ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ГОСТ EN 1528-3-2014

ПИЩЕВАЯ ПРОДУКЦИЯ С БОЛЬШИМ СОДЕРЖАНИЕМ ЖИРА

Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ)

Часть 3

Методы очистки

ХАРЧОВАЯ ПРАДУКЦЫЯ З ВЯЛІКІМ ЗМЯШЧЭННЕМ ТЛУШЧУ

Вызначэнне пестыцыдаў і поліхлараваных біфенілаў (ПХБ)

Частка 3

Метады ачысткі

(EN 1528-3:1996, IDT)

Настоящий государственный стандарт ГОСТ EN 1528-3-2014 идентичен EN 1528-3:1996 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 (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 1528-3:1996 Bestimmung von Pestiziden und polychlorierten Biphenylen (PCB) – Fettreiche Lebensmittel – Bestimmung von Pestiziden und polychlorierten Biphenylen (PCB) – Teil 3: Reinigungsverfahren (Продукты пищевые с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 3. Метод очистки).

Европейский стандарт EN 1528-3:1996 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 международного и европейских стандартов, на которые даны ссылки, имеются в Национальном фонде ТНПА.

В стандарт внесены следующие редакционные изменения: единица измерения литр (л) заменена на кубический дециметр ($дм^3$); единица измерения миллилитр (мл) заменена на кубический сантиметр ($см^3$).

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

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

Степень соответствия — идентичная (IDT)

© Госстандарт, 2015

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

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

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.

Остатки, подвергаемые анализу в соответствии с настоящим стандартом, содержатся в жировой части образцов. Экстракты проб, полученные в соответствии с EN 1528-2:1996, содержат кроме остатков жира и различные липиды, которые могут привести к ошибочным результатам, и для очистки данного экстракта или жира и масла можно применять несколько различных методов.

Настоящий стандарт содержит следующие методы очистки, которые были проверены в кольцевых испытаниях и широко распространены:

– метод А. Жидкость-жидкостное разделение с ацетонитрилом и очистка на Florisil®-колонке (AOAC) [1]

– метод В. Жидкость-жидкостное разделение с диметилформамидом и очистка на Florisil®-колонке (Specht) [2];

– метод С. Колоночная хроматография на активированном Florisil® (AOAC) [3];

– метод D. Колоночная хроматография на частично дезактивированном Florisil® (Stijve) [4];

– метод Е. Колоночная хроматография на частично дезактивированном оксиде алюминия (Greve и Grevemstik) [5];

– метод F. Гельпроникающая хроматография (ГПХ) (AOAC) [6];

– метод G. Гельпроникающая колоночная хроматография на частично дезактивированном силикагеле (Specht) [7];

– метод Н. Высокопроизводительная гельпроникающая хроматография (HPGPC) (MAFF) [8].

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ПИЩЕВАЯ ПРОДУКЦИЯ С БОЛЬШИМ СОДЕРЖАНИЕМ ЖИРА
Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ)
Часть 3
Методы очистки

ХАРЧОВАЯ ПРАДУКЦЫЯ З ВЯЛІКІМ ЗМЯШЧЭННЕМ ТЛУШЧУ
Вызначэнне пестыцыдаў і поліхлараваных біфенілаў (ПХБ)
Частка 3
Метады ачысткі

Fatty food
Determination of pesticides and polychlorinated biphenyls (PCBs)
Part 3
Clean-up methods

Дата введения — 2016-03-01

1 Область применения

В настоящем стандарте установлены требования к методам А — Н очистки от жира и масел или изолированных жировых компонентов, содержащихся в пищевой продукции. При этом используется жидкость-жидкостное разделение методом абсорбционной колоночной хроматографии или гель-проникающей хроматографии. Применимость методов А — Н подробно описана отдельно для каждого метода.

Примечание — См. также EN 1528-4, который содержит дополнительные методы предварительной очистки от жира при переработке пищевой продукции, содержащих большое количество жира.

2 Нормативные ссылки

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

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 1528-4:1996 Продукты пищевые с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 4. Определение, контрольные испытания, прочие положения

3 Сущность метода

Сопутствующие вещества удаляются из экстракта пробы, чтобы экстрагированные фракции находились в растворе, используемом для количественного определения по одному из выбранных методов.

4 Общие положения

При любом жидкость-жидкостном разделении делительную воронку встряхивают в течение 2 мин в горизонтальном положении, периодически открывая пробку. Если при встряхивании образовывается стабильная эмульсия, предпочтительным может быть продолжительное встряхивание. В эмульсию можно добавить от 1 до 2 $см^3$ насыщенного раствора хлорида натрия или сульфата натрия, нагреть теплой водой из-под крана или процентрифугировать.

При расслоении эмульсии на фазы верхнюю фазу вновь экстрагируют, а нижнюю выбрасывают.

Издание официальное

Активность Florisil ® [1)], которая в настоящем стандарте используется для хроматографии на колонке, должна проверяться через определенные промежутки времени, а в случае необходимости, как указано для отдельных методов, – регулироваться.

Примечание — Из-за очень высокой связующей способности липидов Florisil® [1)] часто используется в качестве абсорбента. Его активность зависит от качества изготовления, условий транспортирования и хранения.

Скорость элюирования хроматографической колонки зависит от применяемых методов. Она должна находиться в диапазоне от 1 до 5 $см^3$/мин.

При анализе хлорорганических пестицидов рекомендуется перед очисткой добавить к экстракту заданное количество пентахлорбензола (или 1,7-дибромгептана) и менее летучего индикатора (например, 1,2,3,4-тетрахлорнафталина или изодрина) [2)]. Пентахлорбензол используют как индикатор возможных потерь пестицидов при упаривании путем сравнения площади пика (высоты) пестицидов с площадью пика (высоты) менее летучего индикаторного компонента. Добавление индикаторного компонента может также использоваться как внутренний стандарт для определения (относительно времени выхода) и количественных расчетов. Однако для детектора электронного захвата (ДЭЗ) параллельно экстрагируемые вещества могут давать пики, совпадающие с временем выхода пика внутреннего стандарта.

Примечание — Библиография, связанная с данными методами, приведена в приложении В.

5 Метод А. Жидкость-жидкостное разделение с ацетонитрилом и очистка на Florisil®-колонке (AOAC) [1]

5.1 Область применения

Данный метод применяется для определения 17 хлорорганических пестицидов и метаболитов, индикаторных конгенеров ПХБ и 6 фосфорорганических пестицидов (в особых случаях) (см. EN 1528-1:1996, приложение А).

5.2 Сущность метода

Экстракция жира, включая остатки из пробы, производится по методу, приведенному в EN 1528-2:1996. Экстракт концентрируется почти до сухого состояния, остаток растворяется в петролейном эфире. Остаток пестицидов и ПХБ растворяют в ацетонитриле и после разбавления ацетонитриловой фазы водой вновь переводят в петролейный эфир. Концентрированная органическая фаза очищается хроматографически с помощью Florisil®-колонки с петролейным эфиром/диэтиловым эфиром в качестве элюента. Элюат используется для газохроматографического анализа.

5.3 Реактивы и вспомогательные средства

Все реактивы и вспомогательные вещества должны быть пригодными для анализа остатков пестицидов и ПХБ и должны соответствовать EN 1528-1:1996 (раздел 4). При необходимости очистки применяются процедуры, приведенные в приложении А.

5.3.1 **Ацетонитрил.**

5.3.2 **Петролейный эфир** с температурой кипения от 40 °С до 60 °С.

5.3.3 **Ацетонитрил** (5.3.1), насыщенный петролейным эфиром (5.3.2).

5.3.4 **Диэтиловый эфир,** свободный от перекиси; перегоняют и стабилизируют абсолютным этанолом в количестве 2 % (по объему).

5.3.5 **Смесь элюентов А:** петролейный эфир (5.3.2) и диэтиловый эфир (5.3.4), объемное отношение 94 : 6 (об/об).

5.3.6 **Смесь элюентов В:** петролейный эфир (5.3.2) и диэтиловый эфир (5.3.4), объемное отношение 85 : 15 (об/об).

5.3.7 **Смесь элюентов С:** петролейный эфир (5.3.2) и диэтиловый эфир (5.3.4), объемное отношение 50 : 50 (об/об).

5.3.8 **Сульфат натрия** гранулированный, безводный; нагревают в течение 4 ч при температуре 500 °С или 550 °С и после охлаждения хранят в герметичной стеклянной емкости.

