

Госстандарт Российской Федерации

Восточно-Сибирский НИИ
физико-технических и радиотехнических измерений

СВИДЕТЕЛЬСТВО

об аттестации МВИ

№01-2001

Методика выполнения измерений массовой концентрации бенз[а]пирена в воде, разработанная Лимнологическим институтом СО РАН и регламентированная документом «КАЧЕСТВО ПОВЕРХНОСТНЫХ И ОЧИЩЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД. МАССОВАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ БЕНЗ[А]ПИРЕНА. МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ МЕТОДОМ ВЭЖХ», аттестована в соответствии с ГОСТ Р 8.563-96.

Аттестация проведена по результатам метрологической экспертизы названного документа и научно-технического отчета об исследовании погрешности методики.

В результате экспертизы установлено, что методика соответствует предъявляемым к ней требованиям и обладает следующими метрологическими характеристиками:

- Объект измерения – поверхностные и очищенные сточные воды;
- Измеряемая величина – массовая концентрация бенз[а]пирена;
- Диапазон измерения – от 10 до 1000 нг/л;
- Пределы допускаемой относительной погрешности при доверительной вероятности 0,95 во всем диапазоне измерений - $\pm 10\%$, случайная составляющая погрешности не превышает $\pm 5,2\%$.

Аттестованная методика выполнения измерений может использоваться в сферах, подлежащих государственному метрологическому контролю и надзору.

Директор

Главный метролог

О.И. Гудков

И.А. Соков

20 апреля 2001г.




РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
ЛИМНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

“СОГЛАСОВАНО”
Директор ВС НИИФТРИ

О.И. Гудков

“ 21 ” марта 2001 г.

“УТВЕРЖДАЮ”
Директор ЛИН СО РАН
Нл. корр. РАН

М.А. Грачев

“ 20 ” марта 2001 г.

ГОСУДАРСТВЕННАЯ СИСТЕМА ОБЕСПЕЧЕНИЯ
ЕДИНСТВА ИЗМЕРЕНИЙ

КАЧЕСТВО ПОВЕРХНОСТНЫХ И ОЧИЩЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД.
МАССОВАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ БЕНЗ[А]ПИРЕНА.
МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ ИЗМЕРЕНИЙ МЕТОДОМ ВЭЖХ

ФР.1.31.2001

ИРКУТСК - 2001

1. РАЗРАБОТАНА

Лимнологическим институтом Сибирского Отделения РАН

И.о. заведующего отдела жидкостной хроматографии,

д.х.н.

Старший научный сотрудник отдела жидкостной
хроматографии, к.х.н.

Научный сотрудник лаборатории гидрохимии
и химии атмосферы



Г.И.Барам



А.Г.Горшков



И.И.Маринайте

2. АТТЕСТОВАНА

Восточно-Сибирским научно-исследовательским институтом физико-технических и
радиотехнических измерений

Зам. директора по науке



В.Н.Егоров

Гл. метролог

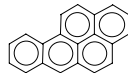


И.А.Соков

3. ЗАРЕГИСТРИРОВАНА

Настоящий документ устанавливает методику выполнения измерений массовой концентрации бенз[а]пирена (Б[а]П) в поверхностных и сточных водах в диапазоне от 10 до 1000 нг/л на основе метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Б[а]П относится к группе полициклических ароматических углеводородов (ПАУ), имеет брутто формулу $C_{20}H_{12}$ и структурную формулу молекулы:



Б[а]П обладает ярко выраженными канцерогенными и мутагенными свойствами и на этом основании отнесен к группе суперэкоксикантов. Основными источниками поступления Б[а]П в поверхностные воды являются сточные воды промышленных предприятий, уличные стоки больших городов, атмосферные осадки, талая снеговая вода, выхлопные газы двигателей водного транспорта. Предельно допустимая концентрация ($ПДК_{pz}$) для Б[а]П в поверхностных водах не установлена, для питьевой воды в России $ПДК_{pz}$ равна 5 нг/л, в странах ЕЭС - 10 нг/л.

1. Погрешности измерений

Согласно ГОСТ 12.1.016-79, относительная погрешность измерения концентраций вредных веществ в объектах окружающей среды не должна превышать $\pm 25\%$.

