

РУКОВОДСТВО

Расчёт концентраций компонентов в градуировочных растворах и калибровочных коэффициентов

*при приготовлении растворов в соответствии с новой
методикой, с использованием содержащегося в образцах
этанола в качестве внутреннего стандарта*



Версия Calc_SS_GOST

2026

Оглавление

Определения.....	3
Список сокращений и обозначений.....	4
Приготовление градуировочных растворов.....	5
Оборудование и лабораторная посуда	5
Реагенты, материалы и условия	5
Приготовление исходного водно-спиртового раствора (ВСП)	6
Градуировочные растворы	6
Приготовление градуировочного раствора А (4000-6000 мг/дм ³ б.с.).....	8
Приготовление градуировочного раствора В (400-600 мг/дм ³ б.с.).....	9
Приготовление градуировочного раствора С (220-270 мг/дм ³ б.с.).....	10
Приготовление градуировочного раствора D (180-220 мг/дм ³ б.с.).....	10
Приготовление градуировочного раствора 1 (20,0-30,0 мг/дм ³ б.с.).....	11
Приготовление градуировочного раствора 2 (9,00-12,0 мг/дм ³ б.с.).....	11
Приготовление градуировочного раствора 3 (1,80-2,20 мг/дм ³ б.с.).....	12
Приблизительные концентрации	13
Расчёт приблизительных значений концентрации летучих соединений в градуировочных растворах	13
Точные концентрации и RRF	16
Оборудование для газовой хроматографии (ГХ) и условия для ГХ	16
Холостая проба, хроматография ВСП	17
Предварительный тест, хроматография ГР С.....	18
Расчет калибровочных коэффициентов RRF и сертифицированных значений концентрации летучих соединений в ГР	18
Проверка линейности отклика детектора	20

Определения

Градуировочные растворы (ГР) – смеси летучих соединений ($i = 1, \dots, 9$) в водно-этанольных растворах (ВСР – водно-спиртовой раствор, тоже что WES – water-ethanol solution). Наборы ГР приготавливаются гравиметрическим (весовым) методом с применением аналитических весов и включают несколько уровней концентрации ($j = 1, \dots, 7$), в мг/дм^3 безводного этилового спирта (мг/л б.с.).

Назначение ГР. В модифицированном методе внутреннего стандарта (ММВС) для установления градуировочной (калибровочной) характеристики прибора используется один из ГР – раствор С. Остальные ГР (растворы А, В, D, 1, 2, 3) можно использовать для проверки линейности отклика детектора и как контрольные образцы для контроля стабильности, оценки точности, правильности градуировки.

Взвешивание (гравиметрический метод) и расчёт «аттестованных» значений. Для расчёта «аттестованных» значений концентраций компонентов в ГР является необходимым точное определение значений масс вносимых в ГР веществ (в мг, с точностью до 0,001 г) с применением аналитических весов. Именно на основании точных значений массы для каждого i -го летучего компонента m^i и ВСР m^{WES} в конкретном ГР рассчитываются «аттестованные» значения концентрации C^i летучих соединений в мг/дм^3 безводного этанола (мг/л б.с.).

Нулевое приближение. В нулевом приближении при расчётах полагают, что ВСР состоит только из воды и этанола, примеси ($i = 1, \dots, 9$) отсутствуют и их доли равны 0.

Первое и второе приближения – расчёты с учётом содержания примесей в ВСР.

«Аттестованные» значения концентрации используются для установления значений градуировочных (калибровочных) параметров $RRF_i^{\text{этанол}}$ (относительный фактор отклика, RRF от англ. Relative Response Factor), представляющих собой относительные коэффициенты отклика ПИД газового хроматографа на каждый исследуемый i -й летучий компонент относительно отклика на внутренний стандарт (этанол, содержащийся в образце) в зависимости от отношения концентраций компонента и этанола. Также знание «аттестованных» значений C^i летучих соединений в ГР А, В, D, 1, 2, 3 необходимо для оценки линейности отклика детектора и других контрольных процедур.

Список сокращений и обозначений

б.с. – безводный этиловый спирт;

ГР – градуировочный раствор;

BCP, WES – водно-спиртовой раствор, water-ethanol solution;

ММВС – модифицированный метод внутреннего стандарта;

$0_{\text{ар}}$ – индекс, показывающий, что расчёт выполняется в нулевом приближении;

$1_{\text{ар}}$ – индекс, показывающий, что расчёт выполняется в 1-м приближении;

$2_{\text{ар}}$ – индекс, показывающий, что расчёт выполняется во 2-м приближении;

ABV – объемная доля этилового спирта (от англ. Alcohol by volume), в % об.;

C^i – концентрация компонента i в растворе (в мг/л б.с.);

Eth – тоже, что *этанол*, индекс у параметров, относящихся к этанолу;

i – индекс, показывающий номер летучего компонента ($i = 1, \dots, 9$);

j – индекс, показывающий номер концентрационного уровня ГР ($j = 1, \dots, 7$);

k – индекс, показывающий номер повторного измерения раствора;

M – масса всего раствора (в мг);

m^{WES} – масса BCP (WES), внесённого при приготовлении раствора (в мг);

m^i – масса компонента i , внесённого при приготовлении раствора (в мг);

m^{Eth} – масса этанола, внесённого при приготовлении раствора (в мг);

N – число повторных хроматографических измерений определенного раствора ($N \geq 2$);

RRF – относительный фактор отклика (от англ. Relative Response Factor);

RRF_i^{Eth} – тоже, что и $RRF_i^{этанол}$. Это градуировочный коэффициент RRF для компонента i при использовании этанола в качестве внутреннего стандарта, безразмерная величина (характеристика линейной зависимости хроматографических данных при выборе осей: ось X – отношение площади пика i -го компонента к площади пика этанола на хроматограмме, ось Y – отношение концентрации i -го компонента к концентрации этанола, выраженных в мг/л б.с.), рассчитывается по методу наименьших квадратов;

P_i^i – содержание компонента i в реагенте i – чистота реагента (%);

W^i – массовая доля компонента i в растворе (г/г);

ρ_{Eth} – тоже, что и $\rho_{этанол}$, значение концентрации этанола в растворе (789270 мг/л при температуре 20 °C).

