МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
САНИТАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

СОГЛАСОВАНО
Зам. директора ГП «Центр
эталонов, стандартизации
и метрологии»

В.П. Лобко
2000г.

УТВЕРЖДАЮ
Главный Государственный
санитарный врач
Республики Беларусь,
зам. министра
здравоохранения

В.П. Филонов
2000г.
№

МЕТОДИКА

выполнения измерений концентраций
дибутилфталата (ДБФ) и диоктилфталата (ДОФ)
в водной и в водно-спиртовых средах, имитирующих
алкогольные напитки, методом
газовой хроматографии

МВИ.МН 1402-2000

Директор БелНИИГ
профессор

Соколов С.М.

Минск 2000

gost.e-ecolog.ru

Учреждение-разработчик:
Белорусский научно-исследовательский санитарно-гигиенический институт, отдел физико-химических исследований
Заведующий отделом Марусич НИ.
(017) 284-13-73

Авторы:

Заведующий отделом физико-химических исследований, кандидат химических наук — Н.И. Марусич

Заведующий лабораторией хроматографических исследований, кандидат химических наук — В.Ф. Новицкий

Старший научный сотрудник — Т.В. Новицкая

Научный сотрудник — А.А. Пискун

Рецензенты:

Заведующий отделением профилактической токсикологии с лабораторией РЦГЭ МЗ РБ — П.И. Десятик

Заведующий лабораторией физико-химических исследований РЦГЭ МЗ РБ — В.В. Гулин

Старший научный сотрудник лаборатории физико-химических исследований РНПЦ по ЭОК и БПП, к.х.н. — А.Л. Перцовский

Ответственный за выпуск:
Заведующий лабораторией хроматографических исследований БелНИСГИ — В.Ф. Новицкий

АННОТАЦИЯ

Методика выполнения измерений концентраций дибутилфталата (ДБФ) и диоктилфталата (ДОФ) в водной и водно-спиртовых средах, имитирующих алкогольные напитки, основана на анализе их толуольных экстрактов методом газожидкостной хроматографии с использованием детектора по захвату электронов.

Методика предназначена для центров санэпиднадзора Министерства здравоохранения Республики Беларусь, санитарных лабораторий промышленных предприятий, научно-исследовательских работ, связанных с определением дибутилфталата и диоктилфталата.

Методика утверждена Министерством здравоохранения Республики Беларусь в качестве официального документа.

Настоящая МВИ устанавливает газохроматографическую методику количественного химического анализа проб водной и водно-спиртовых сред, имитирующих алкогольные напитки, для определения в них концентраций дибутилфталата в пределах от 0,1 до 0,5 мг/дм^3 и диоктилфталата от 1,0 до 4,0 мг/дм^3.

1. Краткая характеристика веществ

Дибутилфталат (дибутиловый эфир фталевой кислоты, ДБФ)
$C_{16}H_{22}O_4$
М.м. 278,4
Бесцветная маслянистая жидкость без запаха. $T_{кип.}$ 340^{0}С, $T_{пл.}$-35^{0}С. Плотность при 25^{0}С - 1,047-1,050 г/см^3. Хорошо растворим в органических растворителях, в воде - 0,1%.
Малотоксичен, вызывает раздражение слизистых оболочек.
Допустимые количества миграции (ДКМ) дибутилфталата - 0,25 мг/дм^3

Диоктилфталат (диоктиловый эфир фталевой кислоты, ДОФ)
$C_{24}H_{38}O_4$
М.м. 390,64
Бесцветная маслянистая жидкость со слабым запахом. $T_{кип.}$ 229^{0}С при 4,5 мм.рт.ст., $T_{пл.}$ -40^{0}С. Плотность при 20^{0}С - 0,9780 г/см^3. Растворим в петролейном эфире, бензине, хлороформе, четыреххлористом углероде, этиловом спирте, бензоле, толуоле. Нерастворим в воде.
ДКМ диоктилфталата - 2,0 мг/дм^3.
Оба вещества широко применяются в качестве пластификаторов при изготовлении полимеров.

