Հաստատված է՝
ՀՀ առողջապահության նախարարի
20.03. 2008թ.
N 05-Ն հրամանով

Գրանցված է՝
ՀՀ արդարադատության նախարարության
կողմից 08.04.2008թ.
պետական գրանցման N 10008121

ՄԵԹՈԴ
ՊԱՐԵՆԱՅԻՆ ՀՈՒՄՔՈՒՄ ԵՎ ՍՆՆԴԱԹԵՐՔՈՒՄ S-2 ՏՈՔՍԻՆԻ ՊԱՐՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՄԱՆ

1. Կիրառման ոլորտը

Սույն մեթոդով սահմանվում է պարենային հումքում և սննդամթերքում S-2 տոքսինի պարունակության որոշումը գազ-հեղուկային քրոմատագրման միջոցով:

2. Սարքավորումներ և նյութեր

2.1 Նմուշի թափահարման սարք:

2.2 Ռոտացիոն գոլորշիացուցիչ:

2.3 Սրճաղաց:

2.4 Գազային քրոմատագրման սարք (գազային քրոմատագրման սարքը պետք է շահագործել արտադրողի ցուցումներին համապատասխան), դետեկտոր՝ ԷԶԴ, աշտարակ՝ապակյա 1 մ x 0.4 սմ, հեղուկ ֆազը՝ OV-1, կրող գազը՝ հատուկ մաքրության ազոտ:

2.5 Ֆլուորեսցենտային սարք կամ ախտորոշման լամպ:

2.6 Մագնիսական խառնիչ:

2.7 Միկրոներարկիչներ՝ 10 մկլ, 1մկլ տարողությամբ:

2.8 Ապակյա խցիկ կափարիչով՝ քրոմատագրման համար:

2.9 Քրոմատագրման պատրաստի սիլուֆոլի թիթեղներ՝ 20 սմ x 20 սմ:

2.10 Բաժանիչ ձագարներ:

2.11 Փորձանոթ:

2.12 Կոնաձև կոլբեր՝ 250 մլ տարողությամբ:

2.13 Կոլբեր կլորահատակ՝ 250 մլ տարողությամբ:

2.14 Կոլբեր տանձաձև՝ 50 մլ տարողությամբ:

2.15 Չափիչ կոլբեր՝ 100 մլ տարողությամբ:

2.16 Չափիչ գլաններ հերմետիկ փակով՝ 100 մլ տարողությամբ:

2.17 Ապակյա հեղուկացրիչ տանձիկով:

2.18 S-2 տոքսին, բյուրեղական:

2.19 Ացետոնիտրիլ, «մ»

2.20 Ացետոն, «մhh»:

2.21 Բենզոլ, «մhh»:

2.22 Հեքսան, «մ»:

2.23 Մեթանոլ, «մhh»:

2.24 Իզոպրոպիլ սպիրտ (պրոպանոլ -2), «քմ»:

2.25 Ծծմբական թթու, «քմ»:

2.26 Աղաթթվական կալիում, «մhh»:

2.27 Ծծմբաթթվական նատրիում-անջուր, «մhh»:

2.28 Ածխաթթվական նատրիում, «մhh»:

2.29 3-ֆտոր քացախաթթվական անհիդրիդ, «մ»:

Սույն մեթոդում կիրառվում են հետևյալ հապավումները

«մhh»՝ մաքուր հետազոտության համար,

«մ»՝ մաքուր,

«քմ»՝ քիմիապես մաքուր,

ԷԶԴ՝ Էլեկտրոնային զավթման դետեկտոր,

ՆՇՔ՝ նրբաշերտ քրոմատագրման սարք,

Rf՝ նյութի ճակատի (մեկնարկի գծից մինչև բծի կենտրոն) հարաբերությունը լուծիչների ճակատին (մեկնարկի գծից մինչև լուծիչների ճակատի գիծը),

ԵՖԹ՝ երեքֆտորքացախաթթվական,

ԳՀՔ՝ գազ-հեղուկային քրոմատագրման սարք:

Օգտագործվող չափման միջոցները, սարքավորումները, քիմիական նյութերը իրենց չափագրական բնութագրերով պետք է ապահովեն մեթոդի ճշտության աստիճանը:

