союза.

Вместе с тем, перечни стандартов к техническим регламентам «О безопасности упаковки», «О безопасности продукции, предназначенной для детей и подростков», «О безопасности игрушек», «О безопасности продукции легкой промышленности», «О безопасности средств индивидуальной защиты», «О безопасности мебельной продукции», «О безопасности оборудования для детских игровых площадок», в которых нормируется содержание ГМДА, в настоящее время не содержат стандартов или

аттестованных методик, позволяющих провести исследования по определению уровня миграции в воздушную среду ГМДА, содержащегося в изделиях из полиамидов. Таким образом, в целях применения и исполнения требований вышеуказанных технических регламентов и достоверной оценки соответствия объектов технического регулирования является актуальной разработка методики определения уровня миграции, выраженного в единицах массовой концентрации, в воздушную среду ГМДА, содержащегося в изделиях из полиамидов.

Целью работы является разработка методики определения уровня миграции, выраженного в единицах массовой концентрации, в воздушную среду ГМДА, содержащегося в изделиях из полиамидов (далее – Методика), на основе применяемых в мировой практике методов и методик определения массовой концентрации ГМДА в воздушной среде.

Задачи работы:

1. Провести анализ международных стандартов (правил, директив, рекомендаций и иных документов, принятых международными организациями по стандартизации), региональных документов (регламентов, директив, решений, стандартов, правил и иных документов), а также законодательства экономически развитых государств (США, Великобритания, Германия, Китай, Япония), научно-информационных источников и результатов теоретических и экспериментальных исследований в части применяемых методов и методик определения массовой концентрации ГМДА в воздушной среде, в том числе выделяемого из изделий из полиамидов.

2. Разработать Методику на основе применяемых в мировой практике методов и методик определения массовой концентрации ГМДА в воздушной среде.

3. Аттестовать разработанную Методику в соответствии с Порядком метрологической аттестации методики измерений.

4. Обосновать применение имеющегося утвержденного стандартного образца, необходимого для выполнения измерений по Методике, или целесообразность разработки нового стандартного образца.

Разработанная методика после внедрения в практику лабораторий государств – членов ЕАЭС, осуществляющих испытания продукции, позволит с высокой степенью достоверности контролировать миграцию ГМДА из изделий из полиамидов в воздушную среду в целях исполнения требований технических регламентов Таможенного союза ТР ТС 005/2011, ТР ТС 007/2011, ТР ТС 008/2011, ТР ТС 017/2011, ТР ТС 019/2011, ТР ТС 025/2012, ТР ЕАЭС 042/2017.

1 Литературный обзор

1.1 Физико-химические свойства и токсичность гексаметилендиамина

ГМДА относится к первичным алифатическим аминам. В его состав входят две аминогруппы. Строение данного вещества отображено на рисунке 1.1.

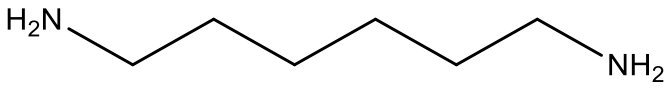


Рисунок 1.1 – Структурная формула ГМДА

ГМДА представляет собой бесцветные блестящие кристаллы в виде крупных пластинок с аммиачным запахом, характерным для представителей высших алифатических аминов. Дымит на влажном воздухе и возгоняется в виде длинных игл [5]. Структура соединения включает в себя гексаметиленовый фрагмент с двумя аминогруппами – в начале и в конце цепи. ГМДА растворим в воде и обычных органических растворителях, а его пары тяжелее воздуха. Физико-химические свойства ГМДА приведены в таблице 1.1.

Таблица 1.1 – Физико-химические свойства гексаметилендиамина [8]

Систематическое наименование	гексан-1,6-диамин
Традиционное название	гексаметилендиамин
Молекулярная формула	$C_6H_{16}N_2$
Молярная масса	116,20 г/моль
Относительная плотность (вода = 1)	0,93
Точка кипения	199–205 °C
Точка плавления	23–42 °C
Температура вспышки	85 °C
Температура самовоспламенения	305 °C
Давление пара (при 50 °C)	200 Па (1,5 мм рт. ст.)

Химические свойства ГМДА определяются главным образом наличием аминогрупп. Они обладают слабовыраженными электроноакцепторными свойствами, в результате чего атомы водорода гексаметиленового фрагмента неактивны. Исходя из этого реакции замещения в углеродной цепи для ГМДА не характерны. Наличие неподеленных электронных пар на атомах азота, в свою очередь, обусловливает слабоосновные свойства ГМДА. При взаимодействии с кислотами он легко образует соли, представляющие собой кристаллические вещества хорошо растворимые в воде.

Наиболее важной в практическом применении является соль ГМДА с адипиновой кислотой (1/1, моль/моль) – гексаметилендиаммоний адипинат. Ее обычно называют

АГ-солью и используют для производства найлона-6,6 [9]. Предполагаемая структура АГ-соли приведена на рисунке 1.2.

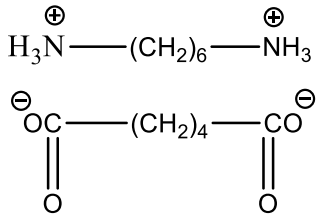


Рисунок 1.2 – Структурная формула гексаметилендиаммоний адипината

ГМДА, как и другие представители класса амины вступает в реакции с карбонильными соединениями с образованием непрочных шиффовых оснований, которые далее подвергаются гидрированию для получения конечных продуктов. При взаимодействии с альдегидами образуются имины, а с кетонами – амиды. Также ГМДА вступает в реакции дезаминирования, окисления, взаимодействует с ненасыщенными, галогенсодержащими, серосодержащими и фосфорсодержащими веществами. Все эти реакции применяются в органическом синтезе для получения ряда соединений [5].

Наиболее значимым свойством ГМДА является его способность вступать в реакции с карбоновыми кислотами с образованием полиамидов (рисунок 1.3). Одним из важнейших представителей данной группы соединений является найлон-6,6, который получают конденсацией адипиновой кислоты и ГМДА [9]:

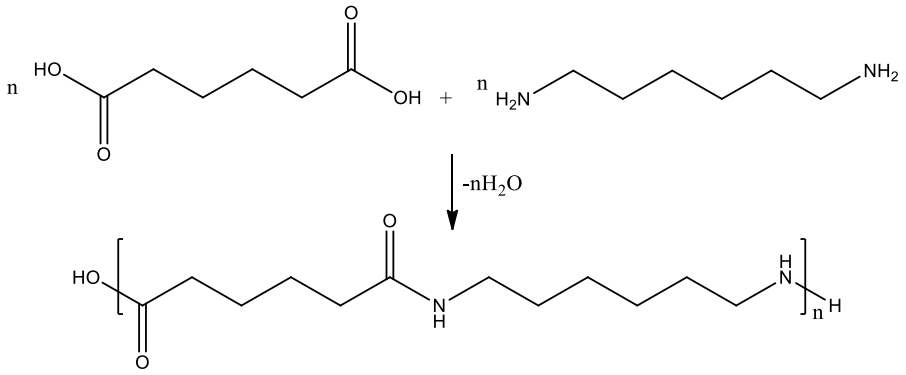


Рисунок 1.3 – Реакция взаимодействия гексаметилендиамина с карбоновыми кислотами

Процесс поликонденсации осуществляется в несколько стадий. Первая включает в себя смешивание мономеров при повышенных температурах (200–280 °С). Затем происходит непосредственно взаимодействие веществ с образованием амидных связей. Также в процессе выделяется вода, которую удаляют на третьей стадии для эффективного повышения выхода итогового продукта. Готовый полиамид перерабатывают в нити путем экструзии. Процесс включает в себя продавливание полимера через фильеру для

формирования волокон и термическую обработку для улучшения их механических свойств. При поликонденсации ГМДА с себациновой кислотой получают найлон-6,10.

Наличие линейной и кристаллической структур приводят к высокой прочности и жесткости полимера, а способность амидных групп образовывать водородные связи с соседними молекулами усиливает взаимодействие между цепями и, как следствие, улучшает механические свойства. Благодаря таким уникальным характеристикам материал из найлона-6,6 имеет широкий спектр применения [10]. Его используют в текстильной промышленности для изготовления волокон при производстве одежды, а также тканей, обладающих высокой прочностью и устойчивостью к воздействиям окружающей среды (огнестойкая спецодежда). Часто используют для изготовления ковров. Полиамидная текстильная нить наиболее широко используется для изготовления чулочно-носочных изделий, а также бельевых и платьевых тканей. Некоторые медицинские изделия, такие как хирургические швы, катетеры и протезы, также могут быть изготовлены из найлоновых материалов.

В автомобильной промышленности данный полимер используют для производства различных деталей (уплотнители, панели, элементы крепления). Его свето- и термостойкость делают его наиболее подходящим выбором для работы в жестких условиях. Также находит применение в военной промышленности для изготовления парашютов, бронежилетов и шин [10]. Широко применяется в производстве ручек для инструментов и других компонентов, которые требуют прочности и легкости. Кроме того, найлон-6,6 является диэлектриком и используется как компонент основы полиамидных эмальлаков, образующих механически прочные эластичные эмалевые изоляционных покрытия на проводах [9].

Вторым по значимости направлением промышленной переработки ГМДА является синтез полиуретанов. Высокая механическая прочность, химическая стойкость и термостабильность позволяют использовать их для получения синтетических волокон, пластмасс, клеев, пленок и покрытий.

Перед производством полиуретанов ГМДА перерабатывают в гексаметилендиизоцианат с помощью фосгенирования. В промышленности распространен жидкофазный процесс фосгенирования соли, образующейся при действии двуокиси углерода на ГМДА [11]. Процесс осуществляют в несколько стадий.

Сначала при нагревании до 80–90 °С в раствор ГМДА при перемешивании вводят твердую двуокись углерода. В результате ГМДА абсорбирует CO_2 с образованием соли (рисунок 1.4):

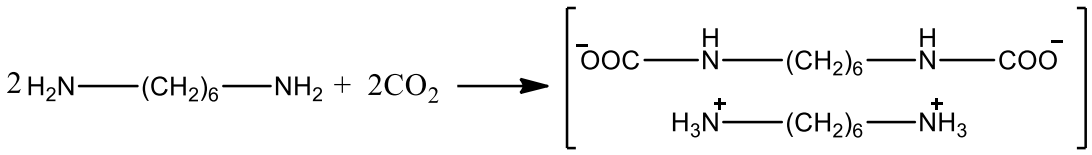


Рисунок 1.4 – Образование соли гексаметилендиамина с CO_2

Затем в охлажденную примерно до 0 °С полученную суспензию подают фосген. В результате образуется хлорангидрид (рисунок 1.5):

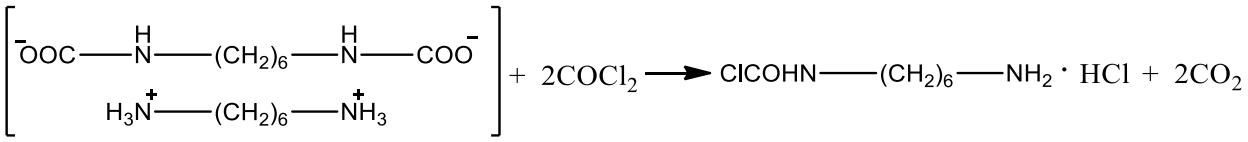


Рисунок 1.5 – Реакция взаимодействия соли гексаметилендиамина с фосгеном с образованием хлорангидрита

Фосгенирование продолжают, постепенно повышая температуру до 150–160 °С, до получения прозрачного раствора гексаметилендиизоцианата (рисунок 1.6):

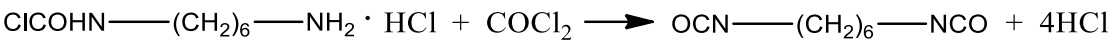


Рисунок 1.6 – Получение гексаметилендиизоцианата по реакции фосгенирования при температуре 150–160 °С

Для дальнейшего получения полиуретановых материалов гексаметилендиизоцианат должен обладать исключительно высокой степенью чистоты. Она достигается очисткой технического продукта многократной вакуумной перегонкой.

Полимеризацию осуществляют следующим способом. Диизоцианат и гликоль, взятые в мольном соотношении 1 : 1, загружают в реактор и нагревают до 200 °С для гомогенизации смеси. Полученный расплав полиуретана выдавливают из реактора в виде ленты, щетины или моноволокна.

Наибольшее промышленное значение из полиуретанов, изготовленных из гексаметилендиизоцианата, имеет его полимер с бутандиолом-1,4. Такое волокно используют для изготовления фильтровальных и защитных тканей, приводных ремней и канатов (рисунок 1.7):

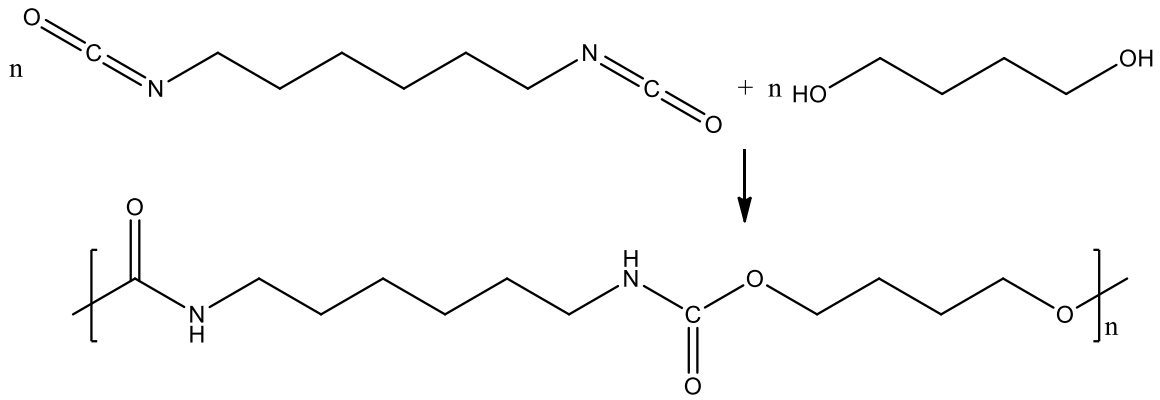


Рисунок 1.7 – Реакция взаимодействия гексаметилендиизоцианата с бутандиолом-1,4

Помимо производства полиамидов и полиуретанов ГМДА применяют в качестве аминного отвердителя эпоксидных смол, что обеспечивает улучшение их физико-химических свойств [12]. Также используют для вулканизации каучуков, синтеза ионообменных смол, ингибирования коррозии, очистки газовых смесей от двуокиси углерода, изготовления покрытий для воздушных фильтров [5].

Существует несколько методов получения ГМДА. По одному из них его получают из адипиновой кислоты, которую, в свою очередь, получают окислением циклогексана (рисунок 1.8) [14]. Смесь паров адипиновой кислоты и аммиака пропускают над дегидратирующим катализатором при температуре 300–375 °С. Образующийся адиподинитрил затем гидрируют до получения ГМДА. Процесс осуществляют на кобальтовом или медном катализаторе при давлении 60-65 МПа и температуре 100–135 °С. Селективность процесса 90–95 % [14]:

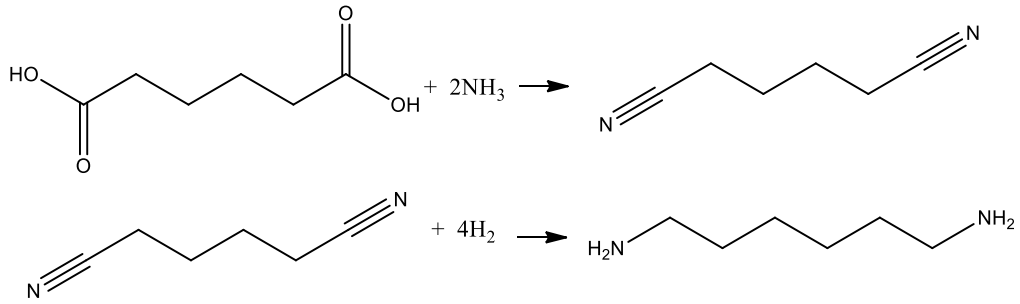


Рисунок 1.8 – Получение гексаметилендиамина из адипиновой кислоты

Основным побочным продуктом является диимин, образующийся в результате неполного гидрирования адиподинитрила (рисунок 1.9):

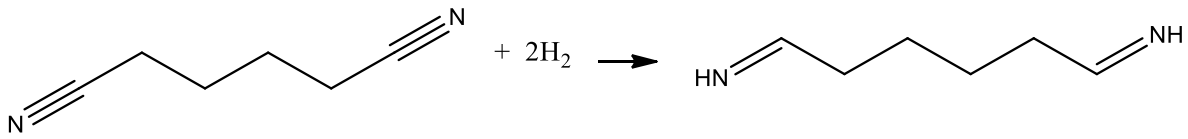


Рисунок 1.9 – Образование побочного продукта при получении гексаметилендиамина из адипиновой кислоты

Такой способ получения ГМДА широко применяется в промышленности, но необходимость использования дефицитного ароматического сырья (адипиновую кислоту получают исходя из бензола и фенола) явились причиной поисков более дешевых способов синтеза адипонитрила на основе более доступного сырья [5]. Определенный интерес представляют схемы получения адипонитрила, основанные на переработке нитрила акриловой кислоты.

Акрилонитрил, полученный из пропилена, растворяется в водном растворе тетраэтиламмоний-*n*-толуолсульфоната в электролитической ванне [14]. Димеризация осуществляется в результате протекания восстановительных реакций на катоде (рисунок 1.10):

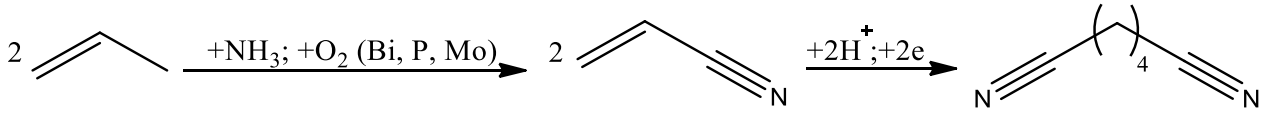


Рисунок 1.10 – Получение адипонитрила из акрилонитрила в результате протекания восстановительных реакций на катоде

Полученный адипонитрил гидрируют до гексаметилендиамина.

Существует трехстадийный процесс получения ГМДА через промежуточное образование гександиола-1,6 [14]. Сначала циклогексан окисляют при 150 °С и давлении 3,3 МПа для получения смеси адипиновой и гидроксикапроновой кислот. Далее эту смесь этерифицируют предварительно полученным гександиолом. На второй стадии проводят гидрогенолиз эфира с получением гександиола-1,6, который подвергают очистке. На третьей стадии диол аминируют аммиаком на катализаторе Ni Ренея при 150 °С и 23,0 МПа. ГМДА получают с выходом 90 %. Побочными продуктами являются гексаметиленимин и 6-аминогексан. Недостатками данного способа получения являются многостадийность и низкое качество образующегося амина.

ГМДА можно также получать из хлористого винила, из акрилонитрила через 1,2-дицианоциклобутан, однако они мало распространены и основным способом производства остается гидрирование адиподинитрила.

ГМДА относится к аминосоединениям жирного ряда. Умеренно токсичен, однако, как и другие основные амины он способен вызывать ожоги и сильные раздражения кожи (дерматиты). Устойчив на воздухе. При попадании в глаза вызывает серьезные повреждения. Обладает кумулятивными свойствами.

Диамин относится к высокотоксичным продуктам. В виде паров (в концентрациях свыше 1 мг/м^3) вызывает изменения в составе периферической крови (уменьшение содержания гемоглобина, числа эритроцитов, лейкоцитов), снижение уровня кровяного давления, нарушение проницаемости сосудов. Обладает резко выраженным местным действием, проявляющимся в виде сухого или влажного некроза. Попадание в глаза вызывает серьезные повреждения. Проникает в организм через органы дыхания и неповрежденную кожу [15].

Токсическое действие у белых крыс протекает при вдыхании 0,2–2,5 мг/дм^3 – раздражение верхних дыхательных путей и глаз, истощение, уменьшение содержания гемоглобина и числа эритроцитов. У работающих с ГМДА наблюдаются сдвиги со стороны крови, а также нарушения сосудисто-вегетативной регуляции. Поражения кожи наступали через 2 или 3 недели после начала работы с ГМДА. [16]

Воздействие паров ГМДА в производственных условиях на человека возможно при операциях, требующих нагревания или перемешивания водных растворов.

Профессиональное воздействие могут быть через вдыхание (высокоскоростные операции, генерирующие в первую очередь аэрозоли) и через кожный контакт на рабочих местах, где производится или используется гексаметилендиамин. Химическое вещество является умерено токсичным при большинстве путей введения. При пероральном введение летальные дозы для крыс варьируются от 750 до 1500 мг/кг. Возможен оттек при попадании на кожу с образованием многочисленных пузырьков или волдырей с дальнейшим некрозом. Также наблюдается сильное раздражение глаз с переходом в конъюнктивит после контакта с гексаметилендиамином [17].

В работе Ракитского В. Н. (2012) и др. установлено аллергизирующее действие химических примесей, мигрирующих в окружающую среду из полимерсодержащих материалов, например, дибутилфталат, диоктилфталат, эпихлорхидрин, гексаметилендиамин. Данные соединения при ингаляционном воздействии оказывают слабый сенсибилизирующий эффект на организм [18].

В исследованиях И. М. Трахтенберга и В. А. Тычинина (2003) показано, что воздействие ГМДА приводит к снижению активности тканевого дыхания и одновременному усилению анаэробного гликолиза в миокарде, снижению энергетического

потенциала сердечной мышцы, уменьшению уровня АТФ, отношения АТФ/АДФ и энергетического заряда [19].

По химической структуре гексаметилендиамин близок к таким ядам, как путресцин и кадаверин, образующимся при гниении белков. Из опубликованных данных следует, что гексаметилендиамин обладает общим резорбтивным действием, сопровождающимся нарушением проницаемости мелких кровеносных сосудов, понижением артериального давления, изменением морфологии крови, дистрофическими и дегенеративными сдвигами во внутренних органах (печени, легких, почках, селезенке, головном мозгу и др.). Кроме того, гексаметилендиамин оказывает угнетающее действие на центральную нервную систему [20].

При вдыхании гексаметилендиамин вызывает сильные головные боли. В малых концентрациях это вещество может сенсибилизировать организм чувствительных людей и вызвать дерматиты и экземы.

В основе механизма токсического действия ГМДА лежит способность моно- и диаминов освобождать связанный гистамин, а возможно, и другие биологически активные вещества.

В работе [20] для изучения рефлекторного действия на функциональное состояние центральной нервной системы пороговых и подпороговых концентраций ГМДА по запаху применяли метод определения световой чувствительности глаза в условиях адаптации к темноте. Наблюдения проводили по методике на адаптометре «АДМ» с привлечением 3 исследуемых в возрасте 22–26 лет. Порог изменения световой чувствительности глаза у наиболее чувствительных лиц находился на уровне 0,0027 мг/м^3

Предельно допустимая концентрация (ПДК) ГМДА составляет:

- в атмосферном воздухе ПДК максимально разовая – 1 мкг/м^3, класс опасности – 2 (высокоопасное) [21];

- в воздухе рабочей зоны ПДК максимально разовая – 0,1 мг/м^3, класс опасности – 1 (вещество чрезвычайно опасное) [21];

- в воздушной среде из упаковки – 0,001 мг/м^3, класс опасности – 2; [22];

- в воздушных средах из продукции, предназначенной для детей и подростков и игрушек – 0,001 мг/м^3 [23, 24].

- в воздушной среде из продукции легкой промышленности – 0,001 мг/м^3 [25];

- в воздушной среде из средств индивидуальной защиты – 0,001 мг/м^3 [26];

- в воздушной среде из мебельной продукции – 0,001 мг/м^3 [27];

- в воздушной среде из оборудования для детских игровых площадок – 0,001 мг/м^3 [28].

1.2 Способы приготовления воздушных вытяжек из товаров народного потребления для определения миграции гексаметилендиамина

При анализе миграции вредных веществ в воздушную среду проведение пробоподготовки является одним из основных факторов, которые влияют на погрешность и достоверность полученных результатов.

Пробоподготовка продукции на соответствие ТР ТС 005/2011 «О безопасности упаковки» проводится в соответствии с [29].

В соответствии с Приложением 1 ТР ТС 005/2011 исследование миграции вредных веществ в воздушную модельную среду проводятся в отношении продукции с влажностью менее 15 %.

Согласно [29] образцы посуды, тары и т. д. моют с помощью марли теплой водопроводной, а затем дистиллированной водой. При приготовлении воздушных вытяжек упаковочные материалы, предназначенные для затаривания пищевых продуктов, помещают в стеклянную емкость (эксикатор), имеющую две отводные трубки, одну – доходящую до дна, вторую – оканчивающуюся под пробкой с таким расчетом, чтобы при взятии пробы протягиваемый воздух проходил через всю емкость. Отводные трубки закрывают заглушками. Соотношение общей площади всех поверхностей образца упаковки к фактической вместимости эксикатора должно составлять 1 $см^2$: 2,5 $см^3$. Для испытания используют две параллельные пробы упаковки, которые помещены в разные эксикаторы.

После соответствующей экспозиции открывают заглушки и через емкость с образцом протягивают воздух. Воздушные вытяжки пропускают через поглотительный раствор или через фильтр в зависимости от анализируемого вещества. Количество протягиваемого воздуха должно быть в 3 раза больше фактической вместимости эксикатора.

Пробоподготовка продукции на соответствие ТР ТС 007/2011 «О безопасности продукции, предназначенной для детей и подростков» и ТР ТС 008/2011 «О безопасности игрушек» проводится согласно [30, 31].

Исследование миграции вредных химических веществ в воздушную среду проводится в статическом или, при необходимости, динамическом режиме.

При изучении миграции вредных химических веществ в воздушную среду из игр и игрушек, паст для лепки, красок, принадлежностей канцелярских или школьных, изделий галантерейных, изделий санитарно-гигиенических из полимерных материалов, из резины формовых или неформовых для ухода за детьми и других аналогичны изделий, в статическом режиме исследуемый образец помещают в тщательно вымытые герметически закрытые емкости (эксикатор), выдерживают в них в течение 24 часов при температуре

37 °С. При отборе проб воздуха через поглотители протягивают трехкратный объём воздуха эксикатора, содержащего образец.

Соотношение веса образца к объёму воздушной среды эксикатора составляет 100 : 1 г/м^3. Если образец не помещается в камеру-термостат или эксикатор, допускается разборка его на составные части (из мягконабивной игрушки выделяется элемент с наполнителем при его наличии). Параллельно готовится «холостая проба»: отбирается проба воздуха на содержание того же вредного химического вещества из идентичной герметически закрытой емкости, в которой отсутствует образец. Воздушные пробы, полученные как в основном, так и в контрольном опытах, исследуют в идентичных условиях.

Исследование миграции вредных химических веществ из образцов в воздушную модельную среду в динамическом режиме проводят в камере-термостате. Камера-термостат тщательно моется, вытирается досуха, затем в камеру подается в течение 30 минут воздух. Для проверки чистоты камеры-термостата проводится контрольный опыт.

В камеру помещают исследуемый образец, устанавливают температуру 37 °С, воздухообмен 0,5 объем/час и выдерживают образец при данных условиях в течение 24 часов. Соотношение веса образца к объёму воздушной среды камеры составляет 100 : 1 г/м^3. Скорость и время отбора при исследовании в динамическом режиме определяется конкретной методикой, согласно которой определяется данное летучее вещество.

Определение миграции вредных химических веществ из изданий учебных, книжных и журнальных, бумажно-беловых изделий для детей старше трех лет осуществляется в воздушную модельную среду. Пробоподготовка образцов изложена выше.

При изучении миграции вредных химических веществ в воздушную модельную среду из образцов колясок и велосипедов детских, не контактирующих с кожными покровами, исследования проводят согласно требованиям [30 п. 4.6].

Пробоподготовка продукции на соответствие ТР ТС 017/2011«О безопасности продукции легкой промышленности» проводится в соответствии с [32].

Перед испытаниями образцы одежды и принадлежностей к одежде, прочих готовых текстильных изделий, обуви, портфелей, ранцев и рюкзаков ученических для детей выдерживают в лабораторных условиях 24 часа [30 п. 4.6]. Изделия и материалы для новорожденных и детей до одного года, а также первого слоя подлежат обязательной предварительной стирке без моющих средств. Изделие помещают в тщательно вымытые герметически закрытые емкости (эксикаторы или камеры) при соотношении площади исследуемого образца к объему используемой емкости 1 м^2/м^3 (с учетом двух

поверхностей). Объем отобранного воздуха составляет трехкратный объем воздуха эксикаторы. Из идентичной герметически закрытой емкости, в которой отсутствует образец отбирается «холостая проба». Воздушные пробы, полученные как в основном, так и в «холостом опыте», исследуют в идентичных условиях.

При гигиенической оценке тканей, одежды (3-го слоя) и обуви анализируется воздушная среда:

изделия помещают в тщательно вымытые герметически закрытые емкости (эксикаторы или камеры) при соотношении площади исследуемого образца к объему используемой ёмкости 1 $м^2/м^3$ (с учетом двух поверхностей) – для верхней одежды, 0,4 $м^2/м^3$ (с учетом двух поверхностей) для портьерной и шторных тканей, выдерживают в течение 24 часов при температуре 37 °С (основной опыт). Для определения степени миграции летучего вещества параллельно проводят определение «холостой пробы» (контрольный опыт):

отбирается проба воздуха на содержание того же летучего вещества из идентичной герметически закрытой ёмкости, в котором отсутствует образец. Воздушные пробы, полученные как в основном, так и контрольном опытах, исследуют в идентичных условиях.

Пробоподготовка продукции на соответствие ТР ТС 019/2011 «О безопасности средств индивидуальной защиты» проводится согласно [33].

В соответствии с [33] исследуемые образцы производственной и специальной одежды (хлопчатобумажной, льняной, шерстяной, синтетической и т.д.), в зависимости от назначения и защитной способности материалов образцы закладываются в эксикаторы объемом не менее 4 литров в соотношении 10 $см^2$ образца к 1 $дм^3$ емкости. За площадь поверхности образца считают суммарную площадь обеих сторон поверхности образца. Исследуемые образцы выдерживают в течение 3 суток при комнатной температуре или при 37 °С – 24 часа. Воздух из эксикатора аспирируют со скоростью, обусловленной методиками испытаний. Объем отобранного воздуха должен быть равен трехкратному объему эксикатора. Определение миграции каждого вещества при одинаковых условиях следует проводить дважды. Одновременно с опытными эксикаторами устанавливают контрольные, выдерживаемые при указанных выше условиях эксперимента.

Исследование степени миграции токсических веществ в воздух можно проводить в климатических камерах, с объемом рабочего пространства от 0,01 до 1 $м^3$. Конструкция камеры должна обеспечивать герметичность, автоматическое регулирование температуры. В рабочем объеме камеры во время проведения исследований должны поддерживаться следующие параметры: температура воздуха – 37 °С, воздухообмен – 1 объем в час. Исследуемый образец помещают в климатическую камеру и кондиционируют не менее

4 часов при указанных выше условиях. Соотношение площади поверхности образца к рабочему объему камеры должно составлять 10 $см^2$ на 1 $дм^3$. Отбор проб воздуха на исследуемые соединения из рабочего объема камеры проводится через 4 часа с момента стабилизации параметров воздуха в камере аспирационным устройством в соответствии с требованиями методик измерения по определению анализируемых веществ. Объем отобранного воздуха не должен превышать рабочего объема камеры. Перед помещением образца в камеру, проводят контрольный отбор воздуха на испытуемый показатель (контрольный опыт).

Пробоподготовка продукции на соответствие ТР ТС 025/2012 «О безопасности мебельной продукции» проводится согласно [34].

Исследование миграции ЛОС проводится в замкнутом объеме воздуха испытательной камеры при следующих (наиболее типичных) условиях эксплуатации: температура воздуха – (23,0 ± 0,5) °С, относительная влажность воздуха – (50 ± 3) %, скорость воздухообмена – (1,00 ± 0,05) 1/ч. Насыщенность устанавливается в зависимости от эксплуатации и вида изделия: корпусная мебель, столы, кровати щитовой конструкции – (1,00 ± 0,05) $м^2/м^3$, мебель для сидения и лежания, кровати с мягкими спинками и элементами – (0,300 ± 0,015) $м^2/м^3$, напольные и стеновые панели – (0,40 ± 0,02) $м^2/м^3$.

Отбор проб проводят методом периодического активного отбора проб (прокачки) воздуха из рабочего объема испытательной камеры в поглотительные приборы, содержащие поглотительный раствор, с последующей обработкой в соответствии с методикой испытаний на исследуемые показатели.

При подготовке к испытаниям образцы изделий (деталей) мебели распаковывают, при необходимости собирают (монтируют) согласно прилагаемой к ним инструкции, а поверхности тщательно очищают обдувом и/или сухой щеткой (кромки и технологические отверстия не герметизируют, а имеющуюся фурнитуру сохраняют). Образцы изделий должны быть выдержаны перед испытанием в помещении с температурой и относительной влажностью воздуха, соответствующими принятым при испытании в камере, не менее трех суток.

Образцы жидких и термопластичных полимерных материалов (клей, связующее) смешивают с отвердителем и прочими компонентами по рекомендуемой рецептуре. Наносят на металлические пластины и отверждают по рекомендованным режимам. Размеры пластины должны соответствовать насыщенности. День нанесения материала на пластины считается днем его изготовления.

Образцы напольных и стеновых панелей при необходимости отбирают из середины пачки (рулона) с длиной, соответствующей рабочему объему камеры и выбранному

значению насыщенности. Перед испытанием поверхности образцов материалов очищаются с обдувом и/или сухой щеткой (бязью) и проводится кондиционирование в течение 7–15 дней при комнатных (лабораторных) условиях. До проведения испытаний кромки образцов материалов частично герметизируют, заклеивая металлической фольгой с силикатным или полиуретановым клеем (самоклеящаяся лента). При этом отношение длины открытых (не герметизированных) кромок к площади поверхности пластей должно составлять (1,5 ± 0,075) м/м^2. Оборотные (не лицевые) поверхности образцов напольных покрытий и стеновых панелей герметизируют: соединяют образцы друг с другом этими поверхностями и герметизируют кромки или полностью герметизируют оборотные поверхности и кромки металлической фольгой.

Пробоподготовка продукции на соответствие ТР ТС 042/2017 «О безопасности оборудования для детских игровых площадок» проводится согласно [30 п. 3.3.2].

1.3 Историография по исследуемой проблематике определения уровня миграции, выраженного в единицах массовой концентрации, в воздушную среду гексаметилендиамина, содержащегося в изделиях из полиамидов, на основе применяемых в мировой практике методов и методик определения массовой концентрации гексаметилендиамина в воздушной среде

Однако существует целый ряд методик определения массовой концентрации ГМДА в воздухе [35–37], которые могут стать основой для разработки методики определения уровней миграции ГМДА, содержащегося изделиях из полиамидов, в воздушную среду.

ГОСТ Р ИСО 17734-2-2009 [36] устанавливает метод определения ГМДА по их производным с использованием ди-н-бутиламина (далее – ДБА) в качестве реагента и дериватизации с этилхлорформиатом. Метод устанавливает определение 1,6-ГМДА в воздухе рабочей зоны в газообразном состоянии в виде твердых частиц. Предел обнаружения для аминов составляет около 50 фмоль (10^{-15}). Пробы отбирают путем пропускания известного объема воздуха через миниатюрный импинжер с 10 мл раствора ДБА в толуоле концентрацией 0,01 моль/л, за которым расположен фильтр из стекловолокна. После отбора к растворам проб добавляют дейтерированные этилхлорформиатные производные аминов и ДБА-производные изоцианатов (используемые в качестве внутреннего стандарта). Пробы анализируют методом жидкостной хроматографии (далее – ЖХ) с обращенной фазой с использованием масс-спектрометрического детектора с электроспреем (ЭСП-МС) в режиме регистрации положительно заряженных ионов. Количественное определение проводят путем регистрации избранных ионов. Количественное определение и качественные оценки могут быть выполнены методами ЖХ с УФ-детектором. Для количественного определения летучих соединений может быть использован газохроматографический термоионный детектор (далее – ТИД). Токсичные растворители (этилхлорформиат, безводный этанол), труднодоступность референтных соединений, многоступенчатая и ресурсозатратная процедура обработки и подготовки проб значительно усложняют реализацию данной методики на практике.

Метод колориметрического определения ГМДА в воздухе представлен в МУ 1656-77 [36]. Согласно методическим указаниям определение основано на образование окрашенного в желтый цвет продукта (1,6-бис-(2,4-динитрофенил) аминогексан) реакции ГМДА с 2,4-динитрофтор- или хлорбензолом. Чувствительность метода составляет 0,5 мг/м^3. Отбор проб воздуха со скоростью 2 л/мин, осуществляется через два поглотительных прибора с пористой пластинкой, наполненные 3 см^3 дистиллированной воды. Для определения 0,5 ПДК достаточно отбирать 15 л воздуха.

Количественное определение содержания вещества проводят путем сравнения интенсивности образовавшейся окраски со спектром цветовой шкалы. Недостатки методики заключаются в том, что визуальный метод определения субъективен, так как сравнение интенсивности окрашивания раствора проводят невооруженным глазом, что и объясняет невысокую чувствительность метода.

В методических указания МУ 4481-87 представлен хроматографический метод измерения концентраций ГМДА в воздухе рабочей зоны [37]. Метод основан на использование газожидкостной хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием (далее – ПИД). Диапазон измеряемых концентрация в воздухе от 0,05 до 0,5 мг/м^3. Отбор проб проводится на фильтры «синяя лента» обработанные 0,01Н раствором серной кислоты, с объемным расходом воздуха 10 л/мин. Для 0,5 ПДК следует отбирать 100 л воздуха. Фильтры с отобранной пробой обрабатывают 1 см^3 дистиллированной воды в бюксе и через 5 минут 2 мкл полученного раствора вводят в испаритель хроматографа. Количественное определение проводят по градуировочному графику. Также в данном методическом указание описан метод количественного определения ГМДА тонкослойной хроматографией. Метод основан на хроматографическом выделении ГМДА в тонком слое сорбента «силуфон» с последующим проявлением хроматограмм 0,2% раствором нингидрина в этиловом спирте при температуре 110 °С. Диапазон измеряемых концентраций в воздухе от 0,05 до 1,5 мг/м^3. Отбор проб проводится с концентрированием на фильтры «синяя лента», обработанные 0,01Н раствором серной кислоты с объемным расходом воздуха 10 л/мин. Для измерения 0,5 ПДК необходимо отобрать 60 л воздуха. Количественное определение в пробе проводят путем измерения площади пятен пробы и стандартов с помощью планиметра и денситометра. Недостатком данного способа определения является его трудоемкость для рутинного анализа, а также методы упомянутые в МУ 4481-87 являются недостаточно чувствительными и не содержат метрологические характеристики.

Недостатком многих их вышеперечисленных методик является отсутствие метрологических характеристик, некоторые из методик устарели и труднореализуемы на практике. Следует отметить, что в литературе по аналитическим методам определения, нормативным документам, метод по определению уровня миграции ГМДА, содержащегося в изделиях из полиамидов, в воздушную среду отсутствует. Тем не менее, использование хроматографических методов при определении уровней миграции ГМДА из полиамидов в воздушную среду является выбором, обоснованным практикой.

1.4 Анализ международного опыта, научно-информационных источников и результатов теоретических и экспериментальных исследований в части применяемых методов и методик определения массовой концентрации, в водных и воздушных средах, биологическом материале гексаметилендиамина, содержащегося в изделиях из полиамидов, и результатов теоретических и экспериментальных исследований в указанной области

Как видно из рассмотрения в предыдущей части результатов имеющихся методических документов по определению ГМДА в воздушных средах, основными методами его определения являются газовая хроматография (далее – ГХ) с различными типами детектирования, а также тонкослойная хроматография.

Был описан метод измерения содержания ГМДА в водной среде с помощью ГХ [38]. Данный способ определения включает проведение предварительной дериватизации с гептафтормаслянным ангидритом и дальнейшем газохроматографическом анализе с использованием детектора электронного захвата. Подготовка пробы осуществляется в несколько этапов: 100 $см^3$ образца водной вытяжки переносят в разделительную воронку; добавляют 50 г гидроксида натрия и перемешивают до полного растворения щелочи; далее в воронку добавляют 50 $см^3$ толуола и интенсивно встряхивают в течение 2 минут; после разделения фаз, органический слой сливаю; повторяют экстракцию еще один раз 25 $см^3$ толуола; экстракты объединяют и упаривают на ротационном испарителе при температуре водяной бани 65 °С; к сухому остатку добавляют 2 $см^3$ толуола, 100 мкл гептафтормаслянного ангидрита и перемешивают. Дериватизацию проводят при температуре 55 °С в течение 70 минут, далее охлаждают до комнатной температуры и пропускают через фильтр мембранный с диметром пор 0,45 мкм.

Гахохроматографическое разделение проводилось на неполярной колонке DB-1 длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной неподвижной фазы 0,25 мкм. Температура испарителя составляла 250 °С, а детектора 300 °С. Температурный градиент разделения начинался с 60 °С без выдержки, далее нагревали колонку со скоростью 10 °С/мин до 200 °С с выдержкой 2 минуты и после снова прогревали колонку со скоростью 30 °С/мин до 270 °С с выдержкой 5 минут. Скорость потока равнялась 1 $см^3$/мин.

Известен также метод определения ГМДА в водной среде, моче и плазме человека с помощью ГХ с термоионным специфическим детектированием [39]. Метод основан на процедуре дериватизации этилхлорформиатом в двухфазной системе с образованием ГМДА-диуретана. Для определения использовался газовый хроматограф Varian 3500/3600 и инжектор с программируемой температурой испарение. Начальная температура

инжектора составляла 105 °С в течение 5 секунд, затем температуру повышали со скоростью 150 °С/мин до конечной температуры 280 °С, где поддерживалась в течение 7 минут. Для разделения использовалась капиллярная колонка DB-5 длиной 30 м, внутренним диаметром 0,24 мм и толщиной неподвижной фазы 0,5 мкм. Температура детектора составляет 270 °С, скорость потока водорода 3 $см^3$/мин, воздуха 175 $см^3$/мин и 20 $см^3$/мин азота в качестве подпиточного газа. Температурный градиент разделения начинался с 115 °С с выдержкой 1 минута, далее нагревали колонку со скоростью 25 °С/мин до 280 °С без выдержки.

Первоначально к образцам (моча или плазма) добавляют 6 М соляную кислоту и выдерживают всю ночь при температуре 100 °С (гидролиз). После пробы объемом 2 $см^3$ переносили в пробирки куда далее добавляли 1 $см^3$ 3% водного раствора аммиака, 3 $см^3$ 5 М NaOH и 2 $см^3$ толуола, встряхивали и добавляли 100 $см^3$ этилхлорформиата. Полученную смесь встряхивали в течение 15 минут при комнатной температуре. Аликвоту толуольного слоя объемом 1 $см^3$ выпаривали на ротационном испарителе до сухого остатка и добавляли 1 $см^3$ толуольного раствора, содержащего внутренний стандарт, состоящий из изобутутилхлорформиатного производного ди-н-бутиламина концентрацией 1 нг/мкл. Для водных образцов этап гидролиза исключался. Хроматограммы образцов представлены на рисунке 1.11.

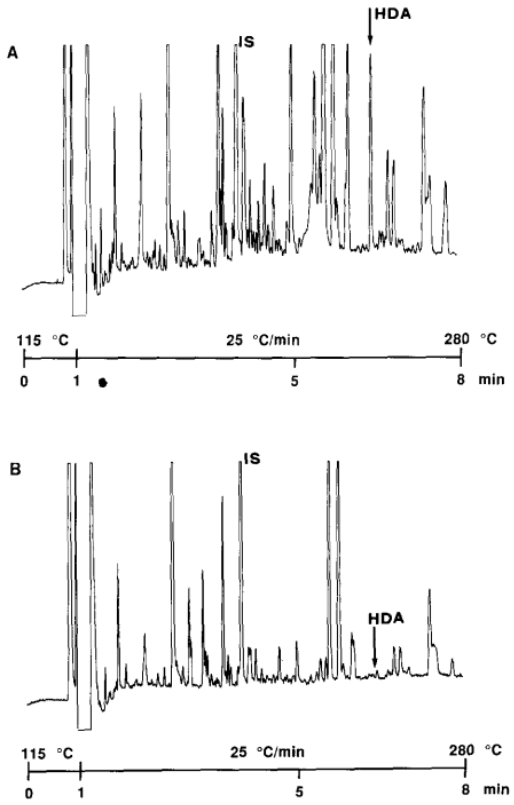


Рисунок 1.11 – Хроматограммы содержания гексаметилендиамина обработанного этилхлорформиатом (А) и холостой образец (В) с использованием ГХ с термоионным специфическим детектированием

Калибровочный график зависимости отношения площадей хроматографических пиков относительно внутреннего стандарта и концентрации производных ГМДА с этилхлорформиатом в диапазоне от 10 мкг/л до 350 мкг/л, полученный с помощью ГХ с термоионным специфическим детектированием, представлен на рисунке 1.12. Коэффициент корреляции для серии из шести концентраций составил 0,9998.

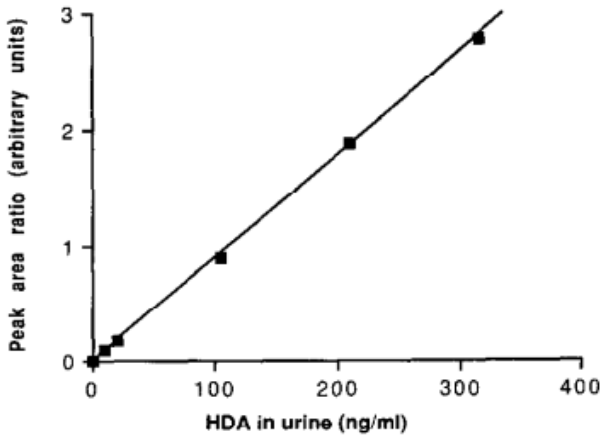


Рисунок 1.12 – Калибровочный график для ГМДА в моче человека

Метод также применим для определения диизоцианатов в воздухе с использованием импинджера и кислого водного раствора для отбора проб.

В работе [40] авторами представлен метод определения ГМДА в гидролизованной моче методом ГХ с МС детектированием. Метод основан на реакции дериватизации с гептафтормасляным ангидридом с образованием соответствующего амида. Определение проводили с помощью ГХ выбранных ионов в режиме химической ионизации с аммиаком в качестве газа-реагента. Предел обнаружения составил 0,5 мкг/л. В качестве внутреннего стандарта использовали меченный дейтерием гексаметилендиамин.

Использовали квадрупольный МС Shimadzu GCMS-QP 1000 EI/CI, подключенный к газовому хроматографу Shimadzu GC-9A. Начальная температура термостата колонки составляла 100 °С (близка к температуре кипения растворителя) с выдержкой 2 минуты, далее нагревали колонку со скоростью 30 °С/мин до 280 °С с выдержкой в течение 1 минуты. Источник ионов поддерживали при температуре 250 °С. Химическая ионизация проводилась с использованием аммиака или изобутана в качестве газов реагентов. Пробу объемом 4 мкл вводили в хроматографическую систему в режиме без деления при температуре испарителя 250 °С. В качестве газа-носителя использовали гелий. Для разделения использовалась капиллярная колонка DB-5 длиной 30 м, внутренним диаметром 0,24 мм и толщиной неподвижной фазы 0,25 мкм.

Для получения продукта взаимодействия 0,2 г (1,6 ммоль) ГМДА и 1,6 г гептафтормасляного ангидрида растворяли в этилацетате и нагревали при температуре 50 °С в течение 10 минут. После охлаждения до комнатной температуры избыток реагентов и выделившиеся кислоты экстрагировали 1 М фосфатным буферным раствором (pH = 7,0) и органическую фазу элюировали через колонку с диоксидом кремния и испаряли до образование осадка. Стандартные растворы производных готовили растворением точных навесок в толуоле и затем дополнительно разбавляли толуолом до соответствующих концентраций.

К образцу мочи объемом 2 $см^3$ добавляли 1,5 $см^3$ 6 М HCl и 1,5 $см^3$ 6 М HCl содержащий внутренний стандарт концентрацией 6 мкг/л. Смесь нагревали при 100 °С в течение ночи для гидролиза. После охлаждения до комнатной температуры 2 $см^3$ пробы переносили в пробирку и добавляли 4 $см^3$ насыщенного гидроксида натрия и 3 $см^3$ толуола, встряхивали в течение 5 минут. Затем образец центрифугировали при 1500g в течение 10 минут. После разделения фаз 2 $см^3$ органического слоя переносили в пробирки объемом 10 $см^3$ и добавляли 20 мкл гептафтормасляного ангидрида. Полученную смесь встряхивали интенсивно в течение 5 минут. Избыток реагента и образовавшуюся кислоту экстрагировали 1 М фосфатным буферным раствором (pH = 7,0). Толуольную фазу переносили в колбу и выпаривали до сухого остатка на ротационном испарители при температуре 30 °С и далее его растворяли в 50 мкл толуола.

Использовались два метода ионизации: электронный удар и химическая ионизация. Было выявлено, что электронный удар обладает меньшей чувствительностью для получения приемлемого спектра, по сравнению с химической ионизацией (рисунок 1.13).

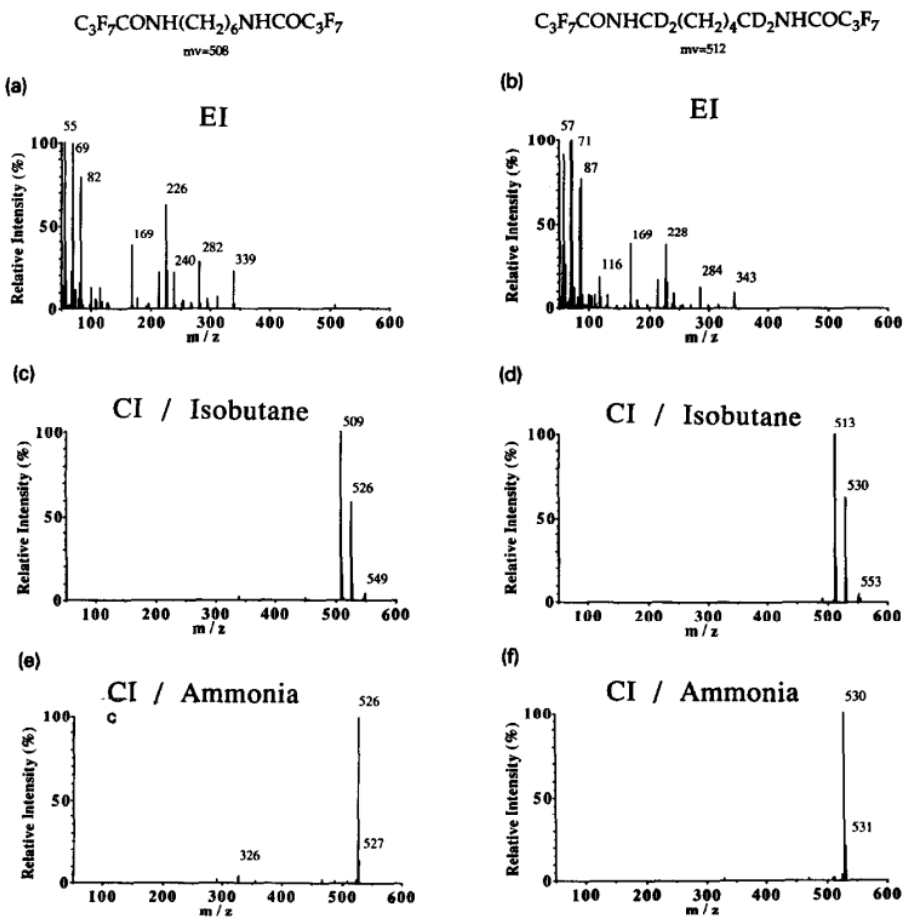


Рисунок 1.13 – Масс-спектры, полученные электронным ударом (a, b), химической ионизацией изобутаном (c, d) и аммиаком (e, f), mv = 512 г/моль

При использовании аммиака в качестве газа-реагента для химической ионизации наиболее распространенными ионами были M+18 (m/z 526 и 530) для амидов – продуктов реакции с гептафтормасляным ангидридом и гексаметилендиамином/дейтрированым гексаметилендиамином. При использовании в качестве газа-реагента изобутана наиболее распространенными ионами были M+1 (m/z 509 и 513). Более высокую чувствительность, примерно в 10 раз, показало использование аммиака в качестве газа-реагента (рисунок 1.14).

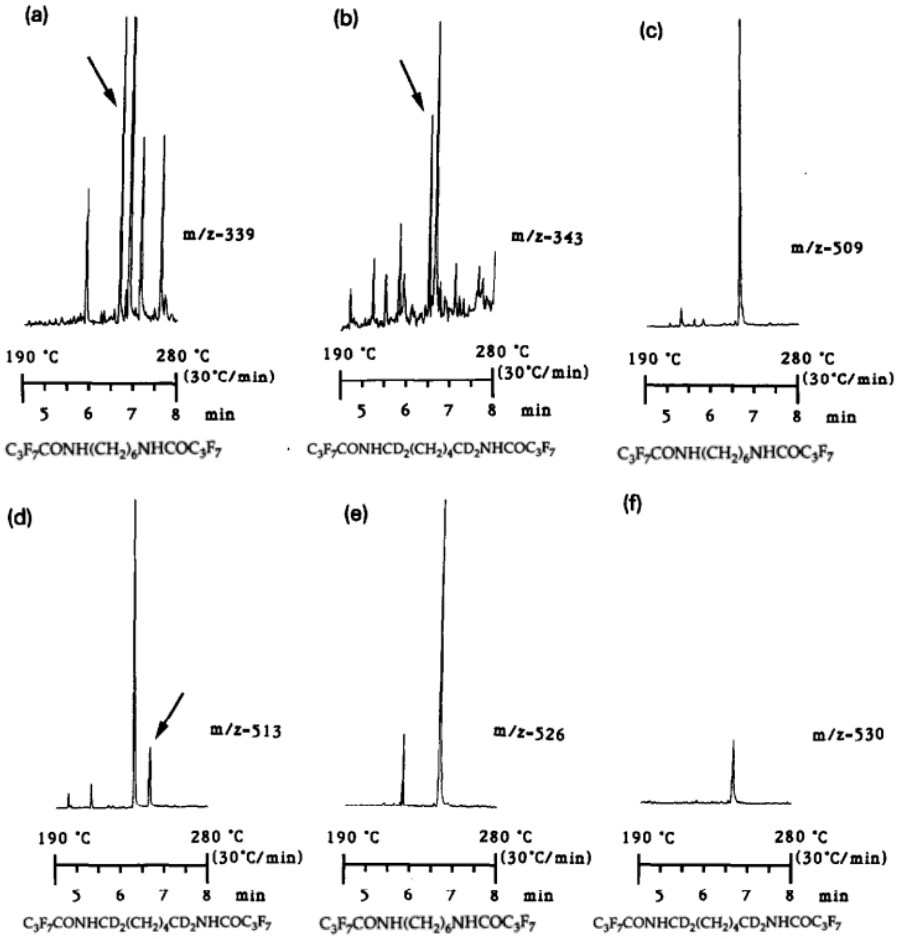


Рисунок 1.14 – Хроматограммы образцов мочи с использованием электронного удара (a, b) и химической ионизации (c, d, e, f)

Определение ГМДА в моче методом ГХ с МС детектированием также описаны в работе [41]. Описанный аналитический метод позволяет одновременно определять в моче человека метаболиты гексаметилендиизоцианата, 2,4- и 2,6-толуолдиизоцианата, изофорондиизоцианата и метилендифенилдиизоцианата. После кислотного гидролиза выделившиеся амины гексаметилендиамин, 2,4- и 2,6-толуилендиамин, изофорондиамин и метилендианилин экстрагируются из мочи и дериватизируются с использованием гептафтормасляного ангидрида. Производные разделяют с помощью ГХ на капиллярной колонке и детектируют масс-чувствительным детектором (далее – МС) с использованием выбранного режима ионного мониторинга с отрицательной химической ионизацией. Калибровка проводится с использованием образцов мочи с добавками аналитов, которые обрабатываются и анализируются так же, как и неизвестные образцы. Предел количественного обнаружения для ГМДА составлял 0,7 мкг/л.

Для анализа образец объемом 2 см^3 пипеткой переносят в пробирку емкостью 10 см^3. В каждую пробирку добавляют по 100 мкл рабочего раствора внутренних стандартов, а затем концентрированную серную кислоту (200 мкл). Пробирки закрывают крышками, тщательно перемешивают и затем помещают на водяную баню (>98°C) для гидролиза.

Через 90 минут пробирки вынимают и дают остыть до комнатной температуры. В каждую пробирку добавляют раствор гидроксида натрия (10 М, 2 $см^3$) и снова перемешивают. Затем в каждую пробирку добавляют диэтиловый эфир (4 $см^3$). Наконец, пробирки закрывают крышками и тщательно перемешивают на вращающемся барабане в течение 20 минут с последующим центрифугированием (2200×g) в течение 5 минут. Затем примерно 3 $см^3$ надосадочной жидкости переносят в чистую пробирку и выпаривают досуха под слабым током азота (<50 мл/мин при 30–40 °С). Остаток в пробирке растворяют в толуоле (200 мкл) и дериватизируют гептафтормасляным ангидридом (20 мкл) в пробирках с крышками при 55°С в течение 1 часа. После охлаждения толуол и избыток дериватизирующего агента удаляют слабым током азота со скоростью потока < 50 мл/мин при 30–40 °С до тех пор, пока остаток не высохнет. Остаток растворяют в толуоле (100 мкл) и анализируют на газовом хроматографе с МС детектированием.

Начальная температура термостата колонки составляла 150 °С с выдержкой 2 минуты, далее нагревали колонку со скоростью 10 °С/мин до 240 °С без выдержки и после снова прогревали колонку со скоростью 20 °С/мин до 300 °С с выдержкой 5 минут. Пробу объемом 2 мкл вводили в испаритель хроматографа в режим без деления при температуре испарителя 350 °С. Температура переходной линии составляла 300 °С. Гелий использовался в качестве газа-носителя со скоростью потока 0,9 $см^3$/мин. Для разделения использовалась капиллярная колонка DB-5 длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм и толщиной неподвижной фазы 1,00 мкм. Обнаружение осуществляется в режиме мониторинга выбранных ионов с использованием отрицательной химической ионизации газом-реагентом метаном. Энергия ионизации составляла 70 эВ, а температура источника 150 °С. Для ГМДА характеристичными ионами являлись m/z = 488, 448, 449 со временем удерживания 10,4 минуты. Хроматограммы содержания ГМДА представлены на рисунке 1.15.

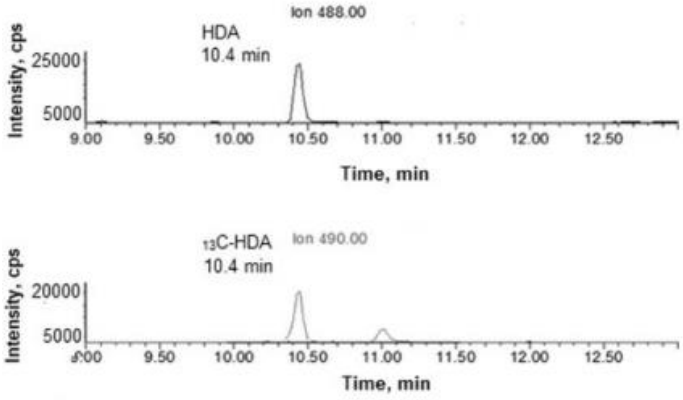


Рисунок 1.15 – Хроматограммы мочи с добавлением 120 нмоль/л гексаметилендиамина

Для определения низких концентраций мономера ГМДА в воде, имитирующей пищевые продукты, из полимерных материалов, контактирующих с пищевыми продуктами, авторами [42] предложена новая методика с применением капиллярной ГХ. Были изучены два методических подхода предварительной дериватизации соединения для ГХ. Первый подход включал в себя преобразование свободного диамина с использованием этилхлорформиата в качестве дериватизирующего агента с последующим анализом полученного диуретана методом ГХ с ПИД и МС. Количество ГМДА определялось методом селективного ионного мониторинга при m/z = 102, нижний предел обнаружения составлял 1 нг. Согласно второму методическому подходу, образцы воды смешивались с хлоридом натрия и экстрагировались толуолом, затем дериватизировались трифторуксусным ангидридом в течение 60 минут при 55 °С до диамида. Далее для удаления избытка дериватизирующего агента добавляли 1 М калий-фосфатный буфер (pH = 7,0) с последующим анализом полученного диамида методом ГХ с применением детектора электронного захвата. Нижнее предельное значение составило 0,01 нг. Конформация уровней ГМДА проводится методом комбинированной ГХ/МС. Количество ГМДА определялось методом селективного ионного мониторинга при m/z = 126, нижний предел обнаружения 0,1 нг. Было выявлено, что оптимальной предварительной дериватизацией является второго подхода для определения низких уровней ГМДА в водных вытяжках. Диапазон измеряемых концентраций 0,005–0,5 мг/дм^3, извлечение 88–101 %, суммарная погрешность измерения 16 %, относительное стандартное отклонение 1,85 %. Методика была апробирована при исследовании водных вытяжек из 10 случайных проб, предназначенных для пищевых продуктов, закупаемых на потребительском рынке.

Изоцианаты – это высокореактивные химикаты, используемые в двухкомпонентных аэрозольных красках, клеях и в производстве полиуретанов. Они также могут выделяться во время резки и сварки материалов. Изоцианаты являются наиболее распространенной причиной профессиональной астмы в национальных и региональных схемах отчетности. Биологический мониторинг имеет потенциал для измерения нагрузки на организм работника, полученной всеми путями воздействия (пероральным, ингаляционным и дермальным). Гексаметиленндиамин был обнаружен в моче (после гидролиза) автомаляров, которые используют аэрозольные краски на основе изоцианатов, и было опубликовано несколько метод анализа в моче.

Известен метод определения ГМДА с помощью ГХ и МС детектора для анализа профессионального воздействия 1,6-гексаметилендиизоцианата, который широко используется в автомобильной ремонтной промышленности и является частой причиной профессиональной астмы у индустриальных групп населения [43]. Биологический

мониторинг воздействия 1,6-гексаметилендиизоцианата в первую очередь включал анализ ГМДА, продукта гидролиза 1,6-гексаметилендиизоцианата, в моче или плазме в качестве маркера воздействия на организм человека. Авторами описан способ количественного определения N-ацетил-1,6-гексаметилендиамина (моноацетил-гексаметилендиамин) и N,N-диацетил-1,6-гексаметилендиамина (диацетил-гексаметилендиамин) в образцах мочи и основного биомаркера ГМДА, предварительно дериватизированных с помощью гетафтормаслянного ангидрита, ГХ с МС. Предел обнаружения диацетил-ГМДА и моноацетил-гексаметилендиамин составляет 1 нг/см^3.

Образцы анализировались с помощью газового хроматографа Thermo GC Ultra, сопряженный с МС с ионной ловушкой PolarisQ в режиме отрицательной химической ионизации. Применялся режим сканирования в диапазоне m/z = 200-600 с использованием метана в качестве газа-реагента (1,8 см^3/мин). Проба объемом 1 мкл вводилась в испаритель хроматографа в режиме без деления в течение 30 секунд при температуре испарителя 220 °С. Разделение проводилось на капиллярной колонке DB-5-MS длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной неподвижной фазы 0,1 мкм. Температура источника ионов и линия передачи газового хроматографа поддерживался на уровне 150 и 260 °С. В качестве газа-носителя использовался гелий с постоянным потоком 1 см^3/мин. Начальная температура режима газового хроматографа составляла 50 °С с выдержкой 1 минута, далее нагревали термостат хроматографа со скоростью 10 °С/мин до 155 °С без выдержки и снова прогревали со скоростью 2 °С/мин до 185 °С без выдержки, достигали конечной температуры 300 °С со скоростью 25 °С/мин с выдержкой 10 минут. Были идентифицированы основные ионы, соответствующие гексаметилендиамину, моноацетил-гексаметилендиамину и диацетил-гексаметилендиамину, а также внутренние стандарты, 1,7-гептандиамин, N-ацетил-1,7-гептандиамин и N,N-диацетил-1,7-гептандиамин. Основные ионы, соответствующие дериватизированному гексаметилендиамину, моноацетил-гексаметилендиамину и диацетил-гексаметилендиамину, имели m/z 448 [M^--H_3F_3], элюирование на 13,9 минуте, 510 [M^--H_2F_2], элюирование на 14,9 минуте, и 552 [M^--H_2F_2], элюирование на 16,0 минуте соответственно (рисунок 1.16).

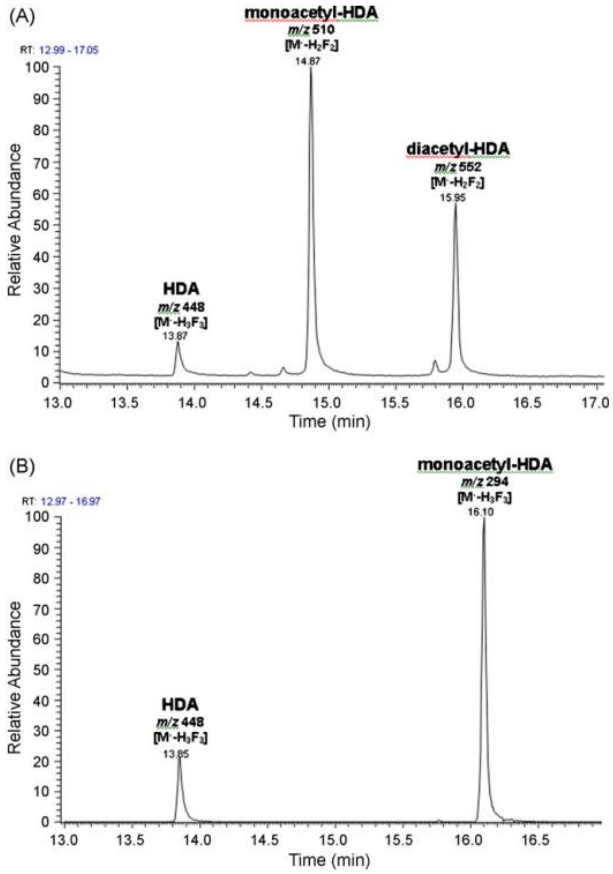


Рисунок 1.16 – Хроматограммы (m/z 200–600) (A) отфильтрованного раствора, содержащего гексаметилендиамин, моноацетил-гексаметилендиамин и диацетил-гексаметилендиамин, синтезированного при молярном соотношении 0,9:1 (уксусный ангидрид к гексаметилендиамну) в этилацетате с использованием времени реакции 2 часа и дериватизации с гептафтормаслянным ангидритом, и (B) дериватизированного экстракта из контрольной мочи, в который добавлена смесь в молярном соотношении 0,9:1 и подвергнутого щелочному гидролизу

Основной ион для внутренних стандартов 1,7-гептандиамин, N-ацетил-1,7-гептандиамин и N,N-диацетил-1,7-гептандиамин в смеси имел m/z 462 [M^--H3F3], время выхода 15,6 минут, 524 [M^--H2F2], время выхода 16,6 минут, и 566 [M^--H2F2], время выхода 17,8 минут, соответственно (рисунок 1.17).

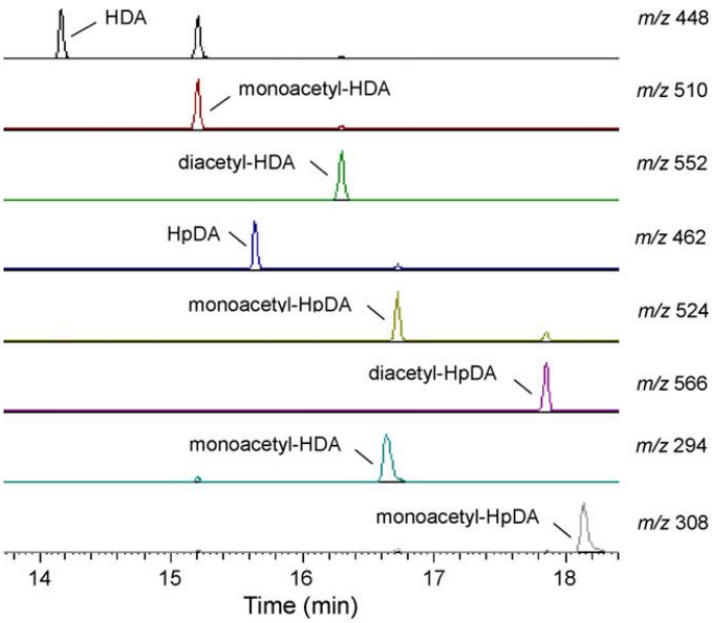


Рисунок 1.17 – Хроматограммы и наиболее распространённый масс-фрагментный ион для каждого амина и внутреннего стандарта в дериватизированном экстракте из контрольного образца мочи, гидролизованного основанием, с добавлением смесей в молярном соотношении 0,9:1 (уксусный ангидрид к гексаметилендиамну)

Масс-спектры для каждого соответствующего стандартного пика отражали последовательные потери атомов водорода (H) и фтора (F) из дериватизированных родительских аминов (гексаметилендиамин = 508 г/моль, моноацетил-гексаметилендиамин = 550 г/моль, диацетил-гексаметилендиамин = 592 г/моль) и аминов внутренних стандартов (1,7-гептандиамин = 522 г/моль, N-ацетил-1,7-гептандиамин = 564 г/моль, N,N-диацетил-1,7-гептандиамин = 606 г/моль). Выбор ионов, использованных при количественной оценке каждого амина, основывался на наиболее распространенном фрагменте иона в масс-спектрах (рисунок 1.18).

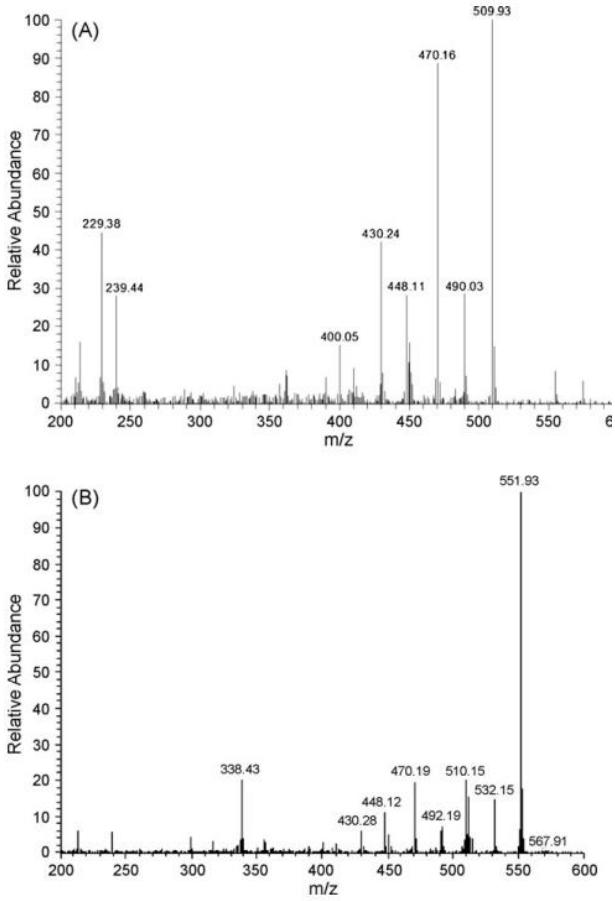


Рисунок 1.18 – Масс-спектры (m/z 200–600) моноацетил-гексаметилендиамина (A) и диацетил-гексаметилендиамина (B) в дериватизированном экстракте из необработанного контрольного образца мочи с добавлением смесей в молярном соотношении 0,9:1 (уксусный ангидрид к гексаметилендиамину или 1,7-гептандиамин)

Высокочувствительные и специфичные аналитические методы для биомаркеров 1,6-гексаметилендиизоцианата позволят улучшить характеристику моделей воздействия и предсказать системное воздействие и дозу, а также улучшить наше понимание взаимосвязи между воздействием и заболеванием.

Воздействие изоцианатов для биологического мониторинга среди рабочих, подвергавшихся воздействию продуктов термической деградации полиуретанов, также описывалось в статье [44]. Амины, полученные из изоцианата, в образцах мочи, гидролизованных кислотой, анализировались как перфторацилированные производные методом ГХ и МС в режиме отрицательной химической ионизации. Пределы количественного определения для ароматических диаминов 2,4- и 2,6-толуилендиамина и 4,4-метилендианилина составили 0,25 нмоль/л, 0,25 нмоль/л и 0,15 нмоль/л соответственно. Пределы количественного определения для алифатических диаминов ГМДА, изофорондиамина и 4,4-диаминодициклогексилметана составил 5 нмоль/л.

Образцы стабилизировали, доведя pH ≤ 4 с помощью серной кислоты–вода (1 + 4). Концентрированную серную кислоту в объеме 100 мкл и внутренние стандарты (900 пг 2,4-d_3- и 2,6-d_3-толуилендиамина и 4200 пг 4,4-d_2-метилендианилина, и d_{12}-гексаметилендиамина в 30 мкл 1 М серной кислоты) добавляли к 1 $см^3$ порции каждого образца мочи, после их выдерживали при 100 °С в течение 16 часов для гидролиза конъюгатов аминов. Далее добавляли хлорид натрия 0,5 г и 4 $см^3$ насыщенного раствора гидроксида натрия, освобожденные амины экстрагировали в толуол (3 × 2 $см^3$). Отделяли органический слой и добавляли 20 мкл гептафтормасляного ангидрита для дериватизации аминов. Избыток ацилирующего реагента удаляли через 30 минут путем экстракции фосфатным буферным раствором (4 $см^3$ 1 М, pH = 7,0). Слой толуола был сохранен и высушен под слабым потоком азота, далее сухой остаток растворяли в 60 мкл этилацетата.

Калибровочные кривые были подготовлены путем добавления стандартов в 1 М серной кислоте в 1 $см^3$ воды, содержащей 100 мкл концентрированной серной кислоты, и последующей обработки этих калибровочных стандартов в соответствии со схемой обработки образцов. Ответ был линейным до 250 нмоль/л.

Анализы проводились на МС Hewlett-Packard 5989A подключенном к газовому хроматографу Hewlett-Packard HP 5890 II. Использовалась капиллярная колонка из плавленого кварца Hewlett-Packard (HP-5 длиной 25 м, внутренним диаметром 0,32 мм и толщиной неподвижной фазы 0,17 мкм) с гелием в качестве газа-носителя при линейной скорости газа 50 см/с при 100 °С. Производные гептафтормаслянного ангидрита анализировались путем работы МС в режиме отрицательной химической ионизации с метаном в качестве газа-реагента. Энергия электронов составляла 230 эВ, а температуры линии переноса, источника ионов и квадруполя составляли 260 °С, 150 °С и 100 °С соответственно. Газовый хроматограф работал в режиме ввода без деления (220 °С, 1 мкл, 30 секунд) со следующей программой температуры колонки: 50 °С в течение 1 минуты, увеличение на 10 °С/мин до 145 °С без выдержки, увеличение на 5 °С/мин до 165 °С без выдержки и дальнейшее увеличение на 25 °С/мин до 300 °С с выдержкой в течение 10 минут. Массовый фрагмент, соответствующий иону M^{-20}, для производного ГМДА соответствует 480,10, время задержки – 40 и время выхода 12,17 минут.

Еще одна методика определение ГМДА в моче после гидролиза с помощью ГХ с МС детектированием представлена авторами в статье [45]. Первый этап обработка пробы мочи заключалась в кислотном гидролизе концентрированной серной кислотой, которую добавляли к образцам в объеме 200 мкл и осуществляли добавку внутреннего образца 1,7-гептандиамина. Далее пробы тщательно перемешивали и выдерживали при температуре

100 °C в течение 90 минут, затем их охлаждали и добавляли 2 $см^3$ раствора гидроксида натрия (10 М). После гидролиза добавляли 4 $см^3$ диэтилового эфира и образцы экстрагировали в течение 20 минут, затем центрифугировали. Около 3 $см^3$ органического слоя переносили и выпаривали досуха под струей азота. Затем образцы ресупендировали в 500 мкл толуола и дериватизировали с 50 мкл гептафтормаслянным ангидритом при 55 °C в течение 1 часа. Затем образцы охлаждали, выпаривали досуха и растворяли в 100 мкл толуола.

Образцы анализировали с помощью ГХ с МС-детектированием с химической ионизацией отрицательными ионами (метан в качестве газа-реагента). Введение образца в испаритель хроматографа проводился в режиме без деления объемом 1 мкл при 350 °C. Для разделения использовалась кварцевая капиллярная колонка BP-5 длиной 25 м, внутренним диаметром 0,32 мм и толщиной неподвижной фазы 1,00 мкм. Температура термостата колонки повышали от 150 °C (первоначально поддерживалась в течение 1 минуты) до 280 °C со скоростью 10 °C/мин с выдержкой в течение 1,5 минуты. Температура переходной линии составляла 280 °C, а источник поддерживался при 200 °C. Анализ проводили с помощью выбранного ионного мониторинга: m/z 449 контролировался для гексаметилендиамина и m/z 462 для 1,7-гептандиамина. Предел обнаружения для гексаметилендиамина составил 5 нмоль/л.

В выше методиках описаны способы определения ГМДА с помощью ГХ и различных способов детектирования в виде амидов перфторуглеродных кислот и карбаматных эфиров. В качестве внутреннего стандарта использовался чаще всего меченный гексаметилендиамин. Далее будут описаны чувствительные и селективные методы определения с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии (далее – ВЭЖХ).

