

**АКАДЕМИЯ НАУК МОЛДОВЫ
ИНСТИТУТ ХИМИИ**

На правах рукописи

УДК: 543.064+663.258.39+504.05

ЛАЗАКОВИЧ ДМИТРИЙ ВАСИЛЬЕВИЧ

**МОНИТОРИНГ ФТАЛАТНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ В
ПРОДУКЦИИ ВИНОДЕЛЬЧЕСКОЙ ОТРАСЛИ**

**166.02. ОХРАНА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И РАЦИОНАЛЬНОЕ
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРИРОДНЫХ РЕСУРСОВ**

Диссертация на соискание ученой степени доктора химических наук

Научный руководитель:

ДУКА Г. Г.



доктор-хабилитат химических наук,
профессор, академик АНМ

Научный консультант:

СТУРЗА Р.А.



доктор-хабилитат технических наук,
профессор

Автор:



ЛАЗАКОВИЧ Д.В.

КИШИНЕВ, 2015

ACADEMIA DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI
INSTITUTUL DE CHIMIE

Cu titlu de manuscris
C.Z.U: 543.064+663.258.39+504.05

LAZACOVICI DMITRI

MONITORINGUL REZIDUURILOR DE FTALAȚI ÎN PRODUSE
VITIVINICOLE

166.02. PROTECȚIA MEDIULUI AMBIANT ȘI FOLOSIREA
RAȚIONALĂ A RESURSELOR NATURALE

Teză de doctor în chimie

Conducător științific:	DUCA Gheorghe, doctor habilitat în chimie, profesor universitar, academician al AȘM
Consultant științific :	STURZA Rodica, doctor habilitat în științe tehnice, profesor universitar
Autor:	LAZACOVICI Dmitri

CHISINAU, 2015

© Lazacovici Dmitri, 2015

СОДЕРЖАНИЕ

АННОТАЦИЯ	7
ADNOTARE	8
SUMMARY	9
УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ	10
ВВЕДЕНИЕ	12
1. СВОЙСТВА И АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ ЭФИРОВ ОРТОФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ	16
1.1. Производство и применение фталатов	16
1.2. Физико-химические свойства фталатов	18
1.3. Патогенное действие фталатов	19
1.4. Метаболизм, биodeградация и абиотическая деградация эфиров о-фталевой кислоты	22
1.5. Миграция вредных веществ	25
1.6. Определение содержания фталатов в различных средах	27
1.6.1 Подготовка проб к анализу	27
1.6.2 Анализ фталатов	31
1.7. Исследование явлений сорбции фталатов	34
1.8. Заключение и постановка задач исследования	37
2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЙ	38
2.1. Объекты исследований	38
2.2. Аналитические характеристики приборов и реагентов	40
2.3. Аналитические методики и приемы	42
2.4. Методы исследования кинетики процессов	44
2.5. Биосорбция / биodeградация	46
2.6. Дистилляция	47
2.7. Выводы к главе 2	47
3. РАЗРАБОТКА ПРОЦЕДУРЫ АНАЛИЗА ФТАЛАТОВ В ПРОДУКТАХ ВИНОДЕЛЬЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ	48
3.1. Разработка процедуры анализа фталатов в продуктах винодельческой промышленности	48
3.2. Сравнение характеристик и приемов предложенной в работе процедуры с альтернативными аналитическими подходами	57
3.3. Разработка процедуры анализа содержания фталатов в продуктах винодельческой отрасли в рамках программы OIV	58

3.4. Разработка процедуры комплексной оценки содержания фталатов в продукции винодельческой промышленности.....	59
3.5 Выводы к главе 3	63
4. АНАЛИЗ ИСТОЧНИКОВ КОНТАМИНИРОВАНИЯ ФТАЛАТАМИ	65
4.1. Исследование содержания фталатов в объектах окружающей среды	65
4.2. Содержание фталатов в контактирующих полимерных материалах, как фактор контаминирования конечного продукта.....	67
4.2.1. Кинетика миграции фталатов в модельные растворы	67
4.2.2. Фталаты в контактирующих материалах, используемых в условиях производства винодельческой отрасли	84
4.3. Степень контаминирования фталатами продуктов винодельческой отрасли	86
4.4. Выводы к главе 4:	91
5. ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФТАЛАТОВ В СПИРТСОДЕРЖАЩИХ СРЕДАХ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФИЗИЧЕСКИХ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ.....	92
5.1. Абиотическая сорбция фталатов.....	92
5.1.1. Сорбционная емкость адсорбентов и ионитов	92
5.1.2. Побочная активность сорбентов в средах реальных образцов	96
5.2. Биосорбция фталатов	108
5.3. Динамика распределения молекул фталатов в системе водно-спиртовых растворов в процессе дистилляции.....	112
5.4. Выводы к главе 5:	115
ОБЩИЕ ВЫВОДЫ И РЕКОМЕНДАЦИИ	116
ЛИТЕРАТУРА	119
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	133
Приложение 1. Масс спектры библиотеки NIST/EPA/NIH версии NIST 08 (E=70eV)	133
Приложение 2. Рис. П2. Результат запроса в Государственной гидрометеорологической службе об уровне загрязнения поверхностных почв на территории Республики Молдова.	135
Приложение 3. Процедура анализа фталатов в алкогольных продуктах методом ГХМС (2011г.).....	136
Приложение 4. Процедура анализа фталатов в алкогольных продуктах методом ГХМС (2014г.).....	142
Приложение 5. Отчет о превалидировании процедуры анализа фталатов OIV.....	148

Приложение 6. Рис. П6.1. Внесение процедуры анализа фталатов в область аккредитации лаборатории Национального Центра Испытания Качества Алкогольной Продукции.	150
Приложение 7. Рис. П7.1. Свидетельство о национальной аккредитации 2014г.....	151
Приложение 8. Таблица П8.1. Растворимость ДЭГФ в воде.	153
Приложение 9. Таблица П9. Значения ПДК фталатов при изучении их миграции из полимеров в среды соответствующие пищевым продуктам.	154
ДЕКЛАРАЦИЯ ОБ ОТВЕТСТВЕННОСТИ	155
CURRICULUM VITAE	156

АННОТАЦИЯ

Фамилия, имя: Лазакович Дмитрий

Название диссертации: Мониторинг фталатного загрязнения в продукции винодельческой отрасли.

Соискание ученой степени: доктор химических наук.

Место защиты: Кишинев.

Год представления диссертации: 2015.

Структура диссертации: Диссертационная работа написана на русском языке, состоит из введения, 5 глав, выводов и рекомендаций, списка цитируемой литературы в 176 источников, 57 рисунков, 30 таблиц, списка сокращений и 9 приложений. Работа содержит 118 страниц текста.

Количество публикации по теме: результаты опубликованы в 13 научных работах.

Ключевые слова: фталатное контаминирование, миграция фталатов, сорбция фталатов, продукты винодельческой промышленности, аналитическая процедура.

Специальность: 166.02. Охрана окружающей среды и рациональное использование природных ресурсов.

Цель научной работы заключалась в разработке эффективной, надежной, физически доступной и экономически оправданной процедуры анализа фталатов в конечном продукте винодельческой отрасли и во всей промежуточной сырьевой базе; в выявлении источников контаминирования фталатами продуктов виноделия; изучении процессов миграции фталатов в водно-спиртовые среды и определении факторов влияющих на ее скорость; исследование динамики изменения содержания фталатов в спиртосодержащих средах под действием физических, физико-химических и биологических факторов.

Научная новизна и оригинальность исследования заключается в установлении факторов влияющих на процесс миграции эфиров ФК из полимерных материалов в водно-спиртовые растворы, таких как температура, время, механическое воздействие, соотношение компонентов среды вода-этанол, и количественное определение степени их воздействия;

Установлены динамические изменения в содержании фталатов в спиртосодержащих средах в процессах биологической и абиотической сорбции;

Предложена модель аналитического подхода к оценке комплексного содержания фталатов в продуктах винодельческой отрасли;

На 2010 год процедура анализа фталатов являлась первым оформленным, утвержденным на республиканском уровне документом. Представленная процедура отлична от прочих теоретических подходов технической и экономической доступностью.

Решенная научная проблема: По результатам исследования природных источников вод, почв и растительного сырья, установлено, что объекты окружающей среды не являются источниками фталатного загрязнения продуктов виноделия.

Теоретическая и прикладная значимость работы: установлены аспекты оценки пригодности полимерных материалов, используемых в алкогольной отрасли пищевой промышленности;

Показаны факторы, способствующие естественному снижению уровня фталатного загрязнения в конечных продуктах винодельческой отрасли в процессах ферментации сусла и физико-химической обработки виноматериала.

Процедурой, разработанной и утвержденной в системе Национального Аккредитационного Центра Республики Молдова (MOLDAC), исследовательской лабораторией Национального Центра Испытания Качества Алкогольной Продукции (НЦИКАП), контролируется гигиеническая безопасность молдавского виноделия.

ADNOTARE

Numele și prenumele: Lazacovici Dmitri.

Denumirea tezei: Monitoringul reziduurilor de ftalați în produse vitivinicole.

Gradul științific solicitat: doctor în chimie.

Localitatea: Chișinău.

Anul prezentării tezei: 2015.

Structura tezei: 118 pagini, 57 figuri, 30 tabele, introducere, 5 capitole, concluzii generale și recomandări, bibliografie cu 176 surse, 9 anexe.

Numărul de publicații la temă: rezultatele obținute au fost publicate în 13 lucrări științifice.

Cuvinte-cheie: contaminare cu ftalați, migrația ftalaților, sorbție a ftalaților, producția vitivinicolă, procedura analitică.

Specialitatea: 166.02. Protecția mediului ambiant și folosirea rațională a resurselor naturale.

Scopul cercetării a constat în elaborarea unei proceduri eficiente, fiabile, accesibile fizic și economic, de analiză a ftalaților în produsele finite și în materiile prime secundare ale industriei vinicole; în identificarea surselor de contaminare cu ftalați a produselor vinicole, studierea proceselor de migrare a ftalaților în mediile hidro-alcoolice și stabilirea factorilor ce afectează viteza de migrare; studiul dinamicii variației conținutului de ftalați în medii hidro-alcoolice, sub influența factorilor fizici, fizico-chimici și biologici.

Noutatea științifică și originalitatea cercetării constă în stabilirea factorilor ce influențează procesul de migrare a esterilor acidului ftalic din polimeri în mediile hidro-alcoolice, precum temperatura, timpul de expunere, acțiunea mecanică, raportul dintre componentele mediului de apă-etanol; cuantificarea impactului lor;

Au fost stabilite variațiile dinamice ale conținutului de ftalați în mediile hidro-alcoolice, în procesele de sorbție biologică și abiotică;

A fost propus un model de abordare analitică a evaluării conținutului complex de ftalați în produsele vinicole;

În 2010, procedura de analiză a ftalaților a fost primul document elaborat în domeniu, aprobat la nivel național. Prezenta procedură se deosebește de alte abordări teoretice prin faptul că este mai accesibilă tehnic și economic.

Problema științifică soluționată: În rezultatul cercetării surselor naturale de apă, sol și materie primă vegetală, s-a stabilit că obiectele de mediu nu reprezintă surse de poluare cu ftalați a produselor vinicole.

Semnificația teoretică și aplicativă a lucrării: au fost stabilite aspectele estimării conformității materialelor polimerice, utilizate în ramura vitivinicolă a industriei alimentare;

Au fost stabiliți factorii ce contribuie la diminuarea naturală a contaminării cu ftalați în produsele finite ale ramurii vitivinicole, în procesele de fermentare a mustului și în prelucrarea fizico-chimică a vinului materie primă.

Procedura elaborată în cadrul laboratorului de încercări al ÎS „Centrul Național de Verificare a Produselor Alcoolice” (CNVCPA) și aprobată de ÎS „Centrul Național de Acreditare din Republica Moldova” (MOLDAC) asigură controlul siguranței igienice a băuturilor alcoolice moldovenești.

SUMMARY

First name, Last name: Dmitri Lazacovici.

Thesis title: Monitoring of the phthalate contamination in the wine industry production.

Academic degree: PhD in chemistry.

Place: Chisinau.

Year of presentation: 2015.

Dissertation contents: introduction, 5 chapters, general conclusions and recommendations, bibliography - 176 references, 9 annexes, 118 pages of the main part, 57 pictures and 30 tables.

Number of publications: results are published in 13 scientific papers.

Key words: phthalates contamination, phthalates migration, sorption of phthalates, wine industry products, analytical procedure.

Field of research: 166.02. Environmental protection and rational use of natural resources.

The aim of the work: The purpose of research was to develop an efficient, reliable, available, economically viable procedure of analysis of the both wine industry final product, and any raw materials used in the production process; identifying the sources of contamination of wine products with phthalates; in addition, the study of the migration of phthalates in an aqueous-alcoholic solutions and determining the factors affecting on speed of this process; study of the phthalates content changes in alcohol-matrix under the influence of physical, physico-chemical and biological factors .

Scientific novelty and originality of the research is to determine the factors influencing the process of migration of phthalates from polymeric materials to water-alcohol solutions, such as temperature, time, mechanical impact, the components ratio in the binary system water-alcohol, and quantification of their impact;

The dynamics of phthalates content changes in processes of biological and abiotic sorption in alcohol-matrix was fixed;

The models of analytical approaches to the estimation of phthalates content in wine industry products were proposed.

In 2010 year the analysis procedure for the determination of phthalates' content was the first document, formalized and approved at the national level document. The presented procedure is different from other theoretical approaches by its technical and economic availability.

Solved scientific problem: According to the study of natural sources of water, soil and plant materials, it was found that the objects of the environment are not sources of phthalate contamination of wine.

Theoretical and application value of the research: In this work there were studied aspects of evaluation of polymeric materials applicability in the wine industry;

Showing the factors contributing to the decline in natural phthalate contamination in the final products of the wine industry in the process of fermentation of the wort and physico-chemical treatment of raw wine.

The procedure, which was elaborated and approved in a national system National Accreditation Center of the Republic of Moldova (MOLDAC), is used by the National Center for Quality Testing of Alcoholic Beverages for the control of hygienic safety of the Moldovan wine industry products.

УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ

ААС – атомно-абсорбционная спектрометрия

ББФ – бензилбутилфталат

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

$\Gamma_{\text{эксп}}$ – экспериментальная гиббсовская адсорбция, ммоль/г

Γ_{∞} – предельная адсорбция, ммоль/г

ГХ – газовая хроматография

ГХМС – газовая хромато-масс-спектрометрия

ДАФ – диалкилфталат

ДАмФ - диамилфталат

ДБФ – дибутилфталат

ДВБ – дивинилбензол

ДГФ – дигексилфталат

ДДФ – дидецилфталат

ДиБФ – диизобутилфталат

ДМПС – диметилполисилоксан

ДМФ – диметилфталат

ДНФ – динонилфталат

ДОФ – диоктилфталат

ДЦГФ – дициклогексилфталат

ДЭГФ – бис(2-этилгексил)фталат

ДЭФ – диэтилфталат

КЭ – капиллярный зонный электрофорез

Модель М-15 - водно-этанольный раствор (15 об.% этанол), винная кислота 5 г/л с
коррекцией водородного показателя до pH=3,0 50%-м раствором NaOH.

Модель М-50 - водно-этанольный раствор с концентрацией спирта 50 об.%

об.% - объемные проценты

ПС – полистирол

ПА – полиакрилат

ТФМЭ – твердофазная микроэкстракция

УЗ – ультразвук

ФК – о-фталева кислота.

E_i – энергия электронной ионизации

IS – внутренний стандарт

LOD – предел обнаружения данной методикой с заданной степенью достоверности (limit of detection)

LOQ - нижняя граница определяемых содержаний (limit of quantification)

λ – длина волны, нм

m/z – соотношение массы к заряду частицы.

RSD – относительное стандартное отклонение

$r_{\text{пор}}$ – радиус пор, нм

R_t – время удерживания

S – площадь, $\text{м}^2/\text{г}$

S_p – площадь хроматографического пика

t – температура, $^{\circ}\text{C}$

τ – время, сут. (дн.; мин.; сек.)

$V_{\text{пор}}$ – объем пор, $\text{мл}/\text{г}$

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы: Исследовательская работа, проведенная в испытательной лаборатории Национального Центра Испытания Качества Алкогольной Продукции (Кишинев, РМ) в 2010-2014 гг., инициированная проверками Роспотребнадзором молдавской продукции, выявила тот факт, что проблема фталатного загрязнения винодельческой продукции в Республике Молдова, носит общеотраслевой характер. Особый интерес, проявляемый в мире к фталатам, присутствующим в материалах, контактирующих с пищевой продукцией, и как следствие, в самой пищевой продукции, обусловлен их высокой патогенной активностью [1, 2]. В связи с чем, содержание фталатов ограничивается и строго нормируется соответствующей документацией [3-5].

По состоянию на 2010 год отмечено отсутствие оформленной и апробированной процедуры для количественной оценки содержания фталатов в продуктах винодельческой отрасли. Наличие данной проблемы, на указанный период, помимо молдавской системы контроля качества алкогольной продукции, актуально так же для российской, стран СНГ и международной нормативных систем.

Цель работы состоит в разработке эффективной, доступной и экономически оправданной процедуры анализа, как конечного продукта винодельческой отрасли, так и всей промежуточной сырьевой базы, а также для контроля материалов, контактирующих с продуктом на всех этапах производства. Кроме того, выявление всех возможных источников контаминирования, как на этапе переработки сырья, так и на конечной стадии розлива, также важно для понимания эффекта суммарного фталатного загрязнения готового продукта, для устранения его в дальнейшем. Изучение динамики изменения содержания фталатов в спиртосодержащих средах под действием физических, физико-химических и биологических факторов, призвано установить возможные пути снижения или устранения причин возникновения фталатного загрязнения. Исследования в рамках данной работы, также посвящены поиску потенциальных путей и средств деконтаминирования сырья и продукта уже подвергнутого загрязнению.

Научная новизна работы заключена в следующем:

- изучены процессы миграции эфиров ФК в водно-спиртовые растворы в условиях переменных параметров, таких как температура, время, механическое воздействие, соотношение компонентов бинарной системы водно-спиртовой среды, а также установлена степень воздействия данных факторов;
- установлены динамические изменения в содержании фталатов в спиртосодержащих средах в процессах биологической и абиотической сорбции;

Практическая значимость состоит в разработке, валидировании и внедрении процедуры анализа содержания фталатов в продуктах винодельческой отрасли и в материалах, контактирующих с ними. Оценены факторы риска возникновения предпосылок контаминирования продукта на всех этапах промышленного производства. По итогам проведенной работы составлены практические рекомендации для производителей для ликвидации проблемы фталатного загрязнения в дальнейшем.

Теоретическая значимость. Представлен эффективный, экономичный, относительно доступный способ комплексной оценки уровня загрязнения фталатами водно-спиртовых растворов. На основании статистических данных предложен математический аппарат корреляции степени извлечения фталатов из водно-спиртовых сред в зависимости от ряда параметров. Установлены факторы, способствующие снижению уровня существующего фталатного загрязнения спиртованных продуктов винодельческой отрасли.

Достоверность результатов исследований. Достоверность полученных экспериментальных данных гарантирована использованием современных методов физико-химического анализа. Своевременная метрологическая оценка аналитического оборудования, тренинг и регулярная профессиональная аттестация соискателя, являются объективными аргументами в пользу воспроизводимости экспериментальных данных и надежности теоретических выводов.

Личный вклад автора. Автором лично получены все экспериментальные данные, на базе которых, установлены источники миграции фталатов в продукты винодельческой отрасли. Определены параметры, влияющие на скорость миграции. Установлены потенциальные факторы способствующие процессу естественного деконтаминирования продуктов виноделия на различных технологических этапах.

Совместно с научным руководителем и научным консультантом, разработаны аналитические подходы для контроля безопасности продуктов винодельческой отрасли и практические рекомендации для производителей.

Апробация научных результатов. Базовые материалы работы были представлены на республиканских и международных конференциях:

- Conferința tehnico-științifică a colaboratorilor, doctoranzilor și studenților. UTM. Chișinău. Moldova. (2010)
- 34th World congress of the international organization of vine and wine. Porto. Portugal. (2011)
- Scientific conference with international participation “Food science, engineering and technologies 2011”. University of Food Technologies. Plovdiv. Bulgaria. (2011)

- Conferința științifico-practică cu participare internațională. CNVCPA. “Vinul în mileniul III – probleme actuale în vinificație” Chișinău, Moldova. (2011)
- International conference “geo-ecological monitoring and risk of administrative region” Yerevan-Sevan, Armenia. (2011)
- The 5th International Conference «Ecological chemistry 2012». Chișinău, Moldova. (2012)
- International conference of applied sciences, chemistry and chemical engineering. Bacău, Romania. (2012)
- The 1st International conference “Modern technology in the food industry”. Chișinău, Moldova. (2012)
- Международная научно-практическая конференция «Использование электрофизических методов исследования для производства и оценки качества пищевых продуктов» СПбГТЭУ. Санкт-Петербург, Россия. (2012)
- The 36th World Congress of Vine and Wine and the 11th General Assembly of the International Organisation of Vine and Wine. Bucharest, Romania. (2013)

Экспериментальная часть настоящей диссертационной работы, сбор статистических данных и разработка ряда практических рекомендаций, проводились на базе испытательной лаборатории Национального Центра Испытания Качества Алкогольной Продукции, Р. Молдова, г. Кишинев, ул. Гренобля 128U.

Структура и содержание диссертационной работы. Диссертационная работа состоит из введения, литературного обзора, экспериментальной части, выводов и рекомендаций, списка цитируемой литературы (176 источников). Диссертация изложена на 118 страницах, содержит 57 рисунков, 30 таблиц и 9 приложений.

Введение

Глава 1. Свойства и аналитическая химия эфиров ортофталевой кислоты.

Раздел посвящен анализу литературных данных характеризующих свойства фталатов, их превращения, альтернативные аналитические подходы к фталатному загрязнению в иных средах.

Глава 2. Объекты и методики исследований.

Глава посвящена обзору объектов исследования, краткой характеристике материальной и технической базы, использованной в экспериментальной части работы. Кроме того, представлена общая техническая информация о подготовке образцов и практической реализации экспериментов.

Глава 3. Разработка процедуры анализа фталатов в продуктах винодельческой промышленности.

Раздел посвящен разработке процедуры анализа фталатов в продуктах винодельческой промышленности, сравнению характеристик и приемов процедуры с альтернативными аналитическими подходами. Отражен вклад настоящей работы в реализацию программы по созданию международной процедуры оценки уровня фталатного загрязнения продуктов алкогольной отрасли пищевой промышленности, проведенной JRC-IRMM для OIV. Дополнительно, предложен аналитический подход к суммарной оценке содержания фталатов в водно-спиртовых средах.

4. Анализ источников контаминирования фталатами.

Проведено изучение потенциальных источников загрязнения продукта фталатами на различных этапах производства, включающие в себя объекты окружающей среды, натуральные и искусственные материалы, контактирующие с объектами исследования. Изучена кинетика миграции фталатов в модельные растворы. Представлены данные мониторинга продуктов винодельческой отрасли за период 2010-2014 гг.

5. Исследование динамики изменения содержания фталатов в спиртосодержащих средах под действием физических, физико-химических и биологических факторов.

Рассмотрены процессы сорбции фталатов на неподвижных фазах, а также на микробиологических структурах дрожжевых грибков. Установлены закономерности в динамике изменения содержания фталатов в процессах дистилляции водно-спиртовых сред.

Общие выводы и рекомендации

Литература

Приложения

1. СВОЙСТВА И АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ ЭФИРОВ ОРТОФТАЛЕВОЙ КИСЛОТЫ

1.1. Производство и применение фталатов

Рост потребительского спроса, в совокупности с научно-техническим прогрессом вовлекает человеческое общество и всех прочих обитателей экосферы Земли в непрерывное взаимодействие с «продуктами» технологического развития. Большинство материалов и индивидуальных веществ, производящихся сегодня и доставшихся нашему времени «в наследство», едва можно причислить к экологичным. Одни из них – пластические массы, так уверенно и надолго вошедшие в нашу жизнь. Вдобавок к этому расширяющаяся сфера и потенциал применения их в науке, технике, сельском хозяйстве и в быту, не позволяет надеяться на отказ от них в будущем. Широта применения и колоссальные объемы производства полимеров вовлекают в контакт с его составляющими все виды организмов. Полимерный материал представляет собой сложную систему из полимерных цепей, непрореагировавших мономеров, наполнителей, красителей, пластификаторов, стабилизаторов и прочих компонентов, способных мигрировать в окружающую среду.

Ретроспективный обзор доступной литературы, позволяет примерно оценить этапы развития производства фталатов и степень их внедрения в различные области химической промышленности. Несмотря на то, что первые оценки токсичности производных ортофталевой кислоты начали давать ближе ко второй половине XX в. [6, 7], применение их в качестве пластифицирующих и гелеобразующих, высококипящих компонентов [8-11], аромат-фиксирующих [12] и водоотталкивающих [13] агентов запатентованы задолго до этого – 1908-1935гг.

Согласно данным Всемирной Организации Здравоохранения (WHO) мировое производство фталатов к 1992 году исчислялось объемами в 2.7 млн. тонн в год [14]. Производство ДМФ и ДЭФ из них представляло собой незначительную долю, а производство ДЭГФ составляло примерно 50% от выше указанного объема. На 2011 год мировое производство фталатов уже составило 5 миллионов тонн [15].

Около 95% фталатов используется в производстве пластичных полимеров.

Фталаты в производстве полимеров. Роль фталатов в полимере, в некоторой мере, выходит за рамки простого пластификатора, придающего гибкость и эластичность продукту. Кроме того, фталаты, как вещества с высокой температурой кипения, способны придать материалу стойкость к термической и термоокислительной деструкции, водостойкость и устойчивость к УФ-излучению.

Для получения материала с высокой эластичностью и износостойкостью, содержание пластификатора (фталата) может быть соизмеримо с массовым содержанием полимера [16, 17].

Большинство фталатов, выпускаемых в промышленности, используется для пластификации ПВХ. Вид эфира о-фталевой кислоты и его количество в составе ПВХ-композиции определяется областью применения конечного полимерного продукта. Кроме того, для снижения стоимости полимера пластификация может достигаться введением смесей пластифицирующих агентов, в которых наряду с фталатами используются эфиры себациновой, адипиновой, ацетиллимонной, стеариновой, дифеновой, глутаровой, малеиновой, ортофосфорной, азелаиновой и ряда других кислот. Также в этом качестве применяют *n*-дихлорбензол, глицерина моноаллиловый эфир, гексахлорбензол, диалкилсульфонат фенола или крезола и пр. [18], при условии их совместимости с полимером.

В основе понимания процессов извлечения фталатов из полимеров лежат механизмы пластификации при производстве, описанию которых было посвящено достаточное число научно-практических работ, начиная с 20-х годов XX века [19, 20]. Наибольшее распространение получила теория, согласно которой молекулы пластификатора могут распределяться между макромолекулами полимера или между их надмолекулярными образованиями.

В первом случае пластификация осуществляется на молекулярном уровне и наблюдается при наличии большого термодинамического сродства пластификатора к полимеру. Во втором случае пластификатор распределяется между надмолекулярными образованиями, т.е. пластификация протекает на надмолекулярном (структурном) уровне.

Молекулярный и структурный механизмы пластификации представляют собой два обособленных типа пластификации [21]. Козлов П. В. [22] считает эти типы пластификации крайними, характеризующими строго направленное распределение пластификатора в полимере. Под молекулярной пластификацией подразумевается изменение механических свойств полимеров путем введения в них веществ (главным образом низкомолекулярных), совмещающихся с полимером на молекулярном уровне. Принцип действия таких пластификаторов заключается в том, что благодаря взаимодействию полимера с молекулами пластификатора ослабляются силы взаимодействия макромолекул между собой. Это облегчает возможность взаимной перегруппировки звеньев макромолекул [20, с. 14]. В иностранной литературе механизм пластификации описывается несколькими аналогичными между собой теориями: *lubricity theory*; *gel theory*; *free volume theory*; *mechanistic theory* [23]. Американские и советские

источники сходятся на том, что пластификаторы не являются структурными элементами полимера.

Тюрин С. Т. и сотр., в издании 1965 года в качестве защитных покрытий резервуаров в виноделии рекомендуют облицовку поливинилхлоридом. Данные рекомендации основаны на экспериментальных данных, полученных на заводах и институтах СССР, США, ГДР, Франции [24].

Фталаты в производстве моющих средств. Область применения фталатов не ограничена пластмассами и лакокрасочными изделиями. В технологии производства моющих средств фталаты широко распространены в качестве фиксаторов аромата для различного рода отдушек, входящих в состав бытовых и промышленных детергентов [25-27]. Наибольшее распространение приобрели ДЭФ, и реже ДБФ.

Фталаты в производстве бумаги. Фталаты в производстве бумаги для различных сфер применения, используются весьма активно, идентифицируются в большом количестве образцов, и в большом диапазоне концентраций, что подтверждается многочисленными публикациями [28-31]. Основная функция фталатов в указанной отрасли – смягчение волокон целлюлозы, также фталаты входят в состав адгезивных препаратов. Кроме того, в частности ДЭГФ, ДиБФ и ДБФ применяют в процессе отбеливания бумаги.

Широта областей применения фталатов не ограничена вышеуказанными промышленными и хозяйственными приложениями. Так как не все из них имеют общие точки соприкосновения с винодельческой отраслью, в данной работе они рассматриваться не будут.

1.2 Физико-химические свойства фталатов

Фталаты – группа органических соединений, представляющая собой производные бензол-1,2-дикарбоновой кислоты. На практике получают взаимодействием фталевого ангидрида со спиртами ароматического или алифатического ряда, с общей структурной формулой, изображенной на рисунке 1.1, где – R` и R`` алифатические и ароматические заместители с количеством атомов углерода от 0 (1) до 13. Заместители, в свою очередь, могут быть симметричными и асимметричными.

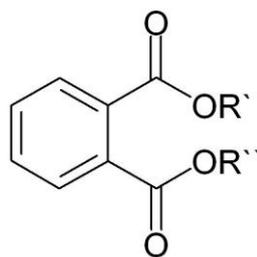


Рис. 1.1. Общая структура молекул эфиров ФК.

Все фталаты - бесцветные, низкополярные, маслянистые жидкости с высокими температурами кипения (таб. 1.1.). Фталаты хорошо растворимы в большинстве органических растворителей, малорастворимы или нерастворимы в воде.

Таблица 1.1. Физико-химические характеристики основных промышленно значимых фталатов

-фталат	CAS №	M _r	T _{пл} , °C	T _{кип} , °C	ρ, г/см ³
диметил	131-11-3	194,18	2	282	1,191
диэтил	84-66-2	222,24	-40,5	295	1,232
дипропил	131-16-8	250,29	--	317,5	1,078
дибутил	84-74-2	278,34	-35	340	1,043
диизобутил	84-69-5	278,34	-37	327	1,039
дициклогексил	84-61-7	330,42	66	330,4	1,383
бензил бутил	85-68-7	312,36	-35	370	1,119
дигексил	84-75-3	334,45	-27,4	350	1,011
бис(2-этилгексил)	117-81-7	390,56	-47	384	0,985
диоктил	117-84-0	390,56	-25	390	0,985
диизононил	28553-12-0	418,61	-50	370	0,972
диизодецил	26761-40-0	446,66	-50	>400	0,966

1.3 Патогенное действие фталатов

Как было отмечено выше, распространение использования фталатсодержащих материалов в хозяйстве и быту, связанное в первую очередь с практическими и экономическими аспектами их производства, влечет за собой сложно контролируемые процессы взаимодействия указанных полимерных материалов с биотой в целом. В связи с чем, оценивать с доверительной точностью объемы фталатов, проникающих в организм человека оказывается все сложнее. Фталаты и их метаболиты обнаруживаются в крови, слюне, моче всех демографических групп населения [32]. Американскими авторами Silva M. J. и сотр. [33], распространение фталатов в США, подтверждается фактами обнаружения их метаболитов в моче более 75% населения. В Германии на примере

детского сада установлено, что моча 100% испытуемых (дети, родители, персонал) содержит метаболиты ДБФ и ББФ. Максимум концентраций обнаружен у детей, примерно в 15 раз, превышающий среднюю концентрацию у взрослых [34]. Тайваньскими медиками Huang Po-Chin et al. [35], в период 2005-2006 годов исследовали 76 беременных женщин. Обнаружены ДБФ, ДЭФ, ДЭГФ, ББФ и ДМФ в 96, 100, 100, 17 и 63% исследованных образцов мочи и сыворотки крови, соответственно. Уровень потребления ДБФ и ДЭГФ в Японии изучали по степени их воздействия на население территории Токио-Йокогама. Метаболиты фталатов обнаружены в 95% образцов мочи. В исследовании приняло участие 36 человек [36].

Принимая во внимание «географию» исследования воздействия фталатов на организм человека, можно заключить, что эта проблема, без малого, носит глобальный характер.

На данный момент общепризнано, что фталаты и их метаболиты оказывают негативное воздействие на различные системы организма млекопитающих, в том числе и человека. По этой теме исследователями получены массивы информации, опубликованные и представленные в американских и европейских отчетах и докладах [1, 2, 14, 37].

Половая дисфункция у самцов некоторых лабораторных животных, подвергнутых систематическому воздействию фталатов, обусловлена снижением уровня тестостерона и, как следствие, приводит к широкому кругу пороков в морфологии половых органов [38, стр. 256], аналогичным механизмом объясняют феминизацию мальчиков. Исследование репродуктивной способности на мышах, упомянутое в отчете ВОЗ [39], указывает на ее полное подавление у обоих полов при регулярном потреблении 0,3% раствора ДЭГФ в количестве 430 мг/кг в.т./сутки.

О высокой канцерогенной активности фталатов говорят многочисленные литературные источники [40-42].

Подробно изучено и представлено негативное воздействие эфиров ФК на все органы эндокринной системы, особый ущерб наносится печени. Исследования заключались в экспериментах на лабораторных животных [43, 44] и в наблюдениях за людьми [45].

Патогенное действие отдельных эфиров о-фталевой кислоты весьма давно и подробно изучено. Анализ фталатов, согласно современным публикациям, в большинстве своем сфокусирован на исследовании лишь некоторых из них: ДЭФ, ДБФ и ДЭГФ. Большинство авторов, изучающих токсикологическое действие фталатов на примере ряда гомологов, сходятся во мнении, что токсическое действие фталатов обратно

пропорционально молекулярной массе эфирного радикала [46]. Справочные данные [18] и ряда других источников подтверждают эту закономерность. В табл. 1.2. представлены значения LD₅₀, полученные на лабораторных крысах (даны в г/кг массы тела) различными группами исследователей. Значения R₁ и R₂ в таблице отражают количество углеродных атомов в алкильном заместителе. Общая тенденция указывает на тот факт, что токсичность фталата обратно пропорциональна количеству атомов углерода в алкильном заместителе.

Таблица 1.2. Значения LD₅₀ (г/кг м.т.) для фталевого ангидрида (о-фталевой кислоты) и фталатов

фталат	LD ₅₀ г/кг м.т.	R ₁ /R ₂	Исследовательские группы и организации					Др.
			[47]	[48]	[49]	[50]	[51]	
Фталевый ангидрид		0/0	1,53	1,53	-	-	1,53	1,1 ^[18]
Монометил-		0/1	-	-	-	-	-	0,98 ^[52]
Диметил-		1/1	8,2	6,8	-	-	6,8	7,8 ^[53] , 6,9 ^[54]
Диэтил-		2/2	8,6	8,6	-	9,2	-	9,5 ^[55]
Монобутил-		0/4	1,0	-	-	-	-	0,98 ^[52]
Диаллил-		3/3	0,66	-	0,66	-	-	-
Моноциклогексил-		0/6	-	-	-	-	-	0,98 ^[52]
Диизобутил-		4/4	15,0	15,0	-	15,0	15,0	20-25 ^[48]
Дибутил-		4/4	8,0	7,5	-	7,5	6,3	-
Дипентил-		5/5	-	-	29,6	-	-	-
Бензилбутил-		4/7	2,33	-	-	-	2,3	13,7 ^[18] , 2,33 ^[56]
Дифенил-		6/6	8,0	-	-	-	8,0	>60,0 ^[18]
Дициклогексил-		6/6	-	-	-	-	30,0	>60,0 ^[18] , 30,0 ^[57]
Диизогептил-		7/7	>10,0	-	-	-	-	-
Диэтилгексил-		8/8	30,0	-	30,0	19,6	-	30-33 ^[18] , 0,98 ^[52]
Ди-н-октил-		8/8	47	-	30,0	-	-	-
Диизооктил-		8/8	-	-	-	22,6	-	-
Диизононил-		9/9	-	-	-	>50,0	-	-
Ди-н-нонил-		9/9	-	-	-	-	-	2,0 ^[49]
Ди-н-децил-		10/10	61,8	-	-	-	>62,0	>63,0 ^[18]
Диизодецил-		10/10	62,0	-	-	62,0	-	-

Гигиенические требования к продуктам питания по фталатам имеются во многих странах и торговых зонах. Однако для каждого отдельного гомолога нормативы (если вообще существуют) редко совпадают в различных системах сертификаций:

- европейская директива 2007/19/ЕС [3] не упоминает (не ограничивает) допустимое содержание ДМФ и ДЭФ. Ряд других гомологов ограничен лишь в контексте жиросодержащей пищевой продукции;

- в документе ГН 2.1.5.2280-07 [4], заявленные ПДК на ДЭФ, ДБФ и ДЭГФ находятся в обратной закономерности, и имеют значения концентраций – 3.0, 0.2 и 0.008 мг/кг(дм³) соответственно;

- европейской директивой 2008/105/СЕ [58] от 16/ХП/2008 установлено ПДК ДЭГФ для воды на уровне 0,0013мг/дм³;

- документ, действующий на территории США, [59] также не имеет указаний по ограничению допустимого содержания ДМФ и ДЭФ в пищевой продукции.

1.4 Метаболизм, биodeградация и абиотическая деградация эфиров о-фталевой кислоты

Исследователями институтов Атланты и Исследовательского Треугольника Северной Каролины [60], высказано мнение, что, несмотря на липофильную природу молекул фталатов, эти вещества не имеют тенденции к биоаккумуляции в жировой ткани организмов по причине их быстрого метаболизма в соответствующие моноэфиры. Процесс метаболизации фталатов, по литературным источникам, может проходить по различным механизмам, в зависимости от среды, условий и метаболизирующих агентов.

Исследования биodeградации ДЭФ в почве [61], выявили два основных механизма деградации указанного фталата. Оба механизма в свою заключающую стадию включают образование фталевой кислоты (рис. 1.2). Процесс деструкции фталатов был возможен лишь в нестерильной почве, т.е. при участии микрофлоры. По одному из механизмов молекула ДЭФ подвергалась деметилированию с образованием последовательно этилметилфталата, диметилфталата, монометилфталата и в итоге фталевой кислоты, предположительно по механизму трансэтерификации. По другому механизму фталевая кислота образовывалась посредством гидролиза и образования моноэтилфталата в первой стадии, и фталевой кислоты в конечной.

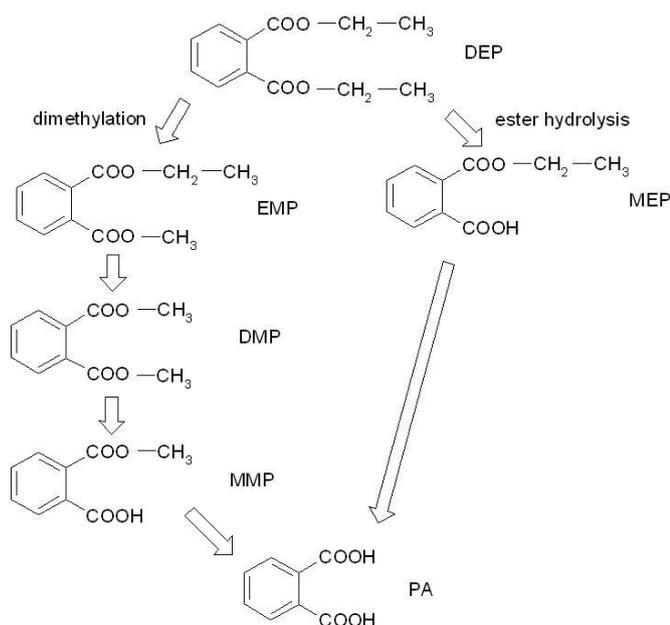


Рис. 1.2. Биодеградация DEP микробиологическими культурами в почве

В работе 1986г. Albro P.W. [62] подробно описаны возможные метаболиты ДЭГФ, подвергнутого воздействию пищеварительных ферментов лабораторных крыс и мышей. Согласно данной информации 98% ДЭГФ гидролизуется в моно-этилгексил фталат (МЭГФ). В дальнейшем углеводородный радикал ДЭГФ и МЭГФ подвергается окислению с образованием более двадцати различных метаболитов фталата, в основном гидрокси-, карбокси-, и оксо-монофталаты (рис.1.3). Аналогичные данные получены в 2003 Pietrogrande M. С. и сотрудниками [63].

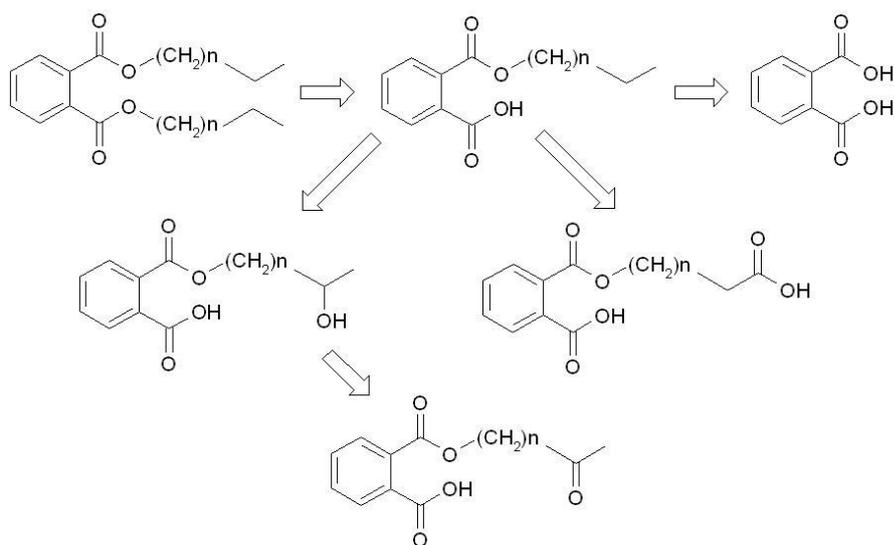


Рис.1.3. Характерные пути энзиматической деградации ДЭГФ

В результате исследований метаболизации ДЭГФ, проведенных на добровольцах [64, 65], по анализу мочи и слюны установлено, что по прошествии 24 часов основными метаболитами являются 5 веществ: моно(2-этилгексил)фталат, моно(2-этил-5-гидроксигексил)фталат, моно(2-этил-5-оксогексил)фталат, моно(2-этил-5-карбоксипентил)фталат и моно[(2-карбоксиметил)гексил]фталат. Указанные метаболиты составляли 65-70% от исходной, принятой дозы ДЭГФ. Результаты по биodeградации ДЭГФ, полученные в экспериментах на добровольцах, хорошо сопоставимы с данными, полученными на крысах и мартышках.

Аэробная деградация ДМФ микроорганизмами активного ила исследована китайскими токсикологами [66], на примере двух консорциумов микроорганизмов: один - *Pseudomonas fluorescens*, *P. aureofaciens* и *Sphingomonas paucimobilis*, другой - *Xanthomonas maltophilia* и *S. Paucimobilis*. ДМФ в этих условиях был полностью деструктурирован (400мг/дм³) за 48-96 часов по механизму, представленному на схеме рисунка 1.4.

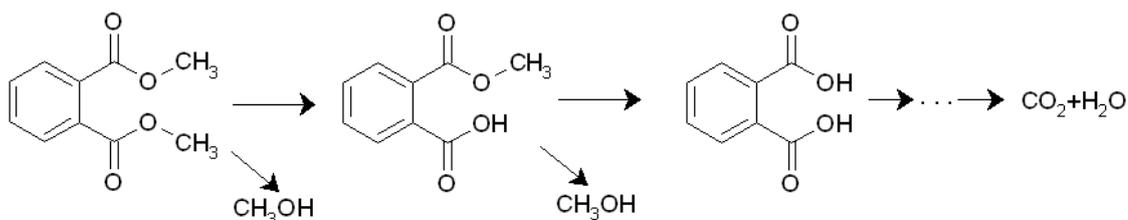


Рис.1.4. Предложенный путь аэробной деградации ДМФ консорциумами микроорганизмов

Немецкими исследователями в работе 1976г. [67], подробно описан метаболизм о-фталевой кислоты некоторыми грамположительными и грамотрицательными почвенными бактериями.

В разрез мнению выше упомянутых авторов, Institute for Health and Consumer Protection of European Chemicals Bureau, указывает в European Union Risk Assessment Report [68, стр. 55.] на факты накопления фталатов в организме. Кроме того, тот же европейский институт в отчете [69] со ссылкой на работы Mehrle P. M. [70] и Mayer F L. [71] сообщает о результатах исследования биоаккумуляции ДЭГФ на некоторых видах рыб: спустя 56 дней в подопытных организмах сумма концентраций ДЭГФ и его метаболита МЭГФ составляла 84-94% от первоначальной.

Процесс абиотической деградации может быть реализован посредством различных механизмов, таких как гидролиз и фотолиз (таб. 1.3).

Таблица 1.3. Полупериод абиотической деградации ряда фталатов в средах.

Фталат	Полупериод деградации		
	гидролиз (рН=7.2),	фотолиз атм., дней	фотолиз в воде, дней
ДМФ	3,2	9,3-93	-
ДЭФ	8,8	1,8-18	152-4380
ДБФ	22	0,6-6	152-4380
ББФ	<0,3	0,5-5	-
ДЭГФ	2000	0,2-2	44-548
ДОФ	107	0,3-3	-

Гидролиз молекул фталатов в нейтральных рН-средах не существенен, но может быть значительно ускорен в присутствии кислот или оснований [72].

Фотолиз в атмосфере воздуха представляет собой наиболее эффективный путь деградации фталатов, протекающий под действием свободных радикалов, инициированных УФ радиацией $\lambda = 290\text{--}400$ нм [73]. В водных средах фотолиз протекает посредством окисления ион-радикалами (например, супероксид)[74].

Несмотря на известные выше перечисленные факты о токсичности и тенденции молекул фталатов к укорачиванию цепи алкильных радикалов, предложения о необходимости определять содержание всех фталатов, и установить единую ПДК на них и их метаболиты или их сумму встречаются крайне редко.

1.5. Миграция вредных веществ

Интерес к изучению кинетики миграции фталатов различных исследовательских институтов, обусловлен двумя факторами: широта применения фталатсодержащих материалов и высокая лабильность в них молекул фталата.

Скорость миграции пластификатора из полимера зависит от целого ряда физических факторов. В процессе изучения диффузии данные факторы могут быть контролируемы, такие как: температура, давление, влажность, природа и объем растворителя; и неконтролируемы: состав полимера, природа и содержание пластификатора, плотность распределения пластификатора в полимере, вероятное наличие взаимодействия анализируемого компонента с другими добавками.

В большинстве практических случаев диффузию можно описать уравнениями, выражающими первый (1.1.) и второй (1.2.) законы Фика [75].

$$J = -D \frac{dc}{dx} \quad (1.1)$$

где: J – поток диффузии

D – коэффициент диффузии
с – концентрация диффузанта
х – глубина проникновения

Поток диффузанта пропорционален градиенту его концентрации и коэффициенту диффузии. Движущей силой диффузии является градиент концентраций (разница концентраций диффузанта в растворителе и в твердом материале). А также, поток диффузии J определяется природой полимера и глубиной локализации в нем диффузанта. Эти критерии, как и температура, выражаются численным значением коэффициента диффузии D.

Чаще всего градиент концентрации не является величиной постоянной (как это отражено в первом законе Фика). Изменения, протекающие во времени учитываются во втором законе:

$$\frac{dc}{dt} = -D \frac{d^2c}{dx^2}. \quad (1.2)$$

Но и данное уравнение может быть применено лишь в некотором приближении по причине протекания ряда явлений, которые сложно или невозможно учесть – набухание, стеклование и пр.

Зависимость величины коэффициента диффузии от количества атомов углерода в алкильном радикале практически была установлена и описана группой Storey R. F. [76]. Графическое выражение этой зависимости представлено на рисунке 1.5.

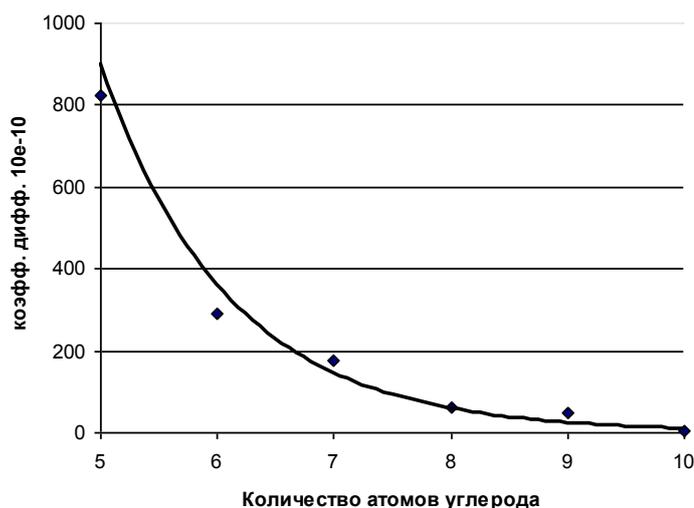


Рис.1.5. Коэффициент диффузии в гомологическом ряду ДАФ

Подавляющее большинство исследовательских работ, посвященных миграции фталатов, проведены на образцах пластифицированного ПВХ. В качестве растворителей рассматривали липофильные сольвенты: ацетонитрил, дихлорметан [77, 78], но в большинстве случаев миграция изучалась на модельных растворах, как требует директива 2007/19/ЕС [3, L 91/21], или на реальных образцах [79].

1.6 Определение содержания фталатов в различных средах

Выбор метода определения содержания фталатов и техники выполнения пробоподготовки определяется техническими возможностями лаборатории, природой анализируемого образца, экологической и экономической рентабельностью.

1.6.1 Подготовка проб к анализу

При работе со сложными по своему составу образцами особое значение приобретает пробоподготовка – необходимый этап, предшествующий аналитическому определению загрязняющих веществ [80]. Базовая задача пробоподготовки — подготовка вещества, материалов, объектов исследования для определенного вида анализа, повышение точности получаемых результатов, расширение исследуемого диапазона значений, повышение безопасности исследования, сокращение времени тестирования, улучшение воспроизводимости и снижение погрешности результатов.

Жидкостная экстракция. В основе пробоподготовки образцов для определения фталатов в жидких средах лежит процесс экстрагирования, призванный максимально отделить от мешающих компонентов системы и сконцентрировать аналит.

На практике, анализируемые образцы даже с простой по составу матрицей в большинстве случаев подвергают пробоподготовке. По методическим указаниям 4.1.738-99 [81] экстракция фталатов из воды проводится посредством диэтилового эфира; согласно ГОСТу 51209-98 [82], анализу в воде других ксенобиотиков - хлорорганических пестицидов, предшествует пробоподготовка, включающая в себя экстракцию н-гексаном.

Выбор экстрагента определяется природой исследуемого образца. Жидкие образцы (в подавляющем большинстве водные), будучи *a priori* гомогенными, экстрагируются гидрофобными органическими растворителями: гексан, дихлорметан, трихлорметан, изооктан и пр. В случае твердых образцов список потенциальных экстрагентов дополняется метанолом, ацетонитрилом, ацетоном, а так же их комбинациями.

Повышение эффективности и скорости процесса экстрагирования может быть достигнуто использованием вспомогательных устройств таких как: лабораторный шейкер

для автоматизации и ускорения процесса; экстрактор Soxhlet позволяет проводить экстрагирование при нагревании при атмосферном давлении; система микроволнового экстрагирования, позволяющая повысить рабочую температуру в 2,5-3,5 раза выше температуры кипения экстрагента [83], что помогает решить проблему использования ограниченного объема растворителя и эффективней извлекать аналит из твердого образца, например почвы или ила [84, 85].

В продолжение темы о жидкостной экстракции следует упомянуть недавно разработанные методы жидкостной микроэкстракции – liquid-phase microextraction (LPME). LPME это модификация жидкостной экстракции, в которой количество растворителя минимизировано. Для концентрирования аналита из пробы требуется всего несколько мкл растворителя, в то время как в классической жидкостной экстракции требуется сотни миллилитров. Этот метод находит применение в ГХ, КЭ и ВЭЖХ.

В методе LPME экстракция происходит из водного раствора пробы содержащей аналит в небольшое количество несмешивающегося с водой растворителя. Данный метод можно разделить на три основных категории:

- Микроэкстракция методом одной капли - single-drop microextraction;
- Дисперсионная жидкостная микроэкстракция - dispersive liquid-liquid microextraction (DLLME);
- Мембранная микроэкстракция – hollow fiber microextraction;

Микроэкстракция методом одной капли так же может быть исполнена в двух альтернативных вариантах:

- микроэкстракция методом прямого погружения - direct immersion;
- микроэкстракция из газо-паровой фазы – headspace;

В случае твердых образцов помимо экстрагирования необходима гомогенизация, или обратный процесс, имитирующий реальные условия. Например, гомогенная, жидкая фаза (лак, краска, грунтовка) наносится на поверхность, согласно техническим требованиям производителя, и лишь затем проводится процесс химического извлечения аналита.

