УТВЕРЖДАЮ

Директор БелГИМ



Н.А. Жагора

_____2007

Определение содержания

фенольных и фурановых соединений в коньячных спиртах, коньяках и коньячной продукции методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Методика выполнения измерений

МВИ.МН 2665-2007

РАЗРАБОТАНО

Отделом испытаний
пищевой и с/х продукции

Начальник отдела

_____Г.В. Артеменко

"21" марта 2007

gost.e-ecolog.ru

Содержание

1 Область применения 4
2 Приписанные характеристики погрешности измерений 4
3 Метод измерений 6
4 Нормативные ссылки 6
5 Термины и определения 7
6 Метод отбора проб 7
7 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы, растворы 7
7.1 Средства измерений 7
7.2 Вспомогательное оборудование и материалы 8
8 Условия измерений 9
9 Требования безопасности и требования к квалификации операторов 9
9.1 Требования безопасности 9
9.2 Требования к квалификации операторов 10
10 Подготовка к выполнению измерений 10
10.1 Приготовление элюирующего раствора 10
10.2 Приготовление 50 % (по объему) раствора этилового спирта 10
10.3 Приготовление градуировочных растворов 11
10.3.1 Приготовление многокомпонентного основного раствора «А» с массовой концентрацией анализируемых компонентов приблизительно 100 мг/дм^3 для каждого компонента 11
10.3.2 Приготовление многокомпонентных градуировочных растворов определяемых компонентов 11
10.4 Подготовка хроматографа к работе 12
10.5 Выполнение начальной градуировки 12
10.6 Подготовка проб 12
11 Выполнение измерений 13
11.1 Оперативный контроль стабильности градуировки 13
11.2 Контроль чистоты системы 13
11.3 Выполнение измерений пробы 14
11.4 Идентификация индивидуальных соединений 14
12 Обработка результатов измерений 15
12.1 Расчет массовой концентрации определяемого компонента в пробе 15
12.2 Односторонняя оценка массовой концентрации определяемого компонента в продукте 16
12.3 Окончательный расчет результата измерений 16
12.4 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости 16
12.5 Условие приемлемости результатов измерений 17
12.6 Действия при невыполнении условия приемлемости результатов измерений 18
12.7 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости 18
12.7.1 Условие приемлемости результатов измерений 19
12.7.2 Действия при невыполнении условия приемлемости результатов измерений 19
13 Оформление результатов измерений 20
13.1 Варианты представления результатов измерений 20
13.1.1 Форма представления результатов измерения с использованием показателя точности 20
13.1.2 Форма представления результатов измерения с использованием расширенной неопределенности 20
13.1.3 Форма представления результатов в виде односторонней оценки массовой концентрации определяемого компонента 21

14 Контроль качества результатов измерений 21
14.1 Проведение оперативного контроля качества с использованием метода добавок 21
14.1.1 Проведение контрольной процедуры 21
14.1.2 Расчет результата контрольной процедуры K_k 22
14.1.3 Расчет норматива контроля K 23
14.1.4 Реализация решающего правила контроля и принятие решений по результатам контроля 24
Приложение А (обязательное) Хроматографические условия и параметры настройки детектора 25

1 Область применения

Настоящий документ устанавливает методику измерения массовой концентрации фенольных и фурановых соединений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием для регистрации диодно-матричного детектора.

Перечень компонентов, определяемых в соответствии с данной методикой: галловая кислота, 5-гидроксиметилфурфурол, фурфурол, 4-гидроксибензальдегид, ванилиновая кислота, 5-метилфурфурол, сиреневая кислота, ванилин, сиреневый альдегид, п-кумаровая кислота, синаповая кислота, конифериловый альдегид, синаповый альдегид, эллаговая кислота.

Область действия методики распространяется на коньячный спирт, коньяк и коньячную продукцию.

Диапазоны измерений методики для каждого компонента приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Диапазоны измерений методики

Определяемое соединение	Диапазон измерений, мг/дм^3
4-гидроксибензальдегид, ванилиновая кислота, 5-метилфурфурол, сиреневая кислота, ванилин, сиреневый альдегид, п-кумаровая кислота, синаповая кислота, конифериловый альдегид, синаповый альдегид	0,10 – 20,00
галловая кислота, фурфурол	0,10 – 50,00
5-гидроксиметилфурфурол	0,10 -250,00
эллаговая кислота	0,20-50,00

Предел измерений методики (LOQ) составляет 0,10 мг/дм^3 для всех анализируемых соединений, для эллаговой кислоты – 0,20 мг/дм^3.

2 Приписанные характеристики погрешности измерений

Настоящая методика обеспечивает измерение массовой концентрации фенольных и фурановых соединений в указанном выше диапазоне с приписанными характеристиками погрешности, указанными в таблице 2.

Таблица 2 – Относительные значения показателей повторяемости, воспроизводимости, правильности и точности

Диапазон измерений, мг/дм^3	Интервал значений массовой концентрации, мг/дм^3	Показатель повторяемости (среднее квадратическое отклонение повторяемости) σ_r,%	Показатель воспроизводимости (среднее квадратическое отклонение воспроизводимости) σ_R,%	Показатель правильности (границы, в которых находится неисключенная систематическая погрешность методики) $\pm \delta_c$,%	Показатель точности (границы, в которых находится погрешность методики) $\pm \delta$,%
Галловая кислота	От 0,10 до 10,00 включительно	2	6	6	14
	Св. 10,00 до 50,00 включительно	1	4	4	9
5-гидроксиметил-фурфурол	От 0,10 до 35,00 включительно	2	5	5	11
	Св. 35,00 до 250,00 включительно	1	3	3	6
Фурфурол	От 0,10 до 10,00 включительно	2	6	6	14
	Св. 10,00 до 50,00 включительно	1	4	4	9
4-гидроксибенз-альдегид Ванилиновая кислота 5-метилфурфурол Сиреневая кислота Ванилин Сиреневый альдегид п-кумаровая кислота Синаповая кислота Конифериловый альдегид Синаповый альдегид	От 0,10 до 4,00 включительно Св. 4,00 до 20,00 включительно	3 2	7 5	7 5	16 11
Элаговая кислота	От 0,20 до 10,00 включительно	3	8	7	17
	Св. 10,00 до 50,00 включительно	2	6	5	13

Если содержание определяемого компонента в пробе выходит за верхнюю границу диапазона измерений, допускается разбавление подготовленного к измерению образца, при этом метрологические характеристики следует брать для массовой концентрации компонента, полученной в разбавленной пробе.

3 Метод измерений

Смесь фенольных и фурановых соединений разделяется на хроматографической колонке с использованием градиентной системы элюирования. Идентификация и количественное определение компонентов осуществляется с помощью диодно-матричного детектора по величине сигнала абсорбции, интегрированного по времени. Дополнительная идентификация компонентов проводится спектральным методом.

