ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ ПО ОХРАНЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Председателя
Государственного комитета РФ
по охране окружающей среды
А.А.Соловьянов
июня 1995г.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ХИМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОД

МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ МАССОВЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ЖИРОВ В ПРИРОДНЫХ И СТОЧНЫХ ВОДАХ ГАЗОХРОМАТОГРАФИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

ПНД Ф 14.1:2.141 -98

Методика допущена для целей государственного экологического контроля

МОСКВА 1998 г.
(издание 2009 г.)

gost.e-ecolog.ru

Право тиражирования и реализации принадлежит разработчику

Методика рассмотрена и одобрена ФГУ «Федеральный центр анализа и оценки техногенного воздействия» (ФГУ «ФЦАО»).

Заместитель директора ФГУ «ФЦАО» М.Ю.Гавриков

Код МВИ в Федеральном реестре: ФР.1.31.2001.00320

Разработчик:

Аналитический центр ЗАО "Роса"
Адрес: 119297, г. Москва, ул. Родниковая, 7
Телефон: (495) 439 52 13
Факс: (495) 435 13 00

Полное или частичное тиражирование, копирование и размещение в Интернете и на любых других носителях информации данных материалов без письменного разрешения разработчика преследуется по ст. 146 Уголовного Кодекса Российской Федерации.

Настоящий документ устанавливает газохроматографическую методику анализа проб природных и сточных вод для определения в них массовых концентраций жиров в диапазоне от 0,5 мг/дм^3 до 250 мг/дм^3.

Допускается выполнять измерения массовых концентраций жиров в воде свыше 250 мг/дм^3: Для определения жиров в диапазоне массовых концентраций от 250 до 1000 мг/дм^3 требуется разбавить, полученный в процессе пробоподготовки экстракт, гексаном. При содержании в пробе жиров свыше 1000 мг/дм^3 пробу тщательно гомогенизируют, затем, как можно быстрее, отбирают аликвоту полученной суспензии и разбавляют её дистиллированной водой. На анализ используют весь объем подготовленной пробы.

В соответствии с настоящим нормативным документом в пробах воды определяют жиры растительного и животного происхождения, основную часть которых составляют триглицериды, содержащие следующие свободные жирные кислоты: лауриновая (С12:0), миристиновая (С14:0), пальмитиновая (С16:0), стеариновая (С18:0), олеиновая (С18:1), линолевая (С18:2), линоленовая (С18:3).

Продолжительность анализа 1-й пробы 4 ч, серии из 5 проб – 8 ч.

Блок-схема анализа приведена в Приложении 1.

1. ПРИПИСАННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПОГРЕШНОСТИ ИЗМЕРЕНИЙ И ЕЕ СОСТАВЛЯЮЩИХ

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

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

Диапазон измерений, мг/дм^3	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r,%	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R,%	Показатель правильности (границы относительной систематической погрешности при вероятности Р=0,95), ± δ_C, %	Показатель точности (границы относительной погрешности при вероятности Р=0,95), ± δ, %
от 0,5 до 1 вкл	20	30	8	60
св. 1 до 10 вкл.	16	24	6	48
св. 10 до 100 вкл.	13	20	6	40
св. 100 до 250 вкл.	9	14	4	28

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 газовый с пламенно-ионизационным детектором (чувствительность не менее $1*10^{-8}$ г/с (по углероду) и колонкой хроматографической капиллярной кварцевой). Рекомендуемые колонки: с фазой полиэтиленгликоль-этилтерефталат например, FFAP длиной 30 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщиной пленки 0,25 мкм или с фазой полиэтиленгликоль 20 000 длиной 30 м, внутренним диаметром 0,53 мм, толщиной пленки 1,0 мкм, например, Carbowax 20M (или Stabilwax-DB).

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

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

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

2.1.5. Микрошприцы вместимостью 0,010; 0,050, 0,1, 0,25, 0,5 и 1 $см^3$ например, фирмы «Hamilton».

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

2.1.7. Цилиндр мерный вместимостью 25 $см^3$ по ГОСТ 29227.