3. Լուծամզում

Նմուշը մանրացնում են սրճաղացով կամ լաբորատոր աղացով 1-2 րոպեի ընթացքում: Մանրացված նմուշից 20 գ լցնում են 250 մլ տարողությամբ հարթահատակ կոնաձև կոլբի մեջ ավելացնում 10մլ 4% աղաթթվական կալիում և 90 մլ ացետոնիտրիլ: Թափահարման սարքի միջոցով թափահարում են 30 րոպե: Ստացված խառնուրդը ֆիլտրում են չափիչ գլանի մեջ թղթյա ֆիլտրով, վերցնում են 70 մլ լուծամզուկ:

4. Լուծամզուկի մաքրումը

4.1 *Հեղուկ-հեղուկային մաքրում*

250 կամ 500 մլ տարողությամբ բաժանիչ ձագարի մեջ լցնում են 70 մլ լուծամզուկ, ավելացնում են 50 մլ հեքսան կամ հեպտան: Թափահարելուց և շերտերի բաժանվելուց հետո

վերևի հեքսանային շերտը թափում են: Ներքևի ացետոնիտրիլային շերտը կրկնակի անգամ թափահարում են ավելացնելով 40 մլ հեքսան, ամեն անգամ թափում են վերևի հեքսանային շերտը: Միացված ացետոնիտրիլային շերտը նոսրացնում են 17 մլ թորած ջրով և լուծահանում են 50 և 25 մլ բենզոլով, վերևի բենզոլային շերտերը անջատում են, միացնում են և չորացնում անջուր ծծմբաթթվական նատրիումով (10-15 գ) 0,5 ժամվա ընթացքում: Բամբակի օգնությամբ լուծույթը ֆիլտրում են 250 մլ տարողությամբ կլորահատակ կոլբի մեջ: Վերջում անջուր ծծմբաթթվական նատրիումը լվանում են 10 մլ բենզոլով և ֆիլտրում նույն կլորահատակ կոլբի մեջ: Բենզոլային լուծույթը գոլորշիացնում են ռոտացիոն գոլորշիացուցիչի օգնությամբ ջրային բաղնիքի 40-50^{0}C ոչ բարձր ջերմաստիճանային պայմաններում՝ մինչև չորանալը: Մնացորդը լուծում են 200-300 մկլ բենզոլի մեջ և մաքրում են ՆՇՔ-ի միջոցով (լուծույթ Ա):

4.2 Մաքրումը ՆՇՔ-ի միջոցով

Քրոմատագրման թիթեղի ներքևի աջ և ձախ անկյուններում եզրից 1,5 սմ հեռավորության վրա կաթեցնում են S-2 տոքսինի բենզոլային ստանդարտ լուծույթից 5 մկլ (500-ական նգ) (Ա և Բ դաշտեր), այնուհետև ներքևի եզրից 1,5 սմ հեռավորության վրա զուգահեռ ներքևի եզրին, ուղիղ գծի ձևով (լայնությունը 3 մմ-ից ոչ ավել), միկրոներարկիչի օգնությամբ կաթեցնում են 10 մկլ Ա լուծույթից: Ամբողջ լուծույթի տեղափոխումից հետո կլորահատակ կոլբի մեջ լցնում են 100-150 մկլ բենզոլ, թափահարում են և լուծույթը կրկին միկրոներարկիչի օգնությամբ տեղափոխում թիթեղի նույն գծի վրա: Թիթեղը տեղավորում են քրոմատագրման խցիկում, որի մեջ նախօրոք լցված է հեքսան-իզոպրոպիլ սպիրտի (7:2 հարաբերությամբ) խառնուրդը:

Հեղուկի բարձրանալուց հետո (թիթեղի վերևի եզրից 1,5 սմ հեռավորության վրա) թիթեղը հանում են, չորացնում, այնուհետև նրա երկու կողմնային եզրերից՝ Ա և Բ դաշտերով կտրում են երկու շերտեր: S-2 տոքսինի ստանդարտպարունակող նեղ շերտերը մշակում են (արտածում են) ծծմբական թթվի 20%-ոց մեթանոլային լուծույթով: Թիթեղները դնում են չորացնող պահարանում (105^{0}C) 1-3 րոպե տևողությամբ, նայում են ուլտրամանուշակագույն լույսի տակ: S-2 տոքսինի բծերը (սպիտակ-երկնագույն ֆլորեսցենցիայով՝ Rf 0,6-0,7) եզրագծում են մատիտով: Նեղ շերտերը դնում են լուծամզուկով կաթեցված թիթեղի մոտ (նրա երկու կողմից) և այդ թիթեղի վրա նշում են S-2 տոքսինի ստանդարտի քրոմատագրման շարժունակությանը (Rf) համապատասխան դաշտը: Դաշտի լայնությունը պետք է լինի մոտավորապես 7 մմ-ից (ամեն կողմից) ավելին, քան S-2 տոքսինի ստանդարտի բծի տարածումը՝ քրոմատագրման զարգացման ուղղությամբ: Դաշտը եզրագծում են թիթեղի ներքևի եզրին զուգահեռ 2 գծով:

Նշտարի կամ շպատելի օգնությամբ նշված գոտուց քերում են սիլիկագելի նշված շերտը և տեղափոխում 5 մլ տարողությամբ փորձանոթի մեջ, ավելացնում 4 մլ բենզոլ-ացետոն (1:1 հարաբերությամբ) խառնուրդից և թափահարում են: Սիլիկագելի սուսպենզիան բամբակի օգնությամբ ֆիլտրում են 50 մլ տարողությամբ տանձաձև կոլբի մեջ: Սիլիկագելը կրկին լվանում

են բենզոլ-ացետոն (1:1 հարաբերությամբ) խառնուրդով (2 x 4 մլ): Միացված բենզոլ-ացետոնային լուծամզուկը ռոտացիոն գոլորշիացուցիչի օգնությամբ լրիվ գոլորշիացնում են: Չոր մնացորդը լուծում են 200 մկլ բենզոլի մեջ (լուծույթ Բ):

5. S-2 տոքսինի պարունակության հայտնաբերման, նույնականացման և քանակական որոշման մեթոդը

5.1 S-2 տոքսինի ստանդարտ լուծույթի պատրաստումը

S-2 տոքսինի ստանդարտ լուծույթի պատրաստումը 100 մլ տարողությամբ չափիչ կոլբի մեջ. կշռում են 10 մգ բյուրեղական S-2 տոքսին (ճշգրիտ կշռանք), տեղափոխում են 100 մլ տարողությամբ չափիչ կոլբի մեջ և բենզոլով հասցնում նիշի: S-2 տոքսինի խտությունը ստանդարտ լուծույթում կազմում է 100 նգ/մկլ կամ 100 մկգ/մլ: Լուծույթը պահում են սառնարանում պլյուս 5^0C ոչ բարձր ջերմաստիճանային պայմաններում: Ստանդարտ լուծույթի պահպանման ժամկետը մինչև 2 տարի է:

5.2 Երեքֆտորքացախաթթվական (ԵՖԹ) ածանցյալների ստացումը

5.2.1 S-2 տոքսինի ԵՖԹ ածանցյալի ստացումը.

5 մլ տարողությամբ փորձանոթի մեջ լցնում են 50 մկլ S-2 տոքսինի ստանդարտ լուծույթից, ավելացնում են 250 մկլ բենզոլ, 30-50 մգ թարմ թրծված նատրիումի կարբոնատ և 50 մկլ երեքֆտորքացախաթթվական անհիդրիդ: Փորձանոթը հերմետիկ փակում են ապակյա խցանով և խառնում են 0,5 ժ մագնիսական խառնիչով (20-25^0C): Խառնելու համար փորձանոթի մեջ նախօրոք դնում են 3-4 մմ-ոց գրաֆենյակային ամրակի մի փոքր կտոր՝ զոդված ապակյա մազանոթին: Փորձանոթի պարունակությունը նոսրացնում են բենզոլով մինչև 1 մլ, ֆիլտրում են ապակյա ճագարի և բամբակի օգնությամբ մեկ այլ 5 մլ տարողությամբ փորձանոթի մեջ: Ֆիլտրի վրայի նատրիումի կարբոնատը լվանում են 0,5 մլ բենզոլով: Միացյալ բենզոլային ֆիլտրատը գոլորշիացնում են ազոտի թույլ շիթի տակ (ազոտի բացակայության դեպքում կարելի է մինչև վերջ գոլորշիացնել ռոտացիոն գոլորշիացուցիչի օգնությամբ): Չոր մնացորդը լուծում են 200 մկլ բենզոլի մեջ և հետազոտությունը կատարում են ԳՀՔ-ի միջոցով:

5.2.2 ԵՖԹ ածանցյալի ստացումը լուծամզուկից.

