**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Определение содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах** |  | **ОФС.1.5.3.0011** |
|  |  | **Взамен ОФС.1.5.3.0011.15** |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая общая фармакопейная статья предназначена для определения содержания пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах, получаемых от культивируемых лекарственных растений.

Результаты, полученные при определении содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье, распространяются на лекарственный препарат, произведенный из данной партии лекарственного растительного сырья.

**Термины и определения**

*Пестициды* − химические или биологические препараты, используемые для борьбы с вредителями и болезнями растений, сорными растениями, вредителями хранящейся сельскохозяйственной продукции, бытовыми вредителями и внешними паразитами животных, а также для регулирования роста растений, предуборочного удаления листьев (дефолианты), предуборочного подсушивания растений (десиканты).

*Остаточные пестициды* − вещества, включающие в себя остаточное количество пестицидов и любые производные пестицидов (продукты конверсий, реакций, метаболиты, примеси).

*Проба для определения остаточных пестицидов и тяжелых металлов* *–* определенноеколичество пробы, выделенной методом квартования из объединенной пробы.

*Единицы измерения* **−** мг/кг – количество мг пестицида в 1 кг лекарственного растительного сырья или лекарственного растительного препарата.

*Средства измерений*включают необходимые для определения содержания пестицидов приборы и методики выполнения измерений, имеющие нормированные метрологические характеристики.

*Контроль на содержание остаточных количеств пестицидов −* определение соответствия исследуемых объектов требованиям нормативной документации.

**Общие положения**

Для обеспечения достоверности полученных результатов анализируемое на содержание остаточных пестицидов лекарственное растительное сырьё/препараты, как правило, должно иметь влажность не более 15 %.

В лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах определяют содержание остаточных пестицидов, в том числе хлорсодержащих: гексахлорциклогексана (ГХЦГ) и его изомеров (α-, β-, γ-ГХЦГ), дихлордифенилтрихлорметилметана (ДДТ) и его метаболитов (ДДД − дихлордифенилдихлорметилметана, ДДЕ − дихлордифенил-хлорэтилена), гексахлорбензол (ГХБ), алдрина, гептахлора и других.

Основные этапы определения содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырьё и лекарственных растительных препаратах:

- отбор пробы для определения остаточных пестицидов, тяжелых металлов и мышьяка (ОФС «Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов»);

- подготовка пробы к определению: для повышения эффективности экстракции рекомендуется измельчать испытуемый образец до величины частиц, проходящих сквозь сито с размером отверстий 1 мм и менее. Измельчение должно выполняться таким образом, чтобы избежать интенсивного нагрева испытуемых образцов, поскольку нагрев может привести к потере некоторых пестицидов. Аналитическую пробу испытуемого образца возможно увеличить для обеспечения однородности измельчения. Для уменьшения ошибки анализа, связанной с пробоподготовкой, испытуемые образцы должны быть гомогенизированы.

Измельчение пробы должно гарантировать, что проба достаточно однородна, чтобы обеспечить приемлемую вариабельность выборки. Если это невозможно, следует рассмотреть возможность использования большего количества образца, чтобы иметь возможность получить лучшую оценку истинного значения содержания пестицидов. После гомогенизации или измельчения образцы могут разделиться на различные фракции. Такое фракционирование может происходить из-за различий в размере, форме и плотности. Поскольку пестициды могут быть неоднородно распределены между различными фракциями, важно убедиться, что фракции в аналитической пробе находятся в том же соотношении, что и в исходном лабораторном образце.

- определение содержания остаточных пестицидов в испытуемых образцах;

- обработка результатов измерений;

- определение соответствия сырья допустимым нормам.

Все реактивы и растворители не должны содержать примесей, в т.ч. пестицидов, которые могут влиять на результаты анализа.

