**Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации**

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Измерение массовых концентраций фталатов (диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата) в молоке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.3160—14**

Издание официальное

**Москва • 2015**

gost.e-ecolog.ru

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

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Измерение массовых концентраций фталатов (диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата) в молоке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Методические указания**
**МУК 4.1.3160—14**

ББК 51.23
И37

И37 **Измерение** массовых концентраций фталатов (диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата) в молоке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015.—20 с.

ISBN 978—5—7508—1311—7

1. Разработаны ФБУН «Федеральный научный центр медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения» (Т. С. Уланова, Н. В. Зайцева, Т. Д. Карнажицкая, Е. О. Пшеничникова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 26 декабря 2013 г. № 4).

3. Утверждены Врио руководителя Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главного государственного санитарного врача Российской Федерации А. Ю. Поповой 24 февраля 2014 г.

4. Введены впервые.

**ББК 51.23**

Редактор Н. В. Кожока
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 02.04.15

Формат 60x84/16 Усл. печ. л. 1,16

Тираж 150 экз. Заказ 31

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а

Отделение реализации, тел./факс 8(495)952-50-89

**© Роспотребнадзор, 2015**
**© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2015**

## Содержание

1. Назначение и область применения ..... 4
2. Физико-химические и токсикологические свойства ..... 5
3. Метрологические характеристики методики выполнения измерений ..... 6
4. Метод измерения ..... 6
5. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы ..... 7
6. Требования безопасности и охраны окружающей среды ..... 8
7. Требования к квалификации оператора ..... 9
8. Условия измерений ..... 9
9. Подготовка к выполнению измерений ..... 9
10. Выполнение измерений ..... 14
11. Обработка результатов измерений ..... 16
12. Оформление результатов измерений ..... 18
13. Контроль качества результатов измерений ..... 18

УТВЕРЖДАЮ
Врио руководителя Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главного государственного санитарного
врача Российской Федерации
А. Ю. Попова
24 февраля 2014 г.

4.1. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. ХИМИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

# Измерение массовых концентраций фталатов (диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата) в молоке методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

## Методические указания МУК 4.1.3160—14

Свидетельство об аттестации № 88-16374-243-01.00076-2012 от 26.11.2012.

## 1. Назначение и область применения

1.1. Настоящие методические указания устанавливают порядок применения метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для измерения массовых концентраций фталатов (диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата) в молоке (молоко сырое, пастеризованное, ультрапастеризованное, стерилизованное, топленое, молоко цельное, обезжиренное, питьевое)* в диапазоне концентраций 0,1—4,0 мг/дм$^3$ для диметилфталата и ди(2-этилгексил)фталата, 0,2—4,0 мг/дм$^3$ для диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата.

1.2. Методические указания по измерению массовых концентраций фталатов в молоке предназначены для органов и учреждений Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополу-

* *Термины и определения приведены в соответствии с* ГОСТ Р 52738—2007.

чия человека и других служб, осуществляющих контроль качества и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов, а также других лабораторий, аккредитованных в установленном порядке.

1.3. Методические указания носят рекомендательный характер.

## 2. Физико-химические и токсикологические свойства

Фталаты – диэфиры 1,2-бензолдикарбоновой кислоты (о-фталевой кислоты). Общая формула $C_8H_4O_4R_1R_2$, где R – спиртовый остаток. Фталаты добавляют в качестве пластификаторов для придания эластичности в полимерные материалы при изготовлении предметов промышленного, бытового, пищевого и медицинского назначения. Гигиенические нормативы в Российской Федерации не установлены.

Диметилфталат (ДМФ), диэтилфталат (ДЭФ), дибутилфталат (ДБФ), бензилбутилфталат (ББФ) – бесцветные маслянистые жидкости без запаха или со слабым запахом, ди(2-этилгексил)фталат (ДЭГФ) – прозрачная бесцветная жидкость со слабым запахом.

