Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (Росгидромет)

РУКОВОДЯЩИЙ ДОКУМЕНТ

РД 52.24.504-2010

МАССОВАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ ЖИРОВ В ВОДАХ. МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ ИК-ФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Ростов-на-Дону
2010

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Государственным учреждением Гидрохимический институт (ГУ ГХИ)

2 РАЗРАБОТЧИКИ А.Г. Страдомская, д-р хим. наук, И.А. Рязанцева

3 СОГЛАСОВАН с НПО «Тайфун» 28.01.2010
и УМЗА Росгидромета 04.03.2010

4 УТВЕРЖДЕН Заместителем Руководителя Росгидромета 04.03.2010

5 АТТЕСТОВАН ГУ ГХИ, свидетельство об аттестации № 159.24-2009 от 05.06.2009

6 ЗАРЕГИСТРИРОВАН ЦМТР ГУ «НПО «Тайфун» 24.03.2010 за номером РД 52.24.504-2010

7 ВЗАМЕН РД 52.24.504-98 «Методические указания. Методика выполнения измерений массовой концентрации жиров в водах ИК-фотометрическим методом

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Приписанные характеристики погрешности измерения 2
4 Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы, материалы 3
4.1 Средства измерений, вспомогательные устройства 3
4.2 Реактивы и материалы 5
5 Метод измерений 6
6 Требования безопасности, охраны окружающей среды 6
7 Требования к квалификации операторов 7
8 Условия выполнения измерений 7
9 Отбор и хранение проб 7
10 Подготовка к выполнению измерений 8
10.1 Приготовление растворов и реактивов 8
10.2 Подготовка посуды для определения жиров 10
10.3 Подготовка хроматографической пластинки 10
10.4 Подготовка подвижной фазы 10
10.5 Подготовка проявляющей камеры с йодом 11
10.6 Подготовка приборов 11
10.7 Приготовление градуировочного раствора 11
10.8 Установление градуировочных зависимостей 11
10.9 Контроль стабильности градуировочной характеристики 12
11 Выполнение измерений 13
11.1 Холостое измерение 13
11.2 Экстракция 13
11.3 Выделение жиров методом тонкослойной хроматографии 14
11.3 Измерение 15
11.4 Мешающие влияния 15
12 Вычисление и оформление результатов измерений 15
13.1 Общие положения 17
13.2 Алгоритм оперативного контроля процедуры выполнения измерений с использованием метода добавок 17
14 Проверка приемлемости результатов, полученных в условиях воспроизводимости 18
Приложение А (обязательное) Методика приготовления аттестованного раствора жиров АР-Ж 20

Введение

В водные объекты жиры поступают с хозяйственно-бытовыми сточными водами и сточными водами предприятий мясомолочной, консервной, рыбообрабатывающей, кожевенной промышленности, боен, жироперерабатывающих, шерстепрядильных фабрик, предприятий выпускающих растительные масла, жирные кислоты, глицерин, мыла, жирозаменители и т.д. Значительное количество жиров образуется в процессе фотосинтеза, метаболизма растительных и животных организмов, их посмертном разложении. Жиры находятся в поверхностных водах в растворенном, эмульгированном и сорбированном взвешенными веществами и донными отложениями состояниях.

Жиры, в основном, состоят из триглицеридов – полных сложных эфиров глицерина и жирных кислот. В состав природных жиров входят жирные кислоты, содержащие четное число углерода. В состав их также входят моно- и диглицериды, фосфолипиды, свободные жирные кислоты, стеарины и их эфиры и т.д. Жирнокислотный состав животных жиров представлен, в основном, олеиновой, линолевой, пальмитиновой и стеариновой кислотами. Около 75 % растительных жиров (масел) составляют глицериды трех кислот – пальмитиновой, олеиновой и линолевой. Большинство масел содержит 4-7 главных и несколько сопутствующих (менее 5% от суммы) жирных кислот. Жиры некоторых растений содержат специфические, характерные только для них, жирные кислоты. Триглицериды могут быть однокислотными и разнокислотными (смешанными). Однокислотные жиры (оливковое, касторовое масла) встречаются редко, подавляющее большинство жиров представляет собой смеси разнокислотных триглицеридов.

Концентрации жиров в природных водах могут колебаться от тысячных долей до миллиграммов в кубическом дециметре воды.

Попадая в водные объекты в повышенных концентрациях, жиры заметно ухудшают его кислородный режим, что негативно влияет на их экологическое состояние.

Содержание жиров в природных водах не нормируется.

РУКОВОДЯЩИЙ ДОКУМЕНТ

МАССОВАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ ЖИРОВ В ВОДАХ. МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ ИК-ФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Дата введения 2010-04-06

1 Область применения

1.1 Настоящий руководящий документ устанавливает методику выполнения измерений (далее – методика) массовой концентрации жиров в природных и очищенных сточных водах в диапазоне от 0,10 - 0,60 мг/дм^3 ИК-фотометрическим методом.

При анализе проб воды с массовой концентрацией жиров, превышающей 0,60 мг/дм^3, допускается выполнение измерений после разбавления элюата четыреххлористым углеродом, таким образом, чтобы массовая концентрация жиров в разбавленном элюате находилась в диапазоне от 0,040 до 0,060 мг/см^3.

1.2 Настоящий руководящий документ предназначен для использования в лабораториях, осуществляющих анализ природных и очищенных сточных вод.

