

**Государственное санитарно – эпидемиологическое нормирование  
Российской Федерации**

4.1. Методы контроля. Химические факторы

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ 3-МОНОХЛОРПРОПАДИОЛА,  
2-МОНОХЛОРПРОПАДИОЛА И ГЛИЦИДОЛА В ПИЩЕВЫХ  
РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЛАХ И ЖИВОТНЫХ ЖИРАХ**

Методические указания  
МУК 4.1.35 42 -19

Москва, 2019

Определение содержания 3-монохлорпропандиола, 2-монохлорпропандиола и глицидола в пищевых растительных маслах и животных жирах. МУК 4.1.3542-19

1. Разработаны: ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» (В.В. Бессонов, А.Д. Малинкин, М.А. Макаренко).

2. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защите прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А.Ю. Поповой «24» мая 2019 г.

3. Введены впервые.

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы  
по надзору в сфере защиты прав  
потребителей и благополучия человека,  
Главный государственный санитарный  
врач Российской Федерации



А.Ю. Попова

«24» мая 2019 г.

## 4.1. Методы контроля. Химические факторы

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ 3-МОНОХЛОРПРОПАНДИОЛА,  
2-МОНОХЛОРПРОПАНДИОЛА И ГЛИЦИДОЛА В ПИЩЕВЫХ  
РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЛАХ И ЖИВОТНЫХ ЖИРАХ**

Методические указания  
МУК 4.1. 3547 -19

**I. Общие положения**

1.1. Рациональное название: 3-монохлорпропан-1,2-диол. CAS №: 96-24-2  
Синонимы: 3-МХПД, 3-хлорпропан-1,2-диол

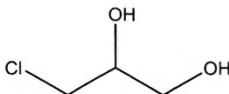


Рис. 1. Структурная формула 3-МХПД.

3-МХПД образуется в пищевых продуктах при определенных условиях в присутствии хлорид-ионов.

Физические свойства: 3-МХПД представляет собой вязкую бесцветную жидкость с температурой кипения 213°C. Растворим в воде, спирте, эфире. Токсичность: LD<sub>50</sub> у крыс составляет 152 мг/кг.

1.2. Рациональное название: 2-монохлорпропан-1,3-диол. CAS №: 497-04-1  
Синонимы: 2-МХПД, 2-хлорпропан-1,3-диол

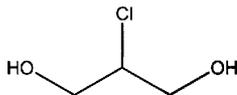


Рис. 2. Структурная формула 2-МХПД.

Физические свойства: 2-МХПД представляет собой вязкую бесцветную жидкость. Растворим в воде, спирте, эфире.

1.3. Рациональное название: 2,3-эпокси-1-пропанол. CAS №: 556-52-5  
Синонимы: глицидол, эпоксипропиловый спирт.

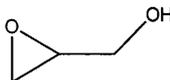


Рис. 3. Структурная формула глицидола.

Глицидол образуется главным образом при гидролизе глицидиловых эфиров, которые в свою очередь образуются из диацилглицеридов при высоких температурах (более 240°C).

Физические свойства: глицидол представляет собой вязкую бесцветную жидкость без запаха с температурой кипения 167°C. Растворим в воде, спирте, эфире. Токсичность: LD<sub>50</sub> у крыс составляет 420 мг/кг.

## II. Область применения

2.1. Методические указания предназначены для определения содержания 2-монохлорпропандиола, 3-монохлорпропандиола и глицидола в диапазоне концентраций от 0,3 до 30,0 мг/кг в пищевых растительных маслах и животных жирах.

2.2. Методические указания предназначены для специалистов органов и организаций, осуществляющих федеральный государственный санитарно-эпидемиологический надзор, проводящих санитарно-эпидемиологические экспертизы, исследования и иные виды оценок, а также для аккредитованных лабораторий, проводящих отбор проб и исследования пищевых продуктов.

## III. Требования к показателям точности измерений

3.1. При соблюдении всех регламентированных условий и проведении анализа в точном соответствии с данной методикой значения погрешности (и ее

составляющих) результатов измерений не превышают значений, приведенных в таблице 1.