Приготовление градуировочных растворов

Оборудование и лабораторная посуда

- Весы лабораторные специального класса точности с пределом измерений 200 г и пределами допускаемой абсолютной погрешности однократного взвешивания не более $\pm 0,0005$ г по ГОСТ OIML R 76-1.
- Колбы мерные 2–100–2 по ГОСТ 1770.
- Колбы мерные 2–1000–2 по ГОСТ 1770.
- Цилиндр мерный 1–500–2 по ГОСТ 1770.
- Пикнометр ПЖ2-50 (КШ 10/19) ГОСТ 22524.
- Дозаторы пипеточные одноканальные переменного объема от 100 до 5000 мм³ по ГОСТ 28311.
- Прибор контроля параметров воздушной среды с допускаемой погрешностью измерений давления $\pm 1,0$ кПа; температуры $\pm 1,0$ °С; влажности $\pm 1,0$ %.

Реагенты, материалы и условия

При приготовлении растворов, подготовке проб и выполнении измерений соблюдают следующие условия окружающей среды: температура окружающего воздуха от 18 °С до 22 °С; атмосферное давление от 84,0 кПа до 106,7 кПа (от 630 мм рт. ст. до 800 мм рт. ст.); относительная влажность воздуха не более 80 %. Приготовление всех градуировочных растворов проводят в вытяжном шкафу. Срок годности растворов при хранении в холодильнике не более 6 месяцев.

Для изготовления раствора А в качестве исходных применяются реагенты «0» ($i = 1, \dots, 9$): ацетальдегид (этаналь), метилацетат, этилацетат, метанол, спирт изопропиловый (2-пропанол), спирт пропиловый (1-пропанол), 2-метил-1-пропанол (изобутанол), спирт бутиловый (1-бутанол), 3-метил-1-бутанол (изоамилол) со значениями массового содержания основного вещества (компонента i) – чистотой P_i^i не менее 99,0 %, г/г.

- Ацетальдегид аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 99,0 %.
- Метилацетат аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 99,0 %.

- Этилацетат аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 99,0 %.
- Метиловый спирт аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 99,0 %.
- Изопропиловый спирт аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 99,0 %.
- Пропиловый спирт аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 99,0 %.
- Изобутиловый спирт аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 99,0 %.
- Бутиловый спирт аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 99,0 %.
- Изоамиловый спирт аналитический стандарт с массовой долей основного вещества не менее 99,0 %.
- Этиловый спирт ректификованный из пищевого сырья с объемной долей этилового спирта не менее 96,0 % и массовой концентрацией метилового спирта не выше 8,00 мг/дм³ безводного спирта (объемной долей метилового спирта в пересчете на безводный спирт 0,001 %) по ГОСТ 5962. В Республике Беларусь действует СТБ 1334-2003, рекомендуется использовать этиловый спирт ректификованный из пищевого сырья сорта «Поречье Премиум».
- Вода дистиллированная по ГОСТ Р 58144.

Приготовление исходного водно-спиртового раствора (ВСР)

Цилиндром вместимостью 500 см³ отмеряют 415 см³ этилового ректификованного спирта из пищевого сырья и количественно переносят отмеренный объем в мерную колбу вместимостью 1000 см³. Добавляют приблизительно от 560 до 570 см³ дистиллированной воды и перемешивают. Раствор выдерживают при температуре окружающей среды в течение 30 мин, доводят дистиллированной водой до метки и перемешивают. Определяют плотность ВСР $\rho_{ВСР}$ и объемную долю этилового спирта в ВСР $ABV_{ВСР}, \% \text{ об.}$ по разделу 3 ГОСТ 3639 пикнометрическим методом.

Градуировочные растворы

Для работы по методике изготавливаются следующие ГР летучих компонентов:

- 40 % об. водно-спиртовой раствор (ВСР),

- "базовый" концентрированный ГР-А,
- ГР-С для установления калибровочных коэффициентов RRF,
- ГР для контроля (В, D, 1, 2, 3).

Для изготовления растворов В, С, D и 1 в качестве «базового» применяется раствор А, смешиваемый в разных количествах с чистым ВСР (без добавок).

Для изготовления растворов 2 и 3 в качестве «базового» применяется раствор С, смешиваемый в разных количествах с чистым ВСР.

Ориентировочные значения объемов V' и масс M' , которые вносят при приготовлении ГР, указаны в таблице 1. Следует подчеркнуть, что величины V' и M' являются лишь вспомогательными и используются для приблизительной оценки концентрации C' .