| | ДМФ | ДЭФ | ДБФ | ББФ | ДЭГФ |
|---|---|---|---|---|---|
| CAS | 131-11-3 | 93952-12-6 | 93952-11-5 | 93951-88-3 | 117-81-7 |
| Формула | $C_{10}H_{10}O_4$ | $C_{12}H_{14}O_4$ | $C_{16}H_{22}O_4$ | $C_{19}H_{20}O_4$ | $C_{24}H_{38}O_4$ |
| Молекулярная масса | 194,19 | 222,24 | 278,35 | 312,4 | 390,57 |
| $T_{пл.}$ °C | 2 | – 40 | – 35 | – 35 | – 46 (5 мм рт. ст.) |
| $T_{кип.}$ °C | 282 | 296,1 | 340 | 370 | 231 |
| Плотность, г/см$^3$ | 1,189 | 1,118 | 1,047 | 1,111 | 0,986 |
| Растворимость в воде, г/100 см$^3$ | 0,5 | 0,15 | 0,1 | 0,00037 | 0,01 |
| Давление насыщенных паров, кПа | 1,67 (при 150 °C) | | | < 0,1 (при 110 °C) | |
| ПДК, мг/дм$^3$ | отсутствует | отсутствует | отсутствует | отсутствует | отсутствует |

*Краткая токсикологическая характеристика*

Фталаты проявляют мутагенный, эмбриотоксический и репротоксический эффекты, снижают активность гормонов печени. Ди(2-этилгексил)фталат является эндокринным дизраптором, нарушающим гормональный метаболизм, обладает канцерогенными свойствами [4].

## 3. Метрологические характеристики методики выполнения измерений

При соблюдении всех регламентированных условий и проведении анализа в точном соответствии с данной методикой значения погрешности (и её составляющих) результатов измерений не превышают значений, приведенных в табл. 1.

Таблица 1

**Диапазон измерений, значения точности (правильности и прецизионности) методики**

| Объект измерения | Диапазон измерений массовой концентрации фталатов, мг/дм$^3$ | Показатель точности (границы относительной погрешности), ±δ, % при $P = 0,95$ | Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), $\sigma_r$, % | Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), $\sigma_R$, % | Предел повторяемости, $r$, % (при $P = 0,95$ $n = 2$) |
|---|---|---|---|---|---|
| Молоко | Диметилфталат | | | | |
| | 0,1—4 вкл. | 39 | 16 | 19,5 | 45 |
| | Диэтилфталат | | | | |
| | 0,2—4 вкл. | 35 | 14 | 17,5 | 39 |
| | Дибутилфталат | | | | |
| | 0,2—4 вкл. | 36 | 15 | 18 | 42 |
| | Бензилбутилфталат | | | | |
| | 0,2—4 вкл. | 36 | 11 | 18 | 31 |
| | Ди(2-этилгексил)фталат | | | | |
| | 0,1—4 вкл. | 31 | 9 | 15,5 | 25 |

## 4. Метод измерения

4.1. Измерение массовых концентраций диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата основано на двойной экстракции фталатов из молока смесью растворителей (метанола, гексана, изопропанола), очистке экстракта и последующем анализе экстракта на жидкостном хроматографе с использованием диодно-матричного детектора.

4.2. Определению не мешают о-фталевая кислота и ее изомеры.

## 5. Средства измерений, реактивы, вспомогательные устройства и материалы

### *5.1. Средства измерений*

| | |
|---|---|
| Жидкостный хроматограф с ультрафиолетовым детектором и градиентным насосом, смешивающим два компонента | |
| Весы лабораторные равноплечные второго класса точности; наибольший предел взвешивания 200 г, диапазон взвешивания по шкале мг от 0 до 100 мг, цена деления делительного устройства – 0,05 мг, погрешность взвешивания по шкале мг ± 0,15 мг | ГОСТ Р 53228—08 |
| Гири $Г_2$-210 | ГОСТ 7328—01 |
| Колбы мерные с пробкой 2-25-2, 2-100-2 | ГОСТ 1770—74 |
| Пипетки мерные градуированные 1-2-1-2, 1-2-1-5, 1-2-1-10 | ГОСТ 29227—91 |
| Микрошприцы серии МШ-10, диапазон дозируемого объема, мкл 1-10 с ценой деления 0,2 мкл, погрешность 1 % | ТУ 2.833.106—2000 |