Таблица 1

**Значения характеристики погрешности, нормативов оперативного контроля точности, повторяемости, воспроизводимости**

Анализируемый объект	Диапазон определяемых концентраций, мг/кг	Показатель точности (границы относительной погрешности $P=0,95$ ), $\pm\delta, \%$	Показатель повторяемости (среднеквадратичное отклонение повторяемости), $\sigma_r, \%$	Показатель воспроизводимости (среднеквадратичное отклонение воспроизводимости), $\sigma_R, \%$	Предел повторяемости (значение допустимого расхождения между двумя параллельными определениями), $r, \%$	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученных в разных лабораториях), $R, \%$ , ( $P=0,95$ )	Средняя полнота извлечения вещества, $\%$
<b>3-МХПД</b>							
пищевые растительные масла и животные жиры	0,3-30,0	50	9,4	10,7	26	30	113,6
<b>2-МХПД</b>							
пищевые растительные масла и животные жиры	0,3-30,0	35	9,2	8,3	26	23	107,9
<b>Глицидол</b>							
пищевые растительные масла и животные жиры	0,3-30,0	69	9,2	16,5	26	46	87,5

**IV. Средства измерений, вспомогательные устройства, материалы, реактивы**

**4.1. Средства измерений:**

газовый хроматограф, оснащенный тройным квадрупольным масс-селективным детектором;

хроматографическая колонка с фазой (5%-фенил)-метилполисилоксан, 30м×0,25мм×0,25 мкм, с малым уносом подвижной фазы (для ГХ-МС);

весы неавтоматического действия по ГОСТ Р 53228 специального класса точности с пределом допускаемой абсолютной погрешности  $\pm 0,0001$  г.;

дозаторы вместимостью 0,2; 1 и 5 см<sup>3</sup> (с переменным объемом);

колбы мерные наливные 2-25-2, 2-50-2 и 2-100-2 по ГОСТ 1770-74;

цилиндр мерный 1-100-2 по ГОСТ 1770-74;

цилиндр мерный объемом 25 см<sup>3</sup> по ГОСТ 1770-74.

**Вспомогательные устройства:**

устройство для упаривания серии проб (центрифужный концентратор, прибор для упаривания в токе азота или аналогичные устройства);

орбитальный шейкер;

ультразвуковая ванна;

центрифуга для микропробирок.

Материалы:

пробирки центрифужные с завинчивающейся крышкой объемом 15 см<sup>3</sup>;

микроцентрифужные пробирки с защелкивающейся крышкой объемом 2 см<sup>3</sup>;

виалы стеклянные объемом 2 см<sup>3</sup>;

вставки в виалы объемом 200 мм<sup>3</sup>;

бумага индикаторная, ТУ 6-09-1181-89.

Реактивы:

3-монохлорпропан-1,2-диол (3-МХПД) (CAS № 96-24-2, содержание основного вещества не менее 98 %);

3-монобромпропан-1,2-диол (3-МБПД) (CAS № 4704-77-2, содержание основного вещества не менее 97 %);

3-монохлорпропан-1,2-диол-1,1,2,3,3-d5 (3-МХПД-D5) (CAS № 342611-01-2, содержание основного вещества не менее 97 %, изотопная чистота не менее 97,7 %);

3-монобромпропан-1,2-диол-1,1,2,3,3-d5 (3-МБПД-D5) (CAS № 1246820-48-3, содержание основного вещества не менее 97 %, изотопная чистота не менее 98,4 %);

Кислота фенилборная (ФБК) (CAS № 98-80-6, содержание основного вещества не менее 95 %);

1,2-дипальмитоил-3-монохлорпропандиол-1,1,2,3,3-d5 (1,2-дипальмитат-3-МХПД-d5) (CAS № 1185057-55-9, содержание основного вещества не менее 98 %, изотопная чистота не менее 98 %);

1,3-дипальмитоил-2-монохлорпропандиол-1,1,2,3,3-d5 (1,3-бипальмитат-2-МХПД-d5) (CAS № 1426395-62-1, содержание основного вещества не менее 98 %, изотопная чистота не менее 97,4 %);

1,2-дипальмитоил-3-монохлорпропандиол (1,2-дипальмитат-3-МХПД) (CAS № 51930-97-3, содержание основного вещества не менее 98 %);

1,3-дипальмитоил-2-монохлорпропандиол (1,3-дипальмитат-2-МХПД) (CAS № 169471-41-4, содержание основного вещества не менее 98 %);

метанол (для ВЭЖХ);

толуол (для ВЭЖХ);

изооктан (для ВЭЖХ);

натрия гидроксид, х.ч., ГОСТ 4328-77;

эфир диэтиловый, х.ч., ТУ 2600-001-45682126-13;

этилацетат, х.ч., ГОСТ 22300-76;

натрий бромистый, х.ч., ТУ 6-09-5331-87

гексан, х.ч., СТП ТУ СОМР 2-008-06;

кислота ортофосфорная, х.ч., ГОСТ 6552-80;

вода для лабораторного анализа по ГОСТ Р 52501, первой степени чистоты;

универсальная индикаторная бумага;

гелий со степенью чистоты не менее 99,9999%, ТУ 0271-001-45905715-02.