Используемые аналитические методы должны удовлетворять требованиям ОФС «Валидация аналитических методик» и следующим критериям:

- выбранный метод является подходящим для комбинации остаточный пестицид/лекарственное растительное сырьё;

- при интерпретации результатов необходимо учитывать влияние некоторых компонентов естественного происхождения (например, влияние дисульфида у растений семейства капустных (*Brassicaeae*), бромида из бурых морских водорослей и т.п.);

- концентрации испытуемого раствора и раствора сравнения, а также настройки аппаратуры должны быть такими, чтобы аналитический сигнал, используемый для количественного анализа пестицидов, находился в пределах линейного диапазона используемого детектора;

- каждый пестицид извлекается в диапазоне 70-110 %;

- повторяемость и воспроизводимость метода: относительное стандартное отклонение (%) не должно превышать значений, указанных в табл. 1.

Таблица 1 – Аналитические характеристические параметры в различных диапазонах концентрации вещества

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Диапазон концентрации вещества, мг/кг | Повторяемость  (относительное стандартное отклонение, %) | Воспроизводимость  (относительное стандартное отклонение, %) |
| 0,001-0,01 | 30 | 60 |
| >0,01-0,1 | 20 | 40 |
| >0,1-1 | 15 | 30 |
| >1 | 10 | 20 |

Для определения содержания пестицидов в пробе используется газовая (ГХ/МС) или жидкостная (ВЭЖХ/МС) хроматография с масс-спектрометрическим детектором. При отсутствии масс-спектрометрического детектора можно использовать другие селективные детекторы. Определение проводится в соответствии с требованиями ОФС «Хроматография», «Газовая хроматография», «Высокоэффективная жидкостная хроматография» и «Масс-спектрометрия».

**Порядок отбора проб**

Отбор проб от партии сырья/серии препарата проводят в соответствии с требованиями ОФС «Отбор проб лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов» и настоящей статьи.

Отбор проб для проведения испытаний осуществляют в соответствии с действующими санитарно-гигиеническими правилами и условиями, исключающими дополнительное загрязнение сырья.

**Определение соответствия остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырьё и лекарственных растительных препаратах допустимым нормам**

Пределы допустимого содержания остаточных хлорсодержащих пестицидов в лекарственном растительном сырьё и лекарственных растительных препаратах не должны превышать значения, указанные в табл. 2.

Таблица 2 – Пределы допустимого содержания остаточных пестицидов (хлорсодержащих) в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах

|  |  |
| --- | --- |
| Вещество | Пределы допустимого содержания, мг/кг |
| Гексахлорциклогексан и его изомеры (в сумме) | 0,1 |
| ДДТ и его метаболиты (в сумме) | 0,1 |
| Алдрин | Не допускается |
| Гептахлор | Не допускается |

Если нет других указаний в фармакопейной статье, количество других остаточных пестицидов не должно превышать значений предельно допустимого содержания, указанных в табл. 3.

Таблица 3 – Пределы допустимого содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах

| N п/п | Вещество | Пределы допустимого содержания, мг/кг |
| --- | --- | --- |
| 1 | Азинфос-метил | 1,0 |
| 2 | Азинфос-этил | 0,1 |
| 3 | Алахлор | 0,02 |
| 4 | Ацефат | 0.1 |
| 5 | Бромид, неорганический (в пересчете на бромид ион) | 50 |
| 6 | Бромофос-метил | 0.05 |
| 7 | Бромофос-этил | 0,05 |
| 8 | Бромпропилат | 3,0 |
| 9 | Винклозолин | 0,4 |
| 10 | Гексахлорбензол | 0,1 |
| 11 | Дельтаметрин | 0,5 |
| 12 | Диазинон | 0,5 |
| 13 | Дихлофлуанид | 0,1 |
| 14 | Дихлорфос | 1,0 |
| 15 | Дикофол | 0,5 |
| 16 | Диметоат и ометоат (в сумме) | 0,1 |
| 17 | Дитиокарбаматы (в пересчете на CS2) | 2,0 |
| 18 | Квиналфос | 0,05 |
| 19 | Квинтоцен (в сумме с пентахлоранилином и метилпентахлорфенилсульфидом) | 1,0 |
| 20 | Малатион (в сумме с малаоксоном) | 1,0 |
| 21 | Мекарбам | 0,05 |
| 22 | Метакрифос | 0,05 |
| 23 | Метамидофос | 0,05 |
| 24 | Метидатион | 0,2 |
| 25 | Метоксихлор | 0,05 |
| 26 | Мирекс | 0,01 |
| 27 | Монокротофос | 0,1 |
| 28 | Паратион-метил и параоксон-метил (в сумме) | 0,2 |
| 29 | Паратион-этил и параоксон-этил (в сумме) | 0,5 |
| 30 | Пендиметалин | 0,1 |
| 31 | Пентахлоранизол | 0,01 |
| 32 | Перметрин и изомеры (в сумме) | 1,0 |
| 33 | Пиперонилбутоксид | 3.0 |
| 34 | Пиретрум (цинерин I, цинерин II, джасмолин I, джасмолин II, пиретрин I и пиретрин II в сумме) | 3,0 |
| 35 | Пиримифос-метил и с N-дезэтил-пиримифос-метил (в сумме) | 4,0 |
| 36 | Пиримифос-этил | 0,05 |
| 37 | Протиофос | 0,05 |
| 38 | Профенофос | 0,1 |
| 39 | Процимидон | 0,1 |
| 40 | С-421 | 0,02 |
| 41 | Текназен | 0,05 |
| 42 | Тетрадифон | 0,3 |
| 43 | Фенвалерат | 1,5 |
| 44 | Фенитротион | 0,5 |
| 45 | Фенпропатрин | 0,03 |
| 46 | Фенсульфотион (в сумме) | 0,05 |
| 47 | Фентион (в сумме) | 0,05 |
| 48 | Фенхлорофос (сумма фенхлорофоса и фенхлорофосоксона) | 0,1 |
| 49 | τ-Флувалинат | 0,05 |
| 50 | Флуцитринат | 0,05 |
| 51 | Фонофос | 0,05 |
| 52 | Фозалон | 0,1 |
| 53 | Фосмет | 0,05 |
| 54 | Хлордан (сумма *цис-*, *транс-* и оксихлордана) | 0,05 |
| 55 | Хлорпирифос-метил | 0,1 |
| 56 | Хлорпирифос-этил | 0,2 |
| 57 | Хлортал-диметил | 0,01 |
| 58 | Хлорфенвинфос | 0,5 |
| 59 | λ-Цигалотрин | 1,0 |
| 60 | Циперметрин и изомеры (в сумме) | 1,0 |
| 61 | Цифлутрин (в сумме) | 0,1 |
| 62 | Эндосульфан (изомеры и эндосульфана сульфат в сумме) | 3,0 |
| 63 | Эндрин | 0,05 |
| 64 | Этион | 2,0 |
| 65 | Этримфос | 0,05 |

Значение пределов допустимого содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном сырьё и лекарственных растительных препаратах (ПДСОПЛРС), не включенных в табл. 3, рассчитывают по формуле (1) c учетом значения уровня допустимого суточного потребления вещества\* и величины дозы суточного потребления лекарственного растительного сырья:

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | | *ПДСОПЛРС =* | (1) | |
| где | *ДСП* | – | допустимое суточное потребление вещества, в мг на кг массы тела; | |
|  | *М* | – | масса тела, кг (60 кг); | |
|  | *МСД* | – | суточная доза лекарственного растительного сырья, кг; | |
|  | *100* | – | фактор потребления\*\*. | |

Значение предельно допустимого содержания остаточных пестицидов в лекарственном растительном препарате (ПДСОПЛРП) рассчитывают по формуле (2 или 4):

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 1) Э **≤** 10 | | | *ПДСОПЛРП = ПДСОПЛРС · Э,* | (2) |
| 2) Э > 10 | | | *ПДСОПЛРП =* | (3) |
| где | *ДСП* | – | допустимое суточное потребление вещества, в мг на кг массы тела; | |
|  | *М* | – | масса тела, кг (60 кг); | |
|  | *МСДП* | – | суточная доза лекарственного растительного препарата, кг; | |
|  | *100* | – | фактор потребления. | |

Примечания

1. Рекомендовано ФАО/ВОЗ (ООН).

