МИНИСТЕРСТВО ПРИРОДНЫХ РЕСУРСОВ И ЭКОЛОГИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральная служба по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды (Росгидромет)

РУКОВОДЯЩИЙ ДОКУМЕНТ

РД 52.24.513-2014

МАССОВАЯ ДОЛЯ 4 – 7 ЯДЕРНЫХ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ

Методика измерений люминесцентным методом с использованием тонкослойной хроматографии

Ростов-на-Дону
2016

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Федеральным государственным бюджетным учреждением «Гидрохимический институт» (ФГБУ «ГХИ»)

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

3 СОГЛАСОВАН с Федеральным государственным бюджетным учреждением «Научно-производственное объединение «Тайфун» (ФГБУ «НПО «Тайфун») 06.12.2013 и Управлением мониторинга загрязнения окружающей среды, полярных и морских работ (УМЗА) Росгидромета 16.01.2014

4 УТВЕРЖДЕН Заместителем Руководителя Росгидромета 17.01.2014

ВВЕДЁН В ДЕЙСТВИЕ приказом Росгидромета от 11.03.2014 № 103

5 АТТЕСТОВАН ФГБУ «ГХИ», свидетельство об аттестации методики измерений № 513.01.00175-2013 от 21.06.2013

6 ЗАРЕГИСТРИРОВАН ЦМТР ФГБУ «НПО «Тайфун» за номером РД 52.24.513-2014 от 17.02.2014

Внесен в Федеральный реестр методик выполнения измерений, применяемых в сферах распространения государственного метрологического контроля и надзора за номером ФР.1.31.2015.20591

7 ВЗАМЕН РД 52.24.513-2002 «Методические указания. Методика выполнения измерений массовой концентрации 4-7 ядерных полициклических ароматических углеводородов (ПАУ) в донных отложениях с использованием тонкослойной хроматографии и люминесценции»

© Росгидромет, ФГБУ «ГХИ, 2014

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Требования к показателям точности измерений 2
4 Требования к средствам измерений, вспомогательным устройствам, реактивам, материалам 2
4.1 Средства измерений, вспомогательные устройства 2
4.2 Реактивы и материалы 4
5 Метод измерений 5
6 Требования безопасности, охраны окружающей среды 5
7 Требования к квалификации операторов 6
8 Требования к условиям измерений 6
9 Подготовка к выполнению измерений 6
9.1 Отбор и хранение проб 6
9.2 Приготовление растворов и реактивов 6
9.3 Подготовка вспомогательных материалов и посуды 7
9.4 Подготовка хроматографической пластинки 7
9.5 Подготовка подвижной фазы 8
9.6 Подготовка прибора 8
9.7 Приготовление градуировочных растворов 8
9.8 Приготовление градуировочных образцов 8
9.9 Контроль стабильности градуировочной характеристики 9
10 Порядок выполнения измерений 10
10.1 Выполнение холостого опыта 10
10.2 Экстракция 10
10.3 Тонкослойная хроматография 10
10.4 Элюирование 11
10.5 Измерение 11
11 Обработка результатов измерений 11
12 Оформление результатов измерений 12
13 Контроль качества результатов измерений при реализации методики в лаборатории 13
13.1 Общие положения 13
13.2 Алгоритм контроля процедуры выполнения измерений с использованием метода добавок 13
14 Проверка приемлемости результатов, полученных в условиях воспроизводимости 14
Приложение А (рекомендуемое) Методика приготовления аттестованного раствора АР-БП для установления градуировочных характеристик приборов и контроля точности измерений массовой доли ПАУ в донных отложениях с использованием тонкослойной хроматографии и люминесции 15

Введение

Полициклические ароматические углеводороды (далее – ПАУ) относятся к числу наиболее опасных веществ, загрязняющих объекты природной среды. ПАУ представляют собой высокомолекулярные органические соединения, молекулы которых состоят из двух или более конденсированных бензольных колец и содержат атомы углерода и водорода. В зависимости от расположения колец в атоме (линейное, угловое, кластерное) различные соединения ПАУ обладают разной канцерогенностью.

Источники распространения загрязнения канцерогенными и токсичными ПАУ имеют антропогенное или техногенное (промышленность, транспорт), абиогенное (вулканическая деятельность, месторождения полезных ископаемых) и биогенное (синтез микроорганизмами и растениями) происхождение. В настоящее время самый значительный вклад вносят техногенные источники, основными из которых являются отопительные системы, выхлопные газы автотранспорта и авиации, промышленные выбросы.

Попадая в водный объект ПАУ, участвуют в физических, химических, биохимических процессах, протекающих в водных объектах, взаимодействуют с взвешенными веществами, гидробионтами (макрофитами, планктоном, бентосом). Они способны накапливаться в донных отложениях в результате процессов седиментации и биоседиментации. Содержание их в донных отложениях в 10^2 –10^5 раз больше, чем в водной среде.

Определение содержания ПАУ в водной среде характеризует свежее загрязнение, а накопление их в донных отложениях свидетельствует о длительном процессе загрязнения.

Существующие методы определения ПАУ трудоемки и требуют дорогого и сложного оборудования и высококвалифицированного персонала, что затрудняет их широкое использование в практических сетевых лабораториях.

В связи с этим представляется целесообразным использование в мониторинге двухуровневой системы информации.