Биологический мониторинг гексаметилен- и изофорондиизоцианата путем определения гексаметилен- и изофорондиамина в гидролизованной моче описан в работе [46]. Использовались ЖХ и МС с термораспылительной ионизацией. Для анализа применялся МС VG-Quattro с тройным квадрупольным насосом, подключенный к жидкостному хроматографу Pharmacia LKB HPLC Pump 2248. Выполнялась инжекция объемом 110 мкл. Температура источника ионов составляла 270 °C, а температура струи термораспылителя составляла 215 °C. Отражатель был установлен на 140 В. Масс-спектры и масс-хроматограммы были получены путем сканирования в диапазоне масс 200-650 с продолжительностью 1,0 секунда (стандартный центроид), а задержка между сканированиями составляла 0,02 секунды. Для количественного анализа контролировались положительные ионы при m/z = 426 и 480, соответствующие ионам $(M+18)^+$ (M =

молекулярный ион) производных гексаметилендиамин-пентафторпропионового ангидрида и изофорондиамин-пентафторпропионового ангидрида соответственно. Также контролировались ионы m/z = 430 тетрадейтерий-меченого гексаметилендиамин-пентафторпропионового ангидрида (внутренний стандарт). Для измерений отрицательных ионов контролировались ионы m/z = 407 и 461, соответствующие ионам $(M-1)^-$ производных гексаметилендиамин- и изофорондиамин-пентафторпропионового ангидрида, соответственно, и ионов m/z = 411 тетрадейтерий-меченого ГМДА. Время пребывания ионов составляло 0,2 секунды, а задержка между сканированиями составляла 0,02 секунды. Давление в источнике ионов поддерживалось приблизительно на уровне 2,5 × 10^{-2} Па (давление считывания источника, а не фактическое давление в ионизационной камере).

Колонка для ЖХ являлась Millipore Waters Nova Pak C_{18} 3,9 мм × 150 мм с частицами 5 мкм. Подвижная фаза представляла собой 0,1 моль/л ацетата аммония в ацетонитриле-метаноле-воде (5,5 + 2 + 2,5) при скорости потока 1 $см^3$/мин с давлением на входе в хроматограф 12 МПа.

Подготовка образцов мочи проходила в несколько этапов. Первым являлся щелочной гидролиз для выделения аминов из соответствующих изоцианатов при добавлении к 1 $см^3$ пробы 1,5 $см^3$ 5 М гидроксида натрия и 50 мкл внутреннего стандарта концентрацией 1 мкг/$см^3$ в 1 М соляной кислоте. Далее смесь нагревали при 100 °С в течение 4 часов. Следующим этапом необходимо было перенести полученные амины в органическую фазу, для этого добавляли 4 $см^3$ насыщенного раствора гидроксида натрия и 3 $см^3$ толуола, встряхивали в течение 10 минут и центрифугировали при 1500g в течение 10 минут. Слой толуола отделяли и переносили в пробирку объемом 10 $см^3$ и добавляли 20 мкл реагента. Раствор встряхивали в течение 10 минут. Избыток реагента и образовавшуюся кислоту экстрагировали в 2 $см^3$ водным фосфатным буферным раствором (pH = 7,5, 1 М) при встряхивании в течение 30 секунд. Слой толуола отделяли. Перед определением методом ЖХ органическую фазу выпаривали досуха при 40 °С. Остаток растворяли в 100 мкл подвижной фазы, которую переносили в пробирку автосамплера объемом 0,3 $см^3$.

В работе были изучены различные дериватизирующие реагенты такие как трифторуксусный ангидрид, пентафторпропионовый ангидрид и гептафтормасляный ангидрид. Все производные показали превосходное хроматографическое поведение. Хроматограммы, показывающие стандарты в толуоле трех производных ГМДА и изофорондиамина, показаны на рисунке 1.19.

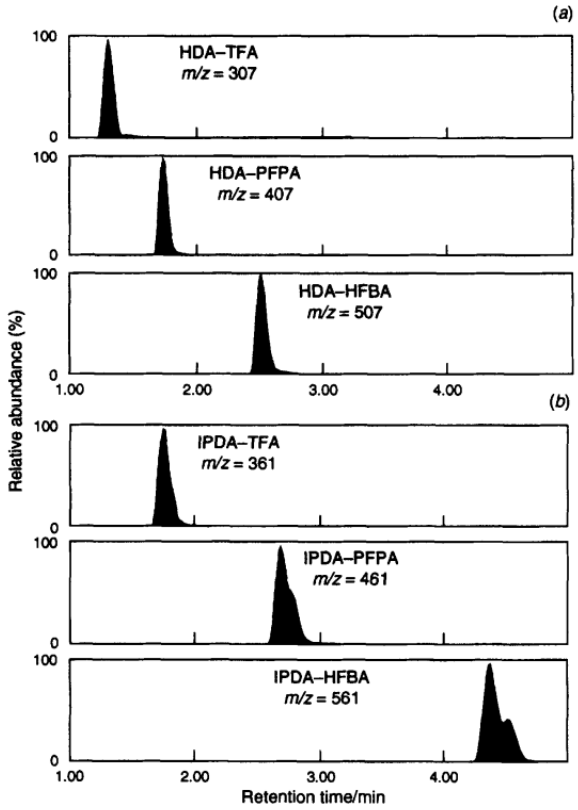
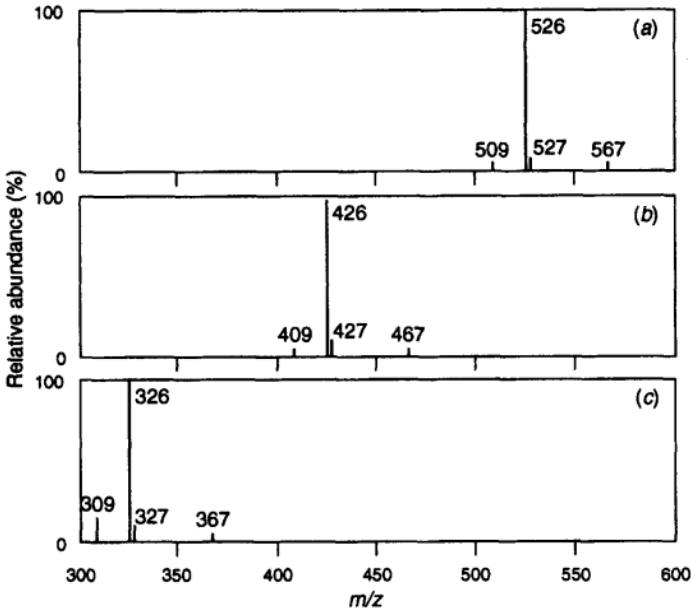


Рисунок 1.19 – Масс-хроматограммы производных трифторуксусной, пентафторпропионовой и гептафтормасляной амидов с (a) гексаметилендиамином и (b) изофорондиамином

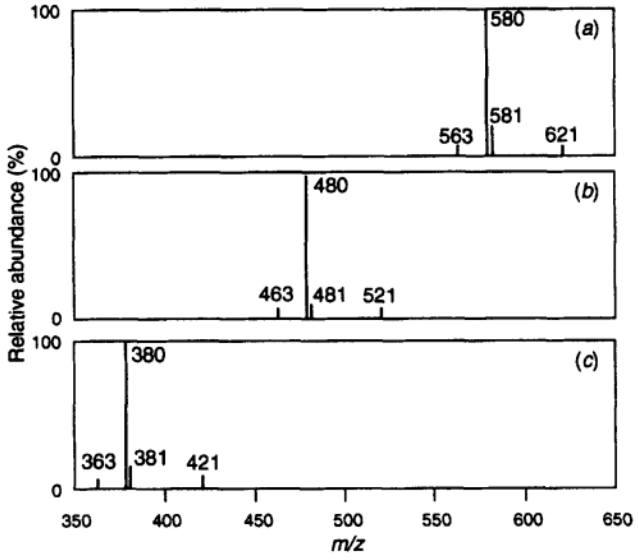
Для запусков термораспылительной ионизации в подвижной фазе должна присутствовать летучая соль, и производитель используемого прибора (VG-Biotech) рекомендовал использовать 0,1 М ацетата аммония. При сравнении подвижных фаз, состоящих из метанол-вода (7,5 + 2,5) с ацетонитрилом-вода (7,5 + 2,5), немного лучшая чувствительность к положительным ионам была достигнута с первой подвижной фазой. При мониторинге отрицательных ионов ацетонитрил-вода показала несколько лучшую чувствительность. Подвижная фаза, содержащая как ацетонитрил, так и метанол, показала хорошую чувствительность как к положительным, так и к отрицательным ионам.

На рисунках 1.20 и 1.21 представлены спектры положительных ионов. Видно очень мало фрагментации. Фрагменты m/z = $(M + 18)^+$ и $(M + NH4^+)$ являются наиболее распространенными для всех шести изученных производных диамина. Полученные масс-спектры весьма похожи на спектры, полученные с помощью ГХ с МС детектированием, с использованием химической ионизации аммиаком с мониторингом положительных ионов.



a – производное гептафтормасляного амида, b – производное пентафторпропионового амида, c – производное трифторуксусного амида

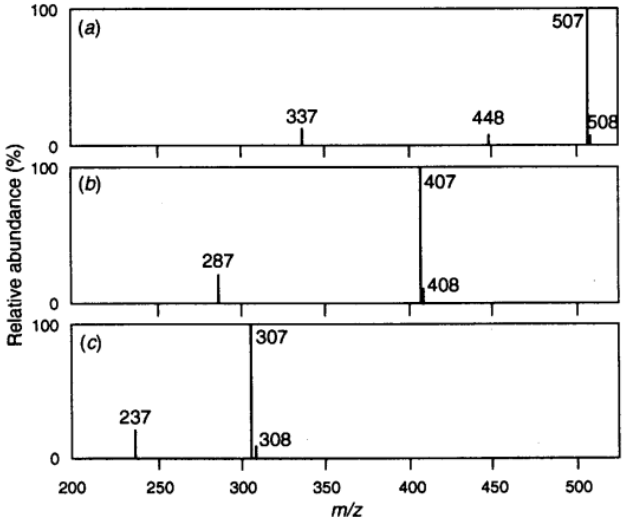
Рисунок 1.20 – Масс-спектры производных гексаметилендиамина с мониторингом положительных ионов:



a – производное гептафтормасляного амида, b – производное пентафторпропионового амида, c – производное трифторуксусного амида

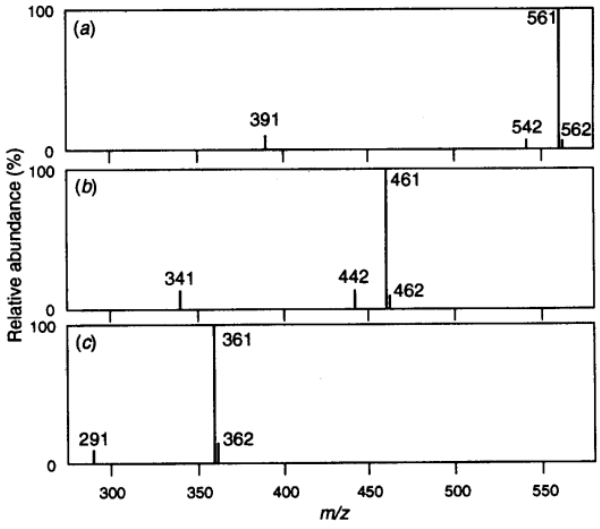
Рисунок 1.21 – Масс-спектры производных изофорондиамина с мониторингом положительных ионов

Масс-спектры мониторинга отрицательных ионов показаны на рисунке 1.22 и 1.23. Наиболее распространенным фрагментом для всех изученных соединений являются ионы m/z = $(M-1)^-$. Сравнивая эти масс-спектры со спектрами, полученными с помощью ГХ с МС детектированием с использованием отрицательной химической ионизации (реагент аммиак) с мониторингом отрицательных ионов наблюдались различные закономерности.



a – производное гептафтормасляного амида, b – производное пентафторпропионового амида, c – производное трифторуксусного амида

Рисунок 1.22 – Масс-спектры производных гексаметилендиамина с мониторингом отрицательных ионов

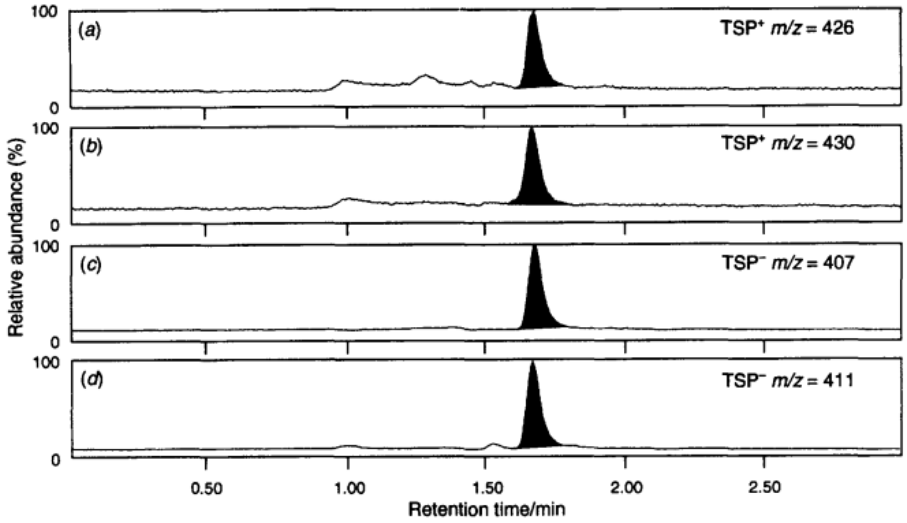


a – производное гептафтормасляного амида, b – производное пентафторпропионового амида, c – производное трифторуксусного амида

Рисунок 1.23 – Масс-спектры производных изофорондиамина с мониторингом отрицательных ионов

Градуировочный график строился по шести различным концентрациям в диапазоне от 2,5 до 20 мкг/л. для этого использовалась образцы мочи обогащенные гексаметилениамином и изофорондиамином. Была получена линейная зависимость с коэффициентом корреляции для ГМДА 0,998 и для изофорондиамина 0,973. Предел обнаружения, определенный как удвоенное отношение сигнал/шум (мониторинг m/z = $(M-1)^-$ фрагментов производных гексаметилендиамин- и изофорондиамин-

пентафторпропионовый ангидрид находился в диапазоне 0,5-1 пг. Хроматограммы образца мочи от работника, подвергшегося воздействию гексаметиленизоцианату, представлена на рисунке 1.24. Концентрация ГМДА в моче меняется со временем и воздействием.



a и b – мониторинг положительных ионов (M+18)+ m/z = 426 и 430 для гексаметилендиамин-пентафторпропионового ангидрида и тетрадейтерий-меченого гексаметилендиамин-пентафторпропионового ангидрида (внутренний стандарт), c и d – мониторинг отрицательных ионов (M–)– m/z = 407 и 411 для гексаметилендиамин-пентафторпропионового ангидрида и тетрадейтерий-меченого гексаметилендиамин-пентафторпропионового ангидрида (внутренний стандарт)

Рисунок 1.24 – Хроматограммы гидролизованной мочи добровольца, подвергшегося воздействию воздуха с концентрацией гексаметилендиамина 25 мкг/м^3 в течение 2 часов

Показано, что использование тетрадейтерированного ГМДА в качестве внутреннего стандарта дает точные определения ГМДА. В этом исследовании данный внутренний стандарт также использовался для изофорондиамина, что привело к трехкратной потере точности. Это указывает на необходимость лучшего внутреннего стандарта. Таким внутренним стандартом, конечно, был бы изофорондиамин, меченый дейтерием.

Было представлено несколько методов определения алифатических диаминов, в том числе ГМДА, в биологическом материале после воздействия изоцианатов. Применялась ГХ с селективным детектированием азота или с селективным ионным мониторингом производных перфторуглеродной кислотой, карбаматных эфиров этилхлорформиата и триэфтилхлорформиата, а также были продемонстрированы методы ЖХ с МС с использованием термораспыления и селективным ионным мониторингом. Данные методы были рассмотрены в статье [47] анализирующая воздействие 1,6-гексаметилендиизоцианата и изофорондиизоцианата на человека в испытательной камере,

с последующим определением ГМДА в образцах мочи и крови, гидролизованного в щелочных условия.

Образцы воздуха отбирались внутри камеры экспозиции с помощью двух колб импинжера содержащие 10 $см^3$ раствора 9-(N-метиламино-метил)-антрацена гидрохлорида концентрацией 1×10^{-4} моль/л в толуоле при потоке воздуха 1 л/минуту в течение 30 минут. Для определения ГМДА использовался метод ЖХ с фотометрическим детектированием в ультрафиолетовой области.

Образцы биологического материала были гидролизованы для высвобождения диамина и после использовали два различных метода обработки. Первый (метод А) был основан на двухфазной процедуре дериватизации с использованием трифторированного этилхлорформиата с образованием соответствующего эфира карбамата. Для первого метода используются в основном ГХ с ТИД или/и МС-детектором. Второй (метод В) был основан на процедуре дериватизации с использованием пентафторпропионового ангидрида с образованием соответствующего амида. В основном для данного способа обработки используется ЖХ с МС детектированием.

Метод А с щелочным гидролизом: к образцу мочи объемом 1 $см^3$ добавляли 1,5 $см^3$ 5 М гидроксида натрия или 10 М гидроксид натрия. Затем смесь гидролизовали при температуре 100 °С. К образцу добавляли 1 $см^3$ воды, 10 мкл трибутиламина и 2 $см^3$ толуола. Смесь встряхивали в течение 30 секунд перед добавлением 40 мкл 2,2,2-трифторэтилхлорформиат. Затем смесь встряхивали в течение 20 минут. Фазу толуола отделяли и встряхивали в течение 30 секунд с 2 $см^3$ 1 М водным фосфатным буфером (pH = 7,5), а затем выпаривали досуха.

Для определения ГХ с ТИД сухой остаток растворяли в 1 $см^3$ раствора толуола, содержащего около 1 нг/мкл производного изобутилхлорформиата ди-н-бутиламина в качестве внутреннего стандарта.

Для определения ГХ с МС детектированием 50 мкл 6 М соляной кислоты, содержащего тетрадейтерий-меченый гексаметилендиамин (200 нг/$см^3$), добавляли перед гидролизом. Сухой остаток растворяли в 100 мкл толуола.

Метод А с кислотным гидролизом: к образцу мочи объемом 1 $см^3$ добавляли 1,5 $см^3$ 6 М соляной кислоты или 3 М серной кислоты. После стадии гидролиза добавляли 3 $см^3$ 5 М гидроксида натрия. Затем процедура была такой же, как для щелочных условий гидролиза.

Метод В с щелочным гидролизом: к образцу мочи объемом 1 $см^3$ добавляли 1,5 $см^3$ 5 М гидроксида натрия. После этого добавляли 50 мкл 1 М соляной кислоты, содержащего 1 мкг/мл тетрадейтерий-меченый гексаметилендиамин. Смесь нагревали при 100 °С в

течение 4 ч (гидролиз). Затем добавляли 4 $см^3$ насыщенного гидроксида натрия и 3 $см^3$ толуола. Смесь встряхивали в течение примерно 10 минут, а затем центрифугировали при 1500g в течение 10 минут. Слой толуола отделяли и переносили в пробирку объемом 10 $см^3$, добавляли 20 мкл пентафторпропионового ангидрида. Раствор встряхивали в течение 10 минут. Избыток реагента и образовавшуюся кислоту экстрагировали в течение 30 секунд 2 $см^3$ 1 М водного фосфатного буфера (pH = 7,5). Фазу толуола выпаривали досуха. Сухой остаток растворяли в 100 мкл подвижной фазы.

Было выявлено, что значительные потери ГМДА наблюдались в пробах обработанных по кислотному гидролизу. Потери увеличивались со временем. Применение щелочного гидролиза 6 М гидроксидом натрия показало примерно такую же картину. Меньшие потери наблюдались при гидролизе с использованием 3 М гидроксида натрия.

Для ЖХ с МС детектированием использовался квадрупольный МС VG-Quattro в режиме термораспыления, который был подключен к жидкостному хроматографу Pharmacia LKB HPLC Pump 2248. Количественные измерения проводились путем мониторинга отрицательных ионов m/z = $(M–1)^-$. При определении ГМДА отслеживаемыми ионами были ионы m/z = 407 и m/z = 411 производных гексаметилендиамин-пентафторпропионового ангидрида и тетрадейтерий-меченого гексаметилендиамин-пентафторпропионового ангидрида, соответственно. Колонкой являлась Millipore Waters Nova Pak Cs 3,9×150 мм с 5 мкм частицами. Подвижная фаза состояла из 0,1 М ацетата аммония в 55 % ацетонитриле, 20 % метанола и 25 % воды.

Для определений ГХ с МС детектированием, МС был подключен к газовому хроматографу Carlo Erba GC 8000, оснащенному холодным инжектором Grob-type. Прибор использовался в режиме химической ионизации с использованием аммиака в качестве газа-реагента, контролирующего положительные ионы. Измерялись ионы m/z = 386 и m/z = 390, соответствующие ионам $(M+18)^+$ карбаматных эфиров.

Для определения изоцианатов в воздухе использовали ЖХ с фотометрическим детектированием в ультрафиолетовой области (254 нм). Колонка представляла собой Nukleosil C_{18} 5×200 мм с частицами 5 мкм. Подвижная фаза состояла из 70 % ацетонитрила и 30 % воды с 3 % триэтиламином. pH воды доводили до 3,0 фосфорной кислотой. Для разделения фаз использовали центрифугу Sigma 3 E-1. Образцы выпаривали при 400 °C в центрифуге Speed-Vac 290 (Savant, Фармингдейл, Нью-Йорк, США). Отбор проб воздуха проводили с помощью персонального пробоотборника воздуха Gil Air (Gilian Instr Corp, США) и миниатюрных импинжерных колб объемом 30 $см^3$, содержащих 10 $см^3$ поглощающего раствора.

Биологические образцы анализировались с помощью метода B (ЖХ-МС). Линейные калибровочные графики проходили через начало координат, а коэффициенты корреляции составляли 0,998 (гексаметилендиамин) и 0,991 (изофорондиамин). Предел обнаружения, определенный как двойное отношение сигнал/шум, составил около 0,1 мкг/дм^3 в моче. Образцы плазмы анализировали с помощью модифицированного метода B с использованием ГХ-МС вместо ЖХ-МС. Сухой остаток растворяли в 50 мкг/дм^3 толуола перед инъекцией, что давало коэффициент обогащения 2. Предел обнаружения составил < 0,1 мкг/дм^3.

Также метод ГХ с использованием дериватизирующего реагента, 2,2,2-трифторэтилхлорформиата для первичных и вторичных аминов с образованием карбаматных эфиров представлен в работе [48]. Метод применяется для определения ГМДА в водных растворах и моче человека с использованием капиллярной газовой хроматографии. Детектирование проводилось с использованием термоионного специфического детектирования и МС с селективным ионным мониторингом с использованием электронного удара и химической ионизации с аммиаком в качестве газа-реагента, контролирующим как положительные, так и отрицательные ионы. Количественные измерения проводились в режиме химической ионизации. В качестве внутреннего стандарта использовался тетрадейтерий-меченый гексаметилендиамин. В режиме мониторинга положительных ионов измеряли m/z = 386 и 390 соответствующие ионам $(M+18)^+$ (M = молекулярный ион) производных ГМДА. Для измерений отрицательных ионов контролировались ионы m/z = 267 и 271, соответствующие ионам $(M–1)^–$ производных ГМДА. Минимальная определяемая концентрация в моче составила менее 20 мкг/л с использованием ГХ с ТИД и 0,5 мкг/л с использованием ГХ с МС детектированием.

Использовался газовый хроматограф Varian 3500, оснащенный ТИД. Начальная температура инжектора составляла 105 °C в течение 1,2 секунды, затем она была запрограммирована до конечной температуры 280 °C со скоростью на 150 °C/мин с выдержкой в течение 7 минут. Для разделения использовалась кварцевая капиллярная колонка DB-5 длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм и толщиной неподвижной фазы 0,25 мкм. Температура термостата колонки повышали от 105 °C (с выдержкой в течение 1 минуты) до 280 °C со скоростью 25 °C/мин с выдержкой конечной температуре в течение 2 минут. Температура детектора составляла 280 °C, расход газа водорода 3 см^3/мин, воздуха 175 см^3/мин и азота – подпиточного газа 20 см^3/мин.

Использовался МС с тройным квадруполем VG-Quattro, подключенный к газовому хроматографу Carlo Erba GC 8000. Начальная температура термостата колонки была

изотермической при температуре 100 °C в течение 1 минуты, затем ее повышали до 300 °C со скоростью 25 °C/мин, где ее поддерживали в течение 2 минут. Температура источника ионов составляла 250 °C, а температура интерфейса переходной линии 250 °C. Давление гелия на входе в капилляр составляло 1,0 кг/м^3. Задержка растворителя была установлена на 3 минуты. Прибор использовался в режиме электронного удара и химической ионизации с использованием аммиака в качестве газа-реагента, контролируя как положительные, так и отрицательные ионы. Использование неполярной неподвижной фазы с относительно малой толщиной пленки является предпочтительным из-за того, что гексаметилен-диуретан термически разлагается при повышенных температурах.

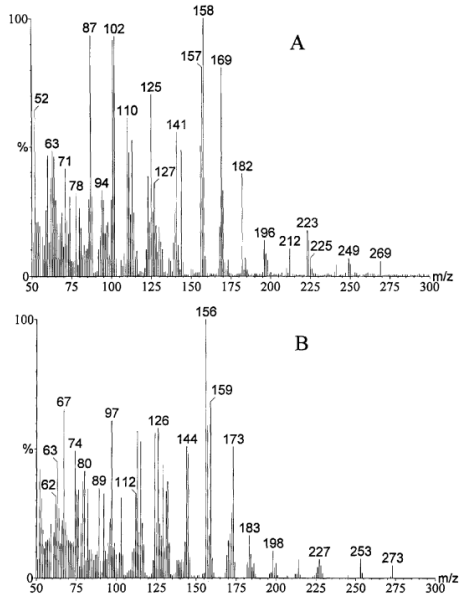
К образцу мочи объемом 1 см^3 добавляли 1,5 см^3 5 М гидроксида натрия и 50 мкл 6 М соляной кислоты, содержащей тетрадейтерий-меченый гексаметилендиамин (10 нг/см^3) (для метода ГХ с ТИД добавляли 1,5 см^3 5 М гидроксида натрия). Смесь нагревали при 100 °C в течение 4 ч (гидролиз). Далее к образцу добавляли 1 см^3 воды, 10 мкл трибутиламина и 2 см^3 толуола. Смесь встряхивали в течение 30 секунд, а затем добавляли 40 мкл трифторированного этилхлорформиата. Затем смесь встряхивали в течение 20 минут при комнатной температуре. Фазу толуола отделяли и встряхивали в течение 30 секунд с 2 см^3 1 М водного фосфатного буфера (pH = 7,5), а затем выпаривали досуха в центрифуге при 40°C. В случае определения ГХ с МС детектором сухой остаток растворяли в 100 мкл толуола. Для определений ГХ с ТИД сухой остаток растворяли в 1 см^3 раствора толуола, содержащего около 1 нг/мкл производного изобутилхлорформиата ди-н-бутиламина, используемого в качестве внутреннего стандарта. Затем анализировали слой толуола. Та же процедура использовалась для водных образцов, где можно было исключить стадию гидролиза.

Выбор pH зависит от основности амина при дериватизация с использованием ангидридов и хлорформиатов. Для того чтобы реакция протекала с разумной скоростью при комнатной температуре, должны присутствовать непротонированные амины. Для двухфазной хлорформиатной дериватизации пиперазина (pK_a = 9,8) было обнаружено, что с фосфатным буферным раствором (pH = 10) и с аммиаком в качестве катализатора реакция завершается менее чем за 5 мин. Для ГМДА (pK_a = 11,9) эта процедура дала неудовлетворительные результаты. Реакция является количественной только при pH > 12.

Аммиак, пиридин и трибутиламин были испытаны в качестве катализаторов для дериватизации ГМДА с 2,2,2-трифторэтилхлорформиатом. Только трибутиламин дал восстановление более 80%. Добавленное количество катализатора варьировалось от 0 до 40 мкл. Влияние добавленного количества было небольшим, но был выбран объем 10 мкл из-за относительно лучшего восстановления реакции и достигнутой точности.

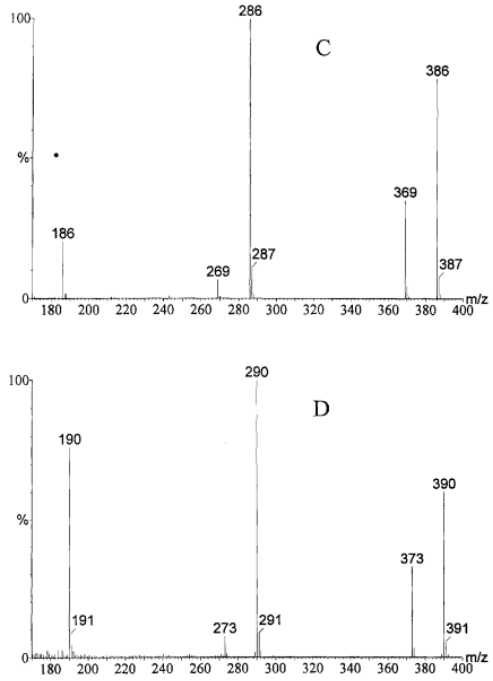
Объем 2,2,2-трифторэтилхлорформиата варьировался, и оптимальный объем для базовой процедуры обработки, соответствующий приблизительно 100% восстановлению, оказался 40 мкл. Более низкое восстановление, обнаруженное при увеличении количества реагента, вероятно, связано с увеличением растворимости производного в водной фазе.

Как видно на рисунках 1.25–1.27, электронный удар производит много фрагментов при более низких значениях m/z. Для алифатического производного ГМДА не было обнаружено молекулярных ионов. Сравнивая спектры двух соединений, можно увидеть значительные различия из-за атомов дейтерия в молекуле. Мониторинг химического ионизации положительных ионов показывает довольно простые и легко интерпретируемые спектры, и наблюдается небольшая фрагментация. Фрагменты m/z $[M+18]^+$, $[M+\ ]^+$, $[M–82]^+$, $[M–99]^+$ и $[M–182]^+$ являются наиболее распространенными ионами.



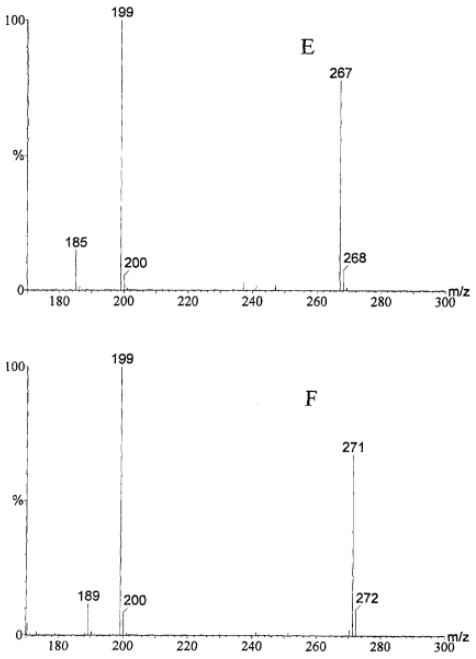
A – гексаметилендиамин, B – тетрадейтерий меченый гексаметилендиамин

Рисунок 1.25 – Масс-спектры гексамтилендиамина и меченого тетрадейтерием гексаметилендиамина в качестве производных трифторэтилхлорформиата полученные с помощью электронного удара с аммиаком, контролирующим положительные и отрицательные ионы



C – гексаметилендиамин, D – тетрадейтерий меченый гексаметилендиамин

Рисунок 1.26 – Масс-спектры гексамтилендиамина и меченого тетрадейтерием гексаметилендиамина в качестве производных трифторэтилхлорформиата полученные с помощью химической ионизации с аммиаком, контролирующим положительные ионы



E – гексаметилендиамин, F – тетрадейтерий меченый гексаметилендиамин

Рисунок 1.27 – Масс-спектры гексамтилендиамина и меченого тетрадейтерием гексаметилендиамина в качестве производных трифторэтилхлорформиата полученные с помощью химической ионизации с аммиаком, контролирующим отрицательные ионы

Калибровочный график с использованием ТИД был линеен в диапазоне концентраций от 100 до 400 мкг/л, с коэффициентом корреляции 0,9982 для серии из 6 концентраций (y = 0,926x + 0,013).

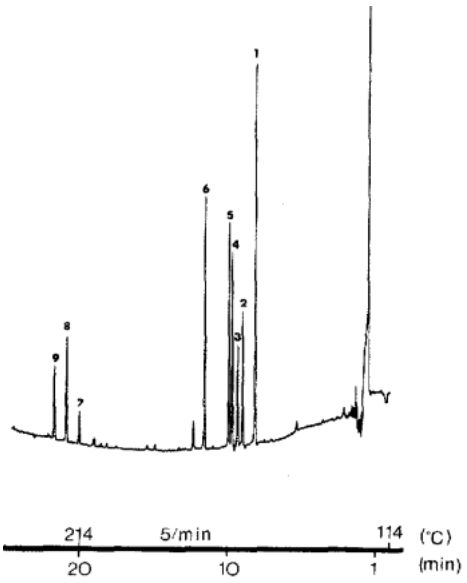
Калибровочный график с использованием МС детектора был линеен в диапазоне от 1 до 10 мкг/л, с коэффициентом корреляции 0,988 (y = 0,0034x + 0,0027) в режиме мониторинга отрицательных ионов для m/z = 267, 271 и 0,992 (y = 0,0031x + 0,0017) в режиме мониторинга положительных ионов для m/z = 386, 390.

Представлен метод анализа следов алифатических и алициклических аминов [43]. Он включает дериватизацию аминов в соответствующие амиды путем реакции с ангидридом перфторуглеродной кислоты. Амины разделяли с помощью стеклянной капиллярной газовой хроматографии и количественно определяли с помощью инъекции в колонку с применением детектора электронного захвата или азотселективного. Пределы обнаружения находились в диапазоне 2–30 фмоль с электронным захватом и в диапазоне 40–60 фмоль с азотселективным обнаружением.

Использовался газовый хроматограф Varian 3700, оснащенный ТИД. Температура детектора составляла 290 °C, расход газа водорода 4 $см^3$/мин, воздуха 180 $см^3$/мин и азота – подпиточного газа 20 $см^3$/мин. Для детектора электронного захвата температура детектора составляла 300 °C. Газом-носителем использовался гелий с входным давлением 0,3 $кг/см^2$.

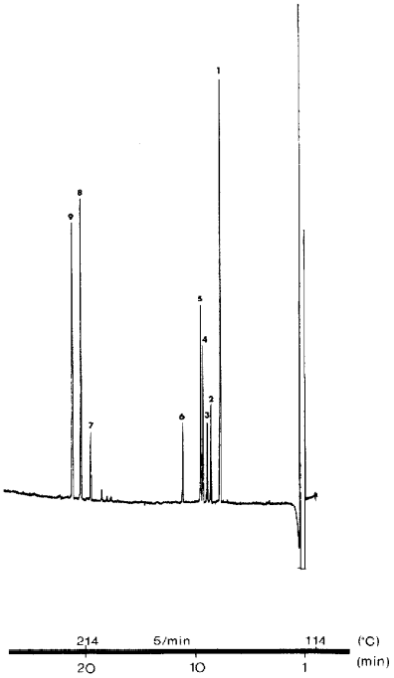
Стандартные растворы амидов готовили путем растворения точно взвешенных количеств аминов в 100 мл 10 % соляной кислоты. К 1 $см^3$ аликвоты этого раствора добавляли 2 $см^3$ насыщенного раствора гидроксида натрия, а затем свободный амин экстрагировали толуолом. К 1 $см^3$ толуольного раствора, содержащего примерно 20 мкг амина, добавляли 60 мкл ангидрид гептафтормасляной кислоты, и через 10 минут при комнатной температуре избыток ангидрида и образовавшуюся кислоту удаляли встряхиванием с 1 $см^3$ фосфатного буферного раствора (pH = 7,0). Затем из этого раствора готовили стандартные растворы амида нужного состава путем разбавления толуолом.

Результаты разделения методом ГХ производных аминов представлены на рисунке 1.28 и 1.29.



Идентификация пиков: 1 – гексаметилендиамин, 2,4 – тетрадейтрированый меченный гексаметилендиамин

Рисунок 1.28 – Хроматограммы производных аминов с применением детектора электронного захват



Идентификация пиков: 1 – гексаметилендиамин, 2,4 – тетрадейтрированый меченный гексаметилендиамин

Рисунок 1.29 – Хроматограммы производных аминов с применением ТИД

С использованием ионизации электронным ударом для производного ГМДА с гептафтормасляным ангидридом получили ионы CF_3^+, $C_2F_5^+$ и $C_3F_7^+$ с m/e 69, 119 и 169,

соответственно. Среди ионов $(M–X)^+$ обнаружены ионы с X = C_3F_7 (m/e 339), C_3F_7CO (m/e 311), C_3F_7CONH (m/e 296) и $2C_3F_7CO$ (m/e 114) (рисунок 1.30).

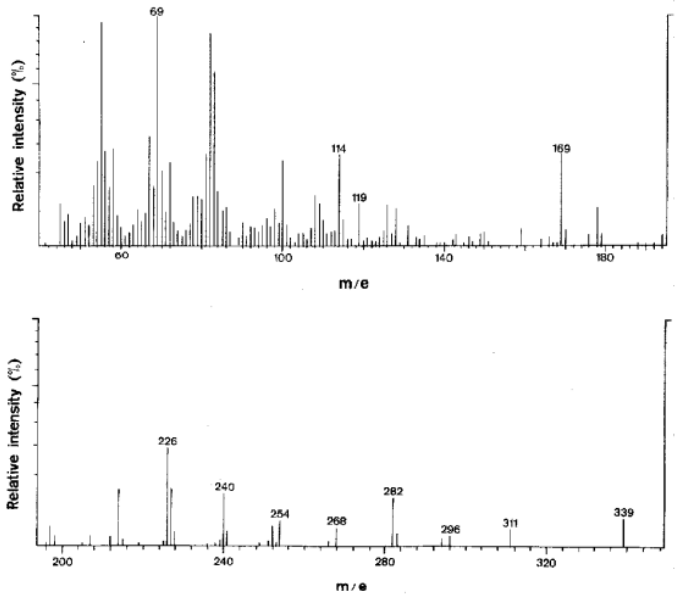


Рисунок 1.30 – Масс-спектр производного гексаметилендиамина, полученный с помощью ионизацией электронным ударом

Ионы с m/e 282, 296 и 339 также появляются в масс-спектре с применением химической ионизации (рисунок 1.31).

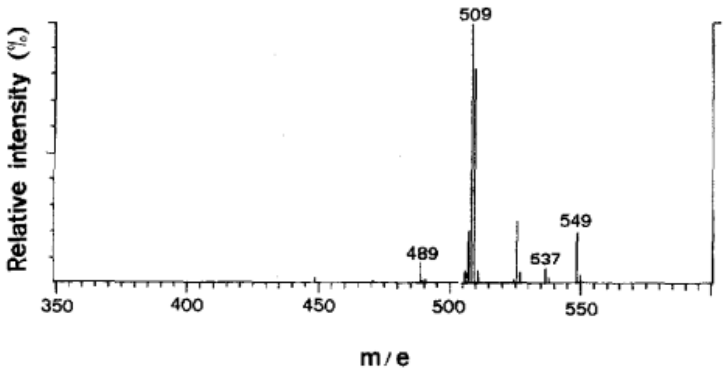


Рисунок 1.31 – Масс-спектры производного гексаметилендиамина, полученные с помощью химической ионизации

Авторами [50] представлено исследование для изучения и одновременного определения трех диаминов гексаметилендиамин, 4,4-метилендиамин и изофорондиамин в образцах мочи с применением тандемной МС и ЖХ для биомониторинга воздействия изоцианатов. Предел обнаружения для гексаметилендиамин, 4,4-метилендиамин и изофорондиамин составил 0,074, 0,059 и 0,053 нг/см^3.

Для обработки образцов мочи берут 250 мкл пробы и добавляют 100 мкл 6 М соляной кислоты и 650 мкл воды, хорошо встряхивают. Образцы нагревали при

температуре 80 °С на 4 часа. Затем образцы охлаждали до комнатной температуры. Регулировали pH с помощью 500 мкл 1 М гидроксида натрия перед выполнением твердофазной микроэкстракции (ТФЭ). Активировали колонку ТФЭ с помощью 1 $см^3$ метиловым спиртом и 1 $см^3$ воды. Загружали колонку 1,5 $см^3$ образца и промывали о примесей 1 $см^3$ вода и метилового спирта. Элюировали аналиты раствором гидроксида аммония с концентрацией 5 % и 10 %, смешанным с метиловым спиртом. Затем образец концентрировали досуха газообразным N_2 при 60 °С. Остаток растворяли в 1 $см^3$ водного раствора: MeOH (95:5; по объему), содержащего 0,1 % ангидрида гептафтормасляной кислоты, и затем анализировали ЖХ с тандемная МС.

Просмотр материнских и дочерних ионов проводится в автоматическом режиме обзора с бомбардировкой родительского молекулярного иона в дочерние ионы. Для каждого вещества были выбраны два дочерних иона, дочерний ион с большей интенсивностью использовался для количественного определения, а ион с меньшей интенсивностью использовался для подтверждения, результаты представлены в таблице 1.2.

Таблица 1.2 – Условия тандемной МС для анализа ГМДА, 4,4-метилендиамина и изофорондиамина

Аналит	Молекулярная масса	Энергия бомбордировки (E)	Энергия бомбордировки фрагментов (V)	Родительский ион (M+1) (m/z)	Дочерний ион (m/z)
гексаметилендиамин	116,1	9	81	117,1	100,1*
		17	81		55,0
4,4-метилендиамин	198,2	25	128	199,2	106,0*
		25	128		182,1
изофорондиамина	170,1	10	102	171,1	154,4*
		22	102		95,4
* ионы для количественного определения					

В ЖХ-МС подвижная фаза влияет не только на разделение веществ, но и на процесс ионизации и сигнал аналита. При методе ионизации электрораспылением в режиме положительных ионов процесс ионизации усиливается при добавлении ионоспаривающих веществ, таких как гептафтормасляная кислота (далее – ГФМК), трифторуксусная кислота (далее – ТФК), пентафторпропионовый ангидрид (далее – ПФПА), муравьиная кислота. Поэтому эти вещества добавляли к раствору подвижной фазы одно за другим для исследования эффективности разделения со смешанным стандартным раствором ГМДА, 4,4-метилендиамина и изофорондиамина концентрацией 25 нг/мл.

Компоненты подвижной фазы, использованные в исследовании: канал В – ацетонитрил и метиловый спирт соответственно; канал А представляет собой соответственно 0,1% ГФМК, 0,1% ТФК, 0,1% муравьиной кислоты в воде. Результаты показаны на рисунке 1.32.

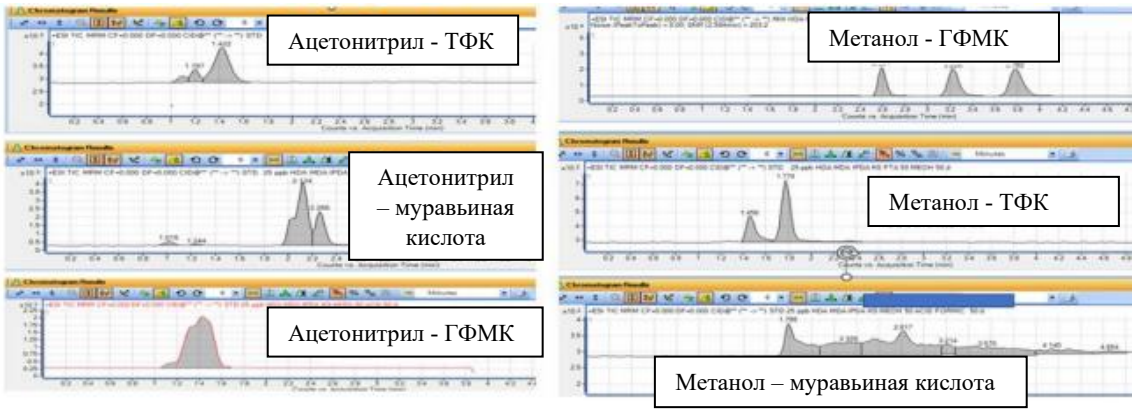
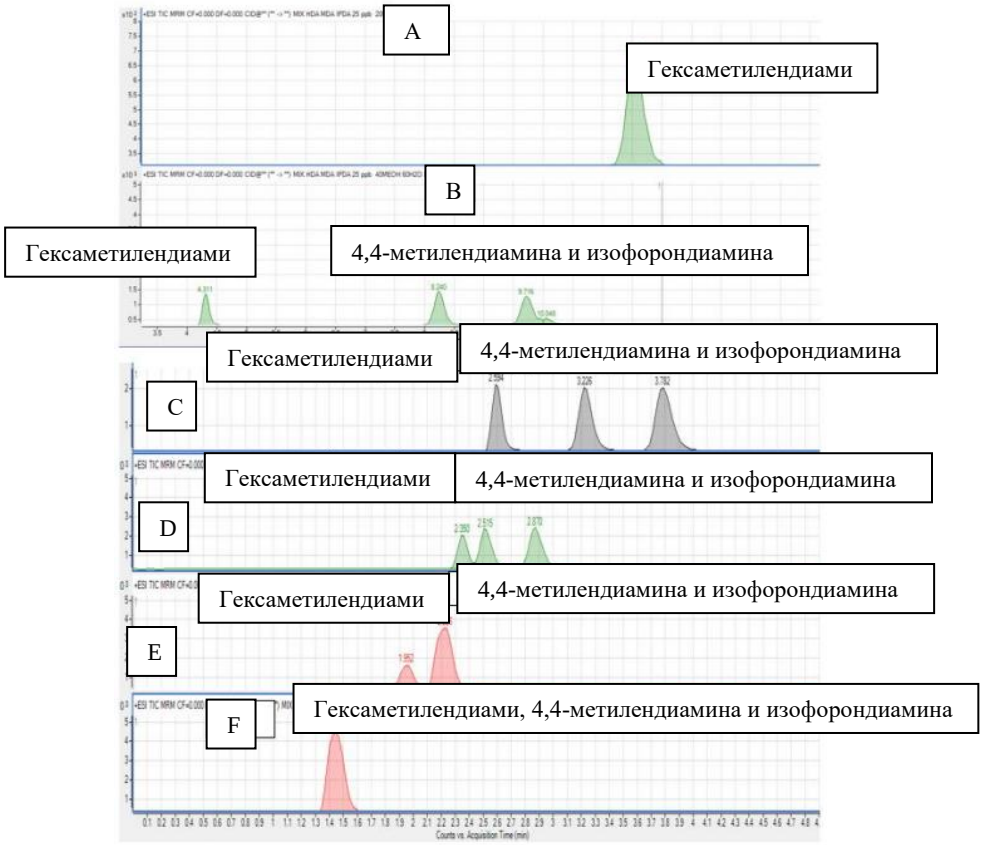


Рисунок 1.32 – Результаты исследования состава подвижной фазы

Для дальнейших исследований была выбрана подвижная фаза метилового спирта с добавлением 0,1% ГФМК в воде, обеспечивающая короткое время удерживания и максимальную площадь пика, что повышало чувствительность метода.

После выбора подходящего состава подвижной фазы исследования о влияние полярности путем регулирования соотношения состава подвижной фазы метилового спирта с добавлением 0,1% ГФМК в воде представлены на рисунке 1.32. Эксперимент A – 20-80 %; B – 40-60%; C – 50-50%; D – 55-45%; E – 60-40%, F – 80-20%.



A – 20-80 %; B – 40-60%; C – 50-50%; D – 55-45%; E – 60-40%, F – 80-20%

Рисунок 1.33 – Хроматограммы результатов исследования влияние соотношения растворителей на анализ аналитов

Результаты исследования на рисунке 1.33 показывают, что при анализе в изократическом режиме при соотношении метилового спирта с добавлением 0,1% ГФМК в воде (50:50 – С) получаются большие сигналы аналита с хорошим разрешением при коротком времени удерживания. Поэтому именно это соотношение растворителей было выбрано для последующих экспериментов.

Растворы, использованные для построения стандартной кривой, получали разбавлением исходных стандартных растворов. Каждую точку анализируют повторно 3 раза, полученная средняя площадь пика служила данными для построения стандартной кривой зависимости площади пика от концентрации. Строили 7-точечную стандартную кривую для определения ГМДА, 4,4-метилендиамина и изофорондиамина в диапазоне концентраций от 0,50 до 100,0 нг/см^3. Результаты показаны в таблице 1.3.

Таблица 1.3 – Результаты построения калибровочного графика для гексаметилендиамина, 4,4-метилендиамина и изофорондиамина с помощью тандемной МС и ЖХ

Аналиты	Уравнение регрессии y = a + bx	Коэффициент корреляции R^2	Диапазон концентраций, нг/см^3
гексаметилендиамин	y = 60,8 + 367,9x	0,9998	0,50-100,0
4,4-метилендиамин	y = -69,0 + 914,7x	0,9999	
изофорондиамина	y = 105,7 + 704,9x	0,9999	

На основе установленной стандартной кривой предел обнаружения (ПО) и предел количественного определения (ПКО) метода определяли путем повторения анализа 6 раз при концентрации добавления 0,5 нг/см^3 на пустой матрице. Полученные результаты представлены в таблице 1.4.

Таблицы 1.4 – Предел обнаружения и предел количественного определения метода

Аналиты	ПО (нг/см^3)	ПКО (нг/см^3)
гексаметилендиамин	0,074	0,24
4,4-метилендиамин	0,059	0,19
изофорондиамина	0,053	0,18

Заслуживает рассмотрения также опыт по определение примеси ГМДА в полимерном биоцидном материале методом ВЭЖХ [51].

Хорошо известно, что, отсутствие у ГМДА хромофорных групп затрудняет его выявление при помощи наиболее распространенных диодно-матричных и УФ-детекторов. Одним из решений данной проблемы, позволяющим проводить непосредственное обнаружение аминов в сложных смесях, является использование дериватизирующих агентов. Широкое распространение в качестве дериватизирующих агентов, используемых при проведении анализа аминокислот и аминов, получили 9-флуоренилметилхлорформиат (ФМОХ) [52] и о-фталевый альдегид [53]. Учеными в ходе предварительных экспериментов, которые включали дериватизацию ГМДА указанными

агентами, была установлена недостаточная стабильность комплекса гексаметилендиами – о-фталевый альдегид в условиях проведения хроматографического анализа. Комплекс гексаметилендиамин–ФМОХ напротив оказался стабилен в течение 10–15 мин после приготовления и позволяет проводить количественное определение с использованием диодно-матричного детектора. В данном случае процесс дериватизации был довольно прост и заключался во внесении 0,1 $см^3$ ФМОХ с концентрацией 1 $мг/см^3$ к 1 $см^3$ стандартного или анализируемого образца непосредственно перед анализом. Раствор дериватизирующего агента был приготовлен в ацетонитриле.

Анализ содержания ГМДА в анализируемых пробах проводили путем хроматографического разделения на колонке OTU TriKala C18, размером 4,6 × 150 мм, заполненной сорбентом с размером частиц 5 мкм и УФ-детектированием. В качестве подвижной фазы А использовали очищенную воду, а в качестве подвижной фазы В – ацетонитрил для градиентной хроматографии. Элюировании образцов проводили при 30 ºС в градиентном режиме, объем вводимой пробы составлял 50,0 мкл, время анализа – 25 мин. Программа градиента приведена в таблице 1.5.

Таблица 1.5 – Программа градиента

Время (мин)	% подвижной фазы А	% подвижной фазы В
0	40	60
1,0	40	60
10,0	90	10
16,0	90	10
17,0	40	60
25,0	40	60

На рисунке 1.34 представлены хроматограммы раствора для идентификации пиков ФМОХ–ОН, ФМОХ–Cl, ФМОХ–гексаметилендиамин и испытуемого раствора полигексагуанидина (дплее – ПГМГ) гидрохлорида. На хроматограмме раствора для идентификации присутствует четкий пик комплекса ФМОХ – гексаметилендиамин с временем удерживания 13,35–13,40 минут, который не перекрывается с другими пиками.

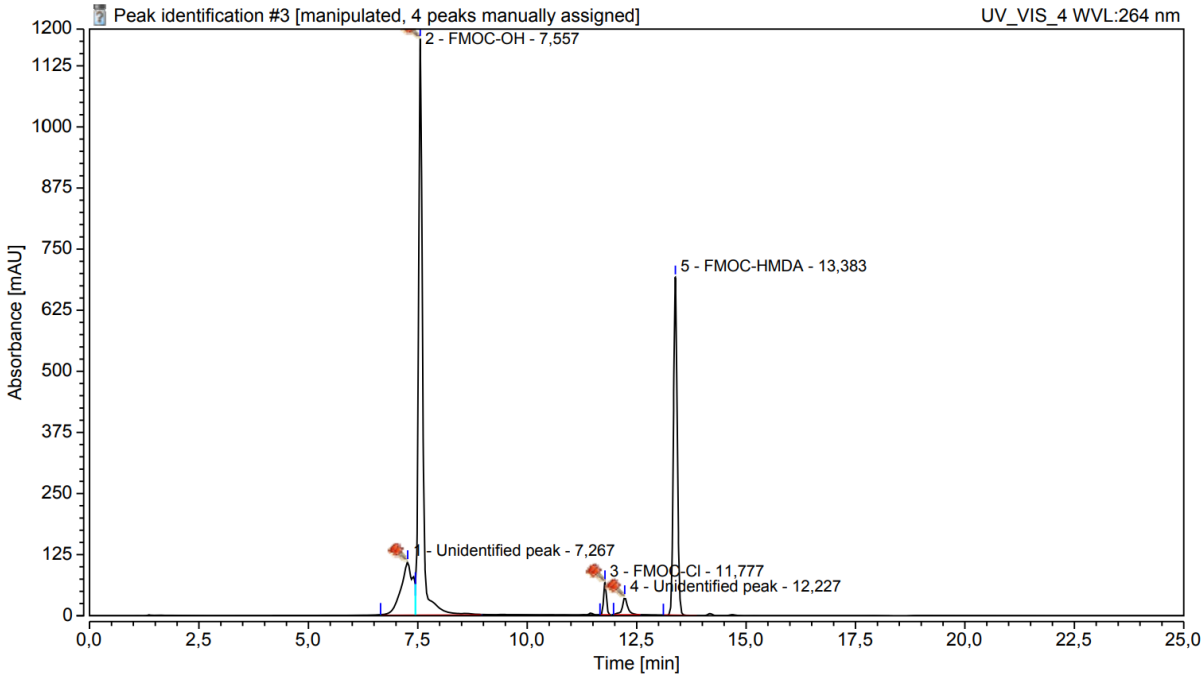


Рисунок 1.34 – Хроматограмма раствора для идентификации пиков ФМОХ–ОН, ФМОХ–Cl, ФМОХ–гексаметилендиамин

ПО и ПКО определяли на основании отношения сигнал/шум для пика ФМОХ–гексаметилендиамин. За ПО методики принимали концентрацию ГМДА при которой отношение сигнал/шум для пика ФМОХ–гексаметилендиамин было 3 : 1. За ПКО методики принимали концентрацию при которой отношение сигнал/шум для пика ФМОХ–гексаметилендиамин было 10 : 1. Исходя из результатов испытаний и аналитических данных установлено, что данная методика позволяет определять содержание ГМДА на уровне 0,02 мкг/см^3.

Группа ученых по главе с Deepak Bhandari в своей работе описывает количественный высокопроизводительный аналитический метод для одновременного измерения малых алифатических азотистых биомаркеров, в том числе ГМДА, в моче человека. Присутствие данного алифатического диамина в моче является потенциальным биомаркером опасного, экологического воздействия соответствующего ему диизоцианата Из-за высокополярных характеристик гексметилендиамина и аналогичных аминов анализ данных соединений в сложных матрицах образцов является сложной задачей, для решения которой учеными был апробирован метод ВЭЖХ–МС/МС с ионизацией электрораспылением для измерения ГМДА в моче человека [54] (рисунок 1.35).

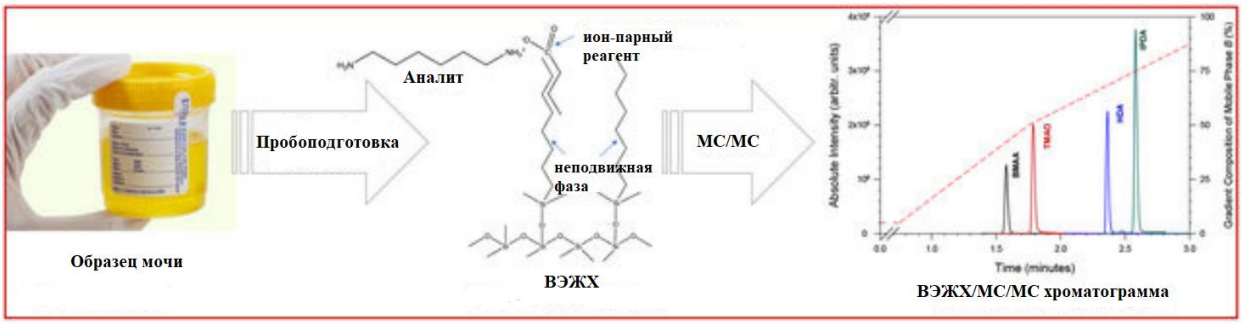


Рисунок 1.35 – Дизайн эксперимента

Хроматографическое разделение в данной работе оптимизировалось с использованием мобильной фазы на основе ГФМК и обращенно-фазной колонки С18. Помимо определения ГМДА данный метод подразумевал определения других маркеров, таких как изофорондиамина, ß-метиламино-L-аланина и триметиламин N-оксида. В экспериментальных исследованиях подготовка образца включала четыре часа кислотного гидролиза с последующей автоматизированной ТФЭ, выполненной с использованием слоя сильного катионообменного сорбента с 7 Н раствором аммиака в метаноле в качестве элюента. Пределы обнаружения составили от 0,05 нг/см^3 до 1,60 нг/см^3. Точность между днями и в течение дня была в пределах 10 %, а воспроизводимость в пределах 15 %.

Пробоподготовка является ключевым элементом любой аналитической методики. Преобразование пробы в формат, совместимый с аналитическим оборудованием, может быть достаточно простым, таким как разбавление или фильтрация, или может включать многоэтапные процедуры обработки образца. Как один из первых этапов в аналитической методике, выбор соответствующего метода пробоподготовки критически важен для получения надежных результатов и, следовательно, требует подробнейшего изучения.

Традиционные методы пробоподготовки требуют значительного вмешательства специалиста, занимают много времени и расходуют большие количества растворителя и/или других расходных материалов. В настоящее время существует потребность в повышенной чувствительности и селективности методов анализа, что привело к поиску более эффективных и экономически выгодных альтернатив для классических подходов изолирования и очистки образцов сложного состава.

Одним из перспективных вариантов пробоподготовки в биоаналитических исследованиях, контроле качества лекарственных средств синтетического и природного происхождения, эколого-фармацевтическом мониторинге является ТФЭ, позволяющая за счет использования сорбентов и подбора условий экстракции осуществлять изолирование и/или очистку аналитов различной химической природы. В качестве сорбентов для ТФЭ используются различные материалы на основе силикагеля, оксида алюминия и

синтетические полимерные сорбенты. В последнее время широко применяются полимерные сорбенты, благодаря их химической стабильности, широкому диапазону физико-химических характеристик и возможности их целенаправленного дизайна, определяющего параметры селективности.

В ТФЭ аналиты, которые должны быть извлечены, разделяются между твердой и жидкой фазами, следовательно, они должны обладать большей способностью к сорбции на твердой фазе, чем к матрице пробы. ТФЭ в основном используется для подготовки жидких проб, но может быть адаптирована для твердых проб, извлеченная с помощью различных растворителей. Известно, что применение ТФЭ на этапе пробоподготовки может снизить нагрузку на дорогостоящее аналитическое оборудование и требования к специалистам [55]. Известно применение различных типов сорбентов для ТФЭ в экологическом мониторинге и биоаналитических исследованиях [56, 57]. Наиболее распространенным вариантом ТФЭ в вышеуказанных аналитических методиках является применение модифицированных силикагелей. В последнее время все более широкое распространения получают сорбенты на основе сверхсшитого полистирола.

Таким образом, пробоподготовка является ключевым элементом аналитической методики. Методы извлечения, очистки и концентрирования особенно важны для количественного определения аналитов в сложных матрицах. ТФЭ на этапе пробоподготовки может быть основой достижения селективности и чувствительности аналитической методики в целом, а ее применение может привести к снижению нагрузки на дорогостоящее аналитическое оборудование и требования к специалистам.

Максимально полное удаление мешающих компонентов при сохранении оптимальной степени извлечения целевого соединения является ключом к успешной разработке методик ТФЭ. Для контроля оптимизации методики необходимо собрать и проанализировать посредством хроматографии элюаты с каждого этапа – от внесения пробы до элюирования (рисунок 1.36).

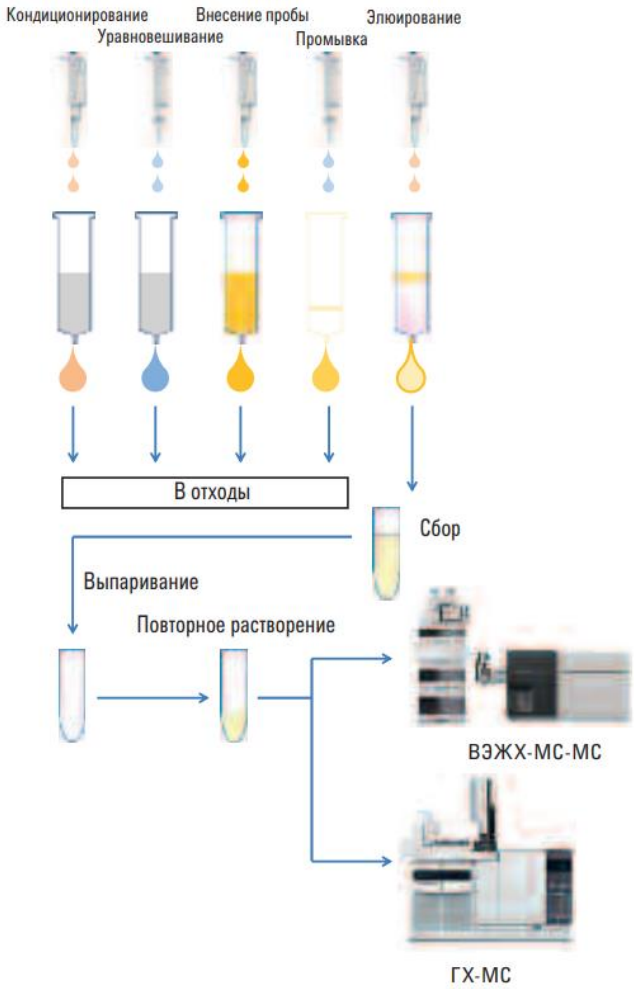


Рисунок 1.36 – Блок-схема анализа проб с помощью ТФЭ

Возвращаясь к эксперименту Deepak Bhandari, в образец мочи для проведения кислотного гидролиза, вносили 6 Н раствор соляной кислоты (конечная концентрация кислоты составляла 0,6 Н), смеси внутреннего стандарта и воду. Раствор образца помещали в термостатируемый блок, инкубировали образцы при 80 °С в течение 4 часов. Раствор охлаждали до комнатной температуры, доводили до значение pH до 1,0 с помощью 1 Н NaOH перед проведением ТФЭ. Для очистки образцов использовались 96-луночные планшеты Strata XC, обладающие сильными катионо-обменными свойствами. Планшеты ТФЭ кондиционировались с использованием метанола, а затем уравновешивались водой. Далее гидролизованные образцы загружались и промывались 0,1 Н HCl кислотой, затем метанолом. На следующем этапе аналиты элюировались дважды 7 Н раствором аммиака в метаноле. После ТФЭ элюенты выпаривали досуха в системе выпаривания в атмосфере азота при 60 °С. Перед анализом проведением хромато-МС анализа высушенные образцы восстанавливали в смеси воды/метанола (95:5 об./об.) содержащей 0,1% ГФМК.

Для проведения МС анализа исследуемые аналиты предварительно подвергали хроматографическому разделению режиме сверхвысокопроизводительной хроматографии

и дальнейшей детекцией с использованием МС с тройным квадруполем, оснащенным источником ESI. Химическое разделение было выполнено с использованием градиента растворителя 0,1% ГФМК в воде. (подвижная фаза А) и 0,1% ГФМК в метаноле (подвижная фаза В), как показано в таблице 1.6. Температуры колонки была установлены на 50 °С и объем анализируемой пробы составил 2 мкл.

Таблица 1.6 – градиентное элюирование при хроматографическом разделении (0,1% HFBA в воде. (подвижная фаза А) и 0,1% HFBA в метаноле (подвижная фаза В)

Время (мин)	Скорость потока (мл/мин)	% подвижной фазы В
0	0,2	5
0,75	0,5	5
1,75	0,5	50
3,25	0,3	95
3,5	0,3	5
5,0	0,2	5

Учеными было показано, что использование ГФМК в качестве ион-парного реагента для ВЭЖХ в сочетании с МС анализом обеспечивает высокую чувствительность, линейность более трех порядков, точность и достоверность в пределах 15 %. Однако дорогостоящая пробоподготовка осложняет повсеместное использование данного подхода.

Maggy Lépine и ее коллегами был предложен метод определения ГМДА, как метоболита и биомаркера при отравлении 1,6-гексаметилендиизоцианатом, который обычно используются в производстве полиуретансодержащих материалов в различных областях применения. В своих исследованиях ученые приняли решение использовать подход МС основываясь на том, что он обладает хорошей селективностью и высокой чувствительностью для анализа этих биомаркеров в сложной матрице [58].

Для реализации поставленной задачи был разработан новый и достоверный метод количественного анализа ГМДА и других метоболитов соединений, выделяемых при производстве полиуритансодержащих материалов в моче человека с использованием ТФЭ на этапе пробоподготовки и очистке образцов мочи, дериватизации целевых соединений с последующим хромато-МС анализом (ВЭЖХ-МС/МС), в режиме ионного мониторинга на МС детекторе типа тройной квадруполь.

В данной работе пробы мочи подвергались кислотному гидролизу, последующей ТФЭ и дериватизации с использованием уксусного ангидрида. Хорошо известно, что гексаметилендиамин является довольно полярной молекулой, что осложняет ее хроматографическое разделение на классических обращеннофазных колонках особенно в сложных многокомпонентных матрицах. Дериватизация в данном случае необходима для надлежащего хроматографического удерживания, последующего разделения смеси и повышения чувствительности определения. В газохроматографическом анализе полярных

соединений низкой летучести для повышения чувствительности и воспроизводимости полярные функциональные группы подвергают превращению в неполярные группы дериватизацией без изменения основной структуры молекулы. Это улучшает хроматографические возможности, улучшает разделение структурно похожих соединений, повышает их летучесть и термическую стабильность, снижает потери при экстракции и в процессе анализа. За счет образования ионов с более высокими массами повышается чувствительность. Дериватизация может служить ряду целей: для облегчения извлечения интересующих соединений из биологических сред; для повышения чувствительности обнаружения; для изменения хроматографических свойств, таких как полярность и форма пика; и/или для изменения времени удерживания на хроматографических колонках, для облегчения разделения интересующих соединений от других веществ в экстракте [59]. Амины и фенолы (но не спирты) могут быть дериватизированы уксусным ангидридом в основных водных условиях и полученные ацетилированные производные более липофильны, чем исходные амины или фенолы, что облегчает экстракцию интересующих соединений в органические растворители. Кроме того амины, фенолы и спирты могут быть дериватизированы уксусным ангидридом в безводных условиях. Также важно, что первичные амины, однажды дериватизированные уксусным ангидридом, часто могут быть далее дериватизированы другим ацилирующим агентом; такие соединения, как было доказано, обладают высокой чувствительностью в аналитических системах ГХ и ГХ с МС детектированием.

Дериватизацию в ГХ применяют для анализа нелетучих или нестабильных соединений, а в жидкостной хроматографии зачастую для анализа низкомолекулярных полярных соединений. Дериватизация также дает более специфичные переходы MRM, по сравнению с недериватизированными соединениями. В данной работе была выбрана реакция с уксусным ангидридом в боратном буфере при значении pH 8,5, поскольку известно, что данный ангидрид дает простую и быструю реакцию со свободными аминами, без необходимости удаления избытка реагента [60].

Ацилирование применяют для деривации и последующего хроматографического анализа полярных органических соединений (например аминов, фенолов), содержащих функцилнальные группы с активными атомами водорода (рисунок 1.37):

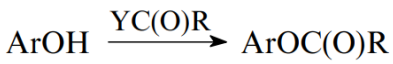


Рисунок 1.37 – Реакция ацилирования

Здесь Y – носитель ацильной группы. При прочих равных условиях ацильные производные характеризуются большей гидролитической устойчивостью, чем соответствующие синильные производные.

Ацилирование аминов или фенольных соединений непосредственно в воде проводят ангидридом уксусной кислоты в присутствии карбонатов либо гидрокарбонатов калия или натрия. Сложность пирменения данных солей состоит в том, что процесс ацилирования сопровождается интерсивным выделением CO_2, а это в свою очередь может привести к потерям анализируемых веществ. По этой причине в ряде работ используют гидрофосфаты (фосфаты) или гидроксид натрия.

Часто при анализе данных соединений их рекомендуют использовать трифторацетаты, пентафторпропионаты и гептафторбутираты, для этого широко применяют перфторацилирующие реагенты. Перфторацилирование обычно проводят в среде апротонных органических растворителей трифторуксусным, пентафторпропионовым, гептафтормасленным ангидридами или пентафторбензоилхлоридом. В качестве акцепторов побочных продуктов (свободных перкарбоновых кислот или галогеноводородов) используют пиридин или триэтиламин. Однако с увеличением числа атомов углерода в перфторацильных фрагментах отмечено уменьшение устойчивости получаемых эфиров к гидролизу и повышению фонового тока при газохроматографическом анализе на детекторе электронного захвата из-за образования большого числа побочных фторсодержащих продуктов.

Хроматографическое разделение аналитов проводили на обращеннофазной колонке C_{18} с размером частиц 1.7 мкм, 2.1 × 50 мм (Acquity UPLC HSS T3, Waters), объем анализируемой пробы составлял 5 мкл. Элюирование проводили при 40 °C со скоростью потока 0,6 мл/мин с использованием градиентного элюирования, в качестве подвижно фазы использовали воду (A) и ацетонитрил (B), оба из которых содержали 0,1 % муравьиной кислоты. Градиент представлен в таблице 1.7.

Таблица 1.7 – градиентное элюирование при хроматографическом разделении (0,1% муравьиная кислота в воде. (подвижная фаза A) и 0,1% муравьиная кислота в ацетонитриле (подвижная фаза B)

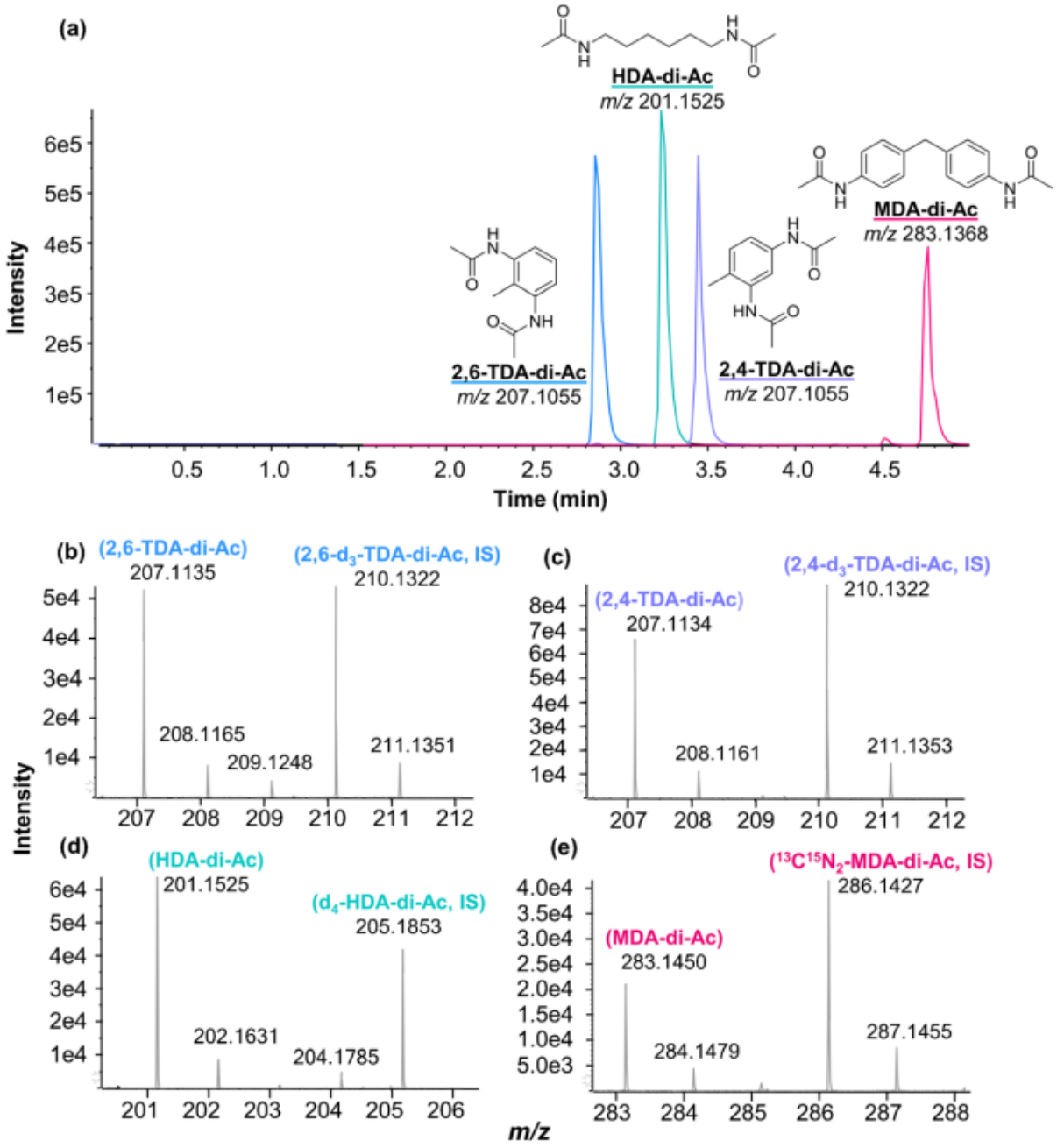
Время (мин)	Скорость потока (мл/мин)	% подвижной фазы B
0	0,6	2
1	0,6	2
4	0,6	17
5,5	0,6	40
6,0	0,6	90
7,0	0,6	90

Тандемный МС анализ осуществляли на МС Waters Xevo TQ с детектором типа тройной квадруполь с ионизацией в режиме электрораспыления положительных ионов. Параметры источника ионизации были следующими: температура источника 150 °С, напряжение конуса 35 В, температура десольватации 500 °С и поток десольватации азота 1000 л/ч. С целью повышения чувствительности и селективности анализа был применен режим мониторинга множественных ионов, переходы и условия ГМДА приведены в таблице 1.8.

Таблица 1.8 – Структура деривата гексаметилендиамина и параметры МС детекции

Аналит	Напряжение на конусе (В)	Переходы ионов, m/z (энергия столкновения, эВ)
диацетил-гексаметилендиамин	20	201,1 → 100,1 (20)
		201,1 → 142,0 (15)

На ионных хроматограммах высокого разрешения целевых соединений, представленные на рисунке 1.38, наблюдались только диацетилированные аналиты, при этом недериватизированные или монодериватизированные аналиты не были обнаружены. Дериватизация также дала более специфичные переходы, чем это было бы возможно с недериватизированными соединениями.



a – диацетил-толуолдиамин, диацетил-гексаметилендиамин, диацетил-метилендиамин, b – 2,6-толуолдиамин, c – 2,4-толуолдиамин, d – гексаметилендиамин, e – метилендиамин

Рисунок 1.38 – Хроматограмма высокого разрешения экстрагированных ионов дериватизированных изомеров толуолдиамин, гексаметилендиамин, метилендиамин и масс-спектры дериватизированных целевых соединений

Данный высокочувствительный подход позволят анализировать содержание ГМДА в моче на уровне 5,8 мкг/дм^3, что соответствует рекомендуемым пороговым значениям и может быть использован для мониторинга окружающей среды (воздуха) и обеспечения безопасности на рабочем месте.

Еще один пример исследования аминов, в том числе ГМДА в биологических образцах методом тандемной хромато-масс-спектрометрии (далее – МС/МС) представила

группа ученых во главе с Åsa Marand [61]. В этом исследовании представлен подход для определения аминов в биологических образцах в качестве производных перфторжирных амидов в моче и плазме человека. Как уже упоминалось ранее для определения аминов в биологических жидкостях требуются чувствительные и селективные методы. Для определения некоторых аминов, например толуолдиамина, метилендиамина в биологических образцах использовали метод, основанный на ВЭЖХ разделении и детекции с использованием электрохимического или диодно-матричного детектора. Эти методы также отличаются процедурой проботодготовки перед анализом.

В связи с выше сказанным данная группа ученых также склоняется к дериватизации аминов перед хроматографическим разделением, что увеличивает селективность и способность проводить анализ с высокой чувствительностью. Для дериватизации аминов в подобных исследованиях регулярно используются два типа реагентов: хлорформиаты для образования производных эфиров карбамата и ангидриды перфторжирных кислот в качестве дериватизирующий соединений для образования производных перфторжирных амидов. В ходе работы были опробованы реакции с рядом ангидридов и в качестве предпочтительного им был выдвинут ангидрид пентафторпропионовой кислоты.

Пробирки, содержащие 1 cv^3 мочи или 0,5 $см^3$ плазмы, гидролизовали 1,5 $см^3$ 3М серной кислотой при 100 °С в течение 16 часов. Перед гидролизом в пробирки добавляли 100 $см^3$ исходного раствора, содержащего 0,1 мг/$см^3$ каждого из аминов, меченных дейтерием, в 1 М серной кислоте (используемых в качестве внутренних стандартов). После гидролиза амины экстрагировали в 2 $см^3$ толуола путем добавления 5 $см^3$ насыщенного гидроксида натрия. Образцы встряхивали и центрифугировали в течение 10 минут. Органический слой переносили в новые пробирки, добавляли 20 $см^3$ ангидрида перфторжирной кислоты и смеси немедленно встряхивали в течение примерно 10 секунд. Избыток реагента и образовавшуюся кислоту удаляли путем экстракции 2 $см^3$ 1 М фосфатного буферного раствора (pH 7,5). Фазы толуола, содержащие производные амида, выпаривали досуха с помощью вакуумной центрифуги. Сухие остатки растворяли в 100 $см^3$ ацетонитрила и помещали в ультразвуковую ванну на 10 минут. Растворы образцов затем переносили во флаконы и анализировали с помощью ЖХ-МС/МС.