**Примечание.** Допускается использование средств измерения с аналогичными или лучшими характеристиками.

### *5.2. Реактивы*

| | |
|---|---|
| Ди(2-этилгексил)фталат, аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 99,5 % | |
| Диметилфталат, аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 99,5 % | |
| Диэтилфталат, аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 99,5 % | |
| Дибутилфталат, аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 99,5 % | |
| Бензилбутилфталат, аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 98 % | |
| Ацетонитрил для жидкостной хроматографии, осч | ТУ 6-09-14-2167—84 |
| Гексан для хроматографии, хч | ТУ 6-09-4521—77 |

| | |
|---|---|
| Метанол (метиловый спирт), хч | ГОСТ 6995—77 |
| Изопропанол (изопропиловый спирт), хч | ТУ 2632-015-11291058—95 |
| Вода дистиллированная | ГОСТ 6709—72 |
| Кислота серная, осч | ГОСТ 14262—78 |
| Калий двухромовокислый, хч | ГОСТ 4220—75 |

**Примечание.** Допускается использование реактивов с более высокой квалификацией.

### *5.3. Вспомогательные устройства и материалы*

| | |
|---|---|
| Колонка металлическая длиной 150 мм и внутренним диаметром 2,1 мм, заполненная обращенно-фазным сорбентом с привитыми полярными группами С18, зернение 5 мкм | |
| Предколонка длиной 12,5 мм, внутренним диаметром 2,1 мм, заполненная обращенно-фазным сорбентом с привитыми полярными группами С18, зернение 5 мкм | |
| Пробирка вакуумная стеклянная без наполнителя вместимостью 6 $см^3$ | |
| Шкаф сушильный электрический с диапазоном рабочих температур от 50 до 200 °С | ТУ 16.531.743—83 |
| Центрифуга лабораторная с частотой вращения ротора от 500 до 2 700 об./мин | |
| Стакан В-1-2000-ТС вместимостью 2 $дм^3$ | ГОСТ 25336—82 |
| Стеклянные виалы объемом 1,5 $см^3$ с крышкой | |
| Шприц медицинский одноразовый типа «Луер» вместимостью 1 $см^3$ | ГОСТ Р ИСО 7886—11 |
| Фильтры капроновые с диаметром пор не более 5 мкм | |

**Примечание.** Допускается использование других вспомогательных устройств аналогичного назначения, технические характеристики которых не уступают указанным, а также материалов, обеспечивающих нормативы точности при проведении измерений.

## 6. Требования безопасности и охраны окружающей среды

6.1. При выполнении измерений следует соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами в соответствии с ГОСТ 12.1.007—76, требования электробезопасности при работе

с электроустановками в соответствии с ГОСТ 12.1.019—2009, а также требования, изложенные в технической документации на эксплуатацию жидкостного хроматографа.

6.2. Помещение лаборатории должно быть оборудовано приточно-вытяжной вентиляцией и соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004—91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009—83.

6.3. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать ПДК (ОБУВ), установленных ГН 2.2.5.1313—03 и 2.2.5.2308—07.

## 7. Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений и обработке их результатов допускают лиц, имеющих квалификацию не ниже инженера-химика с опытом работы на жидкостном хроматографе, освоивших метод измерений и получивших удовлетворительные результаты оперативного контроля процедуры измерений.

## 8. Условия измерений

8.1. При подготовке к проведению измерений и приготовлении растворов соблюдают следующие условия:

– температура воздуха (20 ± 5) °С;

– атмосферное давление (630—800) мм рт. ст.;

– влажность воздуха не более 80 %.

8.2. Выполнение измерений на жидкостном хроматографе проводят в условиях, рекомендуемых технической документацией прибора.

## 9. Подготовка к выполнению измерений

При подготовке к выполнению измерений проводят следующие работы: подготовка посуды, приготовление растворов, подготовка хроматографической колонки, установление градуировочной характеристики.

### *9.1. Подготовка посуды*

Используемую посуду вымыть с поверхностно-активным моющим средством, замочить на 1 ч в хромовой смеси, промыть проточной водой, ополоснуть дистиллированной водой, высушить в сушильном шкафу при температуре 105 °С. Перед использованием сухую посуду обработать ацетонитрилом, высушить при комнатной температуре.

### *9.2. Приготовление растворов*

9.2.1. *Элюент для хроматографии.* Смесь ацетонитрила с дистиллированной водой. Состав элюента задают на двух каналах насоса в градиентном и изократическом (для ди(2-этилгексил)фталата) режимах.