Настоящая методика позволяет сравнительно быстро получать рекогносцировочную оценку суммарного содержания наиболее опасных техногенных 4-7 ядерных ПАУ в пересчете на бенз(а)пирен (1-й уровень) и выделять зоны с повышенным содержанием, подлежащие более детальному контролю их компонентного состава (2-й уровень). Соединения из группы 4-7 ядерных ПАУ имеют различающиеся спектры люминесценции и, соответственно, дают различный отклик при заданных в методике условиях определения. Для информации в таблице 1 приведены относительные величины аналитических сигналов, обусловленных присутствием в пробе различных ПАУ при измерении их на приборе «Флюорат-02».

Таблица 1- Относительные величины аналитического сигнала

Компонент	Относительная величина сигнала
Бенз(а)пирен	1,00
Пирен	0,24
Хризен	0,01
Бенз(k)флюорантен	8,93
Дибенз(a,h)антрацен	1,00
Бенз(ghi)перилен	0,002

РУКОВОДЯЩИЙ ДОКУМЕНТ

МАССОВАЯ ДОЛЯ 4 – 7 ЯДЕРНЫХ ПОЛИЦИКЛИЧЕСКИХ АРОМАТИЧЕСКИХ УГЛЕВОДОРОДОВ В ДОННЫХ ОТЛОЖЕНИЯХ

Методика измерений люминесцентным методом с использованием тонкослойной хроматографии

Дата введения – 2014–04–02

1 Область применения

1.1 Настоящий руководящий документ устанавливает методику измерений массовой концентрации ПАУ люминесцентным методом с использованием тонкослойной хроматографии в донных отложениях в диапазоне от 60 до 600 нг/г сухого остатка (далее – с.о.) в пересчете на бенз(а)пирен.

Допускается выполнение измерений в донных отложениях с массовой долей ПАУ, превышающей 600 нг/г с.о. при разбавлении элюата перед измерением.

1.2 Настоящий руководящий документ предназначен для применения в лабораториях, осуществляющих анализ донных отложений водных объектов.

2 Нормативные ссылки

В настоящем руководящем документе использованы нормативные ссылки на следующие документы:

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

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

ГОСТ 17.1.5.01-80 Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб донных отложений водных объектов для анализа на загрязненность

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

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

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

РД 52.24.609-2013 Организация и проведение наблюдений за содержанием загрязняющих веществ в донных отложениях

Примечание – Ссылки на остальные нормативные документы приведены в разделе 4.

3 Требования к показателям точности измерений

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 2.

Таблица 2 – Диапазон измерений, значения характеристик погрешности и ее составляющих при принятой вероятности P=0,95

Диапазон измерений массовой доли ПАУ (в пересчете на бенз(а)пирен) X, нг/г с.о.	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости) σ_r, нг/г с.о.	Показатель воспроизводимости (среднеквадратическое отклонение воспроизводимости) σ_R, нг/г с.о.	Показатель правильности (границы систематической погрешности) $\pm\Delta_c$, нг/г с.о.	Показатель точности (границы погрешности) $\pm\Delta$, нг/г с.о.
От 60 до 360 включ.	0,13·X	0,16·X	0,12·X	0,33·X
Св. 360 до 600 включ.	0,078·X	0,094·X	0,09·X	0,20·X

При выполнении измерений в пробах с массовой долей ПАУ, превышающей 600 нг/г с.о. при разбавлении элюата погрешность измерений не превышает значений, рассчитанных по приведенной в таблице 2 зависимости.

3.2 Значения показателя точности методики измерений используют при:

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

4 Требования к средствам измерений, вспомогательным устройствам, реактивам, материалам

4.1 Средства измерений, вспомогательные устройства

4.1.1 Флюориметр лабораторный (например, «Квант-9», «Флюорат-02») или другой с аналогичными характеристиками.

4.1.2 Весы с неавтоматическим установлением показаний среднего (III) класса точности по ГОСТ Р 53228-2008, максимальная нагрузка не более 200 г, дискретность отсчёта 0,0001 г.

4.1.3 Государственный стандартный образец раствора бенз(а)пирена с массовой концентрацией 100 мкг/см^3 (далее – ГСО) ГСО 7515-98.

4.1.4 Колбы мерные 2-го класса точности исполнения 2 по ГОСТ 1770-74 вместимостью: 10 $см^3$ – 1 шт.; 25 $см^3$ – 6 шт.

4.1.5 Пипетки градуированные 2-го класса точности исполнения 1,2 по ГОСТ 29227-91 вместимостью: 1 $см^3$ – 3 шт., 2 $см^3$ – 1 шт.; 5 $см^3$ –1 шт.; 10 $см^3$ – 2 шт.

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

4.1.7 Пробирки исполнения 2 с притертыми стеклянными пробками по ГОСТ 1770-74 вместимостью 10 $см^3$ – 5 шт.

4.1.8 Колбы конические Кн исполнения 1 по ГОСТ 25336-82 с притертой стеклянной пробкой вместимостью 50 $см^3$ – 5 шт.

4.1.9 Пипетки Пастера с тонким оттянутым концом по ТУ 9464–001–52876351-2000 – 6 шт.

4.1.10 Стаканы, тип Н, исполнение 1 по ГОСТ 25336-82 вместимостью: 10 $см^3$ – 6 шт., 50 $см^3$ – 5 шт.

4.1.11 Воронка лабораторная, тип В, по ГОСТ 25336-82 диаметром 36 мм – 5 шт.

