МКС 67.100.01

к СТБ ISO 8260-2012 Молоко и молочные продукты. Определение хлорорганических пестицидов и полихлорированных бифенилов. Метод с использованием капиллярной газожидкостной хроматографии с электронно-захватным детектированием

В каком месте	Напечатано	Должно быть
Раздел 2	ISO 14156|IDF 130:2008	ISO 14156|IDF 172:2001

(ИУ ТНПА № 5-2014)

gost.e-ecolog.ru

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

СТБ ISO 8260-2012

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

**Определение хлорорганических пестицидов и полихлорированных бифенилов.
Метод с использованием капиллярной газожидкостной хроматографии с электронно-захватным детектированием**

МАЛАКО І МАЛОЧНЫЯ ПРАДУКТЫ

**Вызначэнне хлорарганічных пестыцыдаў і поліхларыраваных біфенілаў.
Метад з выкарыстаннем капілярнай газавадкаснай храматаграфіі з электронна-захватным дэтэктыраваннем**

(ISO 8260:2008 IDT)
(IDF 130:2008, IDT)

Издание официальное

Госстандарт
Минск

УДК 637.1.074:543.544.32.06(083.74)(476) МКС 67.100.01 КП 03 IDT

Ключевые слова: молоко, молочные продукты, хлорорганические пестициды, полихлорбифенилы, капиллярная газожидкостная хроматография

Предисловие

Цели, основные принципы, положения по государственному регулированию и управлению в области технического нормирования и стандартизации установлены Законом Республики Беларусь «О техническом нормировании и стандартизации».

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

ВНЕСЕН Госстандартом Республики Беларусь

2 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ постановлением Госстандарта Республики Беларусь от 25 сентября 2012 г. № 59

3 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 8260|IDF 130:2008 Milk and milk products – Determination of organochlorine pesticides and polychlorobiphenyls – Method using capillary gas-liquid chromatography with electron-capture detection (Молоко и молочные продукты. Определение хлорорганических пестицидов и полихлорированных бифенилов. Метод с использованием капиллярной газожидкостной хроматографии с электронно-захватным детектированием).

Международный стандарт разработан подкомитетом SC 5 «Молоко и молочные продукты» технического комитета ISO/TC 34 «Продукты пищевые сельскохозяйственные» Международной организации по стандартизации (ISO) и Международной молочной федерацией (IDF).

Перевод с английского языка (en).

Официальные экземпляры международного стандарта, на основе которого подготовлен настоящий государственный стандарт, и международного стандарта, на который даны ссылки, имеются в Национальном фонде ТНПА.

В разделе «Нормативные ссылки» ссылочный международный стандарт актуализирован.

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

Степень соответствия – идентичная (IDT)

4 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

© Госстандарт, 2013

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

Издан на русском языке

Содержание

Введение IV
1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 1
4 Сущность метода 2
5 Реактивы и материалы 2
6 Оборудование 3
7 Отбор проб 4
8 Подготовка пробы 4
9 Приготовление пробы для анализа 4
10 Проведение испытаний 5
11 Вычисление и выражение результатов 7
12 Прецизионность 7
13 Протокол испытаний 8
Приложение А (справочное) Межлабораторное испытание 9
Приложение В (справочное) Пример хроматограммы 10
Библиография 12

Введение

Настоящий стандарт предназначен для использования в исследовании, мониторинге и контроле хлорорганических соединений, выделенных из молока и молочных продуктов.

Раньше полихлорированные бифенилы (ПХБ) обычно определяли «эмпирическими» методами, в большинстве которых использовали «сравнение пика образца», применяя газожидкостную хроматографию с электронно-захватным детектированием (ГЖХ-ЭЗД) и набивными колонками. В качестве образцов сравнения использовались смеси, полученные перхлорированием до декахлорбифенила (и ГЖХ-ЭЗД-определения) или дехлорированием до бифенила. Определение проводили посредством высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектированием (ВЭЖХ-УФ) или газожидкостной хроматографии с пламенно-ионизационным детектированием (ГЖХ-ПИД).

Вышеприведенные методы имеют три важных недостатка:

1) при предоставлении информации о количестве ПХБ, выраженной как «содержание ПХБ», теряется информация о характере распределения изомеров. Эта информация, однако, чрезвычайно полезна для указания источников загрязнения и для установления различия между фоновым и существующим в настоящий момент загрязнением;

2) «содержание ПХБ», определенное методами, упомянутыми выше, можно получать различными способами, поэтому для большинства данных «содержание ПХБ» не является четко определенным. Следовательно, большинство представленных значений «содержания ПХБ» не могут сравниваться, что затрудняет интерпретацию данных. «Содержание ПХБ» не всегда определяется как сумма изомеров хлорбифенила, присутствующих в образце, что обычно ожидается;

3) хлорбифенилы являются индивидуальными химическими соединениями, которые имеют различные свойства (например, биоразрушаемость, токсикологические воздействия, тенденция к накоплению). Поэтому весьма желательно определять эти соединения раздельно.

При анализе содержания ПХБ в молоке и молочных продуктах в различных странах должны быть рассмотрены следующие основные вопросы:

a) необходимость учитывать различные ситуации в различных лабораториях, например имеющееся оборудование, квалификацию лабораторного персонала, наличный бюджет и особые задачи лаборатории;

b) необходимость определить цель анализа, например отбраковка, мониторинг и контроль допустимых пределов примесей или научное исследование;

c) необходимость одновременно определить содержание ПХБ и хлорорганических пестицидов (ХОП);

d) необходимость включить, насколько возможно, информацию о характере распределения изомеров ПХБ;

e) необходимость четко определить содержание примесей, которое должно быть представлено в отчете;

f) необходимость тщательно контролировать отделение ПХБ от ХОП для избежания интерференции.

