

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение следовых количеств
элементов. Методика
микроволновой минерализации**

Методические указания
МУК 4.1.3559—19

Издание официальное

**Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека**

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение следовых количеств элементов.
Методика микроволновой минерализации**

**Методические указания
МУК 4.1.3559—19**

ББК 51.23

О-62

О-62 **Определение следовых количеств элементов. Методика микроволновой минерализации: Методические указания.—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019.—15 с.**

ISBN 978–5–7508–1716–0

1. Разработаны ФБУН «Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора (В. Н. Ракитский, Н. Е. Федорова, М. В. Егорова, М. С. Гречина, А. С. Родионов, С. В. Скупневский).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 10 октября 2019 г.

3. Введены впервые.

ББК 51.23

ISBN 978–5–7508–1716–0

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации

А. Ю. Попова

10 октября 2019 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Определение следовых количеств элементов.
Методика микроволновой минерализации**

**Методические указания
МУК 4.1.3559—19**

I. Общие положения и область применения

1.1. Настоящие методические указания (далее – МУК) устанавливают порядок применения метода микроволновой минерализации проб пищевых продуктов и продовольственного сырья для последующего определения содержания элементов методами атомной спектрометрии (атомноабсорбционной спектрометрией с пламенной и электротермической атомизацией, с использованием техники генерации гидридов), могут быть использованы в комбинации с методами масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой, оптической эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой и вольтамперометрии.

1.2. МУК предназначены для органов и организаций Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, осуществляющих контроль безопасности пищевой продукции, а также могут быть использованы организациями, осуществляющих контроль качества и исследования пищевых продуктов и продовольственного сырья.

1.3. МУК носят рекомендательный характер.

II. Сущность метода

2.1. Микроволновая минерализация представляет собой кислотную минерализацию при повышенном давлении с использованием микроволнового способа нагрева и является физико-химическим методом получения раствора следовых элементов пробы, используемым при подго-

товке пробы к определению этих элементов в соответствии со стандартизованными методиками.

Механизм взаимодействия микроволнового излучения с веществом заключается в поглощении последним энергии электромагнитного излучения и рассеянии ее в виде тепла. Поглощение микроволнового излучения приводит к возрастанию температуры в объеме вскрываемой пробы, ускорению происходящих в растворах процессов массопереноса, диффузии, а также химических взаимодействий с участием растворителя.

Отобранные для исследования пробы гомогенизируют с помощью оборудования, гарантирующего незначительную степень загрязнения определяемыми элементами, затем минерализуют при повышенной температуре и давлении с использованием микроволнового способа нагрева в герметичном сосуде, выдерживающим высокое давление.

III. Средства измерений, вспомогательное оборудование, реактивы, материалы

3.1. Средства измерений

Весы лабораторные аналитические, наибольший предел взвешивания 110 г, предел допустимой погрешности $\pm 0,01$ г	ГОСТ Р 53228
Меры массы	ГОСТ OIMLR 111-1
Стандартная лабораторная стеклянная и фарфоровая посуда, включая мерные колбы, цилиндры	ГОСТ 1770
пипетки	ГОСТ 292271
стаканы, воронки химические	ГОСТ 25336
стеклянные палочки	
Дозатор пипеточный лабораторный на 1 000 мм ³	ГОСТ 28311

Примечание. Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

3.2. Вспомогательное оборудование

Микроволновая система пробоподготовки классического камерного типа, снабженная датчиками для контроля давления и температуры, с набором стаканов-лайнеров. Допустимо и возможно использование систем микроволновой подготовки проб с одним прямым датчиком контроля температуры (термопары) в контрольном сосуде

Установка для дистилляции воды любого типа
 Установка для получения деионизированной воды любого типа

Тигли платиновые или из другого материала, устойчивого (не вступающего в реакцию) при условиях проведения процедуры, плоскодонные диаметром около 60 мм и высотой около 35 мм

