ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ МЕМЛЕКЕТТІК СТАНДАРТЫ

СУ, ТАҒАМ ӨНІМДЕРІ, ЖЕМ-ШӨП ЖӘНЕ ТЕМЕКІ ӨНІМДЕРІ
Хлорорганикалық пестицидтерді хроматографиялық әдістермен анықтау

ВОДА, ПРОДУКТЫ ПИТАНИЯ, КОРМА И ТАБАЧНЫЕ ИЗДЕЛИЯ
Определение хлорорганических пестицидов хроматографическими методами

ҚР СТ 2011-2010

Ресми басылым

Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігінің Техникалық реттеу және метрология комитеті (Мемстандарт)

Астана

gost.e-ecolog.ru

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ МЕМЛЕКЕТТІК СТАНДАРТЫ

СУ, ТАҒАМ ӨНІМДЕРІ, ЖЕМ-ШӨП ЖӘНЕ ТЕМЕКІ ӨНІМДЕРІ

Хлорорганикалық пестицидтерді хроматографиялық әдістермен анықтау

ҚР СТ 2011-2010

Ресми басылым

Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігінің Техникалық реттеу және метрология комитеті (Мемстандарт)

Астана

Алғысөз

1 Техникалық реттеу және метрология комитетінің «Қазақстанның стандарттау және сертификаттау институты» республикалық мемлекеттік кәсіпорны және экологиялық қауіпсіздік саласындағы №71 «Қоршаған орта нысандары. Өнеркәсіптік қалдықтар» стандарттау жөніндегі ТК **ӘЗІРЛЕНДІ ЖӘНЕ ЕНГІЗДІ**

2 Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігінің Техникалық реттеу және метрология комитеті төрағасының 2010 жылғы 8 қарашасындағы №500-од бұйрығымен **БЕКІТІЛДІ ЖӘНЕ ҚОЛДАНЫСҚА ЕНГІЗДІ**

3 Осы стандартта Қазақстан Республикасының 2004 жылғы 9 қарашасындағы №603-II «Техникалық реттеу туралы» Заңының ережелері іске асырылды және 1991 жылғы 29.07. №6129-91 «Адсорбциялық жоғары тиімді сұйықтық хроматография әдісімен қоршаған орта нысандарын және тағам өнімдерінде, биоматериалдағы олардың метаболиттерін және хлорорганикалық пестицидтерді топтық сәйкестіндіру жөніндегі әдістемелік нұсқаулар» талаптары ескерілді, Клисенко, 1 том, ЛИВ Антонов 1989ж., ГОСТ Р 52698-2006.

4 АЛҒАШ РЕТ ЕНГІЗІЛДІ

5 БІРІНШІ ҚАЙТА ҚАРАУ МЕРЗІМІ 2014 жыл
ТЕКСЕРУ КЕЗЕҢДІЛІГІ 5 жыл

Осы стандартқа енгізілген өзгертулер туралы ақпарат «Стандарттау жөніндегі нормативтік құжаттар» сілтемесінде, ал өзгертулер мәтіні - «Мемлекеттік стандарттар» ай сайынғы ақпараттық сілтемелерінде жарияланады. Осы стандартты қайта қараған (жойған) немесе ауыстырған жағдайда тиісті ақпарат «Мемлекеттік стандарттар» ақпараттық сілтемесінде жарияланады

Осы стандарт Қазақстан Республикасы Индустрия және жаңа технологиялар министрлігі Техникалық реттеу және метрология комитеті рұқсатынсыз ресми басылым ретінде толықтай немесе бөлшектеліп басылып шығарыла, көбейтіле және таратыла алмайды

Мазмұны

1 Қолдану саласы	1
2 Нормативтік сілтемелер	1
3 Өлшеулерді орындауға арналған талаптар	3
4 Жұқа қабатты хроматография әдісі	3
5 Адсорбциялық жоғары тиімділікті сұйықтық хроматографиясының әдісі	13
6 Газ сұйықтықты хроматография әдісімен құрама жемде және құрама жем шикізаттарында ХОП анықтау	16
7 Өлшеулер нәтижелерінің сапасын бақылау	25
А қосымшасы (міндетті)	26

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ МЕМЛЕКЕТТІК СТАНДАРТЫ

СУ, АЗЫҚ - ТҮЛІК ӨНІМДЕРІ, ЖЕМ ЖӘНЕ ТЕМЕКІ ӨНІМДЕРІ

Хлорорганикалық пестицидтерді хроматографиялық әдістермен анықтау

Енгізілген күні 2012-01-01

1 Қолдану саласы

Осы стандарт хлорорганикалық пестицидтерді (ары қарай ХОП) анықтау әдістерін белгілейді: ДДТ - 4,4'-дихлордифенилтрихлорэтан және оның метаболиттер: ДДД - 4,4'-дихлордифенилдихлорэтан және ДДЭ - 4,4'-дихлордифенилдихлорэтилен; ГХЦГ және оның изомерлері: линдан- гамма-изомер гексахлорциклогексан, альфа - гексахлорциклогексан изомерлері, гексахлорциклогексан бета-изомерлері, гексахлорбензол, гептахлор, кельтан және жұқа қабатты альдрин, жоғары тиімді сұйықтықты және газды сұйықтықты хроматография.

Осы стандарт суға, азық - түлік өнімдеріне, жемшөпте және темекі өнімдеріне қолданылады.

«Жемшөптердің және жемшөпті қоспалардың қауіпсіздігіне талаптар» техникалық регламентіне, «Халыққа арналған ауыз су қауіпсіздігіне талаптар» техникалық регламентіне, «Ет және ет өнімдерінің қауіпсіздігіне талаптар» техникалық регламентіне, «Сүт және сүт өнімдерінің қауіпсіздігіне талаптар», «Тағам өнімдеріне санитарлық-эпидемиологиялық талаптар» техникалық регламенттеріне белгіленген бақыланатын көрсеткішке техникалық талаптар.

2 Нормативтік сілтемелер

Осы стандартты қолдану үшін мынадай сілтемелік нормативтік құжаттар қажет:

Қазақстан Республикасы Үкіметінің қаулысымен бекітілген 2009 жылғы 16.01. №14 «Өрт қауіпсіздігіне жалпы талаптар» техникалық регламенті.

Қазақстан Республикасы Үкіметінің қаулысымен бекітілген 2009 жылғы 16.01. №16 «Нысандарды қорғауға арналған өрт техникасының қауіпсіздігіне талаптар» техникалық регламенті.

Қазақстан Республикасы Үкіметінің қаулысымен бекітілген 2008 жылғы 11.03. №230 «Сүт және сүт өнімдерінің қауіпсіздігіне талаптар» техникалық регламенті.

Қазақстан Республикасы Үкіметінің қаулысымен бекітілген 2008 жылғы 18 наурыздағы №263 «Жемшөптердің және жемшөпті қоспалардың қауіпсіздігіне талаптар» техникалық регламенті.

Қазақстан Республикасы Үкіметінің қаулысымен бекітілген 2008 жылғы 8.04. №336 «Ет және ет өнімдерінің қауіпсіздігіне талаптар» техникалық регламенті.

Қазақстан Республикасы Үкіметінің қаулысымен бекітілген 2008 жылғы 13.05.№456 «Халыққа арналған ауыз судың қауіпсіздігіне талаптар» техникалық регламенті.

ҚР СТ 1.9-2007 Қазақстан Республикасында стандарттау жөніндегі халықаралық, өңірлік және ұлттық стандарттарды және нормативтік құжаттарды қолдану тәртібі

Ресми басылым

ҚР СТ 2.21-2007 Қазақстан Республикасының мемлекеттік өлшеу бірліктерінің жүйесі. Өлшеу құралдарының типін бекіту және сынау жүргізу тәртібі.

ҚР СТ 2.30-2007 ҚР МӨЖ. Өлшеу құралдарын метрологиялық аттестациясын жүргізу тәртібі.

ҚР СТ 2.4-2007 ҚР МӨЖ. Өлшеу құралдарын түгендеу. Ұйымдастыру және өткізу тәртібі.

ҚР СТ 2.75-2009 Қазақстан Республикасының мемлекеттік өлшеу бірліктерін қамтамасыз ету жүйесі. Сынақ жабдығын аттестациялау тәртібі.

ГОСТ 12.1.019-79 Еңбек қауіпсіздігі стандарттарының жүйесі. Электр қауіпсіздігі. Жалпы талаптар және қорғау түрлерінің номенклатурасы.

ГОСТ 1277-75 Реактивтер. Азотты қышқылды күміс. Техникалық шарттар.

ГОСТ 1770-74 Зертханалық шыны өлшеуіш ыдыс. Цилиндрлер, мензуркалар, колбалар, түтіктер. Жалпы техникалық шарттар.

ГОСТ 2603-79 Ацетон. Техникалық шарттар.

ГОСТ 3760-79.Реактивтер. Сулы аммиак. Техникалық шарттар.

ГОСТ 3956-76 Техникалық силикагель. Техникалық шарттар.

ГОСТ 4204-77 Реактивтер. Күкірт қышқылы. Техникалық шарттар.

ГОСТ 4166-76 Реактивтер. Күкірт қышқылды натрий. Техникалық шарттар.

ГОСТ 4201-79 Реактивтер. Көмірқышқылды қышқыл натрий. Техникалық шарттар.

ГОСТ 4220-75 Реактивтер. Екі хромды қышқылды калий. Техникалық шарттар.

ГОСТ 4233-77 Реактивтер. Хлорлы натрий. Техникалық шарттар.

ГОСТ 5962-67 Ректификатталған этил спирті. Техникалық шарттар.

ГОСТ 6709-72 – Тазартылған су. Техникалық шарттар.

ГОСТ 9147-80 Зертханалық фарфор ыдыс және жабдық. Техникалық шарттар.

ГОСТ 9293-74 Газ тәрізді және сұйық азот. Техникалық шарттар.

ГОСТ 10929-76 Реактивтер. Пероксид сутегі. Техникалық шарттар.

ГОСТ 12026-76 Зертханалық сүзгілеу қағазы. Техникалық шарттар.

ГОСТ 20015-88 Хлороформалар. Техникалық шарттар.

ГОСТ 21400-75 Химиялық зертханалық шынылар. Техникалық шарттар. Сынау әдістері.

ГОСТ 24104-2001 Зертханалық таразылар. Жалпы техникалық талаптар

ГОСТ 25336-82 Зертханалық шыны ыдыс және жабдық. Типтер, негізгі параметрлер және өлшемдер

ГОСТ 25706-83 Лупалар. Типтер, негізгі параметрлер. Жалпы техникалық талаптар

ГОСТ 29227-91 Зертханалық шыны ыдыс. Мөлшерлегіш тамызғыштар. 1-бөлім. Жалпы талаптар.

ГОСТ ИСО 5725-1-2003. Әдістердің және өлшеу нәтижелерінің дәлдігі (дұрыстылығы және дәл нәзіктігі). 1-бөлім. Негізгі ережелер және анықтамалар.

ГОСТ ИСО 5725-2-2003. Әдістердің және өлшеу нәтижелерінің дәлдігі (дұрыстылығы және дәл нәзіктігі). 2-бөлім. Стандартты өлшеу әдісінің қайталанушылығын және жаңғыртушылығын анықтаудың негізгі әдісі.

ГОСТ ИСО 5725-6-2003* Әдістердің және өлшеу нәтижелерінің дәлдігі (дұрыстылығы және дәл нәзіктігі). 6-бөлім. Тәжірибеде дәлдік мәндерін қолдану.

ГОСТ Р 51419-99* Жемшөптер, құрама шөптер, құрама шөп шикізаттары. Сыналатын сынамаларды дайындау.

---

* ҚР СТ 1.9 сәйкес қолданылады.

«Тағам өнімдеріне санитарлық-эпидемиологиялық талаптары» ҚР ДМ 2010 жылғы 06.08 №611 бұйрығы.

ЕСКЕРТПЕ: Осы стандартты пайдаланған кезде ағымдағы жылғы жай-күйі бойынша жыл сайын шығатын «Стандарттау жөніндегі нормативтік құжаттар сілтемесі» атты ақпараттық сілтемелер және ағымдағы жылы жарияланған ай сайын шығатын ақпараттық сілтемелер бойынша сілтемелік стандарттар қолданысын тексерген дұрыс. Егер сілтемелік құжат ауыстырылған (өзгертілген) болса, онда осы стандартты пайдаланған кезде ауыстырылған (өзгертілген) құжатты басшылыққа алу қажет. Егер сілтемелік құжат ауыстырылмай жойылса, онда оған сілтеме берілген ережелер осы сілтемеге қатыссыз бөлімде қолданылады.

3 Өлшеулерді орындауға арналған талаптар

3.1 Жұмыстарды қауіпсіз жүргізу шарттары

3.1.1 Талдауларды практикалық орындауға осы стандартпен танысқан және зертханада жұмыс кезінде қауіпсіздік техникасы бойынша нұсқаулықтан өткен (нұсқаулық журналында белгілеумен) мамандар жіберіледі.

3.1.2 Электр қондырғылармен жұмыс кезінде ГОСТ 12.1.019 бойынша электр қауіпсіздігі.

3.1.3 Зертхана үй-жайы «Өрт қауіпсіздігіне жалпы талаптар» техникалық регламенті бойынша өрт қауіпсіздігі талаптарына сәйкес келуі тиіс және «Нысандарды қорғауға арналған өрт техникасының қауіпсіздігіне талаптар» техникалық регламентіне сәйкес өрт сөндіру құралдары болуы тиіс.

3.2 Мамандардың біліктілігіне талаптар

Өлшеуді қолданылатын жабдықты пайдалану жөніндегі нұсқаулықты оқып-білген және зертханалық жұмыстардың техникасын білетін маман жүргізе алады.

3.3 Өлшеулерді орындау шарттары

- қоршаған ауа температурасы (20 ± 10) °С;
- 84 кПа-дан 106,7 кПа дейін атмосфералық қысым;
- салыстырмалы ылғалдық (65 ± 15) %.

3.4 Органикалық еріткіштермен, улы заттармен, құнарланған қышқылдармен жұмыс кезінде қауіпсіздік ережелерін сақтау қажет.

4 Жұқа қабатты хроматография әдісі

4.1 Әдістің маңыздылығы

Әдіс сығындыларды тазартудан және зерттелетін үлгілерден оларды сығындалудан кейін әр түрлі қозғалмалы еріткіштер жүйелерінің жұқа қабындағы хлорлы пестицидтердің хроматографиясына негізделген.

4.2 Әдістің метрологиялық сипаттамасы 1-кестеде көрсетілген.

1-кесте – Метрологиялық сипаттама

Талданатын сынама	Табу шектігі, мг/дм^3 немесе мг/кг	Қосарлас анықтамалардың саны, n	Стандартты ауытқу, S %	Салыстырмалы ауытқу,Sr %	n=5 және a=0,95 кезіндегі сенімді интервал,%
Су	0,005	7	10	10,7	93,0 ± 7,7
Шарап	0,005	7	12	13,3	90,0 ± 9,0
Көкөністер	0,050	7	12	14,4	83,0 ± 9,0
Жемістер	0,050	6	9	11,1	81,0 ± 7,4
Астық	0,050	7	10	13,3	75,0 ± 7,5
Шөп	0,025	10	12	16,2	74,0 ± 7,6
Сүт	0,040	13	16	18,6	86,0 ± 8,9
Сары май	0,050	8	17	20,0	83,0 ± 12,0
Балық	0,050	10	12	14,1	83,0 ± 7,6
Ет	0,050	10	15	17,2	87,0 ± 9,5
Мал майы	0,040	6	12	14,6	82,0 ± 9,9
Қант	0,020	6	5	5,1	97,0 ± 4,13

0,005 мг/кг-нан 2,0 мг/кг дейін немесе мг/дм^3 анықталған шоғырланулар диапазоны.

4.3 Аппаратура, материалдар және реактивтер

4.3.1 Аппаратура және материалдар

- ГОСТ 24104 бойынша а± 0,0001 г шақтамалы абсолютті қателігінің аса шектігі бар дәлдіктегі арнайы аналитикалық таразылар;
- ГОСТ 24104 бойынша а± 0,01 г шақтамалы абсолютті қателігінің аса шектігі бар дәлдіктегі арнайы аналитикалық таразылар;
- қолданыстағы нормативті құжаттамалар бойынша ротациялық буландырғыш;
- қолданыстағы құжаттама бойынша сілкуге арналған аппарат;
- УФС-254 хроматографиялық сәулелендіргіш немесе ПРК-4 сынапты-кварцтық лампа;
- ГОСТ 25336 бойынша К-1-250-29/32 айдау колбалары;
- ГОСТ 25336 бойынша Гр-25-14/23 колбалары;
- ГОСТ 1770 бойынша 2-50-2; 2-100-2; 2-500-2 өлшеуіш колбалар;
- ГОСТ 25336 бойынша В-56-80 ХС құйғыш;
- ГОСТ 25336 бойынша Кн-1-250-29/32 конустық колба;
- ГОСТ 1770 бойынша 1-50, 1-100 өлшеуіш цилиндрлер;
- ГОСТ 25336 бойынша 10 см^3 сыйымдылықты тығыз жабылған тығындары бар түтіктер;
- 500, 1000 см^3№ сыйымдылықты тығыз жабылған қақпағымен шыны банкалар;
- ГОСТ 25336 бойынша ВД-100-29/32, ВД-250-29/32 бөлгіш құйғыштар
- ГОСТ 25336 бойынша В-1-50 стакан;
- ГОСТ 29227 бойынша 1-2-2-5, 1-2-2-10 тамызғыштары;
- ГОСТ 21400 бойынша химиялық-зертханалық шыныдан жасалынған таяқша;
- ГОСТ 12026 бойынша зертханалық сүзгілеу қағазы немесе қағаз сүзгілері;
- қолданыстағы нормативтік құжаттамалар бойынша хроматографиялық тілімдер;
- хроматографиялауға арналған камера: тегістелген қақпақпен жабылатын, жазық түпті ыдыс және ГОСТ 25336 бойынша эксикатор камера;
- шыны пульверизатор;

- құрамында майы бар өнімдерден алынған сығындыларды тазартуға арналған шыны хроматографиялық бағана: тар бөлігі - ұзындығы (50 ± 2) см, диаметр (1,7 ± 0,3) см, кең бөлігі - ұзындығы (1,5 ± 2) см, диаметр (2,5 ± 0,2) см.