4 Нормативные ссылки

ГОСТ 1770-74	Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия
ГОСТ 29169-91	Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки с одной отметкой
ГОСТ 29227-91	Посуда лабораторная стеклянная. Пипетки градуированные. Часть 1. Общие требования
ГОСТ 6709-72	Вода дистиллированная. Технические условия
ГОСТ 25336–82 Е	Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры
ГОСТ 24104-2001	Весы лабораторные. Общие технические требования
ГОСТ 61–75	Реактивы. Кислота уксусная. Технические условия
ГОСТ 12.1.004–91	Система стандартов безопасности труда. Пожарная безопасность. Общие требования
ГОСТ 12.2.003–91	Система стандартов безопасности труда. Оборудование производственное. Общие требования безопасности
ГОСТ ИСО 5725-6-2002	Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Часть 6 Использование значений точности на практике
СТБ 1334-2003	Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья. Технические условия
ГОСТ 3639-79	Растворы водно - спиртовые. Методы определения концентрации этилового спирта
СТБ 1384-2003	Продукты винодельческой промышленности. Правила приемки и методы отбора проб

5 Термины и определения

В настоящей методике применяют следующие термины с соответствующими определениями:

Предел измерения – наименьшее значение массовой концентрации определяемого компонента, которое может быть измерено с установленной точностью в соответствии с данной методикой.

Диапазон измерений – область значений массовой концентрации компонента в пробе, определяемая по данной методике.

6 Метод отбора проб

Количество пробы, необходимое для определения фенольных и фурановых соединений в коньячных спиртах, коньяках и коньячной продукции, регламентируется СТБ 1384.

7 Средства измерений, вспомогательное оборудование, материалы, растворы

7.1 Средства измерений

Высокоэффективный жидкостной хроматограф Hewlett Packard HP 1100, который включает:

- бинарный насос с вакуумным дегазатором;
- термостат колонок;
- диодно-матричный детектор (диапазон длин волн 190-950 нм);
- автосамплер;
- система управления и обработки данных HP ChemStation;
- аналитическая хроматографическая колонка LichroCART 250-4 Superspher 100 RP-18.

Весы лабораторные электронные Mettler Toledo AX204, диапазон взвешивания (0,0100 – 220,0000) г, погрешность взвешивания 0,0003 г.

Иономер универсальный ЭВ-74, диапазон измерений от –1 pH до19 pH, погрешность 0,05pH в комплекте с электродами.

Пипетки с одной меткой 2–2–5, 2–2–10, 2–2–20, 2–2–50 по ГОСТ 29169.

Пипетки градуированные 1–2–1 по ГОСТ 29227.

Колбы мерные 2-100-2, 2-250-2, 2-1000-2 по ГОСТ 1770.

Примечание: допускается использование других аналитических хроматографических колонок, позволяющих получить удовлетворительное разделение фенольных и фурановых соединений коньячной продукции.

7.2 Вспомогательное оборудование и материалы

Баня ультразвуковая Sonorex super RK 510 H.

Фильтры мембранные из регенерированной целлюлозы d=47 мм, $d_{пор}$=0,45 мкм.

Фильтры мембранные из регенерированной целлюлозы d=25 мм, $d_{пор}$=0,25 мкм.

Шприц медицинский, вместимостью 5 $см^3$.

Виалы для автосамплера объемом 2 $см^3$.

7.3. Реактивы

Галловая кислота, производитель Sigma-Aldrich, содержание основного вещества не менее 96,0 %.

5-гидроксиметилфурфурол, производитель Sigma-Aldrich, содержание основного вещества не менее 96,0 %.

Фурфурол, производитель Sigma-Aldrich, содержание основного вещества не менее 96,0 %.

4-гидроксибензальдегид, производитель Sigma-Aldrich, содержание основного вещества не менее 96,0 %.

Ванилиновая кислота, производитель Sigma-Aldrich, содержание основного вещества не менее 96,0 %.

5-метилфурфурол, производитель Sigma-Aldrich, содержание основного вещества не менее 96,0 %.

Сиреневая кислота, производитель Sigma-Aldrich, содержание основного вещества не менее 96,0 %.

Ванилин, производитель Sigma-Aldrich, содержание основного вещества не менее 96,0 %.

Сиреневый альдегид, производитель Sigma-Aldrich, содержание основного вещества не менее 96,0 %.

п-Кумаровая кислота, производитель Sigma-Aldrich, содержание основного вещества не менее 96,0 %.

Синаповая кислота, производитель Sigma-Aldrich, содержание основного вещества не менее 96,0 %.

Конифериловый альдегид, производитель Sigma-Aldrich, содержание основного вещества не менее 96,0 %.

Синаповый альдегид, производитель Sigma-Aldrich, содержание основного вещества не менее 96,0 %.

Эллаговая кислота, производитель Sigma-Aldrich, содержание основного вещества не менее 96,0 %.

Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

Метанол т.м. «MERCK» для ВЭЖХ.

Кислота уксусная ледяная, х.ч. по ГОСТ 61.

Спирт этиловый ректификованный из пищевого сырья высшей очистки по СТБ 1334.

Примечание: допускается использование других средств измерений, вспомогательного оборудования, материалов и реактивов с техническими и метрологическими характеристиками не хуже указанных.

8 Условия измерений

При выполнении измерений в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха 18 ^{0}C - 25 ^{0}C;
- относительная влажность воздуха 50 % – 75 %.

Помещения для проведения измерений должны быть оснащены приточно–вытяжной вентиляцией и подводкой воды.

9 Требования безопасности и требования к квалификации операторов

9.1 Требования безопасности

При выполнении работ персонал должен знать и строго соблюдать на рабочем месте требования:

- электробезопасности по ГОСТ 12.2.003;
- пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004;
- техники безопасности при работе в химической лаборатории;
- техники безопасности, изложенные в эксплуатационных документах на средства измерений и оборудование, применяемые при проведении измерений.

9.2 Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке результатов хроматографического анализа могут быть допущены лица, имеющие высшее специальное образование, опыт работы в области жидкостной хроматографии, изучившие руководство по эксплуатации жидкостного хроматографа, инструкцию по использованию системы обработки хроматографических данных и раздел «Освоение методов спектрального анализа» инструкции ChemStation жидкостного хроматографа.

10 Подготовка к выполнению измерений

Перед началом измерений необходимо выполнить следующие операции: приготовить элюирующий и градуировочные растворы, подготовить хроматограф к работе, выполнить начальную градуировку прибора, приготовить пробу для измерения.

10.1 Приготовление элюирующего раствора

Элюирующий раствор В (0,5 % водный раствор уксусной кислоты)

Пипеткой отбирают 5 $см^3$ ледяной уксусной кислоты (плотность 1,055 $г/см^3$), переносят в мерную колбу вместимостью 1 $дм^3$, содержащую 400 $см^3$-500 $см^3$ дистиллированной воды, хорошо перемешивают и доводят до метки дистиллированной водой. pH приготовленного элюирующего раствора В должен находится в диапазоне 2,95-3,05.

