ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ
В СФЕРЕ ПРИРОДОПОЛЬЗОВАНИЯ

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФГБУ «Федеральный центр анализа и оценки техногенного воздействия»



В.В. Новиков

«20» октября 2016 г

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОД

МЕТОДИКА ИЗМЕРЕНИЙ МАССОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЖИРОВ В ПРОБАХ ПРИРОДНЫХ И СТОЧНЫХ ВОД ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

ПНД Ф 14.1:2.141-98

Методика допущена для целей государственного экологического контроля

МОСКВА
(издание 2016 г.)

gost.e-ecolog.ru

Методика измерений аттестована Центром метрологии и сертификации «СЕРТИМЕТ» Уральского отделения РАН (Аттестат аккредитации № RA.RU.310657 от 12.05.2015), рассмотрена и одобрена федеральным государственным бюджетным учреждением «Федеральный центр анализа и оценки техногенного воздействия» (ФГБУ «ФЦАО»).

Настоящее издание методики введено в действие взамен ПНД Ф предыдущего издания и действует до выхода нового издания.

Методика зарегистрирована в Федеральном информационном фонде по обеспечению единства измерений. Информация о методике представлена на сайтах http: //gost.e-ecolog.ru в разделе «Сведения об аттестованных методиках (методах) измерений» и gost.e-ecolog.ru в разделе «Методики анализа».

Заместитель директора ФГБУ «ФЦАО» А.Б. Сучков

Разработчик:

© ЗАО «РОСА»,1998
Адрес: 119297, г. Москва, ул. Родниковая, 7, стр. 35
Телефон: (495) 502-44-22, телефон/факс: (495) 439-52-13
http:// gost.e-ecolog.ru
e-mail: gost.e-ecolog.ru

1 ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

Настоящий нормативный документ устанавливает методику измерений массовых концентраций жиров в пробах природных и сточных вод газохроматографическим методом. Методика распространяется на следующие объекты анализа: воды природные пресные (поверхностные и подземные, в том числе источники водоснабжения), воды морские, воды сточные (производственные, хозяйственно-бытовые, ливневые и очищенные).

Примечание – Допускается применение методики для анализа талых и технических вод и атмосферных осадков (дождь, снег, град).

Диапазон измерений массовых концентраций жиров составляет от 0,5 до 50000 мг/дм^3.

В настоящем нормативном документе под жирами понимают вещества животного и растительного происхождения, главным образом состоящие из триглицеридов (сложные эфиры глицерина и высших карбоновых кислот). Основную часть жиров составляют следующие жирные кислоты: лауриновая (С12:0), миристиновая (С14:0), пальмитиновая (С16:0), стеариновая (С18:0), олеиновая (С18:1), линолевая (С18:2), линоленовая (С18:3).

Блок-схема проведения анализа приведена в приложении А.

Продолжительность анализа одной пробы – 4 часа, серии из 10 проб – 8 часов.

2 НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

ГОСТ 12.0.004-90 Система стандартов безопасности труда. Организация обучения безопасности труда. Общие положения.

ГОСТ 12.1.004-91 Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования.

ГОСТ 12.1.007-76 Система стандартов безопасности труда. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.

ГОСТ 12.4.009-83 Система стандартов безопасности труда. Пожарная техника для защиты объектов. Основные виды. Размещение и обслуживание.

ГОСТ 17.1.5.05-85 Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков.

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия.

ГОСТ 4166-76 Реактивы. Натрий сернокислый. Технические условия.

ГОСТ 4233-77 Реактивы. Натрий хлористый. Технические условия.

ГОСТ 5556-81 Вата медицинская гигроскопическая. Технические условия.

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия.

ГОСТ 5829-71 Реактивы. Ацетил хлористый. Технические условия.

ГОСТ 3022-80 Водород технический. Технические условия.

ГОСТ 3118-77 Реактивы. Кислота соляная. Технические условия.

ГОСТ 6995-77 Реактивы. Метанол-яд. Технические условия.

ГОСТ 25336-82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры.

ГОСТ 28311-89 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний.

ГОСТ 29227-91 Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования.

ГОСТ 31861-2012 Вода. Общие требования к отбору проб.

ГОСТ Р 12.1.019-2009 Система стандартов безопасности труда. Электробезопасность. Общие требования и номенклатура видов защиты.

ГОСТ Р 52501-2005 Вода для лабораторного анализа. Технические условия.

ГОСТ Р 53228-2008 Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания.

ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6. Использование значений точности.

ГОСТ OIML R 76-1-2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания.

ТУ 6-21-5-82 Воздух сжатый. Технические условия.

ТУ 6-09-1181-89 Бумага индикаторная универсальная для определения РН 1-10 и 7-14. Технические условия.

ТУ 6-09-3375-78 Гексан чистый. Технические условия.

ТУ 51-940-80 Гелий газообразный (сжатый). Технические условия.

Примечание – Если ссылочный стандарт заменен (изменен), то следует руководствоваться заменяющим (измененным) стандартом. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 ПРИПИСАННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ТОЧНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ

Настоящая методика обеспечивает получение результатов измерений с показателями точности, не превышающими значений, приведенных в таблице 1.

Таблица 1 – Диапазон измерений, значения показателей точности, воспроизводимости и повторяемости

Диапазоны измерений, мг/дм^3	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Показатель точности (границы относительной погрешности при доверительной вероятности 0,95), $\pm\delta$, %
от 0,5 до 1 вкл	20	30	60
св. 1 до 10 вкл.	16	24	48
св. 10 до 100 вкл.	13	20	40
св. 100 до 50000 вкл.	9	14	28

4 МЕТОД ИЗМЕРЕНИЙ

Измерение массовых концентраций жиров выполняют методом реакционной газовой хроматографии с использованием пламенно-ионизационного детектора. Жиры из пробы извлекают н-гексаном, гидролизуют и проводят метилирование полученных при гидролизе жирных кислот. Полученный экстракт концентрируют упариванием и анализируют. Массовые концентрации метиловых эфиров жирных кислот определяют по установленным градуировочным характеристикам.