2 Нормативные ссылки

В настоящем руководящем документе использованы ссылки на следующие нормативные документы:

ГОСТ 12.1.005-88 ССБТ. Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны

ГОСТ 12.1.007-76 ССБТ. Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности

ГОСТ 17.1.5.04-81 Охрана природы. Гидросфера. Приборы и устройства для отбора, первичной обработки и хранения проб природных вод. Общие технические условия

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

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

ГОСТ Р 51592-2000 Вода. Общие требования к отбору проб

МИ 2881-2004 Рекомендация. ГСИ. Методики количественного химического анализа. Процедуры проверки приемлемости результатов анализа.

Примечание - Ссылки на остальные нормативные документы приведены в разделах 4, А.3, А.4.

3 Приписанные характеристики погрешности измерения

3.1 При соблюдении всех регламентируемых методикой условий проведения измерений характеристики погрешности результата измерения с вероятностью 0,95 не должны превышать значений, приведенных в таблице 1.

Таблица 1 – Диапазон измерений, значения характеристик погрешности и ее составляющих при принятой вероятности P=0,95

Диапазон измерений массовой концентрации жиров, X, мг/дм^3	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости) σ_r, мг/дм^3	Показатель воспроизводимости (среднеквадратическое отклонение воспроизводимости) σ_R, мг/дм^3	Показатель правильности (границы систематической погрешности) $\pm\Delta_c$, мг/дм^3	Показатель точности (границы погрешности) $\pm\Delta$, мг/дм^3
От 0,10 до 0,40 включ.	0,16·X	0,24·X	0,06	0,05+0,38·X
Св. 0,40 до 0,60 включ.	0,16·X	0,24·X	0,10	0,05+0,38·X

3.2 Значения показателя точности методики используют при:

- оформлении результатов измерений, выдаваемых лабораторией;
- оценке деятельности лаборатории на качество проведения измерений;
- оценке возможности использования результатов измерений при реализации методики в конкретной лаборатории.

4 Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы, материалы

4.1 Средства измерений, вспомогательные устройства

4.1.1 ИК-спектрофотометр или ИК-фотометр, обеспечивающий измерения при длине волны 3,42 мкм в кюветах с толщиной поглощающего слоя не менее 40 мм (спектрофотометр ИК-40 или фотометр, входящий в комплект анализаторов АН-2, КН-2, или аналогичный по характеристикам прибор).

4.1.2 Весы лабораторные высокого (II) класса точности по ГОСТ 24104-2001.

4.1.3 Колбы мерные 2-го класса точности исполнения 2 по ГОСТ 1770-74 вместимостью 50 $см^3$ - 7 шт.

4.1.4 Пипетки градуированные 2-го класса точности исполнения 1, 2 по ГОСТ 29227-91 вместимостью: 1 $см^3$ - 2 шт., 2 $см^3$ - 1 шт., 5 $см^3$ - 2 шт.

4.1.5 Пипетка с одной отметкой 2-го класса точности исполнения 2 по ГОСТ 29169-91 вместимостью 5 $см^3$ – 1 шт.

4.1.6 Цилиндры мерные исполнения 1, 3 по ГОСТ 1770-74 вместимостью: 25 $см^3$ - 2 шт., 50 $см^3$ - 1 шт., 500 $см^3$ - 1 шт., 1000 $см^3$ - 1 шт.

4.1.7 Цилиндр мерный исполнения 2 по ГОСТ 1770-74 с притертой пробкой вместимостью 50 $см^3$ - 1 шт.

4.1.8 Пробирки градуированные исполнения 2, с взаимозаменяемым конусом 14/23, по ГОСТ 1770-74 с притертыми стеклянными пробками вместимостью 10 $см^3$- 10 шт.

4.1.9 Колбы типа Кн исполнения 1 со взаимозаменяемым конусом 14/23, ТХС, по ГОСТ 25336-82 с притертыми стеклянными пробками вместимостью 50 $см^3$ -6 шт.

4.1.10 Колбы типа Кн исполнения 1 со взаимозаменяемым конусом 29/32, ТХС, по ГОСТ 25336-82 с притертыми стеклянными пробками вместимостью 100 $см^3$ – 2 шт.; 500 $см^3$ - 1 шт.

4.1.11 Стаканы В-1 или В-2, ТХС, по ГОСТ 25336-82 вместимостью 5-10 $см^3$ - 6 шт.

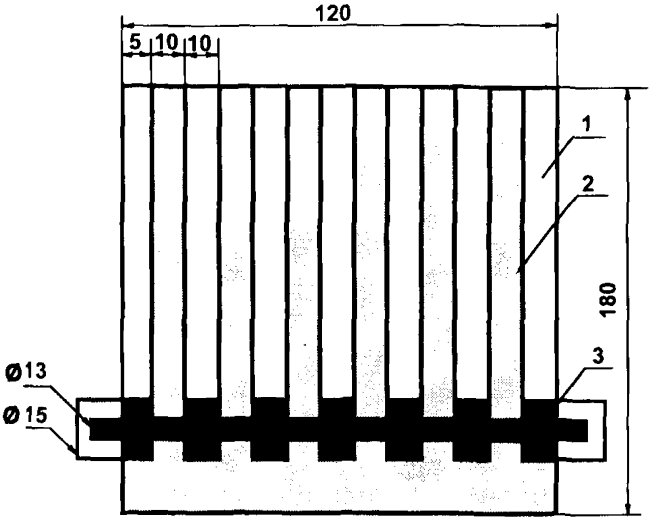
4.1.12 Стаканы В-1, ТХС, по ГОСТ 25336-82 вместимостью: 50 $см^3$ - 1 шт., 600 $см^3$ - 1 шт., 1000 $см^3$ - 1 шт.

4.1.13 Стаканчики для взвешивания (бюксы) СВ-19/9 и 24/10 по ГОСТ 25336-82 - 2 шт.

