Аналитический центр контроля качества воды
ЗАО "РОСА"
Отдел физико-химических методов анализа
Сектор хроматографии

УТВЕРЖДАЮ

Зам. Генерального директора ЗАО "РОСА"



_____А.В.Дьячков

_____2008 г.

МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ МАССОВОЙ ДОЛИ СВОБОДНОГО АКРИЛАМИДА В ПОЛИАКРИЛАМИДНЫХ ФЛОКУЛЯНТАХ МЕТОДОМ ВЭЖХ

НДП 30.4.65-08/версия 2

Москва
2008

gost.e-ecolog.ru

СОГЛАСОВАНО:

Начальник отдела контроля качества А.В.Карташова

Начальник отдела физ.-хим. методов анализа Н.К.Куцева

РАЗРАБОТЧИКИ:

Начальник сектора хроматографии Н.М.Страхова

Ведущий инженер Н.О.Пирогов

Инженер I категории М.Ю.Гущина

Настоящий документ устанавливает методику выполнения измерений массовой доли свободного акриламида в полиакриламидных флокулянтах в диапазоне 10–1500 мг/кг (млн$^{-1}$). Методика выполнения измерений соответствует EN 1410.

Продолжительность анализа одного образца 20 час, серии из 10 образцов – 25 час.

Блок-схема анализа акриламида, ПДК и дополнительные сведения представлены в Приложениях 1 и 2.

1. ПРИПИСАННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОГРЕШНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ И ЕЕ СОСТАВЛЯЮЩИХ

Настоящая методика обеспечивает получение результатов измерений с погрешностями, не превышающими значений, приведенных в табл. 1.

Т а б л и ц а 1 - Диапазон измерений, значения показателей точности, воспроизводимости и повторяемости

Диапазон измерений, мг/кг	Показатель повторяемости, σ_r (δ), %	Показатель воспроизводимости, σ_R (δ), %	Показатель точности, δ, %
от 10 до 60 вкл.	9	12	25
св. 60 до 1500 вкл.	7	10	20

2. СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ. ВСПОМОГАТЕЛЬНЫЕ УСТРОЙСТВА. РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ

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

2.1. Средства измерений

2.1.1. Хроматограф жидкостный, например, «Turbo» фирмы «Perkin Elmer» (США) в комплекте:

- Насос высокого давления на 4 элюента, модель 410;
- Детектор спектрофотометрический на основе диодной матрицы, модель LC-235C (Diode Array Detector, DAD);
- Устройство для автоматического ввода проб ISS-200 фирмы «Perkin-Elmer»".
- Колонка хроматографическая «Hypersil Green ENV» размером 150×4,6 мм, зернением 5 мкм, например, фирмы «SHANDON»" (см. каталог «Chromatography, Alltech») или аналогичная.

Допускается использовать хроматографическую систему любой другой марки, позволяющую проводить хроматографический анализ в условиях, приведенных в п. 8.1. с необходимой чувствительностью.

2.1.2. Весы лабораторные по ГОСТ 24104 общего назначения с наибольшим пределом взвешивания 200 г с ценой деления 0,1 мг любого типа.

2.1.3. Колбы мерные с притертыми пробками вместимостью 25 и 100 см^3 по ГОСТ 1770, класс точности 2.

2.1.4. Мензурка вместимостью 500 см^3 по ГОСТ 1770, класс точности 2.

2.1.5. Микрошприцы вместимостью 10, 25, 50 и 500 мм^3 фирмы «Hamilton» (Швейцария).

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

2.1.7. Цилиндр мерный вместимостью 100 $см^3$ по ГОСТ 1770, класс точности 2.

Допускается применять другие средства измерения, метрологические характеристики которых не хуже, чем у вышеуказанных

2.2. Вспомогательные устройства

2.2.1. Бидистиллятор стеклянный по ТУ 25-11.1592 или установка для получения деионизированной воды 2 степени чистоты по ГОСТ Р 52501.

2.2.2. Компьютер персональный, позволяющий работать с программным обеспечением для управления хроматографом, сбора информации и обработки хроматограмм, например, с программой «TotalChrom».

2.2.3. Лабораторный встряхиватель, позволяющий втряхивать флаконы со скоростью не менее 200 встряхиваний в мин в течение 16 ч, например, перемешивающее устройство ПЭ-6500 (Россия).

2.2.4. Набор сит с рабочими размерами отверстий 250 и 1000 мкм.