2. Относится к требованию ВОЗ о том, что количество остаточных пестицидов, потребляемых из ЛРС, не должно превышать 1 % от общего количества потребляемых пестицидов.

**Определение остаточных пестицидов (хлорсодержащих)**

Во избежание влияния матрицы испытуемого раствора используется метод стандартных добавок или метод внутренних стандартов.

***Метод стандартных добавок***

*Стандартный раствор А. (Раствор стандартных образцов основных пестицидов, 1 мкг/мл).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг (точная навеска) каждого стандартного образца (4,4'-ДДТ; 4,4'-ДДД; 4,4'-ДДЭ; α-ГХЦГ; β-ГХЦГ; γ-ГХЦГ; гептахлор; алдрина),растворяют в 10-15 мл ацетонитрила и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят ацетонитрилом до метки.

*Пробоподготовка*

*Методика 1*

*Стандартный раствор Б:* Аналитическую пробу испытуемого образца измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. В тефлоновую пробирку для центрифугирования вместимостью 50 мл помещают 10,0 г (точная навеска) измельченного испытуемого образца, прибавляют 0,5 мл стандартного раствора А*,* 30,0 мл ацетонитрила\*, встряхивают в течение 1 мин (при необходимости допускается использование промежуточной стадии пробоподготовки: прибавляют 4 г безводного магния сульфата, 1 г натрия хлорида, тщательно встряхивают в течение 1 мин).

Извлечение центрифугируют в течение 3 мин при 5000 об/мин. После центрифугирования из верхнего слоя пробирки переносят аликвоту объемом 6 мл в тефлоновую пробирку для центрифугирования вместимостью 15 мл,(при необходимости допускается использование промежуточной стадии пробоподготовки: прибавляют 150 мг сорбента, представляющего собой смесь первичных и вторичных аминов и 950 мг магния сульфата безводного) и центрифугируют в течение 3 мин при 5000 об/мин. Полученную надосадочную жидкость фильтруют через фильтр с размером пор 0,45 мкм. В хроматографическую виалу, содержащую 15 мкл муравьиной кислоты раствора 5 % в ацетонитриле (для стабилизации экстракта) переносят 1,5 мл полученного фильтрата.

Примечание – При необходимости допускается изменение объема ацетонитрила, с учетом коэффициента водопоглощения и особенностей испытуемого образца, с обязательным пропорциональным изменением объема стандартного раствора А.

*Методика 2*

*Стандартный раствор В:* Аналитическую пробу испытуемого образца измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. В коническую колбу вместимостью 100 мл помещают 10,0 г (точная навеска) измельченного испытуемого образца, прибавляют 0,5 мл стандартного раствора А и 30,0 мл воды, с учетом коэффициента водопоглощения и особенностей испытуемого образца. К полученному раствору прибавляют 20 мл гексана и встряхивают в течение 5 мин. Полученное извлечение отфильтровывают в круглодонную колбу объемом 100 мл. Проводят экстракцию дважды, объединенные извлечения упаривают на роторном вакуумном испарителе досуха. Сухой остаток растворяют в 25,0 мл ацетонитрила (или другом подходящем растворителе).

*Испытуемый раствор:* Проводят пробоподготовку аналогично приготовлению стандартного раствора В, прибавляя вместо 0,5 мл стандартного раствора А 0,5 мл ацетонитрила.

Могут быть использованы другие методики пробоподготовки при условии их валидации.