2. Нормы погрешности

Методика выполнения измерений дибутилфталата в модельных средах обеспечивает получение результатов измерений с суммарной погрешностью, не превышающей ± 19% для ДБФ и ± 16% для ДОФ при доверительной вероятности 0,95. Диапазон измерения концентраций 0,1-0,5 мг/дм^3 для ДБФ и 1,0-4,0 мг/дм^3 для ДОФ. Нижний предел измерения концентраций в объеме анализируемого раствора: для ДБФ - 0,2 нг; для ДОФ 2,0 нг. При условиях выполнения измерений, указанных в МВИ, достигается 100% селективность по каждому соединению.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы:

3.2. Средства измерений.

Хроматограф газовый с детектором по захвату электронов с чувствительностью по линдану 3 x 10^{-13} г/с.	СКО высот пиков ±1%
Весы аналитические ВЛР-200М, класс точности 2	ГОСТ 24104-80
Весы технические Т-200 Завод весоизмерительных приборов (София, Болгария)	
Меры массы, Г-2-210	ГОСТ 7328-82
Пипетки 1-1-2-1 ,1-1-2-10	ГОСТ 29227-91
Микрошприц МШ-10	ТУ 2-833-106
Колбы мерные 2-50-2, 2-100-2	ГОСТ 1770-74

Пробирки П-2-15-14/23ХС	ГОСТ 1770-74
Цилиндр мерный 3-100-2	ГОСТ 1770-74
Линейка измерительная с ценой деления 1мм, диапазоном измерения 0 – 150 мм	ГОСТ 427-75

3.3. Вспомогательные устройства.

Колонка хроматографическая стеклянная (100 х 0,3)	
Насос водоструйный	ГОСТ 25336-82

Могут быть использованы другие средства измерения и вспомогательные устройства, по точности не уступающие рекомендуемым в методике.

3.4. Реактивы.

Хроматон N-AW-DMCS (зернением 0,16-0,20 мм) с 5% SE-30	США
Дибутилфталат, хч	ГОСТ 8728-77
Диоктилфталат, хч	ГОСТ 8728-77
Азот, осч	ГОСТ 9293-74
Этиловый спирт ректификованный	ГОСТ 5962-67
Толуол, хч	ГОСТ 5789-78
Натрия хлорид, ч	ГОСТ 4233-77
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709-72

Могут быть использованы реактивы-эквиваленты, по квалификации не уступающие указанным в методике.

4. Метод измерений

Измерение концентраций ДБФ (ДОФ) в модельных средах основано на переэкстракции вещества из водных, водно-спиртовых модельных сред в толуол, с последующим газохроматографическим разделением на стеклянной колонке 1 м, заполненной Хроматоном N-AW-DMCS (зернением 0,16-0,20 мм) 5% SE-30 с применением детектора по электронному захвату.

Определению не мешают стирол, формальдегид, метанол и вещества, выделяющиеся совместно с пластификаторами при деструкции полимерных материалов.

5. Требования безопасности

При выполнении измерений концентрации ДБФ в модельных средах соблюдают требования безопасности, изложенные в инструкции "Основные правила безопасной работы в химических лабораториях". М.: Химия, 1979г. и инструкцию по эксплуатации газового хроматографа.

При выполнении измерений с использованием газового хроматографа следует соблюдать правила электробезопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.019-79 и инструкции по эксплуатации прибора.

6. Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений могут быть допущены лица имеющие высшее и среднее специальное образование, изучившие работу на газовом хроматографе и настоящую методику.

7. Условия выполнения измерений

При выполнении измерений в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура воздуха (20±5)^{0}С;
- атмосферное давление 84,0 – 106,7 кПа;
- влажность воздуха при температуре 25^{0}С не более 80%.

Выполнение измерений на газовом хроматографе проводят в условиях, рекомендуемых технической эксплуатацией к прибору.

8. Подготовка к выполнению измерений

8.1. Перед выполнением измерений должны быть проведены следующие работы: подготовка измерительной и вспомогательной аппаратуры, приготовление растворов, установление градуировочной характеристики, отбор и подготовка проб к измерениям.

