Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение бис(2-этилгексил)фталата в жидких пищевых продуктах

Методические указания
МУК 4.1.2889—11

gost.e-ecolog.ru

ББК 51.23
О60
О60 **Определение** бис(2-этилгексил)фталата в жидких пищевых продуктах: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.—12 с.

1. Разработаны ГУ НИИ питания РАМН (академик РАМН В. А. Тутельян, проф., д.х.н К. И. Эллер, к.б.н. В. В. Пименова, С. В. Волкович, Е. П. Хромченкова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

3. Утверждены и введены в действие руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 6 июля 2011 г.

4. Введены впервые.

ББК 51.23

© **Роспотребнадзор, 2011**
© **Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011**

Содержание

1. Краткая характеристика бис(2-этилгексил)фталата 4
2. Методика определения бис(2-этилгексил)фталата в воде, безалкогольных напитках и соковой продукции методом капиллярной газожидкостной хроматографии с пламенно-ионизационным и масс-спектрометрическим детектором..... 6
2.1. Основные положения 6
2.1.1. Принцип методики..... 6
2.1.2. Метрологические характеристики методики 6
2.2. Реактивы..... 7
2.3. Приборы, оборудование, посуда 8
2.4. Отбор проб 9
2.5. Подготовка к определению 9
2.5.1. Приготовление стандартных растворов бис(2-этилгексил)фталата и дейтерированного бис(н-гексил)фталата 9
2.5.2. Подготовка пробы для анализа 9
2.6. Описание определения 10
2.6.1. Калибровка хроматографа..... 10
2.6.2. ГЖХ-МС анализ 11
2.7. Обработка результатов измерения 11
3. Оперативный контроль результатов измерений 12
3.1. Проверка приемлемости результатов параллельных определений 12
4. Требования техники безопасности 12
5. Требования к квалификации операторов 12
6. Условия измерений..... 12

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
6 июля 2011 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Определение бис(2-этилгексил)фталата в жидких пищевых продуктах

Методические указания
МУК 4.1.2889—11

Область применения

Настоящие методические указания устанавливают метод капиллярной газожидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором для определения массовых концентраций бис(2-этилгексил)фталата в жидких пищевых продуктах (бутилированная вода, безалкогольные напитки, соковая продукция) в диапазоне 0,1—1 000,0 мг/кг.

Методические указания предназначены для органов и учреждений Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и других служб, осуществляющих надзор (контроль) качества и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов, а также могут быть использованы другими лабораторными центрами, аккредитованными в установленном порядке.

1. Краткая характеристика бис(2-этилгексил)фталата

Общепринятое название: бис(2-этилгексил)фталат.

Название по номенклатуре ИЮПАК: бис(2-этилгексиловый) эфир 1,2-бензолдикарбоновой кислоты.

Синонимы: бис-(изооктил)фталат, ВЕНР.

Структурная формула:

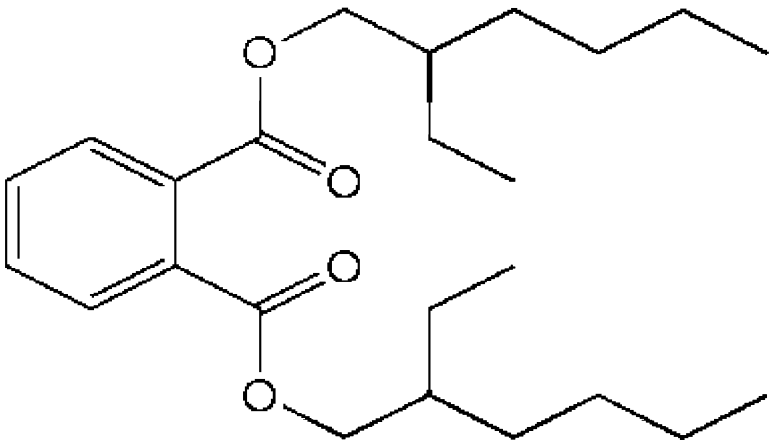


Рис. 1. Бис-(2-этилгексил)-фталат (БЭГФ)

Эмпирическая формула: $C_{24}H3_8O_4$, Молекулярная масса 390,56.
Номер CAS: 117-81-7.