Оборудование для высушивания проб (например, сушильный шкаф), позволяющее высушивать пробы при температуре 120 ± 5 °С, и их предварительного разложения (например, газовая горелка или плита). Может быть также использован обогреватель с инфракрасной лампой или бытовая конвекционная сушилка
 Мельница лабораторная с керамическими или титановыми ножами

Ступка фарфоровая или кварцевая с пестиком

Орбитальный шейкер любого типа

Баня ультразвуковая любого типа

Баня водяная

Холодильник с морозильной камерой любого типа

Нож керамический

Шпатели или ложки из полимерного материала

Фильтровальная бумага

ГОСТ 12026

Сосуды для хранения проб из полипропилена, полиэтилена или фторопласта, например, полифторэтиленпропилена, с навинчивающимися крышками, любого типа

Груша резиновая любого типа

Примечание. Для снижения контаминации все оборудование и элементы приборов, непосредственно контактирующие с пробой, тщательно обрабатывают азотной кислотой (пункты 7.3, 7.4), затем промывают водой.

3.3. Реактивы

Вода для анализа:

дистиллированная,

или вода бидистиллированная,

или вода деионизованная,

ГОСТ 6709

или вода для лабораторного анализа 1 степени чистоты, ГОСТ Р 52501

или вода, полученная с помощью установки для получения воды высокой степени чистоты
Качество воды для анализа проверяют согласно пункту 7.2

Азотная кислота концентрированная (водный раствор массовой долей не менее 65 %, плотностью около 1,4 г/см³), осч – для приготовления растворов и подготовки проб ГОСТ 11125

Азотная кислота, хч – используется при приготовлении раствора для подготовки посуды по пункту 7.1 ГОСТ 4461

Перекись водорода концентрированная (водный раствор массовой долей не менее 30 %), хч ГОСТ 10929

Примечание. Концентрация определяемых элементов в используемых реактивах и воде должна быть настолько мала, чтобы не оказывать влияния на результаты испытаний. Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией, не требующих дополнительной очистки (например, ультрачистая азотная кислота 69 % для анализа следов металлов на уровнях мкг/дм³ в упаковке из фторированного полимера, гарантирующей качество кислоты и отсутствие загрязнения реактива определяемым аналитом).

IV. Требования безопасности

4.1. При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования по электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ Р 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на систему микроволновой пробоподготовки.

4.2. Помещение должно соответствовать требованиям пожаробезопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009. Организация обучения работников безопасности труда проводится по ГОСТ 12.0.004. Содержание вредных веществ в воздухе не должно превышать гигиенических нормативов¹.

4.3. Перед началом работы с аппаратом для минерализации под давлением следует внимательно ознакомиться с инструкциями по его

¹ ГН 2.2.5.3532—18 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны»; ГН 2.2.5.2308—07 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны».

эксплуатации и технике безопасности. Особое внимание следует обратить на риск отравления персонала лаборатории окислами азота.

4.4. При работе с микроволновой установкой персонал должен использовать средства индивидуальной защиты: резиновые перчатки, защитную маску, лабораторный халат.

4.5. Не допускается нахождение персонала на расстоянии менее 1,5 м от работающей установки.

V. Требования к квалификации операторов

5.1. Процедуру минерализации в соответствии с настоящей методикой может выполнять специалист, имеющий опыт работы в химической лаборатории, освоивший данную методику и правила техники безопасности.

VI. Условия проведения минерализации

6.1. При подготовке к выполнению процедуры минерализации, а также при ее проведении необходимо соблюдать условия, установленные в руководствах по эксплуатации или в паспортах используемого оборудования.

6.2. Приготовление растворов проводят при температуре окружающей среды от 15 °С до 25 °С и относительной влажности не более 80 %.

6.3. Все растворы, если это не оговорено особо, следует хранить при комнатной температуре в закрытых емкостях из полимерных материалов.

