|  |
| --- |
| **ЕВРАЗИЙСКИЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ****(ЕАСС)****EURO-ASIAN COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION****(EASC)** |
|  | **МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ****СТАНДАРТ** | **ГОСТ***(проект, KZ,**первая редакция)* |

**ВОДА, ПИЩЕВАЯ ПРОДУКЦИЯ, КОРМА** **И** **ТАБАЧНЫЕ** **ИЗДЕЛИЯ**

**Определение** **хлорорганических** **пестицидов** **хроматографическими** **методами**

*Настоящий проект стандарта не подлежит применению до его принятия*

# Минск

**Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации**

**202\_**

**Предисловие**

Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации (ЕАСС) представляет собой региональное объединение национальных органов по стандартизации государств, входящих в Содружество Независимых Государств. В дальнейшем возможно вступление в ЕАСС национальных органов по стандартизации других государств

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и
ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

**Сведения о стандарте**

1 ПОДГОТОВЛЕН Республиканским государственным предприятием на праве хозяйственного ведения «Казахстанский институт стандартизации и метрологии» Комитета технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан на основе собственного аутентичного перевода на русский язык международного стандарта, указанного в разделе 4

2 ВНЕСЕН Комитетом технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол №\_\_\_\_\_от\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_)

За принятие проголосовали:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Краткое наименование страны по МК(ИСО 3166) 004–97 | Код страны по МК (ИСО 3166) 004–97 | Сокращенное наименованиенационального органапо стандартизации |
|  |  |  |

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных (государственных) стандартов, издаваемых в этих государствах*

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в указателе (каталоге) «Межгосударственные стандарты», а текст этих изменений – в информационных указателях «Межгосударственные стандарты». В случае пересмотра или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована в информационном указателе «Межгосударственные стандарты»*

Исключительное право официального опубликования настоящего стандарта на территории указанных выше государств принадлежит национальным (государственным) органам по стандартизации этих государств

**Содержание**

|  |  |
| --- | --- |
| 1 Область применения | 1 |
| 2 Нормативные ссылки | 1 |
| 3 Требования к выполнению измерений | 6 |
| 4 Метод тонкослойной хроматографии | 7 |
| 5 Метод адсорбционной высокоэффективной жидкостной хроматографии | 16 |
| 6 Определение ХОП в комбикормах и комбикормовом сырье методом газожидкостной хроматографии | 19 |
| 7 Контроль качество результатов измерений | 28 |
| Приложение A (обязательное)  | 29 |

|  |
| --- |
| **МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ** |
| **ВОДА, ПИЩЕВАЯ ПРОДУКЦИЯ, КОРМА** **И** **ТАБАЧНЫЕ** **ИЗДЕЛИЯ****Определение** **хлорорганических** **пестицидов** **хроматографическими** **методами**Water, food, feed and tobacco. Determination of organochlorine pesticides by chromatographic methods |

**Дата введения –**

**1 Область применения**

Настоящий стандарт устанавливает методы определения хлорорганических пестицидов (далее ХОП): ДДТ - 4,4'-дихлордифенилтрихлорэтана и его метаболитов: ДДД - 4,4'-дихлордифенилдихлорэтана и ДДЭ - 4,4'-дихлордифенилдихлорэтилена; ГХЦГ и его изомеров: линдана - гамма-изомера гексахлорциклогексана, альфа - изомера гексахлорциклогексана, бета-изомера гексахлорциклогексана, гексахлорбензол, гептахлора, кельтана и альдрина тонкослойной, высоко эффективной жидкостной и газожидкостной хроматографией.

Настоящий стандарт распространяется на воду, продукты питания, корма и табачные изделия.

**2 Нормативные ссылки**

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные стандарты. Для датированных ссылок следует использовать только указанное издание, для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного стандарта (включая все его изменения):

ГОСТ 12.1.019-2017 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.

ГОСТ 1277-75 Реактивы. Серебро азотнокислое. Технические условия.

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия.

ГОСТ 2603-79 Ацетон. Технические условия.

ГОСТ 3760-79 Реактивы. Аммиак водный. Технические условия.

ГОСТ 3956-76 Силикагель технический. Технические условия.

ГОСТ 4204-77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия.

ГОСТ 4166-76 Реактивы. Натрий сернокислый. Технические условия.

ГОСТ 4201-79 Реактивы. Натрий углекислый кислый. Технические условия.

ГОСТ 4220-75 Реактивы. Калий двухромовокислый. Технические условия.

ГОСТ 4233-77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия.

ГОСТ 5962-2013 Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия.

ГОСТ 6709-72 - Вода дистиллированная. Технические условия.

ГОСТ 9147-80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия.

*проект, KZ, первая редакция*

ГОСТ 9293-74 Азот газообразный и жидкий. Технические условия.

ГОСТ 10929-76 Реактивы. Водорода пероксид. Технические условия.

ГОСТ 12026-76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия.

ГОСТ 20015-88 Хлороформ. Технические условия.

ГОСТ 21400-75 Стекло химико-лабораторное. Технические требования. Методы испытаний.

ГОСТ 24104-2001 Весы лабораторные. Общие технические требования.

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

ГОСТ 25706-83 Лупы. Типы, основные параметры. Общие технические требования.

ГОСТ 29227-91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования.

ГОСТ ИСО 5725-1-2003. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 1. Основные положения и определения.

ГОСТ ИСО 5725-2-2003. Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерений.

ГОСТ ИСО 5725-6-2003 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике.

ГОСТ 32218-2003 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Подготовка испытуемых проб.

Примечание - При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов (и классификаторов) на территории государства по соответствующему указателю стандартов (и классификаторов), составленному по состоянию на 1 января текущего года, и по соответствующим информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный документ заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом, следует руководствоваться замененным (измененным) стандартом. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку

**3Требования к выполнению измерений**

**3.1 Условия** **безопасного** **проведения** **работ**

* + 1. К практическому выполнению анализов допускаются специалисты, прошедшие инструктаж по технике безопасности при работе в лаборатории (с отметкой в журнале инструктажа) и ознакомившиеся с настоящим стандартом.
		2. Электробезопасность при работе с электроустановками по
		ГОСТ 12.1.019.
		3. Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по Техническому регламенту «Общие требования к пожарной безопасности» и иметь средства пожаротушения в соответствии с Техническим регламентом «Требования к безопасности пожарной техники для защиты объектов».

**3.2 Требования к квалификации специалистов**

Измерения может проводить специалист, владеющий техникой лабораторных работ и изучивший инструкцию по эксплуатации, используемого оборудования.

**3.3 Условия выполнения измерений**

* температура окружающего воздуха (20 ± 10) °С;
* атмосферное давление от 84 кПа до 106,7 кПа;
* относительная влажность (65 ± 15) %.
	1. Необходимо соблюдать правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, концентрированными кислотами.

**4** **Метод тонкослойной хроматографии**

* 1. Сущность метода

Метод основан на хроматографии хлорсодержащих пестицидов в тонком слое в различных системах подвижных растворителей после экстракции их из исследуемых образцов и очистке экстрактов.

* 1. Метрологическая характеристика метода указана в Таблице 1.

Таблица 1 - Метрологическая характеристика

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Анализируемая проба | Предел обнаруже-ния, мг/дм3 илимг/кг | Число параллельных определений,n | Стандартное отклонение, S % | Относительное отклонение,Sr% | Доверительный интервал при n=5 и а=0,95, % |
| Вода | 0,005 | 7 | 10 | 10,7 | 93,0 ± 7,7 |
| Вино | 0,005 | 7 | 12 | 13,3 | 90,0 ± 9,0 |
| Овощи | 0,050 | 7 | 12 | 14,4 | 83,0 ± 9,0 |
| Фрукты | 0,050 | 6 | 9 | 11,1 | 81,0 ± 7,4 |
| Зерно | 0,050 | 7 | 10 | 13,3 | 75,0 ± 7,5 |
| Трава | 0,025 | 10 | 12 | 16,2 | 74,0 ± 7,6 |
| Молоко | 0,040 | 13 | 16 | 18,6 | 86,0 ± 8,9 |
| Сливочноемасло | 0,050 | 8 | 17 | 20,0 | 83,0 ± 12,0 |
| Рыба | 0,050 | 10 | 12 | 14,1 | 83,0 ± 7,6 |
| Мясо | 0,050 | 10 | 15 | 17,2 | 87,0 ± 9,5 |
| Животный жир | 0,040 | 6 | 12 | 14,6 | 82,0 ± 9,9 |
| Сахар | 0,020 | 6 | 5 | 5,1 | 97,0 ± 4,13 |

Диапазон определяемых концентраций от 0,005 мг/кг до 2,0 мг/кг или мг/дм3.

**4.3** **Аппаратура, материалы и реактивы**

4.3.1 Аппаратура и материалы

- весы аналитические специального класса точности с наибольшим пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,0001 г, по ГОСТ 24104;

- весы лабораторные высокого класса точности с наибольшим пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,01 г, по ГОСТ 24104;

- испаритель ротационный по действующей нормативной документации;

- аппарат для встряхивания по действующей нормативной документации;

- облучатель хроматографический УФС-254 или ртутно-кварцевая лампа ПРК-4;

- колбы перегонные К-1-250-29/32 по ГОСТ 25336;

- колбы Гр-25-14/23 по ГОСТ 25336;

- колбы мерные 2-50-2; 2-100-2; 2-500-2 по ГОСТ 1770;

- воронка В-56-80 ХС по ГОСТ 25336;

- колба коническая Кн-1-250-29/32 по ГОСТ 25336;

- цилиндры мерные 1-50, 1-100 по ГОСТ 1770;

- пробирки с притертыми пробками вместимостью 10 см3 по ГОСТ 25336;

- стеклянные банки с притертыми крышками, вместимостью 500, 1000 см3;

- воронки делительные ВД-100-29/32, ВД-250-29/32 по ГОСТ 25336;

- стакан В-1-50 по ГОСТ 25336;

- пипетки 1-2-2-5, 1-2-2-10 по ГОСТ 29227.;

- палочка из химико-лабораторного стекла по ГОСТ 21400;

- бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026 или фильтры бумажные;

- пластинки хроматографические по действующей нормативной документации;

- камера для хроматографирования: сосуд с плоским дном, закрывающийся пришлифованной крышкой, или эксикатор по ГОСТ 25336;

- пульверизатор стеклянный;

- колонка стеклянная хроматографическая для очистки экстрактов из продуктов, содержащих жир: узкая часть - длина (50 ± 2) см, диаметр (1,7 ± 0,3) см, широкая часть - длина (1,5 ± 2) см, диаметр (2,5 ± 0,2) см.