2.2.5. Принтер любой.

2.2.6. Флаконы герметично закрывающиеся вместимостью 2 $см^3$, снабженные завинчивающимися крышками с тефлоновыми прокладками.

2.2.7. Флаконы герметично закрывающиеся вместимостью 5–10 $см^3$, снабженные завинчивающимися крышками с тефлоновыми прокладками.

2.2.8. Форколонка с картриджем NewGuard RP-18, например, фирмы «Brownlee» (см. каталог «Gas Chromatography Supplies, Perkin Elmer»).

2.2.9. Холодильник бытовой, обеспечивающий температуру 2–10 °С.

Допускается применять другие вспомогательные устройства, метрологические характеристики которых не хуже, чем у вышеуказанных.

2.3. Материалы и реактивы

2.3.1. Акриламид — вещество гарантированной чистоты с содержанием основного вещества не менее 98 %, например, фирмы «Sigma» (Германия) или любой другой.

2.3.2. Ацетон, х.ч. по ГОСТ 2603.

2.3.3. Вода дистиллированная по ГОСТ 6709 или деионизированная (по ГОСТ Р 52501 2 степени чистоты).

2.3.4. Гелий сжатый, ТУ 51-940 (при отсутствии вакуумного дегазатора).

2.3.5. Кислота ортофосфорная концентрированная, х.ч. по ГОСТ 6552.

2.3.6. Метанол для хроматографии, например, «LiChrosolv» фирмы «Merck» (Германия).

Допускается использовать другие материалы и реактивы при условии, что их квалификация не хуже указанных.

3. МЕТОД ИЗМЕРЕНИЙ

Измерения массовой доли акриламида выполняют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) со спектрофотометрическим детектированием после экстракции образца смесью ацетона и воды в соотношении 8:2 (по объему).

4. ТРЕБОВАНИЯ БЕЗОПАСНОСТИ, ОХРАНЫ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

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

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

4.3. Организация обучения работающих безопасности труда проводится по ГОСТ 12.0.004.

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

5. ТРЕБОВАНИЯ К КВАЛИФИКАЦИИ ОПЕРАТОРОВ

К выполнению измерений и обработке их результатов допускают лиц, имеющих квалификацию инженера- или техника-химика, владеющих методом хроматографического анализа, знающих конструкцию, принцип действия и правила эксплуатации данного оборудования.

6. УСЛОВИЯ ИЗМЕРЕНИЙ

При выполнении измерений в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

температура воздуха	(20 – 28) °С
относительная влажность воздуха	не более 80 % при 25 °С
частота переменного тока	(50±1) Гц
напряжение в сети	(220±22) В

7. ОТБОР И ХРАНЕНИЕ ПРОБ ФЛОКУЛЯНТА

7.1. Репрезентативная проба полиакриламидного флокулянта достаточной массы (не менее 10 г) должна отбираться в стеклянную или полиэтиленовую тару (обеспечивающую герметичность при хранении) из только что открытой упаковки с флокулянтом. Пробу хранят при нормальных условиях в герметично закупоренной таре. Срок хранения пробы не ограничен.

7.2. При отборе проб составляется сопроводительный документ по утвержденной форме, в котором указывается:

- наименование продукта, номер партии;
- место, время и дата отбора;
- шифр пробы;
- должность, фамилия отбирающего пробу.

8. ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ

8.1. Подготовка аппаратуры

Подготовку хроматографической системы и компьютера к работе проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации. На компьютере в программе управления создают метод анализа с использованием абсолютной градуировки согласно руководству по эксплуатации программного обеспечения. В качестве элюентов используют элюент А и элюент D, которые представляют собой соответственно

бидистиллированную воду и 0,15 % раствор фосфорной кислоты в метаноле. Объем вводимой пробы равен 5 мм^3.

Параметры системы:

скорость элюирования		1,0 см^3/мин
элюенты:	A	90—95 %
	D	10—5 %

Измерения проводят в изократическом режиме при температуре 40±2°С.

Регистрация поглощения на длине волны 220 нм и ширине спектральной полосы 5 нм.

8.2. Приготовление смеси ацетон:вода (8:2). В мерный цилиндр вместимостью 100 см^3 отмеряют 80 см^3 ацетона, затем переливают в мерную колбу вместимостью 100 см^3, доводят объем смеси до метки бидистиллированной водой и закрывают притертой пробкой. Смесь хранят не более 1 месяца в холодильнике при температуре 2–10 °С. Перед использованием раствор выдерживают при комнатной температуре не менее 20 минут.