**4.2. Допускается использование средств измерений, вспомогательных устройств, материалов и реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.**

## **V. Принцип метода**

5.1. Методика основана на одновременном определении свободных и связанных форм 3-МХПД, 2-МХПД и глицидола в виде фенолборных дериватов свободных 3-МХПД, 2-МХПД и 3-МБПД соответственно после реакции с фенолборной кислотой в пищевых растительных маслах и животных жирах методом газожидкостной хроматографии (ГЖХ) с использованием тройного квадрупольного масс-селективного детектора.

Примечание 1. В процессе длительной щелочной переэтерификации происходит высвобождение МХПД и глицидола из их этерифицированных с жирными кислотами форм. При этом использование низких температур предотвращает нежелательное образование глицидола из свободного 3-МХПД. Добавление подкисленного раствора бромида натрия останавливает реакцию высвобождения и способствует образованию стабильной формы МБПД (3-МБПД >> 2-МБПД) из свободного нестабильного глицидола.

Примечание 2. На всех этапах щелочной переэтерификации следует избегать нагревания проб. Рекомендуется проверять кислотность водной фазы после добавления к пробе раствора бромида натрия.

## **VI. Отбор проб**

6.1. При отборе проб растительных масел и животных жиров следует руководствоваться действующей нормативно-технической документацией по отбору проб для определения токсичных элементов в указанных образцах.

## **VII. Приготовление стандартных растворов<sup>1</sup>**

### **Приготовление раствора внутреннего стандарта 3-МХПД-d5 с концентрацией 10 мкг/см<sup>3</sup>**

7.1. В виалу с 10 мг 3-МХПД-d5 (количество, указанное поставщиком) вносят около 1 см<sup>3</sup> метанола, виалу закрывают крышкой, перемешивают на орбитальном шейкере до растворения аналита и переносят в колбу на 50 см<sup>3</sup>. Затем виалу промывают метанолом 3-4 раза, который также переносят в колбу на 50 см<sup>3</sup>, добавляют около 25 см<sup>3</sup> метанола, перемешивают, доводят до метки и снова перемешивают. 2,5 см<sup>3</sup> полученного раствора переносят в мерную колбу на 50 см<sup>3</sup>, доводят до метки метанолом, перемешивают. Приготовленный раствор

<sup>1</sup> Для приготовления растворов, указанных в главе VII настоящих МУК, допускается использование растворов с аналогичными или лучшими характеристиками. При этом приготовление каждого раствора следует скорректировать в соответствии с требуемой конечной концентрацией аналита.

хранят в морозильной камере при температуре от  $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$  до  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 2-х месяцев.

### **Приготовление раствора внутреннего стандарта 3-МБПД-d5 с концентрацией $10\text{ мкг/см}^3$**

7.2. В виалу с 1 мг 3-МБПД-d5 (количество, указанное поставщиком) вносят около  $1\text{ см}^3$  метанола, виалу закрывают крышкой, перемешивают на орбитальном шейкере до растворения аналита и переносят в колбу на  $50\text{ см}^3$ . Затем виалу промывают метанолом 3-4 раза, который также переносят в колбу на  $50\text{ см}^3$ , добавляют около  $25\text{ см}^3$  метанола, перемешивают, доводят до метки и снова перемешивают.  $25\text{ см}^3$  полученного раствора переносят в мерную колбу на  $50\text{ см}^3$ , доводят до метки метанолом, перемешивают. Приготовленный раствор хранят в морозильной камере при температуре от  $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$  до  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 2-х месяцев.

### **Приготовление совместного раствора внутреннего стандарта 1,2-дипальмитоил-3-МХПД-d5 и 1,3-дипальмитоил-2-МХПД-d5 с концентрациями $25,6\text{ мкг/см}^3$ каждого**

7.3. В каждую виалу с 2,5 мг 1,2-дипальмитоил-3-МХПД-d5 и 2,5 мг 1,3-дипальмитоил-2-МХПД-d5 (количество, указанное поставщиком) вносят около  $1\text{ см}^3$  толуола, виалы закрывают крышкой, перемешивают на орбитальном шейкере до растворения аналитов и переносят в отдельные колбы на  $25\text{ см}^3$ . Затем виалы промывают толуолом 3-4 раза, который также переносят в соответствующие колбы на  $25\text{ см}^3$ , перемешивают, доводят до метки и снова перемешивают.  $6,40\text{ см}^3$  полученного раствора 1,2-дипальмитат-3-МХПД-d5 и  $6,40\text{ см}^3$  раствора 1,3-дипальмитат-2-МХПД-d5 переносят в мерную колбу на  $25\text{ см}^3$ , доводят до метки толуолом, перемешивают. Приготовленный раствор хранят в морозильной камере при температуре от  $-22\text{ }^{\circ}\text{C}$  до  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 2-х месяцев.