В качестве интрументальных методов исследования авторами были рассмотрены подходы анализа на газовом хроматографе с МС/МС, газовом хроматографе с ТИД, ВЭЖХ и УФ-детектором и ВЭЖХ/МС/МС.

Традиционно высокой чувствительность определения дериватов перфторжирных амидов обладает аналитический подход основанный на с использованием ГХ/МС либо с электронным ударом (далее – ЭИ), либо с химической ионизацией (далее – ХИ) в режиме

мониторинга отрицательных ионов. Однако хорошо известны варианты определения производных перфторжирных амидов на ВЭЖХ/УФ [62, 63]. Ранние, до создания источника ионизации электрораспылением (ESI) определение амино-PFPA производных имело ряд ограничений, однако на сегодняшний день робастность и удобство данного метода не вызывают сомнений.

ВЭЖХ/МС/МС анализ аминов как производных перфторжирных амидов осуществляли масс-спектрометре с детектором типа тройной квадруполь Quattro Micro (Waters, Altrincham, Cheshire, UK) с ионизацией ESI и мониторингом отрицательных ионов. В коллизионную ячейку подавался аргон на этапе разбивки родительских ионов и получения целевых дочерних. Температура источника ионизации составляла 100 °C, а температура десольватации – 200 °C, варьируя значениями напряжения конуса в пределах 5–40 В и колизионной энергии 10–35 эВ в процессе хроматографических заколов анализируемых дериватов перфторжирных амидов, были группой ученых были подобраны оптимальные параметры для исследуемых родительских и соответствующих дочерних ионов. В режиме MRM проводился для переходов $[M - H]^- \rightarrow [M - 120]^-$ и $[119]^-$ путем мониторинга 10 ионов со временем задержки 0,2 с. Количественное определение выполнялось с помощью MRM производных амин-PFPA и меченых дейтерием производных амин-PFPA.

Особенностью данного хроматографического разделения было использование микроколонки для ВЭЖХ Xterra® C18, 50 мм × 1.0 мм, размер частиц 2,5 мм (Waters, Massachusetts, США), насоса с возможностью поддержания микропотоков (Shimazdu LC10ADVP micro-LC, Shimadzu Corporation, Киото, Япония). Заколы концентрированного образца объемом 4 мл производился в петлю объемом 20 мл, окруженную 16 мл фокусирующей жидкости (5/95 ацетонитрил/вода об./об.), выполнялись с помощью автосэмплера LC-PAL (CTC Analytics AG, Цвинген, Швейцария).

В качестве подвижной фазы А при градиентном элюировании для определения дериватов перфторжирных амидов использовали раствор с соотношением ацетонитрил/вода (об./об.) 5/95 и подвижной фазы В: 95/5 ацетонитрил/вода (об./об.). Скорость потока составляя 70 мл/мин. Анализ дериватов PFPA начался с 20-ой мин при достижении в процессе элюирования содержания раствора подвижной фазы В 25% до 40% и затем с 40 % до 70 % в течение последующих 15 минут.

В дополнение к хромато-масс-спектрометрическкому анализу, представленному выше был разработан метод определения в гидролизованных биологических образцах ТДА и МДА как дериватов PFPA с использованием масс-детектора типа тройной квадруполь MC MD 800, объединенного с газовым хроматографом GC 8000, оснащенного автодозатором

A200S (Fisons Instruments, Altrincham, UK). Инъекции по 1 мл выполнялись с в режиме splitless. Перед заколом проводили в инжекторе в течение 10 сек нагрев иглы шприца, температура инжектора составляла 290 °C. Для хроматографичекского разделения образка использовали капиллярную колонку с химически связанной неподвижной фазой, DB-5 (J & B Scientific, Folsom, CA, USA), размеры колонки составляли длина 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм и толщина неподвижной фазы 0,25 мкм. Температурный градиент был следующим: начальная температура колонки 110 °C поддерживалась в изотермическом режиме в течение 1 мин, затем повышалась по 25 °C/мин до 300 °C, где оставалась постоянной в течение 1 мин. Клапан с раздельным выходом держался закрытым в течение 1 мин после инжекции. Температура источника ионизации ионов составляла 200 °C, а температура интерфейса ГХ/МС – 250 °C. Задержка на входе капилляра была установлена на 2,9 мин. ХИ проводилась аммиаком, детектирование осуществляли в режиме мониторинга отрицательных ионов. Давление на ионном источнике составляло около 2×10^{-4} мбар. Ток эмиссии составлял 200 мВ, а энергия электронов 70 эВ. Количественное определение ионов, соответствующих дериватам амин-PFPA и дейтерий-меченых производных амин-PFPA было выполнено в режиме SIR $[M–20]^-$ производимых со временем задержки 0,2 сек и задержкой между сканированиями 0,02 сек.

Третьим подходом, предложенным в данной статье, был анализ методом ВЭЖХ с хемилюминесцентным детектированием (далее – ХЛД). Хемилюминесцентный азотспецифический детектор Antek 8060 (Antek Instruments Inc., Техас, США) использовался для количественного определения производных амина-PFPA в эталонных растворах с использованием кофеина в качестве внешнего стандарта. Температура пиролиза была установлена на 1050 °C. Расходы кислорода и аргона на входе составляли 100 мл/мин и 50 мл/мин соответственно. Давление в реакционной камере находилось на уровне 20 торр, а поток озона в реакционную камеру составлял 25 мл/мин. Напряжение фотоумножителя было установлено на значении в 750 В. ХЛД был подключен к насосу Phoenix 40 micro-LC (Fisons Instruments, Carlo-Erba, Милан, Италия). Образцы объемом 200 нл вводились в систему ВЭЖХ для последующего анализа с использованием линейного градиентного элюирования в течение 15 мин с подвижной фазой метанол/вода в соотношении от 50/50 до 20/80% об./об. и со скоростью потока 100 мл/мин. Разделение проводили на хроматографической колонке для ВЭЖХ PepMap® C18, 50 мм ×1,0 мм, диаметр частиц 3 мм (LC Packings, Амстердам, Нидерланды).

Для получения дериватов амин-PFPA. Исходные растворы ГМДА, 2,4- и 2,6-ТДА, МДА, а также соответствующие дейтерированные амины, d_4-ГМДА, 2,4- и 2,6-d_3-ТДА и d_2-МДА, готовили путем растворения точных взвешенных количеств в растворе 1 М серной

кислоты (H_2SO_4) до концентраций в диапазоне 2–4 мг/мл. Объемы 0,1 мл каждого раствора амина добавляли в пробирки для образцов с 1 мл воды, и проводили процедуру обработки (без гидролиза и добавления внутреннего стандарта). В конце процедуры остатки амина-PFPA растворяли в 1 мл метанола и количественно определяли с помощью ВЭЖХ/ ХЛД. Эталонные растворы, содержащие производные амин-PFPA и дейтерий меченые производные амин-PFPA, готовили путем разбавления метанольных растворов в ацетонитриле до 0,1 мг/м. На следующем этапе пробы подвергались кислотному гидролизу, экстракцией толуолом в присутствии насыщенного раствора гидроксида натрия. Все образцы повергались встряхиванию в течение 10 минут и последующему центрифугированию 10 минут. Органический слой переносили в новые пробирки, добавляли 20 мл ангидрида перфторжирной кислоты и смеси немедленно встряхивали в течение примерно 10 с. Избыток реагента и образовавшуюся кислоту удаляли экстракцией 2 мл 1 М фосфатного буферного раствора (pH 7,5). Фазы толуола, содержащие производные амида, выпаривали досуха с помощью вакуумной центрифуги (SC210A; Savant Instruments Inc., Холбрук, Нью-Йорк, США). Сухие остатки растворяли в 100 мл ацетонитрила и помещали в ультразвуковую ванну на 10 мин. Растворы образцов переносили в виалы и анализировали с помощью ВЭЖХМС/МС.

Используя ВЭЖХ/МС/МС с ESI в отрицательном режиме детектирования, были получены воспроизводимые спектры с характерными паттернами фрагментации для различных дериватов амин-PFPA. В спектре MRM наблюдался ряд интенсивных пар ионов, соответствующих дериватам амин-PFPA, который позволил выбрать наиболее информативные для дальнейшего анализа целевых соединений. Установив молекулярные ионы $[M - H]^-$ в качестве ионов-предшественников, типичные образовавшиеся дочерние ионы обладали потерей группы (neutral loss) CF_3CHF_2 $[M - H]^- \rightarrow [M - H - 120]^-$, потеря двух групп (neutral loss) CF_3CHF_2 $[M - H]^- \rightarrow [M - H - 240]^-$ и $[M - H]^- \rightarrow [119]^-$, соответствующих иону $[CF_3CF_2]^-$. Различные варианты значений коллизионной энергии позволяют выполнять несколько переходов MRM в рамках анализа, подтверждающих структуру и повышающие селективность. Приложенное напряжение конуса было индивидуально оптимизировано для различных ионов $[M - H]^-$, а также коллизионные энергии для MRM переходов различных дериватов (таблица 1.9). В целом, структура соединений (алифатический или ароматический амин) и молекулярная масса влияли на выбор оптимальных параметров определения. Дериваты амин-PFPA обладающие алифатическими свойствами требовали меньшего напряжения конуса и колизионной энергии по сравнению с ароматическими.

Таблица 1.9 – ВЭЖХ/МС/МС параметры для анализа дериватов

Компонент	Родительский ион $[M - H]^-$	Напряжения конуса / В $[M - H]^-$	Колизионная энергия / эВ $[M - H]^- \rightarrow [M - H - 120]^-$	Колизионная энергия / эВ $[M - H]^- \rightarrow [119]^-$
HDA–PFPA	407,1	20	15	23
d_4-HDA–PFPA	411,1	20	15	23
TDA–PFPA	413,0	20	17	27
d_3-TDA–PFPA	416,0	20	17	27
MDA–PFPA	489,1	25	27	27
d_2-MDA–PFPA	491,1	25	27	27

Исследования команды ученых во главе с Linda G. T. Gaines были направлены на изучение влияния 1,6-гексаметилен диизоцианата (HDI) по средством анализа ГМДА в моче и смывах кожных покровов профессионально подверженных групп населения [64]. Принцип построения эксперимента, схож с описанными выше. В данном случае в 1 мл мочи вносили 10 мкл внутреннего стандарта 1,7-диаминогептана в концентрации 150 мкг/л. С целью проведения кислотного гидролиза в реакционную смесь добавляли 100 мкл концентрированной серной кислоты. Гидролиз протекал при 100 °С в течение 4 ч. Для нейтрализации реакции гидролиза в образцы вносили 4 мл насыщенного раствора гидроксида натрия (NaOH), 0,5 г хлорида натрия (NaCl). Далее целевые соединения подвергали тройной толуольной экстракции по 2 мл.

Этап дериватизации гептафтормасляным ангидридом (20 мкл) проводился в течение 60 мин при 55 ℃. С целью удаления избытка дериватизирующего агента после охлаждения образцов до комнатной температуры добавляли 1 М калий-фосфатного буфера (pH 7,0, 4 мл). Далее к органическому слою добавляли сульфат натрия для удаления следовых количеств воды из образца. Органический слой переносили в чистую пробирку и высушивали, используя испаритель TurboVap LV (Zymark Center, Хопкинтон, Массачусетс, США) с водяной баней, нагретой до 55 ℃ до полного высыхания образца. Образцы восстанавливали в 200 мкл этилацетата, обрабатывали ультразвуком и переносили вставки для виал для ГХ с последующим полным высушиванием в вакуумной системе SpeedVac (Savant Instruments Inc., Холбрук, Нью-Йорк, США). Окончательно пробы восстанавливали в 60 мкл этилацетата.

Образцы анализировали методом ГХ с МС (Thermo, Остин, Техас, США) в режиме отрицательной ХИ с метаном в качестве газа-реагента (1,8 мл/мин). Температурный градиент был следующим: начальная температура колонки 50 ℃ поддерживалась в изотермическом режиме в течение 1 мин, затем повышалась по 10 ℃/мин до 155 ℃, далее скорость нагрева снижали до 5 ℃/мин до достижения температуры колонки в 185 ℃, на следующем этапе скорость нагрева составляла 25 ℃/мин до достижения 290 ℃ после чего поддерживали изотермический режим в течение 10 ℃ мин Температура источника ионизации ионов составляла 150 °С, а температура переходной линии ГХ/МС – 300 °С.

Количественное определение ГМДА и 1,7-диаминогептана проводилось в режиме селективного мониторинга ионов (SRM) с (ГМДА при m/z 448 и 1,7-диаминогептана при m/z 462). Данный подход позволил определять содержание ГМДА в диапазоне концентраций 0,08–20,0 мкг/л.

Полученные результаты подтвердили возможность использования данного подхода для определения ГМДА в моче человека, однако использование метода ограничивается наличием специфического дорогостоящего оборудования.

1.5 Анализ международных стандартов, региональных документов, а также законодательства экономически развитых государств (США, Великобритания, Германия, Китай, Япония), научно-информационных источников и результатов теоретических и экспериментальных исследований в части применяемых методов и методик определения массовой концентрации, в водных и воздушной средах, биологическом материале, содержащегося в изделиях из полиамидов, и результатов теоретических и экспериментальных исследований в указанной области

В дополнение к анализу, проведенному в рамках 1 этапа, рассмотрена информация в части применяемых методов и методик определения ГМДА в объектах окружающей среды и воздушной среде, в том числе выделяемого из изделий из полиамидов, в законодательстве экономически развитых государств (США, Великобритания, Германия, Китай, Япония). Результаты представлены в таблице 1.10.

Таблица 1.10 – Анализ информации в части применяемых методов и методик определения гексаметилендиамина в законодательстве экономически развитых государств

Документ	Анализируемое соединение и метод	Объект измерений	Краткая аннотация	ПКО
1	2	3	4	5
США				
[64]	ГМДА Метод - ГХ-МС	Биологический материал (моча)	Кислотный гидролиз биологического материала, нейтрализация щелочью, трехкратная экстракция толуолом и реакция дериватизации с гептафтормасляным ангидридом.	0,08 мкг/см^3
[55]	Алифатические амины (ГМДА) УВЭЖХ-МС/МС	Биологический материал (моча)	Кислотный гидролиз биологического материала с последующей автоматизированной ТФЭ. Хроматографическое разделение оптимизировано с использованием гептафтормасляной кислоты.	0,05 нг/см^3 – 1,6 нг/см^3

Продолжение таблицы 1.10

1	2	3	4	5
Германия				
DIN CEN/TS 13130-21:2005 [65]	Этилендиамин и ГМДА ГХ-ПИД	Модельные пробы, эмитирующие пищевые продукты	Проведение реакции с помощью этилхлорформиатом и хроматографическое определение	0,5 мг/кг пищевого имитатора.
Япония				
[66]	ГМДА ВЭЖХ/МС/МС	Вода	Образец воды смешивается с аммиачной водой, добавляют реагент BSC, проведение ТФЭ	0,019 мкг/л при анализе 100 мл воды
[66]	ГМДА ВЭЖХ/МС/МС	Атмосферный воздух		1,2 нг/м^3 при отборе 1008 м^3
[67]	ГМДА ВЭЖХ-ДМД	Вода	Метод основан на реакции с ацетилацетоном в водном растворе натрия гидрофосфата, извлечении с помощью картриджа Sep-Pak C18	5,93 нг/мл при анализе 100 мл воды
Китай				
CN102221594A [39]	ГМДА ГХ	Вода	Подщелачивание водной вытяжки гидроксидом натрия. Экстракция толуолом и проведение реакции дериватизации с ГФМА	5 мкг/л относительным средним отклонением менее 5,0 %.
GB 31604.43-2016 [68]	Этилендиамин и ГМДА ГХ-ПИД	Модельные пробы, эмитирующие пищевые продукты	Проведение реакции с помощью этилхлорформиатом и хроматографическое определение	0,5 мг/л
GBZ/T 160.69-2004 [69]	Алифатические амины (триметиламин, этиламин, диэтиламин, триэтиламин, этилендиамин, бутиламин и циклогексиламин) ГХ-ПИД	Воздух рабочей зоны	Вещества в воздухе отбираются с помощью силикагелевой трубки, и после десорбции растворителем они разделяются хроматографической колонкой.	1,7; 1,3; 1,0; 0,16; 0,08; 1,6; 0,53 мг/м^3 соответственно

Продолжение таблицы 1.10

1	2	3	4	5
DB13/T 1081.21-2009 [70]	Этилендиамина и ГМДА ГХ-ПИД	Удельные количества миграции из пластиковых упаковочных материалах и материалов, которые вступают в контакт с пищевыми продуктами	-	0,5 мг/л
[51]	Диамины (ГМДА и др.) ВЭЖХ-МС	Биологический материал (моча и плазма)	Кислотный гидролиз биологического материала соляной кислотой. Проводят твердофазную микроэкстракцию и реакцию с ГФМК	0,074 нг/см^3
Швеция				
[40]	ГМДА ГХ/МС	Биологический материал (моча и плазма)	Кислотный гидролиз соляной кислотой, подщелачивание. Экстракция органическим растворителем (толуолом), дериватизация с ГФМА	0,5 мкг/дм^3
Финляндия				
[45]	ГМДА, другие амины ГХ-МС	Биологический материал (моча)	Гидролиз с применением серной кислоты концентрированной. Добавление хлорида натрия и гидроксида натрия. Экстракция в толуол. Проведение реакции дериватизации с ГФМА.	5 нмоль/дм^3

Проведенные исследования показали, что в таких странах, как США, Великобритания, Япония, Китай, странах – членах ЕС, гексаметилендиамин в воздушной среде не определяется.

Существует значительное количество способов определения ГМДА, предложенных разными авторами, в воде, биологических объектах (моча, плазма крови), несколько источников информации об анализе аминов в воздушной среде. Недостатком многих из вышеперечисленных методик является отсутствие метрологических характеристик. Кроме того, описанные подходы не применимы для определения уровня миграции ГМДА в воздушной среде, поскольку не позволяют добиться необходимой чувствительности или требуют отбора значительного количества воздуха (1008 $м^3$ атмосферного воздуха в методе, предложенном японскими сотрудниками [66]).

Анализ научно-информационных источников показал большое количество методов определения ГМДА, разработанных китайскими научными сотрудниками, в том числе национальные документы: CN102221594A – определение ГМДА в воде; GB 31604.43-2016 – определение этилендиамина и ГМДА в модельных пробах, эмитирующих пищевые продукты; DB13/T 1081.21-2009 – количества миграции в модельные пробы из упаковки. Кроме того, был интересен метод GBZ/T 160.69-2004 – определение алифатических аминов (триметиламин, этиламин, диэтиламин, триэтиламин, этилендиамин, бутиламин и циклогексиламин) в воздухе рабочей зоны. В данном документе нет описания определения ГМДА, однако представлены подходы к определению других членов гомологического ряда диаминов. Метод основан на улавливании веществ из воздуха с помощью силикагелевой трубки, последующей десорбции растворителем и хроматографическом разделении с применением ГХ-ПИД. Недостатком метода является низкая чувствительность, на уровне – 0,1 $мг/м^3$.

1.6 Итоги первого этапа

Проведен анализ международных стандартов (правил, директив, рекомендаций и иных документов, принятых международными организациями по стандартизации), региональных документов (регламентов, директив, решений, стандартов, правил и иных документов), а также законодательства экономически развитых государств (США, Великобритания, Германия, Китай, Япония), научно-информационных источников и результатов теоретических и экспериментальных исследований в части применяемых методов и методик определения массовой концентрации ГМДА в водных и воздушной средах, в том числе выделяемого из изделий из полиамидов. Отражена историография по исследуемой проблематике. Временные границы анализируемого периода составили 40 лет (с 1984 г. по 2024 г.). Всего изучено более 50 источников методической и научно-технической информации.

Показано, что основные методы определения ГМДА основаны на газовой и высокоэффективной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием.

Приведено описание способов приготовления воздушных вытяжек из товаров народного потребления согласно методическим документам, включенным в перечни стандартов к ТР ТС 005/2011, ТР ТС 007/2011, ТР ТС 008/2011, ТР ТС 017/2011, ТР ТС 019/2011, ТР ТС 025/2012, ТР ТС 042/2017.

На основании проведенных исследований разработан проект технического задания на разработку методики определения ГМДА, содержащегося в изделиях из полиамидов в воздушной среде, предложено для разработки методики использовать метод ВЭЖХ с применением масс-спектрометрического или флуориметрического детектирования.

2 Материалы и методы исследований

Объекты исследований – градуировочные растворы ГМДА, воздушные вытяжки из товаров народного потребления с добавлением стандартного раствора ГМДА в качестве модельных объектов.

При проведении исследований применяли следующие средства измерений и вспомогательные устройства:

- высокоэффективный жидкостной хроматограф Survevor Plus с диодно-матричным и флуоресцентным детектором (Thermo Fisher Scientific, США);

- высокоэффективный жидкостной хроматограф Agilent 1260 Infinity с диодно-матричным и флуоресцентным детектором Agilent 1100 (Agilent Technologies, США);

- высокоэффективный жидкостной хроматограф Ex1800 с диодно-матричным и флуоресцентным детектором (Exformma Technologies, Китай);

- жидкостной хроматограф Agilent 1290 Infinity II с масс-спектрометрическим детектором Ultivo G6400 (Agilent Technologies, США);

- хроматографическая колонка ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4,6 × 250 мм, 5 мкм) (Thermo Fisher Scientific, США);

- хроматографическая колонка ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4,6 × 150 мм, 5 мкм) (Thermo Fisher Scientific, США);

- хроматографическая колонка Poroshell 120 SB C18 (3,0 × 100 мм, 2,7 мкм) (Thermo Fisher Scientific, США);

- хроматографическая колонка Ultisil XB-C18 (4,6 × 150 мм, 5.0 мкм) (Welch Materials, Inc, Китай);

- хроматографическая колонка Ultisil XB-C18 (2,7 × 100 мм, 3 мкм) (Welch Materials, Inc, Китай);

- хроматографическая колонка Hypersil GOLD C18 (4,6 × 250 мм, 5 мкм) (Thermo Fisher Scientific, США);

- хроматографическая колонка Hypersil GOLD C18 (4,6 × 150 мм, 5 мкм) (Thermo Fisher Scientific, США);

- хроматографическая колонка NUCLEODUR C18 Pyramid (3 × 250 мм, 5 мкм) (Macherey-Nagel, Германия);

- хроматографическая колонка Aluspher 100 RP-select B (4,0 × 250 мм, 5 мкм) (LIChroCART, Германия);

- аспиратор воздуха ПУ-4Э с основной приведенной погрешностью задания расхода в каждой точке не более ± 5 % и основной относительной погрешностью измерения времени не больше ± 0,5 % (ЗАО «Химко», Российская Федерация);

- герметически закрывающаяся стеклянная емкость, например эксикатор, вместимостью не менее 15 дм^3, имеющая две отводные: одну – доходящую до дна, вторую – оканчивающуюся под пробкой;

- камера климатическая СМ 10/40 СФ, пределы допускаемого отклонения температур не более ± 2,0 %, пределы допускаемого отклонения относительной влажности не более ± 5,0 % (ООО «СМ Климат», Российская Федерация);

- баня ультразвуковая вместимостью 1 дм^3, мощностью ультразвука 860 Вт (BANDELIN Electronic GmbH);

- pH-метр 150 М с комбинированным стеклянным электродом с диапазоном измерений от минус 1,00 до 14,00 ед. pH и пределами допускаемой основной абсолютной погрешности измерения ±0,05 ед. pH;

- дозатор пипеточный одноканальной переменного объема 0,1–1,0 см^3;

- дозатор пипеточный одноканальной переменного объема 0,002–0,020 см^3;

- микрошприц номинальной вместимостью 100 мм^3, пределы допускаемой относительной погрешности ±1 %;

- микрошприц номинальной вместимостью 500 мм^3, пределы допускаемой относительной погрешности ±1 %;

- пипетки 1-1-2-1, 1-1-2-5, 1-1-2-10 ГОСТ 29228;

- виалы вместимостью 2 см^3 под винтовую крышку с септой PTFE;

- колбы мерные 2–250–2, 2–100–2, 2–50–2 по ГОСТ 1770;

- фильтр «синяя лента» (MACHEREY-NAGE, Германия);

- мембранные фильтры с диаметром пор 0,45 мкм из регенерированной целлюлозы Chromafil Xtra RC-20/25.

При выполнении измерений применяли следующие реактивы:

- гексаметилендиамин аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 98,99 % согласно сертификату анализа («Supelco», США);

- гексаметилендиамин референтный аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 92,7 % согласно сертификату анализа (u_{st} = ± 5,0 %) (LGC «Dr. Ehrenstorfer», Германия);

- дансилхлорид (5-(Диметиламино)нафталин-1-сульфонилхлорид) аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 98,0 % согласно сертификату анализа («TCI», Япония);

- N-гидроксисукцинимидил 6-хинолинилкарбаматом аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 95,0 % согласно сертификату анализа («BLD Pharmatech Ltd», Китай);

- 1-пиренсульфонилхлорид аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 98,0 % согласно сертификату анализа («TCI», Япония);

- 4-[[4-(диметиламино)фенил]диазенил]бензолсульфонилхлорид аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 98,0 % согласно сертификату анализа («TCI», Япония);

- флуоренилметилоксикарбонилхлорид аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 98,0 % согласно сертификату анализа («Merck», Германия);

- 2-[[4-(диметилсульфамоил)-2,1,3-бензоксадиазол-7-ил]-метиламино]ацетилхлорид аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 93,0 % согласно сертификату анализа («TCI», Япония);

- 2-метокси-2,4-дифенил-3(2H)-фуранон аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 99,8 % согласно сертификату анализа («BLD Pharmatech Ltd», Китай);

- натрий сернокислый безводный, х.ч.;

- ацетонитрил HPLC PLUS Gradient grade с массовой долей основного вещества более 99,9 % (Carlo Erba Reagents, Франция);

- гексан HPLC PLUS Gradient grade с массовой долей основного вещества более 96 % (Carlo Erba Reagents, Франция);

- вода второй степени чистоты по ГОСТ ISO 3696

- вода дистиллированная по ГОСТ 6709;

- натрий тетраборнокислый 10-водный, чда, по ГОСТ 4199;

- натрия гидроокись, хч, по ГОСТ 4328;

- кислота соляная, хч, по ГОСТ 3118;

- аммоний хлористый, чда, по ГОСТ 3773;

- аммиак водный 25 %, чда, по ГОСТ 3760.

3 Результаты исследований и их обсуждение

3.1 Выбор и обоснование метода определения ГМДА

Гексаметилендиамин относится к классу аминов. При определении следовых количеств аминов, в том числе и ГМДА, хорошо себя зарекомендовали хроматографические методы анализа, благодаря высокой селективности и чувствительности [72]. Известны подходы к газохроматографическому определению ГМДА с использованием электронозахватного [39, 49, 50], азотно-фосфорного [40, 50], ПИД [43] и МС [40, 43–46, 72]. Представлены подходы к определению ГМДА и его производных, основанные на применении метода ОФ ВЭЖХ с диодно-матричным [73] и флуориметрическим детектированием (далее – ФЛД) [35, 36], МС [52–54] и МС/МС [55, 56, 58, 60–61, 74–76]. Основным недостатком метода ГХ является необходимость замены растворителя, в то время как тандемные масс-спектрометры представляют собой очень дорогостоящее оборудование. В случае ОФ ВЭЖХ анализ можно проводить сразу после дериватизации, без необходимости дополнительных трудоемких этапов.

Для большинства соединений класса амины прямое определение осложнено из-за их высокой полярности, высокой растворимости в воде, термолабильности, склонности к окислению, отсутствия хромофорных групп и низкой молекулярной массы.

Одним из альтернативных и наиболее распространенных методов для определения малых концентраций ГМДА является предварительная дериватизация. Использование различных реагентов для дериватизации позволяет исследователям подбирать оптимальные условия для конкретных соединений, что может привести к повышению чувствительности и селективности анализа. Дериватизация может увеличить молекулярную массу аналитов, улучшить их летучесть или изменить полярность, что способствует более эффективному разделению в хроматографических системах.

Кроме того, применение дериватизации позволяет минимизировать влияние со стороны матрицы образца, что особенно важно при анализе сложных матриц, таких как биологические жидкости или пищевые продукты. В результате, предварительная дериватизация становится стандартной практикой в аналитической химии для повышения качества и надежности результатов анализа.

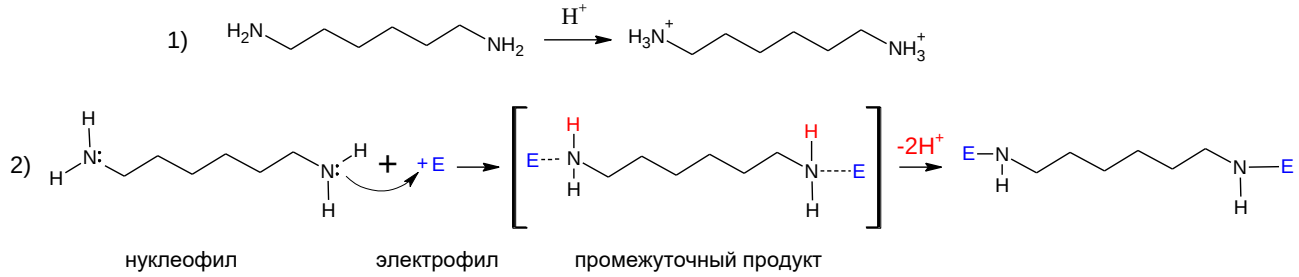
Таким образом, в настоящее время основной аналитической технологией анализа ГМДА является обращенно-фазовая ВЭЖХ с предколоночной дериватизацией и детектированием по флуоресценции, как обеспечивающая наибольшую специфичность и чувствительность при приемлемой производительности и стоимости анализа.

3.2 Выбор дериватизирующего реагента для последующего хроматографического определения ГМДА

Поскольку ГМДА демонстрируют низкое поглощение УФ-излучения и не имеет собственной флуоресценции, прямой метод ОФ ВЭЖХ при его определении невозможен.

Для повышения поглощения в УФ- или видимой области спектра и достижения высокочувствительного и селективного определения ГМДА с помощью ВЭЖХ-ФЛД требуется этап дериватизации.

Химические свойства ГМДА определяются главным образом наличием аминогрупп [76]. Они обладают слабовыраженными электроноакцепторными свойствами, в результате чего атомы водорода гексаметиленового фрагмента неактивны. Исходя из этого реакции замещения в углеродной цепи для ГМДА не характерны. Реакции по аминогруппе проходят с неподеленной электронной парой азота. Схема реакции представлена на рисунке 3.1. В кислой среде эта пара электронов участвует в образовании четвертой связи N-H. Поэтому реакции по аминогруппе необходимо проводить в щелочной среде.



1) – реакция ГМДА в кислой среде; 2) – схема реакции нуклеофильного замещения

Рисунок 3.1 – Реакционная способность ГМДА

Реагенты для дериватизации, апробированные для определения ГМДА методом ВЭЖХ, включают сульфонилхлориды, такие как дансилхлорид (Dns-Cl), дабсилхлорид (DABS-Cl) и 1-пиренсульфонилхлорид (PSCl), карбонилхлориды, такие как (9-флуоренилметил)хлорформиат (Fmoc-Cl), сукцинимидилы, как 6-аминохинолил-N-гидроксисукцинимидил-карбамат (AQC), бензофураны, 4-(N-хлороформилметил-N-метил)-амино-7-N,N-диметиламиносульфонилбензофуразан (DBD-COCl), флуореноны, 2-метокси-2,4-дифенил-3(2H)-фуранон (MDPF). Структурные формулы соединений изображены на рисунке 3.2. Основные характеристики реагентов представлены в таблице 3.1.

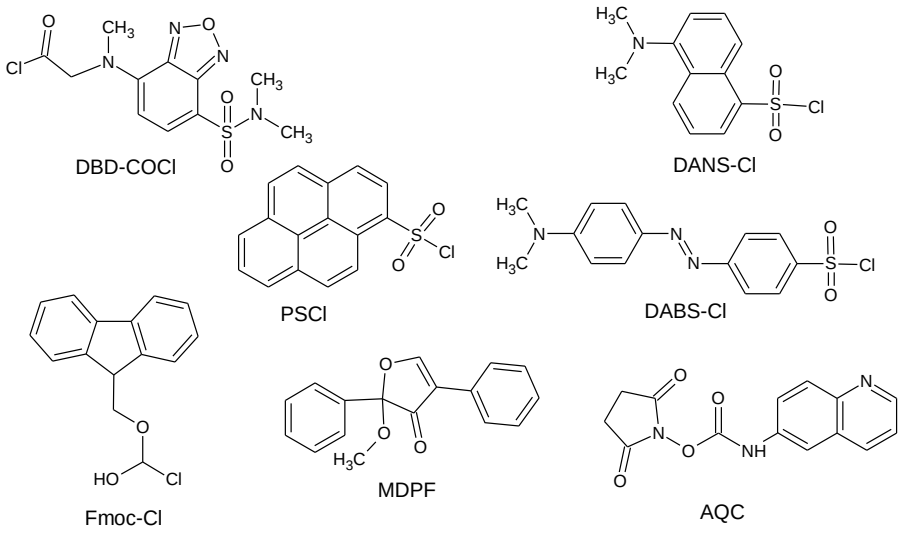


Рисунок 3.2 – Структурные формулы реагентов

Таблица 3.1 – Сравнительная характеристика реагентов для дериватизации

Название	CAS	M, г/моль	ξ, cm^{-1} M^{-1}	λ, нм	Свойства
DABS-Cl	56512-49-3	323,8	≈19000	λ_{ex}=436 λ_{ex}=460	Растворим в ДМСО, других органических растворителях
Dns-Cl	605-65-2	269,8	≈3300–4000	λ_{ex}=335 λ_{em}=518	Чувствителен к влаге, в ДМСО не стабилен, малорастворим в воде, хорошо растворим в органических растворителях (ацетонитрил, этанол, ДМФ, хлороформ, пиридине, бензоле и диоксане)
Fmoc-Cl	28920-43-6	258,7	≈75000	λ_{ex}=265 λ_{em}=315	Чувствителен к влаге, растворим в органических растворителях, ацетон, ацетонитрил, диоксан Слабо растворим в хлороформе, этилацетате, ДМФ, ДМСО.
PSCl	61494-52-8	300,8	≈28000 38000–54000	λ_{ex}=350 (290) λ_{em}=380–390 (430, 470)	Не растворим в воде, растворим в ДМСО,ацетонитриле, хлороформе, метаноле, ксилолах
AQC	148757-94-2	285,3	≈120000	λ_{ex}=250 λ_{em}=395	Гигроскопичен, растворим в ДМСО, ДМФ, диоксане
DBD-COCl	156153-43-4	332,8	≈20600	λ_{ex}=440 λ_{em}=550	Чувствителен к влаге, чувствителен к теплу, растворим в органических растворителях
MDPF	50632-57-0	266,3	≈11400 ≈6500	λ_{ex}=302 (384) λ_{em}=365 (472)	Длительное время реакции

Примечания:
1) «M» – молярная масса
2) «ξ» – коэффициент молярной экстинкции
3) «λ» – длины волн детектирования (λ_{ex} – длина волны поглощения; λ_{em} – длина волны эмиссии)

3.2.1 Дабсилхлорид (DABS-Cl)

Название по ИЮПАК – 4-[[4-(диметиламино)фенил]диазенил]бензолсульфонилхлорид. Дериватизация с дабсилхлоридам в сочетании с ВЭЖХ была описана для определения

биогенных аминов в сложных матрицах [77]. Дабсилхлорид имеет ряд преимуществ, включая простую процедуру дериватизации, очень хорошую стабильность и воспроизводимость, низкий предел обнаружения для метода и специфическое обнаружение на длине волны в видимой области [78]. Соединения, полученные реакцией с DABS-Cl имеют высокие значения коэффициентом экстинкции, например молярный коэффициент поглощения для дабсил-глицина составляет 19000 $М^{-1}\times см^{-1}$. Однако полученные производные DABS-Cl не проявляют флуоресцирующих свойств [78]. Для надежного определения и получения достоверных результатов в случае дериватизации с DABS-Cl при соответствующем коэффициенте поглощения необходимое минимальное количество дабсильного производного должно находится на уровне 0,01 мкг [79]. Для разработки методики определения уровня миграции ГМДА в воздушную среду значения 0,01 мкг может быть недостаточно для достижения необходимой чувствительности методики – 0,0005 $мг/м^3$*.

Реакцию ГМДА с дабсилхлоридом проводили в течение 20 мин при 70 ºС в щелочной среде. В результате реакции образовывались устойчивые производные сульфонамида с максимумом поглощения 480 нм. Схема реакции представлена на рисунке 3.3.

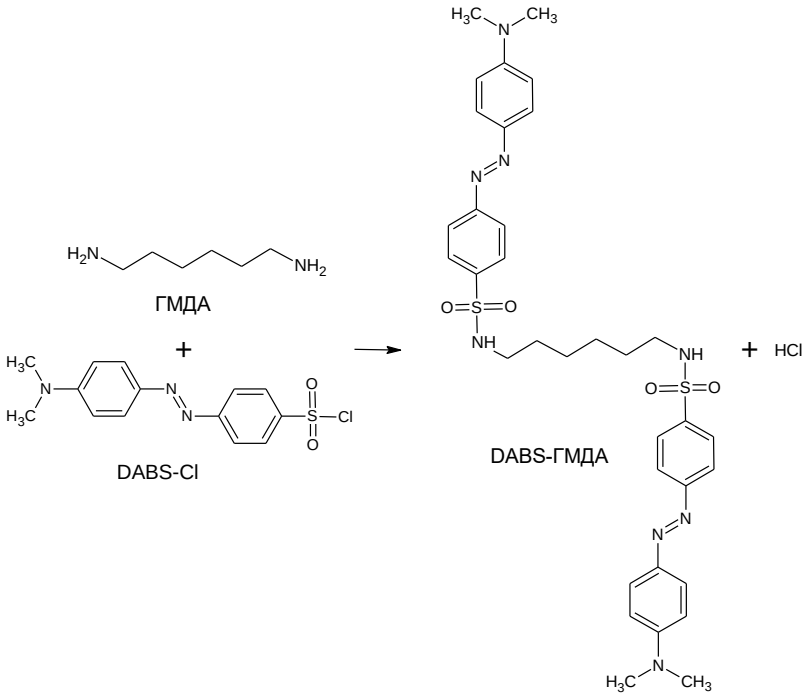


Рисунок 3.3 – Реакция DABS-Cl с ГМДА

Использование данной реакции позволило увеличить степень УФ-поглощения ГМДА, предел детектирования составил 0,05 $мкг/см^3$. Данный показатель неудовлетворителен для дальнейшей разработки методики. Для повышения чувствительности метода, необходимо повышать объем пропущенного воздуха, вводить

* – предел количественного определения разрабатываемого метода должен находится на уровне ½ ПДК.

дополнительные стадии экстракции и концентрирования, что приводит к существенному возрастанию времени отбора, получению усредненных данных за период отбора. И вследствие дополнительных стадий пробоподготовки, чрезмерно длительному общего анализа воздушных сред.

3.2.2 Дансилхлорид (Dns-Cl)

Название по ИЮПАК – 5-(диметиламино)нафталин-1-сульфонилхлорид. Дансилхлорид используется в реакциях с первичными и вторичными аминами для последующего флуоресцентного обнаружения, широко используется в разных хроматографичсеких методах анализа аминокислот (среди других модификаторов занимает восьмое место) [80].

При взаимодействии Dns-Cl с аминами значительно увеличивается гидрофобность полученных продуктов и улучшается эффективность их хроматографического определения [81, 82].

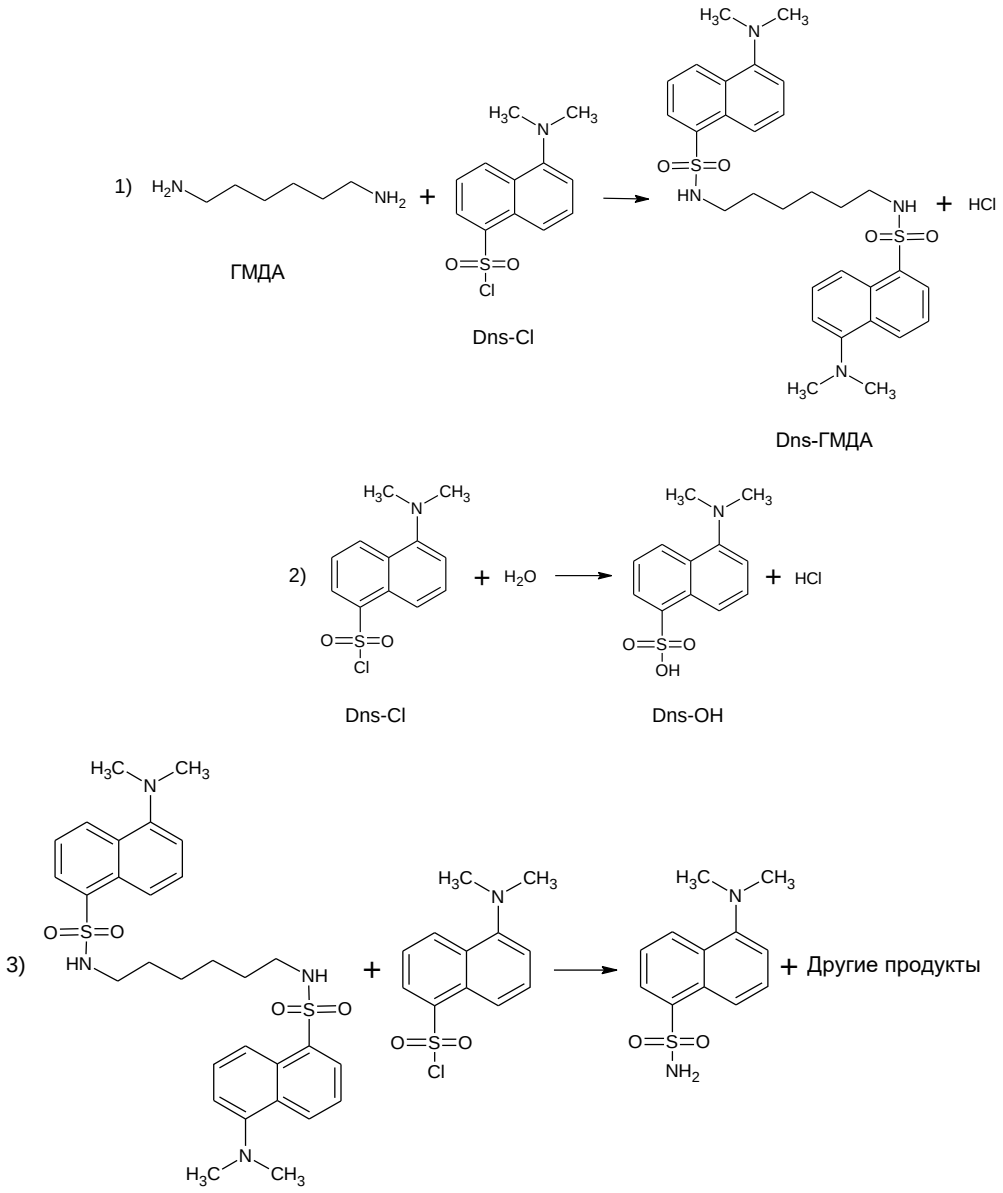


Рисунок 3.4 – Реакция Dns-Cl с ГМДА и побочные реакции

Преимуществом использования дансилхлорида в качестве реагента для дериватизации является стабильность полученных продуктов реакции (Dns-ГМДА), их растворимость в воде, высокая селективность и чувствительность.

Основным недостатком использования дансилхлорида является длительность и сложность дериватизации, поскольку для получения стабильных воспроизводимых результатов необходимо проводить реакцию в затемненном месте в течение суток.

3.2.3 Fmoc-Cl

Название по ИЮПАК – (9Н-флуорен-9-ил)метил карбонилхлорид. Fmoc-Cl широко используется для анализа аминокислот с применением диодно-матричного или флуоресцентного детекторов [83].

Fmoc-Cl взаимодействует с ГМДА в среде боратного буфера с pH = 9,5 в течение 2 мин и дает стабильные и флуоресцентные производные. Реакция изображена на рисунке 3.5.

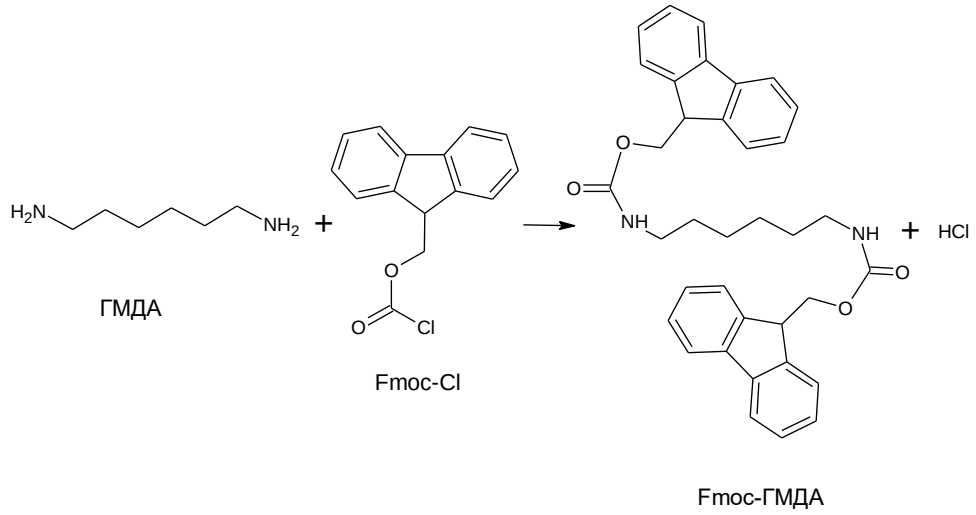


Рисунок 3.5 – Реакция Fmoc-Cl с ГМДА

Преимущества использования FMOC-Cl заключаются в том, что реакция является простой, быстрой и может быть проведена при температуре окружающей среды, продукты реакции стабильны при комнатной температуре.

Недостатком FMOC-Cl является сложность хроматографического разделения пары реагент – продукт.

3.2.4 PSCl

Название по ИЮПАК – 1-пиренсульфонилхлорид. Предколоночная дериватизация с пиренсульфонилхлоридом используется для определения биогенных аминов, эстрогенов, анальгетиков в работах [84, 85] с применением диодно-матричного, флуориметрического и тандемного масс-спектрометрического детекторов.

PSCl взаимодействует с ГМДА в среде боратного буфера с pH = 9,5 в течение 2 мин при температуре 50 ºС и дает стабильные и флуоресцентные производные. Реакция взаимодействия PSCl с ГМДА изображена на рисунке 3.6.

Преимуществом использования дериватизации с PSCl является значительное сокращение времени реакции, 15 мин против более чем 20 ч для Dns-Cl.

Недостатком PSCl в качестве реагента является образование труднорастворимых в воде продуктов, неприменимых для прямого анализа ВЭЖХ, что требует дополнительной стадии замены растворителя.

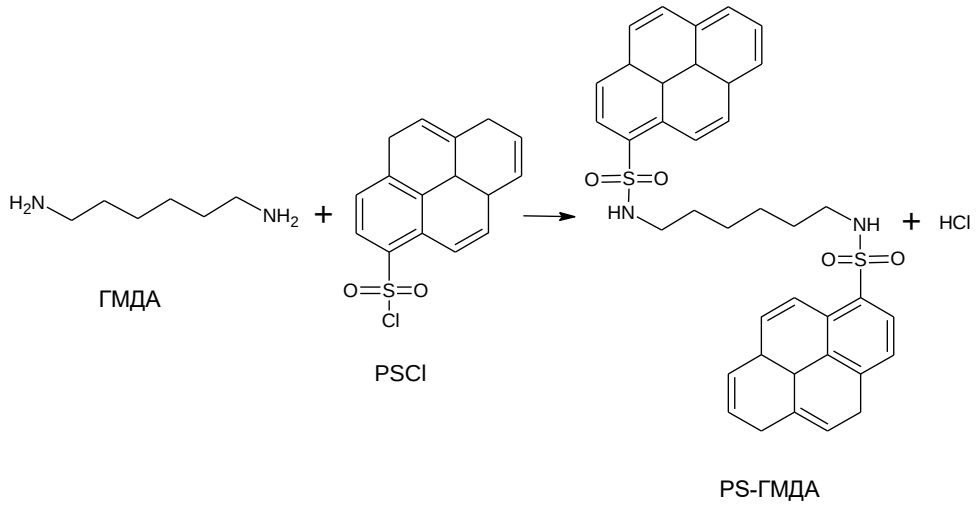


Рисунок 3.6 – Реакция PSCl с ГМДА

3.2.5 AQC

Название по ИЮПАК – N-гидроксисукцинимидил 6-хинолинилкарбаматом

Он является мощным реагентом для дериватизации аминов, образующим стабильные и высокофлуоресцентные производные. Реакцию можно проводить при комнатной температуре, как для полиаминов [85], но рекомендуется повышать ее до 50 ºС [86-88].

По сравнению с предколоночной дериватизацией с использованием дансилхлорида, требующей оптимального диапазона pH около 10,5, дериватизация AQC может быть выполнена в относительно мягких щелочных условиях, что имеет потенциальное преимущество при анализе аминокислот, полученных после кислотного гидролиза.

Недостатками AQC являются то, что длина волны излучения зависит от содержания воды в пробе и что в растворах с высоким содержанием воды наблюдается значительное тушение флуоресценции [89]. Кроме того, недостатком использования данного реагента является его высокая стоимость. Реакция AQC с ГМДА протекает аналогично вышеперечисленным реакциям.

3.2.6 DBD-COCl

Название по ИЮПАК – 2-[[4-(диметилсульфамоил)-2,1,3-бензоксадиазол-7-ил]-метиламино]ацетилхлорид.

DBD-COCl продемонстрировал высокую реакционную способность, реакция протекает в течение 5 минут в мягких условиях и без необходимости в катализаторе. Как и другие реагенты, он показывает интенсивную флуоресценцию, длины волн возбуждения и

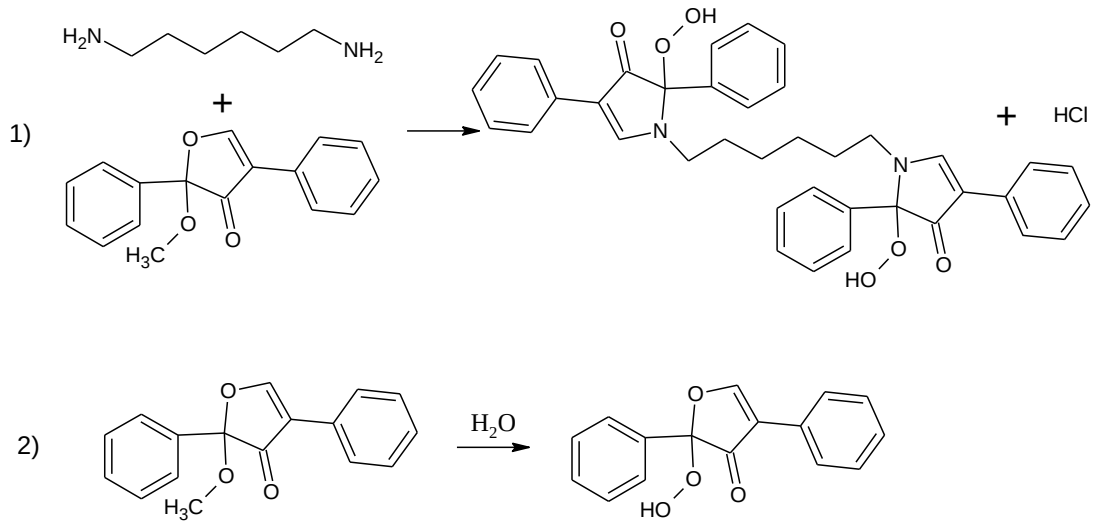
испускания для DBD-COCl соответствуют 450 и 560 нм [90]. Большие длины волн возбуждения и испускания производных позволяют избежать помех, возникающих из-за матричного эффекта [91-93].

Реакцию DBD-COCl с ГМДА проводили в среде боратного буфера в течение 2 мин. Полученный продукт не показал достаточной чувствительности, необходимой для методики.

3.2.7 MDPF

Название по ИЮПАК – 2-метокси-2,4-дифенилфуран-3-он

MDPF быстро реагирует с первичными аминами и образует высокофлуоресцентные и стабильные флуорофоры (λex = 385 нм и λem = 480 нм), в то время как несвязанный краситель и продукты его гидролиза не флуоресцентны [94]. Структура и реакция MDPF схематически представлены на рисунке 3.7 [95, 96].



1) реакция взаимодействия MDPF с ГМДА, 2) реакция гидролиза MDPF

Рисунок 3.7 – Реакция MDPF с ГМДА

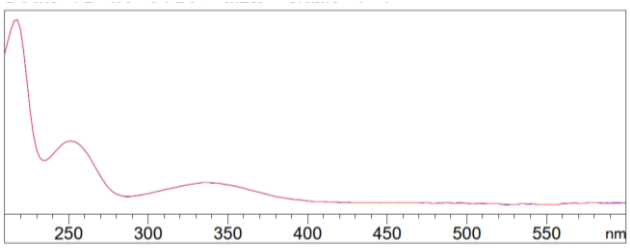
Кроме того, реагент специфичен для соединений с первичной аминогруппой. Поэтому в присутствии вторичных аминов он производит не флуоресцентные производные.

Реакцию ГМДА с MDPF проводили в щелочной среде в течение 2 минут. Результаты показали, что полученные производные не стабильны в водных растворах и не обладают достаточной интенсивностью для достижения чувствительности методики на уровне 0,0005 мг/м^3 [96].

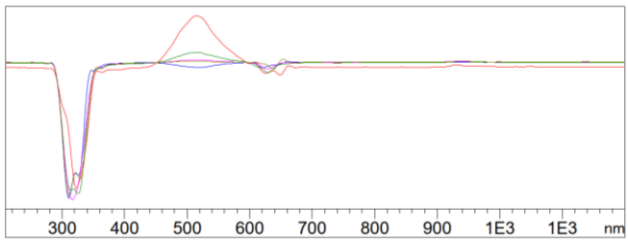
Для дальнейшего определения ГМДА методом ВЭЖХ предложено использовать в качестве дериватизирующих реагентов Dns-Cl, Fmoc-Cl, PSCl. Преимуществом применения Dns-Cl, Fmoc-Cl, PSCl является высокая интенсивность поглощения и высокая интенсивность флуоресценции продуктов реакции. На хроматограммах полученных дериватов в меньшей степени наблюдалось фоновое влияние матрицы. К тому же полученные результаты продемонстрировали приемлемые показатели воспроизводимости на данном этапе разработки методики и высокие значения выхода дериватов.

3.3 Изучение спектральных характеристик ГМДА и его производных

ГМДА не поглощает излучение в УФ- или видимой области ввиду отсутствия хромофорных групп. Для выбора оптимальной длины волны детектирования изучали спектры поглощения и эмиссии образующихся производных ГМДА и Dns-Cl, Fmoc-Cl, PSCl. Спектральный анализ проводили с использованием жидкостного хроматографа Agilent 1260 Infinity оснащенного флуориметрическим детектором в диапазоне длин волн от 190 до 600 нм – для анализа спектров поглощения, в диапазоне длин волн от 200 до 1200 нм – для анализа спектров эмиссии. Результаты представлены на рисунках 3.8–3.10.

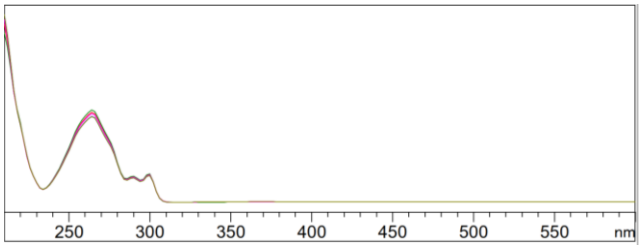


а) Спектр поглощения, максимумы – 217, 252, 338 нм

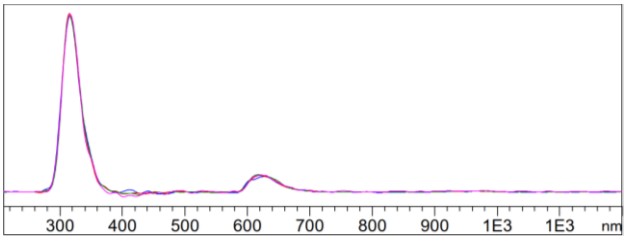


б) Спектр эмиссии, максимум – 515 нм

Рисунок 3.8 – Спектр поглощения (а) и эмиссионный спектр (б) хроматографичесого пика продукта Dns-Cl и ГМДА

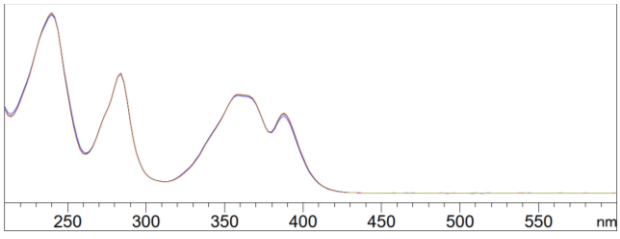


а) Спектр поглощения, максимум – 265 нм

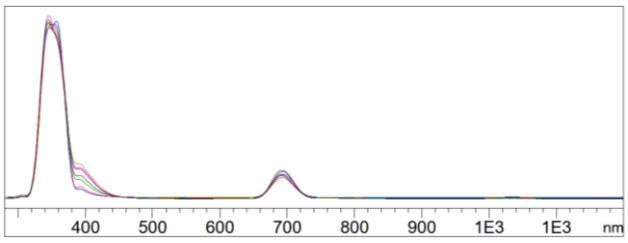


б) Спектр эмиссии, максимум – 318 нм

Рисунок 3.9 – Спектр поглощения (а) и эмиссионный спектр (б) хроматографичесого пика продукта Fmoc-Cl и ГМДА



а) Спектр поглощения, максимумы – 240, 284, 360, 388 нм



б) Спектр эмиссии, максимумы – 390, 417, 440, 690 нм

Рисунок 3.10 – Спектр поглощения (а) и эмиссионный спектр (б) хроматографичесого пика продукта PSCl и ГМДА

Исследование спектров поглощения и эмиссии хроматографических пиков производных ГМДА и Dns-Cl, Fmoc-Cl, PSCl показало наличие максимумов поглощения и эмиссии, в случае производных с PSCl – наличие нескольких максимумов. В качестве рабочих длин волн были выбраны: для Dns-Cl – λ_{ex}= 338, λ_{em} = 515 нм; для Fmoc-Cl –

λ_{ex} = 265, λ_{em} = 318 нм; для PSCl – λ_{ex} = 350, λ_{em} = 486 нм. Выбор данных длин волн обусловлен высокими значениями интенсивностей поглощения и флуоресценции и низкими показателями фонового шума. При наличии нескольких максимумов поглощения выбирали более специфичную длиноволновую область, чтобы уменьшить влияние эндогенных компонентов матрицы.

3.4 Выбор условий определения ГМДА методом обращено-фазовой ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием

Выбор условий хроматографического определения ГМДА проводили экспериментально, учитывая физико-химические свойства реагентов и полученных дериватов. Общим в структуре вышеперечисленных соединений является наличие ароматических колец – малополярной ароматической углеродной и гетероуглеродной основы, несущей более полярные заместители (см. рисунок 3.1). Такой тип структуры предопределяет использование обращено-фазового варианта ВЭЖХ.

При разработке методики использовали ВЭЖХ-системы Survevor Plus (Thermo Fisher Scientific, США), Agilent 1260 Infinity (Agilent Technologies, США) и Ex1800 (Exformma Technologies, Китай) состоящих из двухканального градиентного насоса со смешением по высокому давлению, термостата колонок, дегазатора подвижной фазы, с ФЛД и автоматического инжектора с дозирующим устройством для ввода пробы. Для управления хроматографом и обработки данных применяли программное обеспечение ChromQuest, версия 5,0, Agilent ChemStation Rev. B.04.01 и EX-Clarity соответственно.

Оценку влияния состава подвижной фазы на хроматографические параметры пика ГМДА и выбор условий его хроматографического определения проводили параллельно.

Для определения ГМДА были опробованы девять хроматографических колонок, согласно разделу 2, заполненных силикагелями с привитыми октадецильными группами, имеющие разную длину (100–250 см), размера частиц (2,7–5,0 мкм), стабильными в широком диапазоне единиц pH (1,0–14,0) и использующиеся для разделения основных нейтральных и кислотных соединений [97, 98]. Результаты исследования показали, что при выборе хроматографической колонки для определения неполярных дериватов ГМДА оптимальным будет использование универсальных колонок с привитыми фазами С18. При использование всех вышеперечисленных колонок наблюдались удовлетворительные показатели удерживания, разрешающей способности и четкие пики. Исключением является NUCLEODUR C18 Pyramid (3 × 250 мм, 5 мкм). Колонка показала недостаточное удерживание веществ даже при высоких значениях воды в элюенте.

Для всех продуктов Dns-ГМДА, Fmoc-ГМДА и PS-ГМДА была выбрана хроматографическая колонка – Ultisil XB-C18 (4,6 × 150 мм, 5,0 мкм) или ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4,6 × 150 мм, 5,0 мкм).

Выбор состава и соотношения компонентов подвижной фазы проводили с использованием воды, ацетонитрила и различных модификаторов в форме кислот (ортофосфорная, трифторуксусная, муравьиная) и солей (0,05 М фосфатный буферный

(pH = 3,0) раствор, 0,005 М ацетатный буферный раствор (pH = 4,0). Выбор компонентов подвижной фазы был основан на возможной эффективности разделения, сокращении времени уравновешивания колонки и данных о токсичности растворителя. В процессе анализа использовали изократический и градиентный режимы элюирования, скорость подачи элюента варьировали от 0,8 до 1,5 мл/мин.

Поскольку разрабатываемая методика предназначается для дальнейшего серийного анализа проб, хроматографический режим подбирали так, чтобы время удерживания целевого аналита находилось в интервале от 5 до 8 мин, общее время записи хроматограммы не превышало 15 мин.

Использование элюентов на основе ацетонитрила и воды оказалось предпочтительнее, так как позволяет эффективно определять анализируемые дериваты при подобранных длинах волн детектирования и при этом не оказывает негативного влияния на компоненты хроматографической системы, в отличие от, например, солесодержащих буферных растворов. Использование модификаторов в подвижной фазе практически не влияет на времена удерживания и форму пиков продуктов ГМДА. Следовательно использование элюентов с добавлением различных модификаторов не эффективно.

Результаты предварительного этапа хроматографического анализа производных Dns-Cl, Fmoc-Cl и PSCl с ГМДА представлены на рисунках 3.11–3.13.

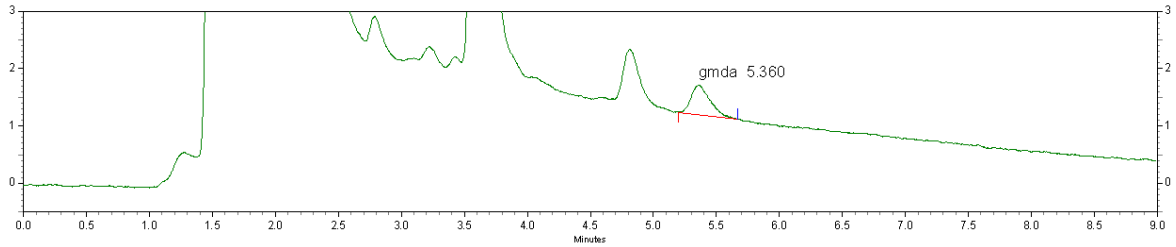


Рисунок 3.11 – Хроматограмма Dns-Cl и ГМДА

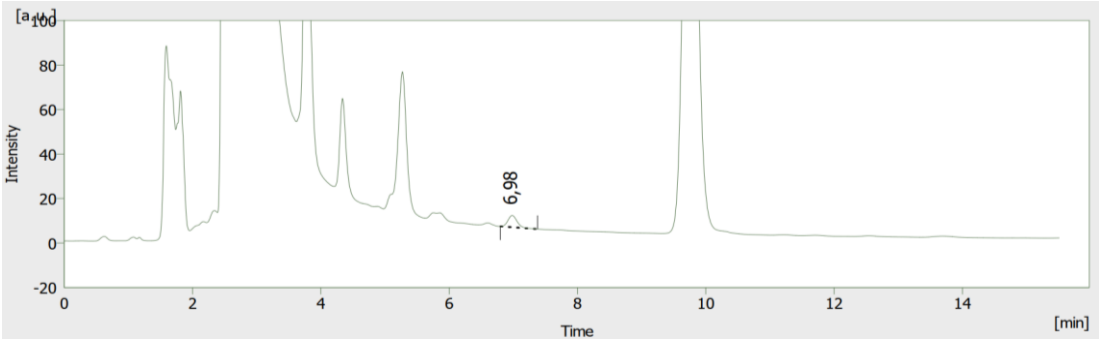


Рисунок 3.12 – Хроматограмма Fmoc-Cl и ГМДА

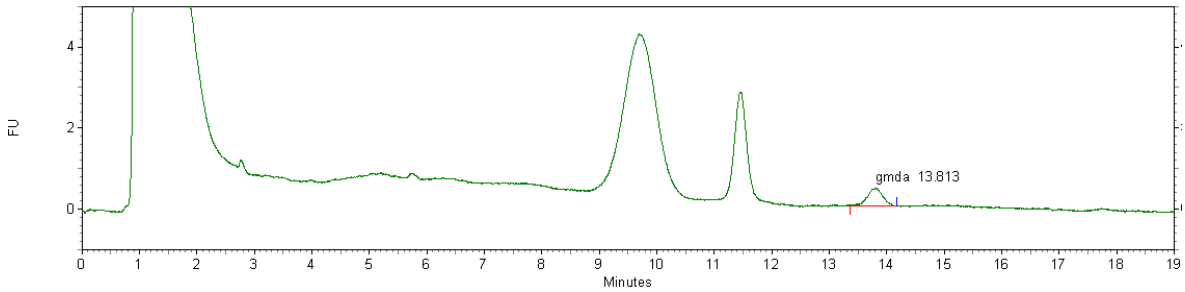


Рисунок 3.13 – Хроматограмма PSCl и ГМДА

Для всех видов колонок и для всех режимов элюирования наблюдали схожую хроматографическую картину: в начальной области (первые 4 мин анализа) регистрировали группу достаточно интенсивных пиков, которые соответствовали реагентам либо их продуктам гидролиза и других примесей, далее регистрировали пик реагент-ГМДА. Для обеспечения надежного определения пиков ГМДА, для их воспроизводимого обсчета и отделения пиков ГМДА от пиков мешающих веществ, были подобраны условия градиентного элюирования. Результаты представлены в таблице 3.2.

Таблица 3.2 – Результаты параметров элюирования

<table>
<tr><td>Условие</td><td colspan="3">Значение</td></tr>
<tr><td>Дериватизирующее вещество</td><td>Dns-Cl</td><td>Fmoc-Cl</td><td>PSCl</td></tr>
<tr><td>Режим элюирования</td><td>градиентный</td><td>изократический</td><td>градиентный</td></tr>
<tr><td>Состав подвижной фазы</td><td>A – ацетонитрил,
B – деионизированная вода
<table><tr><th>t, мин</th><th>A</th><th>B</th></tr><tr><td>0</td><td>60</td><td>40</td></tr><tr><td>7</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>8</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>9</td><td>60</td><td>40</td></tr><tr><td>11</td><td>60</td><td>40</td></tr></table></td><td>Ацетонитрил / деионизированная вода – 80 / 20</td><td>A – ацетонитрил,
B – деионизированная вода
<table><tr><th>t, мин</th><th>A</th><th>B</th></tr><tr><td>0</td><td>60</td><td>40</td></tr><tr><td>7</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>9</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>10</td><td>60</td><td>40</td></tr><tr><td>14</td><td>60</td><td>40</td></tr></table></td></tr>
</table>

Для анализа ГМДА с использованием Fmoc-Cl был использован изократический режим элюирования ввиду невозможности разделения веществ с использованием градиентного анализа. Для увеличения селективности было изучено влияние температуры термостата колонки на хроматографическое поведения анализируемых веществ.

В случае дериватизации с Fmoc-Cl, с повышением температуры термостата колонки, размытие пика уменьшается, высота увеличивается, уменьшается время выхода, однако также сокращается разрешающая способность. Результаты представлены в таблице 3.3.

На рисунке 3.14 представлены хроматограммы стандартных растворов, полученных дериватов Fmoc-ГМДА, в зависимости от температуры термостата колонки – 25, 30 и 40 ºС.

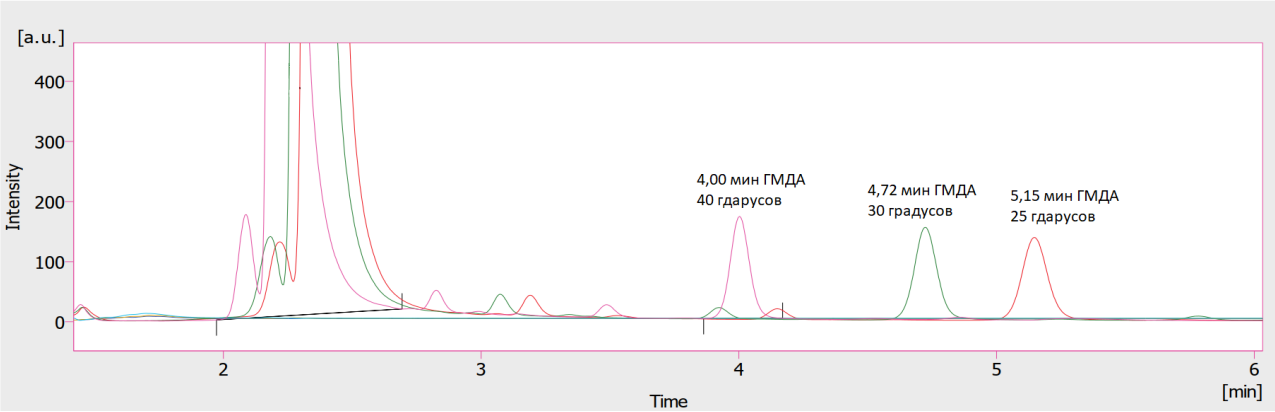


Рисунок 3.14 – Хроматограммы стандартных растворов, полученных дериватов Fmoc-ГМДА в зависимости от температуры термостата колонки

Таблица 3.3 – Влияние температуры термостата колонки на хроматографическое поведение пика Fmoc-ГМДА

Температура термостата колонки, °С	Время удерживания Fmoc-ГМДА, R_f, мин	Время удерживания Fmoc-Cl, R_f, мин	Высота пика, h	Ширина основания, w	Площадь пика, S	Разрешающая способность, R_S
25	5,15	2,43	2,3	0,43	962,1	6,61
30	4,72	2,38	2,5	0,4	954,4	5,90
40	4,00	2,27	2,8	0,3	897,6	4,90

Оптимальной температурой для анализа с Fmoc-Cl была выбрана 25 °С, чтобы пик Fmoc-ГМДА не выходил на «хвосте» реагента Fmoc-Cl, однако сохранял оптимальные параметры пика.

В случае дериватизации с Dns-Cl или PSCl, изменение температуры термостата колонки не оказывало значительного влияния на хроматографическое поведение пиков, оптимальной была выбрана температура 30 ºС.

3.5 Итоговые параметры хроматографического определения

По совокупности полученных нами результатов были выбраны оптимальные условия определения ГМДА в зависимости от используемого реагента методом ВЭЖХ-ФЛД, представленные в таблице 3.4.

Таблица 3.4 – Оптимальные параметры хроматографического определения ГМДА

<table>
<tr><td>Условие</td><td colspan="3">Значение</td></tr>
<tr><td>Дериватизирующее вещество</td><td>Dns-Cl</td><td>Fmoc-Cl</td><td>PSCl</td></tr>
<tr><td>Хроматографическая колонка</td><td>Ultisil XB C18 (150 × 4,6 мм, 5 мкм)</td><td>Ultisil XB C18 (150 × 4,6 мм, 5 мкм)</td><td>Ultisil XB C18 (150 × 4,6 мм, 5 мкм)</td></tr>
<tr><td>Температура термостата колонки, ºС</td><td>30</td><td>25</td><td>30</td></tr>
<tr><td>$\lambda_{возбуждения}$, нм / $\lambda_{испускания}$, нм</td><td>338 / 515</td><td>265 / 318</td><td>350 / 486</td></tr>
<tr><td>Режим элюирования</td><td>градиентный</td><td>изократический</td><td>градиентный</td></tr>
<tr><td>Программа элюирования</td><td>A – ацетонитрил, B – вода деионизированная
<table><tr><th>t, мин</th><th>A</th><th>B</th></tr><tr><td>0</td><td>60</td><td>40</td></tr><tr><td>7</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>8</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>9</td><td>60</td><td>40</td></tr><tr><td>11</td><td>60</td><td>40</td></tr></table></td><td>Ацетонитрил/ деионизированная вода – 85 / 15</td><td>A – ацетонитрил, B – вода деионизированная
<table><tr><th>t, мин</th><th>A</th><th>B</th></tr><tr><td>0</td><td>60</td><td>40</td></tr><tr><td>7</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>9</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>10</td><td>60</td><td>40</td></tr><tr><td>14</td><td>60</td><td>40</td></tr></table></td></tr>
<tr><td>Время анализа, мин</td><td>11</td><td>13</td><td>15</td></tr>
<tr><td>Скорость элюирования, $см^3$/мин</td><td>1,3</td><td>1,1</td><td>1,4</td></tr>
<tr><td>Объем вводимой пробы, $мм^3$</td><td>20–25</td><td>20–25</td><td>20–25</td></tr>
<tr><td>Ориентировочное время удерживания, мин</td><td>6,2</td><td>6,7</td><td>7,1</td></tr>
</table>

На рисунках 3.15–3.17 приведены хроматограммы стандартного раствора ГМДА, концентрацией 0,002 мкг/$см^3$ с различными дериватизирующими агентами.

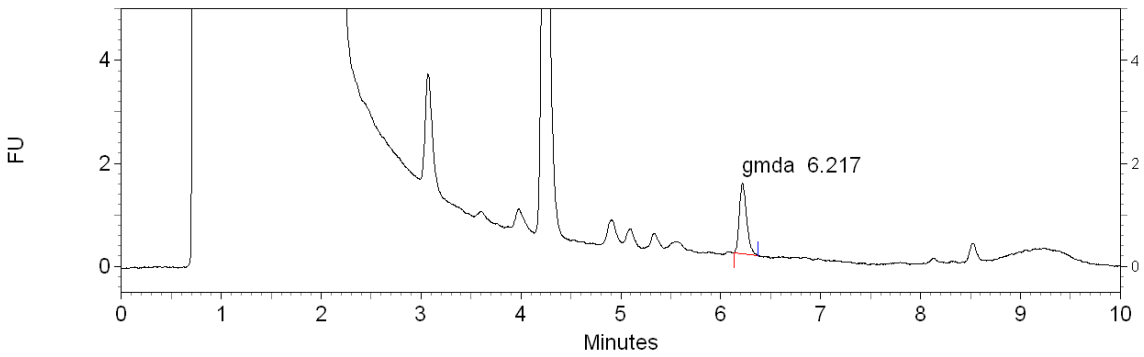


Рисунок 3.15 – Хроматограмма раствора ГМДА с дериватизирующим агентом DnsCl, соответствующая первой точке градуировочного графика (0,002 мкг/$см^3$)

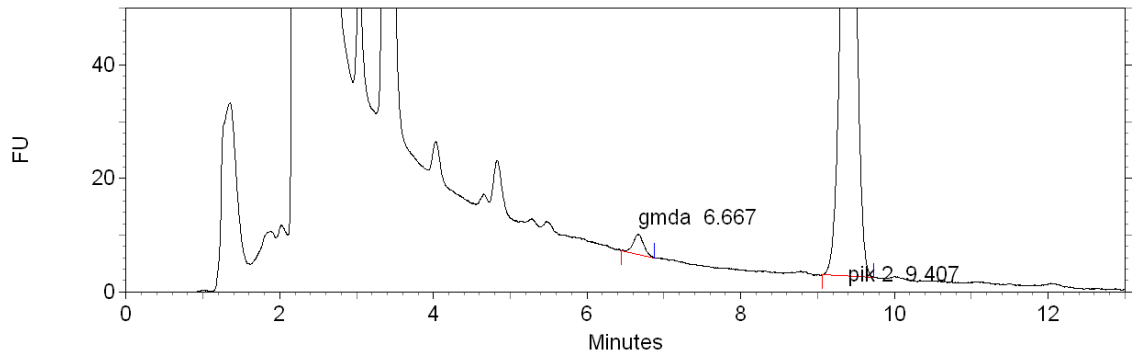


Рисунок 3.16 – Хроматограмма раствора ГМДА с дериватизирующим веществом Fmoc-Cl, соответствующая первой точке градуировочного графика (0,002 мкг/см^3)

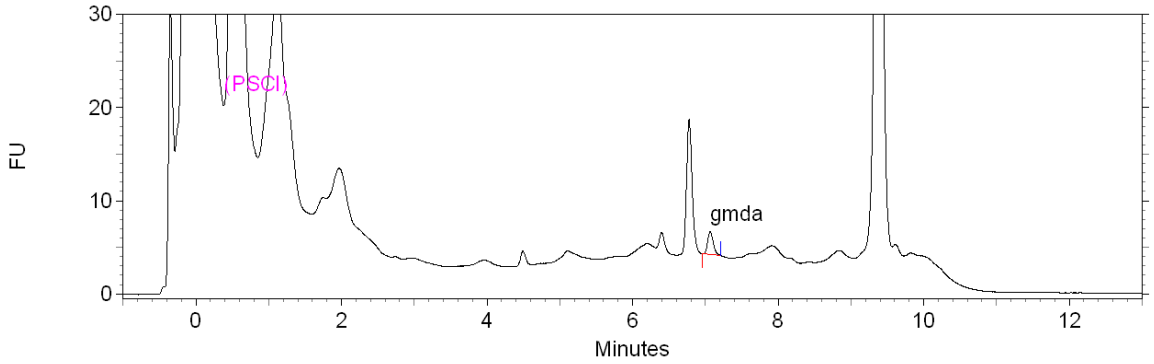


Рисунок 3.17 – Хроматограмма раствора ГМДА с дериватизирующим веществом PSCl, соответствующая первой точке градуировочного графика (0,002 мкг/см^3)

3.6 Выбор оптимальных условий реакции дериватизации ГМДА

Следующим этапом разработки методики является выбор оптимального способа проведения реакции дериватизации. Для оптимизации реакции последовательно подбирали условия проведения дериватизации, изменяя требуемый параметр (pH, концентрация реагента, температура реакции) при постоянных значениях других. Дериватизацию проводили непосредственно в хроматографических виалах из темного стекла.