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

МОЛОКО И МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ
Определение хлорорганических пестицидов и полихлорированных бифенилов. Метод с использованием капиллярной газожидкостной хроматографии с электронно-захватным детектированием

МАЛАКО І МАЛОЧНЫЯ ПРАДУКТЫ
Вызначэнне хлорарганічных пестыцыдаў і поліхларыраваных біфенілаў. Метад з выкарыстаннем капілярнай газавадкаснай храматаграфіі з электронна-захватным дэтэктыраваннем

Milk and milk products
Determination of organochlorine pesticides and polychlorobiphenyls
Method using capillary gas-liquid chromatography with electron-capture detection

Дата введения **2013-07-01**

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ – Применять требования настоящего стандарта необходимо после ознакомления с требованиями установившейся лабораторной практики. Настоящий стандарт не устанавливает методов устранения всех проблем безопасности, связанных с его использованием, если таковые существуют. Пользователь сам должен устанавливать соответствующие меры по безопасности и защите здоровья и обеспечивать соответствие национальным регламентам.

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает метод определения содержания отдельных хлорорганических пестицидов (ХОП) и полихлорированных бифенилов (ПХБ) в молоке, сгущенном молоке с сахаром и без сахара, сухих молочных продуктах, масле и молочном жире, сыре и других молочных продуктах.

Данный метод позволяет определять низкие уровни содержания специфических ХОП вплоть до 5 мкг ХОП на килограмм жира и уровни содержания специфических ПХБ вплоть до 2,5 мкг ПХБ на килограмм жира, используя капиллярную газожидкостную хроматографию с электронно-захватным детектированием (ГЖХ-ЭЗД).

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходим следующий ссылочный стандарт. Для недатированных ссылок применяют последнее издание ссылочного стандарта (включая все изменения):

ISO 14156|IDF 130:2008 Молоко и молочные продукты. Методы экстракции липидов и липорастворимых соединений

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применяют следующий термин с соответствующим определением:

3.1 содержание ХОП и ПХБ (OCP and PCB contents): Массовые доли хлорорганических пестицидов и полихлорированных бифенилов, определенные методом, установленным в настоящем стандарте.

Примечания

1 Для продуктов, содержащих более 2 % жира, содержание хлорорганических соединений выражается в микрограммах или миллиграммах на килограмм жира.

2 Для продуктов низкой жирности, содержащих 2 % жира или меньше, содержание хлорорганических соединений выражается в микрограммах или миллиграммах на килограмм продукта.

Издание официальное

4 Сущность метода

Жир и хлорорганические соединения экстрагируют из анализируемой пробы. Хлорорганические соединения выделяют методом криогенной экстракции и очищают в двух последовательных операциях, используя патроны С18 и Florisil SPE (для твердофазной экстракции) соответственно.

Элюат концентрируют и растворяют в подходящем объеме *н*-гексана. Хлорорганические соединения идентифицируют и количественно определяют посредством капиллярной газожидкостной хроматографии, используя *транс*-нонахлор в качестве внутреннего стандарта.

5 Реактивы и материалы

Все реактивы должны быть признанной аналитической чистоты и подходящими для определения остаточного содержания пестицидов. Вода должна быть дистиллированной или по крайней мере эквивалентной чистоты, подходящей для определения остаточного содержания пестицидов.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ – Некоторые растворители, используемые в настоящем стандарте, являются весьма летучими, токсичными и/или легковоспламеняющимися. Необходимо соблюдать существующие меры предосторожности при работе с ними, использовании и утилизации.

5.1 Ацетонитрил (CH_3CN).

5.2 Метиленхлорид (CH_2Cl_2).

5.3 Петролейный эфир с температурой кипения от 40 °С до 60 °С, при необходимости очищенный прямой перегонкой с использованием колонки Рашига длиной не менее 500 мм.

5.4 Диэтиловый эфир [$(C_2H_5)_2O$].

5.5 *н*-Гексан (C_6H_4), при необходимости очищенный прямой перегонкой с использованием колонки Рашига длиной не менее 500 мм, или **изооктан** (C_8H_{18}).

5.6 Сульфат натрия (Na_2SO_4).

5.7 Оксалат натрия ($Na_2C_2O_4$).

5.8 Ацетон (CH_3COCH_3).

5.9 Метанол (CH_3OH).

5.10 Додекан ($C_{12}H_{26}$).

5.11 Элюирующие растворители, а именно:

5.11.1 Смесь ацетонитрила/метиленхлорида в соотношении 3 : 1.

Смешивают 3 объема ацетонитрила (см. 5.1) с 1 объемом метиленхлорида (см. 5.2).

5.11.2 Смесь петролейного эфира/диэтилового эфира I в соотношении 1 : 1.

Смешивают 50 объемов петролейного эфира (см. 5.3) с 50 объемами диэтилового эфира (см. 5.4).

5.11.3 Смесь петролейного эфира/диэтилового эфира II в соотношении 98 : 2.

Смешивают 98 объемов петролейного эфира (см. 5.3) с 2 объемами диэтилового эфира (см. 5.4).

5.11.4 Смесь петролейного эфира/диэтилового эфира II в соотношении 85 : 15.

Смешивают 85 объемов петролейного эфира (см. 5.3) с 15 объемами диэтилового эфира (см. 5.4).

5.12 Патрон С18 SPE вместимостью 6 $см^3$, содержащий 1 г фильтровального материала с размером частиц 45 мкм, размером пор 60 Å (например, Mega Bond Elut [1)]).