8.2. Подготовка измерительной аппаратуры.

Стеклянную колонку длиной 1 м промывают хромовой смесью, дистиллированной водой, ацетоном и диэтиловым эфиром. Затем колонку высушивают в токе воздуха.

В колонку со стороны, подключаемой к детектору вкладывают тампон стекловаты и присоединяют этот конец колонки к водоструйному насосу. Постукивая по колонке, заполняют ее через воронку готовой насадкой - силанизированным хроматоном N-AW-DMCS с 5% SE-30. Насадку закрепляют в колонке вторым тампоном стекловаты.

Подготовленную колонку подключают к испарителю хроматографа и продувают азотом с расходом 20-30 см^3/мин сначала при программировании температуры от 50 до 250 ^{0}С, со скоростью 2 ^{0}С/мин, а затем в изотермическом режиме при 250^{0}С в течение 12 часов, после чего колонку охлаждают, присоединяют к детектору и кондиционируют при 200^{0}С до тех пор, пока дрейф нулевой линии не уменьшиться до 5% от длины шкалы регистратора за 1 час при чувствительности, соответствующей минимально определяемой концентрации.

8.3. Приготовление растворов.

8.3.1. Основные стандартные растворы № 1 для ДБФ и № 3 для ДОФ с концентрацией приблизительно 1000 мкг/см^3 в спирте.

Мерную колбу вместимостью 50 см^3 с 10-15 см^3 этилового спирта взвешивают на аналитических весах с точностью до 0,00015 г. Используя пипетку на 1 см^3 или стеклянный капилляр, вносят в нее несколько капель ДБФ (ДОФ) - приблизительно 0,05 см^3. Колбу заново взвешивают с той же точностью. Раствор в колбе доводят до метки этиловым спиртом. Точную концентрацию ДБФ (ДОФ) в растворе (С, мкг/см^3) рассчитывают по формуле:

$$C = \frac{(m_2 - m_1) \times 10^6}{V} \quad (1),$$

где m_1 - вес колбы со спиртом без вещества, г;
m_2 - вес колбы со спиртом и веществом, г;
V - объем мерной колбы, см^3.

Основные стандартные растворы устойчивы при хранении в мерных колбах в холодильнике в течение 6 месяцев.

8.3.2. Рабочий стандартный раствор № 2 с концентрацией ДБФ 10 мкг/см^3 готовят из основного стандартного раствора № 1, объем которого ($V_{ДБФ}$) рассчитывают по формуле:

$$V_{ДБФ} = \frac{10 \times 100}{C} \quad (2),$$

где 10 – заданная концентрация, мкг/см^3;
100 – объем мерной колбы, см^3;
С – точная концентрация основного стандартного раствора № 1, мкг/см^3.

Рассчитанный объем основного стандартного раствора № 1 ($V_{ДБФ}$) пипеткой вносят в мерную колбу вместимостью 100 см^3 , объем в колбе доводят до метки этиловым спиртом. Раствор устойчив в течение месяца в холодильнике.

8.3.3. Рабочий стандартный раствор № 4 с концентрацией ДОФ 100 мкг/см^3 готовят из основного стандартного раствора № 3, объем которого ($V_{ДОФ}$) рассчитывают по формуле:

$$V_{ДОФ} = \frac{100 \times 100}{C} \quad (3)$$

, где 100 – заданная концентрация ДОФ, мкг/см^3;
100 – объем мерной колбы, см^3;
С - точная концентрация основного стандартного раствора № 3, мкг/см^3.

Рассчитанный объем основного стандартного раствора № 3 ($V_{ДОФ}$) пипеткой вносят в мерную колбу вместимостью на 100 см^3, объем в колбе доводят до метки этиловым спиртом. Раствор устойчив в течение месяца в холодильнике.

8.3.4. Приготовление градуировочных растворов ДБФ.