[1)] Florisil® является примером подходящего продукта, имеющегося в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает признания названного продукта со стороны CEN.

[2)] 1, 2, 3, 4,10, 10'-гексахлор-1, 4, 4', 5, 8, 8'-гексагидро 1,4-эндо-5,8-эндодиметанонафталин.

5.3.9 **Florisil®**, от 150 до 250 мкм (от 60 до 100 меш).

Активируют его при нагревании в течение 4 ч при температуре 650 °С, а затем сразу переносят в плотно закрытую емкость, которую хранят в темноте. Перед использованием нагревают при температуре в течение 5 ч, а затем охлаждают в эксикаторе.

Периодически проверяют качество Florisil®, как описано ниже.

Помещают 1 см^3 стандартного раствора в гексане с концентрацией 0,1 мг/дм^3 линдана, гептахлора, альдрина, гептахлор-эпоксида и диэлдрина и 0,3 мг/дм^3 эндрина в абсорбционную колонку по 5.5.3.

Проводят повторный газохроматографический анализ.

Florisil® пригоден к использованию, если линдан, гентахлор, альдрин и гептахлор-эпоксид количественно элюированы элюентом А (5.3.5), а диэлдин и эндрин количественно элюированы элюентом В (5.3.6).

5.3.10 **Раствор хлорида натрия** насыщенный; перед растворением нагревают хлорид натрия при температуре 500 °С в течение 4 ч.

5.4 Оборудование

Применяется обычное лабораторное оборудование, а также указанное ниже.

5.4.1 **Делительные воронки** номинальной вместимостью 125 и 1000 см^3, со стеклянным притертым краном или краном из политетрафторэтилена.

5.4.2 **Хроматографическая колонка** длиной 50 мм, наружным диаметром 25 мм, с краном из политетрафторэтилена и пористым стеклянным фильтром или тампоном из стекловаты.

5.4.3 **Хроматографическая колонка** длиной 300 мм, внутренним диаметром 22 мм, с краном из политетрафторэтилена и пористым стеклянным фильтром или тампоном из стекловаты.

5.4.4 **Испаритель Kuderna-Danish** вместимостью 500 см^3, с градуированной приемной пробиркой (или аналогичный прибор).

5.4.5 **Микроколонка Snyder с двумя шариками (сферами)** или **микроколонка Vigreux.**

5.5 Проведение испытаний

5.5.1 Экстракция жира, пестицидов и ПХБ

Методы проводятся в соответствии с EN 1528-2:1996.

5.5.2 Очистка с помощью петролейного эфира/ацетонитрила

Помещают до 3 г жира в делительную воронку вместимостью 125 см^3 и растворяют в петролейном эфире (5.3.2), чтобы общий объем жира и петролейного эфира составлял 15 см^3. Добавляют 30 см^3 ацетонитрила (5.3.3), насыщенного петролейным эфиром, и сильно встряхивают смесь в течение 1 мин. После разделения фаз нижнюю фазу ацетонитрила сливают в делительную воронку вместимостью 1000 см^3, добавляют 650 см^3 воды, 40 см^3 насыщенного раствора хлорида натрия (5.3.10) и 100 см^3 петролейного эфира. Фазу петролейного эфира вместе с 30 см^3 ацетонитрила (5.3.3), насыщенного петролейным эфиром, сильно встряхивают три раза по 1 мин в делительной воронке вместимостью 125 см^3.

Объединенный ацетонитрильный экстракт осторожно встряхивают в течение 30 – 45 с в горизонтальном направлении в делительной воронке вместимостью 1000 см^3. После разделения фаз водную фазу сливают во вторую делительную воронку вместимостью 1000 см^3. 100 см^3 петролейного эфира добавляют во вторую делительную воронку, которую сильно встряхивают в течение 15 с, и после разделения фаз выбрасывают нижнюю водную фазу. Фазу петролейного эфира объединяют с фазой в первой делительной воронке вместимостью 1000 см^3 и дважды промывают 100 см^3 воды. Водную фазу выбрасывают, а фазу петролейного эфира добавляют через хроматографическую колонку (5.4.2) к безводному сульфату натрия (5.3.8), находящемуся в испарителе Kuderna-Danish вместимостью 500 см^3 (5.4.4). Делительную воронку и колонку трижды промывают 10 см^3 петролейного эфира. Объединенные фазы петролейного эфира, а также петролейный эфир, использовавшийся для промывания, концентрируют в испарителе Kuderna-Danish (5.4.4) до 10 см^3 и помещают в Florisil®-колонку.

5.5.3 Хроматография на колонке с Florisil®

В хроматографическую колонку (5.4.3) помещают слой активного Florisil® (5.3.9) высотой 10 см, а также слой сульфата натрия высотой 10 мм и 40 – 50 см^3 петролейного эфира. Под колонкой закрепляют испаритель Kuderna-Danish (5.4.4) с градуированными приемными пробирками для сбора элюата. Добавляют в колонку раствор согласно 5.5.2 и элюируют колонку со скоростью не более 5 см^3/мин. Дважды промывают испаритель Kuderna-Danish петролейным эфиром объемом 5 см^3, который добавляют в колонку, а также дополнительно промывают стенки колонки незначительным количеством петролейного эфира. Элюируют 200 см^3 смеси элюентов А (5.3.5) со скоростью 5 см^3/мин. Заменяют сборную емкость и элюируют колонку с 200 см^3 смеси элюентов В (5.3.6) со скоростью 5 см^3/мин. После повторной замены сборной емкости элюируют 200 см^3 смеси элюентов С (5.3.7).

Элюаты отдельно концентрируют в испарителе Kuderna-Danish (5.4.4) до определенного объема. Если требуется объем менее 5 $см^3$, используют микроколонку Snyder с двумя шариками (сферами) или микроколонку Vigreux (5.4.5). При необходимости дополнительной очистки ее осуществляют на второй, вновь изготовленной Florisil®-колонке.

Первый элюат содержит хлорорганические соединения, перечень которых приведен в EN 1528-1:1996 (приложение А), во втором элюате, кроме того, содержатся дилдрин и эндрин. Фосфорорганические соединения могут содержаться во всех трех элюатах.

5.6 Определение

Определение проводят в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 7) и EN 1528-4:1996 (раздел 4).

5.7 Сведения о результатах

Результаты должны оцениваться в соответствии с EN 1528-1:1996 (разделы 9 – 11).

5.8 Отчет об испытаниях

Результаты испытаний должны быть представлены в отчете в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 12).

6 Метод В. Жидкость-жидкостное разделение с диметилформамидом и очистка на Florisil®-колонке (Specht) [2]

6.1 Область применения

Данный метод применяется для определения 18 хлорорганических пестицидов и метаболитов, индикаторных конгенеров ПХБ и 7 фосфорорганических пестицидов (см. EN 1528-1:1996, приложение А). Метод применяется при определении очень незначительного содержания остатка, так как используются тщательно очищенные экстракты. Однако очистка требует больше времени.

6.2 Сущность метода

Производят экстракцию из пробы жира, включая остаток, по методу, приведенному в EN 1528-2:1996. Экстракт концентрируют почти до сухого состояния и растворяют остаток в петро-лейном эфире. Остаток пестицидов и ПХБ путем жидкость-жидкостного разделения переносят в ди-метилформамид и после разбавления в растворе сульфата натрия снова переносят в петролейный эфир. Концентрированную органическую фазу хроматографически очищают на Florisil®-колонке, причем хлорорганические соединения элюируют с помощью петролейного эфира/диэтилового эфира, а фосфорорганические пестициды – с помощью петролейного эфира/этилацетата. Элюаты концентрируют для газохроматографического анализа.

6.3 Реактивы и вспомогательные вещества

Все реактивы и вспомогательные вещества должны быть пригодными для анализа остатка пестицидов и ПХБ и соответствовать EN 1528-1:1996 (раздел 4). При необходимости очистки применяют процедуры, приведенные в приложении А.

6.3.1 **Петролейный эфир** с температурой кипения от 40 °С до 60 °С.

6.3.2 **Петролейный эфир** (6.3.1), насыщенный диметилформамидом (6.3.3).

6.3.3 **Диметилформамид.**

6.3.4 **Диметилформамид** (6.3.3), насыщенный петролейным эфиром (6.3.1).

6.3.5 **Диэтиловый эфир,** свободный от перекиси.