Физические свойства: бесцветная или слегка желтоватая жидкость, температура плавления –55 °С, температура кипения 384 °С, плотность D 0,981 г/см^3 при 25 °С. Практически нерастворим в воде (0,285 мг в 1 л при 24 °С), растворим в гексане, хлористом метилене, трихлортрифторэтилене и других органических растворителях.

В промышленности бис(2-этилгексил)фталат (далее – БЭГФ) используют в качестве пластификатора для пластмасс на основе поливинилхлорида для получения гибкости полимерных продуктов. Поливинилхлоридные пластмассы могут содержать от 1 до 40 % БЭГФ. БЭГФ относится к 3-й группе токсичности. Европейское агентство по безопасности пищи (EFSA) оценило уровень, при котором отсутствуют наблюдаемые вредные эффекты (NOAEL), в 5 мг на 1 кг веса тела в день. С учетом дополнительного коэффициента безопасности (100) допустимый уровень суточного воздействия (TDI) установлен в 0,05 мкг/дм^3 веса тела, что эквивалентно 0,003—0,004 мкг/дм^3 веса тела/сутки. В Российской Федерации согласно СанПиН 2.1.4.1116—02 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды, расфасованной в емкости. Контроль качества» нормативами качества воды по показателю ди(2-этилгексил)фталата являются для воды первой категории – 6 мкг/дм^3; для воды высшей категории – 0,1 мкг/ дм^3.

2. Методика определения бис(2-этилгексил)фталата в воде, безалкогольных напитках и соковой продукции методом капиллярной газожидкостной хроматографии с пламенно-ионизационным и масс-спектрометрическим детектором

2.1. Основные положения

2.1.1. Принцип методики

Методика основана на определении бис(2-этилгексил)фталата методом капиллярной газожидкостной хроматографии (далее – ГЖХ) с использованием пламенно-ионизационного детектора (ПИД) или масс-спектрометрического детектора (далее – МС) после экстракции водного раствора гексаном (в случае воды) и перегонки с водяным паром и экстракции гексаном из водного дистиллята (в случае безалкогольных напитков и соковой продукции). Для количественного определения применен метод внутреннего стандарта, в качестве которого используется дейтерированный аналог бис-(н-гексил)-фталат-d^4 (БГФ-d).

2.1.2. Метрологические характеристики методики

Таблица 1

Метрологические характеристики методики определения при анализе воды

Метрологические характеристики	Диапазон концентраций БЭГФ в пробе	
	0,05—50,0 мкг/дм^3	50—5 000 мкг/дм^3
Предел повторяемости (r), %	19,2	15,5
Предел воспроизводимости (R_r),%	23,2	19,3
Относительная систематическая погрешность измерений (±δ), %, P = 0,95	16,9	13,8
Примечание: метрологические характеристики рассчитаны для образцов с содержанием бис(2-этилгексил)фталата 1,0 и 500,0 мкг/дм^3		

Таблица 2

Метрологические характеристики методики определения при анализе безалкогольных напитков и соковой продукции

Метрологические характеристики	Диапазон концентраций БЭГФ в пробе	
	1—100 мкг/дм^3	100—5 000 мкг/дм^3
Предел повторяемости (r), %	19,9	17,8
Предел воспроизводимости (R_r),%	24,5	21,6
Относительная систематическая погрешность измерений (±δ), %, P = 0,95	17,5	15,7
Примечание: метрологические характеристики рассчитаны для образцов с содержанием бис(2-этилгексил)фталата 10 и 500 мкг/дм^3		