VII. Подготовка к выполнению процедуры

Подготовка посуды

7.1. Всю предназначенную для использования лабораторную посуду предварительно промывают раствором азотной кислоты (пункты 7.3, 7.4) и затем большим количеством водопроводной и (или) дистиллированной воды и ополаскивают водой для анализа. Не допускается обрабатывать посуду смесями, содержащими соединения хрома.

Сильно загрязненную посуду (например, посуду, в которой хранились пробы с высоким содержанием элементов) отмывают принятым в лаборатории способом, а затем замачивают в растворе азотной кислоты (пункт 7.4) на 24 ч, после чего ополаскивают водой для анализа не менее трех раз.

Контроль качества реактивов

7.2. Для контроля чистоты воды для анализа и азотной кислоты проводят измерения фонового раствора для градуировки в соответствии с методикой последующего анализа. Результаты контроля считают положительными, если массовая концентрация определяемого элемента в этом растворе меньше нижней границы установленного диапазона измерений выбранного метода анализа. При неудовлетворительных результатах контроля находят и устраняют причины загрязнений реактивов, принимают дополнительные меры по их очистке или используют реактивы и материалы более высокой чистоты.

Приготовление раствора для обработки посуды

7.3. Один объем концентрированной азотной кислоты добавляют при перемешивании к одному объему дистиллированной воды. Раствор используют для мытья лабораторной посуды. Срок хранения раствора не ограничен.

7.4. Смесь концентрированной азотной кислоты с водой (1 : 9 по объему) используют для замачивания лабораторной посуды. Срок хранения раствора не ограничен.

Отбор и условия хранения проб

7.5. Отбор проб осуществляют в соответствии с правилами отбора для конкретного вида продукции.

Отобранные пробы хранят при температуре 4 ± 2 °С. Для длительного хранения, при невозможности исследования проб в течение 3—5 дней после отбора, образцы замораживают и хранят при температуре не выше -18 °С.

VIII. Подготовка системы для минерализации к работе

8.1. Подготовка установки для минерализации к работе проводят в соответствии с Руководством по эксплуатации.

Перед началом работы необходимо:

- провести внешний осмотр микроволновой системы, обеспечить чистоту внутреннего пространства, провести проверку на герметичность (не зажаты ли между дверью и стенкой какие-либо посторонние предметы) во избежание утечки микроволнового излучения в процессе работы;
- проверить рамы, контейнеры и все сопутствующие компоненты (должны быть не поврежденными и сухими).

IX. Проведение минерализации

Предварительная подготовка пробы

9.1. Замороженные продукты должны быть предварительно разморожены в закрытых контейнерах, при этом образующаяся при размораживании жидкость должна быть собрана и добавлена к продукту перед измельчением.

9.2. Образцы растительной продукции очищают от семян и кожуры, мякоть тщательно измельчают и гомогенизируют.

9.3. При необходимости перед проведением минерализации пробы высушивают до постоянного веса.

Высушивание проб проводят одним из способов, указанных в пп. а, б, в, г, используя соответствующее оборудование (пункт 3.2):

а) тигли помещают на водяную баню и выпаривают воду почти до суха. Затем переносят тигли в сушильный шкаф и высушивают пробы при температуре 120 ± 5 °С;

б) помещают тигли под инфракрасный излучатель на расстоянии 11—12 см и выдерживают их до того момента, когда содержимое тиглей высушится и слегка обуглится;

в) измельченные образцы размещают на листе фильтровальной бумаги и высушивают;

г) пробы помещают в бытовую конвекционную сушилку, разграничивая их, и высушивают при максимально возможной температуре.

9.4. Для обеспечения максимальной полноты минерализации важно тщательно измельчить пробу. Для подготовки проб используют обычные способы, обеспечивающие достаточную однородность (гомогенность) подготовленной пробы. Чем выше достигнутая степень измельчения, тем эффективнее будет осуществлено последующее разложение. При этом следует всеми возможными мерами предотвращать ее загрязнение определяемыми элементами при выполнении таких операций, как резка и измельчение. При измельчении во избежание контаминации не допускается использовать инструменты из нержавеющей стали.