8.3. Приготовление элюента D. В мензурку вместимостью 500 см^3 помещают 500 см^3 метанола, добавляют 0,75 см^3 ортофосфорной кислоты и перемешивают.

8.4. Приготовление градуировочных растворов

Основной градуировочный раствор акриламида с массовой концентрацией 1000 мг/дм^3 в бидистиллированной воде готовят следующим образом. В мерную колбу вместимостью 100 см^3 взвешивают 100 мг акриламида, растворяют навеску примерно в 5 см^3 воды и доводят объем раствора до метки бидистиллированной водой.

Основной градуировочный раствор хранят не более 3 месяцев в холодильнике при температуре 2–10 °С. Перед использованием раствор выдерживают при комнатной температуре не менее 20 минут.

Промежуточный градуировочный раствор акриламида с массовой концентрацией 100 мг/дм^3 готовят путем разбавления основного раствора. Для этого в мерную колбу вместимостью 25 см^3 помещают 2,5 см^3 основного раствора и доводят объем раствора до метки смесью ацетон:вода (8:2).

Промежуточный градуировочный раствор хранят не более 3 месяцев в холодильнике при температуре 2–10 °С. Перед использованием раствор выдерживают при комнатной температуре не менее 20 минут.

Градуировочные растворы акриламида готовят непосредственно перед использованием с массовыми концентрациями 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 25.0 и 50.0 мг/дм^3. Для приготовления растворов с массовыми концентрациями 1.0, 2.5, и 5.0 мг/дм^3 в герметично закрывающиеся флаконы вместимостью 2 см^3 микрошприцем помещают по 10, 25 и 50 мм^3 промежуточного раствора и добавляют соответственно 990, 975 и 950 мм^3 смеси ацетон:вода (8:2). Для приготовления растворов с массовыми концентрациями 10, 25 и 50,0 мг/дм^3 в герметично закрывающиеся флаконы вместимостью 2 см^3 микрошприцем помещают по 10, 25 и 50 мм^3 основного раствора и добавляют соответственно 990, 975 и 950 мм^3 смеси ацетон:вода (8:2).

8.5. Установление градуировочной характеристики

В программе управления выбирают режим измерения факторов отклика по методу абсолютной градуировки.

Каждый градуировочный раствор хроматографируют не менее двух раз при условиях, указанных в п. 8.1. Затем с помощью программного модуля градуировки

управляющей программы «TotalChrom» получают градуировочный график и относительный градуировочный коэффициент А, который используют при обработке результатов измерений. Коэффициент линейной корреляции должен быть не менее 0,98.

Градуировку хроматографа проводят не реже 1 раза в 6 мес., после замены колонки или ремонта оборудования, повлекшего за собой изменение условий хроматографирования.

Проверку стабильности работы хроматографа проводят в день проведения анализа по результатам хроматографирования одного из градуировочных растворов. Градуировочную характеристику считают стабильной в случае, если измеренное значение концентрации градуировочного раствора отличается от аттестованного значения не более чем на 20 %, а время удерживания акриламида в градуировочном растворе отклоняется от времени удерживания в аттестованном растворе не более чем на 5 %.

Если условие стабильности градуировочной характеристики не выполняется для одного градуировочного раствора, необходимо выполнить повторное измерение 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, предусмотренных методикой. При повторном обнаружении отклонения результата от градуировочной характеристики строят новый градуировочный график.

Пример типичной хроматограммы раствора акриламида представлен в Приложении 3.

9. ВЫПОЛНЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

При выполнении измерений массовой доли акриламида выполняют следующие операции.

9.1. Подготовка аппаратуры

Хроматографическую систему выводят на режим в соответствии с условиями, указанными в п. 8.1.

9.2. Подготовка пробы

Пробу флокулянта (10–30 г) просеивают через сита с рабочим размером 1000 и 250 мкм (п. 2.2.4), отбирают фракцию 250–1000 мкм, взвешивают на аналитических весах 0,4±0,01 г и помещают во флакон вместимостью 5–10 $см^3$, с помощью пипетки добавляют 4 $см^3$ смеси ацетон:вода (8:2), герметично закупоривают и устанавливают в кассету лабораторного встряхивателя. Встряхивание производят в течение 16±0,5 часов со скоростью 150–200 встряхиваний в минуту, затем переносят 0,5–1,0 $см^3$ экстракта во флакон вместимостью 2 $см^3$, герметично закупоривают и устанавливают в кассету устройства для автоматического ввода проб.