4.1.12 Осветитель ртутно-кварцевый с лампой ПРК и светофильтром УФС-6 или облучатель хроматографический УФС-254/365.

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

4.1.14 Ванна ВП-3,0 по ГОСТ 25336-82.

4.1.15 Пластинки стеклянные хроматографические, изготовленные из стекла оконного (стекло листовое по ГОСТ 111–90, толщиной 4 мм) размером 12 см × 18 см – 3 шт.

4.1.16 Палочки стеклянные диаметром 4 мм и длиной 150 мм – 5 шт.

4.1.17 Шарики стеклянные диаметром 6-7 мм – 3 шт.

4.1.18 Чашка выпарительная № 3 по ГОСТ 9147-80 вместимостью 100 $см^3$.

4.1.19 Установка из стекла для перегонки растворителей (круглодонная колба типа К-1 взаимозаменяемым конусом 29/32, ТС, вместимостью 1 $дм^3$, елочный дефлегматор длиной не менее 350 мм со взаимозаменяемыми конусами 19/26 и 29/32, насадка Н1 с взаимозаменяемыми конусами 19/26-14/23-14/23, холодильник типа ХПТ-1).

4.1.20 Флаконы стеклянные с притертыми пробками для хранения растворов вместимостью 25 $см^3$.

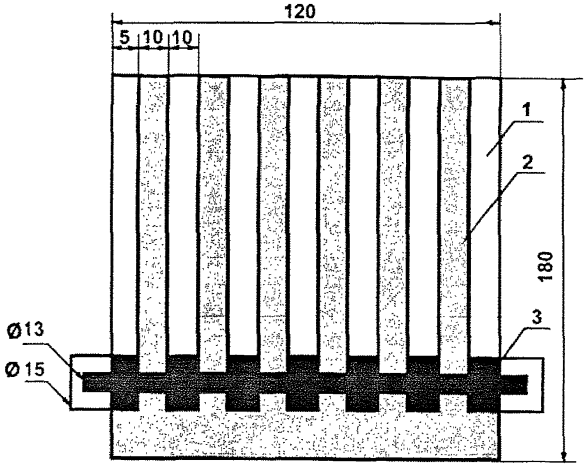
4.1.21 Склянки темного стекла для хранения растворителей вместимостью 1 $дм^3$.

4.1.22 Эксикатор по ГОСТ 25336-82.

4.1.23 Сито лабораторное по ГОСТ Р 51568-99 из металлической проволочной тканной сетки со средним размером ячеек 0,1 мм.

4.1.24 Скальпель по ГОСТ 21240-89.

4.1.25 Шпатель металлический медицинский по ГОСТ 19126-2007.



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

Рисунок 1 – Приспособление для нанесения тонкого слоя оксида алюминия

4.1.26 Дночерпатель (трубчатый штанговый или штанговый ГР-91 или гидрохимический ДТ-3 или трубка ГОИН ТГ-1/ТГ-1,5 или батометр универсальный БУ-5.

4.1.27 Шкаф сушильный общелабораторного назначения.

4.1.28 Печь муфельная по ТУ 79 РСФСР 337-82.

4.1.29 Центрифуга настольная ОПн-3 с ротором-крестовиной по ТУ 5.375-4260-76 или аналогичного типа со скоростью вращения до 3000 об/мин.

4.1.30 Мешалка магнитная ПЭ-6100 по ТУ 4321-009-230 509663 -98.

4.1.31 Электроплитка с регулируемой мощностью нагрева по ГОСТ 14919-83.

4.1.32 Холодильник бытовой.

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

4.2 Реактивы и материалы

4.2.1 н-Гексан (далее гексан) по ТУ 2631--003-055079990-98, х.ч. или Гексан фирмы «Криохром» (Уф-поглощение на 200 нм, 0,5 о.е./см) ОС.Ч. сорт 1.

4.2.2 Углерод четыреххлористый по ГОСТ 20288-74, х.ч., или ТУ 2631-027-44493179-98, х.ч.

4.2.3 Ацетон особой чистоты ОС.Ч. 9-5 ОП-2 по ТУ 2633-039-44493179-00.

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

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

4.2.6 Кислота уксусная, ледяная по ГОСТ 61-75, х.ч.

4.2.7 Кислота серная по ГОСТ 4204-77 , ч.д.а.

4.2.8 Фильтры бумажные обеззоленные «красная лента» диаметр 55 мм по ТУ 6-09-1678-86.

4.2.9 Вата медицинская по ГОСТ 5556-81.

4.2.10 Стеклоткань или стекловата, ГОСТ 10146-74.

4.2.11 Вода дистиллированная по ГОСТ 6709-72.

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

Метод основан на выделении ПАУ из донных отложений последовательной экстракцией ацетоном и гексаном, концентрировании экстрактов упариванием в мягких условиях, хроматографическом отделении ПАУ в тонком слое оксида алюминия и измерении интенсивности люминесценции их гексановых элюатов при значениях длин волн возбуждения от 300 до 360 нм и длин волн люминесценции от 430 до 480 нм.

6 Требования безопасности, охраны окружающей среды

6.1 При выполнении измерений массовой доли ПАУ в пробах донных отложений соблюдают требования безопасности, установленные в национальных стандартах и соответствующих нормативных документах.

6.2 По степени воздействия на организм человека вредные вещества, используемые при выполнении измерений, относятся к 1, 3, 4-му классам опасности по ГОСТ 12.1.007.