Выход продуктов дериватизации рассчитывали, как отношение площади пика ГМДА к площади пика этого же производного, полученного в выбранных условиях, согласно разделу 3.4.

3.6.1 Значение pH

Поскольку реакция дериватизации Dns-Cl, Fmoc-Cl и PSCl с ГМДА протекает по типу нуклеофильного замещения, требуется умеренно щелочная среда, чтобы ГМДА стал депротонированным. Основной процесс реакции замещения сопровождается побочными реакциями:

1. Гидролиз дериватизирующего агента;
2. Образование аминов Dns-NH, Fmoc-NH, PSNH;
3. Другие продукты [82].

Была изучена зависимость протекания реакции дериватизации от pH в диапазоне от 4 до 11 ед. pH буферного раствора. В качестве буферного раствора использовали 0,05 М

фосфатный и 0,05 М боратный буферные растворы. Результаты представлены на рисунках 3.18–3.20.

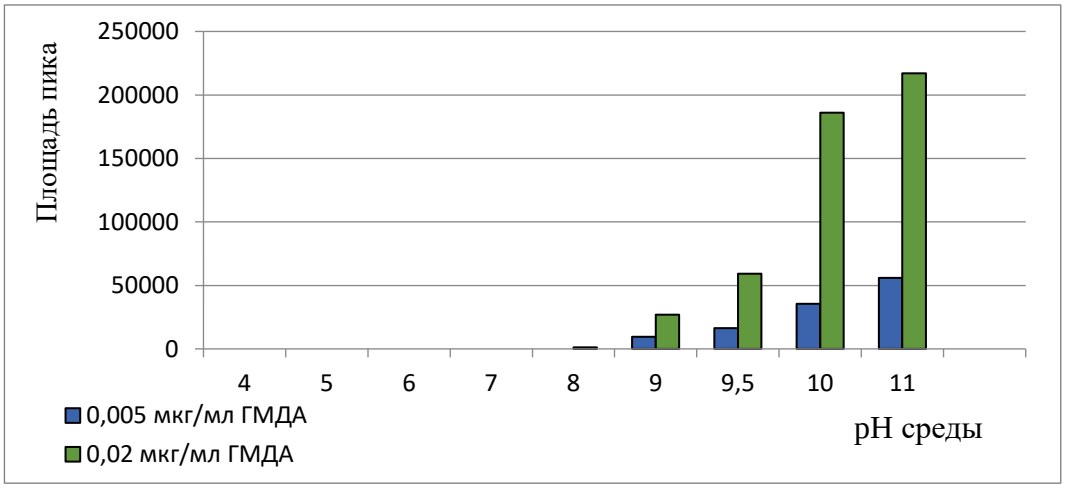


Рисунок 3.18 – Зависимость реакции дериватизации ГМДА и Dns-Cl от pH

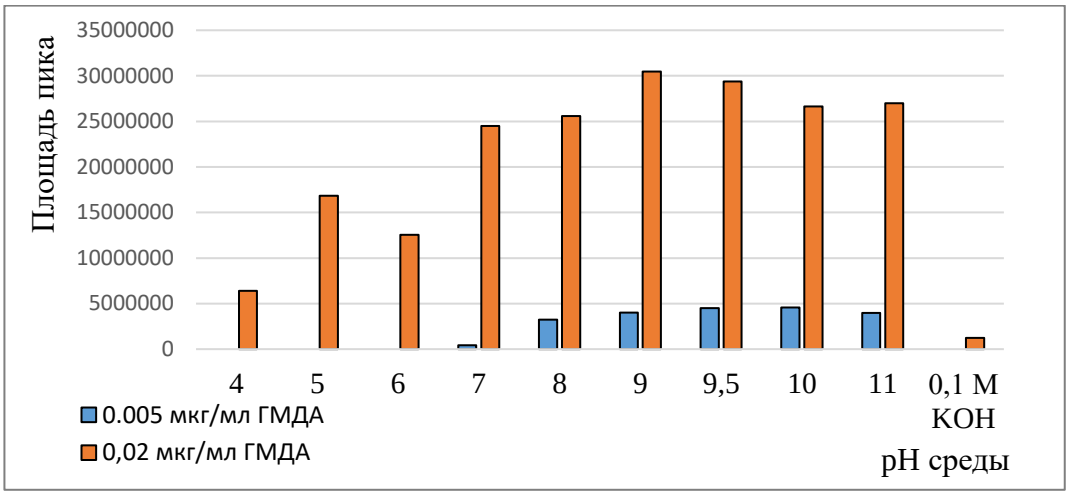


Рисунок 3.19 – Зависимость реакции дериватизации ГМДА и Fmoc-Cl от pH

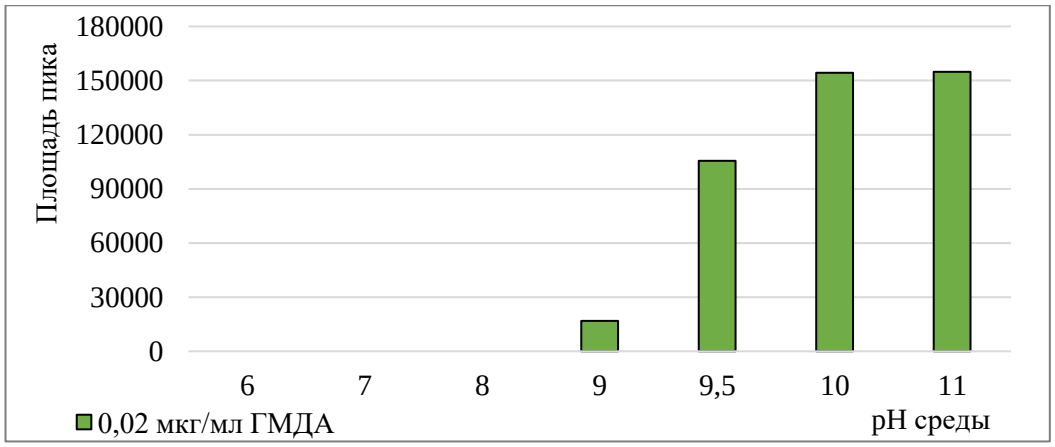


Рисунок 3.20 – Зависимость реакции дериватизации ГМДА и PSCl от pH

Результаты показали, что при использовании реагентов Dns-Cl и PSCl с ростом показателя pH растет выход производного ГМДА, оптимальными являются pH = 11 для

Dns-Cl и pH = 10 для PSCl, при использовании Fmoc-Cl оптимальной является pH = 9, при которой наблюдается максимальный выход продукта.

Кроме того, нами было изучено влияние природы буферного раствора на проведение реакции дериватизации. Для поддержания pH реакционной среды были проанализированы натрий-боратный буферный раствор, аммиачный буферный раствор, натрий-гидрокарбонатный буферный раствор.

Исследования показали, что степень образования производных ГМДА несущественно отличается в гидрокарбонатном и боратном буфере и меньше в аммиачном буферном растворе. В качестве буферного раствора использовали боратный буферный раствор.

3.6.2 Концентрация реагента

Поскольку основная реакция дериватизации является обратимой, протекает с конкурирующим процессом гидролиза реагента и другими побочными реакциями, то необходимо использование избытка реагента для проведения реакции с максимальным выходом. Были проанализированы растворы Dns-Cl с концентрациями в реакционной смеси 2,5; 5,0; 50,0; 100; 250; 500 мкг/см^3, Fmoc-Cl с концентрациями в реакционной смеси 0,05; 0,5; 5,0; 50; 100 мкг/см^3 и PSCl с концентрациями в реакционной смеси 5; 25; 50; 100; 200; 500 мкг/см^3. Реакцию проводили в среде боратного буферного раствора с pH 11,0; 9,0 и 10,0 соответственно. Концентрация ГМДА находилась на уровне 0,002 мкг/см^3.

Результаты представлены на рисунках 3.21–3.23.

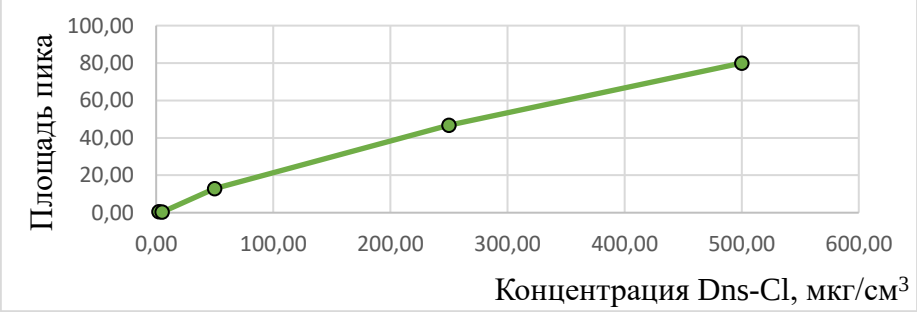


Рисунок 3.21 – Зависимость выхода реакции дериватизации ГМДА и Dns-Cl от концентрации реагента

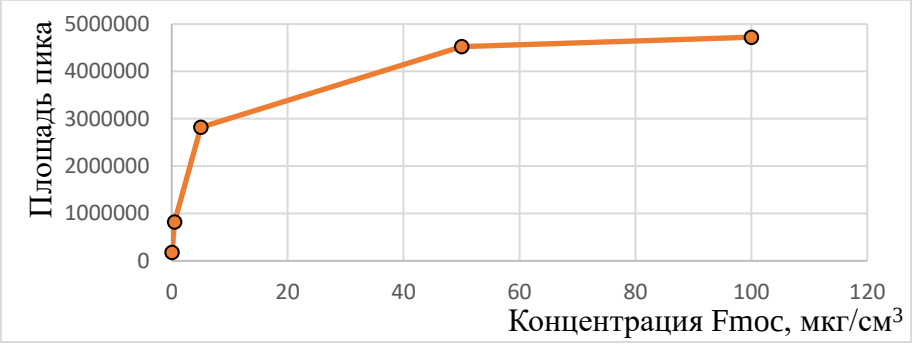


Рисунок 3.22 – Зависимость выхода реакции дериватизации ГМДА и Fmoc-Cl от концентрации реагента

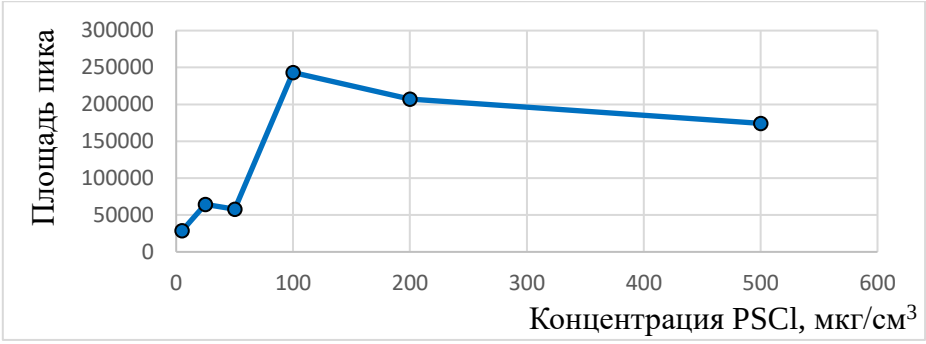
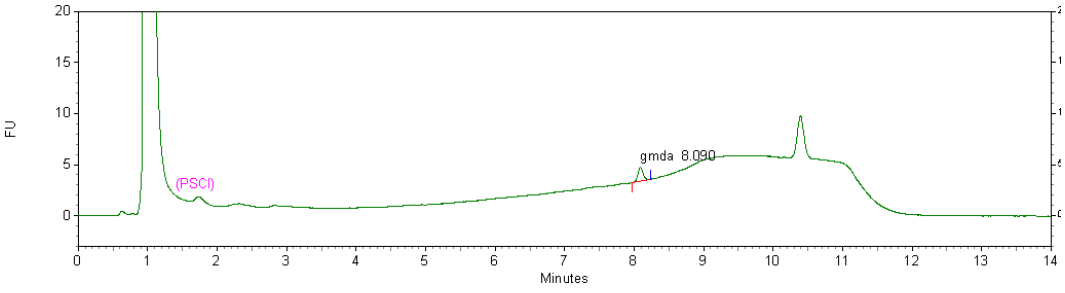


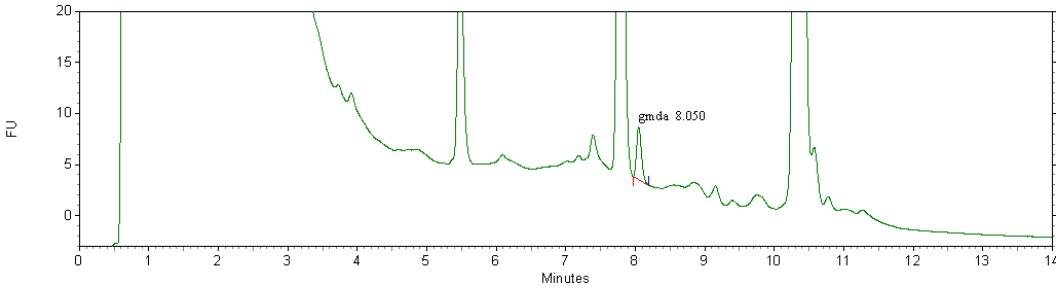
Рисунок 3.23 – Зависимостьвыхода реакции дериватизации ГМДА и PSCl от концентрации реагента

Из представленных зависимостей видно, что с повышением концентрации реагента увеличивается концентрация полученных производных. Недостатком использования высоких концентраций Dns-Cl, Fmoc-Cl и PSCl является появление большого пика используемых реагентов на хроматограмме и протекание побочных реакций, приводящих к появлению на хроматограмме дополнительных фоновых пиков. Поэтому большие избытки реагентов не используют. На рисунках 3.24-3.26 представлены хроматограммы, полученные при использовании Dns-Cl, Fmoc-Cl и PSCl с различными концентрациями.

а)



б)

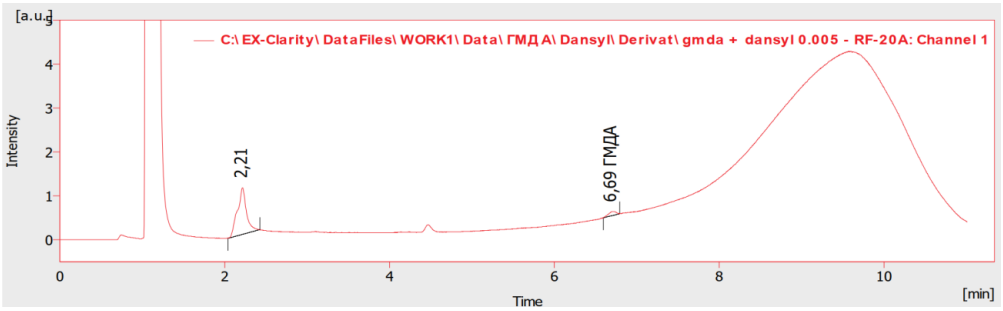


а) концентрация 5 мкг/см^3 PSCl в реакционной смеси;

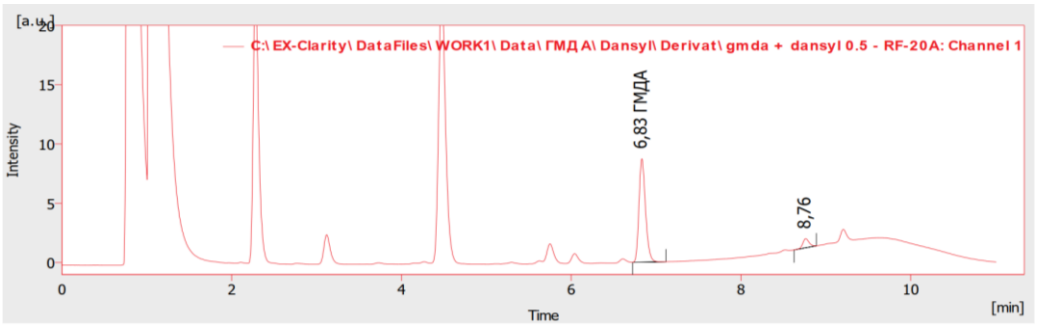
б) концентрация 500 мкг/см^3 PSCl в реакционной смеси

Рисунок 3.24 – Хроматограмма стандартного раствора ГМДА (0,002 мкг/см^3) при использовании в качестве реагента PSCl

а)



б)

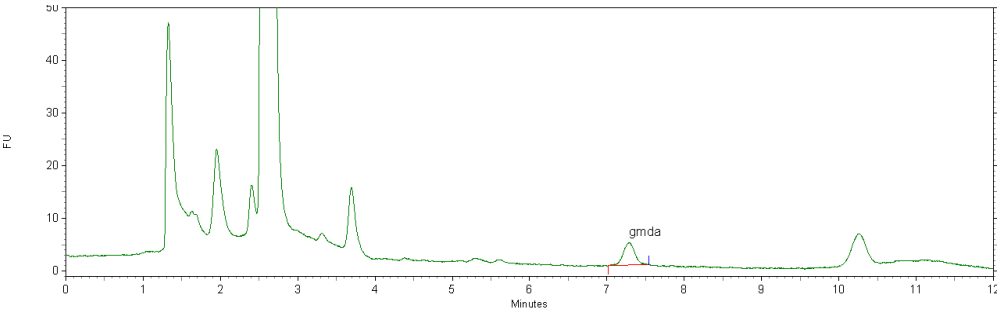


а) концентрация 2,5 мкг/см^3 Dns-Cl в реакционной смеси;

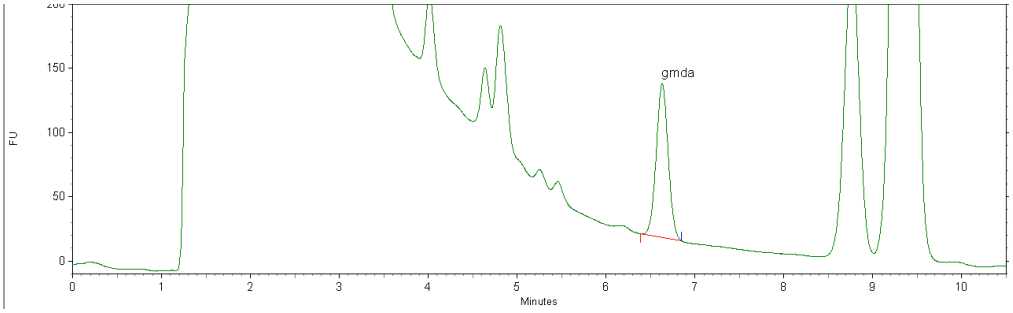
б) концентрация 500 мкг/см^3 Dns-Cl в реакционной смеси

Рисунок 3.25 – Хроматограмма стандартного раствора ГМДА (0,002 мкг/см^3) при использовании в качестве реагента Dns-Cl

а)



б)



а) концентрация 0,05 мкг/см^3 Fmoc-Cl в реакционной смеси;

б) концентрация 50 мкг/см^3 Fmoc-Cl в реакционной смеси

Рисунок 3.26 – Хроматограмма стандартного раствора ГМДА (0,002 мкг/см^3) при использовании в качестве реагента Fmoc-Cl

Согласно представленным хроматограммам, низкое значение концентрации реагента также не дает положительных результатов, выход продукта ГМДА не высокий при

использовании всех реагентов и недостаточный для достижения необходимой чувствительности методики.

Оптимальной концентрацией для достижения необходимого выхода продукта и отсутствия побочных пиков является 100 мкг/см^3 – для Dns-Cl, 50 мкг/см^3 – для Fmoc-Cl, 100 мкг/см^3 – для PSCl.

Использование в качестве дериватизирующего агента PSCl приводит к образованию труднорастворимых в воде производных, что требует использования дополнительных стадий очистки, жидкость-жидкостной экстракции или твердофазной экстракции.

3.6.3 Температура реакции

Температура существенно влияет на реакцию дериватизации. В условиях избытка реагента было изучено влияние нагрева и действие УЗ-излучения на полноту и скорость образования производных. Нагревание образцов проводили на водяной бане при 30; 40; 50; 60; 70; 80 ºС. Все операции проводятся с 0,002 мкг/см^3 раствором ГМДА. pH устанавливали на уровне 11,0, 9,0 или 10,0 при использовании Dns-Cl, Fmoc-Cl или PSCl соответственно. Результаты представлены на рисунке 3.27. Для удобства изображения зависимостей результаты преобразовывались по минимальному и максимальному значению.

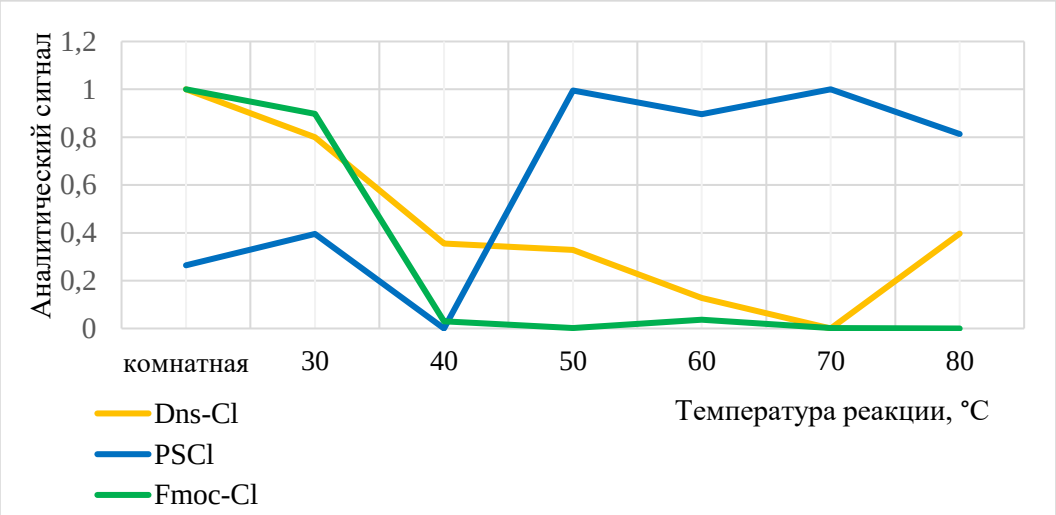


Рисунок 3.27 – Результаты зависимостей выхода продукта от температуры реакции для Dns-Cl, Fmoc-Cl или PSCl

Зависимости выхода продуктов дериватизации от времени представлены на рисунке 3.28. Опыты по изучению времени реакции проводили при комнатной температуре в случае Dns-Cl и Fmoc-Cl, при 55 °С в случае PSCl.

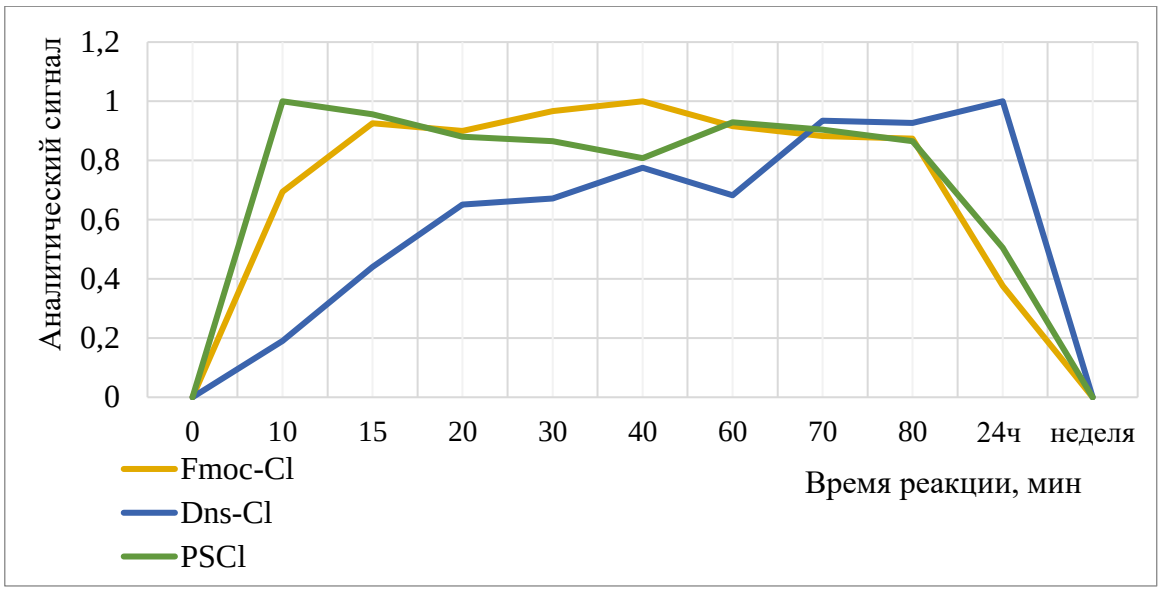


Рисунок 3.28 – Результаты зависимостей выхода продукта от времени реакции для Dns-Cl, Fmoc-Cl или PSCl (при 55°C)

Согласно представленным результатам, повышение температуры приводит к увеличению выхода продукта ГМДА только при использовании PSCl. При использовании Dns-Cl, и Fmoc-Cl максимальные выходы достигаются при комнатной температуре. Изучение влияния времени реакции на выход продукта ГМДА показали, что Fmoc-Cl и PSCl реагируют менее чем за 15 мин, для получения достоверных результатов реакцию рекомендуется проводить 20 мин. Использование Dns-Cl демонстрирует постепенное увеличение выхода продукта реакции и достигает своего максимума по истечении 24 часов.

Использование УЗ приводит к уменьшению выхода на 20–40 %, однако в случае Dns-Cl позволяет существенно сократить время анализа, до 30 мин.

3.6.4 Порядок проведения реакции дериватизации

Проведенное исследование влияния факторов: температуры и продолжительности реакции, природы реагента, его количества, pH реакционной смеси, природы буферного раствора на хроматографическое поведение продуктов ГМДА и выход реакции позволило определить оптимальные условия дериватизации.

Использование в качестве реагентов Fmoc-Cl и PSCl существенно сокращает реакцию, однако флуктуации выхода продукта ГМДА при использовании Fmoc-Cl ограничивает его использование. Применение в качестве дериватизирующего агента PSCl приводит к образованию труднорастворимых в воде производных, что требует использования дополнительных стадий жидкость-жидкостной экстракции или твердофазной экстракции, которые при анализе проб воздуха не предпочтительны.

Определение ГМДА с использованием Dns-Cl продемонстрировало наиболее эффективные результаты. Преимуществами Dns-Cl являются также доступность, более высокая растворимость в воде и возможность достижения большого избытка при дериватизации. Оптимальные условия дериватизации следующие: реакцию проводят

в виалах из темного стекла вместимостью 2 $см^3$. В виалу вносят 0,8 $см^3$ раствора ГМДА, добавляют 0,1 $см^3$ 0,05 М боратного буферного раствора с pH 11, перемешивают взбалтыванием. Далее добавляют 0,1 $см^3$ раствора Dns-Cl в ацетонитриле с концентрацией 1000 мкг/$см^3$. Растворы встряхивают и оставляют в темном месте на сутки. Также проводят анализ холостой пробы с дистиллированной водой, без наличия стандартного раствора ГМДА.

3.7 Подтверждение структуры полученных производных

Структуры полученных производных ГМДА с Dns-Cl были подтверждены с помощью жидкостной хроматографии в сочетании с ЭСП-МС. Использовали следующие условия хроматографирования:

- подвижная фаза А: 0,1 % (об/об) раствор муравьиной кислоты в воде деионизированной; В: 0,1 % (об/об) раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле.
- программа элюирования: элюент В 60 об. %, подъем до 90 об. % за 10 мин, 90 об. % (10 мин);
- скорость потока подвижной фазы: 0,3 мл/мин;
- температура колонки: 30 °С;
- объем вводимой пробы: 1 мкл.

Поток элюента из хроматографа подается на сброс, и переключается на подачу в детектор во время хроматографирования пробы за 1 минуту до времени удерживания определяемого вещества.

Параметры источника ионов:

- тип ионизации: электрораспылительная ионизация (ESI);
- газ: азот;
- температура подающего газа: 250 °С;
- скорость подающего газа: 10 л/мин;
- напряжение, подаваемое на капилляр: 3000 В;
- напряжение, подаваемое на конец капилляра: 500 В;
- температура осушающего газа: 250 °С;
- скорость осушающего газа: 10 л/мин;
- давление газа в распылителе: 30 psi (фунт/кв. дюйм);
- полярность: положительная;

Масс-спектр получали в режиме сканирования.

На рисунках 3.29, 3.30 представлены хроматограмма дансил-ГМДА и его масс-спектр соответственно.

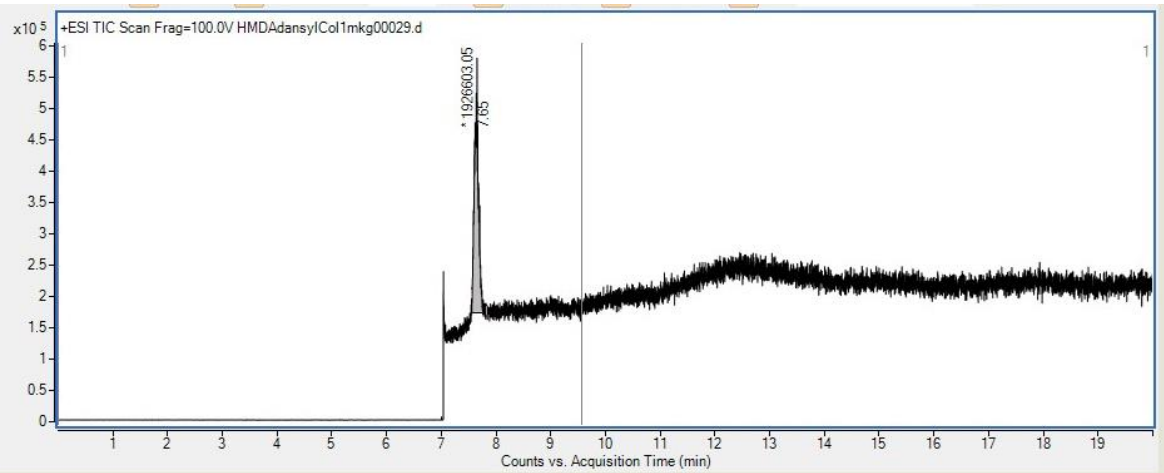


Рисунок 3.29 – Хроматограмма стандартного раствора Dns-ГМДА

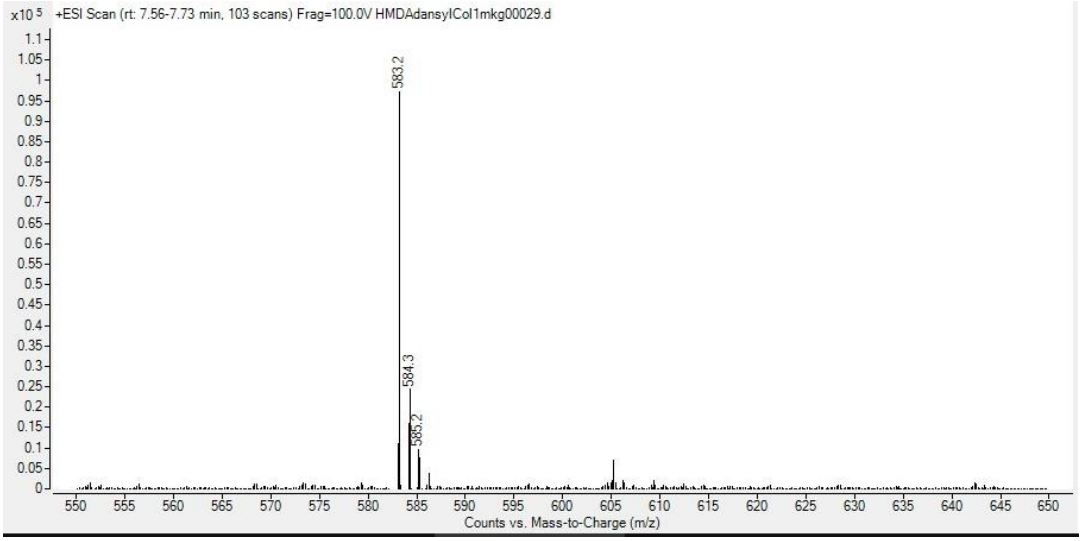


Рисунок 3.30 – Масс-спектр стандартного раствора Dns-ГМДА

Анализ масс-спектра позволил определить молекулярную массу, полученного на хроматограмме пика. Расчетное значение Dns-ГМДА составляет 582,8 г/моль (ГМДА взаимодействует с двумя молекулами Dns-Cl), значение массы молекулярного иона до фрагментации, полученное с помощью масс-спектра, составляет 583,2 г/моль. Данная информация подтверждает наличие молекулы производного Dns-ГМДА.

3.8 Построение градуировочного графика

В выбранных условиях проведения реакции дериватизации (п. 3.6.3) и согласно условиям хроматографического определения (подраздел 3.5), построили градуировочную зависимость в диапазоне концентраций ГМДА от 2,0 нг/см^3 до 10 нг/см^3 (рисунок 3.31).

Установление градуировочной характеристики, выражающей зависимость среднего значения площади хроматографического пика от массовой концентрации ГМДА в растворе, проводили по двум сериям из шести градуировочных растворов ГМДА. Для построения градуировочной характеристики использовали растворы с массовой концентрацией ГМДА 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 нг/см^3. Каждый градуировочный раствор хроматографируют не менее двух раз, начиная с раствора наименьшей концентрации.

Для установления градуировочной характеристики использовали программу Microsoft Office Excel.

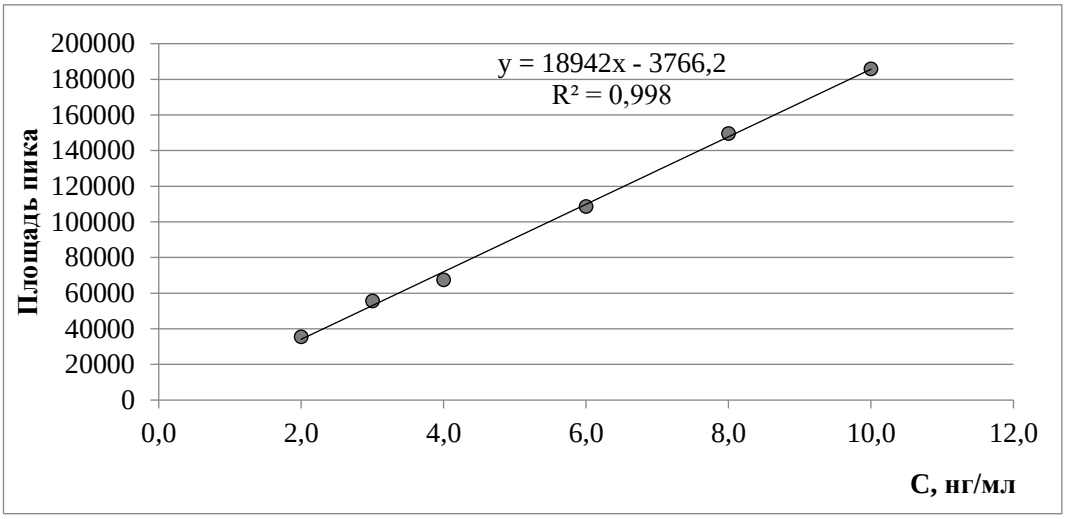


Рисунок 3.31 – Градуировочный график зависимости площади хроматографического пика Dns-ГМДА от концентрации

Градуировочный график представляет собой линейную зависимость площади пика от массовой концентрации Dns-ГМДА в растворе в диапазоне от 2,0 до 10,0 нг/см^3. Зависимость имеет вид $y = bx$.

3.9 Проведение исследований по разработке методики измерений ГМДА в воздушной среде

3.9.1 Подготовка воздушных вытяжек

Одним из важнейших этапов санитарно-химических исследований при проведении оценки соответствия товаров народного потребления требованиям гигиенической безопасности, регламентируемым техническими регламентами Евразийского экономического союза (техническими регламентами Таможенного союза), является подготовка вытяжек для проведения испытаний. Режимы моделирования (насыщенность, температура, время экспозиции) должны быть максимально приближены к естественным условиям эксплуатации испытываемой продукции. Соблюдение установленных требований нормативных документов при подготовке вытяжек для исследований является одним из определяющих условий для получения объективных результатов.

Получение воздушной вытяжки из образцов изделий, содержащих в своем составе полиамид, проводят при определенной экспозиции, воздухообмене, температурном режиме и соотношении массы образца (г) (площади образца (м^2)) к объему воздушной среды (м^3) в соответствии с требованиями нормативных документов, представленных в таблице 3.5.

Таблица 3.5 – Нормативные документы, регламентирующие условия приготовления воздушных вытяжек из образцов

Технический регламент Таможенного/Евразийского экономического союза	Нормативный документ, регламентирующий условия приготовления воздушных вытяжек из образцов
ТР ТС 005/2011	Инструкция 2.3.3.10-15-64-2005 (глава 4, пп. 17.3, 20, 21) [99]
ТР ТС 007/2011	МУК 4.1/4.3.1485-03 (раздел 3, п. 3.6.6) [32]
ТР ТС 008/2011	Инструкция 016-1211 (глава 3, п. 3.3.2) [31]
ТР ТС 017/2011	Инструкция 1.1.10-12-96-2005 (глава 5, п. 23) [100]
ТР ТС 019/2011	МУ 11-11-15 РБ 02 (раздел 7, п. 7.1.2) [34]
ТР ТС 025/2012	ГОСТ 30255-2014 [35]
ТР ЕАЭС 042/2017	Инструкция 016-1211 (глава 3, п. 3.3.2) [31]

Для приготовления воздушной вытяжки используют эксикатор или климатическую камеру.

При использовании эксикатора из его крышки удаляют вакуумный кран и вставляют резиновую пробку, в которую помещают две стеклянные отводные трубки. Трубки размещают таким образом, чтобы одна стеклянная трубка немного не доходила до дна эксикатора, а вторая оканчивалась под пробкой, с таким расчетом, чтобы при отборе пробы воздуха протягиваемый воздух проходил через всю емкость. Фактическую вместимость стеклянной емкости (эксикатора) определяют путем заполнения водой его и применяемой крышки с помощью мерных цилиндров соответствующей вместимости и суммированием полученных объемов. При отборе проб воздуха из эксикатора отбирают его двукратный объем.

Подготовку климатической камеры к работе и выведение ее на рабочий режим осуществляют в соответствии с технической документацией на камеру и нормативными документами, действующими на территории государства.

Для проверки чистоты камеры перед закладкой образца проводится отбор контрольной пробы воздуха с объемным расходом, аналогичным объемному расходу при анализе исследуемых проб.

Контрольную пробу воздуха из эксикатора отбирают автоматическим пробоотборником воздуха без образца, выдержанного в аналогичных с испытуемым образцом условиях.

3.9.2 Отбор проб воздушных вытяжек

При определении ГМДА в воздушных вытяжках пробоподготовка сводится к переведению соединения в раствор, при этом объем пропущенного воздуха лимитируется требуемой нижней границей определяемой концентрации. Выделения ГМДА в воздух

возможно в виде паров и аэрозоля, в виде длинных игл вещество возгоняется [5]. Чтобы задержать содержащиеся в воздухе частицы ГМДА, в качестве стадии отбора проб можно использовать аспирацию определенного объема воздуха через поглотительную систему, заполненную растворителем для улавливания вещества, или на носитель (сорбент или фильтр), напитанный раствором поглотителем.

При отборе проб с применением поглотителя в качестве поглотительной среды были использованы дистиллированная вода, 0,01 н раствор соляной кислоты, метанол, этанол, в качестве поглотительных приборов были проанализированы – поглотитель Зайцева, поглотитель Рихтера и поглотитель с пористой пластиной.

Для проведения экспериментов по изучению степени поглощения ГМДА из воздушной вытяжки, готовили модельные пробы. В эксикатор помещали образец, не содержащий ГМДА, в соотношении образца к объему модельной среды 100 г / 1 м^3 [31] и 0,010 г аналитического стандарта ГМДА. Время экспозиции составило 30 мин при температуре 37 ºС. Для проверки чистоты эксикатора перед приготовлением модельных проб проводился отбор контрольных проб воздуха, выдержанных в аналогичных условиях (30 мин при температуре 37 ºС).

Для определения полноты поглощения ГМДА из воздуха (эксикатора или климатической камеры), нами были отобраны пробы в 2 последовательно соединенных поглотителя. Содержимое каждого поглотительного сосуда анализировали отдельно в условиях повторяемости. Контролем полноты поглощения ГМДА служило отсутствие или наличие вещества в последующем поглотителе. Результаты представлены в таблице 3.6.

Таблица 3.6 – Поглощение ГМДА из воздушной вытяжки

Поглотительный раствор	Концентрация ГМДА в поглотительном растворе, нг/см^3								
	Поглотитель Рихтера			Поглотитель Зайцева			Поглотитель с пористой пластиной		
	1	2	% во 2 поглотителе	1	2	% во 2 поглотителе	1	2	% во 2 поглотителе
Дистиллированная вода	5,8	0,9	16 %	6,2	0	0 %	6,1	0	0 %
0,01 н HCl	5,4	1,4	26 %	5,1	0,001	20 %	6,0	0,8	13 %
Метанол	5,4	2,5	46 %	5,5	0,002	36 %	5,7	1,1	19 %
Этанол	6,0	0,9	15 %	5,8	0	0 %	5,5	0	0 %

Полученные исследования демонстрируют, что использование поглотителей с пористой пластинкой позволяет извлекать наибольшее количество ГМДА. Согласно представленным в таблице 3.7 данным можно сделать вывод, что использование в качестве поглотительных растворов 0,01 н соляной кислоты и метанола неэффективно. При использовании 0,01 н соляной кислоты наблюдается до 26 % вещества во 2-ом поглотителе,

при использовании метанола эта цифра достигает 46 %. Высокие показатели степени поглощения демонстрируют этанол и дистиллированная вода, количество вещества по 2-ом поглотителе составила 0 %. Использование в качестве поглотительной среды дистиллированной воды будет оптимальным, в связи с дальнейшей пробоподготовкой в среде водно-ацетонитрильных растворов.

3.9.3 Определение времени и скорости отбора проб воздуха

Объем аспирируемого воздуха зависит от чувствительности методики, которая составляет 0,0005 мкг/м^3, и определяется необходимостью накопления такого количества вещества в поглотителе.

Экспериментально было установлено, что для достижения необходимой чувствительности методики требуется отбирать не менее 15 дм^3 воздуха. Были проведены исследования по определению оптимальных скорости и времени отбора проб воздушных вытяжек. Отбор проб проходил с использование аспиратора со скоростью 0,2; 0,3; 0,5; 1,0 дм^3/мин. Продолжительность отбора проб составила 75; 50; 30; 15 мин соответственно. Контролем полноты поглощения ГМДА служило отсутствие или наличие вещества в последующем поглотителе. Результаты представлены в таблице 3.7.

Таблица 3.7 – Определение времени и скорости отбора проб воздушных вытяжек

Скорость отбора, дм^3/мин	Время отбора, мин	Объем воздуха, дм^3	Концентрация ГМДА в поглотительном растворе, нг/см^3		
			Поглотитель с пористой пластиной		
			Поглотитель 1	Поглотитель 2	% во 2 поглотителе
0,2	75	15	7,7	0	0 %
0,3	50	15	8,4	0	0 %
0,5	30	15	7,1	0	0 %
1,0	15	15	7,4	1,1	15 %

Результаты, представленные в таблице 3.8 демонстрируют, что ГМДА полностью поглощается в 1-ом поглотителе при использовании дистиллированной воды в качестве поглотительной среды уже при скорости отбора 0,5 дм^3/мин. С учетом того, что 0,5 дм^3/мин – это максимальная скорость отбора, при которой не наблюдалось проскока ГМДА, то в качестве оптимальной была выбрана 0,3 дм^3/мин.

Полученные данные позволяют установить следующие условия отбора проб воздушной вытяжки: для анализа воздушной вытяжки, в случае использования эксикатора или климатической камеры, воздух с объемным расходом 0,3 дм^3/мин аспирируют через поглотительный прибор с пористой пластинкой, содержащий 3 см^3 дистиллированной воды, в течение 50 мин. При отборе проб воздуха из эксикатора отбирают его двукратный объем. Для анализа отбирают две параллельные пробы.

3.10 Обработка и контроль точности результатов измерений

Для оценки достоверности и качества результатов, полученных при разработке методики измерений уровней миграции ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушную среду, были исследованы показатели точности, правильности (оценка систематической погрешности методики анализа), повторяемости, внутрилабораторной прецизионности.

Характеристики методики представлены в виде отчета по результатам проведения исследований по оцениванию рабочих характеристик методики (метода) измерений (включая показатели точности измерений) «Массовая концентрация ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием». Результаты представлены в приложении А, Б.

В качестве средств аттестации (образцов для исследования) методики использованы:

- градуировочные растворы с различной массовой концентрацией ГМДА для установления градуировочных характеристик;

- воздушные вытяжки из образцов из полиамидов и модельные пробы с внесенным раствором точной массовой концентрации ГМДА для установления показателей прецизионности;

- воздушные вытяжки из образцов из полиамидов с внесенным раствором точной массовой концентрации ГМДА для оценки показателя правильности.

Данные о показателях точности измерений были получены из внутрилабораторного эксперимента, организованного и подвергнутого анализу в соответствии с СТБ ИСО 5725-3 в 2025 году в лаборатории хроматографических исследований Научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья» (Республика Беларусь). Экспериментальные данные были получены в условиях повторяемости и промежуточной прецизионности с изменяющимися факторами: «персонал, выполняющий измерения» и «время».

Выбросов в совокупности экспериментальных данных обнаружено не было.

Для проведения экспериментальных данных по оцениванию показателей точности измерений использовались рабочие образцы, стандартный образец (чистое вещество) с сертифицированным значением массовой доли ГМДА, а также образцы с добавками ГМДА.

Полученное в результате эксперимента значение лабораторного смещения признано незначимым для всех видов продукции во всем диапазоне измерений.

Рабочие характеристики методики, включая показатели точности измерений и относительную расширенную неопределенность, приведены в таблице 3.8.

Таблица 3.8 – Рабочие характеристики методики, включая показатели точности измерений и относительную расширенную неопределенность

Диапазон измерений массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде, мг/м^3	Стандартное отклонение повторяемости S_r, %	Предел повторяемости *r*, %	Стандартное отклонение промежуточной прецизионности $S_{RI(TO)}$, %	Предел промежуточной прецизионности $R_{RI(TO)}$,%	Относительная расширенная неопределенность при P = 0,95, *k = 2* *U(X)*, %
От 0,00050 до 0,00250 включ.	8,0	22	9,3	26	30
Примечание – Неопределенность измерений включает в себя неопределенность отбора проб из единичных образцов воздушной вытяжки.					

Расчет неопределенности измерений проводили в соответствии с [101-104].

Исследование предела количественного определения, аналитической чувствительности, избирательности, устойчивости, линейности было проведено в ходе внутрилабораторного эксперимента, организованного и подвергнутого анализу в 2024-2025 годах.

Установленный диапазон измерений был подтвержден по результатам исследования предела количественного определения, а также оценивания показателей точности на соответствующих уровнях испытаний. Значение оценки аналитической чувствительности, количественно выраженные наклоном градуировочного графика, составляет 18942 с$^{-1}$·см^3/нг.

Оценка предела количественного определения массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной вытяжке составила 0,00044 мг/м^3. Полученная экспериментально оценка предела количественного определения не превышала нижней границы диапазона измерений методики 0,00050 мг/м^3.

Линейность методики измерений исследована и была подтверждена в диапазоне массовых концентраций градуировочных растворов, приготавливаемых согласно методике измерений.

Избирательность методики измерений исследована путем анализа двадцати образцов воздушной среды из изделий из полиамидов, не содержащих определяемого веществ. По результатам исследования было выявлено наличие пиков со временем удерживания, совпадающим со временем удерживания ГМДА. Максимальное значение соответствующих результатов измерений не превышает значение вышеуказанной оценки предела количественного определения.

Устойчивость методики измерений исследована в отношении следующих влияющих параметров: состав подвижной фазы, смена хроматографической колонки, температура колонки, продолжительность проведения реакции, значение pH боратного буферного

раствора, концентрация дериватизирующего агента. Устойчивость методики измерений была подтверждена в отношении данных влияющих параметров.

3.11 Итоги второго этапа

Проведены исследования по подбору условий определения уровня миграции в воздушную среду ГМДА, содержащегося в изделиях из полиамидов

- подобраны условия хроматографического определения ГМДА;

- подобраны условия подготовки к анализу проб воздушных вытяжек;

- разработан проект методики измерений уровня миграции, выраженного в единицах массовой концентрации, в воздушную среду ГМДА, содержащегося в изделиях из полиамидов.

- проведен набор экспериментальных данных для расчета метрологических характеристик методики измерений: предел количественного определения, диапазон определяемых концентраций, аналитическая чувствительность, специфичность, устойчивость, предел повторяемости, предел промежуточной прецизионности, относительная расширенная неопределенность;

Измерения массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной вытяжке выполняют методом ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием с использованием предварительной дериватизации.

В дополнение к анализу, проведенному в рамках 2 этапа, рассмотрены предложения, от Комитета технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан. Результаты представлены в приложении В.

4 Результаты проверки пригодности проекта методики измерений уровня миграции, выраженного в единицах массовой концентрации, в воздушную среду гексаметилендиамина, содержащегося в изделиях из полиамидов в испытательных лабораториях

Согласно приложению № 1 к договору от 11.11.2024 № Н-16/303 была проведена проверка работоспособности проекта методики измерений с применением модельных образцах воздушных вытяжек с добавками стандартного раствора ГМДА в двух аккредитованных испытательных лабораториях (центрах) государств – членов Союза, не являющихся государством регистрации исполнителя НИР, и включенные в единый реестр органов по оценке соответствия Евразийского экономического союза (далее – испытательная лаборатория (центр)):

1. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии») (Российская Федерация);
2. Общество с ограниченной ответственностью «Ин-лаб», (Российская Федерация);

Протоколы испытательных лабораторий представлены в приложении Г и приложении Д. Результаты проверки пригодности методики измерений продемонстрированы в таблицах 4.1–4.3.

Таблица 4.1 – Оценка линейности градуировочной характеристики

Показатель	ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»		Общество с ограниченной ответственностью «Ин-лаб»	
	1 серия	2 серия	1 серия	2 серия
Уравнение градуировочного графика	y = 0,37774x + 0,34377	y = 0,34895x + 0,00559	y = 17,13x + 3,364	y = 17,72x + 3,272
Коэффициент детерминации R^2	0,9979	0,9992	0,9942	0,9957

Линейность полученных результатов была подтверждена коэффициентом детерминации, результаты в случае 2 испытательных лабораторий составили R^2 более 0,99.

Оценку результатов измерений в условиях повторяемости, представленные таблице 4.2, проводили путем сравнения разности между наибольшим и наименьшим результатами 2 параллельных измерений на 3 уровнях, охватывающих весь диапазон измерения методики (края и середина диапазона) в двух сериях испытаний. Для наглядности результаты предела повторяемости, *r*, представлены в относительных единицах.

Таблица 4.2 – Оценка результатов измерений в условиях повторяемости

Показатель	ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»				Общество с ограниченной ответственностью «Ин-лаб»				Согласно проекту методики
	X_1, нг/см^3	X_2, нг/см^3	$X_{ср}$, нг/см^3	*r*, %	X_1, нг/см^3	X_2, нг/см^3	$X_{ср}$, нг/см^3	*r*, %	*r*, %
Серия 1									
Уровень 1	2,98	2,82	2,90	5,5	2,48	2,26	2,37	9,3	22
Уровень 2	5,16	5,35	5,25	3,6	4,47	4,73	4,60	5,7	
Уровень 3	10,17	8,51	9,33	17,8	9,43	9,18	9,31	2,7	
Серия 2									
Уровень 1	2,44	2,40	2,42	1,7	2,27	2,13	2,20	6,4	22
Уровень 2	4,76	4,61	4,68	3,2	4,26	4,34	4,30	1,9	
Уровень 3	10,72	10,53	10,63	1,8	9,72	9,33	9,53	4,1	

Согласно таблице 4.2, значение пределов повторяемости, полученные в 2 испытательных лабораториях ниже показателя предела повторяемости, представленного в проекте методики, *r = 22 %* (таблица 3.9).

Оценку результатов измерений в условиях промежуточной прецизионности, представленные таблице 3.12, проводили путем сравнения разности между результатами измерений серии 1 и серии 2 на 3 уровнях, охватывающих весь диапазон измерения методики (края и середина диапазона). Для наглядности результаты предела промежуточной прецизионности, $R_{RI(TO)}$, представлены в относительных единицах.

Таблица 4.3 – Оценка результатов измерений в условиях промежуточной прецизионности

Показатель	ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»				Общество с ограниченной ответственностью «Ин-лаб»				Согласно проекту методики
	Серия 1	Серия 2	Среднее значение	$R_{RI(TO)}$,%	Серия 1	Серия 2	Среднее значение	$R_{RI(TO)}$,%	$R_{RI(TO)}$,%
Уровень 1	3,0	2,42	2,71	21,4	2,35	2,46	2,30	4,6	30
Уровень 2	5,35	4,68	5,02	13,4	4,47	4,76	4,50	6,3	
Уровень 3	9,44	10,63	10,03	11,9	8,91	9,64	9,23	7,9	

Согласно таблице 4.3, значение пределов промежуточной прецизионности, полученные в 2 испытательных лабораториях ниже показателя предела промежуточной прецизионности, представленного в проекте методики, $R_{RI(TO)}$, % *= 30 %* (таблица 3.9).

Оценку правильности результатов измерений, результаты представлены в таблице 4.4, проводили с использованием воздушных вытяжек из изделий из полиамидов с внесенным раствором точной массовой концентрации ГМДА на 3 уровнях, охватывающих весь диапазон измерения методики (края и середина диапазона). Результат

контроля правильности считается удовлетворительным, если выполняется следующее условие

$$\left| X_{доб} - \overline{X}_{пр.доб.} - X_{кон.пр.} \right| \le 0,01 \cdot U(X) \cdot X_{доб} \ , \qquad (1)$$

где *U(X)* – значение относительной расширенной неопределенности, приведенное в таблице 9, *U = 30 %*;

0,01 – коэффициент пересчета из процентов в доли единицы;

$X_{доб}$ – заданная величина добавки, нг/см^3;

$\overline{X}_{пр.доб.}$ – среднее значение результатов двух параллельных измерений пробы с добавкой, полученные в условиях повторяемости, нг/м^3;

$X_{кон.пр.}$ – результат измерения контрольной пробы, $X_{кон.пр} = 0$.

Таблица 4.4 – Оценка правильности результатов измерений

Показатель	ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»			Общество с ограниченной ответственностью «Ин-лаб»			Согласно проекту методики
	$X_{доб}$, нг/см^3	$X_{ср}$, нг/см^3	*U*, %	$X_{доб}$, нг/см^3	$X_{ср}$, нг/см^3	*U*, %	U, % (P=0.95, k=2)
Серия 1							
Уровень 1	2,38	2,90	22	2,30	2,37	3	30
Уровень 2	4,76	5,25	10	4,60	4,60	0	
Уровень 3	9,52	9,33	2	9,19	9,31	1	
Серия 2							
Уровень 1	2,38	2,42	2	2,30	2,20	4	30
Уровень 2	4,76	4,68	2	4,60	4,30	7	
Уровень 3	9,52	10,63	12	9,19	9,53	4	

Показатели относительной расширенной неопределенности, полученные в 2 испытательных лабораториях, меньше значения расширенной неопределенности проекта методики, *U = 30 %*.

По результатам проведенных исследований и оценки приемлемости полученных результатов можно сделать выводы:

1. Полученные градуировочные характеристики обладают линейной зависимостью для проведения количественного определения;

2. Результаты, полученные в условиях повторяемости, соответствовали условию приемлемости методики $|X_1 - X_2| < r_{абс}$;

3. Результаты, полученные в условиях промежуточной прецизионности, соответствовали условию приемлемости методики $|\overline{X}_1 - \overline{X}_2| < R_{RI(TO)}$.

Согласно результатам, проект методики измерений прошел проверку пригодности и может быть использован в практике лабораторий государств – членов ЕАЭС, осуществляющих испытания по определению уровня миграции, выраженного в единицах массовой концентрации, в воздушную среду ГМДА, содержащегося в изделиях из полиамидов для подтверждения соответствия требованиям технических регламентов Таможенного союза ТР ТС 005/2011, ТР ТС 007/2011, ТР ТС 008/2011, ТР ТС 017/2011, ТР ТС 019/2011, ТР ТС 025/2012, ТР ЕАЭС 042/2017.

В рамках второго этапа проект методики измерений прошел экспертную оценку и рецензирование в Федеральном бюджетном учреждении науки "Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения" Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения») (Российская Федерация). Был проведен анализ содержания, структуры, оформления и соответствия проекта методики измерений предъявляемым требованиям. Методика была дополнена и доработана с учетом замечаний и предложений ФБУН «ФНЦ медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения».

5 Обоснование применения имеющегося утвержденного стандартного образца гексаметилендиамина, необходимого для выполнения измерений по методике определения уровня миграции, выраженного в единицах массовой концентрации, в воздушной среде гексаметилендиамина, содержащегося в изделиях из полиамидов

При разработке методики измерений:

- руководствовались требованиями стандарта ГОСТ ISO/IEC 17025-2019 в части обеспечения метрологической прослеживаемости измерений. Испытания на соответствие техническим регламентам Таможенного союза с целью дальнейшей оценки соответствия должны проводится аккредитованными испытательными лабораториями, которые должны соответствовать стандарту ГОСТ ISO/IEC 17025-2019. Лаборатория, разрабатывающая методики измерений, должна обеспечить прослеживаемость результатов измерений к Международной системе единиц (СИ) посредством сертифицированных значений сертифицированных стандартных образцов компетентного производителя с указанной метрологической прослеживаемостью СИ.

- использовали сертифицированный стандартный образец ГМДА DRE-C14195520 Лот: 1538558, изготовленный аккредитованным компетентным производителем стандартных образцов LGC Dr. Ehrenstorfer (Германия). (Сертификат аккредитации № D-PL-19883-01-00 на соответствие ISO/IEC 17025 и сертификат аккредитации № D-PL-19883-01-00 на соответствие ISO 17034). Сертифицированный стандартный образец сопровождается сертификатом с заявлением об обеспечении метрологической прослеживаемости измерений. Согласно сертификату определены характеристики и значения стандартного образца: чистота 92,7 %, расширенная неопределенность измерений 5,0 % (при $P = 95\ \%$ и $k = 2$), однородность и стабильность для указанных свойств.

Материалы, подтверждающие представление стандартного образца на утверждение в статусе Межгосударственного стандартного образца представлены в приложении Е.

6 Рассмотрение проекта методики уполномоченными органами государств – членов Союза в сфере стандартизации и в соответствующих сферах регулирования

Согласно приложению № 1 к договору от 11.11.2024 № Н-16/303 проект методики был направлен в уполномоченные органы государств – членов Союза в сфере стандартизации и в соответствующих сферах регулирования (далее – уполномоченные органы) на рассмотрение и получение от уполномоченных органов экспертных заключений по проекту методики, содержащих, в том числе позицию о возможности применения методики в целях исполнения требований технических регламентов Союза и осуществления достоверной оценки соответствия продукции требованиям таких технических регламентов Союза.

Результаты рассмотрения проекта методики измерений представлены в таблице 6.1 и приложении Ж.

Таблица 6.1 – Результаты рассмотрения проекта методики измерений

Наименование организации (номер письма и дата)	Замечание и предложение	Заключение разработчика
1	2	3
Концерн «Беллесбумпром» (Республика Беларусь) совместно с Министерством здравоохранения Республики Беларусь и Государственным комитетом по стандартизации Республики Беларусь	Замечаний и предложений нет	Принято
Концерн «Беллегпром» (Республика Беларусь)	Замечаний и предложений нет	Принято
Министерством здравоохранения Республики Беларусь	Замечаний и предложений нет	Принято
Государственный комитет по стандартизации Республики Беларусь	По проекту методики: - в расшифровке формулы (2) п. 9.2.6 отсутствует определение величины $C_{исх}$; - в Республике Беларусь отсутствует термин «нормативный документ» (см. п. 9.4). Предлагаем слово «нормативный» исключить; - в Библиографии документы [7] и [9] в настоящее время утратили силу и не являются действующими.	Принято Принято Принято

Продолжение таблицы 6.1

1	2	3
Департамент условий и охраны труда Минтруда России (Российская Федерация)	Замечаний и предложений нет	Принято
Управление государственной политики в сфере технического регулирования, стандартизация и обеспечения единства измерений Минпромторга России совместно с Росстандартом (Российская Федерация)	По проекту методики: - в пункте 1 проекта методика измерений упомянут стандартный образец с сертифицированным значением массовой концентрации ГМДА – далее по тексту методики не упоминается и, очевидно, не используется.	Принято
	- термины, приведенные в таблице 1 проекта, методика измерений, не соответствуют терминологии, представленной в нормативной документации (например, в национальном стандарты ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения»).	Отклонено, т. к. метрологическая аттестация проекта методики измерений проводился в соответствии с законодательством государства - члена Евразийского экономического союза (Республика Беларусь)
	- согласно рекомендациям IUPAC, требованиям МИ 2630-2000 «ГСИ. Метрология. Физические величины и их единица» и ISO 80000-9-2019 «Quantities and units – Part 9: Physical chemistry and molecular physics» – массовая концентрация вещества обозначается символом ρ. В тексте методика массовая концентрация обозначена буквой С (формулы 1, 2, 3 проекта методика измерений), буквами Х, С, у в формулах “ 4, 5, 7 проекта методики измерений. Необходимо привести в соответствие.	Принято

Продолжение таблицы 6.1

1	2	3
	- в пункте 3.4 проекта методика измерений не ясен термин «контрольная проба», возможно речь идет о «холостой пробе» или «холостом опыте» (см. национальный стандарт ГОСТ Р 52361-2018 «Контроль объекта аналитический. Термины и определения»).	Принято
	- по пункту 3.5 проекта методики измерений также необходимо откорректировать терминологию в соответствии с нормативными документам.	Принято
	- в пункте 9.3.2 проекта методика измерений значение норматива стабильности указано с излишней точностью (10,4%), рекомендуем сократить до целого значения.	Принято
	- в пункте 9.4.5 проекта методика измерений непонятно описана процедура приготовления пробы с добавкой.	Принято
	- формуле 5 проекта методика измерений: Rec – это степень извлечения в относительных единицах. Обычно Rec выражают в %, по указанной формуле получается безразмерная величина. C_0 – массовая концентрация в контрольной пробе. Контрольная проба – это проба по пункту 9.4.4 проекта методики измерений или «холостая проба»?	Принято
	- в пункте 11.1 проекта методика измерений Rec – это степень извлечения в относительных единицах, при этом в таблице А.1 приложения А проекта методика измерений Rec – это смещение метода. Необходимо уточнить и привести в соответствие.	Принято

Продолжение таблицы 6.1

1	2	3
	- по пункту А.2 приложения А проекта методика измерений: по формуле А.1 проекта методика измерений невозможно получить ‘' размерность «мг/м^3». Необходимо уточнить. F – это фактор повторяемости, в таблице А.1 приложения А проекта методики измерений F – поправочный множитель, учитывающий разброс показаний. Необходимо уточнить. - по пункту А.4 приложения А проекта методика измерений упомянуты «воздушные вытяжки из образцов из полиамидов, с внесенным раствором точной массовой концентрации ГМДА». Процедура приготовления таких образцов нигде не приведена.	Принято Принято
Министерство здравоохранения Республики Казахстан	Замечаний и предложений нет	Принято
Министерство здравоохранения Кыргызской Республики	Замечаний и предложений нет	Принято
Министерство экономики Республики Армения	Замечаний и предложений нет	Принято
Министерство здравоохранения Республики Армения	Замечаний и предложений нет	Принято

Проект методики доработан с учетом экспертных заключений. Уполномоченные органы считают возможным применение указанной методики в целях исполнения требований технических регламентов Таможенного союза ТР ТС 005/2011, ТР ТС 007/2011, ТР ТС 008/2011, ТР ТС 017/2011, ТР ТС 019/2011, ТР ТС 025/2012, ТР ЕАЭС 042/2017 и осуществления достоверной оценки соответствия продукции требованиям данного регламента.

7 Процедуры и этапы метрологической аттестации

Методика формализована в АМИ.МН 0225-2025 «Массовая концентрация ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием», утверждена директором научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья» (Республика Беларусь) 05.08.2025, свидетельство об аттестации методики (метода) измерений № 031/2025 от 14.10.2025 (приложение И).

АМИ.МН 0225-2025 метрологически аттестована в соответствии с требованиями Порядка метрологической аттестации методики (метода) измерений, утвержденного Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 17 марта 2016 г. № 21, свидетельство о метрологической аттестации № BY 00125 от 14.10.2025 (приложение К).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проект методики прошел проверку работоспособности в двух аккредитованных испытательных лабораториях (центрах) государств – членов Союза, не являющихся государством регистрации исполнителя НИР, и включенных в единый реестр органов по оценке соответствия Евразийского экономического союза.

Проект методики получил положительные экспертные заключения от уполномоченных органов государств – членов Союза в сфере стандартизации и в соответствующих сферах регулирования о возможности применение указанной методики в целях исполнения требований технических регламентов Таможенного союза ТР ТС 005/2011, ТР ТС 007/2011, ТР ТС 008/2011, ТР ТС 017/2011, ТР ТС 019/2011, ТР ТС 025/2012, ТР ЕАЭС 042/2017 и осуществления достоверной оценки соответствия продукции требованиям данного регламента.

По итогам выполнения НИР разработана метрологически аттестованная методика измерений АМИ.МН 0225-2025 «Массовая концентрация ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием». Методика утверждена директором директором Научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья» (Республика Беларусь) 05.08.2025, свидетельство об аттестации методики (метода) измерений № 031/2025 от 14.10.2025, свидетельство о метрологической аттестации методики (метода) измерений № BY 00125 от 14.10.2025.

Методику измерения массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной вытяжке выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием с использованием предварительной дериватизации.

Принцип метода основан на извлечении ГМДА из исследуемого образца изделия, содержащего в своем составе полиамид, в воздушную среду, улавливании ГМДА из пробы воздуха путем аспирации через поглотительный прибор с пористой пластинкой, заполненный дистиллированной водой, проведении реакции дериватизации с дансилхлоридом в среде боратного буферного раствора и последующем анализе флуоресцентного производного ГМДА методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием при длине волны возбуждения 338 нм и длине волны эмиссии 515 нм.

Проведен набор экспериментальных данных и рассчитаны метрологические характеристики методики. При измерении ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде предел повторяемости составляет 22 %, промежуточной прецизионности – 26 %, относительная расширенная неопределенность – 30 %.

Методика зарегистрирована на сайте государственного информационного фонда по обеспечению единства измерений http://oei.by (режим доступа – https://oei.by/mvi/view?id=3909013)

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Lytvynenko M., Risk-Oriented Approach to Assessment of Hexamethylenediamine Pollution of Aquatic Ecosystems / V. Lytvynenko, I. Yeremeyev, A. Dychko // Ecological Engineering & Environmental Technology. – 2022. – Vol. 23, №4. – P. 179–188.

2. Карсакова Е.В. Свойства и области применения полиамидов различных типов / Е.В. Карсакова, Т.П. Кравченко // Успехи в химии и химической технологии. – 2008. – Т. 12, №5 (85). – С. 10–13.

3. Флойд Д. Е. Полиамиды / Пер. с англ. Э. М. Левиной и М. Г. Гурария; Под ред. К. Н. Власовой. – Москва: Госхимиздат, 1960. – 180 с.

4. Прокопчук, Н. Р. Химическая технология полимеров и композитов : учеб.пособие для студентов химико–технологических специальностей / Н. Р. Прокопчук, Э. Т. Крутько. − Минск : БГТУ, 2013 − 507 с.

5. Томилов, А. П. Адиподинитрил и гексаметилендиамин / А. П. Томилов, С. К. Смирнов. – М. : Химия, 1974. – 280 с.

6. Hexamethylenediamine // European Chemicals Agency. – URL: https://chem.echa.europa.eu/ (date of access: 10.04.2025).

7. Hexamethylenediamine // United States Environmental Protection Agency. – URL: https://search.epa.gov/ (date of access: 10.04.2025).

8. Pubchem : Hexamethylenediamine = Гексаметилендиамин. – Текст : электронный // National Library of Medicine = Национальная Медицинская Библиотека : [сайт]. – URL: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/16402 (дата обращения: 11.11.2024).

9. Свойства органических соединений. Справочник / под ред. А. А. Потехина. – Л. : Химия, 1984. – 520 с.

10. Производство химических волокон : метод. указания для студ. всех спец. / Ивановск. гос. текстильн. академия ; сост.: О. Г. Циркина, научн. ред.: Л. А. Гарцева. – Иваново : ИГТА, 2010. – 65 с.

11. Vagholkar, Path K. Nylon / Path K. Vagholkar // International Journal of Scientific Research. – 2016. – Vol. 5, № 9. – P. 349-351.

12. Демина, В. А. Химия диэлектриков : [электронное издание] / В. А. Демина. – Москва, 2006. – URL: https://portal.tpu.ru/departments/kafedra/eict/Students/Tab1/Book1.pdf (дата обращения: 12.11.2024).

13. Хорохордин, А. М. Эпоксидные композиции в строительстве (обзор) / А. М. Хорохордин, Е. А. Хорохордина, О. Б. Рудаков // Научн. Вестн. Воронежского гос.

арх.-строит. ун-та. Сер. Физ.-хим. проблемы и высок. технолог. строит. материаловедения. – 2017. - № 1 (14). – С. 7-18.

14. Энциклопедия полимеров. Ред. коллегия: В. А. Каргин (глав. ред.) [и др.] Т. 1. А-К. – М. : «Советская Энциклопедия», 1972. – 1224 стб. с илл. – Текст : непосредственный.

15. Платэ, Н. А. Основы химии и технологии мономеров : учеб. пособие / Н. А. Платэ, Е. В. Сливинский. – М. : Наука : МАИК Наука/Интерпериодика, 2002. – 696 с. – ISBN 5-02-006396-7. – Текст : непосредственный.

16. Санитарные правила при производстве и применении эпоксидных смол и материалов на их основе : утверждены Зам. Главного государственного санитарного врача СССР от 28 ноября 1989 г. № 5159-89. – Москва, 1990. – 28, [2] с. – Текст : непосредственный.

17. Вредные вещества в промышленности : Справочник для химиков, инженеров и врачей : изд. 7-е : пер. и доп. в трех томах. Т. II. Органические вещества / под ред. засл. деят. науки проф. Н. В. Лазарева и докт. мед. наук Э. Н. Левиной. – Л. : «Химия», 1976. – 624 с. – Текст : непосредственный.

18. Kennedy, G. L. Toxicity of hexamethylenediamine / G. L. Kennedy // Drug and chemical toxicology. – 2005. – Vol. 28, № 1. – P. 15–33.

19. Ракитский, В.Н. Методические аспекты гигиенической оценки безопасности полимерных материалов, контактирующих с пищевыми продуктами / В.Н. Ракитский, Т.В. Юдина, Н.Е. Федорова // Вопросы питания. – 2012. – № 6(81). – С. 67-73. – Текст : непосредственный.

20. Трахтенберг, И.М. Проблема кардиовазотоксического действия экзогенных химических веществ [Электронный ресурс] / И.М. Трахтенберг, В.А. Тычинин. – 2003. – URL: http://www.journal.ukrcardio.org/cardio_archive/2003/5/trachtenberg.htm (дата обращения: 14.11.2024).

21. Кулаков, А. Е. Действие малых концентраций гексаметилендиамина на организм человека / А. Е. Кулаков. – Текст : непосредственный // Гигиена и санитария / А. Е. Кулаков ; Институт общей и коммунальной гигиены им. А. Н. Сысина АМН СССР. – М., 1964. – №4. – С. 12-13. – URL: https://cyberleninka.ru/article/n/deystvie-malyh-kontsentratsiy-geksametilendiamina-na-organizm-cheloveka/viewer (дата обращения: 18.11.2024).

22. Гигиенический норматив «Показатели безопасности и безвредности микроорганизмов-продуцентов, микробных препаратов и их компонентов, вредных веществ в воздухе рабочей зоны и на кожных покровах работающих» [Электронный ресурс] : утв. постановлением Совета Министров Респ. Беларусь, 25 янв. 2021 г., № 37. – URL:

http://www.hoynikicge.rcge.by/uploads/b1/s/13/935/basic/1/184/C22100037_1614891600_326-486.pdf?t=1623915018 (дата обращения 18.11.2024).

23. ТР ТС 005/2011. О безопасности упаковки [Электронный ресурс] : Технический регламент Таможенного союза. – Введ. 2011–08–16. – URL: https://www.gost.ru/documentManager/rest/file/load/1515750093571 (дата обращения: 18.11.2024).

24. ТР ТС 007/2011. О безопасности товаров, предназначенных для детей и подростков [Электронный ресурс] : Технический регламент Таможенного союза. – Введ. 2011–09–23. – URL: http://www.eurasiancommission.org/ru/act/texnreg/deptexreg/tr/Documents/P_797_1.pdf (дата обращения 18.11.2024).

25. ТР ТС 008/2011. О безопасности игрушек [Электронный ресурс] : Технический регламент Таможенного союза. – Введ. 2011–09–23. – URL: http://www.eurasiancommission.org/ru/Lists/EECDocs/P_798_3.pdf (дата обращения 18.11.2024).

26. ТР ТС 017/2011. О безопасности продукции легкой промышленности [Электронный ресурс] : Технический регламент Таможенного союза. – Введ. 2012–07–01. – URL: https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293799/4293799018.pdf (дата обращения 18.11.2024).

27. ТР ТС 019/2011. О безопасности средств индивидуальной защиты [Электронный ресурс] : Технический регламент Таможенного союза. – Введ. 2012–06–01. – URL: https://www.aenor.com/INSEPECCINPDF/CU%20TR%20019.pdf (дата обращения 18.11.2024).

28. ТР ТС 025/2012. О безопасности мебельной продукции [Электронный ресурс] : Технический регламент Таможенного союза. – Введ. 2014–07–01. – URL: https://eec.eaeunion.org/upload/medialibrary/f2f/RS_P_32.pdf (дата обращения 18.11.2024).

29. ТР ТС 042/2011. О безопасности оборудования для детских игровых площадок [Электронный ресурс] : Технический регламент Таможенного союза. – Введ. 2018–11–11. – URL: https://files.stroyinf.ru/Data2/1/4293745/4293745755.pdf (дата обращения 18.11.2024).

30. Санитарно-химические исследования изделий, изготовленных из полимерных и других синтетических материалов, контактирующих с пищевыми продуктами : инструкция 2.3.3.10-15-64-2005. – Введ. 01.03.2006. – Минск, 2005. – 98 с.

31. Методы оценки гигиенической безопасности отдельных видов продукции для детей : инструкция по применению № 016-1211. – Введ. 2011–12–15. – Минск, 2011. – 26 с.

32. Санитарно-эпидемиологическая оценка игрушек : МУК 4.1/4.3.2038-05. – Введ. 2006-04-01. – М., 2006. – С. 8–9.

33. Гигиеническая оценка тканей, одежды и обуви : Инструкция 1.1.10-12-96-2005. – Введ. 01.03.2006. – Минск, 2005. – 20 с.

34. Порядок и организация проведения гигиенической экспертизы производственной и специальной одежды. Показатели гигиенической безопасности и методы определения : Методические указания 11-11-15. – Введ. 30.12.2002. – Минск, 2002. – 28 с.

35. ГОСТ 30255-2013. Мебель, древесные и полимерные материалы. Метод определения выделения формальдегида и других вредных летучих химических веществ в климатических камерах. – Введ. РБ 01.07.2015. – Минск : Стандартинформ, 2014. – 15 с. – Текст : непосредственный.

36. ГОСТ Р ИСО 17734-2-2009. Анализ азоторганических соединений в воздухе методом жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии. Часть 2. Определение аминов и аминоизоцианатов по их дибутиламиновым и этилхлорформиатным производным : национальный стандарт Российской Федерации : издание официальное : утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 3 декабря 2009 г. № 551-ст. – М. : Стандартинформ, 2010. – 24, [1] с. – Текст : непосредственный.

37. МУ 1656-77. Методические указания на колориметрическое определение гексаметилендиамина в воздухе : выпуски с 1 по 5 : утверждены Зам. Главного государственного санитарного врача СССР 18 апреля 1977 г. № 1656-77. – М. : ЦРИА «Морфлот», 1981. – 252, [1] с. – Текст : непосредственный.

38. МУ 4481-87. Методические указания по хроматографическому измерению концентраций гексаметилендиамина в воздухе рабочей зоны : утверждены Зам. Главного государственного санитарного врача СССР 21 декабря 1987 г. № 4481-87. Ред. коллегия: Е. К. Прохорова [и др.]. – М., 1988. – С. 76-84. – Текст : непосредственный.