Ультразвуковая экстракция. За последние двадцать лет широкое применение в аналитической химии приобрело оборудование для ультразвуковой экстракции с целью извлечения химических веществ из биологического материала. Принцип такой экстракции заключен в образовании кавитационных пузырьков в объеме образца. Схлопывание пузырьков сопровождается мгновенным, точечным выделением энергии, эквивалентной нескольким тысячам градусов и давлению свыше одной тысячи атмосфер. Выше описанная кавитация обуславливает разрушение клеточных мембран и высвобождение

аналита [86]. В колебательное движение, инициированное источником, вовлекаются не только молекулы и объемы жидкости, через которую проходит волна, но и частицы вещества, находящиеся в ней в различном физико-химическом состоянии. Все они испытывают постоянное давление в сторону от излучателя. Таким образом, компоненты систем типа жидкость - твердое тело (а также жидкость - жидкость) не только колеблются около положения равновесия, но и смещаются в одну сторону («звуковой ветер»). При этом появляются сильные турбулентные течения, гидродинамические микропотоки, способствующие переносу масс [87]. Процесс извлечения пластификатора из полимера аналогичен вышеописанному.

Твердофазная экстракция. Для экстрагирования аналита из жидкого исследуемого образца, а так же извлечения анализируемого компонента из предварительно полученного экстракта, часто применяются методы твердофазной экстракции (ТФЭ). Метод основан на распределении целевого компонента между подвижной и неподвижной фазами в результате сорбционных и/или ионообменных процессов, протекающих в специальной колонке (картридже) для ТФЭ. Указанная процедура позволяет достичь высокой точности при анализе, вследствие концентрирования аналита и удаления мешающих компонентов; сократить время пробоподготовки; если требуется, перевести компоненты пробы на другую матрицу.

При анализе фталатов в пищевой продукции сорбентами могут служить полимеры различной природы. В работе китайских аналитиков [88] для очистки пробы от примесей применялся сорбент на базе полимера с ионогенной группой – $(\text{CH}_2\text{NR}_3)^+$.

Доверительный интервал воспроизводимости результатов анализа (от 13% до 21% RSD) был достигнут в исследовании фталатов в вине методом ГХМС с предварительной пробоподготовкой на фазе C18 [89].

В разработке техники анализа ряда веществ, инициирующих эндокринные нарушения, таких как: пестициды, фенолы и фталаты, в качестве материала для ТФЭ исследован сополимер ПС-ДВБ с частицами 20 μm и порами 1 μm [90]. В результате исследований, описанных норвежцами [91], фаза ПС-ДВБ отмечена как эффективная для предварительного концентрирования фталатов при их количественном определении в воде.

На примере 5-ти фталатов рассмотрена сорбционная активность политетрафторэтилена (ПТФЭ). Высокая эффективность ПТФЭ при извлечении и концентрировании фталатов из водной среды объясняется китайскими авторами [92] низким сродством ПТФЭ к воде и большим к гидрофобным органическим молекулам.

Ya-Qi Cai и сотр. [93] в качестве сорбента для ТФЭ изучен продукт современных исследований в области нанотехнологий. Картридж для ТФЭ был заполнен многостенными нанотрубками (multi-walled carbon nanotubes) со средним внешним диаметром 30-60 нм. Описанный материал произведен Tsinghua-Nafine Nano-Powder Commercialization Engineering Center, Chemical Engineering Department of Tsinghua University, Beijing, China. На основании исследований сорбционной способности и воспроизводимости результатов при анализе ряда фталатов авторами сделан вывод о существенно более высокой эффективности многостенных нанотрубок по сравнению со стандартными торговыми сорбентами, такими как полимеры на основе ПС-ДВБ, С18 и С8. Объяснение высокой сорбирующей способности нанотрубок авторы основывают на сильном взаимодействии гексагональных циклов графеновых решеток с бензольными циклами фталатов.

В продолжение работы с нанотрубками [93], для аналогичной задачи были исследованы нанотрубки на основе соединений титана, с покрытием поверхностно-активного вещества - гексадецилтриметиламмония бромид. Данная методика изучена и успешно применена на нескольких реальных образцах [94].

Примером внедрения нанотехнологий в процедуру извлечения фталатов из водной фазы методом ТФЭ является применение фильтра с нановолокнами капрона, полученными методом электроспиннинга [95] вместо картриджа. Сравнительный анализ стандартного сорбента для ТФЭ – С18 и нановолокон капрона не выявили существенных различий в точности конечных данных исследований, за исключением более низкого значения LOD и меньшего потребления органических растворителей в случае пробоподготовки с использованием нановолокон.

Частным случаем ТФЭ является твердофазная микроэкстракция (ТФМЭ). Метод основан на сорбции компонентов на нить с полимерным покрытием и ее последующей термической десорбции в предварительно нагретом инжекторе газового хроматографа. ТФМЭ не требует использования реагентов и сочетает в себе стадии экстракции, концентрирования и очистки, что позволяет существенно сократить время анализа и свести к минимуму воздействия реагентов на анализируемый компонент.

При разработке процедуры анализа фталатов (2000 год) в воде с применением техники ТФМЭ при выборе сорбента для эффективной пробоподготовки испанские исследователи во главе с Peñalver [96] остановились на ПА (диаметр-85µм). Выбор был объяснен хорошими результатами, полученными ранее с использованием указанной выше природы волокна. Время абсорбции аналита, выбранное в результате испытаний, как достаточное, составляет 90 минут. В 2001 году та же исследовательская группа Peñalver

[97] пришла к выводу, что волокна ДВБ более практичны и эффективны для проведения данной аналитической работы.

В работе исследователей во главе с Xu-Liang Cao [98] приведены данные, указывающие на сравнительно неплохую активность ДМПС в отношении «тяжелых» фталатов и низкую эффективность по отношению к ДМФ и ДЭФ в воде, что плохо согласуется с данными работы группы Peñalver [97, с.379], подчеркивающими неэффективность ДМПС, так как это волокно рекомендовано для работы с газообразными веществами (<5 атомов углерода).

Сравнительные характеристики шести типов волокон с различными полимерными покрытиями на основе ПА, ДМПС и ДВБ были исследованы на семи фталатах ДМФ, ДЭФ, ДБФ, ББФ, ДЭГФ, ДОФ и ДНФ [99]. Согласно сделанным выводам, для анализа могут быть применены любые из исследованных волокон, но наиболее эффективными являются ДВБ-содержащие полимеры. Фактически, для получения максимально достоверных данных при анализе указанного списка фталатов необходимо использовать четыре разных волокна. Продолжительность экстрагирования фталатов из воды в 40 минут были установлены авторами, как оптимальные, но в некоторых случаях равновесие достигалось спустя 60, 90 минут, а в случае карбовакс–ДВБ, равновесие не было достигнуто даже спустя 140 минут.

В работе другой испанской исследовательской группы J.D. Carrillo [100] подробно рассмотрены закономерности, определяющие выбор природы полимера волокна для наиболее эффективного исследования содержания эфиров фталевой кислоты в вине методом ТФМЭ. Установлено, что наибольшим сродством к фталатам из исследованных волокон, обладают карбовакс–ДВБ и ДМПС-ДВБ. Повторяемости результатов, полученных на обоих типах волокон, близки по значениям, но первый полимер более эффективно сорбирует низкомолекулярные фталаты, второй большую активность проявил к высокомолекулярным фталатам. ПА выбыл из списка эффективных сорбентов для исследования фталатов, несмотря на хорошие показатели, определяющие процессы сорбции-десорбции, по причине низкой линейности градуировочных кривых и повторяемости получаемых данных.

1.6.2 Анализ фталатов

Разнообразие аналитических подходов к исследованию содержания фталатов в различных средах, как правило ограничивается хроматографическими методами [101].

Газовая хроматография (ГХ). Согласно отчету Объединенного Исследовательского Центра (JRS) 2009 года [101, с.28-29], из девятнадцати европейских лабораторий, специализирующихся на анализе безопасности пищевой продукции, для количественного определения фталатов восемнадцать как принцип используют газовую хроматографию. В большинстве описанных случаев выбор природы неподвижной жидкой фазы делается в пользу универсальной, пригодной для широкого ряда загрязнителей, слабополярной фазой – 5% дифенил 95% диметилполисилоксан. Кроме того, так же используют более полярные арилен-модифицированные диметилполисилоксановые VF-Xms [102], 50% дифенил – 50% диметилполисилоксан DB-17HT [103], а в редких случаях встречается и весь прочий диапазон неподвижных жидких фаз: от сильно полярных – полиэтиленгликоль CP-WAX 52 CB [100, с. 250], до вовсе неполярных HP-1 [101, с.28].

При анализе фталатов детектирование полученных сигналов в ГХ осуществляется в основном методом масс-спектрометрии. Данный детектор хорошо зарекомендовал себя при качественном и количественном обнаружении большинства известных веществ, а при условии компьютерной обработки аналитических данных метод сочетает в себе помимо высокой эффективности – экспрессность и простоту в использовании.

Другим принципом, применяемым с той же целью, является электронно-захватное детектирование (ЭЗД). По данным (JRS) [101, с.28-29] пять лабораторий из девятнадцати используют ЭЗД при анализе фталатов в образцах пищевой продукции, а также при экологическом мониторинге воды [104] и почвы [105].

Пламенно-ионизационный детектор, несмотря на его универсальность и широкий линейный динамический диапазон (10^7), не является селективным. Но дешевизна, доступность и простота использования пламенно-ионизационного детектора позволяет ему закрепиться в списке детекторов, пригодных для выше указанной задачи [106, 107].

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Важнейшее преимущество ВЭЖХ по сравнению с газовой хроматографией — возможность исследования практически любых объектов без каких-либо ограничений по их физико-химическим свойствам, например по температурам кипения или молекулярной массе. Несмотря на то, что фталаты, как химические вещества, не имеют ограничений по физико-химическим характеристикам для их оценки методом газовой хроматографии, жидкостная хроматография часто находит применение в данном аспекте. Применение ВЭЖХ, в особенности со сложными и дорогостоящими детекторами, для анализа фталатов можно объяснить конъюнктурными, а не аппликативными факторами. В научной литературе встречаются работы, описывающие методы исследований с применением жидкостных хроматографов с УФ- [108]; диодно-матричным- [93, 109]; масс-спектрометрическим-

[110] и tandemным масс-спектрометрическим [111] –детектированием, вплоть до ЯМР-спектроскопии [112, 113]. Большой расход дорогостоящих и токсичных растворителей, таких как метанол, уксусная кислота, ацетонитрил и пр., не способствуют выбору в пользу данного метода.

Тонкослойная хроматография (ТСХ) и по сей день находит применение в качестве простого и экспрессного способа разделения и идентификации смесей органических веществ во многих лабораториях, будучи простой в исполнении и недорогой техникой, не требующей наличия сложного технического оснащения. Метод ТСХ на пластинке с силикагелем рекомендован Друговым и Родиным в монографии для анализа фталатов в воздухе рабочей зоны [80], используя метилхлорид в качестве подвижной фазы.

Тонкослойная хроматография, совмещенная с ИК-спектрометрией с Фурье преобразованием, применяется в качестве быстрой и удобной техники разделения, детектирования и идентифицирования добавок в полимерах, в том числе и фталатов [114].

Помимо этого существуют технологии анализа фталатов в полимерах, основанные лишь на ИК-спектрометрии с Фурье преобразованием [115]. Данная технология является компромиссом между низкими временными затратами, простотой исполнения и достоверностью получаемых данных, - предел обнаружения данной методикой с заданной степенью достоверности составляет примерно 1000 ppm.

Более продвинутой формой ТСХ является инструментальный метод высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ). ВЭТСХ - это целая концепция, включающая в себя широкий набор стандартизированных технологий, обеспечивающих надежность и воспроизводимость аналитических данных в максимально возможной степени. Но, согласно данным Heinz E. Nauck и сотр. [116], наиболее эффективным, в том числе и для анализа фталатов, является тонкослойная хроматография на ультратонких пластинах.

В 2011 году китайскими авторами [117] был предложен метод визуальной идентификации фталатов в воде. Согласно представленным данным, это - простой и надежный колориметрический метод определения фталатов, разработан с использованием уридин 5-трифосфата - модифицированным наночастицами золота в качестве индикатора цвета и Cu^{2+} в качестве сшивающего агента. Метод демонстрирует высокую чувствительность с пределом обнаружения фталатов около 0,5 ppm.

1.7 Исследование явлений сорбции фталатов

Биосорбция фталатов. Взаимодействие любых биологических систем с ксенобиотиками предполагает их предварительную сорбцию. В большинстве случаев биосорбция не является финальной стадией процесса взаимодействия организмов со сложными органическими молекулами. Взаимодействие органических загрязнителей с микроорганизмами детально изучено на примере пестицидов, как отечественными [118], так и зарубежными исследователями [119]. Предполагаемые механизмы биодegradации молекул фталатов микроорганизмами, рассмотрены в п.1.3. Более того, сорбция и последующая деградация эфиров *o*-фталевой кислоты подразумевается, согласно выше упомянутым литературным источникам, и в более сложных организмах, таких как млекопитающие [60].

Группа испанских авторов во главе с José D. Méndez-Díaz [120] отметила существенное увеличение сорбционной емкости активированного угля, по отношению к фталевой кислоте, в присутствии в исследуемой водной среде микроорганизмов (бактерий).

Биосорбция ДЭГФ на примере бурой водоросли *Sargassum siliquastru*, стала предметом исследования сотрудников университетов Китая и Гонконга [121]. Согласно полученным экспериментальным данным, сорбционная емкость составила 5,68 мг/г биоматериала.

Абиотическая сорбция фталатов. Сорбционная активность активированного угля была исследована на примере ДЭФ в водной среде [122]. Площадь поверхности исследованного сорбента – 500 м²/г, размер пор – 70 мкм. Условия протекания процесса сорбции: $t=30^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=7.0$, время контакта раствора фталата с углем составило 200 минут при перемешивании с частотой 100 оборотов в минуту (горизонтальный шейкер). Кроме того, была рассмотрена зависимость сорбционной емкости активированного угля от величины pH (исследованный интервал $\text{pH} = 2-10,5$). Максимальная сорбция отмечена при $\text{pH}=2$ и снижается при увеличении щелочности. Значения pH в эксперименте формировали растворами HCl ($C=0,1\text{M}$) и NaOH ($C=0,1\text{M}$).

Еще одним сорбентом, активно применяемым в процессе стабилизации вин против белковых помутнений, является бентонит, основной компонент которого минерал монтмориллонит - $\text{Al}_2[\text{Si}_4\text{O}_{10}](\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O} \geq 70\%$, а также $\text{Fe}_2\text{O}_3 \approx 5,2\%$, $\text{K}_2\text{O} \approx 0.92$, $\text{Na}_2\text{O} \approx 1,92$, $\text{MgO} \approx 3,03$, $\text{CaO} \approx 5,49$ (в зависимости от месторождения).

Группа минералов оксидов и гидроксидов Fe, Al, Si представлена в почвах разнообразным набором индивидуальных минералов, среди которых наиболее широкое распространение имеет кварц – SiO_2 . Минералы оксидов и гидроксидов Fe, Al, Si –

источники переменного заряда (зависимого от pH). В условиях кислой среды поверхность оксидов и гидроксидов протонированна и имеет положительный заряд, в условиях щелочной среды гидроксильные группы депротонированы, и поверхность приобретает отрицательный заряд. [123].

Комплексообразование бензил карбоксилатов на поверхности минерала гетита (α -FeOOH) исследовано и описано сотрудниками университета Умео (Швеция) [124]. Активными поверхностными группами минерала гетита являются: $\equiv\text{FeOH}^{0,5-}$, $\equiv\text{Fe}_2\text{OH}^{0,0}$, $\equiv\text{Fe}_3\text{O}^{0,5-}$, $\equiv\text{Fe}_3\text{OH}^{0,5+}$. Расстояние между двумя соседними активными группами гетита соизмеримо с расстоянием между двумя карбоксильными группами сорбата (41,2 нм), исходя из чего, взаимодействовать с поверхностью, сформированной из оксидов и гидроксидов железа посредством реакций комплексообразования, способны лишь молекулы с *орто*-позиционированными карбоксильными группами.

К выводу об аналогичном механизме взаимодействия *о*-фталатов с оксидами и гидроксидами металла на поверхности минерала пришли авторы университета Умео [125], исследовавшие адсорбцию фталата на границе раздела фаз вода/бёмит (γ -AlOOH).

Многочисленными экспериментальными исследованиями на примере почв показано, что емкость поглощения минералов зависит от содержания в них органического вещества и от содержания и минералогического состава илистой фракции. Хорошо известно, что из почвенных компонентов самыми высокими значениями емкости поглощения обладают гумусовые вещества, но на их сорбционные свойства большое влияние оказывают условия среды: эта величина возрастает от 40-120 ммоль · экв/100 г при pH = 2,5 до 150-370 ммоль · экв/100 г при pH = 8. В целом емкость поглощения органических веществ в несколько раз выше, чем минеральных компонентов, поэтому в почвах, богатых гумусом, именно органическое вещество определяет величину емкости поглощения. Только в кислых почвах, насыщенных алюминием, эта закономерность может нарушаться, т.к. алюминий дает с органическим веществом прочные комплексы, из которых он далеко не полностью вытесняется ионом Ba^{2+} при обработке образца раствором BaCl_2 (при определении стандартной и других видов емкость поглощения почв в качестве катиона-вытеснителя используют Ba^{2+} , обрабатывая почву раствором BaCl_2 , забуференным до pH=6,5).

В целом емкость поглощения глинистых минералов ниже, чем емкость поглощения органических веществ и варьирует в довольно широких пределах: наиболее высокие значения свойственны минералам группы вермикулита и монтмориллонита – соответственно 120-180 и 80-120 ммоль · экв/100 г, самые низкие значения присущи каолиниту – единицы моль · экв/100 г минерала [123].

Среди присутствующих в почвах органических соединений выделяют неспецифические органические соединения и специфические гуминовые вещества. И те, и другие содержат разнообразные функциональные группы разной кислотной силы и поэтому обеспечивают, наряду с другими компонентами, полифункциональность твердой фазы почвы и почвенного раствора. В группу неспецифических органических соединений входят хорошо известные в биохимии вещества, поступающие в почву с разлагающимися растительными и животными остатками, и являющиеся преимущественно продуктами функционирования почвенной микробиоты и корневых систем растений. Неспецифические органические вещества представлены широким спектром различных соединений, среди которых в качестве преобладающих компонентов можно назвать лигнин, полисахариды, моносахариды, алифатические и ароматические кислоты и аминокислоты.

Результаты исследований процессов адсорбции и абсорбции фталатов (на примере ДЭФ) гуминовыми кислотами описаны в работе молекулярного моделирования сорбционных процессов [126]. Получены данные об энергиях сорбции при последовательном увеличении молекул фталата в гуминовом комплексе. Установлено, что при низком содержании фталата комплекс формируется посредством абсорбции (заполнение внутренних полостей), при увеличении соотношения фталат/гуминовая кислота адсорбция протекает преимущественно на поверхности макромолекул. Сорбция в рассмотренных системах осуществляется посредством сил Ван-дер-Ваальса и электростатического взаимодействия.

С целью прогнозирования поведения фталатов в окружающей среде были рассчитаны коэффициенты распределения для систем: октанол/вода, октанол/воздух и воздух/вода [127]. Были подвергнуты исследованию более двадцати наименований фталатов с различными спиртовыми заместителями. Интервал молекулярных масс, на базе которого были сделаны заключения, составил: от 194,2 г моль⁻¹ у ДМФ, до 530,8 г моль⁻¹ у дитридецилфталата (ДТДФ). Логарифмы констант распределения для указанного интервала составили $\lg K_{OW} = 1,61 \div 12,06$, $\lg K_{OA} = 7,01 \div 13,01$, $\lg K_{AW} = -5,40 \div -0,95$, для ДМФ и ДТДФ соответственно. Так как данные по значениям констант распределения отличаются на протяжении всей указанной серии в диапазоне десяти порядков, авторы предполагают существенные отличия в поведении гомологов в окружающей среде. Низкая растворимость в воде, вероятно, способствует возникновению тенденции к сорбции на органических веществах и биологических объектах. Помимо этого, большое значение K_{OA} указывает на то, что в воздушной среде фталаты сорбируются на частицах аэрозоли, что способствует их ускоренному попаданию в почву.

1.8 Заключение и постановка задач исследования

1. Результаты проведенного анализа литературы показали, что к 2010-у году на территории Республики Молдова, стран СНГ и Европы отсутствовала официальная процедура анализа фталатов в винодельческой продукции. Данные по миграции фталатов, в большинстве своем, ограничены матрицами пищевых продуктов, тогда как спиртосодержащим средам не уделено должного внимания.

2. Разработка специфической процедуры анализа фталатов в продуктах винодельческой промышленности, её апробация и внедрение позволят наиболее надежно оценивать уровень контаминирования, и, как следствие, безопасность продуктов на основе водно-спиртовых растворов.

3. Изучение миграции фталатов в спиртосодержащие среды позволит давать более достоверные прогнозы о вероятности контаминирования продукта, а также оценивать степень пригодности полимерных материалов для конкретных процессов производства, учитывая их физико-химические и временные аспекты.

4. Исследование динамики фталатов в спиртосодержащих средах под действием физических, физико-химических и биологических факторов, позволит лучше понять процессы контаминирования / деконтаминирования, имеющие место в процессе производства, и по возможности принятие мер, направленных на снижение уровня загрязнения конечного продукта методами и подходами наиболее характерными для классического виноделия.

5. При отсутствии единого мнения по предельно допустимому содержанию фталатов в алкогольной продукции и, более того, присутствии тенденции к деградации фталатов с образованием более токсичных метаболитов имеет практический смысл разработка общих принципов анализа и оценки степени загрязнения фталатами систем на базе водно-спиртовых растворов со сложной органической и минеральной матрицей.

6. Имеется необходимость в разработке подробных практических рекомендаций для промышленного сектора винодельческой отрасли с целью устранения вероятности возникновения загрязнений эфирами ФК продуктов виноделия в дальнейшем.

2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДИКИ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Объекты исследований

Объектами исследований явились образцы натурального происхождения, такие как, ягоды винограда и продукты их переработки, вода, и синтетического – пластики, резины, лаки, краски, грунтовки и пр. Все материалы, подвергнутые изучению, имеют прямое или косвенное отношение к предмету винодельческой промышленности и к процессам, лежащим в её основе.

В качестве первичного потенциального источника контаминирования конечного продукта винодельческой отрасли были изучены образцы сырьевой базы технического и столового винограда из Страшенского, Чимишлийского, Яловенского, Каларашского, Кагульского, Каушанского, Кантемирского и Штефан-Водского районов.

Образцы природной (артезианской) и умягченной воды, применяемой в процессах производства, так же оценивались на предмет фталатного загрязнения. Отбор производился на предприятиях Страшенского, Каушанского, Кантемирского, Тараклийского, Оргеевского, Яловенского, Новоаненского районов.

С 2010 года в испытательную лабораторию Национального Центра Испытания Качества Алкогольной Продукции поступали образцы вина и виноматериалов; дивинов, бренди и винных дистиллятов; концентрированных деионизированных и сульфитированных мустов для определения содержания фталатов. Степень контаминирования также оценивалась для водок, сортировок и спирта этилового ректифицированного. Предприятия, предоставившие образцы промежуточного и конечного продукта, охватывают всю южную и центральную часть Молдовы (86 заводов).

Помимо реальных образцов экспериментальная часть исследовательской работы проводилась с использованием модельных растворов. Базовая матрица крепких алкогольных напитков моделировалась водно-этанольным раствором концентрацией 50 об.% спирта (далее М-50). Основа матрицы вина имитировалась водно-этанольным раствором (15 об.% спирта) с кислотностью, соответствующей среднему значению в натуральном виноградном вине $pH=3,0$ (далее М-15). Указанная кислотность достигалась с помощью винной кислоты 5 г/л, с последующей коррекцией 0,1 М раствором NaOH и контролем значения pH на стационарном pH-метре Hanna pH-211.

Миграция эфиров ФК в контактные среды из полимерных материалов, применяемых для хранения и транспортировки спиртосодержащей продукции, была исследована на образцах лаков, красок, грунтовок, резиновых уплотнителей, упаковок

“bag in box”, пластиковых труб и шлангов. Исследованный материал, поступивший от шести винодельческих предприятий, произведен на территориях Китая, Украины, России.

Материалы, применяемые в переработке вин/виноматериалов, дивинов/винных дистиллятов на различных этапах их производства, были оценены как потенциальные источники фталатного загрязнения:

- фильтр-картон: 3 марки, производство – Германия; 1 марка производство – Россия (предиспытательная подготовка образцов проводилась по соответствующей технической инструкции [128]);
- перлит: 2 наименования (Франция);
- бентонит: 2 марки (Франция), 1 марка (Украина);
- желатин: производство – Германия;
- кизельгур: 3 марки (Германия);
- активатор брожения: (Италия);
- питательная смесь (подкорм для дрожжей): (Италия).

Исследованию степени миграции фталатов также был подвергнут закупочный материал: корковые цельные и прессованные винные и коньячные пробки, полимерные винные, металлические крышки с полистирольными уплотнителями и полимерные дозаторы.

В качестве опытных образцов в изучении сорбционной емкости некоторых синтетических и натуральных материалов применялись:

- активированный уголь «SIHA CARBOGRAN FA», $S=950 \text{ м}^2/\text{г}$. (Германия);
- бентонит «CLARIT[®] PLV 45», натриевый 60 — 70 % — монтмориллонит ($\text{Al}_2[\text{Si}_4\text{O}_{10}](\text{OH})_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$);
- кизельгур «BECOGUR 3500», кальцинированный (100%) $V_{\text{пор}}=1,0 \text{ см}^3/\text{г}$, $S \leq 50 \text{ м}^2/\text{г}$;
- силикагель L 40/100 μ (для колоночной хроматографии);
- полипропиленовое волокно с привитым сополимером ПС и ДВБ «Фибан К-1» (функц. группа $-\text{SO}_3-\text{H}^+$);
- стирол-дивинилбензол «Relite SP 411» $V_{\text{пор}}=1,3 \text{ см}^3/\text{г}$, $S=600 \text{ м}^2/\text{г}$, $r_{\text{пор}}=10-15 \text{ нм}$;
- стирол-дивинилбензол высокопористый «Relite RAM 1» (функциональная группа – третичный амин).

Процедура подготовки сорбентов осуществлялась согласно литературным данным и инструкциям [129-135], а также рекомендациям производителя [136, 137]. Постановке практического опыта по изучению сорбции предшествовало 24-х часовое выдерживание подготовленного сорбента в растворе модели.

Экспериментальная часть исследования процессов деконтаминирования и оптимизация процедуры изучения миграции фталатов в контактные среды проводилась в емкостях объемом 500 мл.

2.2. Аналитические характеристики приборов и реагентов

Характеристики приборов

Хроматомасс-спектрометр Shimadzu GCMS-QP2010S:

- диапазон регистрируемых масс: m/z 1,5 – 900;
- способ ионизации: электронная ионизация;
- чувствительность: в режиме SCAN: 1пг октофторнафталина (S/N) = 30/1.

Газовый хроматограф Shimadzu GC-2014:

- детектирование – пламенно-ионизационное;
- RSD выходного сигнала при автоматическом дозировании не более:
 - по S_p = 3,0%,
 - по R_t = 0,3%.

Жидкостной хроматограф Shimadzu LC-20AD:

- детектирование – спектрофотометрическое;
- относительное СКО выходного сигнала не более:
 - по S_p = 1,0%;
 - по R_t = 0,5%.

Атомно-абсорбционный спектрофотометр Shimadzu AA-6300:

- пределы обнаружения меди: 0,0015 нг/мл;

Весы аналитические САРТОГОСМ СЕ224-С.

- Класс точности по ГОСТ 53228-2008: I (специальный);
- НмПВ (Наименьший предел взвешивания) = 0,01 г;
- d (Дискретность отсчета) = 0,1 мг;
- e (Цена поверочного деления) = 1 мг;
- пределы допускаемой погрешности в интервалах взвешивания при первичной поверке / при эксплуатации \pm , мг = от 0,01 до 50 г включ. – 0,4 / 0,5.

рН-метр стационарный Hanna pH-211:

- комбинированный рН-электрод;
- диапазон, рН: 0-14;
- точность, рН: $\pm 0,01$;
- термокомпенсация: автоматическая.

Капиллярный зонный электрофорез КАПЕЛЬ 105M®:

- относительное СКО повторяемости σ_r , %: 4;
- относительное СКО воспроизводимости σ_R , %: 6;
- границы относительной погрешности при вероятности $P=0,95$ δ , %: 12.

Электронный денсиметр Anton Paar Alcolizer Wine DMA 4500, SP-1:

Характеристики при измерении:

- крепости % об/об:
 - точность: $\pm 0,1$ об. % спирта
 - воспроизводимость, s. d.: $\pm 0,01$ об. % спирта;
- плотности г/л:
 - точность определения плотности: 0,05 г/л;
 - воспроизводимость, s. d.: 0,005 г/л;
 - сахар: воспроизводимость, s. d. $\pm 0,01$ г/л;

Характеристики реагентов

В ходе экспериментальной части исследовательской работы были использованы следующие реактивы:

- *диметилфталат*, $\geq 99,6\%$, «Sigma-Aldrich» (Германия) применялся для приготовления калибровочных и модельных растворов;
- *диэтилфталат*, $\geq 99,0\%$, «Sigma-Aldrich» (Германия) применялся для приготовления калибровочных и модельных растворов;
- *дибутилфталат*, $\geq 99,8\%$, «Sigma-Aldrich» (Германия) применялся для приготовления калибровочных и модельных растворов;
- *бис(2-этилгексил)фталат*, $\geq 99,7\%$, «Sigma-Aldrich» (Германия) применялся для приготовления калибровочных и модельных растворов;
- *диоктилфталат*, $\geq 99,7\%$, «Sigma-Aldrich» (Германия) применялся для приготовления калибровочных и модельных растворов;
- *дидецилфталат*, $\geq 99,8\%$, «Sigma-Aldrich» (Германия) применялся для приготовления калибровочных и модельных растворов;
- *смесь фталатов*, $\geq 95,0\%$, «Ultra Scientific» (США) применялся для приготовления калибровочных и модельных растворов;
- *фталевый ангидрид* квалификации ч.д.а., «ТОР» (Россия) применялся для приготовления калибровочных и модельных растворов;
- *альдрин* раствор в метаноле 5000 мкг/мл, «Supelco» (США), применялся в качестве внутреннего стандарта в ХМС определении;

- *хлороформ* квалификации HPLC grade 99,8 % , «Chem-Lab» n.v. (Бельгия), применялся для экстракции;
- *диэтиловый эфир* квалификации ч.д.а., «Кузбассоргхим» (Россия) применялся для экстракции;
- *гексан* квалификации х.ч., «Реахим» (Россия) применялся для экстракции;
- *тетрахлорметан* квалификации х.ч., $\geq 99,8\%$, Экос-1 (Россия) применялся для экстракции;
- *бензол* квалификации х.ч., «Реахим» (Россия) применялся для экстракции;
- *изоамиловый спирт* квалификации ч.д.а., «Реахим» (Россия) применялся для экстракции;
- *сульфат натрия* б/в, $\geq 99,9\%$, «Brenntag Polska» (Польша) использовался для осушения экстрактов;
- *хлорид натрия* квалификации х.ч., «Реахим» (Россия) для высаливания летучих компонентов;
- *винная кислота (DL-)* , $\geq 99,7\%$, «Centro-Chem» (Польша) для приготовления модельных растворов;
- *гидроксид натрия* $\geq 98.5\%$, «Brenntag Polska». (Польша) для приготовления модельных растворов и омыления эфиров о-фталевой кислоты;
- *гексан* квалификации HPLC grade 95%, «Chem-Lab» n.v. (Бельгия) для промывки посуды, установок;
- *изопропанол* квалификации HPLC grade 99,8%, «Chem-Lab» n.v. (Бельгия) для промывки посуды, установок.

2.3 Аналитические методики и приемы

Определение содержания фталатов

Определение содержания фталатов проводили по процедуре, разработанной в исследовательской лаборатории НЦИКАП [138, 139] и сопоставлен с иными техническими решениями [140]. Для качественного и количественного определения фталатов в растворах использовался хромато-масс-спектрометрический метод, основанный на разделении компонентов смеси на коммерческой капиллярной колонке с неподвижной жидкой фазой общего химического состава - 5%-фенил-95%-ДМПС (5MS) Restek, с последующим детектированием на масс-спектрометре. Для достижения указанной аналитической цели применяли прибор GCMS-QP2010S.

Экстрагирование аналита из жидкого образца осуществлялось при помощи орбитального лабораторного мульти-шейкера Biosan PSU-20i. В качестве экстрагента

применялся хлороформ. Соотношение экстрагент/исследуемый раствор составляло $10 \text{ см}^3 / 100 \text{ см}^3$. Встряхивание исследуемого образца с экстрагентом производилось в делительных воронках сферической геометрии объемом 500 см^3 в течение 20 минут со скоростью 170 об/мин, амплитуда колебаний (орбита) – фиксированная: 20 мм.

По окончании встряхивания расслаивание двух жидкостей (коалесценция) частично или полностью протекало за 20 минут. При стабильной эмульсии процесс коалесценции ускоряли ультразвуковым воздействием. Хлороформный слой сливался через бумажный фильтр с безводным сульфатом натрия (10 г.) в мерный цилиндр и переносился в виалу 20 см^3 . В полученный экстракт вносился внутренний стандарт – альдрин. После тщательного перемешивания $1,5 \text{ см}^3$ экстракта переносилось в газохроматографическую виалу.

Базовые градуировочные растворы фталатов и ортофталевой кислоты готовились на этиловом спирте 96,3 – 96,5 об.%. Рабочие растворы готовились с использованием модельных растворов.

Идентификацию фталатов осуществляли с помощью библиотечного поиска в библиотеке NIST08 и по R_t . Количественную сторону оценивали по S_p и их корреляции с градуировочными графиками.

Определение содержания летучих микропримесей

Микропримеси в крепких алкогольных напитках после обработки сорбентами определялись согласно действующим нормативным документам SM 139:1997 и SM 125:1996 [141, 142].

Для разделения смеси компонентов использовалась капиллярная колонка с полярной неподвижной жидкой фазой OPTIMA-FFAP (Macherey-Nagel, Германия). Сигналы, полученные на пламенно-ионизационном детекторе, качественно и количественно оценивались по R_t и S_p .

Определение содержания ароматобразующих компонентов

Влияние сорбентов на ароматобразующие компоненты вина изучалось на газовом хроматографе с масс-спектрометрическим детектором GCMS-QP2010S. Пробоподготовка производилась методом Headspace.

Образец (10 см^3) помещали в виалу объемом 20 см^3 , дополнительно вносили 4,0 г NaCl для высаливания летучих компонентов. В течение 9 минут образец термостатировался при температуре 70°C при непрерывном встряхивании с частотой 8 Гц, амплитудой 5 мм. Для анализа паровой фазы термостатируемым шприцом производился отбор газовой фазы (над жидким образцом в виале) и вводился в инжекторный порт

газового хроматографа. Для разделения компонентов применяли капиллярную колонку с фазой (5MS) Restek, США. Съемка данных производилась в диапазоне $m/z = 33 \div 280$.

Исследование антоцианового профиля

Исследование степени воздействия сорбентов на пигментные вещества красных вин проводилось методом жидкостной хроматографии (LC-20AD). Разделение компонентов осуществлялось на 250-миллиметровой колонке ($\varnothing=4$ мм) с обращенной фазой Nucleosil 100-5 C-18 HD («Macherey-Nagel» Германия). Элюирование производилось со скоростью 0.8 мл/мин с программируемым градиентом концентраций. Детектирование спектрофотометрическое, при $\lambda=523$ нм.

Определение ионов меди

Содержание ионов меди (II) определяли с помощью атомно-абсорбционного спектрофотометра АА-6300 при изучении сорбционных процессов, используя методику анализа в пламени ацетиленово-воздушной смеси.

Определение ароматических альдегидов

Изменение возрастных характеристик винных дистиллятов под действием исследованных сорбентов изучалось методом капиллярного зонного электрофореза на приборе Капель-105М. Анализ выполнялся в соответствии с валидированной процедурой М 04-53-2008. Детектирование осуществлялось при $\lambda= 373$ нм.

Определение ряда физико-химических показателей вина

Определение плотности, общего экстракта и спиртуозности растворов реализовывали методом электронной денсиметрии на приборе Alcolizer Wine DMA 4500, SP-1 по валидированной процедуре.

2.4. Методы исследования кинетики процессов

Изучение кинетики процессов миграции фталатов. Явление миграции фталатов в статических и динамических условиях изучалось на примере полимерных материалов. В ходе опыта следили за изменением концентрации фталатов во времени в интервале 0÷7ч. Расчет равновесной концентрации фталата в твердом материале производился исходя из его максимально извлеченного количества за 72 часа. Температурные режимы в ходе экспериментов (0°C, 25°C, 50°C, 75°C) обеспечивались посредством термостатируемой водяной бани и холодильной установки. Жидкие фазы – модели, такие как: вода, модель М-15, модель М-50 и этиловый спирт 96,4 об.%, были выбраны для имитации жидких сред, контактирующих с полимерными композициями в реальных условиях производства

алкогольной продукции. Дополнительно, в качестве альтернативного органического растворителя исследовался хлороформ.

За процессами миграции в системах твердое тело – жидкость вели наблюдения посредством отбора проб объемом 1 см³. Общий объем исходных систем, в данной серии исследований, составлял 500 см³.

В качестве источников фталатов были исследованы два образца полимерных материалов: образец резины $m=5,0\text{г}$, $S=33,0\text{ см}^2$, и образец пластифицированного ПВХ $m=1,0\text{г}$, $S=15,6\text{ см}^2$. Выше описанные полимерные материалы были получены от винодельческого предприятия и ранее в процессе производства не использовались (не контактировали с органическими и неорганическими растворителями).

Процесс миграции фталатов в динамических условиях изучался с использованием ультразвуковой бани (45 кГц, 100 Вт). Прочие условия протекания эксперимента: общее время опыта, исходные объемы жидкой фазы, весовые и поверхностные характеристики твердых образцов, периоды отбора и объемы аликвот, - были аналогичны экспериментам, проведенным в статике.

Изучение кинетики сорбционных процессов. Основные характеристики исследованных сорбентов были рассмотрены на реальных образцах и модельных растворах. Явления сорбции рассматривались для систем жидкость – твердое тело. Сорбционная емкость, а так же нецелевые процессы, протекающие на твердых сорбентах, изучались в статических условиях при комнатной температуре в период 24 часов в темноте. Процессы, протекающие на границе раздела двух фаз, исследовались при различном соотношении сорбента к фталату [143]. В серии использовали 1,0 г сорбента на 100 мл исследуемой модели М-50 с содержанием фталата 0,8, 2,4, 4,0, 5,6, 7,2, 8,8 мг/дм³.

Величины экспериментальной адсорбции $\Gamma_{\text{эксп}}$ рассчитывали, исходя из экспериментальной $\Gamma_{\text{эксп}}$.

$$\Gamma_{\text{эксп}} = \frac{C_{\text{исх}} - C_{\text{равн}}}{m} \times V \quad (2.1)$$

где, $C_{\text{исх}}$ – исходная концентрация фталата в ммоль/л;

$C_{\text{равн}}$ – равновесная концентрация фталата после адсорбции в ммоль/л;

m – масса сорбента;

V - объем раствора.

Для каждого из полученных значений равновесных концентраций рассчитывали значения $\frac{C_{\text{равн}}}{\Gamma_{\text{эксп}}}$. Для нахождения величины предельной адсорбции Γ_{∞} , строили изотермы

адсорбции в координатах линейной формы уравнения Лэнгмюра $\frac{C_{равн}}{\Gamma_{экс}} = f(C_{равн})$.

Изотерма адсорбции в координатах линейной формы Лэнгмюра получается в виде прямой линии, тангенс угла которой равен $\frac{1}{\Gamma_{\infty}}$, отрезок, отсекаемый прямой от оси ординат равен

$\frac{1}{\Gamma_{\infty} \times K}$. Рассчитывали константы Γ_{∞} и K , в уравнении Лэнгмюра. Используя найденные

значения Γ_{∞} и K , рассчитывали величину адсорбции по уравнению Лэнгмюра:

$$\Gamma_{Льнг} = \Gamma_{\infty} \frac{K \times C_{равн}}{1 + K \times C_{равн}} \quad (2.2)$$

Для построения изотермы адсорбции по уравнению Фрейндлиха, для соответствующих значений $C_{равн}$ и $\Gamma_{экс}$ рассчитали значения $\lg C_{равн}$ и $\lg \Gamma_{экс}$. По прямой, построенной в координатах $\lg \Gamma_{экс} = f(\lg C_{равн})$, определяют тангенс угла наклона прямой, который в соответствии с уравнением Фрейндлиха в логарифмической форме равен $1/n$, а отрезок отсекаемый от оси ординат равен $\lg \beta$. Используя найденные значения β и $1/n$, для соответствующих значений равновесных концентраций, рассчитывали величины адсорбций по уравнению Фрейндлиха:

$$\Gamma_{Фр} = \beta C_{равн}^{1/n} \quad (2.3)$$

Исследование побочных процессов, протекающих на границе раздела фаз, проводили на реальных образцах вина: белое-сухое, белое-десертное, красное-сухое, красное-десертное, и на выдержанных винных дистиллятах. Схема проведения эксперимента: 1.0 г сорбента на 100 мл исследуемого раствора в статических условиях при комнатной температуре в период 24 часов в темноте.

2.5. Биосорбция / биодegradация

Моделирование процессов сорбции фталатов культурами дрожжей проводилось в стеклянных реакторах объемом 2,5 литра, снабженными силиконовыми газоотводными трубками и поглотительными емкостями с жидкостью. Объем исходного контаминированного суслу с внесенными культурами дрожжей до начала процесса ферментации составил 2,0 литра.

Исследованию были подвергнуты культуры дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces uvarum* и *Hanseniaspora uvarum*. Подготовка дрожжей *S. Cerevisiae* и *S. uvarum* к процессу ферментации и дозировка проводилась согласно рекомендациям производителя.

Для изучения химического состава клеток микроорганизмов, клеточные оболочки были лизированы согласно процедуре, описанной Н. И. Бурьяном [144]. Примененная процедура представляет собой комбинацию механического (ультразвук) [144, стр. 158] и химического (1,0% раствор толуола) воздействия [144, стр. 162].

Целью выяснения состава разрушенных клеток, явилась задача установить каков тип взаимодействия в системе «дрожжи-фталаты», а также возможность протекания процесса биодegradации.

2.6. Дистилляция

Исследование процесса миграции фталатов из дистиллируемой жидкости в дистиллят проводили с применением классической лабораторной установки для фракционной перегонки жидкостей.

Комплектация перегонного аппарата: круглодонная колба на 100 мл; насадка Вюрца; термометр (шк.:0-150°C, ц.д.: 0,5°C); водяной холодильник; аллонж; приемники.

Установка была собрана на шлифованных сочленениях, без использования полимерных переходников. Нагрев осуществлялся на электрической плитке (колбонагревателе).

Для компьютерно-графического моделирования использовались стандартный пакет Microsoft Office Excel 2003, а также программы TableCurve 2D v5.01. и ISIS Draw v2.4.

2.7. Выводы к главе 2

- Практическая часть аналитической работы была реализована методами газовой хроматографии с масс-спектрометрическим и пламенно-ионизационным детекторами; жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием; атомно-абсорбционной спектроскопии; капиллярного зонного электрофореза со спектрофотометрическим детектированием, а также электронной денсиметрии.
- Для аналитической и экспериментальной работы были использованы только коммерческие реактивы различной степени чистоты.
- Объектами исследований явились сырьевые ресурсы и материалы, применяемые на различных этапах производства.
- Исследования процессов сорбции и миграции проводились на реальных образцах материалов и препаратов, применяемых в классической технологии.

3. РАЗРАБОТКА ПРОЦЕДУРЫ АНАЛИЗА ФТАЛАТОВ В ПРОДУКТАХ ВИНОДЕЛЬЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

3.1 Разработка процедуры анализа фталатов в продуктах винодельческой промышленности

Базовыми принципами реализации задачи по разработке процедуры количественной оценки фталатов в продуктах винодельческой отрасли явились эффективность и доступность. Кроме того, ряд устанавливаемых характеристик процедуры сфокусирован на веществе, расположенном в середине гомологического ряда фталатов с алкильными радикалами, - ДБФ. Помимо этого, среди фталатов ДБФ является наиболее часто контролируемым, показателем, описанным в нормативных документах.

Выбор экстрагента. Сравнительная характеристика извлекающей способности органических растворителей различной полярности по отношению к шести фталатам: ДМФ, ДЭФ, ДБФ, ДЭГФ, ДОФ и ДДФ, была изучена для хлороформа, тетрахлорметана, бензола, диэтилового эфира, гексана и изоамилового спирта. Экстрагирование проводилось из контаминированного модельного раствора М-15. Концентрации фталатов в исследованном исходном растворе, указаны в таблице 3.1 в мг/дм³. Условия экстрагирования соответствовали п. 2.3. Характеристические значения m/z, использованные при количественной оценке, основаны на сканированных масс-спектрах (рисунки А1.1-А1.6 приложения 1): ДМФ – 163, 164, 194; ДЭФ – 149, 177; ДБФ – 149; ДЭГФ – 149, 167, 279; ДОФ – 149, 279; ДДФ – 149, 307.

Таблица 3.1. Интенсивности сигналов (площади хромато-масс-спектрометрических пиков) по суммам m/z для фталатов в соответствующих экстрагентах

Фталат орг. растворитель	ДМФ (0,106)	ДЭФ (0,102)	ДБФ (0,108)	ДЭГФ (0,105)	ДОФ (0,092)	ДДФ (0,096)
Хлороформ	1457312	1400556	749389	31858	66574	46289
Диэтиловый эфир	8644	18889	73472	33630	53973	28596
Гексан	225440	626408	702451	28768	32781	10158
Тетрахлорметан	729997	798685	818517	16099	21038	5506
Бензол	868555	980014	592497	30551	31141	14750
Изоамиловый спирт	1253308	1232489	899266	11150	9768	5084

Графическое отражение данных таб.3.1 приведено на рис.3.1. Данные представлены в виде десятичных логарифмов площадей хромато-масс-спектрометрических пиков.

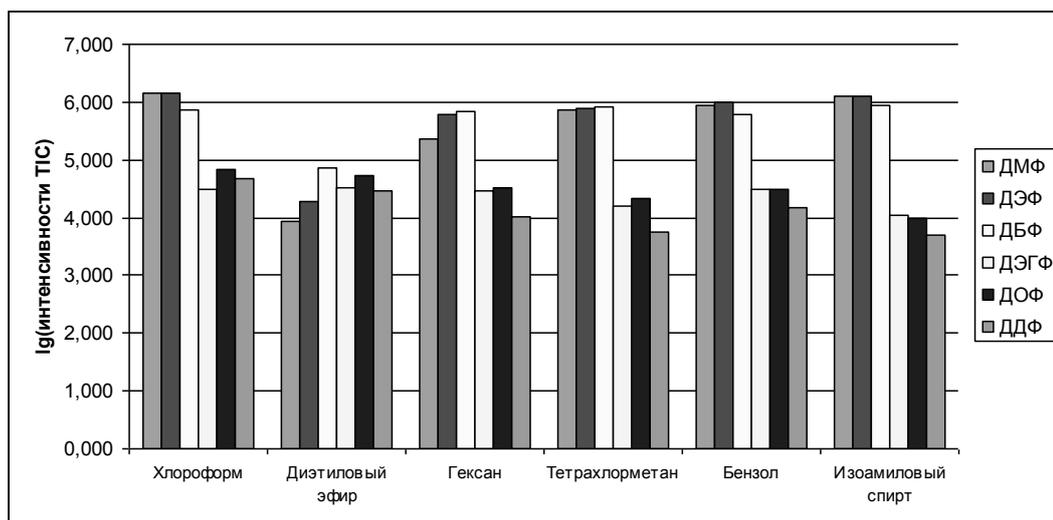


Рис. 3.1. Логарифмы значений интенсивности хромато-масс-спектрометрических сигналов по суммам m/z для фталатов в соответствующих экстрагентах

Согласно данным таблицы 3.1 и рисунка 3.1, наименее эффективны, в экстракции ДБФ, оказались диэтиловый эфир и бензол.

Среднеквадратическое отклонение между тремя параллельными экстракциями каждым из органических растворителей представлено на рис. 3.2.

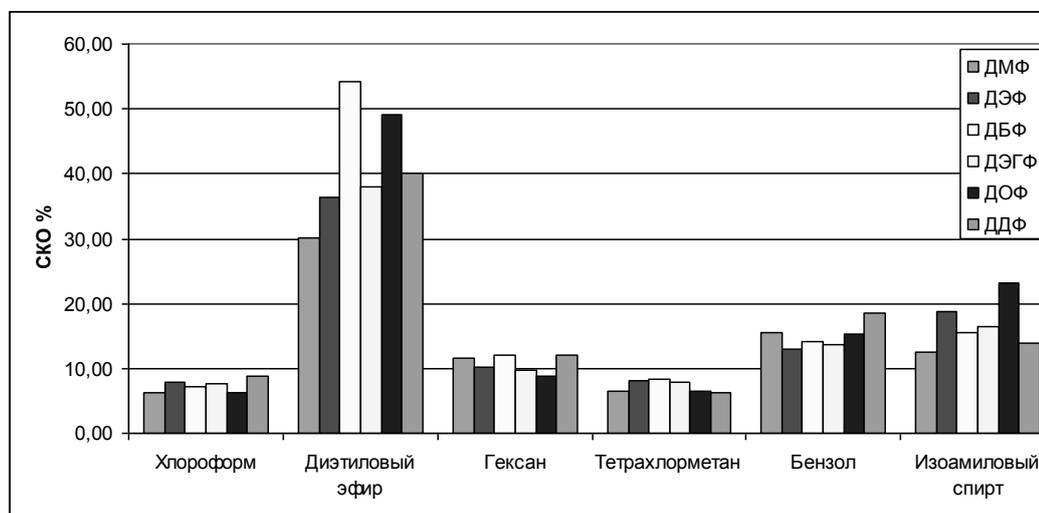


Рис. 3.2. Среднеквадратическое отклонение между значениями концентраций фталатов в трех параллельных извлечениях исследованными экстрагентами

Наиболее оптимальными для процесса извлечения выше указанных фталатов являются хлороформ и тетрачлорметан (низкое значение СКО вероятно связано с плотностями данных растворителей: 1,49 и 1,59 г/см³ соответственно). Принимая во внимание, что стоимость тетрачлорметана более чем в три раза превышает стоимость

хлороформа для одного класса чистоты реактивов (данные каталога SIGMA-ALDRICH 2009-2010), использование трихлорметана в качестве экстрагента явилось наиболее экономически оправданным решением.

Время экстрагирования, достаточное для наступления динамического равновесия в системе хлороформ – модельный раствор, установлено практически на примере шести фталатов. Данные представлены на гистограмме, рисунка 3.3. Максимальное исследованное время экстрагирования – 25 минут. Извлечение фталатов за этот период условно принято за 100%, а концентрация за равновесную. Необходимо отметить, что за первую минуту экстрагирования извлекается от 68% до 87% фталатов относительно равновесного значения. Соотношения экстрагент / модель – 1/10, в качестве экстрагента использовали хлороформ. Условия экстрагирования описаны в п. 2.3 (стр. 41).

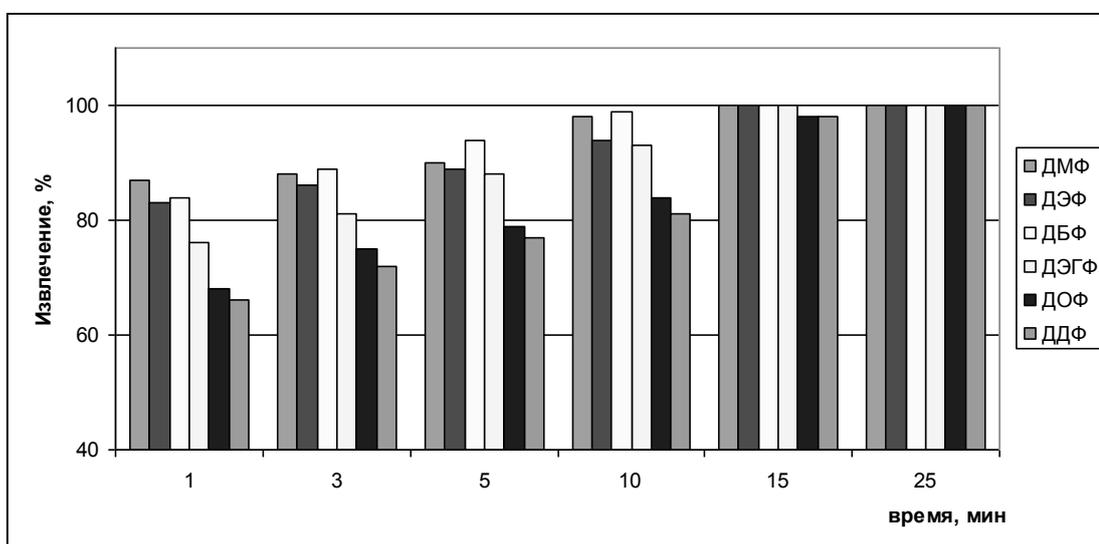


Рис. 3.3. Определение минимального достаточного времени для достижения динамического равновесия при экстракции фталатов из модели М-15 хлороформом. Степень извлечения при 25 минутах принята за 100%

Время экстрагирования в 20 мин было выбрано как наиболее оптимальное по эффективности и продолжительности.

Влияние основных химических характеристик реальных образцов на степень извлечения фталатов, было рассмотрено на примере величины рН, содержания спирта (органического растворителя) и сахара.