9.2.2. *Исходный раствор диметилфталата для градуировки.* Навеску диметилфталата массой (0,250 ± 0,001) г вносят в мерную колбу вместимостью 100 см$^3$, доводят до метки ацетонитрилом и перемешивают. Массовая концентрация диметилфталата в исходном растворе составляет 2,50 мг/см$^3$. Срок хранения раствора 3 месяца при температуре 4 °С.

9.2.3. *Исходный раствор диэтилфталата для градуировки.* Навеску диэтилфталата массой (0,250 ± 0,001) г вносят в мерную колбу вместимостью 100 см$^3$, доводят до метки ацетонитрилом и перемешивают. Массовая концентрация диэтилфталата в исходном растворе составляет 2,50 мг/см$^3$. Срок хранения раствора 3 месяца при температуре 4 °С.

9.2.4. *Исходный раствор дибутилфталата для градуировки.* Навеску дибутилфталата массой (0,250 ± 0,001) г вносят в мерную колбу вместимостью 100 см$^3$, доводят до метки ацетонитрилом и перемешивают. Массовая концентрация дибутилфталата в исходном растворе составляет 2,50 мг/см$^3$. Срок хранения раствора 3 месяца при температуре 4 °С.

9.2.5. *Исходный раствор бензилбутилфталата для градуировки.* Навеску бензилбутилфталата массой (0,250 ± 0,001) г вносят в мерную колбу вместимостью 100 см$^3$, доводят до метки ацетонитрилом и перемешивают. Массовая концентрация бензилбутилфталата в исходном растворе составляет 2,50 мг/см$^3$. Срок хранения раствора 3 месяца при температуре 4 °С.

9.2.6. *Исходный раствор ди(2-этилгексил)фталата для градуировки.* Навеску ди(2-этилгексил)фталата массой (0,250 ± 0,001) г вносят в мерную колбу вместимостью 100 см$^3$, доводят до метки ацетонитрилом и перемешивают. Массовая концентрация ди(2-этилгексил)фталата в исходном растворе составляет 2,50 мг/см$^3$. Срок хранения раствора 3 месяца при температуре 4 °С.

9.2.7. *Раствор для идентификации диметилфталата.* В мерную колбу вместимостью 25 см$^3$ вносят микрошприцем 2,5 мкл исходного раствора диметилфталата для градуировки и доводят содержимое колбы ацетонитрилом до метки. Массовая концентрация диметилфталата составляет 0,25 мг/дм$^3$. Используют свежеприготовленный раствор.

9.2.8. *Раствор для идентификации диэтилфталата.* В мерную колбу вместимостью 25 $см^3$ вносят микрошприцем 2,5 мкл исходного раствора диметилфталата для градуировки и доводят содержимое колбы ацетонитрилом до метки. Массовая концентрация диэтилфталата составляет 0,25 $мг/дм^3$. Используют свежеприготовленный раствор.

9.2.9. *Раствор для идентификации дибутилфталата.* В мерную колбу вместимостью 25 $см^3$ вносят микрошприцем 25 мкл исходного раствора дибутилфталата для градуировки и доводят содержимое колбы ацетонитрилом до метки. Массовая концентрация дибутилфталата составляет 2,5 $мг/дм^3$. Используют свежеприготовленный раствор.

9.2.10. *Раствор для идентификации бензилбутилфталата.* В мерную колбу вместимостью 25 $см^3$ вносят микрошприцем 2,5 мкл исходного раствора бензилбутилфталата для градуировки и доводят содержимое колбы ацетонитрилом до метки. Массовая концентрация бензилбутилфталата составляет 0,25 $мг/дм^3$. Используют свежеприготовленный раствор.

9.2.11. *Раствор для идентификации ди(2-этилгексил)фталата.* В мерную колбу вместимостью 25 $см^3$ вносят микрошприцем 2,5 мкл исходного раствора ди(2-этилгексил)фталата для градуировки и доводят содержимое колбы ацетонитрилом до метки. Массовая концентрация ди(2-этилгексил)фталата составляет 0,25 $мг/дм^3$. Используют свежеприготовленный раствор.

9.2.12. *Хромовая смесь.* В термостойкий стакан вместимостью 2 $дм^3$ насыпают 50 г калия двухромовокислого, осторожно приливают по палочке частями, тщательно перемешивая, 1 $дм^3$ концентрированной серной кислоты.

### *9.3. Подготовка хроматографической колонки*

Колонку устанавливают в хроматограф и подают элюент со скоростью 1,0 $см^3$/мин до установления равновесия колонки, которое определяют по стабильности нулевой линии детектора.