4.3.2 Реактивтер

- ГОСТ 4204 бойынша күкірт қышқылы, х.т., 1,84 г/см^{3}тығыздығымен;
- дефлегматормен айдалған және кристалды күйдіргіш калиймен кептірілген, тазартылған сумен жуылған, құнарланған күкірт қышқылымен тазартылған, т., гексан;
-ГОСТ 2603 бойынша ацетон, х.т., айдалған;
- ГОСТ 3760 бойынша сулы аммиак, т.ү.т.;
- ГОСТ 5962 бойынша техникалық ректификатталған этил спирті;
- ГОСТ 20015 бойынша айдалған хлороформалар, х.т.;
- қолданыстағы нормативті құжаттамалар бойынша диэтилді эфир;
- ГОСТ 10929 бойынша пероксид сутегі, 30 %-дық ерітінді;
- ГОСТ 4166 бойынша сусыз натрий сульфаты, т.;
- ГОСТ 4201 бойынша көмірқышқылды қышқыл натрий, т.ү.т.;
- қолданыстағы нормативті құжаттамалар бойынша қымыздықты қышқылды калий;
- ГОСТ 4233 бойынша хлорлы натрий, х.т.;
- қолданыстағы нормативті құжаттамалар бойынша төрт хлорлы көміртек;
- ГОСТ 1277 бойынша азотты қышқылды күміс, х.т.;
- ГОСТ 3956 бойынша 0,30 мм елеуіш арқылы еленген және ұсақталған АСК таңбалы силикагель;
- ГОСТ 6709 бойынша тазартылған су;
- кез келген таңбадағы белсендірілген көмір;
- pH анықтауға арналған әмбебап индикаторлы қағаз;
- хлорорганикалық пестицидтер құрамындағы стандартты мемлекеттік үлгілер (МСҮ): ДДТ, ДДД, ДДЭ, ГХЦГ кем дегенде 90 % негізгі заты бар кепілдендірілген жиілік заттары;
- хлорорганикалық пестицидтер ерітінділер құрамының аттестацияланған қоспалары: ДДТ, ДДД, ДДЭ, ГХЦГ.

1-ЕСКЕРТПЕ Ұқсас метрологиялық сипаттамалары бар немесе жоғары реактивтер, өлшеуіш ыдыстар, аппаратураны қолдану жіберіледі.

2-ЕСКЕРТПЕ ҚР СТ 2.21 сәйкес типтерді бекіту немесе ҚР СТ 2.30 сәйкес метрологиялық аттестациялау, ҚР СТ 2.4 сәйкес өлшеу құралдарын түгендеу мақсатында сынауға жататын қолданылатын өлшеу құралдары және Қазақстан Республикасының мемлекеттік өлшеу бірліктерін қамтамасыз ету реестріне енгізуге сынақ жабдығы ҚР СТ 2.75 сәйкес аттестациялауға жатады.

4.4 Сынақтарға дайындық

4.4.1 АСК таңбалы силикагельді тазарту

Стаканға силикагельді салады, гексанмен құяды, араластырады, гександы төгіп тастайды. Жууды үш рет қайталайды. Жуылған силикагельді 2 сағат ішінде 180 °С температура кезінде теседі. Тығыз жабылған шыны банкада сақтайды.

4.4.2 Мақтаны тазарту

Конустық колбаға мақтаны қояды, гексанмен құяды, 15 минут ұстайды. Операцияны екі рет қайталайды. Тазартылған мақтаны тарту күші астында ауада кептіреді. Жабық шыны баркада сақтайды.

4.4.3 Майлардан тазартуға арналған хроматографиялық бағаналарды дайындау

Бағананың төменгі бөлігіне тазартылған мақтаның кішкентай кесегін орналастырады, (26,0 ± 0,5) см биіктікте АСК силикагелін салады, бағана бойына ағаш таяқпен ұрғылай отырып тығыздайды. Содан кейін 4:1 (масса бойынша) қатынасында

күкірт қышқылымен сіңірілген силикагельді 3 см орналастырады, ары қарай (1,0 ± 0,5) см қабатпен сусыз натрий сульфатын себеді. Бағана арқылы 30 $см^3$ гександы өткізеді және резеңке грушамен сығады. Бағаналардың тиімділігін берілген шоғырланумен хлорорганикалық пестицидтер 5 $см^3$ қоспасын енгізе отырып, тексереді (0,1 мг -ден 0,2 мкг дейінгі шектікте). Ерітіндіні бағанаға сіңіру мүмкіндігін береді, содан кейін секундына бір тамшысын жылдамдығымен 50 $см^3$ гексан пестицидтерді аластайды.

4.4.4 Шроттардың (липидтармен байытылмаған), күнжаралардың және қауыздардың сынамаларынан сығындыларды тазартуға арналған хроматографиялық бағана.

Хроматографиялық бағананы шыны мақтамен 1 см биіктікте толтырады, содан кейін бағанаға 2,5 см қабатта електелген алюминий (А) тотығын немесе 3,5 см қабатта кремний тотығын енгізеді, әрі қарай қабаттың биіктігі (Б) 2,5 см, күкірт қышқылымен сіңірілген алюминий (кремний) тотығының түйірлерін таптап тегістемей-ақ себеді. Әр қабат жүйелі түрде гексанмен (барлығы 30 $см^3$) жуады. Липидтармен байытылған күнжараларды және шроттарды талдау үшін алюминий тотығының қабаттарын тиісінше 5 см-ге (А) және 3 см-ге (Б) дейін көбейткен жөн, ал кремний тотығының қолданған кезде 6 см-ге (А) және 3 см-ге (Б) дейін көбейткен жөн.

4.4.5 Айқындалған реактивтерді дайындау

1-еріткіш. 0,5 г азотты қышқылды күмісті 5 $см^3$ тазартылған сумен ерітеді, 7 $см^3$ аммиакты қосады және көлемді ацетонмен 100 $см^3$ дейін жеткізеді. Еріткішті тоңазытқышта 3 күн ішінде сақтайды.

2-еріткіш. 0,25 г азотты қышқыл күмісті 100 $см^3$ сыйымдылықтағы өлшеуіш колбада орналастырады, 2,5 $см^3$ тазартылған суды, 5 $см^3$ 2-феноксиэтанолды құяды, ацетонмен белгіге дейін жеткізеді және 30 %-дық сутегі пероксиді еріткішінің 3 тамшысын қосады.

4.4.6 Хроматографиялық камераны дайындау

Хроматографиялық камераға хроматографиялау басталғанға дейін 30 минут бұрын оны бумен қанықтыру үшін қозғалтқыш еріткіштердің қоспаларын құяды. Камерадағы қозғалтқыш еріткіштің көлемі түп деңгейінен 0,5 см артық емес биіктікте болуы тиіс.

4.4.7 100 мкг/$см^3$ массалық шоғырлануы бар пестицидтердің негізгі еріткіштерді дайындау

Кез келген пестицидтің негізгі еріткішін дайындау үшін нұсқауға және паспортқа сәйкес мемлекеттік стандартты үлгіні қолданады.

Негізгі еріткіштерді тығыз жабылған тығыны бар колбаларда 6 ай ішінде тоңазытқышта сақтайды.

4.4.8 «Силуфол» тілімдерін хроматографтау үшін дайындау

- хроматографияға арналған «Силуфол UV-254» тілімдер қолданар алдында о-толидинмен үлдірлейді. Бұл үшін әр тілімді хроматографиялауға арналған камераға құйылған 0,1 пайыздық ацетонды о-толидин еріткішіне батырады. Тілім жоғарғы шетіне дейін еріткіш шебі көтерілгеннен кейін тура күн сәулесінен қаша отырып, оны алады және ауада кептіреді, тілім қолдануға дайын. О-толидинмен үлдірленген тілімдер эксикаторда сақтайды.

- тілімдерді қолданар алдында жуады. Бұл үшін хроматографиялық камераға 5 мм-ден 7 мм-ге дейінгі биіктікте ацетон-аммиак (1:1) еріткіштер жүйесін құяды және тілімдерді тік күйінде орналастырады. Тілімнің жоғарғысына дейін 10 мм жетпей қозғалтқыш еріткіш шебінің сызығы көтерілгеннен кейін оны алады, ауада кептіреді, содан кейін 15 минуттан 30 минутқа дейін 110 °С температурасында кептіргіш шкафта белсендіреді. Қолданар алдында тілімдердің тік жағынан еріткіш шебін теңестіруге қабілетті 3 мм қабатты алып тастайды.

4.5 Сынамаларды іріктеу

Нақты өнімге арналған нормативтік құжаттамаға сәйкес сынамаларды іріктеу және оларды сынаққа дайындау.

4.6 Сынақтарды жүргізу

4.6.1 Шайғындау

4.6.1.1 Судан және шараптан алынған сығындыны тазарту және шайғындау

200 $см^3$ сынаманы бөлгіш құйғышқа жайғастырады және гексанмен немесе 30 $см^3$ бойынша үш үлесті эфирмен немесе 50 $см^3$ үш үлесті диэтилді эфирмен 3 минут ішінде сілки отырып, пестицидтерді шайғындайды. Біріккен сығындыларға 10 сусыз күкірт қышқылды натрийді себеді немесе 2/3 күкірт қышқылды натриймен толтырылған құйғыш арқылы сүзеді. Сығындыларды еріткіштерді айдауға арналған құралға ауыстырады және еріткіштерді 0,2 $см^3$ -ден 0,3 $см^3$ дейін айдайды. Қажет жағдайда сығындыны күкірт қышқылымен тазартады.

4.6.1.2 Көкөністен және жемістен алынған сығындыны тазарту және сығындалу

20 г уатылған сынаманы тығыз жабылатын тығыны бар колбаға салады және 30 $см^3$ бойынша үлестері бар эфирмен немесе гексанмен сілкуге арналған аппаратта 15 минут ішінде үш рет пестицидтерді шайғындау жүргізіледі. Біріккен сығындыларды күкірт қышқылды натриймен кептіреді, еріткіштерді айдауға арналған құралға ауыстырады, 0,2 $см^3$ -ден 0,3 $см^3$ дейін еріткіштерді айдайды және тілімге жағады.

4.6.1.3 Дәннен және саңырауқұлақтан алынған сығындыны тазарту және шайғындау

Уатылған сынамалардан 20 г дәнді, 50 шикі немесе 10 г құрғақ саңырауқұлақтарды іріктейді және тығыз жабылатын тығыны бар колбаға орналастырады. Пестицидтерді шайғындауды 30 $см^3$ үлесі бар эфирмен немесе гексанмен сілкуге арналған құралда үш рет жүргізеді. Біріккен сығындыларды бөлгіш құйғышқа ауыстырады, күкірт қышқылындағы сусыз күкірт қышқылды натрийдің 10 $см^3$ қаныққан ерітіндісін қосады және бірнеше рет ақырын сілкиді. Органикалық қабатты алып тастайды және қышқыл түссіз болғанға дейін өңдеуді қайталайды. Сығындыны тазартылған сумен жуады, сусыз күкірт қышқылды натриймен кептіреді және еріткішпен айдайды.

4.6.1.4 Алмалардан, қырыққабаттан, шөптен, пішеннен алынған сығындыны тазарту және шайғындау

20 г ұсақталған алма, 20 г қырыққабат, 40 г шөп және 20 г пішен сынамаларын тығыз жабылатын тығыны бар колбаларда 100 $см^3$ ацетонды үстемелеп құяды. 3 минут сілкиді, 20 $см^3$ тазартылған суды қосады және мұзда 30 минут салқындатады. Сығындыны құйып алады және салқын түрде сүзеді, шайғындауды қайталайды. Біріккен сулы-ацетонды сығындылардан ацетонды айдайды, ал сулы қалдықтан 10 минут ішінде 10 $см^3$ үш үлесті гексанмен препараттарды шайғындайды. Гександы сығындыларды сусыз күкірт қышқылды натриймен қаныққан күкірт қышқылымен тазартады. Сусыз күкірт қышқылды натриймен кептіреді. Еріткішті шамалы көлемге дейін айдайды және тілімге қояды.

Егер тазарту толық емес болса (еріткішті булағаннан кейін колбада ақ өңез қалады), сығындыны құрғағанша булайды, қалдықты 0,2 $см^3$ үлесімен 3 рет салқын ацетонмен жуады және тілімге қояды.

4.6.1.5 Құрама шөптен алынған сығындыны тазарту және шайғындау

Зерттеу үшін 40 г өлшендісін алады, оны колбада 60 $см^3$ тазартылған сумен ылғалдандырады. Ылғалдандырылған өлшендіні колбада жабық тығынмен түнге қалдырады. Пестицидтерді шайғындау 2 сағат ішінде сілку кезінде гексанның және ацетонның (1:1) қоспасының 50 $см^3$ -ден 100 $см^3$ дейін екі рет жүргізеді. Сығындыларды бөлгіш құйғышта 500 $см^3$ біріктіреді, 50 $см^3$ тазартылған суды екі рет қосады және қабаттарды бөлгеннен кейін төменгі су қабатты басқа бөлгіш құйғышқа құяды және 40 $см^3$ гексан пестицидтерін шайғындайды. Су қабатын құйып алады. Гександы сығындыларды біріктіреді, 2/3 сусыз күкірт қышқылды натриймен толтырылған қағаз сүзгісі бар құйғыш арқылы сүзеді. Сығындыларды 20 $см^3$ -ден 30 $см^3$ дейінгі көлемге дейін немес құрғағанша, содан кейін құрғақ қалдықты 20 $см^3$ -ден 30 $см^3$ дейін гексан немесе эфирде еріте отырып

ротациялық буландырғышта булайды. Сығындыны бөлгіш құйғышқа ауыстырады және жоғарыда сипатталғандай күкірт қышқылымен тазарту жүргізіледі.

4.6.1.6 Шроттан, қауыздан, күнжарадан алынған сығындыны тазалау және шайғындау

Липидтармен байытылған шрот өлшендісін (15 г), липидтармен байытылмаған шрот өлшендісін және қауіз өлшендісін (20 г) тең бөлікке бөледі және тығыз жабылатын тығынымен 100 $см^3$ -ден 250 $см^3$ дейінгі сыйымдылықтағы колбаға қояды, гексанмен құяды (шроттың салмақтық бір бөлігіне гексанның үш көлемі), 30 мин сілкуге арналған құралда сілкиді. Сығындыны құйғышқа шөгіндіні жібермей, Бюхнер құйғышы арқылы сүзеді. Колбаға гексанның көрсетілген мөлшерін қайтадан құяды, 30 минут сілкиді, сүзеді, 30 $см^3$ гексанның көмегімен (10 $см^3$ үш рет) Бюхнер құйғышына шөгіндінің мөлшерлеп ауыстырады. Алынған сығындыны ротациялық буландырғышта 30 $см^3$ дейін немесе 40 °С жоғары емес температура кезінде ауа тогында булайды, қалдықты екі тең бөлікке бөледі және тоңазытқыштың мұздатқыш камерасына 1 сағатқа (кем дегенде) қояды. Әр бөлікті күкірт қышқылымен сіңірілген алюминий немесе кремний тотықтары бар жеке бағаналар арқылы өткізеді, гександы этил эфирінің салқындатылған қоспасы (15:85) 50 $см^3$ бағананы және колбаны 2 $см^3$/мин жылдамдықта жуады. Осы операцияны келесі күнге қалдырмай үзіліссіз жүргізу қажет.

Тазартылған сығындыларды біріктіреді және 1 $см^3$ көлемге дейін булайды. Колбадағы қалдықты резеңке грушаның көмегімен 1 $см^3$ түтікке шағын тамызғышпен мөлшерлі ауыстырады, колбаны және шағын тамызғышты гексанның шамалы мөлшерімен (барлығы 0,3 $см^3$ -ден 0,5 $см^3$ дейін), оны сол түтікке құя отырып, 2 немесе 3 рет жуады. Содан кейін әбден құрғағанша 50 °С температура кезінде су моншасында түтіктегі гександы булайды (соңғы көлем 3 тамшы). Егер шайғындаудың және жуатын сұйықтықтың жалпы көлемі 1 $см^3$ асса, онда алдымен оған жуатын сұйықтықты ақырындап қоса отырып, сығындыны булайды. Буланған сығындыда ақ май тәрізді шөгінді болған кезде түтікке 5 тамшы гександы қосады және оны 15 минуттан 20 минутқа дейін тоңазытқыштың мұздатқыш камерасына қояды, содан кейін гексанның осындай мөлшерімен екі рет қалқытады және қайтадан 3 тамшы соңғы көлемге дейін булайды.

Зерттелетін үлгілермен қосарлас екі модельді сығындыны дайындайды. Әр сығындыны құрамында пестициді жоқ (зерттелетін үлгідегі құрғақ заттың және пестицидтің қатынасы) 1 г шроттан алады. Сығындылардың бірінен тазарту алдында бағанаға шағын шприцпен (шағын тамызғышпен) 3 мкг мөлшерде, 0,75 басқасында анықталған пестицидтерді енгізеді. Буланған зерттелген және модельді сығындылар шағын шприцтің немесе шағын тамызғыштардың көмегімен гексанның шамалы көлемімен түтікті үш рет жуа отырып, тілімге мөлшерлі қояды.