5.13 Патрон Florisil [1)] SPE вместимостью 6 $см^3$, содержащий 1 г фильтровального материала с размером частиц от 150 до 250 мкм.

5.14 Растворы внутреннего стандарта, а именно:

5.14.1 Исходный раствор *транс*-нонахлора, $c(C_{10}H_5Cl_9)$ = 10 мкг/$см^3$.

5.14.2 Рабочий раствор внутреннего стандарта, содержащий 1000 нг/$см^3$ *транс*-нонахлора.

Пипеткой вводят 5 $см^3$ исходного раствора внутреннего стандарта *транс*-нонахлора (см. 5.14.1) в мерную колбу с одной меткой вместимостью 50 $см^3$. Разбавляют до метки *н*-гексаном (или изооктаном) (см. 5.5) и перемешивают.

Концентрации указываются только в качестве руководства и их можно регулировать в соответствии с различными требованиями.

Если плотности раствора и растворителя известны, растворы могут также быть приготовлены гравиметрически.

[1)] Mega Bond Elut® и Florisil® являются названиями подходящих продуктов, имеющихся в продаже. Эта информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой данных продуктов со стороны ISO или IDF.

5.15 Стандартные растворы ХОП и ПХБ, а именно:

5.15.1 Исходные стандартные растворы, содержащие 10 мкг/см^3 каждого соединения.

Готовят отдельные исходные растворы для каждого из следующих соединений, растворяя 100 мкг каждого в *н*-гексане (или изооктане) (см. 5.5) в мерной колбе с одной меткой вместимостью 10 см^3, разбавляя до метки *н*-гексаном (или изооктаном) и перемешивая.

ГХБ (C_6Cl_6); эндрин ($C_{12}H_8Cl_6O$); α-ГХЦГ ($C_6H_6Cl_6$); *п,п′*-ДДД ($C_{14}H_{10}Cl_4$); β-ГХЦГ ($C_6H_6Cl_6$); *о,п′*-ДДТ ($C_{14}H_9Cl_5$); γ-ГХЦГ ($C_6H_6Cl_6$); *п,п′*-ДДТ ($C_{14}H_9Cl_5$); гептахлор ($C_{10}H_5Cl_7$); *о,п′*-дикофол ($C_{14}H_9Cl_5O$); альдрин ($C_{12}H_8Cl_6$); дикофол ($C_{14}H_9Cl_5O$); гептахлор эпоксид ($C_{10}H_5Cl_7O$); оксихлордан ($C_{10}H_4Cl_8O$); γ-хлордан ($C_{10}H_6Cl_8$); *о,п′*-ДДЕ ($C_{14}H_8Cl_4$); α-эндосульфан ($C_9H_6Cl_6O_3S$); α-хлордан ($C_{10}H_6Cl_8$); *п,п′*-ДДЕ ($C_{14}H_8Cl_4$); диэльдрин ($C_{12}H_8Cl_6O$); *о,п′*-ДДД ($C_{14}H_{10}Cl_4$); 2,4,4′-трихлорбифенил ($C_{12}H_7Cl_3$, ИЮПАК № 28); 2,5,2′,5′-тетрахлорбифенил ($C_{12}H_6Cl_4$, ИЮПАК № 52); 2,4,5,2′,5′-пентахлорбифенил ($C_{12}H_5Cl_5$, ИЮПАК № 101); 2,3′,4,4′,5-пентахлорбифенил ($C_{12}H_5Cl_5$, ИЮПАК № 118); 2,4,5,2′,4′,5′-гексахлорбифенил ($C_{12}H_4Cl_6$, ИЮПАК № 153); 2,3,4,2′,4′,5′-гексахлорбифенил ($C_{12}H_4Cl_6$, ИЮПАК № 138); 2,3,4,5,2′,4′,5′-гепта-хлорбифенил ($C_{12}H_3Cl_7$, ИЮПАК № 180).

Примечание – Используемые концентрации даются только для руководства.

Если плотности раствора и растворителя известны, растворы могут также быть приготовлены гравиметрически.

5.15.2 Рабочие стандартные растворы I (1 мкг/см^3).

Пипеткой вводят по 5 см^3 каждого из исходных стандартных растворов (см. 5.15.1) в отдельные мерные колбы с одной меткой вместимостью 50 см^3. Разбавляют каждую до метки *н*-гексаном (или изооктаном) (см. 5.5) и перемешивают.

5.15.3 Рабочие стандартные растворы II (10 нг/см^3).

Пипеткой вводят по 1 см^3 каждого из рабочих стандартных растворов I (см. 5.15.2) в отдельные мерные колбы с одной меткой вместимостью 100 см^3. Разбавляют каждую до метки *н*-гексаном (или изооктаном) (см. 5.5) и перемешивают.

Примечание – Эти рабочие растворы используются только в целях идентификации.

Если плотности раствора и растворителя известны, растворы также могут быть приготовлены гравиметрически.

5.15.4 Рабочий стандартный раствор III (10 нг каждого соединения/см^3).

Готовят рабочий раствор III, смешивая все рабочие растворы I (см. 5.15.2) и рабочий раствор внутреннего стандарта *транс*-нонахлора (см. 5.14.2) следующим образом: пипеткой вводят 1 см^3 каждого рабочего раствора I (см. 5.15.2) в мерную колбу с одной меткой вместимостью 100 см^3. Добавляют 1 см^3 рабочего раствора внутреннего стандарта *транс*-нонахлора (см. 5.14.2) и перемешивают. Разбавляют до метки *н*-гексаном (или изооктаном) (см. 5.5) и снова тщательно перемешивают.