2.2. Реактивы

Бис(2-этилгексил)фталат, кат. № 48557, подобные производства фирмы «Sigma-Aldrich» или с аналогичными характеристиками

Бис(н-гексил)фталат-d^4, кат. № 34167, подобные производства фирмы «Riedel-de Haen» — внутренний стандарт или с аналогичными характеристиками

Гексан, ч — ТУ 6-09-3534—74

Дихлорметан (хлористый метилен), осч

Натрий хлористый

Натрий серно-кислый безводный, хч — ГОСТ 199—68

Вода бидистиллированная (в стеклянной посуде) — ГОСТ 6709

2.3. Приборы, оборудование, посуда

Система капиллярной ГЖХ с пламенно-ионизационным детектором (ПИД)	
Система капиллярной ГЖХ с квадрупольным масс-спектрометром	
Микрошприц МШ-10 для жидкостной хроматографии или аналогичный	
Аппарат для встряхивания проб типа АВУ-6С или аналогичный	ТУ 64-1-2451—78
Весы лабораторные общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г и погрешностью ± 0,0001 г	ГОСТ 24104
Колбы плоскодонные с конусом 14/23 объемом 100 см^3	ГОСТ 25336
Цилиндры вместимостью 100 см^3	ГОСТ 1770
Пипетки 4-1-2 или 5-1-2, , 4-2-25 или 5-2-25	ГОСТ 29227
Вайл (ёмкость 4—6 см^3 с герметично завинчивающейся крышкой)	
Фильтры беззольные ФО-ФС-15 «Синяя лента»	ТУ 2642-001-42624157—98

Допускается использование приборов и посуды с метрологическими характеристиками и реактивов квалификацией не ниже указанных в МУК.

Все растворители перед проведением анализа следует перегонять с использованием только стеклянной лабораторной посуды. На дальнейших этапах используется только стеклянная лабораторная посуда, предварительно промытая перегнанным в стекле гексаном или хлористым метиленом. Для исключения возможности получения ложноположительных результатов на всех этапах проведения анализа экстракты не должны контактировать с пластиками.

2.4. Отбор проб

Для учета специфики отбора проб отдельных видов продуктов следует руководствоваться действующей нормативно-технической документацией на конкретную продукцию.

2.5. Подготовка к определению

2.5.1. Приготовление стандартных растворов бис(2-этилгексил)фталата и дейтерированного бис(н-гексил)фталата

Навеску (0,01 ± 0,001) г БЭГФ количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, растворяют в 20 см³ метиленхлорида, затем добавляют гексан до метки. Получают основной стандартный раствор БЭГФ в 100 см³ смеси гексан-хлористый метилен (4 : 1) с концентрацией 100 мг/дм³. Аналогично готовят основной стандартный раствор внутреннего стандарта БГФ-d с концентрацией 100 мг/дм³. Рабочие растворы с концентрацией фталатов 1 мг/дм³ (1 нг/мм³) готовят разбавлением в 100 раз гексаном стандартных растворов. Основной и рабочие стандартные растворы хранят в стеклянной посуде (мерной колбе) с притертой стеклянной пробкой в прохладном месте (при температуре около 0 °С). Сроки годности основного раствора – 9 месяцев, рабочих растворов – 1 месяц.

2.5.2. Подготовка пробы для анализа

2.5.2.1. Подготовка образца воды

К 100 см³ образца воды продукта добавляют 5 г сухого хлористого натрия. Добавляют 0,2 см³ рабочего раствора БГФ-d и 0,8 см³ гексана, добавка соответствует концентрации внутреннего стандарта в 2 мкг/дм³.

Встряхивают в течение 1 мин. После разделения слоев из верхнего органического слоя вносят микрошприцем 1—2 мм³ в инжектор ГЖХ-ПИД системы. Количество БЭГФ в образце воды определяют по сравнению площади его пика с пиком внутреннего стандарта по калибровочной зависимости площади пиков анализируемого вещества и его дейтерированного аналога по формуле .