Хроматомасс-спектрометрический анализ полученных растворов проводят на газовом хроматографе с масс-селективным детектором.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | кварцевая капиллярная колонка 30 м × 0,25 мм, покрытая слоем (5%-фенил)-метилполисилоксана, 0,5 мкм; |
| Газ-носитель | гелий для хроматографии; |
| Скорость потока, | 1 мл/мин; |
| Объем пробы | 1 мкл; |
| Сканирование | режим селективного детектирования энергия ионизации – 70 эВ; скорость сканирования - 1 скан/с при диапазоне сканирования 40-600 а.е.м.;  задержка на выход растворителя 3 мин. |

*Температурная программа*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | Время, мин | Температура, °C |
| Колонка | 0–4 | 70 |
| 5–28 | 70 → 300 |
| 29–33 | 300 |
| Испаритель |  | 280 |
| Интерфейс |  | 280 |

Хроматомасс-спектрометрический анализ проводят в режиме селективного детектирования индивидуальных ионов с идентификацией пестицидов по характеристическим ионам и времени удерживания с использованием стандартных растворов (табл. 4).

Таблица 4 – Хроматографические и масс-спектрометрические данные анализа стандартных растворов хлорорганических пестицидов (ХОП) и полихлорбифенилов (ПХБ)

| Наименование  ХОП или ПХБ | Время удерживания, мин | Характеристические ионы, m/z | Относительное время удерживания |
| --- | --- | --- | --- |
| α-ГХЦГ  β-ГХЦГ  γ-ГХЦГ | Около 18,43  Около 19,09  Около 19,15 | 219, 183, 217, 181 | 0,848  0,874  0,881 |
| ДДТ  ДДД | Около 24,77  Около 24,07 | 235, 237, 165 | 1,152  1,118 |
| ДДЕ | Около 23,25 | 318, 246, 248 | 1,080 |
| Альдрин | Около 21,38 | 263, 298, 66 | 0,988 |
| Гептахлор | Около 20,65 | 272, 274, 339, 237 | 0,954 |
| 4,4΄-Дибром-дифенил | Около 21,66 | 312, 310, 314, 152 | 1,000 |
| Гексахлорбензол | Около 18,62 | 214, 249, 284 | 0,859 |

*Пригодность хроматографической системы*

- время удерживания определяемых компонентов в испытуемом растворе, не должны отличаться от времени удерживания компонентов в стандартном растворе Б или В, более чем на 0,5 мин;

- относительные интенсивности пиков характеристических ионов на реконструированной хроматограмме не должны отличаться более чем на 20 % от относительной интенсивности этих пиков в масс-спектр стандартного раствора Б или В, полученного в данной хроматомасс-спектрометрической системе;

- синхронность максимумов пиков характеристических ионов;

- соотношение сигнал/шум, должно быть не менее 3:1.

Условия проведения измерений могут быть иными при использовании других детекторов, при этом методика должна быть валидирована.

*Обработка результатов измерений*

Содержание хлорорганических пестицидов в мг/кг (Х) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | |  | (4) | |
| где | С*o* | – | концентрация соответствующего пестицида в стандартном растворе Б или В, мкг/мл; | |
|  | *S* | – | площадь пика пестицида на хроматограмме испытуемого раствора; | |
|  | *So* | – | площадь пика пестицида на хроматограмме стандартного раствора Б или В ; | |
|  |  | – | концентрация испытуемого раствора, г/мл. | |

Расчет содержания пестицидов в группе (группа ДДТ, группа ГХЦГ) проводится путем суммирования установленного содержания пестицидов в каждой группе.

**Метод внутреннего стандарта**

При выборе внутреннего стандарта необходимо руководствоваться следующим:

- степень экстракции внутреннего стандарта должна отражать степень экстракции всех определяемых компонентов;

- матрица испытуемого раствора не должны мешать идентификации и оценке внутреннего стандарта;

- в случае если матрица испытуемого раствора мешает проводить испытания, при приготовлении стандартного раствора используют матрицу испытуемого раствора;

- внутренний стандарт должен быть стабильным и обладать устойчивыми хроматографическими характеристиками пика.