4.1.14 Воронки делительные ВД исполнения 1,3 , ХС, по ГОСТ 25336-82 вместимостью 1000 $см^3$ - 4 шт.

4.1.15 Воронки лабораторные, тип В по ГОСТ 25336-82 диаметром 36 мм - 6 шт.

4.1.16 Приспособление для нанесения незакрепленного тонкого слоя оксида алюминия (рисунок 1).



1 – хроматографическая пластинка; 2 – тонкий слой оксида алюминия; 3 – валик

Рисунок 1 – Приспособление для нанесения тонкого слоя оксида алюминия

4.1.17 Камера для хроматографирования или сосуды из стекла прямоугольной формы с размерами стенок: длина от 21 до 24 см, ширина от 19 до 21 см, и высота стенок от 6 до 10 см, с притертой крышкой – 2 шт.

4.1.18 Пластинки стеклянные размером 12 х 18 см - 3 шт.

4.1.19 Капилляры стеклянные с внутренним диаметром 0,2 - 0,3 мм - 6 шт.

4.1.20 Чашка выпарительная № 3 - 4 по ГОСТ 9147-80 вместимостью 100-150 $см^3$ – 1 шт.

4.1.21 Установка из стекла для перегонки растворителей, включающая перегонную колбу вместимостью 1000 $см^3$ с взаимозаменяемым конусом 29/32; ёлочный дефлегматор длиной не менее 25 см с взаимозаменяемыми конусами 14/23, 29/32; насадка типа Н1с взаимозаменяемыми конусами 14/23; холодильник ХПТ длиной не менее 30 см с взаимозаменяемым конусом 14/23; аллонж по ГОСТ 25336-82, термометр ртутный с диапазоном от 0 до 100 °С по ГОСТ 13646-68.

4.1.22 Эксикаторы исполнения 2, диаметром корпуса 190-250 мм по ГОСТ 25336-82 - 2 шт.

4.1.23 Палочки стеклянные – по ГОСТ 27460-87 - 6 шт.

4.1.24 Флаконы стеклянные с притертыми пробками для хранения экстрактов вместимостью 50 $см^3$.

4.1.25 Посуда стеклянная с притертыми или корковыми или пластиковыми пробками, обернутыми алюминиевой фольгой и двойным слоем тефлоновой пленки для хранения проб вместимостью 0,5 - 1,0 $дм^3$.

4.1.26 Склянки темного стекла для хранения растворителей вместимостью 1 $дм^3$.

4.1.27 Сито с диаметром отверстий 0,1 мм.

4.1.28 Скальпель.

4.1.29 Шпатель по ГОСТ 9147-80.

4.1.30 Штатив для пробирок.

4.1.31 Штатив для делительных воронок.

4.1.32 Холодильник бытовой.

4.1.33 Печь муфельная по ТУ 79 РСФСР 337-82.

4.1.34 Электроплитка с закрытой спиралью по ГОСТ 14919-83.

4.1.35 Шкаф сушильный общелабораторного назначения.

Примечание - Допускается использование других типов средств измерений, посуды и вспомогательного оборудования, в том числе импортных, с характеристиками не хуже, чем у приведенных в 4.1.

4.2 Реактивы и материалы

4.2.1 Тристеарин по ТУ 6-09-07-926-77, ч.

4.2.2 Углерод четыреххлористый по ГОСТ 20288-74, х.ч., или ТУ 6-09-3219-84, ос.ч.

4.2.3 Хлороформ (трихлорметан) по ГОСТ 20015-88, очищенный.

4.2.4 н-Гексан по ТУ 6-09-06-657-75, х.ч.

4.2.5 Ацетон по ТУ 2633-039-44493179-00, ос.ч.

4.2.6 Натрий сернокислый, безводный (натрия сульфат) по ГОСТ 4166-76, ч.

4.2.7 Оксид алюминия для хроматографии по ТУ 6-09-3916-75 или оксид алюминия активный по ГОСТ 8136-85, ч.д.а.

4.2.8 Кислота уксусная, ледяная по ГОСТ 61-75, ч.д.а.

4.2.9 Кислота серная по ГОСТ 4204-77.

4.2.10 Йод по ГОСТ 4159-79, ч.д.а.

4.2.11 Кальций хлорид обезвоженный по ТУ 6-09-4711-81, ч. (для эксикатора).

4.2.12 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.

4.2.13 Фильтры бумажные обеззоленные «белая лента» по ТУ 6-09-1678-86, диаметром не более 6 см.

Примечание - Допускается использование реактивов, изготовленных по другой нормативной и технической документации, в том числе импортных, с квалификацией не ниже указанной в 4.2.

5 Метод измерений

Выполнение измерений основано на выделении жиров из воды двукратной экстракцией хлороформом, концентрировании и хроматографическом разделении экстракта в тонком слое оксида алюминия в системе подвижных растворителей гексан - четыреххлористый углерод - ледяная уксусная кислота. Жиры элюируют из соответствующей зоны оксида алюминия на пластинке четыреххлористым углеродом и в элюатах количественно определяют жиры по интенсивности поглощения С-Н связей метиленовых ($-CH_2-$) и метильных ($-CH_3-$) групп в инфракрасной области спектра (λ=2926 $см^{-1}$ или 3,42 мкм).

6 Требования безопасности, охраны окружающей среды

6.1 При выполнении измерений массовой концентрации жиров в пробах природных и очищенных сточных вод соблюдают требования безопасности, установленные в национальных стандартах и соответствующих нормативных документах.

6.2 По степени воздействия на организм вредные вещества, используемые при выполнении измерений, относятся ко 2-му, 3-му и 4-му классам опасности по ГОСТ 12.1.007.