0,1; 0,2; 0,25; 0,4 и 0,5 см^3 рабочего стандартного раствора № 2 пипеткой на 1 см^3 помещают в пробирки с пришлифованными пробками вместимостью на 15 см^3, доводят объем в пробирке до 10 см^3 водой дистиллированной. Концентрация ДБФ в растворе составляет соответственно 0,1; 0,2; 0,25; 0,4; 0,5 мкг/см^3.

8.3.5. Приготовление градуировочных растворов ДОФ.

0,1; 0,2; 0,25; 0,3; 0,4 см^3 стандартного раствора № 4 пипеткой на 1 см^3 помещают в пробирки с пришлифованными пробками вместимостью 15 см^3, доводят дистиллированной водой до 10 см^3. Концентрация ДОФ в растворе соответственно 1; 2; 2,5; 3; 4 мкг/см^3.

8.4. Установление градуировочной характеристики.

Градуировочную характеристику, выражающую зависимость высоты хроматографического пика от концентрации вещества в растворе, устанавливают по пяти сериям из пяти растворов. В пробирки с градуировочными растворами (п.8.3.4. или 8.3.5.) всыпают по 0,1- 0,2 г хлорида натрия и вливают пипеткой по 1 см^3 толуола, закрыв пробирку пробкой, энергично встряхивают ее в течение 3-5 мин. После четкого расслаивания двух растворов в пробирке хроматографируют верхний толуольный слой, беря ее аликвоту, в соответствии со следующими условиями:

Температура испарителя	250^{0}С
Температура детектора	230^{0}С
Температура термостата колонок	210^{0}С
Расход газа-носителя азота	30 см^3/мин
Объем вводимой пробы	2 мкл
Скорость протяжки ленты самописца	0,6 см/мин
Время удерживания ДБФ	2 мин
Время удерживания ДОФ	7 мин

Каждый градуировочный раствор хроматографируют дважды.

Измеряют высоты пиков ДБФ (ДОФ). Из двух хроматографических пиков ДБФ (ДОФ) вычисляют его среднюю величину. Для установления градуировочной характери-

стики вычисляют среднее значение результатов пяти параллельных определений для каждого градуировочного раствора.

Наклон градуировочного графика для каждого вещества определяется градуировочным коэффициентом прибора, который вычисляют по формуле:

$$a_i = \frac{c}{h} \quad (4) \quad \text{, где}$$

a_i - градуировочный коэффициент, мкг/мм;

c – содержание ДБФ (ДОФ) в 1 см^3 толуольного экстракта, мкг;

h - высота пика ДБФ или ДОФ, мм.

Градуировочный коэффициент вычисляют по средним значениям пяти серий, каждая из которых состоит из пяти концентраций. Таким образом получают пять значений величины a_i, а затем находят ее среднюю величину по формуле:

$$a_{ср} = \frac{\sum_{i=1}^{5} a_i}{5} \quad (5)$$

В данном случае можно использовать метод наименьших квадратов. Градуировочный коэффициент определяется для ДБФ и ДОФ отдельно.

9. Отбор проб

В соответствии с Инструкцией по санитарно-химическому исследованию изделий, изготовленных из полимерных и других синтетических материалов, предназначенных для контакта с пищевыми продуктами, № 880-71 модельными средами, которые имитируют алкогольные напитки, являются дистиллированная вода, 20-%-ный спирт и 40-%-ный спирт. Каждой модельной средой заливается по две пробы исследуемого образца. После соответствующей экспозиции сливаются вытяжки одного вида модельной среды, отбирается по две пробы каждой усредненной вытяжки.

10. Выполнение измерений ДБФ (ДОФ)

Две пробы по 10 см^3 модельного раствора, приготовленного по п. 9, пипеткой на 10 см^3 вносят в пробирки вместимостью 15 см^3; добавляют по 0,1-0,2 г хлорида натрия и по 1 см^3 толуола. Закрывают пробирки пробками и энергично встряхивают в течение 3 – 5 мин. После разделения слоев 2 мкл верхнего толуольного слоя вводят в испаритель хроматографа. Каждый раствор хроматографируют дважды. Измеряют высоту пиков ДБФ (ДОФ). Определяют среднюю величину хроматографического пика. Из одной пробы можно одновременно определять ДБФ и ДОФ, используя для расчета свой градуировочный коэффициент для каждого вещества.