6.3.6 **Этилацетат.**

6.3.7 ***н*-гексан.**

6.3.8 **Смесь элюентов I:** петролейный эфир (6.3.1) и диэтиловый эфир (6.3.5), объемное отношение 94 : 6 (об/об).

6.3.9 **Смесь элюентов II:** петролейный эфир (6.3.1) и этилацетат (6.3.6), объемное отношение 6 : 4 (об/об).

6.3.10 **Florisil®,** от 150 до 250 мкм (от 60 до 100 меш).

Нагревают 2 ч при температуре 550 °С и после охлаждения помещают для хранения в плотно закрытую емкость. Перед использованием его нагревают в течение не менее 5 ч при температуре 130 °С и оставляют для охлаждения в эксикаторе. Добавляют 5 частей дистиллированной воды к 95 частям Florisil® (м/м). Встряхивают смесь в течение не менее 20 мин и выдерживают в плотно закрытой емкости не менее 10 ч.

6.3.11 **Сульфат натрия** безводный, нагретый в течение 2 ч при температуре 550 °С.

6.3.12 **Раствор сульфата натрия,** 2 г/100 см^3.

6.4 Оборудование

Применяется обычное лабораторное оборудование, а также указанное ниже.

6.4.1 **Хроматографическая колонка** длиной от 40 до 50 см, с внутренним диаметром 20 мм, с краном из политетрафторэтилена и стеклянной фриттой.

6.4.2 **Ротационный испаритель** вместимостью 500 см^3 с круглодонной колбой и водяной баней с регулируемой температурой от 20 °С до 50 °С.

6.4.3 **Делительная воронка** номинальной вместимостью 250 и 500 см^3 со стеклянным притертым краном или краном из политетрафторэтилена.

6.5 Проведение испытания

6.5.1 Экстракция жира, пестицидов и ПХБ

Испытания проводятся в соответствии с EN 1528-2:1996.

6.5.2 Очистка диметилформамид/петролейный эфир

Пробу, содержащую от 2 до 5 г жира, растворяют в 25 мл петролейного эфира, насыщенном диметил-формамидом (6.3.2), и помещают раствор в делительную воронку вместимостью 250 см^3. Емкость для проб несколько раз промывают 75 см^3 диметилформамида (6.3.4). Диметилформамид добавляют в делительную воронку и сильно встряхивают смесь в течение 1 мин. Фазу диметилформамида сливают, а фазу петролейного эфира еще раз встряхивают после добавления 10 мл диметилформамида (6.3.4).

Объединенные фазы диметилформамида переносят в делительную воронку вместимостью 500 см^3 и добавляют в 200 см^3 раствора сульфата натрия (**6**.3.12). Последовательно встряхивают смесь в течение 1 мин с 40 см^3 и трижды с 25 см^3 петролейного эфира (6.3.2). Объединенные фазы петролейного эфира промывают с 10 см^3 воды, высушивают, пропуская петролейный эфир черех воронку, заполненную хлопковой ватой и сульфатом натрия (6.3.11), добавляют 5 см^3 *н*-гексана и концентрируют в ротационном испарителе приблизительно до 5 см^3.

6.5.3 Хроматография на колонке с Florisil®

Хроматографическая колонка со стеклянной фриттой (6.4.1) или со стекловатой наполняется до половины петролейным эфиром. При частично открытом кране через воронку небольшими порциями пропускают 30 г Florisil® (6.3.10). Наполнение колонки должно происходить без образования воздушных пузырьков. На слой Florisil® помещают слой сульфата натрия толщиной 2 см, а петролейный эфир сливают до уровня 2 мм над уровнем заполнения колонки.

Раствор, полученный по 6.5.2, вносят в колонку. Сливают растворитель до уровня 1 – 2 мм над уровнем заполнения колонки. Круглодонную колбу промывают небольшими порциями предварительно отмеренного объема 200 см^3 элюирующей смеси I (6.3.8). Этот раствор вносят в колонку и снова сливают до тех пор, пока уровень жидкости не будет на отметке 1 – 2 мм над уровнем заполнения колонки. Элюируют колонку путем добавления 200 см^3 смеси элюентов I со скоростью 5 см^3/мин. Разбавляют элюат 5 см^3 *н*-гексана и концентрируют в ротационном испарителе до 5 см^3. После промывания *н*-гексаном переливают раствор в мерную колбу или градуированную пробирку и заполняют до определенного объема (например, 10 см^3) *н*-гексаном (элюат I).

Если кроме хлорорганических соединений должны быть определены фосфорорганические соединения, элюирование прерывают до того, как остаток смеси элюентов I попадет в колонку. Сборную емкость меняют, и элюирование продолжают со смесью элюентов II (6.3.9) объемом 300 см^3. Концентрируют элюат II в ротационном испарителе до 5 см^3, переливают в мерную колбу определенного объема или градуированную пробирку и доводят этилацетатом до определенного объема (например, 10 см^3) (элюат II).

6.6 Определение

Определение проводят в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 7) и EN 1528-4:1996 (раздел 4).

6.7 Сведения о результатах

Результаты должны оцениваться в соответствии с EN 1528-1:1996 (разделы 9 – 11).

6.8 Отчет об испытаниях

Результаты испытаний должны быть представлены в отчете в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 12).

7 Метод С. Колоночная хроматография на активированном Florisil® (AOAC) [3]

7.1 Область применения

Данный метод применяется для определения четырех хлорорганических пестицидов и метаболитов (п,п'-ДДД, п,п'-ДДЕ, п,п'-ДДТ и диэлдрина) и индикаторных конгенеров ПХБ в пробах из рыбы (см. EN 1528-1:1996, приложение А).

7.2 Сущность метода

Жир, включая остатки, экстрагируют из пробы петролейным эфиром. Экстракт концентрируют до незначительного объема и хроматографируют на Florisil®-колонке с петролейным эфиром/диэтиловым эфиром в качестве элюента. Концентрируют элюат для газохроматографического анализа.

7.3 Реактивы и вспомогательные вещества

Все реактивы и вспомогательные вещества должны быть пригодными для анализа остатка пестицидов и соответствовать EN 1528-1:1996 (раздел 4). При необходимости очистки применяют процедуры, приведенные в приложении А.

7.3.1 **Петролейный эфир** с температурой кипения от 40 °С до 60 °С.

7.3.2 **Диэтиловый эфир,** свободный от перекиси; перегоняют и стабилизируют абсолютным этанолом в количестве 2 % (по объему).

7.3.3 **Смесь элюентов А:** петролейный эфир (7.3.1) и диэтиловый эфир (7.3.2), объемное отношение 94 : 6 (об/об).

7.3.4 **Смесь элюентов В:** петролейный эфир (7.3.1) и диэтиловый эфир (7.3.2), объемное отношение 85 : 15 (об/об).

7.3.5 **Сульфат натрия** гранулированный, безводный, нагретый в течение 2 ч при температуре 550 °С.

7.3.6 **Florisil®,** от 190 до 250 мкм (от 60 до 80 меш).

Нагревают в течение 4 ч при температуре 650 °С, сразу переносят в герметичную емкость и хранят в темном помещении. Перед использованием Florisil® нагревают в течение 5 ч при температуре 130 °С и охлаждают в эксикаторе.

Периодически проверяют качество Florisil®, как описано ниже.

Помещают 1 $см^3$ стандартного раствора с концентрацией 0,1 $мг/дм^3$ линдана, гептахлора, алдрина, гептахлор-эпоксида диэлдрина и 0,3 $мг/дм^3$ эндрина в гексане в адсорбционную колонку (7.5.2). Элюируют и выпаривают согласно 7.5.2.

Проводят повторный газохроматографический анализ.

Florisil® достаточно активирован, если линдан, гептахлор и гептахлор-эпоксид элюировался смесью элюентов А (7.3.3) и диэлдрин и эндрин смесью элюентов В (7.3.4).

7.3.7 **Вспомогательный материал** для поддержания равномерного кипения, например карбид кремния.

7.4 Оборудование

Применяется обычное лабораторное оборудование, а также указанное ниже.

7.4.1 **Хроматографическая колонка** длиной 30 см, с внутренним диаметром 10 мм, краном из политетрафторэтилена и пористой стеклянной фриттой.

7.4.2 **Испаритель Kuderna-Danish** номинальной вместимостью 125 $см^3$, с градуированной приемной пробиркой вместимостью 10 $см^3$ или аналогичное приспособление.