Коэффициенты корреляции. Зависимость степени рекуперации фталатов от величины рН рассматривалась на ряде водно-спиртовых растворов (15% об.) с водородными показателями 3,0(точно 2,99); 3,5(3,58); 4,0 (4,14); 4,5(4,53); 5,0 (4,99); 5,5(5,44); 6,0(6,06); 6,5(6,48) и 7,0(6,98). Растворы готовились на основе водно-спиртовой

смеси с добавлением расчетного количества водно-спиртового 0,1М раствора винной кислоты, контроль значения рН осуществлялся с помощью рН-метра. Пределы исследованного диапазона рН (3,0-7,0) обусловлены кислотностью воды (обратноосмотическая, деионизированная) -6,5-7,0, на основе которой готовились модели, и вина – 3,0-4,2 [152] 2,8-4,0 [133, стр. 10]. Кривые, отражающие данную зависимость, представлены на рисунке 3.4. Концентрации фталатов в исследованных растворах: ДМФ – 0,106 мг/дм³, ДЭФ – 0,102 мг/дм³, ДБФ – 0,108 мг/дм³, ДЭГФ – 0,105 мг/дм³, ДОФ – 0,092 мг/дм³ и ДДФ – 0,096 мг/дм³.

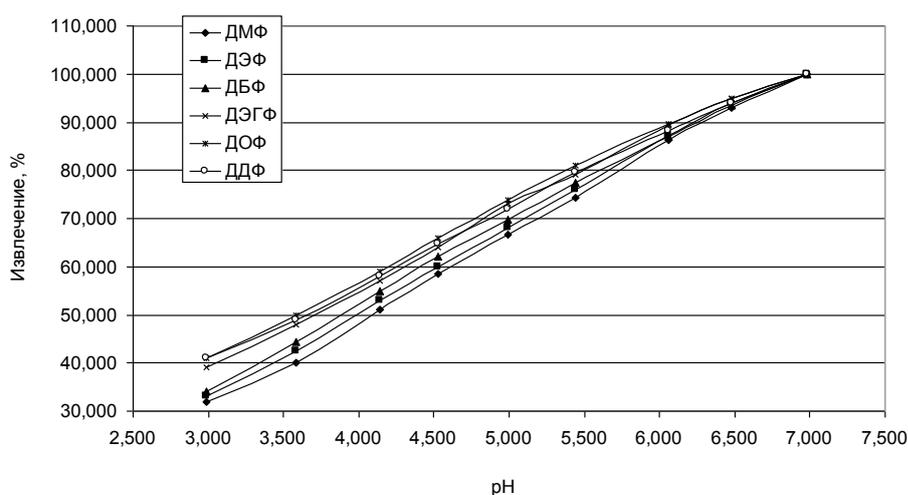


Рис. 3.4. Зависимость уровня рекуперации шести фталатов от величины рН исследованных растворов. Концентрации фталатов в исследованных растворах: ДМФ – 0,106 мг/дм³, ДЭФ – 0,102 мг/дм³, ДБФ – 0,108 мг/дм³, ДЭГФ – 0,105 мг/дм³, ДОФ – 0,092 мг/дм³ и ДДФ – 0,096 мг/дм³. Условия экстрагирования по п.2.3

Расчет корректирующих коэффициентов для учета влияния химических параметров исследуемого образца производился по уравнениям, отражающим зависимости $f(\text{pH})$, $f(C_{\text{сахара}})$ и $f(C_{\text{спирта}})$. Кривые зависимостей близки к кривым первого порядка, как следствие, уравнения линий тренда были взяты для линейной аппроксимации. Расчет произведен на примере данных по ДБФ. Графическое представление полученных результатов для коэффициента корреляции степени извлечения от величины рН - $u(k_{\text{pH}})$ приводится на рисунке 3.5.

Степень извлечения фталатов из водных растворов, как зависимость от содержания спирта, была исследована на водно-спиртовых смесях с концентрациями спирта в об. %: 0,0, 6,0, 9,0, 12,0, 15,0, 18,0, 21,0 и 24,0. Концентрация 0,0 об. %, соответствует воде, растворы от 6 до 24 имитируют вина / виноматериалы в ряду от слабоалкогольных

(деалкоголизированное) до крепленных. Концентрации фталатов в исследованных растворах: ДМФ – 0,106 мг/дм³, ДЭФ – 0,102 мг/дм³, ДБФ – 0,108 мг/дм³, ДЭГФ – 0,105 мг/дм³, ДОФ – 0,092 мг/дм³ и ДДФ – 0,096 мг/дм³. Кривые зависимости представлены на рисунке 3.6. Условия экстрагирования по п. 2.3 (стр. 41).

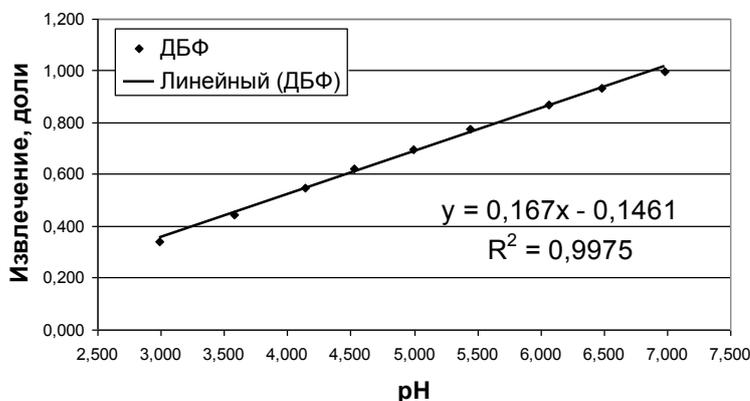


Рис. 3.5. Характеристики аппроксимирующей кривой первого порядка, соответствующей общей тенденции изменения извлечения фталатов из растворов с различным уровнем pH (на примере ДБФ)

Коэффициент корреляции k_{pH} , установлен по уравнению кривой $y=f(x)$ на рисунке 3.5.

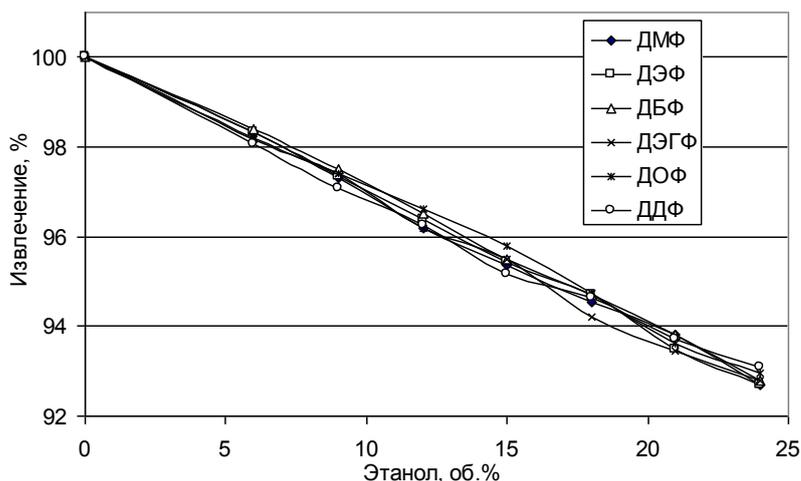


Рис. 3.6. Зависимость уровня рекуперации шести фталатов от концентрации этилового спирта в исследованных растворах. Концентрации фталатов в исследованных растворах: ДМФ – 0,106 мг/дм³, ДЭФ – 0,102 мг/дм³, ДБФ – 0,108 мг/дм³, ДЭГФ – 0,105 мг/дм³, ДОФ – 0,092 мг/дм³ и ДДФ – 0,096 мг/дм³. Условия экстрагирования по п.2.3 (стр. 41).

Общая тенденция изменения экстрагируемости фталатов (на примере ДБФ) из растворов с различным содержанием этанола, в первом приближении, представлена в виде линейной функции и выражена в $k_A = y=f(x)$. Характеристики кривой указаны на рисунке 3.7.

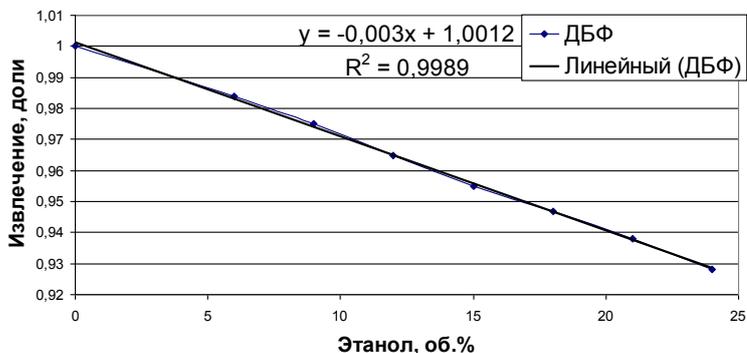


Рис. 3.7. Характеристики аппроксимирующей кривой первого порядка, соответствующей общей тенденции изменения извлечения фталатов из растворов с различным содержанием этанола (на примере ДБФ)

Влияние концентрации сахаров на рекуперацию фталатов изучали на водно-спиртовых растворах с $pH=3,0$. Глюкоза (кристаллическая, х.ч.) применялась для приготовления контаминированных растворов. Концентрации 0, 30, 50, 70, 100, 120 и 160 г/дм³ были получены внесением расчетного количества кристаллической глюкозы в процессе приготовления растворов. Концентрации фталатов в исследованных растворах: ДМФ – 0,106 мг/дм³, ДЭФ – 0,102 мг/дм³, ДБФ – 0,108 мг/дм³, ДЭГФ – 0,105 мг/дм³, ДОФ – 0,092 мг/дм³ и ДДФ – 0,096 мг/дм³. Результаты исследований представлены на графике, рисунок 3.8.

Коэффициент корреляции $k_S=y=f(x)$ (рис. 3.9) между содержанием сахара в образце и уровнем экстрагирования фталатов рассчитан на примере данных полученных на ДБФ.

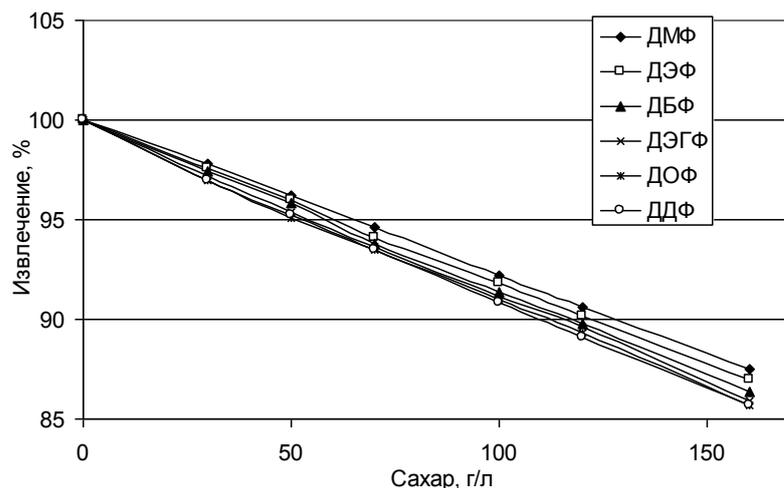


Рис. 3.8. Зависимость степени извлечения шести фталатов от содержания сахаров (глюкозы) в исследованных растворах. Концентрации фталатов в исследованных растворах: ДМФ – 0,106 мг/дм³, ДЭФ – 0,102 мг/дм³, ДБФ – 0,108 мг/дм³, ДЭГФ – 0,105 мг/дм³, ДОФ – 0,092 мг/дм³ и ДДФ – 0,096 мг/дм³. Условия экстрагирования по п. 2.3 (стр. 41)

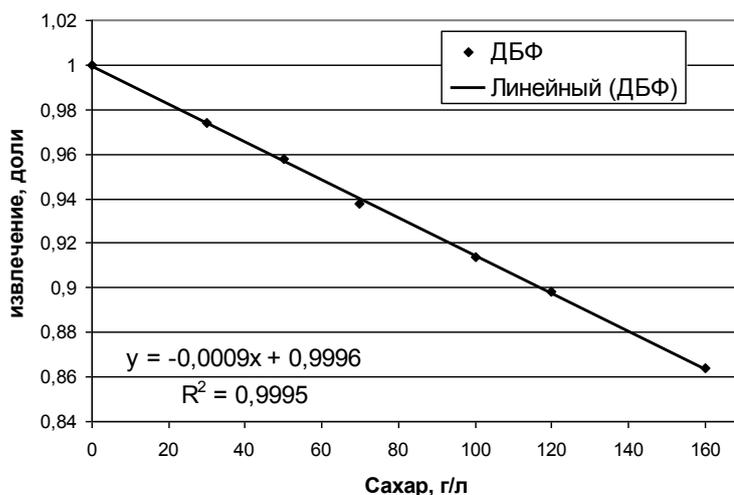


Рис. 3.9. Характеристики аппроксимирующей кривой, соответствующей общей тенденции изменения извлечения фталатов из растворов с различным содержанием глюкозы (на примере ДБФ)

Уравнение расчета истинного значения концентрации фталата ($C_{ист}$) на основе экспериментально полученного значения ($C_{эксп}$) имеет следующий вид:

$$C_{ист} = C_{эксп} \frac{1}{k_{pH} \times k_S \times k_A}, \quad (3.1)$$

где k_{pH} , k_S и k_A – рассчитываются по уравнениям первого порядка для кривых на рисунках 3.5, 3.7 и 3.9 соответственно:

$$k_{pH} = 0.167(pH) - 0.146, \quad (3.2)$$

$$k_S = -0.001(S) + 1.000, \quad (3.3)$$

$$k_A = 0.003(A) + 1.001, \quad (3.4)$$

Характеристики градуировочного графика для фталатов на примере ДБФ (для прочих фталатов модель расчета аналогична).

Для определения параметров градуировочного графика выполняют градуировку хроматографа по методу внутреннего стандарта.

$$k = \frac{S_{st}^{is}}{S_{st}^{DBP}} * \frac{n_{st}^{DBP}}{n_{st}^{is}}, \quad (3.5)$$

где k – фактор отклика

S_{st}^{is} - площадь пика внутреннего стандарта

S_{st}^{DBP} - площадь стандарта ДБФ

n_{st}^{DBP} - количество введенного стандарта ДБФ

n_{st}^{is} - количество внутреннего стандарта.

Количество определяемого вещества (ДБФ) рассчитывается по формуле:

$$n_{an}^{DBP} = k * \frac{n_{st}^{is}}{S_{st}^{is}} * S_{an}^{DBP}, \quad (3.6)$$

где n_{an}^{DBP} - содержание ДБФ в определяемом образце,

S_{an}^{DBP} - площадь пика ДБФ в определяемом образце,

S_{st}^{is} - площадь пика внутреннего стандарта, введенного в анализируемый образец,

n_{st}^{is} - количество внутреннего стандарта, введенного в анализируемый образец.

В практической части аналитической работы в качестве внутреннего стандарта применяли альдрин. Причины выбора данного вещества основаны на:

- доступности данного вещества для большинства лабораторий ведущих экологический или продовольственный мониторинг.
- теоретическим отсутствием альдрина в почвах, природных водоемах, в виду ограничения его использования Стокгольмской конвенцией (ратификация 2001) [145]

- отсутствием следов альдрина в почвах территории РМ (Приложение 2)
- близком значении R_t для ДБФ и альдрина (рис. 3.10), что нивелирует возможные погрешности, вызванные нестабильной работой аналитического оборудования.

Применение бензилбензоата в качестве IS, как описано в ряде работ [100, 105, 146, 147], не представляется надежным по причине широкого применения бензилбензоата в фармацевтике и парфюмерии.

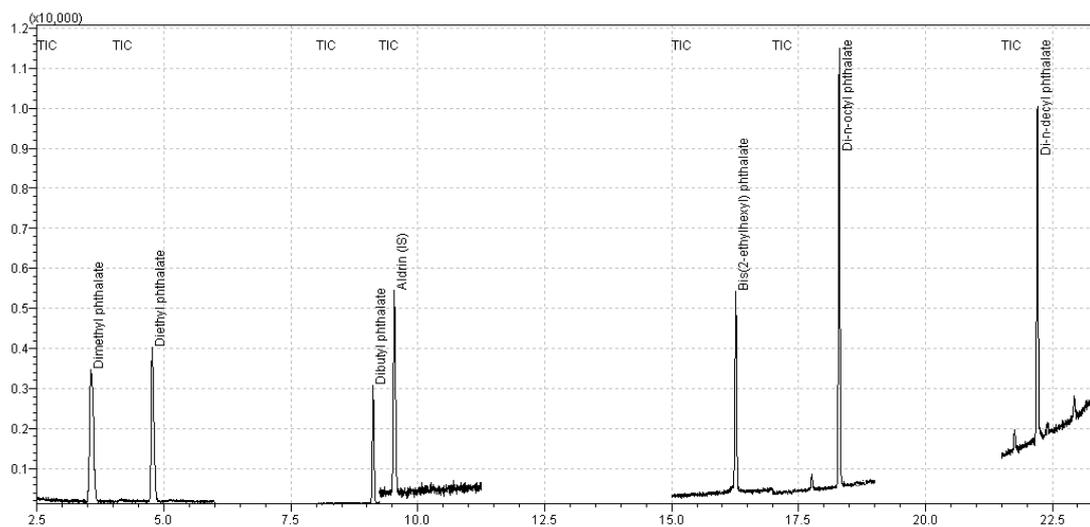


Рис. 3.10. Хроматограмма раствора фталатов (ДМФ 0,103 мг/дм³, ДЭФ 0,110 мг/дм³, ДБФ 0,098 мг/дм³, ДЭГФ 0,116 мг/дм³, ДОФ 0,121 мг/дм³ и ДДФ 0,118 мг/дм³) с альдрином в качестве IS (0,50 мг/дм³)

Обработка результатов

Концентрацию фталатов определяли после компьютерного интегрирования хроматограммы, по градуировочной кривой соответствующих m/z спектра в мг/дм³.

Вычисляли среднее значение концентрации определяемого вещества:

$$C = \frac{1}{n} * \sum_{i=1}^n C_i \quad (3.7)$$

Рассчитывают относительную разницу результатов двух параллельных измерений одной пробы:

$$C_1 - C_2 \leq 0.10 \times \bar{C} \quad (3.8)$$

Характеристики аналитического подхода

Таблица 3.2 отражает общие аналитические характеристики процедуры анализа содержания ДБФ в винах/виноматериалах и дивинах/дистиллятах, полученные при валидировании метода.

Таблица 3.2. Аналитические характеристики параметров и критериев валидирования процедуры

Показатель	Вино	Крепкие напитки
Диапазон линейности	0 – 0,50 мг/дм ³	0 – 1,00 мг/дм ³
Степень рекуперации	C=0,1 мг/дм ³ – 81% C=0,2 мг/дм ³ – 88% C=0,3 мг/дм ³ – 90%	C=0,1 мг/дм ³ – 96% C=0,2 мг/дм ³ – 88% C=0,3 мг/дм ³ – 92%
Повторяемость: RSD _f	5%	5%
Повторяемость (interlab): RSD _L	13%	7%
Воспроизводимость: RSD _R	15%	15%
Предел повторяемости: r	0,25X	0,25X
Предел воспроизводимости: R	0,40X	0,40X
Предел детектирования: LD	0,006 мг/дм ³	0,01 мг/дм ³
Предел количественного определения: LQ	0,02 мг/дм ³	0,03 мг/дм ³

3.2 Сравнение характеристик и приемов предложенной в работе процедуры с альтернативными аналитическими подходами

Процедура анализа фталатов в винодельческой продукции методом SPME-GC-MS [100] для ТФМЭ предполагает использование волокна – карбовакс-ДВБ, что сводит к минимуму потребность в органических растворителях. Ресурс одного волокна для ТФМЭ (согласно инструкции производителя) – 80-100 циклов сорбции / десорбции. Расчетные затраты на пробоподготовку одного образца по аналитическому подходу группы J. D. Carrillo [100] составляют ориентировочно 15€. Стоимость пробоподготовки согласно молдавской процедуре ~ 6€. RSD испанской процедуры (3-5% для ДБФ) сопоставимо с данными молдавской процедуры (5% для ДБФ). Факт сильно ограниченного ресурса ТФМЭ-волокна, а также вероятность протекания необратимой сорбции на волокне (отравление поверхности сорбента) делает необходимым использовать дейтерированные фталаты в качестве внутренних стандартов для каждого из определяемых компонентов. Данный аспект приводит дополнительно к существенному удорожанию анализа.

3.3. Разработка процедуры анализа содержания фталатов в продуктах винодельческой отрасли в рамках программы OIV

В 2013 году исследовательская лаборатория «Национального Центра Испытания Качества Алкогольной Продукции» приняла непосредственное участие, в составе группы EC-JRC-IRMM – European Commission, Joint Research Centre, Institute for Reference Materials and Measurements, в разработке процедур анализа фталатов в продуктах винодельческой отрасли для OIV (Международная организация винограда и вина) [148, 149]. В рамках этой работы, на основании утвержденной процедуры 2011 года (приложение 3) была разработана процедура анализа 16 фталатов: ДМФ, ДЭФ, ДиБФ, ДБФ, бис(2-метоксиэтил)фталат, бис(4-метил-5-пентил)фталат, бис(2-этоксиэтил)фталат, диамилфталат, дигексилфталат, ББФ, 2-этилгексилгексилфталат, бис(2-бутоксиэтил)фталат, ДЭГФ, дициклогексилфталат, ДОФ и ДНФ, в присутствии дейтерированных внутренних стандартов ДБФ-3, 4, 5, 6 - d4 и ДЭГФ-3, 4, 5, 6 - d4 (приложение 4). Хроматограмма стандартной смеси указанных фталатов с концентрациями 0,115 мг/дм³, представлена на рисунке 3.11.

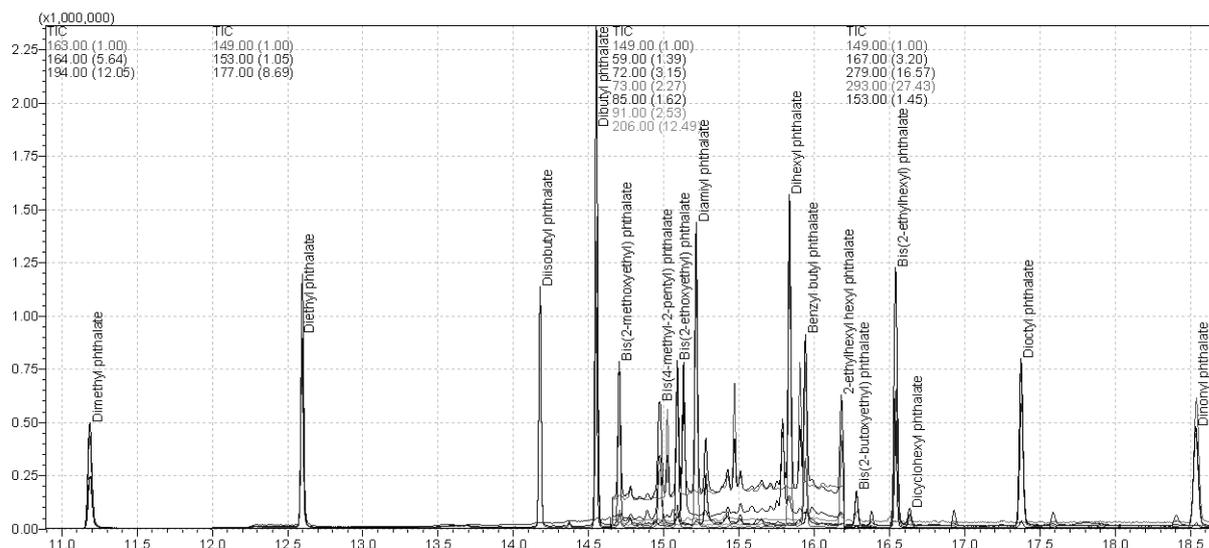


Рис.3.11. Хроматограмма смеси шестнадцати фталатов

В предвалидации процедуры OIV, помимо Республики Молдова, приняли участие еще 13 лабораторий из Франции, Германии, Испании, Португалии, Китая, Аргентины, Южно-Африканской Республики и Австралии (приложение 5).

В 2014 году исследовательская лаборатория «Национального Центра Испытания Качества Алкогольной Продукции» приняла непосредственное участие в валидации конечной процедуры анализа фталатов в вине, инициированной JRC-IRMM.

3.4. Разработка процедуры комплексной оценки содержания фталатов в продукции винодельческой промышленности

Несогласованность в указаниях ПДК на фталаты в гигиенических нормативах различных систем стандартов (Приложение 9), присутствие тенденции фталатов к деградации под действием физико-химических и биологических факторов, делает процесс анализа фталатного загрязнения затруднительным и малоэффективным.

С целью устранения данных несоответствий было предложено унифицировать подход к аналитической оценке содержания фталатов в водно-спиртовых средах.

Суть процедуры состоит в гидролизе фталатов в исследуемом образце (по механизму представленном на рисунке 3.12) и количественном определении ФК методом КЭ со спектрофотометрическим детектированием. По содержанию ФК возможно оценить сумму эфиров ФК и всех их метаболитов в растворе.

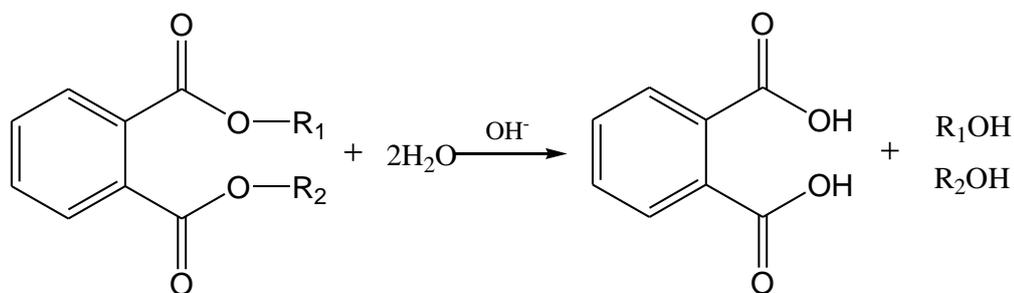


Рис 3.12. Гидролиз молекул фталатов в присутствии щелочи. R₁ и R₂ – алкильные радикалы

Экспериментально было установлено количество вещества NaOH, необходимого для нейтрализации кислой среды вина/виноматериала. Испытанию были подвергнуты 25 образцов вина, выбранных в произвольном порядке, различных производителей и наименований сортовых характеристик, а также 25 образцов виноматериалов, по схеме аналогичной для вина. Красные образцы исследовались методом прямого титрования 1,25М раствором NaOH, в присутствии «собственного» индикатора образца – пигментов антоцианового ряда, до сине-пурпурного окраса (pH=7-8) [150]. Образцы белого вина/виноматериала титровали 1,25М раствором NaOH в присутствии фенолфталеина до образования розового окраса (pH=8,2).

Установленные количества вещества NaOH, необходимого для титрования 100 мл вина находятся в диапазоне 4,1-6,3 ммоль, для виноматериалов – 4,4-6,9 ммоль.

18 образцов винных дистиллятов и дивинов (pH=3,4-4,5 [151]) титровали 1,25М раствором NaOH в присутствии фенолфталеина до образования красно-бурого оттенка.

Полученные данные указывают на то, что на нейтрализацию 100 мл винных дистиллятов и дивинов, расходуется 2,1-2,5 ммоль NaOH.

Принимая во внимание данные о содержании эфиров в винах/виноматериалах [152] и дивинах/винных дистиллятах [151], максимальный расход NaOH на процесс гидролиза сложных кислых и средних эфиров 100 мл образца не должен превышать 1,2 ммоль и 0,3 ммоль для вин и винных дистиллятов соответственно.

Анализ статистических данных об уровне контаминирования продуктов винодельческой промышленности, полученный за период 2010-2014 гг., позволяет судить о максимальных концентрациях фталатов, зарегистрированных в исследованных образцах лабораторией НЦИКАП. В выборке, состоящей из 4000 образцов, наивысшая концентрация составила 65,8 мг/дм³ ДЭГФ. Расчетное количество NaOH необходимое на омыление ДЭГФ в 100мл раствора, составляет 0,17ммоль.

Для компенсации неучтенных процессов, сопряженных с особенностями химического состава исследуемых образцов, использовали полуторакратный избыток относительно расчетного значения количества вещества NaOH. Для работы применяли 12,5 ммоль NaOH (0,5 г).

Омыление эфиров о-фталевой кислоты проводили в среде 0,125М раствора NaOH (0,5 г/100мл раствора). Величина pH исследуемого раствора (вина/виноматериала) ~3,0. Расчетное значение pH 0,125М раствора NaOH = 13,1. Значение водородного показателя в полученной системе (100 мл образца + 1,0 г NaOH) равен 12,8. Общее содержание фталатов в 100 мл исследованного раствора 2,3 μмоль. Гидролиз проводился при нагревании на электрической плитке при 90-95°C (без кипения), в течении 30 минут. Время нагревания (30 мин.) было установлено экспериментально, как минимально-необходимое. Охлажденный до комнатной температуры раствор нейтрализовывали 50% уксусной кислотой до pH=7,0. Гидролизат хромато-масспектрометрически испытывали на полноту омыления эфиров о-фталевой кислоты.

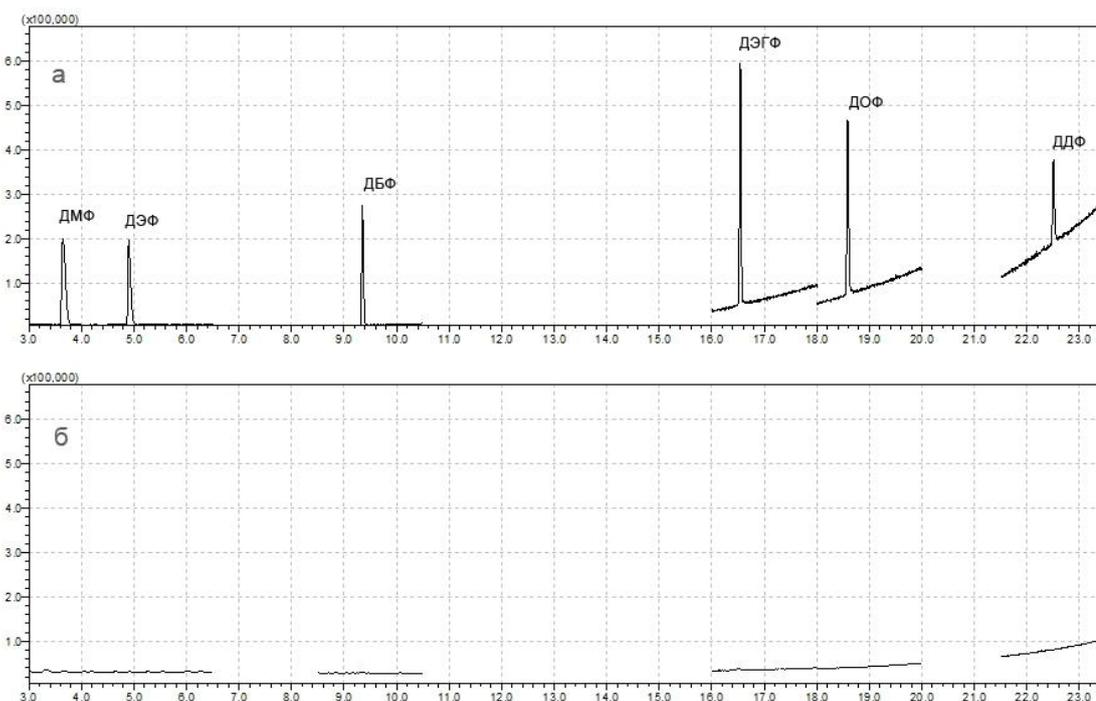


Рис. 3.13. Анализ хроматограмм, полученных на загрязненном водно-спиртовом растворе с содержанием ДМФ 1,082 мг/дм³, ДЭФ 1,075 мг/дм³, ДБФ 1,112 мг/дм³, ДЭГФ 1,157 мг/дм³, ДОФ 1,133 мг/дм³ и ДДФ 1,140 мг/дм³. а) исходный раствор, б) нейтрализованный раствор, подвергнутый процессу гидролиза

Приведенные данные подтверждают факт протекания гидролиза исходных фталатов, при описанных выше условиях. Хроматограмма гидролизата б на рисунке 3.13, отражает полное отсутствие сигналов соответствующих фталатов, зарегистрированных на хроматограмме а рисунка 3.13.

Наряду с раствором NaOH, в качестве гидролизующего агента испытывали концентрированный раствор аммиака (25%). Использование аммиака в качестве гидролизующего агента позволило бы после упаривания нейтрализовать раствор без внесения посторонних ионов. Рассчитанное количество аммиака по модели, описанной выше, составило 12,5 ммоль NH₃, что в объемном отношении ~1 мл 25% раствора, испытали на загрязненном растворе. Хроматограмма полученного гидролизата не имела существенных отличий от хроматограммы а рисунка 3.13.

При увеличении количеств аммиака до 5, 10 и 15 мл кардинальных изменений химического состава финального гидролизата не наблюдалось. В итоге двадцатипятикратным избытком аммиака (25 мл / 100 мл) было достигнуто снижение уровня фталатов. Хромато-масспектрометрические данные указывают на снижение, в

среднем лишь на 30%. Исходное количество фталатов в растворе принято за 100% (рис. 3.14).

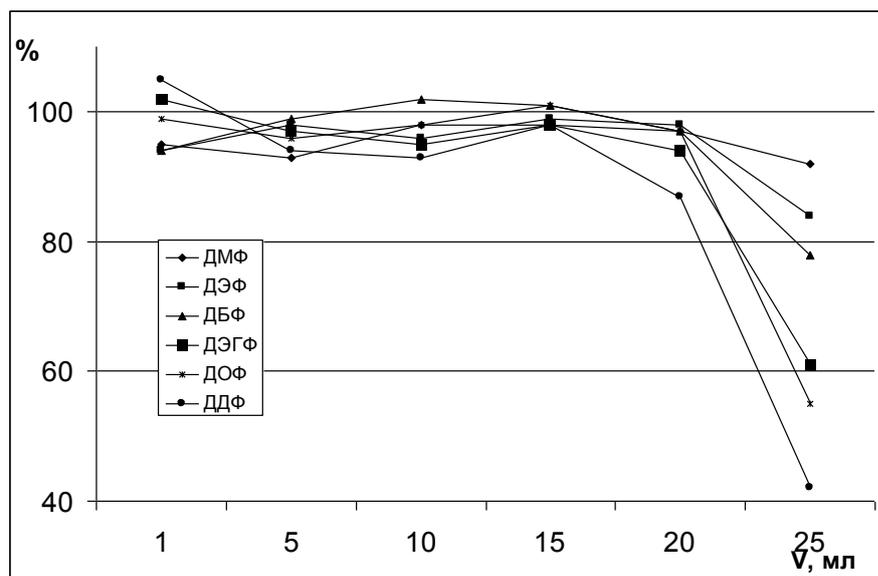


Рис. 3.14. Динамика снижения уровня фталатов в гидролизованном вине при расчетном значении объема NH_3 1мл / 100 мл раствора, и при 5, 10, 15, 20 и 25-и кратных избытках

Низкая эффективность аммиака может быть обусловлена его высокой летучестью и низкой степенью диссоциации. Кроме того, увеличение вводимого объема раствора аммиака повышает вероятность перекрестного загрязнения.

По завершении процесса гидролиза нейтрализация избытка щелочи проводилась 50% раствором уксусной кислоты до нейтральной среды $\text{pH} \sim 7$.

Полученный раствор фильтровали через мембранный фильтр (0,45 мкм) или центрифугировали 5 минут при 4000 об/мин.

Анализ проводили методом КЭ (КАПЕЛЬ-105М) по аттестованной методике [153], разработанной фирмой изготовителем, в присутствии буфера составом: 10мМ бензойная кислота, 9 мМ диэтиламин, 0,5 мМ циклотриметил аммония бромид и 0,1 мМ этилендиаминтетраацетат динатриевой соли, при отрицательной полярности электродов. При отсутствии необходимости детектирования всех возможных компонентов смеси (согласно указанной процедуре [153]) длину волны поглощения спектрофотометрического детектора установили на более оптимальную для детектирования ФК – 200 нм [154]. Электрофореграмма стандартного раствора ФК концентрацией 0,5 мг/дм³ в водно-спиртовой среде отражена на рисунке 3.15.

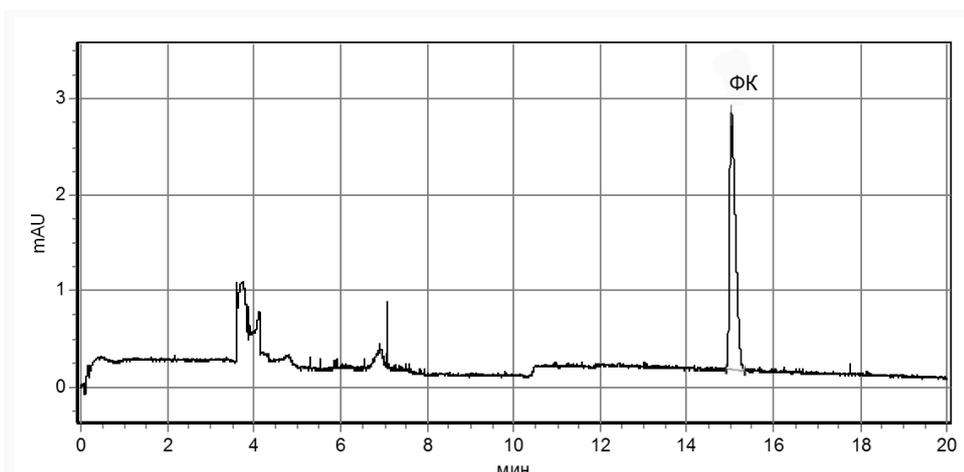


Рис. 3.15. Электрофореграмма раствора ФК, концентрацией 0,50 мг/дм³.
Матрица - смесь вода/спирт (1:5)

Предел количественного определения (LOQ), рассчитанный, численно равный десятикратному значению шума нулевого сигнала на нулевой пробе (blank) [155], составляет 0.067мг/дм³.

Методы КЭ и ВЭЖХ [154] наиболее применимы для анализа ФК, нежели методы ГХ, требующие специфических капиллярных колонок или проведения дериватизации ФК [156]. Характеристики параметров вышеописанного аналитического подхода отражены в таблице 3.3.

Таблица 3.3. Характеристики параметров и критериев валидации аналитического подхода

<i>Показатель</i>	<i>Значение</i>
Диапазон линейности	0,1 – 5,0 мг/дм ³
Степень рекуперации	68-82%
Повторяемость: RSD _f	8%
Повторяемость (interlab): RSD _L	15%
Воспроизводимость: RSD _R	18%
Предел повторяемости: <i>r</i>	0,25X
Предел воспроизводимости: <i>R</i>	0,4X
Предел детектирования: LOD	0,02 мг/дм ³
Предел количественного определения: LOQ	0,07 мг/дм ³

3.5 Выводы к главе 3

- Согласно полученным экспериментальным данным, хлороформ выбран в качестве оптимального экстрагента для рассмотренной серии фталатов, отвечающий ряду

физико-химических и экономических требований, таких как полнота извлечения, плотность, полярность, доступность.

- Результаты проведенных экспериментов указывают на параметры исследуемых растворов, таких как: рН, содержание спирта и сахаров, влияние которых должно быть учтено при моделировании. Предложена схема математического компенсирования получаемых результатов в случаях отклонения химического состава анализируемых образцов от калибровочных.
- Разработанная процедура анализа фталатов в продуктах винодельческой отрасли валидирована (приложение 6), внесена в область аккредитации в национальной системе MOLDAC (приложение 7). На базе вышеописанного аналитического подхода проведена работа по предвалидированию и валидированию европейской процедуры анализа содержания фталатов в алкогольной продукции в рамках OIV.
- Проведена сравнительная характеристика молдавской процедуры анализа фталатов относительно альтернативных предложений, отражены ключевые отличия и преимущества перед зарубежными аналогами.
- Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что содержание фталатов в спиртосодержащих средах может быть количественно оценено в качестве суммы эфиров в пересчете на ФК. Установлены минимально необходимые количества щелочи для омыления эфиров ФК в водно-спиртовой среде. Определены характеристики параметров и критериев валидации предлагаемого аналитического подхода.

4. АНАЛИЗ ИСТОЧНИКОВ КОНТАМИНИРОВАНИЯ ФТАЛАТАМИ

4.1. Исследование содержания фталатов в объектах окружающей среды

Анализ природных источников водообеспечения производственных нужд. Аналитическая оценка содержания фталатов в водных ресурсах производства была дана для 9 предприятий винодельческой отрасли муниципия Кишинёв, Яловенского, Тараклийского, Кантемирского, Страшенского, Штефан-Водского и Оргеевского районов [157, 158]. Полученные значения по фталатам оказались ниже уровня LOD. В образцах воды, прошедших этапы водоподготовки, отмечено суммарное содержание фталатов в интервале концентраций $<0,005(\text{LOD}) - 0,030 \text{ мг/дм}^3$. Преимущественно детектируемые фталаты - ДБФ и ДЭГФ.

Уровень загрязнения фталатами родниковых и озерных вод муниципия Кишинев был исследован в весенне-летний период 2011-2012 гг. Отбор проб производился на водных объектах указанных в таблице 4.1.

Таблица 4.1. Координаты точек отбора проб воды

Источник	СШ	ВД	ДБФ, мг/дм ³	ДЭГФ, мг/дм ³
родник «Тамара»	47° 0' 49,68"	28° 48' 45,61"	<0,005	<0,007
родник святой Елены (ул. Каля Ешилор)	47° 2' 37,49"	28° 47' 30,17"	<0,005	0,008
родник на Балканском ш.	47° 3' 8,73"	28° 46' 20,61"	<0,005	<0,007
родник ул. Димо	47° 2' 53,31"	28° 52' 14,89"	<0,005	<0,007
родник «Чемертан»	47° 2' 35,87"	28° 52' 11,10"	<0,005	<0,007
родник парка ул. Флорилор	47° 3' 14,29"	28° 51' 13,63"	<0,005	0,011
ручей Дурлешты	47° 1' 3,55"	28° 49' 10,79"	<0,005	<0,007
озеро парка Валя-Морилор	47° 1' 16,79"	28° 48' 52,19"	<0,005	<0,007
озеро парка «Ла Извор»	47° 2' 46,03"	28° 47' 24,20"	<0,005	<0,007
озеро Дендрарий	47° 2' 0,54"	28° 48' 48,64"	<0,005	<0,007
озеро «Долина Роз»	47° 0' 5,66"	28° 51' 16,84"	<0,005	<0,007
озеро Виктория (ш. Мунчешть)	46° 56' 29,80"	28° 56' 23,86"	<0,005	<0,007
озеро Ботанический сад	46° 58' 39,90"	28° 53' 19,45"	<0,005	<0,007
река Бык (ул. Гидигич)	47° 3' 7,96"	28° 47' 2,08"	0,027	0,033
река Бык (ш. Мунчешть)	46° 56' 33,10"	28° 56' 56,80"	0,022	0,057

Остальные фталаты не были обнаружены даже в следовых количествах.

Из проведенного исследования можно сделать следующий вывод: отсутствие выраженного фталатного загрязнения водных источников и озер города Кишинева, предположительно, может быть объяснено чрезвычайно низким уровнем промышленного развития и несущественной с/х деятельности на данной территории.

Исследование уровня фталатного загрязнения почв. Почва является одной из основных сред накопления фталатов. На миграцию, трансформацию и накопление этих веществ оказывает влияние множество факторов: свойства почвы, виды и количество микроорганизмов, содержание органического вещества и т.д.

Предельно допустимые концентрации фталатов в почве не установлены для Молдовы, России и ряда соседних стран.

В рамках проекта “ Investigarea căilor de contaminare a vinurilor produse în Republica Moldova cu derivații ftalaților” были исследованы образцы почв с плантациями виноградников Яловенского р-на и мун. Кишинэу [157, 158]. Точки отбора проб указаны в таблице 4.2.

Таблица 4.2. Координаты точек отбора образцов почв

№	Место пробоотбора	Сев. широта	Вост. долгота
S1	Плантация молодого виноградника (Яловенский р-н)	46°58'02,8”	28°47'15,8”
S2	Плантация плодоносящего виноградника (Яловенский р-н)	46°58'41,1”	28°46'26,9”
S3	Плантация Милештий Мичь (Яловенский р-н)	46°55'23,6”	28°48'49,7”
S4	Плантация Милештий Мичь	46°59'29,82”	28°47'26,08”
S5	Поселок Кодру (мун. Кишинэу)	46°59'01,3”	28°46'41,8”

Полученные данные, представленные в таблице 4.3, хорошо коррелируют с данными европейских и азиатских исследователей [159, 160] и подтверждают наличие проблемы фталатного загрязнения, сопряженного, в первую очередь, с активной сельскохозяйственной деятельностью.

Таблица 4.3. Содержание фталатов в образцах почв

фталаат	Маркировка образца и содержание фталата, мг/кг				
	S1	S2	S3	S4	S5
ДМФ	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
ДЭФ	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
ДБФ	0,115	0,080	0,236	0,279	0,247
ББФ	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01
ДЭГФ	< 0,01	< 0,01	0,925	0,913	< 0,01
ДОФ	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01

Результаты определения фталатов в почве показали наличие двух веществ из этой группы: ДБФ и ДЭГФ. ДБФ обнаружен во всех образцах почвы в интервале концентраций 0,080 – 0,279 мг/кг. ДЭГФ обнаружен только в пробах, отобранных на плантациях Милештий Мичь. Концентрация ДЭГФ в этих двух образцах существенно превышает содержание ДБФ. Наибольшее общее содержание фталатов обнаружено в почве виноградника Милештий Мичь, и составило 1,192 мг/кг.

Следов контаминирования прочими гомологами эфиров о-фталевой кислоты, не обнаружено.

Проведенными исследованиями установлено:

- обработка сельскохозяйственных земель, является основной причиной фталатного загрязнения поверхности почв, кроме того не исключено использование при искусственном поливе воды не предназначенной для данной цели.

- наиболее высокое суммарное содержание фталатов зафиксировано на участке (S4), находящемся в непосредственной близости от Южного автовокзала г. Кишинева.

Анализ степени контаминирования растительного сырья. Образцы плодов винограда исследовались на предмет фталатного загрязнения в период уборки (сент.-нояб. 2011г.) [157, 158]. Места сбора и данные по содержанию ДБФ и ДЭГФ в ягодах винограда без гребней отмечены в таблице 4.4.

Таблица 4.4. Степень контаминирования плодов винограда на соответствующий период сбора

№	Место пробоотбора	Сев. широта	Вост. долгота	ДБФ мг/кг	ДЭГФ мг/кг
1	Виноградник с.Сирець (Страш. Р-н)	47°07'23,27"	28°43'58,98"	0,010	0,045
2	Виноградник с.Романешть (Страш. Р-н)	47°14'4,16"	28°43'7,26"	0,011	0,010
3	Виноградник с.Явгур (Чимиш. Р-н)	46°32'53,57"	28°37'11,13"	<0,007	0,023
4	Виноградник с.Фрумоаса (Калар. р-н)	47°19'34,72"	28°23'58,72"	0,008	0,025
5	Виноградник г.Кагул	45°55'14,98"	28°13'22,73"	<0,007	0,015

В ходе эксперимента установлено, что основная часть фталатного загрязнения плодов имеет место на поверхности ягод, а не в объеме. Смыв этиловым спиртом (~96,4 об.%) с поверхности объекта исследования позволяет извлечь 89-100% фталатов, в сравнении с экстракцией из смеси перетертых ягод. Полученные данные, позволяют предположить, что фталат на плодах, и как следствие в сусле, возникает не посредством миграции из почв через проводящие ткани растения, а при обработке виноградника (опрыскивании), нанесении загрязненной почвы и прочего. Основным загрязнителем из группы эфиров о-фталевой кислоты также является ДЭГФ. Прочие гомологи фталатов не обнаружены даже в следовых количествах.

4.2. Содержание фталатов в контактирующих полимерных материалах, как фактор контаминирования конечного продукта

4.2.1. Кинетика миграции фталатов в модельные растворы

В период 2010-2014 гг. в испытательной лаборатории НЦИКАП было исследовано более 4000 образцов на предмет контаминирования фталатами. Для исследования

скорости, полноты и источников миграции фталатов в реальные образцы, в экспериментах также использовали модельные растворы. Природа растворов варьировалась в конкретном диапазоне соотношений концентраций спирт/вода. Статистические данные позволяют судить о том, что процесс миграции фталатов в контактирующий раствор находится в прямой зависимости от физико-химических и временн ых параметров. Данный раздел работы посвящен изучению влияния данных параметров на скорость миграции фталатов. Определение оптимальных условий для оценки химической пригодности материалов для применения в отрасли винодельческой промышленности явилось параллельной задачей, реализованной в ходе экспериментов существующего раздела [161, 162].

Исследования миграции проводили на образцах пластифицированного ПВХ и резины (вулканизированный каучук). Во всех сериях экспериментов использовали пластины одинаковой массы и площади поверхности. Плитки ПВХ: $m=1,0$ г, $S=15,6$ см²; пластинки резины: $m=5,0$ г, $S=33,0$ см². Данные образцы полимеров на территории РМ были реализованы в качестве материалов для пищевой промышленности.

Объемы модельных растворов во всех экспериментах данной серии также постоянны и равны 100 см³. Процессы протекали в стеклянной таре одинаковой геометрии, объемом 200 см³, с плотно завинчивающимися крышками. Помимо описанных выше моделей М-15 и М-50, испытывали обратноосмотическую воду, водно-спиртовые растворы с содержанием спирта 15,0, 35,0, 75,0 и 96,4 об.%. Спирт исследован, как ключевой компонент винодельческой отрасли, и хлороформ, как альтернативный органический полярный растворитель.

Параллельно сравнивали миграцию фталатов в этиловый спирт (96,4 об.%) при ультразвуковом воздействии (45 кГц, 100 Вт), имитируя механическое воздействие. Температуру в ультразвуковой бане контролировали с помощью ртутного термометра. Изменение (повышение) температуры корректировали внесением водяного льда.

Отбор проб для построения зависимостей производился с интервалом в 1 час в течение 7 часов. Кроме того, получены данные по миграции в некоторых условиях за 24 и 48 часов. Данные изменения концентраций ДБФ и ДЭГФ приведены в таблицах 4.5, 4.6, 4.7 и 4.8 соответственно.

Таблица 4.5. Изменение концентраций ДБФ в растворах в процессе миграции из образца ПВХ во времени. Концентрации даны в мг/дм³

		Время экспонирования, ч									
		0	1	2	3	4	5	6	7	24	48
Спирт	75°C	0,000	0,090	0,148	0,190	0,222	0,253	0,268	0,280	-	-
	50°C	0,000	0,040	0,080	0,113	0,160	0,203	0,225	0,248	-	-
	25°C	0,000	0,013	0,028	0,044	0,063	0,078	0,089	0,103	0,153	0,167
	0°C	0,000	0,009	0,012	0,016	0,020	0,023	0,027	0,030	0,042	0,053
	25°C УЗ	0,000	0,101	0,155	0,201	0,227	0,251	0,261	0,267	-	-
М-50 25°C		0,000	0,004	0,006	0,007	0,009	0,011	0,015	0,022	0,031	0,038
М-15 25°C		0,000	0,002	0,003	0,005	0,007	0,009	0,009	0,010	0,013	0,014
Вода 25°C		0,000	0,002	0,002	0,002	0,003	0,003	0,005	0,006	0,006	0,007
Хлороформ 25°C		0,000	0,014	0,031	0,049	0,070	0,086	0,101	0,116	0,228	0,267

Таблица 4.6. Изменение концентраций ДЭГФ в растворах в процессе миграции из образца ПВХ во времени. Концентрации даны в мг/дм³

		Время экспонирования, ч									
		0	1	2	3	4	5	6	7	24	48
Спирт	75°C	0,000	0,850	1,604	2,288	2,770	3,059	3,245	3,315	-	-
	50°C	0,000	0,501	1,005	1,540	2,150	2,620	2,910	2,993	-	-
	25°C	0,000	0,381	0,540	0,699	0,870	1,003	1,110	1,141	1,503	1,832
	0°C	0,000	0,146	0,248	0,273	0,314	0,342	0,412	0,441	0,552	0,583
	25°C УЗ	0,000	0,592	1,120	1,680	2,190	2,530	2,800	2,910	-	-
М-50 25°C		0,000	0,006	0,010	0,017	0,023	0,029	0,033	0,035	0,045	0,052
М-15 25°C		0,000	0,003	0,005	0,007	0,009	0,009	0,011	0,012	0,037	0,044
Вода 25°C		0,000	0,003	0,003	0,004	0,005	0,005	0,006	0,006	-	-
Хлороформ 25°C		0,000	0,517	0,780	0,940	1,054	1,150	1,211	1,250	1,592	1,952
Спирт 25°C УЗ		0,000	0,592	1,120	1,680	2,190	2,530	2,800	2,910	-	-

Таблица 4.7. Изменение концентраций ДБФ в растворах в процессе миграции из образца вулканизированного каучука во времени.
Концентрации даны в мг/дм³

		0	1	2	3	4	5	6	7	24
Спирт	75°C	0,000	1,330	2,800	4,120	5,530	7,200	8,410	10,240	-
	50°C	0,000	0,633	0,940	1,240	1,552	1,789	2,350	2,859	-
	25°C	0,000	0,179	0,406	0,710	1,072	1,398	1,650	1,859	8,081
	0°C	0,000	0,094	0,122	0,163	0,214	0,244	0,326	0,412	1,371
	25°C УЗ	0,000	1,102	1,820	3,030	3,730	4,440	5,600	6,150	-
М-50 25°C		0,000	0,015	0,031	0,047	0,061	0,083	0,099	0,120	0,200
М-15 25°C		0,000	0,003	0,004	0,006	0,008	0,011	0,016	0,022	0,062
Вода	25°C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,003	0,003	0,003
	50°C	0,000	0,006	0,013	0,017	0,023	0,031	0,041	0,052	-
	75°C	0,000	0,014	0,027	0,042	0,056	0,066	0,071	0,077	-
Хлороформ 25°C		0,000	0,197	0,476	0,755	1,243	1,578	2,070	2,554	-

Таблица 4.8. Изменение концентраций ДЭГФ в растворах в процессе миграции из образца вулканизированного каучука во времени.
Концентрации даны в мг/дм³

		0	1	2	3	4	5	6	7	24
Спирт	75°C	0,000	8,620	19,516	33,300	42,400	60,500	73,600	94,000	-
	50°C	0,000	4,276	12,000	18,200	21,600	29,200	34,100	40,900	-
	25°C	0,000	0,760	1,400	2,340	3,894	5,072	6,411	7,924	46,842
	0°C	0,000	0,141	0,188	0,217	0,384	0,517	0,947	1,313	5,960
	25°C УЗ	0,000	5,111	12,591	16,618	25,788	34,084	42,154	48,150	-
М-50 25°C		0,000	0,010	0,018	0,034	0,041	0,056	0,064	0,072	0,094
М-15 25°C		0,000	0,000	0,001	0,002	0,004	0,006	0,009	0,017	0,040
Вода	25°C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
	50°C	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,003	0,006	-
	75°C	0,000	0,000	0,000	0,003	0,008	0,012	0,016	0,019	-
Хлороформ 25°C		0,000	1,000	2,200	3,110	4,600	6,090	7,852	9,482	-

Исходные значения концентраций фталатов всех использованных растворов нижеследующей серии экспериментов приняты за 0,0 мг/дм³. Концентрации экстрактов даны с учетом значений «нулевого» раствора.