Пример: 4,4'-дибромдифенил, гексахлорбензол и др.

*Раствор внутреннего стандарта (1 мкг/мл).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг (точная навеска) внутреннего стандарта, растворяют в 10-15 мл ацетонитрила и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят ацетонитрилом до метки.

*Стандартный раствор А (Раствор стандартных образцов основных пестицидов, 1 мкг/мл).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 10 мг (точная навеска) каждого стандартного образца (4,4'-ДДТ; 4,4'-ДДД; 4,4'-ДДЭ; α-ГХЦГ; β-ГХЦГ; γ-ГХЦГ; гептахлор; алдрина),растворяют в 10-15 мл ацетонитрила и доводят тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят ацетонитрилом до метки.

***Без использования матрицы испытуемого раствора***

*Пробоподготовка*

*Методика 1*

*Стандартный раствор Б.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 0,5 мл стандартного раствора А и 0,5 мл раствора внутреннего стандартаи доводят объем раствора ацетонитрилом до метки.

*Испытуемый раствор.* Аналитическую пробу испытуемого образца измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. В тефлоновую пробирку для центрифугирования вместимостью 50 мл помещают 10,0 г (точная навеска) измельченного испытуемого образца, прибавляют 0,5 мл раствора внутреннего стандарта и 24,5 мл ацетонитрила, встряхивают в течение 1 мин (при необходимости допускается использование промежуточной стадии пробоподготовки: прибавляют 4 г безводного магния сульфата, 1 г натрия хлорида, тщательно встряхивают в течение 1 мин).

Извлечение центрифугируют в течение 3 мин при 5000 об/мин. После центрифугирования из верхнего слоя пробирки переносят аликвоту объемом 6 мл в тефлоновую пробирку для центрифугирования вместимостью 15 мл(при необходимости допускается использование промежуточной стадии пробоподготовки: прибавляют 150 мг сорбента, представляющего собой смесь первичных и вторичных аминов, и 950 мг магния сульфата безводного) и центрифугируют в течение 3 мин при 5000 об/мин. Полученную надосадочную жидкость фильтруют через фильтр с размером пор 0,45 мкм. В хроматографическую виалу, содержащую 15 мкл муравьиной кислоты раствора 5 % в ацетонитриле, переносят 1,5 мл полученного фильтрата.

Примечание – При необходимости допускается изменение объема ацетонитрила, с учетом коэффициента водопоглощения и особенностей испытуемого образца, с обязательным пропорциональным изменением объема внутреннего стандарта.

*Методика 2*

*Стандартный раствор В.* В коническую колбу вместимостью 100 мл помещают 0,5 мл стандартного раствора А и 0,5 мл раствора внутреннего стандарта, прибавляют 30,0 мл воды. К полученному раствору прибавляют 20 мл гексана и встряхивают в течение 5 мин. Полученное извлечение отфильтровывают в круглодонную колбу вместимостью 100 мл, экстракцию проводят дважды. Объединенные извлечения упаривают на роторном вакуумном испарителе досуха. Сухой остаток растворяют в 25 мл ацетонитрила (или другом подходящем растворителе).

*Испытуемый раствор:* Аналитическую пробу испытуемого образца измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. В коническую колбу вместимостью 100 мл помещают 10,0 г (точная навеска) измельченного испытуемого образца, прибавляют 0,5 мл раствора внутреннего стандарта и 30,0 мл воды, с учетом коэффициента водопоглощения и особенностей испытуемого образца. К полученному раствору прибавляют 20 мл гексана и встряхивают в течение 5 мин.Полученное извлечение фильтруют в круглодонную колбу вместимостью 100 мл, экстракцию проводят дважды. Объединенные извлечения упаривают на роторном вакуумном испарителе досуха. Сухой остаток растворяют в 25 мл ацетонитрила (или другом подходящем растворителе).

Измерение проводят аналогично методике, указанной в разделе «Метод стандартных добавок».