5 СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ УСТРОЙСТВА. РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы и стандартные образцы:

5.1 Средства измерений и вспомогательные устройства

5.1.1 Весы лабораторные общего назначения специального или высокого класса точности, с наибольшим пределом взвешивания 300 г по ГОСТ OIML R 76-1 или по ГОСТ Р 53228.

5.1.2 Термометр любого типа со шкалой до 100 °С или выше и ценой деления 1,0 °С или ниже.

5.1.3 Хроматограф газовый, например Agilent 7890 фирмы «Agilent Technologies» (США) в комплекте:

- пламенно-ионизационный детектор;
- устройство для автоматического отбора и ввода проб;
- колонка хроматографическая капиллярная кварцевая с фазой полиэтиленгликоль, модифицированный нитротерефталевой кислотой, длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщиной пленки (0,5 – 1,0) мкм, например

FFAP фирмы «Agilent Technologies» или любая другая с фазой, позволяющей разделять определяемые вещества.

5.1.4 Баня песчаная с температурным режимом (50 – 100)°С, снабженная регулятором температуры, например фирмы «Gerhardt» (Германия).

5.1.5 Генератор водорода, обеспечивающий выходное рабочее давление не менее 0,2 МПа, или баллон со сжатым водородом по ГОСТ 3022.

5.1.6 Дистиллятор или установка любого типа для получения воды дистиллированной по ГОСТ 6709 или воды для лабораторного анализа степени чистоты 2 по ГОСТ Р 52501.

5.1.7 Компьютер персональный, позволяющий работать с программным обеспечением для управления газовым хроматографом, сбора информации и обработки хроматограмм, например с программой «ChemStation» фирмы «Agilent Technologies» (США).

5.1.8 Компрессор сжатого воздуха, например, фирмы «MAXIMA» (Малайзия) для аквариума (сжатый воздух используется для обдува при концентрировании экстракта).

5.1.9 Принтер любой модели.

5.1.10 Устройство для встряхивания емкостей с жидкостью любого типа, например, шюттель-аппарат на 5 мест для делительных воронок вместимостью 1000 $см^3$, например фирмы «Agitelec» (Франция).

5.1.11 Холодильник двухкамерный бытовой любого типа, обеспечивающий температуру холодильной камеры (2 – 10) °С, а морозильной камеры минус (12 – 24) °С.

5.1.12 Шкаф сушильный с температурным режимом (100 – 200) °С, например, СНОЛ по ТУ 16-681.032.

5.2 Лабораторная посуда

5.2.1 Воронки делительные ВД-3-1000 и ВД-3-250 по ГОСТ 25336.

5.2.2 Воронки для фильтрования В-25-50 ХС по ГОСТ 25336.

5.2.3 Колбы мерные вместимостью 10 $см^3$ по ГОСТ 1770, класс точности 2.

5.2.4 Колбы конические вместимостью 50; 100 и 250 $см^3$ с притертыми пробками по ГОСТ 25336.

5.2.5 Мензурки вместимостью 100; 250; 500 и 1000 $см^3$ по ГОСТ 1770, класс точности 2.

5.2.6 Микрошприцы вместимостью 0,010; 0,050; 0,10; 0,25; 0,5 и 1,0 $см^3$, например фирмы «Hamilton» (Австралия).

5.2.7 Пипетки градуированные вместимостью 1 и 5 $см^3$ по ГОСТ 29227, класс точности 2.

Примечание – Допускается использовать дозаторы лабораторные по ГОСТ 28311.

5.2.8 Стаканы В-1-250 ТС по ГОСТ 25336.

5.2.9 Флаконы стеклянные, герметично закрывающиеся с завинчивающимися крышками вместимостью (1,5 – 2); 100; 250 и 500 $см^3$, снабженные прокладками из инертного материала.

5.2.10 Холодильник стеклянный обратный по ГОСТ 25336.

5.2.11 Цилиндр мерный вместимостью 25 $см^3$ по ГОСТ 1770.

5.3 Реактивы и материалы

5.3.1 Ацетил хлористый (ацетилхлорид), ч.д.а. по ГОСТ 5829.

5.3.2 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 или вода для лабораторного анализа 2 степени чистоты по ГОСТ Р 52501 (далее – вода дистиллированная).

5.3.3 Водород сжатый по ГОСТ 3022.

5.3.4 Воздух сжатый по ТУ 6-21-5.

5.3.5 Гелий сжатый по ТУ 51-940.

5.3.6 н-Гексан, х.ч. по ТУ 6-09-3375.

5.3.7 Кислота соляная, х.ч. по ГОСТ 3118.

5.3.8 Метанол, х.ч. по ГОСТ 6995.

5.3.9 Натрий сернокислый (натрия сульфат), ч.д.а. по ГОСТ 4166.

5.3.10 Натрий хлористый (натрия хлорид), х.ч. по ГОСТ 4233.

5.3.11 Бумага универсальная индикаторная, позволяющая измерять значение pH в диапазоне от 1 до 12 ед. pH с шагом 1 ед. pH, например, по ТУ 6-09-1181.

5.3.12 Вата медицинская гигроскопическая по ГОСТ 5556.

5.4 Стандартные образцы, вещества гарантированной чистоты и аттестованные растворы

Стандартные образцы (далее – СО) или вещества гарантированной чистоты – метиловые эфиры лауриновой (С12:0), миристиновой (С14:0), пальмитиновой (С16:0), стеариновой (С18:0), олеиновой (С18:1), линолевой (С18:2), линоленовой (С18:3) кислот, с содержанием основного вещества не менее 98 % или смеси метиловых эфиров жирных кислот для приготовления аттестованных растворов, например, смесь GLC-10 (по 20 мг С12:0, С14:0 и С16:0) и смесь GLC-30 (по 20 мг С16:0, С18:0, С18:1, С18:2 и С18:3) производства фирм «Alltech», «Supelco» или любой другой.