### **Приготовление совместного раствора 3-МХПД и глицидола для градуировки**

7.4. Навески по 10 мг 3-МХПД и глицидола (погрешность взвешивания  $\pm 0,5\text{ мг}$ ) переносят в мерную колбу на  $100\text{ см}^3$ , добавляют около  $25\text{ см}^3$  метанола, перемешивают до растворения, доводят до метки метанолом (основной стандартный раствор с концентрациями  $100\text{ мкг/см}^3$ ).

Путем последовательных разведений готовят рабочие стандартные растворы 3-МХПД и глицидола с концентрациями  $0,05\text{ мкг/см}^3$ ,  $0,2\text{ мкг/см}^3$ ,  $0,50\text{ мкг/см}^3$ ,  $2,00\text{ мкг/см}^3$  и  $5,00\text{ мкг/см}^3$  в течение 2-х месяцев.

### **Приготовление совместного раствора 1,2-дипальмитоил-3-МХПД и 1,3-дипальмитоил-2-МХПД для градуировки**

7.5. В мерную колбу на  $100\text{ см}^3$  отвешивают 10 мг 1,3-дипальмитоил-2-

МХПД, добавляют около 25 см<sup>3</sup> толуола, перемешивают, доводят до метки и снова перемешивают.

В виалу с 10 мг 1,2-дипальмитоил-3-МХПД (количество, указанное поставщиком) вносят около 1 см<sup>3</sup> толуола, виалу закрывают крышкой, перемешивают на орбитальном шейкере до растворения анализита и переносят в другую колбу на 100 см<sup>3</sup>. Затем виалу промывают толуолом 3-4 раза, который также переносят в указанную колбу, добавляют около 25 см<sup>3</sup> толуола, перемешивают, доводят до метки и снова перемешивают.

В мерную колбу на 25 см<sup>3</sup> отбирают по 6,65 см<sup>3</sup> каждого приготовленного раствора, доводят до метки толуолом (основной стандартный раствор 1,2-дипальмитоил-3-МХПД и 1,3-дипальмитоил-2-МХПД с концентрациями по 26,6 мкг/см<sup>3</sup> каждого, что эквивалентно 5 мкг/см<sup>3</sup> свободных 3-МХПД и 2-МХПД соответственно).

Путем последовательных разведений готовят рабочие стандартные растворы 1,2-дипальмитоил-3-МХПД и 1,3-дипальмитоил-2-МХПД с концентрациями, эквивалентными концентрациям свободных 3-МХПД и 2-МХПД 0,05 мкг/см<sup>3</sup>, 0,2 мкг/см<sup>3</sup>, 0,50 мкг/см<sup>3</sup>, 2,00 мкг/см<sup>3</sup> и 5,00 мкг/см<sup>3</sup>. Растворы хранят при температуре от -22 °С до -25 °С в течение 2-х месяцев.

### **VIII. Приготовление необходимых растворов реактивов**

#### **Приготовление раствора гидроксида или метоксида натрия**

8.1. Навеску 250 мг (погрешность взвешивания  $\pm 0,5$  мг) гидроксида (метоксида) натрия помещают в мерную колбу на 100 см<sup>3</sup>, добавляют около 50 см<sup>3</sup> метанола, перемешивают, доводят до метки и снова перемешивают (возможно неполное растворение реактива). Раствор хранят при температуре от -22 °С до -25 °С в течение 2-х месяцев.

#### **Приготовление раствора бромид натрия 55%**

8.2. Навеску 55 г бромида натрия (погрешность взвешивания  $\pm 0,5$  г) помещают в мерную колбу на 100 см<sup>3</sup>, добавляют около 85 см<sup>3</sup> воды деионизированной, перемешивают до полного растворения, доводят водой деионизированной до метки, перемешивают. К приготовленному раствору добавляют к нему 0,33 см<sup>3</sup> ортофосфорной кислоты (600 мм<sup>3</sup> этого раствора должно нейтрализовать 500 мм<sup>3</sup> раствора гидроксида или метоксида натрия и изменять рН среды до 1-3). Раствор хранят при температуре от -22 °С до -25 °С в течение 2-х месяцев.