*Пригодность хроматографической системы*

- время удерживания определяемых компонентов в испытуемом растворе, не должны отличаться от времени удерживания компонентов в стандартном растворе Б или В, более чем на 0,5 мин;

- относительные интенсивности пиков характеристических ионов на реконструированной хроматограмме не должны отличаться более чем на 20 % от относительной интенсивности этих пиков в масс-спектре стандартного раствора Б или В, полученных в данной хроматомасс-спектрометрической системе;

- синхронность максимумов пиков характеристических ионов;

- соотношение сигнал/шум, должно быть не менее 3:1.

- для количественной оценки используют пробы, извлечение из которых внутреннего стандарта составило 70-110 %.

Условия проведения измерений могут быть иными при использовании других детекторов, при этом методика должна быть валидирована.

*Обработка результатов измерений*

Содержание хлорорганических пестицидов в мг/кг (Х) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | |  | (5) | |
| где | *Сo* | – | концентрация соответствующего пестицида в стандартном растворе Б или В, мкг/мл; | |
|  |  | – | концентрация испытуемого раствора, г/мл; | |
|  |  | – | площадь пика пестицида на хроматограмме испытуемого раствора; | |
|  | *So* | – | площадь пика пестицида на хроматограмме стандартного раствора Б или В. | |

Расчет содержания пестицидов в группе (группа ДДТ, группа ГХЦГ) проводится путем суммирования установленного содержания пестицидов в каждой группе.

***С использованием матрицы испытуемого раствора***

*Пробоподготовка*

*Методика 1*

*Стандартный раствор Б:* Аналитическую пробу испытуемого образца измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. В тефлоновую пробирку для центрифугирования вместимостью 50 мл помещают 10,0 г (точная навеска) измельченного испытуемого образца, прибавляют 0,5 мл раствора внутреннего стандарта,0,5 мл стандартного раствора А, 24,0 мл ацетонитрила\*, встряхивают в течение 1 мин (при необходимости допускается использование промежуточной стадии пробоподготовки: прибавляют 4 г безводного магния сульфата, 1 г натрия хлорида, тщательно встряхивают в течение 1 мин).

Извлечение центрифугируют в течение 3 мин при 5000 об/мин. После центрифугирования из верхнего слоя пробирки переносят аликвоту объемом 6 мл в тефлоновую пробирку для центрифугирования вместимостью 15 мл (при необходимости допускается использование промежуточной стадии пробоподготовки: прибавляют 150 мг сорбента, представляющего собой смесь первичных и вторичных аминов и 950 мг магния сульфата безводного) и центрифугируют в течение 3 мин при 5000 об/мин. Полученную надосадочную жидкость фильтруют через фильтр с размером пор 0,45 мкм. В хроматографическую виалу, содержащую 15 мкл муравьиной кислоты раствора 5 % в ацетонитриле, переносят 1,5 мл полученного фильтрата.

*Испытуемый раствор.* Аналитическую пробу испытуемого образца измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. В тефлоновую пробирку для центрифугирования вместимостью 50 мл помещают 10,0 г (точная навеска) измельченного испытуемого образца, прибавляют 0,5 мл раствора внутреннего стандарта, 24,5 мл ацетонитрила, встряхивают в течение 1 мин (при необходимости допускается использование промежуточной стадии пробоподготовки: прибавляют 4 г безводного магния сульфата, 1 г натрия хлорида, тщательно встряхивают в течение 1 мин). Извлечение центрифугируют в течение 3 мин при 5000 об/мин. После центрифугирования из верхнего слоя пробирки переносят аликвоту объемом 6 мл в тефлоновую пробирку для центрифугирования вместимостью 15 м (при необходимости допускается использование промежуточной стадии пробоподготовки: прибавляют 150 мг сорбента, представляющего собой смесь первичных и вторичных аминов, и 950 мг магния сульфата безводного) и центрифугируют в течение 3 мин при 5000 об/мин. Полученную надосадочную жидкость фильтруют через фильтр с размером пор 0,45 мкм. В хроматографическую виалу, содержащую 15 мкл муравьиной кислоты раствора 5 % в ацетонитриле, переносят 1,5 мл полученного фильтрата.