2.2. Вспомогательные устройства

2.2.1. Баня песчаная с температурным режимом 60–70 °С, снабженная регулятором температуры, например, фирмы «Gerhardt».

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

2.2.3. Воронки делительные ВД-3 1000 29/32, ВД-3 250 (или 200) 29/32 по ГОСТ 8613.

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

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

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

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

2.2.8. Компьютер персональный, позволяющий работать с программным обеспечением для управления хроматографом, сбора информации и обработки хроматограмм.

2.2.9. Принтер любой.

2.2.10. Устройство для встряхивания емкостей с жидкостью любого типа, например, шюттель-аппарат на 5 мест для делительных воронок вместимостью 1 $дм^3$ фирмы «Agitelec».

2.2.11. Флаконы герметично закрывающиеся с завинчивающимися крышками вместимостью 1,5–2 $см^3$, 100 и 250 $см^3$ снабженные прокладками с тефлоновым покрытием.

2.2.12. Холодильник бытовой, обеспечивающий температуру холодильной камеры (2–10) °С и морозильной камеры –(12–24) °С.

2.2.13. Холодильник стеклянный обратный по ГОСТ 9499.

2.2.14. Шкаф сушильный типа СНОЛ ТУ 16-681.032.

2.3. Материалы

2.3.1. Бумага индикаторная универсальная.

2.3.2. Вата х/б или синтетическая.

2.3.3. Водород сжатый по ГОСТ 3022.

2.3.4. Воздух сжатый по ТУ 6-21.

2.3.5. Гелий сжатый по ТУ 51-940.

Допускается использовать другие вспомогательные устройства и материалы с аналогичными техническими характеристиками.

2.4. Реактивы

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

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

2.4.3. Гексан, х.ч. ТУ 6-09-06-657-75 или ч.д.а. по ГОСТ 5829.

2.4.4. Кислота хлороводородная (кислота соляная), концентрированная, х.ч. по ГОСТ 3118.

2.4.5. Метанол (спирт метиловый), х.ч. по ГОСТ 6995.

2.4.6. Метиловые эфиры лауриновой (С12:0), миристиновой (С14:0), пальмитиновой (С16:0), стеариновой (С18:0), олеиновой (С18:1), линолевой (С18:2), линоленовой (С18:3) кислот – вещества гарантированной чистоты с содержанием основного вещества не менее 98 % или смеси метиловых эфиров жирных кислот для приготовления аттестованных растворов, например, смесь GLC-10 (по 20 мг С8, С10, С12, С14 и С16) и смесь GLC-30 (по 20 мг С16, С18, С18-1, С18-2 и С18-3) производства фирм «Alltech», «Supelco» (США) или любой другой.

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

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

Допускается использовать другие реактивы при условии, что их квалификация не хуже, чем у вышеуказанных.

3. МЕТОД ИЗМЕРЕНИЙ

Измерения массовых концентраций жиров выполняют методом реакционной газовой хроматографии с использованием пламенно-ионизационного детектора. Пробу для хроматографического анализа готовят путем извлечения жиров из воды гексаном, их гидролиза, метилирования полученных при гидролизе жирных кислот и последующего концентрирования экстракта. Хроматографическому анализу подвергают метиловые эфиры жирных кислот (лауриновой, миристиновой, пальмитиновой, стеариновой, олеиновой, линолевой и линоленовой).

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 электро-безопасности 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.

К выполнению работ по пробоподготовке допускают лиц, имеющих квалификацию техника-химика или лаборанта химика, обученных методике подготовки пробы для хроматографического анализа.

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 ВОДЫ

7.1. Отбор проб воды осуществляют в соответствии с ГОСТ 51592 и 51593 в стеклянные флаконы. Объем отбираемой пробы должен быть не менее 0,5 $дм^3$.

7.2. Отобранную пробу анализируют в течение суток. Если такой возможности нет, то пробу хранят в холодильнике при температуре 2–10 °С не более 7-х суток.