В случаях, когда анализ не проводится в день приготовления экстракта, экстракт хранят в холодильнике при температуре 2–10 °С не более 7 суток. Перед использованием экстракт выдерживают при комнатной температуре не менее 20 минут.

9.3. Проведение измерений

Экстракт хроматографируют в условиях, указанных в п. 8.1, не менее двух раз. Акриламид идентифицируют по времени удерживания. В случае, когда массовая доля акриламида в экстракте выше, чем верхняя точка градуировочной характеристики, экстракт следует разбавить смесью ацетон:вода (8:2) и провести измерение повторно. При вычислении результатов измерений необходимо учесть степень разбавления.

10. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

Обработку результатов измерений массовой доли акриламида выполняют с помощью компьютера в соответствии с градуировочной характеристикой по формуле:

$$C_A = \frac{S_x * V}{A * m} \quad \text{мг/кг},$$

где:

C_A - массовая доля свободного акриламида в полиамидном флокулянте, мг/кг;

S_x - площадь пика акриламида в экстракте, мВ*с;

A - градуировочный коэффициент, мВ*с/мг/дм^3;

V – объем экстрагента (смеси ацетон:вода (8:2) в см^3,

m – навеска измельченного флокулянта в г.

За результат измерения анализа принимают среднее арифметическое из 2-х параллельных результатов, оценку приемлемости проводят по п. 12.1.

11. ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

Результаты измерений в протоколе представляют в виде:

$$X \pm \Delta \text{ , мг/кг , } P = 0{,}95$$

где $\Delta = \delta * 0{,}01 * X$,

δ - значение показателя точности (см. табл. 1).

Результаты измерений при занесении в протокол анализа округляют с точностью до:

при массовой доле от 10 до 500 мг/кг	1 мг/кг
свыше 500 мг/кг	10 мг/кг

12. ОЦЕНКА ПРИЕМЛЕМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

12.1. Проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях повторяемости (сходимости) осуществляют в соответствии с требованиями раздела 5.2. ГОСТ Р ИСО 5725-6. Расхождение между результатами измерений не должно превышать предела повторяемости (r). Значения r приведены в табл. 2.

12.2. При необходимости проверку приемлемости результатов измерений, полученных в условиях воспроизводимости проводят с учетом требований раздела 5.3 ГОСТ Р ИСО 5725-6. Расхождение между результатами измерений, полученными двумя лабораториями не должно превышать предела воспроизводимости (R). Значения R приведены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2 - Пределы повторяемости и воспроизводимости результатов измерений

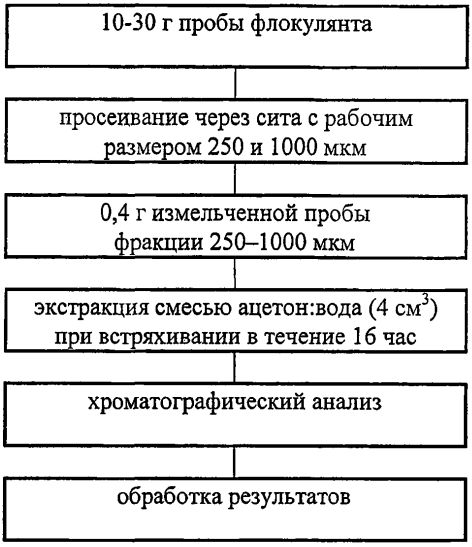
Диапазон измерений, мг/кг	Предел повторяемости (для двух результатов измерений), r, %	Предел воспроизводимости (для двух результатов измерений), R, %
от 10 до 60 вкл.	25	34
св. 60 до 1500 вкл.	20	28

ЛИТЕРАТУРА

1. Е.Л.Стыскин и др. Практическая высокоэффективная жидкостная хроматография — М.: Химия, 1986 — 287 с.
2. Л.Хубер. Применение диодно-матричного детектирования в ВЭЖХ — М.: Мир, 1993 — 92 с.
3. Реагенты, используемые для очистки воды, предназначенной для употребления человеком – Катионный полиакриламид. Европейский стандарт EN 1410, 1998.
4. Инструкция по эксплуатации детектора на диодной матрице LC 235 C фирмы «Perkin-Elmer».
5. Инструкция по эксплуатации насоса LC 410 фирмы «Perkin-Elmer».
6. Руководство по эксплуатации управляющей программы "Turbochrom 4" фирмы «Perkin-Elmer».