Примечание – Рабочий стандартный раствор III используется только для количественного определения.

Если плотности раствора и растворителя известны, растворы могут также быть приготовлены гравиметрически.

6 Оборудование

Применяется обычное лабораторное оборудование, а также указанное ниже.

6.1 Аналитические весы, обеспечивающие взвешивание с точностью до 1 мг, дискретность до 0,1 мг.

6.2 Водяная баня, поддерживающая температуру от 35 °С до 40 °С.

6.3 Водяная баня, поддерживающая температуру от 40 °С до 60 °С.

6.4 Контейнеры различных размеров с герметическими крышками для использования при гомогенизации проб (см. 8.2 – 8.4).

6.5 Центрифуга с охлаждением, обеспечивающая создание радиального ускорения 1200 g при температуре минус 15 °С, снабженная центрифужными пробирками объемом не менее 5 см^3.

6.6 Ротационный испаритель, обеспечивающий выпаривание при температуре от 35 °С до 40 °С, снабженный вакуумным насосом, конденсатором и колбами для испарения.

6.7 Пипетки различных размеров.

6.8 Газовый хроматограф, снабженный электронно-захватным детектором, применяющийся для определения ХОП и ПХБ.

7 Отбор проб

В лабораторию отправляется представительная проба. Она не должна быть повреждена или изменена во время транспортирования или хранения.

Отбор проб не является частью метода, установленного в настоящем стандарте. Рекомендуемый метод отбора проб приведен в ISO 707|IDF 50.

8 Подготовка пробы

8.1 Молоко

Температуру пробы регулируют от 35 °С до 40 °С, используя водяную баню (см. 6.2). Пробу перемешивают тщательно, но плавно, многократно переворачивая бутыль с пробой, не допуская взбалтывания или встряхивания. Затем пробу быстро охлаждают приблизительно до 20 °С.

8.2 Сгущенное молоко без сахара

Контейнер с пробой встряхивают и переворачивают. Открывают контейнер. Медленно переливают пробу во второй контейнер, снабженный герметической крышкой (см. 6.4), и перемешивают, многократно переливая из одного контейнера в другой, следя, чтобы в пробу попадал весь жир или другие составляющие, прилипшие к стенкам и краям первого контейнера. Окончательно пробу полностью, насколько возможно, переливают во второй контейнер. Контейнер закрывают.

Если необходимо, например для проб в закупоренных банках, их выдерживают в водяной бане (см. 6.3) при температуре от 40 °С до 60 °С. Вынимают и интенсивно встряхивают банку каждые 15 мин. Через 2 ч извлекают банку и оставляют остывать до комнатной температуры. Полностью удаляют крышку и тщательно перемешивают содержимое ложкой или шпателем.

8.3 Сгущенное молоко с сахаром

Открывают контейнер и тщательно перемешивают пробу ложкой или шпателем. Выполняют вращательное движение вверх-вниз, так чтобы верхние слои и содержимое нижних углов контейнера перемещались и смешивались. Необходимо следить, чтобы в пробу было включено все молоко, прилипшее к стенкам и краям контейнера. Продукт помещают полностью, насколько возможно, во второй контейнер, снабженный герметичной крышкой (см. 6.4). Закрывают контейнер.

Если необходимо, например для проб в закупоренных банках, их выдерживают в водяной бане (см. 6.2) при температуре от 30 °С до 40 °С. Открывают банку, переносят содержимое в достаточно большую чашку для полного смешивания и перемешивают, пока вся масса не станет однородной.

Если проба находится в гибкой тубе, открывают тубу и переносят содержимое в банку. Затем разрезают открытую тубу, соскребают весь материал, прилипший к внутренним сторонам, и добавляют его к содержимому банки.

8.4 Продукты из сухого молока

После перемещения всей пробы в герметический контейнер достаточной вместимости, снабженный герметичной крышкой (см. 6.4), пробу при необходимости тщательно перемешивают, поворачивая и переворачивая контейнер.

8.5 Масло и молочный жир

Пробу перемешивают ложкой или шпателем.

8.6 Сыр

Сыр натирают на терке или разминают в зависимости от его консистенции.

8.7 Другие молочные продукты

Должна быть обеспечена гомогенность пробы.

9 Приготовление пробы для анализа

9.1 Экстракция молока

Помещают 50 $см^3$ подготовленной пробы (см. 8.1), 50 $см^3$ метанола (см. 5.9) и 0,5 г оксалата натрия (см. 5.7) в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$. Встряхивают воронку с ее содержимым

в течение 1 мин. Добавляют 25 см^3 диэтилового эфира (см. 5.4) и встряхивают 1 мин. Добавляют 25 см^3 петролейного эфира (см. 5.3) и повторяют встряхивание в течение 1 мин. Прекращают встряхивание и оставляют воронку для обеспечения разделения фаз. В случае плохого разделения фаз проводят центрифугирование для разделения при 1500 об/мин в течение 5 мин.

Переносят органическую фазу в коническую колбу достаточной вместимостью и водную фазу в другую делительную воронку. Экстрагируют водную фазу дважды с 50 см^3 раствора петролейного эфира/диэтилового эфира I (см. 5.11.2). Добавляют оба экстракта в коническую колбу, содержащую органическую фазу. Высушивают объединенные экстракты, добавляя в коническую колбу около 10 г сульфата натрия и перемешивая. Фильтруют органическую фазу в испарительную колбу (см. 6.6). Выпаривают растворители в ротационном испарителе (см. 6.6) при температуре водяной бани от 35 °C – до 40 °C.