4.3.2 Реактивы

- кислота серная по ГОСТ 4204, х.ч., плотностью 1,84 г/см3;

- гексан, ч., очищенный концентрированной серной кислотой, отмытый дистиллированной водой, высушенный кристаллическим едким кали и перегнанный с дефлегматором;

- ацетон по ГОСТ 2603, х.ч., перегнанный;

- аммиак водный по ГОСТ 3760, ч.д.а.;

- спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 5962;

- хлороформ, х.ч., перегнанный по ГОСТ 20015;

- эфир диэтиловый по действующей нормативной документации;

- водорода пероксид по ГОСТ 10929, 30 %-ный раствор;

- натрий сульфат безводный по ГОСТ 4166, ч.;

- натрий углекислый кислый по ГОСТ 4201, ч. д. а.;

- калий щавелевокислый по действующей нормативной документации;

- натрий хлористый по ГОСТ 4233, х.ч.;

- четыреххлористый углерод по действующей нормативной документации;

- серебро азотнокислое по ГОСТ 1277, х.ч.;

- силикагель марки АСК, измельченный и просеянный через сито 0,30 мм по ГОСТ 3956;

- вода дистиллированная по ГОСТ 6709;

- уголь активированный любой марки;

- бумага индикаторная универсальная для определения рН;

- стандартные государственные образцы (ГСО) состава хлорорганических пестицидов: ДДТ, ДДД, ДДЭ, ГХЦГ вещества гарантированной частоты с содержанием основного вещества не менее 90 %;

- аттестованные смеси состава растворов хлорорганических пестицидов: ДДТ, ДДД, ДДЭ, ГХЦГ.

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Допускается использовать аппаратуру, мерную посуду, реактивы имеющие аналогичные метрологические характеристики или выше.

**4.4 Подготовка к испытаниям**

4.4.1Очистка силикагеля марки АСК

В стакан насыпают силикагель, заливают гексаном, перемешивают, гексан сливают. Промывку повторяют три раза. Промытый силикагель прокаливают при температуре 180 °С в течение 2 ч. Хранят в плотно закрытой стеклянной банке.

4.4.2 Очистка ваты

В коническую колбу помещают вату, заливают гексаном, выдерживают 15 мин. Операцию повторяют два раза. Очищенную вату сушат на воздухе под тягой. Хранят в закрытой стеклянной банке.

4.4.3 Подготовка хроматографической колонки для очистки от жиров

В нижнюю часть колонки помещают кусочек очищенной ваты, насыпают силикагель АСК на высоту (26,0 ± 0,5) см, уплотняют постукиванием по колонке деревянной палочкой. Затем помещают силикагель, пропитанный серной кислотой в отношении 4:1 (по массе), на 3 см, далее насыпают безводный сульфат натрия слоем (1,0 ± 0,5) см. Через колонку пропускают 30 см3 гексана и отжимают резиновой грушей. Эффективность колонки проверяют, внося 5 см3 смеси хлорорганических пестицидов с заданной концентрацией (в пределах от 0,1 мг до 0,2 мкг). Дают возможность раствору впитаться в колонку, а затем элюируют пестициды 50 см3 гексана со скоростью одна капля в секунду.

4.4.4 Хроматографическая колонка для очистки экстрактов из проб шротов (не обогащенных липидами), жмыхов и лузги.

Хроматографическую колонку заполняют па высоту 1 см стеклянной ватой, затем в колонку вносят просеянную окись алюминия (А) слоем 2,5 см или окись кремния слоем 3,5 см, далее засыпают, не утрамбовывая, комочки окиси алюминия (кремния), пропитанные серной кислотой, высота слоя (Б) 2,5 см. Каждый слой последовательно промывают гексаном (всего 30 см3). Для анализа жмыхов и шротов, обогащенных липидами, слои окиси алюминия следует увеличить соответственно до 5 (А) и 3 см (Б), а при использовании окиси кремния до 6 (А) и 3 см (Б).

4.4.5 Приготовление проявляющих реактивов

Раствор 1. 0,5 г азотнокислого серебра растворяют в 5 см3 дистиллированной воды, прибавляют 7 см3 аммиака и доводят объем до 100 см3 ацетоном. Раствор хранят в течение 3 дней в холодильнике.

 Раствор 2. 0,25 г азотнокислого серебра помещают в мерную колбу вместимостью 100 см3, приливают 2,5 см3 дистиллированной воды, 5 см3
2-феноксиэтанола, доводят до метки ацетоном и добавляют 3 капли 30 %-ного раствора пероксида водорода.

 4.4.6 Подготовка хроматографической камеры

В хроматографическую камеру за 30 мин до начала хроматографирования заливают смесь подвижных растворителей для насыщения ее парами. Объем подвижного растворителя в камере должен находиться на высоте не более чем 0,5 см от уровня дна.

 4.4.7 Приготовление основных растворов пестицидов с массовой концентрацией 100 мкг/см3.

Для приготовления основного раствора любого пестицида используют государственный стандартный образец в соответствии с инструкцией и паспортом.

Хранят основные растворы в колбах с притертой пробкой в холодильнике в течение 6 мес.

4.4.8 Подготовка пластин "Силуфол" для хроматографирования

- пластинки для хроматографии «Силуфол UV-254» перед использованием импрегнируют о-толидином. Для этого каждую пластинку погружают в 0,1 %-ный раствор о-толидина в ацетоне, налитого в камеру для хроматографирования. После того как фронт растворителя поднимется до верхнего края пластинки, ее вынимают и высушивают на воздухе, избегая прямого солнечного света, пластинка готова к употреблению. Пластинки, импрегнированные о-толидином, хранят в эксикаторе.

- пластины перед употреблением промывают. Для этого в хроматографическую камеру наливают систему растворителей ацетон-аммиак (1:1) на высоту от 5 мм до 7 мм и помещают туда пластинки в вертикальном положении. После того, как линия фронта подвижного растворителя поднимется, не доходя 10 мм до верха пластинки, ее вынимают, высушивают на воздухе, затем активируют в сушильном шкафу при температуре 110 °С от 15 мин до 30 мин. Перед употреблением с вертикальных сторон пластинки удаляют слой в 3 мм, что способствует выравниванию фронта растворителя.

* 1. **Отбор проб**

Отбор проб и подготовка их к испытанию - в соответствии с нормативной документацией на конкретную продукцию.

**4.6** **Проведение испытаний**

4.6.1 Экстракция

4.6.1.1 Экстракция и очистка экстракта из воды и вина

Пробу 200 см3 помещают в делительную воронку и экстрагируют пестициды, встряхивая в течение 3 мин, гексаном или эфиром тремя порциями по 30 см3, или диэтиловым эфиром тремя порциями по 50 см3. В объединенные экстракты насыпают 10 г безводного сернокислого натрия или фильтруют через воронку, заполненную на 2/3 сернокислым натрием. Экстракты переносят в прибор для отгонки растворителей и отгоняют растворитель до объема от 0,2 см3 до 0,3 см3. В случае необходимости экстракт чистят серной кислотой.

4.6.1.2 Экстракция и очистка экстракта из овощей и фруктов

Измельченную пробу 20 г помещают в колбу с притертой пробкой и проводят экстрагирование пестицидов трижды в течение 15 мин на аппарате для встряхивания гексаном или эфиром порциями по 30 см3. Объединенные экстракты сушат безводным сернокислым натрием, переносят в прибор для отгонки растворителей, отгоняют растворитель объемом от 0,2 см3 до 0,3 см3 и наносят на пластинку.

* + - 1. Экстракция и очистка экстракта из зерна и грибов

Из измельченных проб отбирают 20 г зерна, 50 г сырых или 10 г сухих грибов и помещают в колбы с притёртыми пробками. Экстракцию пестицидов проводят трижды на приборе для встряхивания гексаном или эфиром порциями по 30 см3. Объединенные экстракты переносят в делительную воронку, прибавляют 10 см3 насыщенного раствора безводного сернокислого натрия в серной кислоте и осторожно встряхивают несколько раз. Отделяют органический слой и повторяют обработку до тех пор, пока кислота не станет бесцветной. Экстракт промывают дистиллированной водой, сушат безводным сернокислым натрием и отгоняют растворитель.

* + - 1. Экстракция и очистка экстракта из яблок, капусты, травы и сена

Пробы 20 г измельченных яблок, 20 г капусты, 40 г травы и 20 г сена заливают 100 см3 ацетона в колбах с притертой пробкой. Встряхивают 3 мин, прибавляют 20 см3 дистиллированной воды и охлаждают на льду 30 мин. Экстракт сливают и фильтруют холодным, экстракцию повторяют. Из объединенных водно-ацетоновых экстрактов отгоняют ацетон, а из водного остатка экстрагируют препараты гексаном тремя порциями по 10 см3 в течение 10 мин. Гексановые экстракты очищают серной кислотой, насыщенной безводным сернокислым натрием. Сушат безводным сернокислым натрием. Отгоняют растворитель до небольшого объема и наносят на пластинку.

Если очистка неполная (после испарения растворителя на колбе остается белый налет), экстракт испаряют досуха, остаток смывают холодным ацетоном 3 раза порциями по 0,2 см3 и сразу наносят на пластинку.

4.6.1.5 Экстракция и очистка экстракта из комбикорма

Для исследования берут навеску 40 г, увлажняют ее в колбе 60 см3 дистиллированной воды. Увлажненную навеску оставляют на ночь в колбе с закрытой пробкой. Экстракцию пестицидов проводят дважды от 50 см3 до 100 см3 смеси гексана и ацетона (1:1) при встряхивании в течение 2 ч. Экстракты объединяют в делительной воронке на 500 см3, прибавляют дважды по 50 см3 дистиллированной воды и после разделения слоев нижний водный слой сливают в другую делительную воронку и экстрагируют пестициды 40 см3 гексана. Водный слой сливают. Гексановые экстракты объединяют, фильтруют через воронку с бумажным фильтром, заполненным на 2/3 безводным сернокислым натрием. Экстракты упаривают на ротационном испарителе до объема от 20 см3 до 30 см3 или досуха, растворяя затем сухой остаток в
от 20 см3 до 30 см3 гексана или эфира. Экстракт переносят в делительную воронку и производят очистку серной кислотой, как описано выше.

* + - 1. Экстракция и очистка экстракта из шрота, лузги, жмыха

Навески шрота, обогащенного липидами, жмыха (15 г), не обогащенного липидами, и лузги (20 г) делят на равные части и помещают в колбы вместимостью от 100 см3 до 250 см3 с притертыми пробками, заливают гексаном (три объема гексана на одну весовую часть шрота), встряхивают на приборе для встряхивания 30 мин. Экстракт фильтруют через воронку Бюхнера, не перенося осадок на воронку. В колбу повторно заливают указанное количество гексана, встряхивают 30 мин, фильтруют, количественно переносят осадок на воронку Бюхнера с помощью 30 см3 гексана (3 раза по 10 см3). Полученный экстракт выпаривают до 30 см3 на ротационном испарителе или в токе воздуха при температуре не выше 40 °С, остаток делят на две равные части и помещают в морозильную камеру холодильника на 1 ч (не менее). Каждую часть пропускают через отдельную колонку с окисью алюминия или окисью кремния, пропитанных серной кислотой, со скоростью 2 см3/мин промывают колбу и колонку 50 см3 охлажденной смеси этилового эфира с гексаном (15:85). Данную операцию необходимо проводить без пе- рерыва, не оставляя на следующий день.

Очищенные экстракты объединяют и упаривают до объема 1 см3. Остаток из колбы переносят количественно микропипеткой с помощью резиновой груши в пробирку на 1 см3, колбу и микропипетку 2 или3 раза промывают небольшим количеством гексана (всего от 0,3 см3 до 0,5 см3), сливая его в ту же пробирку. Затем осторожно выпаривают гексан из пробирки на водяной бане при температуре 50 °С почти досуха (конечный объем 3 капли). Если общий объем экстракта и промывной жидкости превышает 1 см3, то сначала выпаривают экстракт, постепенно прибавляя к нему промывную жидкость. При наличии в упаренном экстракте белого мазеобразного осадка в пробирку добавляют 5 капель гексана и помещают ее от 15 мин до 20 мин в морозильную камеру холодильника, затем декантируют дважды таким же количеством гексана и снова упаривают до конечного объема 3 капли.

Параллельно с исследуемыми образцами готовят два модельных экстракта. Каждый экстракт получают из 1 г шрота, не содержащего пестицидов (соотношение сухого вещества и пестицида то же, что и в исследуемых образцах). В один из экстрактов перед очисткой на колонке вносят микрошприцем (микропипеткой) определяемые пестициды в количестве 3 мкг, в другой 0,75 мкг. Упаренные исследуемые и модельные экстракты с помощью микрошприца или микропипетки количественно наносят на пластинку, трижды смывая пробирку небольшим количеством гексана.

* + - 1. Экстракция и очистка экстракта из рыбы, мяса и мясопродуктов

Мясо и мясопродукты пропускают через мясорубку. Рыбу очищают от чешуи, внутренних органов и тоже пропускают через мясорубку. Пробу 20 г перемешивают с безводным сернокислым натрием и помещают в колбу с притертой пробкой. Пестициды экстрагируют дважды смесью гексана и ацетона или эфира и ацетона в соотношении 1:1 порциями по 50 см3 в течение 1,5 ч при встряхивании. Экстракт фильтруют через воронку с бумажным фильтром, заполненным на 2/3 безводным сернокислым натрием, затем растворитель отгоняют, сухой остаток растворяют в 20 см3 гексана и вносят его в колонку с силнкагелем АСК. После впитывания экстракта в сорбент пестицид элюируют 110 см3 смеси бензола с гексаном в соотношении 3:8 порциями от 25 см3 до 30 см3. Элюат собирают в круглодонную колбу со шлифом емкостью от 250 см3 до 300 см3. Через 10 мин после впитывания последней порции растворителя сорбент отжимают с помощью груши. Элюат отгоняют до объема 0,1 см3 и наносят на хроматографическую пластинку.

В том случае, если пробы мяса или рыбы содержит большое количество жира, после испарения первого экстрагента (смеси ацетона с гексаном) и растворения сухого остатка в гексане следует провести очистку гексанового экстракта серной кислотой, а затем колоночную очистку, как описано выше.

* + - 1. Экстракция и очистка экстракта животного жира, яйца, яичного порошка

Жир измельчают на мясорубке, яичный порошок тщательно перемешивают, в яйце отделяют желток от белка, взвешивают желток и белок, а для анализа берут только желток. Конечный расчет содержания хлорорганических пестицидов в яйце приводят на все яйцо. Желтки тщательно перемешивают, пробу 25 г из подготовленного образца заливают 50 см3 ацетона, перемешивают и нагревают на горячей водяной бане до закипания растворителя. Колбу охлаждают, добавляют в нее 10 см3 охлажденного 2 %-ного раствора сернокислого натрия, перемешивают и охлаждают 45 мин на ледяной бане. Затем сливают ацетоновый слой в круглодонную колбу через слой обезжиренной ваты. Экстракцию ацетоном с последующим вымораживанием жира повторяет еще 2 раза.

Из объединенных экстрактов отгоняют ацетон на ротационном испарителе или в приборе для отгонки растворителей (температура бани не более (70 ± 2) °С) и трижды экстрагируют эфиром порциями 20, 10 и 10 см3. Продолжительность первой экстракции 1 ч, последующих 15 мин. Эфир переносят в делительную воронку с 40 см3 2 %-ного водного раствора сернокислого натрия, перемешивают содержимое в течение 2 мин, дают слоям разделиться и водную фазу отбрасывают. Чтобы улучшить разделение слоев, можно добавить несколько миллилитров насыщенного раствора сернокислого натрия.

Операцию промывки экстракта повторяют еще 2 раза, после чего эфир сливают в стакан с 20 г безводного сернокислого натрия, ополаскивают делительную воронку дважды 5 см3 эфира. Подсушенный экстракт количественно переносят в мерный цилиндр на 50 см3 и доводят объем раствора эфиром до 30 см3.

Далее наносят 30 см3 экстракта в колонку с силикагелем АСК, как указано выше. Для проб свиного жира насыпают 75 см3 силикагеля АСК, для всех остальных проб 70 см3. Очистку экстрактов проводят так же, как описано для проб мяса. Элюат собирают в круглодонную колбу на 150 см3, растворитель упаривают до объема нескольких капель и наносят на хроматографическую пластинку.

* + - 1. Экстракция и очистка экстракта из меда

Пробу меда 30 г смешивают с 3 г безводного сернокислого натрия и трижды экстрагируют пестициды гексаном порциями по 30 см3, каждый раз по 15 мин, тщательно растирая мед стеклянной палочкой в узком химическом стакане. Экстракты объединяют и отгоняют гексан до объема 30 см3 или до небольшого объема, далее доводят экстракт до 30 см3 гексаном. 30 см3 экстракта вносят в хроматографическую колонку с силикагелем АСК и проводят очистку экстракта и испарение растворителя так, как описано выше.

* + - 1. Экстракция и очистка экстракта из сахара

Из навески 50 г сахара, предварительно растворенного в воде, пестициды экстрагируют в делительной воронке на 250 см3 гексаном. Экстракцию пестицидов проводят трижды по 50, 25 и 25 см3 растворителя, каждый раз встряхивая по 5 мин. Объединенные гексановые экстракты очищают от коэкстрактивных веществ (красящие, аминокислоты, липиды) сернокислотным способом.

* + - 1. Экстракция и очистка экстракта из молока и цельномолочных продуктов

Для подготовки проб можно использовать один из приведенных способов.

* + - * 1. Первый способ

Он применим для работы со сливками, сметаной, молоком и другими цельномолочными продуктами. Для, анализа берут 20 г сливок и сметаны, которые разводят равным объемом дистиллированной воды, к 50 см3 молока, кефира прибавляют концентрированную серную кислоту от 30 см3 до 40 см3 до полного почернения пробы. Охлажденный от 10 ºС до 15 °С раствор переносят в делительную воронку и экстрагируют препараты гексаном 2 раза порциями по 25 см3. Для полного извлечения воронку встряхивают 2 мин, затем оставляют ее на 30 мин до полного разделения слоев. Если образуется эмульсия, прибавляют от 1 см3 до 2 см3 этилового спирта. К объединенным экстрактам и делительной воронке прибавляют 10 см3 концентрированной серной кислоты, насыщенной сернокислым натрием, и осторожно встряхивают несколько раз. Очистку продолжают до получения бесцветной серной кислоты.

При анализе творога и сыра 50 г творога или 10 г измельченного на терке сыра заливают 40 см3 гексана или эфира, непрерывно встряхивают от 2 мин до 3 мин и оставляют на 30 мин. Экстракцию повторяют. Объединенные экстракты в делительной воронке очищают серной кислотой, как указано выше.

* + - * 1. Второй способ

Его применяют для анализа молока, кефира, простокваши, кумыса и других цельномолочных продуктов. Пробу продукта 25 см3 помещают в делительную воронку на 300 см3, приливают по 5 см3 5 % щавелевокислого калия и насыщенного раствора хлористого натрия, перемешивают, приливают 100 см3 ацетона, встряхивают 2 мин. Приливают 100 см3 хлороформа и встряхивают 2 мин. Воронку оставляют до полного разделения слоев. Верхнюю фазу отбрасывают, а нижнюю выливают в круглодонную колбу со шлифом и испаряют растворитель досуха. Остаток смывают 30 см3 гексана.

* + - 1. Экстракция и очистка экстракта из сгущенного молока, 10 и 20%-ных сливок

К 10 г продукта прибавляют 10 см3 насыщенного раствора хлористого натрия и выливают в делительную воронку вместимостью 150 см3. К смеси приливают 40 см3 ацетона, встряхивают 2 мин, приливают 60 см3 хлороформа, встряхивают от 2 мин от 3 мин и оставляют до разделения фаз. Далее поступают, как при определении пестицидов в молоке.

* + - 1. Экстракция и очистка экстракта из сгущенных молочных продуктов

Навеску продукта 10 г помещают в стаканчик, заливают 10 см3 воды температурой от 45 °С до 50 °С, перемешивают и переносят в делительную воронку на 150 см3, добавляют 5 см3 щавелевокислого калия. Содержимое воронки перемешивают, приливают 80 см3 ацетона и встряхивают от 2 мин до 3 мин. Добавляют 100 см3 хлороформа и встряхивают от 5 мин до 7 мин. После разделения фаз нижнюю фазу сливают в круглодонную колбу, растворители отгоняют, а сухой остаток растворяют в 30 см3 эфира.

* + - 1. Экстракция и очистка экстракта из сухих молочных продуктов

Навеску сухих молочных продуктов 3 г (сливок 2 г) высыпают в стаканчик, приливают 15 см3 дистиллированной воды температурой от 40 °С до 45 °С, размешивают и переносят в делительную воронку вместимостью 300 см3, приливают по 5 см3 щавелевокислого калия и насыщенного раствора хлористого натрия. Содержимое воронки перемешивают, добавляют 80 см3 ацетона и встряхивают от 3 мин до 5 мин, приливают 100 см3 хлороформа, встряхивают 5 мин и оставляют от 3 мин до 5 мин (до разделения фаз). Нижнюю фазу сливают в круглодонную колбу, растворитель отгоняют, а остаток смывают 30 см3 гексана.

* + - 1. Экстракция и очистка экстракта из сметаны, 30 и 40%-ных сливок

Навеску продукта 5 г отвешивают в стаканчик, приливают 10 см3 насыщенного раствора хлористого натрия и переносят в делительную воронку вместимостью 150 см3. Стаканчик обмывают 40 см3 ацетона, смывы переносят в делительную воронку, которую встряхивают от 2 мин до 3 мин, добавляют 70 см3 хлороформа и встряхивают 2 мин. Воронку оставляют на несколько минут до разделения фаз, нижнюю фазу сливают в колбу для отгонки растворителей, растворители отгоняют, а остаток смывают 30 см3 гексана.

* + - 1. Экстракция и очистка экстракта из творога и сыра

Навеску 10 г творога или измельченного на терке сыра растирают с 10 см3 насыщенного раствора хлористого натрия и переносят в делительную воронку на от 250 см3 до 300 см3. Прибавляют 80 см3 ацетона, встряхивают 2 мин, приливают 100 см3 хлороформа и вновь встряхивают.

Нижнюю фазу используют для анализа после отгонки растворителей, растворив остаток в 30 см3 гексана.

Далее проводят очистку экстрактов из проб молока и молочных продуктов от молочного жира, подготовленных по второму способу. Для этого 30 см3 экстракта вносят в колонку с 70 см3 силикагеля АСК. После впитывания экстракта в сорбент пестицид элюируют 110 см3 смеси бензола с гексаном (3:8) порциями от 25 см3 до 30 см3. Элюат собирают в круглодонную колбу от 250 см3 до 300 см3. Через 10 мин после впитывания последней порции растворителя сорбент отжимают с помощью резиновой груши. После очистки растворители отгоняют под вакуумом.

4.6.1.17 Экстракция и очистка экстракта из сливочного масла

20 г сливочного масла растапливают на водяной бане в круглодонной колбе, прибавляют 50 см3 ацетона, тщательно перемешивают до растворения - жира, прибавляют 10 см3 ледяной дистиллированной воды и охлаждают на льду до затвердения жира 30 мин. Сливают ацетоновый экстракт и процедуру повторяют еще 2 раза. Из объединенных экстрактов в круглодонной колбе ацетон отгоняют на водяной бане. Пестициды экстрагируют из оставшегося водного экстракта гексаном тремя порциями по 10 см3 в течение 5 мин. Объединенные гексановые экстракты в делительной воронке обрабатывают серной кислотой с сернокислым натрием. Очищенный экстракт сушат безводным сернокислым натрием и упаривают.

4.6.1.18 Экстракция и очистка экстракта из табака и табачных изделий

Навеску табака 5 г помещают в стеклянный стакан на 500 см3, заливают 50 см3 концентрированной серной кислоты и стеклянной палочкой тщательно размешивают до полного равномерного обугливания пробы. Спустя, от 10 мин до 15 мин в колбу добавляют 25 см3 гексана, тщательно размешивают содержимое и прибавляют 25 см3 четыреххлористого углерода. Экстракцию пестицидов из пробы проводят в течение 15 мин трижды, после чего экстракт последовательно переносят в делительную воронку для однократной или двукратной дополнительной очистки серной кислотой.

* 1. **Хроматографирование**

На хроматографическую пластинку на расстоянии 1,5 см от ее края шприцем или микропипеткой наносят исследуемую пробу в одну точку на линию старта, находящуюся от нижнего края на расстоянии 1 см так, чтобы диаметр пятна не превышал 1 см. Остаток экстракта в колбочке смывают тремя порциями по 0,2 см3 диэтилового эфира, которые наносят в центр первого пятна. Справа и слева от пробы на расстоянии 2 см наносят стандартные образцы, содержащие 10, 5 и 1 мкг исследуемых препаратов (или другие концентрации, близкие к определяемым). Затем пластинки подсушивают на воздухе.

Пластинки с нанесенными растворами помещают в камеру для хроматографирования с подвижным растворителем. При использовании пластинок с тонким слоем окиси алюминия или силикагеля в качестве подвижного растворителя применяют гексан или смесь гексана с ацетоном (6:1) для препаратов, у которых величина Rf в гексане ниже 0,3.

При использовании пластинок «Силуфол» подвижный растворитель – 1 %-ный раствор ацетона в гексане, а на пластинках «Силуфол», импрегнированных о-толидином, - гексан с диэтиловым эфиром (49:1). Край пластинки с нанесенными растворами может быть погружён в подвижный растворитель не более чем на 0,5 см.

При использовании пластинок "Сорбфил" применяется система подвижных растворителей ацетонитрил-вода (2:1).

После того как фронт растворителя поднимется на 10 см, пластинку вынимают из камеры и оставляют на несколько минут для испарения растворителя. Далее пластинку орошают проявляющим реактивом и подвергают действию ультрафиолетового света в течение от 10 мин до 15 мин. Пластинки следует располагать на расстоянии 20 см от источника света. При наличии хлорорганических пестицидов на пластинке появляются пятна серо-черного цвета.

При использовании для анализа пластинок «Силуфол», импрегнированных о-толидином, их непосредственно после хроматографирования подвергают облучению ультрафиолетовым светом в течение нескольких минут, при наличии хлорорганических пестицидов в этом случае проявляются пятна сине-голубого цвета.

По значениям соответствующих Rf определяют, какие пестициды присутствуют в продукте.

Величины Rf пестицидов приведены в Таблице 2.

## Таблица 2 - Величины Rf пестицидов

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Наименование пестицида | Подвижный растворитель | Величина Rf |
| «Силуфол» | «Сорбфил» |
| Гексахлорбензол | Гексан |  | 0,90 |
| γ - ГХЦГ (линдан) | Гексан-ацетон (6:1) | 0,23 | - |
|  | Ацетонитрил-вода (2:1) | - | 0,30 |
|  | Гексан | 0,15 | - |
| α – ГХЦГ | Гексан | 0,20 | - |
|  | Гексан-ацетон (6:1) | 0,30 | - |
|  | 1 % раствор ацетона в гексане | 0,24 | - |
| β - ГХЦГ | Гексан-ацетон (6:1) | 0,73 | - |
| Альдрин | Гексан-ацетон (6:1) | 0,70 | - |
|  | Ацетонитрил-вода (2:1) | 0,82 | 0,80 |
|  | Гексан | - | - |
| 4,4 - ДДЭ | Гексан-ацетон (6:1) | 0,61 | - |
|  | Ацетонитрил-вода (2:1) | - | 0,70 |
|  | Гексан | 0,45 | - |
| 4,4 - ДДТ | Гексан-ацетон (6:1) | 0,78 | - |
|  | Ацетонитрил-вода (2:1) | - | 0,85 |
|  | Гексан | 0,67 | - |
| Кельтан | Гексан-ацетон (6:1) | 0,15 | - |
|  | Ацетонитрил-вода (2:1) | - | 0,21 |
|  | Гексан | 0,05 | - |
| Гептахлор | Гексан-ацетон (6:1) | 0,57 | - |
|  | Ацетонитрил-вода (2:1) | - | 0,73 |
|  | Гексан | 0,45 | - |
| ДДД | Гексан-ацетон (6:1) | 0,32 | - |
|  | Гексан | 0,16 |
| Гексахлорбензол | Гексан |  | - |
|  |  |  |  |

**4.8 Обработка** **результатов**

4.8.1 Измерение содержания пестицидов проводят путем сопоставления площади пятна испытуемого экстракта и площади пятна стандартного образца, наиболее близкого по интенсивности окраски к пятну экстракта. Площади пятен измеряют с помощью линейки. Содержание пестицидов X, мг/кг, вычисляют по формуле:

$X=\frac{mS\_{1}V\_{1}}{m\_{1}S\_{2}V\_{2}},$ (1)

где m - масса пестицида в 1 см3 стандартного образца, мкг;

m1 - масса навески исследуемой пробы, г;

S1 - площадь пятна, полученного при нанесении испытуемого экстракта, мм2;

S2 - площадь пятна, полученного при нанесении стандартного образца, мм2;

V1 - объем экстракта, в котором перерастворен сухой остаток, см3;

V2 - объем исследуемого экстракта, нанесенного на пластинку, см3.

При нанесении всей пробы V1 = V2.

* + 1. Вычисления производят до первого десятичного знака. Окончательный результат округляют до целого числа.
		2. За окончательный результат испытаний принимают среднее арифметическое результатов ($\overbar{X}$) двух параллельных определений, расхождение между которыми при доверительной вероятности Р = 0,95 не должно превышать значений, указанных в Таблице 1.
1. **Метод адсорбционной высокоэффективной жидкостной хроматографии (далее** **ВЭЖХ)**
	1. Сущность метода

Метод основан не извлечении хлорорганических пестицидов и их метаболитов из различных субстратов, очистке и концентрировании экстрактов, последующей идентификации отдельных групп хлорорганических пестицидов с помощью адсорбционной ВЭЖХ при спектрофотометрическом детектировании.

* 1. Метрологическая характеристика метода

Параметры анализа хлорорганических пестицидов и их метаболитов методом адсорбционной ВЭЖX представлены в Таблице 3.

## Таблица 3 - Параметры ВЭЖХ анализа хлорорганических соединений и их метаболитов

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Идентифицируемоесоединение | V удерживания, мкл | Хроматографическиезоны, мкл | Максимальная длинаволны, нм |
| ХБ (группа хлорбензолов) | 160 | 160-180 | 220 |
| 2-ХФ (группа хлорфенолов) | 375 | 230-530 | 220, 280 |
| Альдрин | 270 | 180-300 | 280 |
| 4,4 - ДДЭ | 190 | 190-260 | 250 |
| 4,4 - ДДТ | 240 | 190-260 | 240 |
| Кельтан | 180 | 180-300 | 280 |
| Гептахлор | 295 | 180-300 | 280 |
| ПРИМЕЧАНИЕ Предел обнаружения для ДДТ и его производных 0,05 – 0,5, для других ХОП 0,1 – 2,0 мкг в пробе. |

* 1. **Избирательность метода**

Метод групповой идентификации ХОП и их метаболитов избирателен в присутствии азот-, фосфорорганических пестицидов и других органических примесей.

* 1. **Аппаратура, материалы и реактивы**
		1. Аппаратура и материалы

- хроматограф микроколоночный жидкостный типа «Милихром» по действующей нормативной документации;

- колонка стандартная металлическая (50 мм х 2 мм) с сорбентом «Силасорб-600» 5 мкм;

- весы аналитические специального класса точности с наибольшим пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,0001 г, по ГОСТ 24104;

- испаритель ротационный по действующей нормативной документации;

- линейка металлическая по ГОСТ 25706;

- воронки конические по ГОСТ 25336;

- колбы круглодонные со шлифом на 100 см3 поГОСТ 25336;

- колбы плоскодонные с пришлифованной пробкой на 100 см3 по ГОСТ 25336;

- пипетки мерные на 1 см3 по ГОСТ 1770;

- пробирки мерные на 10 см3 по ГОСТ 1770;

- цилиндры мерные на 50 и 100 см3 по ГОСТ 1770.

* + 1. Реактивы

- ацетон, о.с.ч. по действующей нормативной документации;

- н-гексан, ч. по действующей нормативной документации;

- натрия сульфат безводный, ч. по ГОСТ 4166;

- серная кислота, ч.д.а. по ГОСТ 4204;

- фильтры «синяя лента»;

- государственный стандартный образец многокомпонентной смеси ХОП и их метаболитов в н-гексане с концентрацией индивидуальных компонентов по
100 мкг/см3.

**5.5 Отбор проб**

Отбор проб и подготовка их к анализу - в соответствии с нормативной документацией на конкретную продукцию.

**5.6** **Подготовка к испытаниям**

5.6.1 Подготовка хроматографической системы

5.6.1.1 Приготовление элюента

Элюирующую смесь - н-гексан-ацетон в объемном соотношении 6:1 готовят в день проведения анализа проб: цилиндром вместимостью 100 см3 отмеряют 90 см3 н-гексана, который выливают в плocкодонную колбу с пришлифованной пробкой, туда же приливают 15 см3 ацетона, колбу закрывает пробкой и ее содержимое перемешивают при легком взбалтывании. Затем элюирующую смесь фильтруют через складчатый фильтр с прокаленным сульфатом натрия в сосуд для элюента.

5.6.1.2 Подготовка хроматографа к проведению испытаний

Подготовку прибора к хроматографическому анализу начинают с промывки насоса и заполнения его свежеприготовленным элюентом, затем приступают к промывке хроматографической системы прибора и заполнению кюветы сравнения используемым элюентом. После установления равномерного нулевого сигнала детектора и снижения шумов до минимума проводят анализ групповой идентификации ХОП и их метаболитов.

**5.7 Проведение анализа**

5.7.1 Подготовка проб проводится в соответствии по п. 4.6.1. Оставшийся небольшой объём экстракта переносят в мерную пробирку и упаривают досуха. Сухой остаток пробы растворяют до 0,2 см3 элюента (смесь н-гексана с ацетоном 6:1) и проводят хроматографическое разделение и идентификацию отдельных групп ХОП и метаболитов.

5.7.2 Хроматографическое разделение и идентификация отдельных групп ХОП и их метаболитов

Разделение и групповая идентификация ХОП и их метаболитов осуществляется при следующих условиях хроматографирования:

- неподвижная фаза - «Силасорб-600», 5 мкм;

- подвижная фаза - гексан-ацетон в объемном соотношении 6:1;

- скорость элюирующего потока 200 мкл/мин;

- детектор переменно-волновой спектрофотометр с проточной ячейкой 1,6 мкл, под диапазон чувствительности 3,2 А;

- время измерения выходного сигнала 0,6 с;

- скорость протяжки диаграммной ленты 720 мм/ч;

- длина волны (λ) поглощения светового потока (нм) определяется идентифицируемой группой соединений.

Близкие объемы удерживания (Vуд) представителей отдельных групп хлорорганических соединений и подбор соответствующей длины волны позволяют разграничить зоны хроматографирования, характерные для разных групп, что обеспечивает их идентификацию в сложной пестицидной смеси пробы при сопоставлении с зонами хроматографирования стандартной смеси соответствующих групп соединений.

5.7.3 Примеры идентификации отдельных групп ХОП в многокомпонентной смеси неизвестного состава пробы.

ПРИМЕР 1. Из 0,2 см3 сконцентрированного раствора пробы в элюенте 20 мкл вводят в хроматографическую колонку, проводят анализ при 280 нм в ранее описанном режиме.

При этой длине волны, близкой к максимальной некоторые из исследуемых соединения можно идентифицировать:

1 - группу хлорбензолов (время удерживания от 160 мкл до180 мкл):

2 - группу хлорфенолов (время удерживания от 230 мкл до530 мкл);

3 - группу соединений, представителей различных классов ХОП – альдрин, ГХПК, ГПХ, ГПХЭ и некоторых других (время удерживания от 180 мкл до 300 мкл).

Идентификация 4,4'-ДДТ и его производных достигается повторным хроматографированием при 230 нм. Объём удерживания соединений этой группы находятся в пределах от 235 мкл 260 мкл, а время удерживания 4,4-ДДЭ -190 мкл. При данных условиях идентификации группы 4,4-ДДГ и его производных не мешают присутствующие в пробе ХОП других классов (альдрин и другие), а также детектируемые на этой длина волны представители группы хлорбензолов (3-ХФ; 3,4 –ДХФ; 2,3,5.6-ТеХФ) с близкими объемами удерживания (230; 250 мкл). Окончательную идентификацию спорных хроматографических сигналов осуществляют подбором необходимой длины волны и снятием развернутых спектров соединений (см. Таблица 3).

ПРИМЕР 2. Аликвотная часть конечного раствора исследуемой пробы в элюенте вводится в хроматограф и проводится разделение смеси ХОП неизвестного состава при 230 нм. В этих условиях регистрируемые выходные сигналы позволит идентифицировать следующие группы соединений: хлорбензолы (время удерживания от 160 мкл до 180 мкл); 4.4'-ДДТ и его производные (время удерживания от 235 мкл до 260 мкл; время удерживания 4,4-ДДЭ 190 мкл). Однако идентификация последних может быть затруднена наличием в пробах хлорфенолов (3-, 3,4- и 2,3,5,6-хлорфенолы имеют близкие с компонентами группы ДДТ объемы удерживания). Поэтому окончательную идентификацию осуществляют после повторного хроматографирования пробы при 220 нм, близкой к максимально указанных хлорфенольных соединений. Надежность идентификации может быть повышена снятием развернутого спектра поглощения при остановке процесса хроматографирования на соответствующем выходном сигнале с дискретностью 10 нм или 2 нм.

ПРИМЕР 3. Аликвотную часть конечного раствора пробы элюента хроматографируют в описанном выше режиме при 280 нм. В том случае возможна идентификация трех групп соединений: хлорбензолы, хлорфенолы и ХОП различных классов (альдрин и др.) за исключением ДДТ и его производных. Наложение хроматографической зоны ряда хлорфенольных соединений (объем удерживания от 275 мкл до 305 мкл) и представителей хлорорганических пестицидов других классов не позволяют провести правильную идентификацию этих соединений, поэтому анализ повторяют при 310 нм. В этих условиях ДДТ и его производные и основная часть хлорфенолов (за исключением 2,4.6-ТеХФ, 2,3.4,6-ТеХФ и 2,3,4,5,6,-ПХВ) не регистрируются.

Объёмы удерживания двух последних соединений не совпадают с хроматографической зоной ХОП (370 мкл и 530 мкл), что устраняет их влияние на идентификацию. Помехи 2,4,6-TXФ можно устранить переключением спектрофотометра на 260 нм при повторном анализе пробы, когда сигнал этого соединения не регистрируется или записав развернутый спектр 2,4,6-ТХФ, имеющий две максимальные волны 220 нм и 300 нм.

При проведении число операция по хроматографическому разделению и идентификации может быть ограничено в соответствии с задачами проводимых исследований.

* 1. **Обработка результатов испытаний**

Качественный состав идентифицируемых групп ХОП и их метаболитов определяется путем сопоставления их хроматографических зон в смеси неизвестного состава пробы и многокомпонентной стандартной смеси идентифицируемых групп соединений. После установления группового состава смеси хлорорганических пестицидов в анализируемой пробе, исходя из наличия отдельных групп, выбирает наиболее эффективный метод (ТСХ, ГЖХ, ВЭЖХ) для дальнейшего количественного измерения индивидуальных компонентов отдельных групп к их метаболитам.

**6** **Определение ХОП в комбикормах и комбикормовом сырье методом газожидкостной хроматографии**

* 1. **Сущность метода**

Метод основан на экстракции и очистке экстрактов хлорорганических пестицидов из анализируемой пробы способом дистилляции водяным паром на аппарате для экстракции и очистки экстрактов пестицидов (АПЛ) и количественном определении на газовом хроматографе, оснащенном детектором постоянной скорости рекомбинации (ДПР) или детектором захвата электронов (ДЭЗ). Диапазон определяемых концентраций указан в Таблице 4.

Таблица 4 - Диапазон определяемых концентраций

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Наименование соединений | Диапазон измеряемыхконцентрация, мг/кг | Минимально детектируемыеколичества, нг |
| γ - ГХЦГ (линдан) | 0,001-0,1 | 0,001 |
| α – ГХЦГ | 0,001-0,1 | 0,001 |
| ДДЭ | 0,007-0,1 | 0,06 |
| ДДТ | 0,007-0,4 | 0,06 |
| ДДД | 0,007-0,2 | 0,06 |

* 1. **Аппаратура, материалы** **и** **реактивы**
		1. Аппаратура и материалы

- газовый хроматограф, оснащенный детектором захвата электронов (ДЭЗ) или детектором постоянной скорости рекомбинации (ДПР);

- весы аналитические специального класса точности с наибольшим пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,0001 г, по ГОСТ 24104;

- весы лабораторные высокого класса точности с наибольшим пределом опускаемой абсолютной погрешности ± 0,01 г, по ГОСТ 24104;

- аппарат для экстракции и очистки экстрактов пестицидов;

- испаритель вакуумный ротационный;

- установка для перегонки органических растворителей, состоящая из круглодонной колбы вместимостью 1 дм3, дефлегматора длиной 30 см и диаметром 2 см, приемной колбой вместимостью 250 см3, аллонжа и водяной бани или колбонагревателя температурой нагрева от 40 °С до 80 °С, снабженных регулятором температуры.

- шкаф сушильный, обеспечивающий создание и поддержание заданной температуры в рабочей зоне высушивания от 100 °С до 220 °С с погрешностью ±2 °С по действующей нормативной документации;

- холодильник бытовой, обеспечивающий температуру холодильной камеры от плюс 4 °С до плюс 6 °С.

- микрошприц МШ-10 вместимостью 10 мкл;

- колбонагреватель или электрическая плитка;

- баня масляная или глицериновая;

- колонки хроматографические стеклянные для газового хроматографа: длиной 1,0 м диаметром 3 мм и длиной 1,5 м диаметром 3;

- насадки для колонок: 5 % OV-17 на хроматоне N-AW-DMCS (от 0,16 мм до 0,20 мм) или 3 % OV-210; на хроматоне N-cynep (от 0,125 мм до 0,16 мм) или 5 % SE-30 на хроматоне N-AW-DMCS (от 0,16 мм до 0,20 мм;

- колбы перегонные К-1 250 см3 по ГОСТ 25336;

- колбы Гр-25 по ГОСТ 25336;

- колбы мерные 50, 100 см3 по ГОСТ 1770;

- воронка В-56 - 80 ХС по ГОСТ 25336;

- колба коническая Кн-1 250 см3 по ГОСТ 25336;

- цилиндры мерные 50; 100 см3 по ГОСТ 1770;

- пробирки с притертыми пробками градуированные вместимостью 5, 10 см3 по ГОСТ 1770;

- воронки делительные 8Д-100 - 29/32. ВД-500 - 29/32 по ГОСТ 25336.

- пипетки 5; 10 см3 по ГОСТ 29227;

- насос водоструйный по ГОСТ 25336.

- стаканы фарфоровые вместимостью 1200 см3 по ГОСТ 9147;

- бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026

6.2.2 Реактивы

- кислота серная плотностью 1,84 г/см3 по ГОСТ 4204. х.ч.

- н-гексан. ч.

- натрий сернокислый безводный, ч. по ГОСТ4166;

- вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

- эфир диэтиловый;

- спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья по ГОСТ 5962;

- стандартные государственные образцы (ГСО) состава хлорорганических пестицидов: ДДТ, ДДД, ДДЭ, ГХЦГ;

* + - * азот газообразный и жидкий по ГОСТ 9293;
			* ацетон по ГОСТ 2603;
			* калий двухромовокислый х.ч. по ГОСТ 4220.

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Допускается использовать аппаратуру, мерную посуду, реактивы имеющие аналогичные метрологические характеристики или выше.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Применяемые средства измерений подлежат испытаниям с целью утверждения типа или метрологической аттестации, поверке и внесению в реестр в государственной системе обеспечения единства измерений.

* 1. **Подготовка к анализу**

6.3.1 Очистка н-гексана

Н-гексан (2/3 объема отгонной колбы) перегоняют с помощью установки, отбрасывая первую и последнюю порцию отгона. Чистоту полученного н-гексана определяют с помощью газового хроматографа. Для этого в коническую колбу вместимостью 50 см3 помещают 10 см3 полученного н-гексана и упаривают его до объема 3 см3 на колбонагревателе при температуре 65 °С в токе воздуха или азота. Остаток экстракта переносят в градуированную пробирку вместимостью 10 см3 и упаривают до объема 1 см3. Полученный экстракт анализируют в условиях хроматографирования пробы (см. Таблицу 8).

Н-гексан считают очищенным и пригодным для анализа при условии отсутствия на хроматограмме пиков, мешающих определению хлорорганических пестицидов.

* + 1. Приготовление хромовой смеси

Для приготовления хромовой смеси в фарфоровый стакан помещают 50 г калия двухро-мовокислого и осторожно приливают по частям, тщательно перемешивая, 1 дм3 концентрированной серной кислоты. Хромовую смесь хранят в сосуде из стекла. Срок хранения хромовой смеси неограничен.

**6.4 Подготовка газового хроматографа**

6.4.1 Подготовка хроматографической колонки

Сухую стеклянную колонку предварительно промытую хромовой смесью, приготовленной, этиловым спиртом, затем диэтиловым эфиром, заполняют насадкой с помощью вакуумного или водоструйного насоса. При этом набивку колонки периодически уплотняют, постукивая по колонке деревянной палочкой. Установленную в термостате хроматографическую колонку перед работой кондиционируют в следующем режиме: 2 ч при 100 °С; 2 ч при 150 °С; 4 ч при 200 °С; 4 ч при 220 °С. При кондиционировании колонка должна быть отключена от детектора. Кондиционирование следует проводить при смене колонки, а также после длительных перерывов в работе. По окончании кондиционирования колонку охлаждают, подсоединяют к детектору и выводят хроматограф на рабочий режим.

* + 1. Подготовку хроматографа к работе проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации.
	1. **Приготовление рабочих растворов хлорорганических пестицидов**

6.5.1 Приготовление основных рабочих и промежуточных растворов хлорорганических пестицидов

Основные рабочие растворы определяемых хлорорганических пестицидов с массовой концентрацией (100 ± 5) мг/дм3 приготавливают весовым способом отдельно для каждого хлорорганического пестицида путем растворения навески, содержащей 10 мг основного вещества, с точностью 0,1 мг в мерной колбе вместимостью 100 см3 в н-гексане, приготовленном по п. 7.3.1. Из основных растворов готовят промежуточные рабочие растворы массовых концентраций: 1 мг/дм3 (раствор № 1), 0,1 мг/дм3 (раствор № 2) и 0,01 мг/дм3 (раствор № 3), переносят пипеткой в мерные колбы вместимостью 100 см3 соответственно 1 см3 и 0,1 см3 основного раствора хлорорганического пестицида. Для приготовления промежуточного раствора № 3 с содержанием 0,01 мг/дм3 в мерную колбу вместимостью 100 см3 переносят 1 см3 промежуточного раствора 1 и доводят до метки н-гексаном.