300 մկլ մաքրված լուծամզուկի բենզոլային լուծույթին (լուծույթ Բ) ավելացնում են նատրիումի կարբոնատ և երեքֆտորքացախաթթվի անհիդրիդ և շարունակում են ըստ 5.2.1 ենթակետի:

5.3 ԵՖԹ ածանցյալների ԳՀՔ հետազոտություն

Գազհեղուկային քրոմատագրման հետազոտության պայմանները.

աշտարակի ջերմաստիճանը՝ 200^0C

գոլորշիացուցիչի ջերմաստիճանը՝ 235^0C

թերմոստատի դետեկտորի ջերմաստիճանը՝ 270^0C

կրող գազի արագությունը՝ 90-100մլ/րոպե

փչող գազի արագությունը՝ 190-200 մլ/րոպե

զգայնության սանդղակը՝ 2×10^{-12} Ա

1 մկլ տարողությամբ միկրոներարկիչի օգնությամբ գազային քրոմատագրման սարքի մեջ հաջորդաբար ներարկում են 0,2 և 0,5 մկլ (որը համապատասխանում է 5 և 12,5 նգ S-2 տոքսինին) S-2 տոքսինի ԵՖԹ ածանցյալի 200 մկլ բենզոլային լուծույթ: Ամեն մի դեպքում նշում են պահման ժամանակը (տվյալ դեպքում 5-6 րոպե է) և որոշում են S-2 տոքսինի ԵՖԹ ածանցյալի ստանդարտի պիկի դուրս գալու ժամանակը մակերեսը ($S_{ստ.}$): Պիկի մակերեսը որոշում են բարձրությունը բազմապատկելով լայնության կեսով: Այնուհետև գազային քրոմատագրման սարքի մեջ են ներարկում 0,5-1,0 մկլ լուծամզուկի ԵՖԹ-ածանցյալի լուծույթ: Պիկի առկայության դեպքում, որն ըստ պահման ժամանակի համապատասխանում է S-2 տոքսինի ԵՖԹ-ածանցյալի պահման ժամանակին, որոշում են նմուշի պիկի մակերեսը ($S_{նմ.}$):

Նմուշի մեջ S-2 տոքսինի պարունակությունը որոշում են հետևյալ բանաձևով՝

$$C = \frac{V_1 \cdot V_3 \cdot S_1 \cdot m}{V_2 \cdot V_4 \cdot S_2 \cdot M} \text{ (մկգ/կգ),}$$

որտեղ՝

S_1՝ լուծամզուկում S-2 տոքսինի ԵՖԹ-ածանցիալի պիկի մակերեսը, $մմ^2$,

S_2 ՝ S-2 տոքսինի ստանդարտի ԵՖԹ-ածանցիալի պիկի մակերեսը, $մմ^2$,

m ՝ S-2 տոքսինի գազային քրոմատագրման սարք ներարկված ստանդարտի քանակը, նգ (5 կամ 12,5 նգ),

M ՝ նմուշի քանակը, գ (20գ),

V_1 ՝ լուծամզող լուծիչի ծավալը, մլ (100 մլ),

V_2 ՝ հետազոտության համար վերցված ֆիլտրատի ծավալը, մլ (70 մլ),

V_3 ՝ լուծամզուկի ԵՖԹ-ածանցիալի բենզոլային լուծույթի ծավալը, մկլ (200 մլ),

V_4՝ լուծամզուկի ԵՖԹ-ածանցիալի բենզոլային լուծույթի գազային քրոմատագրման սարք ներարկված ծավալը, մկլ: