ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГОСТ EN 1528-4-2014

ПИЩЕВАЯ ПРОДУКЦИЯ С БОЛЬШИМ СОДЕРЖАНИЕМ ЖИРА

Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ)

Часть 4

Определение, методы подтверждения, прочие положения

ХАРЧОВАЯ ПРАДУКЦЫЯ З ВЯЛІКІМ ЗМЯШЧЭННЕМ ТЛУШЧУ

Вызначэнне пестыцыдаў і поліхлараваных біфенілаў (ПХБ)

Частка 4

Азначэнне, метады пацвярджэння, іншыя палажэнні

(EN 1528-4:1996, IDT)

Настоящий государственный стандарт ГОСТ EN 1528-4-2014 идентичен EN 1528-4:1996 и воспроизведен с разрешения CEN/CENELEC, Avenue Marnix 17, B-1000 Brussels. Все права по использованию европейских стандартов в любой форме и любым способом сохраняются во всем мире за CEN/CENELEC и его национальными членами, и их воспроизведение возможно только при наличии письменного разрешения CEN/CENELEC в лице Государственного комитета по стандартизации Республики Беларусь.

Издание официальное

Госстандарт
Минск

gost.e-ecolog.ru

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 основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0—92 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2009 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Порядок разработки, принятия, применения, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН республиканским унитарным предприятием «Белорусский государственный институт метрологии» (БелГИМ)

2 ВНЕСЕН Государственным комитетом по стандартизации Республики Беларусь

3 ПРИНЯТ Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации по переписке (протокол 73-П от 22 декабря 2014 г.)

За принятие стандарта проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	Минэкономики Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Кыргызстан	KG	Кыргызстандарт
Молдова	MD	Молдова-Стандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Настоящий стандарт идентичен европейскому стандарту EN 1528-4:1996 Bestimmung von Pestiziden und polychlorierten Biphenylen (PCB) – Fettreiche Lebensmittel – Bestimmung von Pestiziden und polychlorierten Biphenylen (PCB) – Teil 4: Verfahren zur Bestimmung und Absicherung, Verschiedenes (Продукты пищевые с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 4. Определение, методы подтверждения, прочие положения).

Европейский стандарт EN 1528-4:1996 разработан техническим комитетом по стандартизации CEN/TC 275 «Анализ пищевых продуктов. Горизонтальные методы» Европейского комитета по стандартизации (CEN).

Перевод с немецкого языка (de).

Официальные экземпляры европейского стандарта, на основе которого подготовлен настоящий межгосударственный стандарт, и европейских стандартов, на которые даны ссылки, имеются в Национальном фонде ТНПА.

В стандарт внесены следующие редакционные изменения: единица измерения миллилитр (мл) заменена на кубический сантиметр ($см^3$); единица измерения микролитр (мкл) заменена на кубический миллиметр ($мм^3$).

В разделе «Нормативные ссылки» и тексте стандарта ссылки на европейские стандарты актуализированы.

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным европейским стандартам приведены в дополнительном приложении Д.А.

Степень соответствия — идентичная (IDT)

5 ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ постановлением Госстандарта Республики Беларусь от 25 мая 2015 г. № 29 непосредственно в качестве государственного стандарта Республики Беларусь с 1 марта 2016 г.

6 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

© Госстандарт, 2016

Настоящий стандарт не может быть воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Госстандарта Республики Беларусь

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, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных (государственных) органов по стандартизации.

Введение

Европейский стандарт EN 1528 состоит из следующих частей под общим заголовком «Продукты пищевые с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ)»:

- часть 1. Общие положения (определяет область применения стандарта, а также содержит общие указания, касающиеся реактивов, оборудования, газовой хроматографии и т. д., применяющихся для каждого из выбранных аналитических методов);
- часть 2. Экстракция жира, пестицидов и ПХБ и определение содержания жира (устанавливает ряд аналитических методов, с помощью которых проводят экстракцию жира, включая остатки пестицидов и ПХБ из различных групп пищевой продукции, содержащих жиры);
- часть 3. Методы очистки (содержит подробные описания методов А – Н для очистки от жиров и растительных масел или изолированной жировой фракции с применением методов жидкость — жидкостной переэкстракции, адсорбционной или гельпроникающей колоночной хроматографии);
- часть 4. Определение, методы подтверждения, прочие положения (содержит руководство по некоторым рекомендуемым методам определения пестицидов и ПХБ в пищевой продукции с большим содержанием жира, а также описание процедуры очистки для удаления основной части липидов при анализе большого количества жира).

Настоящий стандарт содержит ряд методов определения множественных остатков одинакового значения. Ни один из этих методов нельзя рассматривать как преимущественный, так как методы исследования в данной области постоянно совершенствуются. Методы, выбранные для включения в настоящий стандарт, были проверены и имеют широкое применение. Необходимо доказать, что любые изменения в методах дадут сопоставимые результаты.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ПИЩЕВАЯ ПРОДУКЦИЯ С БОЛЬШИМ СОДЕРЖАНИЕМ ЖИРА
Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ)
Часть 4
Определение, методы подтверждения, прочие положения

ХАРЧОВАЯ ПРАДУКЦЫЯ З ВЯЛІКІМ ЗМЯШЧЭННЕМ ТЛУШЧУ
Вызначэнне пестыцыдаў і поліхлараваных біфенілаў (ПХБ)
Частка 4
Азначэнне, метады пацвярджэння, іншыя палажэнні

Fatty food
Determination of pesticides and polychlorinated biphenyls (PCBs)
Part 4
Determination, confirmatory tests, miscellaneous

Дата введения — 2016-03-01

1 Область применения

Настоящий стандарт содержит руководство по некоторым рекомендуемым методам определения пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ), методам подтверждения и описание дополнительного метода предварительной очистки от жира при проведении анализа пищевой продукции с большим содержанием жира.

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные стандарты. Для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта.

EN 1528-1:1996 Продукты пищевые с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 1. Общие положения

EN 1528-2:1996 Продукты пищевые с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 2. Экстракция жира, пестицидов и ПХБ и определение содержания жира

EN 1528-3:1996 Продукты пищевые с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 3. Методы очистки

3 Общие положения

Методы, описанные в настоящем стандарте, позволяют предварительно идентифицировать и количественно определить остатки пестицидов и полихлорированных бифенилов с помощью газовой хроматографии с применением селективных детекторов.

Все положительные результаты должны подтверждаться качественно и количественно.

Результаты анализа могут подтверждаться посредством применения альтернативных колонок для газовой хроматографии (ГХ), альтернативных ГХ-детекторов, тонкослойной хроматографии (ТСХ), высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), фракционирования на колонке, получения производных, спектроскопических измерений, а также других аналогичных приемов. Результаты, полученные при применении масс-спектрометрии (МС), обладают максимальной информативностью для целей подтверждения/идентификации.

Издание официальное

4 Определение

4.1 Газовая хроматография

4.1.1 Общие положения

Следует использовать газохроматографическую систему, инжекторная, детекторная и колоночные зоны которой нагреваются отдельно. Несмотря на то, что выбор и компоновка различных частей газохроматографической системы должны быть основаны на практическом опыте лица, проводящего анализ, следует учитывать приведенные ниже общие рекомендации.

Детекторы должны быть правильно установлены согласно инструкциям изготовителя. Изменения чувствительности детектора следует периодически проверять с помощью проверки линейности калибровочных кривых с использованием стандартных растворов пестицидов.

Газохроматографическая система должна быть оснащена интегрирующим устройством, которое позволяет производить оценку не только высоты пиков, но и их площади.

На основании практического опыта известно, что равнозначные результаты могут быть достигнуты даже при различных газохроматографических условиях и с использованием различных типов оборудования. С другой стороны, установление одинаковых параметров для ГХ не гарантирует одинаковое качество результатов.

Стандартные условия ГХ анализа приведены в приложении В.

4.1.2 Колонки

Используют или насадочные, или капиллярные колонки.

При использовании насадочных колонок оправдали себя стеклянные колонки длиной от 1,5 до 3 м и внутренним диаметром от 2 до 6 мм. Однако они не подходят для разделения различных ПХБ.

Должен использоваться устойчивый и инертный сорбент, например Gaschrom Q, Chromosorb W/HP и Anachrom Q, с размерами частиц от 125 до 150 мкм (100 – 120 меш), от 150 до 190 мкм (80–100 меш) или от 190 до 250 мкм (60–80 меш) [1)].

Множество стационарных фаз и сорбентов были успешно использованы для проведения различных анализов пестицидов и ПХБ. Например, наиболее часто применимыми являются следующие типы:

Углеводороды:	Apiezon L
Метилсиликоны:	DC-11, DC-200, OV-1, OV-101, SP-2100, SE-30
Фенилметилсиликоны:	OV-17, OV-25, OV-61, SP-2250, SE-52, SE-54
Трифторпропилметилсиликоны:	QF-1, OV-210, SF-2401
Фенилцианопропилметилсиликоны:	DB-1301, DB-1701, OV-225, XE-60
Полиэтиленгликоль:	Carbowax 20M [1)]

Стационарные фазы осторожно наносят на материал носителя, при этом соотношение зависит от выбранного сочетания носитель/фаза. Вновь заполняемые колонки следует выдерживать в течение не менее 24 ч при температуре, близкой к максимальной рекомендуемой рабочей температуре соответствующей стационарной фазы; затем проверяют скорость разделения и селективность при соответствующих рабочих температурах с использованием стандартных растворов пестицидов. Во время выдержки конец колонки должен быть отсоединен от детектора.

В качестве газа-носителя для насадочных колонок рекомендуется использовать чистый сухой азот (свободный от кислорода, особенно при применении детектора электронного захвата (ДЭЗ) или смесь аргона и метана, в случае применения ДЭЗ, работающего в пульсирующем режиме). Скорость потока зависит от размеров и типа используемой колонки. В общем случае скорость потока газа контролируют как можно точнее. Все подводы газа снабжают фильтрами на молекулярных ситах, которые регулярно регенерируют.

Условия газовой хроматографии (длина колонки, тип стационарной фазы, температуры инжектора, детектора и колонки, скорость потока газа и т. п.) должны быть такими, чтобы имеющиеся в пробе пестициды и ПХБ разделялись по возможности более полно.

Капиллярные колонки превосходят насадочные колонки по скорости разделения. Данный метод особо рекомендуется применять для экстрактов сложного состава.

По скорости разделения, сроку службы и механическим свойствам особенно хорошо зарекомендовали себя колонки из кварца, имеющие внутренний диаметр от 0,20 до 0,35 мм и длину от 20 до 60 м.

[1)] Gaschrom Q, Chromosorb W/HP, Anachrom Q, Apiezon L ... Carbowax 20M являются примерами подходящих стандартных продуктов, имеющихся в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает признания названных продуктов со стороны CEN.

В некоторых случаях выбирают колонки Wide-bore с внутренним диаметром от 0,5 до 0,8 мм. В качестве основы чаще всего используют следующие стационарные фазы:

SE-30 (соответствует OV-1, DB-1, CP Sil 5, BP-1, SPB-1 и т. д.);
SE-54 (соответствует DB-5, CP Sil 8, BP-5, SPB-5 и т. д.);
OV-17 (соответствует OV-11, OV-22, SP-2250, DC-710, DB-608 и т. д.);
DB-1301 (соответствует DB-624);
DB-1701 (соответствует OV-1701, CP Sil 19-CB, BP-10, SPB-7 и т. д.);
OV-225 (соответствует DB-225, SIL 43-CB, SPB-2330 и т. д.);
WAX (соответствует DB-WAX, CP WAX-52-CB, Carbowax 20M и т. д.). [2)]

Проверка скорости разделения капиллярных колонок описана в EN 1528-1:1996 (подраздел 7.2).

4.1.3 Методы инжекции

Могут применяться различные методы инжекции, например:

a) инжекция без сброса по Гробу;
b) инжекция в начало колонки;
c) инжекция с программируемой температурой испарителя (PTV).

Применимость данных методов зависит от условий прибора и специальных требований.

4.2 Предварительные опыты

Определяют линейную область измерений детектора при выбранных условиях для ГХ путем инжекции разбавленных растворов стандартных веществ.

Инжектируют в газовый хроматограф необходимый объем (от 1,0 до 10,0 мм^3 в зависимости от системы) очищенных экстрактов, полученных в соответствии с применяемым аналитическим методом. Полученная таким образом хроматограмма должна позволять как идентифицировать, так и примерно определять концентрацию остатков, присутствующих в экстрактах.

4.3 Определение

Следует убедиться, что все измерения выполняются в линейном динамическом диапазоне системы.

Готовят не менее двух растворов стандартных исследуемых пестицидов или конгенеров ПХБ с различной концентрацией в одном и том же растворителе (обычно петролейный эфир или *н*-гексан). Их концентрация должна примерно соответствовать ожидаемой концентрации остатков в очищенном растворе экстракта. Инжектируют одинаковые объемы полученного очищенного раствора экстракта и двух или более растворов стандартных веществ в газовый хроматограф. Важно, чтобы перед каждым анализируемым раствором и после него инжектировался стандартный раствор.

Измеряют площадь пика или высоту пика. Результаты любых двух инжекций одного и того же стандартного раствора должны отличаться друг от друга не более чем на 5 %. Необходимо руководствоваться внутренним стандартом (см. EN 1528-3:1996, раздел 4).

Необходимо обеспечить, чтобы стандартные вещества и пробы растворялись в одинаковом растворителе, так как иначе будут получены другие хроматографические профили, что может привести к изменению значения времени удерживания и площади пика или высоты пика. Например, для конгенеров ПХБ при замене изооктана на толуол наблюдалось повышение высоты пика на 35 %.

Содержание отдельных конгенеров ПХБ не должно суммироваться для определения общего содержания ПХБ, так как эта величина не достоверна. Расчеты в сторону увеличения до установленного общего содержания ПХБ (например, вычислено как Clophen® A 60 [3)] являются недостоверными, поскольку они в общем случае базируются на неверном предположении, что распределение ПХБ в пробе полностью совпадает с распределением в техническом ПХБ-продукте.

Определение возможно только тогда, когда среднее значение повторных определений для данного вещества из числа многократных определений лежит в диапазоне от 70 % из 110 % для отдельных определений. Соблюдение этого условия проверяют путем регулярного контроля значения повторного определения проб с известными добавками.

[2)] SE-30 ... Carbowax 20M являются примерами подходящих стандартных продуктов, имеющихся в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает признания названных продуктов со стороны CEN.

[3)] Clophen® A 60 является примером смеси различных ПХБ, которую раньше можно было купить. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает признания названных продуктов со стороны CEN.

5 Методы подтверждения [1]

5.1 Общие положения

При проведении анализов в рамках официального надзора особенно важно, чтобы методы подтверждения проводились до отрицательных результатов о пробах, содержащих остатки пестицидов, которые обычно не встречаются в данной пробе, или о случаях превышения максимальных количеств. Иногда происходит загрязнение проб химическими веществами, которые не являются пестицидами и при применении некоторых хроматографических методов ведут себя аналогичным образом, и поэтому эти составляющие могут обладать свойствами, характерными для пестицидов, и вследствие этого ошибочно идентифицированы как пестициды. Таким примером из газовой хроматографии являются сигналы эфиров фталевой кислоты (фталатов) при использовании ДЭЗ и серосодержащих веществ при применении фосфорселективных детекторов.

Различают два типа методов подтверждения: количественный метод важен тогда, когда содержание пестицидов превышает максимальные количества, тогда как качественное подтверждение идентичности также требуется в этих случаях, а также если вещества оказываются нетипичными. К качественным методам относятся химические реакции или разделения, при которых пропадает некоторая доля веществ. Особые проблемы при подтверждении появляются в случаях, когда максимальные количества находятся в области границ определения.

Необходимость подтверждения может зависеть от типа пробы или от сведений о ней. Для многих веществ определенные остатки обнаруживаются почти всегда. В серии проб аналогичного происхождения может быть достаточным для подтверждения идентичности остатков только в первой пробе. Если известно, что материал пробы содержит данный пестицид, подтверждать идентичность может быть необязательно, однако подтверждение необходимо для отдельных случайно выбранных проб. При наличии контрольных проб их следует использовать для проверки присутствия сопутствующих веществ.

Для количественного подтверждения следует применять как минимум одну альтернативную процедуру и указывать меньшую измеренную величину. Для качественного подтверждения рекомендуется применять альтернативный метод, который основывается на других физико-химических свойствах.

Необходимые для положительной идентификации действия проводятся по усмотрению аналитика, и особое значение при этом придается выбору такого метода, который исключает влияние сопутствующих веществ. Выбор метода будет зависеть от оснащенности лаборатории приборами и от проводимых в ней опытов.

В качестве руководства для аналитика в 5.2–5.9 приведен ряд альтернативных процедур подтверждения.

5.2 Альтернативные колонки для газовой хроматографии

Результаты, полученные при проведении первичного анализа, должны подтверждаться количественно и качественно с использованием как минимум одной альтернативной колонки, содержащей стационарную фазу другой полярности. Количественные результаты не должны отличаться от результатов первичного анализа более чем на 20 %, и в отчете указывается меньшее значение, так как более высокое может быть получено в результате влияния совместно экстрагируемых сопутствующих веществ. Последующее количественное подтверждение требуется, когда результаты различаются более чем на 20 %, за исключением случаев, когда максимальное количество соответствует приблизительно границам определения, когда приемлемым будет отклонение до 100 %.

При выборе материала альтернативной колонки следует обратить внимание на то, чтобы вещество было отделено от остатков пестицидов и ПХБ или сопутствующих веществ, которые на первой колонке имеют те же значения времени удерживания, как и выявленный остаток. Альтернативная колонка может быть набивной колонкой или, что является более предпочтительным, капиллярной колонкой из-за ее более высокой скорости разделения. Хотя альтернативная ГХ-колонка не всегда позволяет добиться положительного подтверждения, она может опровергнуть сомнительную идентичность. В каждом случае необходимо последующее подтверждение для идентификации остатка.

5.3 Альтернативные ГХ-детекторы

При присутствии пестицидов, содержащих несколько химических элементов, могут использоваться детекторы, которые избирательно определяют эти элементы. Пламенно-фотометрические детекторы (для серы, фосфора и олова), щелочные пламенно-ионизационные детекторы (для фтора и азота) или кулонометрические детекторы (для азота, серы и галогенов) могут давать ценную дополнительную информацию об остатках. Определяемое пламенно-фотометрическим детектором отношение серы к фосфору может дать необходимую информацию при исследовании фосфотиолатов.

5.4 Тонкослойная хроматография

В некоторых случаях результаты ГХ-анализа могут выгодно подтверждаться с помощью ТСХ. Идентификация основывается на двух критериях — значении Rf и реакции обнаружения. Научная литература содержит многочисленные ссылки на технику. В [2] опубликован обзор по технике и изложено внедрение. Однако для количественного определения ТСХ годится ограниченно. Применение ее может расширяться в тех случаях, когда в области значения Rf интересующего нас пестицида с пластины для ТСХ соскребается слой адсорбента, пестицид элюируют из слоя и раствор исследуют другими физическими или химическими методами подтверждения.

Стандартный раствор пестицида наносят рядом с очищенным экстрактом пробы, в результате чего не возникает никаких проблем из-за неповторяющихся значений Rf. Нанесение стандартного раствора и экстракта пробы на одно и то же стартовое пятно также может дать ценную информацию. Преимущества ТСХ — это высокая скорость, низкие затраты и возможность применения для термочувствительных веществ. Недостатки ТСХ заключаются в более низкой чувствительности по сравнению с газовой хроматографией и часто в необходимости более основательной очистки экстракта. В некоторых странах высокая влажность воздуха или высокая температура может приводить к худшей воспроизводимости.

5.5 Высокоэффективная жидкостная хроматография

ВЭЖХ часто может быть выгодным для подтверждения остатков, изначально выявленных с применением ГХ или других методов, и в некоторых случаях может оказаться предпочтительным методом количественного подтверждения. Получение производных до и после колонки и/или использование различных детекторов дают новые возможности для аналитика, особенно когда термочувствительность или низкая летучесть анализируемого вещества затрудняет исследование методом газовой хроматографии.

5.6 Фракционирование на колонке

Последовательность элюирования из хроматографической колонки во время очистки экстрактов пробы может способствовать подтверждению идентичности вещества. Таким образом, уже известное подтверждение может являться составной частью процедуры экстрагирования и очистки.

5.7 Получение производных

5.7.1 Химические реакции

Часто используют химические реакции в микроколичествах, в результате которых образуются продукты разложения, продукты присоединения или конденсации пестицидов и которые затем снова исследуются хроматографически. Эти продукты имеют другие величины времени удерживания и/или величину отклика детектора, чем первоначальные, исходные пестициды. Параллельно с предполагаемым веществом проводят реакцию со стандартом пестицида, чтобы можно было непосредственно сравнить оба результата. Должен исследоваться также экстракт с добавкой пестицида, чтобы доказать, что реакция протекала в присутствии одновременно экстрагируемых сопутствующих веществ. Обзор химических реакций, которые применяются для целей подтверждения, приведен в [3]. Химические реакции имеют преимущество в том, что они могут проводиться быстро и легко, но в некоторых случаях для этого, возможно, потребуется закупить и/или очистить специальные реактивы.

5.7.2 Физические реакции

Целесообразным является использование фотохимического превращения остатка пестицида для получения одного или нескольких продуктов с воспроизводимым хроматографическим образцом [4]. Стандартный раствор пестицида и пополненный им раствор экстракта всегда должны обрабатываться одинаково. Результаты проб, содержащих остатки более чем одного пестицида, иногда трудно интерпретировать. В таких случаях вещество можно разделить перед реакцией с помощью ТСХ, ВЭЖХ или фракционированием на колонке.

5.7.3 Другие методы

Многие пестициды могут разлагаться или изменяться под действием ферментов. В отличие от обычных химических реакций эти процессы являются очень специфическими и в общем случае состоят из окисления, гидролиза или деалкилирования [3]. Продукты превращений обладают иными, чем исходный пестицид, хроматографическими характеристиками и могут использоваться для целей подтверждения, если они сравниваются с продуктами превращения с использованием стандартного раствора веществ.

5.8 Масс-спектрометрия

Применение масс-спектрометрии для подтверждения идентичности имеет самую высокую достоверность [6], [7]. При наличии оборудования масс-спектрометрия обычно выбирается как основной метод подтверждения. Существует два способа введения проб. Более предпочтительным способом является предварительное газохроматографическое разделение перед введением в масс-спектрометр. Это позволяет выполнить полный масс-спектрометрический анализ пика во время основного анализа. При применении альтернативного способа пробы вводятся напрямую. Этот способ работы позволяет комбинировать его с ТСХ и ВЭЖХ, если ранее они были применены для подтверждения. Отделенные с применением этих способов остатки выделяют и подвергают масс-спектрометрическому анализу.

Чтобы повысить чувствительность, особенно для квадрупольных масс-спектрометрических детекторов, используют однократную и многократную регистрацию ионов. Выбирают достаточное количество факторов для обеспечения четкой идентификации. Повышенная чувствительность при регистрации молекулярного иона может достигаться за счет применения химической ионизации вместо ионизации электронным ударом. Так как масс-спектрометры работают в нанограммовом диапазоне, может возникнуть необходимость сконцентрировать некоторые экстракты после газовой хроматографии перед проведением масс-спектрометрического анализа, особенно если для количественного определения были использованы ДЭЗ. В некоторых случаях потребуется дополнительная очистка, особенно если должны быть сняты спектры в режиме полного ионного тока.

При масс-спектрометрии могут возникнуть проблемы для термочувствительных соединений, и поэтому следует соблюдать особую осторожность при соединении газовых хроматографов с масс-спектрометрами, так как в масс-спектрометрии практически нет другого отклика для соединений при наличии совместно элюированных примесей.

5.9 Спектральные измерения

В настоящее время для анализа остатков пестицидов инфракрасная, рамановская спектроскопия и спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) применяются редко. Разрабатываются инструментальные методы, предполагающие использование ячеек многократного отражения, микроячеек, микрозондов, лазерного света, ЯМР с преобразователем Фурье и т. д. Они улучшают качество спектров и повышают чувствительность, и возможно, что такие методы будут применяться более широко в качестве пост-колоночных методов обнаружения для идентификации соединений после хроматографического выделения.

6 Дополнительная процедура очистки продуктов с большим содержанием жира с использованием Calflo E® [4] [8]

6.1 Общие положения

При применении более распространенных методов определения неполярных хлорорганических и фосфорорганических соединений в жирах и продуктах, содержащей жир, допускается использование лишь небольшого количества пробы, что приводит к ограничению чувствительности. Более полярные липофильные пестициды обычно не могут быть определены с помощью этих методов, или они определяются неточно из-за их неполного отделения от жиров и других липидов.

Принцип описываемого в настоящем разделе метода [8] — это удаление основного количества липидов из раствора жира с помощью подходящего адсорбента. Полученные экстракты затем обрабатывают по методу B или D (см. EN 1528-3:1996, разделы 6 и 8). Таким образом можно увеличить навеску жира до 30 г и существенно повысить чувствительность. Кроме того, можно значительно лучше, чем прежде, определять полярные соединения и метаболиты, если последующая обработка проводится по методу B.

6.2 Принцип метода очистки

Анализируемый раствор жира в ацетоне тщательно смешивают с суспензией синтетического силиката кальция (коммерческое название — Calflo E® [4]). После двукратного фильтрования измеряют объем фильтрата и выпаривают раствор на ротационном испарителе досуха.

---

[4] Calflo E и Celite 545 являются примерами подходящих продуктов. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает признания названных продуктов со стороны CEN.

6.3 Реактивы и материалы

Все реактивы и материалы должны быть пригодными для анализа остатков пестицидов и ПХБ и соответствовать EN 1528-1:1996 (раздел 4). Если необходима очистка, применяют процедуры, приведенные в EN 1528-3:1996 (приложение А).

6.3.1 Ацетон.

6.3.2 Ацетонитрил.

6.3.3 Изооктан.

6.3.4 Calflo E®, высушенный в течение ночи при температуре 130 °С.

6.3.5 Вспомогательный фильтр, например Celite® 545 [4], высушенный в течение ночи при температуре 130 °С.

6.4 Оборудование

Применяют обычное лабораторное оборудование, как указанное ниже.

6.4.1 Высокоскоростной прибор для измельчения с герметичным стеклянным стаканом для растворителя и двигателем во взрывобезопасном исполнении или **гомогенизирующая мешалка**.

6.4.2 Стакан вместимостью 100 $см^3$.

6.4.3 Фарфоровая воронка Бюхнера диаметром 12 см с колбой для фильтрования.

6.4.4 Мерный цилиндр вместимостью 200 $см^3$.

6.4.5 Круглодонные колбы со шлифом вместимостью 250 и 500 $см^3$.

6.4.6 Ротационный испаритель с круглодонной колбой вместимостью на 500 $см^3$ и водяной баней, температура которой регулируется от 20 °С до 50 °С.

6.4.7 Складчатый фильтр диаметром 20 см, очищенный ацетоном.

6.4.8 Фильтры бумажные круглые диаметром 12 см, позволяющие производить быструю и медленную фильтрацию.

6.5 Проведение метода очистки

В стеклянном стакане растворяют от 5 до 30 г жира в 25 $см^3$ ацетона (6.3.1). Затем помещают раствор жира в стакан прибора для измельчения, содержащий 200 $см^3$ ацетонитрила (6.3.2), 20 г Calflo E® (6.3.4) и 10 г Celite® 545 (6.3.5). Несколько раз ополаскивают стеклянный стакан небольшими порциями ацетонитрила (всего 25 $см^3$). После интенсивного перемешивания суспензии в течение 2 мин полученные 250 $см^3$ (V_2) фильтруют через бумажный фильтр на фарфоровой воронке Бюхнера. При этом создают лишь незначительное пониженное давление, чтобы испарялось как можно меньше фильтрата. Затем фильтрат фильтруют через сухой складчатый фильтр, покрытый 3 г Calflo E®, в мерный цилиндр. Измеряют объем фильтрата (V_1) и переносят его, ополаскивая ацетоном, в круглодонную колбу. Добавляют 2 $см^3$ изооктана (6.3.3) и выпаривают на ротационном испарителе при температуре бани 40 °С до объема от 0,5 до 1 $см^3$. Удаляют следы растворителя слабым потоком азота при комнатной температуре.

Примечание 1 — При массе навески для различных жиров и масел (от 10 до 30 г) масса остатков после испарения составляет от 0,1 до 0,7 г. Липиды из молочного жира и натурального оливкового масла были получены в несколько большем количестве, чем из рафинированных пищевых жиров, поэтому для них лучше использовать навеску массой от 10 до 15 г. При использовании пробы жира, выделенного из волосистой части образца, массой от 4 до 10 г был получен сухой остаток после упаривания массой от 1 до 2 г.

Примечание 2 — Чтобы избежать потерь фильтрата вследствие испарения, фильтрацию с отсасыванием следует производить в течение ограниченного времени, до того как содержимое фильтра станет сухим, даже если это будет означать получение фильтрата объемом только от 100 до 150 $см^3$.

Примечание 3 — Предварительные опыты показали, что сухие, содержащие жир продукты питания (сухой яичный желток, какао-порошок) и корма, а также масличные семена (рапс, мак, земляной орех) могут быть очищены с применением описанной процедуры. Пробы для этого гомогенизируются в стакане прибора для измельчения 25 $см^3$ ацетона, 225 $см^3$ ацетонитрила, 20 г Calflo E® и 10 г Celite® 545. Затем суспензию обрабатывают, как описано в 6.5. Масса пробы должна быть изменена в зависимости от содержания жира и количества липидов, оставшихся в экстракте.

6.6 Анализ данных

Остаток после упаривания, определенный согласно 6.5, соответствует только части $G_{корр}$ массы пробы жира. $G_{корр}$, г, жира вычисляют по уравнению (1)

$$G_{корр} = \frac{G \cdot V_1}{V_2}, \quad (1)$$

где G — масса пробы, г;

V_1 — объем фильтрата после очистки, $см^3$;
V_2 — первоначальный объем (здесь — 250), $см^3$.

6.7 Последующая обработка

Для последующей обработки остатка после упаривания согласно 6.5 хорошо зарекомендовали себя (см. таблицу 1) методы B и D (см. EN 1528-3:1996, разделы 6 и 8). Если в пробах должны быть определены только хлорорганические и неполярные фосфорорганические соединения, то более предпочтительным является применение метода D благодаря небольшим затратам труда и времени. Применяя метод B, можно дополнительно определять полярные фосфорорганические соединения, а также некоторые метаболиты. Впоследствии экстракты очищают более интенсивно, поэтому метод B пригоден также для анализа материалов, из которых с помощью Calflo E® удаляют лишь часть липидов.

Таблица 1 — Хлорорганические и фосфорорганические соединения, включая некоторые метаболиты, которые при применении дополнительных методов очистки после последующей доочистки экстракта по методам B и D обнаруживаются с выходами более 70 % (обозначено «+») и не обнаруживаются (обозначено «–»)

Вещество	Метод B	Метод D
Алдрин	+	+
Цис/транс-хлордан	+	+
Хлорфензон	+	
о,п'-ДДД	+	+
п,п'-ДДД	+	+
о,п'-ДДЕ	+	+
п,п'-ДДЕ	+	+
о,п'-ДДТ	+	+
п,п'-ДДТ	+	+
Диэльдрин	+	+
Альфа-эндосульфан	+	+
Бета-эндосульфан	+	–
Эндосульфан-сульфат	+	–
Эндрин	+	+
Фензон	+	
Альфа-ГХЦГ	+	+
Бета-ГХЦГ	+	+
Гамма-ГХЦГ (Линдан)	+	+
Дельта-ГХЦГ	+	+
Гептахлор	+	+
Гептахлор-эпоксид	+	+
Гексахлорбензол	+	+
Метоксихлор	+	
Конгенеры ПХБ	+	
Квинтоцен	+	+
Тетрасул	+	
Камфехлор (токсафен)	+	
Азинфос-этил	+	–
Карбофенотион	+	+
Хлорфенвинфос	+	–
Диазинон	+	–
Диоксатион	+	
Этион	+	–
Фенхлорфос (роннел)	+	+
Малатион	+	–
Паратион-этил	+	–
Паратион-метил	+	
Фозалон	+	–

Величина извлечения (recovery) анализируемых соединений может быть определена только совместно с последующей очисткой. В ходе межлабораторных исследований, проведенных в 9 лабораториях, величину извлечения получили для пробы рафинированного подсолнечного масла с добавками различных пестицидов и метаболитов в количестве от 0,02 до 16 мг/кг. В таблице 1 приведены те соединения, для которых при дополнительной очистке по методам B и D были получены общие выходы от 70 % до 100 % (в большинстве случаев — от 80 % до 95 %).

Приложение А
(справочное)

Библиография

[1] Guidelines on Good Laboratory Practice in Pesticide Residue Analysis, Codex Alimentarius Commission. In: Codex Alimentarius Band 2, Pesticide Residues in Food, Rom; Ernahrungs- und Landwirtschaftsorganisation der Vereinten Nationen (FAO); Weltgesundheitsorganisation (WHO) 1993. Teil 4.2, 405–416
(Продовольственная и сельскохозяйственная комиссия Объединенных Наций (FAO). Всемирная организация здравоохранения (WHO)

[2] Batora, V., Vitorovic, S. Lj., Thier, H.-P. und Klisenko, M. A.: Pure Appl. Chem., 53, 1039–1049 (1981)
(Теоретическая и прикладная химия)

[3] Cochrane, W. P.: Chemical derivatisation techniques in pesticide analysis, advances and applications, ACS Symposium Series 136, American chemical society, Washington, D. C., S. 231–249, 1980
(Химические технологии получения производных в пестицидном анализе, усовершенствование и применение)

[4] Pesticide Analytical Manual, Food and Drug Administration, Washington, D. C. USA, Band. 1, Kapitel 6, Abschnitt 652
(Аналитический справочник по пестицидам)

[5] Verweis zur Derivatisierung (wird spater eingesetzt)
(Ссылка на документ по получению производных (будет введена позже)

[6] Hutzinger, O. und Safe, F.: Mass Spectrometry of Pesticides and Pollutants, CRC Press, 1973.
(Масс- спектрометрия пестицидов и загрязняющих примесей)

[7] Sphon, J. A., und Brumley, W. C.: Biochemical Application of Mass Spectrometry, Hrsg.: Waller, G. R., Dormer, O. C.; John Wiley & Sons, New York, 1980
(Применение масс-спектрометрии в биохимии)

[8] Specht, W.: Cleanup of large quantities of fats for analysis of residues of organochlorine and organo-phosphorus Compounds. In: Deutsche Forschungsgemeinschaft, Manual of Pesticide Residue Analysis, VCH Verlagsgesellschaft Weinheim 1987, Band 1, 71–74, Aufarbeitungsverfahren 5
(Очистка большого количества жира для анализа остатков хлорорганических и фосфорорганических соединений. Справочник по анализу пестицидных остатков, метод обработки 5)

Приложение В
(справочное)

Обычные условия для газовой хроматографии

В.1 Хлорорганические пестициды

В.1.1 Условия 1

Колонка	Кварцевая капиллярная колонка с DB-5 (длина — 30 м, внутренний диаметр — 0,25 мм, толщина слоя неподвижной фазы — 0,23 мкм)
Температура колонки	2 мин при температуре 110 °С, подъем температуры 6 °С/мин при температуре от 110 °С до 245 °С, 2 мин при температуре 245 °С
Детектор	ДЭЗ, температура 350 °С
Инжектор	Программируемый инжектор (PTV)
PTV-программа	Время (мин) минус 0,15; сброс открыт; минус 0,10 PTV; температура 40 °С; 0,20; сброс закрыт; 0,25 PTV; температура 250 °С; 2,00; сброс открыт; 4,00 PTV; температура 40 °С
Скорость потока газа через сброс	50 $см^3$/мин