9.2 Экстракция сгущенного молока с сахаром, продуктов из сухого молока, масла, молочного жира и сыра

Выделяют жир из пробы в соответствии с требованиями ISO 14156|IDF 172.

10 Проведение испытаний

10.1 Общие положения

Использование данного метода требует наличие опыта работы в области капиллярной газовой хроматографии. Необходимо обратить внимание на проблемы, связанные с чистотой газа-носителя, септой и течью колонки, с методом инжектирования, а также с инертностью колонки в диапазоне содержания аналитов – ниже пикограммов.

10.2 Холостое испытание

Для молока, сгущенного молока с сахаром, продуктов из сухого молока и для сыра готовят холостую пробу согласно процедуре, описанной в 9.1 или 9.2. Для молока заменяют пробу таким же количеством воды. В случае сгущенного молока с сахаром, продуктов из сухого молока и сыра следуют процедуре, описанной в 9.2, за исключением приготовления пробы. Растворяют остаток в 3 см^3 смеси ацетонитрила/метиленхлорида (см. 5.11.1) и переносят раствор в центрифужную пробирку. Добавляют 100 мм^3 рабочего раствора внутреннего стандарта (см. 5.14.2) и смешивают. Продолжают по 10.3, центрифугируя пробирку, но исключая ее нагрев.

10.3 Криогенная экстракция

Взвешивают 0,5 г молочного жира, полученного по 9.1, в центрифужную пробирку (см. 6.5). Добавляют 100 мм^3 рабочего раствора внутреннего стандарта (см. 5.14.2) и 3 см^3 смеси ацетонитрила/метилен-хлорида (см. 5.11.1). Интенсивно перемешивают. Центрифугируют пробирку с ее содержимым при радиальном ускорении 1200 *g* приблизительно при минус 15 °C в течение 20 мин. Переносят всплывающий слой в отдельную пробирку.

Затем медленно нагревают нижнюю часть центрифужной пробирки в водяной бане, установленной на 40 °C (см. 6.2), чтобы расплавить жир. Повторяют экстракцию с другими 3 см^3 смеси ацетонитрила/метиленхлорида (см. 5.11.1) и центрифугирование. Добавляют всплывающий слой к слою, уже перенесенному в отдельную пробирку. Выпаривают органическую фазу приблизительно при 35 °C в токе азота, пока не останется 2 – 3 см^3. Этот раствор обозначают как раствор А.

10.4 Очистка

10.4.1 Очистка на патроне C18 SPE

Готовят патрон C18 SPE (см. 5.12), элюируя дважды 5 см^3 петролейного эфира (см. 5.3), затем 5 см^3 ацетона (см. 5.8) и, наконец, 5 см^3 метанола (см. 5.9), каждый раз останавливаясь, когда мениск жидкости достигает верхнего края набивки колонки. Растворы после элюирования отбрасываются.

Добавляют раствор А (см. 10.3) в картридж. Элюируют раствор, пока мениск жидкости не достигнет верхнего края набивки колонки, и оставляют на 3 мин. Затем элюируют раствор 10 см^3 ацетонитрила (см. 5.1) при скорости потока 1 капля каждые 3 с. Собирают элюированный раствор в подходящий сосуд. Выпаривают этот раствор в токе азота при 35 °C. Необходимо внимательно следить за выпариванием, поскольку продолжение нагрева после высушивания может привести к потерям определяемых веществ. Растворяют остаток в объеме от 2 до 3 см^3 *н*-гексана (см. 5.5), перемешивают и получают раствор В.

10.4.2 Очистка на патроне Florisil SPE

Готовят патрон Florisil SPE (см. 5.13), проводя элюирование 10 см^3 *н*-гексана (см. 5.5), пока мениск жидкости не достигнет верхнего края набивки колонки.

Добавляют раствор B (см. 10.4.1) и оставляют на 3 мин. Затем элюируют раствор B в 10 см^3 раствора петролейного эфира/диэтилового эфира II (см. 5.11.3) при скорости потока 1 капля/с. Собирают элюированную фракцию в колбу для испарений (см. 6.6).

Затем элюируют 12 см^3 раствора петролейного эфира/диэтилового эфира III (см. 5.11.4) при скорости потока 1 капля каждые 3 с. Собирают элюированную фракцию в ту же колбу, что и первую фракцию, и перемешивают.

Добавляют 100 мм^3 додекана (см. 5.10) в колбу и перемешивают. Выпаривают содержимое колбы на ротационном испарителе (см. 6.6). Растворяют полученный таким образом экстракт в объеме не более 5 см^3 *н*-гексана (или изооктана) (см. 5.5) и получают раствор C для газохроматографического анализа.

Важно, чтобы одни и те же растворители использовались для стандартных растворов и для анализируемой пробы.

10.5 Газовая хроматография

10.5.1 Условия

Тщательно оптимизируют газохроматографические условия, чтобы получить высокое разрешение для определяемых веществ. Предлагают, например, следующие условия, которые являются специфическими и должны определяться для каждого используемого прибора и колонки.

Пример

– колонка CPSil5 с использованием гелия в качестве газа-носителя при давлении 16 кПа (23 фунт/квадратный дюйм);

– начальная температура термостата 100 °C, поддерживается 2 мин и затем увеличивается со скоростью 7 °C/мин до 220 °C, эта температура поддерживается в течение 10 мин и затем растет со скоростью 3 °C/мин до окончательной температуры 285 °C;

– инжектор с начальной температурой 50 °C, с возможностью увеличения этой температуры со скоростью 150 °C/мин до окончательной температуры 250 °C и с поддержанием этой температуры в течение 52 мин;

– детектор с возможностью поддержания температуры 320 °C, с использованием азота при 25 см^3/мин в качестве дополнительного газа;

– объем инжекции 1 мм^3.