Примечания -

1 Допускается использование средств измерений утвержденных типов других производителей, обеспечивающих измерения с установленной точностью.

2 Средства измерений должны быть поверены (откалиброваны) в установленные сроки.

3 Допускается использование оборудования, материалов и реактивов с характеристиками, не хуже, чем у вышеуказанных.

6 УСЛОВИЯ БЕЗОПАСНОГО ПРОВЕДЕНИЯ РАБОТ

6.1 При выполнении измерений необходимо соблюдать требования техники безопасности при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007.

6.2 При работе с оборудованием необходимо соблюдать правила электробезопасности по ГОСТ Р 12.1.019.

6.3 Обучение работающих безопасности труда должно быть организовано в соответствии с ГОСТ 12.0.004.

6.4 Помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009.

7 ТРЕБОВАНИЯ К КВАЛИФИКАЦИИ ОПЕРАТОРА

7.1 К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются лица, имеющие высшее образование химического профиля, владеющие методом хроматографического анализа, знающие конструкцию, принцип действия и правила эксплуатации данного оборудования.

7.2 К выполнению работ по пробоподготовке допускаются лица, имеющие среднее специальное или высшее образование химического профиля, обученные методике подготовки проб для хроматографического анализа.

8 УСЛОВИЯ ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ

При выполнении измерений в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

температура воздуха	от 20 °С до 28 °С
относительная влажность воздуха	не более 80 % при 25 °С
напряжение в сети	(220 ± 22) В.

9 ОТБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ

9.1 Отбор проб осуществляют в соответствии с ГОСТ 31861 в стеклянные флаконы, снабженные завинчивающимися крышками вместимостью 500 $см^3$.

9.2 Пробы снега отбирают в соответствии с ГОСТ 17.1.5.05 и переводят в талую воду при комнатной температуре.

9.3 Отобранную пробу анализируют в течение суток. Если такой возможности нет, пробу хранят в холодильнике при температуре (2 – 10) °С не более 10 суток.

9.4 При отборе проб составляют сопроводительный документ по утвержденной форме, в котором указывается:

- цель анализа;
- место, дата, время отбора;
- шифр пробы;
- должность, фамилия сотрудника, отбирающего пробу.

10 ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ

10.1 Подготовка оборудования и условия проведения измерений

Согласно руководству по эксплуатации программного обеспечения хроматографа создают метод измерений с использованием абсолютной градуировки. Газовый хроматограф и устройство для автоматического отбора и ввода проб готовят к работе в соответствии с инструкциями по эксплуатации оборудования. В качестве газа-носителя используют гелий.

Рекомендуемые параметры газохроматографического анализа:

Температура детектора	300 °С
Температура инжектора	220 °С
Режим программирования температуры термостата колонок:	
начальная 120 °С	
нагрев до 220 °С со скоростью 15 °С/мин	
изотерма 220 °С в течение 6 мин	
Расходы газов:	
газа-носителя (гелия)	8 $см^3$/мин
водорода	30 $см^3$/мин
воздуха	400 $см^3$/мин
Объем хроматографируемой пробы	0,002 $см^3$
Деление потока	1:10

Примечание – Допускается изменять параметры газохроматографического анализа в зависимости от используемой хроматографической колонки.

10.2 Подготовка хроматографической колонки

Новую капиллярную колонку кондиционируют в соответствии с инструкцией, прилагаемой к колонке, в токе газа-носителя, предварительно отсоединив от детектора. Завершив кондиционирование, колонку подсоединяют к детектору и выводят хроматограф на рабочий режим.

10.3 Приготовление растворов

10.3.1 Раствор ацетила хлористого в метаноле объемной доли 5%

Приготовление раствора проводят в вытяжном шкафу. В коническую колбу вместимостью 250 $см^3$ помещают 95 $см^3$ метанола, осторожно небольшими порциями добавляют 5 $см^3$ ацетила хлористого и переливают во флакон с завинчивающейся крышкой. Раствор хранят не более 6 месяцев при комнатной температуре.

10.3.2 Раствор соляной кислоты (1:2)

Приготовление раствора проводят в вытяжном шкафу. В мензурку вместимостью 250 $см^3$ помещают 100 $см^3$ дистиллированной воды и медленно при перемешивании добавляют 50 $см^3$ концентрированной соляной кислоты. Рас-

твор переливают во флакон с завинчивающейся крышкой и хранят при комнатной температуре не более 1 года.

10.3.3 Градуировочные растворы метиловых эфиров жирных кислот

Основные градуировочные растворы метиловых эфиров жирных кислот в н-гексане с массовой концентрацией каждого вещества 4,0 мг/см^3 готовят весовым способом с использованием СО или веществ гарантированной чистоты, или используют аттестованные растворы смесей GLC-10 и GLC-30 (5.4).

Приготовление основных градуировочных растворов метиловых эфиров жирных кислот из аттестованных смесей GLC-10 и GLC-30.

Основной раствор № 1 метиловых эфиров жирных кислот готовят в н-гексане с массовой концентрацией каждого вещества 4 мг/см^3. Для этого содержимое 2-х ампул GLC-10 подогревают до жидкого состояния, например, на песчаной бане при температуре (65 ± 5) °С, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 10 см^3 и доводят объем раствора до метки н-гексаном.

Основной раствор № 2 метиловых эфиров жирных кислот готовят в н-гексане с массовой концентрацией каждого вещества 4 мг/см^3. Для этого содержимое 2-х ампул GLC-30 подогревают до жидкого состояния, например, на песчаной бане при температуре (65 ± 5) °С, количественно переносят в мерную колбу вместимостью 10 см^3 и доводят объем раствора до метки н-гексаном.