### *9.4. Установление градуировочных характеристик*

9.4.1. Градуировочные характеристики, выражающие зависимости площадей пиков на хроматограмме (единицы оптической плотности, е.о.п.) от массовых концентраций диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата, устанавливают на градуировочных растворах диметилфталата, диэтилфталата,

дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата в молоке методом абсолютной градуировки. Градуировочную характеристику для определения диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата устанавливают по результатам измерений трех серий из пяти градуировочных растворов с различными массовыми концентрациями определяемых фталатов в каждой серии. Градуировочную характеристику для определения диметилфталата, ди(2-этилгексил)фталата устанавливают по результатам измерений трех серий из шести градуировочных растворов с различными массовыми концентрациями определяемых фталатов в каждой серии.

9.4.2. Градуировочные растворы готовят в мерных колбах вместимостью 25 $см^3$. Для этого в каждую колбу вносят исходный раствор для градуировки в соответствии с табл. 2, доводят молоком до метки и перемешивают содержимое колбы. В соответствии с п. 10 проводят анализ молока на содержание фталатов. При наличии анализируемых веществ в холостой пробе вычитают их фоновое содержание при построении градуировочного графика.

Таблица 2

**Растворы для установления градуировочной характеристики диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата в молоке**

| Номер раствора | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Объем исходного раствора, мкл | 1 | 2 | 4 | 10 | 20 | 40 |
| Массовая концентрация диметилфталата в молоке, мг/$дм^3$ | 0,1 | 0,2 | 0,4 | 1,0 | 2,0 | 4,0 |
| Массовая концентрация диэтилфталата в молоке, мг/$дм^3$ | – | 0,2 | 0,4 | 1,0 | 2,0 | 4,0 |
| Массовая концентрация дибутилфталата в молоке, мг/$дм^3$ | – | 0,2 | 0,4 | 1,0 | 2,0 | 4,0 |
| Массовая концентрация бензилбутилфталата в молоке, мг/$дм^3$ | – | 0,2 | 0,4 | 1,0 | 2,0 | 4,0 |
| Массовая концентрация ди(2-этилгексил)фталата в молоке, мг/$дм^3$ | 0,1 | 0,2 | 0,4 | 1,0 | 2,0 | 4,0 |

9.4.3. В вакуумную стеклянную пробирку вместимостью 6 $см^3$ переносят 1,5 $см^3$ каждого градуировочного раствора определяемых фталатов, добавляют 3,6 $см^3$ смеси метанол–гексан–изопропанол

(1,5 : 2,0 : 0,1), закрывают пробкой, интенсивно перемешивают в течение 5 мин. Содержимое пробирки центрифугируют в течение 10 мин со скоростью 2 000 оборотов в минуту. После расслоения жидкостей верхний слой (экстракт 1) переносят в новую вакуумную пробирку. Проводят повторную экстракцию молока, добавляя к нижнему слою 3,6 см$^3$ смеси метанол–гексан–изопропанол (1,5 : 2 : 0,1), интенсивно перемешивая и центрифугируя смесь в течение 10 мин. Отбирают верхний слой (экстракт 2). Объединенный экстракт высушивают в токе воздуха, сухой остаток растворяют в 2 см$^3$ ацетонитрила, очищают от молочного жира, для чего добавляют в пробирку 1 см$^3$ гексана, закрывают пробкой, тщательно перемешивают в течение 1 мин. После расслоения жидкостей гексановый (верхний) слой удаляют, а ацетонитрильный (нижний) слой фильтруют через капроновый фильтр, используя медицинский шприц типа «Луер», в стеклянную виалу и аликвотную часть (20 мм$^3$) анализируют на жидкостном хроматографе в условиях хроматографирования.