Изменение концентраций ДБФ в растворах эмитирующих реальные среды винодельческой промышленности визуализировано на рисунке 4.1.

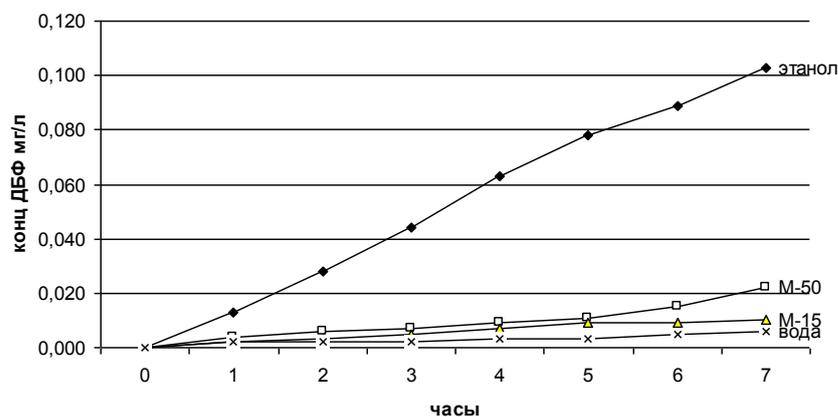


Рис. 4.1. Кинетические кривые изменения концентрации ДБФ в водно-спиртовых растворах в процессе миграции фталата из ПВХ. Температура 25 °С

Кривые демонстрируют непропорциональный рост скорости миграции ДБФ в растворы с различным содержанием этанола (воды). Разница в изменении содержания ДБФ между этанолом и М-50 в 4,5 раза превышает соответствующий интервал между водой и М-50. Кроме того отмечены незначительные отличия в скорости извлечения ДБФ в М-15, в сравнении с результатами по миграции в воду. Полученные экспериментальные данные по водно-спиртовому раствору со значением рН=3 (М-15) не соответствуют прогнозируемым. Предполагалась более существенная скорость миграции, в силу увеличенной растворимости фталата в кислых растворах.

Скорости миграции \mathcal{G} рассчитывали по уравнению:

$$\mathcal{G} = \frac{dn}{dt} \quad (4.1)$$

где n – количество вещества.

Формы кривых концентраций (рис. 4.1) близки к линейным на всем интервале регистраций, в связи с чем изменение количества рассчитывали за 7 часов (рис. 4.2). Для построения зависимости скорости миграции ДБФ из ПВХ от концентрации этилового спирта были исследованы растворы с содержанием этанола 0, 15, 35, 50, 75 и 96 об. %. Для расчетов использовали данные за 7 часов миграции.

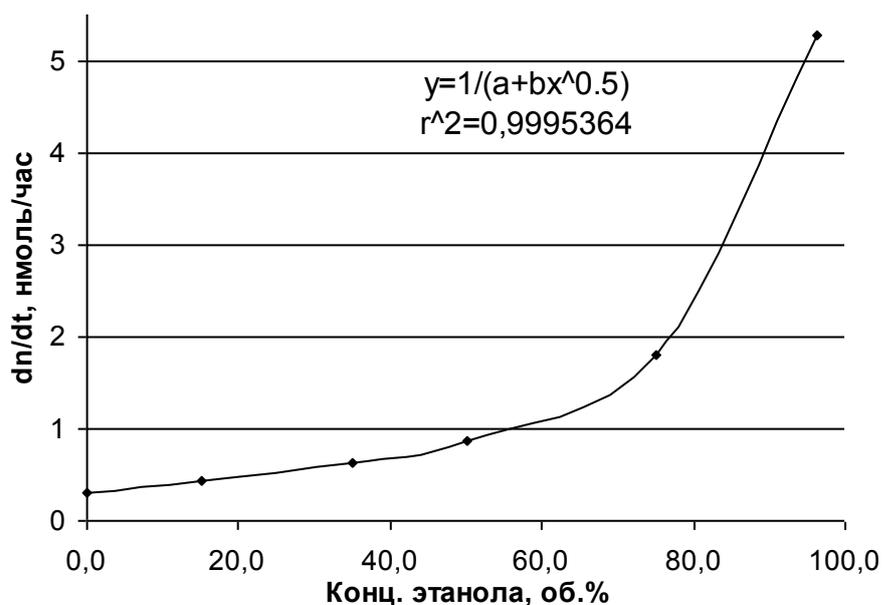


Рис. 4.2. Зависимость скорости миграции ДБФ из ПВХ от содержания спирта в модельном растворе

Необходимо отметить, что скорость миграции ДБФ в водно-спиртовые растворы находится в нелинейной зависимости от концентрации спирта. Существенно, скорость извлечения изменяется (увеличивается) при снижении концентрации воды до 20-10 об.%.

Графическое выражение влияния температуры на скорость миграции ДБФ из образца ПВХ в этиловый спирт 96,4 об.%, представлено на рисунке 4.3. Миграцию испытывали при температурах 0, 25, 50 и 75°С. Температурный интервал - 0÷75°С, ограничен температурами применяемыми при обработке вина холодом (-3°С) и температурой кипения этанола (78,4°С). Параллельно представлены данные миграции в этанол при 25°С при воздействии УЗ, а также в хлороформ при 25°С.

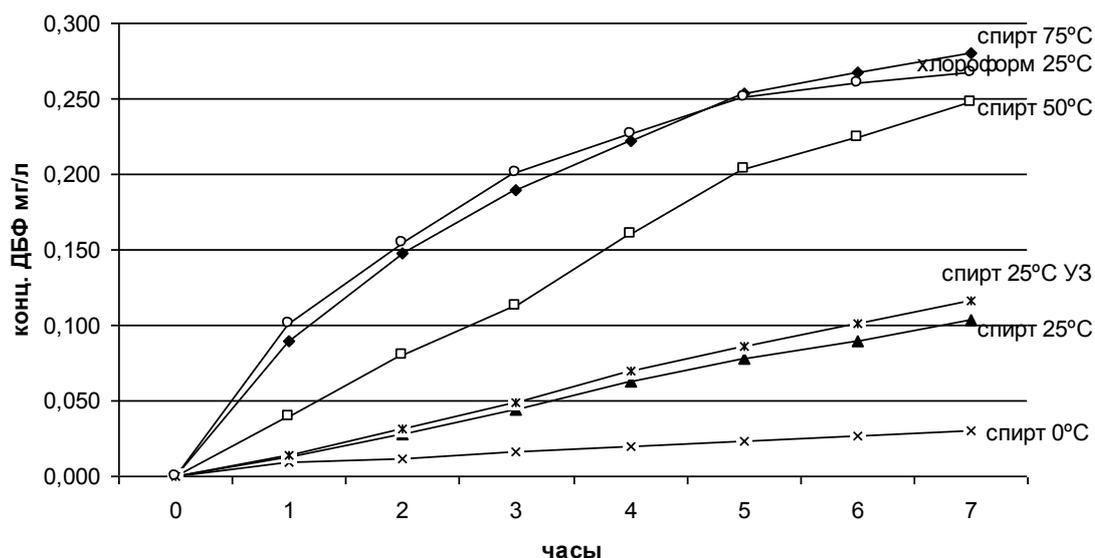


Рис. 4.3. Кинетические кривые изменения концентрации ДБФ в спиртовых растворах в процессе миграции из ПВХ при различных температурах. Сопоставление данных извлечения ДБФ в хлороформ и в этанол под действием УЗ

Миграция ДБФ из ПВХ в хлороформ существенно отличается от значения миграции в этанол при идентичных параметрах. Предположительно кроме различий в природе этих растворителей, важным фактором является наличие воды в этаноле.

Для установления влияния температурного фактора отдельно рассмотрены данные миграции ДБФ за первый час в этанол (96,4 об.%) из образца ПВХ. С целью конкретизации формы кривой зависимости изменения концентрации ДБФ в этаноле были дополнительно зарегистрированы при температурах 40 и 60°C. При расчетах использовали данные за первый час испытания так как форма кривой «спирт 75» на рисунке 4.3 не линейна. Уравнение кривой на рисунке 4.4 рассчитано по логарифмическому аппроксимированию в программе TableCurve 2D v5.01.

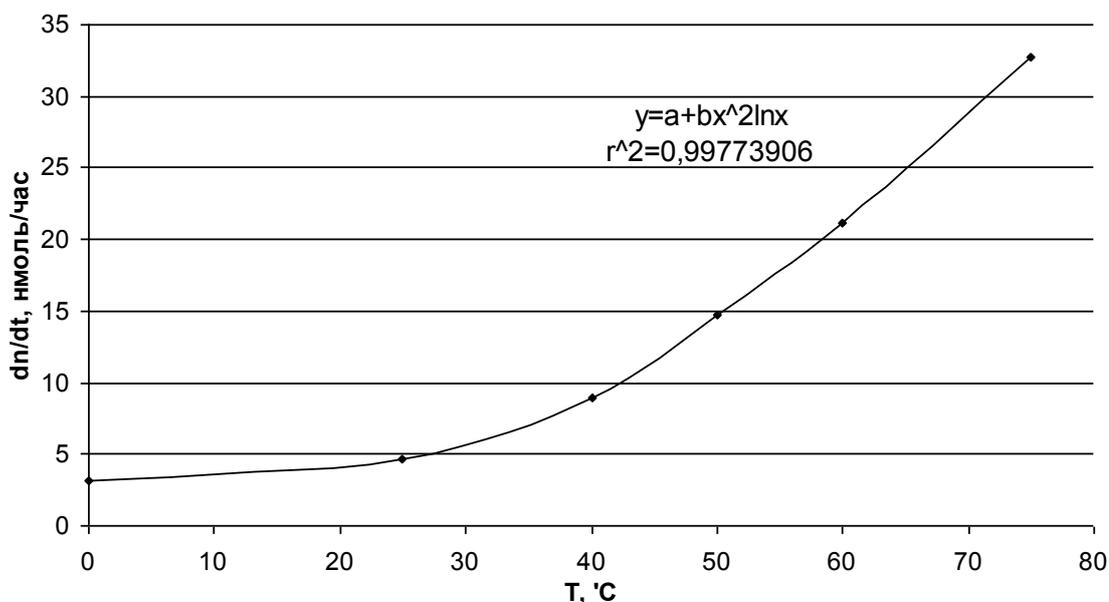


Рис. 4.4. Зависимость скорости миграции ДБФ в этанол за 1 час из исследованного образца ПВХ, при температурах растворов 0, 25, 40, 50, 60, 75°С

Отмечен нелинейный рост скорости миграции ДБФ из пластифицированного ПВХ в этанол. Данный факт можно объяснить как увеличением растворимости фталата, так и ростом его мобильности в супрамолекулярных структурах полимера.

Изменение концентраций ДЭГФ при его миграции из образца ПВХ в водных растворах с различным содержанием этилового спирта 0, 15, 50 и 96% представлено на рисунке 4.5.

Рисунок 4.6 отражает влияние температуры и УЗ воздействия на миграцию ДЭГФ в этиловый спирт.

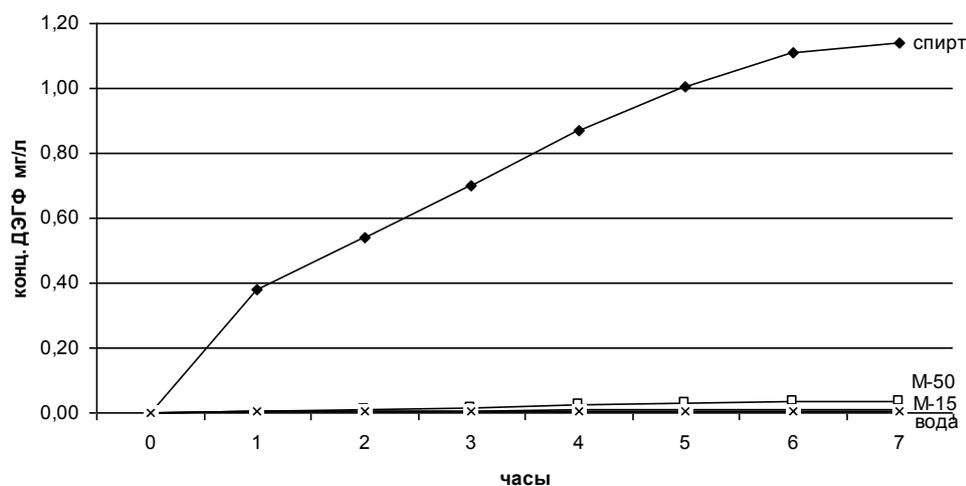


Рис. 4.5. Кинетические кривые изменения концентрации ДЭГФ в водно-спиртовых растворах в процессе миграции фталата из ПВХ. Температура 25°С

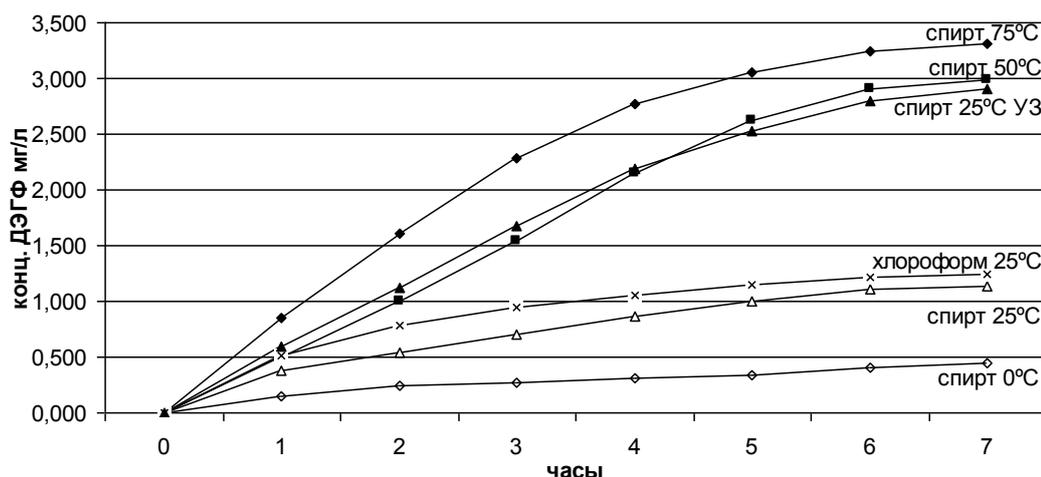


Рис. 4.6. Кинетические кривые изменения концентрации ДЭГФ в спиртовых растворах (96,4 об.%) в процессе миграции из ПВХ при различных температурах. Сопоставление данных извлечения ДЭГФ в хлороформ и в этанол под действием УЗ

На рисунке 4.5 разница в изменении содержания ДЭГФ между этанолом и М-50 в 38,5 раз превышает соответствующий интервал между водой и М-50. Присутствие воды в растворе подавляет миграцию ДЭГФ более чем в 7 раз сильнее, нежели в случае ДБФ.

Кривые рисунка 4.6, как и в случае ДБФ, демонстрируют существенное изменение скорости миграции ДЭГФ из ПВХ в этанол при УЗ воздействии.

Аналогично ДБФ исследована зависимость скорости миграции ДЭГФ в растворы с различной концентрацией спирта: 0, 15, 35, 50, 75 и 96 об. % при 25°C (рис. 4.7). При расчете средних скоростей миграции использовали данные полученные за первые 4 часа извлечения, результаты выражены в нмоль/ч. А так же исследована миграция ДЭГФ из ПВХ при различных температурах: 0, 25, 40, 50, 60, 75°C, при фиксированном значении концентрации этилового спирта 96,4 об.% (рис. 4.8). Данные для построения зависимости взяты в интервале линейного изменения концентраций ДЭГФ, то есть первых трех часов.

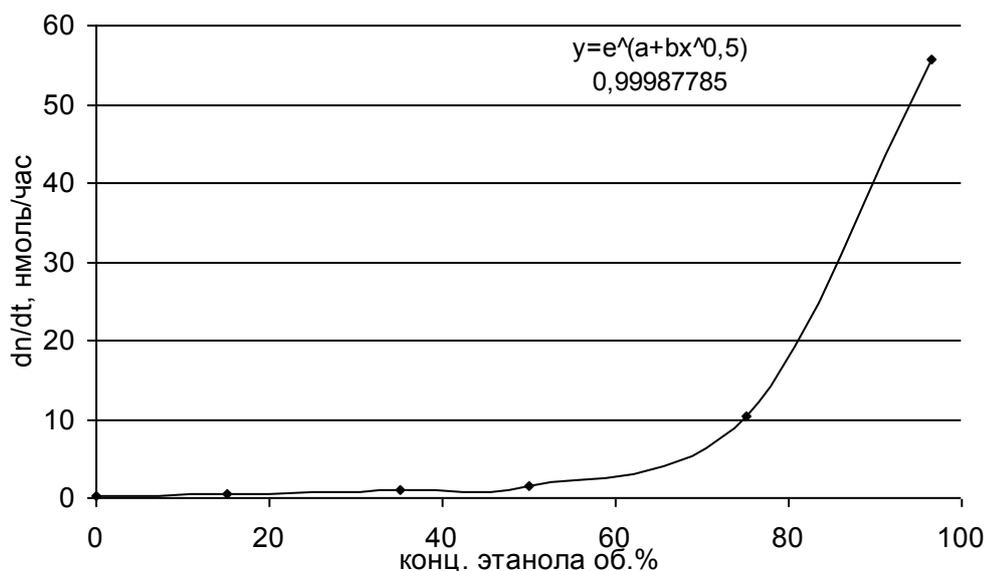


Рис. 4.7. Зависимость скорости миграции ДЭГФ из исследованного образца ПВХ от содержания спирта в растворе

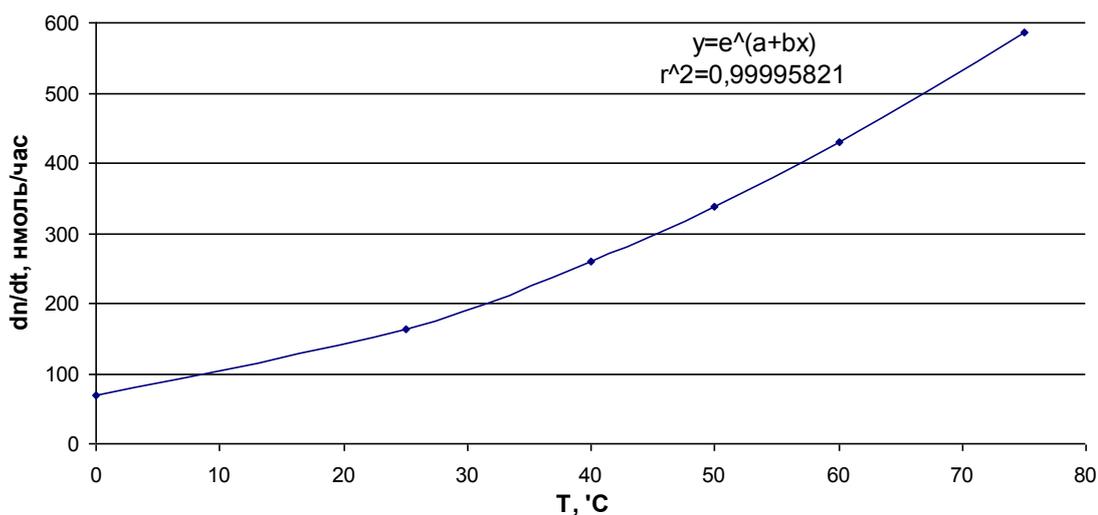


Рис. 4.8. Зависимость скорости миграции ДЭГФ из исследованного образца ПВХ от температуры системы

Анализируя полученные данные, в частности диаграммы на рисунках 4.2 и 4.7, отражающие миграцию фталатов, можно утверждать, что скорость естественного извлечения зависит не столько от содержания спирта в модели, сколько от содержания воды. Растворимость фталатов в воде имеет ключевое значение при рассмотрении процесса миграции в водные среды (таблиц А8.1 и А8.2). Кривая миграции ДЭГФ имеет более пологий участок на интервале концентраций 100 – 25 об.% воды в модели, в сравнении с соответствующей кривой ДБФ. А общую тенденцию изменения скорости

миграции ДБФ и ДЭГФ в растворы с различным соотношением этанол : вода можно выразить линейной аппроксимацией логарифмов значений dn/dt (рис 4.9), представленных на рисунках 4.2 и 4.7.

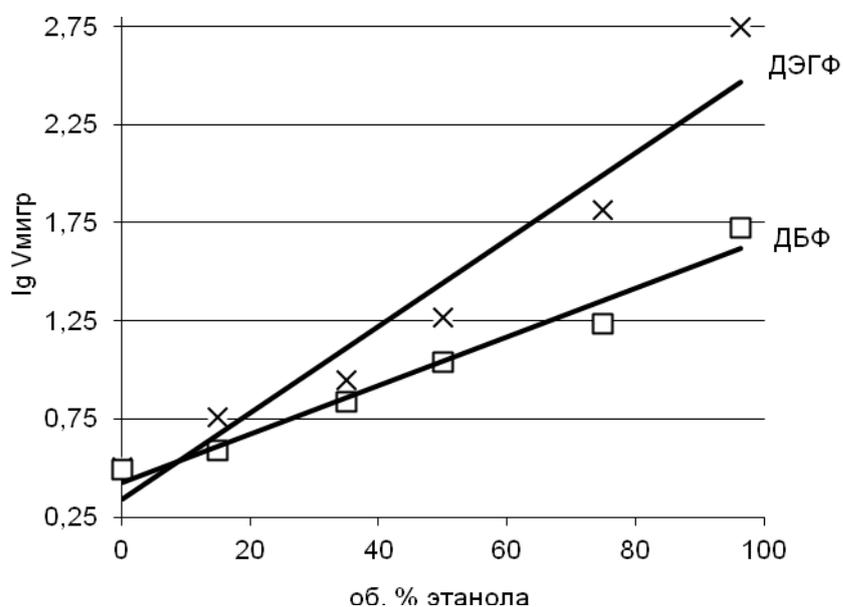


Рис. 4.9. Зависимость $\lg \mathcal{Q}_{\text{миграции}}$ ДБФ и ДЭГФ из ПВХ от концентрации этилового спирта в растворе

Снижение наклона кинетических кривых на рисунках 4.3, 4.5 и 4.6, по прошествии 5-6 часов эксперимента, вероятнее всего, является причиной снижения концентрации соответствующих фталатов в поверхностном слое рассматриваемого полимера. Возникновение данного эффекта по причине истощения растворяющей емкости растворителя была исключена в связи с фактом продолжения процесса миграции после 7 часов. Существенные увеличения концентраций фталатов в растворах за 24 и 48 часов в сравнении с предыдущей точкой «7 часов» отмечены на моделях, этаноле и хлороформе при 0 и 25°C.

По аналогичной схеме получены данные по миграции пластификаторов из вулканизированного каучука. Данные миграции ДБФ из образца резины в различные среды и при различных температурах представлены на рисунках 4.10, 4.11 и 4.12, соответственно.

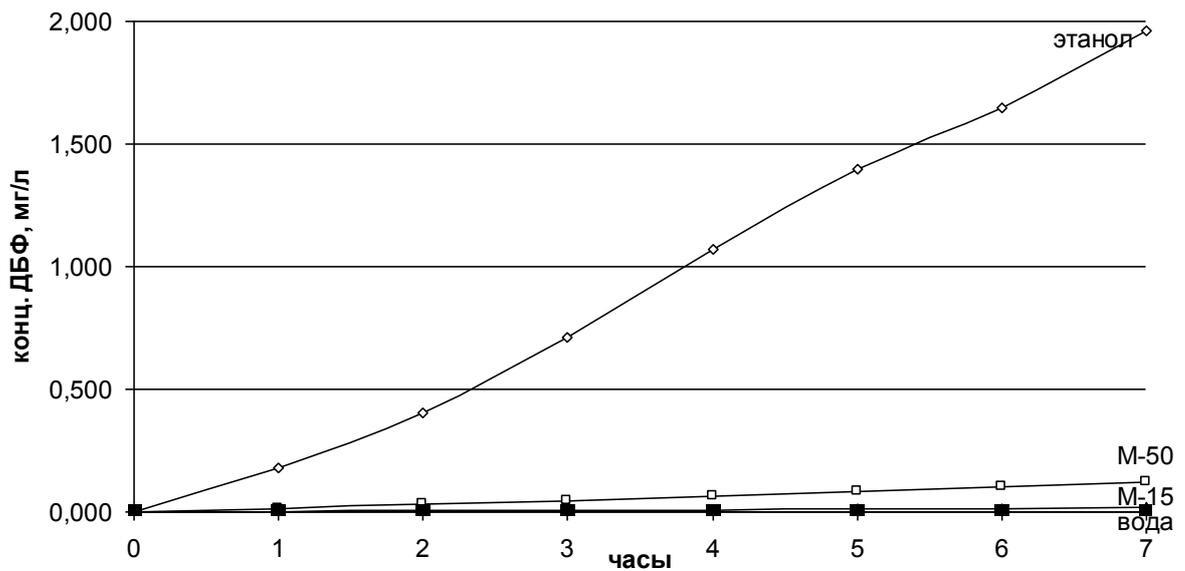


Рис. 4.10. Кинетические кривые изменения концентрации ДБФ в водно-спиртовых растворах в процессе миграции фталата из вулканизированного каучука. Температура 25°C

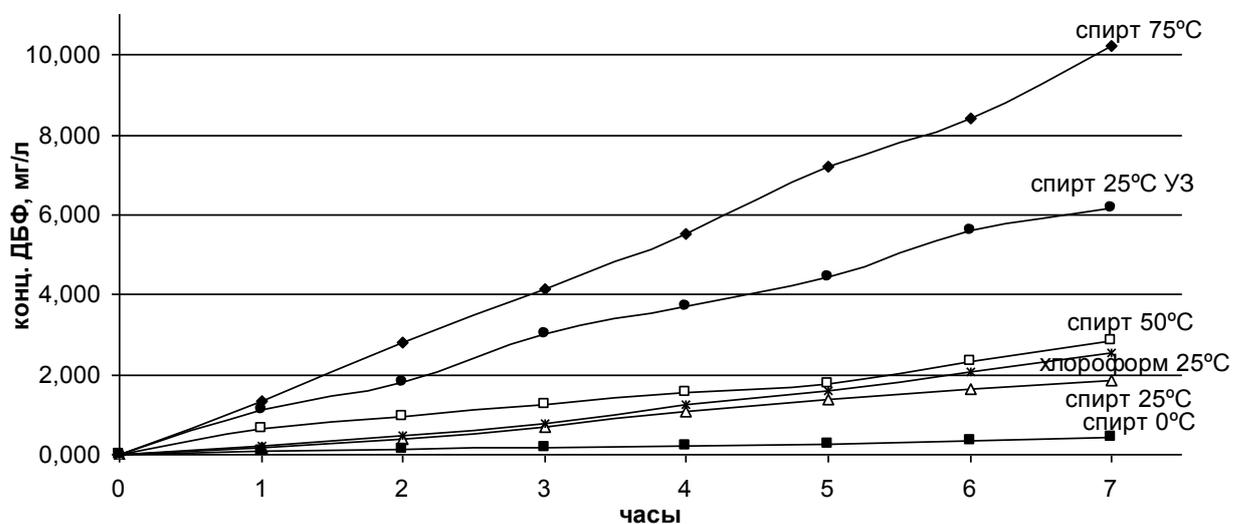


Рис. 4.11. Кинетические кривые изменения концентрации ДБФ в растворе (этиловый спирт 96,4 об.%) в процессе миграции фталата из вулканизированного каучука при различных температурах (0, 25, 50 и 75°C). Сопоставление данных извлечения ДБФ в хлороформ и в этанол под действием УЗ

Изменение пропорциональности в извлечении ДБФ из каучука в модельные растворы в системах этанол/М-50 и М-50/вода (18/1), в сравнении с миграцией из ПВХ,

указывает на то, что одним из факторов определяющих скорость извлечения, является исходное содержание фталата в полимере.

Как и в экспериментах с ПВХ, УЗ оказывает существенное влияние на извлечение фталата из исследуемого материала.

С целью определения влияния температурного фактора на миграцию фталата из полимера, был проведен эксперимент по миграции ДБФ из пластифицированного каучука в воду. Даже при относительно высокой температуре, за 7 часов наблюдали изменение концентрации ДБФ, меньше чем на 0,08 мг/дм³.

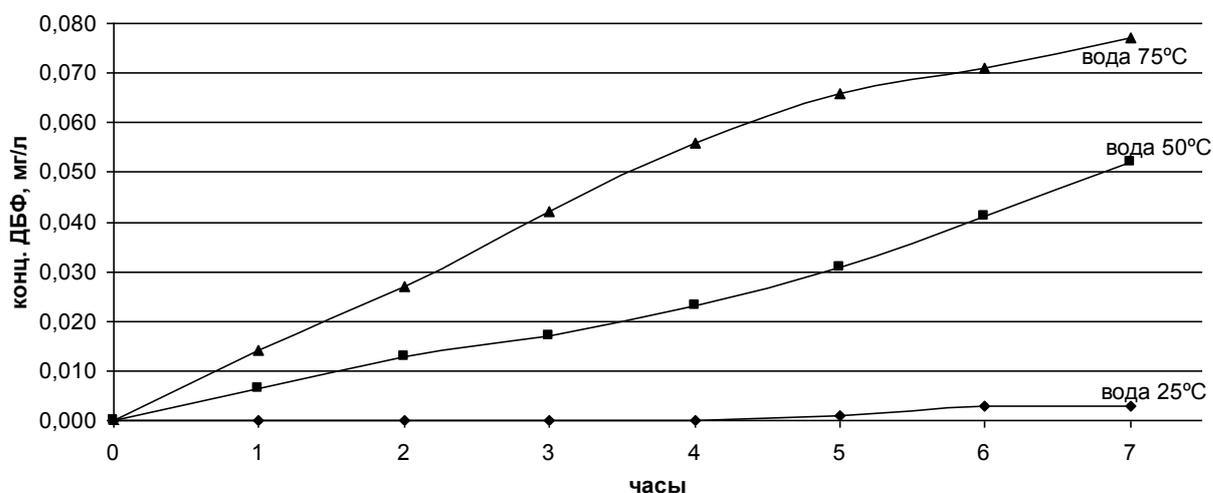


Рис. 4.12. Кинетические кривые изменения концентрации ДБФ в обратноосмотической воде в процессе миграции фталата из вулканизированного каучука при различных температурах (25, 50 и 75°C)

Для построения более подробной кривой миграции, как функция от содержания спирта (воды) в составе модели, были дополнительно установлены изменения скорости миграции фталата за 7 часов в растворах с концентрациями этанола 15, 35 и 75 об.%.

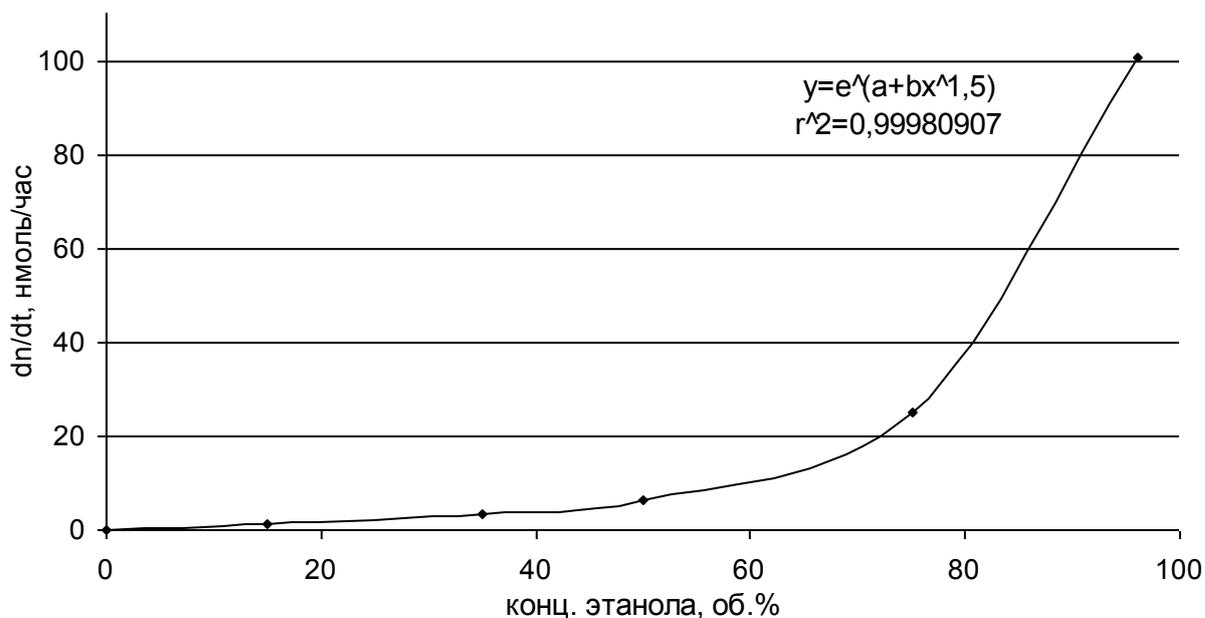


Рис. 4.13. Скорость миграции ДБФ из образца пластифицированного каучука как функция от концентрации этанола в модельном растворе

Как показано на графике рисунка 4.13, относительный рост скорости миграции, как и в предыдущих экспериментах, наблюдается при снижении содержания воды в растворе миграции до значений 25-20 об.%.

Как и в примере с ПВХ, определение температурной зависимости миграции ДБФ в этиловый спирт, было дополнено точками экспериментальных данных при температурах 40 и 60°C. Скорость выражена в нмоль фталата в час.

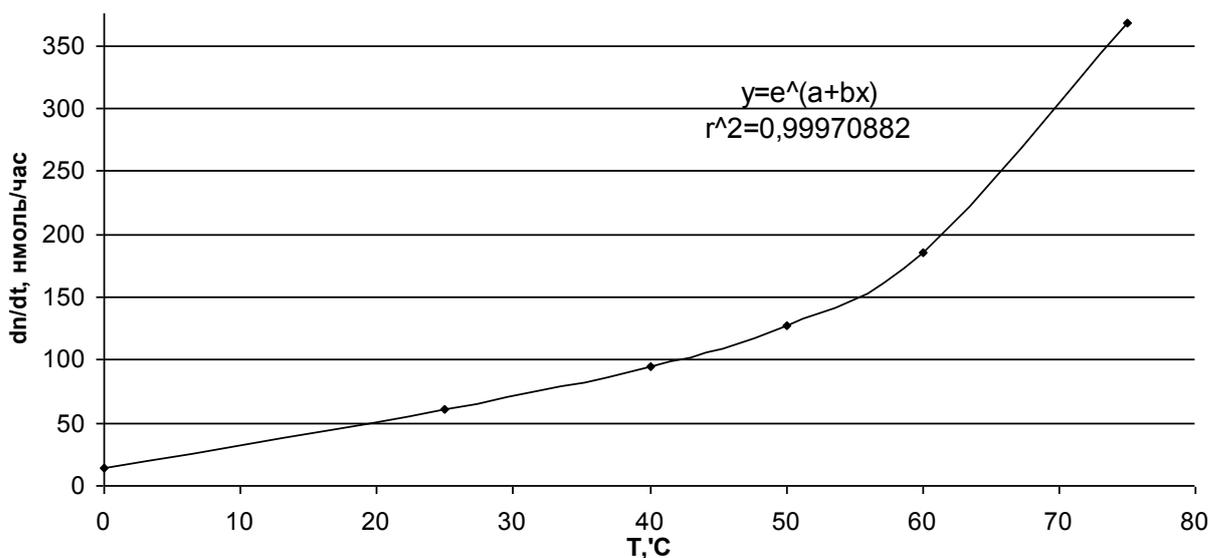


Рис. 4.14. Влияние температурного фактора на скорость миграции ДБФ из образца пластифицированного каучука

Кривые миграции ДЭГФ из образца пластифицированного каучука, приведенные на рисунках 4.15 и 4.16, построенные по данным таблицы 4.8, имеют стабильную линейную тенденцию на всем временном интервале. Принимая во внимание этот факт, дальнейшие расчеты этой серии экспериментов проводили с данными, являющимися средними значениями за 7 часов.

Существенно отметить, что миграция фталата в водную среду (рис. 4.17) протекает значительно менее энергично при рассмотренных температурах, и видимое изменение концентрации регистрируется только спустя 2-4 часа с начала эксперимента.

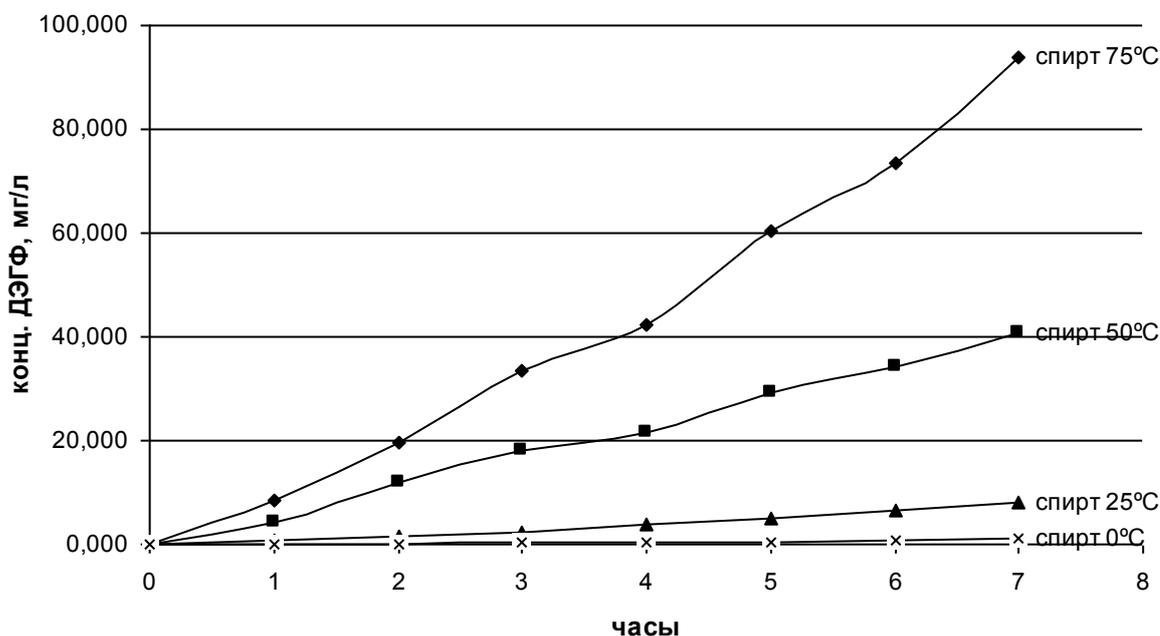


Рис. 4.15. Кинетические кривые изменения концентрации ДЭГФ в растворе (этиловый спирт 96,4 об.%) в процессе миграции фталата из вулканизированного каучука при различных температурах (0, 25, 50 и 75°C)

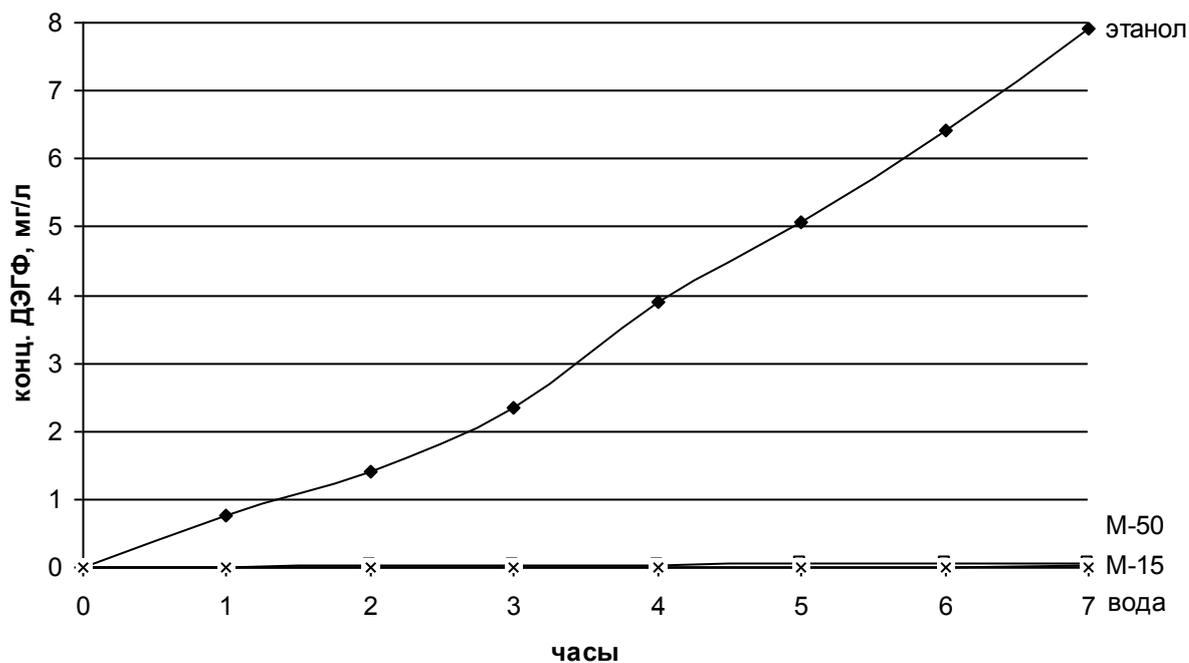


Рис. 4.16. Кинетические кривые изменения концентрации ДЭГФ в модельных растворах в процессе миграции фталата из образца пластифицированного каучука. Температура 25°C

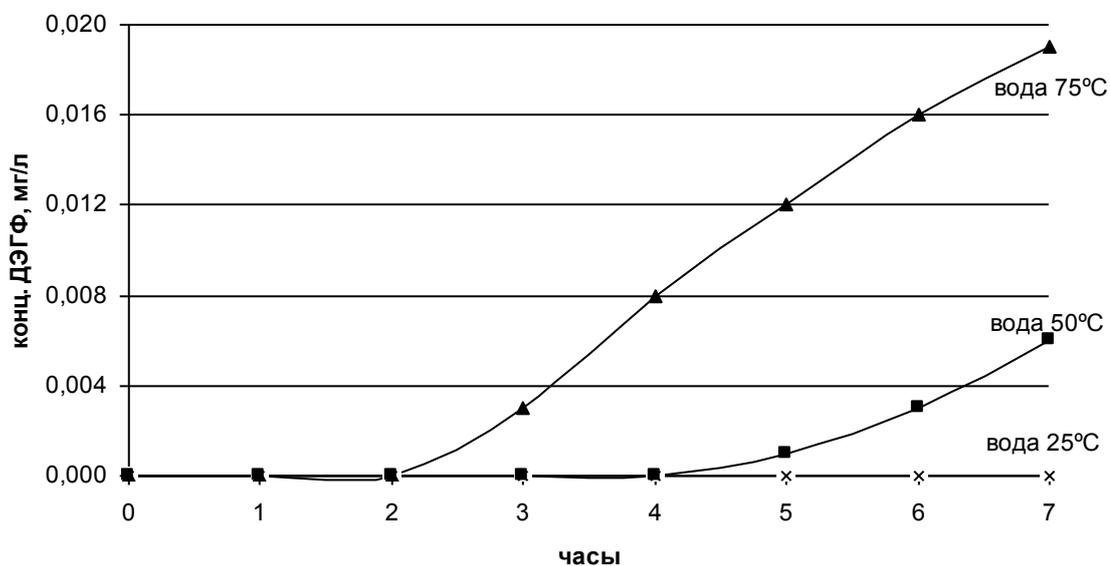


Рис. 4.17. Кинетические кривые изменения концентрации ДЭГФ в растворе (этиловый спирт 96,4 об.%) в процессе миграции фталата из вулканизированного каучука при различных температурах (25, 50 и 75°C)

Уравнение кривой и кривая зависимости изменения скорости миграции ДЭГФ из исследованного образца пластифицированного каучука от температуры раствора, отражены на рисунке 4.18.

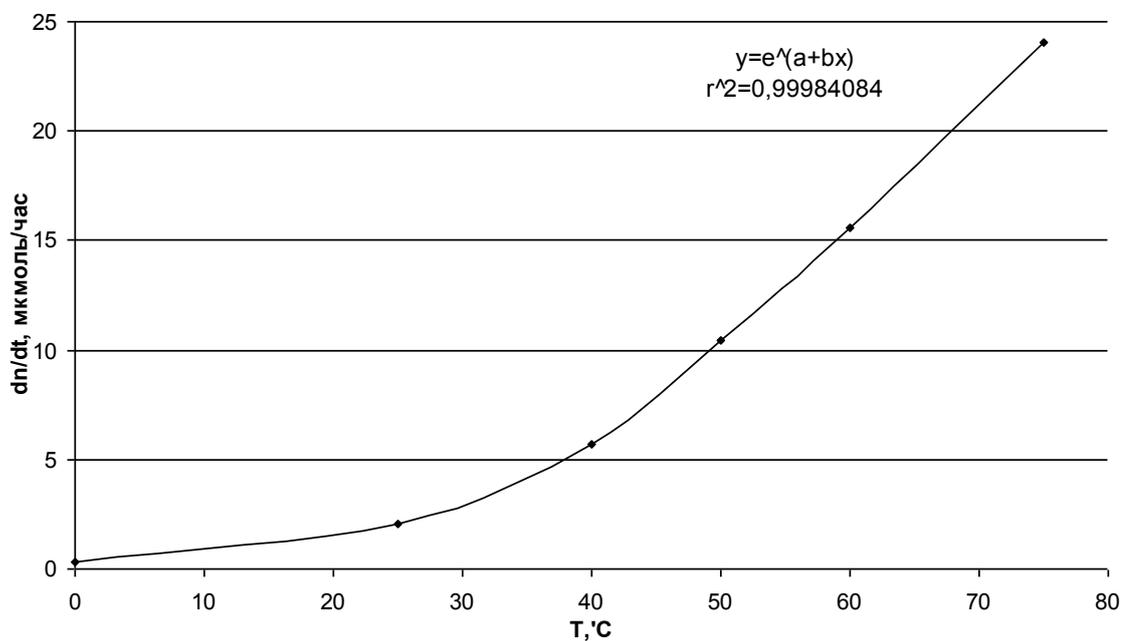


Рис. 4.18. Влияние температурного фактора на скорость миграции ДЭГФ (dn/dt) в этанол, конц.=96,4 об.%, из образца пластифицированного каучука

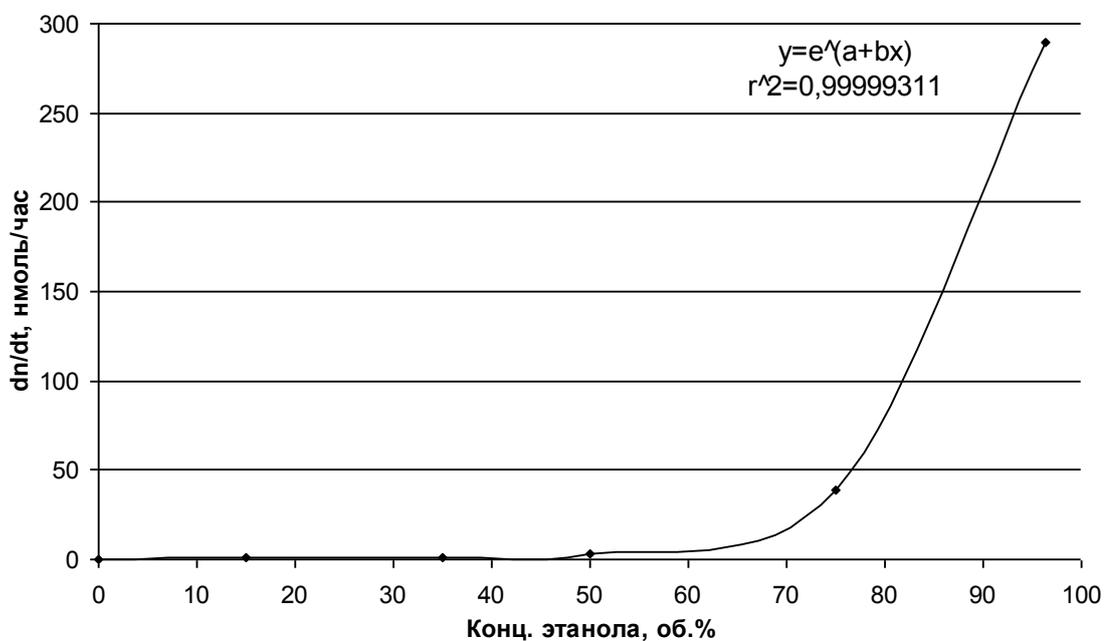


Рис. 4.19. Скорость миграции ДЭГФ из образца пластифицированного каучука как функция от концентрации этанола (0, 15, 35, 50, 75, 96 об.%) в модельном растворе, в изотермических условиях (25°C)

Формы кривых на рисунках 4.13 и 4.19 хорошо коррелируют с соответствующими зависимостями ДБФ и ДЭГФ в случае миграции из пластифицированного ПВХ. Логарифмы данных кривых сопоставлены на рисунке 4.20.

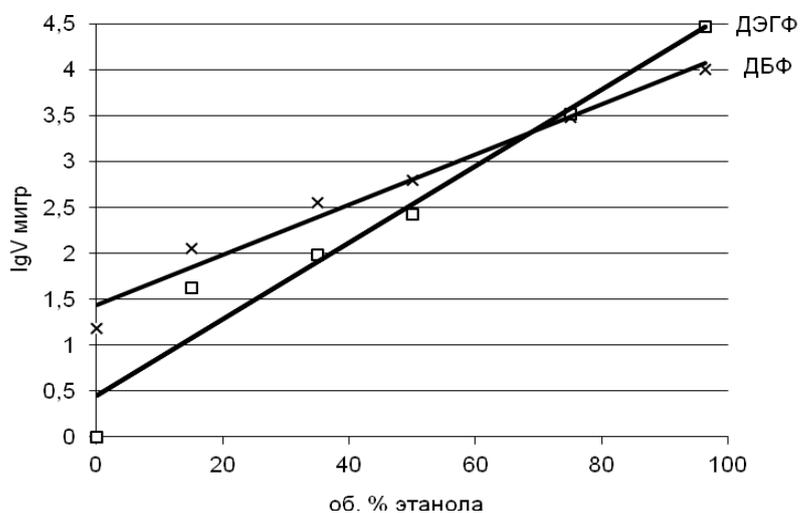


Рис. 4.20. Зависимость $\lg \mathcal{G}_{\text{миграции}} = f(C_{\text{этанола}})$ ДБФ и ДЭГФ из образца пластифицированного каучука

Углы наклона являются следствием различной растворимости исследованных фталатов в воде.

Сопоставление данных по миграции фталатов в спиртовую среду в стандартных условиях (статика, $T \sim 25^\circ\text{C}$, P - атмосферное) с миграцией в условии физического воздействия, такого как ультразвуковое, позволяет говорить о существенном увеличении скорости извлечения пластификатора из исследуемого полимера. Согласно данным таблиц 4.5 - 4.8, скорость извлечения ДБФ и ДЭГФ из рассмотренных полимеров под действием ультразвукового воздействия увеличивается в 2,5-6 раз. Данный эффект, вероятно, обусловлен увеличением подвижности пластификатора в объеме полимера и его более энергичной миграцией к границе раздела фаз.

4.2.2. Фталаты в контактирующих материалах, используемых в условиях производства винодельческой отрасли

Исследования процессов миграции фталатов в продукты винодельческой отрасли в период 2010-2014 гг. сопровождалось оценкой материалов натурального и синтетического происхождения, непосредственно применяемые в процессах производства, обработки,

хранения (выдержки) и упаковки продукта. Материалы, описанные в существующем разделе, взяты из реального производства.

Краска, футеровка, эмали, лаки и отвердители, применяемые в обработке поверхностей контактирующих с сырьем или продуктом в процессе производства на различных его этапах, были изучены на предмет миграции фталатов в спиртовую среду (таб. 4.9) за 24 часа, при комнатной температуре, в статических условиях. В представленной таблице 4.9, в пунктах 1-6, представлены материалы, применяемые в процессах переработки сырья, брожения и хранения продукта. Пункты 7-12 таблицы 4.9, указывают на натуральные и искусственные материалы, активно использующиеся в обработке виноматериалов прошедших этап ферментации. Данные миграции в таблице представлены в ppm и соответствуют извлечению фталатов из материала в миллиграммах в пересчете на килограмм исследованного объекта. Обозначение (<LOD) указывает на отсутствие фталата в образце, либо его содержание ниже предела обнаружения данной аналитической процедурой.