Элюирующий раствор А

В качестве элюирующего раствора А используется метанол. Перед применением все растворы фильтруют через фильтр из регенерированной целлюлозы с диаметром 47 мм, диаметром пор 0,45 мкм.

10.2 Приготовление 50 % (по объему) раствора этилового спирта

1 $дм^3$ 50 % (по объему) раствора этилового спирта готовят путем разбавления спирта этилового ректификованного из пищевого сырья высшей очистки по СТБ 1334. Объем этилового спирта, необходимый для разбавления, рассчитывают по формуле

$$V_2 = \frac{C_2 \cdot V_1}{C_1}, \quad (1)$$

где V_2 – исходный объем этилового спирта, взятый для разбавления, $см^3$;

V_1 – объем приготавливаемого 50 % (по объему) этилового спирта, $см^3$;

C_1 – объемная доля этилового спирта, измеренная в соответствии с ГОСТ 3639, %;

C_2 – объемная доля этилового спирта, полученная после разбавления, %.

10.3 Приготовление градуировочных растворов

10.3.1 Приготовление многокомпонентного основного раствора «А» с массовой концентрацией анализируемых компонентов приблизительно 100 мг/дм^3 для каждого компонента.

Навеску каждого компонента массой (0,0230 – 0,0270) г, взвешивают непосредственно в мерную колбу вместимостью 250 см^3. Результат взвешивания фиксируют с точностью до 0,0001 г. В колбу с навесками добавляют (100 – 120) см^3 50 % (по объему) раствора этилового спирта. Раствор хорошо перемешивают до полного растворения и доводят до метки раствором 50 % (по объему) этилового спирта при t=(20 ± 2) °С. Точную концентрацию каждого компонента в растворе рассчитывают с учетом содержания основного вещества по формуле

$$C_{A_i} = \frac{m_i \times P_i}{V_A} \text{x10}, \qquad (2)$$

где C_{A_i} – массовая концентрация i-го компонента в растворе А, мг/дм^3;

m_i – масса навески i-го компонента, мг;

P_i – содержание основного вещества i-го компонента, %;

V_A – объем мерной колбы, см^3.

Основной раствор хранят в холодильнике при температуре от 3 ^{0}С до 8 ^{0}С в течение 3 месяцев.

10.3.2 Приготовление многокомпонентных градуировочных растворов определяемых компонентов.

Готовят шесть градуировочных растворов путем разбавления основного раствора «А» согласно таблице 3.

Таблица 3 – Схема приготовления градуировочных растворов

Номер раствора	Объем раствора А по п.10.2.1, $см^3$	Концентрация* градуировочного раствора, $мг/дм^3$	Объем градуировочных растворов, $см^3$
1	0,5	0,5	100
2	1	1	100
3	5	5	100
4	10	10	100
5	20	20	100
6	50	50	100

*Точное значение концентрации основного компонента в градуировочных растворах рассчитывают с учетом точных значений концентраций компонента в основном растворе «А».

Для проведения градуировки используют свежеприготовленные растворы.

10.4 Подготовка хроматографа к работе

Жидкостной хроматограф подготавливают к работе в соответствии с инструкциями фирмы-производителя оборудования.

Используют колонку и хроматографические условия в режиме градиентного элюирования, обеспечивающие удовлетворительное разделение многокомпонентной смеси анализируемых компонентов. Условия разделения приведены в Приложении А (рис. А.1). Для обеспечения повторяемости результатов разделение проводят при постоянной температуре колонки (35,0 ± 0,1)°С.

10.5 Выполнение начальной градуировки

Для определения рабочего диапазона концентраций и линейности функции градуировки выполняют начальную градуировку хроматографа. Ее выполняют для галловой кислоты, 5-гидроксиметилфурфурола, фурфурола, эллаговой кислоты по шести рабочим градуировочным растворам, для остальных определяемых компонентов – по пяти рабочим градуировочным растворам (№ 1-№ 5). Каждый раствор хроматографируют не менее двух раз. Градуировочная зависимость должна иметь вид $y=bx$. Параметры градуировочной зависимости рассчитывают путем анализа линейной регрессии скорректированных площадей пиков.

10.6 Подготовка проб

Отобранную и подготовленную по п.6 пробу фильтруют через систему шприц–фильтр в виалу для автосамплера. Подготовленная для измерения проба должна быть прозрачной.

11 Выполнение измерений

11.1 Оперативный контроль стабильности градуировки

Ежедневно перед началом измерений выполняют оперативный текущий контроль стабильности градуировочного графика. Для этого анализируют рабочий градуировочный раствор, концентрация которого должна быть не менее 20 % от концентрации максимального градуировочного раствора, хроматографируя его не менее двух раз. Первое измерение выбранного градуировочного раствора проводят перед началом выполнения анализа серии образцов. Если разница между измеренной концентрацией каждого компонента в выбранном градуировочном растворе и его фактической концентрацией по отношению к фактической концентрации, выраженная в процентах, не превышает норматива стабильности градуировки $K_{гр}$, градуировка считается достоверной и можно переходить к анализу серии образцов по п.11.3. Если это требование не выполняется, то проводят повторную градуировку прибора.

Норматив стабильности градуировки составляет:

- для диапазона концентраций от $0{,}2C_{max}$ до $0{,}4C_{max}$ (включительно) – 7 %;
- для диапазона концентраций свыше $0{,}4C_{max}$ до C_{max} (включительно) –4 %,

где C_{max} – концентрация максимального градуировочного раствора.

После завершения анализа серии образцов проводят второе измерение выбранного градуировочного раствора, сравнивая результат измерений с нормативом стабильности градуировки так, как это описано выше. В случае невыполнения данного условия проводится повторное измерение выбранного градуировочного раствора. Если при этом полученные значения снова не удовлетворяют вышеприведенным требованиям, выявляют и устраняют причины несоответствия, а затем вновь проводят измерения серии образцов.

При проведении измерений с ручным вводом образцов серия состоит из 6-10 образцов. При проведении измерений с вводом пробы автосамплером серия состоит из 10-15 образцов.

11.2 Контроль чистоты системы

Для контроля степени чистоты реактивов и правильности работы хроматографа, а также для предотвращения появления ложноположительных пиков необходимо проводить измерение «холостой» пробы. Измерение «холостой» пробы

проводят после измерения градуировочного раствора при проверке стабильности градуировки, а также после выполнения анализа серии образцов. В качестве «холостой» пробы используют 50 % (по объему) раствор этилового спирта, прошедшего процедуру пробоподготовки. Если в «холостой» пробе обнаруживают любое из анализируемых компонентов, выявляют причины и устраняют любые источники загрязнения.