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Блок-схема выполнения анализа акриламида



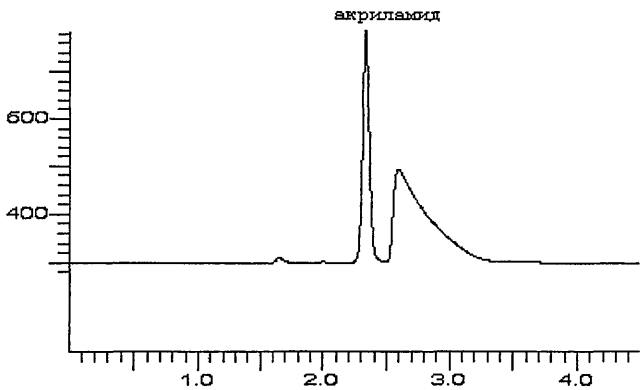
ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Акриламид – представляет собой белый порошок без запаха; М 71.08; т.пл. 84°С; легко растворим в воде и ацетоне (Справочник химика, т.2, с.404, Л., Ленинградское отделение Госхимиздата, 1963).

Исходя из норм применения флокулянтов в технологическом процессе и ПДК акриламида в питьевой воде, содержание акриламида во флокулянте не должно превышать 250 мг/кг.

ПРИЛОЖЕНИЕ 3

Пример типичной хроматограммы акриламида



Колонка	Hypersil Green ENV 150×4.6 mm
Элюент	H_2O:MeOH+0.15%H_3PO_4 90:10
Скорость потока	1 $см^3$/мин
Температура	40 °C
Детектирование	220 нм (ширина полосы 5 нм)

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ И МЕТРОЛОГИИ

ФГУП «УРАЛЬСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ» - ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ МЕТРОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР		«THE URALS RESEARCH INSTITUTE FOR METROLOGY»- STATE SCIENTIFIC METROLOGICAL CENTRE	
620219, Екатеринбург, ГСП-824, ул. Красноармейская, 4	Факс: (3432) 502-039 Телефон: (3432) 502-618 E-mail:uniim@uniim.ru	4, Krasnoarmeyskaya Str., 620219, GSP-824, Ekaterinburg, Russia	Fax: (3432) 502-039 Phone: (3432) 502-618 E-mail:gost.e-ecolog.ru

СВИДЕТЕЛЬСТВО № 224.09.11.159 / 2004
CERTIFICATE
об аттестации методики выполнения измерений

Методика выполнения измерений *массовой концентрации акриламида во флокулянте методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ),*
разработанная *Аналитическим Центром контроля качества воды ЗАО «РОСА» (г. Москва),*
аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563-96.
Аттестация осуществлена по результатам *метрологической экспертизы материалов по разработке методики выполнения измерений.*
В результате аттестации установлено, что методика соответствует предъявляемым к ней метрологическим требованиям и обладает следующими основными метрологическими характеристиками:

1 Диапазон измерений, значения показателей точности, повторяемости и воспроизводимости

Диапазон измерений, мг/кг	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Показатель точности (границы относительной погрешности при вероятности P=0.95), $\pm\delta$, %
от 10 до 60 вкл	9	12	25
св. 60 до 1500 вкл.	7	10	20

2 Диапазон измерений, значения предела воспроизводимости при доверительной вероятности P=0.95

Диапазон измерений, мг/кг	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), R, %
от 10 до 60 вкл	34
св. 60 до 1500 вкл.	28

3 При реализации методики в лаборатории обеспечивают:

- контроль исполнителем процедуры выполнения измерений (на основе оценки погрешности при реализации отдельно взятой контрольной процедуры);
- контроль стабильности результатов измерений (на основе контроля стабильности среднеквадратического отклонения повторяемости, среднеквадратического отклонения внутрилабораторной прецизионности, погрешности)

Алгоритм контроля исполнителем процедуры выполнения измерений приведен в документе на методику выполнения измерений.
Процедуры контроля стабильности результатов выполняемых измерений регламентируют во внутренних документах лаборатории.

4 Дата выдачи свидетельства 04.06.2004 г.

Зам. директора по научной работе М.П. И.Е.Добровинский

gost.e-ecolog.ru