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

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

8. ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ ИЗМЕРЕНИЙ

8.1. Подготовка аппаратуры

Подготовку хроматографа и компьютера к работе проводят в соответствии с инструкцией по эксплуатации. На компьютере в программе управления создают метод измерения с использованием абсолютной градуировки согласно руководству по эксплуатации программного обеспечения. В качестве газа-носителя используют гелий.

Хроматограф выводят на режим при следующих условиях:

Температура детектора	250–300 °С
Температура инжектора	200–240 °С
Температура термостата колонок	
начальная	80–120 °С
конечная	200–250 °С
Скорость подьема температуры	6–10 °С/мин

Расходы газов	
газа носителя (гелия)	2–8 $см^3$/мин
водорода	30–40 $см^3$/мин
воздуха	300–400 $см^3$/мин
Объем хроматографируемой пробы	0,001–0,005 $см^3$
Деление потока	1:(10–200)

8.2. Подготовка хроматографической колонки

Капиллярную колонку кондиционируют в соответствии с инструкцией, прилагаемой к колонке. Завершив кондиционирование, колонку подсоединяют к детектору и выводят хроматограф на рабочий режим.

8.3. Приготовление растворов

8.3.1. Приготовление раствора ацетила хлористого с молярной концентрацией ~0,7 моль/$дм^3$ в метаноле.

В коническую колбу вместимостью 250 $см^3$ помещают 95 $см^3$ метанола и осторожно небольшими порциями добавляют 5 $см^3$ ацетила хлористого. Раствор хранят не более 6 месяцев при комнатной температуре.

8.3.2. Приготовление раствора хлороводородной кислоты с молярной концентрацией ~6 моль/$дм^3$.

В мензурку вместимостью 250 $см^3$ помещают 100 $см^3$ дистиллированной воды и медленно при перемешивании добавляют 100 $см^3$ концентрированной хлороводородной кислоты.

Раствор хранят при комнатной температуре не более 1 года.

8.3.3. Приготовление градуировочных растворов метиловых эфиров жирных кислот из веществ гарантированной чистоты

Основной раствор метиловых эфиров жирных кислот готовят в гексане в виде смеси с массовой концентрацией каждого вещества 14,3 мг/$см^3$ (т.е. с суммарной массовой концентрацией 100 мг/$см^3$). Для этого в мерную колбу вместимостью 10 $см^3$ взвешивают по 143 мг каждого вещества, растворяют в гексане и доводят объем раствора до метки гексаном.

Основной раствор хранят в холодильнике при температуре –(12–24) °С не более 6 месяцев. Перед использованием его выдерживают при комнатной температуре не менее 20 минут.

Шкалу градуировочных растворов с массовыми концентрациями каждого из метиловых эфиров 0,05–0,1–0,3–0,6–1,2–2,4 мг/$см^3$ готовят путем разбавления основного раствора гексаном. Для этого в мерные колбы вместимостью 10 $см^3$ последовательно помещают 35–70–210–420–840–1680 $мм^3$ основного раствора и доводят объем раствора до метки гексаном.

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

Примечание: Допускается в качестве аттестованных растворов использовать растворы с другой массовой концентрацией метиловых эфиров жирных кислот при соответствующей корректировке схемы приготовления аттестованных растворов.

8.3.4. Приготовление градуировочных растворов метиловых эфиров жирных кислот из аттестованных смесей GLC-10 и GLC-30 (п. 2.4.6.)

Основной раствор № 1 метиловых эфиров жирных кислот готовят в 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 гексаном.

Основной раствор № 2 метиловых эфиров жирных кислот готовят в 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 гексаном.

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

Рекомендуемая процедура приготовления градуировочных растворов: для приготовления растворов, например, по табл. 2 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, т.о. получают раствор с массовой концентрацией 0,3 мг/см^3.

Порядок приготовления градуировочных растворов из основного раствора № 1 и основного раствора № 2 приведен в табл. 2 и табл. 3.