11.3 Выполнение измерений пробы

Проводят измерение подготовленной по п. 10.6 пробы.

Проба хроматографируется не менее 2-х раз. Пики компонентов в пробе должны быть правильно проинтегрированы, при необходимости результаты интегрирования площади пика корректируют. Если рассчитанная массовая концентрация компонента в испытуемой пробе превышает верхнюю границу диапазона градуировки, пробу разбавляют раствором этилового спирта, приготовленного по п. 10.2 и повторяют измерение.

11.4 Идентификация индивидуальных соединений

При отсутствии пика определяемого компонента на характеристическом времени удерживания делают вывод, что данный компонент в пробе отсутствует.

Если время удерживания определяемого компонента на хроматограмме анализируемой пробы совпадает с временем удерживания определяемого компонента градуировочного раствора, то предполагают, что данный компонент в пробе присутствует.

Для дополнительной идентификации определяемого компонента результат подтверждают сравнением спектра поглощения определяемого компонента в анализируемой пробе с данными спектральных библиотек для определяемого компонента. Рекомендуемые параметры создания спектральных библиотек приведены в Приложении А (рис. А.2).

Одновременно необходимо оценить возможность присутствия загрязняющих примесей в определяемом компоненте по чистоте пика с помощью статистического анализа, выполняемого программным обеспечением ChemStation путем автоматического сопоставления спектрограмм.

Значения Match factor в диапазоне 900-990 свидетельствуют о некотором спектральном сродстве идентифицируемых компонентов. Все значения ниже 900 означают, что рассматриваются две спектрограммы различных веществ. Условия

проведения спектрометрического анализа пика на чистоту компонента приведены в Приложении А (рис. А.3–А.7).

Заключение о присутствии искомого компонента в пробе можно сделать только в случае, если величина показателя качества совпадения спектров (Match factor) по результатам анализа спектрограмм находится в интервале 990-1000.

Примечание: для проведения идентификации индивидуальных соединений необходимо изучить раздел «Освоение методов спектрального анализа» инструкции ChemStation жидкостного хроматографа.

12 Обработка результатов измерений

12.1 Расчет массовой концентрации определяемого компонента в пробе

Массовую концентрацию i-го компонента в пробе, выраженную в мг/дм^3, рассчитывают по формуле

$$C_i = C_{xi} * K, \quad (3)$$

где C_{xi} – концентрация i-го компонента, полученная по градуировочной кривой, мг/дм^3;

К – коэффициент разбавления, рассчитываемый по формуле

$$K = \frac{V_p}{V_a}, \quad (4)$$

где V_a – объем исходного раствора пробы, см^3;

V_p – объем разбавленного раствора пробы, см^3.

Программное обеспечение ChemStation для расчета концентрации компонентов в испытуемой пробе использует модель невзвешенной линейной регрессии вида $Y_i=b_i*C_{xi}$.

Массовая концентрация i-го компонента рассчитывается программным обеспечением по формуле

$$C_{xi} = \frac{y_i}{b_i}, \quad (5)$$

где y_i – площадь i-го пика, mAU ×S;

b_i – коэффициент линейной регрессии для i-го пика, mAU ×S × дм^3/мг.

Расчет массовой концентрации i-го компонента производится до третьего десятичного знака.

12.2 Односторонняя оценка массовой концентрации определяемого компонента в продукте

Если величина C_i оказывается меньше предела измерения методики C_{LOQ}, то вычисления по п.12.1 не производятся, а дается односторонняя оценка массовой концентрации i-го компонента в пробе, мг/дм^3, в виде:

$$C_i < C_{LOQ},$$

где C_{LOQ} – нижний предел измерения методики.

Предел измерения методики составляет:

- $C_{LOQ} = 0{,}1$ мг/дм^3 для всех определяемых компонентов за исключением эллаговой кислоты;
- $C_{LOQ} = 0{,}2$ мг/дм^3 для эллаговой кислоты.

12.3 Окончательный расчет результата измерений

За окончательный результат измерений принимают среднее арифметическое значение результатов двух параллельных измерений при выполнении условия повторяемости по п.12.4.

$$\overline{C_i} = \frac{C_{i1} + C_{i2}}{2}, \qquad (6)$$

где C_{i1}, C_{i2} – результаты параллельных определений массовой концентрации i-го компонента, в пробе, мг/дм^3.

Окончательный результат округляют до второго десятичного знака.

12.4 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости, проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6-2002.

При выполнении измерений по п. 11.3 получают два параллельных результата единичных наблюдений анализируемой пробы в условиях повторяемости. За результат измерений принимают среднее арифметическое значение двух результатов единичных наблюдений, расхождение между которыми не превышает установленного предела повторяемости.

Проверку приемлемости проводят следующим образом.

Рассчитывают абсолютное расхождение между результатами единичных наблюдений $|C_1 - C_2|$, значение которого сравнивают с абсолютным значением предела повторяемости $r_{абс}$. Абсолютное значение предела повторяемости $r_{абс}$, мг/дм^3, рассчитывают по формуле

$$r_{абс} = 0,01 \cdot r_{отн} \cdot \overline{C}, \quad (7)$$

где 0,01 – коэффициент для пересчета процентов;

$\overline{C}$ – среднее арифметическое значение двух результатов единичных наблюдений, мг/дм^3;

$r_{отн}$ – относительное значение предела повторяемости, %, указанное в таблице 4.

Таблица 4 – Относительные значения пределов повторяемости

Диапазон измерений, мг/дм^3	Интервал значений массовой концентрации, мг/дм^3	Предел повторяемости r, % (для двух результатов единичных наблюдений)
Галловая кислота	От 0,10 до 10,00 включительно	6
	Св. 10,00 до 50,00 включительно	4
5-гидроксиметил-фурфурол	От 0,10 до 35,00 включительно	5
	Св. 35,00 до 250,00 включительно	3
Фурфурол	От 0,10 до 10,00 включительно	6
	Св. 10,00 до 50,00 включительно	4
4-гидроксибензальдегид Ванилиновая кислота 5-метилфурфурол Сиреневая кислота Ванилин	От 0,10 до 4,00 включительно	8
Сиреневый альдегид п-кумаровая кислота Синаповая кислота Конифериловый альдегид Синаповый альдегид	Св. 4,00 до 20,00 включительно	4
Элаговая кислота	От 0,20 до 10,00 включительно	9
	Св. 10,00 до 50,00 включительно	6

12.5 Условие приемлемости результатов измерений

Если для значения абсолютного расхождения между двумя результатами единичных наблюдений выполняется условие

$$|C_1 - C_2| \le r_{абс}, \quad (8)$$

то оба результата считают приемлемыми и в качестве результата измерений указывают среднее арифметическое значение $\overline{C}$, рассчитанное по формуле (6).

