

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

СОГЛАСОВАНО:

Начальник отдела контроля качества



А.В.Карташова

Начальник отдела физ.-хим. методов анализа



Н.К.Куцева

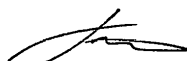
РАЗРАБОТЧИКИ:

Начальник сектора хроматографии



Н.М.Страхова

Ведущий инженер



Н.О.Пирогов

Инженер I категории



М.Ю.Гуцина

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, $\sigma_r(\delta)$, %	Показатель воспроизводимости, $\sigma_R(\delta)$, %	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 см³ по ГОСТ 1770, класс точности 2.

2.1.4. Мензурка вместимостью 500 см³ по ГОСТ 1770, класс точности 2.

2.1.5. Микрошприцы вместимостью 10, 25, 50 и 500 мм³ фирмы «Hamilton» (Швейцария).

2.1.6. Пипетки градуированные вместимостью 1 и 5 см³ по ГОСТ 29227, класс точности 2.

2.1.7. Цилиндр мерный вместимостью 100 см³ 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 встряхивать 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 см³, снабженные завинчивающимися крышками с тефлоновыми прокладками.

2.2.7. Флаконы герметично закрывающиеся вместимостью 5–10 см³, 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 флокулянт. 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 В, которые представляют собой соответственно

бидистиллированную воду и 0,15 % раствор фосфорной кислоты в метаноле. Объем вводимой пробы равен 5 мм³.

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°C.

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 см³ отмеряют 80 см³ ацетона, затем переливают в мерную колбу вместимостью 100 см³, 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 см³ помещают 500 см³ метанола, добавляют 0,75 см³ ортофосфорной кислоты и перемешивают.

8.4. Приготовление градуировочных растворов

Основной градуировочный раствор акриламида с массовой концентрацией 1000 мг/дм³ в бидистиллированной воде готовят следующим образом. В мерную колбу вместимостью 100 см³ взвешивают 100 мг акриламида, растворяют навеску примерно в 5 см³ 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/дм³ готовят путем разбавления основного раствора. Для этого в мерную колбу вместимостью 25 см³ помещают 2,5 см³ 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/дм³. Для приготовления растворов с массовыми концентрациями 1.0, 2.5, и 5.0 мг/дм³ в герметично закрывающиеся флаконы вместимостью 2 см³ микрошприцем помещают по 10, 25 и 50 мм³ промежуточного раствора и добавляют соответственно 990, 975 и 950 мм³ смеси ацетон:вода (8:2). Для приготовления растворов с массовыми концентрациями 10, 25 и 50,0 мг/дм³ в герметично закрывающиеся флаконы вместимостью 2 см³ микрошприцем помещают по 10, 25 и 50 мм³ основного раствора и добавляют соответственно 990, 975 и 950 мм³ 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 $0,4 \pm 0,01$ г и помещают во флакон вместимостью 5–10 см³, с помощью пипетки добавляют 4 см³ смеси ацетон:вода (8:2), герметично закупоривают и устанавливают в кассету лабораторного встряхивателя. Встряхивание производят в течение $16 \pm 0,5$ часов со скоростью 150–200 встряхиваний в минуту, затем переносят 0,5–1,0 см³ экстракта во флакон вместимостью 2 см³, 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:

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

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/дм³;

V – объем экстрагента (смеси ацетон:вода (8:2) в см³,

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 (τ). Значения τ 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

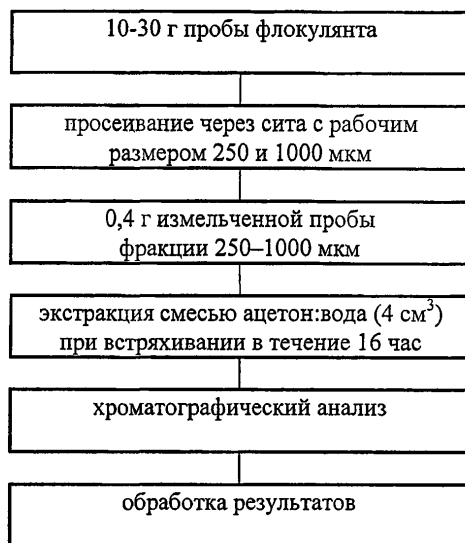
Диапазон измерений, мг/кг	Предел повторяемости (для двух результатов измерений), г, %	Предел воспроизводимости (для двух результатов измерений), R, %
от 10 до 60 вкл.	25	34
св. 60 до 1500 вкл.	20	28

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 С 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



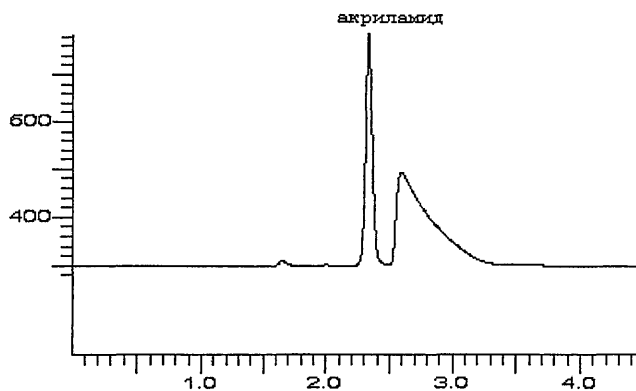
ПРИЛОЖЕНИЕ 2

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 ₂ O:MeOH+0.15%Н ₃ РO ₄ 90:10
Скорость потока	1 см ³ /мин
Температура	40 °С
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

620219, Екатеринбург,
ГСП-824,
ул. Красноармейская, 4

Факс: (3432) 502-039
Телефон: (3432) 502-618
E-mail: uniim@uniim.ru

«THE URALS RESEARCH INSTITUTE
FOR METROLOGY»-
STATE SCIENTIFIC
METROLOGICAL CENTRE

4, Krasnoarmeyskaya Str.,
620219, GSP-824, Ekaterinburg,
Russia

Факс: (3432) 502-039
Phone: (3432) 502-618
E-mail: uniim@uniim.ru

СВИДЕТЕЛЬСТВО № 224.09.11.159 / 2004

CERTIFICATE

об аттестации методики выполнения измерений

Методика выполнения измерений массовой концентрации акриламида во флокулянте методом высокоскоростной 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:

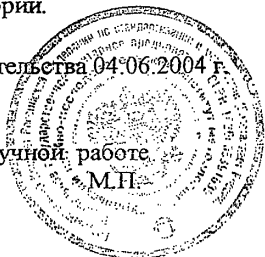
- контроль исполнителем процедуры выполнения измерений (на основе оценки погрешности при реализации отдельно взятой контрольной процедуры);
- контроль стабильности результатов измерений (на основе контроля стабильности среднеквадратического отклонения повторяемости, среднеквадратического отклонения внутрилабораторной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

Зам. директора по научной работе



И.Е.Добровинский