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

Т а б л и ц а 2 - Приготовление градуировочных растворов метиловых эфиров жирных кислот из основного раствора № 1 (GLC-10). Общий объем раствора 1 см^3

№ 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		4,0	0,075	0,925
4	0,6		4,0	0,150	0,850
5	1,2		4,0	0,300	0,700
6	2,4		4,0	0,600	0,400

Примечание: Допускается в качестве градуировочных растворов использовать растворы с другой массовой концентрацией при соответствующей корректировке схемы приготовления растворов.

Т а б л и ц а 3 - Приготовление градуировочных растворов метиловых эфиров жирных кислот из основного раствора № 2 (GLC-30). Общий объем раствора 1 см^3

№ 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	
7	0,05	Градуир. №8	0,1	0,500	0,500
8	0,1	Основной №2	4,0	0,025	0,975
9	0,3		4,0	0,075	0,925
10	0,6		4,0	0,150	0,850
11	1,2		4,0	0,300	0,700
12	2,4		4,0	0,600	0,400

Примечание: Допускается в качестве градуировочных растворов использовать растворы с другой массовой концентрацией при соответствующей корректировке схемы приготовления растворов.

8.4. Установление градуировочной характеристики

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

Каждый градуировочный раствор хроматографируют дважды при условиях, указанных в п. 8.1. Затем с помощью программного модуля градуировки управляющей программы 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., а также при замене хроматографической колонки или после ремонта оборудования, повлекшего за собой изменение условий хроматографирования.

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, выполняют 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.

Компоненты идентифицируют по абсолютным временам удерживания.

Пример хроматограммы градуировочного раствора метиловых эфиров жирных кислот приведен в Приложении 2.

8.5. Установление поправочного коэффициента

Образцы для установления поправочного коэффициента (далее образцы) представляют собой аттестованные смеси. Содержание жиров в образцах должно соответствовать нижней, средней и верхней точке диапазона измерений. Для каждой точки готовят не менее 7 образцов. Аттестованные значения жиров в образцах устанавливают по процедуре приготовления.

Для приготовления образцов используют навески жиров растительного и животного происхождения (сала, сливочного масла, маргарина, подсолнечного масла, оливкового масла и др.). Выбор жиросодержащего материала зависит от задач лаборатории. Если методику используют для

анализа сточной воды с жиром известного происхождения (животный, растительный) или с известным жиросодержащим продуктом (сливочное масло, оливковое масло), то образцы готовят с использованием данного продукта. Если методику используют для анализа сточной воды с содержанием жиров неизвестной природы, то образцы готовят с использованием как минимум трех жиросодержащих материалов различного происхождения.

Для установления поправочного коэффициента, в делительную воронку вместимостью 1 дм^3, помещают 0,5 дм^3 воды, вносят необходимую навеску жира, перемешивают. Полученный образец подвергают пробоподготовке по п. 9.2. Процедуру пробоподготовки повторяют для каждого образца.

Полученный экстракт анализируют и определяют суммарную массовую концентрацию образовавшихся метиловых эфиров жирных кислот. Поправочный коэффициент K_i вычисляют как отношение измеренного значения массовой концентрации метиловых эфиров жирных кислот в образце, подвергнутом пробоподготовке, к аттестованному значению массовой концентрации жира в образце по формуле:

$$K_i = \frac{X_i}{C_i} \quad ,$$

где X_i – измеренное значение массовой концентрации определяемого метилового эфира в *i*-ом образце, мг/дм^3;

C_i – аттестованное значение массовой концентрации жира в *i*-ом образце, мг/дм^3.

Примечание 1: Аттестованное значение массовой концентрации жира (С, мг/дм^3) в образце рассчитывают по формуле: $m/V_{об}*1000$, где m – навеска жиросодержащего материала (мг), $V_{об}$ – объем образца (дм^3).

Примечание 2: Коэффициенты перевода в системах триглицерид—кислота и кислота—метиловый эфир не превышают значения 1,05.

Поправочный коэффициент $K_{ср}$, учитывающий потери при пробоподготовке, для всего диапазона измерений рассчитывают как среднее арифметическое значение всех полученных коэффициентов K_i.