Методика обеспечивает выполнение измерений с относительной погрешностью в пределах $\pm 10\%$ при доверительной вероятности 0,95 во всем диапазоне измеряемых концентраций. Случайная составляющая погрешности не превышает $\pm 5,2\%$.

2. Метод измерения

Для измерения концентрации Б[а]П в воде из контролируемого водоема отбирают пробу воды, объем которой при отборе измеряют мерным цилиндром. Пробу помещают в герметически закрывающуюся бутылку, для консервации добавляют *n*-гексан.

Массовую концентрацию Б[а]П в пробе (C_n , нг/дм³) измеряют косвенным объемно-массовым методом в соответствии с выражением:

$$C_n = \frac{M_n}{V_n}, \quad (1)$$

где: M_n - масса Б[а]П в анализируемой пробе воды, нг;

V_n - объем пробы воды, дм³.

Результат измерения относят ко всей контролируемой водной среде.

В лаборатории из проб воды Б[а]П экстрагируют *n*-гексаном, полученный экстракт выпаривают, сухой остаток в микропробирке хроматографа растворяют в известном объеме метанола или ацетонитрила.

Концентрацию Б[а]П в полученном растворе измеряют методом ВЭЖХ на хроматографе типа «Милихром А-02» с колонкой, упакованной сорбентом «Nucleosil-5, C18, РАН». Градуировку хроматографа проводят с помощью растворов известной массы Б[а]П в *n*-гексане, имитирующих экстракты проб воды. Градуировочные растворы готовят из аттестованной смеси (АС), полученной на основе реактива Б[а]П, имеющего чистоту 99%, или раствора ГСО концентрации Б[а]П. При хроматографировании в качестве элюентов применяют метанол или ацетонитрил и их смеси с водой. Детектирование оптического сигнала проводят на двух длинах волн: 284 и 296 нм, обеспечивающих максимальную чувствительность и селективность. Для идентификации пиков Б[а]П на хроматограммах используют два параметра - время удерживания (t_R) и спектральное отношение (R). Время измерения по настоящей методике составляет 1,5 ч, включая время подготовки пробы.

Примеры хроматограмм градуировочных растворов и реальных проб приведены в приложении.

Масса Б[а]П в пробе воды (M_n , нг) равна его массе в экстракте (M_s , нг):

$$M_n = M_s, \quad (2)$$

Объединяя выражения (1), (2) получают основное уравнение измерения для массовой концентрации Б[а]П в воде:

$$C_n = \frac{M_s}{V_n}, \quad (3)$$

С целью повышения точности и оперативного контроля сходимости результатов измерения проводят на двух пробах воды, отбираемых одновременно в одинаковых условиях; полученные результаты усредняют. В случае измерения на одной пробе случайная погрешность результата увеличивается в 1,4 раза.

3. Средства измерений, вспомогательные устройства, реактивы и материалы

3.1. Средства измерений

Жидкостный хроматограф «Милихром А-02» с колонкой Ø 2x75 мм, ТУ 25-7405.0009-89 упакованной обращеннофазным сорбентом (Nucleosil 5-C18, РАН) с эффективностью разделения не менее 3000 т.т. по пику Б[а]П).

Б[а]П, степень чистоты 99 % Каталог «Supelco» (Швейцария) 1999, Cat. No 48564
 ГСО состава Б[а]П в *n*-гексане, массовая концентрация в диапазоне ГСО 7515-98
 95-105 мкг/см³, относительная погрешность аттестованного значения не более ±1.2 %

Весы аналитические лабораторные ВЛР-200

ГОСТ 24104 – 80Е

Пипетки 2-го класса точности, вместимостью 1 см ³	ГОСТ 20292-74
Пипетки 2-го класса точности, тип 2, вместимостью 2 см ³	ГОСТ 29228
Колбы мерные 2-го класса точности, вместимостью 10 и 500 см ³	ГОСТ 1770-74
Цилиндры мерные, вместимостью 50, 100, 1000 см ³	ГОСТ 1770-74Е
Микрошприцы, вместимостью 50 мм ³ и 100 мм ³	ТУ 2.833.104