6.3 Содержание используемых вредных веществ в воздухе рабочей зоны не должно превышать установленных предельно допустимых концентраций в соответствии с ГОСТ 12.1.005.

6.4 Вредно действующие вещества подлежат сбору и утилизации в соответствии с установленными правилами.

6.5 Дополнительных требований по экологической безопасности не предъявляется.

7 Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений допускаются лица со средним профессиональным образованием, имеющие стаж работы в лаборатории не менее года и освоившие методику.

8 Условия выполнения измерений

При выполнении измерений в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха (22±5) °С;
- атмосферное давление от 84,0 до 106,7 кПа (от 630 до 800 мм рт. ст.);
- влажность воздуха не более 80 % при 25 °С;
- напряжение в сети (220±10) В;
- частота переменного тока в сети питания (50±1) Гц.

9 Отбор и хранение проб

Отбор проб для выполнения измерений массовой концентрации жиров производится в соответствии с ГОСТ 17.1.5.05 и ГОСТ Р 51592. Оборудование для отбора проб должно соответствовать ГОСТ 17.1.5.04 и ГОСТ Р 51592. При отборе должен быть исключен захват поверхностной пленки воды. Отобранные пробы, не фильтруя, помещают в стеклянную посуду, которая закрывается притертыми стеклянными или корковыми или пластиковыми (не резиновыми!) пробками, обернутыми алюминиевой фольгой и двойным слоем тонкой тефлоновой пленки. Пробу для определения жиров помещают в отдельную посуду и используют целиком. Объем отобранной пробы зависит от концентрации жиров в воде и должен составлять не менее

0,5 $дм^3$ для проб очищенных сточных вод и не менее 1 $дм^3$ для проб природных вод.

Экстракция пробы должна быть выполнена в течение 1 сут. после отбора. Если это невозможно, пробы консервируют, добавляя 5 $см^3$ четыреххлористого углерода или хлороформа на 1 $дм^3$ воды. Хранят законсервированные пробы в холодильнике две недели, экстракты в плотно закрытой посуде – до 2 месяцев.

10 Подготовка к выполнению измерений

10.1 Приготовление растворов и реактивов

10.1.1 Оксид алюминия

Оксид алюминия просеивают через сито и используют фракцию, прошедшую через сито (менее 0,1 мм). Хранят в колбе с притертой пробкой, помещенной в эксикатор в течение месяца.

10.1.2 Углерод четыреххлористый

Проверяют чистоту каждой партии четыреххлористого углерода, выполняя измерение концентрации соединений, поглощающих в ИК-области, используя для сравнения очищенный четыреххлористый углерод. Если концентрация этих соединений превышает 0,01 $мг/см^3$, выполняют очистку четыреххлористого углерода следующим образом.

В делительную воронку вместимостью 1000 $см^3$ помещают 400 $см^3$ четыреххлористого углерода, добавляют 500 $см^3$ дистиллированной воды и встряхивают в течение 3 мин. Слой четыреххлористого углерода сливают в колбу. Процедуру повторяют с новой порцией дистиллированной воды.

К промытому четыреххлористому углероду добавляют около 10 г безводного сульфата натрия, встряхивают и оставляют на 10 мин. Обезвоженный четыреххлористый углерод декантируют в перегонную колбу и перегоняют, отбирая фракцию с температурой кипения от 76,7 °С. до 76,8 °С. Хранят в склянке из темного стекла с притертой пробкой до повышения значения холостого опыта.

10.1.3 Хлороформ

Проверяют чистоту каждой партии хлороформа, для чего 25 $см^3$ хлороформа помешают в стакан вместимостью 50 $см^3$ и оставляют в вытяжном шкафу при комнатной температуре для упаривания. После

уменьшения объема хлороформа примерно до 2 $см^3$ переносят его в стаканчик вместимостью 5-10 $см^3$, ополаскивая стакан 0,5 $см^3$ хлороформа, и оставляют до полного упаривания. Остаток после упаривания растворяют в 10 $см^3$ четыреххлористого углерода и измеряют концентрацию соединений, поглощающих в ИК-области. Если концентрация этих соединений превышает 0,01 $мг/см^3$, выполняют очистку хлороформа перегонкой, отбирая фракцию с температурой кипения 61,2 °С. Хранят хлороформ в склянке из темного стекла и в темном месте.

10.1.5 Сульфат натрия (безводный)

Для удаления органических примесей сульфат натрия прокаливают при 400 °С в течение 8 ч. Хранят в эксикаторе 1 мес.

10.1.6 Тристеарин

Тристеарин очищают методом тонкослойной хроматографии. Для этого растворяют 80-100 мг тристеарина в 0,3-0,4 $см^3$ четыреххлористого углерода или хлороформа и с помощью капилляра малыми порциями (0,01-0,02 $см^3$) наносят на 4 сплошные хроматографические пластинки с оксидом алюминия на расстоянии 6-7 мм от края в виде рядом расположенных небольших пятен, образующих сплошные полосы шириной не более 2 мм.

После испарения растворителя помещают пластинки в хроматографическую камеру (см.11.3) под углом 20°- 30°. Когда фронт подвижной фазы достигнет верхнего края оксида алюминия, пластинку вынимают и, после испарения растворителя (через 5 –10 мин), помещают в проявляющую камеру, предварительно насыщенную парами йода. Зону тристеарина, обнаруженную в виде коричневой полосы на пластинках при проявлении в парах йода (R_f = 0,45-0,55), после испарения последнего переносят в воронку с фильтром и элюируют тристеарин с оксида алюминия 20 - 25 $см^3$ четыреххлористого углерода, добавляя его небольшими порциями (не более 3 $см^3$) в бюкс. Растворитель удаляют под тягой до получения постоянного значения массы бюкса с препаратом. Очищенный таким образом тристеарин используют для приготовления градуировочного раствора. Массовая доля основного вещества в полученном препарате не менее 98 %.