Примечание: Коэффициенты извлечений определяют по всем видам жиросодержащего материала, затем полученные значения усредняют.

Как правило, значение поправочного коэффициента находится в диапазоне от 0,4 до 0,6. Поправочный коэффициент используют при расчете содержания жиров в пробе.

Поправочный коэффициент обязательно устанавливают при внедрении методики.

$K_{ср}$ проверяют при смене оператора, осуществляющего пробоподготовку, путем анализа образцов для контроля в соответствии с п. 13.2. При получении удовлетворительных результатов контроля используют ранее установленный $K_{ср}$. В случае получения отрицательных результатов контроля $K_{ср}$ устанавливают заново.

9. ВЫПОЛНЕНИЕ ИЗМЕРЕНИЙ

При выполнении измерений массовых концентраций жиров выполняют следующие операции.

9.1. Подготовка аппаратуры

Хроматограф выводят на рабочий режим в соответствии с условиями, указанными в п. 8.1. На компьютере в программе управления активизируют метод измерения.

9.2. Подготовка пробы

Пробу (500 $см^3$) во флаконе для отбора проб подкисляют хлороводородной кислотой до pH 3–4, проверяя значение pH с помощью индикаторной бумаги, насыщают хлористым натрием. Затем пробу полностью переносят в делительную воронку вместимостью 1 $дм^3$, добавляют 40–45 $см^3$ гексана, флакон из-под пробы ополаскивают небольшим количеством гексана (5–10 $см^3$) и добавляют его в делительную воронку (всего для экстракции необходимо 50 $см^3$ гексана). Затем проводят экстракцию с помощью шюттель-аппарата со скоростью 50–60 встряхиваний в мин в течение 10 мин. После остановки шюттель-аппарата делительную воронку оставляют в покое до полного разделения слоев (на 5–15 мин).

Примечание: Допускается осуществлять экстракцию ручным способом в течение 10 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 $см^3$ гексана. Делительную воронку интенсивно встряхивают в течение 3-х мин, экстракт высушивают, пропуская через слой безводного сульфата натрия, и удаляют гексан на песчаной бане в токе воздуха. К сухому остатку приливают 1 $см^3$ гексана. Таким образом, осуществляют концентрирование в 500 раз.

Гексановый экстракт хроматографируют в тех же условиях, что и градуировочный раствор.

Компоненты идентифицируют по временам удерживания в соответствии с градуировкой.

В случае, когда массовая концентрация компонента в экстракте выше массовой концентрации максимальной точки градуировочной

характеристики, экстракт разбавляют гексаном и проводят повторное измерение (подробнее см. п. 10). При вычислении результатов измерений необходимо учесть степень разбавления.

9.3. Выполнение измерений

Полученные экстракты хроматографируют в тот же день. В случае невозможности немедленного проведения хроматографического анализа экстракты хранят в герметично закрытых флаконах вместимостью 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. 10.

10. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

Массовую концентрацию жиров в пробе воды считают равной массовой концентрации суммы метиловых эфиров жирных кислот с учетом поправочного коэффициента.

Обработку результатов измерений выполняют с помощью компьютера в соответствии с градуировочными характеристиками с учетом концентрирования при пробоподготовке по следующим формулам:

а) рассчитывают содержание каждого метилового эфира жирной кислоты (C_i, мг/$дм^3$)

$$C_i = \frac{S_i \times V_э}{A_i \times V_в}$$ где

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

$V_э$ – объем экстракта, $см^3$;

A_i – относительный градуировочный коэффициент, мВ*с*$см^3$/мг;

$V_в$ – объем пробы воды, $дм^3$;

б) рассчитывают сумму метиловых эфиров жирных кислот ($C_{сумм}$, мг/$дм^3$)

$$C_{сумм} = \sum C_i$$

Примечание: Если сумма массовых концентраций метиловых эфиров жирных кислот в пробе оказывается больше 70 мг/$дм^3$, экстракт необходимо разбавить гексаном, провести повторное измерение и при вычислении результатов измерений учесть степень разбавления.