При анализе воды высшей категории, где установленный уровень МДУ составляет 0,1 мкг/дм³, применяют следующий вариант подготовки пробы: к 1 дм³ образца воды добавляют 0,2 см³ рабочего раствора БГФ-d и 9,8 см³ гексана (добавка соответствует концентрации внутреннего стандарта в 0,2 мкг/дм³). Смесь встряхивают, отделяют верхний гексановый слой и удаляют гексан в токе азота до

объема примерно в 1,0—1,5 $см^3$, вносят микрошприцем 1—2 $мм^3$ в инжектор ГЖХ-ПИД системы.

2.5.2.2. Подготовка образца безалкогольных напитков и соковой продукции

В круглодонную перегонную колбу на 250 $см^3$ помещают 100 $см^3$ напитка, добавляют 5 г хлористого натрия и 0,2 $см^3$ (2 мкг/$дм^3$ БГФ-d в напитке) рабочего раствора внутреннего стандарта. Смесь нагревают на глицериновой бане до кипения, отгоняя 50 $см^3$ дистиллята. К водному дистилляту добавляют 1 $см^3$ гексана, встряхивают, после разделения слоев 1—2 $мм^3$ из верхнего органического слоя вносят в инжектор ГЖХ системы. Далее анализируют по пункту 2.5.2.1.

2.6. Описание определения

Образцы анализируют с помощью системы ГЖХ-ПИД. Разделение проводят на капиллярной колонке 30 m × 0,32 mm × 0,25 um, покрытой полиметилсилоксаном типа DB-1ms или полиметилсилоксаном с 5 % фенильных групп типа DB-5ms, газ-носитель – азот, скорость потока до сброса – 40—42 мл/мин, входное давление – 15 psi. Температура инжектора 280 °С, режим ввода без разделения потока (splitless) газа-носителя, температура программируется от 60 до 280 °С со скоростью 20 °С/мин, температура детектора 300 °С. Примерное время выхода растворителя 1,2—1,4 мин, БЭГФ – около 11 мин, внутреннего стандарта БГФ-d – около 10 мин. Относительное приведенное время удерживания выхода БЭГФ по внутреннему стандарту составляет примерно 1,095—1,085. ГЖХ-ПИД должна обеспечивать уровень сигнала фталатов, превышающий шум в 3 раза, при вводе 0,05 нг БЭФГ или БГФ-d.

2.6.1. Калибровка хроматографа

Для градуировки в хроматограф из рабочих растворов БЭГФ и внутреннего стандарта с концентрацией 1 нг/ $мм^3$ каждый готовят смеси.

Калибровочная смесь № 1: к 1 $см^3$ рабочего раствора БЭГФ добавляют 1 $см^3$ рабочего раствора внутреннего стандарта, получая смесь с концентрацией каждого вещества 0,5 нг/$мм^3$ при соотношении стандартов 1 : 1.

Калибровочная смесь № 2: к 0,5 $см^3$ рабочего раствора БЭГФ добавляют 1,0 $см^3$ раствора внутреннего стандарта и 0,5 $см^3$ гексана, получая смесь с концентрацией БЭГФ 0,25 нг/$мм^3$ и БГФ-d 0,5 нг/$мм^3$ при соотношении стандартов 1 : 2.

Калибровочная смесь № 3: к 1,0 $см^3$ рабочего раствора БЭГФ добавляют 0,5 $см^3$ рабочего раствора внутреннего стандарта и 0,5 $см^3$

гексана, получая смесь с концентрацией БЭГФ 0,5 нг/мм³ и БГФ-d 0,25 нг/мм³ при соотношении стандартов 2 : 1.

Вводят 1—2 мм³ каждой смеси в ГЖХ-ПИД систему, определяют соотношения площадей пиков БЭГФ и внутреннего стандарта БГФ-d.