9.4.4. Условия хроматографирования:

колонка 2,1 мм × 150 мм, заполненная сорбентом С18;

подвижная фаза для анализа диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата – смесь ацетонитрила и воды в градиентном режиме: увеличение ацетонитрила с 37 до 40 % от 0 до 1 мин, увеличение ацетонитрила с 40 до 75 % от 1 до 3 мин, уменьшение ацетонитрила с 75 до 50 % от 3 до 4 мин, увеличение ацетонитрила с 50 до 90 % от 4 до 6 мин, уменьшение ацетонитрила с 90 до 37 % от 6 до 10 мин;

подвижная фаза для анализа ди(2-этилгексил)фталата – смесь ацетонитрила и воды в соотношении 85 : 15;

| | |
|---|---|
| скорость движения элюента | 1,0 см$^3$/мин; |
| температура термостата колонки | 30 °С; |
| ультрафиолетовый детектор: | |
| длина волны | 198 нм. |

9.4.5. Градуировочный коэффициент рассчитывают по формуле:

$$K = \frac{\sum_{i=1}^{n} \frac{C_i}{S_i}}{n}, \text{ где}$$

$C_i$ – массовые концентрации диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата в градуировочном растворе, мг/дм$^3$;

$S_i$ – среднее значение трех измерений площади пика диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата $i$-й концентрации, расхождение между минимальным и максимальным значением из которых не должно превышать 4 % относительно среднего значения $S_i$, единицы оптической плотности (е.о.п.);

$n$ – количество градуировочных растворов.

9.4.6. Контроль стабильности градуировочной характеристики.

Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят 1 раз в квартал в анализируемой серии измерений. Образцами для контроля стабильности являются градуировочные растворы, выбранные таким образом, чтобы массовая концентрация концентрации диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата соответствовала нижней, верхней границам и середине диапазона построения градуировочной характеристики. Градуировочная характеристики признается стабильной при выполнении условия:

$$|C_m - C| \le 0{,}10 \cdot C, \text{ где}$$

$C$ – заданная массовая концентрация диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата в градуировочном растворе;

$C_m$ – результат измерения массовой концентрации диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата в образце для градуировки.

При невыполнении условия стабильности градуировочной характеристики эксперимент повторяют с другим градуировочным раствором. При повторном невыполнении условия стабильности градуировочной характеристики выясняют и устраняют причины нестабильности градуировочной характеристики.

## 10. Выполнение измерений

### *10.1. Отбор проб*

Отбор проб молока осуществляют в соответствии с требованиями ГОСТ 3622—68. Отобранные образцы упаковывают в стеклянные банки с притертыми крышками. Срок хранения проб до 3 суток при температуре 4 °С, более 3 суток – при температуре –15 °С.

### *10.2. Порядок выполнения измерений*

10.2.1. Выполняют два параллельных измерения массовой концентрации диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата в пробе молока. В стеклянную вакуумную пробирку вместимостью 6 $см^3$ добавляют 1,5 $см^3$ анализируемого молока, добавляют 3,6 $см^3$ смеси растворителей (метанол, гексан и изопропанол в объемном отношении 1,5 : 2,0 : 0,1), закрывают пробкой, интенсивно перемешивают в течение 5 мин. Содержимое пробирки центрифугируют в течение 10 мин со скоростью 2 000 оборотов в минуту. После расслоения жидкостей верхний слой (экстракт 1) переносят в новую стеклянную пробирку. Нижний слой повторно экстрагируют: снова добавляют 3,6 $см^3$ смеси растворителей (метанол, гексан и изопропанол в объемном отношении 1,5 : 2,0 : 0,1), закрывают пробкой, интенсивно перемешивают в течение 5 мин. Содержимое пробирки центрифугируют в течение 10 мин со скоростью 2 000 оборотов в минуту. После расслоения жидкостей отбирают верхний слой (экстракт 2). Экстракты объединяют и высушивают в токе воздуха. Сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила и очищают от молочного жира, для чего добавляют в пробирку 1 $см^3$ гексана, закрывают пробкой, интенсивно встряхивают в течение 1 мин, центрифугируют 10 мин. После расслоения жидкостей гексановый (верхний) слой удаляют, а ацетонитрильный (нижний) слой фильтруют через капроновый фильтр, используя медицинский шприц типа «Луер», в стеклянную виалу. Аликвотную часть (20 $мм^3$) анализируют на жидкостном хроматографе в условиях, указанных в п. 9.4.4.