в) рассчитывают содержание жиров (X, мг/дм^3)

$$X = \frac{C_{сумм}}{K_{ср}}$$

$K_{ср}$ – поправочный коэффициент для пересчета результатов анализа метиловых эфиров жирных кислот в жиры.

11. ОФОРМЛЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

11.1. Результаты измерений в протоколе представляют в виде:

$$X \pm \Delta \text{ , мг/дм}^3 \text{ , } P = 0,95$$

где $\Delta = \delta * 0,01 * X$,

δ - значение показателя точности (табл. 1).

11.2. Результаты измерений при занесении в протокол анализа округляют с точностью до

0,1 мг/дм^3 при массовой концентрации от 0,5 мг/дм^3 до 10 мг/дм^3;
1 мг/дм^3 –свыше 10 мг/дм^3 до 100 мг/дм^3 ;
10 мг/дм^3 – свыше 100 мг/дм^3 до 100 мг/дм^3;
100 мг/дм^3 – свыше 1000 мг/дм^3.

12. ОЦЕНКА ПРИЕМЛЕМОСТИ РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

12.1. Проверку приемлемости результатов измерений жиров в рабочих пробах, полученных в условиях повторяемости (сходимости), можно выполнять только при условии тщательной гомогенизации пробы перед разделением её на равные части и при массовой концентрации жиров не более 250 мг/дм^3. Оценку приемлемости результатов измерений осуществляют в соответствии с требованиями раздела 5.2. ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002. Расхождение между результатами измерений не должно превышать предела повторяемости (r). Значения r приведены в табл. 4.

12.2. Проверку приемлемости результатов измерений жиров в рабочих пробах, полученных в условиях воспроизводимости, можно выполнять только при условии тщательной гомогенизации пробы перед разделением её на равные части и при массовой концентрации жиров в пробе не более 250 мг/дм^3. Проверку приемлемости результатов измерений проводят с учетом требований раздела 5.3 ГОСТ Р ИСО 5725-6-2002. Расхождение между результатами измерений, полученными двумя лабораториями, не должно превышать предела воспроизводимости (R). Значения R приведены в табл. 4.

Т а б л и ц а 4 - Пределы повторяемости и воспроизводимости результатов измерений

Диапазон измерений, мг/дм^3	Предел повторяемости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя параллельными результатами измерений), r, %	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), 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 250 вкл.	25	39

13. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА РЕЗУЛЬТАТОВ ИЗМЕРЕНИЙ

13.1. Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории предусматривает:

- контроль стабильности результатов измерений путем контроля стабильности среднеквадратического отклонения повторяемости, промежуточной прецизионности и погрешности;
- контроль исполнителем процедуры выполнения измерений путем оценки погрешности при реализации отдельно взятой контрольной процедуры.

Периодичность контроля исполнителем процедуры выполнения измерений и алгоритмы контрольных процедур (с использованием метода добавок, с использованием образцов для контроля и т.п.), а также реализуемые процедуры контроля стабильности результатов измерений регламентируют во внутренних документах лаборатории.

13.2. Оперативный контроль процедуры измерений с применением образцов для контроля.

Образцами для контроля (ОК) являются пробы дистиллированной воды с введенными добавками жиров. Для приготовления ОК используют навески жиров растительного и животного происхождения (сала, сливочного масла, маргарина, подсолнечного масла, оливкового масла и др.) (см. п. 8.5).

Оперативный контроль процедуры измерений проводят путем сравнения результата отдельно взятой контрольной процедуры Кк с нормативом контроля К

Результат контрольной процедуры Кк рассчитывают по формуле:

$$Кк = |X - C|, \text{ мг/дм}^3$$

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

С – аттестованное значение образца для контроля, мг/дм^3.

Норматив контроля К рассчитывают по формуле:

$$К = \Delta_л,$$

где $\Delta_л$ – характеристики погрешности результатов измерений, установленные в лаборатории при реализации методики, соответствующие аттестованному значению определяемого вещества в образце для контроля.