10.1.7 Дистиллированная вода, очищенная четыреххлористым углеродом

Дистиллированную воду экстрагируют в делительной воронке четыреххлористым углеродом из расчета 20 $см^3$ растворителя на 1

$дм^3$ воды. После расслоения фаз четыреххлористый углерод отбрасывают в специальную емкость для слива, а дистиллированную воду выливают в чистую склянку. Используется только свежеочищенная дистиллированная вода.

10.2 Подготовка посуды для определения жиров

Посуду, используемую для приготовления растворов и выполнения измерений массовой концентрации жиров в пробах воды, промывают концентрированной серной кислотой, затем отмывают водопроводной водой и ополаскивают дистиллированной водой. Кислоту используют многократно.

Для проверки чистоты посуды на присутствие примесей поглощающих в ИК-области ее ополаскивают небольшими объемами четыреххлористого углерода (от 5 до 10 $см^3$ в зависимости от размера посуды) и измеряют ИК-поглощение смыва. Концентрация поглощающих в ИК-области примесей при этом должна быть менее 0,01 $мг/см^3$.

10.3 Подготовка хроматографической пластинки

На чисто вымытую стеклянную пластинку насыпают немного оксида алюминия и с помощью специального приспособления - валика (см. рисунок 1), наносят 6 полос шириной 10 мм. Толщина слоя оксида алюминия должна составлять 1 мм.

Избыток оксида алюминия между полосами и по краям пластинки счищают скальпелем.

10.4 Подготовка подвижной фазы

В мерный цилиндр с притертой пробкой вместимостью 50 $см^3$ добавляют 35 $см^3$ гексана, 15 $см^3$ четыреххлористого углерода, 1 $см^3$ ледяной уксусной кислоты и перемешивают. Смесь готовят перед использованием.

10.5 Подготовка проявляющей камеры с йодом

В камеру (см. 4.1.17) помещают 1-2 г мелкокристаллического йода, распределив его равномерно по дну камеры, и оставляют не менее чем на 30 мин. для насыщения ее парами йода.

10.6 Подготовка приборов

Включение, вывод на режим и настройку ИК-фотометра осуществляют в соответствии с руководством по его эксплуатации.

10.7 Приготовление градуировочного раствора

10.7.1 Градуировочный (аттестованный) раствор АР-Ж с массовой концентрацией тристеарина 1,00 мг/см^3 готовят из очищенного тристеарина в соответствии с приложением А.

Раствор хранят в плотно закрытой склянке из темного стекла в холодильнике не более 3 мес.

10.7.2 При отсутствии тристеарина допускается использовать бараний жир, по составу наиболее близкий к тристеарину. Очистка бараньего жира и приготовление аттестованного раствора выполняются аналогично очистке и приготовлению аттестованного раствора из тристеарина (см. 10.1.5 и приложение А).

10.8 Установление градуировочных зависимостей

Для прготовления градуировочных образцов градуированными пипетками вместимостью 1 см^3 и 5 см^3 вносят 0,50; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 см^3 градуировочного раствора с массовой концентрацией тристеарина 1,00 мг/см^3 в мерные колбы вместимостью 50 см^3. Доводят объём в колбах до метки четыреххлористым углеродом и тщательно перемешивают. Массовые концентрации тристеарина в полученных градуировочных образцах равны, соответственно, 0,010; 0,020; 0,030; 0,040; 0,060 мг/см^3.

Установление градуировочной зависимости (градуировку измерительного прибора) осуществляют в соответствии с руководством по эксплуатации применяемого ИК-фотометра с использованием од-

ного или нескольких градуировочных образцов, приготовление которых описано выше.

Установление градуировочной зависимости проводят при замене измерительного прибора, при использовании новой партии четыреххлористого углерода, либо после длительного перерыва в работе (более 3-х месяцев).

10.9 Контроль стабильности градуировочной характеристики

10.9.1 Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят каждый раз перед анализом серии проб. Средствами контроля являются образцы, используемые для установления градуировочной зависимости согласно 10.8 (не менее 3 образцов).

Градуировочная характеристика считается стабильной при выполнении условия

$$|X_г - C_г| \leq d, \quad (1)$$

где $X_г$ – результат контрольного измерения массовой концентрации жиров в градуировочном растворе, мг/см^3;

$C_г$ – приписанное значение массовой концентрации жиров в градуировочном растворе, мг/см^3;

d – допускаемое расхождение между измеренным и приписанным значениями массовой концентрации жиров, мг/см^3 (см. таблицу 2).

Таблица 2 - Допустимые расхождения между измеренными и приписанными значениями массовой концентрации жиров в образцах при контроле стабильности градуировочной характеристики

Приписанное значение массовой концентрации жиров образце С, мг/см^3	Допустимое расхождение d, мг/см^3
0,010	0,0024
0,020	0,0048
0,030	0,0072
0,040	0,0096
0,060	0,014

10.9.2 Если условие стабильности не выполняется для одного градуировочного раствора, необходимо выполнить повторное измерение этого раствора для исключения результата, содержащего грубую погрешность. При повторном невыполнении условия, выясняют причины нестабильности, устраняют их и повторяют измерения. Если градуировочная характеристика вновь не будет удовлетворять условию (1), устанавливают новую градировочную зависимость.

10.9.3 При выполнении условия (1) учитывают знак разности между измеренными и приписанными значениями массовой концентрации жиров в образцах. Эта разность должна иметь как положительное, так и отрицательное значение, если же все значения имеют один знак, это говорит о наличии систематического отклонения. В таком случае требуется установить новую градуировочную зависимость.