39. Patent CN102221594A. Method for determining hexylene diamine content in water by using gas chromatography method : filing date 11.04.2011 6 publ. date 19.10.2011 / Song Wei ; applicants PONY TEST TECHNOLOGY (TIANJIN) CO LTD. – URL: https://patents.google.com/patent/CN102221594A/en (date of access: 15.11.2024).

40. Chromatographic determination of amines in biological fluids with special reference to the biological monitoring of isocyanates and amines : I. Determination of 1,6-hexamethylenediamine using glass capillary gas chromatography and thermionic specific detection / G. Skarting [et al.] // Journal of Chromatography A. – 1989. – Vol. 479. – P. 125–133.

41. Dalene, M. Chromatographic determination of amines in biological fluids with special reference to the biological monitoring of isocyanates and amines. IV. Determination of 1,6-

hexamethylenediamine in human urine using capillary gas chromatography and selective ion monitoring / M. Dalene, G. Skarping, T. Brorson // Journal of Chromatography A. – 1990. – Vol. 516, № 2. – P. 405-413.

42. Hexamethylene diisocyanate, 2,4-toluene diisocyanate, 2,6-toluene diisocyanate, isophorone diisocyanate and 4,4′-methylene diphenyl diisocyanate – Determination of hexamethylenediamine, 2,4-toluenediamine, 2,6-toluenediamine, isophoronediamine and 4,4′-methylenedianiline in urine using gas chromatography-mass spectrometry / J. Cocker [et al.] // Biomonitoring Methods. – 2017. – Vol. 2, № 3. – P. 1415-1435.

43. Rakitskiĭ, V. N. [Methodical aspects of hygienic safety assessment of polymeric materials in contact with foodstuffs] / V. N. Rakitskiĭ, T. V. Iudina, N. E. Fedorova // Problems of Nutrition. – 2013. – Vol. 81, № 6. – P. 67-73.

44. Flack, Sheila L. Occupational exposure to HDI: Progress and challenges in biomarker analysis / Sheila L. Flack, Louise M. Ball, Leena A. Nylander-French // Journal of Chromatography B. – 2010. – Vol. 878, № 27. – P. 2635-2642.

45. Rosenberg, C. Biological monitoring of aromatic diisocyanates in workers exposed to thermal degradation products of polyurethanes / C. Rosenberg // J. Environ. Monit. – 2002. – Vol. 4, № 5. – P.711–716.

46. Williams, N. R. Biological monitoring to assess exposure from use of isocyanates in motor vehicle repair / N. R. Williams, K. Jones, J. Cocker // Occupational and Environmental Medicine. – 1999. – Vol. 56, № 9. – P. 598-601.

47. Skarping, G., Biological monitoring of hexamethylene- and isophorone-diisocyanate by the determination of hexamethylene- and isophorone-diamine in hydrolysed urine using liquid chromatography and mass spectrometry / G. Skarping, M. D. Dalene, H. Tinnerberg // The Analyst. – 1994. – Vol. 119, № 9. – P. 2051-2055.

48. Test chamber exposure of humans to 1,6-hexamethylene diisocyanate and isophorone diisocyanate / H. Tinnerberg [et al.] // International Archives of Occupational and Environmental Health. – 1995. – Vol. 67. – P. 367-374.

49. Dalene, M. Biological monitoring of hexamethylene diisocyanate by determination of 1,6-hexamethylene diamine as the trifluoroethyl chloroformate derivative using capillary gas chromatography with thermionic and selective ion monitoring / M. Dalene, G. Skarping, H. Tinnerberg // Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications. – 1994. – Vol. 656. – P. 319-328.

50. Skarping, G. Trace analysis of amines and isocyanates using glass capillary gas chromatography and selective detection : III. Determination of aliphatic and alicyclic amines as

perfluoro fatty acid amides using electron-capture and nitrogen-selective detection / G. Skarping, B. E. F. Smith, M. Dalene // Journal of Chromatography A. – 1984. – Vol. 303. – P. 89-98.

51. Study on the determination of some diamine in urine by LC-MS/MS / Tong Thi Ngan [et al.] // Heavy metals and arsenic concentrations in water, agricultural soil, and rice in Ngan Son district, Bac Kan province, Vietnam. – 2023. – Vol. 6, № 1. – P. 66-82.

52. Определение примеси гексаметилендиамина в полигексаметиленгуанидин гидрохлориде методом ВЭЖХ / В. В. Юрачка [и др.] // Известия Национальной академии наук Беларуси : серия химических наук / В. В. Юрачка [и др.] ; Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси. – 2019. – Т. 55, № 2. – С. 156-162.

53. Zhou, W., Liquid-Chromatography Quantitative Analysis of 20 Amino acids after Derivatization with FMOC-Cl and Its Application to Different Origin Radixids isatidis / W. Zhou, X.-Y. Zhanga, G.-L. Duana // Journal of the Chinese Chemical Society. – 2011. – Vol. 58, № 4. – P. 509–515.

54. Brent, L. A Method for Quantitative Amino Acid Analysis Using Precolumn *o*-Phthalaldehyde Derivatization and High Performance Liquid Chromatography / L. Brent, W. Frederick // Journal of Chromatographic Science. – 1981. – Vol. 19, № 5. – P. 259–265.

55. UPLC-ESI-MS/MS Method for the Quantitative Measurement of Aliphatic Diamines, Trimethylamine *N*-oxide, and *ß*-Methylamino-*L*-alanine in Human Urine / Bhandari, D. [et al.] // Journal of Chromatography B. – 2018. – Vol. 1083. – P. 86-92.

56. Green Extraction Techniques as Advanced Sample Preparation Approaches in Biological, Food, and Environmental Matrices: A Review / J. S. Câmara [et al.] // Molecules. − 2022. − Vol. 27, № 9. – 29 p.

57. Bosire, G. O. Comparison of Three Solid Phase Materials for the Extraction of Carboxylic Acids from River Water Followed by 2D GC × GC-TOFMS Determination / G. O. Bosire, J. C. Ngila, H. Parshotam // International Journal of Analytical Chemistry. – 2016. – Vol. 2016. – P. 1-8.

58. Jurado-Sánchez, B. Determination of carboxylic acids in water by gas chromatography–mass spectrometry after continuous extraction and derivatization / B. Jurado-Sánchez, E. Ballesteros, M. Gallego // Talanta. – 2012. – Vol. 93. – P. 224-232.

59. A validated UPLC-MS/MS method for the determination of aliphatic and aromatic isocyanate exposure in human urine / M. Lépine, L. Sleno, J. Lesage, S. Gagné // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2019. – Vol. 412. – P. 753-762.

60. Baker, G. B. Derivatization with acetic anhydride: Applications to the analysis of biogenic amines and psychiatric drugs by gas chromatography and mass spectrometry /

G/ B/ Baker, R. T. Coutts, A. Holt // Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. – 1994. – Vol. 31, № 3. – P. 141-148.

61. Determination of amines as pentafluoropropionic acid anhydride derivatives in biological samples using liquid chromatography and tandem mass spectrometry / Å. Marand [et al.] // The Analyst. – 2004. – Vol. 129, № 6. – P. 522-528.

62. Tiljander, A. Determination of 4,4'-methylenedianiline in hydrolysed human urine using liquid chromatography with UV detection and peak identification by absorbance ratio / A Tiljander, G. Skarping // J. Chromatogr. – 1990. – Vol. 511. – P. 185–194.

63. Skarping, G. Liquid chromatography and mass spectrometry determination of aromatic amines in hydrolysed urine from workers exposed to thermal degradation products of polyurethane / G. Skarping, M. Dalene and P. Brunmark // Chromatographia. – 1994. – Vol. 39. – P. 619–623.

65. Urine 1,6-Hexamethylene Diamine (HDA) Levels Among Workers Exposed to 1,6-Hexamethylene Diisocyanate / Linda G. T. Gaines [et al.] // The Annals of Occupational Hygiene. – 2010. – Vol/ 54, № 6. – P. 678-691.

64. Urine 1,6–Hexamethylene Diamine (HDA) Levels Among Workers Exposed to 1,6–Hexamethylene Diisocyanate / Linda G. T. Gaines [et al.] // The Annals of Occupational Hygiene. – 2010. – Vol. 54, № 6. – P. 678–691.

65. Materials and articles in contact with foodstuffs - Plastics substances subject to limitation - Part 21: Determination of ethylenediamine and hexamethylenediamine in food simulants; German version CEN/TS 13130-21:2005 : DIN CEN/TS 13130–21:2005. – CENELEC, 2005. – Start Date. 01.05.2005. – 18 p.

66. Отчет за 2014 год о разработке методов анализа химических веществ: Центр изучения окружающей среды префектуры Канагава / Национальный институт экологических исследований (NIES). – URL: https://www.nies.go.jp/kisplus/images/bunseki/pdfs/kurohon/2014/adoc2014–3–637.pdf (дата обращения: 10.03.2025).

67. Отчет об исследовании разработки метода анализа химических веществ: мониторинг загрязнения префектуры Осака / Национальный институт экологических исследований (NIES). – URL: https://www.nies.go.jp/kisplus/images/bunseki/pdfs/kurohon/2014/adoc2014–3–637.pdf (дата обращения 10.03.2025).

68. National food safety standard – Food contact materials and products – Determination of migration quantity of ethylenediamine and hexamethylene diamine : GB 31604.43–2016. – Введ. 2019–04–17. – National Health and Family Planning Commission of the PRC, 2019. URL: https://www.chinesestandard.net/PDF.aspx/GB31604.43–2016 (date of access: 10.03.2025).

69. Methods for determination of aliphatic amines in the air workplace: GBZ/T 160.69–2004. – Введ. 2004–12–01. – Отменен: 2018–05–01. – Министерство здравоохранения Китайской Народной Республики, URL: https://www.chinesestandard.net/PDF.aspx/GB31604.43–2016?English_GB%2031604.43–2016 (дата обращения 10.03.2025).

70. Plastics for food packaging materials and products – Part 21: Determination of specific migration of ethylenediamine and hexamethylenediamine : DB13/T 1081.21–2009. – Бюро качества и технического надзора провинции Хэбэй. – Введ. 2009–06–11. – Отменен: 2024–05–10. – URL: https://www.antpedia.com/standard/1973898458.html (date of access: 10.03.2025).

71. Amines in the Environment / Agnes Fekete [et al.] // Analytical Chemistry. – 2010. – Vol. 40 (2). – P. 102–121.

72. Hexamethylene diisocyanate, 2,4–toluene diisocyanate, 2,6–toluene diisocyanate, isophorone diisocyanate and 4,4′–methylene diphenyl diisocyanate – Determination of hexamethylenediamine, 2,4–toluenediamine, 2,6–toluenediamine, isophoronediamine and 4,4′–methylenedianiline in urine using gas chromatography–mass spectrometry / J. Cocker [et al.] // Biomonitoring Methods. – 2017. – Vol. 2, № 3. – P. 1415–1435.

73. A rapid hydrolysis method and DABS-Cl derivatization for complete amino acid analysis of octreotide acetate by reversed phase HPLC / Y. Akhlaghi [et al.] // Amino Acids. – 2015. – Vol. 47, № 11. – P. 2255–2263.

74. A validated UPLC–MS/MS method for the determination of aliphatic and aromatic isocyanate exposure in human urine / M. Lépine, L. Sleno, J. Lesage, S. Gagné // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2019. – Vol. 412. – P. 753–762.

75. Tiljander, A. Determination of 4,4'–methylenedianiline in hydrolysed human urine using liquid chromatography with UV detection and peak identification by absorbance ratio / A Tiljander, G. Skarping // J. Chromatogr. – 1990. – Vol. 511. – P. 185–194.

76. Skarping, G. Liquid chromatography and mass spectrometry determination of aromatic amines in hydrolysed urine from workers exposed to thermal degradation products of polyurethane / G. Skarping, M. Dalene and P. Brunmark // Chromatographia. – 1994. – Vol. 39. – P. 619–623.

76. The separation of hexamethylenediamine from aqueous solution by solvent extraction with butanol / M. J. Sargent [et al.] // Separation and Purification Technology. – 2022. – Vol. 288. – 21 p.

77. Determination of biogenic amines by RP –HPLC of the dabsyl derivates / A. Bockhardt, I. Krause, H. Klostermeyer// Z Lebensm Unters Forsch. – 1996. – Vol. 203. – P. 65–70.

78. HPLC of Amino Acids as Dansyl and Dabsyl Derivatives / T. Takeuchi // Journal of Chromatography Library. – 2005. – Vol. 70. – P. 209–241.

79. Гарипова М.И. Химия пептидных соединений: учебное пособие / М.И. Гарипова; РИО БашГУ, 2016. – Уфа, 2015. – 120 с.

80. Влияние температуры и микроволнового излучения на образование производных аминокислот с 5–диметиламинонафталин–1–сульфонилхлоридом / М. В. Щукина [и др.] // ВЕСТН. МОСК. УН–ТА. – 2006. Т.47. – № 4. – Р.262–265.

81. Molnár–Perl Ibolya HPLC of Amino Acids as Dansyl and Dabsyl Derivatives / T. Takeuchi // Journal of Chromatography Library. – 2005. Vol. 70. – P. 209–241.

82. Влияние различных факторов на реакцию дериватизации серина дансилхлоридом /Д.И. Зиганшина [и др.] // Химия. Экология. Урбанистика : матер. всерос. науч. практ. конф. (с междунар. участием), г. Пермь, 17– 19 апреля 2024 г. : в 4 т. / ФГАОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет» ; редкол.: А. О. Добрынин [и др.].– Пермь, 2024. – Т. 1. – С. 193–196.

83. Amino acid analysis by high–performance liquid chromatography after derivatization with 9–fluorenylmethyloxycarbonyl chloride Literature overview and further study / A. Jámbor // Journal of Chromatography Library. – 2009. – Vol. 1216. – P. 3064–3077.

84. HPLC determination of acetaminophen in saliva based on precolumn fluorescence derivatization with 12–(3,5–dichloro–2,4,6–triazinyl)benzo[d]benzo[1',2'–6,5]isoindolo[1,2–b][1,3]thiazolidine / H. Fujino [et al.] // Analytical Sciences.. – 2005. – Vol. 21 (9). – P. 1121–1124.

85. High–resolution reversed–phase high–performance liquid chromatography analysis of polyamines and their monoacetyl conjugates by fluorescence detection after derivatization with N–hydroxysuccinimidyl 6–quinolinyl carbamate / T. Weiss [et al.] // ANALYTICAL BIOCHEMISTRY. – 1997. – Vol. 247. – P. 294–304.

86. Polyamine analysis using N–hydroxysuccinimidyl–6–aminoquinoyl carbamate for pre–column derivatization / S. Merali [et al.] // Journal of Chromatography. – 1996. – Vol. 675 (2). – P. 321–326.

87. HPLC of Biogenic Amines as 6–Aminoquinolyl–N–hydroxysuccinimidyl Derivatives Thomas / S. Weiss [et al.] // Journal of Chromatography Library. – 2005. – Vol. 70. – P. 502–523.

88. Determination of 21 Free Amino Acids in Fruit Juices by HPLC Using a Modification of the 6–Aminoquinolyl–N–hydroxysuccinimidyl Carbamate (AQC) Method / Fang Zeng [et al.] // Food Anal. Methods. – 2014. – Vol. 8 (2). – P. 516–523.

89. Quantification of Glutamate and Aspartate by Ultra–High Performance Liquid Chromatography / C. Agius [et al.] // Molecules. – 2018. – Vol. 23 (6). – P. 1389–1404.

90. Enantiomeric separation and sensitive detection of propranolol, metoprolol and atenolol derivatized with a fluorogenic reagent, 4–(N–chloroformylmethyl–N–methyl)amino–7–N,N–dimethylaminosulf onyl–2,1, 3–benzoxadiazole (DBD–COCl), on cellulose chiral columns in the reversed–phase mode / X Yang [et al.] // The Analyst. – 1997. – Vol. 122 (11). – P. 1365–1369.

91. Fluorogenic and fluorescent labeling reagents with a benzofurazan skeleton / X Yang [et al.] // Biomed Chromatogr. – 2001. – Vol. 15 (5). – P. 295–318.

92. Recent advances in development and application of derivatization reagents having a benzofurazan structure: a brief overview / T.Santa [et al.] // Biomed Chromatogr. – 2014. – Vol. 28 (6). – P. 760–766.

93. Determination of fluoxetine and norfluoxetine in rat plasma by HPLC with pre–column derivatization and fluorescence detection / X. Guo [et al.] // Biomedical Chromatography. – 2003. – Vol. 17. – P. 1–15.

94. Method for Determining Gelatinolytic Activity in Tissue Extracts: Real–Time Gelatin Zymography / E. Hadler–Olsen [et al.] // Methods Mol Biol. – 2019. – Vol. 1952. – P. 201–210.

95. On–Line Capillary Zone Electrophoretic Separation–Chemiluminescence Detection of Protein Labeled with Fluorescamine / E. Hadler–Olsen [et al.] // Analytical Sciences. – 1996. – Vol. 12. – P. 525–528.

96. Fluorescent labeling of proteins with nile red and 2–methoxy–2,4–diphenyl–3(2H)–furanone: physicochemical basis and application to the rapid staining of sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gels and Western blots / J R Daban [et al.] // Electrophoresis. – 2001. – Vol. 22 (5). – P. 874–880.

97. ВЭЖХ и ультра–ВЭЖХ: Состояние и перспективы / Я. Яшин [и др.] // Аналитика. – 2015. – Том. 21 (2). – С. 70–84.

98. Novákova L., Solich P. A comparison of performance of various analytical columns in pharmaceutical analysis: conventional C18 and high throughput C18 zorbax columns / L. Novákova, P. Solich // J Chromatogr A. – 2005. – Vol. 1088. – P. 24–31.

99. Санитарно-химические исследования изделий, изготовленных из полимерных и других синтетических материалов, контактирующих с пищевыми продуктами : утв. Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 21.11.2005 г. № 184 / учреждение-разраб. ГУ «Научно-исследовательский институт санитарии и гигиены» // Minzdrav.gov.by : Министерство здравоохранения Республики Беларусь. – URL: https://minzdrav.gov.by/upload/lcfiles/text_tnpa/%D0%98%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D0%B8%D1%8F_2.3.3.10-15-64-2005.pdf (дата обращения: 25.02.2025).

100. Гигиеническая оценка тканей, одежды и обуви : утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь 28 декабря 2005 № 268 / учреждение-разраб. ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены» // Minzdrav.gov.by : Министерство здравоохранения Республики Беларусь. – URL : https://minzdrav.gov.by/upload/lcfiles/text_tnpa/%D0%98%D0%BD%D1%81%D1%82%D1%80%D1%83%D0%BA%D1%86%D0%B8%D1%8F_1.1.10-12-96-2005.pdf (дата обращения: 25.02.2025).

101. Физико–химические методы анализа: практ. руководство : учебное пособие для ВУЗов / под ред. В.Б. Алесковского – Л.: Химия, 1988. – 372 с.

102. Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях: Руководство ЕВРАХИМ/СИТАК: пер. с англ. / под общ. ред. Л.А. Конопелько, 2–е изд. СПб: ВНИИМ им. Д.И. Менделеева, 2002. – 149 с.

103. Примеры оценивания неопределенностей из различных областей измерений и испытаний: практ. пособие/ Н.Ю. Ефремова, С.А. Качур. – Минск, 2006. – 60 с.

104. Руководство по выражению неопределенности измерения / пер. с англ. под науч. ред. проф. В.А. Слаева – Спб.: ГП ВНИИМ им. Д.И. Менделеева, 1999. – 134 с.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

Методика измерений
«Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде.
Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием»

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «РЕСПУБЛИКАНСКИЙ ЦЕНТР ГИГИЕНЫ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДОРОВЬЯ»

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГИГИЕНЫ, ТОКСИКОЛОГИИ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ

УТВЕРЖДАЮ
Директор Научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья»

С.И. Сычик
«05» 08 2025 г.

Система обеспечения единства измерений Республики Беларусь

МАССОВАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ ГЕКСАМЕТИЛЕНДИАМИНА, ВЫДЕЛЯЕМОГО ИЗ ИЗДЕЛИЙ ИЗ ПОЛИАМИДОВ, В ВОЗДУШНОЙ СРЕДЕ

Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием

АМИ.МН 0225-2025

Разработчики:
Заведующий лабораторией хроматографических исследований — Т.П. Крымская
Химик лаборатории хроматографических исследований — П.А. Станишевская
Научный сотрудник лаборатории хроматографических исследований — М.С. Турко

СОГЛАСОВАНО
Ученый секретарь, канд. мед. наук — С. Л. Итпаева-Людчик
«05» 08 2025 г.

Минск, 2025

Содержание

Вводная часть 3

1 Рабочие характеристики, включая показатели точности измерений, методики (метода) измерений 3

2 Нормативные ссылки 5

3 Термины и определения 6

4 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы 7

5 Метод измерений 10

6 Требования безопасности, охраны окружающей среды 10

7 Требования к квалификации персонала, выполняющего измерения 11

8 Требования к условиям измерений 11

9 Подготовка к выполнению измерений 11

10 Отбор проб воздушной вытяжки 16

11 Порядок выполнения измерений 17

12 Порядок обработки результатов измерений 17

13 Форма представления результатов измерений 19

14 Контроль точности результатов измерений 20

Приложение А (обязательное) Алгоритм расчета и оценивания неопределенности измерений массовой концентрации ГМДА в воздушной среде 24

Библиография 37

Вводная часть

Настоящий документ устанавливает методику (метод) измерений массовой концентрации гексаметилендиамина (далее – ГМДА), выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде (далее – воздушная вытяжка) в диапазоне от 0,00050 до 0,0025 мг/м^3 методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (далее – ВЭЖХ) с флуориметрическим детектированием с использованием предварительной дериватизации.

Методика измерений предназначена для применения специалистами научно-исследовательских, производственных и других лабораторий при осуществлении государственного санитарного надзора, мониторинга в области санитарно-гигиенической оценки образцов изделий, содержащих в своем составе полиамид.

Настоящая методика измерений разработана в соответствии с [1], [2], [3] в целях применения и исполнения требований ТР ТС 005/2011, ТР ТС 007/2011, ТР ТС 008/2011, ТР ТС 017/2011, ТР ТС 019/2011, ТР ТС 025/2012, ТР ЕАЭС 042/2017.

1 Рабочие характеристики, включая показатели точности измерений, методики (метода) измерений

Данные о показателях точности измерений были получены из внутрилабораторного эксперимента, организованного и подвергнутого анализу в соответствии с СТБ ИСО 5725-3 в 2025 году в лаборатории хроматографических исследований Научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья» (Республика Беларусь). Экспериментальные данные были получены в условиях повторяемости и промежуточной прецизионности с изменяющимися факторами: «персонал, выполняющий измерения» и «время» [4].

Выбросов в совокупности экспериментальных данных обнаружено не было.

Для проведения экспериментальных данных по оцениванию показателей точности измерений использовались рабочие образцы, стандартный образец (чистое вещество) с сертифицированным значением массовой доли ГМДА, а также образцы с добавками ГМДА.

Полученное в результате эксперимента значение лабораторного смещения признано незначимым для всех видов продукции во всем диапазоне измерений.

Рабочие характеристики методики, включая показатели точности измерений и относительную расширенную неопределенность, приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Рабочие характеристики методики, включая показатели точности измерений и относительную расширенную неопределенность

Диапазон измерений массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде, мг/м^3	Стандартное отклонение повторяемости S_r, %	Предел повторяемости r, %	Стандартное отклонение промежуточной прецизионности $S_{RI(TO)}$, %	Предел промежуточной прецизионности $R_{RI(TO)}$,%	Относительная расширенная неопределенность при P = 0,95, $k = 2$ $U(X)$, %
От 0,00050 до 0,00250 включ.	8,0	22	9,3	26	30
Примечание – Неопределенность измерений включает в себя неопределенность отбора проб из единичных образцов воздушной вытяжки.					

Значение неопределенности рекомендуется рассчитывать в соответствии с методикой оценивания неопределенности измерений, представленной в приложении А.

Исследование предела количественного определения, аналитической чувствительности, избирательности, устойчивости, линейности было проведено в ходе внутрилабораторного эксперимента, организованного и подвергнутого анализу в 2024-2025 годах.

Установленный диапазон измерений был подтвержден по результатам исследования предела количественного определения, а также оценивания показателей точности на соответствующих уровнях испытаний. Значение оценки аналитической чувствительности, количественно выраженные наклоном градуировочного графика, составляет 18942 с$^{-1}$·см^3/нг.

Оценка предела количественного определения массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной вытяжке составила 0,00044 мг/м^3. Полученная экспериментально оценка предела количественного определения не превышала нижней границы диапазона измерений методики 0,00050 мг/м^3.

Линейность методики измерений исследована и была подтверждена в диапазоне массовых концентраций градуировочных растворов, приготавливаемых согласно методике измерений.

Избирательность методики измерений исследована путем анализа двадцати образцов воздушной среды из изделий из полиамидов, не содержащих определяемого веществ. По результатам исследования было выявлено наличие пиков со временем удерживания, совпадающим со временем удерживания ГМДА. Максимальное значение соответствующих результатов измерений не превышает значение вышеуказанной оценки предела количественного определения.

Устойчивость методики измерений исследована в отношении следующих

влияющих параметров: состав подвижной фазы, смена хроматографической колонки, температура колонки, продолжительность проведения реакции, значение pH боратного буферного раствора, концентрация дериватизирующего агента. Устойчивость методики измерений была подтверждена в отношении данных влияющих параметров.

2 Нормативные ссылки

В настоящей методике измерений использованы ссылки на следующие технические нормативные правовые акты в области технического нормирования и стандартизации (далее – ТНПА):

ТР ТС 005/2011 О безопасности упаковки;

ТР ТС 007/2011 О безопасности продукции, предназначенной для детей и подростков;

ТР ТС 008/2011 О безопасности игрушек;

ТР ТС 017/2011 О безопасности продукции легкой промышленности;

ТР ТС 019/2011 О безопасности средств индивидуальной защиты;

ТР ТС 025/2012 О безопасности мебельной продукции;

ТР ЕАЭС 042/2017 О безопасности оборудования для детских игровых площадок;

СТБ ISO 5725-2-2022 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода определений;

СТБ ИСО 5725-3-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 3. Промежуточные показатели прецизионности стандартного метода измерений;

СТБ ISO 5725-4-2022 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 4. Основные методы определения правильности стандартного метода определений;

СТБ ИСО 5725-6-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике;

ГОСТ 12.1.004-91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования;

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 12.1.030-81 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Защитное заземление, зануление;

ГОСТ 12.4.021-75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования;

ГОСТ OIML R 76-1-2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания;

ГОСТ 1770-74 (ИСО 1042-83, ИСО 4788-80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия;

ГОСТ 3118-77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия;

ГОСТ ISO 3696-2013 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы контроля;

ГОСТ 4199-76 Реактивы. Натрий тетраборнокислый 10-водный. Технические условия;

ГОСТ 4328-77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия;

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия;

ГОСТ ISO/IEC 17025-2019 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий;

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

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

ГОСТ 30255-2014 Мебель, древесные и полимерные материалы. Метод определения выделения формальдегида и других вредных летучих химических веществ в климатических камерах;

ГОСТ 34100.3-2017/ISO/IEC Guide 98-3:2008 Неопределенность измерения. Часть 3. Руководство по выражению неопределенности измерения.

Примечание – При пользовании настоящей методикой измерений целесообразно проверить действие ссылочных ТНПА на официальном сайте Национального фонда ТНПА в глобальной компьютерной сети Интернет.

Если ссылочные ТНПА заменены (изменены), то при пользовании настоящей методикой измерений следует руководствоваться действующими взамен ТНПА. Если ссылочные ТНПА отменены без замены, то положение, в котором дана ссылка на них, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящей методике измерений применяют следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 холостой раствор: Градуировочный раствор, приготовленный из применяемых в конкретном анализе реактивов без добавления рабочего раствора № 2, для учета и устранения загрязнения посуды, растворителей и реактивов.

Примечание – Массовую концентрацию ГМДА в холостом растворе считают равной нулю.

3.2 предел количественного определения: Наименьшее количество вещества в образце, которое может быть определено с требуемой правильностью и прецизионностью.

3.3 проба: Аликвота содержимого поглотительного прибора, отобранная для анализа после пропускания через него заданного объема воздуха, отобранного из стеклянной емкости или климатической камеры с образцом, выдержанным при заданных условиях.

3.4 холостая проба: Аликвота содержимого поглотительного прибора, отобранная для анализа после пропускания через него заданного объема воздуха, отобранного из стеклянной емкости или климатической камеры без образца, выдержанной в аналогичных с испытуемым образцом условиях.

4 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы.

4.1 Средства измерений

Хроматограф жидкостной Surveyor Plus с флуориметрическим детектором Surveyor FL Plus и автосамплером обеспечивающий измерения в диапазоне длин волн от 200 до 650 нм (экстинкция), от 200 до 800 нм (эмиссия), относительное стандартное отклонение по площади пика при автоматическом дозировании не более 1,0 %	фирма «Thermo Fisher Scientific», США
Программное обеспечение ChromQuest для управления хроматографом и обработки результатов измерений, версия не ниже 5.0	фирма «Thermo Fisher Scientific», США
Весы лабораторные электронные Adventurer 1 класса точности со значениями пределов взвешивания: наибольший – 210 г, наименьший – 0,01 г, дискретностью 0,1 мг, ценой поверочного деления – 1 мг, пределами допускаемой погрешности однократного взвешивания до 50 г вкл. – ±0,5 мг, св. 50 г до 200 г скл. – ±1,0 мг, св. 200 г – 1,5 мг	ГОСТ OIML R 76-1
Термогигрометр ИВА-6Н-Д с диапазоном измерений относительной влажности от 0 % до 98 %, диапазоном измерений температуры от 0 °С до 60 °С, диапазон измерений атмосферного давления от 300 до 1100 гПа, пределами допускаемой основной абсолютной погрешности измерений относительной влажности в диапазоне от 0 % до 90 % – ±2 %, в диапазоне от 90 % до 98 % – ±3 %, пределами	[5]

допускаемой абсолютной погрешности измерений атмосферного давления в диапазоне от 700 до 1100 гПа – ±2,5 гПа	
Аспиратор воздуха ПУ-4Э, расход по каналам от 0,2 до 2,0 дм^3/мин, диапазоном времени отбора пробы от 1 до 99 мин, с пределами основной приведенной погрешности задания расхода в каждой точке ± 5 % и пределами основной относительной погрешности измерения времени ±0,5 %	ЗАО «Химко», Российская Федерация
pH-метр 150 М с комбинированным стеклянным электродом с диапазоном измерений от минус 1,00 до 14,00 ед. pH и пределами допускаемой основной абсолютной погрешности измерения ±0,05 ед. pH	ОАО «ГЗИП», Республика Беларусь
Дозатор пипеточный одноканальный, переменного объема от 100 до 1000 мм^3 с пределами допускаемой относительной погрешности от ±1,5 % до ±1,0 %, пределами допускаемого среднего квадратического отклонения случайной составляющей от 2,0 % до 1,0 %	фирма «Thermo Fisher Scientific», США
Колбы мерные 2–250–2, 2–100–2, 2–50–2	ГОСТ 1770
Пипетки 1-1-2-1, 1-1-2-5	ГОСТ 29227

Могут быть использованы другие средства измерений, обеспечивающие выполнение измерений с требуемой точностью согласно разделу 1.

Все средства измерений должны иметь действующие знаки поверки или калибровки и/или свидетельства о поверке или калибровке

4.2 Вспомогательные устройства

Колонка хроматографическая, заполненная сорбентом на основе силикагеля с привитыми углеводородными радикалами С18, длиной 150 мм, диаметром 4,6 мм, зернением 5 мкм	Ultisil XB-C18 «Welch Materials», Китай
Герметически закрывающаяся стеклянная емкость, например эксикатор, вместимостью не менее 15 дм^3, имеющая две отводные: одну – доходящую до дна, вторую – оканчивающуюся под пробкой	
Камера климатическая СМ 10/40 СФ, с диапазоном измерений температуры от 10 °С до 40 °С, пределы допускаемого отклонения температур ±2,0 °С, пределы допускаемого отклонения относительной влажности ±5,0 %	ООО «СМ Климат», Российская Федерация
Стаканчик для взвешивания (бюкс) СВ-19/9ХС	ГОСТ 25336
Цилиндр мерный 1-100-2, 1-50-2	ГОСТ 1770

Стакан В-1-250 ТХС со шкалой	ГОСТ 25336
Виалы вместимостью 2 $см^3$ под винтовую крышку с септой PTFE	фирма «Agilent Technologies», США
Фильтр «синяя лента» с диаметром 70 мм, класс - MN 640 d	фирма «MACHEREY-NAGEL», Германия
Холодильник, обеспечивающий поддержание температуры от 2 °С до 8 °С	МХМ-1806-21, ЗАО «АТЛАНТ», Республика Беларусь
Фильтры мембранные из регенерированной целлюлозы, диаметром 47 мм и диаметром пор 0,45 мкм	фирма «Agilent Technologies», США
Шприцы инъекционные однократного применения вместимостью 5 $см^3$	ОАО «МЕДПЛАСТ», Республика Беларусь
Поглотительный прибор с пористой пластиной	[6]
Баня ультразвуковая с возможностью регулирования температуры, мощностью ультразвука 60 Вт, объемом не менее 1,0 $дм^3$	фирма «BANDELIN electronic GmbH & Co. KG», Германия
Система вакуумной фильтрации растворителей	фирма «Agilent Technologies», США
Шприцевые фильтры из регенерированной целлюлозы с диаметром пор 0,22 мкм	фирма «Biocomma LIMITED», Китай
Лабораторный вакуумный насос	«ROCKER 300», фирма «Rocker Scientific Co., Ltd», Тайвань

Могут быть использованы другие вспомогательные устройства, обеспечивающие выполнение измерений с требуемой точностью согласно разделу 1.

4.3 Реактивы и материалы

Гексаметилендиамин аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 92,0 % согласно сертификату анализа	CAS 124-09-4
Дансилхлорид (5-(Диметиламино)нафталин-1-сульфонилхлорид) аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 98,0 % согласно сертификату анализа	CAS 605-65-2
Ацетонитрил HPLC PLUS Gradient grade	CAS 75-05-8
Натрий тетраборнокислый 10-водный, ч.д.а.	ГОСТ 4199
Натрия гидроокись, х.ч.	ГОСТ 4328
Кислота соляная, х.ч.	ГОСТ 3118
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709

Вода первой степени чистоты ГОСТ ISO 3696 (вода деионизированная).

Могут быть использованы другие реактивы и материалы, обеспечивающие выполнение измерений с требуемой точностью согласно разделу 1.

5 Метод измерений

Измерения массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной вытяжке выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием с использованием предварительной дериватизации.

Принцип метода основан на извлечении ГМДА из исследуемого образца изделия, содержащего в своем составе полиамид, в воздушную среду, улавливании ГМДА из пробы воздуха путем аспирации через поглотительный прибор с пористой пластинкой, заполненный дистиллированной водой, проведении реакции дериватизации с дансилхлоридом в среде боратного буферного раствора и последующем анализе флуоресцентного производного ГМДА методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием при длине волны возбуждения 338 нм и длине волны эмиссии 515 нм.

Идентификация производного ГМДА производится по времени удерживания, количественное определение – с помощью градуировочной характеристики.

6 Требования безопасности, охраны окружающей среды

При выполнении измерений массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде соблюдают следующие требования.

6.1 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004, оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021 и водопроводом.

6.2 При выполнении измерений необходимо соблюдать требования безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности по ГОСТ 12.1.030, а также требования, изложенные в эксплуатационной документации на используемые средства измерений и вспомогательное оборудование.

6.3 Содержание вредных веществ в воздухе помещения лаборатории не должно превышать допустимых значений по ГОСТ 12.1.005, по [7].

6.4 Параметры микроклимата на рабочих местах должны соответствовать требованиям [8].

7 Требования к квалификации персонала, выполняющего измерения

К выполнению измерений и (или) обработке их результатов допускают лиц в соответствии с требованиями, предъявляемыми к персоналу по ГОСТ ISO/IEC 17025, имеющих высшее или среднее специальное образование, опыт работы в химической лаборатории.

Оператор должен иметь опыт работы с оборудованием согласно разделу 4, уметь выполнять операции, проводимые при измерениях и обработке их результатов согласно разделам 11, 12, изучить настоящую методику измерений, в том числе требования безопасности и охраны окружающей среды согласно разделу 6.

8 Требования к условиям измерений

При приготовлении растворов, подготовке проб и выполнении измерений соблюдают следующие условия окружающей среды:

- температура окружающего воздуха от 15 °С до 25 °С;
- относительная влажность воздуха не более 80 %.
- атмосферное давление от 80,0 кПа до 106,0 кПа.

Результаты контроля параметров окружающей среды регистрируют по форме, установленной документами системы менеджмента лаборатории.

9 Подготовка к выполнению измерений

При подготовке к выполнению измерений проводят следующие работы: подготовку средств измерений и вспомогательных устройств, приготовление растворов, установление градуировочной характеристики, отбор и подготовку проб к измерениям.

9.1 Подготовка средств измерений и вспомогательных устройств

Подготовку жидкостного хроматографа проводят в соответствии с эксплуатационными документами. Устанавливают рабочие режимы термостата колонки, детектора, расход подвижной фазы.

Условия хроматографирования подбирают в зависимости от вида применяемого жидкостного хроматографа и хроматографической колонки.

При использовании жидкостного хроматографа Thermo Scientific (США) и колонки Ultisil XB-C18 устанавливают условия хроматографирования, представленные в таблице 2.

Для удаления примесей, растворенных газов из растворителей применяют вакуумное устройство для фильтрования растворителей с использованием электрического вакуумного насоса и нейлонового мембранного фильтра.

Таблица 2 – Условия хроматографирования

<table>
<tr><th>Условие</th><th>Значение</th></tr>
<tr><td>$\lambda_{возбуждения}$ / $\lambda_{испускания}$</td><td>338 нм / 515 нм</td></tr>
<tr><td>Температура термостата колонки</td><td>30 °С</td></tr>
<tr><td>Режим элюирования</td><td>градиентный</td></tr>
<tr><td>Состав подвижной фазы</td><td>А – ацетонитрил,
В – деионизированная вода
<table><tr><th>t, мин</th><th>A</th><th>B</th></tr><tr><td>0</td><td>60</td><td>40</td></tr><tr><td>7</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>8</td><td>95</td><td>5</td></tr><tr><td>9</td><td>60</td><td>40</td></tr><tr><td>11</td><td>60</td><td>40</td></tr></table></td></tr>
<tr><td>Скорость элюирования</td><td>1,3 $см^3$/мин</td></tr>
<tr><td>Объем вводимой пробы</td><td>25 $мм^3$</td></tr>
<tr><td>Ориентировочное время удерживания</td><td>(6,5 ± 0,3) мин</td></tr>
</table>

В зависимости от применяемого жидкостного хроматографа и хроматографической колонки, а также для улучшения разделения пика ГМДА от посторонних примесей допускается изменение температуры термостата колонки, скорости подвижной фазы, объема вводимой пробы и других параметров хроматографического разделения.

Проводят стабилизацию параметров работы хроматографа в рабочих условиях хроматографирования в течение 30-40 мин. Контролируют шум и дрейф нулевой линии на соответствие эксплуатационным документам прибора. Если результаты измерений не соответствуют значениям, указанным в эксплуатационных документах прибора, необходимо выявить и устранить причины.

Подготовку других средств измерений и вспомогательных устройств к работе, их включение и выведение на рабочий режим осуществляют в соответствии с эксплуатационными документами.

9.2 Приготовление растворов

9.2.1 Приготовление 0,1 М раствора натрия гидроокиси

Навеску натрия гидроокиси массой (1,0000 ± 0,0005) г вносят в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$, добавляют 125 $см^3$ дистиллированной воды, перемешивают до полного растворения навески и доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают пробкой и перемешивают. Допускается использовать стандарт-титры натрия гидроокиси 0,1 н согласно инструкции к стандарт-титру.

Срок хранения раствора в посуде из полимерных материалов при температуре от 20 °С до 25 °С – не более 3 мес.

9.2.2 Приготовление 0,1 М раствора соляной кислоты

В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят 50 см^3 дистиллированной воды, добавляют небольшими порциями при перемешивании 0,9 см^3 концентрированной соляной кислоты и доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают пробкой и перемешивают. Допускается при приготовлении раствора использовать стандарт-титры соляной кислоты 0,1 н согласно инструкции к стандарт-титру.

Срок хранения раствора при температуре от 20 °С до 25 °С – не более 1 года.

9.2.3 Приготовление 0,05 М боратного буферного раствора pH 11,0

В химическом стакане вместимостью 250 см^3 взвешивают (4,5200 ± 0,0005) г натрия тетраборнокислого 10-водного, добавляют не более 150 см^3 дистиллированной воды. Содержимое перемешивают до полного растворения вещества. Добавляют при постоянном перемешивании 60 см^3 0,1 М раствора NaOH. pH раствора после измерения (в случае отклонения) должен быть откорректирован до значения 11,0 потенциометрически с помощью 0,1 М раствора NaOH и 0,1 М раствора HCl. После доведения pH раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 см^3 и доводят до метки дистиллированной водой. Полученный раствор фильтруют через фильтр «синяя лента».

Срок хранения раствора при температуре от 4 °С до 8 °С – не более 3 месяцев.

9.2.4 Приготовление раствора дансилхлорида (далее – Dns-Cl) в ацетонитриле с массовой концентрацией 1000 мкг/см^3

Взвешивают в бюксе 0,05 г Dns-Cl с точностью до ±0,0010 г. Навеску количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 см^3, приливают 10 см^3 ацетонитрила, перемешивают до полного растворения навески и доводят объем раствора в колбе до метки ацетонитрилом. Для лучшего растворения Dns-Cl в ацетонитриле применяют ультразвуковую баню.

Срок хранения в холодильнике при температуре от 4 °С до 8 °С в герметично закрытой посуде из темного стекла – не более 6 месяцев.

9.2.5 Приготовление исходного раствора ГМДА массовой концентрацией 100 мкг/см^3

Взвешивают в бюксе навеску ГМДА массой (0,0100 ± 0,0005) г, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, добавляют 70 см^3 дистиллированной воды и перемешивают до полного растворения навески, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают пробкой и перемешивают. Перед приготовлением раствора аналитический стандарт ГМДА (см. 4.3) рекомендуется нагреть в герметично закрытой посуде без доступа влаги при температуре не более 55 °С.

Массовую концентрацию ГМДА в исходном растворе $C_{исх}$, мкг/см^3, рассчитывают по формуле

$$C_{исх} = \frac{m \cdot \rho \cdot 10^6}{V_{исх}}, \qquad (1)$$

13

где m – масса навески ГМДА, г;

ρ – содержание основного вещества в реактиве, в долях единицы;

10^6 – коэффициент пересчета граммов в микрограммы;

$V_{исх}$ – вместимость мерной колбы, см^3, $V_{исх}$ = 100 см^3.

Срок хранения в герметично закрытой посуде в защищенном от света месте при температуре от 4 °С до 8 °С – не более 6 месяцев.

9.2.6 Приготовление рабочего раствора № 1 массовой концентрацией ГМДА 1,0 мкг/см^3

Рабочий раствор ГМДА в дистиллированной воде массовой концентрацией 1,0 мг/см^3 готовят из исходного раствора ГМДА (см. 9.2.5) в мерной колбе вместимостью не менее 50 см^3. Объем исходного раствора ГМДА, необходимый для приготовления рабочего раствора № 1, V_p, см^3, рассчитывают по формуле

$$V_p = \frac{C_p \cdot V_1}{C_{исх}}, \qquad (2)$$

где C_p – заданная массовая концентрация определяемого вещества в рабочем растворе № 1, мкг/см^3;

V_1 – вместимость мерной колбы, см^3.

Срок хранения раствора в герметично закрытой посуде в защищенном от света месте при температуре от 4 °С до 8 °С – не более 6 месяцев.

9.2.7 Приготовление рабочего раствора № 2 массовой концентрацией ГМДА 0,02 мкг/см^3

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят 1,0 см^3 рабочего раствора ГМДА № 1 (см. 9.2.6), доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают пробкой и перемешивают.

Срок хранения раствора в герметично закрытой посуде в защищенном от света месте при температуре от 4 °С до 8 °С – не более 3 месяцев.

9.2.8 Приготовление градуировочных растворов для установления градуировочной характеристики и проведение реакции дериватизации

Градуировочные растворы ГМДА массовой концентрацией 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 нг/см^3 и холостой раствор готовят в виалах вместимостью 2 см^3. В каждую виалу дозатором вносят рабочий раствор № 2 концентрацией ГМДА 0,02 мкг/см^3, приготовленный по 9.2.7, и дистиллированную воду, объемом указанным в таблице 3.

Содержимое виал перемешивают встряхиванием, добавляют по 0,1 см^3 боратного буферного раствора (см. 9.2.3) и 0,1 см^3 раствора Dns-Cl (см. 9.2.4) для проведения процедуры дериватизации. Растворы встряхивают и оставляют в темном месте на 1 сут при температуре от 20 °С до 25 °С. Затем анализируют при условиях хроматографирования, указанных в п. 9.1.

Таблица 3 – Приготовление градуировочных растворов ГМДА

Номер раствора	Объем рабочего раствора ГМДА № 2, $см^3$	Объем дистиллированной воды, $см^3$	Объем раствора Dns-Cl, $см^3$	Объем буферного раствора, $см^3$	Массовая концентрация ГМДА, $нг/см^3$
холостой	0	0,8	0,1	0,1	0,0
1	0,1	0,7			2,0
2	0,15	0,65			3,0
3	0,2	0,6			4,0
4	0,3	0,5			6,0
5	0,4	0,4			8,0
6	0,5	0,3			10,0

Для проведения градуировки используют свежеприготовленные растворы.

9.3 Установление градуировочной характеристики и проверка стабильности градуировочной характеристики

9.3.1 Установление градуировочной характеристики

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость площади хроматографического пика от массовой концентрации ГМДА в градуировочном растворе, устанавливают по двум сериям из шести градуировочных растворов ГМДА. Каждый градуировочный раствор хроматографируют не менее двух раз. Предварительно анализируют холостой раствор. Показания холостого раствора не учитывают при вычислениях, но они не должны превышать 10 % значения массовой концентрации ГМДА в первом градуировочном растворе (см. 9.2.8). В случае невыполнения вышеуказанного условия результатов выясняют причины, устраняют их и проводят повторную градуировку.

Для установления градуировочной характеристики используют программное обеспечение для жидкостного хроматографа. Градуировочный график представляет собой линейную зависимость площади хроматографического пика от массовой концентрации ГМДА в анализируемом растворе в диапазоне от 2,0 до 10,0 $нг/см^3$.

Для построения градуировочного графика используется зависимость вида

$$y = b \cdot x, \tag{3}$$

где y – площадь пика, установленная хроматографом для массовой концентрации ГМДА в градуировочном растворе, с;

b – коэффициент регрессии, $с^{-1} \cdot см^3/нг$.

x – массовая концентрация ГМДА в градуировочном растворе, $нг/см^3$;

Градуировку проводят не реже одного раза в 6 мес, а также после технического обслуживания, ремонта оборудования, замены реактивов

и материалов, если система ВЭЖХ не была в эксплуатации в течение длительного времени, а также при отрицательных результатах контроля стабильности градуировочной характеристики.

9.3.2 Проверка стабильности градуировочной характеристики

Проверку стабильности градуировочного графика проводят перед началом каждой серии анализов путем хроматографирования градуировочного раствора с массовой концентрацией 4,0 нг/см^3 (см. 9.2.8).

Относительное расхождение между измеренной массовой концентрацией в градуировочном растворе $C_{изм}$ и его фактической концентрацией $C_к$, выраженное в процентах, не должно превышать значения норматива стабильности градуировочного графика K

$$\frac{|C_{изм} - C_к|}{C_к} \cdot 100\ \% \le K, \qquad (4)$$

Норматив стабильности K для ГМДА равен 10 %.

Если расхождение результатов превышает указанное значение, то выясняют причины, устраняют их и проводят повторную градуировку хроматографа, используя свежеприготовленные градуировочные растворы.

10 Отбор проб воздушной вытяжки

10.1.1 Для получения воздушной вытяжки используют стеклянную емкость (эксикатор) вместимостью не менее 15 дм^3 или климатическую камеру.

10.1.2 Получение воздушной вытяжки из образцов изделий, содержащих в своем составе полиамид, проводят при определенной экспозиции, воздухообмене, температурном режиме и соотношении массы образца (площади образца) к объему воздушной среды в соответствии с требованиями документов, представленных в таблице 4.

Таблица 4 – Нормативные документы, регламентирующие условия приготовления воздушных вытяжек из образцов

Технический регламент Таможенного/Евразийского экономического союза	Нормативные документы, регламентирующие условия приготовления воздушных вытяжек из образцов
ТР ТС 005/2011	Инструкция 2.3.3.10-15-64-2005 (глава 4, пп. 17.3, 20, 21) [9]
ТР ТС 007/2011	МУК 4.1/4.3.1485-03 (раздел 3, п. 3.6.6) [10]
ТР ТС 008/2011	Инструкция 016-1211 (глава 3, п. 3.3.2) [11]
ТР ТС 017/2011	Инструкция 1.1.10-12-96-2005 (глава 5, п. 23) [12]
ТР ТС 019/2011	МУ 11-11-15 РБ 02 (раздел 7, п. 7.1.2) [13]
ТР ТС 025/2012	ГОСТ 30255-2014
ТР ЕАЭС 042/2017	Инструкция 016-1211 (глава 3, п. 3.3.2) [11]

10.1.3 Для отбора проб воздушной вытяжки воздух с объемным расходом 0,3 $дм^3$/мин аспирируют через поглотительный прибор с пористой пластинкой, содержащий 3 $см^3$ дистиллированной воды, в течение 50 мин.

Срок хранения отобранных проб – не более 5 сут при хранении в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С.

10.1.4 Холостая проба

Перед каждой серией анализов проводится отбор холостой пробы путем аспирации воздуха с объемным расходом 0,3 $дм^3$/мин через поглотительный прибор с пористой пластиной, содержащий 3 $см^3$ дистиллированной воды в течение 50 мин.

Воздух отбирают из эксикатора без образца, выдержанного в аналогичных с эксикатором и испытуемым образцом условиях.

Срок хранения отобранных холостых проб – не более 5 сут при хранении в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С.

11 Порядок выполнения измерений

11.1 Подготовка отобранных проб к анализу

Аликвоту содержимого поглотительного прибора объемом 0,8 $см^3$ переносят в виалу вместимостью 2 $см^3$, добавляют 0,1 $см^3$ 0,05 М боратного буферного раствора (см. 9.2.3), и 0,1 $см^3$ раствора Dns-Cl концентрацией 1000 мкг/$см^3$ (см. 9.2.4) для проведения процедуры дериватизации. Виалы закрывают крышкой с септой, встряхивают в течение 1 мин и оставляют в темном месте при температуре от 20 °С до 25 °С в течение 1 сут. Полученные растворы фильтруют через шприцевой фильтр с размером пор 0,45 мкм в новую виалу. Подготовку холостой пробы и пробы с добавкой проводят аналогично подготовке испытываемых проб.

Для анализа используют две параллельные пробы.

11.2 Выполнение измерений

Анализ холостой пробы и исследуемых проб проводят на жидкостном хроматографе не менее двух раз в условиях хроматографирования по п. 9.1.

По окончании хроматографического анализа проводят идентификацию пика ГМДА по времени удерживания и вычисление его массовой концентрации по предварительно установленной градуировочной характеристике согласно 9.3.

11.3 Промежуточные результаты измерений и значения влияющих величин фиксируют в рабочем журнале по форме, установленной документами системы менеджмента или иными документами организации.

12 Порядок обработки результатов измерений

Обработку результатов измерений выполняют следующим образом.

12.1 Массовую концентрацию ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной вытяжке, X, мг/$м^3$, рассчитывают по формуле

$$X = \frac{C \cdot V \cdot V_2}{V_3 \cdot V_4 \cdot 10^3}, \quad (5)$$

где C – массовая концентрация ГМДА в хроматографируемом растворе, найденная по градуировочному графику, нг/см^3;

V – объем пробы, подготовленной для хроматографирования, см^3, V=1,0 см^3;

V_2 – объем поглотительного раствора при отборе пробы, см^3, V_2= 3,0 см^3;

V_3 – объем аликвоты для проведения процедуры дериватизации, см^3, V_3=0,8 см^3;

10^3 – коэффициент для перевода единиц величин;

V_4 – объем отобранного воздуха, дм^3. Равен фактической вместимости эксикатора, V_4 = 15,0 дм^3. В случае использования климатической камеры равен объему отобранного воздуха, приведенного к стандартным условиям, который вычисляют по формуле

$$V_4 = \frac{V_t \cdot (273+20) \cdot P}{(273+t) \cdot 101,3}, \quad (6)$$

где V_t – объем воздуха, отобранного для анализа, дм^3;

273 – число, используемое для пересчета градусов Цельсия в кельвины;

20 – температура, соответствующая стандартным условиям, °С;

P – атмосферное давление в месте отбора пробы, кПа;

t – температура воздуха в месте отбора пробы, °С.

101,3 – давление, соответствующее стандартным условиям, кПа.

Если при измерении холостой пробы обнаружено присутствие пика ГМДА, то значение его массовой концентрации в холостой пробе вычитают из значения массовой концентрации в анализируемом образце. Значение массовой концентрации в холостой пробе, рассчитанное по формуле (4), не должно превышать 40 % значения нижней границы диапазона измерений.

Полученные результаты регистрируют в рабочем журнале по форме, установленной документами системы менеджмента или иными документами организации.

12.2 За окончательный результат измерения принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных измерений $\overline{X}$, мг/м^3, которое вычисляют по формуле

$$\overline{X} = \frac{\overline{X_1} + \overline{X_2}}{2}, \quad (7)$$

$$\overline{X_1} = \frac{X_{1-1} + X_{1-2}}{2}, \quad (8)$$

$$\overline{X_2} = \frac{X_{2\text{-}1} + X_{2\text{-}2}}{2}, \quad (9)$$

где $\overline{X_1}$ – среднее арифметическое массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной вытяжке, рассчитанное по двум результатам хроматографирования ($X_{1\text{-}1}$, $X_{1\text{-}2}$) первой параллельной пробы (см. 3.3), мг/м^3;

$\overline{X_2}$ – среднее арифметическое массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной вытяжке, рассчитанное по двум результатам хроматографирования ($X_{2\text{-}1}$, $X_{2\text{-}2}$) второй параллельной пробы (см. 3.3), мг/м^3.

Вычисление массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной вытяжке, при значениях менее 0,0010 мг/м^3 выполняют до шестого знака после запятой с округлением окончательного результата измерений до пятого знака после запятой. При значениях окончательного результата измерений, больших или равных 0,0010 мг/м^3, вычисление проводят до пятого знака после запятой с округлением окончательного результата измерений до четвертого знака после запятой.

Результаты измерений после обработки заносят в рабочий журнал по форме, установленной документами системы менеджмента или иными документами организации.

Оценивание неопределенности измерений выполняется в соответствии с ГОСТ 34100.3-2017/ISO/IEC Guide 98-3:2008, [14], [15], [16]. Методика оценивания неопределенности измерений представлена в приложении А настоящей методики измерений.

13 Форма представления результатов измерений

13.1 Результаты измерений оформляют протоколом по форме, установленной документами системы менеджмента или иными документами организации.

Результаты должны включать следующую информацию:

– наименование (шифр) пробы;

– дату проведения измерений;

– результаты измерений;

– фамилию оператора.

13.2 Результат измерения массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде представляют в форме:

«Массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде_____, составила

$$(\overline{X} \pm U) \text{ мг/м}^3,\ k = 2,\ P = 0{,}95», \quad (10)$$

где $\overline{X}$ – результат измерений массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде, мг/м^3;

U – расширенная неопределенность, мг/м^3, при коэффициенте охвата $k = 2$ и вероятности охвата 0,95, рассчитывается по формуле

$$U = U(X) \cdot \overline{X} \cdot 0{,}01, \tag{11}$$

где $U(X)$ – относительная расширенная неопределенность, %, согласно таблице 1;

0,01 – коэффициент пересчета из процентов в доли единицы.

При значениях окончательного результата измерений менее 0,0010 мг/м^3 расширенную неопределенность и окончательный результат измерений указывают с округлением до пятого знака после запятой. При значениях окончательного результата измерений, больших или равных 0,0010 мг/м^3, расширенную неопределенность и окончательный результат измерений указывают с округлением до четвертого знака после запятой.

13.3 Если полученное среднее арифметическое массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде, $\overline{X}$, мг/м^3, меньше нижней границы или больше верхней границы диапазона измерения, то дают одностороннюю оценку окончательного результата измерений в виде, соответственно

$$\overline{X} < C_{\min}, \tag{12}$$

$$\overline{X} > C_{\max}, \tag{13}$$

где C_{min} – нижняя граница диапазона измерения массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде, мг/м^3, C_{min} = 0,00050 мг/м^3 (таблица 1);

C_{max} – верхняя граница диапазона измерения массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде, мг/м^3, C_{max} = 0,0025 мг/м^3 (таблица 1).

14 Контроль точности результатов измерений

Контроль точности получаемых результатов измерений осуществляют на основе:

- контроля результатов измерений, полученных в условиях повторяемости;
- контроля результатов измерений, полученных в условиях промежуточной прецизионности;
- контроля правильности результатов измерений.

14.1 Контроль результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов осуществляют согласно (см. 5.2.2) СТБ ИСО 5725-6. Результаты измерений должны быть получены в условиях повторяемости.

Если абсолютное значение разности между наибольшим и наименьшим результатами двух параллельных измерений, проведенных согласно разделу 12, меньше либо равно абсолютному значению предела повторяемости $r_{абс}$, мг/м^3, и выполняется условие

$$\left|\overline{X_1} - \overline{X_2}\right| \le r_{абс}, \qquad (14)$$

где $\overline{X_1}, \overline{X_2}$ – результаты измерений, рассчитанные согласно разделу 12, мг/м^3;

$r_{абс}$ – абсолютное значение предела повторяемости, мг/м^3, которое рассчитывают по формуле

$$r_{абс} = 0,01 \cdot r \cdot \overline{X}, \qquad (15)$$

где $0,01$ – коэффициент пересчета из процентов;

r – предел повторяемости, %, (таблица 1),

то результаты параллельных измерений признаются приемлемыми, и за окончательный результат измерений принимают их среднее арифметическое.

При невыполнении условия (14) измерения повторяют. При повторном превышении указанного норматива должны быть выяснены и устранены причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля повторяемости.

14.2 Контроль результатов измерений, полученных в условиях промежуточной прецизионности

Контроль промежуточной прецизионности результатов измерений проводится с периодичностью, установленной процедурой внутреннего лабораторного контроля лаборатории.

Значение абсолютной разности между результатами первичного и повторного измерений массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде в одной и той же пробе $R_{I(TO)к}$, мг/м^3, полученными в условиях промежуточной прецизионности, не должно превышать абсолютного значения предела промежуточной прецизионности $R_{I(TO)абс}$, мг/м^3, и выполняется условие

$$R_{I(TO)k} = \left|\bar{X}_1 - \bar{X}_2\right| \le R_{I(TO)абс}, \qquad (16)$$

где $\overline{X}_1$ – результат первичного измерения массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде, рассчитанный согласно разделу 12, мг/м^3;

$\overline{X}_2$ – результат повторного измерения массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде, рассчитанный согласно разделу 12, мг/м^3;

$R_{I(TO)абс}$ – абсолютное значение предела промежуточной прецизионности, мг/м^3, рассчитанное по формуле

$$R_{I(TO)абс} = 0,01 \cdot R_{I(TO)} \cdot \overline{X}, \qquad (17)$$

где *0,01* – коэффициент пересчета из процентов;

$R_{I(TO)}$ – предел промежуточной прецизионности, %, (таблица 1);

$\overline{X}$ – среднее значение результатов первичного и повторного измерений массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде, мг/м^3.

Первичный и повторный результаты измерений массовой концентрации ГМДА в воздушной вытяжке должны быть получены с изменяющимися факторами «время» и/или «персонал, выполняющий измерения».

При выполнении условия (16) оба результата считаются приемлемыми. При превышении $R_{I(TO)к}$ значения $R_{I(TO)абс}$ контроль повторяют. При повторном превышении указанного норматива должны быть выяснены и устранены причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля.

14.3 Контроль правильности результатов измерений

Контроль правильности результатов проводят с периодичностью, установленной процедурой внутреннего лабораторного контроля лаборатории, при смене реактивов, изменении условий проведения измерений, после ремонта оборудования, при освоении методики измерений оператором.

Контроль правильности результатов измерений при определении массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде проводят путем анализа пробы с добавкой. Значение величины добавки $X_{доб}$, должно быть не менее 0,001 мг/м^3.

Пробу воздушной вытяжки с добавкой готовят путем внесения в раствор холостой пробы известного количества рабочего раствора ГМДА. Например, в 0,6 см^3 раствора холостой пробы вносят 0,2 см^3 рабочего раствора ГМДА № 2. Далее анализ холостой пробы и пробы с добавкой проводят согласно разделу 11.

Результат контроля правильности считается удовлетворительным, если выполняется следующее условие

$$\left| X_{доб} - \overline{X}_{пр.доб.} - X_{кон.пр.} \right| \le 0,01 \cdot U(X) \cdot X_{доб} \ , \qquad (18)$$

где $X_{доб}$ – заданная величина добавки, мг/м^3;

$\overline{X}_{пр.доб.}$ – среднее значение результатов двух параллельных измерений пробы с добавкой, полученные в условиях повторяемости, рассчитанные согласно разделу 12, мг/м^3;

$X_{кон.пр.}$ – результат измерения величины холостой пробы, рассчитанный согласно разделу 12, мг/м^3;

0,01 – коэффициент пересчета из процентов в доли единицы;

U(X) – значение относительной расширенной неопределенности, приведенное в таблице 1, %.

При невыполнении данного условия контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (18) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

Приложение А
(обязательное)
Алгоритм расчета и оценивания неопределенности измерений массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде

А.1 Измерительная задача: измерение массовой концентрации гексаметилендиамина (далее – ГМДА), выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной вытяжке в диапазоне от 0,00050 до 0,00250 мг/м^3 методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Измерение массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной вытяжке согласно настоящей методике измерений включает следующие операции:

- приготовление градуировочных растворов;
- установление градуировочной характеристики, выражающей зависимость площади хроматографического пика от массовой концентрации ГМДА в растворе;
- подготовка проб к измерениям;
- хроматографирование на жидкостном хроматографе с флуориметрическим детектором.

А.2 Математическая модель измерения

Модель измерения массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде X, мг/м^3, с учетом оценки прецизионности и оценки степени извлечения метода имеет вид

$$X = \frac{C \cdot V \cdot V_2}{V_3 \cdot V_4 \cdot 10^3} \cdot \frac{F}{\mathrm{Re}c}, \qquad (A.1)$$

где C – массовая концентрация ГМДА в хроматографируемом растворе, найденная по градуировочному графику, нг/см^3;

V – объем пробы, подготовленной для хроматографирования, см^3, V=1,0 см^3;

V_2 – объем поглотительного раствора при отборе пробы, см^3, V_2=3,0 см^3;

V_3 – объем аликвоты для проведения процедуры дериватизации, см^3, V_3=0,8 см^3;

10^3 – коэффициент перевода нг в мг;

F – фактор повторяемости;

Rec –степень извлечения в относительных единицах, рассчитывают по формуле

$$\mathrm{Re}c = \frac{C_i - C_0}{\gamma}, \qquad (5)$$

где C_i – массовая концентрация ГМДА в пробе с добавкой, найденная по градуировочному графику, нг/см^3;

C_0 – массовая концентрация ГМДА в холостой пробе, найденная по градуировочному графику, нг/см^3;

γ – теоретическая массовая концентрация ГМДА в пробе с добавкой, нг/см^3;

V_4 – объем отобранного воздуха, дм^3. Равен фактической вместимости эксикатора, V_4 = 15,0 дм^3. В случае использования климатической камеры равен объему отобранного воздуха, приведенного к стандартным условиям.

Перечень входных величин для оценки суммарной стандартной неопределенности представлен в таблице А.1.

Таблица А.1 – Входные величины для оценки суммарной стандартной неопределенности

Величина	Единица измерения	Определение или описание
Составляющие неопределенности, обусловленные повторяемостью результатов измерений и отличием степени извлечения от единицы		
F	-	фактор повторяемости
Rec	-	степень извлечения в относительных единицах
Составляющие неопределенности, обусловленные проведением измерений		
C	нг/см^3	массовая концентрация ГМДА в хроматографируемом растворе, найденная по градуировочному графику
Составляющие неопределенности, обусловленные пробоотбором и пробоподготовкой		
V_4	дм^3	объем отобранного воздуха согласно 12.1
V	см^3	объем пробы, подготовленной для хроматографирования
V_2	см^3	объем поглотительного раствора при отборе пробы
V_3	см^3	объем аликвоты для проведения процедуры дериватизации

Вклад объемного расширения жидкостей градуировочных растворов в относительные стандартные неопределенности вместимости мерной посуды был признан незначительным и не рассматривался.

Значение оценки поправочного множителя F предполагают равным 1.

А.3 Анализ входных величин

Расчет неопределенности измерений проводят в соответствии с ГОСТ 34100.3-2017/ISO/IEC Guide 98-3:2008, СТБ ИСО 5725-6, [14], [15], [16].

Исходя из модели измерений и анализа измерительной процедуры, можно выделить следующие источники неопределенности массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде:

а) объем отобранного воздуха;

б) неопределенность, обусловленная построением и использованием градуировочной характеристики;

в) неопределенность, обусловленная случайными факторами (фактор повторяемости);

г) неопределенность, обусловленная извлечением (отличие степени извлечения от единицы).

А.3.1 Составляющие неопределенности, обусловленные пробоотбором и подготовкой проб

Входные величины, связанные с пробоотбором:

– объем пробы, подготовленной для хроматографирования, V, см^3, объем поглотительного раствора при отборе пробы, V_2, см^3, объем аликвоты для проведения процедуры дериватизации, V_3, см^3;

– объем отобранного воздуха V_4, дм^3.

Относительную стандартную неопределенность, обусловленную пробоотбором и подготовкой проб, u_n вычисляют по формуле

$$u_n = \sqrt{u_{nV}^2 + u_{nV2}^2 + u_{nV3}^2 + u_{nV4}^2}, \quad (A.3)$$

где u_{nV} – относительная стандартная неопределенность, возникающая из-за отклонения объема пробы, подготовленного для хроматографирования;

u_{nV2} – неопределенность объема, возникающая из-за отклонения объема поглотительного раствора при отборе пробы $u(V_2)$;

u_{nV3} – неопределенность объема, возникающая из-за отклонения объема аликвоты для проведения процедуры дериватизации $u(V_3)$;

u_{nV4} – неопределенность объема отобранного воздуха $u(V_4)$.

Анализ входных величин, источником которых являются процедуры пробоотбора и пробоподготовки, представлен в таблице А.2.

Таблица А.2 – Анализ входных величин, источником которых является процедура пробоотбора и пробоподготовки

Входная величина	Анализ входной величины
1	2
Объем отобранного воздуха	
Объем отобранного воздуха V_4, дм^3, (см 12.1)	Тип оценивания неопределенности: В Вид распределения: треугольный Значение оценки для диапазона V_4 = 15 дм^3. Относительная стандартная неопределенность $$\frac{u(V_4)}{V_4} = \sqrt{\frac{u^2(\upsilon)}{\upsilon^2} + \frac{u^2(\tau)}{\tau^2}},$$ где $V_4 = \upsilon \cdot \tau$; υ – объемный расход воздуха, дм^3/мин; τ – время отбора, мин.

Продолжение таблицы А.2

1	2
Объемный расход воздуха υ, дм^3/мин	Тип оценивания неопределенности В Вид распределения прямоугольный. Значение оценки υ = 0,3 дм^3/мин Интервал, в котором находится значение входной величины: Δ_υ = ±5 % Стандартная неопределенность $u(\upsilon) = \frac{\Delta_\upsilon \cdot \upsilon_n}{100 \cdot \sqrt{3}}$. Относительная стандартная неопределенность $\frac{u(\upsilon)}{\upsilon} = \frac{\Delta_\upsilon \cdot \upsilon_n}{100 \cdot \sqrt{3}} / \upsilon$
Составляющую стандартной неопределенности, связанную с объемным расходом, определяют на основании информации о пределах допускаемой погрешности средства измерений объемного расхода ±5 %, диапазон измерений от 0,2 дм^3/мин до 2,0 дм^3/мин	
Время отбора воздуха τ, мин	Тип оценивания неопределенности В Вид распределения прямоугольный Значение оценки: τ = 50 мин. Интервал, в котором находится значение входной величины: ±0,5 % Стандартная неопределенность $u(\tau) = \frac{\Delta_\tau \cdot \tau_n}{100 \cdot \sqrt{3}}$. Относительная стандартная неопределенность $\frac{u(\tau)}{\tau} = \frac{\Delta_\tau \cdot \tau_n}{100 \cdot \sqrt{3}} / \tau$
Составляющая стандартной неопределенности, связанная с временем отбора, определяется на основании информации о пределах основной относительной погрешности измерения времени ±0,5 % аспиратора	
Объем пробы, подготовленной для хроматографирования, V, см^3	Объем пробы, подготовленной для хроматографирования, рассчитывается по формуле $u(V) = \sqrt{u^2(V_{Dns-Cl}) + u^2(V_{буфер}) + u^2(V_{0,8})}$, где $V = V_{0,8} + V_{Dns\text{-}Cl} + V_{буфер}$; $V_{Dns\text{-}Cl}$ – объем раствора Dns-Cl, см^3, $V_{Dns\text{-}Cl}$=0,1 см^3; $V_{буфер}$ – объем буферного раствора, см^3, $V_{буфер}$ =0,1 см^3; $V_{0,8}$ – объем аликвоты, см^3, $V_{0,8}$ = 0,8 см^3. Входная величина: $V_{Dns\text{-}Cl}$, аналогично для $V_{буфер}$, см^3 Тип оценивания неопределенности: В Вид распределения: треугольное Значение оценки: $V_{Dns\text{-}Cl}$ = 0,1 см^3, $V_{буфер}$ = 0,1 см^3 Стандартная неопределенность, обусловленная отклонением действительного значения сливаемого объема дозатора от номинального $u(V_\Delta) = \frac{\Delta \cdot V_{Dns-Cl}}{100 \cdot \sqrt{6}}$

Продолжение таблицы А.2

1	2
	Стандартная неопределенность, обусловленная случайной погрешностью используемого дозатора $$u(V_S) = \frac{S_v \cdot V_{Dns-Cl}}{100}.$$ Стандартная неопределенность $$u(V_{Dns-Cl}) = \sqrt{u(V_\Delta)^2 + u(V_S)^2}$$
Интервал возможных значений входной величины определяется пределами допускаемых систематической составляющей основной относительной погрешности дозатора «Лайт» ДПОП-1-100-1000. Пределы допускаемой систематической составляющей основной относительной погрешности составляют ±1,5 % – для 100 мкл; ±1,0 % – для 1000 мкл. Предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения случайной составляющей относительной погрешности для 100 мкл составляет Sv = 2,0 %; для 1000 мкл составляет Sv = 1,0 %.	
	Входная величина: $V_{0,8}$, см^3 Тип оценивания неопределенности В Вид распределения: треугольный Значение оценки: $V_{0,8}$ = 0,8 см^3 Интервал, в котором находится значение входной величины: ±0,01 см^3 Стандартная неопределенность $$u(V_{0,8}) = \frac{\Delta_{V0,8}}{\sqrt{6}}$$
	Интервал возможных значений входной величины определяется пределами допускаемой погрешности используемой мерной посуды, в данном случае – пипетки градуированной номинальной вместимостью 1 см^3 2 класса точности. Пределы допускаемой погрешности ±0,01 см^3
Объем поглотительного раствора при отборе пробы V_2, см^3	Тип оценивания неопределенности В Вид распределения: треугольный Значение оценки: 3,0 см^3 Интервал, в котором находится значение входной величины ±0,05 см^3 Относительная стандартная неопределенность $$\frac{u(V_2)}{V_2} = \frac{\Delta_{V_2}}{V_2 \cdot \sqrt{6}}$$
Интервал возможных значений входной величины определяется пределами допускаемой погрешности используемой мерной посуды, в данном случае – пипетки градуированной номинальной вместимостью 5 см^3 2 класса точности. Пределы допускаемой погрешности ±0,05 см^3	

28

Окончание таблицы А.2

1	2
Объем аликвоты для проведения процедуры дериватизации V_3, см^3	Тип оценивания неопределенности В Вид распределения: треугольный Значение оценки: V_3= 0,8 см^3 Интервал, в котором находится значение входной величины: ±0,01 см^3 Относительная стандартная неопределенность $\frac{u(V_3)}{V_3} = \frac{\Delta_{V_3}}{V_3 \cdot \sqrt{6}}$
Интервал возможных значений входной величины определяется пределами допускаемой погрешности используемой мерной посуды, в данном случае – пипетки градуированной номинальной вместимостью 1 см^3 2 класса точности. Пределы допускаемой погрешности ±0,01 см^3	

Влиянием колебания температуры в лаборатории в пределах ±5 °С (в соответствии с методикой измерений) и объемным расширением жидкости пренебрегают, так как эти вклады в значение стандартной неопределенности незначительны.

А.3.2 Составляющие неопределенности, обусловленные построением градуировочного графика

Входная величина, связанная с проведением измерений:

- массовая концентрация ГМДА, найденная по градуировочной характеристике, C, нг/см^3.

Анализ входной величины, источником которых является процедура проведения измерений, представлен в таблице А.3.

Таблица А.3 – Анализ входных величин, связанных с проведением измерений

Входная величина	Анализ входных величин
Массовая концентрация ГМДА, найденная по градуировочной характеристике, C, нг/см^3	Тип оценивания неопределенности: А Вид распределения нормальный Значение оценки: C, нг/см^3 Суммарная стандартная неопределенность: обусловлена неопределенностью построения градуировочного графика.

Значение массовой концентрации ГМДА в растворе, С, нг/см^3, определяется по градуировочной характеристике, поэтому ее неопределенность обусловлена неопределенностью построения градуировочного графика. К составляющим неопределенности, обусловленным построением градуировочного графика, можно отнести следующие:

– случайные эффекты, результатом которых являются неопределенности приписанных исходных значений массовой концентрации ГМДА в градуировочных растворах;

– случайные колебания при измерении выходного сигнала.

Неопределенность $u(C, x_i)$ массовой концентрации ГМДА в растворе пробы из-за неопределенности значения массовой концентрации ГМДА в i-ом градуировочном растворе можно определить по приближенной формуле

$$u(C, x_i) = \frac{u(x_i)}{N}, \quad \text{(А.3)}$$

где $u(x_i)$ – неопределенность приписанного значения массовой концентрации ГМДА в i-ом градуировочном растворе, нг/см^3;

N – количество градуировочных растворов (точек на графике).

Суммарная неопределенность из-за неопределенностей приписанных значений массовой концентрации ГМДА в растворе во всех градуировочных растворах рассчитывается по следующей формуле

$$u(C, x) = \sqrt{\sum_{i=1}^{N} \left(\frac{u(x_i)}{N} \right)^2}, \quad \text{(А.4)}$$

где N – количество градуировочных растворов (точек на графике), N=6.

Оценивание неопределенности приписанного значения массовой концентрации ГМДА в i-ом градуировочном растворе выполняют по формуле

$$u(x_i) = x_i \cdot \sqrt{\left(\frac{u(m)}{m} \right)^2 + \left(\frac{u(\rho)}{\rho} \right)^2 + \left(\frac{u(V_{исх})}{V_{исх}} \right)^2 + \left(\frac{u(V_{исх-1})}{V_{исх-1}} \right)^2 + \left(\frac{u(V_{раб})}{V_{раб}} \right)^2 + \left(\frac{u(V_{раб-1})}{V_{раб-1}} \right)^2 + \left(\frac{u(V_{раб-2})}{V_{раб-2}} \right)^2 + \left(\frac{u(V_{раб-2i})}{V_{раб-2i}} \right)^2 + \left(\frac{u(V)}{V} \right)^2}, \quad \text{(А.5)}$$

где $u(m)$ – стандартная неопределенность массы ГМДА, взятого для приготовления стандартного раствора, мг;

m – масса ГМДА, взятая для приготовления стандартного раствора, мг;

$u(\rho)$ – стандартная неопределенность содержания ГМДА в реактиве;

ρ – содержание ГМДА в реактиве;

$u(V_{исх})$ – стандартная неопределенность объема исходного стандартного раствора, см^3;

$V_{исх}$ – объем исходного стандартного раствора, см^3;

$u(V_{исх-1})$ – стандартная неопределенность объема аликвоты исходного стандартного раствора, взятого для приготовления рабочего раствора № 1 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3;

$V_{исх\text{-}1}$ – объем аликвоты исходного стандартного раствора, взятый для приготовления рабочего раствора № 1 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3;

$u(V_{раб})$ – стандартная неопределенность объема рабочего раствора № 1, см^3;

$V_{раб}$ – объем рабочего раствора № 1, см^3;

$u(V_{раб\text{-}1})$ – стандартная неопределенность объема аликвоты рабочего раствора № 1, взятого для приготовления рабочего раствора № 2 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3.

$V_{раб\text{-}1}$ – объем аликвоты рабочего раствора, взятый для приготовления рабочего раствора № 2 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3;

$u(V_{раб\text{-}2})$ – стандартная неопределенность объема рабочего раствора № 2, см^3;

$V_{раб\text{-}2}$ – объем рабочего раствора № 2, см^3;

$u(V_{раб\text{-}2i})$ – стандартная неопределенность объема аликвоты рабочего раствора № 2, взятого для приготовления *i*-ого градуировочного раствора, см^3.

$V_{раб\text{-}2i}$ – объем аликвоты рабочего раствора № 2, взятый для приготовления *i*-ого градуировочного раствора, см^3;

$u(V)$ – стандартная неопределенность объема экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3;

V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3.