Таблица 4.9. Миграция фталатов из исследованных материалов в спиртовую среду (96,4 об.%) за 24 часа

	Наименование	ДМФ, ppm	ДЭФ, ppm	ДБФ, ppm	ДЭГФ, ppm
1	Краски	<LOD	<LOD	0 - 867,4	0 – 55,7
2	Футеровка	<LOD	<LOD	0 - 94,6	0 – 34,44
3	Эмаль	<LOD	<LOD	0 - 29,5	0 – 11,589
4	Лак	<LOD	<LOD	63,7	13,15
5	Отвердитель	<LOD	<LOD	33,2	<LOD
6	Шланги	<LOD	<LOD	0 - 170,0	0 – 2478,5
7	Фильтр-картон	<LOD	0 – 0,020	0,068 – 0,406	0,025 – 0,241
8	Перлит	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
9	Добавки для дрожжей	<LOD	<LOD	0 – 0,019	0 – 1,016
10	Бентонит	<LOD	<LOD	0,023	<LOD
11	Желатин	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
12	Кизельгур	0 - 0,082	0 - 0,104	0,05 - 4,204	0 - 0,067

Необходимо отметить, что в п.1 таблицы 4.9, указаны диапазоны миграции фталатов из образцов, как свежей краски, так и бывших в употреблении. Образцы краски с внутренней стороны металлических емкостей для хранения вина/виноматериала, были предоставлены винзаводами для исследования на содержание фталатов. Изучению подверглись образцы покрытий, контактировавших с продуктом в течении одного и более винодельческих сезонов. Примечателен факт, что миграция фталатов из образцов, контактировавших с алкогольной продукцией, в большинстве случаев отлична от нуля. Эмиссия ДБФ из образцов, находившихся в спиртсодержащей среде около года, составила 0-65,7мг ДБФ в пересчете на килограмм полимера за 24 часа. Отмечена миграция ДБФ из

образцов спустя 3 и более 5 лет контакта со спиртосодержащей средой, и составила 0-35,1 и 6,9 мг ДБФ в пересчете на килограмм полимера за 24 часа соответственно.

В продолжение выяснения роли контактирующих материалов в контаминировании алкогольной продукции была исследована миграция фталатов из укупорочного материала, применяемого отечественными предприятиями. Все объекты, предоставленные заводами, были в надлежащем товарном виде и не находившиеся в эксплуатации. Всего было исследовано 36 видов различных корковых (цельные и прессованные) пробки для укупорки вина, бренди и дивинов, 6 видов полимерных винных пробок, а также более 20 образцов различных крышек, уплотнителей, дозаторов и пр. укупорочных средств, содержащих полимерные фрагменты, применяемых в алкогольной промышленности. Процесс извлечения проводили по вышеописанной схеме – объект полностью погружали в спиртовой раствор на 24 часа. Дозаторы исследовали фрагментарно, т.е. составные части анализировали отдельно. В случае винных корковых пробок изучали миграцию из целых и измельченных образцов. Как результат необходимо отметить, что из всех фталатов был обнаружен только ДБФ и лишь в четырех образцах в следовых количествах, на поверхности пробки. Таким образом, становится очевидным, что обнаруженный ДБФ является следствием нарушения условий хранения или транспортировки укупорочного материала.

Касательно миграции фталатов были рассмотрены образцы упаковок готового продукта, выполненного по технологии “bag-in-box”. Все элементы тары исследовали отдельно в спиртовом растворе (96,4 об.%). Ни один из восьми различных исследованных образцов, представленных предприятиями для изучения процесса миграции, не показал присутствия в полимерах составных частей фталатов (в детектируемом количестве).

4.3. Степень контаминирования фталатами продуктов винодельческой отрасли

Мониторинг продуктов винодельческой отрасли продолжительностью в 4 года позволяет судить об уровне контаминирования фталатами с большой степенью достоверности. Объекты исследования разделены на пять категорий. Первая категория – виноградное сусло – сырье для винодельческой отрасли, представляющая собой безспиртовую среду, не прошедшую процесс ферментации. Следующие две категории – виноматериал и вино. Виноматериал – ферментированное виноградное сусло, не прошедшее обработку. Вино – виноматериал прошедший процессы физико-химической (оклейка, обработка сорбентами), физической обработки (фильтрация, температурная

обработка) и выдержки (не обязательно!). Заключительные две категории: дивины (бренди) – водно-спиртовые растворы с объемным содержанием спиртов 39,4-50,6% [151 стр. 65], и винные дистилляты с объемным содержанием спиртов 62-70% [151 стр. 69]. Сверх того для сравнения в таблицах 4.3.1-4.3.4 представлены данные, свидетельствующие о степени контаминирования продуктов не винодельческой, но алкогольной промышленности РМ.

Таблицы, представленные ниже, отражают степень загрязнения фталатами выше обозначенных категорий; данные разбиты по соответствующим диапазонам концентраций. Кроме того, для каждой категории представлены максимальные значения концентраций обнаруженных фталатов (курсивом, в мг/дм³).

В графах таблиц 4.10 - 4.13 «Диапазоны содержания...» 100% соответствует: сусла – 41 образец; виноматериала - 1856 образцов; вина – 1191 образец; дивина (бренди) – 644 образцов; винных дистиллятов – 189 образцов; водки и спирта зернового – 52 и 27 образцов, соответственно.

Таблица 4.10. Распределение уровней контаминирования продуктов алкогольной промышленности диметилфталатом (ДМФ)

Интервалы конц. Продукт	Диапазоны содержания ДМФ в алкогольной продукции		
	<0,01 мг/дм ³ (*)	0,01-0,30 мг/дм ³ (**)	>0,30 мг/дм ³
Сусло	85,2%	14,8% (0,048)	0%
Виноматериал	100%	0%	0%
Вино	99,8%	0,2% (0,01)	0%
Дивин (бренди)	99,7%	0,3% (0,03)	0%
Винный дистиллят	97,0%	4,0%	3,0% (17,18)
Водка	100%	0%	0%
Спирт зерновой	100%	0%	0%

* - 0,01 мг/дм³ – предел количественного определения.

** - 0,30 мг/дм³ – ПДК согласно СанПин 4630-88 [163].

Таблица 4.11. Распределение уровней контаминирования продуктов
алкогольной промышленности диэтилфталатом (ДЭФ)

Продукт \ Интервалы конц.	Диапазоны содержания ДЭФ в алкогольной продукции		
	<0,01 мг/дм ³ (*)	0,01-3,00 мг/дм ³ (**)	>3,00 мг/дм ³
Сусло	100%	0%	0%
Виноматериал	100%	0%	0%
Вино	99,9%	0,1% (0,01)	0%
Дивин (бренди)	96,2%	3,8% (0,11)	0%
Винный дистиллят	97,0%	3,0% (0,03)	0%
Водка	100%	0%	0%
Спирт зерновой	92,6%	7,4% (0,02)	0%

* - 0,01 мг/дм³ – предел количественного определения.

** - 3,00 мг/дм³ – ПДК согласно ГН 2.1.5.2280-07 [4].

Таблица 4.12. Распределение уровней контаминирования продуктов
алкогольной промышленности дибутилфталатом (ДБФ)

Продукт \ Интервалы конц.	Диапазоны содержания ДБФ в алкогольной продукции			
	<0,01 мг/дм ³ (*)	0,01-0,20 мг/дм ³ (**)	0,20-0,30 мг/дм ³ (***)	>0,30 мг/дм ³ (4*)
Сусло	83,8%	13,5%	0%	2,7% (0,33)
Виноматериал	87,1%	12,9% (0,16)	0%	0%
Вино	25,5%	67,9%	2,7%	3,9% (1,21)
Дивин (бренди)	0,8%	28,7%	19,3%	51,2% (3,47)
Винный дистиллят	0%	29,6%	26,6%	43,8% (3,71)
Водка	45,8%	0%	52,1%	2,1% (0,44)
Спирт зерновой	62,9%	25,9%	7,4%	3,7% (0,47)

* - 0,01 мг/дм³ – предел количественного определения; допустимое содержание ДБФ в алкогольной продукции, согласно ГН 2.3.3.972-00 [5].

** - 0,20 мг/дм³ – предел допустимого содержания ДБФ, согласно ГН 2.1.5.2280.07 [4].

*** - 0,30 мг/дм³ – ПДК ДБФ для пищевой продукции, согласно европейской директиве [3].

4* - содержание ДБФ, запрещенное любой системой гигиенического нормирования для пищевой продукции.

Таблица 4.13. Распределение уровней контаминирования продуктов алкогольной промышленности бис(2-этилгексил)фталатом (ДЭГФ)

Интервалы конц. Продукт	Диапазоны содержания ДЭГФ в алкогольной продукции		
	<0,008 мг/дм ³ (*)	0,008-0,050 мг/дм ³ (**)	>0,050 мг/дм ³
Сусло	85,2%	14,8% (0,048)	0%
Виноматериал	94,2%	5,8% (0,016)	0%
Вино	77,4%	21,5%	1,1% (1,279)
Дивин (бренди)	2,4%	4,2%	93,4% (4,906)
Винный дистиллят	0%	0%	100% (51,23)
Водка	44,5%	22,2%	33,3% (0,502)
Спирт зерновой	0%	12,5%	87,5% (65,86)

* - 0,008 мг/дм³ – предел количественного определения; допустимое содержание ДЭГФ в алкогольной продукции, согласно ГН 2.1.5.2280.07 [4].

** - 0,050 мг/дм³ – предел количественного определения ДЭГФ, согласно OIV-MA-BS-33. [164].

Данные, представленные выше, хорошо коррелируют с экспериментально полученными зависимостями и выводами п.4.2.1. Кроме этого важно отметить, что степень контаминирования продукта существенно зависит от времени контакта с фталатсодержащими полимерами. Данный тезис подтверждается фактом практически стопроцентного контаминирования фталатом(-ми) винных дистиллятов и дивинов из-за технологической «особенности» производства – обязательной выдержки продукта. В дополнение необходимо отметить, что все образцы контрафактных дивинов, проанализированные на базе исследовательской лаборатории НЦИКАП, показали низкий уровень контаминирования любыми фталатами. Имеющееся загрязнение данных образцов, вероятно, является следствием низкого качества сырья, нежели свидетельством процесса выдержки. Данные по контрафактным образцам не учитывали при расчетах значений таблиц 4.10 - 4.13.

Низкая степень загрязнения виноматериалов также указывает на то, что ключевые этапы контаминирования находятся на стадиях обработки и хранения продукта.

С начала работы по мониторингу уровней загрязнения фталатами продуктов винодельческой отрасли (ДБФ с июня 2010г. и ДЭГФ с апреля 2011г.), были рассчитаны средние значения обнаруженных концентраций ДБФ и ДЭГФ за календарный квартал. По полученным расчетным данным построены графики (рис. 4.17 и 4.18) отражающие общую тенденцию изменения степени контаминирования фталатами проанализированных образцов вин/виноматериалов (В) и дивинов/винных дистиллятов (Д).

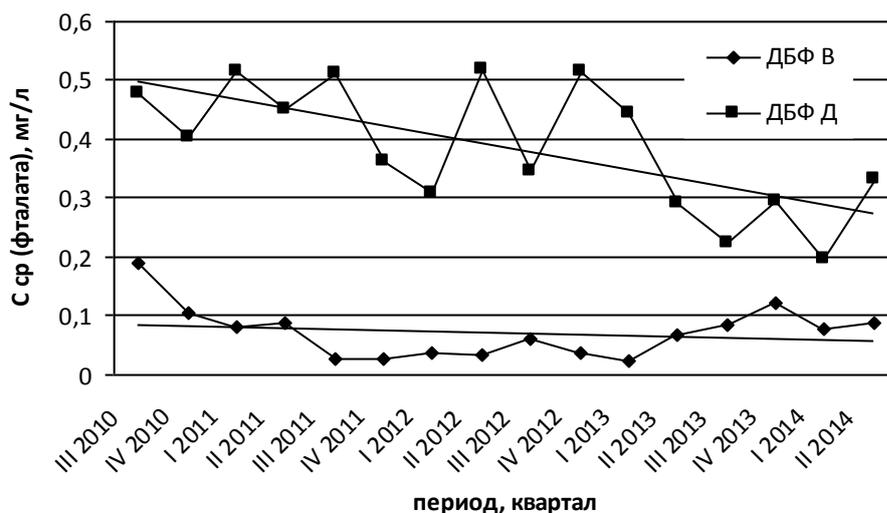


Рис. 4.17. Средние значения уровней загрязнения дибутилфталатом вин/виноматериалов (В) и дивинов/винных дистиллятов (Д), выраженных в мг/л

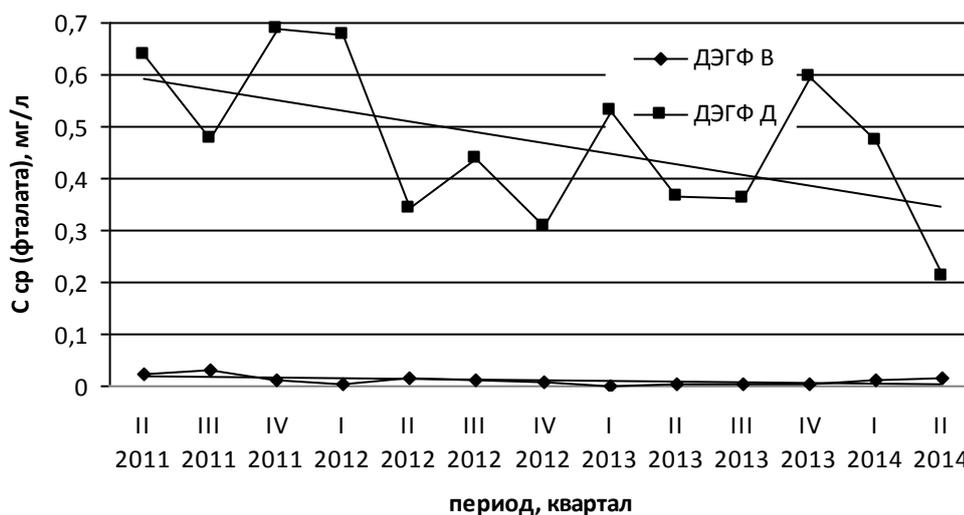


Рис. 4.18. Средние значения уровней загрязнения бис(2-этилгексил)фталатом вин/виноматериалов (В) и дивинов/винных дистиллятов (Д), выраженных в мг/л

Общая тенденция изменения средних значений зарегистрированных концентраций на графиках рисунков 4.17 и 4.18, демонстрируют снижение ДБФ в дивинах и винных дистиллятах на ~50% за 4 года мониторинга, и на ~40% ДЭГФ за 3 года. В случае вин и виноматериалов, соответствующие значения составляют для ДБФ за 4 года и ДЭГФ за 3 года мониторинга – ~25% и ~40%

4.4. Выводы к главе 4:

- Скорость миграции фталатов находится в прямой зависимости от химического состава раствора, в среду которого происходит извлечение вещества;
- На скорость миграции фталатов существенное влияние оказывают физические факторы, такие как температура и механическое воздействие, в частности УЗ.
- Существенный вклад в контаминирование продукта вносит временной показатель, что наглядно продемонстрировано на примере систем виноматериал/вино.
- Материалы, применяемые в производстве, для обработки ферментированного продукта, так же могут являться дополнительной причиной загрязнения.

5. ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ФТАЛАТОВ В СПИРТСОДЕРЖАЩИХ СРЕДАХ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФИЗИЧЕСКИХ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ И БИОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

5.1. Абиотическая сорбция фталатов

Данный раздел работы посвящен исследованию взаимодействия ряда сорбентов с фталатами в модельных и реальных растворах [165]. В работе использовали промышленные препараты, находящие применение в виноделии. Для исправления возникающих пороков и недостатков в виноделии используются сорбенты органической и минеральной природы. В их числе натуральные и искусственные материалы, такие как бентонит, кизельгур, активированный уголь, силикагель. Сорбционная способность перечисленных препаратов в отношении эфиров ФК изучена по причине их активного применения. В дополнение, изучена полезная и побочная активность синтетических сорбентов на основе дивинилбензола (ДВБ) [91, 96, 97, 100].

Наименования и доступная информация о характеристиках исследованных материалов представлены в таблице 5.1.

Таблица 5.1. Наименования и характеристики сорбентов

Наименование	Тип	Характеристики материалов
Бентонит CLARIT® PLV 45	Адсорбент	(Натриевый) 60—70 % — монтмориллонит (Al ₂ [Si ₄ O ₁₀](OH) ₂ ·nH ₂ O)
Активированный уголь BEGEROW SINA FA	Адсорбент	Активированный фосфорной кислотой. S _{пор} =950 м ² /г.
Кизельгур BECOGUR 3500	Адсорбент	Кизельгур кальцинированный, V _{пор} =1,0 мл/г, S _{пор} ≤50 м ² /г.
Силикагель	Адсорбент	силикагель L 40/100μ (для колоночной хроматографии)
Фибан К-1	Катионит	Полипропиленовое волокно с привитым сополимером стирола и дивинилбензола (функциональная группа -SO ₃ ⁻ H ⁺)
Relite SP 411	Адсорбент	Стирол-дивинилбензол. V _{пор} =1,3 мл/г. S _{пор} =600 м ² /г. r _{пор} =10-15нм
Relite RAM 1	Анионит	Стирол-дивинилбензол (высокопористый). (функциональная группа – третичный амин)

5.1.1. Сорбционная емкость адсорбентов и ионитов

Практическое определение базовой емкости сорбентов по отношению к фталатам, проводили в водно-спиртовом растворе М-50. Концентрации фталатов (ДМФ, ДЭФ, ДБФ, ДЭГФ, ДОФ и ДДФ) в серии растворов составляли 0,8, 2,4, 4,0, 5,6, 7,2 и 8,8 мг/дм³. Выше

описанные сорбенты испытывали в изотермических, статических условиях. Время – 24 часа (установлено, что при концентрации фталата $8,8 \text{ мг/дм}^3$ в указанных условиях динамическое равновесие устанавливается за 20 часов). Объем раствора – 100 мл в емкостях одинаковой геометрии на 200 мл. Масса сорбента – 1,0 г была установлена как оптимальное соотношение сорбент / объект исследования – 1/100. Данные пропорции были выбраны из серии испытаний соотношений от 1/25 до 1/5000. Пропорции 1/100 обеспечивали достаточную для количественного оценивания сорбцию фталатов на модели, и оказывают менее существенное негативное воздействие на матрицы реальных образцов.

Емкость сорбентов устанавливали для каждого из фталатов в отдельности, для чего готовили растворы с содержанием только одного фталата в растворе. Сорбционная емкость адсорбентов и ионитов, представленная в таблице 5.2, выражена в микроль фталата на грамм сорбента. Приведенные значения представляют собой расчетные величины предельной адсорбции - Γ_{∞} .

Таблица 5.2. Расчетные величины предельной адсорбции изученных материалов
(Γ_{∞} , мкмоль/г)

Наименование	ДМФ	ДЭФ	ДФФ	ДЭГФ	ДОФ	ДДФ
Активированный уголь	3,65	3,59	3,70	3,81	3,80	3,66
Бентонит	$1,2 \cdot 10^{-2}$	$9,5 \cdot 10^{-3}$	$3,3 \cdot 10^{-2}$	$7,2 \cdot 10^{-3}$	$4,3 \cdot 10^{-3}$	$1,7 \cdot 10^{-3}$
Кизельгур	$8,8 \cdot 10^{-4}$	$5,9 \cdot 10^{-4}$	$9,0 \cdot 10^{-4}$	$8,9 \cdot 10^{-4}$	$9,0 \cdot 10^{-4}$	$6,8 \cdot 10^{-4}$
Силикагель	$3,2 \cdot 10^{-2}$	$2,7 \cdot 10^{-2}$	$2,5 \cdot 10^{-2}$	$2,1 \cdot 10^{-2}$	$2,0 \cdot 10^{-2}$	$2,6 \cdot 10^{-2}$
Фибан К-1	0,57	0,61	0,67	0,69	0,67	0,67
RAM 1	0,69	0,74	0,71	0,76	0,77	0,73
SP 411	3,39	3,58	3,33	3,30	3,21	3,39

По результатам полученных данных можно заключить, что сорбционная емкость материалов находится в непосредственной зависимости от их химического средства.

Сравнение результатов позволяет судить об относительной эффективности каждого сорбента. Наиболее высокую сорбционную активность демонстрируют синтетические материалы и активированный уголь.

Гидрофильные адсорбенты бентонит, кизельгур и силикагель продемонстрировали прогнозировано низкую активность.

Ионообменные полимеры RAM 1 и Фибан К-1 продемонстрировали сравнительно низкую активность, предпологаемо обуславливаемую, во-первых: наличием привитых ионогенных функциональных групп, а во-вторых: RAM 1 – анионообменная смола; Фибан К-1 содержит стирол и дивинилбензол в качестве привитого сополимера на полипропиленовом волокне.

По полученным экспериментальным данным по ДБФ для наиболее активных материалов рассчитаны адсорбции по уравнению Лэнгмюра и уравнению Фрейндлиха. Построенные изотермы, сопоставлены с экспериментальными значениями на рисунке 5.1.

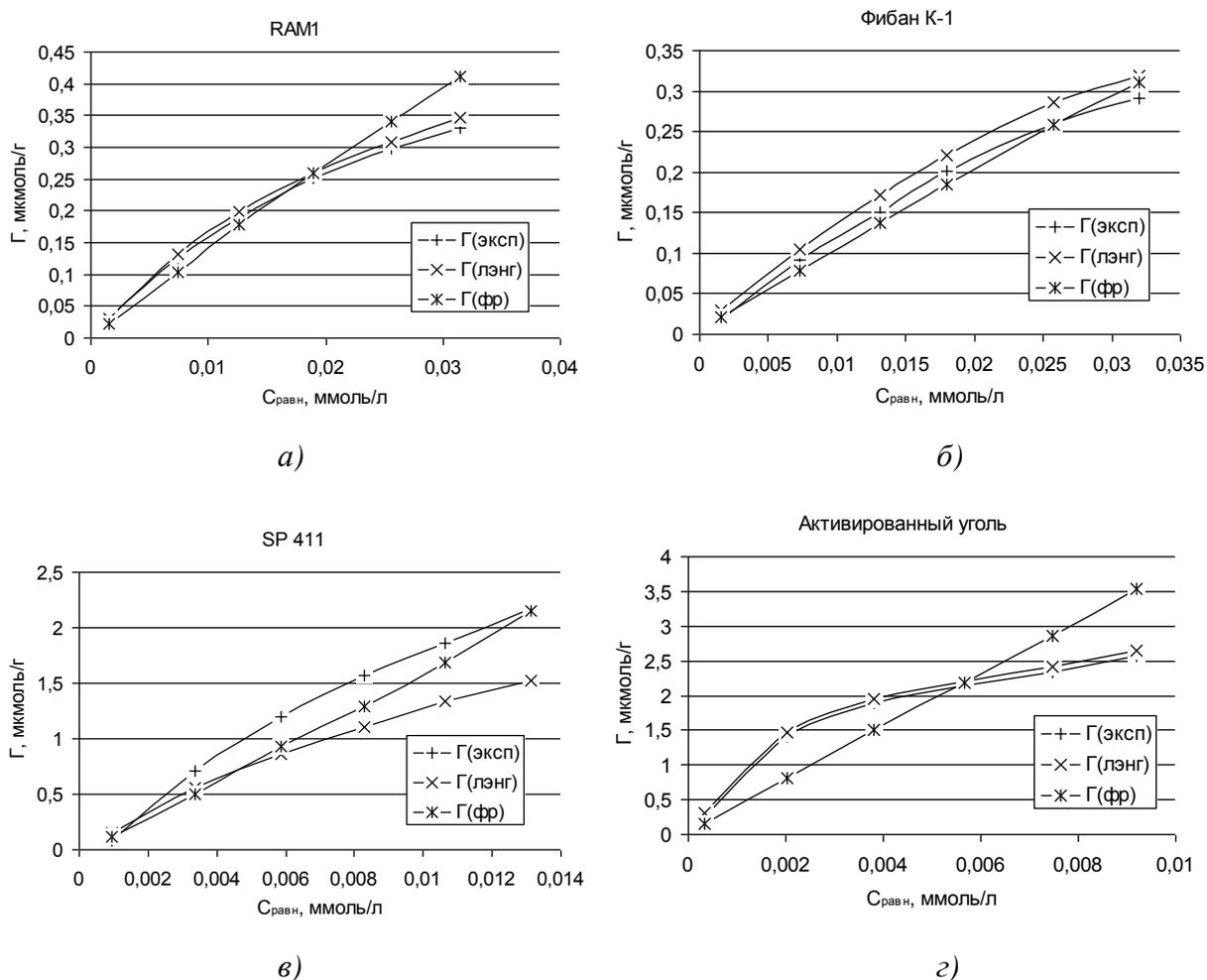


Рис. 5.1. Сравнение значений адсорбции, рассчитанных по уравнениям Лэнгмюра ($\Gamma_{\text{Лэнг}}$), и Фрейндлиха ($\Gamma_{\text{Фр}}$), с экспериментальными значениями ($\Gamma_{\text{эксп}}$) для а) RAM1, б) Фибан К-1, в) SP 411 и г) активированного угля

Сделано заключение, что уравнение Лэнгмюра наиболее точно отражает процесс сорбции фталатов на исследованных материалах из водно-спиртового раствора (М-50).

Эффективность рассмотренных сорбентов, в выше указанных условиях, на реальных образцах, в зависимости от сложности матрицы раствора, оказывается значительно сниженной.

Проведено сравнение экспериментальных значений адсорбции $\Gamma_{\text{эксп}}$ ДБФ для модели (М-50) с соответствующими значениями $\Gamma_{\text{эксп}}$, полученным на винах и дивинах. В таблице 5.3 приведены значения $\Gamma_{\text{эксп}}$ для ДБФ, рассчитанные по уравнению 2.1 (стр. 45)

для концентраций $0,8 \text{ мг/дм}^3$ на М-50, трех вин (в таблице дано среднее значение) и трех дивинов (в таблице дано среднее значение). Масса сорбента, как и в эксперименте, описанном выше составила 1,0 г; эксперимент проводился в статических условиях в течении 24 часов, объем жидкого образца – 100 мл.

Таблица 5.3. Сравнение экспериментальных значений адсорбции ДБФ полученных на М-50, винах и дивинах в мкмоль/г

Наименование	$\Gamma_{\text{эксп}}$ (М-50)	$\Gamma_{\text{эксп}}$ (вино)	$\Gamma_{\text{эксп}}$ (дивин)
Активированный уголь	0,288	0,203	0,042
Бентонит	0,005	0	0
Кизельгур	0,004	0	0
Силикагель	0,011	0	0
Фибан К-1	0,047	0,021	0,004
RELITE RAM 1	0,056	0,033	0,007
RELITE SP 411	0,217	0,186	0,036

Адсорбция ДБФ на активированном угле при переходе с модели на реальные образцы снижается на ~30% в случае вин, и на более чем 85% в случае дивинов.

Относительное снижение адсорбции ДБФ на бентоните, кизельгуре и силикагеле, не представляется возможным достоверно оценить по причине их низкой активности на модели и, практически, отсутствия таковой на реальных образцах.

Сорбционная активность к фталатам синтетических ионитов на сополимере стирола и дивинилбензола оказалась невелика даже на модельном растворе. Снижение сорбции в реальных растворах составило в среднем 50 и 90% в винах и дивинах соответственно. Катионит Фибан К-1 продемонстрировал низкую, в сравнении с прогнозом активность. Высокая активность катионита предполагалась в связи с частичным протонированием молекул фталатов в кислых средах, и как следствие, дополнительное взаимодействие с функциональными группами $-\text{SO}_3^-$.

Синтетический адсорбент SP411 показал результаты близкие к данным, полученным на активированном угле. Сложная матрица реальных образцов, так же снизила активность на 15 и 85% соответственно.

Таким образом, можно сделать вывод о протекании конкурирующих реакций в системах реальных образцов, существенно снижающих сорбционную емкость материалов.

С целью проверки данной гипотезы был поставлен следующий эксперимент. В контаминированную модель М-50, с содержанием ДБФ - $0,97 \text{ мг/дм}^3$, V-100 мл, были внесены катионы Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} и Pb^{2+} , для моделирования минерального состава вина/виноматериала. Количества указанных катионов взяты из расчета среднестатистических значений для данного вида продукта [152]. Элементы вносили в

виде расчетного количества кристаллических, соответствующих солей NaCl, KCl, CaCl₂·2H₂O, Cu(CH₃COO)₂·2H₂O, FeCl₃·6H₂O и Pb(CH₃COO)₂·3H₂O. Сорбцию испытывали на активированном угле и трех синтетических сорбентах.

Установлено, что уровень сорбции фталата в минерализованной модели составил 0-10% от сорбции в идентичных условиях из модели, приготовленной без внесения солей.

Исследование процесса динамического деконтаминирования проводили на активированном угле и трех синтетических сорбентах. Суть эксперимента состояла в оценке процесса деконтаминирования вина на колонке заполненной сорбентом. Опыт реализован по принципу колоночной хроматографии без фракционирования. Соотношения контаминированного продукта к сорбенту, как и в вышеописанных экспериментах – 100/1 (1000 мл / 10 г). Скорость истекания 1000 мл / 200 мин (1 капля/сек).

Итоговое изменение (снижение) содержания фталатов в образцах не превышает среднюю статистическую погрешность измерений для процедуры анализа фталатов в продуктах винодельческой отрасли.

5.1.2. Побочная активность сорбентов в средах реальных образцов

Снижение сорбционной емкости исследованных материалов на реальных образцах в сравнении с сорбцией на модели, обусловлено конкурирующим взаимодействием сорбентов с нецелевыми компонентами растворов вин и дивинов. В данном разделе рассмотрено влияние сорбентов на компоненты систем вин и дивинов.

Изменения в химическом составе растворов образцов вин и дивинов под действием вышерассмотренных сорбентов оценивали качественно и количественно на примере ряда вин: белое сухое, белое десертное, красное сухое и красное десертное; и трех выдержанных винных дистиллятов.

Эксперимент по воздействию сорбентов на химический состав продуктов проводили аналогично описанию п. 5.1.1 (стр. 92).

Изменения состава устанавливали, сравнивая отдельные физико-химические показатели с данными объектов, не подвергавшихся воздействию сорбентов.

Вина исследовали на такие показатели как: компоненты антоцианового ряда (для красного вина), ароматобразующие компоненты, содержание спирта, плотность, общий экстракт. В случае выдержанных винных дистиллятов внимание было сфокусировано на содержании ионов меди, оптической плотности, ароматических альдегидов и летучих компонентов (альдегид, эфиры и спирты с C₁-C₅).

Антоцианы. Влияние сорбентов на красящие компоненты красных вин – антоцианы, оценивали комплексно методом ВЭЖХ по международной процедуре OIV-MA-AS315-11 : R2007 [166]. Оценивали площади десяти антоцианов:

- дельфинидол-3-гликозид (R_t - 7.35 мин);
- цианидол-3-гликозид (R_t – 7.89 мин);
- петунидол-3-гликозид (R_t – 8.63 мин);
- мальвидол-3,5-дигликозид (R_t – 9.15 мин);
- пеонидол-3-гликозид (R_t – 9.52 мин);
- мальвидол-3-гликозид (R_t – 9.74 мин);
- пеонидол-3-ацетилгликозид (R_t – 11.77 мин);
- мальвидол-3-ацетилгликозид (R_t – 12.29 мин);
- пеонидол-3-кумарилгликозид (R_t – 13.59 мин);
- мальвидол-3-кумарилгликозид (R_t – 13.92 мин).

Убыль антоцианов суммарно оценили в процентах относительно их исходного количества (таблица 5.4).

Таблица 5.4. Суммарная убыль антоцианов из красных вин в процентах относительно их исходного количества

Сорбент	Изменение, %
Активированный уголь	-39,2
Бентонит	-41,0
Кизельгур	-7,4
Силикагель	-17,3
Фибан К-1	-72,8
Ram1	-65,8
SP411	-57,8

Примеры сопоставления хроматограмм образцов, обработанных сорбентами, с контрольным, не подвергнутым обработке образцом, представлены на рисунке 6.2 (а-ж).

Принимая во внимание тот факт, что содержание антоцианов в вине может достигать 1,5 г/дм³ [133], величина в 40-70%, для активированного угля, бентонита и синтетических сорбентов, представляет собой существенную побочную активность материалов, соответственно, снижающую целевую. Наименьшее воздействие на красные пигменты вина оказал исследованный образец кизельгура.

По оси ординат (рис. 5.2.а-ж) отражена интенсивность поглощения спектрофотометрического детектора, по оси абсцисс – время удерживания.

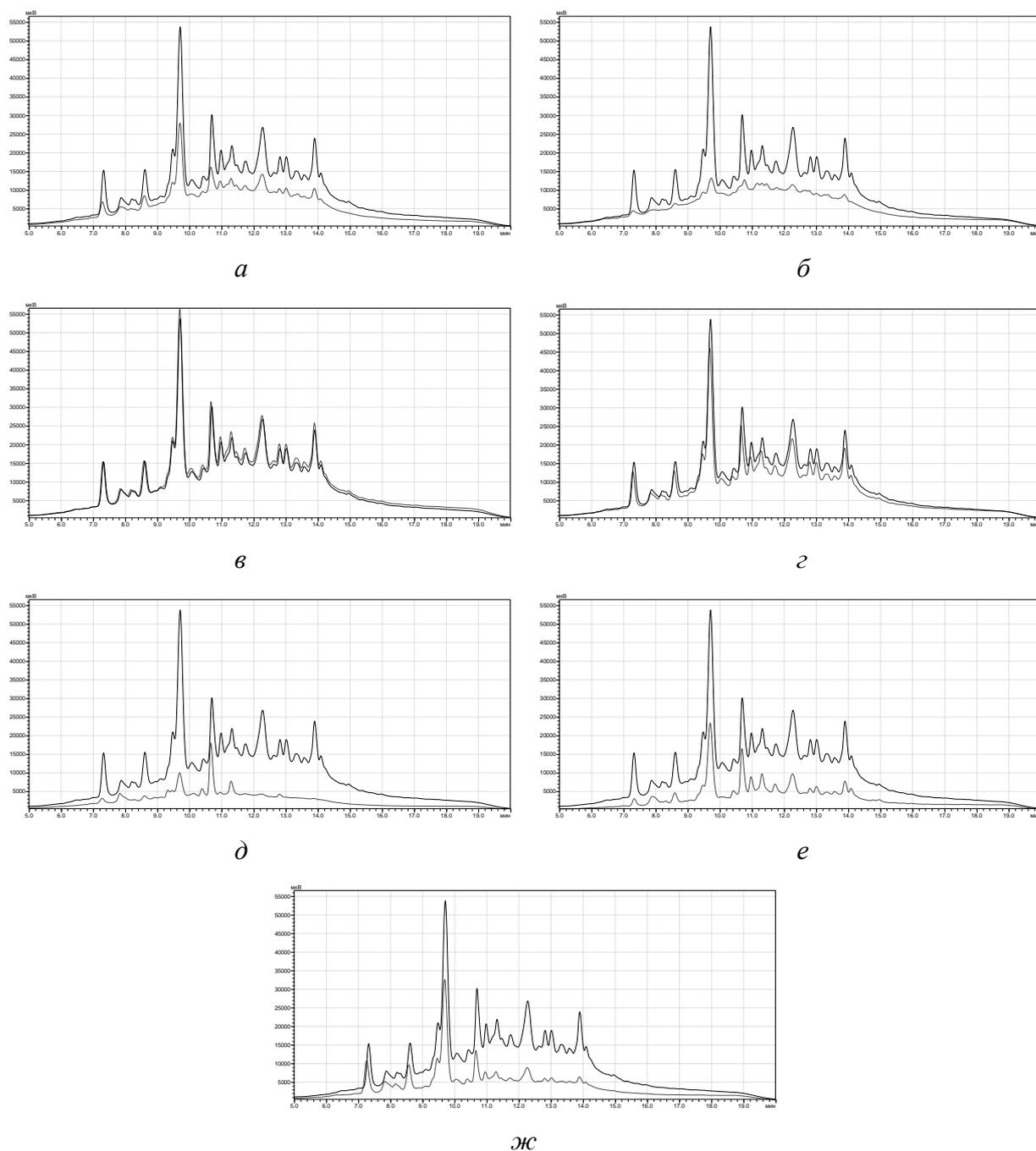


Рис. 5.2. Сопоставление профиля хроматограммы красного вина необработанного сорбентами (черн.) с хроматограммами соответствующих образцов после воздействия (сер.): а) активированного угля, б) бентонита, в) кизельгура, г) силикагеля, д) Фибана К-1, е) RAM1 и ж) SP411.

Вкусоароматические компоненты. Четыре вида вина исследовали на содержание ароматобразующих компонентов и воздействие на них рассматриваемых сорбентов. Ароматографический анализ проводили методом ГХМС с применением техники “HeadSpace”: $t_{\text{инкубирования}} - 9 \text{ мин}$; $t_{\text{инкубирования}} - 70^{\circ}\text{C}$ [167]. Полученные масс-спектрограммы расшифровывали с применением данных библиотек NIST08 и FFNSC.

Сопоставление ароматограмм обработанных соответствующими сорбентами, с контрольными, не подвергнутыми обработке, представлено на рисунках 5.3-5.9. По оси ординат (рис. 5.3-5.9) отражена интенсивность сигнала масс-спектрометрического детектора, по оси абсцисс – время удерживания.

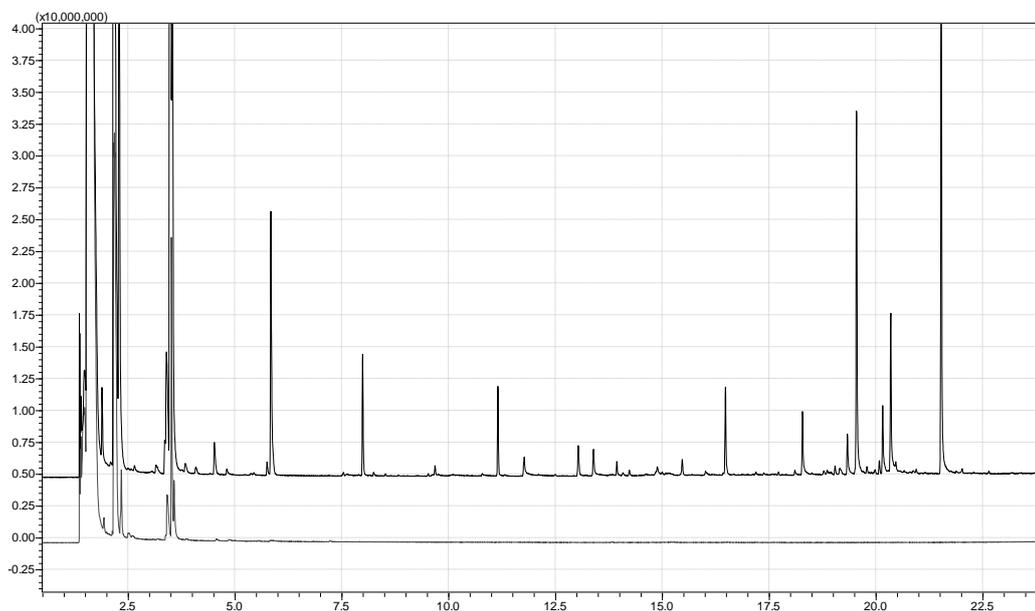


Рис. 5.3. Сравнение хроматограммы контрольного образца (верхняя) и хроматограммы образца, обработанного активированным углем (нижняя)

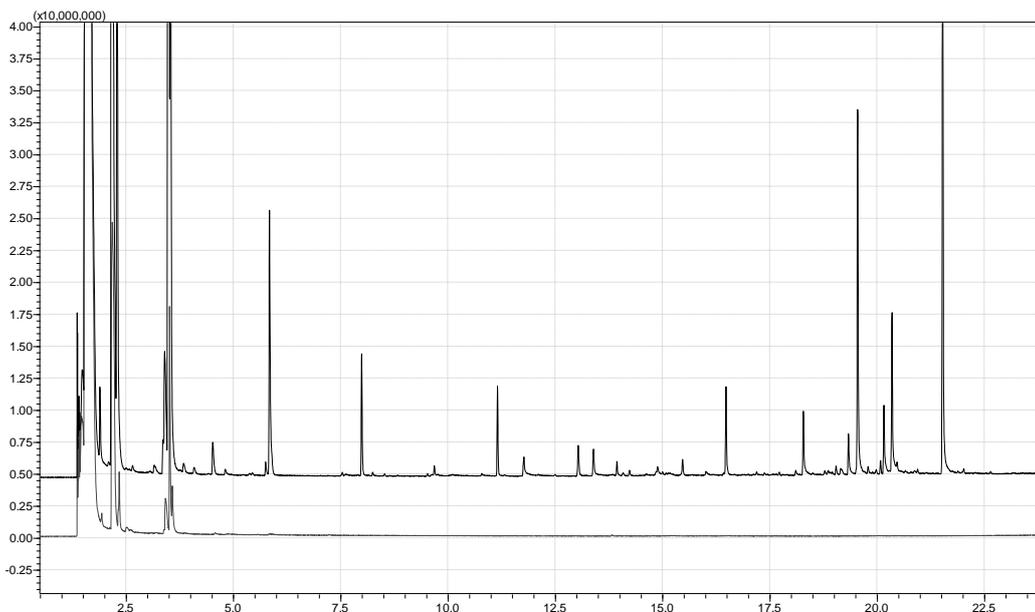


Рис. 5.4. Сравнение хроматограммы контрольного образца (верхняя) и хроматограммы образца, обработанного бентонитом (нижняя)

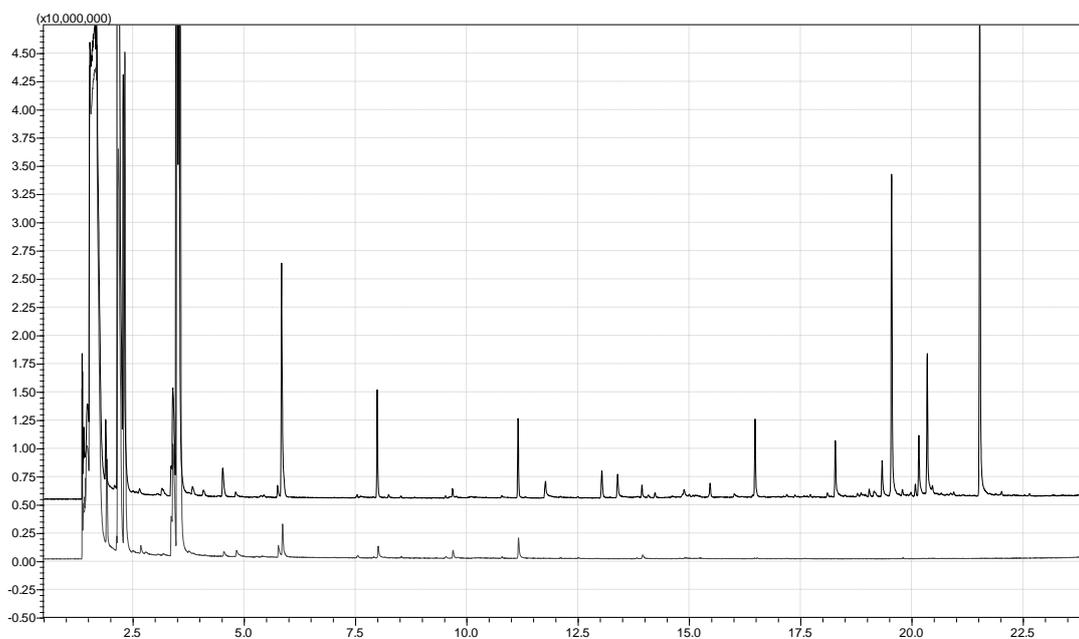


Рис. 5.5. Сравнение хроматограммы контрольного образца (верхняя) и хроматограммы образца, обработанного кизельгуром (нижняя)

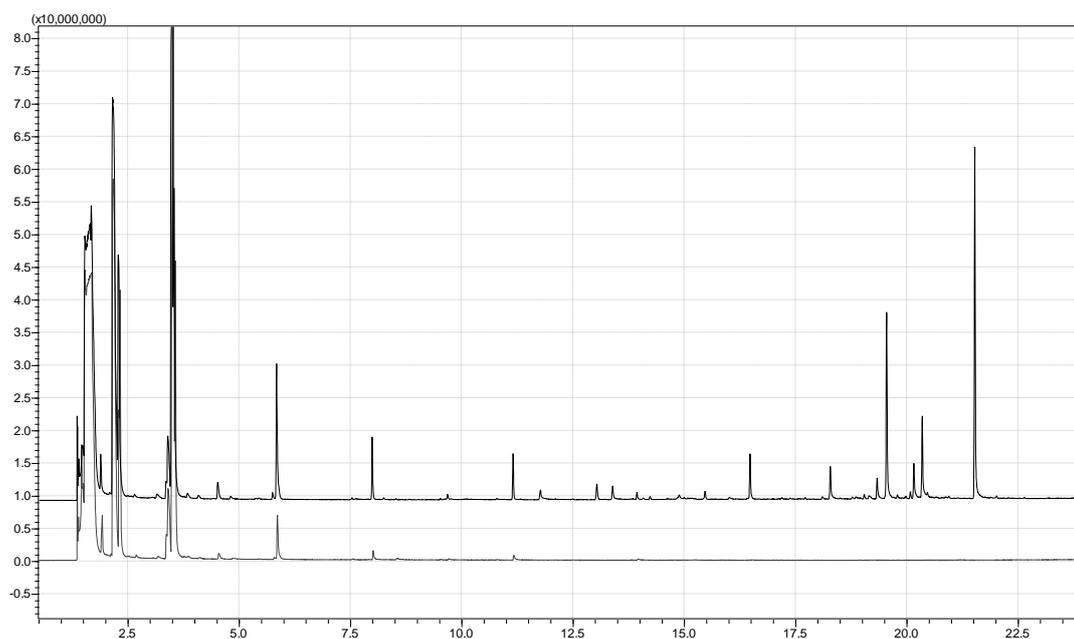


Рис. 5.6. Сравнение хроматограммы контрольного образца (верхняя) и хроматограммы образца, обработанного силикагелем (нижняя)

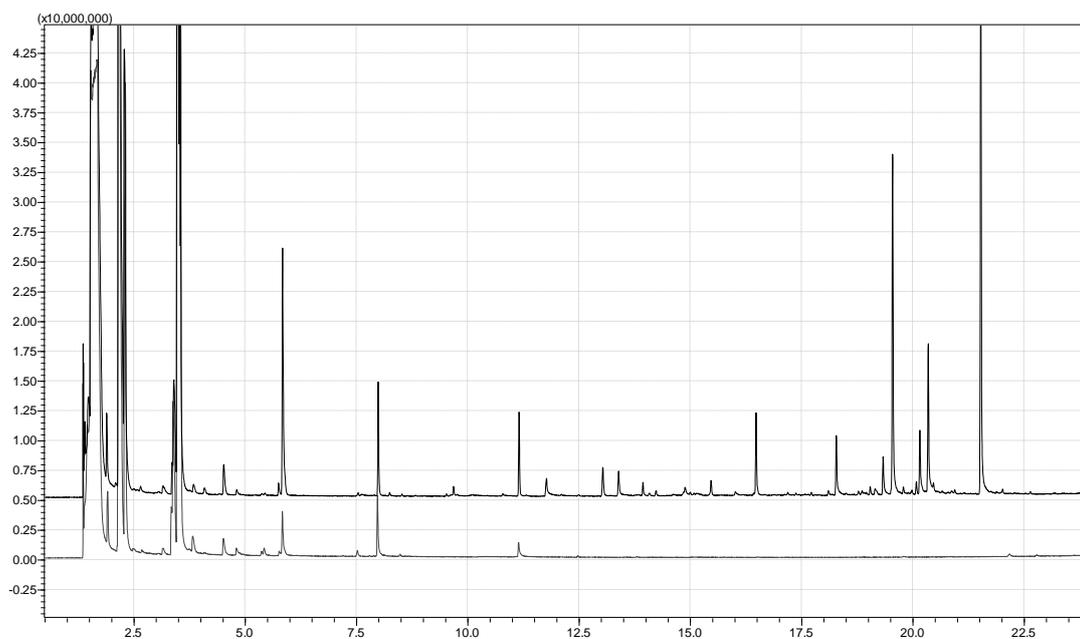


Рис. 5.7. Сравнение хроматограммы контрольного образца (верхняя) и хроматограммы образца, обработанного катионитом Фибаном К-1 (нижняя)

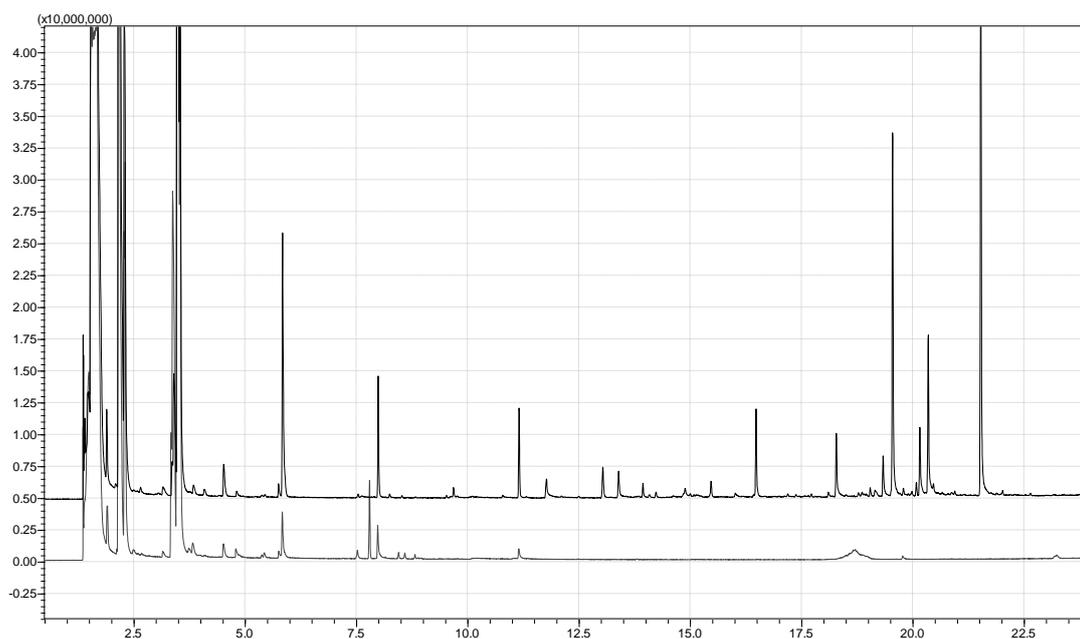


Рис. 5.8. Сравнение хроматограммы контрольного образца (верхняя) и хроматограммы образца, обработанного анионитом RAM1 (нижняя)

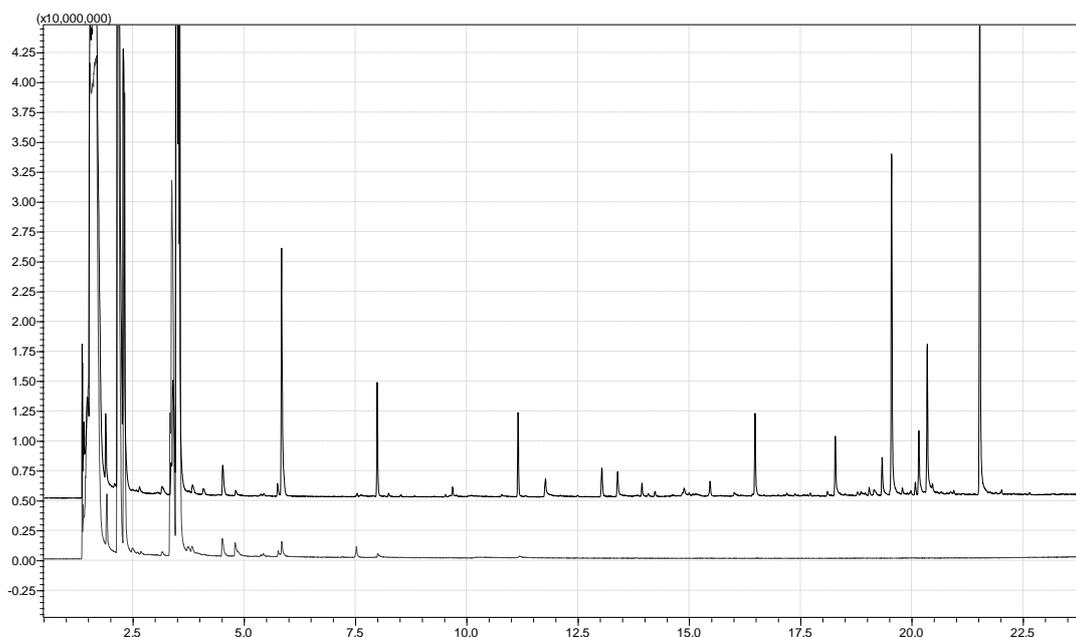


Рис. 5.9. Сравнение хроматограммы контрольного образца (верхняя) и хроматограммы образца, обработанного сорбентом SP411 (нижняя)

Сигналы основных вкусоароматических компонентов исследованного образца, характерных для всех вин, определены количественно по площадям (S_p) соответствующих хроматографических пиков. Наименования веществ установленных по хроматограммам рисунков 5.3-5.9, даны в таблице 5.5 с соответствующими R_t .

В таблице 5.6 площади компонентов ароматограмм указаны в процентах. Суммарный объем ароматобразующих компонентов в каждом из рассмотренных образцов принят за 100%.

Принимая во внимание полученные данные, отраженные в таблицах 5.5 и 5.6, нужно отметить, что снижение содержания вкусоароматических компонентов в образцах (таблица 5.5) составляет в среднем 80% для активированного угля и бентонита, и 30-45% для остальных исследованных сорбентов. Более того, как видно из данных таблицы 5.6, кроме общего снижения компонентов, изменено их процентное соотношение, что должно привести к искажению органолептических характеристик.