4.6.1.7 Балықтан, еттен және ет өнімдерінен алынған сығындыны тазалау және шайғындау

Етті және ет өнімдерін ет тартқыштан өткізеді. Балықты қабығынан тазартады, ішкі органдарын және оларды еттартқыштан өткізеді 20 сынаманы сусыз күкірт қышқылды натриймен араластырады және тығыз жабылатын тығыны бар колбаға орналастырады. Сілку кезінде 1,5 сағат ішінде 50 $см^3$ үлестерімен 1:1 қатынасында эфир және ацетон немесе гексан және ацетон қоспаларымен екі рет пестицидтерді шайғындайды. Сығындыны 2/2 сусыз күкірт қышқылды натриймен толтырылған қағаз сүзгісі бар құйғыш арқылы сүзгілейді, содан кейін еріткіш айдайды, құрғақ қалдық 20 $см^3$ гександа ерітеді және АСК силикагелі бар бағанаға енгізеді. Сығындыны сіңіргішке сіңіргеннен кейін пестицидті 110 $см^3$ бензол қоспасын 25 $см^3$ -ден 30 $см^3$ дейін қатынасында гексанмен аластайды. Элюатты 250 $см^3$ -ден 300 $см^3$ дейінгі сыйымдылықтағы тілімтасы бар дөңгелек түпті колбаға жинайды. Еріткіштің соңғы үлесі сіңірілгеннен кейін 10 минуттан соң сіңіргішті грушаның көмегімен сығады. Элюатты 0,1 $см^3$ көлемге дейін

айдайды және хроматографиялық тілімге қояды.

Егер ет немесе балық сынамалары майдың үлкен мөлшері бар болса, бірінші экстрагенттің булануынан кейін (ацетонның гексанмен қоспасы) және гександағы құрғақ қалдықтың еруін күкірт қышқылды гександы сығындысын тазартуын жүргізген жөн, содан кейін жоғарыда сипатталғандай бағаналы тазартуды жүргізеді.

4.6.1.8 Мал майынан, жұмыртқадан, жұмыртқа ұнтағынан алынған сығындыны тазарту және шайғындау

Мал майын еттартқышта ұсақтайды, жұмыртқа ұнтағын мұқият араластырады, жұмыртқаның сарыуызды ақуызды бөледі, сарыуызды және ақуызды өлшейді, ал талдау үшін тек сарыуызды алады. Жұмыртқадағы хлорорганикалық пестицидтердің мөлшерінің соңғы есебі барлық жұмыртқада келтіреді. Сарыуыздарды мұқият араластырады, дайындалған үлгіден 25 г сынаманы 50 $см^3$ ацетонмен құяды, еріткіштің қайнағанға дейін ыстық су моншасында араластырады және қыздырады. Колбаны салқындатады, оған 10 $см^3$ салқындатылған 2 %-дық күкірт қышқылды натрий ерітіндісін қосады, араластырады және мұзды моншада 45 минут салқындатады. Содан кейін майсызданған мақта қабаты арқылы дөңгелек түпті колбаға ацетонды қабатты құйып алады. Ацетонды сығындыны келесі майды қатыру арқылы тағы да 2 рет қайталайды.

Біріккен сығындылардан ротациялық буландырғышта немесе еріткіштерді айдауға арналған құралда ацетонды айдайды (монша температурасы (70 ± 2) °С артық емес) және 20, 10 және 10 $см^3$ үлеспен үш рет сығындайды. Бірінші шайғындаудың ұзақтығы 1 сағат, келесілері 15 минут. Эфирді бөлгіш құйғышқа 40 $см^3$ 2 %-дық күкірт қышқылды натрийдің су ерітіндісімен ауыстырады, ішіндегісін 2 минут ішінде араластырады, қабаттарға бөлінуге береді және су фазасына лақтырылады. Қабаттардың бөлінісін жақсарту үшін қаныққан күкірт қышқылды натрий ерітіндісінің бірнеше миллилитрін қосуға болады.

Сығынды жуу операциясын тағы да 2 рет қайталайды, содан кейін эфирді 20 г сусыз күкіртті қышқылды натрийі бар стаканға құйып алады, 5 $см^3$ эфирде бөлгіш құйғышты екі рет шаяды. Кептірілген сығынды мөлшерлі өлшеуіш цилиндрге 50 $см^3$ –ге ауыстырады және ерітінді көлемін 30 $см^3$ дейін эфирмен жеткізеді.

Ары қарай жоғарыда көрсетілгендей АСК силикагелі бар бағанаға 30 $см^3$ сығынды қояды. Шошқа майының сынамасы үшін 75 $см^3$ АСК силикагелін себеді, басқа қалған сынамалар үшін 70 $см^3$ себеді. Сығындыларды тазартуды ет сынамасы үшін сипатталғандай жүргізеді. Элюатты дөңгелек түпті колбаға 150 $см^3$-ге жинайды, еріткішті бірнеше тамшының көлеміне дейін булайды және хроматографиялық тілімге қояды.

4.6.1.9 Балдан алынған сығындыны тазарту және шайғындау

30 бал сынамасын 3 г сусыз күкірт қышқылды натриймен араластырады және әр сайын 15 минуттан балды шыны таяқшамен тар химиялық стаканда мұқият жаға отырып, үш рет 30 $см^3$ үлесті гексанмен пестицидтерді шайғындайды. Сығындыларды біріктіреді және 30 $см^3$ көлемге дейін немесе шамалы көлемге дейін гександы айдайды, ары қарай гексанмен 30 $см^3$ дейін сығындыға жеткізеді. 30 $см^3$ сығындыны АСК силикагелі бар хроматографиялық бағанаға енгізеді және жоғарыда сипатталғандай еріткіштің булануын және сығындыны тазартуды жүргізеді.

4.6.1.10 Қанттан алынған сығындыны тазарту және шайғындау

Суда алдын ала ерітілген 50 г қанттың өлшендісін пестицидтер 250 $см^3$ гексанмен бөлгіш құйғышта шайғындайды. Пестицидтерді шайғындауды әр сайын 5 минуттан сілке отырып, 50, 25 және 25 $см^3$ еріткішпен үш рет жүргізеді. Біріккен гександы сығындылар коэкстрактивті заттардан күкіртқышылды тәсілмен тазартылады (бояғыш, аминді қышқылдар, липидтер).

4.6.1.11 Сүттен және сүт өнімдерінен алынған сығындыны тазалау және шайғындау

Сынамаларды дайындау үшін төменде келтірілген тәсілдердің бірін қолдануға

болады.

4.6.1.11.1 Бірінші тәсіл

Ол кілегеймен, қаймақпен, сүтпен және басқа сүт өнімдерімен жұмыс үшін қолданылады. Талдау үшін тазартылған судың тең көлемімен ажыратылатын 20 г кілегейді және қаймақты алады, 50 $см^3$ сүтке, айранға 30 $см^3$ -ден 40 $см^3$ дейін құнарландырылған күкірт қышқылын сынаманың толық қарайғанға дейін қосады. 10 °С -тан 15 °С дейін салқындатылған ерітіндіні бөлгіш құйғышқа ауыстырады және 25 $см^3$ –ден үлесімен 2 рет гексанмен препараттарды шайғындайды. Толық алып тастау үшін құйғышты 2 минут сілкиді, содан кейін оны 30 минутқа қабаттардың толық бөлінісіне дейін қалдырады. Егер эмульсия түзілсе, 1 $см^3$ -ден 2 $см^3$ дейін этил спиртін қосады. Біріккен сығындыларға және бөлгіш құйғышқа қаныққан күкірт натриймен, 10 $см^3$ құнарланған күкірт қышқылын қосады және бірнеше рет ақырын сілкиді. Тазартуды түссіз күкірт қышқылын алғанға дейін жалғастырады.

Сүзбені және ірімшікті талдау кезінде 50 г сүзбе немесе 10 г үккіште үгітілген ірімшік 40 $см^3$ гексанмен және эфирмен құйылады, 2 минуттан 3 минутқа дейін үздіксіз сілкиді және 30 минутқа қалдырады. Шайғындауды қайталайды. Біріккен сығындыларды бөлгіш құйғышта жоғарыда көрсетілгендей күкірт қышқылында тазартады.

4.6.1.11.2 Екінші тәсіл

Оны сүтті, айранды, қатықты, қымызды және басқа сүт өнімдерін талдау үшін қолданады. 25 $см^3$ өнім сынамасын 300 $см^3$ бөлгіш құйғышқа орналастырады, 5 $см^3$ 5 % қымыздық қышқылды калийді және қаныққан хлорлы натрийді құяды, 100 $см^3$ ацетонды құяды, 2 минут сілкиді. 100 $см^3$ хлороформаны құяды және 2 минут сілкиді. Құйғышты қабаттардың толық бөлінгенге дейін қалдырады. Жоғарғы фазаны лақтырып тастайды, ал төменгіні тілімтасы бар дөңгелек түпті колбаға құяды және еріткішті құрғағанша булайды. Қалдықты 30 $см^3$ гександа шаяды.

4.6.1.12 Қойытылған сүттен, 10 және 20 пайыздық кілегейден алынған сығындыны тазарту және шайғындау

10 г өнімге 10 $см^3$ қаныққан хлорлы натрий ерітіндісін құяды, 150 $см^3$н сыйымдылықтағы бөлгіш құйғышқа құяды. Қоспаға 40 $см^3$ ацетонды құяды, 2 минут сілкиді, 60 $см^3$ хлороформаны құяды, 2 минуттан 3 минутқа дейін сілкиді және фазалар бөлінгенге дейін қалдырады. Ары қарай сүттегі пестицидтерді анықтау кезіндегідей жасайды.

4.6.1.13 Қойытылған сүт өнімдерінен алынған сығындыны тазарту және шайғындау

10 г өнімінің өлшендісін кіші стаканға қояды, 45 °С -тан 50 °С дейінгі температурадағы 10 $см^3$ суды құяды, араластырады және 150 $см^3$ бөлгіш құйғышқа ауыстырады, 5 $см^3$ қымыздық қышқылды калийді қосады. Құйғыш ішіндегісін араластырады, 80 $см^3$ ацетонды құяды және 2 минуттан 3 минутқа дейін сілкиді. 100 $см^3$ хлороформаны құяды, 5 минуттан 7 минутқа дейін сілкиді. Төменгі фазаны дөңгелек түпті колбаға құяды, еріткішті айдайды, ал қалдықты 30 $см^3$ гександа шаяды. Фазаларды бөлгеннен кейін төменгі фазаны дөңгелек түпті колбаға құяды, еріткішті айдайды, ал қалдықты 30 $см^3$ эфирде шаяды.

4.6.1.14 Құрғақ сүт өнімдерінен алынған сығындыларды тазарту және шайғындау

3 г құрғақ сүт өнімдерінің өлшендісін (2 г кілегей) кішкене стаканға себеді, 40 °С –тан 45 °С дейін температурасы бар 15 $см^3$ тазартылған суды құяды, араластырады және 300 $см^3$ сыйымдылықтағы бөлгіш құйғышқа ауыстырады, 5 $см^3$ қымыздықты қышқылды калийді және қаныққан хлорлы натрий ерітіндісін құяды. Құйғыш ішіндегісін араластырады, 80 $см^3$ ацетонды қосады және 3 минуттан 5 минутқа дейін сілкиді, 100 $см^3$ хлороформаны құяды, 5 минут сілкиді және 3 минуттан 5 минутқа дейін қалдырады (фазалардың бөлінісіне дейін). Төменгі фазаны дөңгелек түпті колбаға құяды, еріткішті айдайды, ал қалдықты 30 $см^3$ гександа шаяды.

4.6.1.15 Қаймақтан, 30 және 40 пайыздық кілегейден алынған сығындыны тазарту және шайғындау

5 г өнім өлшендісін кішкене стаканға өлшейді, 10 $см^3$ қаныққан хлорлы натрий ерітіндісін құяды және 150 $см^3$ сыйымдылықтағы бөлгіш құйғышқа ауыстырады. Кішкене стаканды 40 $см^3$ ацетонмен жуады, шайындыны 2 минуттан 3 минутқа дейін сілкитін бөлгіш құйғышқа ауыстырады, 70 $см^3$ хлороформаны қосады және 2 минут сілкиді. Құйғышты фазалар бөлінгенге дейін бірнеше минутқа қалдырады, төменгі фазаны еріткіштерді айдауға арналған колбаға құяды, еріткіштерді айдайды, ал қалдықты 30 $см^3$ гексанмен шаяды.

4.6.1.16 Сүзбеден және ірімшіктен алынған сығындыны тазарту және шайғындау

10 сүзбе өлшендісін немесе үккіште ұсақталған ірімшікті 10 $см^3$ қаныққан хлорлы натрий ерітіндісімен үгітеді және 250 $см^3$-ден 300 $см^3$ дейін бөлгіш құйғышқа ауыстырады. 80 $см^3$ ацетонды қосады, 2 минут сілкиді, 100 $см^3$ хлороформаны құяды және қайтадан сілкиді.

Төменгі фазаны 30 $см^3$ гександағы қалдықты ерітіп, еріткіштерді айдағаннан кейін талдау үшін қолданылады.

Ары қарай екінші тәсіл бойынша дайындалған сүт майынан сүт және сүт өнімдерінен алынған сығындыларды тазартуды жүргізеді. Бұл үшін 30 $см^3$ сығындыны 70 $см^3$ АСК силикагелі бар бағанаға енгізеді. Сығындыны сіңіргеннен кейін сіңіргішке пестицидті 25 $см^3$ -ден 30 $см^3$110 $см^3$ дейін үлесі бар (3:8) гександы бензол қоспаларын аластайды. Элюат 250 $см^3$ -ден 300 $см^3$ дейін дөңгелек түпті колбада жинайды. Еріткіштің соңғы үлесінің сіңірілуінен кейін 10 минуттан соң сіңіргішті резеңке грушаның көмегімен сығады. Тазартудан кейін еріткіштерді вакум астында айдайды.

4.6.1.17 Сары майдан алынған сығындыны тазарту және шайғындау

20 г сары май дөңгелек түпті колбада су моншасында ерітіледі, 50 $см^3$ ацетонды қосады, май ерігенге дейін мұқият араластырылады, 10 $см^3$ мұзды тазартылған суды қосады және май қатты болғанға дейін мұзда 30 минут салқындатады. Ацетонды сығындыны төгіп тастайды және процедураны тағы да 2 рет қайталайды. Біріккен сығындылардан дөңгелек түпті колбада су моншасында ацетонды айдайды. Пестицидтерді қалған су сығындысынан гексанның 10 $см^3$ бойынша үш үлесімен 5 минут ішінде шайғындайды. Біріккен гександы сығындыны бөлгіш құйғышта күкірт қышқылды натрийі бар күкірт қышқылымен өңдейді. Тазартылған сығындыны сусыз күкірт қышқылды натриймен құрғатады және булайды.

4.6.1.18 Темекіден және темекі өнімдерінен алынған сығындыны тазарту және шайғындау

5 г темекі өлшендісін 500 $см^3$ шыны стаканға салады, 50 $см^3$ құнарланған күкірт қышқылын құяды және шыны таяқшамен сынаманы толық біркелкі шала күйдіргенге дейін мұқият араластырады. 10 минуттан 15 минутқа дейін өткен соң колбаға 25 $см^3$ гександы қосады, ішіндегісін мұқият араластырады және 25 $см^3$ төрт хлорлы көміртекті қосады. Сынамадағы пестицидтерді шайғындау 15 минут ішінде үш рет жүргізеді, содан кейін сығынды жүйелі түрде күкірт қышқылымен бір рет немесе екі рет қосымша тазарту үшін бөлгіш құйғышқа ауыстырады.

4.7 Хроматографтау

Хроматографиялық тілімге шетінен 1,5 см қашықтықта шприцпен немесе шағын тамызғышпен дақ диаметрі 1 см аспауы үшін төменгі шеттен 1 см қашықтықта болатын старт сызығына бір нүктеге зерттелетін сынаманы қояды. Қалпақшадағы сығынды қалдығын бірінші дақ ортасына жағатын 0,2 $см^3$ диэтилді эфирдің үш үлесімен шаяды. Сынамадан оң жақтан және сол жақтан 2 см қашықтықта зерттелетін препараттардың 10,5 және 1 мкг құрайтын стандартты үлгілерді қояды (немесе анықталғанға жақын басқа

шоғырланулар). Содан кейін тілімдерді ауада кептіреді.

Жағылған ерітінділері бар тілімдерді қозғалтқыш еріткішпен хроматографтау үшін камераға орналастырады. Қозғалтқыш еріткіш есебінде силикагель немесе алюминий тотықтарының жұқа қабаты бар тілімдерін қолдану кезінде көлемі гександа 0,3 төмен Rf препараттар үшін ацетонмен гексан қоспасы (6:1) немесе гександы қолданылады.

«Силуфол» тілімдерін қолдану кезінде қозғалтқыш еріткіш – 1 пайыздық гександағы ацетон еріткіші, ал о-толидонмен үлдірленген, «Силуфол» тілімдерінде – диэтилді эфирмен гексан (49:1). Жағылған еріткіштері бар тілімшелердің шеті 0,5 см артық емес қозғалтқыш еріткішіне батырылуы мүмкін.

«Сорбфил» тілімдерін қолдану кезінде ацетонитрил-су (2:1) қозғалтқыш еріткіштер жүйесі қолданылады.

Еріткіштер шебі 10 см-ге көтерілгеннен кейін тілімді камерадан алады және еріткішті булау үшін бірнеше минутқа қалдырады. Ары қарай тілімді айқындалған реактивпен суландырады және 10 минуттан 15 минутқа дейін ультракүлгін сәулесінің әрекетіне ұшырайды. Тілімдерді сәуле көзінен 20 см қашықтықта орналастырған жөн. Тілімде хлорорганикалық пестицидтердің болуы кезінде қара сұр түсті дақ айқындалады.

О-толидинмен үлдірленген «Силуфол» тілімдерін талдау үшін қолдану кезінде оларды тікелей хроматографиялағаннан кейін бірнеше минут ішінде ультракүлгін сәулемен сәулелендіруге ұшырайды. Хлорорганикалық пестицидтердің болуы кезінде мұндай жағдайда көкшіл түсті дақтар айқындалады.

Тиісті R_f мәндері бойынша қандай пестицидтер өнімде бар екендігін анықтайды.

Пестицидтердің Rf көлемдері 2-кестеде келтірілген.