Стандартную неопределенность объема экстракта, подготовленного для хроматографирования, $u(V)$, см^3, вычисляют по формуле

$$u(V) = \sqrt{u(V_{раб-2i})^2 + u(V_{вода-i})^2 + u(V_{Dns-Cl})^2 + u(V_{буфер})^2}, \qquad (A.6)$$

где $u(V_{раб\text{-}2i})$ – стандартная неопределенность объема аликвоты рабочего раствора № 2, взятого для приготовления *i*-ого градуировочного раствора, см^3.

$u(V_{вода\text{-}i})$ – стандартная неопределенность объема дистиллированной воды, взятой для приготовления *i*-ого градуировочного раствора, см^3;

$u(V_{Dns\text{-}Cl})$ – стандартная неопределенность объема раствора дансилхлорида, взятого для приготовления *i*-ого градуировочного раствора, см^3;

$u(V_{буфер})$ – стандартная неопределенность объема боратного буферного раствора, взятого для приготовления *i*-ого градуировочного раствора, см^3.

Составляющую неопределенности, обусловленную случайными колебаниями выходного сигнала, рассчитывают по формуле

$$\frac{u(C,y)}{C} = S_{x(отн)}, \qquad (A.7)$$

где $S_{x(отн)}$ – относительное стандартное отклонение для массовой концентрации ГМДА в растворе j-ого уровня $S_{xj(отн)}$, вычисляют по формуле

$$S_{xj(отн)} = \frac{S_{xj}}{x_j}. \qquad (A.8)$$

В качестве составляющих неопределенности, обусловленных построением градуировочного графика, $u(C,x)/C$ и $u(C,y)/C$, принимают максимальные из значений, полученных для каждого уровня массовой концентрации ГМДА в градуировочном растворе.

Относительную суммарную стандартную неопределенность градуировочной характеристики $u_{гр}$ вычисляют по формуле

$$u_{гр} = \sqrt{\left(\frac{u(C,x)}{C}\right)^2 + \left(\frac{u(C,y)}{C}\right)^2}. \qquad (A.9)$$

А.3.3 Составляющие неопределенности, обусловленные повторяемостью результатов измерений

Составляющую неопределенности, связанную с фактором повторяемости (возможные расхождения между параллельными измерениями) с учетом того, что за результат измерений принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных измерений, рассчитывают по формуле

$$u_{Frep} = \frac{S_r}{\sqrt{2}}, \qquad (A.10)$$

где S_r – относительное стандартное отклонение повторяемости, %.

А.3.4 Составляющие неопределенности, обусловленные отличием степени извлечения от единицы

Неопределенность, обусловленная отличием степени извлечения от единицы при выделении ГМДА из изделий, содержащих в своем составе полиамид, в воздушную среду, вычисляют по формуле

$$u_{извл.абс.} = \frac{t_{crit} \cdot u(\overline{Rec})}{1{,}96}. \qquad (A.11)$$

Стандартную неопределенность $u(\overline{Rec})$, в долях единицы, вычисляют по формуле

$$u(\overline{\mathrm{Re}\,c}) = \overline{\mathrm{Re}\,c}\sqrt{\left(\frac{u(\overline{P})}{\overline{P}}\right)^2 + \left(\frac{u(\overline{P_0})}{\overline{P_0}}\right)^2 + \left(\frac{u(\gamma)}{\gamma}\right)^2}, \qquad \text{(А.12)}$$

где $\overline{\mathrm{Re}\,c}$ – средняя степень извлечения, вычисляют по формуле (А.13).

$\frac{u(\overline{P})}{\overline{P}}$ – относительная стандартная неопределенность измеренной массовой концентрации ГМДА в пробе с добавкой;

$\frac{u(\overline{P_0})}{\overline{P_0}}$ – относительная стандартная неопределенность измеренной массовой концентрации ГМДА в пробе без добавки;

$\frac{u(\gamma)}{\gamma}$ – относительная стандартная неопределенность массовой концентрации ГМДА в пробах с добавками. Вычисляют по формуле (А.16).

Для упрощения расчетов степень извлечения оценивается на основании массовой концентрации в пробе (без пересчета с использованием объема воздуха).

Среднюю степень извлечения рассчитывают по формуле

$$\overline{\mathrm{Re}\,c} = \frac{(\overline{P} - \overline{P_0})}{\gamma}, \qquad \text{(А.13)}$$

где $\overline{P}$ – среднее арифметическое результатов определения массовой концентрации ГМДА в пробах с добавкой, нг/см^3;

$\overline{P_0}$ – среднее арифметическое результатов определения массовой концентрации ГМДА в пробах без добавки, нг/см^3;

γ – массовая концентрация ГМДА, внесенного в пробу, нг/см^3.

Расчет стандартной неопределенности измеренной массовой концентрации ГМДА в пробе с добавкой, $u(\overline{P})$, нг/см^3, и стандартной неопределенности измеренной массовой концентрации ГМДА в пробе без добавки $u(\overline{P_0})$, нг/см^3, проводят по формулам

$$u(\overline{P}) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{p=16}(\overline{P} - P_i)^2}{p(p-1)}}, \qquad \text{(А.14)}$$

$$u(\overline{P_0}) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{p=16}(\overline{P_0} - P_{0i})^2}{p(p-1)}}, \qquad \text{(А.15)}$$

где P_{0i} – результат i-ого определения массовой концентрации ГМДА в пробах без добавки, нг/см^3:

P_i – результат i-ого определения массовой концентрации ГМДА в пробах с добавкой, нг/см^3;

p – количество измерений пробы с добавкой.

Расчет относительной стандартной неопределенности массовой концентрации ГМДА в пробах с добавками $u(\gamma)/\gamma$ проводят по формуле

$$\frac{u(\gamma)}{\gamma}=\sqrt{\left(\frac{u(V_2)}{V_2}\right)^2+\left(\frac{u(V_{доб})}{V_{доб}}\right)^2+\left(\frac{u(C_{доб})}{C_{доб}}\right)^2}, \qquad \text{(А.16)}$$

где $\frac{u(V_2)}{V_2}$ – относительная стандартная неопределенность объема, возникающая из-за отклонения объема воды в поглотительном устройстве;

$\frac{u(V_{доб})}{V_{доб}}$ – относительная стандартная неопределенность объема аликвоты рабочего раствора № 2 ГМДА, вносимого для приготовления пробы с добавкой;

$\frac{u(C_{доб})}{C_{доб}}$ – относительная стандартная неопределенность массовой концентрации ГМДА в рабочем растворе №2, использованном для приготовления пробы с добавкой. Вычисляют по формуле

$$\frac{u(C_{доб})}{C_{доб}}=\sqrt{\left(\frac{u(m)}{m}\right)^2+\left(\frac{u(\rho)}{\rho}\right)^2+\left(\frac{u(V_{исх})}{V_{исх}}\right)^2+\left(\frac{u(V_{исх-1})}{V_{исх-1}}\right)^2+\left(\frac{u(V_{раб})}{V_{раб}}\right)^2+\left(\frac{u(V_{раб-1})}{V_{раб-1}}\right)^2+\left(\frac{u(V_{раб-2})}{V_{раб-2}}\right)^2}, \qquad \text{(А.17)}$$

где $u(m)$ – стандартная неопределенность массы ГМДА, взятого для приготовления стандартного раствора, мг;

m – масса ГМДА, взятая для приготовления исходного раствора, мг;

$u(\rho)$ – стандартная неопределенность содержания ГМДА в реактиве;

ρ – содержание ГМДА в реактиве;

$u(V_{исх})$ – стандартная неопределенность объема исходного раствора, см^3;

$V_{исх}$ – объем исходного раствора, см^3;

$u(V_{исх\text{-}1})$ – стандартная неопределенность объема аликвоты исходного раствора, взятого для приготовления рабочего раствора № 1 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3;

$V_{исх\text{-}1}$ – объем аликвоты исходного раствора, взятый для приготовления рабочего раствора № 1 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3;

$u(V_{раб})$ – стандартная неопределенность объема рабочего раствора № 1, см^3;

$V_{раб}$ – объем рабочего раствора № 1, см^3;

$u(V_{раб\text{-}1})$ – стандартная неопределенность объема аликвоты рабочего раствора № 1, взятого для приготовления рабочего раствора № 2 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3.

$V_{раб\text{-}1}$ – объем аликвоты рабочего раствора, взятый для приготовления рабочего раствора № 2 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3;

$u(V_{раб\text{-}2})$ – стандартная неопределенность объема рабочего раствора № 2, см^3;

$V_{раб\text{-}2}$ – объем рабочего раствора № 2, см^3.

А.4 Корреляция

Входные величины рассматривают как некоррелированные.

А.5 Коэффициенты чувствительности

Коэффициенты чувствительности принимают равными единице.

А.6 Бюджет неопределенности измерений

Относительную суммарную стандартную неопределенность массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде определяют в соответствии с законом распространения неопределенностей через относительные стандартные неопределенности влияющих величин по формуле

$$u(X)/X = \sqrt{\left(u_{гр}\right)^2 + \left(u_n\right)^2 + \left(u_{извл}\right)^2 + \left(u_{Frep}\right)^2}\,. \qquad (A.26)$$

Бюджет неопределенности измерений представлен в таблице А.4.

Таблица А.4 – Бюджет неопределенности измерений массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде

Влияющая величина	Тип оценки	Относительная стандартная неопределенность
Построение и использование градуировочной характеристики	А	$u_{гр}$
Отбор проб и пробоподготовка	В	u_n
Повторяемость результатов измерений массовой концентрации в пробе	А	u_{Frep}
Извлечение (отличие степени извлечения от единицы)	А	$u_{извл}$
Относительная суммарная стандартная неопределенность		$u(X)/X$

А.7 Расширенная неопределенность

Коэффициент охвата для нормального распределения при уровне доверия 0,95 равен 2. Относительную расширенную неопределенность $U(X)$, %, вычисляют по формуле

$$U(X)=100\cdot k\cdot u(X)/X=200\cdot u(X)/X \quad (A.27)$$

А.8 Полный результат измерений

Результат измерения массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде представляют в форме:

«Массовая концентрация ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде_____, составила

$$(\overline{X}\pm U)\ \text{мг/м}^3,\ k=2,\ P=0{,}95\text{»}, \quad (A.28)$$

где $\overline{X}$– результат измерений массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде, мг/м^3;

U – расширенная неопределенность, мг/м^3, при коэффициенте охвата $k = 2$ и вероятности охвата 0,95, рассчитывается по формуле

$$U=U(X)\cdot\overline{X}\cdot 0{,}01, \quad (A.29)$$

где $U(X)$ – относительная расширенная неопределенность, %, рассчитанная согласно А.7 или приведенная в таблице 1;

0,01 – коэффициент пересчета из процентов в доли единицы.

При значениях окончательного результата измерений менее 0,0010 мг/м^3 расширенную неопределенность и окончательный результат измерений указывают с округлением до пятого знака после запятой. При значениях окончательного результата измерений, больших или равных 0,0010 мг/м^3, расширенную неопределенность и окончательный результат измерений указывают с округлением до четвертого знака после запятой.

Библиография

[1] Правила разработки и применения методик (методов) измерений, утвержденные постановлением Государственного комитета по стандартизации Республики Беларусь от 23.04.2021 № 44

[2] Методические рекомендации по оформлению методик (методов) измерений, утвержденные постановлением Государственного комитета по стандартизации Республики Беларусь от 01.06.2021 № 61

[3] Положение о допуске единиц величин к применению в Республике Беларусь, утвержденные постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 24.11.2020 № 673

[4] Отчет по результатам проведения исследований по оцениванию рабочих характеристик методики (метода) измерений (включая показатели точности измерений) «Массовая концентрация ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием» / разраб.: Т.П. Крымская, П.А. Станишевская, М.С. Турко; НИИ ГТЭВМ РЦГЭиОЗ. – Минск, 2025. – 70 с.

[5] ЦАРЯ.2772.001 РЭ Термогигрометры ИВА-6А, ИВА-6Н Руководство по эксплуатации

[6] ТУ 9452-016-00480514-95 Поглотители

[7] Гигиенический норматив «Показатели безопасности и безвредности микроорганизмов-продуцентов, микробных препаратов и их компонентов, вредных веществ в воздухе рабочей зоны и на кожных покровах работающих», утв. постановлением Совета Министров Республики Беларусь № 37 от 25.01.2021 г

[8] Гигиенический норматив «Микроклиматические показатели безопасности и безвредности на рабочих местах», утв. постановлением Совета Министров Республики Беларусь № 37 от 25.01.2021 г

[9] Санитарно-химические исследования изделий, изготовленных из полимерных и других синтетических материалов, контактирующих с пищевыми продуктами: инструкция 2.3.3.10-15-64-2005. – Введ. 01.03.2006. – Минск, 2005. – 98 с

[10] Санитарно-эпидемиологическая оценка игрушек : МУК 4.1/4.3.2038-05. – Введ. 2006-04-01. – М., 2006. – С. 8–9

[11] Инструкция по применению № 016-1211 «Методы оценки гигиенической безопасности отдельных видов продукции для детей», утв. Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 15.12.2011

[12] Инструкция 1.1.10-12-96-2005 «Гигиеническая оценка тканей, одежды и обуви», утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Республики Беларусь 28 декабря 2005 №268

[13] Методические указания МУ 11-11-15 РБ 02 «Порядок и организация проведения гигиенической экспертизы производственной

и специальной одежды. Показатели гигиенической безопасности и методы определения», утв. Главным государственным санитарным врачом Республики Беларусь 30.12.02 г

[14] Руководство по выражению неопределенности измерения: пер. с англ./ под науч. ред. проф. В.А. Слаева. – СПб. : ГП ВНИИМ им. Д.И. Менделеева, 1999. – 134 с

[15] Примеры оценивания неопределенностей из различных областей измерений и испытаний: практ. пособие / Н.Ю. Ефремова, С.А. Качур. – Минск, 2006. – 60 с

[16] Руководство ЕВРАХИМ/СИТАК. Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях: пер. с англ. / под общ. ред. Л.А. Конопелько. – 2-е изд. – СПб : ВНИИМ им. Д.И. Менделеева, 2002. – 149 с

[17] Физико-химические методы анализа: практ. руководство/под ред. В.Б. Алесковского – Л.: Химия, 1988. – 373 с

ЛИСТ РЕГИСТРАЦИИ ИЗМЕНЕНИЙ

Изм. №	Номера листов				Всего листов в документе после внесенных изменений	№ ИИ	Подпись	Дата внесения изменения
	Измененных	Замененных	Новых	Аннулированных				

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Отчет
о проведении экспериментальных исследований
показателей точности методики измерений
«Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде.
Методика измерений методом
высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием»

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «РЕСПУБЛИКАНСКИЙ ЦЕНТР ГИГИЕНЫ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ И ОБЩЕСТВЕННОГО ЗДОРОВЬЯ»

НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГИГИЕНЫ, ТОКСИКОЛОГИИ, ЭПИДЕМИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ

УТВЕРЖДАЮ
Директор Научно-исследовательского института гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья»
_____ С.И. Сычик
«05» 08 2025 г.

ОТЧЕТ
о проведении экспериментальных исследований показателей точности методики измерений
«МАССОВАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ ГЕКСАМЕТИЛЕНДИАМИНА, ВЫДЕЛЯЕМОГО ИЗ ИЗДЕЛИЙ ИЗ ПОЛИАМИДОВ, В ВОЗДУШНОЙ СРЕДЕ
Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием»

Разработчики:
Заведующий лабораторией хроматографических исследований Т.П. Крымская
Химик лаборатории хроматографических исследований П.А. Станишевская
Научный сотрудник лаборатории хроматографических исследований М.С. Турко

Минск 2025

СОДЕРЖАНИЕ

1 Измерительная задача 3
2 Нормативные ссылки 3
3 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы 5
4 Проведение эксперимента по оцениванию показателей точности 7
5 Расчет градуировочной характеристики 8
6 Предел обнаружения, предел количественного определения, аналитическая чувствительность 14
7 Избирательность 15
8 Устойчивость 16
9 Оценка показателей прецизионности (повторяемости и промежуточной прецизионности) методики измерений 21
10 Оценивание показателя правильности 24
11 Алгоритм оценивания неопределенности измерений 32
11.1 Описание измеряемой величины 32
11.2 Модель измерений 33
11.3 Анализ влияющих величин 35
11.3.1 Составляющие неопределенности, обусловленные отбором проб и пробоподготовкой 35
11.3.2 Составляющие неопределенности, обусловленные построением градуировочного графика 39
11.3.3 Составляющие неопределенности, обусловленные повторяемостью результатов измерений и смещением 49
11.4 Корреляция 50
11.5 Коэффициенты чувствительности 50
11.6 Суммарная стандартная неопределенность 50
11.7 Расширенная неопределенность 51
11.8 Полный результат измерений 51
12 Оценка максимального значения неопределенности измерений 52
13 Выводы 52
ПРИЛОЖЕНИЕ А (обязательное) Свидетельства о поверке / калибровке средств измерения, сертификаты 54
Библиография 70

1 Измерительная задача

1.1 Цель исследований — установление рабочих характеристик методики измерений «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием» методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [1] для воздушных сред (воздушных вытяжек).

1.2 Измерительная задача: измерение массовой концентраций гексаметилендиамина (далее – ГМДА) в диапазоне от 0,00050 до 0,0025 мг/м^3 в воздушной среде из изделий из полиамидов (далее — образец) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. В соответствии с ТР ТС 005/2011, ТР ТС 007/2011, ТР ТС 008/2011, ТР ТС 017/2011, ТР ТС 019/2011, ТР ТС 025/2012, ТР ЕАЭС 042/2017 минимальное допустимое количество миграции ГМДА в воздушную среду составляет 0,001 мг/м^3.

1.3 Измерение массовой концентрации ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде, согласно методике измерений, включает следующие операции:

- приготовление градуировочных растворов;
- установление градуировочной характеристики, выражающей зависимость площади хроматографического пика от массовой концентрации ГМДА в растворе;
- подготовка проб к измерениям;
- хроматографирование на жидкостном хроматографе с флуориметрическим детектором.

Выполнение измерений и условия измерений по методике измерений [1].

2 Нормативные ссылки

В настоящем документе использованы ссылки на следующие технические нормативные правовые акты в области технического нормирования и стандартизации:

ТР ТС 005/2011 О безопасности упаковки;

ТР ТС 007/2011 О безопасности продукции, предназначенной для детей и подростков;

ТР ТС 008/2011 О безопасности игрушек;

ТР ТС 017/2011 О безопасности продукции легкой промышленности;

ТР ТС 019/2011 О безопасности средств индивидуальной защиты;

ТР ТС 025/2012 О безопасности мебельной продукции;

ТР ЕАЭС 042/2017 О безопасности оборудования для детских игровых площадок;

СТБ ISO 5725-2-2022 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода определений;

СТБ ИСО 5725-3-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 3. Промежуточные показатели прецизионности стандартного метода измерений;

СТБ ISO 5725-4-2022 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 4. Основные методы определения правильности стандартного метода определений;

СТБ ИСО 5725-6-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике;

ГОСТ 12.1.004-91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования;

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 12.1.030-81 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Защитное заземление, зануление;

ГОСТ 12.4.021-75 Система стандартов безопасности труда. Системы вентиляционные. Общие требования;

ГОСТ OIML R 76-1-2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания;

ГОСТ 1770-74 (ИСО 1042-83, ИСО 4788-80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия;

ГОСТ 3118-77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия;

ГОСТ ISO 3696-2013 Вода для лабораторного анализа. Технические требования и методы контроля;

ГОСТ 4199-76 Реактивы. Натрий тетраборнокислый 10-водный. Технические условия;

ГОСТ 4328-77 Реактивы. Натрия гидроокись. Технические условия;

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия;

ГОСТ ISO/IEC 17025-2019 Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий;

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

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

ГОСТ 30255-2014 Мебель, древесные и полимерные материалы. Метод определения выделения формальдегида и других вредных летучих химических веществ в климатических камерах;

ГОСТ 34100.3-2017/ISO/IEC Guide 98-3:2008 Неопределенность измерения. Часть 3. Руководство по выражению неопределенности измерения.

3 Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы

3.1 Средства измерений

Хроматограф жидкостной Surveyor Plus с флуориметрическим детектором Surveyor FL Plus и автосамплером обеспечивающий измерения в диапазоне длин волн от 200 до 650 нм (экстинкция), от 200 до 800 нм (эмиссия), относительное стандартное отклонение по площади пика при автоматическом дозировании не более 1,0 %. Копия свидетельства о поверке/калибровке в Приложении А	фирма «Thermo Fisher Scientific», США, зав. № 650157 (по Serveyor FL Plus)
Программное обеспечение ChromQuest для управления хроматографом и обработки результатов измерений, версия не ниже 5,0	ChromQuest 5.0
Весы лабораторные электронные Adventurer 1 класса точности со значениями пределов взвешивания: наибольший – 210 г, наименьший – 0,01 г, дискретностью – 0,1 мг, ценой поверочного деления – 1 мг, пределами допускаемой погрешности однократного взвешивания до 50 г вкл. – ± 0,5 мг, св. 50 г до 200 г скл. – ± 1,0 мг, св. 200 г – 1,5 мг. Копия свидетельства о поверке/калибровке в Приложении А	ГОСТ OIML R 76-1, зав. № 1225070232
Термогигрометр с диапазоном измерений относительной влажности от 0 % до 98 %, диапазоном измерений температуры от 0 °С до плюс 60 °С, диапазон измерений атмосферного давления от 300 до 1100 гПа, пределами допускаемой основной абсолютной погрешности измерений относительной влажности в диапазоне от 0 % до 90 % – ±2 %, в диапазоне от 90 % до 98 % – ±3 %, пределами допускаемой абсолютной погрешности измерений атмосферного давления в диапазоне от 700 до 1100 гПа – ± 2,0 гПа. Копия свидетельства о поверке/калибровке в Приложении А	модель ИВА-6Н-Д фирма «Микрофор», Россия, зав. № 33876
pH-метр 150 М с комбинированным стеклянным электродом ЭСК-10603/4 с диапазоном измерений от минус 1,00 до 14,00 ед. pH и пределом допускаемой основной абсолютной погрешности измерения ± 0,05 ед. pH	ОАО «ГЗИП», Республика Беларусь, зав. № 0379
Аспиратор воздуха ПУ-4Э, расходом по каналам от 0,2 до 2,0 $дм^3$/мин, диапазоном времени отбора пробы от 1 до 99 мин, с основной приведенной погрешностью задания расхода в каждой точке не более ± 5 % и основной относительной погрешностью измерения времени не больше ± 0,5 %.	ЗАО «Химко», Российская Федерация, зав. № 7031

Копия свидетельства о поверке/калибровке в Приложении А	
Дозатор пипеточный одноканальный, переменного объема от 100 до 1000 мм^3 с пределами допускаемой относительной погрешности от ± 1,5 % до ± 1,0 %, пределами допускаемого среднеквадратичного отклонения случайной составляющей от 2,0 % до 1,0 %. Копия свидетельства о поверке/калибровке в Приложении А	фирма «Thermo Fisher Scientific», США, зав. № 19К58798
Колбы мерные 2–250–2, 2–100–2, 2–50–2	ГОСТ 1770
Пипетки 1-1-2-1, 1-1-2-5	ГОСТ 29227
3.2 Вспомогательные устройства	
Колонка хроматографическая, заполненная сорбентом на основе силикагеля с привитыми углеводородными радикалами С18, длиной 150 мм, диаметром 4,6 мм, зернением 5 мкм	Ultisil XB-C18 «Welch Materials», Китай
Стеклянная емкость (эксикатор), вместимостью не менее 15 дм^3	
Камера климатическая СМ 10/40 СФ, с диапазоном измерений температуры от 10 до 40 °С, пределы допускаемого отклонения температур ± 2,0 °С, пределы допускаемого отклонения относительной влажности ± 5,0 %	ООО «СМ Климат», Российская Федерация
Стаканчик для взвешивания (бюкс) СВ–19/9ХС	ГОСТ 25336
Цилиндр мерный 1–100–2, 1–50–2	ГОСТ 1770
Стакан В–1–250 ТХС со шкалой	ГОСТ 25336
Виалы вместимостью 2 см^3 под винтовую крышку с септой PTFE	«Agilent Technologies», США
Фильтр «синяя лента» с диаметром 70 мм, класс - MN 640 d	«MACHEREY-NAGEL», Германия
Холодильник, обеспечивающий поддержание температуры от 4 °С до 8 °С	МХМ-1806-21, ЗАО «АТЛАНТ», Республика Беларусь
Фильтры мембранные из регенерированной целлюлозы, диаметром 47 мм и диаметром пор 0,45 мкм	фирма «Agilent Technologies», США
Шприцы инъекционные однократного применения вместимостью 5 см^3	ОАО «МЕДПЛАСТ», Республика Беларусь
Поглотительный прибор с пористой пластиной	[3]

Баня ультразвуковая с возможностью регулирования температуры, мощностью ультразвука 60 Вт, объемом не менее 1,0 дм^3	Bandelin RK 52 H, фирма «BANDELIN electronic GmbH & Co. KG», Германия
Система вакуумной фильтрации растворителей	фирма «Agilent Technologies», США
Шприцевые фильтры из регенерированной целлюлозы с диаметром пор 0,22 мкм	фирма «Biocomma LIMITED», Китай
Лабораторный вакуумный насос	«ROCKER 300», фирма «Rocker Scientific Co., Ltd», Тайвань

3.3 Материалы и реактивы

Гексаметилендиамин аналитический стандарт с массовой долей основного вещества 92,7 % согласно сертификату анализа (u_{st} = ± 5,0 %). Копия сертификата в Приложении А	«LGC «Dr. Ehrenstorfer», Германия CAS 124-09-4
Дансилхлорид (5-(Диметиламино)нафталин-1-сульфонилхлорид) аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 98,0 % согласно сертификату анализа. Копия сертификата в Приложении А	«TCI», Япония CAS 605-65-2
Ацетонитрил HPLC PLUS Gradient grade. Копия сертификата в Приложении А	«Carlo Erba Reagents», Франция CAS 75-05-8
Натрий тетраборнокислый 10-водный, чда. Копия сертификата в Приложении А	ГОСТ 4199
Натрия гидроокись, хч. Копия сертификата в Приложении А	ГОСТ 4328
Кислота соляная, хч. Копия сертификата в Приложении А	ГОСТ 3118
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709
Вода первой степени чистоты (вода деионизированная)	ГОСТ ISO 3696-2013

4 Проведение эксперимента по оцениванию показателей точности

При оценивании показателей точности методики измерений устанавливались показатели прецизионности и правильности. Показатели прецизионности (повторяемости и промежуточной прецизионности) определялись в соответствии с п. 7 СТБ ИСО 5725-2.Определение смещения осуществлялось согласно п. 5 СТБ ИСО 5725-4. Параметры градуировочной характеристики рассчитывались методом наименьших квадратов (МНК) [4].

В качестве средств аттестации (образцов для исследования) методики измерений использованы

- градуировочные растворы с различной массовой концентрацией ГМДА для установления градуировочной характеристики;

- модельные пробы без добавки (воздушные вытяжки из образцов из полиамидов) и модельные пробы с добавкой (воздушные вытяжки из образцов из полиамидов с внесенным раствором точной массовой концентрацией ГМДА) для установления показателей прецизионности;

- модельные пробы без добавки (воздушные вытяжки из образцов из полиамидов) и модельные пробы с добавкой (воздушные вытяжки из образцов из полиамидов с внесенным раствором точной массовой концентрацией ГМДА) для оценки показателя правильности.

Приготовление модельной пробы без добавки: в эксикатор помещали образец, не содержащий ГМДА, в соотношении образца к объему модельной среды 100 г / 1 м^3. Время экспозиции составило 24 ч при температуре 37 °С. Для проверки чистоты эксикатора перед приготовлением модельных проб проводился отбор контрольных проб воздуха, выдержанных в аналогичных условиях (24 ч при температуре 37 °С). Далее воздух с объемным расходом 0,3 дм^3/мин пропускали через поглотительный прибор с пористой пластинкой, содержащий 3 см^3 дистиллированной воды, в течение 50 мин.

Приготовлении модельной пробы с добавкой проводили аналогично приготовлению модельной пробы без добавки, однако в качестве поглотительной среды использовали дистиллированную воду с добавкой известного количества рабочего раствора ГМДА.

Исследования отобранных проб проводили согласно [1].

5 Расчет градуировочной характеристики

Для установления градуировочной характеристики, выражающей зависимость площади хроматографического пика от массовой концентрации ГМДА в растворе, готовили пять серий градуировочных растворов по шести значениям массовой концентрации ГМДА по всему диапазону определяемых массовых концентраций.

Расчет градуировочной характеристики проводили методом наименьших квадратов согласно [4].

Зависимость площади пика, устанавливаемой хроматографом, от массовой концентрации ГМДА в растворе, характеризуется прямой

$$y=a+bx, \quad (1)$$

где y – площадь пика, установленная хроматографом для массовой концентрации ГМДА в градуировочном растворе, с;

x – массовая концентрация ГМДА в градуировочном растворе, нг/см^3;

a и b – коэффициенты регрессии, которые рассчитываются в соответствии с выражениями:

$$a = \frac{\sum_{i=1}^{N} x_i^2 \sum_{i=1}^{N} \bar{y}_i - \sum_{i=1}^{N} x_i \sum_{i=1}^{N} x_i \bar{y}_i}{N \sum_{i=1}^{N} x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^{N} x_i \right)^2}, \quad (2)$$

$$b = \frac{N \sum_{i=1}^{N} x_i \bar{y}_i - \sum_{i=1}^{N} x_i \sum_{i=1}^{N} \bar{y}_i}{N \sum_{i=1}^{N} x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^{N} x_i \right)^2}, \quad (3)$$

где N – общее количество исследований, $N = 30$;

x_i – приписанное значение массовой концентрации ГМДА в i-том градуировочном растворе, нг/см^3;

$\bar{y}_i$ – среднее значение площади хроматографического пика для i-го градуировочного раствора, с.

Расчет остаточного стандартного отклонения (стандартного отклонения разности между экспериментальными и расчетными значениями площади хроматографического пика) производится по формуле:

$$S_0 = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N} (y_i - y_{mi})^2}{N - 2}}, \quad (4)$$

где y_i – показания площади пиков с прибора, для i-го градуировочного раствора, с;

y_{mi} – расчетное значение площади пиков для i-го градуировочного раствора, полученное по уравнению $y = a + bx$, с.

Проверку значимости коэффициента a проводили по статистическому критерию Стьюдента

$$t_a = \frac{|a|}{S_a}, \quad (5)$$

где расчет стандартного отклонения значения коэффициента регрессии a производится по формуле:

$$S_a = S_0 \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N} x_i^2}{N \sum_{i=1}^{N} x_i^2 - \left(\sum_{i=1}^{N} x_i \right)^2}}, \quad (6)$$

Полученное значение t_a сравниваем с коэффициентом Стьюдента: $t_{табл} = 2{,}048$ при доверительной вероятности *95 %* и числе степеней свободы $f = N - 2 = 30 - 2 = 28$.

1) При $t_a > t_{табл}$ делается заключение о значимости коэффициента a.

Расчет стандартного отклонения S_{xj}, нг/см^3, для j-ого уровня значения массовой концентрации ГМДА в растворе проводится по формуле:

$$S_{xj} = \frac{S_o}{b}\sqrt{\frac{1}{N}+\frac{1}{p}+\left(\frac{S_b}{b}\right)^2 \times \left(\frac{\overline{y_j}-\overline{\overline{y}}}{S_0}\right)^2}, \quad (7)$$

где N – общее количество измерений ($N = 30$);

p – количество измерений градуировочных растворов одного значения массовой концентрации ГМДА в растворе ($p = 5$);

S_b – стандартное отклонение значения коэффициента b;

$\overline{y_j}$ – измеренное среднее значение площади пиков для p параллельных определений градуировочных растворов одного j-ого уровня, FU;

$\overline{\overline{y}}$ – среднее арифметическое значение всех y_i, FU.

Значение стандартного отклонения S_b рассчитывали по формуле

$$S_b = \sqrt{\frac{N \times S_0^{\,2}}{N \times \sum_{i=1}^{N} x_i^{\,2} - (\sum_{i=1}^{N} x_i)^2}}. \quad (8)$$

Средние значения $\overline{y_j}$ и $\overline{\overline{y}}$ рассчитывали по формулам:

$$\overline{y}_j = \frac{\sum_{k=1}^{p} y_{jk}}{p}, \quad (9)$$

где y_{jk} – измеренное значение площади пика одного из параллельных определений одного j-ого уровня, с;

$$\overline{\overline{y}} = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N=36} y_i \ . \quad (10)$$

Относительное стандартное отклонение для массовой концентрации ГМДА в растворе j-ого уровня $S_{xj(отн)}$:

$$S_{xj(отн)} = \frac{S_{xj}}{x_j}, \quad (11)$$

2) При $t_a \le t_{табл}$ делается заключение о незначимости коэффициента a, отклонение свободного члена a от нуля можно считать случайным. Прямая градуировочного графика проходит через начало координат и определяется функциональной зависимостью

$$y_{испj} = b_{исп}x. \quad (12)$$

Угловой коэффициент, $b_{исп}$, для данной прямой рассчитывается по формуле:

$$b_{исп} = \frac{\sum_{i=1}^{N} x_i y_i}{\sum_{i=1}^{N} x_i^2}. \quad (13)$$

Расчет остаточного стандартного отклонения $S_{o_исп}$ характеризующее рассеяние результатов экспериментальных данных относительно построенной прямой, рассчитывали по формуле:

$$S_{o_исп} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N} \left(y_i - Y_{испi}\right)^2}{N-1}}, \quad (14)$$

где $Y_{испi}$ – расчетное значение площади пика для i-той точки графика, полученное по уравнению $y = b_{исп} \cdot x$, с.

Расчет стандартного отклонения S_{xj}, нг/см^3, для j-ого уровня значения массовой концентрации ГМДА в растворе проводится по формуле:

$$S_{xj} = \frac{S_{o_исп}}{b_{исп}} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{\overline{y^2}_j}{b_{исп}^2 \sum_{i=1}^{N} x_i^2}}, \quad (15)$$

где $\bar{y}_j$ – среднее значение площади пика для p измерений градуировочных растворов одного значения массовой концентрации ГМДА в растворе, с;
x_j – значение массовой концентрации ГМДА в градуировочных растворах j-ого уровня, нг/см^3;
p – количество измерений градуировочных растворов одного значения массовой концентрации ГМДА в растворе ($p = 5$).

Относительное значение стандартного отклонения концентрации j-ого уровня $S_{x(\%\ отн)}$ в случае при $t_a > t_{табл}$ и $t_a \le t_{табл}$ рассчитывается по формуле:

$$S_{x\,(\%\ отн\ )} = \frac{S_{xj}}{x_j} \times 100\ \%, \quad (16)$$

где x_j – значение концентраций градуировочных растворов j-ого уровня.

Результаты исследований приведены на рисунке 1 и в таблицах 1-2.

Таблица 1 – Исходные данные для построения градуировочного графика (массовая концентрация ГМДА, площадь пика), стандартные отклонения

№ п/п		Массовая концентрация ГМДА в растворе	Площадь хроматографического пика, с				Стандартное отклонение	
			измеренная	средняя	Расч.знач. по формуле (1)	исправленное	абсолютное	относительное
уровни, j	серии, i	X_j, нг/см^3	y_i	$\bar{y}_j$	y_{mj}	$Y_{испр}$	$S_{xj,}$	$S_{xj(отн),}$ %
1	1	2,0	38878	35563	34118	36798	0,1991	9,95
	2		29427					
	3		34728					
	4		35649					
	5		39131					
2	1	3,0	57090	55542	53060	55198	0,2012	6,71
	2		53223					
	3		59778					
	4		56293					
	5		51325					
3	1	4,0	69747	67492	72001	73597	0,2030	5,07
	2		56955					
	3		75129					
	4		61705					
	5		73922					
4	1	6,0	100314	1085423	109885	110395	0,2112	3,52
	2		109545					
	3		114077					
	4		113301					
	5		105477					
5	1	8,0	141560	149515	147769	147193	0,2228	2,79
	2		146098					
	3		149813					
	4		152618					
	5		157487					
6	1	10,0	171423	185831	185653	183992	0,2354	2,35
	2		189664					
	3		175622					
	4		180693					
	5		211755					

Таким образом, значение коэффициентов регрессии равны:

$$a = \frac{1145 \times 3012427 - 165 \times 21067047}{30 \times 1145 - 165^2} = -3766,2$$

$$b = \frac{30 \times 21067047 - 165 \times 3012427}{30 \times 165 - 165^2} = 18941,9$$

Градуировочный график имеет вид: *y= 18941,9x-3766,2*

Стандартное отклонение разности между экспериментальными и расчетными значениями площадей хроматографических пиков*:* S_0= 8078.

12

Стандартное отклонение значения коэффициента регрессии *a*: S_a=3238

$t_{табл}$= 2,048 (при P = 0,95 и $f = n-2 = 30-2 = 28$).

Так как $t_a = 1,163 < t_{табл.}$, отклонение свободного члена *a* от нуля можно считать случайным, уравнение принимает вид: $y=bx$.

В качестве норматива стабильности градуировочного графика, K, принимали границы погрешности значения массовой концентрации ГМДА в растворе, определяемой по градуировочному графику:

$$K = t_{P,f} \cdot S_{x(\%отн)}, \quad (17)$$

где $t_{p,f}$ = 2,045 – коэффициент распределения Стьюдента при степенях свободы $f = N - 1 = 30 - 1 = 29$ и вероятности P = 95 %.

Контроль градуировочного графика проводится по 2-ой точке. Для 2-ой точки x_j 4,0 нг/см^3, $S_{x(\%отн)}$ = 5,07.

Норматив стабильности $K = 2,045 \cdot 5,07 = 13,7$.

Таблица 2 – Определение характеристик градуировочного графика

Величина	Обозначение	Значение
Коэффициенты линейной регрессии	*a*	-3766,2
	b	18941,9
Стандартное отклонение разности между экспериментальными и расчетными значениями площади хроматографического пика	S_0	8078
Стандартное отклонение значения коэффициента регрессии *a*	*Sa*	3238
Проверка по критерию Стьюдента	t_a	1,163
Табличное значение коэффициента Стьюдента	*t_табл*	2,048
Исправленный коэффициент линейной регрессии	$b_{исп}$	18399
Остаточное стандартное отклонение рассеяния результатов экспериментальных данных относительно градуировочного графика	$S_{0исп}$	8127
Норматив стабильности градуировочного графика для 2-ой точки при x_j = 4,0 нг/см^3, $S_{x(\%отн)}$ = 5,07	*K*	10,4

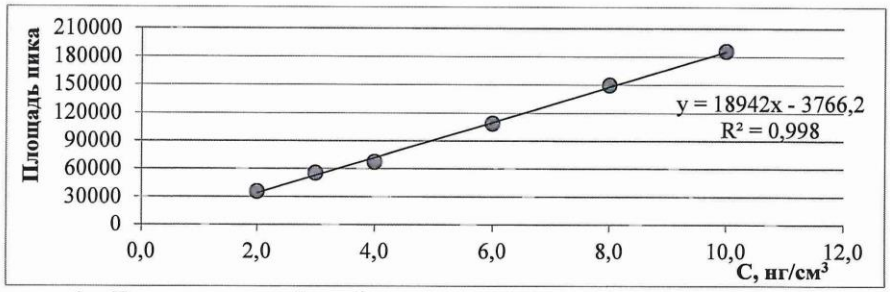


Рисунок 1 – Градуировочный график зависимости площади хроматографического пика от массовой концентрации ГМДА в растворе

13

Гипотезу линейности градуировочной зависимости проверяют путем сравнения остаточной дисперсии S^2_0 и дисперсии разброса внутри повторных определений $S^2_{внгр}$ по критерию Фишера при уровне значимости 5 % со степенями свободы числителя $f_1 = (n \times p-2)$ и степенями свободы знаменателя $f_2 = n \times (p-1)$.

$$F_{calc} = \frac{S_O^2}{S_{внгр}^2} \leq F_{crit}\ , \qquad (18)$$

Дисперсию разброса внутри повторных определений считают по формуле:

$$S^2_{внгр} = \frac{\sum_{j=1}^{n}\sum_{i=1}^{p}(y_{ji} - \overline{y_j})^2}{n \cdot (p-1)}, \qquad (19)$$

где $\overline{y_j}$ – среднее значение измеренной площади пиков для p параллельных измерений градуировочных растворов одного j-ого уровня;

N – общее количество исследований, $N = 30$;

n – количество значений (уровней) массовой концентрации ГМДА в растворе $n = 6$;

p – количество измерений градуировочных растворов одного значения массовой концентрации ГМДА в растворе, $p = 5$.

Значение F_{calc} сопоставляют с табличным значением F_{crit}. Если $F_{calc} < F_{crit}$, то дисперсия $S^2_{внгр}$ незначима, остаточная дисперсия определяется в основном воспроизводимостью измерений, поэтому градуировочную зависимость можно считать строго линейной. Если $F_{calc} > F_{crit}$, то дисперсия $S^2_{внгр}$ значима, и градуировочный график неадекватно описывает зависимость $Y = f(X)$.

Критическое значение критерия Фишера при уровне значимости 5 % со степенями свободы числителя f_1=28 и степенями свободы знаменателя f_2=24 F_{crit} =1,95. Проверка линейности выполнялась для зависимости $y = b_{исп} \cdot x$. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Проверка гипотезы о линейности градуировочного графика ГМДА по Фишеру

$S^2_{внгр}$	S_0^2	F_{calc}	F_{crit}	Линейность
69165947	66055223	0,955	1,95	линейная

Линейность графика зависимости площади хроматографического пика от массовой концентрации ГМДА в растворе подтверждена в пределах требуемого диапазона.

6 Предел обнаружения, предел количественного определения, аналитическая чувствительность

Для метода с линейной калибровочной функцией предел обнаружения, x_{LD}, нг/см^3, может быть оценен следующим образом [5]

$$x_{LD} = 3,3 \cdot \frac{S_a}{b}, \quad (20)$$

где S_{x1} – стандартное отклонение аналитического сигнала j-ого уровня значения массовой концентрации ГМДА в растворе;

Предел количественного определения, x_{LQ}, нг/см^3, представляет собой концентрацию определяемого вещества, которая может быть уверенно определена с приемлемым уровнем точности. Предел количественного определения, может быть выражен как

$$x_{LQ} = 10 \frac{S_a}{b}, \quad (21)$$

В случае определения ГМДА предел обнаружения и предел количественного определения равны:

$$x_{LD} = 3,3 \cdot \frac{3238}{18399} = 0,58 нг/см^3, x_{LQ} = 10 \cdot \frac{3238}{18399} = 1,76 нг/см^3$$

С учетом воздушной вытяжки:

$$\frac{1,76 \cdot 1 \cdot 3}{0,8 \cdot 15} = 0,00044 мг/м^3$$

Таким образом, предел количественного определения 0,00044 мг/м^3 не выше, чем нижняя граница диапазона измерений методики 0,00050 мг/м^3.

Аналитическая чувствительностью метода количественно выражена наклоном градуировочного графика (коэффициент b) согласно [6] и составляет 18942 FU.

7 Избирательность

Избирательность методики заключается в ее способности достоверно определять ГМДА в воздушной среде из изделий, содержащих в своем составе полиамид, в присутствии коэкстрактивных веществ.

Избирательность методики была в том числе обеспечена соответствием следующим критериям эффективности согласно [7] для детекции с помощью флуориметрического детектора:

- выбор длин волн возбуждения и испускания в сочетании с хроматографическими условиями должен быть осуществлен таким образом, чтобы минимизировать влияние мешающих компонентов в экстрактах холостых проб. Разность между длинами волн возбуждения и эмиссии должна составлять не менее 50 нм.

- ближайший максимум пика на хроматограмме должен быть отделен от пика определяемого аналита как минимум на ширину одного полного пика, составляющую 10% от максимальной высоты пика аналита. Это относится к молекулам, обладающим собственной флуоресценцией, и к молекулам, обладающим флуоресценцией после трансформации или дериватизации

Когда другие компоненты известны и доступны, избирательность может быть определена путем сравнения результатов испытания определяемого вещества в образце с добавлением и без добавления потенциально мешающих веществ. Согласно [7] избирательность методики может быть также определена путем анализа 20 образцов, не содержащих определяемого вещества, и изучения хроматограмм на отсутствие пиков вблизи времени удерживания аналита.

В качестве образцов для исследования использовали 20 модельных проб: в эксикатор помещали образец, содержащий в своем составе полиамид, но не содержащий ГМДА (установлено согласно применяемой технологии производства), в соотношении образца к объему модельной среды 100 г / 1 м^3. Время экспозиции составило 24 ч при температуре 37 °С. Для проверки чистоты эксикатора перед приготовлением модельных проб проводился отбор контрольных проб воздуха, выдержанных в аналогичных условиях (24 ч при температуре 37 °С). Далее воздух с объемным расходом 0,3 дм^3/мин пропускали через поглотительный прибор с пористой пластинкой, содержащий 3 см^3 дистиллированной воды, в течение 50 мин. Исследования отобранных проб проводили согласно [1]. Идентификацию ГМДА проводили по времени удерживания. Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты исследований модельных проб, не содержащих ГМДА

№	Массовая концентрация ГМДА, $X \times 10^{-3}$, мг/м^3	№	Массовая концентрация ГМДА, $X \times 10^{-3}$, мг/м^3
1	0,130	11	0,165
2	0,163	12	0,147
3	0,169	13	0,156
4	0,107	14	0,150
5	0,093	15	0,138
6	0,147	16	0,134
7	0,078	17	0,153
8	0,078	18	0,099
9	0,128	19	0,112
10	0,080	20	0,103

Анализ полученных хроматограмм показал наличие пиков со временем удерживания, аналогичному времени удерживания ГМДА. Максимальное значение полученных результатов измерений 0,00017 мг/м^3 не превышает оценки предела количественного определения 0,00044 мг/м^3 согласно разделу 6. Для получения точных результатов измерений перед каждой серией анализов необходимо проводить анализ холостой пробы.

8 Устойчивость

Для проведения эксперимента по определению устойчивости (робастности) методики измерений изучили влияние контролируемых

изменений в условиях проведения пробоподготовки и хроматографического анализа. Изменение значений влияющих параметров выбрали в соответствии с неопределенностями (погрешностями, допусками) задаваемых величин [8].

В качестве факторов, потенциально способных влиять на контролируемые отклики рассматривались:

Факторы связанные с хроматографической системой:

- состав подвижной фазы;
- хроматографическая колонка;
- температура колонки.

Факторы, связанные с пробоподготовкой:

- продолжительность проведения реакции;
- значение pH боратного буферного раствора;
- концентрация дериватизирующего агента.

Возможные пределы изменения вышеперечисленных факторов представлены в таблице 5. Для каждого фактора указывают название фактора и его обозначение, номинальное значение по методике, пределы изменения в %, а также фактические значения на нижнем (–1) и на верхнем (+1) пределах. Для хроматографической колонки, значение, соответствующее (+1), присваивают колонке из одной партии, а (–1) – колонке из другой партии.

Таблица 5 – Факторы, потенциально способные влиять на робастность методики определения, и их пределы изменения

№	Фактор	Значения предела изменения [9]	Значение по методике [1]	Уровень (+)	Уровень (-)
1	Градиент, начальная точка: % ацетонитрила	± 1 %	60 %	60,6	59,4
	Градиент, конечная точка: % ацетонитрила	± 1 %	95 %	95,95	94,05
2	Хроматографическая колонка	Разные партии	–	№ 2101.116	№ 2101.113
3	Температура колонки	± 3 °С	30 °С	33	27
4	Продолжительность проведения реакции	± 10 %	24 ч	26,4	21,6
		± 20 %		28,8	19,2
5	Значение pH боратного буферного раствора	± 0,2 pH	11,0 ед.pH	11,2	10,8
6	Концентрация дериватизирующего агента	± 2 %	1000 мкг/см^3	1020	980

При оценке устойчивости методики последовательно изменяют значение только одного из факторов при постоянстве других факторов; при этом каждый фактор брали сначала на одном уровне, затем на другом.

В качестве критерия приемлемости использовали показатель прецизионности, $R_{I(TO)}$ = 26 %, согласно разделу 9 настоящего отчета [10].

$$\frac{|X_1 - X_2|}{\overline{X}} \times 100\ \% \le R_{I(TO)}, \quad (22)$$

где X_1 – истинное значение массовой концентраций ГМДА, мг/м^3;

X_2 – среднее арифметическое значение массовой концентраций ГМДА, полученное в пробе на нижнем (–1) или на верхнем (+1) пределах, мг/м^3;

$\overline{X}$ – среднее арифметическое результатов истинного значения и значения массовой концентраций ГМДА, полученное в пробе на нижнем (–1) или на верхнем (+1) пределах, мг/м^3.

В качестве истинного значения принято математическое ожидание, рассчитанное в разделе 9 настоящего отчета, $X_1 = 0{,}000446$ *мг/м^3*.

Установлено, что изменение состава подвижной фазы, хроматографической колонки, температуры термостата колонки, продолжительности реакции, значения pH боратного буферного раствора, концентрации дериватизирующего агента в пределах, описанных в таблице 5, не оказывают значимого эффекта на результат испытания, результаты эксперимента отражены в таблицах 6-11.

Таблица 6 – Результаты исследования образцов воздушной среды в зависимости от состава подвижной фазы

Фактор			Концентрация ГМДА, 10^{-3} мг/м^3		X_1 $\times 10^{-3}$ мг/м^3	Расхождение результатов %	Сравнение расхождения с $R_{I(TO)}$, %
			X_{2i}	Среднее значение			
Градиент, начальная точка: % ацетонитрила	Уровень (+)	60,6	0,491	0,456	0,446	2,22	≤ 26
			0,479				
			0,414				
			0,443				
			0,453				
	Уровень (-)	59,4	0,472	0,460	0,446	3,00	≤ 26
			0,422				
			0,457				
			0,491				
			0,456				
Градиент, конечная точка: % ацетонитрила	Уровень (+)	95,95	0,457	0,464	0,446	4,04	≤ 26
			0,465				
			0,428				
			0,491				
			0,481				
	Уровень (-)	94,05	0,399	0,427	0,446	4,40	≤ 26
			0,457				
			0,389				
			0,461				
			0,428				

Таблица 7 – Результаты исследования образцов воздушной среды в зависимости от хроматографической колонки

Фактор		Концентрация ГМДА, 10^{-3} мг/м^3		$X_1 \times 10^{-3}$ мг/м^3	Расхождение результатов %	Сравнение расхождения с $R_{I(TO)}$, %
		X_{2i}	Среднее значение			
Уровень (+)	№ 2101.116	0,432	0,440	0,446	1,31	≤ 26
		0,482				
		0,419				
		0,455				
		0,413				
Уровень (-)	№ 2101.113	0,425	0,450	0,446	0,98	≤ 26
		0,482				
		0,419				
		0,473				
		0,453				

Таблица 8 – Результаты исследования образцов воздушной среды в зависимости от температуры термостата колонки

Фактор		Концентрация ГМДА, 10^{-3} мг/м^3		$X_1 \times 10^{-3}$ мг/м^3	Расхождение результатов %	Сравнение расхождения с $R_{I(TO)}$, %
		X_{2i}	Среднее значение			
Уровень (+)	33 °С	0,464	0,450	0,446	0,89	≤ 26
		0,395				
		0,477				
		0,481				
		0,433				
Уровень (-)	27 °С	0,437	0,410	0,446	1,35	≤ 26
		0,417				
		0,459				
		0,399				
		0,488				

Таблица 9 – Результаты исследования образцов воздушной среды в зависимости от продолжительности проведения реакции

Фактор		Концентрация ГМДА, 10^{-3} мг/м^3		$X_1 \times 10^{-3}$ мг/м^3	Расхождение результатов %	Сравнение расхождения с $R_{I(TO)}$, %
		X_{2i}	Среднее значение			
± 10 % - уровень (+)	26,4 ч	0,464	0,450	0,446	0,89	≤ 26
		0,395				
		0,477				
		0,481				
		0,433				
± 10 % - уровень (-)	21,6 ч	0,437	0,410	0,446	1,35	≤ 26
		0,417				
		0,459				
		0,399				
		0,488				

Продолжение таблицы 9

± 20 % - уровень (+)	28,8 ч	0,497 0,496 0,442 0,414 0,418	0,453	0,446	1,65	≤ 26
± 20 % - уровень (-)	19,2 ч	0,412 0,398 0,457 0,487 0,459	0,443	0,446	0,77	≤ 26

Таблица 10 – Результаты исследования образцов воздушной среды в зависимости от значения pH боратного буферного раствора

Фактор		Концентрация ГМДА, 10^{-3} мг/м^3		$X_1 \times 10^{-3}$ мг/м^3	Расхождение результатов %	Сравнение расхождения с $R_{I(TO)}$, %
		X_{2i}	Среднее значение			
Уровень (+)	11,2 ед. pH	0,511 0,547 0,497 0,527 0,477	0,512	0,446	13,74	≤ 26
Уровень (-)	10,8 ед. pH	0,442 0,471 0,438 0,425 0,455	0,446	0,446	0,04	≤ 26

Таблица 11 – Результаты исследования образцов воздушной среды в зависимости от концентрации дериватизирующего агента

Фактор		Концентрация ГМДА, 10^{-3} мг/м^3		$X_1 \times 10^{-3}$ мг/м^3	Расхождение результатов %	Сравнение расхождения с $R_{I(TO)}$, %
		X_{2i}	Среднее значение			
Уровень (+)	1020 мкг/см^3	0,541 0,527 0,557 0,501 0,509	0,527	0,446	16,65	≤ 26
Уровень (-)	980 мкг/см^3	0,422 0,438 0,411 0,398 0,387	0,411	0,446	8,12	≤ 26

Таким образом, влияние указанных выше факторов на результат измерений принимается незначимым. Вклад, связанный с влиянием данных факторов, не должен учитываться при оценивании неопределенности методики измерений.

9 Оценка показателей прецизионности (повторяемости и промежуточной прецизионности) методики измерений

9.1 Для всего диапазона проведены статистические исследования прецизионности в соответствии с п. 7 и Приложением В.2 СТБ ИСО 5725-2.

В связи с отсутствием образцов с установленным значимым содержанием ГМДА использовали модельные пробы, которые готовили согласно разделу 4 настоящего отчета.

Для приготовления модельной пробы с добавкой в качестве поглотительной среды использовали дистиллированную воду с добавкой рабочего раствора № 2 с массовой концентрацией ГМДА 0,02 мкг/см^3 (см. 11.1.3) объемом 0,3; 0,6; 1,2 см^3, что соответствует добавке 0,0005; 0,001; 0,002 мг/м^3 в воздушной вытяжке соответственно.

Исследования отобранных проб проводили согласно [1].

При проведении внутрилабораторных исследований для каждого уровня ($j = 3$) в условиях промежуточной прецизионности с двумя изменяющимися факторами "время + оператор" проведено по 10 определений ($p = 10$). Каждое определение включало 2 единичных результата измерений ($n = 2$), полученных в условиях повторяемости.

Общее количество измерений в условиях промежуточной прецизионности для всех значений массовых концентраций составило $np = 2 \cdot 10 = 20$ результатов измерений.

Исходные данные, средние значения: измеренная массовая концентрация ГМДА в образцах для исследования, стандартное отклонение, проверка по критериям Кохрена и Граббса представлены в таблицах 12-13.

Средние значения ячеек $\overline{X}_{ij}$, мг/м^3, вычислены по формуле

$$\overline{X}_{ij} = \frac{1}{n}\sum_{k=1}^{n_{ij}} X_{ijk} , \qquad (23)$$

где X_{ijk} – k-ое повторное измерение массовой концентрации ГМДА на j-ом уровне при i-ом наборе условий измерений, нг/м^3;

n – количество повторных измерений в условиях повторяемости, $n = 2$.

Вычислены меры рассеяния внутри ячеек и результаты проверки совокупности мер рассеяния на наличие выбросов.

Так как во всех ячейках содержатся по два результата повторных измерений, то стандартные отклонения S_{ij}, мг/м^3, рассчитываются в соответствии с п.7.2.10 СТБ ИСО 5725-2 по формуле:

$$S_{ij} = \left|X_{ij1} - X_{ij2}\right| / \sqrt{2} , \qquad (24)$$

Наличие выбросов среди совокупности стандартных отклонений на каждом уровне проверяли по критерию Кохрена (п. 7.3.3 СТБ ИСО 5725-2)

$$C = \frac{S_{j\max}^2}{\sum_{i=1}^{p} s_{ij}^2}, \quad (25)$$

где $S_{j\max}$ – наибольшее стандартное отклонение в совокупности стандартных отклонений на j-ом уровне, мг/м^3.

При количестве наборов условий измерений $p = 10$ и количестве повторных измерений $n = 2$, 5%-ное критическое значение для критерия Кохрена составляет 0,602, 1%-ное — 0,718.

Результаты (средние арифметические, в пределах каждого уровня), подвергались проверке на наличие выбросов с применением критерия Граббса (п. 7.3.4 СТБ ИСО 5725-2).

Статистика Граббса (для одного выбросового наблюдения) для проверки наибольшего или наименьшего значения из рассматриваемой совокупности рассчитывается по формулам:

$$G_p = \frac{\left|\overline{X}_{ij\,\max/\min} - \overline{\overline{X}}_j\right|}{s_j}, \quad (26)$$

где $\overline{X}_{ij\,\max/\min}$ – сомнительное значение (наибольшее или наименьшее значение) массовой концентрации ГМДА из рассматриваемой совокупности средних арифметических на j-ом уровне, мг/м^3;

$\overline{\overline{X}}_j$ – общее среднее значение массовой концентрации ГМДА на j-ом уровне, мг/м^3, рассчитанное по формуле:

$$\hat{m}_j = \overline{\overline{X}}_j = \frac{1}{p}\sum_{i=1}^{p} \overline{X}_{ij}, \quad (27)$$

s_j – стандартное отклонение средних арифметических на j-ом уровне, мг/м^3, рассчитанное по формуле:

$$S_j = \sqrt{\frac{1}{p-1}\sum_{i=1}^{p}\left(\overline{X}_{ij} - \overline{\overline{X}}_j\right)^2}, \quad (28)$$

Критические значения критерия Граббса (для идентификации одного выбросового наблюдения) при количестве групп данных $p = 10$ и $n=2$ будут равны: при уровне значимости 5 % – $G_{p\text{крит}} = 2{,}290$, при уровне значимости 1 % – $G_{p\text{крит}} = 2{,}482$.

Поскольку для всех трех уровней статистические критерии Граббса не превысили своего 5%-го критического значения, то результаты считаются корректными и по ним оценивают общее среднее значение и стандартное отклонение промежуточной прецизионности.

Рассчитанные значения критерия Кохрена меньше своего 5%-го критического значения, следовательно, полученные результаты признаются корректными.

Таблица 12 – Проверка по критерию Граббса

Номер измерения i	Уровень, j, мг/м^3					
	(0,00050 мг/м^3)		(0,001 мг/м^3)		(0,002 мг/м^3)	
	$X_1 \cdot 10^{-3}$	$X_2 \cdot 10^{-3}$	$X_1 \cdot 10^{-3}$	$X_2 \cdot 10^{-3}$	$X_1 \cdot 10^{-3}$	$X_2 \cdot 10^{-3}$
1	0,4479	0,4931	1,0054	0,9041	1,9626	**1,8651**
2	0,4109	0,4434	0,8969	1,0001	1,8904	2,0814
3	**0,3906**	0,4026	0,8701	0,8834	2,1091	1,9859
4	0,4471	0,4301	**1,0646**	0,9231	1,8894	1,8699
5	**0,4574**	0,4916	1,0196	0,9749	1,9716	**2,0844**
6	0,3906	0,4931	0,9041	0,8736	**1,8824**	2,0081
7	0,4529	**0,4199**	1,0001	0,8526	1,9746	2,0559
8	0,4571	0,4769	**0,8834**	**0,8531**	1,9711	2,0681
9	0,4406	**0,5039**	0,9231	**1,0404**	1,9159	1,8849
10	0,3991	0,4589	0,9749	1,0096	**2,1111**	1,9469
Статистический критерий Граббса						
$\overline{x}_{jk} \cdot 10^{-3}$	0,4294	0,4619	0,9463	0,9486	1,9678	1,9851
$S_j \cdot 10^{-6}$	0,0282	0,0362	0,0552	0,0861	0,0835	0,0887
Gp	0,992	1,161	1,418	1,348	1,716	1,120
G_1	1,377	1,636	1,503	1,115	1,023	1,353
$G_{крит\,1\%}$	**2,482**					
$G_{крит\,5\%}$	**2,290**					

Таблица 13 – Проверка по критерию Кохрена

Номер измерения i	Уровень, j, мг/м^3								
	(0,00050 мг/м^3)			(0,001 мг/м^3)			(0,002 мг/м^3)		
	$X_1 \cdot 10^{-3}$	$X_2 \cdot 10^{-3}$	$S_{ij}^2 \cdot 10^{-6}$	$X_1 \cdot 10^{-3}$	$X_2 \cdot 10^{-3}$	$S_{ij}^2 \cdot 10^{-6}$	$X_1 \cdot 10^{-3}$	$X_2 \cdot 10^{-3}$	$S_{ij}^2 \cdot 10^{-6}$
1	0,4479	0,4931	0,00102	1,0054	0,9041	0,00179	1,9626	1,8651	0,00475
2	0,4109	0,4434	0,00053	0,8969	1,0001	0,00655	1,8904	2,0814	**0,01825**
3	0,3906	0,4026	0,00007	0,8701	0,8834	0,00195	2,1091	1,9859	0,00759
4	0,4471	0,4301	0,00014	1,0646	0,9231	**0,02026**	1,8894	1,8699	0,00019
5	0,4574	0,4916	0,00059	1,0196	0,9749	0,00001	1,9716	2,0844	0,00636
6	0,3906	0,4931	**0,00578**	0,9041	0,8736	0,00046	1,8824	2,0081	0,00791
7	0,4529	0,4199	0,00054	1,0001	0,8526	0,01087	1,9746	2,0559	0,00330
8	0,4571	0,4769	0,00020	0,8834	0,8531	0,00046	1,9711	2,0681	0,00471
9	0,4406	0,5039	0,00200	0,9231	1,0404	0,00688	1,9159	1,8849	0,00048
10	0,3991	0,4589	0,00179	0,9749	1,0096	0,00060	2,1111	1,9469	0,01348
Статистический критерий Кохрена									
max $S_{ij}^2 \cdot 10^{-6}$	0,01267			0,04984			0,06702		
C	0,456			0,406			0,272		
$C_{крит\,1\%}$	**0,718**								
$C_{крит\,5\%}$	**0,602**								

Расчет общего среднего значения $\overline{\overline{X}}_j$, мг/м^3, дисперсий повторяемости S^2_{rj}, мг/м^3, и промежуточной прецизионности $S^2_{RI(TO)j}$, мг/м^3, проводили согласно правилам дисперсионного анализа по пп.7.4.4, 7.4.5 СТБ ИСО 5725-2:

$$S^2_{rj} = \frac{\sum_{i=1}^{p_j=10} (x_{ij1} - x_{ij2})^2}{2p}, \qquad (29)$$

$$S^2_{Ij(TO)} = \frac{1}{n_{ji}(p_j - 1)} \sum_{k=1}^{n_{ji}=2} \sum_{i=1}^{p_j=10} (x_{jik} - \bar{x}_{jk})^2 - \frac{S^2_{rj}}{2}, \quad (30)$$

$$S^2_{I(TO)} = S^2_{Ij(\mathrm{TO})} + S^2_{rj}, \quad (31)$$

Показатели прецизионности для методики измерений были установлены следующим образом:

- показатель повторяемости S_r, %, устанавливаем, как максимальное относительное стандартное отклонение повторяемости из значений, рассчитанных для каждого уровня

$$S_r, \% = \frac{S_r}{\bar{\bar{X}}} \times 100\ \%, \quad (32)$$

- показатель промежуточной прецизионности $S_{RI(TO)}$, %, устанавливаем как максимальное относительное стандартное отклонение промежуточной прецизионности из значений, рассчитанных для каждого уровня

$$\mathrm{S_{I(TO)}}, \% = \frac{S_{I(TO)}}{\bar{\bar{X}}} \times 100\ \% \quad (33)$$

Принятые значения показателей прецизионности методики измерений для ГМДА представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Общие средние, дисперсии повторяемости и промежуточной прецизионности при измерении массовой концентрации ГМДА

Уровень, j	Массовая концентрация ГМДА $\bar{\bar{X}}_j \cdot 10^{-3}$, мг/м^3	Показатель повторяемости S_r, мг/м^3	Стандартное отклонение повторяемости S_r, %	Показатель промежуточной прецизионности $S_{I(TO)}$, мг/м^3	Стандартное отклонение промежуточной прецизионности $S_{I(TO)}$, %
1	0,45	0,03559	**8,0**	0,04106	9,2
2	0,95	0,07059	7,5	0,08786	**9,3**
3	1,98	0,08187	4,1	0,10376	5,3
Принято:			S_r = 8,0%		$S_{I(TO)}$ = 9,3 %
		r = 22 %		$R_{I(TO)}$ = 26 %	

На основании данных, полученных по формулам (30) и (31), в соответствии с пп. 4.1, 5.2.2 СТБ ИСО 5725-6 устанавливаем предел повторяемости, r, и предел промежуточной прецизионности, $R_{I(TO)}$

$$r = 2{,}8 \cdot S_r\ \% \quad (34)$$

$$R_{I(TO)} = 2{,}8 \cdot S_{I(TO)}\ \% \quad (35)$$

10 Оценивание показателя правильности

При исследовании правильности оценивается степень извлечения.

Степень извлечения ГМДА изучалась в процессе внутрилабораторных исследований в условиях повторяемости путем анализа модельных проб. Для

упрощения расчетов степень извлечения оценивалась на основании массовой концентрации в пробе (без пересчета с использованием объема воздуха).

В связи с отсутствием образцов с установленным значимым содержанием ГМДА использовали модельные пробы, которые готовили согласно разделу 4 настоящего отчета.

Для приготовления модельной пробы с добавкой в качестве поглотительной среды использовали дистиллированную воду с добавкой рабочего раствора № 2 с массовой концентрацией ГМДА 0,02 мкг/см^3 (см. 11.1.3) объемом 0,3; 0,6; 1,2 см^3, что соответствует добавке 0,0005; 0,001; 0,002 мг/м^3 в воздушной вытяжке соответственно.

Исследования отобранных проб проводили согласно [1].

Величину степени извлечения метода, *Rec*, получали по формуле:

$$\mathrm{Re}\,c = \frac{P - P_0}{\gamma}, \tag{36}$$

где P – результат единичного измерения массовой концентрации ГМДА в пробе с добавкой, нг/см^3;

P_0 – массовая концентрация ГМДА в пробе без добавки, нг/см^3;

γ – массовая концентрация ГМДА, внесенная в пробу, нг/см^3.

Устанавливали среднюю степень извлечения

$$\overline{\mathrm{Re}\,c} = \frac{(\overline{P} - \overline{P_0})}{\gamma}, \tag{37}$$

где $\overline{P_0}$ – среднее арифметическое результатов определения массовой концентрации ГМДА в пробах без добавки, нг/см^3:

$\overline{P}$ – среднее арифметическое результатов определения массовой концентрации ГМДА в пробах с добавкой, нг/см^3.

Значения $\overline{P_0}$ и $\overline{P}$ рассчитывали, согласно формулам:

$$\overline{P_0} = \frac{\sum_{i=1}^{p=16} P_{0i}}{p}, \tag{38}$$

$$\overline{P} = \frac{\sum_{i=1}^{p=16} P_i}{p}, \tag{39}$$

где P_0 – результат единичного измерения массовой концентрации ГМДА в пробе без добавки, нг/см^3;

P_i – результат единичного измерения массовой концентрации ГМДА в пробе с добавкой, нг/см^3;

p – число измерений пробы с добавкой *(p = 16)*.

Расчетное значение массовой концентрации ГМДА в пробе с добавкой γ, нг/см^3 вычислялось по формуле

$$\gamma = \frac{V_{доб} \times C_{доб}}{V_2} \quad (40)$$

где $V_{доб}$ – объем аликвоты рабочего раствора № 2 ГМДА, приготовленного по п. 9.2.7 методики измерений [1] и взятого для приготовления пробы с добавкой, см^3;

$C_{доб}$ – массовая концентрация ГМДА в рабочем растворе № 2, приготовленном по п. 9.2.7 методики измерений [1] и взятом для приготовления пробы с добавкой, мкг/см^3;

V_2 – объем поглотительного раствора при отборе пробы, *3 см^3*.

Расчет стандартной неопределенности степени извлечения $u(\overline{Rec})$ проводили по формуле

$$u(\overline{Rec}) = \overline{Rec}\sqrt{\left(\frac{u(\overline{P})}{\overline{P}}\right)^2 + \left(\frac{u(\overline{P_0})}{\overline{P_0}}\right)^2 + \left(\frac{u(\gamma)}{\gamma}\right)^2}, \quad (41)$$

где $u(\overline{P})$ – неопределеность измеренной массовой концентрации ГМДА в пробе с добавкой:

$$u(\overline{P}) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{p=16}(\overline{P} - P_i)^2}{p(p-1)}}, \quad (42)$$

$u(\overline{P_0})$ – неопределеность измеренной массовой концентрации ГМДА в пробе без добавки:

$$u(\overline{P_0}) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{p=16}(\overline{P_0} - P_{0i})^2}{p(p-1)}}, \quad (43)$$

$u(\gamma)$ – неопределеность массовой концентрации ГМДА в пробах с добавками. Расчет проводили по формуле:

$$\frac{u(\gamma)}{\gamma} = \sqrt{\left(\frac{u(V_2)}{V_2}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{доб})}{V_{доб}}\right)^2 + \left(\frac{u(C_{доб})}{C_{доб}}\right)^2}, \quad (44)$$

где $\frac{u(V_2)}{V_2}$ – относительная стандартная неопределенность объема, возникающая из-за отклонения объема воды в поглотительном устройстве;

$\frac{u(V_{доб})}{V_{доб}}$ – относительная стандартная неопределенность объема аликвоты рабочего раствора № 2 ГМДА, вносимого для приготовления пробы с добавкой;

$\frac{u(C_{доб})}{C_{доб}}$ – относительная стандартная неопределенность массовой концентрации ГМДА в рабочем растворе №2, использованном для приготовления пробы с добавкой.

$$\frac{u(C_{доб})}{C_{доб}} = \sqrt{\left(\frac{u(m)}{m}\right)^2 + \left(\frac{u(w)}{w}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{исх})}{V_{исх}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{исх-1})}{V_{исх-1}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{раб})}{V_{раб}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{раб-1})}{V_{раб-1}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{раб-2})}{V_{раб-2}}\right)^2}, \quad (45)$$

где $u(m)$ – стандартная неопределенность массы ГМДА, взятого для приготовления стандартного раствора, мг;

m – масса ГМДА, взятая для приготовления исходного раствора, мг;

$u(w)$ – стандартная неопределенность содержания ГМДА в реактиве;

w – содержание ГМДА в реактиве;

$u(V_{исх})$ – стандартная неопределенность объема исходного раствора, см^3;

$V_{исх}$ – объем исходного раствора, см^3;

$u(V_{исх-1})$ – стандартная неопределенность объема аликвоты исходного раствора, взятого для приготовления рабочего раствора № 1 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3;

$V_{исх-1}$ – объем аликвоты исходного раствора, взятый для приготовления рабочего раствора № 1 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3;

$u(V_{раб})$ – стандартная неопределенность объема рабочего раствора № 1, см^3;

$V_{раб}$ – объем рабочего раствора № 1, см^3;

$u(V_{раб-1})$ – стандартная неопределенность объема аликвоты рабочего раствора № 1, взятого для приготовления рабочего раствора № 2 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3.

$V_{раб-1}$ – объем аликвоты рабочего раствора, взятый для приготовления рабочего раствора № 2 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3;

$u(V_{раб-2})$ – стандартная неопределенность объема рабочего раствора № 2, см^3;

$V_{раб-2}$ – объем рабочего раствора № 2, см^3.

Расчет стандартной неопределенности массовой концентрации ГМДА в пробах с добавками представлен в таблице 15.

Таблица 15 – Значение стандартной неопределенности, обусловленной отклонением от приписанной исходной концентрации раствора для внесения

Стандартная неопределенность	Относительная стандартная неопределенность
V_2 – объем воды в поглотительном устройстве $u(V_2) = \sqrt{u^2(V_{доб}) + u^2(V_{разв})}$	
Добавка 0,3 см^3 и 0,6 см^3 – соответствует добавке 0,0005; 0,001 мг/м^3 в воздушной вытяжке соответственно.	
Для внесения добавки 0,3; 0,6 см^3 рабочего раствора № 2 ГМДА использовали пипетку градуированную номинальной вместимостью 1 см^3 2-го класса точности. Предел допускаемой погрешности ± 0,01 см^3 $u(V_{доб}) = \frac{\Delta V_{доб}}{\sqrt{6}} = \frac{0,01}{\sqrt{6}} = 0,004082\ см^3$	

Продолжение таблицы 15

Для разведения добавки дистиллированной водой до 3 см^3 (2,7; 2,4 см^3) использовали пипетку градуированную номинальной вместимостью 5 см^3 2-го класса точности. Предел допускаемой погрешности ± 0,05 см^3 $u(V_{доб}) = \frac{\Delta V_{доб}}{\sqrt{6}} = \frac{0,05}{\sqrt{6}} = 0,002041\ см^3$ $u(V_2) = \sqrt{0,004082^2 + 0,02041^2} = 0,02082\ см^3$	$\frac{u(V_2)}{V_2} = \frac{0,02082\ см^3}{3} = 0,006939\ см^3$
Добавка 1,2 см^3 – соответствует добавке 0,002 мг/м^3 в воздушной вытяжке. Для внесения добавки 1,2 см^3 рабочего раствора № 2 ГМДА использовали пипетку градуированную номинальной вместимостью 2 см^3 2-го класса точности. Предел допускаемой погрешности ± 0,02 см^3 $u(V_{доб}) = \frac{\Delta V_{доб}}{\sqrt{6}} = \frac{0,02}{\sqrt{6}} = 0,008165\ см^3$ Для разведения добавки дистиллированной водой до 3 см^3 (1,8 см^3) использовали пипетку градуированную номинальной вместимостью 2 см^3 2-го класса точности. Предел допускаемой погрешности ± 0,02 см^3 $u(V_{доб}) = \frac{\Delta V_{доб}}{\sqrt{6}} = \frac{0,02}{\sqrt{6}} = 0,008165\ см^3$ $u(V_2) = \sqrt{0,008165^2 + 0,008165^2} = 0,01155\ см^3$	$\frac{u(V_2)}{V_2} = \frac{0,01155\ см^3}{3} = 0,003849\ см^3$
$V_{доб}$ – объема аликвоты рабочего раствора № 2 ГМДА, вносимого для приготовления пробы с добавкой	
Добавка 0,3 см^3 и 0,6 см^3 – соответствует добавке 0,0005; 0,001 мг/м^3 в воздушной вытяжке соответственно $u(V_{доб}) = \frac{\Delta V_{доб}}{\sqrt{6}} = \frac{0,05}{\sqrt{6}} = 0,002041\ см^3$ Добавка 1,2 см^3 – соответствует добавке 0,002 мг/м^3 в воздушной вытяжке $u(V_{доб}) = \frac{\Delta V_{доб}}{\sqrt{6}} = \frac{0,02}{\sqrt{6}} = 0,008165\ см^3$	$\frac{u(V_{доб})}{V_{доб}} = \frac{0,002041\ см^3}{0,3} = 0,01361\ см^3$ $\frac{u(V_{доб})}{V_{доб}} = \frac{0,002041\ см^3}{0,6} = 0,006804\ см^3$ $\frac{u(V_{доб})}{V_{доб}} = \frac{0,008165\ см^3}{1,2} = 0,006804\ см^3$
$C_{доб}$ – массовой концентрации ГМДА в рабочем растворе № 2, использованном для приготовления пробы с добавкой	
$u(m) = \frac{\Delta_в}{\sqrt{3}} \times \sqrt{2} = \frac{0,0005}{\sqrt{3}} \times \sqrt{2} = 0,0004082\ г$	$\frac{u(m)}{m} = \frac{0,0004082}{0,01} = 0,04082$
$u(w) = \frac{U}{2} = \frac{5,0}{2} = 2,5\ \%$	$\frac{u(w)}{w} = \frac{2,5}{92,7} = 0,02697$

Продолжение таблицы 15

$u(V_{исх}) = \frac{\Delta_{V_{исх}}}{\sqrt{6}} = \frac{0,2}{\sqrt{6}} = 0,08165\ см^3$	$\frac{u(V_{исх})}{V_{исх}} = \frac{0,08165}{100} = 0,0008165$
$u(V_{исх-1}) = \frac{\Delta_{V_{исх-1}}}{\sqrt{6}} = \frac{0,01}{\sqrt{6}} = 0,004082\ см^3$	$\frac{u(V_{исх-1})}{V_{исх-1}} = \frac{0,004082}{0,5} = 0,008165$
$u(V_{раб}) = \frac{\Delta_{Vраб}}{\sqrt{6}} = \frac{0,12}{\sqrt{6}} = 0,04899\ см^3$	$\frac{u(V_{раб})}{V_{раб}} = \frac{0,04899}{50} = 0,0009798$
$u(V_{раб-1}) = \frac{\Delta_{Vраб-1}}{\sqrt{6}} = \frac{0,01}{\sqrt{6}} = 0,004082\ см^3$	$\frac{u(V_{раб-1})}{V_{раб-1}} = \frac{0,004082}{1} = 0,004082$
$u(V_{раб-2}) = \frac{\Delta_{Vраб-2}}{\sqrt{6}} = \frac{0,12}{\sqrt{6}} = 0,04899\ см^3$	$\frac{u(V_{раб-2})}{V_{раб-2}} = \frac{0,04899}{50} = 0,0009798$
$\frac{u(C_{доб})}{C_{доб}} = \sqrt{0,04082^2 + 0,02697^2 + 0,0008165^2 + 0,008165^2 + 0,0009798^2 + 0,004082^2 + 0,000}$ $\frac{u(C_{доб})}{C_{доб}} = 0,04980$	

Подробное описание и расчет неопределенностей приведен в разделе 11.