Таблица 5.5. Значение площадей хромато-масс-спектрометрических сигналов ароматобразующих компонентов в контрольном образце и в образцах, обработанных сорбентами

	R _t	Площадь хромато-масс-спектрометрических сигналов S _p (x10 ⁶)							
		Контроль	Акт. уголь	Бентонит	Кизельгур	Силикагель	Фибан К-1	RAM1	SP411
Этилацетат	2,151	274,4	120,1	101,9	130,4	248,2	222,9	194,1	195,6
Изобутанол	2,279	97,2	7,7	7,7	114,3	94,9	91,8	69,7	80,9
Ацеталь	3,393	32,7	10,2	9,8	36,8	41,8	46,8	21,6	27,7
3-метилбутанол-1	3,488	221,1	30,4	23,6	124,9	210,8	190,4	217,9	168,5
2-метилбутанол-1	3,531	94,3	7,6	6,1	90,1	70,3	79,9	80,1	78,7
Изобутилацетат	4,083	1,3	0,1	0	0,2	0,5	0,4	0,2	0,2
Этилбутират	4,514	6,3	0,5	0,4	1,1	2,6	4,1	2,7	4,2
Этиллактат	4,803	0,8	0,4	0,1	0,7	0,6	0,5	0,6	0,7
Этилизовалерат	5,438	0,3	0,1	0,1	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2
Гексанол-1	5,746	2,0	0,2	0,2	2,0	0,7	0,5	1,2	0,5
Изоамилацетат	5,836	39,0	0,2	0,1	5,9	13,6	7,1	7,5	1,6
Этилгексаноат	7,983	14,3	0	0	2,3	2,9	9,5	5,1	0,5
Гексилацета	8,242	0,4	0	0	0,2	0	0,1	0,1	0
D-лимонен	8,519	0,3	0	0	0,2	0,3	0,3	0,3	0
β-линалул	9,677	1,1	0	0	1,0	0,5	0	0	0
Этилоктаноат	11,150	10,2	0	0	3,7	1,7	2,6	1,7	0,4
Пеларгоновая кислота (C ₉)	11,766	3,2	0	0	0,1	0	0	0	0
бутилбутаноат	13,386	4,0	0	0	0	0	0	0	0
Этилдеcanoат	13,932	1,6	0,1	0,2	0,7	0,5	0	0,1	0,1
Додеканол-1	14,878	0,7	0	0	0,2	0	0	0	0
Лауриновая кислота (C ₁₂)	16,007	0,6	0	0	0	0	0	0	0
Миристиновая кислота (C ₁₄)	18,278	9,0	0	0	0	0	0	0	0
Гексадеканол-1	19,541	48,4	0	0	0,1	0	0	0	0
Пальмитиновая кислота (C ₁₆)	20,342	20,0	0,1	0	0	0	0	0	0
Гептадеканол-1	21,523	86,1	0	0	0	0	0	0	0

Таблица 5.5. Значение площадей хромато-масс-спектрометрических сигналов ароматобразующих компонентов в контрольном образце и в образцах, обработанных сорбентами, в процентах

	R _t	S _p %							
		Контроль	Акт. уголь	Бентонит	Кизельгур	Силикагель	Фибан К-1	RAM1	SP411
Этилацетат	2,151	28,26	67,61	67,05	25,32	35,97	33,93	32,18	34,94
Изобутанол	2,279	10,01	4,34	5,12	22,19	13,75	13,97	11,56	14,45
Ацеталь	3,393	3,37	5,74	6,54	7,14	6,06	7,12	3,58	4,95
3-метилбутанол-1	3,488	22,77	17,10	15,51	24,25	30,55	28,98	36,13	30,10
2-метилбутанол-1	3,531	9,71	4,28	4,07	17,49	10,19	12,16	13,28	14,06
Изобутилацетат	4,083	0,15	0,05	0	0,04	0,07	0,06	0,03	0,04
Этилбутират	4,514	0,66	0,28	0,31	0,21	0,38	0,62	0,45	0,75
Этиллактат	4,803	0,07	0,23	0,09	0,14	0,09	0,08	0,10	0,13
Этилизовалерат	5,438	0,04	0,05	0,09	0,04	0,03	0,02	0,03	0,04
Гексанол-1	5,746	0,21	0,11	0,15	0,39	0,10	0,08	0,20	0,09
Изоамилацетат	5,836	4,02	0,11	0,09	1,15	1,97	1,08	1,24	0,29
Этилгексаноат	7,983	1,48	0	0	0,45	0,42	1,45	0,85	0,09
Гексилацета	8,242	0,05	0	0	0,04	0	0,02	0,02	0
D-лимонен	8,519	0,04	0	0	0,04	0,04	0,05	0,05	0
β-линалул	9,677	0,12	0	0	0,19	0,07	0	0	0
Этилоктаноат	11,150	1,05	0	0	0,72	0,25	0,40	0,28	0,07
Пеларгоновая кислота (C ₉)	11,766	0,34	0	0	0,02	0	0	0	0
бутилбутаноат	13,386	0,43	0	0	0	0	0	0	0
Этилдеcanoат	13,932	0,17	0,05	0,15	0,14	0,07	0	0,02	0,02
Додеканол-1	14,878	0,08	0	0	0,04	0	0	0	0
Лауриновая кислота (C ₁₂)	16,007	0,07	0	0	0	0	0	0	0
Миристиновая кислота (C ₁₄)	18,278	0,93	0	0	0	0	0	0	0
Гексадеканол-1	19,541	5,00	0	0	0,02	0	0	0	0
Пальмитиновая кислота (C ₁₆)	20,342	2,07	0,05	0	0	0	0	0	0
Гептадеканол-1	21,523	8,88	0	0	0	0	0	0	0
Всего		100	100	100	100	100	100	100	100

Содержание спирта, плотность и общий экстракт вина, а также влияние сорбентов на данные показатели оценивали методом электронной денсиметрии.

Изменение плотности либо не зафиксировано, либо ниже погрешности по п. 2.2 (стр. 40). Снижение спирта и общего экстракта в образцах посредством воздействия сорбентов отражено в таблице 5.7.

Таблица 5.7. Изменение показателей вина после обработки сорбентами

Сорбент	Среднее знач.	Характеристика	Изменение показателя, %	
			Содержание спирта	Общий экстракт
активированный уголь		белое/сухое	- 0,6	- 0,9
		красное/сухое	- 0,2	- 0,8
		белое/десертное	- 0,2	- 0,9
		красное/десертное	-0,3	-0,3
бентонит		белое/сухое	- 6,7	- 0,2
		красное/сухое	- 1,3	- 0,2
		белое/десертное	-3,7	- 0,5
		красное/десертное	-7,0	-0,8
кизельгур		белое/сухое	- 3,5	- 0,2
		красное/сухое	- 1,2	- 0,3
		белое/десертное	- 1,5	- 0,6
		красное/десертное	-2,1	-0,3
силикагель		белое/сухое	- 3,2	- 0,5
		красное/сухое	- 2,2	- 0,5
		белое/десертное	- 2,1	- 0,3
		красное/десертное	-3,6	-0,3
Фибан К-1		белое/сухое	- 0,2	- 0,4
		красное/сухое	- 0,9	- 0,2
		белое/десертное	- 0,5	- 0,3
		красное/десертное	-1,1	-0,9
RAM 1		белое/сухое	- 0,6	- 0,2
		красное/сухое	- 1,0	- 0,2
		белое/десертное	- 0,2	- 0,3
		красное/десертное	-0,4	-1,1
SP 411		белое/сухое	- 1,2	- 0,2
		красное/сухое	- 1,0	- 0,2
		белое/десертное	- 0,8	- 0,3
		красное/десертное	-1,1	-0,3

Медь. Содержание ионов меди, является характерным показателем для винных дистиллятов. Концентрации ионов Cu^{2+} в дистиллятах могут достигать значений $4,7\text{мг/дм}^3$ [151, с.116]. Степень «деметаллизации» винных дистиллятов отражена в таблице 5.8 в процентах, относительно исходного содержания ионов меди. Данные представляют собой средние значения для соответствующих сорбентов. Исходные концентрации Cu^{2+} находились в диапазоне $3,1\text{-}4,9\text{ мг/дм}^3$.

Таблица 5.8. Изменение концентрации ионов меди в дистиллятах, обработанных сорбентами

Сорбент	Изменение концентрации, %
Активированный уголь	-70,5
Бентонит	-52,1
Кизельгур	-10,4
Силикагель	-9,9
Фибан К-1	-89,0
РАМ 1	-84,2
SP 411	-82,3

Оптическая плотность. Снижение целевой сорбционной активности материалов по причине взаимодействия их с дубильными веществами дистиллятов установили по снижению оптической плотности при $\lambda = 385$ и 445 нм, рекомендованной международной процедурой OIV-MA-BS-26:2009 [168]. Данные изменения соответствующих показателей в процентах, представлены в таблице 5.9 в виде средних значений.

Таблица 5.9. Изменение оптической плотности при $\lambda = 385$ и 445 нм

Сорбент	Изменение показателя, %	
	385 нм	445 нм
Активированный уголь	-18,7	-22,2
Бентонит	-36,2	-21,6
Кизельгур	-0,3	-0,2
Силикагель	-0,4	-6,2
Фибан К-1	-4,4	-14,2
РАМ 1	-70,4	-73,5
SP 411	-35,8	-36,8

Ароматические альдегиды. Сорбционная активность материалов рассмотрена в отношении ароматических альдегидов, содержание и соотношение которых является важной характеристикой, отражающей качество и выдержку винных дистиллятов. Убыль ароматических альдегидов при обработке сорбентами указана в таблице 5.10, в процентах, в виде средних значений.

Синтетические сорбенты, как видно из данных таблицы 5.10, оказывают существенное воздействие на количественную составляющую ароматических альдегидов в выдержанных винных дистиллятах.

Таблица 5.10. Изменение содержания ароматических альдегидов в выдержанных винных дистиллятах после обработки соответствующими сорбентами

Сорбент	Изменение показателя, %			
	Синаповый альдегид	Кониферилловый альдегид	Сиреневый альдегид	Ванилин
Активированный уголь	-3,8	-6,1	-3,7	-9,7
Бентонит	-3,2	-5,5	-2,6	-5,5
Кизельгур	-1,9	-2,2	-1,4	-1,3
Силикагель	-0,8	-0,9	-1,1	-1,4
Фибан К-1	-31,5	-27,1	-28,5	-28,6
RAM 1	-28,1	-25,4	-26,8	-27,7
SP 411	-35,8	-36,8	-31,7	-29,4

Летучие компоненты (альдегид, эфиры и спирты с C₁-C₅). Исследование воздействия сорбентов на летучие компоненты дистиллята было сфокусировано на ГХ анализе: ацетальдегида (R_t – 5,38 мин); метилацетата (R_t – 5,95 мин); этилацетата (R_t – 6,36 мин); метанола (R_t – 6,46 мин); пропанола (R_t – 8,17 мин); изобутанола (R_t – 8,98 мин); бутанола (R_t – 9,76 мин); изопентанола (R_t – 10,74 мин). Сопоставление хроматограмм представлено на рисунке 5.10. Хроматограммы, представленные ниже, соответствуют – сверху вниз: исходный образец, образцы, обработанные активированным углем, бентонитом, кизельгуром, силикагелем, Фибаном К-1, RAM 1 и SP411.

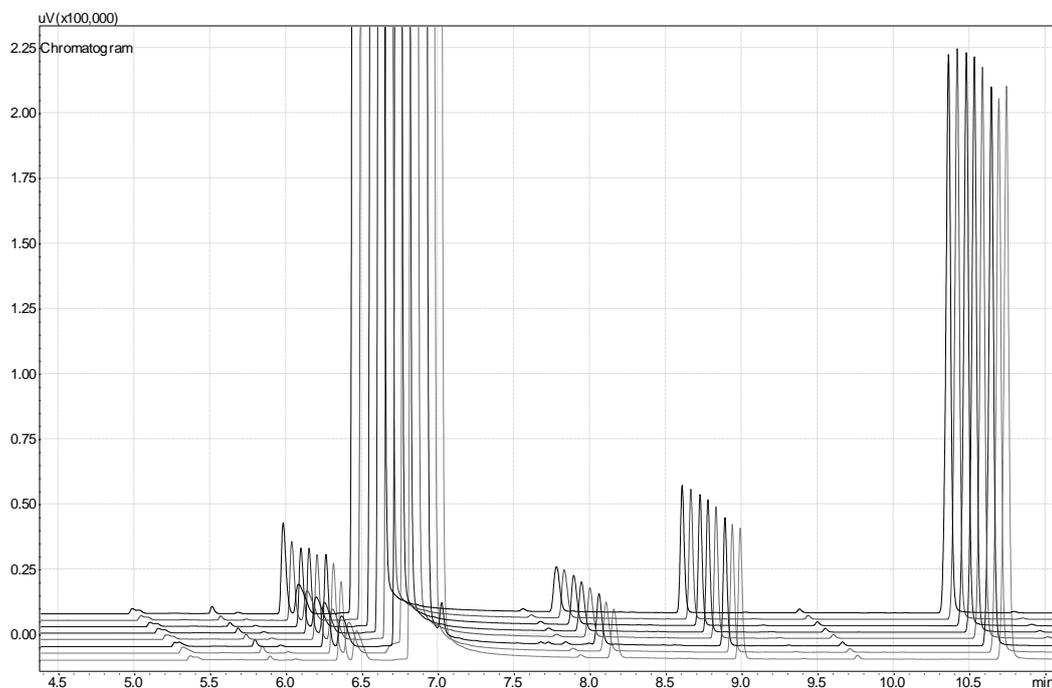


Рис. 5.10. Хроматограммы образцов без обработки и обработанных соответствующими сорбентами. Порядок и распределение хроматограмм см. в тексте

Данные анализа полученных хроматограмм, свидетельствуют о незначительной активности рассмотренных сорбентов в отношении низкомолекулярных летучих компонентов выдержанных винных дистиллятов.

5.2. Биосорбция фталатов

Характерной особенностью винодельческой отрасли является факт взаимодействия сырья с группами микробиологических культур на этапе ферментации. Настоящий раздел посвящен исследованию взаимодействия культур грибов с фталатами на данном этапе.

Эксперимент реализован в лабораторных условиях с соблюдением условий реального промышленного производства по схеме, изображенной на рисунке 5.11.

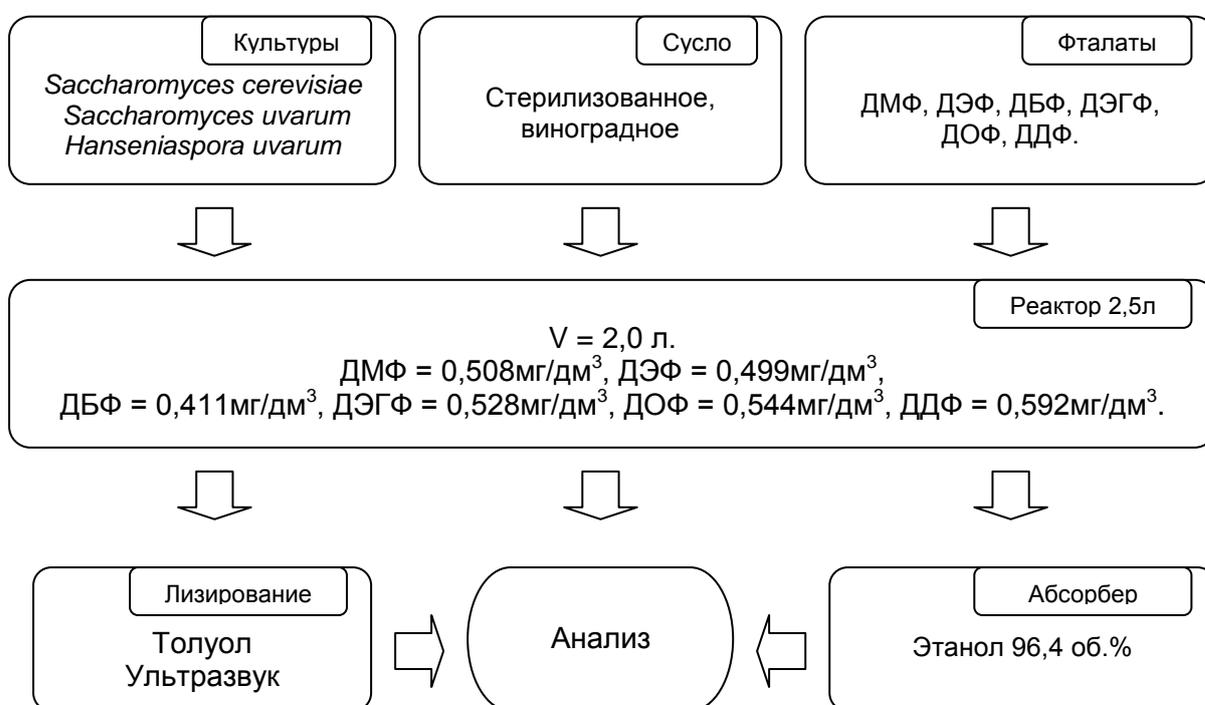


Рис. 5.11. Схема исследования процесса биосорбции/биodeградации фталатов микробиологическими культурами

В качестве подопытных дрожжевых грибов исследовали культурные: *Saccharomyces cerevisiae* и *Saccharomyces uvarum*; и дикие *Hanseniaspora uvarum*.

Контаминация стерилизованного сусла фталатами производилась исходя из необходимости получения конечной концентрации фталата на уровне $0,5 \text{ мг/дм}^3$ ($1,3 \cdot 10^{-6}$ моль/л). Необходимые количества дрожжевых масс вносили согласно инструкциям производителя (для *Saccharomyces*).

Отходящие в процессе газы (преимущественно CO₂) из реактора отводили через силиконовый капилляр в адсорбер, заполненный этиловым спиртом. Процессы ферментации в экспериментах при заданных температурах завершались естественным путем (т.е. без искусственной остановки). Период протекания процессов ферментации, в среднем, для *S. cerevisiae* составил 21 сутки, при t = 18-20°C; для *S. uvarum* - 21 сутки при t = 18-20°C; для *Hanseniaspora uvarum* - 10 суток при t = 23-25°C. Декантированный осадок, промывали обратноосмотической водой, сушили на воздухе.

Содержание фталатов в исходном контаминированном и конечном полученном растворах оценивали по стандартной процедуре. Кроме того, на предмет фталатов, анализировали содержимое адсорбера.

Клеточный лизат обрабатывали хлороформом с целью извлечения фталатов.

В результате исследования растворов установлено снижение содержания фталатов в ферментированном растворе в процентах по отношению к исходному количеству (принятому за 100%). Графическое отражение представлено на рисунке 5.12.

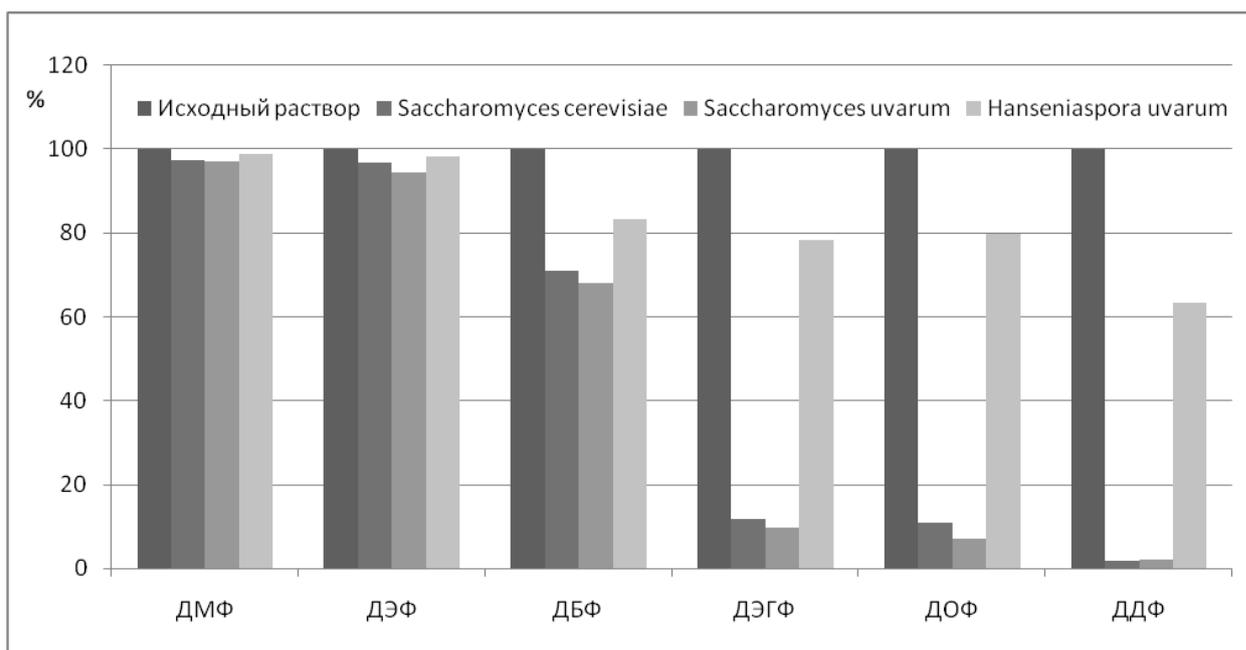


Рис. 5.12. Убыль фталатов в растворах в процессе ферментации

Количество вещества фталатов, убыль которых зарегистрирована в растворе, с погрешностью 2-14%, обнаружено в клеточном лизате. Кроме того, в ферментированных растворах не обнаружено следов продуктов трансэтерификации или гидролиза исходных шести фталатов, таких как монометилфталат, моноэтилфталат, монобутилфталат, моноэтилгексилфталат, монооктилфталат, монодецилфталат, этилметилфталат, бутилэтилфталат и др.

В этиловом спирте, через который осуществлялся барботаж выделявшегося углекислого газа, фталатов и их метаболитов, так же не обнаружено.

Полученные данные свидетельствуют в пользу предположения о протекании процесса биологической сорбции эфиров ФК микробиологическими клетками, а не их биодegradации.

С целью определения того каким образом протекает взаимодействие микробиологической клетки с молекулами фталатов (сорбция на поверхности или в объеме клетки) был проведён ряд экспериментов с живыми и мертвыми клетками грибка *S. cerevisiae*. Данный опыт призван помочь установить протекает ли сорбция на поверхности или в объеме клетки.

Суть эксперимента состояла в выяснении поведения мертвых клеток *S. cerevisiae* относительно молекул фталатов, и сравнение полученной информации с данными, полученными на соответствующих живых дрожжевых организмах. Эксперимент проводили в негерметизированных емкостях объемом 200 мл. В качестве испытательного раствора использовали 1% раствор (w/v) сахарозы, приготовленный на обратнoосмотической воде. Для поддержания жизни дрожжевой культуры ежедневно в реактор вносили сахарозу 0,5г на 100мл раствора. Витаминная и минеральная подкормка была умышленно исключена, с целью подавления роста дрожжевой биомассы [169]. Опыт был поставлен на ДБФ, концентрации которого в серии растворов составляли 0,57, 1,13, 2,26, 5,65, 8,48 и 11,30 мг/дм³. Масса дрожжей, вносимых в контаминированный раствор – 1,0г (сухой вес), с предварительной регидратацией при $t = 37^{\circ}\text{C}$, $\tau = 30$ мин. Объем раствора – 100мл. В растворы серии эксперимента с мертвыми клетками сахарозу не вносили, а до посева, был внесен азид натрия (NaN_3) в количестве, необходимом для получения 0,3% раствора соли [170]. $\tau = 5$ суток (120 часов), $t = 20^{\circ}\text{C}$. Гибель клеток *S. cerevisiae* в начале эксперимента в растворе NaN_3 подтверждали микроскопированием препарата.

Полученные растворы анализировали на предмет содержания ДБФ по стандартной процедуре. Данные представлены в таблице 5.11.

Таблица 5.11. Изменение концентрации ДБФ в водном растворе при взаимодействии с клетками *S. cerevisiae*. Расчетные величины Γ_{∞} , в мкмоль/г

Система	Концентрации ДБФ в серии растворов, мг/дм ³						Γ_{∞} , мкмоль/г
	0,57	1,13	2,26	5,65	8,48	11,3	
Исходный раствор							-
Взаимодействие с клетками <i>Saccharomyces cerevisiae</i>							
Живые (120ч)	-0,02	-0,06	-0,11	-0,33	-0,44	-0,61	26,7
Мертвые (120ч)	-0,09	-0,11	-0,16	-0,61	-0,79	-1,02	9,5

Полученные данные использовали при расчетах изотерм адсорбции по уравнениям Лэнгмюра и Фрейндлиха. Соответствующие кривые сравнили с экспериментальной гиббсовской адсорбцией (рис. 5.13 и 5.14.). Сделан вывод, что уравнение Лэнгмюра наиболее точно отражает процесс адсорбции ДБФ клетками *S. cerevisiae*.

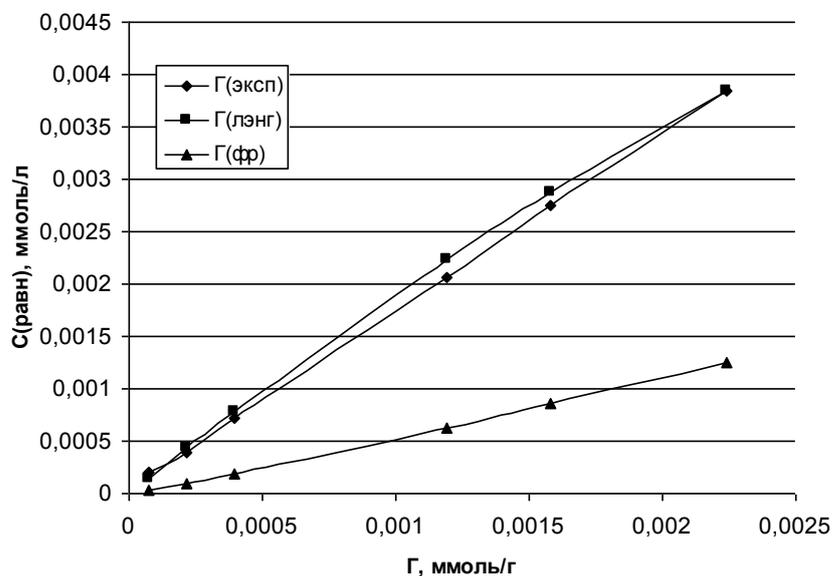


Рис. 5.13. Сопоставление изотерм адсорбции ДБФ на живых клетках *S. cerevisiae*

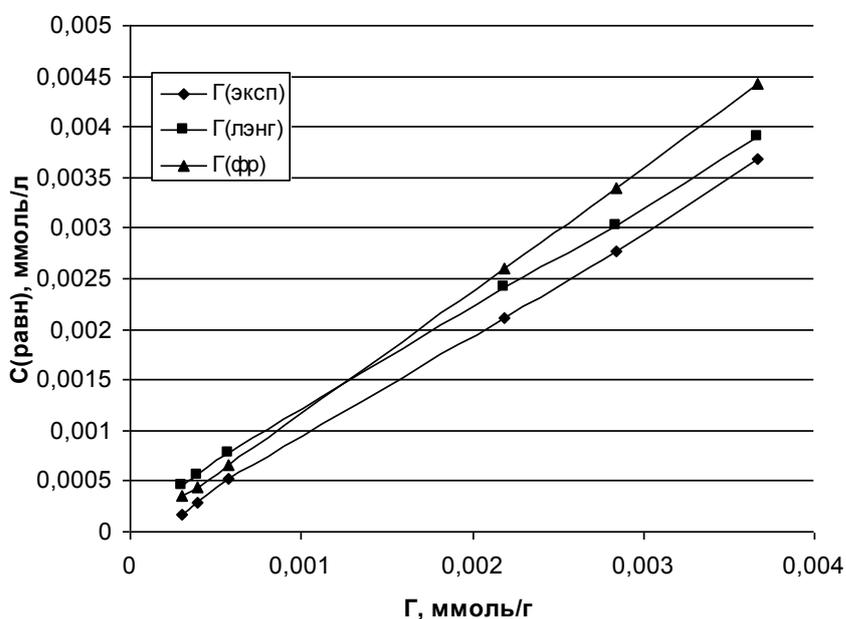


Рис. 5.14. Сопоставление изотерм адсорбции ДБФ на мертвых клетках *S. cerevisiae*

Кривые адсорбции $\Gamma_{\text{эксп}}$, $\Gamma_{\text{Лэнг}}$ и $\Gamma_{\text{Фр}}$ ДБФ на живых и мертвых клетках на рисунке 5.15 (а-в), попарно сравнены. Принимая во внимание полученные экспериментальные данные, можно предположить, что механизм «взаимодействия» молекул ДБФ с живыми клетками грибов идентичен механизму в случае с мертвыми клетками. Факт гибели

подопытных клеток *S. cerevisiae* до момента контакта с раствором ДБФ ключевым образом не повлиял на дальнейший ход процесса адсорбции ДБФ. Из чего следует, что молекулы фталата иммобилизованы на поверхности клеточной стенки, а не в объеме клетки. Биохимические циклы клеток не оказывают существенного влияния на процесс адсорбции фталата поверхностью клеточной стенки. Важную роль в адсорбции фталатов на клеточной стенке, вероятно, играет маннопротеиновый слой [171] с полисахаридными волокнами формирующими «сеть» из $1 \cdot 10^6 - 3 \cdot 10^6$ глюкозидных цепей на клетку [172]. Кроме того, не малое значение в активном процессе сорбции фталатов на поверхности клеток имеет ее обширная удельная площадь [173]. Так согласно данным [174, 175] при аппроксимации поверхности дрожжевых клеток шаром, средний радиус лежит в диапазоне 5-10 мкм. Расчет площади и массы клеток (из объема, при плотности клеток - [175]) дает величины – 1,2 – 4,8 м²/г.

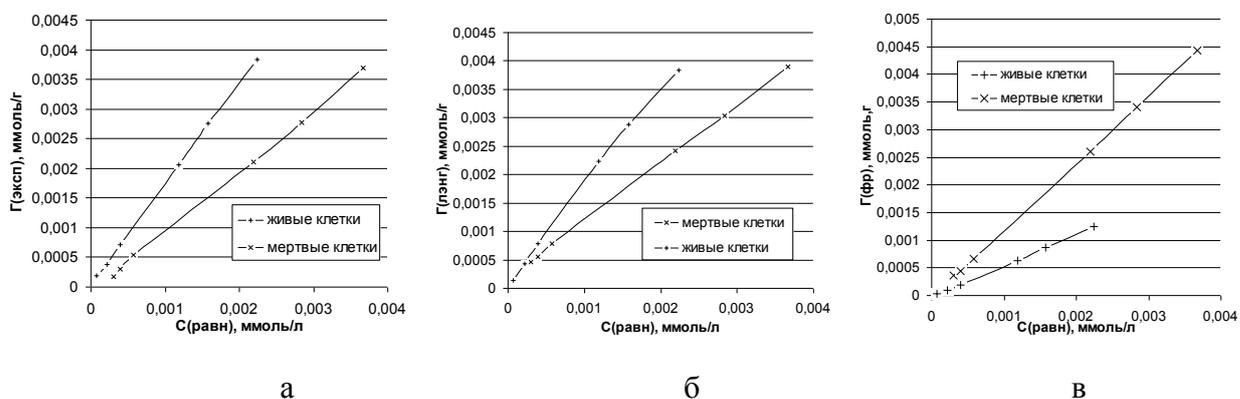


Рис. 5.15. Сравнение изотерм адсорбции ДБФ на живых и мертвых клетках *S. cerevisiae* рассчитанных по а) экспериментальным данным, б) уравнению Лэнгмюра и в) уравнению Фрейндлиха

5.3. Динамика распределения молекул фталатов в системе водно-спиртовых растворов в процессе дистилляции

В работе исследована миграция фталатов в процессе перегонки из дистиллируемой жидкости в дистиллят. Нижеописанный эксперимент призван установить существование вероятности контаминирования винных дистиллятов, предназначенных для закладки на выдержку, при получении их из контаминированных виноматериалов. С этой целью была изучена перегонка водно-этанольного раствора 32 об.%, контаминированного смесью фталатов. Концентрация 32 об.% выбрана, исходя из технологии двойной перегонки виноматериалов для получения винного спирта концентрацией этанола 62-72 об.% во втором этапе, из спирта-сырца концентрацией этанола 28-32 об.% на первом этапе,

полученном из виноматериала [176]. Перегонку осуществляли в лабораторных условиях на перегонном аппарате с шлифовыми соединениями. При перегонке 50 мл контаминированного раствора собирали фракции по 1,5 мл, с регистрацией интервала температуры паров для каждой фракции. Полученные фракции, исходный дистиллируемый раствор и кубовый остаток анализировали на содержание фталатов.

В опыте использовали смесь фталатов: ДМФ, ДЭФ, ДиБФ, ДБФ, ДАмФ, ДГФ, ББФ, ДЭГФ, ДЦГФ, ДОФ и ДНФ. Исходная концентрация в 32 об.% водно-этанольном растворе каждого из 11 вышеперечисленных фталатов – 0,231 мг/дм³. Результаты, полученные в эксперименте отражающие миграцию фталатов при дистилляции для конкретных температур паров, представлены на диаграммах рисунка 5.16. Значения температур указанных для каждой из 16-ти точек на рисунке 5.16, даны в виде средних значений интервалов, зарегистрированных от начала до окончания сбора каждой из фракций.

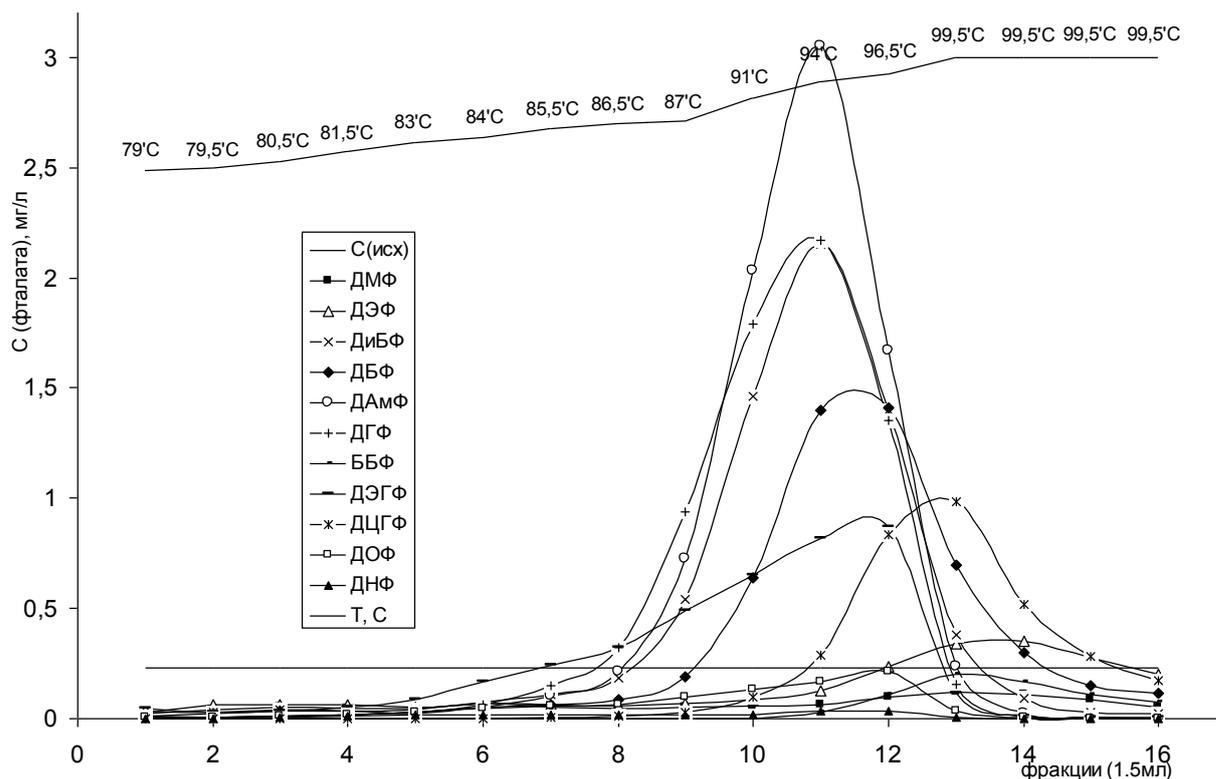


Рис. 5.16. Уровни концентраций анализируемых фталатов в 16-ти полученных фракциях дистиллята при соответствующих температурах

По данным диаграмм рисунка 5.16 сделаны предположения о том, что «средние» фталаты, такие как ДиБФ, ДБФ, ДАмФ и ДГФ ($R=C_4-C_6$), перегоняются с водно-этанольными парами при снижении количества органического растворителя, и как

следствие, снижения растворимости в дистиллируемой жидкости. Состав фталатов кубового остатка демонстрирует отсутствие в нем ДАмФ и ДГФ, а ДиБФ и ДБФ, обнаружены в следовых количествах – 0,02 и 0,03 мг/дм³ соответственно.

Низкие содержания «легких» фталатов – ДМФ и ДЭФ практически во всех собранных фракциях, вероятно, обусловлено более высокими значениями растворимости в воде, по сравнению со «средними» фталатами. Наиболее высокие концентрации ДМФ и ДЭФ отмечены во фракциях 13 и 14 – последние спиртосодержащие дистилляты. Эти фракции также характеризуются наиболее высокими значениями концентраций фталатов с циклическими радикалами: ББФ и ДЦГФ. Содержание ДМФ и ДЭФ в дистиллируемом остатке, в среднем 10-15% от исходного количества, а значения ББФ и ДЦГФ, близки к следовым: 0,03 и 0,01 соответственно.

Содержания «тяжелого» ДНФ не превысили значения 0,03 мг/дм³ во фракциях на всем протяжении эксперимента. Кривые диаграмм ДЭГФ и ДОФ имеют высокую степень подобия: максимумы концентраций в дистиллятах - соответствуют минимальному содержанию этанола в паровой фазе дистиллята (фракция 12), и резкое падение концентраций во фракции 13. Кубовый остаток дистилляции, содержал около 30% исходного ДНФ и 21% ДОФ, содержание ДЭГФ, - в среднем 7-10%.

Хлороформный смыв с внутренней поверхности аппарата, начиная с насадки Вюрца, и кончая аллонжем, был проанализирован на содержание фталатов. В полученном растворе хлороформа обнаружено высокое содержание ДНФ, ДОФ, ДЭГФ, ДЦГФ, и ББФ, что в некоторой мере объясняет несоответствие между исходными и суммарными конечными количествами указанных фталатов. Остальные фталаты из серии так же обнаружены, но в меньших количествах. Данный факт позволяет объяснить падение концентраций фталатов в отгонах при падении в них до нуля содержания этанола, конденсацией фталатов на внутренних стенках системы аппарата.

С целью проверки предположения, что при перегонке фталатов в процессе дистилляции водно-этанольных растворов определяющим фактором, помимо температуры кипения, является растворимость фталатов в воде, был поставлен следующий эксперимент. Дистилляции подвергли раствор, аналогичный вышеописанному: в составе 11-ть фталатов с концентрацией каждого из фталатов 0,231 мг/дм³, приготовленный на 96,4 об.% спиртовой смеси. Объем и температурный режим соответствовали эксперименту описанному выше. Собирали фракции по 1,5 мл. Температура кипения на всем протяжении процесса оставалась неизменной, и составляла 78°С. Каждую из фракций и кубовый остаток анализировали на содержание фталатов.

Результаты анализа каждой из 22 полученных фракций, показали отрицательный результат по всем 11-ти фталатам. В полученном кубовом остатке обнаружены все оговоренные фталаты, количество вещества которых, со средней погрешностью 17%, соответствовало исходному содержанию.

5.4. Выводы к главе 5:

- Изучена сорбционная активность в отношении фталатов четырех натуральных материалов, применяемых в виноделии и трех синтетических, как потенциально активных. Рассчитаны величины адсорбции изученных материалов. На примере ДБФ показано, что уравнение Лэнгмюра точнее отражает процесс сорбции фталатов из водно-спиртовых растворов на активированном угле и синтетических материалах Фибан К-1, RAM1 и SP411.
- Сорбционная активность рассмотренных материалов в растворах реальных образцов оказывается сниженной на 15-90% в зависимости от сложности органической матрицы.
- Оценены качественные и количественные изменения в химическом составе растворов образцов вин и дивинов, вызванные воздействием отдельных сорбентов.
- Установлен факт сорбционного взаимодействия клеток *S. cerevisiae* с молекулами фталатов на этапе ферментации в технологическом процессе. Сделан вывод в пользу протекания процесса биосорбции, а не биodeградации. Озвучено предположение о взаимодействии клеток с эфирами ФК посредством маннопротеинового слоя поверхности клеточной стенки.
- Показано, что помимо температуры кипения, растворимость фталата в воде являются определяющими факторами, определяющими степень перегонки эфиров ФК при дистилляции водно-этанольных растворов.

ОБЩИЕ ВЫВОДЫ И РЕКОМЕНДАЦИИ

Проведенное исследование позволяет сформулировать следующие общие выводы:

- Разработан аналитический подход к оценке количественного содержания фталатов в спиртосодержащих продуктах винодельческой отрасли. Установлены базовые аспекты, определяющие эффективность предложенной процедуры. Оформленная процедура прошла процесс валидирования и утверждена в качестве рабочей для оценки степени контаминирования фталатами алкогольной продукции: «Procedură specifică. PS-12-DBF-LI. Determinarea reziduurilor de ftalati prin metoda GCMS». Процедура в 2013г. была предоставлена JRC для разработки процедуры международного уровня для Международной Организации Винограда и Вина. Надежность процедуры PS-12-DBF-LI подтверждена региональными (2014г.) и международными (OIV 2013г., OIV 2014г.) сличительными испытаниями.
- Установлена возможность комплексной оценки содержания фталатов и их метаболитов в продукции винодельческой отрасли. Показано протекание процесса гидролиза фталатов до ФК и ее количественное обнаружение. Установлено минимально необходимое количество щелочи, необходимое для гидролиза фталатов, в условиях сложной органической матрицы реальных образцов, исходя из статистических и литературных данных.
- Показано, что миграция фталатов в системы водно-спиртовых растворов представляет собой сложный процесс. Скорость миграции эфиров ФК из полимерных материалов зависит как от содержания фталата в последнем, так и от физико-химических факторов. Повышение температуры системы и концентрации органического растворителя влечет существенный рост скорости извлечения фталатов из пластифицированного материала. Механическое воздействие также способствует активизации процесса. Порядок реакции предположительно нулевого порядка, т.к. скорость миграции зависит, на первичном этапе, от скорости извлечения с поверхности полимера, а затем от скорости миграции молекул фталата из объема полимера к его поверхности.
- На примере дибутилфталата показано, что адсорбция на активированном угле, при переходе с модели на реальные образцы, снижается на ~30% в случае вин, и на более чем 85% в случае дивинов. Сорбционная активность к фталатам синтетических ионитов на сополимере стирола и дивинилбензола оказалась не велика даже на модельном растворе. Снижение сорбции в реальных растворах снизилась в среднем на 50 и 90% в винах и дивинах соответственно. Синтетический адсорбент SP411 показал

результаты близкие к данным полученным на активированном угле. Сложная матрица реальных образцов, так же снизила активность на 15 и 85% соответственно. Установлено, что причина снижения активности сорбентов в средах реальных образцов заключается в протекании конкурирующей сорбции органических и минеральных компонентов реальных систем вин и дивинов на активных центрах поверхности сорбентов.

- Установлено взаимодействие микробиологической культуры с фталатами в процессе ферментации. Биодegradации фталатов в течение 10-21 суток не зафиксировано. Убыль количества вещества фталатов из раствора, с погрешностью $\leq 14\%$, обнаружена в клеточном лизате. Отмечено, что величина сорбции мертвыми дрожжевыми клетками отлична от нуля, и их изотермы адсорбции подобны изотермам, полученным на живых клетках. Сделан вывод о протекании процесса сорбции фталатов в маннопротеиновом слое поверхности клеточных стенок.
- Лабораторными испытаниями показано, что при промышленной перегонке спирта-сырца возможна миграция фталатов из дистиллируемой жидкости в дистиллят. Установлено, что базовыми факторами, определяющими активность процесса, являются молекулярный вес и строение молекул фталатов, и как следствие температуры кипения и растворимость в воде.

Решенная научная проблема: По результатам исследования природных источников вод, почв и растительного сырья, установлено, что объекты окружающей среды не являются источниками фталатного загрязнения продуктов виноделия.

Практические рекомендации.

при аналитическом определении содержания фталатов:

- Рекомендуется принимать во внимание присутствие фталатов практически во всех органических растворителях, воде, моющих средствах, фильтровальной бумаге, синтетических пластических массах и пр., которые способны существенно исказить получаемый аналитический сигнал.
- При анализе миграции фталатов из полимерных материалов, рекомендуется исследовать экстремальную миграцию в органические растворители под действием ультразвукового излучения.
- Данные, полученные в настоящем исследовании, могут быть основой для разработки процедуры комплексной оценки содержания фталатов, их метаболитов и ФК в спиртосодержащих продуктах.

при промышленном производстве:

- Рекомендуется дифференцировать полимерные материалы для пищевого применения и для использования в отрасли алкогольной промышленности.
- Рекомендуется контролировать происхождение и степень загрязнения сырьевой базы, применяемой в производстве.
- Рекомендуется контролировать происхождение, степень загрязнения и качество упаковочного материала вспомогательных материалов, моющих средств, химических реактивов, применяемых при производстве и обработке продукта отрасли и подготовки технологических коммуникаций завода.
- При контакте спиртосодержащих сред с полимерами рекомендуется учитывать:
 - период контакта, так как показано, что наиболее активно процесс миграции протекает в первые 7-10 часов в виде эмиссии фталатов из поверхностного слоя;
 - температуру: продемонстрировано, что при изменении от 25°C до 75°C скорость миграции в этанол изменяется в 2,5-10 раз, в зависимости от фталата и его содержания в полимере;
 - концентрацию органических веществ в жидкой фазе: отмечена логарифмическая зависимость между содержанием этанола в растворе и скоростью миграции;
 - механическое воздействие: установлено, что под действием ультразвукового воздействия скорость миграции увеличивается в 2,5-6 раз.
- При длительном хранении сырья или продукта рекомендуется периодически контролировать уровень фталатного загрязнения для выявления источников контаминирования. Концентрации фталатов, так же могут снижаться естественным образом при обработке продукта сорбентами, в процессе ферментации, и кислотного гидролиза эфиров ФК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Effects of pollutants on the reproductive health of male vertebrate wildlife males under threat. A CHEM Trust report by Gwynne Lyons, 2008, 44 p.
2. Review of the science linking chemical exposures to the human risk of obesity and diabetes. A CHEM Trust report by Miquel Porta and Duk-Hee Lee, 2012, 26 p.
3. Official Journal of the European Union. Commission directive 2007/19/EC of 30 March 2007, 91/22, 20 p.
4. ГН 2.1.5.2280-07 Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования. Дополнения и изменения N 1 к ГН 2.1.5.1315-03.
5. Гигиенические нормативы ГН 2.3.3.972-00. "2.3.3. Гигиена питания. Тара, посуда, упаковка, оборудование и другие виды продукции, контактирующие с пищевыми продуктами. Предельно допустимые количества химических веществ, выделяющихся из материалов, контактирующих с пищевыми продуктами"
6. Karel L., Landing B. H., Harvey T. S. The intraperitoneal toxicity of some glycols, glycol ethers, glycol esters, and phthalates in mice. In: The journal of pharmacology and experimental therapeutics, 1947, 90, 4, pp. 338-347.
7. Harold C. Hodge. Acute toxicity for rats and mice of 2-ethyl hexanol and 2-ethyl hexyl phthalate. In: Experimental Biology and Medicine, 1943, 53, 1, pp. 20-23.
8. United States Patent. 1,405,491. Cellulose-ether composition. Clarke H. T. Filed 25 Feb. 1921, patented 07. Feb. 1922.
9. United States Patent. 1,689,762. Organic solvent. Adams R., Hyde F. Filed 08 Dec. 1926, patented 30 Oct. 1928.
10. United States Patent. 1,141,944. Resinous composition and process the making the same. Dawson E. S. Jr. Assignor to General Electric Company. Filed 09 Apr. 1914, patented 08 June 1915.
11. United States Patent. 2,022,331. Serial No. 656,148. Lacquer. Wilson M. M. Assignor to The Sharples Solvents Corporation. Filed 10 Feb. 1933, patented 26 Nov. 1935.
12. United States Patent. 1,017,669. Serial No. 666, 673. Hesse A. Solution of perfumes and method of making the same. Filed 13 June. 1910, patented 20 Feb. 1912.
13. United States Patent. 888,516. Serial No. 409,844. Leon Lilienfeld. Assignor to Winterbottom G. H. Process for producing impression fast to water on textile fabrics. Filed 08 Jan. 1908, patented 26 May. 1908.

14. WHO: International programme on chemical safety. Environmental Health Criteria; 131. Geneva, 1992.
15. Phthalates and their alternatives health and environmental concerns. University of Massachusetts Lowell, 2011, p. 24.
16. United States Patent. Pat. 3553071. NOVEL PRINTING SHEET MATERIAL. Willett J. A., Wellesley, Mass., assignor to W. R. Grace & Co., Cambridge, Mass., a corporation of Connecticut. Filed Aug. 19, 1966, Ser. No. 573,636.
17. United States Patent. Pat. 4603074. VINYL CHLORIDE POLYMER LAMINATE. Pate J. L.; Windham D. I. Jr., both of Columbus, Miss. Assignee: Gencorp Inc., Akron, Ohio. Appl. No.: 736,731. Filed: May 22, 1985.
18. Шефтель В. О. Вредные вещества в пластмассах. Справочник. М.: Химия, 1991. 544 с.
19. Alfrey T. Jr., et al. Plasticized polyvinyl chloride. Structure and mechanical behavior. In: Industrial and Engineering Chemistry, 1949, Vol. 41, pp. 701-709.
20. Козлов П. В., Папков С. П. Физико-химические основы пластификации полимеров. М.: Химия, 1982. 224 с.
21. Барштейн Р. С., Кириллович В. И., Носовский Ю. Е. Пластификаторы для полимеров. М.: Химия, 1982. 200 с.
22. Козлов П. В., Ефимов А. В.. Энциклопедия полимеров. М.: Советская энциклопедия, 1974. 1032 с.
23. Doolittle A. K. The Technology of Solvents and Plasticizers, Wiley, 1954. 1056 p.
24. Тюрин С. Т., Базанова А. И., Ильченко Б. Н. Защитные покрытия резервуаров в виноделии, Симферополь: «Крым», 1965. 104 с.
25. United States Patent. Pat 5288423. Process for preparing perfumed detergent products. Behan J. M. et al. assignee: Unilever patent holdings, B.V. Appl. No. 727635. filed: Jul. 10.1991. Int. Cl. C11D 1/72. U.S. Cl. 252/174.11.
26. United States Patent. Pat 5501805. Fragrance compositions and their use in detergent products. Behan J. M. et al. assignee: Lever Brother Company, Division of Conopco, Inc.. Appl. No.428.398. filed Apr. 25. 1995. Int. Cl. C11D 3/50. U.S. Cl.252/8.6.
27. European Patent. Pat 0404470 B1. Fragrance compositions and their use in detergent products. Behan J. M. et al. assignee: Quest International B.V. (Huizerstraatweg 28, GP Naarden, 1411, NL) Appl. No. 90306599.3. date of filing: 18.06.1990. Int. Cl. A61K7/46. Eur. Cl. C11D3/50.

28. Aurela B., Kulmala H., Soderhjelm L. Phthalates in paper and board packaging and their migration into Tenax and sugar. In: Food Additives and Contaminants, 1999, Vol. 16, Issue 12, pp. 571-577.
29. Zhang K., Noonan G. O, Begley T. H. Determination of 2,6-diisopropylnaphthalene (DIPN) and *n*-dibutyl phthalate (DBP) in food and paper packaging materials from US marketplaces. In: Food Additives and Contaminants, 2008, Vol. 25, Issue 11, pp. 1416-1423.
30. Lopez-Espinosa M. J. et al. Oestrogenicity of paper and cardboard extracts used as food containers. In: Food Additives and Contaminants, 2007, Vol. 25, Issue 1, pp. 95-102.
31. Balafas D., Shaw K. J., Whitfield F. B.. Phthalate and adipate esters in Australian packaging materials. In: Food Chemistry, 1999, Vol. 65, Issue 3, pp. 279-287.
32. Antonia M. C., McKee R. H. Integrating biomonitoring exposure data into the risk assessment process: phthalates [diethyl phthalate and di(2-ethylhexyl) phthalate] as a case study. In: Environ Health Perspect, 2006, 114(11), pp. 1783–1789.
33. Silva M. J. et al. Urinary levels of seven phthalate metabolites in the U.S. population from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2000. In: Environ Health Perspect, 2004, 112(3), pp. 331-338.
34. Holger M. K. et al. Exposure of nursery school children and their parents and teachers to di-*n*-butylphthalate and butylbenzylphthalate. In: Int Arch Occup Environ Health, 2005, 78, pp. 223–229.
35. Huang Po-Chin et al. Associations between urinary phthalate monoesters and thyroid hormones in pregnant women. In: Human Reproduction, 2007, 22 (10), pp. 2715-2722.
36. Hiroaki Itoh, Kikuo Yoshida, Shigeki Masunaga. Evaluation of the effect of governmental control of human exposure to two phthalates in Japan using a urinary biomarker approach. In: International Journal of Hygiene and Environmental Health, 2005, Vol. 208, Issue 4, pp. 237–245.
37. Shea K. M. Pediatric exposure and potential toxicity of phthalate plasticizers. American Academy of Pediatrics. Technical report. In: Pediatrics, 2003, Vol. 111, № 6, pp. 1467-1474.
38. Gray L. E. Jr et al. Effects of environmental antiandrogens on reproductive development in experimental animals. In: Human Reproduction Update, 2001, Vol. 7, № 3, pp. 248-264.
39. WHO: Guidelines for drinking-water quality, 2nd ed., Vol. 2, Health criteria and other supporting information. World Health Organization, Geneva, 1996.
40. Warren J. R., Lalvani N. D., Reddy J. K. Phthalate Esters as peroxisome proliferator carcinogens. In: Environmental Health Perspectives, 1982, Vol. 45, pp. 35-40.