Примечание – Пример хроматограммы приведен в приложении B. Рекомендуется в каждой серии определений применять раствор внутреннего стандарта для калибровки, а также холостую пробу и проверку извлечения аналитов (Recovery test).

Результаты могут быть подтверждены проведением дополнительных измерений с использованием второй колонки другой полярности (желательно параллельно) или проведением масс-спектрометрического детектирования. Эти процедуры оказались весьма эффективными в ГЖХ-ЭЗД-измерениях, применяемых для подтверждения результатов, устраняя совместно элюирующиеся вещества.

10.5.2 Идентификация и количественное определение

Когда порядок элюирования хлорорганических соединений не известен, сначала инжектируют рабочие стандартные растворы II (см. 5.15.3) и измеряют время удерживания каждого из рассматриваемых соединений.

Затем инжектируют рабочие стандартные растворы III (см. 5.15.4). Измеряют высоты пиков и время удерживания соответствующих ХОП и ПХБ. Вычисляют коэффициент отклика (см. 11.1) и относительное время удерживания (см. 11.5) каждого соединения.

Инжектируют для анализа раствор C (см. 10.4.2). Измеряют высоты пиков и время удерживания соответствующих ХОП и ПХБ. Вычисляют относительное время удерживания (см. 11.5) и содержание ХОП или ПХБ (см. 11.3).

Идентифицируют ХОП и ПХБ, сравнивая относительное время удерживания рабочих стандартных растворов (ХОП-ПХБ) III (см. 5.15.4) с измеренными значениями анализируемого раствора.

Если на основе опыта оператора или используемых им критериев делается вывод, что анализируемая проба содержит значительные количества ХОП или ПХБ, то следует подтвердить идентичность каждого, предпочтительно используя масс-спектрографическое детектирование или вторую колонку с другой полярностью.

10.6 Результат холостого испытания

Холостое значение, определенное в холостом испытании (см. 10.2), которое проводилось параллельно, не должно превышать 2 мкг/кг. Если получено более высокое значение, проверяют процедуру и чистоту химреактивов.

11 Вычисление и выражение результатов

11.1 Вычисление коэффициента отклика

Для каждого хлорорганического соединения вычисляют коэффициент отклика r_f по формуле

$$r_f = \frac{c_a \times h_i}{c_i \times h_a},$$

где c_a – концентрация хлорорганического соединения в рабочем стандартном растворе III (см. 5.15.4), нг/см^3;
c_i – концентрация рабочего раствора внутреннего стандарта *транс*-нонахлора (см. 5.14.2), нг/см^3;
h_i – высота пика для внутреннего стандарта *транс*-нонахлора в рабочем стандартном растворе III (см. 10.5.2);
h_a – высота пика для хлорорганического соединения в рабочем стандартном растворе III (см. 10.5.2).

11.2 Выражение коэффициента отклика

Коэффициент отклика вычисляют с точностью до двух десятичных знаков.

11.3 Вычисление содержания хлорорганического соединения

Для каждого хлорорганического соединения вычисляют его содержание w_p, выраженное в микрограммах на килограмм жира или продукта (см. 3.1), по формуле

$$w_p = \frac{h_s \times c_{s,i}}{h_{s,i} \times m} \times V \times r_f,$$

где h_s – высота пика для хлорорганического соединения в испытуемом растворе (см. 10.5.2);
$h_{S,i}$ – высота пика для внутреннего стандарта в испытуемом растворе (см. 10.5.2);
c_{Si} – концентрация рабочего раствора внутреннего стандарта (см. 5.14.2), добавленного к жиру (см. 10.3), нг/см^3;
m – масса жира, г (см. 10.3);
V – объем рабочего раствора внутреннего стандарта (см. 5.14.2), добавленного к жиру (см. 10.3), см^3;
r_f – коэффициент отклика для хлорорганического соединения.

11.4 Выражение результата

Результат испытания, выражаемый в микрограммах на килограмм, округляют с точностью до целого числа. Когда результат выражают в миллиграммах на килограмм, приводят его с точностью до двух десятичных знаков.

11.5 Относительное время удерживания

Для каждого хлорорганического соединения вычисляют относительное время удерживания r_{rt} по формуле

$$r_{rt} = \frac{r_t}{r_{ti}},$$

где r_t – время удерживания хлорорганического соединения (см. 10.5.2);
r_{ti} – время удерживания внутреннего стандарта (см. 10.5.2).

12 Прецизионность

12.1 Общие положения

Значение пределов повторяемости и воспроизводимости даны при доверительной вероятности 95 % и не применяются для диапазонов концентраций и матриц, которые здесь не указаны.

Результат межлабораторного испытания прецизионности метода, которое проводилось по ISO 5725-2, приведен в приложении А.

12.2 Повторяемость

Абсолютная разность между двумя независимыми результатами испытания, полученными одним и тем же методом на идентичном испытуемом материале в одной и той же лаборатории одним и тем же оператором при использовании одного и того же оборудования в короткий промежуток времени, не должна превышать значение для каждого соединения более чем в 5 % случаев. Данные приведены в приложении А.

12.3 Воспроизводимость

Абсолютная разность между двумя независимыми результатами испытания, полученными одним и тем же методом на идентичном испытуемом материале в разных лабораториях разными операторами на различном оборудовании, не должна превышать значение для каждого соединения более чем в 5 % случаев. Данные приведены в приложении А.