12.6 Действия при невыполнении условия приемлемости результатов измерений

При невыполнении условия п. 12.5 проводятся повторные измерения согласно разделу 11.

12.7 Проверка приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости

Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости, проводят в соответствии с требованиями ГОСТ ИСО 5725-6 следующим образом.

Каждая из двух лабораторий проводит измерения в соответствии с разделом 11 и получает результат измерений, обеспечивая контроль повторяемости по п. 12.4.

Рассчитывают среднее арифметическое значение $\overline{\overline{C}}$, мг/дм^3, результатов измерений двух лабораторий $\overline{C}_1$ и $\overline{C}_2$ соответственно

$$\overline{\overline{C}} = \frac{\overline{C}_1 + \overline{C}_2}{2} \qquad (9)$$

Рассчитывают абсолютное расхождение между результатами измерений $\left|\overline{C}_1 - \overline{C}_2\right|$, полученными в двух лабораториях, значение которого сравнивают с абсолютным значением предела повторяемости $R_{абс}$. Абсолютное значение предела повторяемости $R_{абс}$, мг/дм^3 рассчитывают по формуле

$$R_{абс} = 0{,}01 \cdot R_{отн} \cdot \overline{\overline{C}}, \qquad (10)$$

где 0,01 – коэффициент для пересчета процентов;

$\overline{\overline{C}}$ – среднее арифметическое значение результатов измерений двух лабораторий, мг/дм^3;

$R_{отн}$ – относительное значение предела воспроизводимости, %, указанное в таблице 5.

Таблица 5 – Относительные значения пределов воспроизводимости

Диапазон измерений, мг/дм^3	Интервал значений массовой концентрации, мг/дм^3	Предел воспроизводимости R, % (для двух результатов измерений)
Галловая кислота	От 0,10 до 10,00 включительно	18
	Св. 10,00 до 50,00 включительно	11
5-гидроксиметил-фурфурол	От 0,10 до 35,00 включительно	14
	Св. 35,00 до 250,00 включительно	8
Фурфурол	От 0,10 до 10,00 включительно	18
	Св. 10,00 до 50,00 включительно	11
4-гидроксибензальдегид Ванилиновая кислота 5-метилфурфурол Сиреневая кислота Ванилин Сиреневый альдегид п-кумаровая кислота Синаповая кислота Конифериловый альдегид Синаповый альдегид	От 0,10 до 4,00 включительно Св. 4,00 до 20,00 включительно	20 13
Элаговая кислота	От 0,20 до 10,00 включительно	22
	Св. 10,00 до 50,00 включительно	16

12.7.1 Условие приемлемости результатов измерений

Если для значения абсолютного расхождения между двумя результатами двух лабораторий выполняется условие

$$\left|\overline{C}_1 - \overline{C}_2\right| \leq R_{абс}, \qquad (11)$$

то оба конечных результата, полученные двумя лабораториями считаются приемлемыми и общее среднее значение $\overline{\overline{C}}$, рассчитанное по формуле (9), может быть использовано в качестве заявляемого результата.

12.7.2 Действия при невыполнении условия приемлемости результатов измерений

При превышении предела воспроизводимости для разрешения различий между результатами, полученными двумя лабораториями, целесообразно использовать процедуры, указанные в разделе 5 ГОСТ ИСО 5725-6-2002.

13 Оформление результатов измерений

13.1 Варианты представления результатов измерений

13.1.1 Форма представления результатов измерения с использованием показателя точности

Результат измерений представляется в следующем виде

$$\left(\overline{C} \pm \Delta\right), \text{ мг/дм}^3$$

(при доверительной вероятности P = 0,95),

где $\overline{C}$ – результат измерений, мг/дм^3, полученный в соответствии с настоящей методикой и рассчитанный согласно разделу 12;

$\pm\Delta$ – абсолютное значение показателя точности настоящей методики, мг/дм^3.

Абсолютное значение показателя точности Δ, мг/дм^3, рассчитывают, используя относительное значение показателя точности настоящей методики δ, %, указанное в таблице 2 по формуле

$$\Delta = 0{,}01 \cdot \delta \cdot \overline{C}, \qquad (12)$$

где 0,01 – коэффициент для пересчета процентов;

$\overline{C}$ – среднее арифметическое значение двух результатов единичных наблюдений, мг/дм^3.

13.1.2 Форма представления результатов измерения с использованием расширенной неопределенности

Результат измерений, выдаваемый лабораторией, может быть представлен в виде

$$\left(\overline{C} \pm U(C)\right), \text{ мг/дм}^3$$

(при доверительной вероятности P = 0,95),

где $\overline{C}$ – результат измерений, мг/дм^3, полученный в соответствии с настоящей методикой и рассчитанный согласно разделу 12;

$U(C)$ – расширенная неопределенность результата измерений $\overline{C}$, мг/дм^3.

Расширенную неопределенность результата измерений $U(C)$, мг/дм^3, рассчитывают по формуле

$$U(C) = K \cdot u_c(C), \qquad (13)$$

где K – коэффициент охвата, равный 2 при доверительной вероятности P = 0,95;

$u_c(C)$ – суммарная стандартная неопределенность результата измерений $\overline{C}$, мг/дм^3.

13.1.3 Форма представления результатов в виде односторонней оценки массовой концентрации определяемого компонента

Если величина массовой концентрации определяемого компонента C оказывается меньше предела измерения методики C_{LOQ}, то дается односторонняя оценка массовой концентрации определяемого компонента по п. 12.2, мг/дм^3, в виде

$$C < C_{LOQ},$$

где C_{LOQ} – нижний предел измерения методики.

14 Контроль качества результатов измерений

Контроль качества результатов измерений при использовании методики в лаборатории предусматривает выполнение оперативного контроля путем оценки соответствия погрешности результатов измерений установленным нормативам при реализации конкретных процедур.

14.1 Проведение оперативного контроля качества с использованием метода добавок

Оперативный контроль процедуры измерений по методике предусматривает:

- проведение контрольной процедуры с использованием метода добавок;
- расчет результата контрольной процедуры K_k;
- расчет (установление) норматива контроля K;
- реализацию решающего правила контроля (сопоставление результата контрольной процедуры с нормативом контроля);
- принятие решений по результатам контроля.

При проведении оперативного контроля процедуры измерений с применением метода добавок средствами контроля являются стабильные рабочие пробы и эти же пробы с известной добавкой определяемого компонента.

14.1.1 Проведение контрольной процедуры

Оперативный контроль процедуры измерений выполняется в порядке и с периодичностью, установленными системой менеджмента качества лаборатории.

При использовании процедуры контроля с применением метода добавок необходимо предусмотреть, чтобы погрешности, обусловленные операциями введения добавок и погрешности средств измерений для введения добавок, не вносили статистически значимого вклада в погрешность результатов измерений содержания определяемого компонента в пробах.