9.5. Жидкие образцы не требуют предварительной подготовки проб.

Приготовление навесок образцов и предварительная минерализация

9.6. От общего объема образца непосредственно во фторопластовый стакан-лайнер отбирают навески массой от 0,1 до 0,5 г (независимо от их вида), взвешенные с точностью до 0,01 г. Массу навески пробы подбирают исходя из вместимости сосуда для минерализации, минимального и максимального объема заполнения, обычно указываемого производителем оборудования.

Измельченные образцы отбирают пластмассовым шпателем (ложкой). Навески жидких образцов отбирают с помощью пипеточного дозатора и помещают их в реакционные сосуды (во фторопластовый стакан-лайнер). Взвешивание проводят путем осторожного введения образца в реакционный сосуд, установленный на лабораторных весах.

Примечание: Не допускается отложение частиц материала на стенках реакционного сосуда. При необходимости налипшие частицы смываются растворителем, используемым в данной процедуре.

9.7. К навеске пробы добавляют концентрированную азотную кислоту. Объем кислоты, необходимый для минерализации, зависит от природы материала пробы. Как правило, для минерализации пробы в указанных выше количествах требуется не менее 3 см³ концентрированной азотной кислоты.

Примечание: При минерализации чистых жиров может возникнуть необходимость использовать навеску пробы меньшей массы и порцию кислоты большего объема.

Для предотвращения цементирования материала пробы на стенках сосуда и достижения полного смешивания пробы с кислотой добавляют до 0,5 см³ перекиси водорода. Работы проводят в вытяжном шкафу.

9.8. Емкость с пробой выдерживается до окончания протекания бурной реакции не менее 15 минут для того, чтобы легко летучие и окисляемые компоненты успели покинуть пробу, и только после этого возможна установка контейнера в микроволновую печь в соответствии с техническим описанием системы.

Установка контейнеров в микроволновую печь

9.9. При установке контейнеров в микроволновую установку классического камерного типа для обеспечения оптимальных условий разложения следует придерживаться следующих рекомендаций.

9.10. Равномерно располагать контейнеры на поворотном столике микроволновой печи.

9.11. Помещать в контейнеры в рамках одного цикла разложения пробы одного типа и объема; растворитель должен быть одинаков во всех контейнерах, так же как массы навесок и объем растворителя;

9.12. В каждом блоке контейнеров, устанавливаемых в камеру печи для проведения минерализации, должен присутствовать по крайней мере один контрольный контейнер.

9.13. При использовании систем микроволновой подготовки проб с одним прямым датчиком контроля температуры (термопары) в контрольном сосуде помещать в контрольные контейнеры обязательно реальные (не холостые реагентные) пробы.

9.14. Исследование холостых реagentных проб для учета погрешностей, связанных с возможным присутствием определяемых компонентов в растворителях, следует проводить в отдельном цикле минерализации, так как отсутствие в них объекта минерализации создает отличные от анализируемых реальных проб условия разложения.

Установка режимов минерализации

9.15. При выборе условий и режимов минерализации для конкретных видов продукции по возможности следует пользоваться рекомендациями изготовителя систем микроволновой пробоподготовки, если они есть в наличии.

Необходимо учитывать, что приводимые методики являются ориентировочными. В аналогичных условиях могут быть разложены похожие образцы. В связи с тем, что пробы могут сильно различаться, условия разложения следует подбирать индивидуально для конкретной пробы, опираясь на параметры, приведённые в настоящей методике.

Примечание. Условия, рекомендованные для автоклавной минерализации, не подходят для микроволновой минерализации вследствие существенной разности в навесках пробы.