3.2. Вспомогательные устройства и посуда

Испаритель вакуумный ротационный	ТУ 25-11-917-76
Делительная воронка 1000 см ³	ГОСТ 23932-79Е
Колбы плоскодонные конические с пришлифованной пробкой вместимостью 100 см ³ , 150 см ³	ГОСТ 25336-82
Колбы яйцевидные объемом 10 см ³ с пробкой	ГОСТ 25336-82
Стаканы химические	ГОСТ 25336-82
Установка для перегонки n-гексана:	
Колба круглодонная, 1000 см ³	ГОСТ 1770-74
Дефлегматор, l=40 см	ГОСТ 9425-60
Насадка Вюрца	ГОСТ 9425-60
Холодильник Либиха	ГОСТ 9499-60
Алонж	ГОСТ 25336-82
Шкаф сушильный СНОЛ	ГОСТ 13474-79

3.3. Реактивы и материалы

n-Гексан, х.ч.	ТУ 6-09-3375-78
Ацетонитрил для хроматографии, х.ч.	ТУ 6-09-4326-76
Метанол, х.ч.	ГОСТ 6995-77
Вода дистиллированная	ГОСТ 6709-72
Кислота серная ($\rho=1,84$ г/см ³), х.ч.	ГОСТ 4204-77
Кальций хлористый	ГОСТ 4161-77
Аргон газообразный, 1 сорт	ГОСТ 10157-79
Универсальная индикаторная бумага, рН 0-12	ГОСТ 5496-57
Трубка резиновая полувакуумная, тип 1	ГОСТ 5496-77

Примечание: Допускается использование средств измерений, оборудования и материалов, отличных от указанных в перечне, но не уступающих им по метрологическим и техническим характеристикам.

4. Требования безопасности

При выполнении измерений по настоящей методике должны быть соблюдены следующие требования безопасности:

- в соответствии с «Руководством по химическому анализу поверхностных вод суши»;
- в соответствии с «Руководством по эксплуатации» хроматографа;
- в соответствии с правилами работы в химических лабораториях (ГОСТ 12.1.018-86, ГОСТ 12.1.007-76, ГОСТ 12.1.019-79);
- в соответствии с правилами работы в лаборатории с веществами огнеопасными и 1-го класса опасности. В частности, особую осторожность необходимо соблюдать при работе с кристаллическим Б[а]П и его растворами. При его взвешивании следует пользоваться респиратором и резиновыми перчатками. Все работы с растворами и экстрактами Б[а]П следует проводить в вытяжном шкафу, при отборе порций раствора использовать пипетки с грушей.

5. Требования к квалификации оператора

К выполнению измерений и обработке их результатов допускаются лица, имеющие квалификацию не ниже инженера - химика, прошедшие обучение хроматографическим методам анализа и стажировку на хроматографе «Милихром А-02», имеющие навыки работы с персональным компьютером и изучившие настоящую методику.

6. Условия выполнения измерений

При выполнении измерений должны быть соблюдены следующие условия:

- при отборе проб воды - в соответствии с «Руководством по химическому анализу поверхностных вод суши»;
- при проведении хроматографического анализа в соответствии с «Руководством по эксплуатации» хроматографа.

7. Подготовка к выполнению измерений

Перед выполнением измерений по настоящей методике проводят следующие работы: подготовку (очистку) посуды, растворителей и реактивов, приготовление рабочих растворов, приготовление аттестованной смеси и растворов для градуировки, градуировку хроматографа.

7.1. Подготовка посуды

Посуду, используемую для измерений и хранения проб воды, тщательно моют моющими средствами, хромовой смесью, последовательно ополаскивают проточной и дистиллированной водой и сушат в сушильном шкафу при температуре 200 °С в течение 1 часа.

7.2. Подготовка растворителей и элюентов

7.2.1. Разрешается использовать *n*-гексан, содержащий Б[а]П не более 5 нг на используемый объем (100 см³). Наличие Б[а]П в *n*-гексане контролируется проведением “холостого” опыта по п.7.2.2.

7.2.2. Контроль чистоты *n*-гексана

n-Гексан в количестве 100 см³ выпаривают и анализируют по данной методике как экстракт Б[а]П при объеме растворителя в микропробирке хроматографа, равном 20 мм³. Если при этом концентрация Б[а]П в концентрате составит более 5 нг, то проводят очистку *n*-гексана. После очистки повторяют проверку содержания Б[а]П по описанной процедуре.