11. Обработка результатов измерений

Массовую концентрацию ДБФ (ДОФ) C (мкг/см^3, мг/дм^3) рассчитывают по формуле:

$$C = \frac{a \times h}{10} \quad (6), \text{ где}$$

h - высота пика ДБФ или ДОФ, мм;

a - градуировочный коэффициент по ДБФ или ДОФ, мкг/мм;

10 - объем пробы, взятой для анализа, $см^3$.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений, расхождение между которыми не должно превышать 20 % для ДБФ и 20 % для ДОФ по отношению к среднему значению.

Гарантированный результат анализа представляют в следующем виде:

$C = C_{ср} \pm \Delta$МВИ, где Δ МВИ - суммарная погрешность результатов измерения, равная 19 % для ДБФ и 16 % для ДОФ, которую необходимо перевести в абсолютные единицы по формуле:

$$\frac{\Delta \times C_{ср}}{100} \quad (7)$$

Измерение концентраций ДБФ и ДОФ по данной методике можно проводить одновременно, рассчитав предварительно коэффициент а для каждого из этих веществ.

12. Контроль погрешности МВИ

Внутренний оперативный контроль (ВОК) показателей качества результатов измерений концентраций ДБФ (ДОФ) в водной и водно-спиртовых вытяжках методом газожидкостной хроматографии осуществляют с целью получения оперативной информации о качестве этих анализов и принятия при необходимости оперативных мер по его повышению. ВОК осуществляют по четырем показателям: стабильности градуировочной характеристики, сходимости результатов параллельных измерений, воспроизводимости результатов КХА, точности результатов анализов.

Таблица 1

Нормативы оперативного контроля для МВИ концентраций ДБФ (ДОФ) в водной и водно-спиртовых вытяжках

Норматив сходимости результатов параллельных определений d, %	Норматив воспроизводимости результатов КХА D, %	Точность результатов анализа К, %
ДБФ – 20 ДОФ – 20	ДБФ – 19 ДОФ – 13	ДБФ – 19 ДОФ – 16

12.1.Средства контроля погрешности методики выполнения измерений

В качестве средств контроля в процессе определения показателей качества результатов анализа применяются: для контроля стабильности градуировочной характеристики – градуировочные растворы, приготовленные по п. 8.3.4, для контроля сходимости и воспроизводимости - пробы, содержащие ДБФ (ДОФ).

12.2. Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят при смене основных реактивов, но не реже одного раза в месяц. При контроле стабильности градуировочной характеристики проводят измерения не менее трех образцов концентраций для градуировки, содержание ДБФ (ДОФ) в которых должно охватывать весь диапазон концентраций 0,1 – 0,5 $мг/дм^3$ для ДБФ и 1,0 – 4,0 $мг/дм^3$ для ДОФ.

Градуировочная характеристика считается стабильной, если для каждого из используемых для контроля градуировочных растворов сохраняется соотношение:

$$A = \frac{(X - C) \times 100}{C} \leq 12\% \text{ для ДБФ (ДОФ)}$$

X – концентрация ДБФ (ДОФ) контрольного измерения, $мг/дм^3$;

C – известная концентрация градуировочной смеси ДБФ (ДОФ), взятая для контроля стабильности градуировочной характеристики, $мг/дм^3$;

12 – погрешность градуировочной характеристики для ДБФ (ДОФ), %;

Если величина расхождения (А) превышает 12%, делают вывод о невозможности применения градуировочной характеристики для дальнейших измерений. В этом случае выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики и повторяют контроль ее стабильности с использованием других образцов смеси для градуировки. При повторном обнаружении нестабильности градуировочной характеристики определяют ее заново согласно п. 8.3.4.