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

6.4 Выполнение измерений следует проводить при наличии вытяжной вентиляции.

6.5 Сливы растворителей (гексана и четыреххлористого углерода), а также неиспользованные растворы ПАУ запрещается выливать в канализацию. Их собирают в специальную посуду и утилизируют в соответствии с действующими правилами.

7 Требования к квалификации операторов

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются лица с высшим профессиональным образованием или со средним профессиональным образованием и стажем работы в лаборатории не менее одного года, освоившие методику анализа.

8 Требования к условиям измерений

При выполнении измерений в лаборатории должны быть соблюдены следующие условия:

- температура окружающего воздуха, °С ..... 20±5;
- атмосферное давление, кПа (мм рт. ст.)...от 84,0 до 106,7 (от 630 до 800);
- влажность воздуха, % при 25 °С ..... не более 80;
- напряжение в сети, В ..... 220±10;
- частота переменного тока в сети питания, Гц ..... 50±1.

9 Подготовка к выполнению измерений

9.1 Отбор и хранение проб

9.1.1 Отбор проб производят в соответствии с РД 52.24.609 и ГОСТ 17.1.5.01 устройством для отбора донных отложений нарушающего или не нарушающего типа например: дночерпателем (трубчатый штанговый или штанговый ГР-91 или гидрохимический ДТ-3 или трубка ГОИН ТГ-1/ТГ-1,5 или батометр универсальный БУ-5).

Оборудование для отбора проб должно соответствовать ГОСТ Р 51592. Отобранные пробы помещают в стеклянную посуду с пришлифованными крышками. Масса отобранной пробы зависит от массовой доли ПАУ в донных отложениях и типа пробоотборного устройства и должна составлять от 20 до 100 г.

9.1.2 Экстракция пробы должна быть выполнена в течение 7 сут после отбора при условии хранения пробы при температуре не более 8 °С.

В замороженном состоянии (от минус 15 °С до минус 20 °С) допускается хранение проб в течение двух месяцев. Перед началом работы замороженные пробы следует разморозить и довести до комнатной температуры.

9.2 Приготовление растворов и реактивов

9.2.1 Гексан

Проверяют чистоту каждой партии гексана на основании показаний холостого опыта см. 10.1, выполняя измерение содержания соединений, люминесцирующих в УФ-свете. Если содержание их превышает 4 нг/см^3, собирают установку для перегонки из стекла и перегоняют всю партию

гексана (отбрасывая первые 50 $см^3$ и отбирая фракцию с температурой кипения от 68,8 °С до 68,9 °С).

Примечание - Если не удается очистить гексан х.ч. перегонкой, то рекомендуется использовать растворитель фирмы «Криохром» (Уф-поглощение на 200 нм, 0,5 о.е./см) ОС.Ч. сорт 1.

9.2.2 Ацетон

Проверяют каждую склянку ацетона на наличие люминесцирующих примесей по 10.1. При недостаточной чистоте ацетона перегоняют, отбирая фракцию с температурой кипения 56,2 °С.

9.2.3 Оксид алюминия

Оксид алюминия просеивают через сито с размером отверстий 0,1 мм, используя фракцию, прошедшую через сито, и прокаливают при 600 °С в течение 4 ч. Хранят в колбе с притертой пробкой, помещенной в эксикатор, в течение одного месяца.

9.2.4 Сульфат натрия, безводный

Высушивают сульфат натрия в сушильном шкафу при температуре 400 °С в течение 8 ч. Хранят в склянке с притертой пробкой не более трех недель, после чего повторно высушивают.

9.3 Подготовка вспомогательных материалов и посуды

При использовании стеклянной ванны ее требуется закрыть стеклянной крышкой, чтобы создать насыщенные пары растворителей. Для изготовления крышки берут стекло подходящего размера (должна покрывать полностью ванну). Притирают ребра ванны и стекло с помощью наждачной бумаги, размещенной на ровной твердой поверхности, так чтобы притертый участок стекла соприкасался с ребрами ванны.

Фильтры, вату и стеклоткань промывают ацетоном и гексаном.

Посуду, используемую для приготовления растворов и выполнения измерений массовой доли ПАУ в донных отложениях, промывают концентрированной серной кислотой, затем отмывают водопроводной водой и ополаскивают дистиллированной водой. Кислоту используют многократно.

Для проверки чистоты конических колб и градуированных пробирок на присутствие люминесцирующих примесей их ополаскивают небольшими объемами гексана (3 $см^3$) и измеряют люминесценцию смыва. Концентрация люминесцирующих примесей при определении ПАУ должна быть менее 4 $нг/см^3$.

9.4 Подготовка хроматографической пластинки

На чисто вымытую стеклянную пластинку насыпают немного оксида алюминия и с помощью специального приспособления - валика (см.

рисунок 1), проводят 6 полос шириной 10 мм. Толщина слоя оксида алюминия должна составлять 1 мм.

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

9.5 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.

9.6 Подготовка прибора

Включение, вывод на режим и настройку флюориметра, спектрофлюориметра осуществляют в соответствии с руководствами по их эксплуатации.

9.7 Приготовление градуировочных растворов

9.7.1 Градуировочный раствор ПАУ для выполнения измерений люминесцентным методом готовят из ГСО с концентрацией бенз(а)пирена 100 $мкг/см^3$. Вскрывают ампулу и ее содержимое переносят в сухую чистую коническую пробирку. Отбирают 1,0 $см^3$ образца с помощью чистой сухой градуированной пипетки вместимостью 1 $см^3$ и переносят в мерную колбу вместимостью 10 $см^3$. Доводят объем в колбе до метки гексаном и перемешивают. Массовая концентрация бенз(а)пирена в полученном растворе составляет 10,0 $мкг/см^3$.