9.16. При самостоятельном подборе условий рекомендуется руководствоваться следующими принципами:

- при первом разложении нового образца использовать минимальные количества навески, начиная с 0,1 г и увеличивая ее постепенно, но не превышая 0,5 г;

- в начале минерализации рекомендуется плавное повышение температуры с невысокими значениями на любом типе пробы (80—120 °С, 5—8 мин);

- начинать разложение следует с установки невысоких температур (до 200 °С) и давления (2—5 атм.);

- необходимо по возможности избегать высоких значений температуры и давления: белки можно разложить в азотной кислоте при температуре 150 °С, углеводы – при 160 °С; крахмал – 140 °С; сахара – 150 °С;

- для полной деструкции органической матрицы рекомендуется использовать многостадийный режим с постепенным увеличением температуры и давления;

- температура, давление, время нагрева изменяются в зависимости от количества контейнеров, установленных в камере печи. После проверки возможности полного разложения определенного образца в двух контейнерах количество контейнеров может быть пошагово увеличено

вместе с повышением значений температуры, давления и времени нагрева для нахождения оптимальных параметров разложения.

В приложении к настоящим МУК представлены примеры режимов минерализации для некоторых образцов.

Охлаждение контейнеров

9.17. С целью снижения давления внутри сосуда для минерализации его охлаждают в закрытом состоянии, не вынимая из установки для минерализации, до температуры близкой к комнатной. Среднее время охлаждения зависит от программы разложения и характера минерализуемой пробы и составляет 30—40 минут.

Подготовка минерализата к анализу

9.18. Охлажденный сосуд с минерализованной пробой извлекают из держателя и помещают в вытяжной шкаф, открывают и выдерживают до прекращения видимого выделения коричневого дыма. Для ускорения процесса газовыделения и обесцвечивания раствора минерализата рекомендуется устанавливать контейнеры под тягой на орбитальный шейкер.

Полученный минерализат должен быть прозрачным, а его объем примерно таким же, как до минерализации. При заметном уменьшении объема минерализата, свидетельствующем о разгерметизации контейнера, минерализацию следует повторить.

9.19. Минерализированный раствор разбавляется деионизированной водой сначала в том же контейнере, затем разбавленный раствор переводят в мерную посуду, доводят деионизированной водой до необходимого объема и дополнительно подвергают перемешиванию и дегазации на ультразвуковой бане.

9.20. Фактор разбавления минерализата устанавливается в каждом конкретном случае с учетом обеспечения возможности количественной идентификации металла выбранным методом анализа в интервале ожидаемых уровней концентраций, но не ниже естественных содержаний анализируемых элементов в исследуемых объектах.

9.21. Если выбранная навеска образца недостаточна для достижения необходимой чувствительности определения аналита, возможно объединение растворов-минерализатов из нескольких реакционных емкостей с навесками одной и той же пробы до этапа разбавления. При этом контрольный («холостой») опыт проводят в тех же условиях.

Пробы выдерживают до начала анализа по крайней мере 2 часа.

Хранение раствора минерализата

9.22. При необходимости хранения раствор минерализата помещают в посуду из полипропилена, полиэтилена или фторопласта. Срок хранения законсервированных проб при температуре от 2 °С до 8 °С составляет не более 1 месяца. Проба не должна подвергаться воздействию прямого солнечного света.

Х. Требования к протоколу (отчету) о проведении минерализации

10.1. По окончании процесса минерализации должен быть составлен протокол (отчет), в котором представлена вся необходимая информация о методе минерализации, в том числе следующие сведения:

- масса навесок образцов;
- используемые реагенты, в частности, добавлялась или не добавлялась перекись водорода;
- режимы минерализации;
- фактор разбавления полученного минерализата;
- все детали проведения испытания, не оговоренные в настоящем МУК или не считающиеся обязательными, а также все инциденты, наблюдавшиеся при проведении испытания, которые могли повлиять на конечный результат.

XI. Пример микроволновой минерализации

11.1. Образцы клубней картофеля нарезают тонкими ломтиками при помощи керамического ножа, рассыпали на лист фильтровальной бумаги, взвешивали и высушивали в сушильном шкафу при температуре 120 °С.