Все промежуточные растворы хранят в стеклянных флаконах с притертой пробкой или в герметично закрывающихся флаконах, снабженных пробками с тефлоновыми прокладками при температуре от 2 °С до 10 °С в течение 6 мес.

Перед приготовлением шкалы градуировочных растворов все растворы хлорорганических пестицидов выдерживают при комнатной температуре не менее 20 мин.

6.5.2 Приготовление шкалы градуировочных растворов

В пробирках с притертыми пробками вместимостью 5 см3 готовят шкалу градуировочных растворов для каждого хлорорганического пестицида (см. Таблицы 5, 6, 7).

Градуировочные растворы хранят не более двух недель в стеклянных флаконах с притертой пробкой или в герметично закрывающихся флаконах, снабженных пробками с тефлоновыми прокладками при температуре от 2 °С до 10 °С.

Перед использованием все растворы хлорорганических пестицидов выдерживают при комнатной температуре не менее 20 мин.

Таблица 5 - Шкала градуировочных растворов для α-ГХЦГ и ДДЭ

|  |  |
| --- | --- |
| Характеристика раствора | Номер градуировочного раствора |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Объём промежуточного раствора 3, см3 | 1 | 2 | 5 | - | - | - | - | - |
| Объём промежуточного раствора 2, см3 | - | - | - | 1\* | 2\* | 3\* | 4\* | 5\* |
| Объём н-гексана, см3 | 4 | 3 | 0 | 4 | 3 | 2 | 1 | 0 |
| Массовая концентрация ХОП вполученном градуировочном растворе, мг/дм3 | 0,002 | 0,004 | 0,01 | 0,01 | 0,04 | 0,06 | 0,08\* | 0,01\* |
| Масса ХОП в 5·10-3 см3хроматографируемой пробы (10-5 мг) | 0,01 | 0,02 | 0,05 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4\* | 0,5\* |
| \*Для ДДЭ |

Таблице 6 - Шкала градуировочных растворов для γ – ГХЦГ

|  |  |
| --- | --- |
| Характеристика раствора | Номер градуировочного раствора |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| Объём промежуточного раствора 3, см3 | 3 | 5 | - | - | - | - | - |
| Объём промежуточного раствора 2, см3 | - | - | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| Объём н-гексана, см3 | 2 | 0 | 4 | 3 | 2 | 1 | 0 |
| Массовая концентрация ХОП в полученном градуировочном растворе, мг/дм3 | 0,006 | 0,01 | 0,02 | 0,04 | 0,06 | 0,08 | 0,1 |
| Масса ХОП в 5·10-3 см3 хроматографируемой пробы (10-5 мг) | 0,03 | 0,05 | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 |

Таблица 7 - Шкала градуировочных растворов для ДДТ и ДДД

|  |  |
| --- | --- |
| Характеристика раствора | Номер градуировочного раствора |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Объём промежуточного раствора 3, см3 | 0,5\* | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | - | - |
| Объём промежуточного раствора 2, см3 | - | - | - | - | - | - | 1 | 2\*\* |
| Объём н-гексана, см3 | 4,5 | 4 | 3 | 2 | 1 | 0 | 4 | 3 |
| Массовая концентрация ХОП вполученном градуировочном растворе, мг/дм3 | 0,01\* | 0,02 | 0,04 | 0,06 | 0,08 | 0,1 | 0,2 | 0,4\*\* |
| Масса ХОП в 5·10-3 см3хроматографируемой пробы (10-5 мг) | 0,05\* | 0,1 | 0,2 | 0,3 | 0,4 | 0,5 | 1 | 2\*\* |
| \*Для ДДД\*\* ДДТ |

**6.6 Установление градуировочной характеристики**

В испаритель хроматографа микрошприцем вводят 5 × 10**-**3 см3 каждого градуировочного раствора (см. Таблицы 5, 6, 7). Каждый раствор хроматографируют дважды, рассчитывая среднее значение площади пика определяемого хлорорганического пестицида на хроматограмме. Затем строят градуировочный график (используя метод наименьших квадратов), откладывая по оси абсцисс (X) массу определяемого хлорорганического пестицида (т) в градуировочном растворе, а по оси ординат (Y) - усредненные площади пиков определяемого хлорорганического пестицида. Получают градуировочный график, описываемый уравнением:

 Y = А × Х, (2)

где А - относительный градуировочный коэффициент, который используют при вычислении результатов.

Градуировку хроматографа проводят один раз в 6 мес, а также при замене хроматографической колонки или реактивов. Проверку стабильности работы хроматографа проводят перед анализом серии проб по результатам хроматографирования одного из градуировочных растворов. Градуировочную характеристику считают стабильной в случае, если полученное значение концентрации градуировочного раствора отличается от аттестованного значения концентрации градуировочного раствора не более чем на 10 %.

Перечень показателей, по которым проводят контроль, устанавливают в лаборатории. Если условие стабильности градуировочной характеристики не выполняется для одного градуировочного раствора, необходимо выполнить повторное измерение этого градуировочного раствора с целью исключения неудовлетворительного результата измерения.

Если градуировочная характеристика нестабильна, выясняют и устраняют причины нестабильности и повторяют контроль с использованием других градуировочных растворов для градуировки, предусмотренных методикой. При повторном обнаружении отклонения результатов от градуировочной характеристики строят новый градуировочный график.

Компоненты идентифицируют по абсолютным значениям времени удерживания.

**6.7 Установление поправочного коэффициента**

Поправочный коэффициент Кn учитывающий потери при пробоподготовке обязательно устанавливают при внедрении методики в лаборатории для каждого определяемого хлорорганического пестицида.

Для установления поправочного коэффициента используют метод стандартной добавки. Значение добавки должно составлять от 50 % до 150 % от содержания определяемого хлорорганического пестицида в исходной пробе. Если содержание определяемого хлорорганического пестицида в исходной пробе меньше нижней границы диапазона измерений, го значение добавки должно в 2 или 3 раза превышать нижнюю границу диапазона измерений.

Параллельно проводят анализ исходной пробы, поступившей в лабораторию, без добавки и со стандартной добавкой (Сд) определяемых хлорорганических пестицидов, включая все стадии пробоподготовки. Получают две концентрации для каждого из определяемых хлорорганических пестицидов: Сх (в пробе без стандартной добавки) и Сх+д (в пробе со стандартной добавкой). Значение поправочного коэффициента для каждого из хлорорганических пестицидов в каждой i-й пробе рассчитывают по формуле:

$K\_{i}=\frac{(C\_{х+д}-С\_{х})}{С\_{д}}$*,* (3)

где СД – концентрация стандартной добавки;

Сх – концентрация в пробе без стандартной добавки;

СХ+Д – концентрация в пробе со стандартной добавкой.

Описанную процедуру повторяют не менее 5 раз для каждой i-й пробы. Общее число проб, взятых для установления поправочного коэффициента, должно от 8 до
10 проб. Поправочный коэффициент Кn для каждого хлорорганического пестицида рассчитывают как среднеарифметическое значение полученных коэффициентов Kn Значение поправочного коэффициента для каждого определяемого хлорорганического пестицида должно быть не менее 0,6. Поправочный коэффициент проверяют при смене оператора, партии реактивов путем анализа образцов для контроля. При получении удовлетворительных результатов контроля используют ранее установленный Кn. В случае получения отрицательных результатов контроля Кn устанавливают заново.

* 1. **Отбор проб**

Подготовку проб к анализу проводят в соответствии с требованиями
ГОСТ 31218.

* 1. **Проведение испытаний**

6.9.1Подготовка аппарата для экстракции и очистки экстрактов хлорорганических пестицидов (далее АПП) и проведение экстракции

Аппарат для экстракции и очистки экстрактов хлорорганических пестицидов (далее АПП) указан в Приложении А.

Перед началом работы все шлифованные поверхности конусов и кранов АПП промывают дистиллированной водой. Навеску измельченного и подготовленного к анализу комбикорма или комбикормового сырья массой 10 г помещают в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 250 см3, затем добавляют 100 см3 дистиллированной воды и осторожно по стенкам колбы вливают 5 см3 концентрированной серной кислоты. Содержимое колбы осторожно круговыми движениями перемешивают, охлаждая под струей холодной водопроводной воды, чтобы температура в колбе не поднималась выше 35 °С.

Колбу с содержимым оставляют на 5 мин после чего в нее приливают 2 см3 н-гексана приготовленного, и соединяют с аппаратом АПП, к керну трехходового крана подсоединяют приемную пробирку со шлифом вместимостью 10 см3 для предотвращения потерь через трехходовой кран. К нижнему штуцеру холодильника при помощи шлангов подсоединяют холодную водопроводную воду. Верхний штуцер также при помощи шланга подсоединяют к сливной раковине.

Через верхний шлиф конденсатора заливают дистиллированную воду до уровня сливной трубки. Туда же добавляют 2 см3 н-гексана. Верхний шлиф конденсатора закрывают пробкой и ставят аппарат с круглодонной колбой на включенную масляную (глицериновую) баню или колбонагреватель, температура которых должна быть отрегулирована таким образом, чтобы кипение е колбе было равномерным без толчков и перебросов. Для обеспечения равномерного кипения без толчков и перебросов необходимо внести в круглодонную колбу предварительно промытые и прокаленные стеклянные шарики. Необходимо следить за уровнем конденсата в аппарате и не допускать его переброса обратно в круглодонную колбу. Для этого излишек конденсата периодически сливают с помощью трехходового крана в делительную воронку вместимостью 100 см3.