Таблица 1. Рекомендуемые объёмы (массы) реагентов, которые вносят при приготовлении ГР

j	Название раствора	Вносимый объём V' «базового» раствора компонента, см ³ (мл) и соответствующее приблизительное значение массы M' (г)	Вносимый объём ВСР, см ³ (мл)	Уровень концентрации, мг/дм ³ б.с. (мг/л б.с.)	Назначение ГР
1	А	0,250 мл θ_i (около 0,2 г)	97,8 мл (92,5 г)	4000-6000	контроль линейности
2	В	10 мл А (около 9,5 г)	90 мл (85,1 г)	400-600	контроль линейности
3	С	5 мл А (около 4,75 г)	95 мл (90 г)	240-300	градуировка
4	D	4 мл А (около 3,8 г)	96 мл (90 г)	180-240	контроль линейности, контроль стабильности
5	1	0,5 мл А (около 0,48 г)	99,5 мл (94 г)	25-40	контроль линейности
6	2	4 мл С (около 3,8 г)	96 мл (90 г)	10-25	контроль линейности
7	3	0,8 мл С (около 0,76 г)	99,1 мл (94 г)	2,0-5,0	контроль линейности
-	ВСР	водно-спиртовой раствор (водно-этанольная смесь) без добавок летучих компонентов			
-	θ_i	исходные реагенты (летучие вещества с чистотой P_i не менее 99,0%)			

Приготовление градуировочного раствора А (4000-6000 мг/дм³ б.с.)

- Мерную колбу вместимостью 100 см³ (мл) закрывают стеклянной крышкой, помещают на аналитические весы и взвешивают в точности до 0,1 мг. Значение массы записывают. После этого выполняют тарирование.
- Затем в колбу наливают около 40 мл ВСР (1-я порция), закрывают колбу стеклянной крышкой и проводят взвешивание. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают. После этого выполняют тарирование.
- Затем с использованием дозатора в колбу с 1-й порцией ВСР добавляют 3-метилбутан-1-ол (изоамиловый спирт, изоамилол) в количестве 0,250 мл (0,2 г), закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают ($m_{A,i}^i$, $i = 9$). Наконечник дозатора меняют. Выполняют тарирование.
- В колбу с помощью дозатора добавляют бутан-1-ол (н-бутиловый спирт, 1-бутанол) в количестве 0,250 мл (0,2 г), закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают ($m_{A,i}^i$, $i = 8$). Наконечник дозатора меняют. Выполняют тарирование.
- В колбу с помощью дозатора наливают 2-метилпропан-1-ол (изобутиловый спирт, изобутанол) в количестве 0,250 мл (0,2 г), закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают ($m_{A,i}^i$, $i = 7$). Наконечник дозатора меняют. Выполняют тарирование.
- В колбу с помощью дозатора наливают пропан-1-ол (н-пропиловый спирт, 1-пропанол) в количестве 0,250 мл (0,2 г), закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают ($m_{A,i}^i$, $i = 6$). Наконечник дозатора меняют. Выполняют тарирование.
- В колбу с помощью дозатора добавляют пропан-2-ол (втор-пропиловый спирт, 2-пропанол) в количестве 0,250 мл (0,2 г), закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают ($m_{A,i}^i$, $i = 5$). Наконечник дозатора меняют. Выполняют тарирование.
- В колбу с помощью дозатора наливают метиловый спирт (метанол) в количестве 0,250 мл (0,2 г), закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают ($m_{A,i}^i$, $i = 4$). Наконечник дозатора меняют. Выполняют тарирование.
- В колбу с помощью дозатора добавляют этилэтаноат (этилацетат) в количестве 0,250 мл (0,2 г), закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают.

Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают ($m_A^i, i = 3$). Наконечник дозатора меняют. Выполняют тарирование.

- В колбу с помощью дозатора наливают метилэтанол (метилацетат), в количестве 0,250 мл (0,2 г), закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают ($m_A^i, i = 2$). Наконечник дозатора меняют. Выполняют тарирование.
- Последним в колбу добавляют самый летучий компонент – этаналь (ацетальдегид) в количестве 0,250 мл (0,2 г), закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают ($m_A^i, i = 1$). Выполняют тарирование.
- Далее, в колбу с 1-й порцией ВСР и всеми добавленными летучими компонентами ($i = 1, \dots, 9$) доливают 2-ю порцию ВСР (около 57,8 мл, до метки объема 100 мл). Закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают.
- Колбу снимают с весов, значение массы на весах обнуляют. Колбу, содержащую весь приготовленный ГР А, закрытую крышкой, снова ставят на весы и взвешивают. Полученное точное значение массы ГР А с тарой (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают.
- Колбу с раствором ГР А выдерживают при температуре окружающей среды в течение 25 мин.

Приготовление градуировочного раствора В (400-600 мг/дм³ б.с.)

- Мерную колбу вместимостью 100 см³ (мл) закрывают стеклянной крышкой, помещают на аналитические весы и взвешивают в точности до 0,1 мг. Значение массы записывают. Выполняют тарирование. Затем в колбу наливают около 45 мл ВСР (1-я порция), закрывают колбу стеклянной крышкой и проводят взвешивание. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают.
- Выполняют тарирование колбы с 1-й порцией ВСР. Затем с использованием дозатора в колбу добавляют «базовый» раствор ГР А в количестве 10 мл (около 9,5 г), закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают (m_B^A).
- Выполняют тарирование колбы с 1-й порцией ВСР и добавленным «базовым» раствором. Далее, в колбу доливают 2-ю порцию ВСР (около 45 мл, до метки объема 100 мл). Закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают.