Для проведения контрольной процедуры рабочую пробу делят на две части. Одну часть оставляют без изменений, во вторую делают добавку одного или нескольких компонентов. Величину добавки выбирают в зависимости от массовой концентрации компонента в пробе без добавки, установленной по результатам предварительного анализа пробы, в размере от 50 % до 150 %. При этом содержание компонента в пробе с добавкой не должно превышать верхней границы диапазона измерений методики.

Проводят анализ пробы без добавки и пробы с введенной добавкой в условиях повторяемости. В качестве результатов контрольных измерений в пробе $\left(\overline{C_n}\right)$ и в пробе с добавкой $\left(\overline{C_{n+d}}\right)$ используются средние арифметические значения двух результатов единичных наблюдений, расхождения между которыми не превышают предела повторяемости (условие п.12.4).

14.1.2 Расчет результата контрольной процедуры K_k

Результат контрольной процедуры K_k, мг/дм^3, рассчитывают по формуле

$$K_k = \overline{C} - C_k, \qquad (14)$$

где $\overline{C}$ – результат контрольного измерения массовой концентрации определяемого компонента, мг/дм^3;

C_k – контрольное значение массовой концентрации определяемого компонента, мг/дм^3.

При проведении контрольной процедуры с использованием метода добавок K_k рассчитывается по формуле

$$K_k = \overline{C_{n+d}} - \left(\overline{C_n} + C_d\right), \qquad (15)$$

где $\overline{C_n}$ – среднее арифметическое значение двух результатов единичных наблюдений массовой концентрации определяемого компонента в пробе без добавки, мг/дм^3;

$\overline{C_{n+d}}$ – среднее арифметическое значение двух результатов единичных наблюдений массовой концентрации определяемого компонента в пробе с добавкой, мг/дм^3;

$C_д$ – рассчитанная величина добавки определяемого компонента, мг/дм^3.

14.1.3 Расчет норматива контроля K

Норматив контроля K, мг/дм^3, рассчитывают по формуле

$$K = \sqrt{\left(\Delta_{Cn+d}\right)^2 + \left(\Delta_{Cn}\right)^2}, \qquad (16)$$

где $\pm\Delta_{Cn}$ – характеристика погрешности результатов контрольного измерения, мг/дм^3, соответствующая содержанию компонента в пробе без добавки;

$\pm\Delta_{Xn+d}$ – характеристика погрешности результатов контрольного измерения, мг/дм^3, соответствующая содержанию компонента в пробе с добавкой, рассчитанная по формуле

$$\Delta_{Cn+d} = 0,01 \cdot \delta \cdot \overline{C_{n+d}}, \qquad (17)$$

где 0,01 – коэффициент для пересчета процентов;

$\pm\delta$ - относительное значение характеристики погрешности результатов измерений по методике, %, указанное в таблице 2;

$\overline{C_{n+d}}$ –среднее арифметическое значение двух результатов единичных наблюдений массовой концентрации компонента в пробе с добавкой, мг/дм^3.

Характеристика погрешности результатов контрольного измерения $\pm\Delta_{Cn}$, мг/дм^3, соответствующая содержанию компонента в пробе без добавки, рассчитывается по формуле

$$\Delta_{Cn} = 0,01 \cdot \delta \cdot \overline{C_n}, \qquad (18)$$

где 0,01 – коэффициент для пересчета процентов;

$\overline{C_n}$ – среднее арифметическое значение двух результатов единичных наблюдений массовой концентрации определяемого компонента в пробе без добавки, мг/дм^3;

$\pm\delta$ – относительное значение характеристики погрешности результатов измерений по методике, %, указанное в таблице 2.

14.1.4 Реализация решающего правила контроля и принятие решений по результатам контроля

Процедуру измерений признают удовлетворительной при выполнении условия

$$|K_k| \leq K \tag{19}$$

При невыполнении данного условия контрольную процедуру повторяют, начиная с этапа подготовки проб. При повторном невыполнении условия выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

Разработчики:

Зам. нач. отдела Т.И. Филанчук
Вед инженер Ю.И. Жданов
Инженер Ю.В. Богданович
Инженер Т.П. Боярина

Приложение А (обязательное) Хроматографические условия и параметры настройки детектора