#### **Приготовление смеси диэтилового эфира и этилацетата 40:60 (об.)**

8.3. Дозируют 40 см<sup>3</sup> диэтилового эфира в мерный цилиндр на 100 см<sup>3</sup>, доводят объем до 100 см<sup>3</sup> этилацетатом. Смесь готовят непосредственно перед использованием.

## **Приготовление насыщенного раствора фенолборной кислоты**

8.4. Навеску 1г фенолборной кислоты помещают в мерную колбу на 50 см<sup>3</sup>, добавляют 0,1 см<sup>3</sup> воды деионизированной и доводят до метки диэтиловым эфиром. Для дериватизации используют только чистую надосадочную жидкость. Раствор хранят при температуре от -22 С до -25 С в течение 2-х месяцев.

## **IX. Подготовка проб совместных растворов для градуировки**

### **Подготовка проб совместного раствора 3-МХПД и глицидола**

9.1. Подготовка проб совместного раствора 3-МХПД и глицидола осуществляется в следующем порядке:

9.1.1. В центрифужные пробирки на 15 см<sup>3</sup> дозируют по 600 мм<sup>3</sup> рабочих стандартных растворов, приготовленных по п.7.4, добавляют по 50 мм<sup>3</sup> растворов 3-МХПД-d5 по п.7.1 и 3-МБПД-d5 по п.7.2.

9.1.2. Добавляют 600 мм<sup>3</sup> подкисленного р-ра бромида натрия по п.8.2.

9.1.3. Добавляют 1 см<sup>3</sup> смеси диэтилового эфира: этилацетата по п.8.3 для экстракции аналита. Верхний слой отбирают в другую центрифужную пробирку на 15 см<sup>3</sup>. Экстракцию повторяют.

9.1.4. Объединенный экстракт упаривают без нагревания.

9.1.5. Добавляют 1 см<sup>3</sup> раствора ФБК по п.8.4, мешают и дают отстояться 15 минут.

9.1.6. Раствор упаривают до полного высыхания и добавляют 1 см<sup>3</sup> изооктана.

9.1.7. Пробы озвучивают до разбиения белесого осадка, переносят в микроцентрифужные пробирки на 2 мл и центрифугируют при не менее 13000 об/мин (не менее 15700 g) течение 5 минут.

9.1.8. Около 800 мм<sup>3</sup> чистой надосадочной жидкости переносят в виалу на 2 см<sup>3</sup>.

9.1.9. 1 мм<sup>3</sup> полученной пробы вводят в хроматограф.

### **Подготовка проб совместного раствора 1,2-дипальмитоил-3-МХПД и 1,3-дипальмитоил-2-МХПД**

9.2. Подготовка проб совместного раствора 1,2-дипальмитоил-3-МХПД и 1,3-дипальмитоил-2-МХПД осуществляется в следующем порядке:

9.2.1. В центрифужные пробирки на 15 см<sup>3</sup> дозируют по 600 мм<sup>3</sup> рабочих стандартных растворов, приготовленных по п.7.5 и добавляют 100 мм<sup>3</sup> совместного раствора 1,2-дипальмитоил-3-МХПД-d5 и 1,3-дипальмитоил-2-МХПД-d5 по п.7.3.

9.2.2. Добавляют 600 мм<sup>3</sup> диэтилового эфира и помещают в морозильную камеру с температурой -25 °С на 30 мин.

9.2.3. Не дожидаясь размораживания проб добавляют 500 мм<sup>3</sup> метанольного гидроксида (метоксида) натрия по п.8.1, закрывают крышками, мешают и помещают в морозильную камеру с температурой -25 °С на 16 часов (для предотвращения образования глицидола из МХПД в щелочной среде).

9.2.4. Не дожидаясь размораживания проб добавляют 600 мм<sup>3</sup> подкисленного бромид натрия по п.8.2.

9.2.5. Верхний слой упаривают без нагревания.

9.2.6. Добавляют 600 мм<sup>3</sup> гексана, мешают, дают отстояться до расслоения (можно центрифугировать) и удаляют верхний слой. Процедуру повторяют.

9.2.7. Добавляют 900 мм<sup>3</sup> смеси диэтилового эфира: этилацетата по п.8.3, перемешивают и дают отстояться до расслоения. Верхний слой отбирают в новую центрифужную пробирку на 15 см<sup>3</sup>. Экстракцию повторяют еще раз.

9.2.8. Экстракты упаривают без нагревания.

9.2.9. Добавляют 1 см<sup>3</sup> раствора ФБК по п.8.4, мешают и дают отстояться 15 мин.

9.2.10. Раствор упаривают до полного высыхания и добавляют 1 см<sup>3</sup> изооктана.