11 Выполнение измерений

11.1 Холостое измерение

Измерение массовой концентрации жиров в холостой пробе выполняют одновременно с анализом серии проб. Для этого берут 0,5-1,0 $дм^3$ очищенной дистиллированной воды и обрабатывают ее, как описано в 11.2-11.4. Результат холостого измерения вычитают из результата анализа пробы. При высокой величине холостого определения (превышающей минимально определяемую концентрацию жиров) повторно проверяют на чистоту используемые реактивы, материалы, посуду и, в случае необходимости, находят и устраняют причину загрязнения.

11.2 Экстракция

Пробу воды из транспортной склянки целиком переносят в делительную воронку соответствующей вместимости (не допускается отбор аликвоты пробы из склянки!). В склянку приливают хлороформ или четыреххлористый углерод с таким расчетом, чтобы его объем вместе с использованным для консервации пробы растворителем составил 15 $см^3$.

Тщательно ополаскивают растворителем стенки склянки, в которой находилась проба, и переносят его в делительную воронку. Выполняют экстракцию, энергично встряхивая воронку в течение 3 мин.

После расслоения фаз нижний слой (экстракт) сливают в колбу с притертой пробкой вместимостью 50 $см^3$. Оставшуюся в делительной воронке пробу воды повторно экстрагируют 10 $см^3$ хлороформа или четыреххлористого углерода. Экстракты объединяют и подвергают обработке согласно 11.3 или оставляют на хранение в темном месте. После отделения экстракта измеряют объем пробы воды в воронке мерным цилиндром.

11.3 Выделение жиров методом тонкослойной хроматографии

Экстракт обезвоживают сульфатом натрия, добавляя его в колбу небольшими порциями при перемешивании содержимого стеклянной палочкой или встряхиванием. Добавление сульфата натрия прекращают после полного исчезновения эмульсии.

Обезвоженный экстракт переносят в стакан вместимостью 50 $см^3$, трижды ополаскивают стенки колбы с сульфатом натрия небольшими порциями (около 2 $см^3$) хлороформа или четыреххлористого углерода, которые присоединяют к основной порции экстракта. Экстракт оставляют в вытяжном шкафу при комнатной температуре для упаривания. После уменьшения объема экстракта примерно до 2 $см^3$ количественно переносят его в стаканчик вместимостью 5-10 $см^3$, обмывая стенки 0,5 $см^3$ хлороформа или четыреххлористого углерода, и оставляют до полного упаривания. Остаток растворяют в 0,2 $см^3$ хлороформа или четыреххлористого углерода, ополаскивая стенки стаканчика.

Подвижную фазу, подготовленную в соответствии с 10.4, наливают в хроматографическую камеру не менее, чем за 10 мин до начала хроматографирования и оставляют для насыщения камеры парами подвижной фазы.

Сконцентрированную пробу с помощью капилляра малыми порциями (по 0,01-0,02 $см^3$) наносят на полосу с оксидом алюминия на расстоянии 6-7 мм от края хроматографической пластинки в виде пятна диаметром не более 2 мм. Пластинку помещают в хроматографическую камеру под углом от 20° до 30°.

Через 5 мин, когда фронт подвижной фазы достигнет верхнего края оксида алюминия, пластинку вынимают, и после испарения растворителя (через 5 –10 мин) помещают в камеру, предварительно насыщенную парами йода. Жиры на пластинке образуют коричневые

пятна, имеющие величину R_f=0,45-0,55. Границы пятна отмечают скальпелем.

Отмеченный участок, оксида алюминия после исчезновения паров йода, с помощью скальпеля счищают в воронку с бумажным фильтром. С помощью градуированной пипетки вместимостью 5 см^3 элюируют жиры с оксида алюминия небольшими (по 2 - 2,5 см^3) порциями четыреххлористого углерода в градуированную пробирку с притертой пробкой вместимостью 10 см^3 и доводят объем элюата жиров растворителем до 10,0 см^3.

11.3 Измерение

Помещают элюат жиров в кювету ИК-фотометра и производят измерение концентрации жиров в элюате в соответствии с руководством по эксплуатации конкретного прибора.

Если оптическая плотность элюата и соответственно концентрация жиров в нем выходит за пределы диапазона, в котором проводилась градуировка, разбавляют элюат и повторяют измерение. Разбавление элюатов следует проводить таким образом, чтобы концентрации жиров после разбавления находилась в пределах от 0,040 до 0,060 мг/см^3.

11.4 Мешающие влияния

Выполнению измерений массовой концентрации жиров могут мешать липиды естественного происхождения, но поскольку их концентрации в водах значительно ниже концентраций жиров антропогенного происхождения, вкладом естественных липидов обычно пренебрегают.

12 Вычисление и оформление результатов измерений

12.1 Массовую концентрацию жиров в анализируемой пробе воды X, мг/дм^3, находят по формуле

$$X=\frac{C\cdot V_1}{V}\cdot\eta, \qquad (2)$$

где С - концентрация жиров в элюате, найденная по показаниям прибора или градуировочной зависимости, мг/см^3 (если прибор градуирован в мг/дм^3 в формулу следует подставить величину С/1000);

V_1 - объем элюата, см^3;

V - объем пробы воды, дм^3;

η - степень разбавления элюата; если разбавление не проводилось $\eta = 1$.

12.2 Результат измерений в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде:

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

где $\pm \Delta$ - границы характеристики погрешности измерений для данной массовой концентрации жиров (см. таблицу 1).