- Колбу снимают с весов, значение массы на весах обнуляют. Колбу, содержащую весь приготовленный ГР В, закрытую крышкой, снова ставят на весы и взвешивают. Полученное точное значение массы ГР В с тарой (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают.
- Колбу выдерживают при температуре окружающей среды в течение 25 мин.

Приготовление градуировочного раствора С (220-270 мг/дм³ б.с.)

- Мерную колбу вместимостью 100 см³ (мл) закрывают стеклянной крышкой, помещают на аналитические весы и взвешивают в точности до 0,1 мг. Значение массы записывают. Выполняют тарирование. Затем в колбу наливают около 45 мл ВСР (1-я порция), закрывают колбу стеклянной крышкой и проводят взвешивание. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают.
- Выполняют тарирование колбы с 1-й порцией ВСР. Затем с использованием дозатора в колбу с 1-й порцией ВСР добавляют «базовый» раствор ГР А в количестве 5 мл (около 4,75 г), закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают (m^A_C).
- Выполняют тарирование колбы с 1-й порцией ВСР и добавленным «базовым» раствором. Далее, в колбу доливают 2-ю порцию ВСР (около 50 мл, до метки объема 100 мл). Закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают.
- Колбу снимают с весов, значение массы на весах обнуляют. Колбу, содержащую весь приготовленный ГР С, закрытую крышкой, снова ставят на весы и взвешивают. Полученное точное значение массы ГР С с тарой записывают.
- Колбу выдерживают при температуре окружающей среды в течение 25 мин.

Приготовление градуировочного раствора D (180-220 мг/дм³ б.с.)

- Мерную колбу вместимостью 100 см³ (мл) закрывают стеклянной крышкой, помещают на аналитические весы и взвешивают в точности до 0,1 мг. Значение массы записывают. Выполняют тарирование. Затем в колбу наливают около 46 мл ВСР (1-я порция), закрывают колбу стеклянной крышкой и проводят взвешивание. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают.
- Выполняют тарирование колбы с 1-й порцией ВСР. Затем с использованием дозатора в колбу с 1-й порцией ВСР добавляют «базовый» раствор ГР А в количестве 4 мл (около 3,8 г), закрывают колбу крышкой, перемешивают и

взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают (m_D^A).

- Выполняют тарирование колбы с 1-й порцией ВСР и добавленным «базовым» раствором. Далее, в колбу доливают 2-ю порцию ВСР (около 50 мл, до метки объема 100 мл). Закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают.
- Колбу снимают с весов, значение массы на весах обнуляют. Колбу, содержащую весь приготовленный ГР D, закрытую крышкой, снова ставят на весы и взвешивают. Полученное точное значение массы ГР D с тарой записывают.
- Колбу выдерживают при температуре окружающей среды в течение 25 мин.

Приготовление градуировочного раствора 1 (20,0-30,0 мг/дм³ б.с.)

- Мерную колбу вместимостью 100 см³ (мл) закрывают стеклянной крышкой, помещают на аналитические весы и взвешивают в точности до 0,1 мг. Значение массы записывают. Выполняют тарирование. Затем в колбу наливают около 40 мл ВСР (1-я порция), закрывают колбу стеклянной крышкой и проводят взвешивание. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают.
- Выполняют тарирование колбы с 1-й порцией ВСР. Затем с использованием дозатора в колбу добавляют «базовый» раствор ГР А в количестве 0,5 мл (около 0,48 г), закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают (m_1^A).
- Выполняют тарирование колбы с 1-й порцией ВСР и добавленным «базовым» раствором. В колбу доливают 2-ю порцию ВСР (около 59,5 мл, до метки объема 100 мл). Закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают.
- Колбу снимают с весов, значение массы на весах обнуляют. Колбу, содержащую весь приготовленный ГР 1, закрытую крышкой, снова ставят на весы и взвешивают. Полученное точное значение массы ГР 1 с тарой записывают.
- Колбу выдерживают при температуре окружающей среды в течение 25 мин.

Приготовление градуировочного раствора 2 (9,00-12,0 мг/дм³ б.с.)

- Мерную колбу вместимостью 100 см³ (мл) закрывают стеклянной крышкой, помещают на аналитические весы и взвешивают в точности до 0,1 мг. Значение массы записывают. Выполняют тарирование. Затем в колбу наливают около 40 мл

ВСР (1-я порция), закрывают колбу стеклянной крышкой и проводят взвешивание. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают.

- Выполняют тарирование колбы с 1-й порцией ВСР. Затем с использованием дозатора в колбу добавляют «базовый» раствор ГР С в количестве 4 мл (около 3,8 г), закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают (m^C_2).
- Выполняют тарирование колбы с 1-й порцией ВСР и добавленным «базовым» раствором. Далее, в колбу доливают 2-ю порцию ВСР (около 56 мл, до метки объема 100 мл). Закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают.
- Колбу снимают с весов, значение массы на весах обнуляют. Колбу, содержащую весь приготовленный ГР 2, закрытую крышкой, снова ставят на весы и взвешивают. Полученное точное значение массы ГР 2 с тарой записывают.
- Колбу выдерживают при температуре окружающей среды в течение 25 мин.

Приготовление градуировочного раствора 3 (1,80-2,20 мг/дм³ б.с.)

- Мерную колбу вместимостью 100 см³ (мл) закрывают стеклянной крышкой, помещают на аналитические весы и взвешивают в точности до 0,1 мг. Значение массы записывают. Выполняют тарирование. Затем в колбу наливают около 40 мл ВСР (1-я порция), закрывают колбу стеклянной крышкой и проводят взвешивание. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают.
- Выполняют тарирование колбы с 1-й порцией ВСР. Затем с использованием дозатора в колбу добавляют «базовый» раствор ГР С в количестве 0,8 мл (около 0,76 г), закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают (m^C_3).
- Выполняют тарирование колбы с 1-й порцией ВСР и добавленным «базовым» раствором. Далее, в колбу доливают 2-ю порцию ВСР (около 59,2 мл, до метки объема 100 мл). Закрывают колбу крышкой, перемешивают и взвешивают. Полученное точное значение массы (в мг, с точностью до 0,1 мг) записывают.
- Колбу снимают с весов, значение массы на весах обнуляют. Колбу, содержащую весь приготовленный ГР 3, закрытую крышкой, снова ставят на весы и взвешивают.
- Колбу выдерживают при температуре окружающей среды в течение 25 мин.

Приблизительные концентрации

Расчёт приблизительных значений концентрации летучих соединений в градуировочных растворах

Для расчета «аттестованных» значений концентраций компонентов C_i в ГР необходимо точно определить массы веществ с помощью аналитических весов и записать их. *Для автоматического расчета значений массовой концентрации летучих соединений в ГР, приготовленных по этанольному методу, и значений RRF можно использовать бесплатное веб-приложение «Калькулятор концентраций летучих соединений в градуировочных растворах».*

Новый модифицированный метод внутреннего стандарта с использованием этанола в качестве эталонного вещества (ММВС) отличается от традиционных методов, в первую очередь тем, что концентрация веществ в градуировочных растворах выражается в единицах мг/дм^3 безводного спирта ($\text{мг/дм}^3 \text{ б.с.} = \text{мг/л б.с.}$).

Это даёт огромное преимущество при анализе алкогольных напитков, поскольку в них с высокой степенью точности можно установить концентрации летучих компонентов без использования информации о крепости алкогольного напитка.

Нулевое приближение (0_ар). В нулевом приближении (0_ар) в расчётах предполагается, что реагент этанола и ВСР состоят только из воды и этанола, а другие соединения - летучие микропримеси, отсутствуют, как и их фракции.

Массовая доля W_i^i соединения i в исходном реагенте в мг/мг :

$$W_i^i = \frac{P_i^i}{100 \%}, \quad (1)$$

где P_i^i - чистота реагента i , в %.

Массовая доля этанола W_{WES}^{Eth} в ВСР (WES):

$$W_{WES}^{Eth} = \frac{\rho_{Eth}}{\rho_{BCP}} \cdot \frac{ABV_{BCP}}{100}, \quad (2)$$

где ABV - крепость, %; ρ_{BCP} – плотность ВСР, в г/л при нормальных условиях; ρ_{Eth} -

плотность этанола при температуре 20 °C, $\rho_{Eth} = 789.270 \text{ g/L}$.

Массовая часть этанола W_A^{Eth} в ГР А:

$$W_A^{Eth} = \frac{m_A^{WES}}{m_A^{WES} + \sum_i m_A^i} \cdot W_{WES}^{Eth}, \quad (3)$$

где m_A^i – масса реагента i , внесённая в ГР А при его приготовлении, мг; m_A^{WES} – масса ВСР (далее используется сокращение WES), внесённая в ГР А при приготовлении, мг.

Массовая доля летучего компонента i в ГР А в мг/мг в n -приближении:

$$W_A^i(n_ap) = \frac{W_i^i \cdot m_A^i + W_{WES}^i(n_ap) \cdot m_A^{WES}}{m_A^{WES} + \sum_i m_A^i}, \quad (4)$$

где n – номер приближения; $W_{WES}^i(n_ap)$ – массовая доля компонента i в ВСР в n -приближении, мг/мг.

В нулевом приближении $W_{WES}^i(0_ap) = 0$ и поэтому:

$$W_A^i(0_ap) = \frac{W_i^i \cdot m_A^i}{m_A^{WES} + \sum_i m_A^i}. \quad (5)$$

Массовая концентрация $C_C^i(n_ap)$ компонента i в ГР С в мг/л б.с.:

$$C_C^i(n_ap) = \frac{W_A^i(n_ap) \cdot m_C^A + W_{WES}^i(n_ap) \cdot m_C^{WES}}{W_A^{Eth} \cdot m_C^A + W_{WES}^{Eth} \cdot m_C^{WES}} \cdot \rho_{Eth}, \quad (6)$$

где m_C^A – масса ГР А, добавленная в ГР С при его приготовлении, в мг; m_C^{WES} – масса ВСР, добавленная в ГР С при приготовлении, в мг; ρ_{Eth} – плотность безводного этанола при температуре 20 °C, $\rho_{Eth} = 789270 \text{ мг/л}$.

В нулевом приближении $W_{WES}^i(0_ap) = 0$ и поэтому:

$$C_C^i(0_ap) = \frac{W_{WES}^i(0_ap) \cdot m_C^A}{W_A^{Eth} \cdot m_C^A + W_{WES}^{Eth} \cdot m_C^{WES}} \cdot \rho_{Eth}, \quad (7)$$

где $C_C^i(0_ap)$ – массовая концентрация компонента i в ГР С в нулевом приближении мг/л б.с., $\rho_{Eth} = 789270$ мг/л.

В нулевом приближении массовая концентрация компонента i в ГР А $C_A^i(0_ap)$ и других ГР (обозначено как $C_{SS}^i(0_ap)$) в мг/л б.с.:

$$C_A^i(0_ap) = \frac{W_i^i \cdot m_A^i}{W_{WES}^{Eth} \cdot m_A^{WES}} \cdot \rho_{Eth}, \quad (8)$$

$$C_{SS}^i(0_ap) = \frac{W_{WES}^i(0_ap) \cdot m_{SS}^A}{W_A^{Eth} \cdot m_{SS}^A + W_{WES}^{Eth} \cdot m_{SS}^{WES}} \cdot \rho_{Eth}, \quad (9)$$

где m_{SS}^A – масса ГР А, добавленная в ГР при его приготовлении, в мг; m_{SS}^{WES} – масса ВСР, добавленная в ГР SS при приготовлении, в мг; ρ_{Eth} – плотность безводного этанола при температуре 20 °C, $\rho_{Eth} = 789270$ мг/л; ГР SS – ГР В, D, 1.

В нулевом приближении концентрация компонента i в ГР 2, 3, изготавливаемых из ГР С, вычисляется с использованием формул:

$$W_C^i(0_ap) = \frac{W_{WES}^i(0_ap) \cdot m_C^A}{(m_C^{WES} + m_C^A)}, \quad (10)$$

$$C_{SS}^i(0_ap) = \frac{W_C^i(0_ap) \cdot m_{SS}^C}{W_C^{Eth} \cdot m_{SS}^C + W_{WES}^{Eth} \cdot m_{SS}^{WES}} \cdot \rho_{Eth}, \quad (11)$$

Первое и второе приближения учитывают содержание примесей в этаноле и ВСР и позволяют вычислить наиболее точные значения концентрации летучих соединений и значения градуировочных коэффициентов RRF . Первоначально концентрации соединений в растворе С рассчитываются в 0-м приближении. Затем раствор ВСР и ГР С хроматографируются, пики летучих соединений и этанола интегрируются, и полученные значения площади пиков записываются. После этого выполняются расчёты в 1-м и 2-м приближениях. Это позволяет получить наиболее точные значения параметров.

Точные концентрации и RRF

Оборудование для газовой хроматографии (ГХ) и условия для ГХ

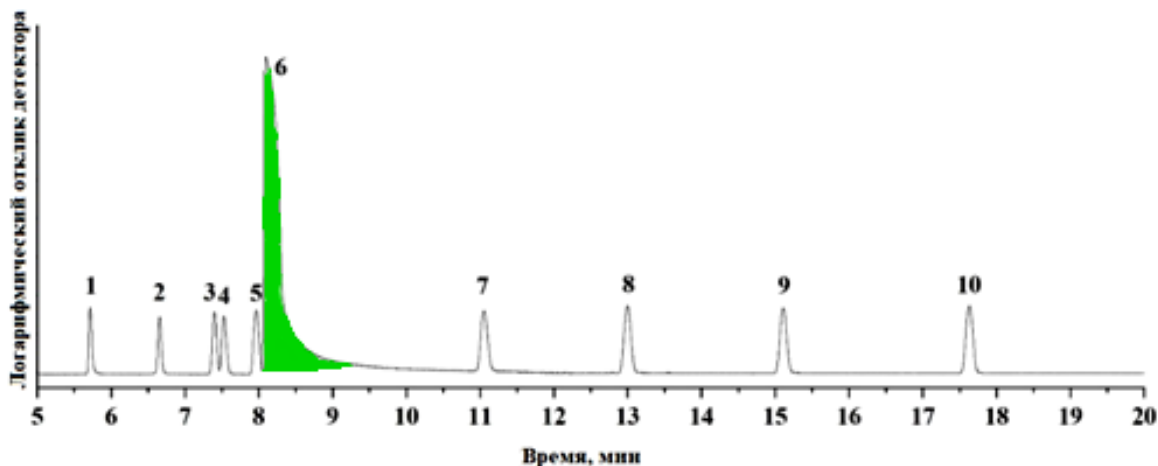
- Газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором (предел детектирования по углероду не более $2 \cdot 10^{-12}$ г/с; с погрешностью ОСКО выходного сигнала по площадям пиков $< 2 \%$).
- Колонка хроматографическая ZB-WAX 7KK-G007-22, длина 60 м, внутренний диаметр 0,53 мм, толщина фазы 1 мкм «Zebron», США.
- Вials вместимостью 2 см³ под обжимную крышку с септой PTFE «Agilent Technologies», США
- Кримпер для обжима вials.

Подготовку газового хроматографа проводят в соответствии с эксплуатационными документами. Устанавливают рабочие режимы термостата колонки, детектора, устанавливают давление газа-носителя. Условия хроматографирования подбирают в зависимости от вида применяемого газового хроматографа и хроматографической колонки.

При использовании газового хроматографа Хроматэк-Кристалл 5000.1 (Россия) и колонки ZB-WAX 7KK-G007-22 (США) измерения выполняют при следующих режимных параметрах хроматографа:

- детектор: пламенно-ионизационный;
- температура испарителя (инжектора), °C: 230;
- температура детектора, °C: 280;
- температура термостата колонок, первая изотерма, °C: 70;
- длительность первой изотермы, мин: 11;
- скорость программирования температуры, °C/мин: 10;
- температура термостата колонок, вторая изотерма, °C: 190;
- длительность второй изотермы, мин: 2,5;
- давление газа-носителя на входе в колонку, кПа: 26;
- коэффициент деления потока: 1:12;
- объемный расход воздуха, мл/мин: 200;
- объемный расход водорода, мл/мин: 20;
- объемный расход поддерживающего газа (make-up), мл/мин: 20;
- объем пробы, мм³: 1,0.