Строят калибровочный график зависимости соотношения площадей на хроматограммах ($S/S_{ст}$) от соотношения концентраций БЭГФ и внутреннего стандарта БГФ-d ($C/C_{ст}$), определяя коэффициент *K*.

2.6.2. ГЖХ-МС анализ

Для подтверждения наличия БЭГФ используют систему ГЖХ-МС, основанную на Thermo Trace GC 200 газовом хроматографе, соединенном с квадрупольным масс-спектрометром DSQ II (подобного производства США), или аналогичную систему. Разделение проводят на капиллярной колонке 25 м × 0,32 мм × 0,25 мкм, покрытой полиметилсилоксаном типа DB-1ms или полиметилсилоксаном с 5 % фенильных групп типа DB-5ms, газ-носитель – гелий, скорость потока через колонку – 1 см/мин. Температура переходных линий – 250 °С, температура термостата колонки программируется от 60 до 280 °С со скоростью 10 см/мин, диапазон регистрируемых масс – от 40 до 450 а.е.м. Базовая масса БЭГФ – m/z = 149, другие характеристические ионы 113, 167 и 279. Базовая масса внутреннего стандарта БГФ-d – m/z = 153.

2.7. Обработка результатов измерения

Содержание в образцах рассчитывают методом внутреннего стандарта по формуле:

$$C = K \times C_{ст.} \times \frac{S_{обр.}}{S_{ст.}}, \quad \text{где}$$

C – массовая концентрация БЭГФ, мкг/дм³;

$C_{ст.}$ – массовая концентрация добавленного внутреннего стандарта, мкг/дм³;

$\frac{S_{обр.}}{S_{ст.}}$ – отношение площади пика БЭГФ в образце к площади пика внутреннего стандарта;

K – калибровочный коэффициент, получаемый из калибровочной кривой (пункт 2.6.1).

За результат принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных измерений и выражают с точностью до одного десятичного знака.

3. Оперативный контроль результатов измерений

3.1. Проверка приемлемости результатов параллельных определений

Хроматографирование проб проводят не менее двух раз, сравнивают отношение площади пика исследуемого вещества к площади пика внутреннего стандарта БГФ-d.

Допустимое расхождение между параллельными измерениями (R) определяют на основании предела повторяемости (r) (табл. 1):

$$R = 0{,}01 \times (r, \%) \times \overline{X}, \text{ мкг/дм}^3, \quad \text{где}$$

$\overline{X}$ – средняя концентрация двух определений C_1 и C_2.

Если расхождение между параллельными определениями не превышает допустимого:

$$|C_1 - C_2| \le R$$

то среднее арифметическое принимают за результат анализа.

При превышении норматива R следует повторить измерения, используя новую пробу.

4. Требования техники безопасности

При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007, требования электробезопасности при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019, а также требования, изложенные в технической документации на газовый хроматограф.

5. Требования к квалификации операторов

Работу по указанной методике могут исполнять высококвалифицированные специалисты в области газожидкостной хроматографии и санитарной химии. Исполнители должны быть проинструктированы по основным мерам техники безопасности при работе с веществами 1—2-го класса опасности, органическими растворителями, а также по основным правилам безопасности при работе в химлаборатории (п. 3).

6. Условия измерений

Помещение лаборатории должно соответствовать санитарным правилам проектирования, оборудования, эксплуатации и содержания производственных и лабораторных помещений, предназначенных для проведения работ с веществами 1—2-го класса опасности, органическими растворителями. Аналитическая лаборатория должна быть оснащена вентиляционной системой согласно ГОСТ 12.4.021.

Температура окружающего воздуха должна быть от 15 до 25 °С. Относительная влажность воздуха не более 80 % при 25 °С. Атмосферное давление 730—760 мм рт. ст. Напряжение электропитания 210—220 В. Частота переменного тока 45—50 Гц.

gost.e-ecolog.ru