Примечание – При необходимости допускается изменение объема ацетонитрила, с учетом коэффициента водопоглощения и особенностей испытуемого образца, с обязательным пропорциональным изменением объема внутреннего стандарта.

*Методика 2*

*Стандартный раствор Б.* Аналитическую пробу испытуемого образца измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. В коническую колбу вместимостью 100 мл помещают 10,0 г (точная навеска) измельченного испытуемого образца, прибавляют 0,5 мл раствора внутреннего стандарта, 0,5 мл стандартного раствора А и 30,0 мл воды, с учетом коэффициента водопоглощения и особенностей испытуемого образца. К полученному раствору прибавляют 20,0 мл ацетонитрила и встряхивают в течение 5 мин. Полученное извлечение отфильтровывают в круглодонную колбу объемом 100 мл, экстракцию проводят дважды. Объединенные извлечения упаривают на роторном вакуумном испарителе досуха. К сухому остатку прибавляют 25 мл гексана.

*Испытуемый раствор.* Аналитическую пробу испытуемого образца измельчают до величины частиц, проходящих сквозь сито с отверстиями размером 0,5 мм. В коническую колбу вместимостью 100 мл помещают 10,0 г (точная навеска) измельченного испытуемого образца, прибавляют 0,5 мл раствора внутреннего стандарта и 30,0 мл воды, с учетом коэффициента водопоглощения и особенностей испытуемого образца (при необходимости добавляют органические растворители для улучшения экстракции). К полученному раствору прибавляют 20,0 мл ацетонитрила и встряхивают в течение 5 мин. Полученное извлечение отфильтровывают в круглодонную колбу вместимостью 100 мл, экстракцию проводят дважды. Объединенные извлечения упаривают на роторном вакуумном испарителе досуха. К сухому остатку прибавляют 25 мл гексана.

Измерение проводят аналогично методике, указанной в разделе «Метод стандартных добавок».

*Пригодность хроматографической системы*

- время удерживания определяемых компонентов в испытуемом растворе, не должны отличаться от времени удерживания компонентов в стандартном растворе Б или В, более чем на 0,5 мин;

- относительные интенсивности пиков характеристических ионов на реконструированной хроматограмме не должны отличаться более чем на 20 % от относительной интенсивности этих пиков в масс-спектре стандартного раствора Б или В, полученных в данной хроматомасс-спектрометрической системе;

- синхронность максимумов пиков характеристических ионов;

- соотношение сигнал/шум, должно быть не менее 3:1;

- для количественной оценки используют пробы, извлечение из которых внутреннего стандарта составило 70-110 %.

Условия проведения измерений могут быть иными при использовании других детекторов, при этом методика должна быть валидирована.

*Обработка результатов измерений*

Содержание хлорорганических пестицидов в мг/кг (Х) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | |  | (6) | |
| где | *Сo* | – | концентрация соответствующего пестицида в стандартном растворе, мкг/мл; | |
|  |  | – | концентрация испытуемого раствора, г/мл; | |
|  |  | – | площадь пика пестицида на хроматограмме испытуемого раствора; | |
|  | *So* | – | площадь пика пестицида на хроматограмме стандартного раствора; | |
|  |  | – | площадь пика внутреннего стандарта на хроматограмме стандартного раствора; | |
|  |  | – | площадь пика внутреннего стандарта на хроматограмме испытуемого раствора. | |

Расчет содержания пестицидов в группе (группа ДДТ, группа ГХЦГ) проводится путем суммирования установленного содержания пестицидов в каждой группе.

Способы оценки, пробоподготовки могут комбинироваться между собой в зависимости от особенностей испытуемого образца, методики должны быть валидированы.