7.2.3. Очистка *n*-гексана

К 750 см³ *n*-гексана в делительной воронке вместимостью 1 дм³ приливают 75 см³ концентрированной серной кислоты, смесь встряхивают в течение 10 мин и оставляют на 5-10 мин для расслоения фаз. Затем нижний слой серной кислоты сливают в стакан вместимостью до 250 см³. Описанную операцию повторяют 2-3 раза до прекращения окрашивания кислоты. После этого *n*-гексан промывают дистиллированной водой до нейтральной реакции, контролируя показатель рН индикаторной бумагой, сушат над обезвоженным хлоридом кальция и перегоняют, отбирая фракцию при температуре кипения 68 °С.

7.2.4. Приготовление элюентов

Раствор А1 - смесь метанола и воды в соотношении 60:40 по объему.

Мерным цилиндром переносят 60 см³ метанола в коническую плоскодонную колбу вместимостью до 150 см³, затем мерным цилиндром добавляют 40 см³ дистиллированной воды, смесь перемешивают.

Раствор А2 – смесь ацетонитрила и воды в соотношении 40:60 по объему.

Мерным цилиндром переносят 40 см³ ацетонитрила в коническую плоскодонную колбу вместимостью до 150 см³, затем мерным цилиндром добавляют 60 см³ дистиллированной воды, смесь перемешивают.

Растворы А1 и А2 хранят в закрытых колбах при температуре +5 °С до одного месяца.

7.3. Приготовление аттестованной смеси для градуировки хроматографа

Аттестованная смесь (АС) с концентрацией Б[а]П ≈ 0.02 мг/см³ может быть приготовлена двумя способами: растворением точной навески Б[а]П в известном объеме *n*-гексана или разбавлением раствора ГСО. Точное значение концентрации Б[а]П в АС определяется массой навески или аттестованным значением концентрации и объемом ГСО.

7.3.1. АС на основе реактива Б[а]П

Навеску Б[а]П с массой (*m*) до 10 мг при погрешности взвешивания не более ± 0.05 мг переносят в мерную колбу вместимостью $V_{к1} = 500$ см³ и постепенно ее растворяют, приливая *n*-гексан порциями по 20-30 см³. Затем объем раствора доводят до метки на колбе, доливая *n*-гексан. Концентрацию АС определяют по формуле:

$$C'_{АС} = \frac{m}{V_{к1}}$$

7.3.2. АС на основе ГСО концентрации Б[а]П

Раствор ГСО с концентрацией ($C_{ГСО}$) порядка 100 мкг/см³, объемом порядка 2 см³ полностью переносят из ампулы в мерную колбу вместимостью $V_{к2} = 10$ см³ с помощью пипетки типа 2 по ГОСТ 29228 с одновременным измерением объема раствора ГСО ($V_{ГСО}$). Затем объем раствора доводят до метки на колбе, доливая *n*-гексан. Концентрацию АС в колбе определяют по формуле:

$$C''_{АС} = \frac{C_{ГСО} \cdot V_{ГСО}}{V_{к2}} \cong C_{ГСО} \cdot 0,2$$

7.3.3. Приготовленную АС переливают в темную склянку с притертой пробкой, маркируют и хранят в темном месте при температуре порядка $+5$ °С до шести месяцев.

7.4. Приготовление градуировочных растворов

7.4.1. Градуировку хроматографа проводят по двум растворам Б[а]П в *n*-гексане, имитирующим экстракты проб воды. Растворы готовят разбавлением АС в колбах с 100 см³ *n*-гексана, вводя в них 50 мм³ АС (1000 нг Б[а]П - раствор М₁) и 25 мм³ АС (500 нг Б[а]П - раствор М₂). Объем АС измеряют с помощью микрошприца.

7.4.2. Растворы М₁ и М₂ выпаривают на ротационном испарителе до объема 100-150 мм³ при температуре $+40$ °С в яйцевидной колбе вместимостью 10 см³ за несколько приемов, не допуская полного испарения *n*-гексана перед добавлением новой порции. Сконцентрированные таким образом растворы количественно переносят пипеткой в микропробирки хроматографа и досушивают при комнатной температуре естественным испарением или в токе аргона до полного испарения *n*-гексана. Сухой остаток (концентрат)

растворяют, вводя в пробирку с помощью микрошприца 100 мм³ метанола или ацетонитрила. Растворы концентратов М₁ и М₂ хроматографируют в условиях п. 7.5.1.