41. Doull J. et al. A cancer risk assessment of di(2-ethylhexyl)phthalate: application of the new U.S. EPA Risk Assessment Guidelines. In: Regulatory Toxicology and Pharmacology, 1999, 29(3), pp. 327-357.
42. Kluwe W. M. et al. Carcinogenicity testing of phthalate esters and related compounds by the National Toxicology Program and the National Cancer Institute. In: Environ Health Perspect, 1982, 45, pp. 129–133.
43. Lloyd S. C., Foster P. M. D. Effect of mono-(2-ethylhexyl)phthalate on follicle-stimulating hormone responsiveness of cultured rat Sertoli cells. In: Toxicology and Applied Pharmacology, 1988, Vol. 95, Issue 3, pp. 484–489.
44. Gray T. J., Gangolli S. D. Aspects of the testicular toxicity of phthalate esters. In: Environmental Health Perspectives, 1986, Vol. 65, pp. 229-235.
45. Ivelisse Colón et al. Identification of phthalate esters in the serum of young puerto rican girls with premature breast development. In: Environmental Health Perspectives, 2002, Vol. 108, № 9, pp. 895-900.
46. Elsis A. E., Carter D. E., Sipes I. G. Dermal absorption of phthalate diesters in rats. In: Fundamental and Applied Toxicology, 1989, 12, pp. 70-77.
47. Material safety data sheet (MSDS) Sigma-Aldrich Chemie GmbH. <http://www.sigma-aldrich.com> (citat 16.11.2012)
48. Material safety data sheet (MSDS) Fisher Scientific. [http:// www.fscimage.fishersci.com](http://www.fscimage.fishersci.com) (citat 16.11.2012)
49. Material safety data sheet (MSDS) Sciencelab.com, Inc <http://www.sciencelab.com> (citat 16.11.2012)
50. Material safety data sheet (MSDS) Megaloid laboratories limited. [http:// www.megaloid.ca](http://www.megaloid.ca) (citat 16.11.2012)
51. Material safety data sheet (MSDS) Acros Organics BVBA, Belgium. <http://www.acros.com> (citat 16.11.2012)
52. Material safety data sheet (MSDS) Clearsynth Labs Pvt. Ltd. <http://www.info@clearsynth.com> (citat 16.11.2012)
53. Шатинская И. Г. Сравнительная характеристика методов изучения кумуляции при решении задач гигиенического регламентирования вредных веществ. Автореферат диссертации. канд. мед. наук. Киев, 1986, 24 с.
54. Fassett D. W., Irish D. D.. Industrial Hygiene and Toxicology. In: Interscience publishers, 1963, 2, p. 1546.
55. Антонюк О. К. — В кн.: Гигиена и токсикология. Материалы гор. науч. конф. молодых ученых гигиенистов Киева. Киев, ВНИИГИНТОКС, 1967, 304 с.

56. Hammond B. G. et al. A review of the subchronic toxicity of butyl benzyl phthalate. In: *Toxicol Ind Health*, 1987, 3(2), pp. 79-98.
57. Material safety data sheet (MSDS) Reagent World, Inc. <http://www.reagentworld.com> (citat 16.11.2012)
58. 2008/105/CE. Directive 2008/105/CE du Parlement Européen et du Conseil. Établissant des normes de qualité environnementale dans le domaine de l'eau, modifiant et abrogeant les directives du Conseil 82/176/CEE, 83/513/CEE, 84/156/CEE, 84/491/CEE, 86/280/CEE et modifiant la directive 2000/60/CE. *Journal officiel de l'Union européenne*. Annexe I, 2008, L 348/92. 14 p.
59. Consumer product safety improvement act of 2008. 110th Congress. Public Law 110-314—AUG, 14, 2008, Section 108, 63 p.
60. Blount B. C. et al. Levels of seven urinary phthalate metabolites in a human reference population. In: *Environmental Health Perspectives*, 2000, Vol. 108, № 10, pp. 978-982.
61. Cartwright C. D. et al. Biodegradation of diethyl phthalate in soil by a novel pathway. *FEMS Microbiology Letters*, 2000, 186, pp. 27-34.
62. Albro P. W. Absorption, metabolism, and excretion of di(2-ethylhexyl) phthalate by rats and mice. In: *Environmental Health Perspectives*, 1986, Vol. 65, pp. 293-298.
63. Pietrogrande M. C., Rossi D., Paganetto G. Gas chromatographic–mass spectrometric analysis of di(2-ethylhexyl) phthalate and its metabolites in hepatic microsomal incubations. In: *Analytica Chimica Acta*, 480, 2003, pp. 1–10.
64. Wittassek M., Angerer J. Phthalates: metabolism and exposure. In: *International Journal of Andrology*, 2008, 31, pp. 131–138.
65. Koch H. M., Bolt H. M., Angerer J. Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP) metabolites in human urine and serum after a single oral dose of deuterium-labelled DEHP. In: *Archives of Toxicology*, 2004, 78, 3, pp. 123-130.
66. Yingying Wang, Yanzhen Fan, Ji-Dong Gu. Aerobic degradation of phthalic acid by *Comamonas acidovorans* Fy-1 and dimethyl phthalate ester by two reconstituted consortia from sewage sludge at high concentrations. In: *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2003, 19, pp. 811–815.
67. Engelhardt G., Wallnöfer P. R., Rast H. G. Metabolism of o-phthalic acid by different gram-negative and gram-positive soil bacteria. In: *Archives of Microbiology*, 1976, 109, pp. 109-114.
68. Benzyl butyl phthalate (BBP). European Union Risk Assessment Report. Office for Official Publications of the European Communities, 2007, Vol. 76. 261 p.

69. 1,2-benzenedicarboxylic acid, di-C8-10-branched alkyl esters, C9-rich and di-“isononyl” phthalate (DINP). European Union Risk Assessment Report. Office for Official Publications of the European Communities, 2003, Vol. 35, 290 p.
70. Mehrle P. M., Mayer F. L. Di-2-Ethyl hexyl phthalate: residue dynamics and biological effects in rainbow trout and fathead minnows. In: Proceedings of University of Missouri's Annual Conference of Trace Substances in Environmental Health, University of Missouri, Columbia, 1976, 10, pp. 519-636.
71. Mayer F. L. Mehrle P. M., Shoettger R. A. Collagen metabolism in fish exposed to organic chemicals. In: Recent Advances in Fish Toxicology, 1977, US Environmental Protection Agency (EPA), Doc. EPA 600/3-77-085, pp. 31-54.
72. Schwarzenbach R. P. Gschwend P. M., Imboden D. M. Environmental Organic Chemistry. New York: Wiley-Interscience, 2003. 1313 p.
73. Behnke W., Nolting F., Zetzsch C. The atmospheric fate of di(2-ethylhexyl-)phthalate, adsorbed on various metal oxide model aerosols and on coal fly ash. In: Journal of Aerosol Science, 1987, Vol. 18, 6, pp. 849–852.
74. Wolfe N.L, Steen W. C., Burns L. A. Phthalate ester hydrolysis: linear free energy relationships. In: Chemosphere, 1980, 9, pp 403–408.
75. Wypych G. Handbook of Plasticizers. Canada: ChemTec Publishing. 2004, 687 p.
76. Storey R. F., Mauritz K. A., Cox B. D. Diffusion of various dialkyl phthalate plasticizers in PVC. In: Macromolecules, 1989, 22, pp. 289-294.
77. Jung Hwan Kim et al. DEHP Migration Behavior from Excessively Plasticized PVC Sheets. In: Bull. Korean Chem. Soc., 2003, Vol. 24, № 3, pp. 345-349.
78. Veiga M. et al. Migration of phthalate-based plasticizers from PVC and non PVC containers and medical devices. In: J. Braz. Chem. Soc., 2012, Vol. 23, № 1, pp. 72-77.
79. Wildbrett G. Diffusion of Phthalic Acid Esters from PVC Milk Tubing. In: Environmental Health Perspectives, 1973, 3, pp. 29-35.
80. Другов Ю. С., Родин А. А. Пробоподготовка в экологическом анализе. Санкт-Петербург.: «Анатолия», 2002. 755 с.
81. МУК 4.1.738-99. Хромато-масс-спектрометрическое определение фталатов и органических кислот в воде.
82. ГОСТ Р 51209-98. Вода питьевая. Метод определения содержания хлорорганических пестицидов газожидкостной хроматографией.
83. Kaufmann B., Christen P. Recent techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurized solvent extraction. In: Phytochemical analysis, 2002, 13, pp. 105-113.

84. Lopez-Avila V., Young R., Beckert W. F. Microwave-Assisted Extraction of Organic Compounds from Standard Reference Soils and Sediments. In: *Analytical chemistry*, 1994, 66 (7), pp 1097–1106.
85. Cortazar E. et al. Optimisation of microwave-assisted extraction for the determination of nonylphenols and phthalate esters in sediment samples and comparison with pressurised solvent extraction. In: *Analytica Chimica Acta*, 2005, Vol. 534, Issue 2, pp 247–254.
86. Capelo-Martínez J.-L. *Ultrasound in Chemistry*. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim. 2009, 157 p.
87. И. А. Муравьев. *Технология лекарств*. Т.1., М: Медицина. 1980, 389 с.
88. Zhiyong Guo et al. Development and application of a method for analysis of phthalates in ham sausages by solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. In: *Meat Science*, 2010, 84, pp. 484–490.
89. Carlo M. D. et al. Determination of phthalate esters in wine using solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. In: *Food Chemistry*, 2008, Vol. 111, Issue 3, pp. 771–777.
90. López-Roldán P., López de Alda M. J., Barceló D. Simultaneous determination of selected endocrine disrupters (pesticides, phenols and phthalates) in water by in-field solid-phase extraction (SPE) using the prototype PROFEXS followed by on-line SPE (PROSPEKT) and analysis by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation-mass spectrometry. In: *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2004, Vol. 378, Issue 3, pp. 599–609.
91. Jara S. et al. Determination of phthalates in water samples using polystyrene solid-phase extraction and liquid chromatography quantification. *Analytica Chimica Acta* 407, 2000, pp. 165–171.
92. Cai Y., Jiang G., Liu J. Solid-Phase Extraction of Several Phthalate Esters from Environmental Water Samples on a Column Packed with Polytetrafluoroethylene Turnings. In: *Analytical sciences*, 2003, Vol. 19, pp. 1491–1494.
93. Ya-Qi Cai et al. Multi-walled carbon nanotubes packed cartridge for the solid-phase extraction of several phthalate esters from water samples and their determination by high performance liquid chromatography. In: *Analytica Chimica Acta*, 2003, 494, pp. 149–156.
94. Niu H. et al. Cetyltrimethylammonium bromide-coated titanate nanotubes for solid-phase extraction of phthalate esters from natural waters prior to high-performance liquid chromatography analysis. In: *Journal of Chromatography A*, 2007, 23, Vol. 1172, Issue 2, pp. 113–120.

95. Qian Xu et al. Determination of phthalate esters in water samples using Nylon6 nanofibers mat-based solid-phase extraction coupled to liquid chromatography. In: *Microchim Acta* Springer-Verlag, 2010, Vol. 168, Issue 3-4, pp. 267-275.
96. Peñalver A. et al. Determination of phthalate esters in water samples by solid-phase microextraction and gas chromatography with mass spectrometric detection. In: *Journal of Chromatography A*, 2000, 872, pp. 191–201.
97. Peñalver A. et al. Comparison of different fibers for the solid-phase microextraction of phthalate esters from water. In: *Journal of Chromatography A*, 2001, 922, pp. 377-384.
98. Xu-Liang Cao. Determination of phthalates and adipate in bottled water by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography/mass spectrometry. In; *Journal of Chromatography A*, 2008, Vol. 1178, Issues 1–2, pp. 231–238.
99. Luks-Betlej K. et al. Solid-phase microextraction of phthalates from water. In: *Journal of Chromatography A*, 2001, 938, pp. 93–101.
100. Carrillo J. D. et al. Determination of phthalates in wine by headspace solid-phase microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry: Fibre comparison and selection. In: *Journal of Chromatography A*, 2007, 1164, pp. 248–261.
101. Wenzl T. Methods for the determination of phthalates in food. European Commission Joint Research Centre Institute for Reference Materials and Measurements. European Communities, 2009, 50 p.
102. Leitz J. et al. Chemical analysis and risk assessment of diethyl Phthalate in alcoholic beverages with special regard to unrecorded alcohol. *PLoS ONE*, 2009, Vol. 4, Issue 12, p. 7.
103. Earls A. O., Axford I. P., Braybrook J. H. Gas chromatography–mass spectrometry determination of the migration of phthalate plasticisers from polyvinyl chloride toys and childcare articles. *Journal of Chromatography A*, 2003, 983, pp. 237–246.
104. Prokúpková G. et al. Development of a solid-phase microextraction method for the determination of phthalic acid esters in water. *Analytica Chimica Acta*, 2002, Vol. 457, Issue 2, pp. 211–223.
105. Hu X. Y., Wen B., Shan X.Q. Survey of phthalate pollution in arable soils in China. In: *Journal of Environmental Monitoring*, 2003, 5, pp. 649-653.
106. Biedermann-Brem S. et al. Compositional GC-FID analysis of the additives to PVC, focusing on the gaskets of lids for glass jars. In: *Food Additives and Contaminants*, 2005, 22, Issue 12, pp. 1274-1284.
107. Guo B. Y. et al. Separation and determination of phthalates by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography A*, 2005, 1095, Issues 1–2, pp. 189–192.

108. Jidong Li et al. Analysis of phthalates via HPLC-UV in environmental water samples after concentration by solid-phase extraction using ionic liquid mixed hemimicelles. In: *Talanta*, 2008, 74, Issue 4, pp. 498–504.
109. Kurie Mitani, Fumio Izushi, Hiroyuki Kataoka. Analysis of Phthalate Contamination in Infusion Solutions by Automated On-Line In-Tube Solid-Phase Microextraction Coupled with High-Performance Liquid Chromatography. In: *Journal of Analytical Toxicology*, 2004, 28, pp. 575-580.
110. Pérez F. C. et al. Phthalates determination in physiological saline solutions by HPLC–ES-MS. In: *Talanta*, 2008, 75, Issue 5, pp. 1184–1189.
111. Blount B. C. et al. Quantitative Detection of Eight Phthalate Metabolites in Human Urine Using HPLC–APCI-MS/MS. In: *Analytical Chemistry*, 2000, 72 (17), pp. 4127–4134.
112. Albert K. et al. Online Coupling of Supercritical Fluid Chromatography and Proton High-Field Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. In: *Analytical Chemistry*, 1994, 66 (19), pp 3042–3046.
113. Korhammer S. A., Bernreuther A.. Hyphenation of high-performance liquid chromatography (HPLC) and other chromatographic techniques (SFC, GPC, GC, CE) with nuclear magnetic resonance (NMR): A review. In: *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 1996, 354, Issue 2, pp. 131-135.
114. He W., Shanks R., Amarasinghe G. Analysis of additives in polymers by thin-layer chromatography coupled with Fourier transform-infrared microscopy. In: *Vibrational Spectroscopy*, 2002, 30, 2, pp. 147–156.
115. Gray M. J. Determining a comprehensive methodology to screen of phthalates using portable FT-IR. Thermo Niton Analyzers LLC. (<http://www.ahurascientific.com/chemical-explosives-id/products/trudedefenderft/index.php>) (citat 12.02.2013).
116. Hauck H. E., Schulz M. Ultrathin-Layer Chromatography. In: *Journal of Chromatographic Science*, 2002, 40 (10), pp. 550-552.
117. Min Zhang, Yu-Qiang Liu, Bang-Ce Ye. Rapid and sensitive colorimetric visualization of phthalates using UTP-modified gold nanoparticles cross-linked by copper (II). In: *Chemical Communications*, 2011, 47, pp. 11849-11851.
118. Взаимодействие пестицидов с микроорганизмами: Научный обзор / под ред. Либерштейна И. И.. – Кишинев.: «Штиинца», 1984. 144 с.
119. Torstensson L., Wessén B. Interactions between the fungicide benomyl and soil microorganisms. In: *Soil Biology and Biochemistry*, 1984, 16, 5, pp. 445–452.

120. Méndez-Díaz J. D. et al. Adsorption/bioadsorption of phthalic acid, an organic micropollutant present in landfill leachates, on activated carbons. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2012, 369, 1, pp. 358–365.
121. Chan H.W. et al. Biosorption of di(2-ethylhexyl)phthalate by seaweed biomass. In: *Journal of Applied Phycology*, 2004, 16, 4, pp 263-274.
122. Mohan S. V. et al. Adsorptive removal of phthalate ester (di-ethyl phthalate) from aqueous phase by activated carbon: A kinetic study. In: *Journal of Hazardous Materials*, 2007, 146, Issues 1–2, pp. 278–282.
123. Соколова Т. А., Трофимов С. Я. Сорбционные свойства почв. Адсорбция. Катионный обмен: учебное пособие по некоторым главам химии почв. – Тула: Гриф и К, 2009. 172с.
124. Boily J. F., Persson P., Sjöberg S. Benzenecarboxylate surface complexation at the goethite (α -FeOOH)/water interface: II. Linking IR spectroscopic observations to mechanistic surface complexation models for phthalate, trimellitate, and pyromellitate. In: *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2000, 64, 20, pp. 3453–3470.
125. Nordin J. et al. Adsorption of o-Phthalate at the Water–Boehmite (γ -AlOOH) Interface: Evidence for Two Coordination Modes. In: *Langmuir*, 1997, 13 (15), pp. 4085–4093.
126. Schulten H. R., Thomsen M., Carlsen L. Humic complexes of diethyl phthalate: molecular modelling of the sorption process. In: *Chemosphere*, 2001, 45 (3), pp. 357-369.
127. Cousins I., Mackay D. Correlating the physical-chemical properties of phthalate esters using the ‘three solubility’ approach. In: *Chemosphere*, 2000, 41, pp. 1389-1399.
128. IT MD 67-02934365-1379-99. Instrucțiune tehnologică ramurală. Referitoare la efectuarea procesului de filtrare prin plăci filtrante a vinurilor materie primă, vinurilor și sucurilor de struguri și de tructe, băuturilor tari. 1999.
129. IT MD 67-02934365-1040-98. Instrucțiune tehnologică referitoare la tratarea musturilor, vinurilor materie primă și vinurilor cu bentonite. 1998.
130. COEI-1-Benton : 2003. Bentonites. International Oenological Codex. № SIN 558 (Oeno 11/2003 modified Oeno 441-2011), 9 p.
131. COEI-1-Charbo : 2007. Oenological Carbon. International Oenological Codex. INS №: 153 (Oeno 7/2007), 13 p.
132. COEI-1-Diatom : 2002. Diatomite. International Oenological Codex. (Oeno 10/2002), 3p.
133. Ribéreau-Gayon P. et al. Handbook of Enology. The Chemistry of Wine Stabilization and Treatments. Volume 2, 2nd Edition. John Wiley & Sons ltd, 2006. 441 p.

134. Неймарк И. Е., Шейнфайн Р. Ю. Силикагель, его получение, свойства и применение. «Наукова думка».: Киев, 1973. 200 с.
135. Яшин Я. И. Физико-химические основы хроматографического разделения. М.: «Химия», 1976. 216с.
136. Ion exchange resins. Adsorbent resins. Chromatographic resins in food industry. www.biokal.nl (citat 10.04.2013).
137. Technical Information. Beverage Stabilization SIHA Carbogran FA. 1 B 5.3.3 · SH 10/2007. www.begerow.com (citat 10.04.2013).
138. Duca G. et al. Studying of phthalates analysis techniques in wine products. În: Vinul in mileniul III – problemele actuale in vinificatie. Culegere de lucrari știintifice a coferinței șt.-practică. Chișinau, 2011, 162-167.
139. Duca G. et al. Analysis of the phthalate content levels in wine products. In: Chemistry Journal of Moldova, 2011, 6 (2), pp. 65-69.
140. Lazacovici D. Compararea metodelor de testare a rezidurilor de ftalati in vinuri. În: Culegere de lucrari știintifice a conferinței tehnico-științifica a colaboratorilor, doctoranzilor si studenților, 2010, Vol. 2, pp. 75-84.
141. SM 139:1997. Produse alimentare. Metoda de determinare a alcoolului metilic prin metoda cromatografie in fază gazoasă. Chișinau: Moldovastandard, 1997, 24 p.
142. SM 125:1996. Vinuri materie primă, vinuri, divinuri, băuturi tari, distilate de vin și alcooluri din fructe. Metoda gaz-cromatografică de determinare a alcoolilor superiori. Chișinau.: Moldovastandard, Ediția a 2-a, 1998.
143. Михеева Е. В., Пикула Н. П. Физическая и коллоидная химия. В: Учебное пособие для студентов ИГНД очного и заочного обучения. – Томск: Изд-во ТПУ, 2009, 267 с.
144. Бурьян Н. И. Практическая микробиология виноделия. – Симферополь: Таврида, 2003. 560 с.
145. Стокгольмская конвенция о стойких органических загрязнителях. <http://www.un.org> (citat 23.10.2013).
146. Farahani H. et al. Screening method for phthalate esters in water using liquid-phase microextraction based on the solidification of a floating organic microdrop combined with gas chromatography–mass spectrometry. In: Talanta, 2008, Vol. 76, 4, pp. 718–723.
147. Phthalate esters by gas chromatography with electron capture detection (GC/ECD). Method 8061A. Environmental Protection Agency, 1996. 18 p. <http://www.epa.gov/solidwaste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/8061a.pdf> (citat 08.11.2013).

148. OIV-OENO 477-2013. Method of determination of phthalates by gas chromatography/mass spectrometry in wines. www.oiv.int/oiv/.../OIV-OENO_477-2013_EN (citat 03.08.2013).
149. OIV-OENO 521-2013. Method of determination of phthalates in spirituous beverages by gas chromatography/mass spectrometry. www.oiv.int/oiv/.../OIV-OENO_521-2013_EN (citat 03.08.2013).
150. Heyer M., Wittwer K. (Schuljahr 2005/06) Naturstoffe als Indikatoren. Projektarbeiten am Institut Dr. Flad. <http://www.chf.de/eduthek/projektarbeit-faerben-mit-naturfarbstoffen.html#1> (citat 26.11.2013).
151. Скурихин И. М. Химия коньяка и бренди. М.: ДеЛи принт, 2005. 296 с.
152. Кишковский З. Н., Скурихин И. М. Химия вина. М.: Агропромиздат, 1988. 254 с.
153. Комарова Н. В., Каменцев Я. С. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ». СПб.: ООО «Веда», 2006. 212 с.
154. МУК 4.1.2772-10. Методы контроля. Химические факторы. Определение массовой концентрации фталевой кислоты в пробах крови методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Методические указания.
155. Guidance for Industry. Q2B Validation of Analytical Procedures: Methodology. 1996. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration.
156. Minseon Kim et al. Simultaneous gas chromatography-mass spectrometric determination of total and individual phthalic esters utilizing alkaline hydrolysis and silyl derivatization technique. In: Bull. Korean Chem. Soc. 2007, Vol. 28, No.3. pp. 432-438.
157. Duca G. G. et al. Determination of the phthalates content levels in alcoholic beverages by gas chromatography mass spectrometry. In: Scientific works. Vol. 58, Issue 1, 2011, pp. 433-438.
158. Duca G. et al. Analysis of the phthalate content levels in wine products. In: Chemistry Journal of Moldova, 2011, 6 (2), pp. 65-69.
159. Vikelsøe, J. et al. Phthalates and Nonylphenols in Soil. A Field Study of Different Soil Profiles. National Environmental Research Institute, Denmark. Technical Report No. 268, 1999, 128 p.
160. Feng Zeng et al. Phthalate esters (PAEs): Emerging organic contaminants in agricultural soils in peri-urban areas around Guangzhou, China. In: Environmental Pollution, Vol. 156, 2, pp. 425-434.
161. Лазакович Д. В., Стурза Р. А. Изучение миграции фталатов из различных материалов, контактирующих с пищевой продукцией. Сборник научных трудов.

- ФГБОУ ВПО «СПбГТЭУ»; под общ. ред. Панковой Н. В. – СПб.: Изд-во «ЛЕМА», 2012. с. 94-101.
162. Dmitri Lazacovici. The study of phthalates migration from different materials contacting with food. In: Journal of Food and Packaging Science, Technique and Technologies, № 1, 2012, pp. 27-32.
163. СанПин 4630-88. Санитарные правила и нормы охраны поверхностных вод от загрязнения, 1988.
164. OIV-MA-BS-33. Method of determination of phthalates in spirituous beverages by gas-chromatography / mass spectrometry.
165. Duca G., Sturza R., Lazacovici D. The study of the phthalate removing process from alcoholic products. In: Proceedings of International Conference Modern Technologies in the Food Industry, Chişinău: Tipogr. «Bons Offices», 2012, Vol. 2, pp. 239-243.
166. OIV-MA-AS315-11:R2007. HPLC-Determination of nine major anthocyanins in red and rosé wine. Compendium of international methods of analysis-OIV. Resolution Oeno 22/2003 modified by Oeno 12/2007.
167. Sturza R. et al. Detection of additional compounds with flavouring potential of wines. В: Труды научно-практической конференции. Одесса: Одессастандартметрология., 2010, с. 87-97.
168. OIV-MA-BS-26:2009. Measurement of colour intensity. Compendium of international methods of analysis of spirituous beverages of vitivincultural origin. <http://www.oiv.int/oiv/files/OIV-MA-BS-26-EN.pdf> (citat 18.09.2012)
169. Меледина Т. В. Давыденко С. Г., Васильева Л. М. Физиологическое состояние дрожжей: Учеб. пособие. СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. 48 с.
170. Ашихмин С. П и др. Соединения азота в биомедицинских науках. Москва: Изд. дом «Академия Естествознания», 2012. 87 с.
171. Калёбина Т. С., Кулаев И. С. Роль белков в формировании молекулярной структуры клеточной стенки дрожжей. В: Успехи биологической химии. 2001, т. 41, с. 105-130.
172. Lipke P. N., Ovalle R. Cell wall architecture in yeast: New structure and new challenges. In: J. Bacteriol, 1998, Vol. 180, № 15, p. 3735–3740.
173. Главачек Ф., Лхотский А. Пивоварение. Пер. с чешского И. В. Холодовой. М.: Пищевая промышленность, 1977. 623 с.
174. Feldmann H. Yeast: Molecular and cell biology, Second edition. Wiley-Blackwell, 2012, 464 p.
175. Бурьян Н. И., Тюрина Л. В. Микробиология виноделия. М.: Пищевая промышленность, 1979. 271 с.

176. Reguli generale privind fabricarea productiei vinicole: Colegere/Institutia Publica Inst. St.-
Practic de Horticultura si Tehnologii Alimentare; col. red.: Taran N., et al. ; sub red. st.
Taran N., Soldatenco E. – Ch.: SRL “Print-Caro”, 2010, 440 p.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1. Масс спектры библиотеки NIST/EPA/NIH версии NIST 08 (E=70eV)

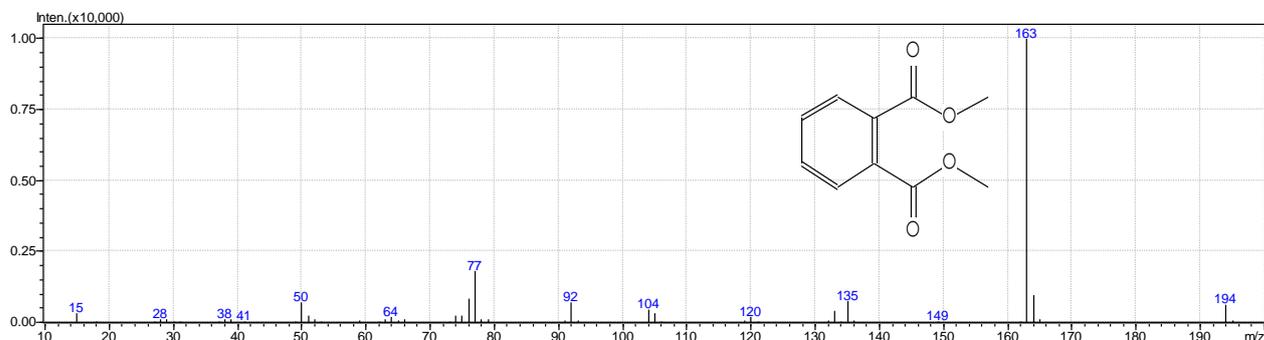


Рис. П1.1. Масс спектр ДМФ библиотеки NIST/EPA/NIH версии NIST 08 ($E_i=70\text{eV}$)

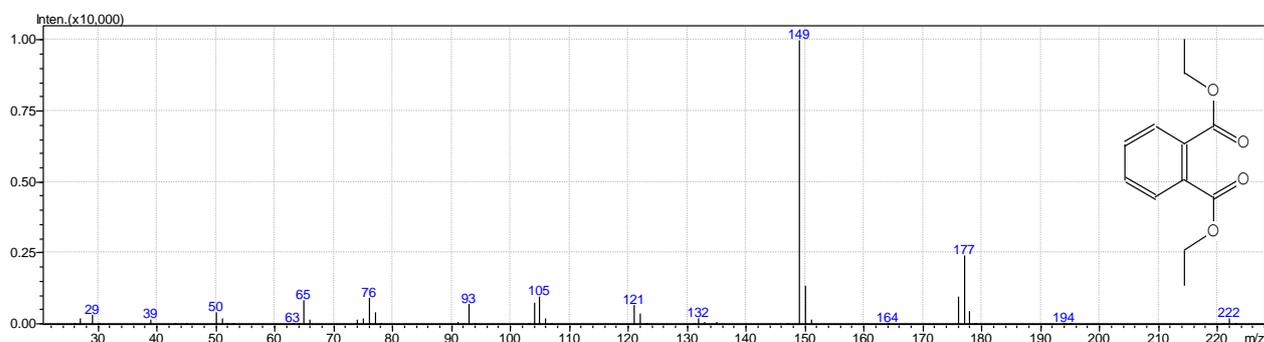


Рис. П1.2. Масс спектр ДЭФ библиотеки NIST/EPA/NIH версии NIST 08 ($E_i=70\text{eV}$)

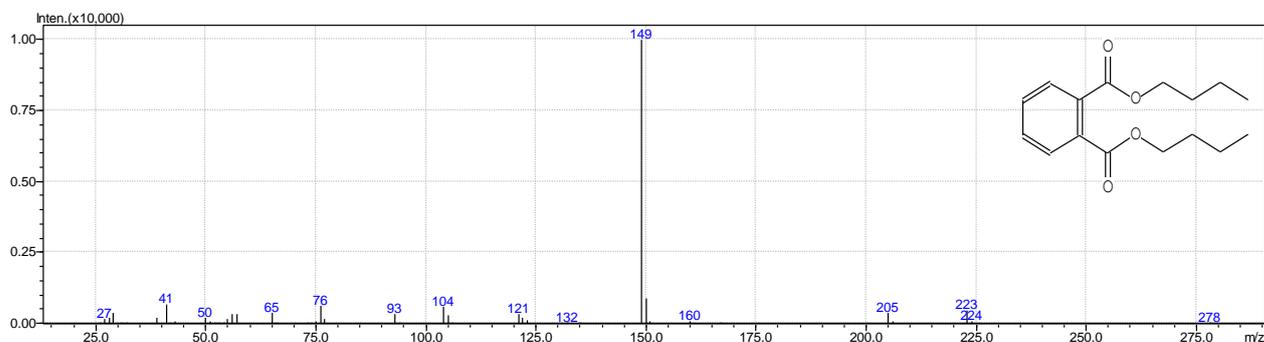


Рис. П1.3. Масс спектр ДБФ библиотеки NIST/EPA/NIH версии NIST 08 ($E_i=70\text{eV}$)

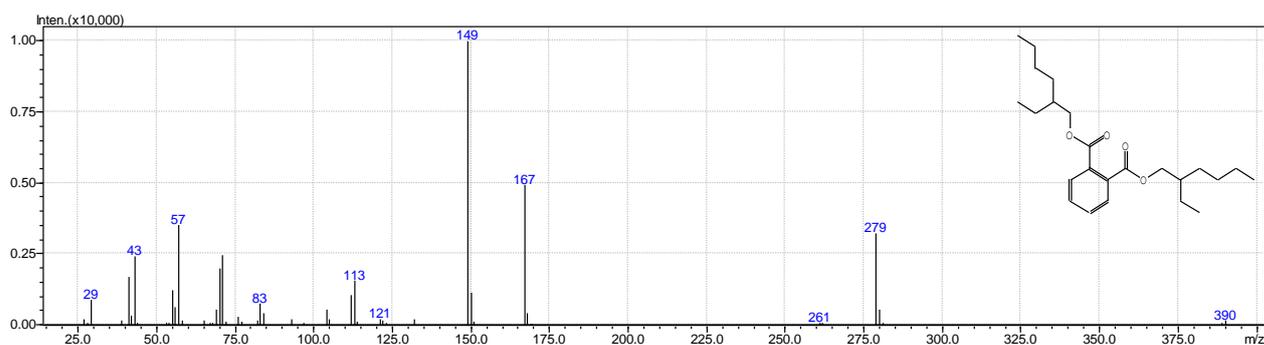


Рис. П1.4. Масс спектр ДЭГФ библиотеки NIST/EPA/NIH версии NIST 08 ($E_i=70\text{eV}$)

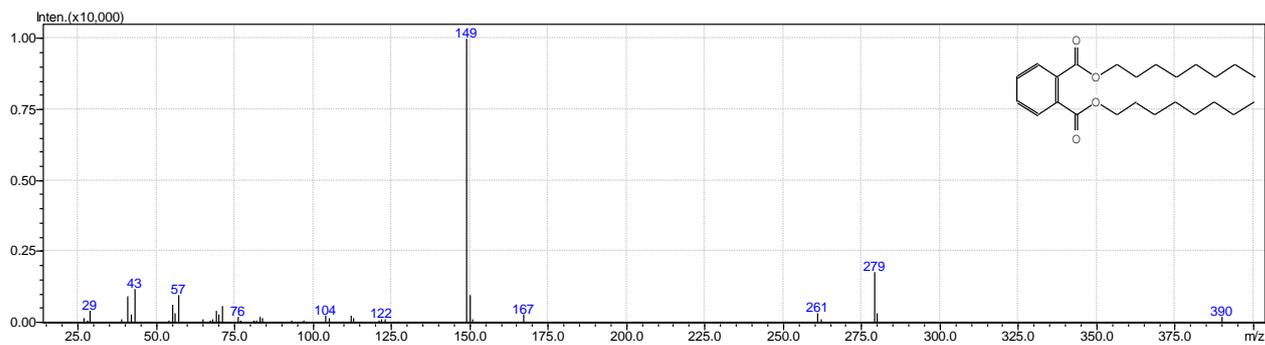


Рис. П1.5. Масс спектр ДОФ библиотеки NIST/EPA/NIH версии NIST 08 ($E_i=70\text{eV}$)

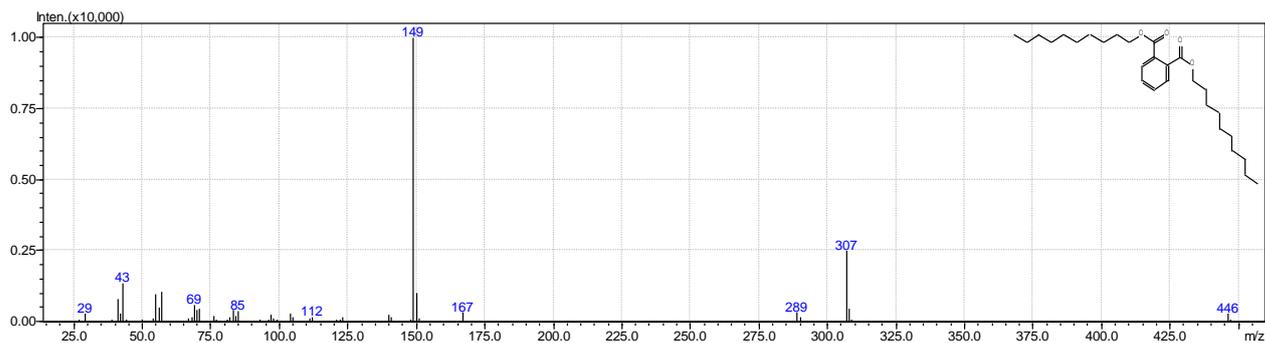


Рис. П1.6. Масс спектр ДДФ библиотеки NIST/EPA/NIH версии NIST 08 ($E_i=70\text{eV}$)

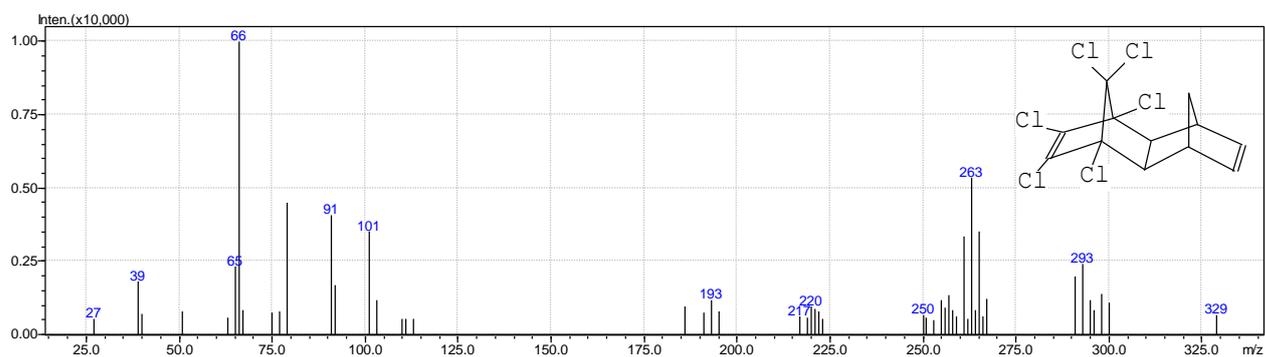


Рис. П1.7. Масс спектр альдрина библиотеки NIST/EPA/NIH версии NIST 08 ($E_i=70\text{eV}$)

Приложение 2. Рис. П2. Результат запроса в Государственной гидрометеорологической службе об уровне загрязнения поверхностных почв на территории Республики Молдова.

MINISTERUL
MEDIULUI
AL REPUBLICII MOLDOVA

SERVICIUL
HIDROMETEOROLOGIC
DE STAT

2072, or. Chişinău, str. Grenoble 134
tel. 773500, fax 773636
e-mail: hidrometeo@meteo.gov.md
www.meteo.md



МИНИСТЕРСТВО
ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ
РЕСПУБЛИКИ МОЛДОВА

ГОСУДАРСТВЕННАЯ
ГИДРОМЕТЕОРОЛОГИЧЕСКАЯ
СЛУЖБА

2072, г. Кишинев, ул. Гренобля, 134
тел. 773500, факс 773636
e-mail: hidrometeo@meteo.gov.md
www.meteo.md

07.03.13. nr. 319/05

La nr. _____ din _____

Doctorandului Institutului de Chimie
A.S.M. Lazacovici Dumitru

Cerere

Prin prezenta, Serviciul Hidrometeorologic de Stat, Vă informează că a examinat adresarea Dstră referitor la solicitarea informației privind conținutul Aldrinului pe teritoriul Republicii Moldova.
Pe întreg teritoriul al Republicii Moldova, în baza rețelei stabilite în programul de lucru Aldrinul a fost examinat în sectoarele raioanelor (com. Cobani, r-nul Glodeni, com. Arionești, r-nul Dondușeni, com. Lozova, r-nul Strășeni, com. Tomai, r-nul Leova, com. Purcari, r-nul Ștefan-Vodă, com. Avdarma, UTAG), în mostrele cărora au fost depistate concentrațiile de Aldrin mai jos de limita de detecție a echipamentului utilizat.

Cu respect,

Director

Mihail ROIBU

Ex: G.Gilcă 766855
06.03.13

Приложение 3. Процедура анализа фталатов в алкогольных продуктах методом ГХМС (2011г.)

Рис. ПЗ.1. Страницы процедуры 1, 2.

L I ÎS „CNVCPA „	PROCEDURĂ SPECIFICĂ	Cod: PS-12-DBF-LI
		Ediția:1
		Revizia:0
Exemplar nr. 1/2		Pagina :1/12

*Anexat
MOS*

Determinarea rezidiuri ftalați prin metoda GS/MS

Reproducerea , tirajarea parțială sau totală a documentului dat fără acordul laboratorului de încercări este interzis!!!!

	Elaborat	Coordonat	Aprobat
Responsabil	Specialist coordonator Dmitrii Lazacovici	Sef L I Ludmila MARCOCI	Director " CNVCPA " d-r.st. t .Rodica STURZA
Data	17.10.2011	18.10.2011	19.10.2011
Semnătura			

Cod: PS-12-DBF-LI	Ediția: 1	Revizia: 0	Pagina: 2/12
-------------------	-----------	------------	--------------

1. Область применения

Настоящие методические указания устанавливают количественный хромато-масс-спектрометрический анализ вин, виноматериалов, бренди, винных дистиллятов и пр. спирто-содержащих напитков для определения в них содержания дибутилфталата в диапазоне концентраций от 0,01 до 0,5 мг/дм³. Согласно данной методике возможно количественное определение и других фталатов – гомологов, т. к. диметилфталата, диэтилфталата, бис(2-этилгексил)фталата, диоктилфталата и дидецилфталата.

2. Нормативные документы

2.1 Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. СанПиН 2.1.4.559-96. М.: ГКСЭН России, 1996. 111 с.

2.2 Санитарные правила и нормы охраны поверхностных вод от загрязнения. СанПиН 4630-88. М.: МЗ СССР, 1988. 60 с.

2.3. Методические указания по определению концентраций химических веществ в воде централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения. Сборник методических указаний. М.: МЗ России, 1997. 112 с.

2.4. ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФТАЛАТОВ И ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В ВОДЕ. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ. МУК4.1.738-99

2.5 SM SR ISO 5725 -2002 Exactitatea (justeă și fidelitatea) metodelor de măsurare și a rezultatelor măsurărilor.

2.6 Decizia comisiei de stabilire a normelor de aplicare a Directivei 96/23/CE a Consiliului privind funcționarea metodelor de analiza și interpretarea rezultatelor din 14.08.2002.

3. Принцип метода

Методика основана на хроматографическом разделении пробы на капиллярной колонке, идентификации дибутилфталата по времени удерживания и масс-спектру, и количественному определению фталата с использованием внутреннего стандарта (в случае крепких алкогольных напитков). Измерение концентраций дибутилфталата в винах и виноматериалах основано на извлечении его из продукта экстракцией хлороформом, хроматографическом отделении на капиллярной колонке, идентификации по времени удерживания и масс-спектру, и количественному определению по характерному иону. Аналогично возможно определение широкого ряда других фталатов.

Определению не мешают : этанол, пентан, гексан, бензол, ксилол и др.

Продолжительность проведения хромато-масс-спектрометрического анализа для дибутилфталата составляет 30 мин.

4. Средства измерений, программное обеспечение, вспомогательные устройства, материалы, реактивы

4.1 Средства измерений

4.1.11 азовый хроматограф GCMS - QP2010 S № 020384670148 USвключающий:

- масс-селективный детектор № АОС 5000 1210671

- программное обеспечение

Cod: PS-12-DBF-LI	Ediția: 1	Revizia: 0	Pagina: 3/12
-------------------	-----------	------------	--------------

- автодозатор
- аналитическая хроматографическая колонка кварцевая капиллярная, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, покрытая неподвижной фазой Rtx-5MS толщиной пленки 0,25 мкм

- 4.1.2 Микрошприц вместимостью 10 куб. мм, п.д. 0,1, Hamilton или аналогичный
- 4.1.3 Весы аналитические лабораторные CE 224-C.
- 4.1.4 Посуда стеклянная лабораторная ГОСТ 29227-91, ГОСТ 29169-91, ГОСТ 1770-74
- 4.1.5 Программное обеспечение для получения и обработки полученных данных LabSolutions AOC-5000 Option Software for CGMSsolution

4.2. Вспомогательные устройства

- 4.2.1 Воронки делительные объемом 250 куб.см
- 4.2.2 Вials для автодозатора объемом 2мл
- 4.2.3 Вials объемом 20мл
- 4.2.4 Микрошприц на 100мкл
- 4.2.5 Пипетки Мора 5, 10, 100мл
- 4.2.6 Пипетка градуированная
- 4.2.7 Мерные цилиндры 10мл
- 4.2.8 Мерные колбы 100мл
- 4.2.9 Стеклянные воронки

4.3. Материалы и реактивы

- 4.3.1 Гелий газообразный очищенный марки 5N
- 4.3.2 Дибутилфталат(DBP), содержание основного вещества не менее 99,8%
- 4.3.3 Хлороформ, ч.д.а.
- 4.3.4 Кислота винная, ч.д.а.
- 4.3.5 Сульфат натрия безводный, ч.д.а.
- 4.3.6 Спирт этиловый 96,6% об.
- 4.3.7 Альдрин, Fluka, 100мг/дм³ в ацетонитриле.
- 4.3.8 Вода дистиллированная, ГОСТ Р 52501-2005

При анализе иных фталатов для приготовления градуировочных растворов применяют индивидуальные вещества с содержанием основного вещества не менее 99,6%.

5. Требования безопасности

- 5.1 При работе с хромато-масс-спектрометром следует соблюдать правила электробезопасности в соответствии инструкции по эксплуатации хромато-масс-спектрометра И-5.5 / 041 ИЛ и правила работы с газовыми баллонами.
- 5.2 Работы с хлороформом проводить в вытяжном шкафу, использовать резиновые перчатки и защитную маску.
- 5.3 При выполнении измерений концентраций веществ с использованием хромато-масс-спектрометра следует соблюдать правила электробезопасности в соответствии инструкции по эксплуатации хромато-масс-спектрометра.

Cod: PS-12-DBF-LI	Ediția: 1	Revizia: 0	Pagina: 4/12
-------------------	-----------	------------	--------------

6. Ход испытаний

6.1 Условия измерений

6.1.1 Приготовление растворов и подготовку проб к анализу осуществляют в следующих условиях:

температура окружающего воздуха	20 +/- 10 -С
относительная влажность	60- 80%
атмосферное давление	800-1000 мм рт. ст.

6.1.2. Выполнение измерений на хромато-масс-спектрометре проводят в условиях, рекомендуемых технической документацией к прибору и настоящими методическими указаниями.

6.2 Подготовка к выполнению измерений

Перед выполнением измерений проводят следующие работы: подготовку посуды, приготовление градуировочных растворов, подготовку масс-спектрометрического детектора и хроматографической колонки, установление градуировочных характеристик.

6.2.1. Подготовка посуды

Посуда, используемая для анализа, тщательно моется с поверхностно-активным моющим средством. После этого посуда замачивается на 3 - 4 ч в свежеприготовленном 3%-ном растворе двуххромовокислого калия в серной кислоте (0,5г двуххромовокислого калия на 100 куб.см концентрированной серной кислоты) и отмывается в проточной водопроводной воде с последующим ополаскиванием дистиллированной водой. После высушивания в сушильном шкафу при температуре 150°C посуду закрывают притертыми крышками.

6.2.2 Приготовление растворов

6.2.2.1 Приготовление растворов для анализа вина и виноматериалов.
Для приготовления всех стандартных растворов используется «фоновый раствор» - водный раствор 15% этилового спирта и винной кислоты (5 г/дм³), zaharuri? .
Исходный раствор фталата содержание примерно 1000 мг/куб.дм раствор А – готовят, взвешивая 0,1000г фталата в колбу на 100куб.см. Доводят до метки фоновым раствором. Срок хранения полученного раствора составляет 3 мес.

Стандартный раствор В готовят следующим образом: 1куб.см раствора А отбирают в колбу на 100куб.см, доводят до метки фоновым раствором, получают раствор С = 10 мг/куб.дм. Калибровочные растворы готовят, исходя из следующей схемы.

Таблица 1

Калибровочного раствора	Объем раствора В, куб.см	Приготовление стандартных растворов	
		Объем полученного калибровочного раствора, куб.см	Концентрация фталата, мг/дм ³
St 4	5,0	100,0	0,50
St 3	1,0	100,0	0,10
St 2	2,0	100,0	0,20
St 1	0,5	100,0	0,05
St 0	0	100,0	0,00

Продолжение приложения 3.
Рис. ПЗ.3. Страницы процедуры 5, 6.

Cod: PS-12-DBF-LI	Ediția: 1	Revizia: 0	Pagina: 5/12
-------------------	-----------	------------	--------------

После приготовления растворов St1, St2, St3, St4 и St 0 проводят экстракцию хлороформом дибutilфталата как указано в п.6.3. В качестве стандартов используют полученные экстракты.

Вышеуказанная схема может быть применена для приготовления градуировочных растворов на другой фталат или их смесь.

В случае необходимости анализа фталата(ов) в других жидких фазах, растворы готовятся на основе соответствующих моделей.

6.2.2.2 Приготовление градуировочных растворов для анализа бренди и винных дистиллятов

Исходный раствор дибutilфталата (C=1000 мг/куб. дм) **раствор А** – готовят, взвесивая 0,1000г дибutilфталата в колбу на 100куб.см. Доводят до метки водно-этанольным раствором 1:1. Срок хранения полученного раствора составляет 6 мес.

Стандартный **раствор В** с концентрацией дибutilфталата 10мг/куб.дм готовят следующим образом: 1куб.см раствора А отбирают в колбу на 100куб.см. Доводят до метки водно-этанольным раствором 1:1.

Таблица 2

Приготовление стандартных растворов

Калибровочного раствора	Объем раствора В, куб.см	Объем полученного калибровочного раствора, куб.см	Концентрация фталата, мг/дм ³
St 4	10,0	100,0	1,00
St 3	5,0	100,0	0,50
St 2	2,0	100,0	0,20
St 1	0,5	100,0	0,05
St 0	0	100,0	0,00

Для калибровки методом внутреннего стандарта отбирается 5мл каждого из градуировочных растворов (St 0 – St 4) в вialу на 20мл, в каждую вialу вносят микрошприцом 25мкл раствора внутреннего стандарта – алдрина (C_{альдр}=100мг/дм³).

Вышеуказанная схема может быть применена для приготовления градуировочных растворов на другой фталат или их смесь.

6.2.3. Подготовка хроматографической колонки и масс-спектрометрического детектора.

Кварцевую капиллярную колонку предварительно кондиционируют, нагревая в термостате хроматографа ступенчато с 70°C до 270°C и выдерживая при этой температуре в течение 4 ч. По охлаждении термостата хроматографа до комнатной температуры выход колонки подсоединяют к устройству сопряжения с масс-селективным детектором, создают разряжение в масс-селективном детекторе и записывают нулевую линию при параметрах проведения хроматографического анализа. При отсутствии заметных флуктуаций приступают к работе.

Cod: PS-12-DBF-LI	Ediția: 1	Revizia: 0	Pagina: 6/12
-------------------	-----------	------------	--------------

Условия проведения хромато-масс-спектрометрического анализа:

Таблица 3 Условия проведения хромато-масс-спектрометрического анализа

Температура термостата колонки, °C	160
Температура инжектора, °C	320
Температура интерфейса, °C	320
Температура ионного источника, °C	200
Делитель потока	5
Поток в колонке, мл/мин	1,0
Напряжение на детекторе, кV	1,3
Температурная программа	160°C 1мин. со скоростью 10°C/мин до 200°C, со скоростью 20°C/мин до 320°C – 10мин.

Масс-спектры электронного удара дибutilфталата и/или других фталатов получают при следующих параметрах:

Таблица 4

Масс-спектрометрические характеристики.

энергия ионизирующих электронов	70 эв
- диапазон сканирования масс (в режиме сканирования)	- 48-290 m/z
DBP	149
Aldrin (IS)	250, 261, 263, 265, 291, 293, 298
DMP	163, 164, 194
DEP	149, 177
DEHP	149, 167, 279
DNOP	149, 279
DNDP	149, 307
число сканирований в секунду	0,5
напряжение на электронном умножителе	1200 В

Идентификацию фталатов осуществляют с помощью библиотечного поиска в библиотеке NIST08 и по времени удерживания. Интегрируют площади пиков, полученных по извлеченным ионам, и по средним результатам из 4-5 серий строят градуировочную характеристику. Градуировку проверяют.

Перед каждой серией испытаний проводится проверка стабильности калибровочного графика по контрольному образцу (MRC) или же одной из точек калибровки.

$$|C - C_x| \leq 0,1 * C.$$

где C – истинная концентрация компонента, г/дм³;

C_x – полученная концентрация компонента, г/дм³.

6.3 Выполнение измерений

6.3.1. При анализе вина/виноматериала 100 куб.см образца помещают в делительную воронку на 250куб.см и добавляют 10 куб.см хлороформа. Экстракцию проводят в течение 10 мин при непрерывном встряхивании. Затем оставляют для отделения органического слоя на 10 мин. Сливают нижний слой хлороформа через фильтр с безводным сульфатом натрия. Собирают 10 куб.см экстракта в мерный цилиндр на 10 мл, который затем переносят в газохроматографическую вialу, откуда отбирают микрошприцом 1,0 куб.мм непосредственно для анализа с использованием газового хроматографа с масс-спектрометром.



