

**УРАЛЬСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МЕТРОЛОГИИ –
ФИЛИАЛ ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИТАРНОГО ПРЕДПРИЯТИЯ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МЕТРОЛОГИИ ИМЕНИ Д.И. МЕНДЕЛЕЕВА»**

УТВЕРЖДАЮ

Директор УНИИМ – филиала

ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева»

С.В. Медведевских



08

2020 г.

ГОСУДАРСТВЕННАЯ СИСТЕМА ОБЕСПЕЧЕНИЯ ЕДИНСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

Анализаторы фосфолипидов в растительных маслах АРС

МЕТОДИКА ПОВЕРКИ

МП 75-241-2020

Екатеринбург

2020

ПРЕДИСЛОВИЕ

1 РАЗРАБОТАНА УНИИМ – филиалом ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева»

2 ИСПОЛНИТЕЛЬ Зеньков Е.О.

3 УТВЕРЖДЕНА директором УНИИМ – филиала ФГУП «ВНИИМ им.Д.И.Менделеева» в августе 2020 г.

Государственная система обеспечения единства измерений Анализаторы фосфолипидов в растительных маслах АРС Методика поверки	МП 75-241-2020
---	-----------------------

Дата введения: август 2020 г.

1 Область применения

Настоящая методика поверки распространяется на анализаторы фосфолипидов в растительных маслах АРС (далее - анализаторы) производства ООО НПП «ФОРТ», г. Краснодар и устанавливает методы и средства первичной и периодической поверок.

Поверка анализаторов должна производиться в соответствии с требованиями настоящей методики. Интервал между поверками – один год.

2 Нормативные ссылки

В настоящей методике поверки использованы ссылки на следующие документы:

Приказ Минпромторга России № 1815 от 02.07.2015 «Об утверждении Порядка проведения поверки средств измерений, требования к знаку поверки и содержанию свидетельства о поверке»

Приказ Минтруда России №328н от 24.07.2013 «Об утверждении Правил по охране труда при эксплуатации электроустановок»

ГОСТ 12.2.007.0–75 Система стандартов безопасности труда. Изделия электротехнические. Общие требования безопасности

ГОСТ R OIML 76-1-2011 Государственная система обеспечения единства измерений. Весы неавтоматического действия. Часть 1. Метрологические и технические требования. Испытания

ГОСТ 1770-74 (ИСО 1042-83, ИСО 4788-80) Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 14261-77 Кислота соляная особой чистоты. Технические условия.

ГОСТ 24363-80 Реактивы. Калия гидроксид технические условия.

ГОСТ 10931-74 Реактивы. Натрий молибденовокислый 2-водный. Технические условия

ГОСТ 10262-73 Реактивы. Цинка окись. Технические условия

ГОСТ 5841-74 Реактивы. Гидразин сернокислый

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ 9147-80 Посуда и оборудование лабораторные фарфоровые. Технические условия

ГОСТ 10931-74 Реактивы. Натрий молибденовокислый 2-водный. Технические условия

ГОСТ 12026-76 Бумага фильтровальная лабораторная. Технические условия

ГОСТ 4204-77 Реактивы. Кислота серная. Технические условия

ГОСТ 25336-82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 1770-74 Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки. Общие технические условия

ГОСТ 14919-83 Электроплиты, электроплитки и жарочные электрошкафы бытовые. Общие технические условия

ГОСТ 19908-90 Тигли, чаши, стаканы, колбы, воронки, пробирки и наконечники из прозрачного кварцевого стекла. Общие технические условия

ГОСТ 25336-82 Посуда и оборудование лабораторные стеклянные. Типы, основные параметры и размеры

ГОСТ 28311-89 Дозаторы медицинские лабораторные. Общие технические требования и методы испытаний

3 Операции поверки

3.1 При поверке должны быть выполнены операции, указанные в таблице 1.

Таблица 1 – Операции поверки

Наименование операции	Номер пункта методики поверки	Обязательность проведения операций при	
		первичной поверке	периодической поверке
1 Внешний осмотр	8.1	да	да
2 Опробование	8.2	да	да
3 Проверка метрологических характеристик	8.3		
3.1 Проверка относительной погрешности измерений массовой доли фосфолипидов (в пересчете на стеароолеолецитин) в растительных маслах	8.3.1	да	да
3.2 Проверка диапазона измерений массовой доли фосфолипидов (в пересчете на стеароолеолецитин) в растительных маслах	8.3.2	да	да

3.2 В случае невыполнения требований хотя бы к одной из операций поверка прекращается, анализатор бракуется.

3.3 Допускается проведение периодической поверки анализаторов, используемых на меньшем числе поддиапазонов измерений, на основании письменного заявления владельца анализаторов, оформленного в произвольной форме. Сведения об объеме проведенной поверке указываются в свидетельстве о поверке.

4 Средства поверки

4.1 При проведении поверки применяют следующие средства поверки:

- стандартные образцы состава подсолнечных масел ГСО 11503-2020, комплект СОПМ (массовая доля фосфолипидов (в пересчете на стеароолеолецитин) от 0,2 % до 1,05 %, относительная погрешность ± 5 %);

- весы лабораторные I (специального) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с абс. погрешностью $\pm 0,5$ мг (регистрационный номер в Федеральном информационном фонде 28158-04);

- стандартный образец состава фосфат-ионов ГСО 7260-96 (массовая концентрация фосфат-ионов $0,5 \text{ мг/см}^3$, отн. погрешность $\pm 1,0$ %);

- спектрофотометр UV/VIS Excellence (регистрационный номер в Федеральном информационном фонде 64436-16);

- гигрометр Rotronic модификации HygroPalm исполнение HygroPalm 2, (диапазоны измерений: относительной влажности: (0 - 100) %, температуры (от минус 45 до +85) °C, абс. погрешность по каналу относительной влажности $\pm 1,0$ %, абс. погрешность по каналу температуры $\pm 0,2$ °C) (регистрационный номер в Федеральном информационном фонде 26379-04).

4.2 Допускается применение других средств поверки, обеспечивающих требуемую точность и диапазоны измерений.

5 Требования безопасности

При проведении поверки должны быть соблюдены «Правила по охране труда при эксплуатации электроустановок», утвержденные Приказом Минтруда России № 328н от 24 июля 2013 г., требования ГОСТ 12.2.007.0. Для выполнения измерений допускаются лица, прошедшие инструктаж и обученные работе с анализатором.

6 Условия поверки

При проведении поверки должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха, °C от 15 до 25;

- относительная влажность воздуха, %

от 20 до 80.

7 Подготовка к поверке

Анализатор подготовить к работе в соответствии с руководством по эксплуатации (далее - РЭ).

8 Проведение поверки

8.1 Внешний осмотр

При внешнем осмотре установить:

- отсутствие видимых повреждений анализатора;
- четкость обозначений и маркировки.

8.2 Опробование

8.2.1 Включить анализатор и запустить пробную процедуру измерения рабочей пробы или ГСО. Убедиться, что анализатор функционирует и результаты измерения выводятся на экран внешнего компьютера.

8.2.2 Провести проверку идентификационных данных ПО анализатора. Идентификационные данные ПО должны соответствовать указанным в таблице 2.

Таблица 2 – Идентификационные данные ПО

Идентификационные данные ПО	Значение для ПО	
	встроенного	внешнего
Идентификационное наименование ПО	-	Lipid
Номер версии ПО	1.3	не ниже 1.3.0
Цифровой идентификатор ПО	-	-

8.3 Проверка метрологических характеристик

8.3.1 Проверка относительной погрешности измерений массовой доли фосфолипидов (в пересчете на стеароолеолецитин) в растительных маслах (далее – массовой доли фосфолипидов в растительных маслах)

Проверку относительной погрешности измерений массовой доли фосфолипидов в растительных маслах провести с использованием ГСО, указанных в разделе 4 настоящей методики, и рабочих проб, в которых значения массовой доли фосфолипидов (в пересчете на стеароолеолецитин) определены по приложению А.

Измерения провести не менее, чем в двух точках каждого поддиапазона измерений (в начале и конце каждого поддиапазона измерений).

Произвести не менее пяти измерений массовой доли фосфолипидов в соответствии с РЭ в каждой точке каждого поддиапазона измерений.

Рассчитать среднее арифметическое значение (\bar{X}_j), СКО (S_j) и относительную погрешность, (δ_j), по формулам:

$$\bar{X}_j = \frac{\sum_{i=1}^n X_{ij}}{n}, \quad (1)$$

$$S_j = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_{ij} - \bar{X}_j)^2}{n-1}}, \quad (2)$$

$$\delta_j = \frac{\frac{tS_j}{\sqrt{n}} + |\bar{X}_j - A_j| + |\Delta A_j|}{\left[\frac{S_j}{\sqrt{n}} + \frac{|\bar{X}_j - A_j| + |\Delta A_j|}{\sqrt{3}} \right] A_j} \cdot \sqrt{\frac{(|\bar{X}_j - A_j| + |\Delta A_j|)^2}{3} + \frac{S_j^2}{n}} \cdot 100, \quad (3)$$

где X_{ij} – результат i -го измерения массовой доли фосфолипидов в j -ой пробе (ГСО), %;
 A_j – значение массовой доли фосфолипидов в j -ом ГСО или рабочей пробе, измеренное по Приложению А, %;

ΔA_j – абсолютная погрешность массовой доли фосфолипидов в j -ой пробе (ГСО), %;

t – коэффициент Стьюдента, который зависит от доверительной вероятности P и числа результатов наблюдений n , равен 2,78 для $n = 5$ $P = 0,95$;

n – количество измерений.

Полученные значения относительной погрешности измерений массовой доли фосфолипидов в растительных маслах должны удовлетворять требованиям таблицы 3.

8.3.2 Проверка диапазона измерений массовой доли фосфолипидов в растительных маслах (в пересчете на стеароолеолецитин)

Проверку диапазона измерений массовой доли фосфолипидов в растительных маслах (в пересчете на стеароолеолецитин) провести одновременно с определением погрешности по 8.3.1 (провести измерения массовой доли фосфолипидов в начале и конце каждого поддиапазона измерений).

Полученные значения диапазона измерений массовой доли фосфолипидов в растительных маслах (в пересчете на стеароолеолецитин) должны удовлетворять требованиям таблицы 3.

Таблица 3 - Метрологические характеристики

Наименование характеристики	Значение
Диапазон измерений массовой доли фосфолипидов (в пересчете на стеароолеолецитин) в растительных маслах, %	от 0,005 до 3,000
Пределы допускаемой относительной погрешности измерений массовой доли фосфолипидов (в пересчете на стеароолеолецитин) в растительных маслах, %, в поддиапазонах измерений:	
от 0,005 % до 0,050 % включ.	±40
св. 0,050 % до 0,100 % включ.	±20
св. 0,100 % до 3,000 % включ.	±10

9 Оформление результатов поверки

9.1 Оформить протокол проведения поверки в свободной форме.

9.2 Положительные результаты поверки оформляют выдачей свидетельства о поверке в соответствии с Приказом Минпромторга № 1815. Знак поверки в виде оттиска поверительного клейма наносится на свидетельство о поверке.

9.3 При отрицательных результатах поверки анализатор признают непригодным к дальнейшей эксплуатации и выдают извещение о непригодности с указанием причин в соответствии с Приказом Минпромторга № 1815.

Разработчик:

Инженер I кат. лаб. 241 УНИИМ – филиала
ФГУП «ВНИИМ им. Д.И. Менделеева»


Зеньков Е.О.

Приложение А (обязательное)

Процедура измерений массовой доли фосфолипидов в рабочих пробах

Значения массовой доли фосфолипидов (в пересчете на стеароолеолецитин) в рабочих пробах в поддиапазонах от 0,005 % до 0,050 % включ. и св. 0,100 % до 3,000 % включ. определяют по указанной ниже методике. Метрологические характеристики методики приведены в таблице А.4.