По истечении 1 ч работы аппарата с момента начала кипения содержимого отгонной колбы аппарат снимают с источника нагрева. После 10 мин. охлаждения аппарата на воздухе содержимое конденсатора сливают в ту же делительную воронку, куда сливали излишек конденсата, используя для этого трехходовой кран. Водную фазу из делительной воронки сливают в коническую колбу, а гексановый слой переносят в круглодонную (отгонную) колбу вместимостью 50 см3, пропустив через слой сернокислого безводного натрия. Водную фазу вновь помещают в делительную воронку и экстрагируют от 5 см3 до 8 см3 н-гексана, а также гексановую фракцию переносят в ту же круглодонную (отгонную) колбу, пропуская через спой сернокислого безводного натрия. Гексановый экстракт упаривают на водяной бане (температура не выше 35 °С) с использованием ротационного испарителя до объема от 0,3 см3 до 0,5 см3, а затем досуха на воздухе или в токе азота.

Сухой остаток растворяют 1 см3 н-гексана, и аликвоту из этого объема хроматографируют на газовом хроматографе.

6.9.2 Условия хроматографирования

5·10-3 см3 гексанового экстракта вводят микрошприцем в испаритель газового хроматографа и анализируют в условиях, указанных в Таблице 8.

## Таблица 8 - Условия газохроматографического разделение хлорорганических пестицидов на различных колонках

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Наименование показателя | Колонка 1 | Колонка 2 | Колонка 3 |
| Насадка колонки | 5 % OV –17 нахроматоне N-AW- DMCS(от 0,16 мм до0,20 мм) | 3 % OV-210 нахроматоне N-супер (от 0,125 мм 0,160 мм) | 5 % SE-30 на хроматонеN-AW-DMCS(от 0,16 мм до 0,20 мм) |
| Длина колонки (см) и внутренний диаметр (мм) | 100 × 3 | 100 × 3 | 100 × 3 | 100 × 3 | 150 × 3 |
| Температура колорнки, °С | 170 | 210 | 160 | 190 | 190 |
| Температура испаителя, °С | 220 | 220 | 220 | 220 | 210 |
| Температура детектора, °С | 230 | 230 | 230 | 230 | 230 |
| Скорость потока газаносителя, см3/мин | 40 | 40 | 35 | 35 | 60 |
| Объем вводимой пробы, см3 | 5·10-3 | 5·10-3 | 5·10-3 | 5·10-3 | 5·10-3 |
| Время удерживания ХОП |
| γ - ГХЦГ (линдан) | 5 мин 32 с | - | 4 мин 22 с | - | 2 мин 10 с |
| α – ГХЦГ | 3 мин 10 с | - | 3 мин 15 с | - | 1 мин 20 с |
| ДДЭ | - | 4 мин 3 с | - | 4 мин 37 с | 7 мин 53 с |
| ДДТ | - | 7 мин 26 с | - | 11 мин 42 с | 14 мин 00 с |
| ДДД | - | 6 мин 0,3 с | - | 6 мин 56 с | 1. мин 51 с
 |

* + 1. Обработка химической посуды после проведения испытаний

В круглодонную колбу помещают водно-ацетоновую смесь в соотношении 5:1, подсоединяют колбу к аппарату АПП и кипятят от 15 мин до 20 мин. Затем круглодонную колбу отсоединяют, и АПП тщательно промывают дистиллированной водой. Всю вспомогательную стеклянную посуду промывают ацетоном, затем дистиллированной водой.

* 1. **Обработка результатов**

6.10.1 Концентрацию остаточных количеств хлорорганических пестицидов X, мг/кг, в анализируемой пробе вычисляют в соответствии с градуировочными графиками, с учетом потерь при пробоподготовке по формуле:

$Х=\frac{m\_{1}V\_{1}∙10^{3}}{m\_{2}V\_{2}K\_{n}},$(4)

где m1, - масса определяемого хлорорганического пестицида, найденная по градуировочному графику, мг;

V1 - общий объем раствора, из которого взята аликвота для хроматографирования,

m2 - масса навески анализируемой пробы, г;

V2 - объем аликвоты, вводимой в хроматограф, дм3;

Кn - поправочный коэффициент, учитывающий потери при пробоподготовке.

Вычисления проводят до третьего десятичного знака. Окончательный результат округляют до второго десятичного знака.

* + 1. За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений.

Расхождение между параллельными определениями не должно превышать предела повторяемости *r.* Предел повторяемости для всех определяемых хлорорганических пестицидов составляет 20 %.

* + 1. При получении результатов анализа в двух лабораториях за окончательный результат принимают среднеарифметическое значение результатов анализа, полученных в двух лабораториях. Расхождение между результатами анализа в двух лабораториях не должно превышать предела воспроизводимости R. Предел воспроизводимости для всех определяемых хлорогорганических пестицидов составляет 40 %.

Значения показателей точности, повторяемости и воспроизводимости представлены в Таблице 9.

## Таблица 9 - Показатели точности, повторяемости и воспроизводимости

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Наименование соединения | Показатель повторяемости, | Показатель воспроизводимости | Показатель точности (при доверительной вероятности Р = 0,95) ±δ, % |
| γ - ГХЦГ (линдан) | 7 | 14 | 30 |
| α – ГХЦГ |
| ДДЭ |
| ДДТ |
| ДДД |
| ПРИМЕЧАИНЕ Систематическая составляющая погрешности незначима. |

* 1. **Оформление** **результатов**

6.11.1 Результат анализа Х, мг/кг, в документах предусматривающих его использование, может быть представлен в виде:

Х  , мг/кг, Р = 0,95, (5)

где ∆ - показатель точности принятой вероятностью Р = 0,95, вычисляемый по формуле:

Х = δ·0,01·Х, (6)

где δ – значение показателя точности по Таблице 9.

Допускается результат испытаний выдаваемых лабораториях, представлять в виде, Х ± ∆, мг/кг, Р = 0,95, при условии ∆n < ∆, где ± ∆n – значение характеристики погрешности результатов измерения, установленное при испытаниях в лаборатории и обеспечиваемое контролем стабильности результатов измерений.

6.12 Контроль исполнителем процедуры выполнения измерений

Контроль исполнителем процедуры выполнения измерений проводятся с использованием образцов для контроля. В качестве таких образцов применяют (в порядке понижения приоритетности) стандартные образцы состава анализируемой продукции; образцы, для которых содержание анализируемых компонентов установлено на основании межлабораторного сличительного эксперимента; образцы, многократно проанализированные в лаборатории данным методом.

Сравнивают результат контрольной процедуры Кк с нормативом контроля К. Результат контрольной процедуры вычисляют по формуле:

Кк = Х – С, (7)

где С – опорные (аттестованное) значение, мг/кг;

Х – результат определения содержания пестицидов в образце для контроля, мг/кг.

В качестве норматива контроля К принимают значение характеристики погрешности измерений, установленное в лаборатории и при реализации методики (∆n, мг/кг); если эти значения еще не установлены (например, при освоении методики), то вместо ∆n используют значение ∆. Качество контрольной процедуры признают удовлетворительным, если Кк ≤ К. при невыполнении неравенства (см. Формула 3) процедуру контроля повторяют. При повторном неудовлетворительном результате находят и устраняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам.

6.13 Оценка приемлемости результатов, получаемых в условиях воспроизводимости Расхождение между результатами, полученными в двух лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости.

При выполнении этого условия приемлемы оба результата анализа, и в качестве окончательного может быть использовано их среднее значение.

При превышении предела воспроизводимости могут быть использованы методы оценки приемлемости результатов измерений согласно ГОСТ Р ИСО 5725-6.

1. **Контроль качества результатов измерений**

Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории предусматривает:

- контроль исполнителем процедуры выполнения измерений на основе оценки приемлемости результатов, а условиях повторяемости;

- контроль исполнителем процедуры выполнения измерений на основе оценки погрешности измерений при реализации отдельной контрольной процедуры;

- контроль стабильности результатов измерений на основе контроля стабильности среднеквадратического отклонения (далее СКО) повторяемости, СКО промежуточной (внутрилабораторной) прецизионности и погрешности.

Периодичность контроля исполнителем процедуры выполнения анализа на основе оценки погрешности измерений при реализации отдельной контрольной процедуры, а также реализуемые процедуры контроля стабильности результатов измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

Контроль точности измерений (повторяемость и воспроизводимость) производят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-1 и ГОСТ ИСО 5725-2.

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (сходимости) и воспроизводимости, осуществляют по
ГОСТ ИСО 5725-6.

**Приложение A**

(обязательное)



*1 —* пробел; *2* — верхний шлиф конденсатора, *3 —* верхний штуцер (слив воды); *4* — конденсатор; 5 — максимальный уровень конденсата; *6* — уровень сливной трубки; 7 — нижний штуцер (вход воды); 8 — трехходовой кран. 9 — круглодонная колба со шлифом; *10* — приемная пробирка со шлифом.

## Рисунок А.1 - Аппарат для экстракции и очистки экстрактов хлорорганических пестицидов

 **УДК** **502.5+612.39.7/.8+663.97:[543.393:543.544]:35 МКС** **13.060.01, 67.040 ,**

 **65.120, 65.020.20**

**Ключевые** **слова:** пестициды, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, газожидкостная хроматография, хроматографические колонки.

 **УДК** **502.5+612.39.7/.8+663.97:[543.393:543.544]:35 МКС** **13.060.01, 67.040 ,**

 **65.120, 65.020.20**

**Ключевые** **слова:** пестициды, тонкослойная хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография, газожидкостная хроматография, хроматографические колонки.

**РАЗРАБОТЧИК**

РГП на ПХВ «Казахстанский институт стандартизации и метрологии» Комитета технического регулирования и метрологии Министерства торговли и интеграции Республики Казахстан

**Руководитель**

**Департамента разработки**

**стандартов и фонда НТД А. Сопбеков**

**Заместитель Руководителя**

**Департамента разработки**

**стандартов и фонда НТД Е. Ялынская**

**Ведущий специалист**

**Департамента разработки**

**стандартов и фонда НТД Н. Жакиш**