Рис.1.Хроматограмма хлороформного экстракта станд. раствора дибутилфталата

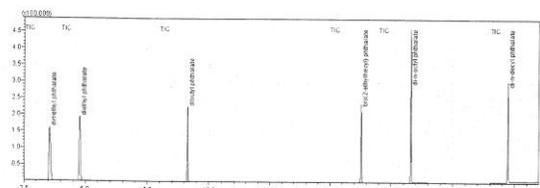


Рис.2.Хроматограмма хлороформного экстракта станд. раствора шести фталатов (DEP, DBP, DEHP, DOP, DDP).

6.3.2 Анализ крепких алкогольных напитков проводится методом внутреннего стандарта

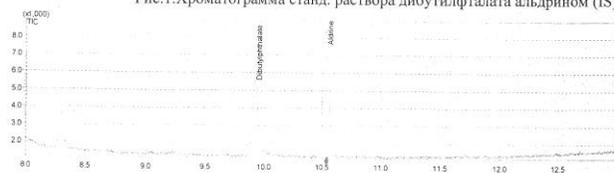
Таблица.5.

Концентрации градуировочных растворов ДБФ методом внутреннего стандарта

Номер раствора	Концентрация дибутилфталата, мг/дм ³	Концентрация альдрина, мг/дм ³ (внутренний стандарт)	Объем рабочего градуировочного раствора, куб.см
St* 4	1,00	0,5	5,0
St* 3	0,50	0,5	5,0
St* 2	0,10	0,5	5,0
St* 1	0,05	0,5	5,0

Для проведения градуировки используют только свежеприготовленные растворы.

Рис. 1.Хроматограмма станд. раствора дибутилфталата альдрином (IS).



6.3.3 Для определения параметров градуировочного графика выполняют градуировку хроматографа по методу внутреннего стандарта.

$$k = \frac{S_m^{int} * n_m^{DBF}}{S_m^{DBF} * n_m^{int}}$$

где k – фактор отклика

S_m^{int} - площадь пика внутреннего стандарта

S_m^{DBF} - площадь стандарта ДБФ

n_m^{DBF} - количество введенного стандарта ДБФ

n_m^{int} - количество внутреннего стандарта.

Количество определяемого вещества (ДБФ) рассчитывается по формуле:

$$n_m^{DBF} = k * \frac{n_m^{int} * S_m^{DBF}}{S_m^{int}}$$

где n_m^{DBF} - содержание ДБФ в определяемом образце,

S_m^{DBF} - площадь пика ДБФ в определяемом образце,

S_m^{int} - площадь пика внутреннего стандарта, введенного в анализируемый образец,

n_m^{int} - количество внутреннего стандарта, введенного в анализируемый образец.

Градуировку необходимо повторять после технического обслуживания (например, замена старой колонки на новую), после ремонта хроматографа и в случае, если хроматограф не эксплуатировался более месяца, а также при несоответствии результатов измерения критериям оперативного контроля.

Градуировку проводят не реже одного раза в две недели.

7. Обработка результатов

Концентрацию фталатов определяют по градуировочной характеристике после компьютерного интегрирования хроматограммы соответствующего иона (мг/куб. дм):

Вычисляют среднее значение концентрации определяемого вещества:

$$\bar{C} = \frac{1}{2} * \sum C_i$$

Рассчитывают относительную разницу результатов двух параллельных измерений одной пробы:

$$C_1 - C_2 \leq 0.25 * C_{cp}$$

8. Результаты измерений

Результаты измерений выдают в мг/дм³, до второго знака после запятой включительно.

Cod: PS-12-DBF-LI	Ediția: 1	Revizia: 0	Pagina: 9/12
-------------------	-----------	------------	--------------

9. Контроль погрешности измерений

9.1. Контроль сходимости. Выполняют по п. 7. При превышении норматива оперативного контроля сходимости эксперимент повторяют. При повторном превышении норматива выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля, и устраняют их.

9.2. Оперативный контроль погрешности. Проводится при смене реактивов, после ремонта прибора. Образцами для контроля являются реальные пробы вина, к которым делают добавки измеряемых веществ в виде раствора. Отбирают 2 пробы вина и к 1 из них делают добавку таким образом, чтобы содержание определяемых веществ увеличилось по сравнению с исходным на 50 - 150%, так, чтобы концентрация в пробе не выходила за верхний диапазон. Каждую пробу анализируют в точном соответствии с прописью методики и получают результат анализа исходной рабочей пробы - $C_{\text{исх}}$ и рабочей пробы и с добавкой - C_1 . Результаты анализа исходной рабочей пробы - $C_{\text{исх}}$ и с добавкой - C_1 получают по возможности в одинаковых условиях, т.е. их получает 1 аналитик с использованием 1 набора мерной посуды, 1 партии реактивов и т.д.

Результаты контроля признаются удовлетворительными, если выполняется условие:

$$|C_1 - C_{\text{исх}} - C| \leq 0,25 C$$

где:
C - добавка вещества, мг/куб. дм;

При превышении норматива оперативного контроля погрешности эксперимент повторяют. При повторном превышении указанного норматива выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам контроля, и устраняют их.

10. Характеристики метода

	Вино	Крепкие напитки
Диапазон линейности	0 - 0,50	0 - 1,00
Степень рекуперации	C-0,1 mg/l - 81%	C-0,1 mg/l - 96%
	C-0,2 mg/l - 88%	C-0,2 mg/l - 88%
	C-0,3 mg/l - 90%	C-0,3 mg/l - 92%
Повторяемость: RSD _r	5 %	5 %
Повторяемость intralab: RSD _L	13 %	7 %
Воспроизводимость: RSD _k	15 %	15 %
Предел повторяемости: r	0,25 X	0,25 X
Предел воспроизводимости: R	0,4 X	0,4 X
Предел детектирования LD	LD- 0,006	LD- 0,01
Предел количественного определения LQ	LQ- 0,02	LQ- 0,03

Cod: PS-12-DBF-LI	Ediția: 1	Revizia: 0	Pagina: 10/12
-------------------	-----------	------------	---------------

11. Регистрации:

11.1 DBF -4.3/025 Результаты испытаний содержания дибутилфталата в винах и спирто-содержащих напитках методом GS/MS; Д-17ИЛ (папка) Результаты определения содержания фталатов в винодельческой продукции;

11.2 BKK-5.9/4 Controlul intern a calitatii rezultatelor încercării : Utilizarea MRC (metoda întrodus-găsit);

11.3 MS -4.3/027 Регистрация промежуточных проверок газового хроматографа с масс-селективным детектором;

11.4 RV - 5.4/1 L1 Raport de validare Determinarea reziduii ftalați prin metoda GS/MS;

11.5 ЖУРНАЛ Ж-30 ИЛ. Учет СО и химических реактивов для хроматографии;

11.6 ЖУРНАЛ Ж-29 ИЛ. Регистрация приготовления элюентов и стандартных растворов для жидкостной и газовой хроматографии;

Приложение 4. Процедура анализа фталатов в алкогольных продуктах методом ГХМС (2014г.)

Рис. П4.1. Страницы процедуры 1, 2.

L I ÎS „CNVCPA „	PROCEDURĂ SPECIFICĂ	Cod: PS-12-DBF-LI
		Ediția:3
Exemplar nr. 2/3		Revizia:0
		Pagina :1/12

Cod: PS-12-DBF-LI	Ediția: 2	Revizia: 0	Pagina: 2/12
-------------------	-----------	------------	--------------

Determinarea reziduurilor de ftalați în bauturi alcoolice prin metoda GC/MS

Reproducerea , tirajarea partialiaă sau totală a documentului dat fără acordul laboratorului de încercări este intrzis!!!!

	Actualizat	Coordonat	Aprobat
Responsabil	Specialist coordonator Dmitrii Lazacovici	Sef LI Ludmila MARCOCI	Director interimar " CNVCPA" L.Gherdelescu
Data	29.05.2014	30.05.2014	03.06.2014
Semnătura			

1. Область применения

Настоящие методические указания устанавливают количественный хромато-масс-спектрометрический анализ вин, виноматериалов, бренди, винных дистиллятов и пр. спиртосодержащих напитков для определения в них содержания дибутилфталата в диапазоне концентраций от 0,01 до 0,5 мг/дм³. Согласно данной методике возможно количественное определение и других фталатов – гомологов, т. к. диметилфталата, диэтилфталата, бис(2-этилгексил)фталата, диоктилфталата и дидецилфталата.

2. Нормативные документы

2.1 OIV-MA-BS-33:R2009. Method of determination of phtalates in spirituous beverages by gas-chromatography/mass spectrometry.

2.4 ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФТАЛАТОВ И ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ В ВОДЕ. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ. МУК4.1.738-99

2.5 SM SR ISO 5725-2002 Exactitatea (justea si fidelitatea) metodelor de masurarea si a rezultatelor masurarilor.

2.6 Diciazia comisiei de stabilirea normelor de aplicare a Directivei 96/23/CE a Consiliului privind functionarea metodelor de analiza si interpretarea rezultatelor din 14.08.2002.

3. Принцип метода

Методика основана на хроматографическом разделении пробы на капиллярной колонке, идентификации дибутилфталата по времени удерживания и масс-спектру, и количественному определению фталата с использованием внутреннего стандарта (дейтерированного аналога - DBP-3, 4, 5, 6,-4d). Измерение концентраций дибутилфталата в спиртосодержащих средах основано на извлечении его и заранее внесенного внутреннего стандарта из продукта экстракцией хлороформом, хроматографическом отделении на капиллярной колонке, идентификации по времени удерживания и масс-спектру, и количественному определению по характерному иону. Аналогично возможно определение широкого ряда других фталатов.

Продолжительность проведения хромато-масс-спектрометрического анализа для дибутилфталата составляет 30 мин.

4. Средства измерений, программное обеспечение, вспомогательные устройства, материалы, реактивы.

4.1. Средства измерений

4.1.1. Газовый хроматограф GCMS-QP-2010S или GCMS-QP-2010SE включающий:

- масс-селективный детектор (один квадруполь)
- программное обеспечение GCMSsolution (LabSolution) Release 2.50 SU3 (2.71)
- автодозатор

Продолжение приложения 4.
Рис. П4.2. Страницы процедуры 3, 4.

Cod: PS-12-DBF-LI	Ediția: 1	Revizia: 0	Pagina: 3/12
-------------------	-----------	------------	--------------

- хроматографическая колонка кварцевая капиллярная, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,25 мм, покрытая неподвижной фазой Rtx-5MS толщиной пленки 0,25 мкм, или аналогичная, обеспечивающая достаточное разделение.
- 4.1.2. Микрошприц на 10 мкл, п.д. 0,1; Hamilton 701N или аналогичный
- 4.1.3. Весы аналитические лабораторные CE 224-C п.д. 0,0001г
- 4.1.4. Посуда лабораторная стеклянная, ГОСТ 29227-91, ГОСТ 29169-91, ГОСТ 1770-74

4.2. Вспомогательные устройства

- 4.2.1. Воронки цилиндрические делительные объемом 250 куб.см
- 4.2.2. Вials для автодозатора объемом 2мл
- 4.2.3. Вials объемом 20мл
- 4.2.4. Микрошприц на 100мкл
- 4.2.5. Пипетки Мора 5, 10, 25 и 100мл
- 4.2.6. Пипетка градуированная на 5мл.
- 4.2.7. Мерные цилиндры 10мл
- 4.2.8. Мерные колбы 100мл
- 4.2.9. Мерные цилиндры 100мл
- 4.2.10. Стеклянные воронки

4.3. Материалы и реактивы

- 4.3.1. Гелий газообразный очищенный марки 5N
- 4.3.2. Дибутилфталат (DBF), содержание основного вещества не менее 99,8%
- 4.3.3. Хлороформ, 99,8%, HPLC grade.
- 4.3.4. Сульфат натрия безводный, ч.д.а.
- 4.3.5. Дибутилфталат-3, 4, 5, 6 – 4d (дейтерированный), $\geq 99,3\%$.
- 4.3.6. Вода дистиллированная, ГОСТ Р 52501-2005.
- 4.3.7. Спирт этиловый 96,6% об.
- 4.3.8. Спирт изопропиловый $\geq 99,8\%$, HPLC grade

При анализе иных фталатов для приготовления градуировочных растворов применяют индивидуальные вещества с содержанием основного вещества не менее 99,6%.

5. Требования безопасности

5.1. При работе с хромато-масс-спектрометром, следует соблюдать правила электробезопасности в соответствии с инструкцией по эксплуатации хромато-масс-спектрометра И-5.5/041

5.2. При хранении, транспортировке и эксплуатации газовых баллонов следует соблюдать правила ПБ 03-576-03 (Москва ПИО ОБТ 2003).

Cod: PS-12-DBF-LI	Ediția: 1	Revizia: 0	Pagina: 4/12
-------------------	-----------	------------	--------------

5.3. При работе с реактивами следует соблюдать необходимые меры безопасности, установленные для работы с токсичными, едкими веществами.

5.4. К выполнению измерений на хромато-масс-спектрометре допускаются операторы прошедшие соответствующий курс обучения и знающих устройство и правила эксплуатации прибора.

6. Приготовление растворов

Посуда, используемая для приготовления растворов, тщательно моется в горячей воде, промывается дистиллированной (обратноосмотической или бидистиллированной) водой, сушится в сушильном шкафу или на воздухе. После чего споласкивается изопропиловым спиртом и гексаном. Сушится на воздухе.

6.1. Условия.

Приготовление растворов и подготовку проб к анализу осуществляют в следующих условиях:

- температура окружающего воздуха 20 +/- 10 -С
- относительная влажность 60- 80%
- атмосферное давление 800-1000 мм рт. ст.

6.2. Приготовление раствора внутреннего стандарта

Рабочий раствор внутреннего стандарта готовят на изопропиловом спирте. Для этого 25 мг вещества переносят в HS-виалу (на 20мл), и добавляют 20 мл изопропанола. Полученный раствор содержит $\sim 1250\text{мг/дм}^3$ дейтерированного вещества.

6.3. Приготовление градуировочных смесей для анализа спиртосодержащих растворов.

Все градуировочные растворы готовят на 20% растворе этилового спирта.

6.3.1. Приготовление раствора А

Исходный раствор фталата, содержание примерно 1000мг/дм^3 раствор А – готовят, взвесив 0,1000г фталата, переносят в колбу на 100см^3 . Доводят до метки водноспиртовым раствором. Срок хранения полученного раствора составляет 6 мес.

6.3.2. Приготовление раствора В

Стандартный раствор В готовят следующим образом: 1см^3 раствора А отбирают в колбу на 100см^3 , доводят до метки водноспиртовым раствором, получают раствор С = 10мг/дм^3 .

6.3.3. Приготовление калибровочных растворов.

Калибровочные растворы готовят, исходя из схемы в таблице 1.

Таблица 1
Приготовление стандартных растворов

Калибровочного раствора	Объем раствора В, см ³	Объем полученного калибровочного раствора, см ³	Концентрация фталата, мг/дм ³
St 4	5,0	100,0	0,50
St 3	2,0	100,0	0,20
St 2	1,0	100,0	0,10
St 1	0,5	100,0	0,05
St 0	0	100,0	0,00

В полученные растворы, вносят микрошприцом 5 мкл раствора внутреннего стандарта. Полученная концентрация внутреннего стандарта ~0.06мг/дм³.

После приготовления растворов St1, St2, St3, St4 и St0 проводят экстракцию хлороформом дибутилфталата как указано в п. 6.3. В качестве стандартов используют полученные экстракты.

Вышеуказанная схема может быть применена для приготовления градуировочных растворов на другой фталат или их смесь.

7. Экстракция.

7.1. При анализе вина/виноматериала, пипеткой Мора на 100 см³ отбирают образец, помещают в делительную воронку на 250 см³ и добавляют 5 мм³ раствора внутреннего стандарта и 10 см³ хлороформа. Экстракцию проводят в течение 10 мин при непрерывном встряхивании. Затем оставляют для отделения органического слоя на 10 мин. Сливают нижний слой хлороформа через фильтр с безводным сульфатом натрия. Собранный экстракт переносят в ГХ-виалу, откуда отбирают микрошприцом 1,0 мм³ непосредственно для анализа с использованием газового хроматографа с масс-спектрометром.

При использовании лабораторного шейкера для встряхивания см. Дополнение 1.

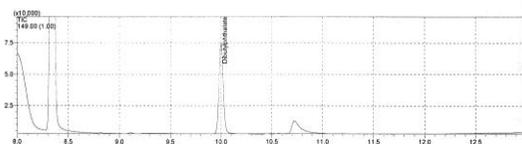


Рис.1.Хроматограмма хлороформного экстракта стандартного раствора дибутилфталата с внутренним стандартом (время выхода ДБФ и дейтерированного ДБФ совпадают).

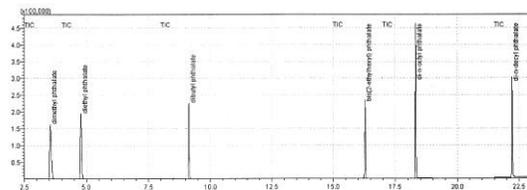


Рис.2 Хроматограмма хлороформного экстракта стандартного раствора шести фталатов (DMP, DEP, DBP, DEHP, DOP, DDP) с с внутренним стандартом (время выхода ДБФ и дейтерированного ДБФ совпадают).

7.2. При анализе винного дистиллята / дивина, пипеткой Мора на 100 см³ отбирают образец, помещают в мерный цилиндр на 100мл. В образец вносят 5 мм³ раствора внутреннего стандарта. Тщательно перемешивают. Пипеткой Мора на 25 см³ отбирают образец, переносят в делительную воронку на 250 см³, добавляют 75см³ воды и добавляют 10 см³ хлороформа. Экстракцию проводят в течение 10 мин при непрерывном встряхивании. Затем оставляют для отделения органического слоя на 10 мин. Сливают нижний слой хлороформа через фильтр с безводным сульфатом натрия. Собранный экстракт переносят в ГХ-виалу, откуда отбирают микрошприцом 1,0 мм³ непосредственно для анализа с использованием газового хроматографа с масс-спектрометром.

При использовании лабораторного шейкера для встряхивания см. Дополнение 1.

Для проведения градуировки используют только свежеприготовленные растворы.

8. Хромато-масс-спектрометрический анализ.

Выполнение измерений на хромато-масс-спектрометре проводят в условиях, рекомендуемых технической документацией к прибору и настоящими методическими указаниями.

К работе на хромато-масс-спектрометре приступают при наличии свидетельства о метрологической поверке прибора.

8.1. Условия проведения хромато-масс-спектрометрического анализа:

Продолжение приложения 4.
Рис. П4.4. Страницы процедуры 7, 8.

Cod: PS-12-DBF-LI	Ediția: 1	Revizia: 0	Pagina: 7/12
-------------------	-----------	------------	--------------

Таблица 2

Условия проведения хромато-масс-спектрометрического анализа

Температура термостата колонки, °C	70
Температура инжектора, °C	300
Температура интерфейса, °C	300
Температура ионного источника, °C	250
Делитель потока	5
Поток в колонке, мл/мин	1,2
Напряжение на детекторе, кV	1,3
Температурная программа	70 °C 1мин, со скоростью 10 °C/мин до 160 °C – 1 мин, со скоростью 40 °C/мин до 300 °C – 10 мин

Масс-спектры электронной ионизации дибутилфталата и/или других фталатов получают при следующих параметрах:

Таблица 3

Масс-спектрометрические характеристики.

энергия ионизирующих электронов	70 эВ
- диапазон сканирования масс (в режиме сканирования)	- 48-290 m/z
DBP	149
DBP-3, 4, 5, 6,-4d (IS)	153
DMP	163, 164, 194
DEP	149, 177
DEHP	149, 167, 279
DNOP	149, 279
DNDP	149, 307
число сканирований в секунду	0,5
напряжение на электронном умножителе	1200 В

Идентификацию фталатов осуществляют с помощью библиотечного поиска в библиотеке NIST08 и по времени удерживания. Интегрируют площади пиков, полученных по извлеченным ионам.

9. Выполнение измерений

9.1. Для определения содержания дибутилфталата в образце выполняют градуировку хроматографа по методу внутреннего стандарта.

$$k = \frac{S_{st}^{DBP} * n_{st}^{DBP}}{S_{st}^{st} * n_{st}^{st}}, \quad (9.1.)$$

где k – фактор отклика

S_{st}^{st} - площадь пика внутреннего стандарта

Cod: PS-12-DBF-LI	Ediția: 1	Revizia: 0	Pagina: 8/12
-------------------	-----------	------------	--------------

S_{st}^{DBP} - площадь стандарта ДБФ

n_{st}^{DBP} - количество введенного стандарта ДБФ

n_{st}^{st} - количество внутреннего стандарта.

Количество определяемого вещества (ДБФ) рассчитывается по формуле:

$$n_{st}^{DBP} = k * \frac{n_{st}^{st}}{S_{st}^{st}} * S_{st}^{DBP}, \quad (9.2.)$$

где n_{st}^{DBP} - содержание ДБФ в определяемом образце,

S_{st}^{DBP} - площадь пика ДБФ в определяемом образце,

S_{st}^{st} - площадь пика внутреннего стандарта, введенного в анализируемый образец,

n_{st}^{st} - количество внутреннего стандарта, введенного в анализируемый образец.

Интегрируют площади пиков, полученных по извлеченным ионам, и по средним результатам из 3 серий строят градуировочную кривую.

Градуировку проводят не реже одного раза в месяц. Кроме того, градуировку необходимо повторять после технического обслуживания (например, замена старой колонки на новую), после ремонта хроматографа и в случае, если хроматограф не эксплуатировался более месяца, а также при несоответствии результатов измерений критериям оперативного контроля.

10. Обработка результатов и контроль точности анализа

10.1 Концентрацию фталатов определяют по градуировочной характеристике после компьютерного интегрирования хроматограммы соответствующего иона.

Рассчитывают относительную разницу результатов двух параллельных измерений одной пробы,:

$$|C_1 - C_2| \leq \gamma \quad (10.1.)$$

где, C_1 и C_2 – результаты параллельных измерений массовых концентраций фталата в анализируемом образце, γ – значение предела повторяемости.

Если условие (10.1) не выполняется, получают еще два результата. За результат анализа принимают среднеарифметическое значение из четырех параллельных измерений, если выполняется условие:

$$|C_{\max} - C_{\min}| \leq CR_{0,95} \quad (10.2.)$$

где, $CR_{0,95}$ – значение критического диапазона для уровня вероятности $P=0,95$ и результатов определения n

$$CR_{0,95} = f(n)\sigma_f \quad (10.3.)$$

для n= 4:

$$CR_{0,95} = 3.6\sigma_r \quad (10.4.)$$

Если условие (10.2) не выполняется, выясняют причины превышения критического диапазона, устраняют их и повторяют их в соответствии с данной методикой.

При соблюдении условия приемлемости, - вычисляют среднее значение концентрации определяемого вещества:

$$\bar{C} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n C_i \quad (10.5.)$$

Где, \bar{C} – среднее значение концентрации компонента, мг/дм³
 C_i – значение i – го компонента.

Результаты измерений выдают в мг/дм³, до второго знака после запятой включительно.

10.2 . Контрольный образец (КО)

Для проверки стабильности определения содержания фталатов в образцах, используется контрольный образец. Результаты полученные при анализе КО используются для построения контрольных карт Шухарта.

10.3. Контроль стабильности графика проводится только в том случае, если результат испытания контрольного образца по пункту 8.1 на карте Шухарта находится за пределом $2 \cdot S_L$.

Для контроля стабильности используются два раствора, концентрации которых находятся в нижнем и верхнем диапазоне определяемых концентраций. Результаты измерений должны выполнять следующее условие:

$$\frac{|C_1 - C_0|}{C_0} \leq 0.10 C_0 \quad (10.6)$$

11. Характеристики метода

Показатель	Значение
Диапазон линейности	0 - 0,50
Степень рекуперации	C=0,1 мг/дм ³ – 81% C=0,2 мг/дм ³ – 88% C=0,3 мг/дм ³ – 90%
Повторяемость: RSD _L	5%
Повторяемость (interlab): RSD _L	10%
Воспроизводимость: RSD _R	15%
Предел повторяемости: r	0,10X
Предел воспроизводимости: R	0,25X
Предел детектирования: LD	0,006
Предел количественного определения: LQ	0,02

12. Регистрации

10.1. DBF – 4.3/025 Результаты испытаний содержания дибутилфталата в винах и спиртосодержащих напитках методом GC-MS; Д-17ИЛ (папка). Результаты определения содержания фталатов в винодельческой продукции;

10.2. ВКК-5.9/4 Controlul intern a calității rezultatelor încercării: Utilizarea MRC (metoda întroduș-găsit);

10.3. MS-4.13/027 Регистрации промежуточных поверок газового хроматографа с масс-селективным детектором;

10.4. RV-5.4/1 L1 Raport de validare Determinarea reziduii ftalati prin metoda GC-MS;

10.5. Журнал Ж-30 ИЛ. Учет СО и химических реактивов для хроматографии;

10.6. Журнал Ж-29 (ГХ) ИЛ. Регистрация приготовления элюентов и стандартных растворов газовой хроматографии;

Продолжение приложения 4.
Рис. П4.6. Страницы процедуры 11, 12.

Cod: PS-12-DBF-LI	Ediția: 1	Revizia: 0	Pagina: 11/12
-------------------	-----------	------------	---------------

Cod: PS-12-DBF-LI	Ediția: 1	Revizia: 0	Pagina: 12/12
-------------------	-----------	------------	---------------

Дополнение 1

1. Область применения

Для частичной автоматизации процесса экстрагирования дибутилфталата (фталатов) из вина / виноматериала используют лабораторный шейкер BIOSAN PSU-20i. Кроме того фиксированные амплитуда, частота колебаний и время, позволяют устранить вклад человеческого фактора.

2. Технические средства и вспомогательные устройства

- 2.1. Лабораторный шейкер BIOSAN PSU-20i.
- 2.2. Делительные воронки (сферические) – 500мл.

3. Требования безопасности

При работе с лабораторным шейкером BIOSAN PSU-20i следует соблюдать правила электробезопасности, а также ознакомиться с инструкцией, по эксплуатации оборудования полученной от производителя, и с внутрилабораторной инструкцией И-5.5/044 ИЛ.

4. Ход экстрагирования

Образец с внесенным внутренним стандартом помещают в сферическую делительную воронку на 500 см³ и добавляют 10 см³ хлороформа. Экстракцию проводят в течение 20 мин при непрерывном встряхивании, скорость вращения 170 об./мин. Дальнейшие действия с экстрактом по процедуре п. 6.3.1. и 6.3.2.

1. Лист актуализации

Редакция	Ревизия	Объект	Дата	ФИО		
				Разработал	Согласовал	Утвердил
1	0	Разработан	19.10.2011	Лазакович Д.В.	Маркоч Л.А.	Стурза Р.А.
2	0		23.07.2013	Лазакович Д.В.	Маркоч Л.А.	Стурза Р.А.

Приложение 5. Отчет о превалидировании процедуры анализа фталатов OIV.

Рис. П5.1. Страницы отчета 1-2.



Internationale Organisation für Rebe und Wein
International Organisation of Vine and Wine
Organización Internacional de la Viña y el Vino
Organisation Internationale de la Vigne et du Vin
Organizzazione Internazionale della Vigna e del Vino

Collaborative trial for the validation of the method of determination of phthalates by gas chromatography/mass spectrometry in wines

-

Results of the pre-study

1/ Introduction

This document presents the results of the pre-study within the framework of the project of the OIV validation of the method of determination of phthalates in wines by gas chromatography/mass spectrometry.

2/ Participating laboratories

Fourteen laboratories participated in this pre-study:

- Laboratoire Dubernet, Montredon des Corbières	France
- Miguel Torres S.A. Barcelona	Spain
- Escola Superior de Biotecnologia-Universidade Católica Portuguesa-Porto	Portugal
- Laboratory of National Center of Alcoholic Beverages Testing, Chisinau	Republic of Moldova
- Exit-Entry Inspection and Quarantine Bureau, Tianjin	Chine
- Instituto Nacional de Vitivinicultura, Mendoza	Argentine
- Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt, Stuttgart	Germany
- Laboratorio Arbitral Agroalimentario, Madrid	Spain
- SAIlab, Barcelona	Spain
- BNIC, Cognac	France
- Division Liquor Products, Department of Agriculture- Stellenbosch	South Africa
- Laboratoire SCL de Montpellier	France
- Laboratoire SCL de Bordeaux-Pessac	France
- The Australian Wine Research Institute, Urrbrae(Adelaide)	Australia

3/ Samples

For this pre-study, 3 samples (A : white wine, B : red wine and C : spirit drink) have been sent to participating laboratories.

Samples A and B were spiked with phthalates (see table below), sample C contained naturally phthalates in unknown quantities.



Internationale Organisation für Rebe und Wein
International Organisation of Vine and Wine
Organización Internacional de la Viña y el Vino
Organisation Internationale de la Vigne et du Vin
Organizzazione Internazionale della Vigna e del Vino

	Spike (mg/L)	
	Sample A	Sample B
DMP	0,042	-
DEP	-	0,055
DnBP	0,084	0,282
DiBP	-	0,030
DCHP	-	0,043
DEHP	1,023	0,512
BBP	0,051	0,051
DnOP	0,042	-
DINP	0,204	-
DIDP	-	0,352

Each laboratory had to analyse the three samples 2 times each in repeatability conditions, following as close as possible the experimental conditions of the method and was free to use their own optimized conditions for the GC/MS .

4/ Results

Only GC/MS results have been taken into account for the fidelity calculation.
Calculations on phthalates have been only performed when the numbers of results for a sample was more than three results .

For each phthalate, the report includes 3 tables :

- Table 1 : the individual results, the mean values and the Z-scores.
The Grubbs test applied to mean values and the Cochran test applied to variances eliminate outliers, those are underlined in the different tables.
Results obtained by a method other than GC/MS are in italic type.
- Table 2 : the fidelity data
- Table 3 : graph representing Z-scores for each laboratory per phthalate and sample.

Z-score = (laboratory mean – general mean) / reproducibility standard deviation

C. Gerbaud, E. Perrot, B. Medina
labo33@scl.finances.gouv.fr

Annex 3 – Pre-study : Collaborative trial - DnBP (dibuthylphtalate)

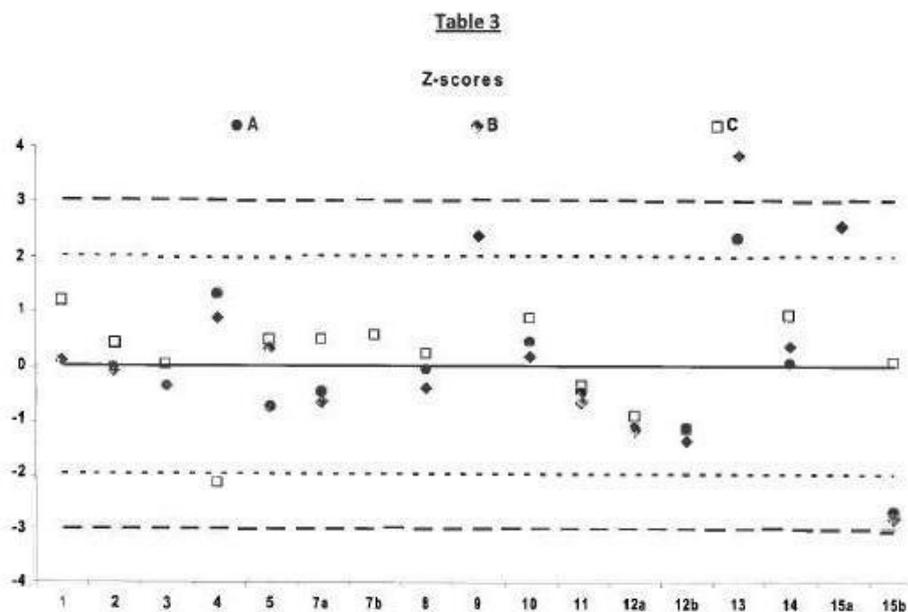
Table 1

Laboratory code	Sample A		Sample B		Sample C		Moyennes			Z-score	Z-score	Z-score
	test 1	test 2	test 1	test 2	test 1	test 2	A	B	C	A	B	C
1	0,076	0,082	0,239	0,266	0,323	0,379	0,079	0,294	0,351	0,05	0,09	1,20
2	0,077	0,078	0,254	0,230	0,296	0,302	0,077	0,242	0,299	-0,04	-0,10	0,39
3	0,067	0,067	0,223	0,225	0,274	0,276	0,067	0,224	0,275	-0,39	-0,41	0,02
4	0,113	0,111	0,298	0,301	0,133	0,136	0,112	0,300	0,135	1,28	0,87	-2,16
5	0,056	0,057	0,248	0,288	0,304	0,304	0,057	0,268	0,304	-0,79	0,34	0,47
7a	0,057	0,068	0,203	0,215	0,279	0,274	0,063	0,209	0,277	-0,49	-0,66	0,48
7b					0,310	0,309			0,310			0,55
8	0,077	0,073	0,217	0,228	0,288	0,287	0,075	0,223	0,288	-0,10	-0,43	0,21
9	0,263	0,272	0,376	0,401	nd(0,004)	nd(0,004)	0,268	0,388	0,401	7,07	2,37	
10	0,090	0,088	0,250	0,285	0,330	0,327	0,089	0,258	0,329	0,43	0,16	0,85
11	0,065	0,064	0,207	0,210	0,254	0,246	0,065	0,209	0,250	-0,49	-0,67	-0,37
12a	0,041	0,053	0,177	0,179	0,221	0,208	0,047	0,178	0,215	-1,14	-1,18	-0,92
12b	0,041	0,052	0,166	0,166	0,206	0,192	0,047	0,166	0,199	-1,16	-1,38	-1,16
13	0,131	0,148	0,481	0,499	0,593	0,560	0,140	0,475	0,577	2,31	3,82	4,69
14	0,079	0,078	0,276	0,261	0,349	0,320	0,079	0,269	0,335	0,03	0,34	0,94
15a	0,2		0,4		1,6		0,2	0,400	1,6	6,70	2,56	26,00
15b	0,02		0,06		0,29		0,02	0,08	0,290	-2,70	-2,80	0,07

Table 2

Indicateurs	Sample A	Sample B	Sample C
Nombre de groupes	12	12	12
Nombre de répétitions	2	2	2
Minimum	0,041	0,166	0,133
Maximum	0,148	0,401	0,379
variance de répétabilité s_r^2	0,0000	0,0002	0,0002
variance intergroupe s_g^2	0,00070	0,00335	0,00397
variance de reproductibilité s_R^2	0,0007	0,0035	0,0042
moyenne générale	0,078	0,248	0,274
écart-type de répétabilité	0,005	0,013	0,014
limite r	0,014	0,038	0,039
CV de répétabilité (%)	6,5	5,4	5,0
écart-type de reproductibilité	0,027	0,059	0,064
limite R	0,076	0,168	0,183
CV de reproductibilité (%)	34,6	23,9	23,5

Annex 3 – Pre-study : Collaborative trial - DnBP (dibuthylphtalate)



Приложение 6. Рис. Пб.1. Внесение процедуры анализа фталатов в область аккредитации лаборатории Национального Центра Испытания Качества Алкогольной Продукции.

SISTEMUL NAȚIONAL DE ACREDITARE AL REPUBLICII MOLDOVA		
 Exemplar Nr. 2	ÎS "CENTRUL DE ACREDITARE ÎN DOMENIUL EVALUĂRII CONFORMITĂȚII PRODUSELOR" (CAECP)	COD: DDA-7.2-5-L1
		EDITIA:2
		DATA: :07.09.2010

Anexă la Certificatul de Accreditare Nr. SNA MD CAECP 25 01 009
 Din " 16 " ieulie 2010

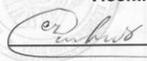
DOMENIUL DE ACREDITARE

REVIZIA 1 DATA 24.01.2012 PAGINA 119

AI LABORATORULUI DE ÎNCERCĂRI

Î.S. CENTRUL NAȚIONAL DE VERIFICARE A CALITĂȚII PRODUCȚIEI ALCOOLICE

Adresa: mun.Chișinău , or- Codru , str. Grenoblea 128 "U "

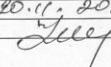
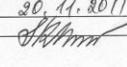
COORDONAT
 Viceministru MAIA

 Dumitru GODOROJA
 " 23 " ianuarie 2012

APROBAT
 DIRECTOR CAECP

 Eugenia SPOIALĂ
 " ianuarie 2012

COD: DDA-7.2-5-L1 EDITIA:2 REVIZIA: 1 PAGINA : 9 / 9

NR.	DENUMIRE PRODUS	POZIȚIA TARIFARĂ NM MD	INDICATIVUL DN SAU RT LA PRODUS	CARACTERISTICI / INDICII / PARAMETRI	INDICATIVUL DN LA METODELE DE ÎNCERCĂRI
DENUMIRE REGLEMENTARE TEHNICĂ: INDICI NEREGLEMENTATI					
8	Bere	2203 00	SM 143-2001	Indicii organoleptici - Înălțimea și stabilitatea spumei -fracția masică de alcool ✓ -fracția volumică de alcool ✓ -aciditatea ✓ -culoarea -conținutul în extract în mustul de malț ✓	Reg.CCD GOST 30060-93 GOST 12787-81, p.4.4 GOST 12787-81 GOST 12788-87 p.1.4 GOST 12789-87 p.1.4 GOST 12787-81, p4
9	Produce alcoolice		Reguloin) senda r 278 din 24.06.2012	-Concentratia acizilor organici (acid tartric, malic, lactic, acetic) ✓ - Analiza multielementala prin metoda ICP-AES (Ca, Mg, K, Na, Fe) -Concentratia reziduiuri ftalati	RT 708 p.10 MA-MD-AS 313-04- ACIORG PS-10- ACIORG-L1 metoda GOST R 51309-99 p.2 (ordin MAIA nr 06 din 16.01.2012) PS-11-ICP-AES-L1 MYK4.1.738-99 MAIA (ord. 161 din 29.07.2010) PS-12-DBF-L1

ETAPA	ELABORAT	COORDONAT
RESPONSABIL	Șef LI	Conducător organizație
NUME, PRENUME	Ludmila MARCOCI	Rodica STURZA
DATA	20.11.2011	20.11.2011
SEMNĂTURA		



CENTRUL NAȚIONAL DE ACREDITARE DIN REPUBLICA MOLDOVA
MOLDAC

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt 162, oficiul 1322, MD-2004, mun. Chișinău, Republica Moldova

CERTIFICAT DE ACREDITARE

Nr. LÎ - 015 (nr. anterior LÎ 01 009)

MOLDAC declară că:

**LABORATORUL DE ÎNCERCĂRI DIN CADRUL
ÎS „CENTRUL NAȚIONAL DE VERIFICARE A CALITĂȚII
PRODUCȚIEI ALCOOLICE”**

MD-2019, mun. Chișinău, or. Codru, str. Grenoble, 128U, cod CUII/O 05696644

satisface cerințele **SM SR EN ISO/CEI 17025:2006** și este competent să efectueze încercări la produsele definite în Anexa la prezentul Certificat de Acreditare.

Certificatul este valabil numai însoțit de Anexă (5pagini), care constituie parte integrantă a acestui Certificat de Acreditare.

Acreditarea acordată este valabilă cu condiția îndeplinirii în mod continuu a criteriilor de acreditare stabilite de MOLDAC.

Data acreditării inițiale: 04 august 1994
Data acreditării curente: 16 iulie 2014
Data expirării: 15 iulie 2018

Director



Eugenia SPOIALĂ

*Reproducerea parțială a acestui Certificat este interzisă
Valabilitatea prezentului Certificat poate fi verificată pe site-ul www.acreditare.md*

Продолжение приложения 7. Рис. П7.2. Дополнение к свидетельству о национальной аккредитации

CERTIFICAT DE ACREDITARE

Nr. XV-015 din 16.07.2014

ANEXA

LABORATORULUI DE ÎNCERCĂRI al ÎS „Centrul National de Verificare a Calității Produselor Alcoolice”

1. Încercări efectuate în localuri permanente – MD. 2019, mun. Chișinău, or. Codru, str. Grenoble 128 „U”

Nr.	Tipul/Denumirea încercării	Material / produs	Documentul de referință
METODE SENZORIALE			
1	Analiza organoleptică	Produse alcoolice	GOST R 52813-2007 PS-15 –SENS-LI ed.2, rev. 1
METODE GRAVIMETRICE			
2	Determinarea extractului sec total Determinarea substantelor uscate	Divin, distilat de vin Alcool etilic Bauturi nealcoolice	SM 145-2003 pct. 8.4 SM GOST R 52968-2010 GOST 6687.2-90 pct.3
3	Determinarea densității relative	Vinuri Must și must concentrat	SM GOST R 51619-08 GOST 29030-91
METODE DE DENSIMETRIE / DENSIMETRIA ELECTRONICĂ			
4	Determinarea alcoolului etilic	Băuturi alcoolice (distilate, divin, brandy, rom, wiskey, rachiuri vodka, gin, lichioruri, balzame, cocteiluri, aperative s.a.) Alcool etilic Bauturi nealcoolice Vin și produse pe baza de vin Bauturi slab alcoolice Must și must concentrat, lichioruri Bere	SM GOST R 51653-2010 GOST 3639-73 SM GOST R 51135-2008 pct.5.3 SM GOST R 52473-10 pct. 6.3 GOST 6687.7-88 PS-08-TAV-LI ed.2, rev. 1 Culegeri metode internaționale de analiza a vinurilor și musturilor, OIV ed. 2013
5	Determinarea densității relative	Produse alcoolice	PS-08-TAV-LI ed.2, rev. 1 Culegeri metode internaționale de analiza a vinurilor și musturilor, OIV ed. 2013

MOLDAC
Cod: PR-04-F-37-LI

Ediția: 2/20.01.2014

Pagina 1 din 5

Nr.	Tipul/Denumirea încercării	Material / produs	Documentul de referință
METODE RADIOLOGICE			
24	Determinarea activității specifice a radionuclizilor (¹³⁷ Cs și ⁹⁰ Sr) prin spectrometrie gama, beta	Bauturi alcoolice și nealcoolice	MBI. MH 1181-2007
METODE DE CROMATOGRAFIE LICHIDA DE INALTA PERFORMANTA (HPLC)			
25	Determinarea ochratoxinei A	Vinuri, sucuri și musturi	SM SR EN 14133-2012 PS-18-OTA-HPLC-LI ed.1, rev.0
METODE DE CROMATOGRAFIE GAZOASA (CG/MS, GC)			
26	Determinarea reziduurilor de ftalați (DBP)	Produse alcoolice	OIV-MA-BS-33; MYK 4.1.738-99 PS-12-DBF-LI ed.3, rev.0
27	Determinarea metanolului și alcoolilor superiori	Bauturi alcoolice și materie prima pentru producerea lor (distilate, divin, brandy, wiskey, rachiuri s.a.)	Culegeri metode internaționale de analiza băuturilor spirtoase și alcoolului, OIV, 2014 PS-20-ASMth GC-LI ed. 1, rev.0
28	Determinarea microimpurităților	Băuturi alcoolice (vodka, rachiuri s.a) Alcool	SM GOST R 51698-2005 Culegeri metode internaționale de analiza băuturilor spirtoase și alcoolului, OIV, 2014 PS-21-MI GC-LI ed 1, rev.0
METODE ELECTROFOREZA CAPILARA (EPH)			
29	Determinarea acizilor organici : -acid malic -acid lactic -acid tartric -acid citric -acid acetic	Vin și produse pe baza de vin Materii prime pentru vinuri și distilate Băuturi alcoolice și slab alcoolice	PS-19- ACIORG-EPH-LI ed.1, rev.1 (OIV-MA--AS313-19)
30	Determinarea conservanților (acid sorbic, acid benzoic)	Vin și produse pe baza de vin Băuturi slab alcoolice și nealcoolice	SM GOST R 53193-2012
METODE CALCUL			
32	Determinarea extractului sec nereductor	Vin și produse pe baza de vin,	SM GOST R 51620:2008 Culegeri metode internaționale de analiza a vinurilor și musturilor, OIV Ed. 2013 PS-08-TAV-LI ed.2, rev.0
33	Conținutul în extract în mustul de malt	Bere	GOST 12787-81 pct. 4

MOLDAC
Cod: PR-04-F-37-LI

Ediția: 2/20.01.2014

Pagina 4 din 5



Приложение 8. Таблица П8.1. Растворимость ДЭГФ в воде.

Растворимость в воде, мг/л	T, °C	Источник информации
0,0006 – 1,3	20-25	Institute of Health and Consumer Protection (IHCP). <i>BIS (2-ETHYLHEXYL) PHTHALATE (DEHP)</i> . Summary Risk Assessment Report.
0,0011-0,0026	-	Staples C. A., Adams W. J., Parkerton T. F., Gorsuch J. W., Biddinger G. R. and Reinert K. H. Aquatic toxicity of eighteen phthalate esters. <i>Env. Toxicol. and Chemistry</i> . 1997, 16, 5, 875-891.
1,16-1,20 (морская вода)	-	
0,0025	25	Xu-Liang Cao. Phthalate Esters in Foods: Sources, Occurrence, and Analytical Methods. <i>COMPREHENSIVE REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND FOOD SAFETY</i> . Vol. 9, 2010. pp. 21-43.
0,003	-	Scientific Committee on Emerging and Newly-Identified Health Risks. SCENIHR. Opinion on the safety of medical devices containing DEHP-plasticized PVC or other plasticizers on neonates and other groups possibly at risk. 6 February 2008.
0,023–0,340	25	World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality, 2nd ed. Vol.2. Health criteria and other supporting information. Geneva, 1996.
0,27-0,36	-	DeFoe, D.L., Holcombe, G.W., Hammermeister, D.E. (1990) Solubility and toxicity of eight phthalate esters to four aquatic organisms. <i>Environ. Toxicol. Chem.</i> 9, 623–636.
0,285	24	Institute, T.M.T.U.R., Five Chemicals Alternatives Assessment Study. June, 2006.
100,0	20	Fishbein, L., Albro, P.W. (1972) Chromatographic and biological aspects of the phthalate esters. <i>J. Chromatogr.</i> 70, 365–412.
1000	-	MSDS Di (2-Ethyl hexyl) Phthalate (DEHP). TENOIT CO.,LTD.

Таблица П8.2. Растворимость ДБФ в воде.

Растворимость в воде, мг/л	T, °C	Источник информации
13,0	25	MSDS DBP. Sciencelab.com, Inc.
11,2	20	MSDS DBP. valetimegroup.com
13,0	25	
9,9	25	Xu-Liang Cao. Phthalate Esters in Foods: Sources, Occurrence, and Analytical Methods. <i>COMPREHENSIVE REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND FOOD SAFETY</i> . Vol. 9, 2010. pp. 21-43.
10,0	20	http://www.greenfacts.org/en/dbp-dibutyl-phthalate/1-3/1-properties.htm (2014-01-21)
11,2	-	Ecotoxicology. Edited by Sven Erik Jørgensen. Elsevier, 2010.

Приложение 9. Таблица П9. Значения ПДК фталатов при изучении их миграции из полимеров в среды соответствующие пищевым продуктам.

Регион	Фталат, мг/дм ³								
	ДМФ	ДЭФ	ДБФ	ДЭГФ	ДОФ	ДиНФ	ДДФ	ДиДФ	ББФ
Россия [1, 2]	0,3	3,0	0,2	0,008	0,008	-	2,0	-	-
Молдова [3]	-	-	0,3	1,5	-	-	-	-	30,0
Европейский Союз [4]	-	-	0,3	1,5.	9,0	9,0	9,0	9,0	30,0
Франция (1994) [5]	-	-	-	-	-	1,8	-	-	-
Тайвань [6]	-	-	Не допуска ется	Не допускает ся	Не допускает ся	Не допускает ся	-	Не допускает ся	Не допуска ется
Китай [7]	-	-	0,3	1,5.	9,0	9,0	9,0	9,0	30,0

Единое решение, ограничивающее применение фталатов было принято лишь в области производства детских игрушек и объектов, предназначенных для ухода за детьми, рядом государств Европейского Союза [8, 9], США [10], Канадой [11], Аргентиной [12], Бразилией [13], и Японией [14], в отношении ДБФ, ДЭГФ, ДОФ, ДиНФ, ДиДФ и ББФ. Применение указанных фталатов допустимо при их содержании не превышающем 0,1% от массы основного полимера.

1. СанПиН № 4630–88. Санитарные Правила и Нормы Охраны Поверхностных Вод от Загрязнения.
2. ГН 2.1.5.2280-07 Предельно допустимые концентрации (ПДК) химических веществ в воде водных объектов хозяйственно-питьевого и культурно-бытового водопользования
3. Hotărîre Guvernului Nr. 278 din 24.04.2013 pentru aprobarea Regulamentului sanitar privind materialele și obiectele din plastic destinate să vină în contact cu produsele alimentare. Publicat: 03.05.2013 în Monitorul Oficial Nr. 97-103 art Nr : 340.
4. Commission Directive 2007/19/EC. Official Journal of the European Union of 30 March 2007. Article 3 (c) (оговаривает лишь контакт с не содержащей жир пищевой продукцией «non-fatty foods»). Является дополнением к Directive 2002/72/EC^{7*} и Council Directive 85/572/EEC
5. Arrêté du 9 novembre 1994 relatif aux matériaux et objets en caoutchouc au contact des denrées, produits et boissons alimentaires (JORF du 02/12/1994)
6. The Food, Drug and Act Administrative (FDA) 0970333062. Taiwan.
7. GB9685-2008 Hygiene Standards for Uses of Addictives in Food Containers and Packaging Materials. Mainland China.
8. Directive 2005/84/EC of the European Parliament and of the Council of 14 December 2005 amending for the 22nd time Council Directive 76/769/EEC on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the Member States relating to restrictions on the marketing and use of certain dangerous substances and preparations.
9. Regulation (EC) No 1907/2006 of the European Parliament and of the Council of 18 December 2006.
10. Consumer Product Safety Improvement ACT OF 2008. 110th Congress. Public Law 110–314—AUG. 14, 2008. Section 108.
11. SOR/2010-298 Phthalates Regulations. CANADA. Current to October 27, 2014.
12. Resolution of the Argentine Ministry of Health 583/2008 (file 2002-2041/08-3) on 11 June 2008.
13. Requirements for Toxicological Testing of Toys; Commercial Information Circular No. 520/2007; 19 December 2007; Trade and Industry Department, The Government of the HKSAR.
14. Japan Toy Safety Standard ST-2002, Part 3. Revised August 23, 2011.

ДЕКЛАРАЦИЯ ОБ ОТВЕТСТВЕННОСТИ

Нижеподписавшийся, Лазакович Дмитрий заявляю под личную ответственность, что материалы, представленные в докторской диссертации, являются результатом личных научных исследований и разработок. Осознаю, что в противном случае, буду нести ответственность в соответствии с действующим законодательством.

Лазакович Дмитрий _____

A handwritten signature in blue ink, consisting of several loops and a long vertical stroke, positioned over a horizontal line.

Число 09.04.2015

CURRICULUM VITAE



Numele de familie și prenumele: Lazacovici Dmitri.

Data și locul nașterii: 15 noembrie 1983, or. Chișinău.

Cetățenia: Republica Moldova.

Studii:

- Superioare, Universitatea de Stat din Moldova, 2002-2006, specialitatea-chimie, calificarea-chimie anorganică.
- Masterat, Universitatea de Stat din Moldova, 2006-2007, specialitatea-chimie, calificarea-chimie anorganică
- Doctorat, Centrul de Instruire Universitară, Postuniversitară și Perfecționare al AȘM., 2010-2013, specialitatea-chimie, calificarea-chimie ecologică.

Activitatea profesională:

- Laborant, Universitatea de Stat din Moldova, catedra Chimie Anorganica și Fizica. 2005-2006.
- Cercetător științific, Universitatea de Stat din Moldova, catedra Chimie Anorganica și Fizica. 2006-2007.
- Specialist categ.II, Î.S. Centrul Național de Verificare a Calității Producției Alcoolice, sector de încercari prin metode instrumentale. 2007-2009
- Specialist categ.I, Î.S. Centrul Național de Verificare a Calității Producției Alcoolice, sector de încercari prin metode instrumentale. 2009-2010
- Specialist coordinator, Î.S. Centrul Național de Verificare a Calității Producției Alcoolice, sector de încercari prin metode instrumentale. 2010-prezent.

Participări on proiecte științifice naționale și internaționale:

- Investigarea căilor de contaminare a vinurilor produse în Republica Moldova cu derivații ftalatilor. Programa de Stat. 2010-2011.

Participări la foruri științifice (naționale și internaționale):

- Conferința tehnico-științifică a colaboratorilor, doctoranzilor și studenților. UTM. Chișinău. Moldova. (2010)
- Scientific conference with international participation “Food science, engineering and technologies 2011”. University of Food Technologies. Plovdiv. Bulgaria. (2011)
- Conferința științifico-practică cu participare internațională. CNVCPA. “Vinul în mileniul III – probleme actuale în vinificație” Chișinău. Moldova. (2011)
- The 5th International Conference ECOLOGICAL CHEMISTRY 2012. Chișinău. Moldova. (2012)
- International conference of applied sciences, chemistry and chemical engineering. Bacău. Romania. (2012)
- The 1st International conference “Modern technology in the food industry”. Chișinău. Moldova. (2012)
- Международная научно-практическая конференция «Использование электрофизических методов исследования для производства и оценки качества пищевых продуктов» СПбГТЭУ. Санкт-Петербург. Россия. (2012)

Premii, mențiuni, distincții, titluri onorifice etc:

- 2012, Bursa de excelență a Guvernului Republicii Moldova.

Lucrări științifice și științifico-metodice publicate la tema tezei: 11 articole, 1 materiale ale comunicărilor științifice

Cunoașterea limbilor:

- Rusă (materna);
- Româna (slab);
- Engleză (slab);

Date de contact :

- Adresa: MD-2028; Î.S. Centrul Național de Verificare a Calității Producției Alcoolice; str. Grenoble 128 „U”, bir. 3; Chișinău, MD
- Telefon: +373 69353993
- E-mail: dirigiblesina@gmail.com