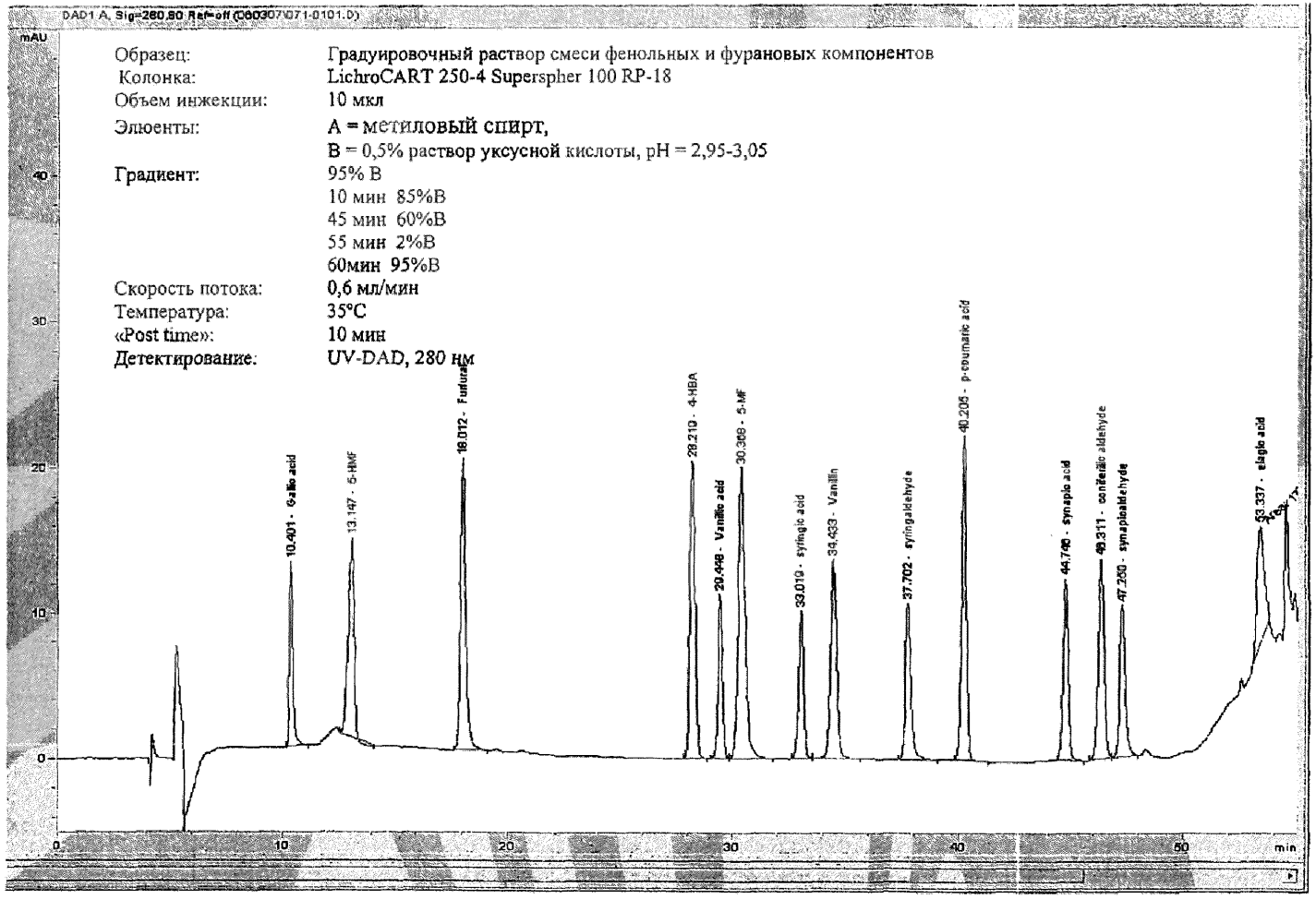


Рис. А.1 Типичная хроматограмма смеси фенольных и фурановых компонентов

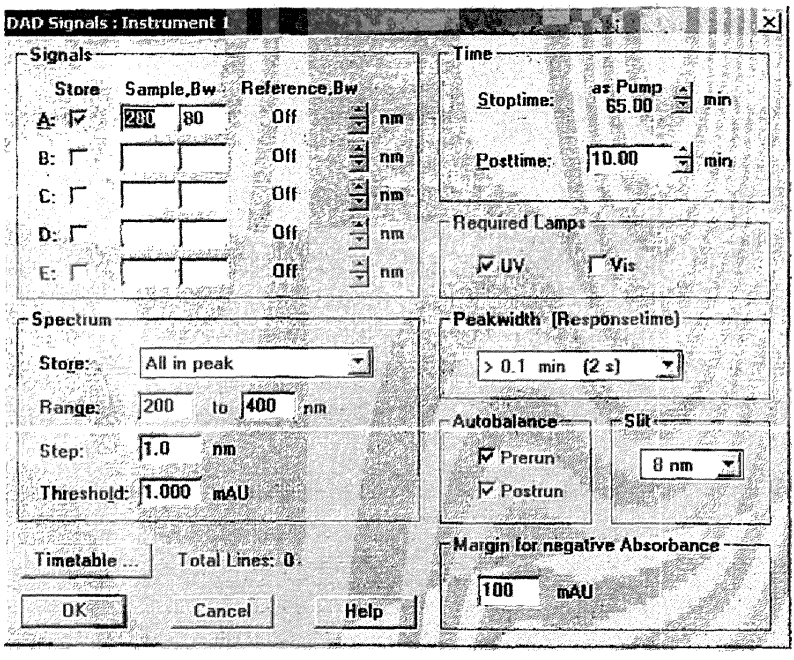


Рис. А.2 Параметры настройки детектора для создания спектральных библиотек

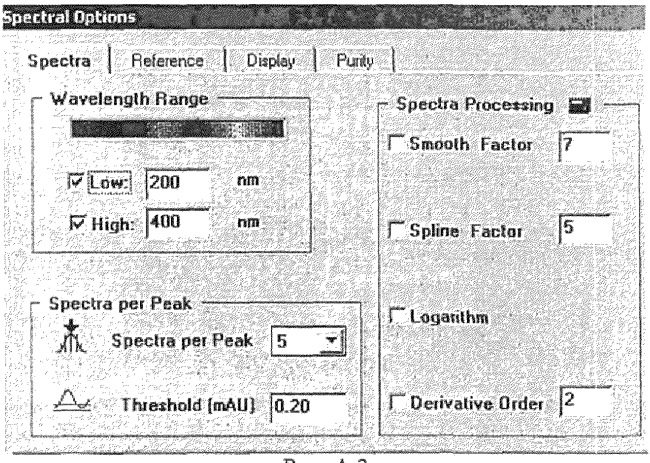


Рис. А.3

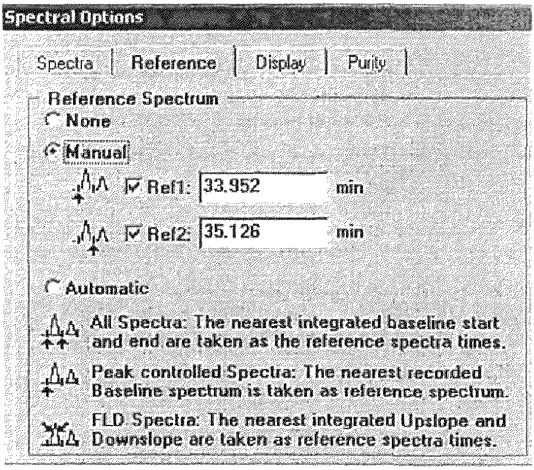


Рис. А.4

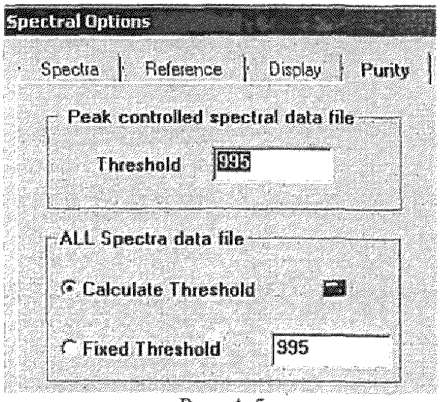


Рис. А.5