2-кесте - Rf пестицидтерінің көлемдері

Пестицид атауы	Қозғалмалы еріткіш	Rf көлемі	
		«Силуфол»	«Сорбфил»
Гексахлорбензол	Гексан		0,90
γ - ГХЦГ (линдан)	Гексан-ацетон (6:1)	0,23	-
	Ацетонитрил-су (2:1)	-	0,30
	Гексан	0,15	-
α – ГХЦГ	Гексан	0,20	-
	Гексан-ацетон (6:1)	0,30	-
	1 % гександағы ацетон еріткішіне	0,24	-
β - ГХЦГ	Гексан-ацетон (6:1)	0,73	-
Альдрин	Гексан-ацетон (6:1)	0,70	-
	Ацетонитрил-су (2:1)	0,82	0,80
	Гексан	-	-
4,4 - ДДЭ	Гексан-ацетон (6:1)	0,61	-
	Ацетонитрил-су (2:1)	-	0,70
	Гексан	0,45	-
4,4 - ДДТ	Гексан-ацетон (6:1)	0,78	-
	Ацетонитрил-су (2:1)	-	0,85
	Гексан	0,67	-
Кельтан	Гексан-ацетон (6:1)	0,15	-
	Ацетонитрил-су (2:1)	-	0,21
	Гексан	0,05	-
Гептахлор	Гексан-ацетон (6:1)	0,57	-
	Ацетонитрил-су (2:1)	-	0,73
	Гексан	0,45	-
ДДД	Гексан-ацетон (6:1)	0,32	-
	Гексан	0,16	
Гексахлорбензол	Гексан		-

4.8 Нәтижелерді өңдеу

4.8.1 Пестицидтердің мөлшерін өлшеу сығындының дағына бояу қарқындылығы бойынша аса жақын стандартты үлгі дағының алаңы және сыналатын сығындының дағы алаңын салыстыру жолымен жүргізеді. Дақтар алаңын сызғыштың көмегімен өлшейді. Х пестицидтердің мөлшері, мг/кг, мына формула бойынша есептелінеді:

$$X = \frac{mS_1V_1}{m_1S_2V_2}, \quad (1)$$

мұндағы m – 1 $см^3$ стандартты үлгідегі пестицид массасы, мкг;

m_1 – зерттелетін сынама өлшендісінің массасы, г;

S_1 – сыналатын сығындыны жағу кезінде алынған дақтың алаңы, $мм^2$;

S_2 – стандартты үлгіні жағу кезінде алынған дақ алаңы, $мм^2$;

V_1 – құрғақ қалдық қайтадан ерітілген сығынды көлемі, $см^3$;

V_2 – тілімге қойылған зерттелетін сығынды көлемі, $см^3$.

Барлық $V_1 = V_2$ сынамаларды қою кезінде

4.8.2 Есептеулерді бірінші ондық белгіге дейін жүргізеді. Соңғы нәтижені тұтас санға дейін дөңгелектейді.

4.8.3 Сынақтың соңғы нәтижесі үшін екі қосарлас анықтамалардың ($\overline{X}$) орташа арифметикалық нәтижелерін қабылдайды, Р =0,95 сенімді ықтималдылығы кезіндегі аралық айырмасы 1-кестеде көрсетілген мәндерден аспауы тиіс.

5 Адсорбциялық жоғары тиімділікті сұйықтық хроматографиясының әдісі (әрі қарай ЖТСХ)

5.1 Әдістің маңыздылығы

Әдіс спектрофотометриялық детекторлау кезінде адсорбциялық ЖТСХ көмегімен хлорорганикалық пестицидтердің жекелеген топтарын жүйелі сәйкестендіруіне, сығындылардың шоғырлануына және тазартуға, әр түрлі субстраттардан шыққан олардың метаболиттерін және хлорорганикалық пестицидтерді шығармауға негізделген.

5.2 Әдістің метрологиялық сипаттамасы

Адсорбциялық ЖТСХ әдісімен хлорорганикалық пестицидтерді және олардың метаболиттерін талдау параметрлері 3-кестеде көрсетілген.

3-кесте – Хлорорганикалық қосылыстарда және олардың метаболиттерін талдаудың ЖТСХ параметрлері

Сәйкестендірілген қосылыс	V ұстау, мкл	Хроматографиялық аймақтар, мкл	Толқынның максималды ұзындығы, нм
ХБ (хлорбензолдар тобы)	160	160-180	220
2-ХФ (хлорфенолдар тобы)	375	230-530	220, 280
Альдрин	270	180-300	280
4,4 - ДДЭ	190	190-260	250
4,4 - ДДТ	240	190-260	240
Кельтан	180	180-300	280
Гептахлор	295	180-300	280
ЕСКЕРТПЕ ДДТ үшін және оның сынамадағы 0,1-2,0 мкг басқа ХОП үшін туынды 0,05-0,5 және 0,05 – 0,5, табу шектігі.			

5.3 Әдістің іріктеушілігі

ХОП және олардың метаболиттерінің топтық сәйкестендіру әдісі азот-, фосфорорганикалық пестицидтер және басқа органикалық қоспаларының қатысуымен іріктелген.

5.4 Аппаратура, материалдар және реактивтер

5.4.1 Аппаратура және материалдар

- қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша «Милихром» шағын бағаналы сұйықтық типіндегі хроматограф;
- «Силасорб-600» 5 мкм сорбенті бар стандартты металл (50 мм х 2 мм) бағана;
- ГОСТ 24104 бойынша ± 0,0001 г шақтамалы абсолютті қателігінің аса көп шектігі бар дәлдіктің аналитикалық арнайы класының таразылары;
- қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша ротациялық буландырғыш;
-ГОСТ 25706 бойынша металл сызғыш;
-ГОСТ 25336 бойынша конустық құйғыштар;
- ГОСТ 25336 бойынша 100 $см^3$ тілімтасы бар дөңгелек түпті колбалар;
- ГОСТ 25336 бойынша 100 $см^3$ тегістелген тығыны бар жалпақ түпті колбалар;
- ГОСТ 1770 бойынша 1 $см^3$ өлшеуіш тамызғыштар;
- ГОСТ 1770 бойынша 10 $см^3$ өлшеуіш түтіктер;
- ГОСТ 1770 бойынша 50 және 100 $см^3$ өлшеуіш цилиндрдер.

5.4.2 Реактивтер

- қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша ацетон, о.с.ч.;
- қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша н-гексан, т.;
- ГОСТ 4166 бойынша сусыз натрий сульфаты, т.;
- ГОСТ 4204 бойынша күкірт қышқылы, т.ұ.т.;
- «көк таспа» сүзгілері;
- ХОП және 100 мкг/$см^3$ бойынша жеке компоненттерінің шоғырлануы бар н-гександағы олардың метаболиттерінің көп компонентті қоспасының мемлекеттік стандартты үлгісі

5.5 Сынамаларды іріктеу

Нақты өнімге нормативтік құжаттамаға сәйкес сынамаларды іріктеу және оларды талдау дайындау.

5.6 Сынақтарға дайындық

5.6.1 Хроматографиялық жүйелерді дайындау

5.6.1.1 Аластаушыларды дайындау

Аластаушы қоспа – 6:1 қатынасындағы көлемде н-гексан-ацетонды сынаманы талдауды жүргізу күніне дайындайды: 100 $см^3$ сыйымдылықтағы цилиндрмен тегістелген тығыны бар жазық түпті колбаға құйылатын 90 $см^3$ н-гександы өлшейді, мұнда 15 $см^3$ ацетонды құяды, колбаны тығынмен жабады және оның ішіндегісін жеңіл шайқай отырып, араластырады. Содан кейін аластаушы қоспаны аластаушыға арналған ыдыста тесілген натрий сульфаты бар қатпарлы сүзгі арқылы сүзеді.

5.6.1.2 Сынақты өткізуге хроматографты дайындау

Хроматографиялық талдауға құралды дайындауды сорғышты жуудан және жаңа дайындалған аластаушымен толтырудан бастайды, содан кейін құралдың хроматографиялық жүйесін жууға және қолданылатын аластаушымен салыстыру кюветін толтыруға кіріседі. Детектордың біркелкі нөлдік сигналын орнатқаннан және минимумға дейін шуылды азайтқаннан кейін ХОП және олардың метаболиттерінің топтық сәйкестендіру талдауын жүргізеді.

5.7 Талдауды жүргізу

5.7.1 Сынамаларды дайындау 4.6.1 т. сәйкес жүргізіледі. Сығындының қалған шамалы көлемі өлшеуіш түтікке ауыстырылады және құрғағанша булайды. Сынаманың құрғақ қалдығын аластаушының 0,2 $см^3$ дейін ерітеді (н-гексанның ацетонмен қоспасы 6:1) және ХОП және олардың метаболиттерінің жекелеген топтарының сәйкестендіруін және хроматографиялық бөлінісін жүргізеді.

5.7.2 ХОП және олардың метаболиттерінің жекелеген топтарының хроматографиялық бөлініс және сәйкестендіруі

ХОП және олардың метаболиттерінің тотық сәйкестендіруі және бөлінісі мынадай хроматографиялау шарттары кезінде іске асырылады:

- қозғалмайтын фаза - «Силасорб-600», 5 мкм;
- қозғалатын фаза - гексан-ацетон 6:1 көлемдік қатынаста;
- аластаушы ағынның жылдамдығы 200 мкл/мин;
- 3,2 А сезімталдық диапазоны астындағы 1,6 мкл ағынды ұяшығы бар ауыспалы-толқынды спектрофотометр;
- шығу сигналының өлшеу уақыты 0,6 с;
- диаграмдық таспаның созылу жылдамдығы 720 мм/сағ;
- сәулелік ағынның жұту толқынының ұзындығы (λ) қосылыстардың сәйкестендірілген тобымен анықталады.

Хлорорганикалық қосылыстардың жекелеген топтарының өкілдерін ұстаудың жақын көлемі ($V_{уд}$) және тиісті толқын ұзындығының жиыны әр түрлі топтарға арналған сипатты хроматографиялау аймағын шектеуден шығаруға мүмкіндік береді, бұл тиісті қосылыс топтарының стандартты қоспасының хроматографиялау аймақтарымен салыстыру кезінде сынаманың қиын пестицидті қоспасында оларды сәйкестендіруді қамтамасыз етеді.

5.7.3 Сынаманың белгісіз құрамының көп компонентті қоспасында ХОП жекелеген топтарының сәйкестендіру үлгілері.

1-ҮЛГІ. 20 мкл аластаушыда 0,2 $см^3$ сынама шоғырланған ерітіндісін хроматографиялық бағанасына енгізеді, бұрын сипатталған режимде 280 нм кезінде талдау жүргізеді.

Осы толқын ұзындығы кезінде зерттелетін қосылыстардан максималды кейбіріне жақын сәйкестендірілуі мүмкін:

1 – хлорбензолдар тобы (160 мкл –ден 180 мкл дейін ұстау уақыты):

2 – хлорфенолдар тобы (230 мкл-дан 530 мкл дейін ұстау уақыты);

3 – ХОП –альдрин, ГХПК, ГПХ, ГПХЭ және кейбір басқа әр түрлі кластардың өкілдерінің қосылыстарының тобы (180 мкл-ден 300 мкл дейін ұстау уақыты).

4,4'-ДДТ және оның туындыларының сәйкестендіруі 230 нм кезінде қайтадан хроматографтауда жетеді. Осы топтардың қосылыстарын ұстау көлемі 235 мкл-ден 260 мкл дейінгі шектікте, ал ұстау уақыты 4,4-ДДЭ -190мкл болады. 4,4-ДДГ және оның туындыларының топтарын сәйкестендіру шарттары кезінде сынамадағы басқа класты ХОП (альдрин және басқа)болатын топтарға кедергі келтірмейді, сондай-ақ осы толқын ұзындығында детекторленген хлорбензолдар тобының жақын ұстау көлемі бар (230; 250 мкл) өкілдері кедергі келтірмейді (3-ХФ; 3,4 –ДХФ; 2,3,5.6-ТеХФ). Даулы хроматографиялық сигналдардың соңғы сәйкестендірілуі қосылыстардың жазылған спектрлерін алып тастаумен және қажетті толқын ұзындығын таңдаумен іске асырылады (3-кестені қарау).

2-ҮЛГІ. Соңғы ерітіндінің аликвотты бөлігі аластаушыдағы зерттелетін сынама хроматографқа енгізіледі және 230 нм кезінде белгісіз құрамда ХОП қоспасын бөлу жүргізіледі. Бұл жағдайларда тіркелген шығу сигналдары мынадай қосылыс топтарын сәйкестендіруге мүмкіндік береді: хлорбензолдар (160 мкл-дан 180 мкл дейін ұстау

уақыты); 4.4'-ДДТ және оның туындылары (235 мкл-ден 260 мкл дейін ұстау уақыты; 4,4-ДДЭ 190 мкл ұстау уақыты). Алайда соңғыларын сәйкестендіру хлорфенолдардың сынамаларында болуы қиындауы мүмкін (3-, 3,4- және 2,3,5,6-хлорфенолдар ұстау көлемінің ДДТ топтарының компоненттерімен жақындығы бар). Сондықтан соңғы сәйкестендіруді хлорфенолды қосылыстар максималды көрсетілгенге жақын, 220 нм кезінде сынамасына қайталама хроматографиялаудан кейін іске асырады. Сәйкестендіру сенімділігі 10 нм немесе 2 нм дискреттігімен тиісті шығу сигналында хроматографиялау процесін тоқтату кезінде жазылған жұту спектрін алып тастаумен көтерілуі мүмкін.

3-ҮЛГІ. Аластаушы сынамасының соңғы ерітіндісінің аликвотты бөлігін 280 нм кезінде режимнен жоғары сипатталғандй хроматографиялайды. Қосылыстардың үш тобының сәйкестендіру мүмкін жағдайда: ДДТ және оның туындыларынан басқа хлорбензолдар, хлорфенолдар және әр түрлі кластардағы ХОП (альдрин және т.б). хроматографиялық аймақта хлорфенолды қосылыстардың қатарын (275 мкл-дан 305 мкл дейін ұстау көлемі) және басқа кластың хлорорганикалық пестицидтер өкілдерін салу осы қосылыстардың дұрыс сәйкестендіруін жасауға мүмкіндік бермейді, сондықтан талдауды 310 нм кезінде қайталайды. Мұндай жағдайда ДДТ және оның хлорфенолдардың туынды және негізгі бөлігі (2,4.6-ТеХФ, 2,3.4,6-ТеХФ және 2,3,4,5,6,-ПХВ басқа) тіркелмейді.

Екі соңғы қосылыстарды ұстау көлемі ХОП (370 мкл және 530 мкл) хроматографиялық аймақпен сәйкес келмейді, бұл олардың сәйкестендіруге әсерін жояды. 2,4,6-ТХФ кедергілерін 220 нм және 300 нм екі максималды толқыны бар 2,46 –ТХФ жазылған спектрін жаза отырып немесе осы қосылыстың сигналы тіркелмеген жағдайда сынаманың қайталама талдауы кезінде 260 нм спектрофотометрге қайта қосумен жоюға болады.

Хроматографиялық бөлініс және сәйкестендіру бойынша операция санын жүргізу кезінде өткізілетін зерттеулердің міндеттеріне сәйкес шектелуі мүмкін.

5.8 Сынақ нәтижелерін өңдеу

ХОП топтарының және олардың метаболиттерінің сәйкестендірілген сапалы құрамы қосылыстардың сәйкестендірілген топтарының көп компонентті стандартты қоспасында және сынаманың белгісіз құрамының қоспасында хроматографиялық аймақтары жолымен анықталады. Жеке топтардың болуынан шыға отырып, талданатын сынаманың хлорорганикалық пестицидтер қоспасының топтық құрамын белгілегеннен кейін олардың метаболиттеріне жеке топтарының жеке компоненттерін ары қарай мөлшерлі өлшеу үшін аса тиімді әдісті (ТСХ, ГЖХ, ЖТСХ) таңдайды.

6 Газ сұйықтықты хроматография әдісімен құрама жемде және құрама жем шикізаттарында ХОП анықтау

6.1 Әдістің маңыздылығы

Әдіс электрондарды басып алу детекторымен (ЭБД) немесе рекомбинацияның тұрақты жылдамдығы тұрақты жылдамдығының детекторымен жабдықталған (РТД) газды хроматографында мөлшерлі анықтау және пестицидтер сығындыларын тазартуға (АПЛ) және шайғындауға арналған аппаратта су буында айдау тәсілімен талданатын сынамадан шыққан хлорорганикалық пестицидтердің сығындыларын тазартуға және шайғындауына негізделген. Анықталатын шоғырландырулар диапазоны 4-кестеде көрсетілген.