Примечание: Влагосодержащие образцы проб перед микроволновой минерализацией высушивать не обязательно. Навеску влагосодержащей пробы подбирают в зависимости от типа пробы (углеводы, жиры (масла) и т. д.) и от содержания в ней сухой органики, максимальное значение сухой органики в пробе для большинства классических камерных систем составляет 0,5—0,6 г. Основное преимущество высушенных образцов – возможность хранения для проведения повторных исследований в случае необходимости.

Высушенные образцы повторно взвешивали для нахождения процента сухого веса, который затем учитывается при расчете, тщательно измельчали в фарфоровой ступке. Из полученной массы отбирали навески массой 0,2 г и помещали их в реакционные сосуды из фторопласта, входящие в комплект системы для микроволновой пробоподготовки.

Добавляли 4 см³ концентрированной азотной кислоты 69 % для анализа следов металлов, выдерживали в вытяжном шкафу 30 минут, после чего устанавливали емкость с пробой в специальную рамку, входящую в комплект оборудования, надлежащим образом герметизировали в соответствии с руководством по эксплуатации и размещали в корпусе микроволновой печи. Минерализацию начинали при малой мощности микроволнового излучения, постепенно увеличивая ее до максимального значения в три стадии: на первой стадии температуру поднимали до 120 °С, давление до 15 атм. и выдерживали 2 минуты, на второй увеличивали температуру до 150 °С, давление до 20 атм. при выдержке 2 минуты, на третьей – температуру увеличивали до 180 °С, давление до 25 атм. и выдержку до 4 минут. По завершении программы минерализации пробы оставляли в микроволновой печи еще на 35 минут для снижения давления внутри сосуда для минерализации и его охлаждения в закрытом состоянии. После охлаждения реакционные сосуды извлекали из рамки и помещали до прекращения газовой выделения и обесцвечивания раствора минерализата на аппарат для встряхивания (орбитальный шейкер), размещенный в вытяжном шкафу при включенной тяге. Применение орбитального шейкера значительно ускоряет процесс минерализации. В результате достигнута полная минерализация образцов, получены бесцветные прозрачные растворы.

После охлаждения до комнатной температуры минерализат из реакционных сосудов переводили в мерные емкости, доводили свежеприготовленной деионизированной водой до 10 см³, дополнительно в течение нескольких минут перемешивали на ультразвуковой бане и оставляли на 2 часа при комнатной температуре.

С целью учета погрешности, связанной с возможным присутствием анализируемых компонентов в растворе азотной кислоты, в отдельном цикле загрузки проведена минерализация того же объема используемой кислоты.

При разложении жидких образцов, например, фруктового сока, в сосуд для минерализации помещали 0,3 г неразбавленной пробы, добавляли 8 см³ концентрированной азотной кислоты. Условия разложения приведены в приложении к настоящему МУК.

**Примеры режимов микроволнового разложения
пищевых продуктов**

Образец	Масса навески, г	Реагент, объем, см ³	Температура, С°	Давление, атм.	Время, мин
Мука, сухари	0,2	HNO ₃ – 5	130	15	2
			150	25	2
			180	35	6
Сушеные овощи (картофель) и фрукты (ягоды винограда)	0,2	HNO ₃ – 4	120	15	2
			150	20	2
			180	25	4
Фруктовый сок	0,3	HNO ₃ – 8	100	20	5
			130	30	2
			150	35	2
			180	45	2
Сушеная зеленая масса растений (ботва картофеля)	0,2	HNO ₃ – 4	150	15	4
			180	20	4

**Определение следовых количеств элементов. Методика
микроволновой минерализации**

**Методические указания
МУК 4.1.3559—19**

Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 30.12.19

Формат 60x88/16

Тираж 100 экз.

Печ. л. 1,0
Заказ 32

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
Федеральным центром гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Реализация печатных изданий, тел./факс: 8 (495) 633-86-59