Рис. А.3–А.5 Параметры режима работы детектора для регистрации спектрограмм

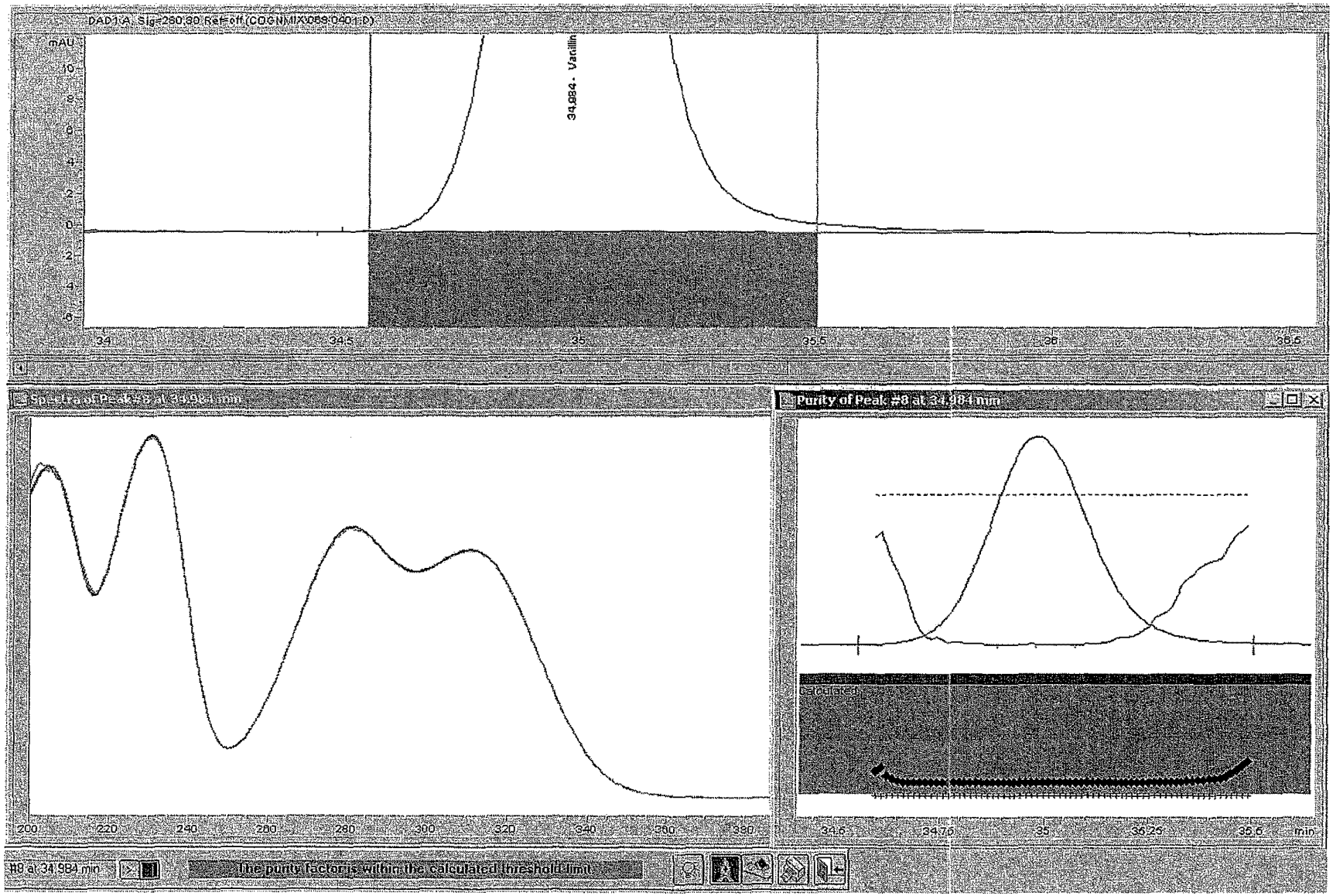


Рис. А.6 Результаты спектрометрического анализа при проверке гомогенности (чистоты) пика

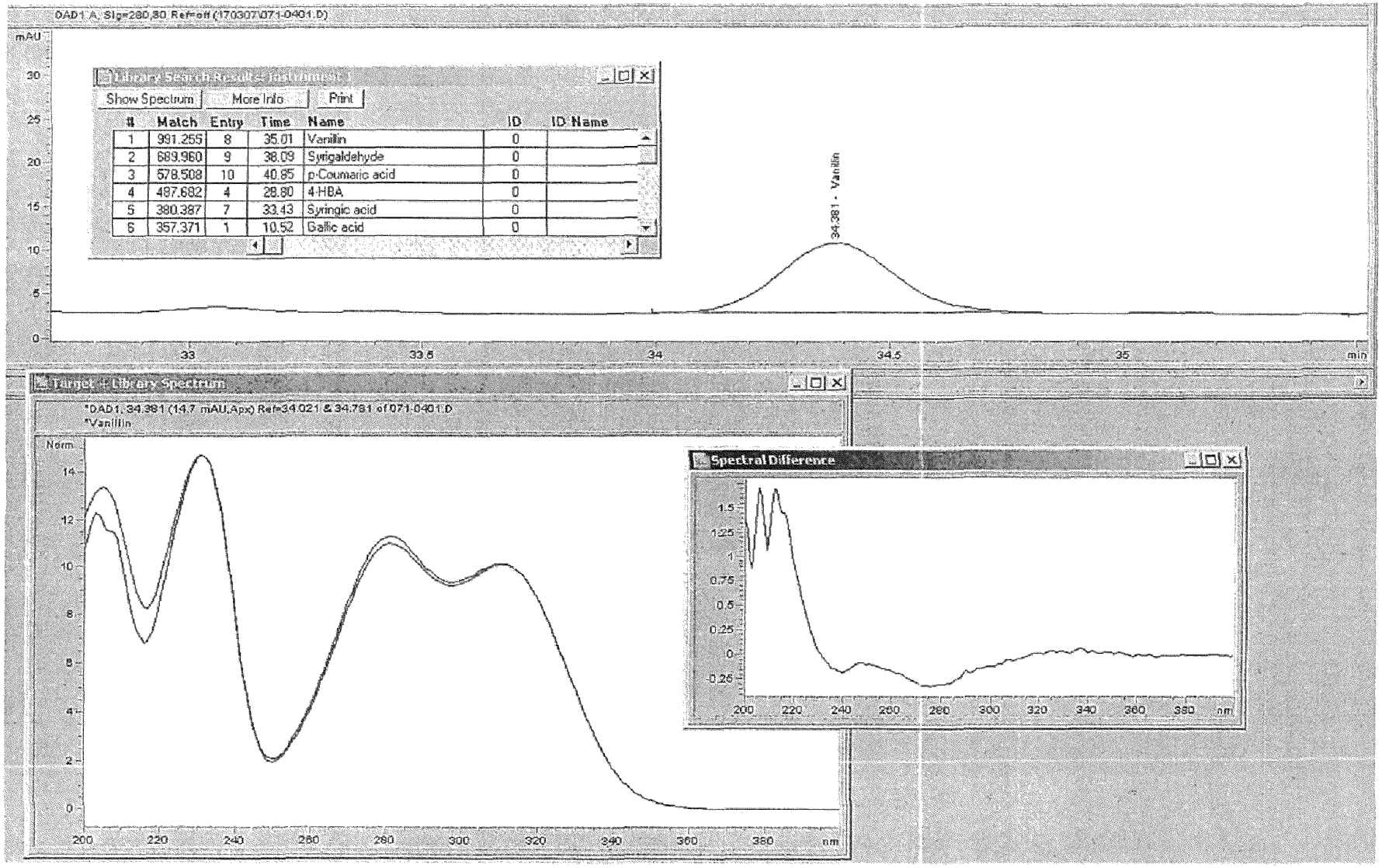


Рис. А.7 Результаты оценки показателя качества совпадений (Match factor) с использованием данных спектральных библиотек

gost.e-ecolog.ru