7.4.3 **Высокопроизводительный измельчитель,** устойчивый к растворителям, с взрывозащищенным двигателем.

7.4.4 **Центрифуга со взрывозащитой,** со стаканом для центрифугирования вместимостью 200 $см^3$, 1000 – 3000 об/мин.

7.4.5 **Колонка Snyder.**

7.5 Проведение испытания

7.5.1 Экстракция жира, пестицидов и ПХБ

20 г тщательно измельченной и перемешанной пробы взвешивают в лабораторном стакане измельчителя, 40 г сульфата натрия (7.3.5) смачивают петролейным эфиром (7.3.1) и добавляют к пробе. Перемешивают смесь в течение 20 мин с помощью стеклянной палочки. Дают отстояться и вновь перемешивают. После добавления 100 $см^3$ петролейного эфира смесь гомогенизируют в течение 1 – 2 мин. Пробу центрифугируют в течение 1 – 2 мин со скоростью 2000 об/мин для получения прозрачного экстракта петролейного эфира. Экстракт фильтруют через воронку, содержащую тампон из стекловаты и 20 г сульфата натрия, в мерную колбу вместимостью 250 $см^3$. Затем при перемешивании стеклянной палочкой к пробе добавляют еще 100 $см^3$ петролейного эфира и экстрагируют аналогичным образом. Экстракт добавляют в ту же колбу вместимостью 250 $см^3$, содержимое доливают петролейным эфиром до метки и тщательно перемешивают. Переносят 25 $см^3$ этого раствора во взвешенную плоскодонную колбу вместимостью 100 $см^3$. Помещают плоскодонную колбу в кипящую водяную баню для удаления растворителя, а затем охлаждают. После взвешивания определяют содержание жира в пробе.

В пробе с рыбой, содержащей менее 10 % жира, из мерной колбы вместимостью 250 $см^3$ переносят 25 $см^3$ содержимого в испаритель Kurderna-Danish вместимостью 125 $см^3$. В пробе с рыбой, содержащей более 10 % жира, из мерной колбы отбирают количество раствора, содержащее не более 200 мг жира. Добавляют центры кипения (7.3.7), концентрируют раствор на кипящей водяной бане до объема 3 $см^3$; затем охлаждают и удаляют колонку Snyder (7.4.5). Дважды прополаскивают испаритель 1 $см^3$ петролейного эфира и концентрируют раствор в потоке воздуха до 3 $см^3$, а затем переносят на колонку с Florisil®.

7.5.2 Хроматография на колонке с Florisil®

В хроматографическую колонку (7.4.1) помещают 4 г Florisil® (7.3.6) и закрывают слоем сульфата натрия толщиной 2 см (7.3.5). Хроматографическую колонку промывают 20 – 25 $см^3$ петролейного эфира (7.3.1), оставляя его на высоте 1 см над слоем сульфата натрия.

Как только раствор достигнет метки, испарительную колбу объемом 125 $см^3$ (7.4.2) ставят под колонку. Раствор, полученный по 7.5.1, наносят на колонку, промывают колбу 1 $см^3$ петролейного эфира и добавляют его в колонку. Растворитель не должен опускаться ниже метки, для этого кран периодически закрывают. Добавляют 35 $см^3$ смеси элюентов А (7.3.3) для элюирования ПХБ, а также ДДТ и его аналогов.

Как только уровень растворителя достигнет метки, заменяют испарительную колбу и добавляют в колонку 35 $см^3$ смеси элюентов В (7.3.4), чтобы элюировать такие соединения, как диэлдрин и эндрин. После добавления пористого материала для поддержания равномерного кипения обе колбы присоединяют к колонке Snyder (7.4.5) и осторожно концентрируют каждый элюат в водяной бане. Испарительную колбу охлаждают, удаляют колонку Snyder и осторожно концентрируют раствор с помощью слабого потока азота до объема, необходимого для газохроматографического определения. Фракции, которые содержат смесь ПХБ с хлорсодержащим соединением, такие как ДДЕ, требуют дополнительной очистки.

7.6 Определение

Определение проводят в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 7) и EN 1528-4:1996 (раздел 4).

7.7 Сведения о результатах

Результаты должны оцениваться в соответствии с EN 1528-1:1996 (разделы 9 – 11).

7.8 Отчет об испытаниях

Результаты испытаний должны быть представлены в отчете в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 12).

8 Метод D. Колоночная хроматография с частично дезактивированным Florisil® (Stijve) [4]

8.1 Область применения

Данный метод применяется для определения 20 хлорорганических пестицидов и метаболитов, основных индикаторных конгенеров ПХБ и 6 фосфорорганических пестицидов (см. EN 1528-1:1996, приложение А). Метод представляет собой ускоренный скрининг для серии проб, поскольку требуется лишь один этап очистки. Для некоторой пищевой продукции содержащийся в ней жир не должен экстрагироваться отдельно, так как операция экстрагирования жира совпадает с операцией очистки в колоночной хроматографии. Однако при определении незначительного содержания остатка может потребоваться дополнительный этап очистки.

8.2 Сущность метода

Экстракцию жира, включая остатки, проводят по методу, изложенному в EN 1528-2:1996. Концентрируют экстракт до сухого остатка, который растворяют в петролейном эфире. Очищают раствор на Florisil®-колонке с помощью петролейного эфира/дихлорметана в качестве элюента. При анализе молока, молочных изделий, яиц, яичного порошка, шоколада или аналогичных продуктов навеску образца, содержащую до 1 г жира с Florisil®, и подают смесь в Florisil®-колонку так, чтобы одновременно экстрагировался жир и очищался экстракт. В обоих случаях элюат для газохроматографического анализа концентрируют до сухого остатка, который растворяют в петролейном эфире.

8.3 Реактивы и вспомогательные вещества

Все реактивы и вспомогательные вещества должны быть пригодными для анализа остатков пестицидов и ПХБ и соответствовать EN 1528-1:1996 (раздел 4). При необходимости очистки применяют процедуры, приведенные в приложении А.

8.3.1 **Петролейный эфир** с температурой кипения от 40 °С до 60 °С.

8.3.2 **Дихлорметан.**

8.3.3 **Смесь элюентов:** петролейный эфир (8.3.1) и дихлорметан (8.3.2), объемное отношение 4 : 1 (об/об).

8.3.4 **Изооктан.**

8.3.5 **Florisil®,** от 150 до 250 мкм (от 60 до 100 меш).

В течение ночи нагревают при температуре 500 °С и после охлаждения хранят в плотно закрытой емкости. Перед использованием нагревают в течение 5 ч при температуре 130 °С, охлаждают, затем добавляют 3 части дистиллированной воды к 97 частям Florisil® (м/м). Встряхивают смесь в течение 20 мин и в течение 10 – 12 ч хранят в плотно закрытой емкости. Используют в течение 3 дн.

8.3.6 **Стекловата,** тщательно экстрагированная с дихлорэтаном и высушенная при температуре 130 °С.

8.4 Оборудование

Применяется обычное лабораторное оборудование, а также указанное ниже.

8.4.1 **Хроматографическая колонка** длиной 25 см, с внутренним диаметром 22 мм, со стеклянной фриттой или тампоном из стекловаты, краном из политетрафторэтилена или стекла и резервуаром для раствора вместимостью 300 $см^3$.

8.4.2 **Хроматографическая колонка** длиной 20 см, с внутренним диаметром 8 мм, со стеклянной фриттой или краном из политетрафторэтилена или стекла и резервуаром вместимостью 30 $см^3$.

8.4.3 **Ротационный испаритель** с круглодонной колбой вместимостью 500 $см^3$ и водяной баней с регулируемой температурой от 20 °С до 50 °С.

8.4.4 **Мерные колбы** необходимой номинальной вместимостью 5, 10 или 20 $см^3$.

8.5 Проведение испытания

8.5.1 Экстракция жира, пестицидов и ПХБ

8.5.1.1 Общие сведения

Общие методы должны быть выполнены по EN 1528-2:1996. Специальные методы должны быть выполнены по 8.5.1.2 – 8.5.1.6.

8.5.1.2 Молоко и сгущенное молоко без сахара

Взвешивают 10 г пробы в стеклянном стакане вместимостью 250 $см^3$ и добавляют малыми порциями 25 г Florisil® (8.3.5). Во время добавления Florisil® непрерывно перемешивают с помощью стеклянной палочки до однородного состояния и без комков.