9.2.11. Пробы озвучивают до разбиения белесого осадка, переносят в микроцентрифужные пробирки на 2 мл и центрифугируют при не менее 13000 об/мин (не менее 15700 g).

9.2.12. Около 800 мм<sup>3</sup> чистой надосадочной жидкости переносят в вialу и вводят в хроматограф.

Примечание: Пробы рекомендуется анализировать сразу или в день приготовления; при хранении более суток возможно выпадение кристаллического осадка фенолборной кислоты.

### **Подготовка пробы пищевого растительного масла или животного жира для анализа**

9.3. Подготовка пробы пищевого растительного масла или животного жира для анализа осуществляется в следующем порядке:

#### **9.3.1. Подготовка пробы А:**

9.3.1.1. Взвешивают 100 мг ± 20 мг масла в центрифужную пробирку на 15 см<sup>3</sup>.

9.3.1.2. Добавляют по 50 мм<sup>3</sup> растворов внутренних стандартов 3-МХПД-d5 и 3-МБПД-d5, приготовленных по п.7.1 и п. 7.2 соответственно.

9.3.1.3. Добавляют 600 мм<sup>3</sup> диэтилового эфира (для растворения масла пробирку можно погреть) и перемешивают. Раствор помещают в морозильную камеру с температурой -25 °С на 30 мин (для предотвращения образования глицидола из МХПД в щелочной среде).

9.3.1.4. Не дожидаясь размораживания пробы добавляют 500 мм<sup>3</sup> метанолюльного гидроксида (метоксида) натрия по п.8.1, перемешивают и помещают в морозильную камеру с температурой -25 °С на 16 часов.

9.3.1.5. Не дожидаясь размораживания пробы добавляют 600 мм<sup>3</sup> подкисленного бромид натрия по п.8.2 для прекращения реакции.

9.3.1.6. Верхний слой упаривают без нагревания.

9.3.1.7. Добавляют 600 мм<sup>3</sup> гексана и перемешивают. Дают отстояться до расслоения (можно центрифугировать) и удаляют верхний слой. Повторяют этот этап еще один раз.

9.3.1.8. Добавляют 900 мм<sup>3</sup> смеси диэтилового эфира: этилацетата по п.8.3, перемешивают и дают отстояться до расслоения. Верхний слой отбирают в другую центрифужную пробирку на 15 см<sup>3</sup>. Экстракцию повторяют еще раз.

9.3.1.9. Экстракты упаривают без нагревания.

9.3.1.10. Добавляют 1 см<sup>3</sup> раствора ФБК по п.8.4, мешают и дают отстояться около 15 мин.

9.3.1.11. Раствор упаривают до полного высыхания и добавляют 1 см<sup>3</sup>изооктана.

9.3.1.12. Пробы озвучивают до разбиения белесого осадка, переносят в микроцентрифужные пробирки на 2 мл и центрифугируют при не менее 13000 об/мин (не менее 15700 g) в течение 5 минут.

9.3.1.13. Около 800 мм<sup>3</sup> чистой надосадочной жидкости переносят в вialу и вводят в хроматограф.

### **9.3.2. Подготовка пробы Б:**

9.3.2.1. Взвешивают около 100 мг (точность взвешивания  $\pm 20$  мг) масла в центрифужную пробирку на 15 см<sup>3</sup>.

9.3.2.2. Добавляют 100 мм<sup>3</sup> совместного раствора внутренних стандартов 1,2-дипальмитоил-3-МХПД-d5 и 1,3-дипальмитоил-2-МХПД-d5, приготовленного по п.8.3.

9.3.2.3. Добавляют 600 мм<sup>3</sup> диэтилового эфира (для растворения масла пробирку можно погреть) и перемешивают. Раствор помещают в морозильную камеру с температурой -25 °С на 30 мин (для предотвращения образования глицидола из МХПД в щелочной среде).

9.3.2.4. Не дожидаясь размораживания пробы добавляют 500 мм<sup>3</sup> метанольного гидроксида (метоксида) натрия по п.8.1, перемешивают и помещают в морозильную камеру с температурой -25 °С на 16 часов.

9.3.2.5. Не дожидаясь размораживания пробы добавляют 600 мм<sup>3</sup> подкисленного бромида натрия по п.8.2 для прекращения реакции.

9.3.2.6. Верхний слой упаривают без нагревания.

9.3.2.7. Добавляют 600 мм<sup>3</sup> гексана и перемешивают. Дают отстояться до расслоения (можно центрифугировать) и удаляют верхний слой. Повторяют этот этап еще один раз.