Для приготовления градуировочного раствора с массовой концентрацией бенз(а)пирена 1,0 $мкг/см^3$ отбирают градуированной пипеткой 2,5 $см^3$ раствора с массовой концентрацией 10,0 $мкг/см^3$, помещают в мерную колбу вместимостью 25 $см^3$. Доводят объем в колбе до метки гексаном и перемешивают.

При хранении в плотно закрытой посуде в холодильнике растворы устойчивы в течение трех и одного месяца соответственно.

9.7.2 При отсутствии ГСО допускается использовать аттестованный раствор ПАУ, приготовленный из бенз(а)пирена. Методика приготовления аттестованного раствора приведена в приложении А.

9.8 Приготовление градуировочных образцов

В мерные колбы вместимостью 25 $см^3$ вносят по 10 $см^3$ гексана, вводят с помощью градуированных пипеток вместимостью 1 $см^3$ и 2 $см^3$ последовательно 0,25; 0,50; 0,75; 1,0 и 1,5 $см^3$ рабочего градуировочного раствора с концентрацией 1,0 $мкг/см^3$, доводят объемы растворов гексаном до метки и перемешивают. Массовые концентрации бенз(а)пирена в полученных растворах равны соответственно 10; 20; 30; 40 и 60 $нг/см^3$.

Заполняют кювету флуориметра каждым из градуировочных растворов, содержащих добавку бенз(а)пирена, и измеряют интенсивность его люминесценции относительно гексана. За результат принимают среднее из трех измерений для раствора каждой концентрации. Устанавливают градуировочную зависимость в координатах: концентрация бенз(а)пирена, нг/см^3, – интенсивность люминесценции растворов, используя расчет методом наименьших квадратов или используя программное обеспечение к прибору.

Устанавливают градуировочную зависимость один раз в год.

9.9 Контроль стабильности градуировочной характеристики

9.9.1 Контроль стабильности градуировочной характеристики проводят перед измерением, используя один градуировочный образец с концентрацией бенз(а)пирена близкой к той области где проводятся измерения в донных отложениях в данный отрезок времени. Средствами контроля являются образцы, используемые для установления градуировочных зависимостей по 9.8.

Градуировочная характеристика считается стабильной при выполнении условия

$$|X_г - C_г| \le d, \qquad (1)$$

где $X_г$ – результат контрольного измерения массовой концентрации бенз(а)пирена в градуировочном растворе, нг/см^3;

$C_г$ – приписанное значение массовой концентрации бенз(а)пирена в градуировочном растворе, нг/см^3;

d – допускаемые расхождения, нг/см^3 (таблица 3).

Таблица 3 – Допускаемые расхождения при контроле стабильности градуировочной характеристики

Номер образца	1	2	3	4	5
Приписанные значения массовой концентрации бенз(а)пирена в образцах С, нг/см^3	10	20	30	40	60
Допускаемое расхождение d, нг/см^3	2	3	4	5	8

9.9.2 Если условие стабильности не выполняется для одного градуировочного образца, 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 Порядок выполнения измерений

10.1 Выполнение холостого опыта

Измерение массовой доли ПАУ в холостой пробе выполняют одновременно с анализом серии проб. Для этого берут 20 см^3 ацетона и 20 см^3 гексана и далее обрабатывают холостую пробу как описано в 10.3-10.5. Результат холостого измерения вычитают из результата анализа пробы. При высокой величине холостого определения (превышающей минимально определяемую массовую долю ПАУ) находят и устраняют причину загрязнения.

10.2 Экстракция

10.2.1 Отобранную пробу донных отложений тщательно перемешивают шпателем до получения однородной массы. На весах среднего класса точности, с точностью 0,01 г отвешивают навеску донных отложений от 3 до 5 г в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 50 см^3. Добавляют в колбу 10 см^3 ацетона и экстрагируют в течение 10 мин, используя магнитную мешалку. По окончании экстракции смесь оставляют на 10-15 мин до полного оседания взвешенных частиц, после чего экстракт сливают в коническую колбу вместимостью 50 см^3 и повторяют экстракцию еще 10 см^3 ацетона. Затем пробу донных отложений экстрагируют дважды по 10 см^3 гексана, сливая экстракты в ту же коническую колбу. Если после второй экстракции гексаном получается окрашенный экстракт, повторяют экстракцию гексаном еще раз, фильтруя экстракт через бумажный фильтр в стакан вместимостью 50 см^3 ополаскивая стенки колбы гексаном. При необходимости оставить экстракты на хранение, фильтруют их не в стакан, а в коническую колбочку с притертой пробкой. Экстракты из донных отложений хранят в конических колбах с притертыми пробками в холодильнике не больше недели.

10.2.2 Вместо экстракции ацетоном обезвоживание донных отложений допустимо проводить безводным сульфатом натрия, который небольшими порциями добавляют в пробу при перемешивании ее стеклянной палочкой до полного обезвоживания. Далее выполняют экстракцию гексаном как описано в 10.2.1.

10.2.3 Одновременно определяют влажность донных отложений, высушивая навеску донных отложений от 2 до 3 г до постоянной массы в сушильном шкафу при температуре от 105 °С до 110 °С.