7.5. Градуировка хроматографа

7.5.1. Подготовку хроматографа и работу на нем проводят в соответствии с его Руководством по эксплуатации. Условия хроматографирования представлены в табл. 7.1.

Таблица 7.1.

Условия записи хроматограмм

Элюенты:	Вариант 1: Элюент А – раствор А1, Элюент В - метанол Вариант 2: Элюент А – раствор А2, Элюент В - ацетонитрил
Изократическое элюирование	Состав элюента: 50% А+50% В
Расход элюента	200 мм ³ /мин
Объем раствора, вводимый в хроматограф	10 мм ³
Объем предпробы (вода)	10 мм ³
Длины волн детектирования	284 нм и 296 нм, одновременно
Постоянная времени детектора	0.64 с
Температура колонки	45 ⁰ С

7.5.2. Растворы концентратов М₁ и М₂ готовят не менее 5 раз и каждый полученный раствор концентрата хроматографируют дважды. На хроматограммах определяют время удерживания (t_R), площади пиков Б[а]П для обеих длин волн (S_{284} и S_{296}) и спектральное отношение ($R = S_{296}/S_{284}$). По всем хроматограммам рассчитывают:

- среднее время удерживания \bar{t}_R и его относительное стандартное отклонение, $\sigma(\bar{t}_R)$, которое не должно быть более 1,5 %;
- средние площади пиков для каждой длины волны \bar{S}_{284} и \bar{S}_{296} ;
- среднее спектральное отношение \bar{R} и его относительное стандартное отклонение $\sigma(\bar{R})$, которое не должно быть более 6 %.

7.5.2. Используя средние площади пиков Б[а]П, полученных на хроматограммах концентратов растворов М₁ и М₂, значения масс Б[а]П) в растворах М₁ и М₂, программу компьютера, входящего в комплект хроматографа, находят градуировочную зависимость:

$$M_j = a_1 \cdot \bar{S}_{284} = a_2 \cdot \bar{S}_{296} \text{ или} \\ M_j = A \cdot (\bar{S}_{284} + \bar{S}_{296}) \quad (4)$$

где: a_1 , a_2 и A – градуировочные коэффициенты; $A = \frac{a_1 \cdot a_2}{a_1 + a_2}$.

8. Выполнение измерений

8.1. Отбор проб воды.

Место отбора пробы поверхностной воды выбирают в соответствии с целями анализа. Воду с поверхности зачерпывают стеклянным сосудом объемом 3-5 дм³, предварительно ополоснув его исследуемой водой. Воду на определение Б(а)П разливают в подготовленные бутылки из темного стекла вместимостью 1 дм³ с измерением объема мерным цилиндром, по две бутылки на каждую точку отбора. В каждую бутылку добавляют по 50 см³ *n*-гексана (5 % от объема воды), бутылки закрывают пробкой с прокладкой из алюминиевой фольги и встряхивают в течение 10 мин. До анализа в лаборатории пробы хранят не более 2 суток.

8.2. Экстракция Б[а]П из воды

Пробу воды из бутылки переносят в делительную воронку вместимостью 1 дм³ и оставляют на 10-15 мин для расслоения фаз. Нижний слой сливают в стакан вместимостью 1000 см³, верхний слой (экстракт Б(а)П в *n*-гексане) - в цилиндр объемом 100 см³. Затем повторяют экстракцию Б(а)П из пробы воды, добавляя 50 см³ *n*-гексана и интенсивно встряхивая смесь в течение 10 мин. Экстракты объединяют, сливая в один цилиндр. Общий объем экстракта должен быть не менее 97 см³. Для второй параллельной пробы экстракцию Б(а)П проводят аналогично.

8.3. Концентрирование экстракта

Концентрирование экстракта проводят согласно п. 7.4.2. При массе Б[а]П в экстракте менее 50 нг объем растворителя в микропробирке хроматографа уменьшают до 20-50 мм³, учитывая что при объеме, равном 20 мм³, может быть получена лишь одна хроматограмма. Результат измерения массы в этом случае умножают на масштабный коэффициент (*k*),

$$k = \frac{v_p}{100} \approx 0,2 - 0,5 ;$$

где: v_p - объем растворителя в микропробирке, мм³.