Для установления значимости средней степени извлечения от 1, проводили проверку по статистическому критерию *t*:

$$t = \frac{\left|1 - \overline{\mathrm{Re}c}\right|}{u(\overline{\mathrm{Re}c})}, \tag{46}$$

Найденное значение *t* сравнивали с двусторонним критическим значением 5% точки распределения Стьюдента с *2p-1=16-1=15* степенями свободы (уровень доверия 95%): $t_{crit}=2,131$.

При $t > t_{crit}$ неопределенность извлечения вычисляли по формуле

$$u_{извл.абс.} = \sqrt{\left(\frac{\left|1 - \overline{\mathrm{Re}c}\right|}{t_{crit}}\right)^2 + u(\overline{\mathrm{Re}c})^2}, \tag{47}$$

при $t < t_{crit}$ неопределенность извлечения вычисляли по формуле

$$u_{извл.абс.} = \frac{t_{crit} \times u(\overline{\mathrm{Re}c})}{1,96}. \tag{48}$$

Результаты представлены в таблицах 16-19.

Таблица 16 – Результаты исследований по извлечению ГМДА, проба без добавки

i	P_0, нг/см^3	$(\overline{P_0} - P_{0i})^2$, нг/см^3	$\overline{P_0}$, нг/см^3	0,506
1	0,652	0,0213	p	16
2	0,429	0,0059	$u(\overline{P_0})$, нг/см^3	0,03009
3	0,373	0,0177	$u(\overline{P_0}) / \overline{P_0}$	0,003537
4	0,587	0,0066		
5	0,311	0,0380		
6	0,318	0,0353		
7	0,66	0,0237		
8	0,588	0,0067		
9	0,625	0,0142		
10	0,601	0,0090		
11	0,551	0,0020		
12	0,535	0,0008		
13	0,612	0,0112		
14	0,396	0,0121		
15	0,446	0,0036		
16	0,411	0,0090		
Сумма	**8,095**	**0,2173**		

Таблица 17 – Результаты исследований по извлечению ГМДА, 1-ый уровень: условно принятое эталонное значение $\gamma = 2{,}0$ нг/см^3 (0,00050 мг/м^3)

i	Pi, , нг/см^3	Rec_i	$(\overline{P} - P_i)^2$, нг/см^3	Обозначение	Значение	Обозначение	Значение
1	2,26	0,877	0,004	γ, нг/см^3	2,0	$u(\overline{Rec})$	0,04873
2	2,112	0,803	0,046	$\overline{P_0}$, нг/ см^3	0,506	t	1,8509
3	2,231	0,863	0,009	$\overline{P}$, нг/ см^3	2,326	t_{crit}	2,131
4	2,157	0,826	0,028	$\overline{Rec}$	0,910	$t < t_{crit}$	
5	2,298	0,896	0,001	$u(\overline{P_0}) / \overline{P_0}$	0,00354	$u_{извл.абс}$	0,05298
6	2,231	0,863	0,009	$u(P)$, нг/ см^3	0,028	$u_{извл.}$,%	5,82 %
7	2,28	0,887	0,002	$u(\overline{P}) / \overline{P}$	0,012		
8	2,297	0,896	0,001	$u(C_{доб})/C_{доб}$			
9	2,355	0,925	0,001	$u(m)/m$	0,04082		
10	2,494	0,994	0,028	$u(w)/w$	0,02697		
11	2,421	0,958	0,009	$u(V_{исх})/V_{исх}$	0,000817		
12	2,493	0,994	0,028	$u(V_{исх-1})/V_{исх-1}$	0,008165		
13	2,405	0,950	0,006	$u(V_{раб})/V_{раб}$	0,0009798		
14	2,309	0,902	0,000	$u(V_{раб-1})/V_{раб-1}$	0,004082		
15	2,417	0,956	0,008	$u(V_{раб-2})/V_{раб-2}$	0,0009798		
16	2,45	0,972	0,015	$u(V_{доб})/V_{доб}$	0,01361		
Сумма	**37,21**		**0,197**	$u(V_2)/V_2$	0,006939		

Таблица 18 – Результаты исследований по извлечению ГМДА, 1-ый уровень: условно принятое эталонное значение $\gamma = 4{,}0$ нг/см^3 (0,00100 мг/м^3)

i	Pi, , нг/см^3	Rec_i	$(\overline{P}-P_i)^2$, нг/см^3	Обозначение	Значение	Обозначение	Значение
1	4,251	0,936	0,000	γ, нг/см^3	4,0	$u(\overline{Rec})$	0,04907
2	4,414	0,977	0,033	$\overline{P_0}$, нг/см^3	0,506	t	1,3897
3	4,199	0,923	0,001	$\overline{P}$, нг/см^3	4,233	t_{crit}	2,131
4	4,567	1,015	0,111	$\overline{Rec}$	0,910	$t < t_{crit}$	
5	4,085	0,895	0,022	$u(\overline{P_0}) / \overline{P_0}$	0,00354	$u_{извл.абс}$	0,05335
6	4,469	0,991	0,056	$u(P)$, нг/см^3	0,056	$u_{извл.}$ %	5,73 %
7	4,002	0,874	0,053	$u(\overline{P}) / \overline{P}$	0,0132		
8	4,161	0,914	0,005	$u(C_{доб})/C_{доб}$			
9	4,564	1,015	0,109	$u(m)/m$	0,04082		
10	4,13	0,906	0,011	$u(w)/w$	0,02697		
11	4,023	0,879	0,044	$u(V_{исх})/V_{исх}$	0,000817		
12	4,301	0,949	0,005	$u(V_{исх-1})/V_{исх-1}$	0,008165		
13	4,621	1,029	0,150	$u(V_{раб})/V_{раб}$	0,0009798		
14	4,037	0,883	0,039	$u(V_{раб-1})/V_{раб-1}$	0,004082		
15	3,953	0,862	0,079	$u(V_{раб-2})/V_{раб-2}$	0,0009798		
16	3,955	0,862	0,077	$u(V_{доб})/V_{доб}$	0,0068041		
Сумма	**67,732**		**0,795**	$u(V_2)/V_2$	0,006939		

Таблица 19 – Результаты исследований по извлечению ГМДА, 1-ый уровень: условно принятое эталонное значение $\gamma = 8{,}0$ нг/см^3 (0,00200 мг/м^3)

i	Pi, , нг/см^3	Rec_i	$(\overline{P}-P_i)^2$, нг/см^3	Обозначение	Значение	Обозначение	Значение
1	8,319	0,977	0,002	γ, нгсм^3	8,0	$u(\overline{Rec})$	0,05028
2	8,03	0,941	0,109	$\overline{P_0}$, нг/см^3	0,506	t	0,3617
3	8,905	1,050	0,296	$\overline{P}$, нг/см^3	8,361	t_{crit}	2,131
4	8,026	0,940	0,112	$\overline{Rec}$	0,982	$t < t_{crit}$	
5	8,355	0,981	0,000	$u(\overline{P_0}) / \overline{P_0}$	0,00354	$u_{извл.абс}$	0,05467
6	7,998	0,937	0,131	$u(P)$, нг/см^3	0,069	$u_{извл.}$ %	5,57%
7	8,367	0,983	0,000	$u(\overline{P}) / \overline{P}$	0,083		
8	8,353	0,981	0,000	$u(C_{доб})/C_{доб}$			
9	8,003	0,937	0,128	$u(m)/m$	0,04082		
10	8,468	0,995	0,012	$u(w)/w$	0,02697		
11	8,486	0,998	0,016	$u(V_{исх})/V_{исх}$	0,000817		
12	8,022	0,940	0,115	$u(V_{исх-1})/V_{исх-1}$	0,008165		
13	8,48	0,997	0,014	$u(V_{раб})/V_{раб}$	0,0009798		
14	8,575	1,009	0,046	$u(V_{раб-1})/V_{раб-1}$	0,004082		
15	8,566	1,008	0,042	$u(V_{раб-2})/V_{раб-2}$	0,0009798		
16	8,815	1,039	0,207	$u(V_{доб})/V_{доб}$	0,006804		
Сумма	**133,768**		**1,230**	$u(V_2)/V_2$	0,003849		

Из данных, представленных в таблицах 17-19, следует, что для ГМДА, потери при проведении пробоподготовки являются незначимыми. Таким образом, средняя степень извлечения в явном виде не учитывается при вычислении результата измерения.

11 Алгоритм оценивания неопределенности измерений

Расчет неопределенности измерений проводили в соответствии с СТБ ИСО 5725-6, [10], [11], [12].

11.1 Описание измеряемой величины

Для количественного определения массовой концентрации ГМДА предварительно строят градуировочную характеристику, используя градуировочные растворы с заданной массовой концентрацией ГМДА. При этом выполняют следующие операции:

11.1.1 Приготовление исходного раствора ГМДА с массовой концентрацией 100 мкг/см^3

Взвешивают в бюксе навеску ГМДА массой (0,01 ± 0,0005) г, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3, добавляют 70 см^3 дистиллированной воды, содержимое колбы перемешивают до полного растворения навески, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают пробкой и перемешивают.

Точную массовую концентрацию ГМДА в исходном растворе C_m, мкг/см^3, рассчитывают по формуле

$$C_m = \frac{m \cdot w \cdot 10^6}{V_{исх}}, \qquad (49)$$

где m – масса навески ГМДА, г;

w – содержание основного вещества в реактиве, в долях единицы;

10^6 – коэффициент пересчета граммов в микрограммы;

$V_{исх}$ – вместимость мерной колбы, см^3, $V_{исх}$ = 100 см^3.

11.1.2 Приготовление рабочего раствора № 1 с массовой концентрацией ГМДА 1,0 мкг/см^3

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят 0,5 см^3 исходного раствора ГМДА, доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают пробкой и перемешивают.

11.1.3 Приготовление рабочего раствора № 2 с массовой концентрацией ГМДА 0,02 мкг/см^3

В мерную колбу вместимостью 50 см^3 вносят 1,0 см^3 рабочего раствора ГМДА № 1 (см. 11.1.2), доводят объем раствора в колбе до метки дистиллированной водой, закрывают пробкой и перемешивают.

11.1.4 Приготовление градуировочных растворов для установления градуировочной характеристики и проведение реакции дериватизации

Градуировочные растворы ГМДА с массовой концентрацией 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 нг/см^3 и холостой раствор готовят в виалах вместимостью 2 см^3. В каждую виалу вносят рассчитанные количества рабочего раствора № 2 с концентрацией ГМДА 0,02 мкг/см^3, приготовленного по п. 11.1.3, и дистиллированной воды согласно таблице 20.

Содержимое виал перемешивают встряхиванием, добавляют по 0,1 см^3 боратного буферного раствора и 0,1 см^3 раствора Dns-Cl для проведения процедуры дериватизации. Растворы встряхивают и оставляют в темном месте на сутки.

Таблица 20 — Приготовление градуировочных растворов ГМДА

Номер раствора	Объем рабочего раствора ГМДА № 2, см^3	Объем дистиллированной воды, см^3	Объем раствора Dns-Cl, см^3	Объем буферного раствора, см^3	Массовая концентрация ГМДА, нг/см^3
холостой	0	0,8	0,1	0,1	0,0
1	0,1	0,7			2,0
2	0,15	0,65			3,0
3	0,2	0,6			4,0
4	0,3	0,5			6,0
5	0,4	0,4			8,0
6	0,5	0,3			10,0

11.2 Модель измерений

Согласно п. 7.7.1 [4], в математической модели необходимо учесть оценку прецизионности и оценку смещения метода. Учтем эти оценки в уравнении модели измерений в виде поправочных множителей (Пример А.4, [4]). Разброс показаний между определениями учтем в виде поправочного множителя F. Смещение метода, учитывающее потери при реакции дериватизации ГМДА из образцов в воздушную вытяжку, учтем в виде коэффициента Rec.

Модель измерения массовой концентрации ГМДА в воздушной вытяжке X, мг/м^3, с учетом вышеизложенного и математического преобразования, можно записать в следующем виде

$$X = \frac{C \times V \times V_2}{V_3 \times V_4 \times 10^3} \times \frac{F}{\mathrm{Re}c}, \qquad (50)$$

где C – массовая концентрация ГМДА в хроматографируемом растворе, найденная по градуировочному графику в соответствии с величиной площади хроматографического пика, нг/см^3;

V – объем пробы, подготовленной для хроматографирования, 1,0 см^3;

V_2 – объем поглотительного раствора при отборе пробы, 3,0 см^3;

V_3 – объем аликвоты для проведения процедуры дериватизации, 0,8 см^3;
10^3 – коэффициент перевода нг в мг;
Rec – степень извлечения в относительных единицах, рассчитывают по формуле:

$$\mathrm{Re}\,c = \frac{C_i - C_0}{\gamma}, \qquad (51)$$

где C_i – концентрация ГМДА, найденная по градуировочному графику, в пробе с добавкой, нг/см^3;
C_0 – концентрация ГМДА, найденная по градуировочному графику, в контрольной пробе, нг/см^3;
γ – концентрация ГМДА, внесенная в пробу с добавкой, нг/см^3.
V_4 – фактическая вместимость эксикатора, дм^3, V_4 = 15,0 дм^3 или, в случае использования климатической камеры, объем отобранного воздуха, приведенный к стандартным условиям, дм^3.

За результат измерения принимают среднеарифметическое значение двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости.

Исходя из модели измерений и анализа измерительной процедуры, можно выделить следующие источники неопределенности массовой концентрации ГМДА в воздушной вытяжке:

1) объем отобранного воздуха;

2) объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, объем воды в поглотительном устройстве, объем аликвоты для проведения процедуры дериватизации;

3) градуировочная характеристика, т.е. случайные колебания при измерении площадей пиков, которые оказывают влияние как на отклики при проведении градуировки, так и на измеряемый отклик *C*;

4) градуировочная характеристика, т.е. случайные эффекты, результатом которых являются неопределенности приписанных исходных значений массовой концентрации ГМДА в градуировочных растворах;

5) неопределенность, обусловленную возможными расхождениями между параллельными определениями (фактор повторяемости, F_{cx}).

6) неопределенность, обусловленную смещением метода.

Перечень входных величин для оценки суммарной стандартной неопределенности при измерении массовой концентрации ГМДА в воздушной вытяжке представлен в таблице 21.

Таблица 21 – Входные величины для оценки суммарной стандартной неопределенности, единицы измерения, определение или описание

Величина	Единица измерения	Определение или описание
Составляющие неопределенности, обусловленные повторяемостью результатов измерений и смещением		
F	-	фактор повторяемости
Rec	-	смещение метода, в относительных единицах
Составляющие неопределенности, обусловленные проведением измерений		
C	нг/см^3	массовая концентрация ГМДА, найденная по градуировочной характеристике
Составляющие неопределенности, обусловленные пробоотбором и пробоподготовкой		
V_4	дм^3	объем отобранного воздуха
V	см^3	объем экстракта, подготовленного для хроматографирования
V_2	см^3	объем воды в поглотительном устройстве
V_3	см^3	объем аликвоты для проведения процедуры дериватизации

11.3 Анализ влияющих величин

11.3.1 Составляющие неопределенности, обусловленные отбором проб и пробоподготовкой

Входные величины, связанные с пробоподготовкой:

– объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, V, см^3, объем воды в поглотительном устройстве, V_2, см^3, объем аликвоты, содержимого поглотительного прибора, V_3, см^3;

– объем отобранного воздуха, V_4, дм^3.

$$u_n = \sqrt{u^2{}_{nV} + u^2{}_{nV2} + u^2{}_{nV3} + u^2{}_{nV4}}\,, \qquad (52)$$

где u_{nV} –неопределенность, возникающая из-за отклонения объема экстракта, подготовленного для хроматографирования.

u_{nV2} – неопределенность объема, возникающая из-за отклонения объема воды в поглотительном устройстве $u(V_2)$;

u_{nV3} – неопределенность объема, возникающая из-за отклонения объема аликвоты для проведения процедуры дериватизации $u(V_3)$;

u_{nV4} – неопределенность объема отобранного воздуха $u(V_4)$.

Анализ входных величин, источником которых являются процедуры пробоотбора и пробоподготовки, представлен в таблице 22.

Таблица 22 – Анализ входных величин, источником которых является процедура пробоотбора и пробоподготовки

Входная величина	Анализ входной величины
Объем отобранного воздуха	
Входная величина: объем отобранного воздуха, V_4, дм^3	Тип оценивания неопределенности: В Вид распределения: треугольный Значение оценки для диапазона: $V_4 = 15$ дм^3 Относительная стандартная неопределенность: $$\frac{u(V_4)}{V_4} = \sqrt{\frac{u^2(\upsilon)}{\upsilon^2} + \frac{u^2(\tau)}{\tau^2}}$$ где $V_4 = \upsilon \cdot \tau$ υ – объемный расход воздуха, дм^3/мин τ – время отбора, мин.
Объемный расход воздуха υ, дм^3/мин	Тип оценивания неопределенности В Вид распределения прямоугольный. Значение оценки $\upsilon = 0{,}3$ дм^3/мин Интервал, в котором находится значение входной величины: $\Delta_\upsilon = \pm 5$ % Стандартная неопределенность: $$u(\upsilon) = \frac{\Delta_\upsilon \cdot \upsilon_n}{100 \cdot \sqrt{3}} = \frac{5\ \% \cdot 0{,}30\ \text{дм}^3/\text{мин}}{100\ \% \cdot \sqrt{3}} = 0{,}0087\ \text{дм}^3/\text{мин}$$
	Относительная стандартная неопределенность: $$\frac{u(\upsilon)}{\upsilon} = \frac{0{,}0087\ \text{дм}^3/\text{мин}}{0{,}3\ \text{дм}^3/\text{мин}} = 0{,}029$$
Составляющую стандартной неопределенности, связанную с объемным расходом, определяют на основании информации о пределах допускаемой погрешности средства измерений объемного расхода ±5 %, диапазон измерений от 0,2 дм^3/мин до 2,0 дм^3/мин	
Время отбора воздуха τ, мин	Тип оценивания неопределенности В Вид распределения прямоугольный Значение оценки: $\tau = 50$ мин. Интервал, в котором находится значение входной величины: ±0,5 % Стандартная неопределенность: $$u(\tau) = \frac{\Delta_\tau \cdot \tau_n}{100 \cdot \sqrt{3}} = \frac{0{,}5\ \% \cdot 50\ \text{мин}}{100\ \% \cdot \sqrt{3}} = 0{,}1443\ \text{мин}$$ Относительная стандартная неопределенность $$\frac{u(\tau)}{\tau} = \frac{0{,}1443\ \text{мин}}{50\ \text{мин}} = 0{,}0029$$
Составляющая стандартной неопределенности, связанная с временем отбора, будет определяться на основании информации о пределах основной относительной погрешности измерения времени ±0,5 % аспиратора	
	Стандартная неопределенность, Относительная стандартная неопределенность объема воздуха, отобранного для анализа V_4, дм^3: $$\frac{u(V_4)}{V_4} = \sqrt{(0{,}029)^2 + (0{,}0029)^2} = 0{,}029$$

Продолжение таблицы 22

Объем экстракта, подготовленного для хроматографирования	
Входная величина: V, см^3	Объем экстракта, подготовленного для хроматографирования рассчитывается $$u(V) = \sqrt{u^2(V_{Dns-Cl}) + u^2(V_{буфер}) + u^2(V_{0,8})}$$ где $V = V_{0,8} + V_{Dns-Cl} + V_{буфер}$ V_{Dns-Cl} – объем раствора Dns-Cl, 0,1 см^3; $V_{буфер}$ – объем буферного раствора, 0,1 см^3; $V_{0,8}$ – объем аликвоты, 0,8 см^3. Входная величина: V_{Dns-Cl}, см^3 Тип оценивания неопределенности: В Вид распределения: треугольное Значение оценки: V_{Dns-Cl} = 0,1 см^3 Стандартная неопределенность, обусловленная отклонением действительного сливаемого объема дозатора от номинального ($\Delta = \pm 1,5\ \%$): $$u(V_\Delta) = \frac{\Delta \cdot V_{Dns-Cl}}{100 \cdot \sqrt{6}} = \frac{1,5\ \% \cdot 0,1\ \text{см}^3}{100\ \% \cdot \sqrt{6}} = 0,000612\ \text{см}^3$$ Стандартная неопределенность, обусловленная случайной погрешностью используемого дозатора ($S_\Delta = \pm 2,0\ \%$): $$u(V_S) = \frac{S_v \cdot V_{Dns-Cl}}{100} = \frac{2,0\ \% \cdot 0,1\ \text{см}^3}{100\%} = 0,002\ \text{см}^3$$
	Стандартная неопределенность: $$u(V_{Dns-Cl}) = \sqrt{u(V_\Delta)^2 + u(V_S)^2} = 0,00209\ \text{см}^3$$ Входная величина: $V_{буфер}$, см^3 Тип оценивания неопределенности: В Вид распределения: треугольное Значение оценки: $V_{буфер}$ = 0,1 см^3 Стандартная неопределенность, обусловленная отклонением действительного сливаемого объема дозатора от номинального ($\Delta = \pm 1,5\ \%$): $$u(V_\Delta) = \frac{\Delta \cdot V_{буфер}}{100 \cdot \sqrt{6}} = \frac{1,5\ \% \cdot 0,1\ \text{см}^3}{100\ \% \cdot \sqrt{6}} = 0,000612\ \text{см}^3$$ Стандартная неопределенность, обусловленная случайной погрешностью используемого дозатора ($S_\Delta = \pm 2,0\ \%$): $$u(V_S) = \frac{S_v \cdot V_{буфер}}{100} = \frac{2,0\% \cdot 0,1\ \text{см}^3}{100\%} = 0,002\ \text{см}^3$$ Стандартная неопределенность: $$u(V_{буфер}) = \sqrt{u(V_\Delta)^2 + u(V_S)^2} = 0,00209\ \text{см}^3$$
Интервал возможных значений входной величины определяется пределами допускаемых систематической составляющей основной относительной погрешности дозатора «Лайт» ДПОП-1-100-1000. Предел допускаемой систематической составляющей основной относительной погрешности составляет ± 1,5 % - для 100 мкл, ± 1,0 % - для 1000 мкл. Предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения случайной составляющей относительной погрешности для 100 мкл составляет Sv = 2,0 %; для 1000 мкл составляет Sv = 1,0 %	

Продолжение таблицы 22

	Входная величина: $V_{0,8}$, см^3 Тип оценивания неопределенности В Вид распределения: треугольный Значение оценки: $V_{0,8}$= 0,8 см^3 Интервал, в котором находится значение входной величины: ± 0,01 см^3 Стандартная неопределенность: $$u(V_{0,8}) = \frac{\Delta_{V0,8}}{\sqrt{6}} = 0,004082\ см^3$$
Интервал возможных значений входной величины определяется пределами допускаемой погрешности используемой мерной посуды, в данном случае пипетки градуированной номинальной вместимостью 1 см^3 2-го класса точности. Предел допускаемой погрешности ± 0,01 см^3	
	Стандартная неопределенность: $$u(V) = \sqrt{0,0209^2 + 0,0209^2 + 0,004082^2} = 0,005042\ см^3$$ Относительная стандартная неопределенность: $$\frac{u(V)}{V} = \frac{0,005042\ см^3}{1} = 0,005042$$
Объем воды в поглотительном устройстве	
Входная величина: V_2, см^3	Тип оценивания неопределенности В Вид распределения: треугольный Значение оценки: 3,0 см^3 Интервал, в котором находится значение входной величины ±0,05 см^3 Стандартная неопределенность: $$u(V_2) = \frac{\Delta_{V_2}}{\sqrt{6}} = \frac{0,05\ см^3}{\sqrt{6}} = 0,02041\ см^3$$ uОтносительная стандартная неопределенность: $$\frac{u(V_2)}{V_2} = \frac{0,02041\ \text{см}^3}{3\ \text{см}^3} = 0,006804$$
Интервал возможных значений входной величины определяется пределами допускаемой погрешности используемой мерной посуды, в данном случае пипетки градуированной номинальной вместимостью 5 см^3 2-го класса точности. Предел допускаемой погрешности ± 0,05 см^3	
Объем аликвоты, содержимого поглотительного прибора	
Входная величина: V_3, см^3	Тип оценивания неопределенности В Вид распределения: треугольный Значение оценки: V_3= 0,8 см^3 Интервал, в котором находится значение входной величины: ±0,01 см^3 Стандартная неопределенность: $$u(V_3) = \frac{\Delta_{V_3}}{\sqrt{6}} = \frac{0,01\ см^3}{\sqrt{6}} = 0,004082\ см^3$$

Продолжение таблицы 22

	Относительная стандартная неопределенность: $\frac{u(V_3)}{V_3} = \frac{0,004082}{0,8} = 0,005103$
Интервал возможных значений входной величины определяется пределами допускаемой погрешности используемой мерной посуды, в данном случае пипетки градуированной номинальной вместимостью 1 см^3 2-го класса точности. Предел допускаемой погрешности ± 0,01 см^3	

$$u_n = \sqrt{u^2_{nV} + u^2_{nV2} + u^2_{nV3} + u^2_{nV4}} = \sqrt{0,005042^2 + 0,006804^2 + 0,005103^2 + 0,029^2} = 0,03065$$

или $u_n = 3,065\ \%$.

Влиянием колебания температуры в лаборатории в пределах ± 5 °С (в соответствии с методикой измерений и объемным расширением жидкости пренебрегаем, так как эти вклады в значение стандартной неопределенности незначительны.

11.3.2 Составляющие неопределенности, обусловленные построением градуировочного графика

Входные величины, связанные с проведением измерений:

– массовая концентрация ГМДА, найденная по градуировочной характеристике, *C*, нг/см^3.

Анализ входных величин, источником которых является процедура проведения измерений, представлен в таблице 23.

Таблица 23 – Анализ входных величин, связанных с проведением измерений

Входная величина: массовая концентрация ГМДА, найденная по градуировочной характеристике, *C*, нг/см^3	Тип оценивания неопределенности: А Вид распределения нормальный Значение оценки: *C*, нг/см^3 Суммарная стандартная неопределенность: обусловлена неопределенностью построения градуировочного графика.

Значение массовой концентрации ГМДА в растворе, С, нг/см^3, определяется по градуировочной характеристике, поэтому ее неопределенность обусловлена неопределенностью построения градуировочного графика. К составляющим неопределенности, обусловленным построением градуировочного графика, можно отнести следующие:

– случайные эффекты, результатом которых являются неопределенности приписанных исходных значений массовой концентрации ГМДА в градуировочных растворах;

– случайные колебания при измерении выходного сигнала.

11.3.2.1 Составляющая неопределенности, обусловленная случайными эффектами, результатом которых являются погрешности приписанных исходных значений массовой концентрации ГМДА в градуировочных растворах

Неопределенность $u(C, x_i)$ массовой концентрации ГМДА в растворе пробы из-за неопределенности значения массовой концентрации ГМДА в i-ом градуировочном растворе можно определить по приближенной формуле

$$u(\mathrm{C}, x_i) = \frac{u(x_i)}{N}, \quad (53)$$

где x_i – приписанное значение массовой концентрации ГМДА в i-ом градуировочном растворе, нг/см^3.

Суммарная неопределенность из-за неопределенностей приписанных значений массовой концентрации ГМДА в растворе во всех градуировочных растворах рассчитывается по следующей формуле

$$u(C,x) = \sqrt{\sum_{i=1}^{N}\left(\frac{u(x_i)}{N}\right)^2}, \quad (54)$$

где $N = 6$, количество градуировочных растворов (точек на графике).

Оценивание неопределенности приписанного значения массовой концентрации ГМДА в i-ом градуировочном растворе проводим следующим образом:

$$u(x_i) = x_i \times \sqrt{\begin{array}{l}\left(\frac{u(m)}{m}\right)^2 + \left(\frac{u(w)}{w}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{исх})}{V_{исх}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{исх-1})}{V_{исх-1}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{раб})}{V_{раб}}\right)^2 + \\ + \left(\frac{u(V_{раб-1})}{V_{раб-1}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{раб-2})}{V_{раб-2}}\right)^2 + \left(\frac{u(V_{раб-2i})}{V_{раб-2i}}\right)^2 + \left(\frac{u(V)}{V}\right)^2\end{array}}, \quad (55)$$

где $u(m)$ – стандартная неопределенность массы ГМДА, взятого для приготовления стандартного раствора, мг;
m – масса ГМДА, взятая для приготовления исходного раствора, мг;
$u(w)$ – стандартная неопределенность содержания ГМДА в реактиве;
w – содержание ГМДА в реактиве;
$u(V_{исх})$ – стандартная неопределенность объема исходного раствора, см^3;
$V_{исх}$ – объем исходного раствора, см^3;
$u(V_{исх-1})$ – стандартная неопределенность объема аликвоты исходного раствора, взятого для приготовления рабочего раствора № 1 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3;
$V_{исх-1}$ – объем аликвоты исходного раствора, взятый для приготовления рабочего раствора № 1 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3;
$u(V_{раб})$ – стандартная неопределенность объема рабочего раствора № 1, см^3;

$V_{раб}$ – объем рабочего раствора № 1, см^3;
$u(V_{раб\text{-}1})$ – стандартная неопределенность объема аликвоты рабочего раствора № 1, взятого для приготовления рабочего раствора № 2 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3.
$V_{раб\text{-}1}$ – объем аликвоты рабочего раствора, взятый для приготовления рабочего раствора № 2 заданной массовой концентрации ГМДА, см^3;
$u(V_{раб\text{-}2})$ – стандартная неопределенность объема рабочего раствора № 2, см^3;
$V_{раб\text{-}2}$ – объем рабочего раствора № 2, см^3;
$u(V_{раб\text{-}2i})$ – стандартная неопределенность объема аликвоты рабочего раствора № 2, взятого для приготовления *i*-ого градуировочного раствора, см^3;
$V_{раб\text{-}2i}$ – объем аликвоты рабочего раствора № 2, взятый для приготовления *i*-ого градуировочного раствора, см^3;
$u(V)$ – стандартная неопределенность объема экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3
V – объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, см^3.

Расчет $u(V)$ проводят по формуле:

$$u(V) = \sqrt{u(V_{раб-2i})^2 + u(V_{вода-i})^2 + u(V_{Dns-Cl})^2 + u(V_{буфер})^2}, \qquad (56)$$

где $u(V_{раб\text{-}2i})$ – стандартная неопределенность объема аликвоты рабочего раствора № 2, взятого для приготовления *i*-ого градуировочного раствора, см^3.
$u(V_{вода\text{-}i})$ – стандартная неопределенность объема дистиллированной воды, взятой для приготовления *i*-ого градуировочного раствора, см^3;
$u(V_{Dns\text{-}Cl})$ – стандартная неопределенность объема раствора дансилхлорида, взятого для приготовления *i*-ого градуировочного раствора, см^3;
$u(V_{буфер})$ – стандартная неопределенность объема боратного буферного раствора, взятого для приготовления *i*-ого градуировочного раствора, см^3.

Стандартные неопределенности объемов: $V_{исх}$, $V_{раб}$, $V_{раб\text{-}2}$ оценивались на основании погрешности номинального объема мерной колбы ± $\Delta_п$, которые используются при приготовлении раствора (стандартного, рабочего № 1, рабочего № 2) (в предположении треугольного распределения вероятностей величины):

$$u(V_n) = \frac{\Delta_n}{\sqrt{6}}, \text{ см}^3, \qquad (57)$$

Значения пределов допускаемой погрешности, используемых дозаторов, мерной посуды и относительные стандартные неопределенности объемов приведены в таблице 7.

Относительные стандартные неопределенности вместимости мерных колб $V_{исх}$, $V_{раб}$, $V_{раб-2}$, см^3, которые используются, соответственно, при приготовлении исходного, рабочего раствора № 1 и рабочего раствора № 2, а также относительные стандартные неопределенности аликвот исходного раствора $V_{исх-1}$, рабочего раствора № 1 $V_{раб-1}$ см^3, рассчитывают по формуле

$$\frac{u(V)}{V} = \frac{u(V_n)}{V_n}, \qquad (58)$$

где $u(V_n)$ – стандартные неопределенности вместимости мерных колб $V_{исх}$, $V_{раб}$, $V_{раб-2,}$ см^3, которые используются, соответственно, при приготовлении исходного, рабочего раствора № 1 и рабочего раствора № 2, а также стандартные неопределенности аликвот исходного раствора $V_{исх-1}$, рабочего раствора № 1 $V_{раб-1}$ см^3;

V_n – вместимости мерных колб $V_{исх}$, $V_{раб}$, $V_{раб-2}$, см^3, которые используются, соответственно, при приготовлении исходного, рабочего раствора № 1 и рабочего раствора № 2, а также вместимости пипеток для отбора аликвот исходного раствора $V_{исх-1}$, рабочего раствора № 1 $V_{раб-1}$ см^3;

Значения пределов допускаемой погрешности используемой мерной посуды и относительные стандартные неопределенности вместимости используемой мерной посуды приведены в таблице 13.

Неопределенность массы вещества определяют как разницу между массами тары с веществом и пустой тары, т.е. процедуру взвешивания производят дважды, неопределенность массы вещества, $u(m)$, мг, будет рассчитываться по формуле:

$$u(m) = \frac{\Delta_m}{\sqrt{3}}\sqrt{2}, \qquad (59)$$

Для построения градуировочного графика использовался стандарт ГМДА. Согласно сертификату анализа – содержанием основного действующего вещества 92,7 % и относительной расширенной неопределенностью $U = 5$ % при уровне доверия 95 % и коэффициенте охвата $k = 2$. Относительная стандартная неопределенность $u(w)$, %, рассчитывается по формуле:

$$u(w) = \frac{U}{k}, \qquad (60)$$

Стандартные неопределенности приписанных значений массовой концентрации ГМДА в градуировочных растворах приведены в таблицах 24-25.

Таблица 24 – Анализ входных величин, связанных с неопределенностью приписанных значений массовой концентрации ГМДА в *i*-м градуировочном растворе

Входная величина	Анализ входной величины
Входная величина: содержание ГМДА в реактиве в долях единицы w	Тип оценивания неопределенности В Вид распределения: прямоугольный Значение оценки: 92,7 % В сертификате анализа приведена относительная расширенная неопределенность, равная $U = 5,0$ %. Стандартная неопределенность: $u(w) = \frac{5,0}{2} = 2,5\,\%$ Относительная стандартная неопределенность: $u(w)/w = 2,5/92,7 = 0,02697$
Входная величина: масса ГМДА m, г	Тип оценивания неопределенности В Вид распределения: прямоугольный Значение оценки: $m = 0,01$ г Интервал, в котором находится значение входной величины: ±0,0005 г Стандартная неопределенность: $u(m) = \frac{\Delta_в}{\sqrt{3}}\sqrt{2} = 0,0004082$ Относительная стандартная неопределенность: $u(m)/m = 0,0004082/0,01 = 0,040825$
Исходя из данных о применяемых лабораторных весах, приведенных в паспорте, пределы погрешности взвешивания составляют $\pm\Delta_в = \pm 0,5$ мг. Использовалась функция весов – тарирование.	
Входная величина: объем стандартного раствора, $V_{исх}$, см^3	Тип оценивания неопределенности В Вид распределения: треугольный Значение оценки: 100 см^3 Интервал, в котором находится значение входной величины: ±0,20 см^3 Стандартная неопределенность: $u(V_{исх}) = \frac{\Delta_{V_{исх}}}{\sqrt{6}} = \frac{0,2}{\sqrt{6}} = 0,08165\ см^3$ Относительная стандартная неопределенность: $u(V_{исх})/V_{исх} = 0,08165/100 = 0,0008165$
Интервал возможных значений входной величины определяется пределами допускаемых отклонений используемой мерной посуды, в данном случае колбы мерной 2-100-2 по ГОСТ 1770 и составляет ±0,2 см^3.	

Продолжение таблицы 24

Входная величина: объем рабочего раствора № 1, $V_{раб}$, см^3	Тип оценивания неопределенности В Вид распределения: треугольный Значение оценки: 50 см^3. Интервал, в котором находится значение входной величины: ±0,12 см^3 Стандартная неопределенность: $u(V_{раб}) = \frac{\Delta_{V_{раб}}}{\sqrt{6}} = \frac{0,12\ см^3}{\sqrt{6}} = 0,04899\ см^3$ Относительная стандартная неопределенность: $u(V_{раб})/ V_{раб} = 0,04899/50 = 0,0009798$
Интервал возможных значений входной величины определяется пределами допускаемых отклонений используемой мерной посуды, в данном случае колбы мерной 2-50-2 по ГОСТ 1770 и составляет ±0,12 см^3.	
Входная величина: объем рабочего раствора № 2, $V_{раб-2}$, см^3	Тип оценивания неопределенности В Вид распределения: треугольный Значение оценки: 50 см^3. Интервал, в котором находится значение входной величины: ±0,12 см^3 Стандартная неопределенность: $u(V_{раб-2}) = \frac{\Delta_{Vраб-2}}{\sqrt{6}} = \frac{0,12}{\sqrt{6}} = 0,04899\ см^3$ Относительная стандартная неопределенность: $u(V_{раб-2})/ V_{раб-2} = 0,04899/50 = 0,0009798$
Интервал возможных значений входной величины определяется пределами допускаемых отклонений используемой мерной посуды, в данном случае колбы мерной 2-50-2 по ГОСТ 1770 и составляет ±0,12 см^3.	
Входная величина: аликвоты исходного стандартного раствора, взятый для приготовления рабочего раствора № 1, $V_{исх-1}$, см^3	Тип оценивания неопределенности В Вид распределения: треугольный Значение оценки: 0,5 см^3. Интервал, в котором находится значение входной величины: ±0,01 см^3 Стандартная неопределенность: $u(V_{исх-1}) = \frac{\Delta_{V_{исх-1}}}{\sqrt{6}} = \frac{0,01}{\sqrt{6}} = 0,004082\ см^3$ Относительная стандартная неопределенность: $u(V_{исх-1})/ V_{исх-1} = 0,004089/0,5 = 0,008165$
Интервал возможных значений входной величины определяется пределами допускаемой погрешности используемой мерной посуды, в данном случае пипетки градуированной номинальной вместимостью 1 см^3 2-го класса точности. Предел допускаемой погрешности ±0,01 см^3	

Продолжение таблицы 24

Входная величина: объем аликвоты рабочего раствора, взятый для приготовления рабочего раствора № 2, $V_{раб-1}$, см^3	Тип оценивания неопределенности В Вид распределения: треугольный Значение оценки: *1,0* см^3. Интервал, в котором находится значение входной величины: ±0,01 см^3 Стандартная неопределенность: $u(V_{раб-1}) = \frac{\Delta_{Vраб-1}}{\sqrt{6}} = \frac{0,01}{\sqrt{6}} = 0,004082\ см^3$ Относительная стандартная неопределенность: $u(V_{раб-1})/\ V_{раб-1} = 0,004082/1 = 0,004082$
Интервал возможных значений входной величины определяется пределами допускаемой погрешности используемой мерной посуды, в данном случае пипетки градуированной номинальной вместимостью 1 см^3 2-го класса точности. Предел допускаемой погрешности ±0,01 см^3	

Стандартные неопределенности объемов: $V_{раб-2i}$, V_{H2O-i}, V_{Dns-Cl}, $V_{буфера}$, оценивались на основании пределов допускаемой систематической составляющей основной относительной погрешности и предела допускаемого относительного среднего квадратического отклонения случайной составляющей дозаторов

$$u(V_n) = \sqrt{u(V_\Delta)^2 + u(V_S)^2}\ , \tag{61}$$

$$u(V_\Delta) = \frac{\Delta \cdot V_n}{100 \cdot \sqrt{6}}\ , \text{см}^3, \tag{62}$$

$$u(V_S) = \frac{S \cdot V_n}{100}\ , \text{см}^3, \tag{63}$$

где $u(V_\Delta)$ – стандартная неопределенность, обусловленная отклонением действительного сливаемого объема дозатора от номинального, см^3;

$u(V_S)$ – стандартная неопределенность, обусловленная случайной погрешностью используемого дозатора, см^3;

Δ – предел допускаемой систематической составляющей основной относительной погрешности, %;

S – предел допускаемого относительного среднего квадратического отклонения случайной составляющей, %.

Неопределенность, связанная с температурным расширением жидкостей градуировочных растворов в следствие отличия температуры от 20°С, в относительные стандартные неопределенности вместимости мерной посуды была признана незначимой.

Таблица 25 – Анализ входных величин, связанных с неопределенностью объема экстракта, подготовленного для хроматографирования

Входная величина: объем экстракта, подготовленного для хроматографирования, V, см^3	Входная величина: V, см^3 Тип оценивания неопределенности: В Вид распределения: треугольное Значение оценки для диапазона: $V = 1{,}0$ см^3 $u(V) = \sqrt{u(V_{раб-2i})^2 + u(V_{вода-i})^2 + u(V_{Dns-Cl})^2 + u(V_{буфер})^2}$ Относительная стандартная неопределенность: $\frac{u(V)}{V} = \frac{u(V)}{(V_{раб-2i} + V_{вода-i} + V_{Dns-Cl} + V_{буфер})}$
Входная величина: объем дансилхлорида, $V_{Dns\text{-}Cl}$, см^3	Тип оценивания неопределенности: В Вид распределения: треугольное Значение оценки: $V_{Dns\text{-}Cl} = 0{,}1$ см^3 Стандартная неопределенность, обусловленная отклонением действительного сливаемого объема дозатора от номинального ($\Delta = \pm 1{,}5$ %): $u(V_\Delta) = \frac{\Delta \cdot V_{Dns-Cl}}{100 \cdot \sqrt{6}} = \frac{1{,}5\ \% \cdot 0{,}1\ \text{см}^3}{100\ \% \cdot \sqrt{6}} = 0{,}000612\ \text{см}^3$ Стандартная неопределенность, обусловленная случайной погрешностью используемого дозатора ($S_\Delta = \pm 2{,}0$ %): $u(V_S) = \frac{S_v \cdot V_{Dns-Cl}}{100} = \frac{2{,}0\% \cdot 0{,}1\ \text{см}^3}{100\%} = 0{,}002\ \text{см}^3$ Стандартная неопределенность: $u(V_{Dns-Cl}) = \sqrt{u(V_\Delta)^2 + u(V_S)^2} = 0{,}00209\ \text{см}^3$
Входная величина: объем боратного буферного р-ра, $V_{буфер}$, см^3	Тип оценивания неопределенности: В Вид распределения: треугольное Значение оценки: $V_{буфер} = 0{,}1$ см^3 Стандартная неопределенность, обусловленная отклонением действительного сливаемого объема дозатора от номинального ($\Delta = \pm 1{,}5$ %): $u(V_\Delta) = \frac{\Delta \cdot V_{буфер}}{100 \cdot \sqrt{6}} = \frac{1{,}5\ \% \cdot 0{,}1\ \text{см}^3}{100\ \% \cdot \sqrt{6}} = 0{,}000612\ \text{см}^3$ Стандартная неопределенность, обусловленная случайной погрешностью используемого дозатора ($S_\Delta = \pm 2{,}0$ %): $u(V_S) = \frac{S_v \cdot V_{буфер}}{100} = \frac{2\% \cdot 0{,}1\ \text{см}^3}{100\%} = 0{,}002\ \text{см}^3$ Стандартная неопределенность: $u(V_{буфер}) = \sqrt{u(V_\Delta)^2 + u(V_S)^2} = 0{,}00209\ \text{см}^3$

Продолжение таблицы 25

Входная величина: объема аликвоты рабочего раствора № 2, взятого для приготовления *i*-ого градуировочного раствора, $V_{раб\text{-}2i}$, см^3	Тип оценивания неопределенности: В Вид распределения: треугольное Значение оценки: $V_{раб\text{-}2i}$ = 0,1; 0,15; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5 см^3 Стандартная неопределенность, обусловленная отклонением действительного сливаемого объема дозатора от номинального ($\Delta = \pm 1,5\ \%$): $$u(V_\Delta) = \frac{\Delta \times V_{раб-2i}}{100 \times \sqrt{6}} = \frac{1,5 \times V_{раб-2i}}{100 \times \sqrt{6}}$$ Стандартная неопределенность, обусловленная случайной погрешностью используемого дозатора ($S_\Delta = \pm 2,0\ \%$): $$u(V_S) = \frac{S_v \times V_{раб-2i}}{100} = \frac{2,0 \times V_{раб-2i}}{100}$$ Стандартная неопределенность: $$u(V_{раб-2i}) = \sqrt{u(V_\Delta)^2 + u(V_S)^2}$$
Входная величина: объем дистиллированной воды, взятый для приготовления *i*-ого градуировочного раствора, $V_{вода\text{-}i}$, см^3	Тип оценивания неопределенности: В Вид распределения: треугольное Значение оценки: $V_{вода\text{-}i}$ = 0,7; 0,65; 0,6 см^3 Интервал, в котором находится значение входной величины: ±0,01 см^3 $$u(V_{вода-i}) = \frac{\Delta_{Vвода-i}}{\sqrt{6}}$$ Значение оценки: $V_{вода\text{-}i}$ = 0,5; 0,4; 0,3 см^3 Стандартная неопределенность, обусловленная отклонением действительного сливаемого объема дозатора от номинального ($\Delta = \pm 1,5\ \%$): $$u(V_\Delta) = \frac{\Delta \times V_{вода-i}}{100 \times \sqrt{6}} = \frac{1,5 \times V_{вода-i}}{100 \times \sqrt{6}}$$ Стандартная неопределенность, обусловленная случайной погрешностью используемого дозатора ($S_\Delta = \pm 2,0\ \%$): $$u(V_S) = \frac{S_v \times V_{вода-i}}{100} = \frac{2,0 \times V_{вода-i}}{100}$$ Стандартная неопределенность: $$u(V_{вода-i}) = \sqrt{u(V_\Delta)^2 + u(V_S)^2}$$

Значения пределов допускаемой погрешности дозаторов пипеточных и относительные стандартные неопределенности объемов приведены в таблице 26.

Таблица 26 – Составляющие неопределенности, связанные с объемом экстракта, подготовленного для хроматографирования для *i*-ого градуировочного раствора

Входная величина	Стандартные неопределенности	Массовая концентрация ГМДА в *i*-ом градуировочном растворе, x_i, нг/см^3					
		2,0	3,0	4,0	6,0	8,0	10,0
Объем, $V_{раб\text{-}2i}$, см^3	Объем аликвоты, см^3	0,1	0,15	0,2	0,3	0,4	0,5
	$u(V_{раб\text{-}2i})$	0,002092	0,003137	0,004183	0,006275	0,008367	0,010458
Объем, $V_{вода\text{-}i}$, см^3	Объем аликвоты, см^3	0,7	0,65	0,6	0,5	0,4	0,3
	$u(V_{вода\text{-}i})$	0,014642	0,013596	0,012550	0,010458	0,008367	0,006275
Объем, $V_{Dns\text{-}Cl}$, см^3	Объем аликвоты, см^3	0,1					
	$u(V_{Dns\text{-}Cl})$	0,0020917					
Объем, $V_{буфер}$, см^3	Объем аликвоты, см^3	0,1					
	$u(V_{буфер})$	0,0020917					
u(V)/ V		**0,015083**	**0,014263**	**0,013555**	**0,012550**	**0,012196**	**0,012550**

Суммарная стандартная неопределенность из-за неопределенностей приписанных значений массовой концентрации ГМДА в растворе во всех градуировочных растворах $u(C,x)$ представлена в таблице 27.

Таблица 27 – Суммарная стандартная неопределенность из-за неопределенностей приписанных значений массовой концентрации ГМДА в растворе во всех градуировочных растворах $u(C,x)$

Относительные стандартные неопределенности	Массовая концентрация ГМДА в *i*-ом градуировочном растворе, x_i, нг/см^3					
	2,0	3,0	4,0	6,0	8,0	10,0
$u(m)/m$	0,04082					
$u(w)/w$	0,02697					
$u(V_{исх})/V_{исх}$	0,000816					
$u(V_{исх\text{-}1})/ V_{исх\text{-}1}$	0,008165					
$u(V_{раб})/ V_{раб}$	0,0009798					
$u(V_{раб\text{-}1})/ V_{раб\text{-}1}$	0,004082					
$u(V_{раб\text{-}2})/ V_{раб\text{-}2}$	0,0009798					
$u(V_{раб\text{-}2i})/ V_{раб\text{-}2i}$	0,020917	0,020917	0,020917	0,020917	0,020917	0,020917
$u(V)/ V$	0,015083	0,014263	0,013555	0,012550	0,012196	0,012550
Неопределенность приписанных значений массовой концентрации ГМДА в растворе						
в *i*-ом градуировочном растворе, $u(x_i)$, нг/см^3	0,1122	0,1676	0,2228	0,3327	0,4430	0,5545
суммарная, $u(C,x)$, нг/см^3	0,1399					

11.3.2.2 Составляющая неопределенности, обусловленная случайными колебаниями выходного сигнала

Исследования, проведенные в разделе 5, показали, что градуировочная характеристика описывается линейной зависимостью (1).

В качестве оценки рассматриваемой составляющей относительной стандартной неопределенности принято максимальное из значений стандартного отклонения, полученных для 1, 3 и 5 уровней массовой концентрации ГМДА в градуировочном растворе $S_{x(отн)}$

$$\frac{u(C,y)}{C} = S_{x(отн)}, \quad (64)$$

Суммарную относительную стандартную неопределенность градуировочной характеристики вычисляли по формуле:

$$u_{гр} = \sqrt{\left(\frac{u(C,x)}{C}\right)^2 + \left(\frac{u(C,y)}{C}\right)^2}, \quad (65)$$

В качестве составляющих неопределенности, обусловленных построением градуировочного графика *u(C,x)/C* и *u(C,y)/C*, принимают максимальные из значений, полученных для каждого уровня массовой концентрации ГМДА в градуировочном растворе.

Таблица 28 – Составляющие неопределенности, обусловленные построением градуировочного графика для ГМДА

Массовая концентрация *ГМДА* в *i*-ом градуировочном растворе, x_i, нг/см^3	Неопределенность массовой концентрации *ГМДА* в градуировочных растворах, *u(C,x)/C*, %	Неопределенности измерения сигнала, *u(C,y)/C*, %	Суммарная относительная стандартная неопределенность градуировочной характеристики, $u_{гр}$
2,0	**6,996**	**9,953**	**12,16**
3,0	4,664	6,707	8,17
4,0	3,498	5,074	6,16
6,0	2,332	3,521	4,22
8,0	1,749	2,785	3,29
10,0	1,399	2,354	2,74

11.3.3 Составляющие неопределенности, обусловленные повторяемостью результатов измерений и смещением

Составляющую неопределенности, связанную с фактором повторяемости (возможные расхождения между параллельными измерениями) с учетом того, что за результат измерений принимают среднее

арифметическое результатов двух параллельных измерений, рассчитывают по формуле

$$u_{Frep} = \frac{S_r}{\sqrt{2}}, \quad (66)$$

где S_r – относительное стандартное отклонение повторяемости, %.

В качестве значения составляющей неопределенности, обусловленной смещением метода, примем максимальное относительное значение неопределенности, полученное в п. 10.

Таблица 29 – Составляющие неопределенности, связанные с фактором повторяемости и со смещением метода

Относительное стандартное отклонение повторяемости, Sr, %	Относительная стандартная неопределенность, u_{Frep}, %	Неопределенность, обусловленная смещением метода измерения, $u_{извл.}$, %
7,99	5,65	5,87

11.4 Корреляция

Входные величины рассматриваются как некоррелированные.

11.5 Коэффициенты чувствительности

Коэффициенты чувствительности принимаются равными единице.

11.6 Суммарная стандартная неопределенность

Относительная суммарная стандартная неопределенность массовой концентрации ГМДА в воздушной вытяжке находится в соответствии с законом распространения неопределенностей через относительные стандартные неопределенности влияющих величин

$$u(X)/X = \sqrt{(u_{гр})^2 + (u_n)^2 + (u_{извл})^2 + (u_{Frep})^2}, \quad (67)$$

Бюджет неопределенности представлен в таблице 30.

Таблица 30 – Бюджет неопределенности измерения массовой концентрации ГМДА в воздушной вытяжке

Влияющая величина	Тип оценки	Относительный вклад неопределенности	
Построение и использование градуировочной характеристики	А	$u_{гр}$	12,16
Отбор проб и пробоподготовка	В	$u_{п}$	3,06
Повторяемость результатов измерений массовой концентрации в пробе	А	$u_{Fгр}$	5,65
Смещение (извлечение)	А	$u_{извл.}$	5,82
Относительная суммарная стандартная неопределенность		$u(X)/X$	14,93

11.7 Расширенная неопределенность

Относительная расширенная неопределенность массовой концентрации ГМДА в воздушной вытяжке рассчитывается через умножение относительной суммарной стандартной неопределенности на коэффициент охвата k, выбранный в предположении нормального распределения измеряемой величины.

Коэффициент охвата для нормального распределения равен 2 при уровне доверия 95 %. Относительная расширенная неопределенность

$$U(X) = k \cdot u(X)/X = 2 \cdot u(X)/X \quad (68)$$

11.8 Полный результат измерений

Результат измерения представляют в форме:

«Массовая концентрация ГМДА, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде _____, составила

$$(\overline{X} \pm U)\ \text{нг/м}^3,\ k = 2,\ P = 0{,}95\text{»}, \quad (69)$$

где $\overline{X}$ – результат измерений массовой концентрации определяемого вещества, мг/м^3;

U – расширенная неопределенность, мг/м^3, при коэффициенте охвата $k = 2$ и вероятности охвата 0,95, рассчитывается по формуле

$$U = U(X) \cdot \overline{X} \cdot 0{,}01 \quad (70)$$

$U(X)$ – относительная расширенная неопределенность, %, согласно таблице 18;

0,01 – коэффициент пересчета из процентов в доли единицы.

Значения окончательного результата измерений и расширенной неопределенности в диапазоне измерений от 0,00050 до менее 0,0010 мг/м^3 указывают с округлением до пятого знака после запятой и в диапазоне измерений от 0,0010 мг/м^3 включ. до 0,0025 мг/м^3 указывают с округлением до четвертого знака после запятой.

12 Оценка максимального значения неопределенности измерений

Максимальную относительную суммарную стандартную неопределенность массовой концентрации ГМДА в воздушной вытяжке рассчитываем на основании данных таблицы 17 по формуле (60) для минимального значения массовой концентрации ГМДА в воздушной вытяжке.

Максимальная относительная расширенная неопределенность массовой концентрации ГМДА в воздушной вытяжке рассчитывается согласно (61).

Полученные максимальные значения относительной суммарной стандартной неопределенности и относительной расширенной неопределенности представлены в таблице 31.

Таблица 31 – Максимальные значения относительной суммарной стандартной неопределенности и относительной расширенной неопределенности массовой концентрации ГМДА в воздушной вытяжке

Определяемое вещество	Диапазон измерений массовых концентраций X, мг/м^3	Суммарная стандартная неопределенность, $u(X)/X$	Относительная расширенная неопределенность $U(X)$, %
ГМДА	От 0,00050 до 0,0025 включ.	14,93	30

13 Выводы

По результатам обработки экспериментальных данных, полученных в ходе эксперимента с целью исследования показателей прецизионности и относительной расширенной неопределенности методики измерений [1] в соответствии с требованиями СТБ ISO 5725-2, СТБ ИСО 5725-3, СТБ ISO 5725-4 и СТБ ИСО 5725-6, ГОСТ 34100.3 были установлены значения показателей точности методики измерений массовых концентраций ГМДА в воздушной вытяжке, и значение относительной расширенной неопределенности методики измерений [1], которые представлены в таблице 32.

Таблица 32 — Диапазон измерения массовой концентрации ГМДА в воздушной вытяжке, значения предела повторяемости, промежуточной прецизионности, относительной расширенной неопределенности методики измерений при уровне доверия P = 95 % и k =2

Диапазон измерений массовой концентрации ГМДА	Предел повторяемости r, %	Предел промежуточной прецизионности $R_{RI(TO)}$, %	Относительная расширенная неопределенность $U(X)$ (P=95 %, k =2), %
От 0,00050 до 0,0025 мг/м^3 включ.	22	26	30

Установленный диапазон измерений был подтвержден по результатам исследования предела количественного определения, а также оценивания показателей точности на соответствующих уровнях испытаний. Значение оценки аналитической чувствительности, количественно выраженные наклоном градуировочного графика составляет 18942 с$^{-1}$·см^3/нг.

Предел количественного определения массовой концентрации ГМДА в воздушной вытяжке – 0,00044 мг/м^3. Полученная экспериментально оценка предела количественного определения не превышала нижней границы диапазона измерений методики 0,00050 мг/м^3.

Линейность методики измерений исследована и была подтверждена в диапазоне массовых концентраций градуировочных растворов, приготавливаемых согласно методике измерений.

При исследовании избирательности путем анализа 20 образцов воздушной среды из изделий из полиамидов, не содержащих определяемого вещества, было выявлено наличие пиков со временем удерживания, аналогичному времени удерживания ГМДА. Максимальное значение соответствующих результатов измерений не превышает значение вышеуказанной оценки предела количественного определения.

Устойчивость методики измерений исследована в отношении следующих влияющих параметров: состав подвижной фазы, смена хроматографической колонки, температура колонки, продолжительность проведения реакции, значение pH боратного буферного раствора, концентрация дериватизирующего агента. Устойчивость методики измерений была подтверждена в отношении установленных в методике измерений вышеперечисленных влияющих параметров.

ПРИЛОЖЕНИЕ А
(*обязательное*)

Свидетельства о поверке/калибровке средств измерения, сертификаты

Республиканское унитарное предприятие
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ»

Свидетельство об уполномочивании на осуществление государственной поверки средств измерений № 1 от 24.11.2023

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ГОСУДАРСТВЕННОЙ ПОВЕРКЕ
№ 1-0552936-5024

Дата государственной поверки «30» октября 2024 г.
Действительно до «29» октября 2025 г.

Средства измерений Хроматограф жидкостный Surveyor Plus.
Идентификационный номер Детектор Surveyor PDA Plus № 450250, Детектор Surveyor FL Plus № 650157

Обязательные метрологические требования:

Детектор Surveyor PDA Plus:
Класс точности (погрешность): ОСКО S ≤ 1,0% (автосамплер); ОСКО S ≤ 3,0% (ручной ввод); ОСКО t ≤ 0,1% (автосамплер); ОСКО t ≤ 1,0% (ручной ввод);
$C_{min} \leq 1 \cdot 10^{-9}$ г/см^3; $\Delta X_{AS1M} \leq \pm 3 \cdot 10^{-5}$ е.о.п.; $D \leq \pm 1 \cdot 10^{-3}$ е.о.п./ч; $\delta_{12} \leq 3,0\%$

Детектор Surveyor FL Plus:
Класс точности (погрешность): ОСКО S ≤ 1,0% (автосамплер); ОСКО S ≤ 3,0% (ручной ввод); ОСКО t ≤ 0,5% (автосамплер); ОСКО t ≤ 1,0% (ручной ввод); $C_{min} \leq 1 \cdot 10^{-11}$ г/см^3; S/N ≥ 700; $\delta_{12} \leq 2,0\%$

Заявитель Государственное учреждение "Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья"
Государственная поверка проведена в соответствии с методикой поверки:
МРБ МП.1878-2009

с применением эталонов единиц величин: Кофеин х.ч., м.д. основного вещества ≥ 99,0%; Антрацен х.ч., м.д. основного вещества ≥ 99,0%

Результаты государственной поверки (при необходимости):

На основании результатов государственной поверки средство измерений соответствует обязательным метрологическим требованиям и признано пригодным к применению.

Знак государственной поверки:

Государственный поверитель подпись Махнич Т. Г. расшифровка подписи

Настоящее свидетельство подтверждает прослеживаемость измерений, выполняемых с помощью данного средства измерений, до единиц величин Международной системы единиц (СИ), которые воспроизводятся через передачу в процессе поверки размера единицы величины от национального эталона единицы величины массы НЭ РБ 15-05 согласно схеме передачи размера единицы величины (поверочной схеме), установленной техническими актами по обеспечению единства измерений

Адрес юридического лица, уполномоченного на проведение государственной поверки, тел.: 220053, г. Минск, Старовиленский тракт, 93, тел.: 348-68-20; факс 244-99-38

55

212

Республиканское унитарное предприятие
"Оршанский центр стандартизации, метрологии и сертификации"

Свидетельство об уполномочивании
на осуществление государственной поверки средств измерений № 27 от 24.11.2023

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ГОСУДАРСТВЕННОЙ ПОВЕРКЕ
№27-0011390-0025

Дата государственной поверки 24.03.2025 г.

Действительно до 23.03.2026 г.

Средство измерений: Весы лабораторные электронные AR2140

Идентификационный номер: 1225070232

Обязательные метрологические требования: диапазон измерений: от 0,01 до 210 г; Спец. кл. т. (от 0,01 до 50 г Δ= ±0,5 мг; от 50 до 200 г Δ= ±1,0 мг; от 200 до 210 г Δ= ±1,5 мг)

Заявитель: ГУ "Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья"

Государственная поверка проведена в соответствии с методикой поверки МП.Мн 1020-2001

с применением эталонов единиц величин: Термогигрометр ИВА-6А № 4140, от минус 20 до 60 °С Δ= ± 0,3 °С; от 0 до 90 % Δ= ± 2 %; от 90 до 98 % Δ= ± 3 %; Эталонные гири (1g-500g)E2 № 36925577, кл.т. E2; Эталонные гири (1mg-500mg)E2 № 36925578, кл.т. E2

Результаты государственной поверки (при необходимости): годны

На основании результатов государственной поверки средство измерений соответствует обязательным метрологическим требованиям и признано пригодным к применению.

Знак государственной поверки:

Государственный поверитель _____ (подпись) С.Л. Наумова (инициалы, фамилия)

27 ГВУ 2025 013

Настоящее свидетельство подтверждает прослеживаемость измерений, выполняемых с помощью данного средства измерений, до единиц величин Международной системы единиц (СИ), которые воспроизводятся через передачу в процессе поверки размера единицы величины от национального эталона единицы согласно схеме передачи размера единицы величины (поверочной схеме), установленной техническими актами по обеспечению единства измерений

Адрес юридического лица, уполномоченного на проведение государственной поверки: 211382, Республика Беларусь, Витебская область, г.Орша, пр-т Текстильщиков 31б, тел. 8(0216) 50-64-57

56

Республиканское унитарное предприятие
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ»

Свидетельство об уполномочивании на осуществление государственной поверки средств измерений № 1 от 24.11.2023

БелГИМ

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ГОСУДАРСТВЕННОЙ ПОВЕРКЕ
№ 1-0247053-4925

Дата государственной поверки «12» мая 2025 г.
Действительно до «11» мая 2026 г.

Средства измерений Термогигрометр автономный ИВА-6Н-Д
Идентификационный номер 33876
Обязательные метрологические требования:
Диапазон измерений относительной влажности:
От 0 % до 98 % отн. влажности
Класс точности (погрешность):
± 2,0 % (от 0 % до 90 %); ± 3,0 % (от 90 % до 98 %)
Диапазон измерений температуры воздуха:
От 0 °С до плюс 50 °С
Класс точности (погрешность):
± 0,2 °С (во всем диапазоне)
Диапазон измерений атмосферного давления:
от 525 до 825 мм рт.ст. (от 700 до 1100 гПа);
Класс точности (погрешность):
Δ = ±1,5 мм рт.ст. (Δ = ±2,0 гПа).

Заявитель Государственное учреждение "Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья"

Государственная поверка проведена в соответствии с методикой поверки:
ЦАРЯ.2772.002 МП

с применением эталонов единиц величин: барометр образцовый переносной БОП-1М, модификация БОП-1М-3 № 0416788, диапазон измерений от 5 до 2800 гПа; Δ=±10 Па - в диапазоне от 5 до 1100 гПа; δ=±0,01 % - в диапазоне свыше 1100 до 2800 гПа; термометр лабораторный электронный ЛТ-300 №304683, абсолютная погрешность Δ=±0,05 °С в диапазоне от минус 50 °С до 199,99 °С; Генератор влажного газа HygroGen-2S №VCT-HG2-2143 в комплекте с гигрометром Dew Point Mirror 473 №18-0912, диапазон относит. влажности от 2 % до 99 %, Δ= ±0,5 %; от 0 °С до плюс 60 °С, Δ= ±0,1 °С

Результаты государственной поверки (при необходимости):

На основании результатов государственной поверки средство измерений соответствует обязательным метрологическим требованиям и признано пригодным к применению.

Знак государственной поверки:

Государственный поверитель _____ Кравченко К. Н.
подпись расшифровка подписи

Настоящее свидетельство подтверждает прослеживаемость измерений, выполняемых с помощью данного средства измерений, до единиц величин Международной системы единиц (СИ), которые воспроизводятся через передачу в процессе поверки размера

57

единицы величины от Национального эталона единицы температуры – кельвина НЭ РБ 2-95; Государственного первичного эталона единицы давления для области абсолютного давления в диапазоне $1 \cdot 10^{-1}$ - $7 \cdot 10^{5}$ Па ГЭТ 101-2011; Национального эталона единицы относительной влажности воздуха и температуры точки росы/инея НЭ РБ 58-20

Адрес юридического лица, уполномоченного на проведение государственной поверки, тел.: 220053, г. Минск, Старовиленский тракт, 93, тел.: +37517-365-01-01; факс 244-99-38

58

212

Республиканское унитарное предприятие
"Оршанский центр стандартизации, метрологии и сертификации"

Свидетельство об уполномочивании
на осуществление государственной поверки средств измерений № 27 от 24.11.2023

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ГОСУДАРСТВЕННОЙ ПОВЕРКЕ
№27-0014382-0025

Дата государственной поверки 24.03.2025 г.

Действительно до 23.03.2026 г.

Средство измерений: pH - метр pH-150M в комплекте с электродом ЭСК-10603/4

Идентификационный номер: 0379

Обязательные метрологические требования: диапазон измерений: от 0 pH до 12 pH; от минус 1 999 мВ до 1 999 мВ; от 0 °С до 100 °С; Δ = ± 0,05 pH; Δ= ± 2,0 °С; Δ = ± 3,0 мВ

Заявитель: ГУ "Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья"

Государственная поверка проведена в соответствии с методикой поверки МП.МН 411-98

с применением эталонов единиц величин: Термометр ртутный стеклянный лабораторный ТЛ-4 № 1470, ц.д. 0,1 °С; Иммитатор электродных систем И-02 № 0107, Согласно ТО; ГСО Стандарт - титры для приготовления буферных растворов № б/н, 2 разряд; Потенциометр полуавтоматический постоянного тока Р 345 № 0251, δ= ±0,001 %; Магазин сопротивления МСР-63 № 05390, ±(0,05+0,02m/R)

Результаты государственной поверки (при необходимости):

На основании результатов государственной поверки средство измерений соответствует обязательным метрологическим требованиям и признано пригодным к применению.

Знак государственной поверки:

Государственный поверитель _____ (подпись) А.В. Стеблевский (инициалы, фамилия)

Настоящее свидетельство подтверждает прослеживаемость измерений, выполняемых с помощью данного средства измерений, до единиц величин Международной системы единиц (СИ), которые воспроизводятся через передачу в процессе поверки размера единицы величины от национального эталона единицы согласно схеме передачи размера единицы величины (поверочной схеме), установленной техническими актами по обеспечению единства измерений

Адрес юридического лица, уполномоченного на проведение государственной поверки: 211382, Республика Беларусь, Витебская область, г.Орша, пр-т Текстильщиков 31б, тел. 8(0216) 50-64-57

59

Республиканское унитарное предприятие
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ»

Свидетельство об уполномочивании на осуществление государственной поверки средств измерений №1 от 24.11.2023

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ГОСУДАРСТВЕННОЙ ПОВЕРКЕ
№ 1-0075123-4925

Дата государственной поверки «17» января 2025 г.
Действительно до «16» января 2026 г.

Средства измерений аспиратор ПУ-4Э
Идентификационный номер 7031
Обязательные метрологические требования:
Диапазон измерений расхода от 0,2 до 2,0 дм^3/мин; от 2 до 20 дм^3/мин; пределы допускаемой приведенной погрешности измерения расхода ± 5 %; диапазон времени отбора от 1 до 99 мин; предел допускаемой относительной погрешности времени отбора ± 0,5 %

Заявитель Государственное учреждение "Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья"

Государственная поверка проведена в соответствии с методикой поверки:
Приложение А к РЭ ЕКВН4.471.000(-01) РЭ, утв. ФБУ «Ростест-Москва»
с применением эталонов единиц величин: счетчик газа барабанный ГСБ-400 № 2174, I кл.т.; счетчик газа барабанный TG25/5 №0.525.ССН, δ = ±0,5 %; секундомер электронный ИНТЕГРАЛ С-01 № 442355,от 0 до 9 ч 59 мин 59,99 с, пределы допускаемой основной абсолютной погрешности измерения в режиме секундомера $\pm(9{,}6\cdot10^{-6}\cdot T_x+0{,}01)$, где T_x-значение измеренного интервала времени, с.

Результаты государственной поверки (при необходимости):

На основании результатов государственной поверки средство измерений соответствует обязательным метрологическим требованиям и признано пригодным к применению.

Знак государственной поверки:

Государственный поверитель подпись Шевель Кирилл Павлович
расшифровка подписи

Настоящее свидетельство подтверждает прослеживаемость измерений, выполняемых с помощью данного средства измерений, до единиц величин Международной системы единиц (СИ), которые воспроизводятся через передачу в процессе поверки размера единицы величины от национального эталона единицы величины или эталона единицы величины иностранного государства средству измерений согласно схеме передачи размера единицы величины (поверочной схеме), установленной техническими нормативными правовыми актами в области технического нормирования и стандартизации по обеспечению единства измерений

Адрес юридического лица, уполномоченного на проведение государственной поверки, тел.:
220053, г. Минск, Старовиленский тракт, 93, тел.: 363-37-87; факс 244-99-38

60

«МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ»
Республиканское унитарное предприятие «Медтехноцентр»
Отдел метрологии и измерительной техники

Свидетельство об уполномочивании на осуществление государственной поверки средств измерений
№38 от 05.08.2021

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ГОСУДАРСТВЕННОЙ ПОВЕРКЕ
№ 38-0003887-0025

Дата государственной поверки «18» февраля 2025 г.
Действительно до «17» февраля 2026 г.

Средства измерений Дозатор пипеточный "Лайт" ДПОП-1-100-1000
Идентификационный номер 2127131
Обязательные метрологические требования:
диапазон измерений от 100 до 1000 мкл
относительная погрешность от ± 1,5% до ± 1,0%
ОСКО ≤ от 2,0% до 1,0%

Заявитель Государственное учреждение 'Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья'
Государственная поверка проведена в соответствии с методикой поверки:
МП 2301-0132-2013
с применением эталонов единиц величин: Весы лабораторные электронные, MB 210-A, 28225021, диапазон измерений от 0,001 до 80/210 г специальный класс точности (до 50 г вкл. - ± 0.1 мг; св. 50 г до 200 г вкл. - ± 0,5 мг, св. 200 г - ± 0,6 мг); Весы лабораторные электронные, XP 26, 1129422787, диапазон измерений от 0,0001 до 22 г специальный класс точности (до 5 г - ± 0.02 мг; св. 5 г - ± 0,04 мг)

Результаты государственной поверки (при необходимости):

На основании результатов государственной поверки средство измерений соответствует обязательным метрологическим требованиям и признано пригодным к применению.

Знак государственной поверки:

Государственный поверитель _____ Воложинская Людмила Владимировна
подпись расшифровка подписи

Настоящее свидетельство подтверждает прослеживаемость измерений, выполняемых с помощью данного средства измерений, до единиц величин Международной системы единиц (СИ), которые воспроизводятся через передачу в процессе поверки размера единицы величины от национального эталона единицы величины или эталона единицы величины иностранного государства средству измерений согласно схеме передачи размера единицы величины (поверочной схеме), установленной техническими нормативными правовыми актами в области технического нормирования и стандартизации по обеспечению единства измерений

Адрес юридического лица, уполномоченного на проведение государственной поверки, тел.:
220037, г. Минск, ул. Ботаническая 16 тел.: +375(17) 347-57-45 e-mail: metro@medtc.by

61

LGC | DR EHRENSTORFER™

REFERENCE MATERIAL CERTIFICATE

Reference Material

This certificate is designed in accordance with ISO Guide 31. This reference material (RM) was designed, produced and verified in accordance with a registered quality management system ISO 9001. All measurements were performed according to ISO/IEC 17025 by a DAkkS accredited laboratory (D-PL-19883-01-00).

Product Name
Hexane-1,6-diamine

Product Code DRE-C14195520	Lot Number 1538558
CAS No. 124-09-4	Format Neat
Mol. Weight 116.20	Expiry Date 09 May 2028
Mol. Formula $C_6H_{16}N_2$	Storage Temp 4°C ± 4°C



CERTIFIED	CERTIFIED
Purity 92.7% (g/g)	Expanded Uncertainty (U) 5.0% (g/g)

Uncertainty
The certified value(s) and uncertainty(ies) are determined in accordance with EURACHEM/CITAC Guide for "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3rd edition", with an 95% confidence level (k=2). Uncertainty is based on the Total Combined Uncertainty, including uncertainties of characterisation and stability testing. Stability values are based on real evidence opposed to simulation.

The producer certifies that this reference material meets the specification stated in this certificate until the expiry date, provided it is stored unopened at the recommended temperature herein. Product warranties for this reference material are set out in the terms and conditions of purchase.

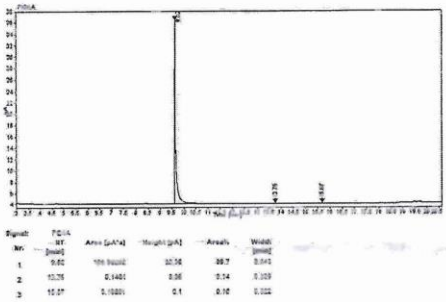
CERTIFIED BY	CERTIFIED ON		
L. Messerschmid	09 May 2025	L. Messerschmid	RM Release

Certificate Verified
12 May 2025

LGC | DR EHRENSTORFER™

REFERENCE MATERIAL CERTIFICATE

CHROMATOGRAM



Signal:	FID1A				
No.	RT [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area%	Width [min]
1	9.60	199.91000	32.56	99.7	0.041
2	10.25	0.14401	0.06	0.14	0.029
3	10.67	0.10001	0.1	0.16	0.022

Instrument
GC/FID

Detection
FID

Column
Optima-5MS, 0.25 µm, 0.25 mm

Method Details
Initial Temp: 60°C / 5 min, End Temp: 280°C / 1 min, Gradient: 15°C/min

Inj.-Vol.
1.0 µL

Flow
1 mL/min

Method of Characterisation
Purity was determined by quantitative 1H-NMR

Method of Identification
EA, NMR, RT, IR, MS

Batch Information
Water Content: 2.0% (g/g) by Karl-Fischer-Titration (U(exp) = 0.2% (g/g)).
Storage under argon.

Intended Use
This RM is intended for use in a laboratory as a calibration and quality control standard or in method development for analytical techniques.

Safety
Proper precautions should be observed while handling. See Safety Data Sheet.

Traceability
The balances used for gravimetric measurements are calibrated with weights traceable to the national standards (DKD). The calibration of the balances is verified daily internally and annually by an external accredited calibration service. Chromatographic methods are traceable to the International System of Units (SI).

Storage
The RM should be stored in the original sealed container at the indicated temperature.

Instructions for use
It is recommended to use 1 mg as the minimum sample size and if less material is used, to increase the certified uncertainty by a factor of two for half sample and four for a quarter of sample. If storage after opening is necessary, the RM should be tightly closed and kept from light and moisture. If the RM was in a sealed ampoule, it should be transferred to a vial with minimum head space. Visit the support section of our website lgcstandards.com for a series of Dr. Ehrenstorfer Tech Tip videos and frequently asked questions.

LGC Labor GmbH
Bgm.-Schlosser-Straße 6A
86199 Augsburg, Germany
T | +49 821 906080
F | +49 821 9060880
E | dr.ehrenstorfer@lgcgroup.com



Сертификат анализа
1

Страница 1 из 8004

ВК УДОВЛЕТВОРИТЕЛЬНО

ThermoFisher SCIENTIFIC

Версия	00
Молекулярная масса	269.75
Молекулярная формула CAS №	C12 H12 Cl N O2 S 605-65-2
Температура вспышки по линейной формуле (° C)	

03.24

1,0 × 499,62

Сертификат анализа

Продукты обрабатываются в соответствии с системами менеджмента качества ISO 9001:2015, а образцы проверяются на соответствие указанным спецификациям. Некоторые данные могли быть предоставлены третьими лицами. Мы отказываемся от подразумеваемых гарантий товарности и пригодности для определенной цели, а также точности данных или информации третьих лиц, связанных с продуктом. Продукты предназначены только для исследований и разработок. Продукты не предназначены для непосредственного введения людям или животным. Конечный составитель или конечный пользователь несет ответственность за определение пригодности, а также за квалификацию и (или) валидацию каждого продукта для его предполагаемого использования.