10.3 Тонкослойная хроматография

Экстракт оставляют в вытяжном шкафу при комнатной температуре для упаривания до объема около 2 см^3, после чего количественно переносят в стаканчик вместимостью 10 см^3, обмывая стенки гексаном в количестве 0,5 см^3. Сконцентрированный экстракт оставляют в вытяжном

шкафу до полного упаривания. Остаток растворяют в 0,2 $см^3$ гексана, ополаскивая им стенки стаканчика, и с помощью пипетки Пастера малыми порциями (от 0,01 до 0,02 $см^3$) наносят на полоску с оксидом алюминия на расстоянии от 6 до 7 мм от края хроматографической пластинки в виде пятен диаметром не более 2 мм.

Пластинку помещают в ванну, заполненную подвижной фазой (см. 9.5), под углом приблизительно 20 градусов.

При достижении фронта подвижной фазы верхнего края сорбента, пластинку вынимают и после испарения растворителя облучают ультрафиолетовым светом не более 10 с. Отмечают скальпелем хроматографическую зону ПАУ (при значении R_f от 0,6 до 0,7 отн. ед.), люминесцирующую голубым цветом.

Примечание – Значение R_f определяется как отношение расстояния от начала хроматограммы до центра пятна на пластинке к расстоянию от начала хроматограммы до конца фронта растворителя.

10.4 Элюирование

Отмеченный участок сорбента с помощью скальпеля счищают в воронку с бумажным фильтром. С помощью пипетки вместимостью 5 $см^3$ элюируют ПАУ небольшими порциями (от 2 до 2,5 $см^3$) гексана в градуированную пробирку вместимостью 10 $см^3$ с притертой пробкой. Объем элюата ПАУ в пробирке доводят гексаном до 10 $см^3$.

10.5 Измерение

Элюат ПАУ помещают в кювету флюориметра и измеряют интенсивность его люминесценции со светофильтрами, пропускающим излучение в диапазоне длин волн от 300 до 360 нм для канала возбуждения и от 430 до 480 нм для канала регистрации люминесценции. Для прибора «Флюорат-02» используют светофильтр номер 292 в канале возбуждения и светофильтр номер ХЗ в канале регистрации люминесценции. Концентрацию ПАУ в элюате находят по градуировочной зависимости.

Если интенсивность люминесценции элюата и, соответственно, концентрация ПАУ в нём выходят за пределы градуировочной зависимости, разбавляют элюат так, чтобы концентрация ПАУ в элюате находилась в пределах от 30 до 60 $нг/см^3$ и повторяют измерение.

11 Обработка результатов измерений

11.1 Массовую долю сухого остатка в образце анализируемых донных отложений М, отн. ед., определяют по формуле

$$M = \frac{m_{бсн} - m_б}{m_{бвн} - m_б}, \qquad (2)$$

где $m_{бсн}$ – масса бюкса с высушенной до постоянной массы навеской донных отложений, г;

$m_б$ – масса пустого бюкса, г;

$m_{бвн}$ – масса бюкса с влажной навеской донных отложений, г.

11.2 Расчет массовой доли ПАУ в донных отложениях X, нг/г с.о., рассчитывают по формуле

$$X = \frac{(C - C_0) \cdot V}{m \cdot M}, \quad (3)$$

где C – массовая концентрация ПАУ в элюате анализируемой пробы, найденная по градуировочной зависимости, нг/см^3;

C_0 – массовая концентрация ПАУ в элюате холостого опыта, найденная по градуировочной зависимости, нг/см^3;

V – объем элюата, см^3;

m – навеска влажных донных отложений, взятая для анализа, г.

Если проводилось разбавление элюата, полученный результат следует умножить на степень разбавления.

12 Оформление результатов измерений

12.1 Результат измерений массовой доли ПАУ в документах, предусматривающих его использование, представляют в виде

$$X \pm \Delta, \text{ нг/г с.о. } (P = 0,95), \quad (4)$$

где $\pm \Delta$ – границы характеристики погрешности результатов измерений для данной массовой доли ПАУ, нг/г с.о. (см. таблицу 2).

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

12.3 Допустимо представлять результат в виде

$$X \pm \Delta_л \ (P = 0,95) \text{ при условии } \Delta_л < \Delta, \quad (5)$$

где $\pm \Delta_л$ – границы характеристик погрешности результатов измерений, установленные при реализации методики в лаборатории и обеспечиваемые контролем стабильности результатов измерений, нг/г с.о.

12.4 Результаты измерений 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

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 погрешности).

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

13.2 Алгоритм контроля процедуры выполнения измерений с использованием метода добавок

13.2.1 Оперативный контроль исполнителем процедуры выполнения измерений проводят путем сравнения результатов отдельно взятой контрольной процедуры $К_к$ с нормативом контроля К. Для этого в две чистые конические колбы, помещают одинаковые навески донных отложений. В одну из колб вводят добавку раствора бенз(а)пирена, приготовленную в ацетоне. Одновременно выполняют измерение массовой концентрации ПАУ в двух колбах согласно 10.5.

13.2.2 Результат контрольной процедуры $К_к$, нг/г с.о., рассчитывают по формуле

$$К_к = \left| X' - X - C_д \right|, \qquad (6)$$

где X' – результат контрольного измерения массовой доли ПАУ в пробе с известной добавкой, мкг/г с.о.;

X – результат контрольного измерения массовой доли ПАУ в пробе без добавки, мкг/г с.о.;

$C_д$ – величина добавки, мкг/г с.о.

13.2.3 Норматив контроля погрешности К, нг/г с.о., рассчитывают по формуле

$$К = \sqrt{\left(\Delta_{лх'}\right)^2 + \left(\Delta_{лх}\right)^2}, \qquad (7)$$

где $\Delta_{лх'}$ и $\Delta_{лх}$ – значения характеристик погрешности результатов измерений, установленные при реализации методики в лаборатории, соответствующие массовой доле ПАУ в пробе с добавкой и рабочей пробе, мкг/г с.о.

При превышении норматива повторяют измерение с использованием другой пробы. При повторном превышении норматива выясняют причины, приводящие к неудовлетворительным результатам, и устраняют их.

13.2.4 Если результат контрольной процедуры удовлетворяет условию процедуру признают удовлетворительной.

$$| K_к | \le K , \qquad (8)$$

При невыполнении условия (8) контрольную процедуру повторяют. При повторном невыполнении условия (8), 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

$$R = 2{,}77 \cdot \sigma_R \qquad (9)$$

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 Проверка приемлемости проводится при необходимости сравнения результатов измерений, полученных двумя лабораториями.

Приложение А
(рекомендуемое)

Методика приготовления аттестованного раствора АР-БП для установления градуировочных характеристик приборов и контроля точности измерений массовой доли ПАУ в донных отложениях с использованием тонкослойной хроматографии и люминесции

А.1 Назначение и область применения

Настоящая методика регламентирует процедуру приготовления градуировочного раствора, предназначенного для установления градуировочных характеристик приборов и контроля точности результатов массовой доли ПАУ в донных отложениях с использованием тонкослойной хроматографии и люминесценции.

А.2 Метрологические характеристики

Аттестованное значение массовой доли бенз(а)пирена 100 мкг/см^3, границы погрешности аттестованного значения массовой доли бенз(а)пирена 4,37 мкг/см^3 (при Р=0,95).

А.3 Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы

А.3.1 Весы лабораторные высокого (II) класса точности по ГОСТ Р 53228-2008, максимальная нагрузка не более 200 г, дискретность отсчёта 0,0001 г.

А.3.2 Колба мерная 2 класса точности исполнения 2 по ГОСТ 1770-74 вместимостью: 25 см^3 - 1 шт.; 50 см^3 - 1 шт.

А.3.3 Пипетка с одной отметкой 2-го класса точности исполнения 2 по ГОСТ 29227-91 вместимостью 5 см^3 –1 шт.

А.3.4 Стаканчик для взвешивания (бюкс) СВ-14/8 по ГОСТ 25336-82.

А.3.5 Воронка лабораторная по ГОСТ 25336-82 диаметром 36 мм.

А.3.6 Шпатель металлический.

А.3.7 Стеклянная палочка по ГОСТ 27460-87 диаметром 5 мм

А.3.8 Бенз(а)пирен, вещество гарантированной чистоты с содержанием основного вещества 98,4 %, например, производства фирмы «Supelco».

А.3.9 н-Гексан (далее гексан) по ТУ 2631-003-055079990-98, х.ч. или Гексан фирмы «Криохром» (*Уф-поглощение на 200 нм, 0,5 о.е./см*) ОС.Ч. сорт 1.

А.4 Процедура приготовления основного и аттестованного раствора бенз(а)пирена

А.4.1 Для приготовления основного раствора на весах высокого класса точности взвешивают 25,0 мг бенз(а)пирена и количественно переносят в мерную колбу вместимостью 25,0 $см^3$, растворяют в гексане энергичным встряхиванием, доводят объем раствора до метки гексаном. Полученному основному раствору приписывают массовую концентрацию 1000 $мкг/см^3$. Раствор устойчив 6 мес.

А.4.2 Для приготовления аттестованного раствора бенз(а)пирена АР-БП с концентрацией 100 $мкг/см^3$ в мерную колбу вместимостью 50 $см^3$ приливают 5,0 $см^3$ основного раствора бенз(а)пирена, доводят до отметки гексаном и осторожно перемешивают, переворачивая колбу вверх-вниз. Раствор устойчив три месяца.

А.5 Расчет метрологических характеристик основного и аттестованного раствора бенз(а)пирена

А.5.1 Аттестованное значение массовой концентрации основного раствора $C_{ор}$, $мкг/см^3$, рассчитывают по формуле

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

где m – масса навески бенз(а)пирена, мг;

V – объем гексана, $см^3$.

А.5.2 Расчет погрешности установления массовой концентрации основного раствора $\Delta_{ор}$, $мкг/см^3$, выполняют по формуле

$$\Delta_{ор} = C_{ор} \cdot \sqrt{(\frac{\Delta_{\mu}}{\mu})^2 + (\frac{\Delta_m}{m})^2 + (\frac{\Delta_{V_1}}{V_1})^2} \ , \qquad (А.2)$$

где Δ_{μ} – предельное значение возможного отклонения массовой доли основного вещества в реактиве бенз(а)пирен от приписанного значения μ, %;

μ – массовая доля бенз(а)пирена, приписанная реактиву, %;

Δ_m – предельная возможная погрешность взвешивания, мг;

Δ_{V_1} – предельное значение возможного отклонения вместимости мерной колбы от номинального значения, $см^3$;

V_1 – вместимость мерной колбы, $см^3$.