8.5.1.3 Сгущенное молоко с сахаром

Тщательно размешивают 10 г пробы с 5 $см^3$ дистиллированной воды. В дальнейшем опыт проводят по 8.5.1.2 с добавлением 25 г Florisil® (8.3.5).

8.5.1.4 Сухое молоко и детское питание на молочной основе

Полностью растворяют 3 г пробы в 10 $см^3$ дистиллированной воды при температуре 40 °С. В дальнейшем опыт проводят по 8.5.1.2 с добавлением 25 г Florisil® (8.3.5).

8.5.1.5 Яйца

Разбивают яйца в стеклянный стакан. Скорлупу выбрасывают, а содержимое гомогенизируют. Тщательно перемешивают 2 – 5 г содержимого с 5 – 8 $см^3$ дистиллированной воды. В дальнейшем опыт проводят по 8.5.1.2 с добавлением 25 г Florisil® (8.3.5).

8.5.1.6 Яичный порошок, порошок какао, шоколад

В зависимости от содержания жира тщательно перемешивают 1 – 3 г пробы с 10 $см^3$ теплой дистиллированной воды. В дальнейшем опыт проводят по 8.5.1.2 с добавлением 25 г Florisil® (8.3.5).

8.5.2 Хроматография на колонке с Florisil®

В хроматографическую колонку со стекловатой (8.4.1) вносят 100 $см^3$ петролейного эфира (8.3.1) и медленно добавляют 25 г Florisil® (8.3.5). После осаждения Florisil® петролейный эфир сливают до уровня на 5 мм выше уровня заполнения колонки. Растворяют 0,5 – 1 г жира или масла или экстрагированного жира в 10 $см^3$ петролейного эфира, количественно переносят раствор в колонку и сливают растворитель до верхнего уровня заполнения колонки.

При исследовании молока, молочных продуктов, яиц, яичного порошка, порошка какао, шоколада или подобных продуктов, берут смесь образца и Florisil®, подготовленного как описано в 8.5.1.2 – 8.5.1.6 и вносят в колонку приблизительно в 50 $см^3$ петролейного эфира. Затем элюируют 300 $см^3$ смеси растворителей (8.3.3) с максимальной скоростью 5 $см^3$/мин и собирают элюат в круглодонную колбу вместимостью 1000 $см^3$. Элюат упаривают на ротационном испарителе до 50 $см^3$, концентрат переносят в круглодонную колбу вместимостью 100 $см^3$ и концентрируют приблизительно до 5 $см^3$. Оставшийся растворитель удаляется с помощью слабого потока азота. Содержимое, оставшееся после упаривания переносят небольшими порциями петролейного эфира в мерную колбу или градуированную пробирку и доводят петролейным эфиром до определенного объема, например 5 $см^3$.

Примечание 1 — Элюат не должен испаряться до сухого остатка в потоке азота. Оставшиеся пары петролейного эфира не влияют на результат, так как дихлорметан при этом процессе практически полностью удаляется.

Примечание 2 — При исследовании различных хлорорганических пестицидов пробы целесообразно обрабатывать по методу, изложенному в [9], с применением силикагеля вместо Florisil®.

8.5.3 Хроматография на колонке с Florisil®. Миниатюризированный способ

С целью экономии колоночная хроматография по 8.5.2 может проводиться в случаях, когда требуется минимальное количество – только десятая часть Florisil® (8.3.5) и растворителей [10].

Взвешивают около 1,0 г жира или экстрагированной жировой части с точностью до 10 мг в мерной колбе вместимостью 20 $см^3$. Растворяют пробу в петролейном эфире (8.3.1), доводят раствор петролейным эфиром до метки и, встряхивая, хорошо перемешивают. В хроматографическую колонку (8.4.2), которая содержит 15 $см^3$ петролейного эфира, медленно добавляют 3,0 г Florisil®. Чтобы достичь равномерной плотности, следует постучать стеклянной палочкой по стенкам хроматографической колонки. После выпадения Florisil® в осадок сливают петролейный эфир до уровня 5 мм над уровнем заполнения колонки. С помощью пипетки вместимостью 2 $см^3$ добавляют аликвоту жирового раствора (соответствует 100 мг пробе) в Florisil®-колонку.

Примечание — Полное элюирование должно проводиться в течение менее 15 мин.

Собирают элюат в колбе вместимостью 100 $см^3$ и концентрируют на ротационном испарителе до 2 $см^3$, остаток растворителя удаляют мягким потоком азота; к остатку с помощью пипетки вместимостью 2 $см^3$ добавляют 2,00 $см^3$ изооктана; перемешивают содержимое колбы, переворачивая ее.

8.6 Определение

Определение проводят в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 7) и EN 1528-4:1996 (раздел 4).

8.7 Сведения о результатах

Результаты должны оцениваться в соответствии с EN 1528-1:1996 (разделы 9 – 11).

8.8 Отчет об испытаниях

Результаты испытаний должны быть представлены в отчете в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 12).

9 Метод Е. Колоночная хроматография с частично дезактивированным оксидом алюминия (Greve и Grevemstik) [5]

9.1 Область применения

Данный метод применяется для определения содержания 20 хлорорганических пестицидов и метаболитов, индикаторных конгенеров ПХБ (см. EN 1528-1:1996, приложение А). Метод не применяют в случаях, если содержание ПХБ выше 0,5 $см^3$/кг. Определение β-эндосульфата не удовлетворительное.

9.2 Сущность метода

Экстракцию из пробы жира, включая остатки, производят по методу, изложенному в EN 1528-2:1996. Концентрируют экстракт до сухого остатка, который растворяют в петролейном эфире. Хроматографируют раствор на колонке на основе оксида алюминия с помощью петролейного эфира в качестве элюента. Концентрируют элюат для газохроматографического анализа.

9.3 Реактивы и вспомогательные вещества

Реактивы и вспомогательные вещества должны быть пригодными для анализа пестицидов и ПХБ и соответствовать EN 1528-1:1996 (раздел 4). При необходимости очистки применяются процедуры, приведенные в приложении А.

9.3.1 **Ацетон.**

9.3.2 **Петролейный эфир** с температурой кипения от 40 °С до 60 °С.

9.3.3 **Сульфат натрия** гранулированный, безводный; нагревают в течение 2 ч при температуре 550 °С.

9.3.4 **Оксид алюминия** основной, активность по Брокману (= 1 % воды).

Для хроматографии к 100 весовым частям оксида алюминия добавляют 8,8 весовых частей воды, встряхивают смесь до исчезновения комков и оставляют на 24 ч. Содержание воды в конечном продукте должно составлять 9,0 %. Активность продукта следует проверять стандартным раствором β-гексахлорциклогексана (β-HCH). Обнаружение должно быть 99 % или более.

9.4 Оборудование

Применяется обычное лабораторное оборудование, а также указанное ниже.

9.4.1 **Испаритель растворителя** (Kuderna-Danish или аналогичный).

9.4.2 **Высокопроизводительный измельчитель,** устойчивый к растворителям и со взрывозащищенным двигателем.

9.4.3 **Центрифуга со взрывозащитой,** стакан для центрифугирования вместимостью 200 $см^3$, с частотой вращения 1000 – 3000 об/мин.

9.4.4 **Хроматографическая колонка** длиной 17,5 см, с внутренним диаметром 6 мм, с краном из политетрафторэтилена и резервуаром для раствора вместимостью 25 $см^3$.

9.5 Проведения испытания

9.5.1 Экстракция жира, пестицидов и ПХБ

9.5.1.1 Общие положения

Общий метод проводят по EN 1528-2:1996. Специальные методы проводят по 9.5.1.2 – 9.5.1.4.

9.5.1.2 Масло

Нагревают масло в течение 4 – 8 ч при температуре 65 °С до полного выделения жира. Фильтруют жир через сухой теплый бумажный фильтр и растворяют в таком количестве петролейного эфира (9.3.2), чтобы раствор содержал от 40 до 50 мг/см^3 жира.

9.5.1.3 Молоко

В стакане измельчителя смешивают 40 см^3 молока с 80 см^3 ацетона (9.3.1) и 80 см^3 петролейного эфира (9.3.2). Смесь центрифугируют. Фильтруют аликвотную часть, например 10 см^3, через тонкий слой сульфата натрия (9.3.3) и промывают сульфат натрия небольшим количеством петролейного эфира. Концентрируют раствор в испарителе таким образом, чтобы раствор содержал от 35 – 50 мг жира на 1 см^3.