4-кесте – Анықталатын шоғырланулардың диапазоны

Қосылыстар атауы	Өлшенген шоғырлану диапазоны, мг/кг	Минималды детекторланған мөлшер, нг
γ - ГХЦГ (линдан)	0,001-0,1	0,001
α – ГХЦГ	0,001-0,1	0,001
ДДЭ	0,007-0,1	0,06
ДДТ	0,007-0,4	0,06
ДДД	0,007-0,2	0,06

6.2 Аппаратура, материалдар және реактивтер

6.2.1 Аппаратура және материалдар

- электрондарды басып алу детекторымен (ЭБД) немесе рекомбинацияның тұрақты жылдамдығының детекторымен (РТД) жабдықталған газ хроматографы;
- ГОСТ 24104 бойынша ± 0,0001 г шақтамалы абсолютті қателігінің аса шектікті арнайы дәлдік класының аналитикалық таразылары;
- ГОСТ 24104 бойынша ± 0,01 г шақтамалы абсолютті қателігінің аса шектікті жоғары дәлдік класының зертханалық таразылары;
- пестицидтердің сынамаларын шайғындауға және тазартуға арналған аппарат;
- ротациялық вакуумдық буландырғыш;
- 1 дм^3 сыйымдылықтағы дөңгелек түпті колбадан, 30 см ұзындықтағы және 2 см диаметрлі дефлегматордан, 250 см^3 сыйымдылықтағы қабылдау колбасынан, температура реттегішпен жабдықталған 40 °С -тан 80 °С дейін қыздыру температурасы бар колба қыздырғыш немесе су моншасынан және аллонждан тұратын органикалық ерітінділерді айдауға арналған қондырғы.
- қолданыстағы нормативтік құжаттама бойынша ±2 °С қателігімен 100 °С-тан 220 °С дейін кептірудің жұмыс аймағында берілген температураны ұстауды және құруды қамтамасыз ететін кептіргіш шкаф;
- плюс 4 °С -тан плюс 6 °С дейін тоңазытқыш камерасының температурасына қамтамасыз ететін тұрмыстық тоңазытқыш;
- 10 мкл сыйымдылықтағы МШ-10 шағын шприц;
- колба қыздырғыш немесе электр плитка;
- майлы немесе глицеринді монша;
- газды хроматографқа арналған шыны хроматографиялық бағаналар: ұзындығы 1,0 м диаметрі 3 мм және ұзындығы 1,5 м диаметрі 3;
- бағаналарға арналған саптамалар: N-AW-DMCS (0,16 мм -нан 0,20 мм дейін) хроматонда 5 % OV-17 немесе 3 % OV-210; N-супер (0,125 мм-нан 0,16 мм дейін) хроматонда немесе N-AW-DMCS (0,16 мм -нан 0,20 мм дейін) хроматонда 5 % SE-30;
- ГОСТ 25336 бойынша К-1 250 см^3 айдау колбалары;
- ГОСТ 25336 бойынша Гр-25 колбалар;
- ГОСТ 1770 бойынша 50, 100 см^3 өлшегіш колбалар;
- ГОСТ 25336 бойынша В-56 - 80 ХС құйғыш;
- ГОСТ 25336 бойынша Кн-1 250 см^3 конустық колба;
- ГОСТ 1770 бойынша 50; 100 см^3 өлшегіш цилиндрлер;
- ГОСТ 1770 бойынша 5, 10 см^3 сыйымдылықта мөлшерлегіш тығыз жабылатын тығындары бар түтіктер;
- ГОСТ 25336 бойынша 8Д-100 - 29/32. ВД-500 - 29/32 бөлгіш құйғыштар.
- ГОСТ 29227 бойынша 5; 10 см^3 тамызғыштар;
- ГОСТ 25336 бойынша су сорғалап ағатын сорғыш.

- ГОСТ 9147 бойынша 1200 $см^3$ сыйымдылықты фарфор стакандар;
- ГОСТ 12026 бойынша зертханалық сүзгі қағазы

6.2.2 Реактивтер

- ГОСТ 4204 бойынша 1,84 $г/см^3$ тығыздықтағы күкірт қышқылы. х.т.
- н-гексан. т.
- ГОСТ 4166 бойынша сусыз күкірт қышқылды натрий, т.;
- ГОСТ 6709 бойынша тазартылған су.
- диэтил эфирі;
- ГОСТ 5962 бойынша тамақ шикізатынан алынған этилді ректификатталған спирті;
- хлорорганикалық пестицидтер құрамының мемлекеттік стандартты үлгілері (МСҮ): ДДТ, ДДД, ДДЭ, ГХЦГ;
- ГОСТ 9293 бойынша газ тәрізді және сұйық азот;
- ГОСТ 2603 бойынша ацетон;
- ГОСТ 4220 бойынша екі хром қышқылды калий х.т.

1-ЕСКЕРТПЕ Ұқсас метрологиялық сипаттамалары бар немесе жоғары реактивтер, өлшегіш ыдыстар, аппаратураны қолдануға рұқсат етіледі.

2-ЕСКЕРТПЕ Қолданылатын өлшеу құралдары типін бекіту немесе метрологиялық аттестация, мемлекеттік өлшеу бірліктерін қамтамасыз ету жүйесінің реестріне түгендеу және енгізу мақсатында сынауға жатады.

6.3 Талдауға дайындық

6.3.1 н.гександы тазарту

Н-гександы (2/3 айдалған колба) бірінші және соңғы айдау үлесін алып тастай отырып, қондырғының көмегімен айдайды. Алынған н-гексанның тазалығын газды хроматографтың көмегімен анықтайды. Бұл үшін 50 $см^3$ сыйымдылықтағы конустық колбаға 10 $см^3$ алынған н-гександы жайғастырады және ауа немесе азот тогында 65 °С температура кезінде колба қыздырғышта 3 $см^3$ көлемге дейін булайды. Сығынды қалдығын 10 $см^3$ сыйымдылықтағы мөлшерлегіш түтікте қайта салады және 1 $см^3$ көлемге дейін булайды. Алынған сығындыны сынаманы хроматографиялау жағдайында талдайды (8-кестені қарау).

Н-гексан хлорорганикалық пестицидтерді анықтауға кедергі жасайтын шыңдардың хроматограммада болмауы жағдайында талдау үшін жарамды және тазартылған деп саналады.

6.3.2 Хромды қоспаны дайындау

Хромды қоспаны дайындау үшін фарфор стаканына 50 г екі хром қышқылды калийді қояды және 1 $дм^3$ құнарланған күкірт қышқылын бөліктері бойынша мұқият араластыра отырып ақырын құйылады. Хром қоспасын шыныдан алынған ыдыста сақтайды. Хром қоспасын сақтау мерзімі шектеусіз.

6.4 Газды хроматографты дайындау

6.4.1 Хроматографиялық бағаналарды дайындау

Алдын ала хром қоспасымен жуылған, этил спиртімен, содан кейін диэтилді эфирмен дайындалған құрғақ шыны бағана вакуумды немесе су сорғалап ағатын сорғыштың көмегімен қондырмамен толтырады. Бұл ретте бағаналарды тығыздау ағаш таяқшамен бағаналарды ұра отырып, дүркін-дүркін тығыздайды. Термостатта орнатылған хроматографиялық бағана жұмыс алдында мынадай режимде салқындатады: 100 °С кезінде 2 сағ; 150 °С кезінде 2 сағ; 200 °С кезінде 4 сағ; 220 °С кезінде 4 сағ. Салқындату кезінде бағана детектордан ажыратылуы тиіс. Салқындатуды бағаналарды ауыстыру

кезінде, сондай-ақ жұмысқа ұзақ үзілістерден кейін жүргізген жөн. Салқындату аяқталған соң бағананы салқындатады, детекторға қосады және хроматографты жұмыс режиміне шығарады.

6.4.2 Хроматографтың жұмысқа дайындығы пайдалану жөніндегі нұсқаулыққа сәйкес жүргізіледі.

6.5 Хлорорганикалық пестицидтердің жұмыс ерітінділерін дайындау

6.5.1 Хлорорганикалық пестицидтердің негізгі жұмыс және аралық еріткіштерін дайындау

(100 ± 5) мг/дм^3 массалық шоғырлануымен анықталған хлорорганикалық пестицидтердің негізгі жұмыс еріткіштерін 7.3.1 бойынша дайындалған н-гександағы 100 см^3 сыйымдылықтағы өлшегіш колбада 0,1 мг дәлдікпен, 10 мг негізгі зат бар өлшендінің еріткіші жолымен әр хлорорганикалық пестицид үшін жеке салмақтық тәсілмен дайындайды. Негізгі еріткіштердің массалық шоғырланудың аралық жұмыс еріткіштерін дайындайды: 1 мг/дм^3 (№1 еріткіш), 0,1 мг/дм^3 (№2 еріткіш) және 0,01 мг/дм^3 (№3 еріткіш), хлорорганикалық пестицидтің тиісінше 1 см^3 және 0,1 см^3 негізгі еріткіші 100 см^3 сыйымдылықтағы өлшегіш колбаларға тамызғышпен салынады. 100 см^3 сыйымдылықтағы өлшегіш колбаға 0,01 мг/дм^3 бар №3 аралық еріткішті дайындау үшін 1 см^3 1- аралық еріткішті салады және н-гексанмен белгіге дейін жеткізеді.

Барлық аралық еріткіштерді тығыз жабылатын шыны шишаларда немесе 2 °С -тан 10 °С дейінгі температура кезінде тефлонды төсемдермен жабдықталған герметикалық жабылатын шишаларда 6 ай ішінде сақталады.

Мөлшерлегіш еріткіштерді дайындар алдында барлық хлорорганикалық пестицидтер ерітінділерін кем дегенде 20 мин бөлме температурасы кезінде ұстайды.

6.5.2 Мөлшерлегіш еріткіштердің шкалаларын дайындау

5 см^3 сыйымдылықтағы тығыз жабылатын тығындары бар түтіктерге әр хлорорганикалық пестицид үшін мөлшерлегіш еріткіштер шкаласын дайындайды (5-, 6-, 7- кестелерін қарау).

Мөлшерлегіш еріткіштерді 2 °С -тан 10 °С дейінгі температура кезінде тефлонды төсемдері бар тығындармен жабдықталған, герметикалық жабылатын шишаларда немесе тығыз жабылатын тығындары бар шыны шишаларда екі аптадан артық емес сақталады.

Қолданар алдында барлық хлорорганикалық пестицидтер ерітінділерін кем дегенде 20 мин бөлме температурасы кезінде ұстайды.

5-кесте - α-ГХЦГ және ДДЭ арналған мөлшерлегіш еріткіштердің шкаласы

Еріткіш сипаттамасы	Мөлшерлегіш еріткіштің нөмірі							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Аралық еріткіштің көлемі 3, см^3	1	2	5	-	-	-	-	-
Аралық еріткіштің көлемі 2, см^3	-	-	-	1*	2*	3*	4*	5*
Н-гексанның көлемі, см^3	4	3	0	4	3	2	1	0
Алынған мөлшерлегіш еріткіште ХОП массалық шоғырлануы, мг/дм^3	0,002	0,004	0,01	0,01	0,04	0,06	0,08*	0,01*
$5 \cdot 10^{-3}$ см^3 хроматографияланған сынамадағы ХОП массасы (10^{-5} мг)	0,01	0,02	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4*	0,5*
* ДДЭ үшін								

6-кесте - γ – ГХЦГ арналған мөлшерлегіш еріткіштердің шкаласы

Еріткіш сипаттамасы	Мөлшерлегіш еріткіш нөмірі						
	1	2	3	4	5	6	7
Аралық еріткіштің көлемі 3, $см^3$	3	5	-	-	-	-	-
Аралық еріткіштің көлемі 2, $см^3$	-	-	1	2	3	4	5
Н-гексанның көлемі, $см^3$	2	0	4	3	2	1	0
Алынған мөлшерлегіш еріткіште ХОП массалық шоғырлануы, мг/$дм^3$	0,006	0,01	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1
$5 \cdot 10^{-3}$ $см^3$ хроматографияланған сынамадағы ХОП массасы (10^{-5} мг)	0,03	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5

7-кесте - ДДТ және ДДД арналған мөлшерлегіш еріткіштердің шкаласы

Еріткіш сипаттамасы	Мөлшерлегіш еріткіш нөмірі							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Аралық еріткіштің көлемі 3, $см^3$	0,5*	1	2	3	4	5	-	-
Аралық еріткіштің көлемі 2, $см^3$	-	-	-	-	-	-	1	2**
Н-гексанның көлемі, $см^3$	4,5	4	3	2	1	0	4	3
Алынған мөлшерлегіш еріткіште ХОП массалық шоғырлануы, мг/$дм^3$	0,01*	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,2	0,4**
$5 \cdot 10^{-3}$ $см^3$ хроматографияланған сынамадағы ХОП массасы (10^{-5} мг)	0,05*	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	1	2**
*ДДД үшін ** ДДТ								

6.6 Мөлшерлегіш сипаттаманы белгілеу

Хроматограф буландырғышына шағын шприцпен әр мөлшерлегіш еріткіштің 5×10^{-3} $см^3$ енгізеді (5-, 6-, 7-кестелерді қарау). Әр еріткішті хроматограммада анықталатын хлорорганикалық пестицидтің шың алаңының орташа мәнін есептей отырып, екі рет хроматографиялайды. Содан кейін мөлшерлегіш еріткіште анықталатын хлорорганикалық пестицидтің (т) массасының абсцисс (X) осі бойынша тастай отырып, ал (Y) ординат осі бойынша анықталатын хлорорганикалық пестицид шыңының орташа алаңында мөлшерлегіш графикті (аз шаршылар әдісін қолдана отырып) құрады. Теңдеумен сипатталған мөлшерлегіш графикті алады:

$$Y = A \times X, \qquad (2)$$

мұндағы А – нәтижелерді есептеу кезінде пайдаланатын салыстырмалы мөлшерлегіш коэффициент.

Хроматограф мөлшерлеуін 6 айда бір рет, сондай-ақ хроматографиялық бағаналарды немесе реактивтерді ауыстыру кезінде жүргізеді. Хроматограф жұмысының тұрақтылығын тексеруін мөлшерлегіш еріткіштерден хроматографиялау нәтижелері бойынша сынама серияларын талдау алдында жүргізеді. Егер мөлшерлегіш еріткіштің шоғырлануының алынған мәні мөлшерлегіш еріткіштің шоғырлануының аттестацияланған мәнінен 10 пайызға артық емес ерекшеленсе, мөлшерлегіш сипаттама тұрақты деп санайды.

Бақылау жүргізілетін көрсеткіштер тізбесін зертханаларда белгілейді. Егер бір мөлшерлегіш еріткіш үшін мөлшерлегіш сипаттамасының тұрақтылық шарты орындалмаса, қанағаттанарлықсыз өлшеу нәтижесін алып тастау мақсатында осы мөлшерлегіш еріткішті қайталап өлшеу орындалуы қажет.

Егер мөлшерлегіш сипаттама тұрақсыз болса, әдістемемен қарастырылған басқа мөлшерлегіш үшін басқа мөлшерлегіш еріткіштерді қолдану арқылы бақылау қайталанады. Мөлшерлегіш сипаттамадан нәтижелердің ауытқуларының қайтадан табу кезінде жаңа мөлшерлегіш графикті құрайды.

Компоненттер ұстаудың абсолютті уақыт мәндері бойынша сәйкестендіреді.

6.7 Түзету коэффициентін белгілеу

Сынама дайындау кезінде шығынды ескеретін $К_п$ түзету коэффициенті әр анықталатын хлорорганикалық пестицид үшін зертханада әдістемені енгізу кезінде белгілеуге міндетті.

Түзету коэффициентін белгілеу үшін стандартты қоспа әдісін қолданады. Қоспа мәні бастапқы сынамадағы анықталған хлорорганикалық пестицид мөлшерінен 50 % -дан 150 % дейін құрауы тиіс. Егер бастапқы сынамадағы анықталған хлорорганикалық пестицид мөлшері өлшеу диапазонының төменгі шекарасынан аз болса, қоспа мәні өлшеу диапазонының төменгі шекарасынан 2 немесе 3 рет болуы тиіс.

Барлық сынама дайындау сатыларын қосқанда анықталған хлорорганикалық пестицидтердің стандартты қоспасымен ($С_д$)және қоспасыз зертханаға түскен бастапқы сынаманың талдауын қосарлас жүргізеді. Әр анықталған хлорорганикалық пестицидтер үшін екі шоғырлануды алады: $С_х$ (стандартты қоспасыз сынамада) және $С_{х+д}$ (стандартты қоспасы бар сынамада). Әр і-сынамадағы хлорорганикалық пестицидтер үшін түзету коэффициентінің мәні мына формула бойынша есептелінеді:

$$К_і = \frac{(С_{х+д} - С_х)}{С_д}, \quad (3)$$

мұндағы $С_Д$ – стандартты қоспаның шоғырлануы;

$С_х$ – стандартты қоспасыз сынамадағы шоғырлану;

$С_{Х+Д}$ – стандартты қоспамен сынамадағы шоғырлану.

Сипатталған процедураны әр і-сынама үшін кем дегенде 5 рет қайталайды. Түзету коэффициентін белгілеу үшін алынған сынамалардың жалпы саны 8 сынамадан 10 сынамаға дейін болуы тиіс. Әр хлорорганикалық пестицид үшін $К_п$ түзету коэффициентін $К_п$ алынған коэффициенттерінің орташа арифметикалық мәні есебінде есептейді. Әр анықталатын хлорорганикалық пестицид үшін түзету коэффициентінің мәні кем дегенде 0,6 болуы тиіс. Түзету коэффициентін оператордың ауысуы кезінде, реактивтер партияларын бақылауға арналған үлгілерді талдау жолымен тексереді. Қанағаттанарлықсыз бақылау нәтижелерін алу кезінде бұрын белгіленген $К_п$ қолданады. $К_п$ теріс бақылау нәтижелерін алған жағдайда қайтадан белгілейді.

6.8 Сынамаларды іріктеу

Сынамаларды талдауға дайындауды ГОСТ Р 51419 талаптарына сәйкес жүргізеді.

6.9 Сынақтарды жүргізу

6.9.1 Хлорорганикалық пестицидтердің сығындыларын тазартуға және шайғындауға және шайғындауды жүргізуге арналған аппаратты дайындау (ары қарай АПП)

Хлорорганикалық пестицидтер сығындыларын тазартуға және шайғындауға арналған аппарат (ары қарай АПП) А қосымшасында көрсетілген.

Жұмыс басталар алдында барлық АПП крандарының және конустарының барлық тегістелген беттерін тазартылған сумен жуады. Уатылған және талдауға дайындалған құрама шөптік немесе құрама шөп шикізатының 10 г массалық өлшендісін 250 $см^3$ сыйымдылықтағы тілімтасы бар дөңгелек түпті колбаға орналастырады, содан кейін 100 $см^3$ тазартылған суды қосады және колбаның қабырғасы бойынша 5 $см^3$ құнарланған күкірт қышқылын ақырын құяды. Колбадағы температура 35 °С жоғары көтерілмейтіндей салқын су құбырлы су жіңішке ағысы астында салқындата отырып, колбаның ішіндегісін айналмалы қозғалыспен ақырын араластырады.

Колбаны ішіндегісімен 5 минутқа қалдырады, содан кейін оған 2 $см^3$ дайындалған н-гександы құяды және АПП аппаратымен қосады, үш жүрісті кранның кернге үшжүрісті кран арқылы шығынды болдырмау үшін 10 $см^3$ сыйымдылықтағы тілімтасы бар қабылдау түтігіне жалғастырады. Тоңазытқыштың төменгі істігіне шланг көмегімен салқын су құбырлы суға қосады. Жоғарғы істікті шлангтің көмегімен төгу раковинасына қосады.