10.2.2. Выполняют измерение фонового содержания фталатов в объеме экстрагента, взятого на анализ. С этой целью 7,2 $см^3$ смеси растворителей (метанол, гексан и изопропанол в объемном отношении 1,5 : 2,0 : 0,1), используемой для двойной экстракции фталатов из молока, переносят в стеклянную пробирку вместимостью 6 $см^3$, высушивают в токе воздуха, сухой остаток растворяют в 2 $см^3$ ацетонитрила. Раствор фильтруют через капроновый фильтр, используя медицинский шприц типа «Луер», в стеклянную виалу и аликвотную часть (20 $мм^3$) анализируют на жидкостном хроматографе в условиях, указанных в п. 9.4.4. Измерение холостой пробы экстрагента выполняют при анализе каждой серии образцов молока.

10.2.3. Идентификацию диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата проводят путем сравнения времен удерживания хроматографических пиков в анализи-

руемой пробе и в растворах для идентификации ди(2-этилгексил)фталата, приготовленных по пп. 9.2.7—9.2.11.

## 11. Обработка результатов измерений

11.1. Массовые концентрации диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата в молоке (мг/дм$^3$) вычисляют по формуле:

$$C_i = (S_i - S_{хол}) \cdot K \text{ , где}$$

$C_i$ – массовые концентрации диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата в анализируемой пробе, мг/дм$^3$;

$S_i$ – площадь пика диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата в анализируемой пробе, е.о.п.;

$S_{хол}$ – площадь пика диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата в холостой пробе, е.о.п.;

$K$ – градуировочный коэффициент.

11.2. За окончательный результат измерения принимают среднее арифметическое значение двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости $C_1$, $C_2$ (параллельных определений), для которых выполняется условие:

$$|C_1 - C_2| \le 0{,}01 \cdot r \cdot \frac{C_1 + C_2}{2} \text{ , где} \qquad (1)$$

$r$ – предел повторяемости. Значения предела повторяемости приведены в табл. 3.

Таблица 3

**Значения пределов повторяемости, воспроизводимости и критического диапазона при доверительной вероятности $P = 0,95$**

| Наименование определяемого компонента, диапазон измерений, мг/дм$^3$ | Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в одной лаборатории в условиях повторяемости), $r$, % | Критический диапазон (относительное значение допускаемого расхождения между наибольшим и наименьшим четырех результатов измерений, полученных в одной лаборатории в условиях повторяемости), $CR_{0,95}(4)$, % | Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), $R$, % |
|---|---|---|---|
| Диметилфталат | | | |
| от 0,1 до 4 вкл. | 45 | 58 | 55 |
| Диэтилфталат | | | |
| от 0,2 до 4 вкл. | 39 | 50 | 49 |
| Дибутилфталат | | | |
| от 0,2 до 4 вкл. | 42 | 54 | 50 |
| Бензилбутилфталат | | | |
| от 0,2 до 4 вкл. | 31 | 40 | 50 |
| Ди(2-этилгексил)фталат | | | |
| от 0,1 до 4 вкл. | 25 | 32 | 43 |

При невыполнении условия (1) получают дополнительно еще два результата измерений. За результат измерений принимают среднее арифметическое четырех результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, для которых выполняется условие:

$$\left|C_{max,4} - C_{min,4}\right| \le 0,01 \cdot CR_{0,95}(4) \cdot \frac{C_1 + C_2 + C_3 + C_4}{4}, \text{ где} \qquad (2)$$

$CR_{0,95}(4)$ – критический диапазон. Значения критического диапазона приведены в табл. 3. При невыполнении условия (2) в качестве окончательного результата измерений принимают медиану четырех результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (параллельных определений). Дополнительно выявляют и устраняют причины, приводящие к невыполнению условия (1).

11.3. Расхождение между результатами измерений, полученных в двух лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости:

$$\left|\bar{C}_1 - \bar{C}_2\right| \le 0{,}01 \cdot R \cdot \frac{\bar{C}_1 + \bar{C}_2}{2}, \text{ где} \qquad (3)$$

$\bar{C}_1$ и $\bar{C}_2$ – результаты измерений массовой концентрации диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата, полученные в разных лабораториях – средние арифметические двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, для которых выполняется условие (1).

При выполнении условия (3) приемлемы оба результата измерений, и в качестве окончательного может быть использовано их среднее арифметическое значение. Значение предела воспроизводимости приведено в табл. 3. При невыполнении условия (3) могут быть проведены процедуры проверки приемлемости согласно раздела 5 ГОСТ Р ИСО 5725-6.