Погрешность приготовления основного раствора бенз(а)пирена равна:

$$\Delta_{op} = 1000 \cdot \sqrt{(\frac{1,6}{100})^2 + (\frac{1}{25})^2 + (\frac{0,08}{25})^2} = 43,2 \text{ мкг/см}^3.$$

А.5.3 Аттестованное значение массовой концентрации бенз(а)пирена C_{AP}, мкг/см^3, рассчитывают по формуле

$$C_{AP} = \frac{C_{op} \cdot V_2}{V_3}, \quad (А.3)$$

где V_2 – объем основного раствора, отбираемый пипеткой, см^3;

V_3 – вместимость мерной колбы, см^3.

А.5.4 Расчет предела возможных значений погрешности установления массовой концентрации бенз(а)пирена в аттестованном растворе Δ_{AP}, мкг/см^3, проводится по формуле:

$$\Delta_{AP} = C_{AP} \cdot \sqrt{\left(\frac{\Delta_{op}}{C_{op}}\right)^2 + \left(\frac{\Delta_{V_4}}{V_4}\right)^2 + \left(\frac{\Delta_{V_5}}{V_5}\right)^2}, \quad (А.4)$$

где Δ_{V_4} – предельное значение возможного отклонения объема V_1 от номинального значения, см^3;

V_4 – объем основного раствора, отбираемый пипеткой, см^3;

Δ_{V_5} – предельное значение возможного отклонения вместимости мерной колбы от номинального значения, см^3;

V_5 – вместимость мерной колбы, см^3.

Погрешность установления массовой концентрации бенз(а)пирена в аттестованном растворе равна

$$\Delta_{AP} = 100,0 \cdot \sqrt{\left(\frac{43,2}{1000}\right)^2 + \left(\frac{0,03}{5}\right)^2 + \left(\frac{0,12}{50}\right)^2} = 4,37 \text{ мкг/см}^3.$$

А.6 Требования безопасности

А.6.1 При приготовлении аттестованного раствора соблюдают требования безопасности, установленные в национальных стандартах и соответствующих нормативных документах.

А.6.2 По степени воздействия на организм вредные вещества, используемые при выполнении измерений, относятся к 1-му и 4-му классам опасности по ГОСТ 12.1.007.

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

А.7 Требования к квалификации операторов

Аттестованный раствор должен готовить специалист с высшим профессиональным образованием.

А.8 Требования к маркировке

На склянке с аттестованным раствором должны быть наклеены этикетки с указанием условного обозначения раствора и концентрации бенз(а)пирена, погрешности их установления и даты приготовления.

А.9 Условия хранения

Основной раствор хранят в холодильнике в плотно закрытой склянке не более шести месяцев.

Аттестованный раствор АР-БП хранят в плотно закрытой склянке в холодильнике в течение трех месяцев.

Лист регистрации изменений

Номер изменения	Номер страницы				Номер документа (ОРН)	Подпись	Дата	
	измененной	замененной	новой	аннулированной			внесения изменения	введения изменения

Министерство природных ресурсов и экологии Российской Федерации
Федеральная служба по гидрометеорологии
и мониторингу окружающей среды

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ГИДРОХИМИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ»

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

Факс: (863) 222-44-70
Телефон (863) 297-51-63
E-mail: gost.e-ecolog.ru

СВИДЕТЕЛЬСТВО

об аттестации методики измерений **№ 513.01.00175-2013**

Методика измерений массовой концентрации 4-7 ядерных полициклических ароматических углеводородов в донных отложениях с использованием тонкослойном хроматографии и люминесценции,

разработанная федеральным государственным бюджетным учреждением «Гидрохимический институт» (ФГБУ «ГХИ»), пр-т Стачки, д. 198, г. Ростов-на-Дону, 344090

и регламентированная РД 52.24.513-2014 Массовая доля 4-7 ядерных полициклических ароматических углеводородов в донных отложениях. Методика измерений люминесцентным методом с использованием тонкослойной хроматографии (23 с.),

аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563-2009.

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 доли ПАУ (в пересчете на бенз(а)пирен) X, нг/г с.о.	Показатель повторяемости (среднеквадратическое отклонение повторяемости) σ_r, нг/г с.о.	Показатель воспроизводимости (среднеквадратическое отклонение воспроизводимости) σ_R, нг/г с.о.	Показатель правильности (границы систематической погрешности) $\pm\Delta_c$, нг/г с.о.	Показатель точности (границы погрешности) $\pm\Delta$, нг/г с.о.
От 60 до 360 включ.	0,13·X	0,16·X	0,12·X	0,33·X
Св. 360 до 600 включ.	0,078·X	0,094·X	0,09·X	0,20·X

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

Диапазон измерений массовых концентраций X, мкг/дм^3	Предел повторяемости (для двух результатов параллельных определений) r , %	Предел воспроизводимости (значение допускаемого расхождения между двумя результатами измерений, полученными в разных лабораториях) R, %
От 60 до 360 включ.	0,36·X	0,44·X
Св. 360 до 600 включ.	0,22·X	0,26·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 погрешности).

Алгоритм оперативного контроля исполнителем процедуры выполнения измерений приведен в РД 52.24.513-2014.

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

Дата выдачи свидетельства 21.06.2013.

Директор А.М. Никаноров

Главный метролог А.А. Назарова

gost.e-ecolog.ru