Номер по каталогу	11585	**Дата испытания качества/выпуска**	10/03/2024
Номер серии	A0466405	**Предлагаемая дата повторного испытания**	10/03/2029
Описание	Дансилхлорид, 98%		
Страна происхождения	КИТАЙ		
Декларация о происхождении	синтетический продукт		

ГЭКРС/ГГЭ
Химический

Наименование результата	Технические требования	Тестовое значение
Внешний вид (цвет)	От желтого до светло-оранжевого	Желтый
Внешний вид (форма)	Кристаллический порошок и/или куски	Кристаллический порошок
Инфракрасный спектр	Соответствует	Соответствует
Температура плавления	от 70 ° C до 74 ° C	73 ° C
ВЭЖХ	>=97.5 %	98.2 %

C. Wygaerts, менеджер по обеспечению качества

Выпущено: 10-04-2024

Acros Organics BV

ENA23, zone1, nr 1350, Janssen Pharmaceuticalaan 3a, B-2440 Geel, Belgium Тел +32 14/57.52.11 - Факс + 32 14/59.34.34 Интернет: https://www.thermofisher.com 1 Reagent Lane, Fair Lawn, NJ 07410, USA Факс 201-796-1329

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ «БиоПлюс» Для документов МИНСК

64

24шт х 2,5л соответствует ОК

CARLO ERBA

Carlo Erba Reagents S.A.S.
Rue d'Arcueil
Chemin du Vieux
27106 Val de Reuil Cedex
Tél. 02.32.59.60.00
Fax 02.32.09.07.00

S.r.l. Via Biasini - 26
20026 Novate
Tel. 024.03.03.45.61
Fax 024.03.74.41.99

Carlo Erba Reagents S.r.l.
Via R. Boscovich, 22
20124 Milano
Tel. 02 89 304 89 Fax 02 89 301 301

Сертификат анализа

ПРОДУКТ АЦЕТОНИТРИЛ RS - для ВЭЖХ PLUS Gradient grade - ACS- Reag.Ph.Eur. - Reag.USP

КОД : 412392000
ПАРТИЯ N° : P3A621193A
СРОК ГОДНОСТИ : 01/2027
CAS №: 75-05-8
ФОРМУЛА: CH3CN

Молекулярная масса: 41,05

ИССЛЕДОВАНИЕ	ЕД. ИЗМ	ХАРАКТЕРИСТИКИ	РЕЗУЛЬТАТ
Физические свойства	-	Прозрачная бесцветная жидкость	Соответствует
Цвет	APHA	<= 10	5
Идентификация	-	Положительная	Соответствует
Плотность при 20°C	-	0,781 – 0,785	Соответствует
Рефракционный индекс при 20°C	-	1,3420 – 1,3443	1,3439
Температурный интервал кипения фракции при 95% выделении	°C	80 - 82	Соответствует
Содержание воды (по К.Ф.)	%	<= 0,01	0,00
Сухой остаток	%	<= 0,0002	<0,0002
Титруемая кислотность	meq/g	<= 0,0008	< 0,0008
Кислотно-основное титрование	meq/g	<= 0,0002	< 0,0002
Анализ (газожидкостная хроматография)	%	>= 99,9	99,99
Флуоресценция	-	-	-
при 254 нм	ppb	<= 1	<1
при 365 нм	ppb	<= 0,5	<0,5
при 450 нм	ppb	<= 0,5	<0,5
Поглощающая способность УФ	-	-	-
При 190 нм	AU	<= 1,00	0,6
При 200 нм	AU	<= 0,05	0,02
При 220 нм	AU	<= 0,05	0,007
При 254 нм	AU	<= 0,01	0,000
От 240 до 420 нм	%	<= 0,01	<0,01
Пропускаемость УФ	-	-	-
при 195 нм	%	>= 79	82
при 200 нм	%	>= 90	95
при 210 нм	%	>= 95	98
при 220 нм	%	>= 98	98
От 240 до 420 нм	%	>= 98	>98
Функциональность для ВЭЖХ	-	-	-
При 210 нм	mAU	<= 2	1,1
При 254 нм	mAU	<= 0,8	0
Тест лакмусовая бумага	-	Соответствует	Соответствует
Поглощение ACS	-	Тест пройден	Соответствует
Градиентное элюирование ACS	-	Тест пройден	Соответствует

Фильтрация при 0,2 микрон

Клиент несет ответственность за то, чтобы убедиться, что приобретенный продукт подходит для его использования и/или применения. CARLO ERBA не будут виновны в каком-либо неправильном использовании или неправильном обращении с каким-либо из своих продуктов, возможном ущербе или вреде для пользователя в случае ненадлежащего использования.

Дата утверждения : 18/01/2023

Не подписано. Документ создан электронным способом.
ОТВЕТСТВЕННЫЙ ЗА КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА
П. ГЕРАРД (PEYRARD)

65

21.01.2025 и.СЧ

АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «ВЕКТОН»
Сп-Б, ул. 2-ой Луч, д. 9 А
Тел.: (812) 337-27-27; Факс: (812) 337-27-27

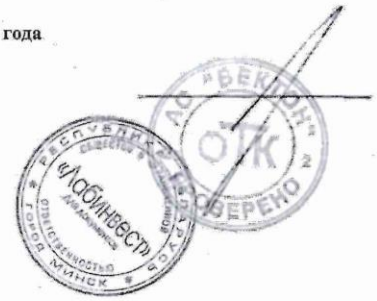
Паспорт

Товар: **Натрий тетраборнокислый, 10-водный**
Квалификация: **ЧДА**
Тип стандарта: **ГОСТ**
Стандарт: **4199-76**
ОКП: **2621120932**

Дата изготовления: **05.2024**
Партия: **15**

№ п/п	Наименование показателя	Требование	Результаты анализа
1	Массовая доля основного вещества, %	99,5-101,0	100,0
2	Массовая доля примесей, % не более:		
3	Нерастворимые в соляной кислоте вещества	0,005	0,005
4	Растворимость в воде	Испытание	Испытание
5	Карбонаты (CO3)	Испытание	Испытание
6	Сульфаты (SO4)	0,005	0,005
7	Фосфаты (PO4)	0,001	0,001
8	Хлориды (Cl)	0,002	0,002
9	Железо (Fe)	0,0005	0,0005
10	Кальций (Ca)	0,01	0,01
11	Мышьяк (As)	0,0002	0,0002
12	Тяжелые металлы (Pb)	0,001	0,001
13	pH 5%-ного раствора препарата	9-10	9,5

Гарантийный срок хранения: **3 года**
Продукт соответствует требованиям
Контролер ОТК



66

122

Страна происхождения: Россия
Акционерное общество «Башкирская содовая компания»
453110, Республика Башкортостан, г. Стерлитамак, ул. Техническая, 32

ИНТЕГРИРОВАННАЯ СИСТЕМА МЕНЕДЖМЕНТА СЕРТИФИЦИРОВАНА НА СООТВЕТСТВИЕ ТРЕБОВАНИЯМ ГОСТ Р ИСО 9001; ГОСТ Р ИСО 14001; ГОСТ Р ИСО 45001; ГОСТ Р ИСО 22000

ПАСПОРТ № 963673
РЕАКТИВЫ
НАТРИЯ ГИДРООКИСЬ, (ч.д.а.)
ГОСТ 4328-77, изм.1,2

Станция (пункт) назначения: УФА
Номер партии: 207
Дата изготовления: 02-03.03.2025г.
Номер транспортного средства(авто/машина): К 281 МТ 702
Количество мест:40 Вид упаковки: полиэтиленовая бочка.
Масса нетто: 2,400 т / Масса брутто:2,520 т

№ п/п	НАИМЕНОВАНИЕ ПОКАЗАТЕЛЯ	НОРМА ч.д.а. ОКП 26 1142 0082 02 (ОКПД2 20.13.25.111)	РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПЫТАНИЙ
1	Массовая доля гидроокиси натрия (NaOH), %, не менее	98	98,8
2	Массовая доля углекислого натрия (Na_2CO_3), %, не более	1,0	0,2
3	Массовая доля общего азота, %, не более	0,0005	< 0,0005
4	Массовая доля кремнекислоты (SiO_2), %, не более	0,002	< 0,002
5	Массовая доля сульфатов (SO_4),%, не более	0,0050	< 0,0020
6	Массовая доля фосфатов (PO_4), %, не более	0,0030	< 0,0030
7	Массовая доля хлоридов (Cl), %, не более	0,0050	< 0,0025
8	Массовая доля азомиция (Al), %, не более	0,0010	< 0,0010
9	Массовая доля железа (Fe), %, не более	0,0010	< 0,0010
10	Массовая доля кальция и магния в пересчете на Mg, %, не более	0,024	0,006
11	Массовая доля тяжелых металлов (Ag), %, не более	0,0010	< 0,0010

Вид и тип тары по ГОСТ 3885-73 с изм.1-5 п.3.3.

Гарантийный срок хранения в крытых складских помещениях в таре изготовителя – шесть месяцев со дня изготовления.

Заключение: продукт соответствует требованиям ГОСТ 4328-77, изм.1,2, квалификация «чистый для анализа» (ч.д.а.)

Лицо, ответственное за выдачу паспорта _____ /Бобылева О.И.

Дата выдачи паспорта: 14.03.2025г.

При возникновении вопросов по качеству продукта обращаться по тел./факс: (3473) 29-57-41

* 0 1 0 0 4 2 8 1 4 7 4 9 7 7 9 3 4 8 9 1 *

67

Вспуск. ЦГ 7 31.01.2025 и. Сч

CHEMMAN МОСРЕАКТИВ

АО «База № 1 Химреактивов»

Отдел контроля качества и технологии

142450 Московская область, г.о. Богородский, г.Старая Купавна, ул. Дорожная, д.1/9, пом.62. тел.702-92-46, 702-96-07, факс.702-95-63, 702-95-49. www.baza1r.ru.

ПАСПОРТ 1кг

Наименование продукции		Натрия гидроокись, «ч.д.а.»	
Анализ выполнен по ГОСТ		4328-77	
Код ОКП	26 1142 0082 02	Номер партии	67
Дата анализа		Дата изготовления	27.12.2024
Производитель		Гарантийный срок хранения	6 месяцев

ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА

Наименование показателей	Требования ГОСТа для реактива квалификации «ч.д.а.»	Результат анализа
1. Массовая доля гидроокиси натрия (NaOH). %, не менее	98	99,5
2. Массовая доля углекислого натрия (Na_2CO_3), % не более	1,0	0,42
3. Массовая доля общего азота, % не более	0,0005	0,00025
4. Массовая доля кремнекислоты (SiO_2), %, не более	0,002	0,002
5. Массовая доля сульфатов (SO_4), %, не более	0,005	0,002
6. Массовая доля фосфатов (PO_4), %, не более	0,003	0,001
7. Массовая доля хлоридов (Cl), %, не более	0,005	0,0025
8. Массовая доля алюминия (Al), % не более	0,001	0,001
9. Массовая доля железа (Fe), % не более	0,001	0,00025
10. Массовая доля кальция и магния в пересчете на Mg , % не более	0,024	0,001
11. Массовая доля тяжелых металлов, % не более	0,001	0,001

Заключение: Натрия гидроокись соответствует требованиям ГОСТ 4328-77 для реактива квалификации «ч.д.а.».

Контролёр Яковлева О.А.

68

АО «База № 1 Химреактивов»
Отдел контроля качества и технологии
142450 Московская область, Ногинский район, г.Старая Купавна, ул. Дорожная, д.1/9, пом.62. тел.702-92-46, 702-96-07, факс.702-95-63, 702-95-49. www.baza1r.ru.

ПАСПОРТ

Наименование продукции		**Кислота соляная, «х.ч.»**	
Анализ выполнен по ГОСТ		3118-77	
Дата анализа		Номер партии	160
Производитель		Дата изготовления	01.09.2024
		Гарантийный срок хранения	1 год

ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА

Наименование показателя	Требования ГОСТа для реактива квалификации «х.ч.».	Результат анализа
1.Внешний вид	Должен выдерживать испытание по п. 3.2	Выдерживает
2.Массовая доля соляной кислоты (HCl), %	35 – 38	36,5
3.Массовая доля остатка после прокаливания (в виде сульфатов), %, не более	0,0005	0,0005
4. Массовая доля сульфитов (SO_3), %, не более	0,0002	0,0002
5. Массовая доля сульфатов (SO_4), %, не более	0,0002	0,0002
6.Массовая доля свободного хлора(Cl), % не более	0,00005	0,000043
7.Массовая доля аммонийных солей (NH_4), %, не более	0,0003	0,0003
8.Массовая доля железа (Fe), %, не более	0,00005	0,00005
9. Массовая доля мышьяка (As), %, не более	0,000005	0,000005
10. Массовая доля тяжёлых металлов (Pb), %, не более	0,00005	0,00005

Заключение: Кислота соляная соответствует требованиям ГОСТ 3118-77 для реактива квалификации «х.ч.»

Контролёр Серочкина А.А.

69

БИБЛИОГРАФИЯ

[1] «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием» / разраб.: Т.П. Крымская, П.А. Станишевская, М.С. Турко; НИИ ГТЭВМ РЦГЭиОЗ. – Минск, 2025. – 39 с.

[2] ЦАРЯ.2772.001 РЭ Термогигрометры ИВА-6А, ИВА-6Н Руководство по эксплуатации.

[3] ТУ 9452-016-00480514-95 Поглотители.

[4] Физико-химические методы анализа: практ. руководство/под ред. В.Б. Алесковского – Л.: Химия, 1988. – 373 с.

[5] Решение № 113. Руководство по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств (утверждено 17.07.2018 Коллегией Евразийской экономической комиссии).

[6] Performances in ICP-OES. https://www.horiba.com/int/scientific/technologies/inductively-coupled-plasma-optical-emission-spectroscopy-icp-oes/performances-in-icp-oes/

[7] Commission Implementing Regulation (EU) 2021/808 on the performance of analytical methods for residues of pharmacologically active substances used in food-producing animals and on the interpretation of results as well as on the methods to be used for sampling and repealing Decisions 2002/657/EC and 98/179/EC.

[8] Vander Heyden Y, Gudance for robustness/ruggedness tests in method validation / Vander Heyden Y et al. / J. Pharm. Biomed. Anal. 24 (2001) 723-753.

[9] Эпштейн Н.А., Севастьянова В.Л., Королева А.И. Исследование робастности при валидации методик ВЭЖХ и УЭЖХ: современный подход, включающий анализ рисков / Н.А. Эпштейн, В.Л. Севастьянова, А.И. Королева / Разработка и регистрация лекарственных средств. № 1 (22) (2018) 97-109.

[10] Количественное описание неопределенности в аналитических измерениях: Руководство ЕВРАХИМ/СИТАК: пер. с англ. / под общ. ред. Л.А. Конопелько, 2-е изд. – СПб: ВНИИМ им. Д.И. Менделеева, 2002. –149 с.

[11] Примеры оценивания неопределенностей из различных областей измерений и испытаний: практ. пособие/ Н.Ю. Ефремова, С.А. Качур. – Минск, 2006. – 60 с.

[12] Руководство по выражению неопределенности измерения/ пер. с англ. под науч. ред. проф. В.А. Слаева – Спб.: ГП ВНИИМ им. Д.И. Менделеева, 1999. – 134 с.

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Ответы на рекомендации по доработке отчетных документов от представителя Комитета технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан

Предложения, озвученные в ходе обсуждения, представителями Комитета технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан

Вопрос:

Реферат:

- Не соответствует ГОСТ 7.9-95. Следует выделить:
  - **Объект** (градуировочные растворы ГМДА, воздушные вытяжки из изделий);
  - **Методы** (ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием, предварительная дериватизация);
  - **Результаты** (предел количественного определения 0,00044 мг/м^3, оптимальные условия реакции);
  - **Выводы** (предложен проект методики, пригодной для применения в рамках ТР ТС);
  - **Область применения** (испытательные лаборатории, проводящие гигиеническую экспертизу изделий из полиамидов).

Ответ: согласно ГОСТ 7.32-2017 (раздел 5.3, п. 5.3.2.2, раздел 6.12, приложение В), а также ГОСТ 7.9-95 отсутствуют требования к полужирному начертанию названий структурных частей реферата. Текст реферата, представленного в Отчете о НИР, содержит следующие структурные части: «объект исследования», «цель работы», «методы», «результаты работы», «выводы», «область применения» (стр. 5 Отчета о НИР) и соответствует требованиям ГОСТ 7.32-2017 и ГОСТ 7.9-95.

Вопрос:

Методическая часть:

- Проведен подробный анализ дериватизирующих агентов (DABS-Cl, Dns-Cl, Fmoc-Cl, PSCl, AQC, DBD-COCl, MDPF), но нет обобщающей таблицы с чувствительностью, LOQ/LOD, стабильностью и скоростью анализа.
- Не приведены данные по **стоимости анализа** (на пробу, реагенты, человеко-часы) и **производительности** (время на пробу, пропускная способность) — несмотря на качественные выводы о “приемлемой стоимости и производительности”.

Ответ: Разделом 4 ГОСТ 7.32-2017 определены обязательные структурные элементы Отчета о НИР. Остальные структурные элементы включают в Отчет о НИР по усмотрению исполнителя НИР. ГОСТ не установлено требование к указанию в Отчете о НИР обобщающей таблицы с чувствительностью, LOQ/LOD, стабильностью и скоростью анализа, данных по стоимости анализа и производительности.

Сравнительная таблица дериватизирующих реагентов представлена на стр. 21 Отчета о НИР («Таблица 2 – Сравнительная характеристика реагентов для дериватизации»

и на слайде 7 презентации Отчета о НИР. Более подробное описание дериватизирующих агентов представлено в разделе 3.2 Отчета о НИР.

Отчет о НИР содержит сведения о стоимости реагента в п. 3.2.5 стр. 25 в отношении реагента AQC со ссылкой на статью *Quantification of Glutamate and Aspartate by Ultra–High Performance Liquid Chromatography, C. Agius [et al.], 2018,* в которой в качестве недостатков применения AQC приводится его дороговизна.

Согласно Договору № Н-16/303 от 11.11.2024 с Международной организацией Евразийская экономическая комиссия отсутствует требование к решению задачи о предоставлении данных по стоимости и производительности анализа.

Вопрос:

Международный обзор:

- В таблице 1 хорошо представлены методы определения ГМДА в биоматериалах, воде и модельных пробах, но фактически **нет прямых аналогов для воздушной среды**, что стоит подчеркнуть в выводах. Также стоит указать, что сам по себе ГМДА обладает крайне низкой летучестью, и его переход в газовую фазу возможен лишь при специфических условиях — например, при наличии остаточного мономера в изделии или нарушении режима отмывки волокна на финальных стадиях производства.

Ответ: анализ информационных источников в части определения ГМДА и основные выводы представлены в Отчете о НИР (1 этап, промежуточный) от 25 ноября 2024 г.

Выводы в части применяемых методов и методик определения гексаметилендиамина в объектах окружающей среды и воздушной среде, в том числе выделяемого из изделий из полиамидов, в законодательстве экономически развитых государств (США, Великобритания, Германия, Китай, Япония) представлены на стр. 15 Отчета о НИР.

Вопрос:

Сравнение с альтернативами:

- Следовало бы включить сравнение ВЭЖХ-ФЛД с UPLC (ультравысокоэффективной жидкостной хроматографией), особенно с учётом тенденции к её внедрению в рутинный анализ. Возможна табличная сводка:
  - Время анализа (мин);
  - LOQ (мг/м^3);
  - Стоимость реагентов/стандартов;
  - Стабильность дериватизатов;
  - Требования к подготовке проб.

Ответ: при разработке методики определения массовой концентрации гексаметилендиамина в воздушной среде проведение сравнительного анализа таких методов как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и ультра

высокоэффективная жидкостная хроматография (УВЭЖХ) нецелесообразно, ввиду возможности использования обоих методов жидкостной хроматографии.

Необходимым условием согласно выводам по Отчету о НИР (1 этап, промежуточный) от 25 ноября 2024 г. при разработке методики и дальнейшем ее применении является использование флуориметрического детектора (ФЛД), который возможно использовать в любой системе: ВЭЖХ, УВЭЖХ.

Вопрос:

Практическая реализация:

- Валидация проводится на модельных вытяжках. Отсутствует информация о результатах анализа **реальных изделий** из полиамидов — даже без количественной оценки. Это необходимо для демонстрации работоспособности методики на объектах применения. Следует подчеркнуть, что для типовых изделий из нейлона вероятность выделения летучего ГМДА невелика, что требует особенно чувствительных методов, либо оценки условий, при которых такое выделение возможно.

Ответ: Методика определения уровня миграции, выраженного в единицах массовой концентрации, в воздушную среду гексаметилендиамина разрабатывается в целях применения и исполнения требований технических регламентов (ТР ТС 005/2011, ТР ТС 007/2011, ТР ТС 008/2011, ТР ТС 017/2011, ТР ТС 019/2011, ТР ТС 025/2012, ТР ЕАЭС 042/2017) и достоверной оценки соответствия объектов технического регулирования. Предельно допустимая концентрация (ПДК) гексаметилендиамина в воздушной среде из товаров народного потребления составляет 0,001 мг/м^3. ПДК определяет требования к чувствительности разрабатываемой методики – не более 0,0005 мг/м^3. Предел количественного определения массовой концентрации ГМДА в воздушной вытяжке разрабатываемой методики составил 0,00044 мг/м^3. Разработанная методика по нижнему диапазону определения соответствует половине предельно допустимого нормативного значения содержания гексаметилендиамина в воздушной среде. Применение более чувствительной методики не целесообразно.

Выделения ГМДА в воздух возможно в виде паров и аэрозоля, в виде длинных игл вещество возгоняется согласно *Томилов, А. П. Адиподинитрил и гексаметилендиамин, 1974* (стр. 43 Отчета о НИР).

Получение воздушной вытяжки из образцов изделий, содержащих в своем составе полиамид, проводят при определенных условиях и в соответствии с требованиями нормативных документов, которые представлены на стр. 42. Отчета о НИР и стр. 14 проекта Методики (приложение А Отчета о НИР).

Условия моделирования зависят от условий эксплуатации, а условия, при которых ГМДА будет с большой вероятностью переходить в воздушную среду из изделий из полиамидов, совершенно не соответствуют условиям эксплуатации.

На стр. 44 Отчета о НИР и на стр. 6 отчета о проведении экспериментальных исследований показателей точности методики измерений (приложение Б Отчета о НИР)

описаны образцы для исследования. Были использованы реальные воздушные вытяжки из образцов из полиамидов, с внесенным раствором точной массовой концентрации ГМДА, которые учитывают влияние матрицы на извлечение и определение гексаметилендиамина в воздушной среде.

Проект Методики прошел проверку пригодности в двух аккредитованных испытательных лабораториях, чем подтвердил практическую реализацию.

Вопрос:

Рекомендации к доработке:

- Описать стабильность дериватизатизированных образцов во времени — это ключевой параметр для полевой пробы;
- Добавить краткий сравнительный анализ с существующими методиками (например, из базы EPA, DIN, GBZ) в табличной форме.
- Формализовать реферат.

Ответ: необходимые сроки хранения дериватизированных образцов представлены на стр. 13 проекта Методики (приложение А Отчета о НИР). Сроки хранения отобранных проб воздушной среды представлены на стр. 14-15 проекта Методики (приложение А Отчета о НИР).

Анализ международных стандартов, региональных документов, а также законодательства экономически развитых государств (США, Великобритания, Германия, Китай, Япония), научно-информационных источников и результатов теоретических и экспериментальных исследований в части применяемых методов и методик определения массовой концентрации, в водных и воздушной средах, биологическом материале, содержащегося в изделиях из полиамидов, и результатов теоретических и экспериментальных исследований в указанной области приведен в разделе 1 Отчета о НИР, в том числе в виде таблицы 1 «Анализ информации в части применяемых методов и методик определения гексаметилендиамина в законодательстве экономически развитых государств».

Согласно данному разделу в таких странах, как США, Великобритания, Япония, Китай, странах – членах ЕС, гексаметилендиамин в воздушной среде не определяется.

ПРИЛОЖЕНИЕ Г

Результаты проверки пригодности проекта методики
в ООО «Ин-лаб»,
в том числе предложения по ее доработке

Общество с ограниченной ответственностью
«Ин-лаб»
(ООО «Ин-лаб»)

117449, г. Москва, ул. Карьер, д. 2, стр. 4,
эт. 2, пом. XII, комн. 14
Тел.: +7 (965) 433-5509
ОКПО 19286759 ОГРН 1177746896040
ИНН 9701085545 КПП 773601001
E-mail: inlabor@bk.ru

Заместителю директора
Государственного учреждения
«Республиканский центр гигиены,
эпидемиологии и общественного
здоровья» Научно-
исследовательский институт
гигиены, токсикологии,
эпидемиологии, вирусологии и
микробиологии
Е.В. Дроздовой

Исх. от 30.06.2025 № 261/2025
На № 9.16-11/190 от 16.05.2025
Вх. № 06/2025 от 16.05.25 г.

Уважаемая Елена Валентиновна!

В соответствии с вашим обращением в Общество с ограниченной ответственностью «Ин-лаб» была проведена оценка представленного проекта методики измерения массовой концентрации гексаметилендиамина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. По результатам проведённых исследований сделан вывод о применимости данной методики. Результаты исследований представлены в Отчёте (см. приложение).

Приложение по тексту на 4 листах.

Начальник ИЛ
ООО «Ин-лаб» М.Э. Коростелева

Исп.: Ульянцев С.О. +7 (965) 433-5509
Михайлов О.С.

Приложение

Отчёт по проверке работоспособности и пригодности методики измерения массовой концентрации гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Список сокращений

ЕЛ – единицы люминесценции

Использованные средства измерений

1. Измеритель параметров микроклимата Метеоскоп-М, Заводской номер 69312, Свидетельство о поверке № С-ДЮП/08-09-2023/276512280 действительно до 07.09.2025
2. Дозатор пипеточный одноканальный, Лайт, Заводской номер ВР78542, Свидетельство о поверке № С-ДЮП/11-12-2024/394654960 действительно до 10.12.2025
3. Дозатор пипеточный одноканальный, Лайт, Заводской номер 2106886, Свидетельство о поверке № С-ДЮП/11-12-2024/394654955 действительно до 10.12.2025
4. Секундомер электронный «Интеграл С-01», Заводской номер 119596, Свидетельство о поверке № С-ДЮП/26-08-2024/365545552 действительно до 25.08.2025
5. Жидкостной хроматограф, 1260 Infinity II, Заводской номер G7111A № DEAEZ01345, G7167-60101 № DEBBP07969, G7129A № DEAEQ23273, G7116A № DEAED12046, G7114A № DEACX11839, G7121A № DEAE302203, Свидетельство о поверке № С-ГЧГ/02-12-2024/391603271 действительно до 01.12.2025
6. Весы электронные лабораторные Adventurer AR2140, Заводской номер 1226500950, Свидетельство о поверке № С-ДЮП/03-09-2024/367051899 действительно до 02.09.2025
7. Колбы мерные 2-50-2, 2-100-2 и 2-250-2 по ГОСТ1770-74.

При выполнении измерений значения температуры, давления и влажности находились в пределах диапазонов, указанных в методике.

Проведение градуировки и исследование линейности методики

Градуировка проводилась в диапазоне концентраций 2,30 – 11.49 нг/мл для каждой серии. Полученные результаты представлены в таблицах 1 и 2. Полученные графики представлены на рисунках 1 и 2.

Таблица 1. Результаты построения градуировочной зависимости для первой серии анализов

Теоретическая концентрация, нг/мл	Значение площади пика, ЕЛ*сек	Уравнение градуировочного графика	Коэффициент достоверности аппроксимации, R^2
2,30	44,212	y = 17,13x + 3,3642	0,9942
3,45	66,071		
4,60	81,150		
6,89	116,303		
9,19	155,605		
11,49	206,422		

1

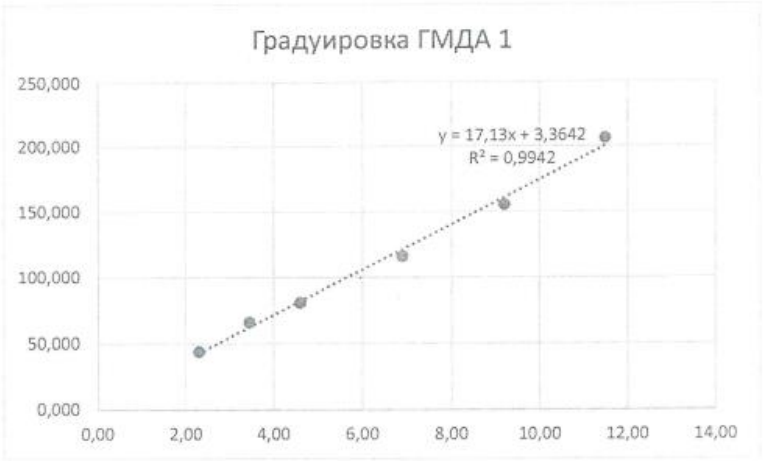


Рисунок 1. Градуировочный график для первой серии анализов.

Таблица 2. Результаты построения градуировочной зависимости для второй серии анализов

Теоретическая концентрация, нг/мл	Значение площади пика, ЕЛ*сек	Уравнение градуировочного графика	Коэффициент достоверности аппроксимации, R^2
2,30	44,771	y = 17,726x + 3,272	0,9957
3,45	66,079		
4,60	86,285		
6,89	121,778		
9,19	160,337		
11,49	212,561		

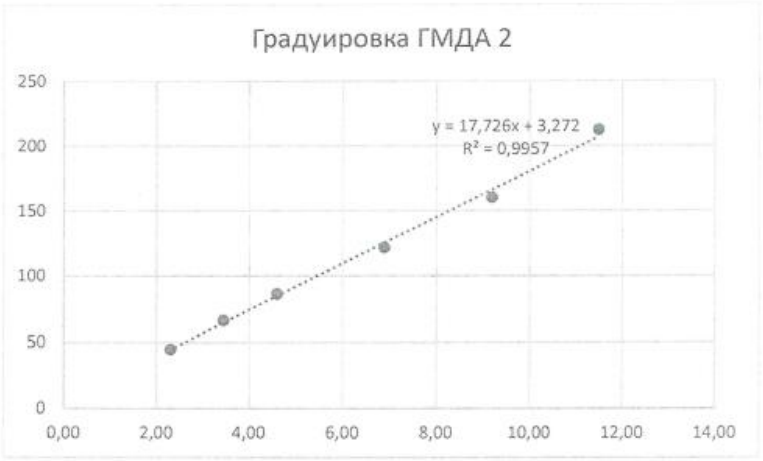


Рисунок 2. Градуировочный график для второй серии анализов.

Оценка результатов в условиях повторяемости.

Проведена оценка результатов двух серий. Полученные результаты представлены в таблицах 3 и 4.

Таблица 3. Результаты оценки приемлемости результатов измерений и неопределённости для первой серии анализов.

Теоретическая концентрация, нг/мл	Рассчитанная концентрация, нг/мл	Среднее значение, нг/мл	$\lvert C_1\text{-}C_2\rvert$	Абсолютное значение предела повторяемости (r_{abs})	Расширенная неопределённость (U), нг/мл
2,30	2,48	2,37	0,22	0,52	0,71
2,30	2,26				
4,60	4,47	4,60	0,26	1,01	1,38
4,60	4,73				
9,19	9,43	9,31	0,25	2,05	2,79
9,19	9,18				

Таблица 4. Результаты оценки приемлемости результатов измерений и неопределённости для второй серии анализов.

Теоретическая концентрация, нг/мл	Рассчитанная концентрация, нг/мл	Среднее значение, нг/мл	$\lvert C_1\text{-}C_2\rvert$	Абсолютное значение предела повторяемости (r_{abs})	Расширенная неопределённость (U), нг/мл
2,30	2,27	2,20	0,14	0,48	0,66
2,30	2,13				
4,60	4,26	4,30	0,08	0,95	1,29
4,60	4,34				
9,19	9,72	9,53	0,39	2,1	2,86
9,19	9,33				

Оценка результатов в условиях промежуточной прецизионности

Проведена оценка результатов в условиях промежуточной прецизионности по средним результатам двух серий анализов в разные дни. Полученные результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5. Результаты контроля промежуточной неопределённости.

Расчитанные концентрации в первой серии, нг/мл	Расчитанные концентрации во второй серии, нг/мл	$\overline{C}$	$\lvert\overline{C}_1 - \overline{C}_2\rvert$	$R_{I(TO)абс}$
2,35	2,46	2,30	0,32	0,69
4,47	4,76	4,50	0,52	1,35
8,91	9,64	9,23	0,83	2,77

Заключение

По результатам проведенных исследований и оценки приемлемости полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. Получаемая градуировочная зависимость обладает необходимой линейностью для проведения количественного определения ($R^2 > 0,99$).
2. Результаты, полученные в условиях повторяемости, соответствовали условию приемлемости ($|X_1-X_2| < r_{abs}$).
3. Результаты, полученные в условиях промежуточной прецизионности, соответствовали условию приемлемости ($|\bar{X}_1 - \bar{X}_2| < R_{I(TO)абс}$).
4. Полученные данные показывают применимость методики для измерения массовой концентрации гексаметилендиамина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Инженер: *(должность)*	*(подпись)*	Михайлов О.С. *(фамилия, инициалы)*
Заместитель начальника лаборатории: *(должность)*	*(подпись)*	Ульянцев С.О. *(фамилия, инициалы)*

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

Результаты проверки пригодности проекта методики в ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», в том числе предложения по ее доработке

ФЕДЕРАЛЬНОЕ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ПИТАНИЯ, БИОТЕХНОЛОГИИ И БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩИ
(ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»)
109240, г. Москва, Устьинский проезд, 2/14
Тел.: +7 (495) 698-53-60; факс: +7 (495) 698-53-79
ОКПО 01897222 ОГРН 1027739311907
ИНН 7705004254 КПП 770501001
E-mail: mailbox@ion.ru Сайт: www.ion.ru

24.06.25г. №ИИОГ-И12/п25

На № 9.16-11/129 от 08.04.2025

Вх. № 289/п от 06.05.25 г.

Заместителю директора Государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья» Научно-исследовательский институт гигиены, токсикологии, эпидемиологии, вирусологии и микробиологии
Е.В. Дроздовой

Уважаемая Елена Валентиновна!

В соответствии с вашим обращением в ИЛЦ ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (внесён в Единый реестр органов по оценке соответствия ЕАЭС) была проведена оценка представленного проекта методики измерения массовой концентрации гексаметилендиамина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. По результатам проведённых исследований сделан вывод о применимости данной методики. Результаты исследований представлены в Отчёте (см. приложение).

Приложение по тексту на 4 листах.

Врио руководителя ИЛЦ ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» С.А. Кулаков

Исп.: Малинкин А.Д. (495) 698-57-36

13824

Приложение

Отчёт о проверке работоспособности и пригодности методики измерения массовой концентрации гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Список сокращений

ЕЛ – единицы люминесценции.

ГМДА – гексаметилендиамин.

Использованные средства измерений

1. Термометр контактный цифровой, тип ТК-5, модификация ТК-5.06, с зондом для определения влажности воздуха ЗВ 150 (свидетельство о поверке № С-МА/19-11-2024/388497666 от 19.11.2024, действительно до 18.11.2025, выдано ФБУ «НИЦ ПМ – РОСТЕСТ»).
2. Барометр-анероид метеорологический, тип БАММ-1 (свидетельство о поверке № С-МА/20-11-2024/388829612 от 20.11.2024, действительно до 19.11.2025, выдано ФБУ «НИЦ ПМ –РОСТЕСТ»).
3. Дозатор Eppendorf мод. 1-МП Research (20…200)мкл (сертификат калибровки №204677 от 17.12.2024, выдан ООО «Сарториус РУС»).
4. Дозатор пипеточный Eppendorf Research Plus (100…1000) мкл (свидетельство о поверке № С-ВСЯ/17-12-2024-399202418 от 17.12.2024, действительно до 16.12.2025, выдано ООО «Сарториус РУС»).
5. Хроматограф жидкостный, тип Agilent 1100, Agilent 1200, модификация Agilent 1200 с флуориметрическим детектором (свидетельство о поверке № С-МА/28-11-2024/390976012 от 28.11.2024, действительно до 27.11.2025, выдано ФБУ «НИЦ ПМ – РОСТЕСТ»).
6. Весы лабораторные электронные AnD GH-120 (свидетельство о поверке № С-АИГ/20-11-2024/389329865 от 20.11.2024, действительно до 19.11.2025, выдано ООО «РМП «Медтехника»).
7. Колбы мерные на 2-50-2, 2-100-2 и 2-250-2 по ГОСТ1770-74.

При выполнении измерений значения температуры, давления и влажности находились в пределах диапазонов, указанных в методике.

Проведение градуировки и исследование линейности методики

Градуировка проводилась в диапазоне концентраций 2,38 - 9,52 нг/см^3 для каждой серии. Полученные результаты представлены в таблицах 1 и 2. Полученные графики представлены на рисунках 1 и 2.

Таблица 1. Результаты построения градуировочной зависимости для первой серии анализов

Теоретическая концентрация, нг/см^3	Значение площади пика, ЕЛ*сек	Уравнение градуировочного графика	Коэффициент достоверности аппроксимации, R^2
2,38	0,554751	y=0,377742x+0,34377	0,9979

1

3,57	0,967339		
4,76	1,527435		
7,14	2,302085		
9,52	3,268338		

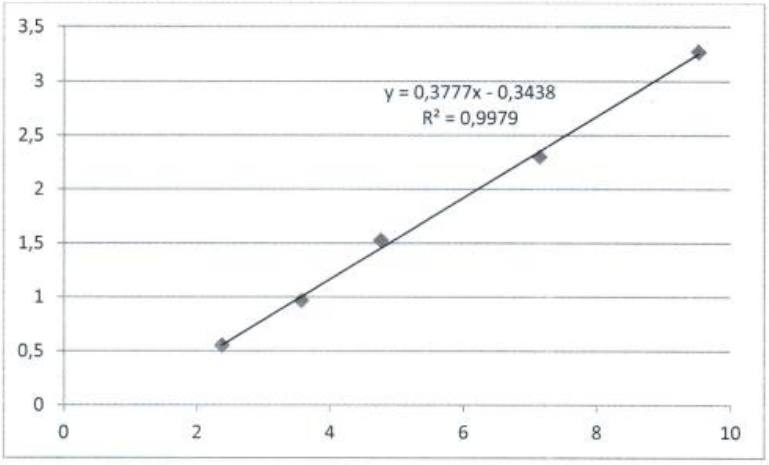


Рисунок 1. Градуировочный график для первой серии анализов.

Таблица 2. Результаты построения градуировочной зависимости для второй серии анализов

Теоретическая концентрация, нг/см^3	Значение площади пика, ЕЛ*сек	Уравнение градуировочного графика	Коэффициент достоверности аппроксимации, R^2
2,38	0,833967	y=0,348952x+0,00559	0,9992
3,57	1,243718		
4,76	1,660835		
7,14	2,439083		
9,52	3,345268		

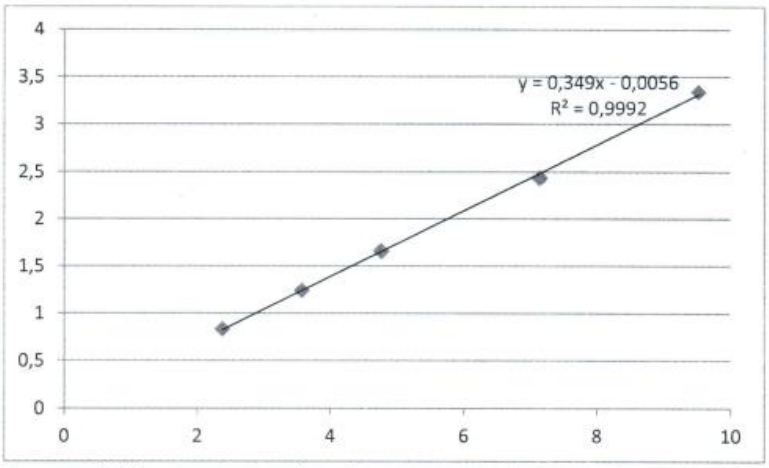


Рисунок 2. Градуировочный график для второй серии анализов.

Приготовление образцов для оценки методики

Для оценки методики были выбраны три уровня концентраций: 2,38; 4,76; 9,52 нг/см^3. Приготовление проводилось отдельно для каждой серии анализов согласно таблице 3

Таблица 3. Приготовление растворов для оценки методики.

Номер раствора	Объём рабочего раствора, см^3	Объём пробы вытяжки, см^3	Объём раствора Dns-Cl, см^3	Объём буферного раствора, см^3	Массовая концентрация ГМДА, нг/см^3
1	0,1	0,7	0,1	0,1	2,38
2	0,2	0,6			4,76
3	0,4	0,4			9,52

Оценка результатов в условиях повторяемости.

Проведена оценка результатов двух серий в разные дни. Полученные результаты представлены в таблицах 4 и 5.

Таблица 4. Результаты оценки приемлемости результатов измерений и неопределённости для первой серии анализов.

Теоретическая концентрация, нг/см^3	Рассчитанная концентрация, нг/см^3	Среднее значение, нг/см^3	$\lvert X_1-X_2\rvert$	Абсолютное значение предела повторяемости (r_{abs})	Расширенная неопределённость (U), нг/см^3
2,38	2,98	2,90	0,16	0,73	0,87
2,38	2,82				
4,76	5,16	5,25	0,19	1,31	1,58
4,76	5,35				
9,52	10,17	9,33	1,66	2,33	2,80
9,52	8,51				

Таблица 5. Результаты оценки приемлемости результатов измерений и неопределённости для второй серии анализов.

Теоретическая концентрация, нг/см^3	Рассчитанная концентрация, нг/см^3	Среднее значение, нг/см^3	$\lvert X_1-X_2\rvert$	Абсолютное значение предела повторяемости (r_{abs})	Расширенная неопределённость (U), нг/см^3
2,38	2,44	2,42	0,05	0,011	0,73
2,38	2,40				
4,76	4,76	4,68	0,15	0,038	1,41
4,76	4,61				
9,52	10,72	10,63	0,19	0,048	3,19
9,52	10,53				

Оценка результатов в условиях промежуточной прецизионности

Проведена оценка результатов в условиях промежуточной прецизионности по средним результатам двух серий анализов в разные дни. Полученные результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6. Результаты контроля промежуточной неопределённости.

Расчитанные концентрации в первой серии, нг/см^3	Расчитанные концентрации во второй серии, нг/см^3	$\lvert\bar{X}_1 - \bar{X}_2\rvert$	$\bar{X}$	$R_{I(TO)абс}$
3,00	2,42	0,59	2,71	0,81
5,35	4,68	0,67	5,02	1,51
9,44	10,63	1,19	10,03	3,01

Заключение

По результатам проведенных исследований и оценки приемлемости полученных результатов можно сделать следующие выводы:

1. Получаемая градуировочная зависимость обладает необходимой линейностью для проведения количественного определения ($R^2 > 0,99$).
2. Результаты, полученные в условиях повторяемости, соответствовали условию приемлемости ($\lvert X_1-X_2\rvert < r_{abs}$).
3. Результаты, полученные в условиях промежуточной прецизионности, соответствовали условию приемлемости ($\lvert\bar{X}_1 - \bar{X}_2\rvert < R_{I(TO)абс}$).
4. Полученные данные показывают применимость методики для измерения массовой концентрации ГМДА методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Старший научный сотрудник _____ Малинкин А.Д.
(должность) (подпись) (фамилия, инициалы)

Заведующий лабораторией: _____ Бессонов В.В.
(должность) (подпись) (фамилия, инициалы)

ПРИЛОЖЕНИЕ Е

Документы об утверждении типа стандартного образца и материалы, подтверждающие представление стандартного образца на утверждение в статусе Межгосударственного стандартного образца

LGC | DR EHRENSTORFER™

REFERENCE MATERIAL CERTIFICATE

Reference Material

This certificate is designed in accordance with ISO Guide 31. This reference material (RM) was designed, produced and verified in accordance with a registered quality management system ISO 9001. All measurements were performed according to ISO/IEC 17025 by a DAkkS accredited laboratory (D-PL-19883-01-00).

Product Name
Hexane-1,6-diamine

Product Code
DRE-C14195520

Lot Number
1538558

CAS No.
124-09-4

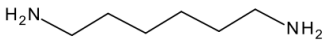
Format
Neat

Mol. Weight
116.20

Expiry Date
09 May 2028

Mol. Formula
$C_6H_{16}N_2$

Storage Temp
4°C ± 4°C



CERTIFIED	CERTIFIED
Purity 92.7% (g/g)	Expanded Uncertainty (U) 5.0% (g/g)

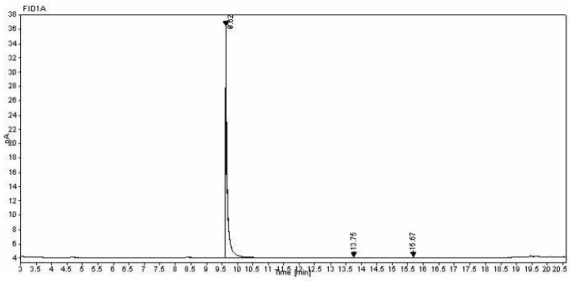
Uncertainty
The certified value(s) and uncertainty(ies) are determined in accordance with EURACHEM/CITAC Guide for "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3rd edition", with an 95% confidence level (k=2). Uncertainty is based on the Total Combined Uncertainty, including uncertainties of characterisation and stability testing. Stability values are based on real evidence opposed to simulation.

The producer certifies that this reference material meets the specification stated in this certificate until the expiry date, provided it is stored unopened at the recommended temperature herein. Product warranties for this reference material are set out in the terms and conditions of purchase.

CERTIFIED BY	CERTIFIED ON		
L. Messerschmid	09 May 2025	L. Messerschmid	RM Release

REFERENCE MATERIAL CERTIFICATE

CHROMATOGRAM



Signal: FID1A

Nr.	RT [min]	Area [pA*s]	Height [pA]	Area%	Width [min]
1	9.62	105.98292	32.36	99.7	0.043
2	13.75	0.1481	0.06	0.14	0.029
3	15.67	0.16891	0.1	0.16	0.022

Instrument
GC/FID

Detection
FID

Column
Optima-5MS, 0.25 µm, 0.25 mm

Method Details
Initial Temp: 60°C / 5 min, End Temp: 280°C / 1 min, Gradient: 15°C/min

Inj.-Vol.
1.0 µL

Flow
1 mL/min

Method of Characterisation
Purity was determined by quantitative 1H-NMR

Method of Identification
EA, NMR, RT, IR, MS

Batch Information
Water Content: 2.0% (g/g) by Karl-Fischer-Titration (U(exp) = 0.2% (g/g)).
Storage under argon.

Intended Use
This RM is intended for use in a laboratory as a calibration and quality control standard or in method development for analytical techniques.

Safety
Proper precautions should be observed while handling. See Safety Data Sheet.

Traceability
The balances used for gravimetric measurements are calibrated with weights traceable to the national standards (DKD). The calibration of the balances is verified daily internally and annually by an external accredited calibration service. Chromatographic methods are traceable to the International System of Units (SI).

Storage
The RM should be stored in the original sealed container at the indicated temperature.

Instructions for use
It is recommended to use 1 mg as the minimum sample size and if less material is used, to increase the certified uncertainty by a factor of two for half sample and four for a quarter of sample. If storage after opening is necessary, the RM should be tightly closed and kept from light and moisture. If the RM was in a sealed ampoule, it should be transferred to a vial with minimum head space. Visit the support section of our website lgcstandards.com for a series of Dr. Ehrenstorfer Tech Tip videos and frequently asked questions.

LGC Labor GmbH
Bgm.-Schlosser-Straße 6A
86199 Augsburg, Germany
T | +49 821 906080
F | +49 821 9060888
E | dr.ehrenstorfer@lgcgroup.com

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель директора БелГИМ
_____ Ю.С.Иванов
«30» 10 2025 г.

ЭКСПЕРТНОЕ ЗАКЛЮЧЕНИЕ № 882-СО
метрологической экспертизы, проведенной с целью утверждения типа единичного экземпляра стандартного образца

Наименование и обозначение типа единичного экземпляра стандартного образца	Стандартный образец состава гексан-1,6-диамина (Hexane-1,6-diamine), Lot № 1538558
Производитель экземпляра, представленного для проведения метрологической экспертизы	«LGC Labor GmbH», Германия («LGC Limited», Соединенное Королевство Великобритании и Северной Ирландии)
Заявитель на метрологическую экспертизу	ГУ РЦГЭиОЗ, г. Минск, Республика Беларусь
Сведения о сертификате системы качества (аттестате аккредитации) производителя (при наличии)	Аккредитация на соответствие требованиям DIN EN ISO 17034:2017 (сертификат D-RM-19883-01-00), DIN EN ISO/IEC 17025:2018 (сертификат D-PL-19883-01-00), ISO 9001:2015 (сертификат 002874 QM15).

Комиссия по проведению метрологической экспертизы БелГИМ

Руководитель комиссии	Андросенко Р.М., начальник отдела НИОЗТМ, НТП
Члены комиссии:	Назарова А.В., инженер по метрологии 1-й категории НИОЗТМ, НТП

Основания для проведения метрологической экспертизы договор № 40-25/НМ0772 от 08.10.2025.
Место (адрес) проведения метрологической экспертизы БелГИМ, г. Минск, Республика Беларусь.
Дата окончания проведения метрологической экспертизы 29 октября 2025 г.

Наименование и (или) условное обозначение типа единичного экземпляра стандартного образца, наименование производителя, номер партии стандартного образца, год или дата изготовления	Стандартный образец состава гексан-1,6-диамина (Hexane-1,6-diamine), производитель «LGC Labor GmbH», Германия («LGC Limited», Соединенное Королевство Великобритании и Северной Ирландии), Lot № 1538558, дата выпуска – 09.05.2025.

Перечень представленных документов:
- сертификат анализа производителя на Lot № 1538558;
- фотография экземпляра стандартного образца;
- сертификаты соответствия системы менеджмента качества требованиям DIN EN ISO 17034:2017 (№ D-RM-19883-01-00), DIN EN ISO/IEC 17025:2018 (№ D-PL-19883-01-00).

Ознакомившись с представленным единичным экземпляром стандартного образца и рассмотрев предоставленную документацию, предъявленные материалы признаны комиссией достаточными для проведения метрологической экспертизы. При этом установлена пригодность представленного экземпляра для проведения метрологической экспертизы.

Назначение, обязательные метрологические требования единичного экземпляра стандартного образца: для обеспечения метрологической прослеживаемости при проведении работ по метрологической оценке (утверждение типа средств измерений, поверка, калибровка, метрологическая экспертиза единичного экземпляра, аттестация методик (методов) измерений); построении градуировочных характеристик средств измерений; контроле показателей точности (правильности и прецизионности) методик (методов) измерений; контроле правильности результатов измерений, проведении межлабораторных сличений.

Обязательные метрологические требования:
Таблица 1

Метрологическая характеристика, ед. изм	Сертифицированное значение	Абсолютная расширенная неопределенность (k = 2, p = 0,95)
Массовая доля гексан-1,6-диамина, %	92,7	5,0

Метрологическая экспертиза единичного экземпляра стандартного образца состава гексан-1,6-диамина (Hexane-1,6-diamine), Lot № 1538558 проведена в соответствии с утвержденной программой метрологической экспертизы.

Установлено, что прошедший метрологическую экспертизу единичный экземпляр стандартного образца состава гексан-1,6-диамина (Hexane-1,6-diamine), Lot № 1538558 соответствует технической документации производителя (сертификат анализа). Сертифицированное значение установлено методом количественного ЯМР и прослеживается к единице СИ (килограмм).

Комиссия отмечает возможность применения представленного единичного экземпляра стандартного образца состава гексан-1,6-диамина (Hexane-1,6-diamine), Lot № 1538558 в соответствии с назначением до истечения срока годности (до 09.05.2028).

Результаты метрологической экспертизы признаны положительными.

На основании результатов метрологической экспертизы единичного экземпляра стандартного образца комиссия рекомендует:
утвердить тип единичного экземпляра стандартного образца состава гексан-1,6-диамина (Hexane-1,6-diamine), Lot № 1538558, производитель «LGC Labor GmbH», Германия («LGC Limited», Соединенное Королевство Великобритании и Северной Ирландии) и выдать сертификат об утверждении типа сроком действия до 9 мая 2028 г.

Приложение:
проект описания типа единичного экземпляра стандартного образца состава гексан-1,6-диамина (Hexane-1,6-diamine), Lot № 1538558.

Руководитель комиссии: _____ Р.М.Андросенко

Члены комиссии: _____ А.В.Назарова

ПРИЛОЖЕНИЕ Ж

Экспертные заключения от уполномоченных органов государств – членов Союза в сфере стандартизации и в соответствующих сферах регулирования по проекту методики

Беларускі вытворча-гандлёвы канцэрн лясной, дрэваапрацоўчай і цэлюлозна-папяровай прамысловасці (канцэрн «Белляспаперпрам»)

вул. К.Маркса, 16, Мінск, 220030
тел./факс (017) 3274483
e-mail: info@bellesbumprom.by

Белорусский производственно-торговый концерн лесной, деревообрабатывающей и целлюлозно-бумажной промышленности (концерн «Беллесбумпром»)

ул. К.Маркса, 16, Минск, 220030
тел./факс (017) 3274483
e-mail: info@bellesbumprom.by

02.09.2025 № 11-12/1579

На № 16-1812 ад 13.08.2025

Евразийская экономическая комиссия

(e-mail: info@eecommission.org)

О рассмотрении проекта методики

Концерн «Беллесбумпром» по результатам рассмотрения совместно с Министерством здравоохранения Республики Беларусь и Государственным комитетом по стандартизации Республики Беларусь проекта методики измерений «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуорометрическим детектированием» считает возможным применение указанной методики в целях исполнения требований технического регламента Таможенного союза «О безопасности мебельной продукции» (ТР ТС 025/2025) и осуществления достоверной оценки соответствия мебельной продукции после проведения ее аттестации.

Заместитель председателя С.В.Касьянов

11 Волкович +375172104449

318779 813104

Евразийская экономическая комиссия
№ 15041 от 04.09.2025 09:45
1

БЕЛАРУСКІ
ДЗЯРЖАЎНЫ КАНЦЭРН
ПА ВЫТВОРЧАСЦІ І РЭАЛІЗАЦЫІ
ТАВАРАЎ ЛЁГКАЙ ПРАМЫСЛОВАСЦІ
(КАНЦЭРН «БЕЛЛЕГПРАМ»)
вул. Клары Цэткін, 16, 220004, г. Мінск
тэл.: (017) 200-30-65, тэл./факс: (017) 200-79-62
e-mail: bellegprom@bellegprom.by

БЕЛОРУССКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОНЦЕРН
ПО ПРОИЗВОДСТВУ И РЕАЛИЗАЦИИ
ТОВАРОВ ЛЕГКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ
(КОНЦЕРН «БЕЛЛЕГПРОМ»)
ул. Клары Цеткин, 16, 220004, г.Минск
тел. (017) 200-30-65, тел./факс (017) 200-79-62
e-mail: bellegprom@bellegprom.by

28.08.2025 № 9-11/6450

НА №_____ от_____

Евразийская экономическая комиссия

О рассмотрении проекта методики измерений

В соответствии с письмом Евразийской экономической комиссии от 13.08.2025 № 16-1812 концерн «Беллегпром» в рамках компетенции рассмотрел проект методики измерений «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием», и сообщает, что замечаний и предложений не имеет.

Дополнительно информируем, что концерн считает возможным применение указанной методики в целях исполнения требований технического регламента Таможенного союза «О безопасности продукции легкой промышленности» (ТР ТС 017/2011), а также осуществления достоверной оценки соответствия продукции требованиям данного регламента.

Справочно: Стоит отметить, что в настоящее время в системе концерна «Беллегпром», а также на предприятиях, входящих в состав концерна, отсутствует база для применения данной методики.

Заместитель председателя концерна Н.А. Мороз

Для документов

9 Костючик 200 82 11

318779 182101

Евразийская экономическая комиссия
№ 14925 от 02.09.2025 15:49
1

МІНІСТЭРСТВА
АХОВЫ ЗДАРОЎЯ
РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ

вул.Мяснікова,39, 220030, г.Мінск
тэл. 337 70 84, факс 222 46 27
сайт: www.minzdrav.gov.by
e-mail : kanc@minzdrav.gov.by,
«ПАШТАР»: 7000861@mail.gov.by
р/р; BY89AKBB36049000000100000000
у ААТ « ААБ «Беларусбанк», БІК: АКВВ BY 2X

МИНИСТЕРСТВО
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ул.Мясникова,39, 220030, г.Минск
тел. 337 70 84, факс 222 46 27
сайт: www.minzdrav.gov.by
e-mail : kanc@minzdrav.gov.by,
«ПАШТАР»: 7000861@mail.gov.by
р/с; BY89AKBB36049000000100000000
в ОАО « АСБ «Беларусбанк», БІК: АКВВ BY 2X

30.09.2025 № 7-25/18677

Евразийская экономическая
комиссия

О применении методики

Министерство здравоохранения Республики Беларусь рассмотрело в пределах компетенции письмо Департамента технического регулирования и аккредитации Евразийской экономической комиссии от 13 августа 2025 г. № 16-1812 и информирует о возможности применения методики «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием» в целях исполнения требований технических регламентов Таможенного союза «О безопасности упаковки» (ТР ТС 005/2011), «О безопасности продукции, предназначенной для детей и подростков» (ТР ТС 007/2011), «О безопасности игрушек» (ТР ТС 008/2011), О безопасности продукции легкой промышленности» (ТР ТС 017/2011), «О безопасности средств индивидуальной защиты» (ТР ТС 019/2011), «О безопасности мебельной продукции» (ТР ТС 025/2012), технического регламента Евразийского экономического союза «О безопасности оборудования для детских игровых площадок» (ТР ЕАЭС 042/2017) и осуществления достоверной оценки соответствия продукции требованиям вышеуказанных технических регламентов.

Заместитель Министра –
Главный государственный
санитарный врач
Республики Беларусь С.В.Нечай

Карабан 397 61 48

118789 482105

Евразийская экономическая
комиссия
№ 16737 от 02.10.2025 10:11
1л

Дзяржаўны камітэт
па стандартызацыі
Рэспублікі Беларусь
(Дзяржстандарт)

Старавіленскі тракт, 93, 220053, г. Мінск
тэл. +375 17 379 62 13, факс +375 17 363 25 88
e-mail: belst@gosstandart.gov.by

Государственный комитет
по стандартизации
Республики Беларусь
(Госстандарт)

Старовиленский тракт, 93, 220053, г. Минск
тел. +375 17 379 62 13, факс +375 17 363 25 88
e-mail: belst@gosstandart.gov.by

09.09.2025 № 01-05/629
на № 16-1812 вд 13.07.2025

Евразийская экономическая комиссия

О проекте методики

Государственный комитет по стандартизации Республики Беларусь (далее – Госстандарт) по вопросу рассмотрения проекта методики измерений «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием» (далее – методика), разработанного в рамках выполнения 2 этапа научно-исследовательской работы по теме «Исследование международного опыта выполнения измерений в области определения массовой концентрации гексаметилендиамина в воздушной среде и разработка на этой основе методики определения уровня миграции, выраженного в единицах массовой концентрации, в воздушную среду гексаметилендиамина, содержащегося в изделиях из полиамидов, в целях применения и исполнения требований технических регламентов Евразийского экономического союза и осуществления оценки соответствия объектов технического регулирования требованиям, установленным в отношении данного показателя в соответствующих технических регламентах» (разработчик Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья») сообщает следующее.

Работы по определению соответствия методик (методов) измерений метрологическим требованиям к измерениям, а также своему назначению в соответствии Законом Республики Беларусь «Об обеспечении единства измерений» от 5 сентября 1995 г. № 3848-XII осуществляется в рамках проведения работ по аттестации методик (методов) измерений на договорной основе в соответствии с порядком, установленным Правилами осуществления метрологической оценки в виде работ по аттестации методик (методов) измерений, утвержденным постановлением Госстандарта от 23.04.2021 № 43.

Евразийская экономическая комиссия
№ 15494 от 11.09.2025 14:12
2л

В настоящее время по проекту методики имеются следующие предложения:

в расшифровке формулы (2) п. 9.2.6 отсутствует определение величины $C_{исх}$;

в Республике Беларусь отсутствует термин «нормативный документ» (см. п. 9.4). Предлагаем слово «нормативный» исключить;

в Библиографии документы [7] и [9] в настоящее время утратили силу и не являются действующими.

Для учета при подготовке соответствующего заключения данные предложения направлены в адрес РУП «БелГИМ». Итоговые результаты будут направлены РУП «БелГИМ» в адрес Государственного учреждения «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья».

Первый заместитель Председателя А.А.Бурак

Квко 251 50 47

МИНИСТЕРСТВО ТРУДА И СОЦИАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(МИНТРУД РОССИИ)
улица Ильинка, 21, Москва, ГСП-4, 127994
тел.: 8 (495) 870-67-00, факс: 8 (495) 870-68-71
E-mail: mintrud@mintrud.gov.ru

Департамент технического
регулирования и аккредитации
Евразийская экономическая комиссия

12.09.2025 № 15-2/В-3610

На № _____ от _____

Департамент условий и охраны труда Минтруда России в соответствии с письмом Евразийской экономической комиссии от 13.08.2025 № 16-1312 рассмотрел в рамках своей компетенции проект методики измерений «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием» (далее – методика) и сообщает следующее.

По структуре и порядку оформления проекта Методики замечаний и предложений по компетенции Минтруда России не имеется.

Вместе с тем, с учетом наличия в проекте Методики отдельных положений, не относящихся к компетенции Минтруда России, указанный проект письмом от 4 сентября 2025 г. № 15-1/10/В-15480 был дополнительно направлен для рассмотрения по компетенции в Роспотребнадзор.

По состоянию на 12 сентября 2025 г. позиция Роспотребнадзора по проекту Методики в Минтруд России не поступила и будет направлена дополнительно.

Заместитель директора
Департамента условий и охраны
труда А.А. Воротилкин

ДОКУМЕНТ ПОДПИСАН
ЭЛЕКТРОННОЙ ПОДПИСЬЮ
Сертификат 2F40F2D98661F55B45C868515AF1760C
Владелец **Воротилкин Андрей Александрович**
Действителен с 23.01.2025 по 18.04.2026

Л.Е. Окулова
+7 (495) 587-88-89 1526

318782 812101

Евразийская экономическая
комиссия
№ 15588 от 12.09.2025 13:51
1

МИНИСТЕРСТВО ПРОМЫШЛЕННОСТИ И ТОРГОВЛИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(МИНПРОМТОРГ РОССИИ)

Пресненская наб., д. 10, стр. 2, Москва, 125039
Тел. (495) 539-21-66
Факс (495) 547-87-83
http://www.minpromtorg.gov.ru

10.09.2025 № 101112/10

На № _____ от _____

Евразийская
экономическая комиссия

Департамент
технического регулирования
и аккредитации

О результатах рассмотрения
проекта методики измерений

Управление государственной политики в сфере технического регулирования, стандартизации и обеспечения единства измерений Минпромторга России совместно с Росстандартом в соответствии с письмом Евразийской экономической комиссии от 13 августа 2025 г. № 16-1812 рассмотрело проект методики измерений «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием» и направляет предложения и замечания по нему.

Приложение: на 3 л. в 1 экз.

Заместитель начальника Управления
государственной политики в сфере
технического регулирования, стандартизации
и обеспечения единства измерений Д.А. Кузнецов

Подлинник электронного документа, подписанного ЭП, хранится в системе электронного документооборота Минпромторга России.
СВЕДЕНИЯ О СЕРТИФИКАТЕ ЭП
Сертификат: 00E92A277B2D277A8C461CD1885A80D252
Кому выдан: Кузнецов Дмитрий Александрович
Действителен: с 18.06.2025 до 11.09.2026

Тестяков Владимир Владимирович
(495) 870-29-21 (доб. 21745)

318781 989101

Евразийская экономическая комиссия
№ 15434 от 10.09.2025 17:43
1+3

ПРЕДЛОЖЕНИЯ И ЗАМЕЧАНИЯ
по проекту методики измерений «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием»

Метрологическая аттестация методик на территории Российской Федерации осуществляется в соответствии с порядком, утвержденным приказом Министерства промышленности и торговли Российской Федерации от 15 декабря 2015 г. № 4091 «Об утверждении Порядка аттестации первичных референтных методик (методов) измерений, референтных методик (методов) измерений и методик (методов) измерений и их применения», а также учетом положений национального стандарта Российской Федерации ГОСТ Р 8.563-2009 «Государственная система обеспечения единства измерений. Методики (методы) измерений» (далее – Порядок, национальный стандарт, ГОСТ Р 8.563-2009).

В этой связи в целях возможности осуществления метрологической аттестации на территории Российской Федерации проекта методики измерений «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием» (далее – проект методики измерений) требуется его доработка и редактирование в соответствии с указанным Порядком и ГОСТ Р 8.563-2009.

Также предлагаем рассмотреть возможность замены названия проекта методики измерений и изложить в следующей редакции: «Методика измерений массовой концентрации гексаметилендиамина в воздушной среде при его миграции из изделий из полиамидов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии».

По тексту проекта методики измерений сообщаем следующее:

1. В пункте 1 проекта методики измерений упомянут стандартный образец с сертифицированным значением массовой концентрации ГМДА – далее по тексту методики не упоминается и, очевидно, не используется.

2. Термины, приведенные в таблице 1 проекта методики измерений, не соответствуют терминологии, представленной в нормативной документации (например, в национальном стандарте ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения»).

3. Согласно рекомендациям IUPAC, требованиям МИ 2630-2000 «ГСИ. Метрология. Физические величины и их единицы» и ISO 80000-9-2019 «Quantities and units – Part 9: Physical chemistry and molecular physics» – массовая концентрация вещества обозначается символом ρ.

В тексте методики массовая концентрация обозначена буквой С (формулы 1, 2, 3 проекта методики измерений), буквами X, C, γ в формулах 4, 5, 7 проекта методики измерений. Необходимо привести в соответствие.

4. В пункте 3.4 проекта методики измерений не ясен термин «контрольная проба», возможно речь идет о «холостой пробе» или «холостом опыте» (см. национальный стандарт ГОСТ Р 52361-2018 «Контроль объекта аналитический. Термины и определения»).

5. По пункту 3.5 проекта методики измерений также необходимо откорректировать терминологию в соответствии с нормативными документами.

6. В пункте 9.3.2 проекта методики измерений значение норматива стабильности указано с излишней точностью (10,4%), рекомендуем сократить до целого значения.

7. В пункте 9.4.5 проекта методики измерений непонятно описана процедура приготовления пробы с добавкой.

8. В формуле 5 проекта методики измерений:

Rec – это степень извлечения в относительных единицах. Обычно Rec выражают в %, по указанной формуле получается безразмерная величина.

C_0 – массовая концентрация в контрольной пробе. Контрольная проба – это проба по пункту 9.4.4 проекта методики измерений или «холостая проба»?

9. В пункте 11.1 проекта методики измерений Rec – это степень извлечения в относительных единицах, при этом в таблице А.1 приложения

А проекта методики измерений Rec – это смещение метода. Необходимо уточнить и привести в соответствие.

10. По пункту А.2 приложения А проекта методики измерений:

по формуле А.1 проекта методики измерений невозможно получить размерность «мг/м^3». Необходимо уточнить.

F – это фактор повторяемости, в таблице А.1 приложения А проекта методики измерений F – поправочный множитель, учитывающий разброс показаний. Необходимо уточнить.

11. По пункту А.4 приложения А проекта методики измерений упомянуты «воздушные вытяжки из образцов из полиамидов, с внесенным раствором точной массовой концентрации ГМДА». Процедура приготовления таких образцов нигде не приведена.

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ДЕНСАУЛЫҚСАҚТАУ
МИНИСТРЛІГІ

МИНИСТЕРСТВО
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

25.03.2025 04-1.24/03736

Евразийская экономическая комиссия

на исх.№ 16-1812 от 13 марта 2025 года

Министерство здравоохранения Республики Казахстан *(далее-Министерство)* рассмотрев проекты методики измерений «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий полиамидов в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием», в пределах компетенции замечаний и предложений не имеет.

Министерство поддерживает применение данной методики в целях исполнения требований технических регламентов Евразийского экономического союза.

Вице - министр **Е. Нурлыбаев**

исп. Сатыбалова А.
24-26-23

000181

Евразийская экономическая комиссия
№ 17755 от 17.10.2025 14:47
1

318794743103

КЫРГЫЗ РЕСПУБЛИКАСЫНЫН
САЛАМАТТЫК САКТОО
МИНИСТРЛИГИ

720040, Кыргыз Республикасы,
Бишкек ш., Москва көчөсү, 148
Тел., факс: 0 (312) 66-07-17, тел.: 62-18-65
E-mail: mz@med.kg
р/с 4402013101101211 БИК 440201
Катоо № СФ КР 10110006297
Биринчи май райондук МСБ 008
КРФМ Биринчи май райондук АБ
КРФМ Борбордук казначылыгы
ИУРК 31289537 ИСН 00312202110208

МИНИСТЕРСТВО
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

720040, Кыргызская Республика,
г. Бишкек, ул. Московская, 148
Тел., факс: 0 (312) 66-07-17, тел.: 62-18-65
E-mail: mz@med.kg
р/с 4402013101101211 БИК 440201
Регистрационный № СФ КР 10110006297
УГНС Первомайского района 008
Первомайского района УФМФКР
Центральное казначейство УФКР
ОКПО 31289537 ИНН 00312202110208

16.09.2025 № 1211

№ _____ от _____

Евразийская
экономическая комиссия
Смоленский б-р, д. 3/5, стр. 1
г. Москва
тел.: 8 (495) 669-24-00, доб. 4133

На № 161812 от 13.08.2025 г.

Министерство здравоохранения Кыргызской Республики (далее Министерство), рассмотрев проект методики измерений «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов в воздушную среду. Методика измерения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием», сообщает следующее.

В лаборатории химико-аналитических исследований Департамента профилактики заболеваний и государственного санитарно-эпидемиологического надзора Министерства указанная методика не применяется и исследование по определению гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, не проводится.

В связи с этим Министерство в пределах своей компетенции предложений и замечаний к проекту не имеет.

Заместитель министра **Б. К. Арыкбаева**

Аманаева А.К., т: 622909

Евразийская экономическая комиссия
№ 14853 от 02.09.2025 09:32

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ
ԷԿՈՆՈՄԻԿԱՅԻ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ
ՆԱԽԱՐԱՐԻ ՏԵՂԱԿԱԼ

МИНИСТЕРСТВО ЭКОНОМИКИ РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
ЗАМЕСТИТЕЛЬ МИНИСТРА

М.Мкртчян 5, г. Ереван, 0010, Армения
Тел.: 011-59-72-07. Факс 52-65-77
Эл. адрес: : secretariat@mineconomy.am
Web-адрес: www.mineconomy.am

№ 06/21341-2025
«19» 09 2025թ

ЧЛЕНУ КОЛЛЕГИИ (МИНИСТРУ) ПО ВОПРОСАМ
ТЕХНИЧЕСКОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ
ЕВРАЗИЙСКОЙ ЭКОНОМИЧЕСКОЙ КОМИССИИ
ГОСПОДИНУ ТАТАРИЦКОМУ В. Б.

Уважаемый Валентин Болеславович!

В ответ на письмо Евразийской экономической комиссии №16-1812 от 13 августа 2025 года по рассмотрению проекта методики измерений «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием», сообщаем, что предложений и возражений не имеем.

Что касается возможности применения методики в целях исполнения требований технических регламентов Евразийского экономического союза и осуществления достоверной оценки соответствия продукции требованиям технических регламентов, Республика Армения представит свою позицию в ходе дополнительных обсуждений.

Recoverable Signature

X

С УВАЖЕНИЕМ,

Signed by: HOVAKIMYAN NAREK 2812880511

НАРЕК ОВАКИМЯН

318785 553100

Евразийская экономическая комиссия
№ 16034 от 22.09.2025 09:20
1

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ
ԱՌՈՂՋԱՊԱՀՈՒԹՅԱՆ ՆԱԽԱՐԱՐՈՒԹՅՈՒՆ
ՆԱԽԱՐԱՐԻ ԱՌԱՋԻՆ ՏԵՂԱԿԱԼ

MINISTRY OF HEALTH OF THE REPUBLIC OF ARMENIA
FIRST DEPUTY MINISTER

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
ПЕРВЫЙ ЗАМЕСТИТЕЛЬ МИНИСТРА

27.08.25 № ԱՆ/10.2/28464-25

Տեր N _____

ЗАМЕСТИТЕЛЮ ДИРЕКТОРА ДЕПАРТАМЕНТА
ТЕХНИЧЕСКОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ И АКРЕДИТАЦИИ
ЕВРАЗИЙСКОЙ ЭКОНОМИЧЕСКОЙ КОМИССИИ
ГОСПОДИНУ М.А. КИМУ

Уважаемый Максим Александрович!

В ответ на Ваше письмо № 16-1812 от 13 августа 2025 года, Министерство здравоохранения Республики Армения сообщает об отсутствии предложений и замечаний по проекту методики измерений «Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием».

Одновременно сообщаем, что метод исследования HPLC не применяется в химической лаборатории Референтного лабораторного центра Национального центра по контролю и профилактике заболеваний МЗ РА.

Благодарим за сотрудничество!

С УВАЖЕНИЕМ, ЛЕНА НАНУШЯН

27.08.2025

ԼԵՆԱ ՆԱՆՈՒՇՅԱՆ

Signed by: NANUSHYAN LENA 5114750164

Исп.: Лилит Алексанян
Департамент международных отношений
Тел.: +374 60 60 03 / 2105

Առողջապահության նախարարություն
Հայաստանի Հանրապետության, ք. Երևան, 0010, Հանրապետության հր., կառավարական տուն 3
Republic Square, Government House 3, 0010 Yerevan, Republic of Armenia
Республика Армения, г. Ереван, 0010, Площадь Республики, Правительственный дом 3
Հեռ. /Tel. /Тел.: (+ 374 60) 60 60 03 Էլ. փոստ /Эл. почта /E-mail: info@moh.am

ПРИЛОЖЕНИЕ И

Свидетельство об аттестации методики (метода) измерений

Республиканское унитарное предприятие
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ»
(БелГИМ)

Старовиленский тракт 93, 220053, г. Минск, Республика Беларусь,
Тел.: +375 17 374-55-01, Факс: +375 17 244-99-38, E-mail: info@belgim.by, www.belgim.by

СВИДЕТЕЛЬСТВО

об аттестации методики (метода) измерений

№ 031/2025 от 14 октября 2025 г.

Методика (метод) измерений массовой концентрации гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием с показателями точности, приведенными в приложении на оборотной стороне свидетельства, установленными в результате проведения экспериментальных исследований,

(наименование измеряемой величины, шкалы величины (шкалы измерений или единицы величин); объект измерений; диапазон измерений; показатели точности измерений (допускается приводить в приложении на оборотной стороне свидетельства); указание способа установления показателей точности результатов измерений при аттестации)

разработанная: Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья» (ул. Казинца, 50, 220099, г. Минск),

(наименование разработчика, почтовый адрес юридического лица или фамилия, собственное имя, отчество (при наличии), место жительства – для физического лица, зарегистрированного в качестве индивидуального предпринимателя)

установленная: АМИ.МН 0225-2025 «Система обеспечения единства измерений Республики Беларусь. Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием»,

обозначение и наименование документа с изложением методики (метода) измерений)

аттестована в соответствии с требованиями Правил осуществления метрологической оценки в виде работ по аттестации методик (методов) измерений, утвержденных постановлением Государственного комитета по стандартизации Республики Беларусь от 23 апреля 2021 г. № 43.

В результате аттестации методики (метода) измерений установлено, что методика (метод) измерений соответствует метрологическим требованиям к измерениям, а также своему назначению.

Директор		А.В.Казачок
(должность руководителя уполномоченного юридического лица)	(подпись) М.П.	(инициалы, фамилия)

Дата выдачи свидетельства об аттестации методики (метода) измерений 14 октября 2025 г.

Серия МН № 0235

Приложение к свидетельству
об аттестации № 031/2025 от 14 октября 2025 г.

Рабочие характеристики, включая показатели точности измерений, методики (метода) измерений

Диапазон измерений массовой концентрации гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде, мг/м^3	Стандартное отклонение повторяемости S_r, %	Предел повторяемости r, %	Стандартное отклонение промежуточной прецизионности $S_{RI(TO)}$, %	Предел промежуточной прецизионности $R_{RI(TO)}$,%	Относительная расширенная неопределенность при P = 0,95, $k = 2$ $U(X)$, %
От 0,00050 до 0,00250 включ.	8,0	22	9,3	26	30
Примечание – Неопределенность измерений включает в себя неопределенность отбора проб из единичных образцов воздушной вытяжки.					

Директор А.В.Казачок

ПРИЛОЖЕНИЕ К

Свидетельство о метрологической аттестации методики (метода) измерений в соответствии с требованиями Порядка метрологической аттестации методики (метода) измерений, утвержденного Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 17 марта 2016 г. № 21

ЕВРАЗИЙСКИЙ ЭКОНОМИЧЕСКИЙ СОЮЗ

Республиканское унитарное предприятие
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ»
(БелГИМ)

Свидетельство об уполномочивании на проведение испытаний в целях утверждения типа средства измерений или утверждения типа стандартного образца, работ по метрологической оценке в сфере законодательной метрологии № 2 от 24.11.2023 г.

СВИДЕТЕЛЬСТВО

о метрологической аттестации методики (метода) измерений

№ BY 00125 от «14» октября 2025 г.

Методика (метод) измерений массовой концентрации гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием с показателями точности, приведенными в приложении на оборотной стороне свидетельства, установленными в результате проведения экспериментальных исследований,

Разработанная: Государственное учреждение «Республиканский центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья», адрес: Республика Беларусь, 220099, г. Минск, ул. Казинца, 50,

установленная в документе АМИ.МН 0225-2025 «Система обеспечения единства измерений Республики Беларусь. Массовая концентрация гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде. Методика измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием»,

аттестована в соответствии с требованиями Порядка метрологической аттестации методики (метода) измерений, утвержденного Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 17 марта 2016 г. № 21.

В результате метрологической аттестации методики (метода) измерений установлено, что методика (метод) измерений соответствует метрологическим требованиям к измерениям.

Сведения о согласовании методики (метода) измерений:
Согласование не предусмотрено.

Директор А.В.Казачок

Серия МН № 0005

Приложение
к свидетельству о метрологической
аттестации методики (метода) измерений
№ BY00125 от 14 октября 2025 г.

Диапазон измерений массовой концентрации гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде, значение стандартного отклонения повторяемости, предела повторяемости, стандартного отклонения промежуточной прецизионности, предела промежуточной прецизионности, относительной расширенной неопределенности методики измерений при доверительной вероятности P = 95 %

Диапазон измерений массовой концентрации гексаметилендиамина, выделяемого из изделий из полиамидов, в воздушной среде, мг/м^3	Стандартное отклонение повторяемости S_r, %	Предел повторяемости r, %	Стандартное отклонение промежуточной прецизионности $S_{RI(TO)}$, %	Предел промежуточной прецизионности $R_{RI(TO)}$, %	Относительная расширенная неопределенность при $P = 0,95$, $k = 2$ $U(X)$, %
От 0,00050 до 0,00250 включ.	8,0	22	9,3	26	30
Примечание – Неопределенность измерений включает в себя неопределенность отбора проб из единичных образцов воздушной вытяжки.					

Директор А.В.Казачок