## 12. Оформление результатов измерений

Результат измерений представляют в виде ( $\bar{C} \pm \Delta$) мг/дм$^3$, где

$\bar{C}$ – результат измерений, мг/дм$^3$;

$\Delta$ – характеристика погрешности, мг/дм$^3$ при $P = 0{,}95$;

значение $\Delta$ рассчитывают по формуле: $\Delta = \frac{\delta \cdot C}{100}$, где значение $\delta$ приведено в табл. 1.

## 13. Контроль качества результатов измерений

Обеспечение достоверности измерений в пределах лаборатории организуют и проводят путем проведения оперативного контроля процедуры измерений и контроля стабильности результатов измерений в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-(1-6)—2002 и РМГ 76—2004.

Периодичность получения результатов контрольных процедур и формы их регистрации приводят в документах лаборатории, устанавливающих порядок и содержание работ по организации методов контроля стабильности результатов измерений в пределах лаборатории.

### *13.1. Алгоритм оперативного контроля процедуры измерений с использованием метода добавок*

Оперативный контроль процедуры измерений с использованием метода добавок проводят путем сравнения результата отдельно взятой контрольной процедуры $K_к$ с нормативом контроля $K$.

Результат контрольной процедуры $K_к$ рассчитывают по формуле:

$$K_к = \left|\overline{C}' - \overline{C} - C_д\right|, \text{ где}$$

$\overline{C}'$ – результат измерений массовой концентрации диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата в пробе с известной добавкой – среднее арифметическое двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, расхождение между которыми удовлетворяет условию (1);

$\overline{C}$ – результат измерений массовой концентрации диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата в исходной пробе – среднее арифметическое двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, расхождение между которыми удовлетворяет условию (1).

Норматив контроля $K$ рассчитывают по формуле:

$$K = \sqrt{\Delta^2_{л,C'_ф} + \Delta^2_{л,C_ф}}, \text{ где}$$

$\Delta_{л,C'_ф}$, $\Delta_{л,C_ф}$ – значения характеристики погрешности результатов измерений, установленные в лаборатории при реализации методики, соответствующие массовой концентрации диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата в пробе с известной добавкой и в исходной пробе соответственно.

**Примечание.** Допустимо характеристику погрешности результатов измерений при внедрении методики в лаборатории устанавливать на основе выражения: $\Delta_л = 0{,}84 \cdot \Delta$ с последующим уточнением по мере накопления информации в процессе контроля стабильности результатов измерений.

Процедуру измерений признают удовлетворительной при выполнении условия:

$$K_к \le K \qquad (4)$$

При невыполнении условия (4) контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (4) выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

### *13.2. Алгоритм проведения контрольной процедуры при контроле внутрилабораторной прецизионности*

Образцами для контроля внутрилабораторной прецизионности являются пробы исследуемого молока (рабочие пробы).

При реализации контрольной процедуры получают два результата контрольных измерений (первичного $\bar{C}_1$ и повторного $\bar{C}_2$) массовой концентрации диметилфталата, диэтилфталата, дибутилфталата, бензилбутилфталата, ди(2-этилгексил)фталата в условиях внутрилабораторной прецизионности.

Результат контрольной процедуры признают удовлетворительным при выполнении следующего условия:

$$\frac{\left|\bar{C}_1 - \bar{C}_2\right|}{\left(\bar{C}_1 + \bar{C}_2\right)/2} \cdot 100\,\% \le R_л \qquad (5)$$

Значение предела внутрилабораторной прецизионности $R_л$ приведено в табл. 4.

Таблица 4

**Значение предела внутрилабораторной прецизионности при доверительной вероятности $P = 0{,}95$**

| Диапазон измерений, мг/дм$^3$ | Предел внутрилабораторной прецизионности (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в одной лаборатории в условиях внутрилабораторной прецизионности), $R_л$, % |
|---|---|
| Диметилфталат | |
| от 0,1 до 4 вкл. | 50 |
| Диэтилфталат | |
| от 0,2 до 4 вкл. | 43 |
| Дибутилфталат | |
| от 0,2 до 4 вкл. | 46 |
| Бензилбутилфталат | |
| от 0,2 до 4 вкл. | 34 |
| Ди(2-этилгексил)фталат | |
| от 0,1 до 4 вкл. | 35 |

При невыполнении условия (3) процедуру повторяют. При повторном превышении предела внутрилабораторной прецизионности выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

gost.e-ecolog.ru