Конденсатордың жоғарғы тілімтасы арқылы құю түтігінің деңгейіне дейін тазартылған суды құяды. Мұнда 2 $см^3$ н-гександы қосады. Конденсатордың жоғарғы тілімтасын тығынмен жабады және дөңгелек түпті колбалы аппаратты қосылған май (глицеринді) моншаға немесе колба қыздырғышқа қояды, температура колбада оның қайнауы біркелкі соққысыз және асыра лақтырусыз үлгіде реттелуі тиіс. Соққысыз және асыра лақтырусыз біркелкі қайнауды қамтамасыз ету үшін дөңгелек түпті колбаға алдын ала жуылған және тесілген шыны кішкене шарларды енгізу қажет. Аппараттағы конденсат деңгейін қадағалау қажет және оның дөңгелек түпті колбаға кері лақтырылуына жол бермеу қажет. Бұл үшін конденсат артығын 100 $см^3$ сыйымдылықтағы бөлгіш құйғыштағы үш жүрісті кранның көмегімен дүркін-дүркін төгеді.

Аппараттың 1 сағ жұмысы аяқталған кезде колбадағы айдалатын мөлшердің қайнауы басталған сәттен аппаратты қыздыру көзінен алып тастайды. Аппаратты 10 минут салқындатқаннан кейін конденсатор ауасындағы мөлшерді бұл үшін үш жүрісті кранды қолдана отырып, конденсат артығын құйған сол бөлгіш құйғышқа құяды. Бөлгіш құйғыштағы сулы фазаны конустық колбаға құяды, ал гександы қабатты күкірт қышқылды сусыз натрий қабаты арқылы өткізіп, 50 $см^3$ сыйымдылықтағы дөңгелек түпті (айдалған) колбаға ауыстырады. Сулы фазаны бөлгіш құйғышқа қайтадан салады және 5 $см^3$ -ден 8 $см^3$ дейін н-гександа шайғындайды, сондай-ақ гександы фракцияны күкірт қышқылды сусыз натрийдің қабаты арқылы өткізе отырып, сол дөңгелек түпті (айдалған) колбаға ауыстырады. Гександы сығындыны 0,3 $см^3$-ден 0,5 $см^3$ дейінгі көлемде ротациялық буландырғышты пайдалану арқылы су моншасында (35 °С жоғары емесе температурада), содан кейін ауада немесе азот тогында құрғағанша булайды.

Құрғақ қалдық 1 $см^3$ н-гександы, және аликвотты ерітеді, осы көлемнен газды хроматографта хроматографтайды.

6.9.2 Хроматографтау шарттары

$5 \cdot 10^{-3}$ $см^3$ гександы сығындыны шағын шприцпен газды хроматограф буландырғышына енгізеді және 8-кестеде көрсетілген жағдайда талдайды.

8-кесте – Әр түрлі бағаналарда хлорорганикалық пестицидтерді газды хроматографиялық бөлу шарттары

Көрсеткіш атауы	1-бағана		2-бағана		3-бағана
Бағана саптамалары	N-AW-DMCS хроматонда 5 % OV – 17 (0,16 мм-нан 0,20 мм дейін)		N-супер хроматонда 3 % OV-210 (0,125 мм-нан 0,160 мм дейін)		N-AW-DMCS хроматонда 5 % SE-30 (0,16 мм –нан 0,20 мм дейін)
Бағана ұзындығы (см) және ішкі диаметр (мм)	100 × 3	100 × 3	100 × 3	100 × 3	150 × 3
Бағана температурасы, °С	170	210	160	190	190
Буланғыш температурасы, °С	220	220	220	220	210
Детектор температурасы, °С	230	230	230	230	230
Газ тасушы ағынның жылдамдығы, $см^3$/мин	40	40	35	35	60
Енгізілетін сынама көлемі, $см^3$	$5 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-3}$
ХОП ұстау уақыты					
γ - ГХЦГ (линдан)	5 мин 32 с	-	4 мин 22 с	-	2 мин 10 с
α – ГХЦГ	3 мин 10 с	-	3 мин 15 с	-	1 мин 20 с
ДДЭ	-	4 мин 3 с	-	4 мин 37 с	7 мин 53 с
ДДТ	-	7 мин 26 с	-	11 мин 42 с	14 мин 00 с
ДДД	-	6 мин 0,3 с	-	6 мин 56 с	10 мин 51 с

6.9.3 Сынақты жүргізгеннен кейін химиялық ыдысты өңдеу

Дөңгелек түпті колбаны 5:1 қатынасындағы сулы-ацетонды қоспаны араластырады, колбаны АПП аппаратына қосады және 15 минуттан 20 минутқа дейін қайнатады. Содан кейін дөңгелек түпті колбаны ажыратады, және АПП тазартылған сумен мұқият жуады. Барлық көмекші шыны ыдысты ацетонмен жуады, содан кейін тазартылған сумен жуады.

6.10 Нәтижелерді өңдеу

6.10.1 Сынамада талданатын Х хлорорганикалық пестицидтердің қалған мөлшерінің шоғырлануы, мг/кг, талданатын сынамада мына формула бойынша сынама дайындау кезінде шығынды ескере отырып, мөлшерлегіш графикке сәйкес есептейді:

$$X = \frac{m_1 V_1 \cdot 10^3}{m_2 V_2 K_n}, \quad (4)$$

мұндағы m_1, - мөлшерлегіш график бойынша анықталған хлорорганикалық пестицидтің массасы, мг;

V_1 – хроматографиялау үшін аликвот алынған ерітіндінің жалпы көлемі, $дм^3$;

m_2 – талданатын сынама өлшендісінің массасы, г;

V_2 – хроматографқа енгізілген аликвоттар көлемі, $дм^3$;

K_n – сынама дайындау кезінде шығынды ескеретін түзету коэффициенті.

Есептеулерді үшінші ондық белгіге дейін жүргізеді. Соңғы нәтижені екінші ондық белгіге дейін дөңгелектейді.

6.10.2 Талдаудың соңғы нәтижесі үшін екі қосарлас анықтамалар нәтижелерінің орташа арифметикалық мәнін қабылдайды.

Қосарлас анықтамалар арасындағы айырмашылық *r* қайталанушылық шектігінен аспауы тиіс. Барлық анықталатын хлорорганикалық пестицидтер үшін қайталанушылық шектігі 20 % құрайды.

6.10.3 Екі зертханадағы талдау нәтижелерін алу кезінде соңғы нәтижеге екі зертханада алынған талдау нәтижелерінің орташа арифметикалық мәнін қабылдайды. Екі зертханадағы талдау нәтижелерінің арасындағы айырмашылық R жаңғыртушылық шектігінен аспауы тиіс. Барлық анықталған хлорорганикалық пестицидтер үшін жаңғыртушылық шектігі 40 % құрайды.

Дәлдік, қайталанушылық және жаңғыртушылық көрсеткіштерінің мәндері 9-кестеде көрсетілген.

9-кесте – Дәлдік, қайталанушылық және жаңғыртушылық көрсеткіштері

Қосылыс атауы	Қайталанушылық көрсеткіші	Жаңғыртушылық көрсеткіші	Дәлдік көрсеткіші (сенімді ықтималдылық кезінде P = 0,95) ± δ, %
γ - ГХЦГ (линдан)	7	14	30
α – ГХЦГ			
ДДЭ			
ДДТ			
ДДД			
ЕСКЕРТПЕ Жүйелі құрылатын қателіксіз мәнсіз.			

6.11 Нәтижелерді рәсімдеу

6.11.1 X талдауының нәтижесі, мг/кг, құжатта оның қолдануы қарастырылғанда, ол мынадай түрде ұсынылуы мүмкін:

$$X \pm \Delta, \text{ мг/кг}, P = 0,95, \quad (5)$$

мұндағы мына формула бойынша есептелінген Δ - P = 0,95 ықтималдылығымен қабылданған дәлдік көрсеткіші:

$$X = \delta \cdot 0,01 \cdot X, \quad (6)$$

мұндағы δ – 9-кесте бойынша дәлдік көрсеткішінің мәні.

$\Delta n < \Delta$ шарты кезінде зертханаларда жіберілетін сынақтар нәтижесі X ± Δ, мг/кг, P = 0,95 түрінде рұқсат етіледі, мұндағы ± Δn – зертханада сынау кезінде белгіленген және өлшеу нәтижелерінің тұрақтылығын бақылауды қамтамасыз ететін өлшеу нәтижелерінің қателік сипаттамаларының мәні.

6.12 Өлшеулерді орындау процедураларын орындаушымен бақылау

Өлшеулерді орындау процедураларын орындаушымен бақылау бақылауға арналған үлгілерді қолдану арқылы жүргізіледі. Осындай үлгілердің есебінде (басымдылықтың төмендеу тәртібінде) талданатын өнімі құрамының стандартты үлгілері қолданылады; зертханааралық салыстырмалы тәжірибе негізінде белгіленген талданатын компоненттер құрамына арналған үлгілер; осы әдіспен зертханада бірнеше рет талданған үлгілер.

К нормативті бақылауы бар $К_к$ бақылау процедураларының нәтижесін салыстырады. Бақылау процедураларының нәтижесін мына формула бойынша есептейді:

$$К_к = Х - С, \quad (7)$$

мұндағы С – тірек (аттестацияланған) мән, мг/кг;

Х – бақылауға арналған үлгідегі пестицидтердің болуын анықтау нәтижесі, мг/кг.

К бақылауының нормативі есебінде (Δn, мг/кг) әдістемесін іске асыру кезінде және зертханада белгіленген өлшеу қателіктерінің сипаттамасының мәнін қабылдайды; егер бұл мәндер әлі де белгіленбесе (мысалы, әдістемені игеру кезінде), онда Δn орнына Δ мәнін қолданады. Егер $К_к \leq К$ болса, бақылау процедураларының сапасы қанағаттанарлық деп танылады. Теңсіздікті орындамаған кезде (3-формуланы қарау) бақылау процедурасын қайталайды. Қанағаттанарлықсыз нәтиже қайталанған жағдайда қанағаттанарлық нәтижелерге әкелген себептерді табады және жояды.

6.13 Жаңғыртушылық жағдайында алынған нәтижелердің тиімділігін бағалау

Екі зертханада алынған нәтижелер арасындағы айырмашылық жаңғыртушылық шектігінен аспауы тиіс.

Осы шартты орындау кезінде екі нәтиже де тиімді және оның тұжырымы есебінде олардың орташа мәні қолданыла алады.

Жаңғыртушылық шектігін арттырған кезде ГОСТ Р ИСО 5725-6 сәйкес өлшеу нәтижелерінің тиімділігін бағалау әдістері қолданылуы мүмкін.

7 Өлшеулер нәтижелерінің сапасын бақылау

Өлшеулер нәтижелерінің сапасын бақылау зертханада әдістемені іске асыру кезінде қарастырады:

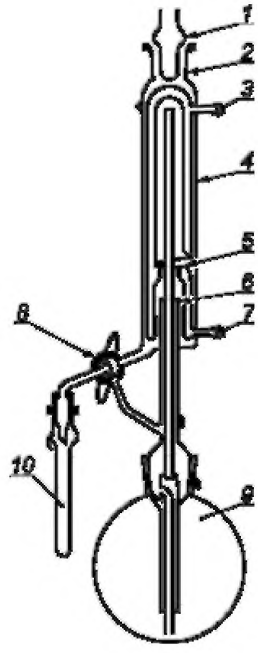
- нәтижелердің тиімділігін бағалау негізінде, қайталанушылық жағдайында өлшеулерді орындау процедураларын орындаушымен бақылау;
- жеке бақылау процедураларын іске асыру кезінде өлшеу қателіктерін бағалау негізінде өлшеулерді орындау процедураларын орындаушымен бақылау;
- қателік және дәл нәзіктік аралық (ішкі зертханалық) ОША, қайталанушылықтың орташа шаршылық ауытқуы (ОША) тұрақтылығын бақылау негізінде өлшеу нәтижелерінің тұрақтылығын бақылау.

Жекелеген бақылау процедуралары кезінде іске асырылу кезінде өлшеу қателігін бағалау негізінде талдауды орындау процедураларын орындаушымен бақылау мерзімділігі, сондай-ақ өлшеу нәтижелерінің тұрақтылығын бақылаудың іске асырылатын процедуралары зертхана сапасы жөніндегі нұсқаулықта регламенттеледі.

Өлшеу дәлдігін бақылау (қайталанушылық және жаңғыртушылық) ГОСТ ИСО 5725-1 және ГОСТ ИСО 5725-2 талаптарына сәйкес жүргізеді.

Қайталанушылық (ұқсастық) және жаңғыртушылық жағдайында алынған өлшеу нәтижелерінің тиімділігін тексеру ГОСТ ИСО 5725-6 бойынша жүзеге асырылады.

А қосымшасы
(міндетті)



1 — бос орын; *2* —конденсатордың жоғарғы тілімтасы, *3* — жоғарғы істік (суды ағызу); *4* — конденсатор; 5 — конденсаттың максималды деңгейі; *6* — су ағызу түтігінің деңгейі: 7 — төменгі істік (судың кіруі); 8 — үш жүрісті кран. 9 — тілімтасы бар дөңгелек түпті колба; *10* — тілімтасы бар қабылдау түтігі.

А.1-суреті – Хлорорганикалық пестицидтердің шайғындауына және сығындысын тазартуға арналған аппарат

ӘӨЖ 502.5+612.39.7/.8+663.97:[543.393:543.544]:35 **МСЖ 13.060.01 67.040 65.120 65.020.20**

Түйінді сөздер: пестицидтер, жұқа қабатты хроматография, жоғары тиімділікті сұйықтықты хроматография, газ сұйықтықты хроматография, хроматографиялық бағаналар

Ескертулер үшін



ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ВОДА, ПРОДУКТЫ ПИТАНИЯ, КОРМА И ТАБАЧНЫЕ ИЗДЕЛИЯ

Определение хлорорганических пестицидов хроматографическими методами

СТ РК 2011-2010

Издание официальное

**Комитет технического регулирования и метрологии
Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан
(Госстандарт)**

Астана

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН республиканским государственным предприятием «Казахстанский институт стандартизации и сертификации» Комитета технического регулирования и метрологии и ТК по стандартизации № 71 в области экологической безопасности «Объекты окружающей среды. Промышленные отходы».

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Председателя Комитета технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан от 08 ноября 2010 г. № 500-од.

3 В настоящем стандарте реализованы положения Закона Республики Казахстан «О техническом регулировании» от 9 ноября 2004 года № 603-II и учтены требования «Методические указания по групповой идентификации хлорорганических пестицидов и их метаболитов в биоматериале, продуктах питания и объектах окружающей среды методом адсорбционной высокоэффективной жидкостной хроматографии» № 6129-91 от 29.07.91г., Клисенко, том 1, ЛИВ Антонов 1989г., ГОСТ Р 52698-2006.

4 СРОК ПЕРВОЙ ПРОВЕРКИ 2014 год
ПЕРИОДИЧНОСТЬ ПРОВЕРКИ 5 лет

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в указателе «Нормативные документы по стандартизации», а текст изменений – в ежемесячных информационных указателях «Государственные стандарты». В случае пересмотра (отмены) или замены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована в информационном указателе «Государственные стандарты»

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Комитета технического регулирования и метрологии Министерства индустрии и новых технологий Республики Казахстан

Содержание

1 Область применения 1

2 Нормативные ссылки 1

3 Требования к выполнению измерений 3

4 Метод тонкослойной хроматографии 3

5 Метод адсорбционной высокоэффективной жидкостной хроматографии 13

6 Определение ХОП в комбикормах и комбикормовом сырье методом газожидкостной хроматографии 16

7 Контроль качества результатов измерений 25

Приложение А (обязательное) 26

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ВОДА, ПРОДУКТЫ ПИТАНИЯ, КОРМА И ТАБАЧНЫЕ ИЗДЕЛИЯ

Определение хлорорганических пестицидов хроматографическими методами

Дата введения 2012-01-01

1 Область применения

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

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

Технические требования к контролируемому показателю установлены в Техническом регламенте «Требования к безопасности кормов и кормовых добавок», Техническом регламенте «Требования к безопасности питьевой воды для населения», Техническом регламенте «Требования к безопасности мяса и мясной продукции», Технический регламент «Требования к безопасности молока и молочной продукции», «Санитарно-эпидемиологические требования к пищевой продукции».

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные нормативные документы:

Технический регламент «Общие требования к пожарной безопасности» от 16.01.2009г. № 14, утвержден Постановлением Правительства Республики Казахстан.

Технический регламент «Требования к безопасности пожарной техники для защиты объектов» от 16.01.2009г. № 16, утвержден Постановлением Правительства Республики Казахстан.

Технический регламент «Требования к безопасности молока и молочной продукции», от 11.03.2008 года № 230, утвержден Постановлением Правительства Республики Казахстан.

Технический регламент «Требования к безопасности кормов и кормовых добавок» от 18 марта 2008г. № 263, утвержден Постановлением Правительства Республики Казахстан.

Технический регламент «Требования к безопасности мяса и мясной продукции» от 8.04.2008 года № 336, утвержден Постановлением Правительства Республики Казахстана.

Технический регламент «Требования к безопасности питьевой воды для населения» от 13.05.2008г. № 456, утвержден Постановлением Правительства Республики Казахстан.

Издание официальное

СТ РК 1.9-2007 Порядок применений международных, региональных и национальных стандартов и нормативных документов по стандартизации в Республике Казахстан.

СТ РК 2.21-2007 Государственная система обеспечения единства измерений Республики Казахстан. Порядок проведения испытаний и утверждения типа средств измерений.

СТ РК 2.30-2007 ГСИ РК. Порядок проведения метрологической аттестации средств измерений.

СТ РК 2.4-2007 ГСИ РК. Поверка средств измерений. Организация и порядок проведения.

СТ РК 2.75-2009 Государственная система обеспечения единства измерений Республики Казахстан. Порядок аттестации испытательного оборудования.