Шкалу градуировочных растворов с массовыми концентрациями каждого из метиловых эфиров жирных кислот 0,05–0,1–0,3–0,6–1,2–2,4–4,0 мг/см^3 готовят путем разбавления основных растворов н-гексаном.

Рекомендуемая процедура приготовления шкалы градуировочных растворов приведена в таблицах 2 и 3.

Во флакон вместимостью (1,5 – 2) см^3 помещают 1 см^3 растворителя, затем микрошприцем отбирают из этого флакона растворитель в объеме, равном объему раствора, который будет добавляться в этот флакон. Например, для приготовления раствора № 3 помещают 1 см^3 растворителя во флакон, отбирают из него 0,075 см^3 растворителя и добавляют в него 0,075 см^3 основного раствора с массовой концентрацией 4,0 мг/см^3, таким образом, получают раствор с массовой концентрацией 0,3 мг/см^3.

Таблица 2 – Приготовление градуировочных растворов метиловых эфиров жирных кислот из основного раствора № 1 (GLC-10). Общий объем раствора – 1 см^3

Наименование градуировочного раствора	Массовая концентрация метилового эфира в градуировочном растворе, мг/см^3	Раствор, используемый для разведения			Объем растворителя, см^3
		Название раствора	Массовая концентрация метилового эфира в растворе, мг/см^3	Добавляемый объем раствора, см^3	
1	0,05	Градуир. № 2	0,1	0,500	0,500
2	0,1	Основной № 1	4,0	0,025	0,975
3	0,3			0,075	0,925
4	0,6			0,150	0,850
5	1,2			0,300	0,700
6	2,4			0,600	0,400
7	4,0			1,000	0,000

Примечание – Допускается готовить градуировочные растворы с другой массовой концентрацией в другом объеме в указанном диапазоне измерений.

Таблица 3 – Приготовление градуировочных растворов метиловых эфиров жирных кислот из основного раствора № 2 (GLC-30). Общий объем раствора – 1 см^3

Наименование градуировочного раствора	Массовая концентрация метилового эфира в градуировочном растворе, мг/см^3	Раствор, используемый для разведения			Объем растворителя, см^3
		Название раствора	Массовая концентрация метилового эфира в растворе, мг/см^3	Добавляемый объем раствора, см^3	
8	0,05	Градуир. № 9	0,1	0,500	0,500
9	0,1	Основной № 2	4,0	0,025	0,975
10	0,3			0,075	0,925
11	0,6			0,150	0,850
12	1,2			0,300	0,700
13	2,4			0,600	0,400
14	4,0			1,000	0,000

Примечание – Допускается готовить градуировочные растворы с другой массовой концентрацией в другом объеме в указанном диапазоне измерений.

Основные и градуировочные растворы хранят в холодильнике при температуре минус (12 – 24) °С не более 6 месяцев. Перед использованием градуировочные растворы выдерживают при комнатной температуре не менее 20 мин.

10.4 Установление градуировочных характеристик

Компьютер устанавливают в режим измерения факторов отклика по методу абсолютной градуировки.

Каждый градуировочный раствор хроматографируют дважды при условиях, указанных в п. 10.1. Затем с помощью программного модуля градуировки управляющей программы получают градуировочный график и относительный градуировочный коэффициент A_i для каждого *i-го* метилового эфира жирной кислоты, который используют при обработке результатов измерений.

Градуировку хроматографа проводят не реже 1 раза в 6 месяцев, а также при замене хроматографической колонки или после ремонта оборудования, повлекшего за собой изменение условий хроматографирования.

Компоненты идентифицируют по абсолютным временам удерживания.

Пример хроматограммы градуировочного раствора метиловых эфиров жирных кислот представлен в приложении Б.

10.5 Контроль стабильности градуировочной характеристики

Проверку стабильности градуировочных характеристик проводят перед анализом серии проб по результатам хроматографирования одного из градуировочных растворов. Градуировочную характеристику считают стабильной в случае, если измеренное значение массовой концентрации отличается от аттестованного значения не более чем на 20%, а время удерживания метиловых эфиров жирных кислоты в градуировочном растворе отклоняется от установленного при градуировке времени удерживания не более чем на 20 с.

Если условие стабильности градуировочной характеристики не выполняется для одного градуировочного раствора, необходимо выполнить повторное измерение для этого градуировочного раствора с целью исключения результата измерения, содержащего грубую погрешность.

Если градуировочная характеристика нестабильна, выясняют и устраняют причины нестабильности и повторяют контроль с использованием других градуировочных растворов для градуировки, предусмотренных методикой. При повторном обнаружении отклонения результата от градуировочной характеристики строят новый градуировочный график.

10.6 Установление поправочного коэффициента, учитывающего потери при пробоподготовке

При внедрении методики устанавливают поправочный коэффициент, учитывающий потери при пробоподготовке.

Проверочные растворы для установления поправочного коэффициента, учитывающего потери при пробоподготовке, представляют собой дистиллированную, природную или сточную воду, не содержащую жиры с введенными добавками подсолнечного и/или сливочного масла (с содержанием жира не менее 82%). Опорные значения жиров устанавливаются по процедуре приготовления с учетом содержания жиров в материале и соответствуют нижней, верхней границе и середине диапазона измерений.

Примечание – Содержание жира в подсолнечном масле принимают за 100%.

Для установления поправочного коэффициента, учитывающего потери при пробоподготовке, в делительную воронку вместимостью 1 $дм^3$, помещают

0,5 дм^3 воды, вносят навеску материала, содержащего жир и перемешивают. Полученный раствор подвергают пробоподготовке по п. 11.2. Для определения поправочных коэффициентов для всего диапазона измерения такую процедуру повторяют для каждого проверочного раствора. Проверочные растворы готовятся непосредственно перед использованием.

Рекомендуемый порядок приготовления проверочных растворов представлен в таблице 4.