12.3. Сходимость результатов определения (d_k) концентраций ДБФ(ДОФ) проводят путем сравнения расхождения результатов двух параллельных определений с нормативом сходимости результатов параллельных определений (d). Должно выполняться следующее соотношение:

$$d_k = X_1 - X_2 \le d, \quad (8) \qquad d_{k\%} = \frac{d_k \times 100}{X_{ср}} \quad (9), \quad \text{где}$$

d – норматив сходимости (табл. 1);

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, мг/дм^3.

Если $d_k \le d$, то сходимость результатов параллельных определений признают удовлетворительной, и по ним может быть рассчитан результат измерений при рабочих измерениях и контрольном измерении.

Если $d_k > d$, то рабочая или котрольная проба подлежит повторному измерению. При повторном превышении указанного норматива необходимо выяснить причины, приводящие к неудовлетворительных результатам, и устранить их.

12.4. Контроль воспроизводимости результатов измерений проводится не реже 2 – 3 раз в месяц с использованием рабочих проб. Контроль воспроизводимости обязателен при смене партии реактивов, посуды, после ремонта оборудования, существенных изменений условий выполнения измерений.

Контроль воспроизводимости проводится путем сравнения результата контрольной процедуры D_1, равного расхождению двух результатов измерений - первичного ($\overline{X}_1$) и повторного ($\overline{X}_2$) – содержания ДБФ (ДОФ) в одной и той же рабочей пробе с нормативом воспроизводимости D (табл. 1).

Первичный и повторный результат измерений должен быть получен в разных условиях, например, двумя операторами в один или разные дни. D_1 рассчитывают по формуле:

$$D_1 = \overline{X}_1 - \overline{X}_2 \quad (10), \qquad D_1 = \frac{D_1 \times 100}{X_{ср}} \quad (11), \quad \text{где}$$

$\overline{X}_1$ - первичный результат измерения рабочей пробы;

$\overline{X}_2$ - повторный результат измерения рабочей пробы.

Величины $\overline{X}_1$ и $\overline{X}_2$ должны быть получены с соблюдением условий сходимости.

Если $D_1 \le D$, то воспроизводимость контрольных измерений признается удовлетворительной. В этом случае воспроизводимость результатов измерений рабочих проб, полученных в условиях, соответствующих требованиям МВИ, признается удовлетворительной.

В случае превышения норматива воспроизводимости, когда $D_1 > D$, контроль повторяют. Пр повторном превышении указанного норматива должны быть выяснены и устранены причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля воспроизводимости.

12.5. ВОК точности осуществляют с использованием метода добавок. Образцами для контроля являются рабочие пробы и эти же пробы с добавкой любой градуировочной смеси. К пробе с добавкой предъявляются следующие требования: добавка должна вводиться в пробу на самой ранней стадии измерений; проба с введенной добавкой не должна выходить за верхнюю границу определяемого диапазона концентраций ДБФ (ДОФ) согласно МВИ.

Контроль точности проводится по результатам измерений пробы до введения добавки ($X_{пр}$) и после введения добавки градуировочной смеси ($X_{пр.доб}$) концентрацией $C_{доб}$ в

исходную пробу. Разница ($К_к$) между найденной / $Х_{пр.доб}$ – $Х_{пр}$ / и введенной ($С_{доб}$) концентрацией добавки не должна превышать по абсолютной величине значения норматива точности К (табл. 1).

$$К_к = / Х_{пр.доб} - Х_{пр} - С_{доб} / < К \qquad (12)$$

Если для расчета используются относительные значения погрешностей Δ, то относительное значение $К_к$ рассчитывается по формуле:

$$К_{к.отн.} = \frac{К_к \times 100}{С_{доб}} \qquad (13)$$

Точность контрольных измерений, а также точность результатов измерений рабочих проб, выполненных в условиях соблюдения требований МВИ, признается удовлетворительной, если / $К_к$ /< К.

Если / $К_к$ /> К, то точность контрольных измерений признается неудовлетворительной и процедура контроля повторяется с использованием другой рабочей пробы. При повторном получении неудовлетворительных результатов контроля точности выясняют и устраняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля.

gost.e-ecolog.ru