ГОСТ 12.1.019-79 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.

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

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

ГОСТ 2603-79 Ацетон. Технические условия.

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

ГОСТ 3956-76 Силикагель технический. Технические условия.

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

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

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

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

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

ГОСТ 5962-67 Спирт этиловый ректификованный. Технические условия.

ГОСТ 6709-72 - Вода дистиллированная. Технические условия.

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

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

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

ГОСТ 12026-76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия.

ГОСТ 20015-88 Хлороформ. Технические условия.

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

ГОСТ 24104-2001 Весы лабораторные. Общие технические требования

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

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

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

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

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

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

---

* Применяется в соответствии СТ РК 1.9.

ГОСТ Р 51419-99* Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Подготовка испытуемых проб.

«Санитарно-эпидемиологические требования к пищевой продукции», Приказ МЗ РК № 611 от 6.08.10г.

ПРИМЕЧАНИЕ При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов по ежегодно издаваемому информационному указателю «Нормативные документы по стандартизации» по состоянию на текущий год и соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный документ заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться замененным (измененным) документом. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающий эту ссылку.

3 Требования к выполнению измерений

3.1 Условия безопасного проведения работ

3.1.1 К практическому выполнению анализов допускаются специалисты, прошедшие инструктаж по технике безопасности при работе в лаборатории (с отметкой в журнале инструктажа) и ознакомившиеся с настоящим стандартом.

3.1.2 Электробезопасность при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019.

3.1.3 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по Техническому регламенту «Общие требования к пожарной безопасности» и иметь средства пожаротушения в соответствии с Техническим регламентом «Требования к безопасности пожарной техники для защиты объектов».

3.2 Требования к квалификации специалистов

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

3.3 Условия выполнения измерений

- температура окружающего воздуха (20 ± 10) °С;
- атмосферное давление от 84 кПа до 106,7 кПа;
- относительная влажность (65 ± 15) %.

3.4 Необходимо соблюдать правила безопасности при работе с органическими растворителями, токсичными веществами, концентрированными кислотами.

4 Метод тонкослойной хроматографии

4.1 Сущность метода

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

4.2 Метрологическая характеристика метода указана в Таблице 1.

Таблица 1 - Метрологическая характеристика

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

Диапазон определяемых концентраций от 0,005 мг/кг до 2,0 мг/кг или мг/дм^3.

4.3 Аппаратура, материалы и реактивы

4.3.1 Аппаратура и материалы

- весы аналитические специального класса точности с наибольшим пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,0001 г, по ГОСТ 24104;
- весы лабораторные высокого класса точности с наибольшим пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,01 г, по ГОСТ 24104;
- испаритель ротационный по действующей нормативной документации;
- аппарат для встряхивания по действующей нормативной документации;
- облучатель хроматографический УФС-254 или ртутно-кварцевая лампа ПРК-4;
- колбы перегонные К-1-250-29/32 по ГОСТ 25336;
- колбы Гр-25-14/23 по ГОСТ 25336;
- колбы мерные 2-50-2; 2-100-2; 2-500-2 по ГОСТ 1770;
- воронка В-56-80 ХС по ГОСТ 25336;
- колба коническая Кн-1-250-29/32 по ГОСТ 25336;
- цилиндры мерные 1-50, 1-100 по ГОСТ 1770;
- пробирки с притертыми пробками вместимостью 10 см^3 по ГОСТ 25336;
- стеклянные банки с притертыми крышками, вместимостью 500, 1000 см^3№;
- воронки делительные ВД-100-29/32, ВД-250-29/32 по ГОСТ 25336;
- стакан В-1-50 по ГОСТ 25336;
- пипетки 1-2-2-5, 1-2-2-10 по ГОСТ 29227.;
- палочка из химико-лабораторного стекла по ГОСТ 21400;
- бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026 или фильтры бумажные;
- пластинки хроматографические по действующей нормативной документации;
- камера для хроматографирования: сосуд с плоским дном, закрывающийся пришлифованной крышкой, или эксикатор по ГОСТ 25336;
- пульверизатор стеклянный;
- колонка стеклянная хроматографическая для очистки экстрактов из продуктов,

содержащих жир: узкая часть - длина (50 ± 2) см, диаметр (1,7 ± 0,3) см, широкая часть - длина (1,5 ± 2) см, диаметр (2,5 ± 0,2) см.

4.3.2 Реактивы

- кислота серная по ГОСТ 4204, х.ч., плотностью 1,84 г/см^3;
- гексан, ч., очищенный концентрированной серной кислотой, отмытый дистиллированной водой, высушенный кристаллическим едким кали и перегнанный с дефлегматором;
- ацетон по ГОСТ 2603, х.ч., перегнанный;
- аммиак водный по ГОСТ 3760, ч.д.а.;
- спирт этиловый ректификованный технический по ГОСТ 5962;
- хлороформ, х.ч., перегнанный по ГОСТ 20015;
- эфир диэтиловый по действующей нормативной документации;
- водорода пероксид по ГОСТ 10929, 30 %-ный раствор;
- натрий сульфат безводный по ГОСТ 4166, ч.;
- натрий углекислый кислый по ГОСТ 4201, ч. д. а.;
- калий щавелевокислый по действующей нормативной документации;
- натрий хлористый по ГОСТ 4233, х.ч.;
- четыреххлористый углерод по действующей нормативной документации;
- серебро азотнокислое по ГОСТ 1277, х.ч.;
- силикагель марки АСК, измельченный и просеянный через сито 0,30 мм по ГОСТ 3956;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709;
- уголь активированный любой марки;
- бумага индикаторная универсальная для определения pH;
- стандартные государственные образцы (ГСО) состава хлорорганических пестицидов: ДДТ, ДДД, ДДЭ, ГХЦГ вещества гарантированной частоты с содержанием основного вещества не менее 90 %;
- аттестованные смеси состава растворов хлорорганических пестицидов: ДДТ, ДДД, ДДЭ, ГХЦГ.

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

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Применяемые средства измерений подлежат испытаниям с целью утверждения типа в соответствии с СТ РК 2.21 или метрологической аттестации в соответствии с СТ РК 2.30, поверке средств измерений в соответствии с СТ РК 2.4 и внесению в реестр государственной системы обеспечения единства измерений Республики Казахстан, испытательное оборудование подлежит аттестации в соответствии с СТ РК 2.75».

4.4 Подготовка к испытаниям

4.4.1 Очистка силикагеля марки АСК

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

4.4.2 Очистка ваты

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

4.4.3 Подготовка хроматографической колонки для очистки от жиров

В нижнюю часть колонки помещают кусочек очищенной ваты, насыпают силикагель АСК на высоту (26,0 ± 0,5) см, уплотняют постукиванием по колонке деревянной

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

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

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

4.4.5 Приготовление проявляющих реактивов

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

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

4.4.6 Подготовка хроматографической камеры

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

4.4.7 Приготовление основных растворов пестицидов с массовой концентрацией 100 $мкг/см^3$.

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

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

4.4.8 Подготовка пластин "Силуфол" для хроматографирования

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

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

4.5 Отбор проб

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

4.6 Проведение испытаний

4.6.1 Экстракция

4.6.1.1 Экстракция и очистка экстракта из воды и вина

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

4.6.1.2 Экстракция и очистка экстракта из овощей и фруктов

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

4.6.1.3 Экстракция и очистка экстракта из зерна и грибов

Из измельченных проб отбирают 20 г зерна, 50 г сырых или 10 г сухих грибов и помещают в колбы с притёртыми пробками. Экстракцию пестицидов проводят трижды на приборе для встряхивания гексаном или эфиром порциями по 30 $см^3$. Объединенные экстракты переносят в делительную воронку, прибавляют 10 $см^3$ насыщенного раствора безводного сернокислого натрия в серной кислоте и осторожно встряхивают несколько раз. Отделяют органический слой и повторяют обработку до тех пор, пока кислота не станет бесцветной. Экстракт промывают дистиллированной водой, сушат безводным сернокислым натрием и отгоняют растворитель.

4.6.1.4 Экстракция и очистка экстракта из яблок, капусты, травы и сена

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

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

4.6.1.5 Экстракция и очистка экстракта из комбикорм

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

очистку серной кислотой, как описано выше.

4.6.1.6 Экстракция и очистка экстракта из шрота, лузги, жмыха

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

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

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

4.6.1.7 Экстракция и очистка экстракта из рыбы, мяса и мясопродуктов

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

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

колоночную очистку, как описано выше.

4.6.1.8 Экстракция и очистка экстракта животного жира, яйца, яичного порошка

Жир измельчают на мясорубке, яичный порошок тщательно перемешивают, в яйце отделяют желток от белка, взвешивают желток и белок, а для анализа берут только желток. Конечный расчет содержания хлорорганических пестицидов в яйце приводят на все яйцо. Желтки тщательно перемешивают, пробу 25 г из подготовленного образца заливают 50 $см^3$ ацетона, перемешивают и нагревают на горячей водяной бане до закипания растворителя. Колбу охлаждают, добавляют в нее 10 $см^3$ охлажденного 2 %-ного раствора сернокислого натрия, перемешивают и охлаждают 45 мин на ледяной бане. Затем сливают ацетоновый слой в круглодонную колбу через слой обезжиренной ваты. Экстракцию ацетоном с последующим вымораживанием жира повторяет еще 2 раза.

Из объединенных экстрактов отгоняют ацетон на ротационном испарителе или в приборе для отгонки растворителей (температура бани не более (70 ± 2) °С) и трижды экстрагируют эфиром порциями 20, 10 и 10 $см^3$. Продолжительность первой экстракции 1 ч, последующих 15 мин. Эфир переносят в делительную воронку с 40 $см^3$ 2 %-ного водного раствора сернокислого натрия, перемешивают содержимое в течение 2 мин, дают слоям разделиться и водную фазу отбрасывают. Чтобы улучшить разделение слоев, можно добавить несколько миллилитров насыщенного раствора сернокислого натрия.

Операцию промывки экстракта повторяют еще 2 раза, после чего эфир сливают в стакан с 20 г безводного сернокислого натрия, ополаскивают делительную воронку дважды 5 $см^3$ эфира. Подсушенный экстракт количественно переносят в мерный цилиндр на 50 $см^3$ и доводят объем раствора эфиром до 30 $см^3$.

Далее наносят 30 $см^3$ экстракта в колонку с силикагелем АСК, как указано выше. Для проб свиного жира насыпают 75 $см^3$ силикагеля АСК, для всех остальных проб 70 $см^3$. Очистку экстрактов проводят так же, как описано для проб мяса. Элюат собирают в круглодонную колбу на 150 $см^3$, растворитель упаривают до объема нескольких капель и наносят на хроматографическую пластинку.

4.6.1.9 Экстракция и очистка экстракта из меда

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

4.6.1.10 Экстракция и очистка экстракта из сахара

Из навески 50 г сахара, предварительно растворенного в воде, пестициды экстрагируют в делительной воронке на 250 $см^3$ гексаном. Экстракцию пестицидов проводят трижды по 50, 25 и 25 $см^3$ растворителя, каждый раз встряхивая по 5 мин. Объединенные гексановые экстракты очищают от коэкстрактивных веществ (красящие, аминокислоты, липиды) сернокислотным способом.

4.6.1.11 Экстракция и очистка экстракта из молока и цельномолочных продуктов

Для подготовки проб можно использовать один из приведенных способов.

4.6.1.11.1 Первый способ

Он применим для работы со сливками, сметаной, молоком и другими цельномолочными продуктами. Для, анализа берут 20 г сливок и сметаны, которые разводят равным объемом дистиллированной воды, к 50 $см^3$ молока, кефира прибавляют концентрированную серную кислоту от 30 $см^3$ до 40 $см^3$ до полного почернения пробы. Охлажденный от 10 °С до 15 °С раствор переносят в делительную воронку и экстрагируют препараты гексаном 2 раза порциями по 25 $см^3$. Для полного извлечения воронку встряхивают 2 мин, затем оставляют ее на 30 мин до полного разделения слоев. Если

образуется эмульсия, прибавляют от 1 $см^3$ до 2 $см^3$ этилового спирта. К объединенным экстрактам и делительной воронке прибавляют 10 $см^3$ концентрированной серной кислоты, насыщенной сернокислым натрием, и осторожно встряхивают несколько раз. Очистку продолжают до получения бесцветной серной кислоты.

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

4.6.1.11.2 Второй способ

Его применяют для анализа молока, кефира, простокваши, кумыса и других цельномолочных продуктов. Пробу продукта 25 $см^3$ помещают в делительную воронку на 300 $см^3$, приливают по 5 $см^3$ 5 % щавелевокислого калия и насыщенного раствора хлористого натрия, перемешивают, приливают 100 $см^3$ ацетона, встряхивают 2 мин. Приливают 100 $см^3$ хлороформа и встряхивают 2 мин. Воронку оставляют до полного разделения слоев. Верхнюю фазу отбрасывают, а нижнюю выливают в круглодонную колбу со шлифом и испаряют растворитель досуха. Остаток смывают 30 $см^3$ гексана.

4.6.1.12 Экстракция и очистка экстракта из сгущенного молока, 10 и 20%-ных сливок

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

4.6.1.13 Экстракция и очистка экстракта из сгущенных молочных продуктов

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

4.6.1.14 Экстракция и очистка экстракта из сухих молочных продуктов

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

4.6.1.15 Экстракция и очистка экстракта из сметаны, 30 и 40%-ных сливок

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

4.6.1.16 Экстракция и очистка экстракта из творога и сыра

Навеску 10 г творога или измельченного на терке сыра растирают с 10 $см^3$ насыщенного раствора хлористого натрия и переносят в делительную воронку на от 250 $см^3$ до 300 $см^3$. Прибавляют 80 $см^3$ ацетона, встряхивают 2 мин, приливают 100 $см^3$

хлороформа и вновь встряхивают.

Нижнюю фазу используют для анализа после отгонки растворителей, растворив остаток в 30 $см^3$ гексана.

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

4.6.1.17 Экстракция и очистка экстракта из сливочного масла

20 г сливочного масла растапливают на водяной бане в круглодонной колбе, прибавляют 50 $см^3$ ацетона, тщательно перемешивают до растворения - жира, прибавляют 10 $см^3$ ледяной дистиллированной воды и охлаждают на льду до затвердения жира 30 мин. Сливают ацетоновый экстракт и процедуру повторяют еще 2 раза. Из объединенных экстрактов в круглодонной колбе ацетон отгоняют на водяной бане. Пестициды экстрагируют из оставшегося водного экстракта гексаном тремя порциями по 10 $см^3$ в течение 5 мин. Объединенные гексановые экстракты в делительной воронке обрабатывают серной кислотой с сернокислым натрием. Очищенный экстракт сушат безводным сернокислым натрием и упаривают.

4.6.1.18 Экстракция и очистка экстракта из табака и табачных изделий

Навеску табака 5 г помещают в стеклянный стакан на 500 $см^3$, заливают 50 $см^3$ концентрированной серной кислоты и стеклянной палочкой тщательно размешивают до полного равномерного обугливания пробы. Спустя, от 10 мин до 15 мин в колбу добавляют 25 $см^3$ гексана, тщательно размешивают содержимое и прибавляют 25 $см^3$ четыреххлористого углерода. Экстракцию пестицидов из пробы проводят в течение 15 мин трижды, после чего экстракт последовательно переносят в делительную воронку для однократной или двукратной дополнительной очистки серной кислотой.

4.7 Хроматографирование

На хроматографическую пластинку на расстоянии 1,5 см от ее края шприцем или микропипеткой наносят исследуемую пробу в одну точку на линию старта, находящуюся от нижнего края на расстоянии 1 см так, чтобы диаметр пятна не превышал 1 см. Остаток экстракта в колбочке смывают тремя порциями по 0,2 $см^3$ диэтилового эфира, которые наносят в центр первого пятна. Справа и слева от пробы на расстоянии 2 см наносят стандартные образцы, содержащие 10, 5 и 1 мкг исследуемых препаратов (или другие концентрации, близкие к определяемым). Затем пластинки подсушивают на воздухе.

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

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

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

После того как фронт растворителя поднимется на 10 см, пластинку вынимают из камеры и оставляют на несколько минут для испарения растворителя. Далее пластинку

орошают проявляющим реактивом и подвергают действию ультрафиолетового света в течение от 10 мин до 15 мин. Пластинки следует располагать на расстоянии 20 см от источника света. При наличии хлорорганических пестицидов на пластинке появляются пятна серо-черного цвета.

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

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

Величины Rf пестицидов приведены в Таблице 2.

Таблица 2 - Величины Rf пестицидов

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

4.8 Обработка результатов

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

$$X = \frac{mS_1V_1}{m_1S_2V_2}, \quad (1)$$

где m - масса пестицида в 1 $см^3$ стандартного образца, мкг;

m_1 - масса навески исследуемой пробы, г;

S_1 - площадь пятна, полученного при нанесении испытуемого экстракта, $мм^2$;

S_2 - площадь пятна, полученного при нанесении стандартного образца, $мм^2$;

V_1 - объем экстракта, в котором перерастворен сухой остаток, $см^3$;

V_2 - объем исследуемого экстракта, нанесенного на пластинку, $см^3$.

При нанесении всей пробы $V_1 = V_2$.

4.8.2 Вычисления производят до первого десятичного знака. Окончательный результат округляют до целого числа.

4.8.3 За окончательный результат испытаний принимают среднее арифметическое результатов ($\overline{X}$) двух параллельных определений, расхождение между которыми при доверительной вероятности P = 0,95 не должно превышать значений, указанных в Таблице 1.