Т а б л и ц а 4 – Приготовление проверочных растворов подсолнечного масла

Наименование образца	Масса навески, мг	Опорное значение массовой концентрации жиров, мг/дм^3	Объем проверочного раствора, дм^3
1	1,0	2,0	0,5
2	1000	2000	
3	25000	50000	

Примечание – Допускается

-готовить проверочные растворы с другой массовой концентрацией с корректировкой схемы их приготовления в указанном диапазоне измерений;

-использовать для приготовления проверочных растворов другие растительные и животные жиры.

Полученные экстракты анализируют и определяют суммарную массовую концентрацию образовавшихся метиловых эфиров жирных кислот в каждом растворе. Поправочный коэффициент K_{ni} вычисляют как отношение измеренного значения суммарной массовой концентрации жиров к опорному значению суммарной массовой концентрации жиров в проверочном растворе по формуле

$$K_{ni} = \frac{X_{ni}}{C_{ni}}, \qquad (1)$$

где

X_{ni} – измеренное значение суммарной массовой концентрации определяемых *i-ых* метиловых эфиров в *n*-ом проверочном растворе, мг/дм^3;

C_{ni} – опорное значение суммарной массовой концентрации *i-ых* жиров в *n*-ом проверочном растворе, мг/дм^3.

Примечание – Коэффициент перевода жиров в метиловые эфиры жирных кислот составляет 1.05.

Для каждой выбранной точки диапазона измерений используют не менее 7 образцов проверочного раствора и рассчитывают K_{ni} для каждого полученного результата измерения с одинаковой массовой концентрацией. Расхождение между минимальным и максимальным значениями полученных коэффициентов для каждой выбранной точки диапазона не должно превышать 20%.

Далее рассчитывают усредненный поправочный коэффициент $K_{nср}$ для каждого диапазона как среднеарифметическое значение полученных коэффициентов K_{ni} по формуле

$$K_{пср} = \frac{\sum_{i=1}^{n} K_{пi}}{n} \quad (2)$$

Если по результатам анализа расхождение между максимальным и минимальным значениями поправочных коэффициентов $K_{пср}$ не превышает 25%, то рассчитывают среднеарифметическое значение поправочного коэффициента $K_{ср}$ для всего диапазона измерения и учитывают при обработке результатов измерений (12). Поправочный коэффициент, учитывающий потери при пробоподготовке должен быть не менее 0,3.

Поправочный коэффициент $K_{ср}$ проверяют при смене оператора, осуществляющего пробоподготовку. При получении удовлетворительных результатов контроля используют ранее установленный $K_{ср}$. В случае получения отрицательных результатов контроля $K_{ср}$ устанавливают заново.

11 ВЫПОЛНЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

11.1 Подготовка аппаратуры

Хроматограф выводят на рабочий режим в соответствии с условиями, указанными в 10.1. На компьютере в программе управления активизируют метод анализа.

11.2 Подготовка пробы

На флаконе с отобранной пробой воды отмечают маркером границу жидкости. Пробу подкисляют раствором соляной кислоты до pH=(3 – 4) ед. pH, проверяя значение pH с помощью индикаторной бумаги, насыщают хлористым натрием. Затем пробу полностью переносят в делительную воронку вместимостью 1 дм^3, добавляют (40 – 45) см^3 н-гексана, флакон из-под пробы ополаскивают небольшим количеством н-гексана (5 – 10) см^3 и добавляют его в делительную воронку (всего для экстракции необходимо 50 см^3 н-гексана). Затем проводят экстракцию с помощью шюттель-аппарата со скоростью (40 – 60) встряхиваний в минуту в течение 10 мин. После остановки шюттель-аппарата делительную воронку оставляют в покое до полного разделения слоев на (5 – 15) мин. Гексановый экстракт собирают в коническую колбу вместимостью 50 см^3, пропуская через слой безводного сульфата натрия, и упаривают на песчаной бане при температуре (65 ± 5) °С до удаления растворителя. К сухому остатку приливают 2,5 см^3 раствора ацетилхлорида в метаноле, колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на песчаной бане при температуре (65 ± 5) °С в течение 40 мин, отсоединяют от холодильника, охлаждают, переносят содержимое колбы в делительную воронку вместимостью 250 см^3, приливают 10 см^3 дистиллированной воды и 15 см^3 н-гексана. Делительную воронку интенсивно встряхивают со скоростью (40 – 60) встряхиваний в минуту в течение 3-х минут, отделяют н-гексановый экстракт, пропускают через слой

безводного сульфата натрия, и выпаривают н-гексан на песчаной бане в токе воздуха. К сухому остатку приливают 1 $см^3$ н-гексана ($V_э$).

Затем экстракт помещают во флакон вместимостью (1,5 – 2) $см^3$ и герметично закрывают.

Для определения фактического объема пробы, взятой на анализ, наполняют флакон из-под пробы водопроводной или дистиллированной водой до метки, переливают воду в мензурку вместимостью 500 или 1000 $см^3$ и измеряют объем. Полученный объем учитывают при вычислении результатов.