13 Протокол испытаний

Протокол испытаний должен содержать следующие данные:

a) всю информацию, необходимую для полной идентификации пробы;

b) используемый метод отбора проб, если известно;

c) используемый метод со ссылкой на настоящий стандарт;

d) любые операции, не установленные для соответствующего метода или рассматриваемые как необязательные, или подробности всех манипуляций, которые могли повлиять результаты испытания;

e) полученные результаты испытания или, если проверялась повторяемость, последние полученные результаты, которые были объявлены.

Приложение А
(справочное)

Межлабораторное испытание

Международное совместное испытание, включающее 15 лабораторий, проводилось французской организацией AFSSA на анализируемых пробах молока [4]. Результаты испытания были подвергнуты статистическому анализу по ISO 5725-2 для получения данных о прецизионности, приведенных в таблице А.1.

Количество лабораторий, результаты которых исключены как выбросы, указано в круглых скобках. Исключение делали на основе внутреннего дисперсионного критерия. ПХБ 118 не присутствовал в пробах. Выбросы имели место при уровне 40 мкг/кг.

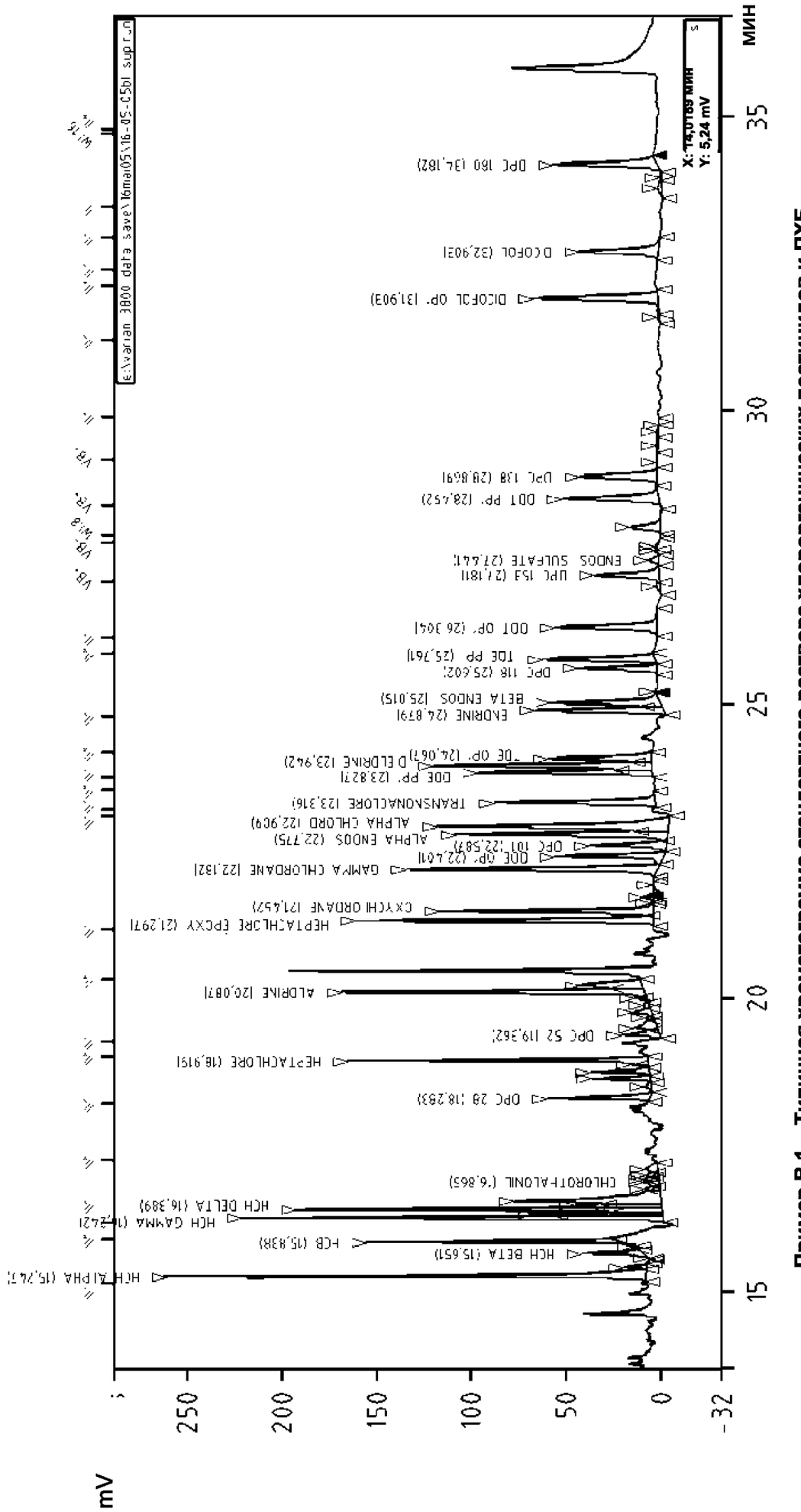
Таблица А.1 – Результаты межлабораторного исследования