Значения массовой доли фосфолипидов (в пересчете на стеароолеолецитин) в рабочих пробах в поддиапазоне св. 0,050 до 0,100 определяют по ГОСТ 31753-2012, согласно которому отн. погрешность измерений в указанном поддиапазоне составляет ± 10 %.

Требования к средствам измерений, испытательному оборудованию, вспомогательным устройствам, материалам и химическим реактивам*

При выполнении измерений применяют следующие средства измерений, вспомогательные устройства, оборудование.

- весы лабораторные I (специального) класса точности по ГОСТ OIML R 76-1 с абс. погрешностью $\pm 0,5$ мг (регистрационный номер в Федеральном информационном фонде 28158-04);

- стандартный образец состава фосфат-ионов ГСО 7260-96 (массовая концентрация фосфат-ионов 0,5 мг/см³, отн. погрешность $\pm 1,0$ %);

- спектрофотометр UV/VIS Excellence (регистрационный номер в Федеральном информационном фонде 64436-16);

- Колбы мерные вместимостью 50, 100, 500, 1000 см³ по ГОСТ 1770;

- Дозаторы медицинские лабораторные по ГОСТ 28311 с варьированным объемом 0,05-5 см³; зарегистрирован в Госреестре СИ под номером 67614-17;

- Цилиндр 1-100-2 по ГОСТ 1770;

- Печь муфельная Nabertherm L 9/11;

- Плитка электрическая по ГОСТ 14919 закрытого типа, обеспечивающая нагрев в диапазоне 160 °С - 180 °С.

- Водяная баня-шейкер;

- Тигли фарфоровые В-50 по ГОСТ 19908;

- Гидразин серноокислый, ЧДА, по ГОСТ 5841, производства АО «Вектон».

- Натрий молибденовокислый 2-водный, ЧДА, по ГОСТ 10931 производства АО «Вектон».

- Цинка окись, ЧДА, по ГОСТ 10262 производства АО «Вектон».

- Кислота соляная особой чистоты по ГОСТ 14261-77, производства ООО «Компонент реактив».

- Калия гидроксид по ГОСТ 24363 производства АО «Вектон».

- Кислота серная по ГОСТ 4204.

- Вода деионизированная 18,0 М Ω или очищенная по ФС.2.2.0020.15, или вода дистиллированная по ГОСТ 6709.

- Эфир петролейный по ТУ 2631-074-44493179-01, производства АО «Экос-1».

- Бумага фильтровальная лабораторная Тип 1 по ГОСТ 12026.

* Примечание – Допускается применение других средств измерений, вспомогательных устройств и оборудования, обеспечивающих требуемую точность и диапазоны измерений.

А.1 Подготовка к выполнению измерений

А.1.1 Приготовление молибденового реагента (раствора молибденовокислого натрия)

Мерную колбу вместимостью 500 см³ заполняют наполовину дистиллированной водой, постепенно добавляют с помощью мерного цилиндра 140 см³ серной кислоты и охлаждают до комнатной температуры. После чего в полученный раствор количественно переносят около 12,5 г предварительно взвешенного молибденовокислого натрия.

После растворения навески доводят объем до метки дистиллированной водой и перемешивают. Раствор перед началом использования выдерживают в темном месте в течение 24 ч.

Полученный раствор хранят не более 30 суток в темном месте.

А.1.2 Приготовление 0,015 % раствора сульфата гидразина

Мерную колбу вместимостью 1000 см³ заполняют на треть объема дистиллированной водой, и добавляют (0,150±0,005) г. предварительно взвешенного сульфата гидразина. Перемешивают до полного растворения, доводят объем до метки дистиллированной водой и повторно перемешивают.

Полученный раствор хранится 6 месяцев в темном месте.

А.1.3 Приготовление 50 % раствора гидроксида калия

50 г гидроксида калия, взвешенной с точностью ±0,1 г, растворяют в дистиллированной воде в фарфоровой кружке, переносят в мерную колбу на 100 см³, охлаждают до комнатной температуры, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают.

А.1.4 Приготовления рабочего раствора фосфат ионов

Вскрывают ампулу СО состава фосфат-ионов, пипеткой отбирают 5 см³ раствора, переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят до метки дистиллированной водой. Приготовленный раствор хранят не более 30 суток в плотно закрытой колбе.

Расчет концентрации ионов фосфора в приготовленном растворе:

$$\Phi = \frac{\Phi И}{20} \cdot 0,326, \quad (A.1)$$

где Φ – массовая концентрация ионов фосфора, мг/см³;

$\Phi И$ – массовая концентрация фосфат-ионов согласно паспорту СО, мг/см³;

20- коэффициент разбавления;

0,326 - коэффициент пересчета фосфат-ионов в ионы фосфора.

А.1.5 Приготовление градуировочных растворов

А.1.5.1 Подготовка лабораторной посуды

Лабораторную посуду, используемую для определения фосфолипидов и других фосфорсодержащих веществ, не рекомендуется мыть бытовыми моющими средствами, так как они содержат соединения фосфора. Для мытья посуды следует применять раствор серной кислоты или воду. Для реализации методики рекомендуется использовать отдельный набор лабораторной посуды.

А.1.5.2 В мерные колбы вместимостью 50 см³ отбирают с помощью пипеток по 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0; 14,0 см³ рабочего раствора фосфат ионов (приготовленного по п. А.1.4) соответственно, и доводят объем в каждой колбе дистиллированной водой до 20 см³.

В каждую колбу приливают по 8 см³ раствора сульфата гидразина и 2 см³ раствора натрия молибденовокислого, хорошо перемешивают, выдерживают 10 мин на кипящей водяной бане, охлаждают до комнатной температуры и доводят дистиллированной водой до метки.

А.1.5.2 Раствор сравнения готовят по А.1.5.1. без добавления рабочего раствора.

А.1.5.3 Спектрофотометр готовят к работе согласно инструкции по эксплуатации. Измеряют оптическую плотность градуировочных растворов (п. А.1.5.1) при 650 нм относительно раствора сравнения (п. А.1.5.2).

А.1.6 Построение градуировочного графика

А.1.6.1 Для построения градуировочных графиков по оси абсцисс откладывают содержание фосфора в градуировочных растворах в мкг, по оси ординат - оптическую плотность. Градуировочные графики представляют собой прямые линии, проходящие через начало координат.

Также возможно использование вместо градуировочного графика уравнение зависимости содержания фосфора от оптической плотности вида $y = Ax + B$ с коэффициентом корреляции не ниже 0,99.

А.1.6.2 Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят периодически, но не реже одного раза в месяц, а также при приготовлении новых порций молибденового реагента. Образцами для контроля являются два заново приготовленных градуировочных раствора. Измеряют оптическую плотность приготовленных растворов и по действующему градуировочному графику вычисляют содержание фосфора. Градуировочная характеристика признается стабильной, если отклонение измеренных значений массовой концентрации фосфора от исходных не превышает $\pm 5\%$. Если это условие не выполняется, градуировочный график строят заново, используя новый молибденовый реагент.

А.2 Порядок выполнения измерений

А.2.1 Подготовка пробы

Пробу анализируемого растительного масла хорошо перемешивают и нагревают до температуры (70–75) °С. Пробу нерафинированного масла при наличии осадка фосфолипидов нагревают до температуры (100-105) °С до полного растворения осадка. Если масло остается мутным его следует профильтровать при температуре (70-80) °С через фильтровальную бумагу марки ФОБ.

А.2.2 В тигель отбирают навеску анализируемого растительного масла в зависимости от ориентировочного значения массовой доли фосфолипидов в пересчете на стеароолеолецитин в зависимости от вида масла в соответствии с таблицами А.1, А.2.