Численные значения результата измерений должны оканчиваться цифрой того же разряда, что и значения характеристики погрешности; значения характеристики погрешности не должны содержать более двух значащих цифр.

12.3 Допустимо представлять результат в виде:

$$X \pm \Delta_л \ (P=0,95) \text{ при условии } \Delta_л < \Delta, \qquad (4)$$

где $\pm \Delta_л$ - границы характеристики погрешности измерений, установленные при реализации методики в лаборатории и обеспечиваемые контролем стабильности результатов измерений.

Примечание - Допустимо характеристику погрешности результатов измерений при внедрении методики в лаборатории устанавливать на основе выражения $\Delta_л = 0,84 \cdot \Delta$ с последующим уточнением по мере накопления информации в процессе контроля стабильности результатов измерений.

12.4 Результаты измерения оформляют протоколом или записью в журнале, по формам, приведенным в Руководстве по качеству лаборатории.

13 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории

13.1 Общие положения

13.1.1 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории предусматривает:

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

13.1.2 Периодичность оперативного контроля исполнителем процедуры выполнения измерений, а также реализуемые процедуры контроля стабильности результатов измерений регламентируются в Руководстве по качеству лаборатории.

13.2 Алгоритм оперативного контроля процедуры выполнения измерений с использованием метода добавок

13.2.1 Контроль исполнителем процедуры выполнения измерений проводят путем сравнения результатов отдельно взятой контрольной процедуры $К_к$ с нормативом контроля К. Для реализации контрольной процедуры в две чистые склянки (проверка на чистоту по 10.2) наливают по 0,50 – 1,0 $дм^3$ анализируемой воды. В одну из склянок вводят добавку ацетонового раствора тристеарина, приготовленного из аттестованного раствора тристеарина АР-Ж (см. приложение А). Для приготовления ацетонового раствора отбирают 5,0 $см^3$ раствора АР-Ж, переносят его в мерную колбу вместимостью 50 $см^3$, доводят до метки ацетоном и перемешивают. Массовая концентрация тристеарина в ацетоновом растворе составит 0,10 мг/$см^3$.

Выполняют измерение массовой концентрации жиров в обеих склянках согласно разделу 11.

13.2.2 Результат контрольной процедуры $К_к$, мг/$дм^3$, рассчитывают по формуле

$$К_к = |X' - X - С_д|, \quad (5)$$

где X' – результат контрольного измерения массовой концентрации жиров в с известной добавкой, мг/дм^3;

$C_д$ – массовая концентрация добавки жиров, мг/дм^3.

13.2.3 Норматив контроля погрешности К, мг/дм^3, рассчитывают по формуле

$$K=\sqrt{\Delta^2_{л_{X'}}+\Delta^2_{л_X}}, \quad (6)$$

где $\Delta_{л_{X'}}$ и $\Delta_{л_X}$ – значения характеристик погрешности результатов измерений, установленные при реализации методики в лаборатории, соответствующие массовой концентрации жиров в пробе с добавкой и рабочей пробе, мг/дм^3.

Примечание – Допустимо для расчета норматива контроля использовать значения характеристик погрешности, полученные расчетным путем по формулам $\Delta_{л_{X'}}=0{,}84\cdot\Delta_{X'}$ и $\Delta_{л_X}=0{,}84\cdot\Delta_X$ с последующим уточнением по мере накопления информации в процессе контроля стабильности результатов измерений.

13.2.4 Если результат контрольной процедуры удовлетворяет условию:

$$|K_к|\le K, \quad (7)$$

процедуру анализа признают удовлетворительной.

При невыполнении условия (7) контрольную процедуру повторяют с другой пробой воды. При повторном невыполнении условия (7), выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению.

14 Проверка приемлемости результатов, полученных в условиях воспроизводимости

14.1 Расхождение между результатами измерений, полученными в двух лабораториях, не должно превышать предела воспроизводимости R. При выполнении этого условия приемлемы оба результата измерений и в качестве окончательного может быть использовано их

общее среднее значение. Значение предела воспроизводимости рассчитывают по формуле

$$R = 2{,}77 \cdot \sigma_R. \quad (8)$$

14.2 При превышении предела воспроизводимости могут быть использованы методы оценки приемлемости результатов измерений согласно ГОСТ Р ИСО 5725-6 (раздел 5) или МИ 2881.

14.3 Проверку приемлемости проводят при необходимости сравнения результатов измерений, полученных двумя лабораториями.

Приложение А
(обязательное)

Методика приготовления аттестованного раствора жиров АР-Ж

А.1 Назначение и область применения

Настоящая методика регламентирует процедуру приготовления аттестованного раствора жиров, предназначенного для установления градуировочной характеристики приборов и контроля точности результатов измерений массовых концентраций жиров ИК-фотометрическим методом.

А.2 Метрологические характеристики

Аттестованное значение массовой концентрации жиров в растворе АР-Ж составляет 1,00 мг/см^3; границы погрешности установления аттестованного значения не превышают ±0,021 мг/см^3 при Р=0,95.

А. 3 Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы

А.3.1 Весы лабораторные высокого (II) класса точности по ГОСТ 24104-2001.

А.3.2 Колба мерная 2-го класса точности исполнения 2 по ГОСТ 1770-74 вместимостью 50 см^3 – 1 шт.

А.3.5 Стаканчик для взвешивания (бюкс) СВ-19/9 по ГОСТ 25336-82 .

А.3.6 Воронка лабораторная по ГОСТ 25336-82 диаметром 36 мм – 1 шт.

А.3.7 Шпатель по ГОСТ 9147-80.