Примечание – Если проба содержит большие количества жиров (н-гексановый экстракт после извлечения жиров из воды не упаривается досуха), экстракт упаривают в конической колбе на песчаной бане при температуре (65 ± 5) °С до постоянного объема. Затем в эту колбу добавляют (5,0 – 10,0) $см^3$ н-гексана и переносят содержимое в мензурку вместимостью 100 $см^3$, колбу из-под экстракта обмывают (5,0 – 10,0) $см^3$ н-гексана, смыв добавляют в туже мензурку и доводят н-гексаном до конечного объема ($V_{эпп}$) 50 $см^3$ (допускается доводить н-гексановый экстракт до конечного объема 100 $см^3$). Затем раствор перемешивают стеклянной палочкой и отбирают аликвоту, например 1,0 $см^3$ ($V_{алл}$) и переносят в коническую колбу вместимостью 50 $см^3$, упаривают на песчаной бане при температуре (65 ± 5) °С до удаления растворителя. К сухому остатку приливают 2,5 $см^3$ раствора ацетилхлорида в метаноле, колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на песчаной бане при температуре (65 ± 5) °С в течение 40 мин, отсоединяют от холодильника, охлаждают, переносят содержимое колбы в делительную воронку вместимостью 250 $см^3$, приливают 10 $см^3$ дистиллированной воды и 15 $см^3$ н-гексана. Делительную воронку интенсивно встряхивают в течение 3-х мин со скоростью (40 – 60) встряхиваний в минуту, отделяют н-гексановый экстракт, пропускают через слой безводного сульфата натрия и выпаривают н-гексан на песчаной бане в токе воздуха. К сухому остатку приливают 1 $см^3$ н-гексана. Затем экстракт помещают во флакон вместимостью (1,5 – 2) $см^3$ и герметично закрывают. При вычислении результатов измерений необходимо учесть степень разбавления.

11.3 Выполнение измерений

Полученные экстракты хроматографируют в тот же день. В случае невозможности немедленного проведения хроматографического анализа экстракты хранят в герметично закрытых флаконах вместимостью (1,5 – 2) $см^3$ в холодильнике при температуре (2 – 10) °С не более 10 суток. Экстракты, хранившиеся в холодильнике, перед анализом выдерживают при комнатной температуре не менее 20 минут.

Метиловые эфиры жирных кислот идентифицируют по времени удерживания в соответствии с градуировкой, время удерживания не должно отличаться от установленного при градуировке более чем на 20 с. На хроматограмме измеряют площади пиков метиловых эфиров жирных кислот, результаты измерений обрабатывают в соответствии с п. 12.

В случае, когда массовая концентрация компонента в экстракте выше массовой концентрации максимальной точки градуировочной характеристики, экстракт следует разбавить н-гексаном и провести повторное измерение. При вычислении результатов измерений необходимо учесть степень разбавления.

12 ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

Массовую концентрацию жиров в пробе воды считают равной массовой концентрации суммы метиловых эфиров жирных кислот ($X_{сум}$).

Обработку результатов анализа выполняют с помощью управляющей программы хроматографа в соответствии с градуировочными характеристиками с учетом концентрирования и потерь при пробоподготовке и, при необходимости, предварительного разбавления экстракта. Массовую концентрацию жиров рассчитывают по формулам:

Массовая концентрация каждого метилового эфира жирной кислоты без разбавления пробы

$$X_i = \frac{S_i \cdot V_э}{A_i \cdot K_{ср} \cdot V_в}, \quad (3)$$

где

X_i – массовая концентрация *i-го* метилового эфира жирной кислоты в пробе, мг/дм^3;

S_i – площадь пика *i-го* метилового эфира жирной кислоты в экстракте, мВ·с;

$V_э$ – объем экстракта, см^3;

A_i – относительный градуировочный коэффициент *i-го* метилового эфира жирной кислоты, мВ·с·см^3/мг;

$V_в$ – объем пробы воды, дм^3;

$K_{ср}$ – поправочный коэффициент, учитывающий потери при пробоподготовке;

Массовая концентрация каждого метилового эфира жирной кислоты с разбавлением пробы

$$X_i = \frac{S_i \cdot V_э \cdot K_{рпп} \cdot K_{ргх}}{A_i \cdot K_{ср} \cdot V_в}, \quad (4)$$

Коэффициенты разбавления экстрактов, рассчитывают по формулам.

Коэффициент разбавления при проведении пробоподготовки $K_{рпп}$

$$K_{рпп} = \frac{V_{эпп}}{V_{апп}}, \quad (5)$$

где

$V_{эпп}$ – объем экстракта после пробоподготовки (11.2), см^3;

$V_{апп}$ – объем аликвоты, взятый для разбавления при проведении пробоподготовки (11.2), см^3.

Коэффициент разбавления при превышении массовой концентрации максимальной точки градуировочной характеристики $K_{ргх}$

$$K_{ргх} = \frac{V_{эгх}}{V_{агх}}, \quad (6)$$

где

$V_{эгх}$ – объем экстракта, полученный перед введением пробы в хроматограф, $см^3$.

$V_{агх}$ – объем аликвоты, взятый для разбавления перед введением пробы в хроматограф, $см^3$.

Массовая концентрация суммы i-ых метиловых эфиров жирных кислот

$$X_{сум} = \sum_{i=1}^{7} X_{iэ} \text{ мг/дм}^3. \quad (7)$$

При необходимости определения жирно-кислотного состава рассчитывают массовые доли этих кислот по формуле

$$\omega_i = \frac{X_i \cdot 100}{X_{сум}}, \quad (8)$$

где ω_i – массовая доля индивидуальной *i-ой* жирной кислоты, %.

13 ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

Результаты измерений, как правило, в протоколах анализов представляют в виде:

$$X_{сум} \pm \Delta; \text{ мг/дм}^3 \qquad (P = 0,95),$$

где Δ – характеристика абсолютной погрешности, которую рассчитывают по формуле

$$\Delta = 0,01 \cdot \delta \cdot X_{сум}, \quad (9)$$

где δ – значение показателя точности, % (таблица 1).

Результаты измерений округляют с точностью до:

при массовой концентрации

от 0,5 $мг/дм^3$ до 100 $мг/дм^3$ – 0,1 $мг/дм^3$;

от 100 $мг/дм^3$ до 1000 $мг/дм^3$ – 1 $мг/дм^3$;

от 1000 до 50000 $мг/дм^3$ – 10 $мг/дм^3$.

Результат жирно-кислотного состава представляют в виде таблицы, пример оформления, которой представлен в таблице 5.