9.5.1.4 Сыр

В стакане измельчителя смешивают 20 – 25 г сыра с 50 см^3 петролейного эфира (9.3.2). Фильтруют раствор через сульфат натрия (9.3.3) и промывают сульфат натрия небольшим количеством петролейного эфира. Концентрируют раствор в испарителе таким образом, чтобы раствор содержал 35 – 50 мг жира на 1 см^3.

9.5.2 Хроматография на колонке с оксидом алюминия

В хроматографическую колонку (9.4.4) с небольшим тампоном из кварцевого войлока вводят 4,0 г дезактивированного оксида алюминия (9.3.4). Для достижения равномерного наполнения колонки производят постукивание по стенкам колонки.

Добавляют в колонку 2 см^3 раствора, полученного по 9.5.1. Три раза промывают колбу 1 см^3 петролейного эфира (9.3.2). Элюируют колонку 25 см^3 петролейного эфира. Сливают элюат в градуированную пробирку и концентрируют до требуемого объема.

Для достижения хорошего коэффициента извлечения, особенно β-НСН, необходимо не менее 70 мг жира нанести на колонку с 0,4 г оксида алюминия. Эта колонка может надежно удержать 100 мг жира. Если необходимо очистить большее количество жира (например, если не достигается чувствительность детектора), ниже приведенное количество оксида алюминия и петролейного эфира необходимо соответственно увеличить. Процесс очистки с оксидом алюминия может легко обеспечивать очистку 250 мг жира.

9.6 Определение

Определение проводят в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 7) и EN 1528-4:1996 (раздел 4).

9.7 Сведения о результатах

Результаты должны оцениваться в соответствии с EN 1528-1:1996 (разделы 9 – 11).

9.8 Отчет об испытаниях

Результаты испытаний должны быть представлены в отчете в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 12).

10 Метод F. Гельпроникающая хроматография (ГПХ) (AOAC) [6]

10.1 Область применения

Данный метод применяется для определения 18 хлорорганических пестицидов и метаболитов в животном жире (крупного рогатого скота, птичьем и свином жире) (см. EN 1528-1:1996, приложение А). С определенной долей вероятности могут определяться и другие хлорорганические пестициды и индикаторные конгенеры ПХБ.

10.2 Сущность метода

Растворяют жир в смеси циклогексан/дихлорэтан и хроматографируют раствор на ГПХ-колонке с циклогексаном/дихлорметаном в качестве элюента. Концентрируют элюат до сухого остатка и растворяют остаток для газохроматографического анализа.

10.3 Реактивы и вспомогательные вещества

Все реактивы и вспомогательные вещества должны быть пригодными для анализа остатка пестицидов и ПХБ и должны соответствовать EN 1528-1:1996 (раздел 4). При необходимости очистки применяют процедуры, приведенные в приложении А.

10.3.1 **Циклогексан.**

10.3.2 **Дихлорметан.**

10.3.3 **Изооктан.**

10.3.4 **Смесь элюентов:** циклогексан (10.3.1) и дихлорметан (10.3.2), объемное отношение 1 : 1 (об/об).

10.4 Оборудование

Применяется обычное лабораторное оборудование, а также указанное ниже.

10.4.1 **Автоматизированный прибор для ГПХ,** например GPC Autoprep® 1001 или 1002 [3)], с хроматографической колонкой длиной 60 см, с внутренним диаметром 25 мм и петлей для ввода образцов 23 х 5 $см^3$; наполняют колонку 60 г смолой BioBeads® S-X3 [4)], предварительно подготовленной (разбухшей) в течение ночи элюирующей смесью; затем наполняют колонку на высоту 48 см.

10.4.2 **Ротационный испаритель,** снабженный круглодонной колбой вместимостью 500 $см^3$ и водяной баней с регулируемой температурой от 20 °С до 50 °С.

10.5 Проведение испытания

10.5.1 Экстракция жира и пестицидов

10.5.1.1 Общие методы

Общие методы приведены в EN 1528-2:1996.

10.5.1.2 Специальные методы

В стеклянную воронку диаметром 8 см с помещенным в нее тампоном из стекловаты помещают около 40 г жира. Устанавливают стеклянную воронку в химический стакан вместимостью 250 $см^3$, который ставят на плиту, нагретую до температуры 110 °С, до тех пор, пока жир не перестанет капать через тампон. Затем тщательно перемешивают жир.

10.5.2 Очистка с помощью ГПХ

При использовании новой ГПХ-колонки расход смеси элюентов регулируют до 5 $см^3$/мин. Проводят калибровку путем определения количества возврата 2,0 г кукурузного масла, обогащенного соответствующими соединениями. Определяют время выхода и сбора определяемых компонентов. Взвешивают около 2 г с точностью до 10 мг пробу жидкого жира в мерной колбе вместимостью 10 $см^3$ в элюирующей смеси и перемешивают. Если в пробе видны частицы материала, ее центрифугируют или фильтруют. Загружают 5 $см^3$ пробы в дозирующую петлю, используя 7 $см^3$ раствора. Промывают ГПХ-колонку элюирующей смесью, используя время выхода и сбора компонента, определенное ранее, при расходе 5 $см^3$ /мин.

Собирают элюат в круглодонную колбу вместимостью 250 $см^3$ и упаривают на ротационном испарителе до сухого остатка при максимальной температуре водяной бани 30 °С. Остаток, оставшийся после упаривания, переносят небольшими порциями изооктана в мерную колбу или градуированную пробирку и добавляют необходимое количество изооктана, например 5 $см^3$.

10.6 Определение

Определение проводят в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 7) и EN 1528-4:1996 (раздел 4).

10.7 Сведения о результатах

Результаты должны оцениваться в соответствии с EN 1528-1:1996 (разделы 9 – 11).

[3)] OPC Autoprep® 1001 или 1002 – это обычное промышленное наименование прибора, продаваемого Analytical Bio Chemostry Laboratoies. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает признания названного продукта со стороны CEN. Могут использоваться аналогичные приборы, если будет подтверждено, что они обеспечивают получение аналогичных результатов.

[4)] Смола BioBeads® S-X3 – обычный промышленный продукт, продаваемый Bio-Rad Laboratoies. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает признания названного продукта со стороны CEN. Могут использоваться аналогичные продукты, если будет подтверждено, что они обеспечивают получение аналогичных результатов.

10.8 Отчет об испытаниях

Результаты испытаний должны быть представлены в отчете в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 12).

11 Метод G. Гельпроникающая колоночная хроматография с частично дезактивированным силикагелем (Specht) [7]

11.1 Область применения

Данный метод применяется для определения 24 хлорорганических пестицидов и их метаболитов, индикаторных конгенеров ПХБ и 13 фосфорорганических пестицидов (см. EN 1528-1:1996, приложение А). ГПХ позволяет осуществить быстрое отделение анализируемых остатков от липидов. Это перекрывает широкий диапазон компонентов, поэтому ГПХ-элюат содержит, кроме вышеуказанных остатков, другие пестициды и контаминанты, например пиретроиды и хлорированный бензол или фенол. Более того, ГПХ легко автоматизируется. Мини-колонка с силикагелем может использоваться для дополнительной очистки и фракционирования исследуемых остатков в соответствии с их полярностью, что позволяет получить дополнительную информацию для идентификации.

11.2 Сущность метода

Экстракцию из пробы жира, включая остатки, можно проводить, применяя метод, изложенный в EN 1528-2:1996. Концентрируют экстракт практически до сухого остатка, который растворяют в циклогексане/этилацетате; хроматографируют раствор на колонке ГПХ с помощью циклогексана/этилацетата и концентрируют элюат практически до сухого остатка. Остаток растворяют в *н*-гексане и хроматографируют раствор на колонке с дезактивированным силикагелем, при этом повышают полярность растворителя и смесей. Концентрируют отдельные элюаты для проведения газохроматографического анализа.

11.3 Реактивы и вспомогательные вещества

Все реактивы и вспомогательные вещества должны быть пригодными для анализа пестицидов и ПХБ и соответствовать EN 1528-1:1996 (раздел 4). При необходимости очистки применяют процедуры, приведенные в приложении А.

11.3.1 **Циклогексан.**

11.3.2 **Этилацетат.**

11.3.3 **Смесь элюентов для гельпроникающей хроматографии (ГПХ):** циклогексан (11.3.1) и этилацетат (11.3.2), объемное отношение 1 : 1 (об/об).