9.3.2.8. Добавляют 900 мм<sup>3</sup> смеси диэтилового эфира: этилацетата по п.8.3, мешают и дают отстояться до расслоения. Верхний слой отбирают в другую центрифужную пробирку на 15 см<sup>3</sup>. Экстракцию повторяют еще раз.

9.3.2.9. Экстракты упаривают без нагревания.

9.3.2.10. Добавляют 1 см<sup>3</sup> раствора ФБК по п.8.4, мешают и дают отстояться около 15 мин.

9.3.2.11. Раствор упаривают на до полного высыхания и добавляют 1 см<sup>3</sup>изооктана.

9.3.2.12. Пробы озвучивают до разбиения белесого осадка, переносят в микроцентрифужные пробирки на 2 мл и центрифугируют при не менее 13000 об/мин (не менее 15700 g) в течение 5 минут.

9.3.2.13. Около 800 мм<sup>3</sup> чистой надосадочной жидкости переносят в вialу и вводят в хроматограф.

## Х. Хроматографические условия измерений

10.1. Хромато-масс-спектрометр включают и настраивают в соответствии с техническим руководством по его эксплуатации и устанавливают хроматографические параметры, представленные в таблице 2.

Таблица 2

### Основные параметры работы хромато-масс-спектрометра

Температурная программа	Начальная температура 60 °С, 5 °С/мин до 190 °С, 20 °С/мин до 280 °С, задержка 5 мин, по окончании 300 °С 5 мин
Режим работы инжектора	Без деления потока
Температура инжектора	250°С
Вводимый объем пробы	1 мм <sup>3</sup>
Тип лайнера	одинарный конический, для режима без деления потока, со стекловатой
Газ-носитель	Гелий
Скорость потока газа-носителя	1,2 см <sup>3</sup> /мин
Режим потока	Постоянный поток
Температура интерфейса	280°С
Температура источника	230°С
Температура квадруполя	150°С

Рекомендуется следующий порядок ввода пробы:

1. Не менее 5 раз промыть шприц гексаном или изооктаном;
2. 2 раза промыть шприц вводимой пробой;
3. Удалить пузырьки воздуха;
4. Ввести 1 мм<sup>3</sup> пробы в хроматограф и начать анализ;
5. Не менее 5 раз промыть шприц гексаном или изооктаном.

Работу проводят в режиме мониторинга выбранных реакций, при этом устанавливают параметры для переходов, представленные в таблице 3. Первый ион-фрагмент соответствующего анализа используется для количественного расчета, второй является подтверждающим.

Таблица 3

### Примеры параметров режима мониторинга выбранных реакций<sup>2</sup>

Аналит	Ион-предшественник,	Ион-фрагмент,	Энергия соударения, eV	Временной сегмент
	m/z	m/z		
3-МХПД	196	147	10	1 (15,0-18,4 мин.)
	196	91	25	
3-МХПД-d5	201	150	10	
	201	93	25	
2-МХПД	196	104	25	2 (18,4-19,5 мин.)
	196	91	15	

<sup>2</sup> В зависимости от характеристик используемого оборудования указанные значения m/z ионов-фрагментов и энергии соударения могут отличаться от приведенных. Данные таблицы могут использоваться для тройного квадрульного масс-детектора Agilent 7000С.

2-МХПД-d5	201	107	10	3 (19,5-23,0 мин.)
	201	104	20	
3-МБПД	242	147	10	
	242	91	25	
3-МБПД-d5	247	150	10	
	247	93	25	

## XI. Построение градуировочной кривой

11.1. При построении градуировочной зависимости для количественного определения 3-МХПД, 2-МХПД и глицидола анализируют рабочие стандартные градуировочные растворы различных уровней концентраций в указанных условиях, приготовленные по п.7.4 и п.7.5. Затем строят графики зависимости массы аналита во вводимой пробе от отношения площади хроматографического пика аналита к площади пика внутреннего стандарта для каждого фрагментного иона, используемого для количественного определения. Построение графиков может проводиться при помощи программы обработки данных ГЖХ-МС/МС или при помощи программы для работы с электронными таблицами.

Рассчитанная в ходе градуировки концентрация по фрагментарному иону, используемому для количественного определения, должна совпадать с теоретической в пределах 20%.

Градуировочная зависимость считается приемлемой, если рассчитанное значение квадрата коэффициента корреляции для градуировочной кривой каждого фрагментного иона, используемого для количественного определения, составляет не менее 0,98.