8.4. Хроматографирование раствора концентрата

8.4.1. Раствор концентрата хроматографируют дважды. На хроматограммах производят идентификацию пика Б[а]П по параметрам t_R и *R*. Время удерживания не должно отличаться от среднего значения, полученного при градуировке, более чем на ± 2,5 %, спектральное отношение - на ± 8 %.

Если на хроматограмме не обнаружен пик с временем удерживания, совпадающим в указанных интервалах с t_R пика Б[а]П, то в пробе отсутствует Б[а]П с концентрацией выше, чем 5 нг/дм³.

Если R для пика Б[а]П выходит за пределы указанного интервала, то следует повторить хроматографирование с изменением состава элюента (табл.7.1). Для достижения оптимального отделения пика Б[а]П от пиков сопутствующих примесей можно изменить соотношение элюентов А и В, предложенных в табл. 7.1, в пределах от 40 до 60 % элюента В или заменить органический растворитель (метанол на ацетонитрил и наоборот) в составе элюентов.

Для пика Б[а]П определяют время удерживания, площади для каждой длины волны детектирования, спектральное отношение и убеждаются в их соответствии градуировочной характеристике. Если и во второй раз спектральное отношение не соответствует градуировочным значениям, значит настоящая методика не применима к анализу данной пробы.

8.4.2. При положительном результате идентификации пиков проводят измерение массы Б[а]П в пробе. Для расчетов используют градуировочную характеристику (4).

8.4.3. Анализ экстракта второй параллельной пробы проводят аналогично по п.п. 8.3-8.4., используя рассчитанный объем метанола (ацетонитрила) для растворения сухого остатка экстракта и найденные оптимальные условия хроматографирования.

9. Обработка результатов измерений

9.1. На полученных хроматограммах с помощью компьютера, входящего в комплект хроматографа, вычисляют концентрации Б[а]П в воде двух параллельных проб C_n' и C_n'' . Для расчетов используют градуировочную характеристику (4) и основное уравнение измерения массовой концентрации (3).

9.2. По результатам измерения концентрации в двух пробах C_n' и C_n'' проверяют их сходимость по п.11.2.2. и вычисляют среднее значение концентрации:

$$\bar{C}_n = \frac{C_n' + C_n''}{2}$$

10. Оформление результатов анализа

10.1. При выполнении измерений ведется протокол, в котором указывают:

- - типы и номера использованных средств измерений,
- - фамилии исполнителей,
- - время и место отбора проб,
- - результаты хроматографирования и обработки измерений,
- - результаты измерения и вычисления всех промежуточных величин,
- - окончательный результат определения искомой концентрации Б[а]П в воде.

Протокол может быть разбит на разделы, соответствующие этапам выполнения измерений. Допускается оформление отдельных протоколов по этапам измерения с сохранением единой нумерации проб, экстрактов, концентратов, результатов.

10.2. Окончательный результат измерения представляется и передается заказчику в виде:

$$C = \bar{C} \pm 0,1 \cdot \bar{C} \quad (P=0,95)$$

Протокол измерений, выдаваемый заказчику, оформляют по правилам, принятым в лаборатории.

11. Контроль точности результатов измерений

11.1. Все средства измерений, используемые в методике, должны быть поверены или калиброваны в установленном порядке, в зависимости от цели измерений и сферы использования результатов.

11.2. *Оперативный контроль сходимости результатов*

11.2.1. Расхождение результатов определения площадей пиков S по двум хроматограммам каждой пробы не должно быть более допускаемого значения d_s :

$$d_s = \left| \frac{S' - S''}{\bar{S}} \right| \leq 5,5\% .$$

11.2.2. Расхождение результатов определения концентрации Б(а)П по двум параллельным пробам (п.9.2.) должно быть не более допускаемого значения d_c :

$$d_c = \left| \frac{C' - C''}{\bar{C}} \right| \leq 7\% .$$

11.3. *Периодический контроль градуировки хроматографа*

Градуировочную характеристику хроматографа проверяют не реже одного раза в три месяца, а также при сбое работы хроматографа путем повторной градуировки по свежеприготовленной АС. Градуировку считают стабильной, если относительное изменение градуировочного коэффициента не превышает значения d_A :

$$d_A = \left| \frac{A - A'}{A'} \right| \leq 0,08 .$$

**РАСЧЕТ ПОГРЕШНОСТЕЙ ИЗМЕРЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ
БЕНЗ[А]ПИРЕНА В ПОВЕРХНОСТНЫХ И СТОЧНЫХ ВОДАХ**