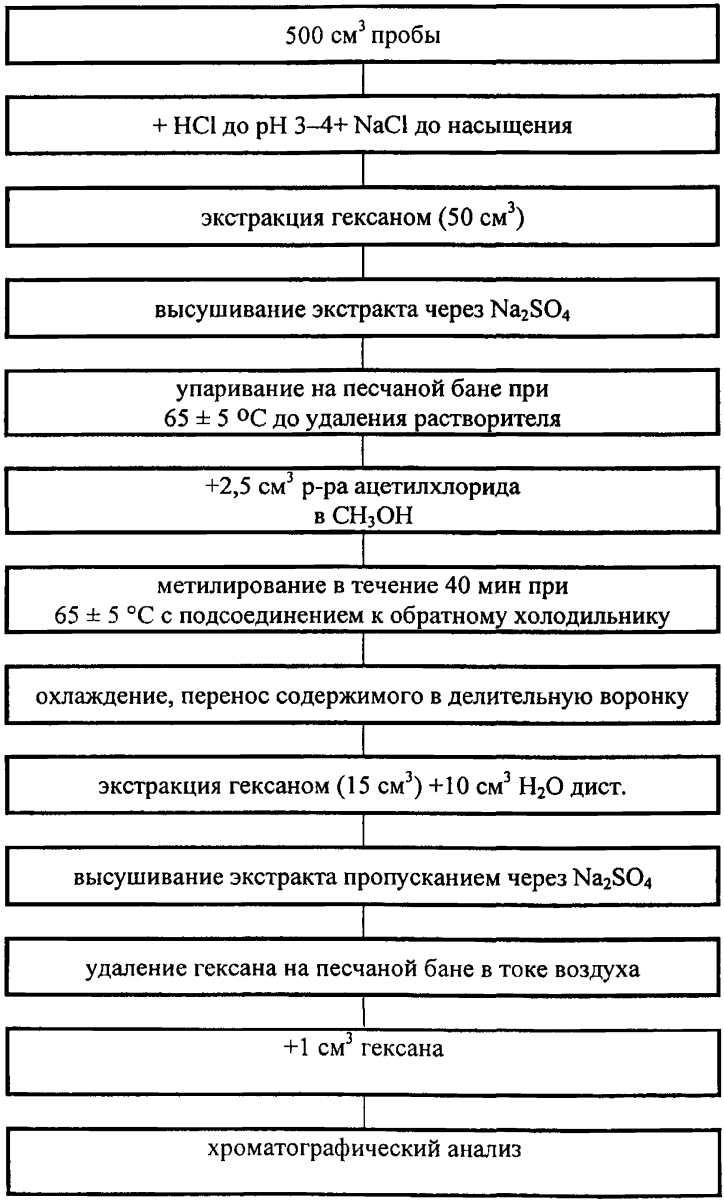
Качество контрольной процедуры признают удовлетворительным при выполнении условия: $Кк \leq К$

При невыполнении условия эксперимент повторяют. При повторном невыполнении условия выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам.

13.3. Процедуру контроля стабильности показателей качества результатов анализа (повторяемости, внутрилабораторной прецизионности и погрешности) проводят в соответствии с порядком, установленным в лаборатории. Для проведения контроля готовят не менее двух образцов в соответствии с процедурой, изложенной в п. 8.5. Разделение образца для контроля на равные части не допускается.