Расчет содержания аналитов в исследуемом образце пищевого масла проводится следующим образом:

$$C_{3\text{-МХПД(а)}} = \frac{G_1 \times 0,6}{m}; \quad (1)$$

$$C_{\text{глицидола (а)}} = \frac{G_2 \times 0,6}{m}; \quad (2)$$

$$C_{3\text{-МХПД(б)}} = \frac{G_3 \times 0,6}{m}; \quad (3)$$

$$C_{2\text{-МХПД(б)}} = \frac{G_4 \times 0,6}{m}; \quad (4)$$

$$C_{\text{глицидола (б)}} = \frac{C_{3\text{-МХПД(б)}}}{C_{3\text{-МХПД(а)}}} \times C_{\text{глицидола (а)}}; \quad (5)$$

где  $C_{3\text{-МХПД (а)}}$  – содержание 3-МХПД в пробе А, мкг/г;

$C_{\text{глицидола (а)}}$  – содержание глицидола в пробе А, мкг/г;

$C_{3\text{-МХПД (б)}}$  – содержание 3-МХПД в пробе Б, мкг/г;

$C_{2\text{-МХПД (б)}}$  – содержание 2-МХПД в пробе Б, мкг/г;

$C_{\text{глицидола (б)}}$  – содержание глицидола в пробе Б, мкг/г;

$G_1$  – масса 3-МХПД во вводимой в хромато-масс-спектрометр пробе А, рассчитанная по градуировке, мкг;

$G_2$  – масса глицидола во вводимой в хромато-масс-спектрометр пробе А, рассчитанная по градуировке, мкг;

$G_3$  – масса 3-МХПД во вводимой в хромато-масс-спектрометр пробе Б, рассчитанная по градуировке, мкг;

$G_4$  – масса 2-МХПД во вводимой в хромато-масс-спектрометр пробе Б, рассчитанная по градуировке, мкг;

$m$  – масса навески образца, г.

## **XII. Выражение результатов**

12.1. Результат анализа представляет собой суммы свободных и этерифицированных форм 2-МХПД и 3-МХПД, рассчитанных по формулам 3 и 4 соответственно и выраженных через свободные формы, и сумму свободной и этерифицированных форм глицидола, рассчитанную по формуле 5 и выраженную через свободную форму.

Результат анализа представляют в виде:

$$C \pm 0,01 \times \delta \times C, \text{ при } P = 0,95;$$

где  $C$ - результат, рассчитанный для пробы В с точностью до второго десятичного знака, мг/кг;

$\delta$ – значение относительной погрешности измерений, %.

## **XIII. Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории**

13.1. Контроль качества результатов измерений в лаборатории при реализации методики осуществляют по ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений», используя контроль стабильности среднеквадратического (стандартного) отклонения промежуточной прецизионности по 6.2.3 ГОСТ Р ИСО 5725-6 и показателя правильности по 6.2.4 ГОСТ Р ИСО 5725-6.

## **XIV. Требования безопасности, охраны окружающей среды**

14.1. При выполнении работ необходимо соблюдать следующие требования: помещение лаборатории должно быть оборудовано общей приточно-вытяжной вентиляцией в соответствии с ГОСТ 12.4.021. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать гигиенических нормативов<sup>3</sup>;

требования техники безопасности при работе с химическими реактивами в соответствии с ГОСТ 12.1.007;

<sup>3</sup> ГН 2.2.5.3532-18 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 13.02.2018 № 25; ГН 2.2.5.2308-07 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 19.12.2007 № 89.

требования техники безопасности при работе с электроустановками в соответствии с ГОСТ Р 12.1.019.

Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности в соответствии с ГОСТ 12.1.004 и быть оснащено средствами пожаротушения в соответствии с ГОСТ 12.4.009.

#### **XV. Требования к оператору**

15.1. Работу по указанной методике могут исполнять специалисты, обладающие необходимыми специальными навыками и познаниями в области хроматомасс-спектрометрии и аналитической химии.

#### **XVI. Условия проведения измерений**

16.1. При выполнении измерений соблюдают следующие условия: температура воздуха  $(20 \pm 5)$  °С, относительная влажность не более 80% (условия измерений должны соответствовать требованиям, изложенным в паспортах или иных документах на используемое оборудование и материалы).

### Нормативные и методические документы

1. Федеральный закон от 30.03.1999 № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения».
2. Закон Российской Федерации от 07.02.1992 № 2300-1 «О защите прав потребителей».
3. ГН 2.2.5.3532-18 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 13.02.2018 № 25.
4. ГН 2.2.5.2308-07 «Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 19.12.2007 № 89.
5. ГОСТ 12.0.004-90 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения.
6. ГОСТ 12.1.004-91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования.
7. ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.
8. ГОСТ 12.4.009-83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание.
9. ГОСТ Р 12.1.019-2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.
10. ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности на практике.