Допускается проведение анализа в других условиях хроматографирования, обеспечивающих полное разделение и последовательность выхода веществ, аналогичное приведенному на рисунке:



1 – этаналь (ацетальдегид); 2 – метилэтанойл (метилацетат); 3 – этилэтанойл (этилацетат);
4 – метанол (метиловый спирт); 5 – пропан-2-ол (втор-пропиловый спирт); 6 – этанол (этиловый спирт);
7 – пропан-1-ол (н-пропиловый спирт); 8 – 2-метилпропан-1-ол (изобутиловый спирт);
9 – бутан-1-ол (н-бутиловый спирт); 10 – 3-метилбутан-1-ол (изоамиловый спирт)

В зависимости от применяемого газового хроматографа и хроматографической колонки и для улучшения разделения пиков летучих компонентов от посторонних примесей допускается изменение температуры термостата колонки, скорости подвижной фазы, объема вводимой пробы и других параметров хроматографического разделения. Объем вводимой пробы зависит от чувствительности детектора.

Проводят стабилизацию работы хроматографа в режиме хроматографирования в течение 30–40 мин. Контролируют шум и дрейф нулевой линии на соответствие эксплуатационным документам прибора.

Образцы наливают в микроалы и закрывают септами и крышками, обжимают с помощью кримпера. В испаритель микрошприцем вместимостью 10 мм³ вводят 1 мм³ испытуемого образца и выполняют его газохроматографическое измерение. По окончании проводят идентификацию пиков летучих компонентов и этанола по времени. При интегрировании пика этанола рекомендуется использовать “долина-к-долине”.

Холостая проба, хроматография ВСП

Зарегистрируйте 2-3 хроматограммы ВСП. Измерьте площади пиков летучих соединений и этанола и полученные значения запишите.

Предварительный тест, хроматография ГР С

В хроматограф вводят ГР С и проверяют условия, чтобы было обеспечено разделение всех аналитов с минимальным разрешением 1,3.

Измерьте площади пиков летучих соединений и этанола и запишите значения площадей пиков. Калибровочный раствор С хроматографируют не менее двух раз..

Расчет калибровочных коэффициентов RRF и сертифицированных значений концентрации летучих соединений в ГР

Градуировочные характеристики, выражающие зависимость отношения площадей пиков i -го вещества ($A_{C,k}^i$) и этилового спирта ($A_{C,k}^{Eth}$) от отношений концентраций (мг/дм³ б.с.) i -го вещества и этилового спирта устанавливают по ГР С. Расчет градуировочных коэффициентов в нулевом приближении выполняют по формуле:

$$RRF_i^{Eth}(0_ap) = \frac{C_C^i(0_ap)}{\rho_{Eth}} \cdot \frac{\sum_{k=1}^{N_C} (A_{C,k}^i / A_{C,k}^{Eth})}{\sum_{k=1}^{N_C} (A_{C,k}^i / A_{C,k}^{Eth})^2}, \quad (12)$$

N_C – число повторных измерений ГР С ($N_C \geq 2$).

Первое и второе приближения представляют собой расчёты, учитывающие содержание примесей в ВСР и позволяющие получить наиболее точные значения концентрации летучих соединений и значения RRF .

В 1-м приближении, массовая концентрация $C_{WES}^i(1_ap)$ компонента i в ВСР в мг/л б.с. и массовая доля $W_{WES}^i(1_ap)$ компонента i в ВСР в мг/мг:

$$C_{WES}^i(1_ap) = RRF_i^{Eth}(0_ap) \cdot \rho_{Eth} \cdot \frac{1}{N_{WES}} \sum_{k=1}^{N_{WES}} \frac{A_{WES,k}^i}{A_{WES,k}^{Eth}}, \quad (13)$$

$$W_{WES}^i(1_ap) = \frac{C_{WES}^i(1_ap) \cdot ABV_{BCP}}{\rho_{BCP} \cdot 100}, \quad (14)$$

где $A_{WES,k}^i$ – отклик детектора (площадь пика) для компонента i , полученная при k -ом

измерении ВСП, в ед.площади пика; $A_{WES,k}^{Eth}$ – отклик детектора (площадь пика) на этанол, полученная при k -ом измерении ВСП, в ед.площади пика; N_{WES} – число повторных измерений ВСП ($N_{WES} \geq 2$); ABV_{BCP} – крепость ВСП, %; ρ_{WES} – плотность ВСП, в мг/л.