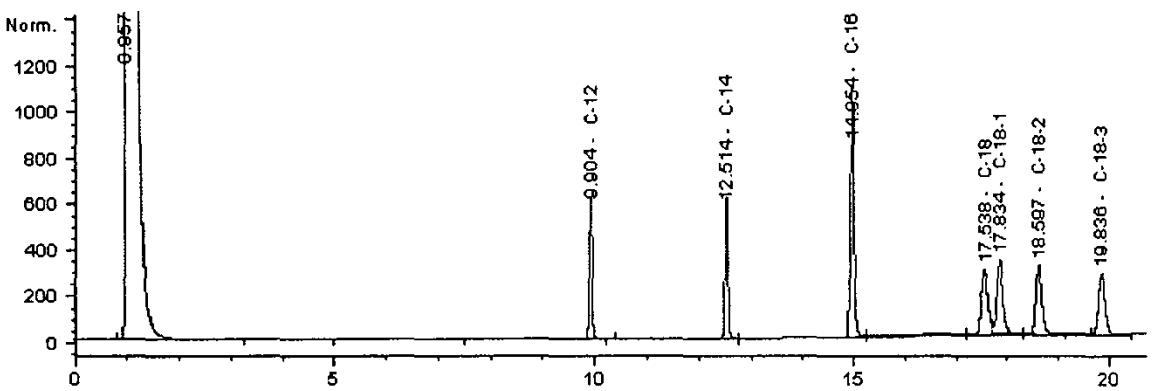
ПРИЛОЖЕНИЕ 1 (рекомендуемое)

Блок-схема анализа жиров



ПРИЛОЖЕНИЕ 2

Пример хроматограммы градуировочного раствора на капиллярной колонке Carbowax 20М



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 АГЕНТСТВО ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

Государственный научный метрологический центр

ФГУП «Уральский научно-исследовательский институт метрологии»

СВИДЕТЕЛЬСТВО

об аттестации методики выполнения измерений

№ 223.1.01.11.63 / 2008

Методика выполнения измерений массовой концентрации жиров в природных
наименование измеряемой величины; объекта
и сточных водах газохроматографическим методом,
и метода измерений
разработанная Аналитическим центром контроля качества воды ЗАО "РОСА",
наименование организации (предприятия), разработавшей МВИ
аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563.
Аттестация осуществлена по результатам метрологической экспертизы материалов по разработке МВИ
вид работ: метрологическая экспертиза материалов по разработке МВИ, теоретическое или экспериментальное исследование МВИ, другие виды работ

В результате аттестации установлено, что МВИ соответствует предъявляемым к ней метрологическим требованиям и обладает следующими основными метрологическими характеристиками, приведенными в приложении.

Приложение: метрологические характеристики МВИ на 1 листе

Зам. директора по научной работе **С.В. Медведевских**

Зав. лабораторией **Г.И.Терентьев**

Дата выдачи: 06.08.2008г.

Срок действия: – – –

МП:

Россия, 620000, г. Екатеринбург, ул. Красноармейская,4
тел.: (343) 350-26-18, факс: (343) 350-20-39. E-mail: uniim@uniim.ru

МЕТРОН

Приложение к свидетельству № 223.1.01.11.63 / 2008
об аттестации методики выполнения измерений
массовой концентрации жиров
в природных и сточных водах
газохроматографическим методом

1. Диапазон измерений, значения показателей точности, воспроизводимости, правильности и повторяемости

Диапазон измерений, мг/дм^3	Показатель повторяемости (относительное среднеквадратическое отклонение повторяемости), σ_r, %	Показатель воспроизводимости (относительное среднеквадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R, %	Показатель правильности (границы относительной систематической погрешности при вероятности P=0,95), $\pm \delta_c$, %	Показатель точности*) (границы относительной погрешности при вероятности P=0,95), $\pm\delta$, %
от 0.5 до 1 вкл.	20	30	8	60
св. 1 до 10 вкл.	16	24	6	48
св. 10 до 100 вкл.	13	20	6	40
св. 100 до 250 вкл.	9	14	4	28

*) Соответствует относительной расширенной неопределенности с коэффициентом охвата k=2

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

Диапазон измерений, мг/дм^3	Предел воспроизводимости (относительное значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях), R, %
от 0.5 до 1 вкл.	84
св. 1 до 10 вкл.	67
св. 10 до 100 вкл.	56
св. 100 до 250 вкл.	39

3. При реализации методики в лаборатории обеспечивают:

- оперативный контроль процедуры 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 оперативного контроля процедуры измерений приведен в документе на методику выполнения измерений.

Процедуры контроля стабильности результатов выполняемых измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

Старший научный сотрудник
лаборатории 223 ФГУП «УНИИМ» Кочергина О.В. Кочергина

gost.e-ecolog.ru