Соединение	Приписанное значение [a], мкг/кг жира	Средний выход, %	Число лабораторий [b]	S_r	RSD_r, %	S_R	RSD_R, %
α-ГХЦГ	39	98	15 (3)	3,4	8,7	17,6	45
β-ГХЦГ	33	83	14 (2)	3,1	9,4	10,7	33
ГХБ	27	68	14 (0)	5,2	19,2	12,7	46
γ-ГХЦГ	40	100	15 (2)	3,4	8,5	17,4	43
Гептахлор	36	90	15 (2)	4,1	11,4	12,5	35
Альдрин	31	78	15 (1)	2,7	8,7	11,8	38
Гептахлор эпоксид	45	113	15 (1)	3,9	8,7	18,6	42
Оксихлордан	38	95	13 (0)	3,4	12,9	19,9	50
γ-Хлордан	37	93	15 (1)	5,1	13,8	14,8	39
о,п-ДДЕ	34	85	14 (1)	5,1	15,0	14,1	41
α-Эндосульфан	38	95	15 (0)	5,2	13,7	16,5	43
α-Хлордан	39	98	15 (0)	1,5	3,8	16,6	43
п,п-ДДЕ	36	90	15 (0)	5,7	15,8	15,8	44
Диэльдрин	41	103	15 (0)	5,7	13,9	16,4	40
о,п'-ДДД	41	103	14 (0)	4,9	12,0	16,8	39
Эндрин	42	105	15 (0)	6,0	14,3	16,0	39
п,п'-ДДД	41	103	15 (1)	5,2	12,7	19,4	43
о,п'-ДДТ	36	90	13 (2)	4,1	11,4	11,9	33
п,п'-ДДТ	39	98	14 (1)	5,5	14,1	14,6	42
о,п'-Дикофол	45	113	7 (1)	9,1	20,2	30,4	67
Дикофол	45	113	9 (0)	5,5	12,2	11,5	67
ПХБ 28	45	113	15 (0)	6,8	15,1	20,8	46
ПХБ 52	38	95	14 (0)	6,3	16,6	17,2	46
ПХБ 101	32	80	15 (1)	3,1	17,5	11,2	35
ПХБ 153	30	75	15 (1)	4,3	14,3	11,0	37
ПХБ 138	26	65	15 (0)	3,7	14,2	12,8	42
ПХБ 180	26	65	14 (1)	6,2	23,8	11,1	43
Среднее	37	98		4,7 [c]		15,6 [c]	

[a] Значение выброса было 40 мкг/кг жира.
[b] Общее число участвующих лабораторий – 15. Количество выбросов указано в круглых скобках.
[c] Отношение s_R/s_r, составляющее > 3, обусловлено сложностью метода и разной квалификацией операторов [4].

Приложение В
(справочное)

Пример хроматограммы



Пример В.1 – Типичная хроматограмма стандартного раствора хлорорганических пестицидов и ПХБ

Таблица В.1 – Время удерживания для каждого соединения (соединения с самым большим временем удерживания не показаны на хроматограмме)

Соединение	Время удерживания, мин
α-ГХЦГ	15,200
β-ГХЦГ	15,651
ГХБ	16,838
γ-ГХЦГ	16,242
Гептахлор	18,919
Альдрин	20,087
Гептахлор эпоксид	21,297
Оксихлордан	21,462
γ-Хлордан	22,182
o,n'-ДДЕ	22,401
α-Эндосульфан	22,775
α-Хлордан	22,909
n,n'-ДДЕ	23,827
Дильдрин	24,942
o,n'-ДДД	24,067
Эндрин	24,879
n,n'-ДДД	25,761
o,n'-ДДТ	26,304
n,n'-ДДТ	28,492
o,n'-Дикофол	31,903
Дикофол	32,693
ПХБ 28	18,283
ПХБ 52	19,362
ПХБ 101	22,587
ПХБ 118	25,602
ПХБ 153	27,181
ПХБ 138	28,869
ПХБ 180	34,182
λ-Цихалотрин	37,169
Перметрин	40,277
Цифлутрин (пики от 1 до 4) [a]	42,118 до 42,988
Циперметрин (пики от 1 до 4) [a]	43,227 до 44,060
Фенвалерат (пики 1 и 2) [b]	46,544 до 47,320
Дельтаметрин	49,120

[a] Четыре пика. Указано минимальное и максимальное время удерживания.
[b] Два пика. Указано минимальное и максимальное время удерживания.

Библиография

[1] ISO 707|IDF 50 Milk and milk products – Guidance on sampling
(Молоко и молочные продукты. Руководство по отбору проб)

[2] ISO 3890-2 Milk and milk products – Determination of residues of organochlorine compounds (pesticides) – Part 2: Test methods for crude extract purification and confirmation (equivalent to IDF 75C)
(Молоко и молочные продукты. Определение остаточного содержания хлорорганических соединений (пестицидов). Часть 2. Методы анализа для очистки экстрактов из сырья и подтверждение) (аналогичный стандарту IDF 75C)

[3] ISO 5725-2 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results – Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method
(Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 2. Основной метод определения повторяемости и воспроизводимости стандартного метода измерения)

[4] Bordet, F., Inthavong, D. and Fremy, J.-M. Interlaboratory study of a multiresidue gas chromatographic method for determination of organochlorine and pyrethroid pesticides and polychlorobiphenyls in milk, fish, eggs and beef fat, J. of AOAC Intl., Vol. 85, 2002, 6, pp. 1398-1409
(Межлабораторное исследование остаточного содержания хлорорганических и пиретроидных пестицидов и полихлорбифенилов в молоке, рыбе, яйцах и говяжьем жире методом газовой хроматографии)

Ответственный за выпуск *В. Л. Гуревич*

Сдано в набор 27.11.2012. Подписано в печать 11.01.2013. Формат бумаги 60×84/8. Бумага офсетная.
Гарнитура Arial. Печать ризографическая. Усл. печ. л. 1,97 Уч.- изд. л. 0,96 Тираж 7 экз. Заказ 21

Издатель и полиграфическое исполнение:
Научно-производственное республиканское унитарное предприятие
«Белорусский государственный институт стандартизации и сертификации» (БелГИСС)
ЛИ № 02330/0552843 от 08.04.2009.
ул. Мележа, 3, комн. 406, 220113, Минск.

gost.e-ecolog.ru