5 Метод адсорбционной высокоэффективной жидкостной хроматографии (далее ВЭЖХ)

5.1 Сущность метода

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

5.2 Метрологическая характеристика метода

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

Таблица 3 - Параметры ВЭЖХ анализа хлорорганических соединений и их метаболитов

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

5.3 Избирательность метода

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

5.4 Аппаратура, материалы и реактивы

5.4.1 Аппаратура и материалы

- хроматограф микроколоночный жидкостный типа «Милихром» по действующей нормативной документации;
- колонка стандартная металлическая (50 мм х 2 мм) с сорбентом «Силасорб-600» 5 мкм;
- весы аналитические специального класса точности с наибольшим пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,0001 г, по ГОСТ 24104;
- испаритель ротационный по действующей нормативной документации;
-линейка металлическая по ГОСТ 25706;
-воронки конические по ГОСТ 25336;
- колбы круглодонные со шлифом на 100 $см^3$ поГОСТ 25336;
- колбы плоскодонные с пришлифованной пробкой на 100 $см^3$ по ГОСТ 25336;
- пипетки мерные на 1 $см^3$ по ГОСТ 1770;
- пробирки мерные на 10 $см^3$ по ГОСТ 1770;
- цилиндры мерные на 50 и 100 $см^3$ по ГОСТ 1770.

5.4.2 Реактивы

- ацетон, о.с.ч. по действующей нормативной документации;
- н-гексан, ч. по действующей нормативной документации;
- натрия сульфат безводный, ч. по ГОСТ 4166;
- серная кислота, ч.д.а. по ГОСТ 4204;
- фильтры «синяя лента»;
- государственный стандартный образец многокомпонентной смеси ХОП и их метаболитов в н-гексане с концентрацией индивидуальных компонентов по 100 мкг/$см^3$

5.5 Отбор проб

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

5.6 Подготовка к испытаниям

5.6.1 Подготовка хроматографической системы

5.6.1.1 Приготовление элюента

Элюирующую смесь - н-гексан-ацетон в объемном соотношении 6:1 готовят в день проведения анализа проб: цилиндром вместимостью 100 $см^3$ отмеряют 90 $см^3$ н-гексана, который выливают в плоскодонную колбу с пришлифованной пробкой, туда же приливают 15 $см^3$ ацетона, колбу закрывает пробкой и ее содержимое перемешивают при легком взбалтывании. Затем элюирующую смесь фильтруют через складчатый фильтр с прокаленным сульфатом натрия в сосуд для элюента.

5.6.1.2 Подготовка хроматографа к проведению испытаний

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

5.7 Проведение анализа

5.7.1 Подготовка проб проводится в соответствии по п. 4.6.1. Оставшийся небольшой объём экстракта переносят в мерную пробирку и упаривают досуха. Сухой остаток пробы растворяют до 0,2 $см^3$ элюента (смесь н-гексана с ацетоном 6:1) и проводят хроматографическое разделение и идентификацию отдельных групп ХОП и метаболитов.

5.7.2 Хроматографическое разделение и идентификация отдельных групп ХОП и их метаболитов

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

- неподвижная фаза - «Силасорб-600», 5 мкм;
- подвижная фаза - гексан-ацетон в объемном соотношении 6:1;
- скорость элюирующего потока 200 мкл/мин;
- детектор переменно-волновой спектрофотометр с проточной ячейкой 1,6 мкл, под диапазон чувствительности 3,2 А;
- время измерения выходного сигнала 0,6 с;
- скорость протяжки диаграммной ленты 720 мм/ч;
- длина волны (λ) поглощения светового потока (нм) определяется идентифицируемой группой соединений.

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

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

ПРИМЕР 1. Из 0,2 $см^3$ сконцентрированного раствора пробы в элюенте 20 мкл вводят в хроматографическую колонку, проводят анализ при 280 нм в ранее описанном режиме.

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

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

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

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

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

ПРИМЕР 2. Аликвотная часть конечного раствора исследуемой пробы в элюенте вводится в хроматограф и проводится разделение смеси ХОП неизвестного состава при 230 нм. В этих условиях регистрируемые выходные сигналы позволит идентифицировать следующие группы соединений: хлорбензолы (время удерживания от 160 мкл до 180 мкл); 4.4'-ДДТ и его производные (время удерживания от 235 мкл до 260 мкл; время удерживания 4,4-ДДЭ 190 мкл). Однако идентификация последних может быть

затруднена наличием в пробах хлорфенолов (3-, 3,4- и 2,3,5,6-хлорфенолы имеют близкие с компонентами группы ДДТ объемы удерживания). Поэтому окончательную идентификацию осуществляют после повторного хроматографирования пробы при 220 нм, близкой к максимально указанных хлорфенольных соединений. Надежность идентификации может быть повышена снятием развернутого спектра поглощения при остановке процесса хроматографирования на соответствующем выходном сигнале с дискретностью 10 нм или 2 нм.

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

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

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

5.8 Обработка результатов испытаний

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

6 Определение ХОП в комбикормах и комбикормовом сырье методом газожидкостной хроматографии

6.1 Сущность метода

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

Таблица 4 - Диапазон определяемых концентраций

Наименование соединений	Диапазон измеряемых концентрация, мг/кг	Минимально детектируемые количества, нг
γ - ГХЦГ (линдан)	0,001-0,1	0,001
α – ГХЦГ	0,001-0,1	0,001
ДДЭ	0,007-0,1	0,06
ДДТ	0,007-0,4	0,06
ДДД	0,007-0,2	0,06

6.2 Аппаратура, материалы и реактивы

6.2.1 Аппаратура и материалы

- газовый хроматограф, оснащенный детектором захвата электронов (ДЭЗ) или детектором постоянной скорости рекомбинации (ДПР);
- весы аналитические специального класса точности с наибольшим пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,0001 г, по ГОСТ 24104;
- весы лабораторные высокого класса точности с наибольшим пределом допускаемой абсолютной погрешности ± 0,01 г, по ГОСТ 24104;
- аппарат для экстракции и очистки экстрактов пестицидов;
- испаритель вакуумный ротационный;
- установка для перегонки органических растворителей, состоящая из круглодонной колбы вместимостью 1 $дм^3$, дефлегматора длиной 30 см и диаметром 2 см, приемной колбой вместимостью 250 $см^3$, аллонжа и водяной бани или колбонагревателя температурой нагрева от 40 °С до 80 °С, снабженных регулятором температуры.
- шкаф сушильный, обеспечивающий создание и поддержание заданной температуры в рабочей зоне высушивания от 100 °С до 220 °С с погрешностью ±2 °С по действующей нормативной документации;
- холодильник бытовой, обеспечивающий температуру холодильной камеры от плюс 4 °С до плюс 6 °С.
- микрошприц МШ-10 вместимостью 10 мкл;
- колбонагреватель или электрическая плитка;
- баня масляная или глицериновая;
- колонки хроматографические стеклянные для газового хроматографа: длиной 1,0 м диаметром 3 мм и длиной 1,5 м диаметром 3;
- насадки для колонок: 5 % OV-17 на хроматоне N-AW-DMCS (от 0,16 мм до 0,20 мм) или 3 % OV-210; на хроматоне N-супер (от 0,125 мм до 0,16 мм) или 5 % SE-30 на хроматоне N-AW-DMCS (от 0,16 мм до 0,20 мм;
- колбы перегонные К-1 250 $см^3$ по ГОСТ 25336;
- колбы Гр-25 по ГОСТ 25336;
- колбы мерные 50, 100 $см^3$ по ГОСТ 1770;
- воронка В-56 - 80 ХС по ГОСТ 25336;
- колба коническая Кн-1 250 $см^3$ по ГОСТ 25336;
- цилиндры мерные 50; 100 $см^3$ по ГОСТ 1770;
- пробирки с притертыми пробками градуированные вместимостью 5, 10 $см^3$ по ГОСТ 1770;
- воронки делительные 8Д-100 - 29/32. ВД-500 - 29/32 по ГОСТ 25336.
- пипетки 5; 10 $см^3$ по ГОСТ 29227;
- насос водоструйный по ГОСТ 25336.
- стаканы фарфоровые вместимостью 1200 $см^3$ по ГОСТ 9147;

- бумага фильтровальная лабораторная по ГОСТ 12026

6.2.2 Реактивы

- кислота серная плотностью 1,84 г/см^3 по ГОСТ 4204. х.ч.
- н-гексан. ч.
- натрий сернокислый безводный, ч. по ГОСТ4166;
- вода дистиллированная по ГОСТ 6709.
- эфир диэтиловый;
- спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья по ГОСТ 5962;
- стандартные государственные образцы (ГСО) состава хлорорганических пестицидов: ДДТ, ДДД, ДДЭ, ГХЦГ;
- азот газообразный и жидкий по ГОСТ 9293;
- ацетон по ГОСТ 2603;
- калий двухромовокислый х.ч. по ГОСТ 4220.

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

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

6.3 Подготовка к анализу

6.3.1 Очистка н-гексана

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

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

6.3.2 Приготовление хромовой смеси

Для приготовления хромовой смеси в фарфоровый стакан помещают 50 г калия двухро-мовокислого и осторожно приливают по частям, тщательно перемешивая, 1 дм^3 концентрированной серной кислоты. Хромовую смесь хранят в сосуде из стекла. Срок хранения хромовой смеси неограничен.

6.4 Подготовка газового хроматографа

6.4.1 Подготовка хроматографической колонки

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

окончании кондиционирования колонку охлаждают, подсоединяют к детектору и выводят хроматограф на рабочий режим.

6.4.2 Подготовку хроматографа к работе проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации.

6.5 Приготовление рабочих растворов хлорорганических пестицидов

6.5.1 Приготовление основных рабочих и промежуточных растворов хлорорганических пестицидов

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

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

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

6.5.2 Приготовление шкалы градуировочных растворов

В пробирках с притертыми пробками вместимостью 5 см^3 готовят шкалу градуировочных растворов для каждого хлорорганического пестицида (см. Таблицы 5, 6, 7).

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

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

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

Характеристика раствора	Номер градуировочного раствора							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Объём промежуточного раствора 3, см^3	1	2	5	-	-	-	-	-
Объём промежуточного раствора 2, см^3	-	-	-	1*	2*	3*	4*	5*
Объём н-гексана, см^3	4	3	0	4	3	2	1	0
Массовая концентрация ХОП в полученном градуировочном растворе, мг/дм^3	0,002	0,004	0,01	0,01	0,04	0,06	0,08*	0,01*
Масса ХОП в $5 \cdot 10^{-3}$ см^3 хроматографируемой пробы (10^{-5} мг)	0,01	0,02	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4*	0,5*
*Для ДДЭ								

Таблице 6 - Шкала градуировочных растворов для γ – ГХЦГ

Характеристика раствора	Номер градуировочного раствора						
	1	2	3	4	5	6	7
Объём промежуточного раствора 3, $см^3$	3	5	-	-	-	-	-
Объём промежуточного раствора 2, $см^3$	-	-	1	2	3	4	5
Объём н-гексана, $см^3$	2	0	4	3	2	1	0
Массовая концентрация ХОП в полученном градуировочном растворе, $мг/дм^3$	0,006	0,01	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1
Масса ХОП в $5 \cdot 10^{-3}$ $см^3$ хроматографируемой пробы (10^{-5} мг)	0,03	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5

Таблица 7 - Шкала градуировочных растворов для ДДТ и ДДД

Характеристика раствора	Номер градуировочного раствора							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Объём промежуточного раствора 3, $см^3$	0,5*	1	2	3	4	5	-	-
Объём промежуточного раствора 2, $см^3$	-	-	-	-	-	-	1	2**
Объём н-гексана, $см^3$	4,5	4	3	2	1	0	4	3
Массовая концентрация ХОП в полученном градуировочном растворе, $мг/дм^3$	0,01*	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1	0,2	0,4**
Масса ХОП в $5 \cdot 10^{-3}$ $см^3$ хроматографируемой пробы (10^{-5} мг)	0,05*	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	1	2**
*Для ДДД ** ДДТ								

6.6 Установление градуировочной характеристики

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

$$Y = A \times X, \qquad (2)$$

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

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

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

градуировочного раствора с целью исключения неудовлетворительного результата измерения.

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

Компоненты идентифицируют по абсолютным значениям времени удерживания.

6.7 Установление поправочного коэффициента

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

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

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

$$K_i = \frac{(C_{х+д} - C_х)}{C_д}, \qquad (3)$$

где $С_Д$ – концентрация стандартной добавки;

$С_х$ – концентрация в пробе без стандартной добавки;

$С_{Х+Д}$ – концентрация в пробе со стандартной добавкой.

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

6.8 Отбор проб

Подготовку проб к анализу проводят в соответствии с требованиями ГОСТ Р 51419.

6.9 Проведение испытаний

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

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

Перед началом работы все шлифованные поверхности конусов и кранов АПП промывают дистиллированной водой. Навеску измельченного и подготовленного к анализу комбикорма или комбикормового сырья массой 10 г помещают в круглодонную колбу со шлифом вместимостью 250 $см^3$, затем добавляют 100 $см^3$ дистиллированной воды и осторожно по стенкам колбы вливают 5 $см^3$ концентрированной серной кислоты. Содержимое колбы осторожно круговыми движениями перемешивают, охлаждая под струей холодной водопроводной воды, чтобы температура в колбе не поднималась выше 35 °С.

Колбу с содержимым оставляют на 5 мин после чего в нее приливают 2 $см^3$ н-гексана приготовленного, и соединяют с аппаратом АПП, к керну трехходового крана подсоединяют приемную пробирку со шлифом вместимостью 10 $см^3$ для предотвращения потерь через трехходовой кран. К нижнему штуцеру холодильника при помощи шлангов подсоединяют холодную водопроводную воду. Верхний штуцер также при помощи шланга подсоединяют к сливной раковине.

Через верхний шлиф конденсатора заливают дистиллированную воду до уровня сливной трубки. Туда же добавляют 2 $см^3$ н-гексана. Верхний шлиф конденсатора закрывают пробкой и ставят аппарат с круглодонной колбой на включенную масляную (глицериновую) баню или колбонагреватель, температура которых должна быть отрегулирована таким образом, чтобы кипение е колбе было равномерным без толчков и перебросов. Для обеспечения равномерного кипения без толчков и перебросов необходимо внести в круглодонную колбу предварительно промытые и прокаленные стеклянные шарики. Необходимо следить за уровнем конденсата в аппарате и не допускать его переброса обратно в круглодонную колбу. Для этого излишек конденсата периодически сливают с помощью трехходового крана в делительную воронку вместимостью 100 $см^3$.

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

Сухой остаток растворяют 1 $см^3$ н-гексана, и аликвоту из этого объема хроматографируют на газовом хроматографе.

6.9.2 Условия хроматографирования

$5 \cdot 10^{-3}$ $см^3$ гексанового экстракта вводят микрошприцем в испаритель газового хроматографа и анализируют в условиях, указанных в Таблице 8.

Таблица 8 - Условия газохроматографического разделение хлорорганических пестицидов на различных колонках

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

6.9.3 Обработка химической посуды после проведения испытаний

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

6.10 Обработка результатов

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

$$X = \frac{m_1 V_1 \cdot 10^3}{m_2 V_2 K_n}, \quad (4)$$

где m_1, - масса определяемого хлорорганического пестицида, найденная по градуировочному графику, мг;

V_1 - общий объем раствора, из которого взята аликвота для хроматографирования, $дм^3$;

m_2 - масса навески анализируемой пробы, г;

V_2 - объем аликвоты, вводимой в хроматограф, $дм^3$;

K_n - поправочный коэффициент, учитывающий потери при пробоподготовке.

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

6.10.2 За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое значение результатов двух параллельных определений.

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

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

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

Таблица 9 - Показатели точности, повторяемости и воспроизводимости

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

6.11 Оформление результатов

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

$$X \pm \Delta, \text{ мг/кг}, P = 0,95, \quad (5)$$

где Δ - показатель точности принятой вероятностью P = 0,95, вычисляемый по формуле:

$$X = \delta \cdot 0,01 \cdot X, \quad (6)$$

где δ – значение показателя точности по Таблице 9.

Допускается результат испытаний выдаваемых лабораториях, представлять в виде, X ± Δ, мг/кг, P = 0,95, при условии $\Delta n < \Delta$, где ± Δn – значение характеристики погрешности результатов измерения, установленное при испытаниях в лаборатории и обеспечиваемое контролем стабильности результатов измерений.

6.12 Контроль исполнителем процедуры выполнения измерений

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

межлабораторного сличительного эксперимента; образцы, многократно проанализированные в лаборатории данным методом.

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

$$К_к = Х - С, \quad (7)$$

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

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

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

6.13 Оценка приемлемости результатов, получаемых в условиях воспроизводимости

Расхождение между результатами, полученными в двух лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости.

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

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

7 Контроль качества результатов измерений

Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории предусматривает:

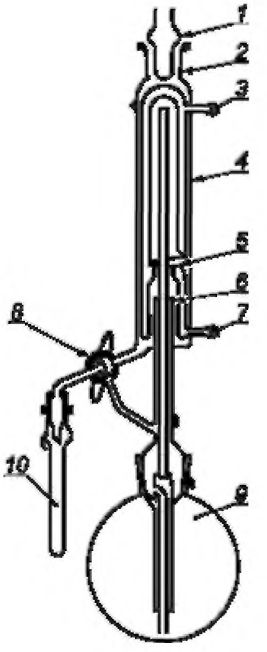
- контроль исполнителем процедуры выполнения измерений на основе оценки приемлемости результатов, а условиях повторяемости;
- контроль исполнителем процедуры выполнения измерений на основе оценки погрешности измерений при реализации отдельной контрольной процедуры;
- контроль стабильности результатов измерений на основе контроля стабильности среднеквадратического отклонения (далее СКО) повторяемости, СКО промежуточной (внутрилабораторной) прецизионности и погрешности.

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

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

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

Приложение А
(обязательное)



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

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

УДК 502.5+612.39.7/.8+663.97:[543.393:543.544]:35 МКС 13.060.01 67.040 65.120 65.020.20

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

Для заметок

Басуға _____ ж. қол қойылды Пішімі 60х84 1/16
Қағазы офсеттік. Қаріп түрі «KZ Times New Roman»,
«Times New Roman»
Шартты баспа табағы 1,86. Таралымы ____ дана. Тапсырыс ____

«Қазақстан стандарттау және сертификаттау институты»
республикалық мемлекеттік кәсіпорны
010000, Астана қаласы, Орынбор көшесі, 11 үй,
«Эталон орталығы» ғимараты
Тел.: 8 (7172) 79 33 24

gost.e-ecolog.ru