В 1-м приближении, массовая доля $W_A^i(1_ap)$ компонента i в ГР А в мг/мг:

$$W_A^i(1_ap) = \frac{W_i^i \cdot m_A^i + W_{WES}^i(1_ap) \cdot m_A^{WES}}{m_A^{WES} + \sum_i m_A^i}. \quad (4'')$$

В 1-м приближении, массовая концентрация $C_C^i(1_ap)$ компонента i в ГР С в мг/л б.с.:

$$C_C^i(1_ap) = \frac{W_A^i(1_ap) \cdot m_C^A + W_{WES}^i(1_ap) \cdot m_C^{WES}}{W_A^{Eth} \cdot m_C^A + W_{WES}^{Eth} \cdot m_C^{WES}} \cdot \rho_{Eth}. \quad (6'')$$

Коэффициенты $RRF_i^{Eth}(1_ap)$ в 1-м приближении:

$$RRF_i^{Eth}(1_ap) = \frac{C_C^i(1_ap)}{\rho_{Eth}} \cdot \frac{\sum_{k=1}^{N_C} (A_{C,k}^i / A_{C,k}^{Eth})}{\sum_{k=1}^{N_C} (A_{C,k}^i / A_{C,k}^{Eth})^2}. \quad (12'')$$

Во 2-м приближении, массовая концентрация $C_{WES}^i(2_ap)$ компонента i в ВСП в мг/л б.с. и массовая доля $W_{WES}^i(2_ap)$ компонента i в ВСП в мг/мг:

$$C_{WES}^i(2_ap) = RRF_i^{Eth}(1_ap) \cdot \rho_{Eth} \cdot \frac{1}{N_{WES}} \sum_{k=1}^{N_{WES}} \frac{A_{WES,k}^i}{A_{WES,k}^{Eth}}, \quad (13'')$$

$$W_{WES}^i(2_ap) = \frac{C_{WES}^i(2_ap) \cdot ABV}{\rho_{WES} \cdot 100}. \quad (14'')$$

Во 2-м приближении, массовая доля $W_A^i(2_ap)$ компонента i в ГР А в мг/мг:

$$W_A^i(2_ap) = \frac{W_i^i \cdot m_A^i + W_{WES}^i(2_ap) \cdot m_A^{WES}}{m_A^{WES} + \sum_i m_A^i}. \quad (4'')$$

Во 2-м приближении, массовая концентрация $C_C^i(2_ap)$ компонента i в ГР С в мг/л б.с.:

$$C_C^i(2_ap) = \frac{W_A^i(2_ap) \cdot m_C^A + W_{WES}^i(2_ap) \cdot m_C^{WES}}{W_A^{Eth} \cdot m_C^A + W_{WES}^{Eth} \cdot m_C^{WES}} \cdot \rho_{Eth}. \quad (6'')$$

Наиболее точные значения массовой концентрации в ГР А $C_A^i(2_ap)$ и в других ГР SS (B, D, 1) $C_{SS}^i(2_ap)$ в мг/л б.с. рассчитываются во 2-м приближении:

$$C_A^i(2_ap) = \frac{W_i^i \cdot m_A^i + W_{WES}^i(2_ap) \cdot m_A^{WES}}{W_{WES}^{Eth} \cdot m_A^{WES}} \cdot \rho_{Eth}, \quad (15)$$

$$C_{SS}^i(2_ap) = \frac{W_A^i(2_ap) \cdot m_{SS}^A + W_{WES}^i(2_ap) \cdot m_{SS}^{WES}}{W_A^{Eth} \cdot m_{SS}^A + W_{WES}^{Eth} \cdot m_{SS}^{WES}} \cdot \rho_{Eth}. \quad (16)$$

Во 2-м приближении концентрация компонента i в ГР 2, 3, изготавливаемых из ГР С, вычисляется с использованием формул:

$$W_C^i(2_ap) = \frac{W_{WES}^i(2_ap) \cdot m_C^A}{(m_C^{WES} + m_C^A)}, \quad (17)$$

$$C_{SS}^i(2_ap) = \frac{W_C^i(2_ap) \cdot m_{SS}^C}{W_C^{Eth} \cdot m_{SS}^C + W_{WES}^{Eth} \cdot m_{SS}^{WES}} \cdot \rho_{Eth}, \quad (18)$$

Наиболее точные значения коэффициентов $RRF_i^{Eth}(2_ap)$ рассчитываются во 2-м приближении:

$$RRF_i^{Eth}(2_ap) = \frac{C_C^i(2_ap)}{\rho_{Eth}} \cdot \frac{\sum_{k=1}^{N_C} (A_{C,k}^i / A_{C,k}^{Eth})}{\sum_{k=1}^{N_C} (A_{C,k}^i / A_{C,k}^{Eth})^2}, \quad (12'')$$

Проверка линейности отклика детектора

Проверку линейности отклика проводят путем хроматографического измерения всех градуировочных растворов А, В, D, 1, 2, 3, кроме ГР С, раз в полгода, а также при смене

колонок и после ремонта хроматографа.

Строят линейные зависимости:

- х-ось: концентрация летучего компонента i в ГР (мг/л б.с.) / плотность безводного этанола (789270 мг/л) C_{SS}^i / ρ_{Eth} ;
- у-ось: отклик детектора на компонент i (площадь пика), полученный при измерении ГР / отклик детектора на этанол (площадь пика), полученный при измерении ГР $A_{SS,k}^i / A_{SS,k}^{Eth}$.

Концентрация этанола во всех растворах в единицах измерения мг/л б.с. равна плотности безводного этанола 789270 мг/л, поэтому $C_{SS}^{Eth} / \rho_{Eth} = 1$.

Для установления коэффициента аппроксимации R^2 используют программное обеспечение для газового хроматографа. При проверке линейности отклика детектора рекомендуется использование линейной регрессии без интерсепта.

Коэффициент аппроксимации R^2 должен быть не менее 0,995. Если коэффициент аппроксимации менее 0,995, выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и принимают меры по их устранению..