Таблица А.1 Ориентировочные значения массовой доли фосфолипидов в пересчете на стеароолеолецитин в зависимости от вида масла

Вид масла	Ориентировочное значение массовой доли фосфолипидов в пересчете на стеароолеолецитин, %
Рафинированное дезодорированное	0,004 – 0,10
Гидратированное и (или) рафинированное	0,10-0,30
Нерафинированное	0,30-3,0

Таблица А.2 – Масса навески в зависимости от предполагаемого значения массовой доли фосфолипидов в масле

Ориентировочное значение массовой доли фосфолипидов в пересчете на стеароолеолецитин, %	Масса навески, г
0,004 – 0,10	5-6
0,10-0,30	4-5
0,30-3,0	1-2

А.2.2.1 К навеске анализируемого масла, с записью результата до четвертого десятичного знака, добавляют (0,5±0,0500) г оксида цинка. В вытяжном шкафу в тигель добавляют 2 см³ петролейного эфира, слегка перемешивая вращательными движениями. В тигель вставляют фитиль из фильтровальной бумаги. После того, как масло впитается в фитиль, его поджигают. Сжигание осуществляют до полного обугливания образца

Затем тигель с обугленным остатком помещают в муфельную печь и прокаливают добела (озоляют) при температуре (650-700) °С в течение одного часа.

Тигель с золой охлаждают до комнатной температуры, после чего добавляют по 5 см³ дистиллированной воды и соляной кислоты. После этого тигель с содержимым нагревают на электроплите до растворения осадка.

Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, трижды ополаскивая тигель небольшими порциями дистиллированной воды.

А.2.2.2 К раствору, полученному по п. А.2.2.1, добавляют 50 % раствор гидроксида калия до легкого помутнения, вызванного выпавшим в осадок гидроксидом цинка и несколько капель соляной кислоты для растворения осадка и доводят до метки дистиллированной водой.

А.2.2.3 Из полученного раствора, в зависимости от ориентировочного значения массовой доли фосфолипидов, отбирают аликвоту (таблица А.3) и переносят в мерную колбу вместимостью 50 см³, добавляют 8 см³ раствора сульфата гидразина (п. А.1.2), 2 см³ молибденового реагента (п. А.1.1) и нагревают в течение 10 мин в кипящей водяной бане. После охлаждения содержимого до комнатной температуры, доводят объем дистиллированной водой до метки

Таблица А.3 – Аликвота в зависимости от предполагаемого значения массовой доли фосфолипидов в масле

Ориентировочное значение массовой доли фосфолипидов в пересчете на стеароолеолецитин, %	Аликвота, см ³
0,004 – 0,10	25-30
0,10-0,30	20
0,30-3,0	10

А.2.2.4 Измеряют оптическую плотность при длине волны 650 нм раствора, приготовленного по А.2.2.3, относительно раствора сравнения, приготовленного по А.1.5.2. Проводят два параллельных определения в условиях повторяемости.

А.3 Обработка результатов измерений

А.3.1 Массовую долю фосфолипидов в пересчете на стеароолеолецитин, %, вычисляют по формуле:

$$\Phi = \frac{10 \cdot A}{m \cdot V} \cdot 25,44 \quad (A.2)$$

где А – содержание фосфора в навеске образца, мг;

m – масса навески, г;

V- объем раствора, взятого на измерение, см³;

25,44 – коэффициент пересчета фосфора на стеароолеолецитин;

Φ - массовая доля фосфорсодержащих веществ в пересчете на стеароолеолецитин, %.

Значения относительной погрешности измерений массовой доли фосфолипидов (в пересчете на стеароолеолецитин) приведены в таблице А.4.

Таблица А.4 - Диапазон измерений, значения погрешности

Диапазон измерений массовой доли фосфолипидов (в пересчете на стеароолеолецитин), %	Границы относительной погрешности результата измерений при доверительной вероятности Р=0,95, %
от 0,004 до 0,1 вкл	25,5
от 0,1 до 3,0 вкл	5,5