11.3.4 **Ацетон.**

11.3.5 **Изооктан.**

11.3.6 ***н*-Гексан.**

11.3.7 **Толуол.**

11.3.8 **Смесь элюентов 1:** *н*-гексан (11.3.6) и толуол (11.3.7), объемное отношение 65 : 35 (об/об).

11.3.9 **Смесь элюентов 2:** толуол (11.3.7).

11.3.10 **Смесь элюентов 3:** толуол (11.3.7) и ацетон (11.3.4), объемное отношение 95 : 5 (об/об).

11.3.11 **Сернокислый натрий** гранулированный, безводный, нагретый при температуре 550 °С в течение как минимум 2 ч.

11.3.12 **Силикагель дезактивированный,** содержащий 1,5 % воды.

Нагревают силикагель 60 (от 63 до 200 мкм; от 70 до 230 меш) в течение 5 ч при температуре 130 °С, охлаждают в эксикаторе и хранят в плотно закрытом эксикаторе. К 98,5 г сухого силикагеля, помещенного в колбу Эрленмейера вместимостью 300 $см^3$ со шлифом, добавляют 1,5 $см^3$ воды из бюретки, постоянно встряхивая. Сразу закрывают колбу пришлифованной пробкой, интенсивно встряхивают в течение 5 мин, пока не исчезнут комки, затем встряхивают на механическом шейкере в течение 2 ч и хранят в плотно закрытой колбе.

11.4 Оборудование

Применяется обычное лабораторное оборудование, а также указанное ниже.

11.4.1 **Автоматизированный прибор для ГПХ,** например GPC Autoprep® 1001 или 1002, с хроматографической колонкой длиной 40 см, с внутренним диаметром 25 мм и петлей для ввода образцов 23 х 5 $см^3$; наполняют колонку 50 г смолой BioBeads® S-X3 (38 – 75 мкм; 200 – 400 меш), предварительно подготовленной (разбухшей) в течение ночи элюирующей смесью; затем наполняют колонку на высоту 32 см.

11.4.2 **Ротационный испаритель** с круглодонной колбой вместимостью 500 $см^3$ и водяной баней с регулируемой температурой от 20 °С до 50 °С.

11.4.3 **Хроматографическая колонка** длиной 23 см, с внутренним диаметром 7 мм, с вытянутым носиком.

11.5 Проведение испытания

11.5.1 Экстракция жира, пестицидов и ПХБ

11.5.2 Очистка с помощью ГПХ

При использовании ГПХ-колонки устанавливают расход смеси элюентов до 5 $см^3$/мин и проводят калибровку с помощью соответствующих соединений. Определяют время удержания и выхода элюата для различных хлорорганических соединений.

Растворяют 5 г жира или экстрагированной части в мерной колбе вместимостью 25 $см^3$ в ГПХ-смеси элюентов (11.3.3). Доводят раствор до метки и хорошо встряхивают. Вводят 7 $см^3$ этого раствора в пробирку вместимостью 5 $см^3$. Промывают ГПХ-колонку элюирующей смесью, используя время выхода и сбора компонента, определенное ранее, при расходе 5 $см^3$ /мин.

Помещают элюат в круглодонную колбу вместимостью 250 $см^3$ и концентрируют в ротационном испарителе до 1 $см^3$ (медленно вращая и неглубоко погружая колбу). Помещают концентрированный раствор с этилацетатом в закрываемую градуированную пробирку и доводят этилацетатом до определенного объема, например 5,0 $см^3$.

Примечание — При анализе фосфорорганических пестицидов элюат непосредственно используют для газохроматографических исследований при применении фосфорно-селективного детектора.

11.5.3 Хроматография на мини-силикагелевой колонке

Вносят 2,5 $см^3$ раствора, полученного по 11.5.2, в круглодонную колбу с притертым соединением и добавляют 5 $см^3$ изооктана (11.3.5). Осторожно упаривают до 1 $см^3$ на ротационном испарителе (медленно вращая и неглубоко погружая колбу), не допуская испарения досуха. Если раствор пахнет этилацетатом, снова добавляют изооктан и повторяют упаривание.

Хроматографическую колонку (11.4.3) наполняют в следующей последовательности: тампон из стекловаты, 1,0 г деактивированного силикагеля (11.3.12), от 5 до 10 мм сернокислого натрия (11.3.11), тампон из стекловаты. Перед использованием промывают колонку 5 $см^3$ *н*-гексана (11.3.6) и отбрасывают элюат. Как только *н*-гексан стечет до верхнего уровня заполнения колонки, добавляют раствор изооктана (11.5.2), полученный при концентрировании ГПХ-элюата, далее в колонку добавляют 1 $см^3$ *н*-гексана. Как только гексан стечет до верхнего уровня колонки, круглодонную колбу промывают 2 $см^3$ смеси элюентов 1 (11.3.8) и также вводят раствор в колонку. С этого момента собирают элюат в градуированную пробирку. Затем промывают колонку следующими 6 $см^3$ смеси элюентов 1 и доводят содержимое градуированной пробирки смесью элюентов 1 до 10 $см^3$ (элюат 1).

Ополаскивают колбу, используемую для упаривания еще раз 2 $см^3$ толуола. Затем вносят этот раствор на колонку. Собирают элюат во вторую градуированную пробирку и промывают колонку следующими 6 $см^3$ толуола. Доводят объем в градуированной пробирке толуолом до 10 $см^3$ (= элюат 2). Таким же образом проводят хроматографию со смесью элюентов 3: круглодонную колбу ополаскивают 2 $см^3$ толуола, колонку промывают следующими 6 $см^3$ и объем в пробирке доводят до 10 $см^3$ (элюат 3).

Время от времени следует проверять способность к отделению с помощью стандартного раствора хлорорганических пестицидов. При правильно установленной активности силикагеля будут найдены до 100 % ГХБ и линдана в элюате 1 и эндосульфан-сульфата и диэлдрина в элюате 2. Гептахлорэпоксид и альфа-эндосульфан элюируются в обеих фракциях. Полярные соединения, такие как хлорфенвинфос и диазинон, находятся в элюате 3.

Для отделения индикаторных конгенеров ПХБ от основных хлорорганических пестицидов можно дополнительно промыть колонку с силикагелем 10 $см^3$ *н*-гексана [11] перед элюированием смесью элюентов 1. Конгенеры ПХБ в этом случае элюируются с *н*-гексаном (элюат 0).

11.6 Определение

Определение проводят в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 7) и EN 1528-4:1996 (раздел 4).

11.7 Сведения о результатах

Результаты должны оцениваться в соответствии с EN 1528-1:1996 (разделы 9 — 11).

11.8 Отчет об испытаниях

Результаты испытаний должны быть представлены в отчете в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 12).

12 Метод H. Высокопроизводительная гельпроникающая хроматография (HPGPC) (MAFF) [8]

12.1 Область применения

Данный метод применяют для определения 20 хлорорганических пестицидов, их метаболитов и индикаторных конгенеров ПХБ и 18 фосфорорганических пестицидов (см. EN 1528-1:1996, приложение A). HPGPC позволяет осуществлять отделение подлежащих анализу веществ от липидов. Одновременно можно определять многие компоненты. Поэтому HPGPC позволяет определять другие пестициды, например пиретроиды. Кроме того, HPGPC можно автоматизировать, если хроматограф имеет автоматическую систему ввода.

12.2 Сущность метода

Экстракцию из пробы жира, включая остатки, осуществляют по методу, изложенному в EN 1528-1:1996. Концентрируют экстракт в HPGPC-колонке с *н*-гексаном/изопропанолом в качестве элюента. Концентрируют элюат до сухого остатка и растворяют остаток для газохроматографического анализа.

12.3 Реактивы и вспомогательные вещества

Все реактивы и вспомогательные вещества должны быть пригодными для анализа остатка пестицидов и ПХБ и соответствовать EN 1528-1:1996 (раздел 4). При необходимости очистки применяют процедуры, приведенные в приложении A.

12.3.1 **Ацетон.**

12.3.2 ***н*-Гексан.**

12.3.3 **Изопропанол.**

12.3.4 **Пропиленгликоль.**

12.3.5 **Смесь элюентов:** *н*-гексан (12.3.2) и изопропанол (12.3.3), объемное отношение 80 : 20 (об/об).