А.4 Исходные компоненты аттестованных растворов

А.4.1 Тристеарин по ТУ 6-09-07-926-77, ч., очищенный согласно 10.1.6, с содержанием основного вещества в препарате не менее 98 %.

А.4.2 Углерод четыреххлористый по ГОСТ 20288-74, х.ч., или ТУ 6-09-3219-84, ос.ч.

А.5 Процедура приготовления аттестованного раствора жиров АР-Ж

Взвешивают в бюксе с точностью до четвертого знака после запятой 0,050 г очищенного тристеарина. Количественно переносят навеску в мерную колбу вместимостью 50 $см^3$, растворяют в четыреххлористом углероде, доводят объём раствора до метки и перемешивают.

Полученному раствору приписывают массовую концентрацию жиров 1,00 $мг/см^3$.

А.6 Расчет метрологических характеристик аттестованного раствора

А.6.1 Аттестованное значение массовой концентрации жиров в растворе АР-Ж С, $мг/см^3$, рассчитывают по формуле

$$C = \frac{m \cdot 1000}{V}, \qquad (А.1)$$

где m – масса навески тристеарина, г;

V – вместимость мерной колбы, $см^3$;

А.6.2 Расчет предела возможных значений погрешности приготовления аттестованного раствора АР-Ж, Δ, $мг/см^3$, выполняют по формуле

$$\Delta = C \cdot \sqrt{\left(\frac{\Delta_\mu}{\mu}\right)^2 + \left(\frac{\Delta_m}{m}\right)^2 + \left(\frac{\Delta_V}{V}\right)^2}, \qquad (А.2)$$

где Δ_μ - предельное значение возможного отклонения массовой доли основного вещества в реактиве от приписанного значения μ;

μ - массовая доля основного вещества (тристеарина) в реактиве, приписанная реактиву;

Δ_m - предельная возможная погрешность взвешивания, г;

m - масса навески тристеарина, г;

Δ_V - предельное значение возможного отклонения вместимости мерной колбы от номинального значения, $см^3$.

Предел возможных значений погрешности приготовления аттестованного раствора АР-Ж равен

$$\Delta = 1{,}0\sqrt{(\frac{2}{98})^2 + (\frac{0{,}0002}{0{,}050})^2 + (\frac{0{,}1}{50})^2} = 0{,}021 \text{ мг/см}^3.$$

А.7 Требования безопасности

Приготовление раствора АР-Ж необходимо проводить при включенной вытяжной вентиляции. Содержание четыреххлористого углерода в воздухе рабочей зоны не должно превышать установленных предельно допустимых концентраций в соответствии с ГОСТ 12.1.005.

А.8 Требования к квалификации операторов

Аттестованный раствор может готовить инженер или лаборант со средним профессиональным образованием, прошедший специальную подготовку и имеющий стаж работы в химической лаборатории не менее 6 мес.

А.9 Требования к маркировке

На склянку с аттестованным раствором должна быть наклеена этикетка с указанием условного обозначения раствора, величины массовой концентрации жиров, погрешности ее установления и даты приготовления раствора.

А.10 Условия хранения

Аттестованный раствор АР-Ж, следует хранить в холодильнике плотно закрытой склянке из темного стекла не более 3 мес.

Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды

ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ГИДРОХИМИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

344090, г. Ростов-на-Дону
пр. Стачки, 198

Факс: (8632) 22-44-70
Телефон (8632) 22-66-68

gost.e-ecolog.ru

СВИДЕТЕЛЬСТВО

об аттестации методики выполнения измерений **№ 159.24-09**

Методика выполнения измерений массовой концентрации жиров в водах ИК-фотометрическим методом,

разработанная Государственным учреждением Гидрохимический институт (ГУ ГХИ)

и регламентированная РД 52.24.504-2010 Массовая концентрация жиров в водах. Методика выполнения измерений ИК-фотометрическим методом,

аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563-96.

Аттестация осуществлена по результатам экспериментальных исследований.

В результате аттестации установлено, что методика выполнения измерений соответствует предъявляемым к ней метрологическим требованиям и обладает метрологическими характеристиками, приведенными в таблицах 1 и 2.

Таблица 1 – Диапазон измерений, значения характеристик погрешности и ее составляющих при принятой вероятности P=0,95

Диапазон измерений массовой концентрации жиров, X, мг/дм^3	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости) σ_r, мг/дм^3	Показатель воспроизводимости (среднеквадратическое отклонение воспроизводимости) σ_R, мг/дм^3	Показатель правильности (границы систематической погрешности) $\pm\Delta_c$, мг/дм^3	Показатель точности (границы погрешности) $\pm\Delta$, мг/дм^3
От 0,10 до 0,40 включ.	0,16·X	0,24·X	0,06	0,05+0,38·X
Св. 0,40 до 0,60 включ.	0,16·X	0,24·X	0,10	0,05+0,38·X

Таблица 2 - Диапазон измерений, значения пределов повторяемости и воспроизводимости при принятой вероятности P=0,95

Диапазон измерений массовой концентрации жиров X, мг/дм^3	Предел повторяемости (для двух результатов параллельных определений) r , мг/дм^3	Предел воспроизводимости (для двух результатов измерений) R, мг/дм^3
От 0,10 до 0,60 включ.	0,44·X	0,66·X

При реализации методики в лаборатории обеспечивают:

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

Алгоритм оперативного контроля исполнителем процедуры выполнения измерений приведен в РД 52.24.504-2010.

Периодичность оперативного контроля и процедуры контроля стабильности результатов выполнения измерений регламентируют в Руководстве по качеству лаборатории.

Дата выдачи свидетельства 05.06.2009 г.

Директор А.М. Никаноров

Главный метролог А.А. Назарова

gost.e-ecolog.ru