Таблица 5 – Определение жирно-кислотного состава анализируемой пробы

	Наименование кислоты	Массовая доля (ω), %
1	Лауриновая кислота (С12:0)	ω_1
2	Миристиновая кислота (С14:0)	ω_2
3	Пальмитиновая кислота (С16:0)	ω_3
4	Стеариновая кислота (С18:0)	ω_4
5	Олеиновая кислота (С18:1)	ω_5
6	Линолевая кислота (С18:2)	ω_6
7	Линоленовая кислота (С18:3)	ω_7
ИТОГО		100

14 ПРОВЕРКА ПРИЕМЛЕМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

Проверка приемлемости результатов измерений в условиях повторяемости и воспроизводимости не представляется возможной в связи с трудностью разделения отобранной пробы на идентичные порции воды.

Показатель повторяемости или воспроизводимости оценивается с использованием проверочных образцов (10.6), приготовленных из материала, содержащего жиры. Пределы повторяемости и воспроизводимости представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Относительные пределы повторяемости и воспроизводимости при доверительной вероятности 0,95

Диапазон измерений, мг/дм^3	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения для двух результатов измерений, полученных в условиях повторяемости), r, %	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения для двух результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости), R, %
от 0,5 до 1 вкл	56	84
св. 1 до 10 вкл.	45	67
св. 10 до 100 вкл.	36	56
св. 100 до 50000 вкл.	25	39

15 КОНТРОЛЬ ТОЧНОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

15.1 В случае регулярного выполнения измерений по методике измерений рекомендуется проводить контроль стабильности результатов измерений путем контроля среднеквадратического отклонения повторяемости, среднеквадратического отклонения внутрилабораторной прецизионности и погрешности с помощью контрольных карт в соответствии с рекомендациями ГОСТ Р ИСО 5725-6 (раздел 6). Образец для контроля представляет собой смесь с введенной в дистиллированную воду добавкой подсолнечного или сливочного масла в указанном в методике диапазоне измерений. Периодичность контроля регламентируют во внутренних документах лаборатории.

Процедуру контроля стабильности показателей качества результатов анализа (повторяемости, внутрилабораторной прецизионности и погрешности) проводят в соответствии с порядком, установленным в лаборатории.

15.2 Оперативный контроль точности результатов измерений рекомендуется проводить при возникновении необходимости подтверждения результатов измерений отдельных проб (при получении нестандартного результата измерений).

Образцами для контроля являются пробы природной и сточной воды, не содержащие определяемые вещества с введенными добавками материала, содержащего жир.

Оперативный контроль процедуры измерений проводят путем сравнения результата отдельно взятой контрольной процедуры ($К_к$) с нормативом контроля (К).

Результат контрольной процедуры $К_к$ (мг/дм^3) рассчитывают по формуле

$$К_к = |X - C|, \quad (10)$$

где

X – результат контрольного измерения массовой концентрации жиров в образце для контроля, мг/дм^3;

С – аттестованное значение массовой концентрации жиров в образце для контроля, мг/дм^3.

Норматив контроля К (мг/дм^3) рассчитывают по формуле

$$К = \Delta_л, \quad (11)$$

где $\Delta_л$ – характеристика абсолютной погрешности результата измерений, установленная в лаборатории при реализации методики, соответствующая аттестованному значению массовой концентрации жиров в образце для контроля, мг/дм^3.

Примечание – Допускается $\Delta_л$ рассчитывать по формуле

$$\Delta_л = 0{,}84 \cdot \Delta, \quad (12)$$

где Δ – приписанная характеристика абсолютной погрешности методики измерений, рассчитанная по формуле (9), мг/дм^3.

Качество контрольной процедуры признают удовлетворительным при выполнении условия:

$$К_к \le К. \quad (13)$$

При невыполнении условия контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

15.3 При получении высокого значения массовой концентрации жиров, проводится оперативный контроль точности результата измерения путем разбавления экстракта.

Результат контрольной процедуры $К_{кр}$ (мг/дм^3) рассчитывается по формуле

$$К_{кр} = |\eta X' - X|, \quad (14)$$

где

η – коэффициент разбавления;

X – результат измерения массовой концентрации жиров в пробе, мг/дм^3;

X' – результат измерения массовой концентрации жиров в разбавленной пробе, мг/дм^3.

Норматив контроля К (мг/дм^3) рассчитывают по формуле

$$К = \sqrt{\eta^2 \cdot (\Delta_{X'л})^2 + (\Delta_{Xл})^2}, \quad (15)$$

где $\Delta_{хл}$ ($\Delta_{х'л}$) – характеристики абсолютной погрешности результатов измерений рабочей пробы и рабочей пробы после разбавления, установленные в лаборатории при реализации методики, мг/дм^3.

Примечание – Допускается $\Delta_{хл}$ и $\Delta_{х'л}$ рассчитывать по формуле (12).

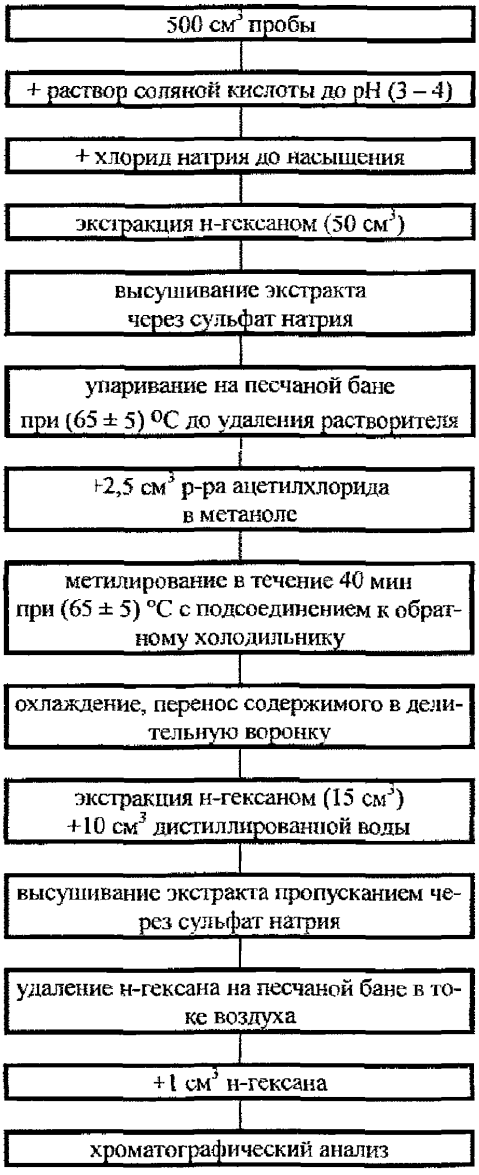
Качество контрольной процедуры признают удовлетворительным при выполнении условия:

$$K_{кр} \le K. \qquad (16)$$

При невыполнении условия контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

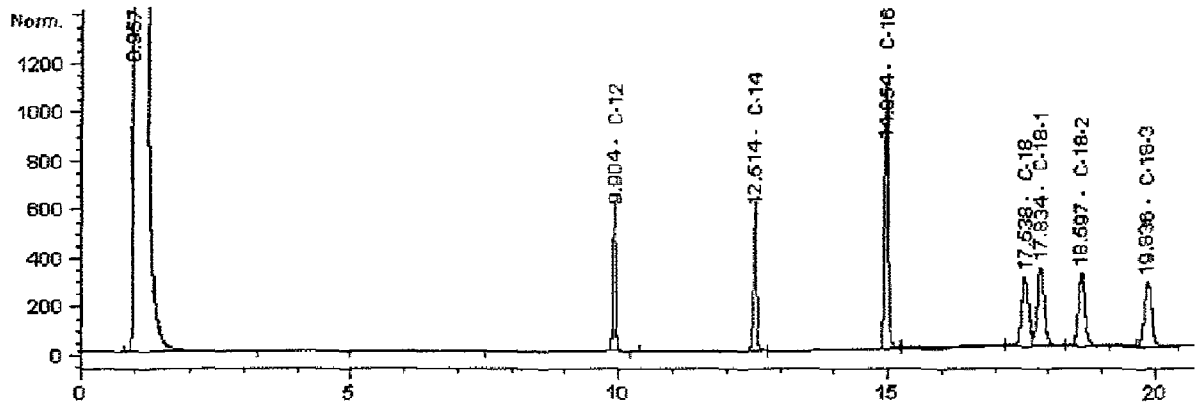
ПРИЛОЖЕНИЕ А

БЛОК-СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА



ПРИЛОЖЕНИЕ Б

Пример хроматограммы градуировочного раствора, полученной на капиллярной колонке FFAP



C12:0 — метиловый эфир лауриновой кислоты;
C14:0 — метиловый эфир миристиновой кислоты;
C16:0 — метиловый эфир пальмитиновой кислоты;
C18:0 — метиловый эфир стеариновой кислоты;
C18:1 — метиловый эфир олеиновой кислоты;
C18:2 — метиловый эфир линолевой кислоты;
C18:3 — метиловый эфир линоленовой кислоты.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
АДМИНИСТРАТИВНО-ХОЗЯЙСТВЕННОЕ УПРАВЛЕНИЕ
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
Центр метрологии и сертификации «СЕРТИМЕТ»
(Центр «СЕРТИМЕТ» АХУ УрО РАН)

СВИДЕТЕЛЬСТВО

ОБ АТТЕСТАЦИИ МЕТОДИКИ (МЕТОДА) ИЗМЕРЕНИЙ

№ 88-16207-016-RA.RU.310657-2016

Методика измерений массовых концентраций жиров в пробах природных и сточных вод газохроматографическим методом,

разработанная ЗАО «РОСА» (119297, г. Москва, ул. Родниковая, д. 7, стр. 35),

предназначенная для контроля состава природных и сточных вод

и регламентированная в документе ПНД Ф 14.1:2.141-98 (издание 2016 г.) «Методика измерений массовых концентраций жиров в пробах природных и сточных вод газохроматографическим методом», утвержденном в 2016 г., на 20 стр.

Методика измерений аттестована в соответствии с ФЗ № 102 от 26 июня 2008 г. «Об обеспечении единства измерений»

Аттестация осуществлена по результатам метрологической экспертизы материалов по разработке методики измерений.

В результате аттестации установлено, что методика измерений соответствует предъявленным к ней метрологическим требованиям и обладает показателями точности, приведенными в приложении.

Приложение: показатели точности методики измерений на 1 листе.

Дата выдачи свидетельства 12 февраля 2016 г.

Начальник АХУ УрО РАН Р.В. Зиновьев

Руководитель Центра «СЕРТИМЕТ» АХУ УрО РАН Т.А.Игнатенкова

Россия, 620990, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 91
Тел./факс (343) 362-33-97

СертиМет

ПРИЛОЖЕНИЕ

к свидетельству № 88-16207-016-RA.RU.310657-2016
об аттестации методики (метода) измерений
массовых концентраций жиров в пробах природных и сточных вод
газохроматографическим методом
на 1 листе
(обязательное)

Значения показателей точности измерений приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Диапазон измерений определяемой характеристики, значения показателей повторяемости, воспроизводимости и точности методики измерений

Диапазон измерений, мг/дм^3	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Показатель точности (границы относительной погрешности при доверительной вероятности 0,95), $\pm\delta$, %
От 0,5 до 1 включ.	20	30	60
Св. 1 до 10 включ.	16	24	48
Св. 10 до 100 включ.	13	20	40
Св. 100 до 50000 включ.	9	14	28

Руководитель Центра «СЕРТИМЕТ» АХУ УрО РАН Л.А. Игнатенкова

СертиМет

gost.e-ecolog.ru