12.3.6 **Удерживающий раствор:** ацетон (12.3.1) и пропиленгликоль (12.3.4), объемное отношение 95 : 5 (об/об).

12.4 Оборудование

Применяется обычное лабораторное оборудование, а также указанное ниже.

12.4.1 **Высокопроизводительная гельпроникающая хроматографическая система (HPGPC),** снабженная насосом (производительностью 2,3 $см^3$/мин) с автоматической или ручной системой ввода (виалы для проб вместимостью 1 $см^3$), нагревом колонки (регулировка (35 ± 1) °C) и двумя ГПХ-колонками PLRP-S [5)] длиной 30 см, с внутренним диаметром 7,5 мм, размерами частиц 8 мкм, величиной пор 100 A, или аналогичное оборудование, которое соединяется последовательно.

12.5 Проведение испытания

12.5.1 Экстракция жира, пестицидов и ПХБ

Общие методы приведены по EN 1528-2:1996.

[5)] PLR-S – промышленное наименование продукта, выпускаемого Polymer Laboratories Limied. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не означает признания названного продукта со стороны CEN. Могут применяться аналогичные продукты, если будет подтверждено, что они обеспечивают получение аналогичных результатов.

12.5.2 Очистка

При использовании новой ГПХ-колонки регулируют расход смеси элюентов до 2 $см^3$/мин и проводят калибровку с помощью соответствующих соединений. Определяют время удержания и выхода элюата для различных хлорорганических соединений.

Растворяют 1,25 г жира или экстрагированной жировой части в мерной колбе вместимостью 5 $см^3$ в смеси элюентов (12.3.5), доводят раствор смесью элюентов до метки и тщательно перемешивают.

С помощью автоматического пробоотборника вводят 1 $см^3$ данного раствора в HPGPC-колонку. Элюируют HPGPC-колонку смесью элюентов при расходе 2 $см^3$/мин; при этом соблюдают ранее установленное время удержания и выхода элюата. Помещают элюат в круглодонную колбу, добавляют в нее 0,1 $см^3$ удерживающего раствора (12.3.6) и тщательно перемешивают. Осторожно концентрируют элюат слабым потоком азота, свободного от кислорода, до 2 $см^3$. Переливают этот раствор в мерную колбу вместимостью 2 $см^3$ и выпаривают в потоке азота примерно до 1 $см^3$. Промывают круглодонную колбу примерно 1 $см^3$ *н*-гексана и вносят раствор в мерную колбу вместимостью 2 $см^3$, снова выдувают растворитель в потоке азота, доводят до метки *н*-гексаном и тщательно перемешивают.

12.6 Определение

Определение проводят в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 7) и EN 1528-4:1996 (раздел 4).

12.7 Сведения о результатах

Результаты должны оцениваться в соответствии с EN 1528-1:1996 (разделы 9 – 11).

12.8 Отчет об испытаниях

Результаты испытаний должны быть представлены в отчете в соответствии с EN 1528-1:1996 (раздел 12).

Приложение А
(справочное)

Очистка некоторых растворителей

Ацетон	Перегоняют с центрами кипения (стеклянными шариками)
Ацетонитрил	Перегоняют 4000 $см^3$ ацетонитрила с 1 $см^3$ ортофосфорной кислоты и 30 г фосфорного ангидрида в круглодонной колбе с добавлением центров кипения (стеклянных шариков) при температуре от 81 °С до 82 °С (температура не должна превышать 82 °С)
Диэтиловый эфир	Перегоняют с центрами кипения (стеклянными шариками)
Диметилформамид	Перегоняют с центрами кипения (стеклянными шариками)
Петролейный эфир	Перегоняют с гранулами гидроксида калия или гидроксида натрия
н-гексан	Перегоняют с гранулами гидроксида натрия

Библиография

[1] Cunnlff, P. (Hrsg.): Official Methods of Analysis ol AOAC International, 16. Auflage, Arlington VA 1995, Band 1, Kapitel 10, 1-10, Verfahren Nr. 970.52
(Официальные методы анализа Международной ассоциации химиков-аналитиков. Метод № 970.52)

[2] Specht, W.: Organochlorine and organophosphorus pesticides. In: Deutsche Forschungsgemeinschaft, Manual of Pesticide Residue Analysis, VCH Verlagsgesellschaft Weinheim 1987, Bd. 1, 309-319, Verfahren S 10
(Хлорорганические и фосфорорганические пестициды. Немецкая ассоциация содействия исследованиям. Руководство по анализу остаточного действия пестицидов. Метод S 10)

[3] Cunniff, P. (Hrsg.): Official Methods of Analysis of AOAC International, 16. Auflage, Arlington VA 1995, Band 1, Kapitel 10, 11-12, Verfahren Nr. 983.21
(Официальные методы анализа Международной ассоциации химиков-аналитиков. Метод № 983.21)

[4] Stijve, T: Organochlorine and organophosphorus pesticides. In: Deutsche Forschungsgemeinschaft, Manual of Pesticide Residue Analysis, VCH Verlagsgesellschaft Weinheim 1987, Bd. 1, 297-308, Verfahren S 9
(Хлорорганические и фосфорорганические пестициды. Немецкая ассоциация содействия исследованиям. Руководство по анализу остаточного действия пестицидов. Метод S 9)

[5] Greve, P. A, und Grevenstuk, W. B. F.: Meded. Fac. Landbouwwet. (Gent) 40, 1115-1124 (1975), zitiert in: Analytical Methods for Residues in Foodstuffs, 5. Ausg., The Hague 1988, Bd. 1, 12-15, Multi-Residue Method 1, submethod 5
(Аналитические методы определения остатков в пищевых продуктах. Метод анализа множественных остатков пестицидов 1, вспомогательный метод 5)

[6] Cunniff, P. (Hrsg.): Official Methods of Analysis of AOAC International, 16. Auflage, Arlington VA 1995, Band 1, Kapitel 10, 12-13, Verfahren Nr. 984.21
(Официальные методы анализа Международной ассоциации химиков-аналитиков. Метод № 984.21)

[7] Specht, W.: Organochlorine, organophosphorus, nitrogen-containing and other pesticides. In: Deutsche Forschungsgemeinschaft, Manual of Pesticide Residue Analysis, VCH Verlagsgesellschaft Weinheim 1987, Band 1, S. 75-78 und S. 383-400, Aufarbeitungsverfahren 6 und Verfahren S 19
(Хлорорганические, фосфорорганические азотсодержащие и прочие пестициды. Немецкая ассоциация содействия исследованиям. Руководство по анализу остаточного действия пестицидов. Метод переработки 6 и метод S 19)

[8] UK Ministry of Agriculture, Fisheries and Food: Analysis of pesticide residues in products of animal origin, Verfahren FscLPest-1 (23.4.91)
(Анализ остатков пестицидов в пищевых продуктах животного происхождения. Метод FScLPest-1)

[9] IDF-Standard 75 C:1991 Milk and milk products - Recommended methods for determination of organochlorine compounds (Pesticides)
[Молоко и молочные продукты. Рекомендуемые методы определения хлорорганических соединений (пестициды)]

[10] Stijve, T., und Brand, E.: Dtsch. Lebensm. Rundsch., 1977, 73, 41 - 42
(Обзор продуктов питания Германии)

[11] Specht, W, und Tilikes, M.: Fresenius Z. Anal. Chem., 1985, 322, 443 – 455 (Аналитическая химия)

Приложение Д.А
(справочное)

Сведения о соответствии межгосударственных стандартов ссылочным европейским стандартам

Таблица Д.А

Обозначение и наименование европейского стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование межгосударственного стандарта
EN 1528-1:1996 Продукты пищевые с большим содержанием жиров. 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 жиров. 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 1528-4:1996 Продукты пищевые с большим содержанием жиров. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 4. Методы определения и подтверждения, разное	IDT	ГОСТ EN 1528-4—2014 Пищевая продукция с большим содержанием жира. Определение пестицидов и полихлорированных бифенилов (ПХБ). Часть 4. Определение, методы подтверждения, прочие положения

УДК 664.017:543.635.9.058(083.74)(476) МКС 67.040 IDT

Ключевые слова: пищевая продукция, пищевой жир, методы очистки, определение содержания, пестицид, полихлорбифенил, газовая хроматография, общие положения

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. 3,02 Уч.-изд. л. 1,60 Тираж 2 экз. Заказ 583

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