В.1.2 Условия 2

Колонка	Кварцевая капиллярная колонка с DB-1701 (длина — 30 м, внутренний диаметр — 0,53 мм, толщина слоя неподвижной фазы — 1,0 мкм)
Температура колонки	1 мин при температуре 80 °С, подъем температуры: 30 °С/мин от 80 °С до 150 °С и 5 °С/мин от 150 °С до 280°С
Детектор	ДЭЗ, температура 280 °С
Инжектор	Программируемый инжектор (PTV)
PTV-программа	Время (мин) минус 0,15 PTV; температура 40 °С; минус 0,10; сброс открыт; 0,20; сброс закрыт; 0,25 PTV; температура 250 °С; 2,00; сброс открыт; 4,00 PTV; температура 40 °С

В.2 Полихлорбифенилы

В.2.1 Условия 1

Колонка	Кварцевая капиллярная колонка с CP Sil 8 (длина — 50 м, внутренний диаметр — 0,34 мм, толщина слоя неподвижной фазы — 0,24 мкм)
Температура колонки	4 мин при температуре 90 °С; подъем температуры 35 °С/мин от 90 °С до 160 °С; 1 мин при температуре 160 °С; подъем температуры 3 °С/мин от 160 °С до 244 °С; 10 мин при температуре 244 °С
Инжектор	Температура 250 °С, ввод пробы без сброса (1 мин)
Детектор	ДЭЗ, температура 350 °С
Газ-носитель	Гелий
Давление на входе колонки	$1,5 \times 10^5$ Па, продувка
Скорость потока газа через сброс	Очищенный азот, 35 $см^3$/мин

B.2.2 Условия 2

Колонка	Кварцевая капиллярная колонка с DB-1 (длина — 25 м, внутренний диаметр — 0,32 мм, толщина слоя неподвижной фазы — 1 мкм)
Температура колонки	3 мин при температуре 90 °С; подъем температуры 35 °С/мин от 90 °С до 160 °С; 1 мин при температуре 160 °С; подъем температуры 2 °С/мин от 160 °С до 220 °С и 5 °С/мин от 220 °С до 240 °С; 10 мин при температуре 240 °С
Инжектор	Температура 250 °С, ввод пробы без сброса (1 мин)
Детектор	Детектор электронного захвата, температура 300 °С
Газ-носитель	Гелий
Давление на входе колонки	$0,8 \times 10^5$ Па, продувка
Скорость потока газа через сброс	Очищенный азот, 35 $см^3$/мин

B.3 Фосфорорганические пестициды

B.3.1 Условия 1

Колонка	Кварцевая капиллярная колонка с DB-1 (длина — 30 м, внутренний диаметр — 0,25 мм, толщина слоя неподвижной фазы — 0,25 мкм)
Температура колонки	Подъем температуры 50 °С/мин от 50 °С до 150 °С и 10 °С/мин от 150 °С до 250 °С
Детектор	Термоионный детектор (с фосфорным или азотно-фосфорным сердечником), температура 275 °С
Инжектор	Температура 250 °С

B.3.2 Условия 2

Колонка	Кварцевая капиллярная колонка с DB-1301 (длина — 30 м, внутренний диаметр — 0,25 мм, толщина слоя неподвижной фазы — 0,25 мкм)
Температура колонки	Подъем температуры 50 °С/мин от 60 °С до 150 °С; 4 °С/мин от 150 °С до 200 °С и 12 °С/мин от 200 °С до 275 °С; 2 мин при 275 °С
Детектор	Термоионный детектор (с фосфорным или азотно-фосфорным сердечником), температура 280 °С
Инжектирование	В колонку (on-column), комнатная температура

B.3.3 Условия 3

Колонка	Кварцевая капиллярная колонка с DB-5 (длина — 30 м, внутренний диаметр — 0,53 мм, толщина слоя неподвижной фазы — 1,5 мкм)
Температура колонки	Подъем температуры 5 °С/мин от 150 °С до 250 °С
Детектор	Пламенно-фотометрический детектор, P-фильтр, температура 250 °С
Инжектор	Температура 250 °С

Приложение Д.А
(справочное)

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным европейским стандартам

Таблица Д.А.1

Обозначение и наименование европейского стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
EN 1528-1:1996 Продукты пищевые с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 1. Общие положения	IDT	ГОСТ EN 1528-1—2014 Пищевая продукция с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 1. Общие положения
EN 1528-2:1996 Продукты пищевые с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 2. Экстракция жира, пестицидов и ПХБ и определение содержания жира	IDT	ГОСТ EN 1528-2—2014 Пищевая продукция с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 2. Экстракция жира, пестицидов и ПХБ и определение содержания жира
EN 1528-3:1996 Продукты пищевые с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 3. Методы очистки	IDT	ГОСТ EN 1528-3—2014 Пищевая продукция с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 3. Методы очистки

664.017:543.61(083.74)(476) МКС 67.040 IDT

Ключевые слова: пищевая продукция, пищевой жир, химический анализ, определение содержания, пестицид, полихлорбифенил, чистота, проверка, химический остаток, газовая хроматография

Ответственный за выпуск *Н. А. Баранов*

Сдано в набор 26.02.2016. Подписано в печать 29.02.2016. Формат бумаги 60×84/8. Бумага офсетная.
Гарнитура Arial. Печать ризографическая. Усл. печ. л. 2,33 Уч.-изд. л. 1,04 Тираж 2 экз. Заказ 588

Издатель и полиграфическое исполнение:
Научно-производственное республиканское унитарное предприятие
«Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя, распространителя печатных изданий
№ 1/303 от 22.04.2014
ул. Мележа, 3, комн. 406, 220113, Минск.

gost.e-ecolog.ru