Расчет составили:
Начальник отдела 16
ВС НИИФТРИ

_____ И.А.Соков

Старший научный сотрудник
Лимнологического института СО РАН,
к.х.н.

_____ А.Г.Горшков

Научный сотрудник
Лимнологического института СО РАН

_____ И.И.Маринайте

Иркутск – 2001

Погрешность градуировки хроматографа

Погрешность градуировки хроматографа, т.е. погрешность определения градуировочного коэффициента $A = \frac{M_{B[a]П}}{S_{пика}}$ складывается из нескольких составляющих, со-

ответствующих этапам проведения градуировки:

- приготовление аттестованной смеси (АС);
- приготовление градуировочных растворов-имитаторов экстракта пробы в *n*-гексане;
- концентрирование и высушивание имитатора экстракта;
- растворение сухого остатка имитатора экстракта в метаноле или ацетонитриле;
- хроматографирование полученных растворов;
- обработка результатов хроматографирования и вычисление коэффициента А.

Методикой выполнения измерений предусмотрены два возможных варианта приготовления АС:

1. использование реактива бенз[а]пирена (Б[а]П) с известной степенью чистоты;
2. использование раствора ГСО Б[а]П в *n*-гексане.

В таблице представлен расчет погрешностей для обоих этих вариантов. Найдено, что АС по варианту 1 имеет примерно вдвое меньшую погрешность, чем по варианту 2. Однако, вариант 2 более прост в реализации и более экономичен. Такое же соотношение погрешностей между вариантом 1 и вариантом 2 сохраняется и в градуировочных растворах-имитаторах экстракта.

При концентрировании и высушивании имитаторов экстракта в соответствии с методикой обработки реальных проб воды возникает большая погрешность, обусловленная потерей Б[а]П при этой операции и, главное, неповторяемостью этой потери. Экспериментально установлено, что среднее значение этой погрешности составляет -12 %, СКО от среднего 3.5 %, а максимальное отклонение ± 7.0 % при доверительной вероятности 0.95. При проведении градуировки по двум имитаторам переменная погрешность, вызванная потерей Б[а]П при концентрировании уменьшается в $\sqrt{2}$ раз, но все еще очень существенна. Среднее значение этой погрешности -12 % не следует учитывать, так как она одинакова как при градуировке, так и при анализе реальных проб.

Влияние большого разброса потерь Б[а]П при концентрировании экстракта приводит к большой погрешности эквивалентной массы в микропробирке $M_{B[a]П}$ и существенно сглаживает различие между АС по вариантам 1 и 2.

Погрешность определения площади пика Б[а]П на хроматограммах ($S_{пика}$) носит случайный характер; экспериментально определено, что ее СКО для единичного измерения составляет 2.0 % (согласно техническим характеристикам хроматографа «Милихром А-02» – не более 1%). При усреднении результатов по двум градуировочным растворам и 5 измерениям каждого эта погрешность уменьшается более чем в 3 раза.

Полная погрешность градуировочного коэффициента А складывается из всех рассмотренных составляющих. Ее значения по АС 1 и 2 вариантов различаются незначительно и не превышают: СКО - 3 %; доверительный интервал - ± 6.0 % (при вероятности 0.95 %).

Суммарная погрешность

При анализе реальной пробы погрешности возникают на следующих стадиях:

- измерение объема пробы воды,

- потери Б[а]П при экстрагировании (которые оказались несущественными),
- потери Б[а]П при концентрировании экстракта,
- растворение концентрата в заданном объеме,
- хроматографирование (случайная погрешность при измерении S пика),
- значение градуировочного коэффициента (общая погрешность).

Все эти составляющие и результат их сложения представлены в таблице.

СКО общей погрешности измерения составило 4.0 %, а доверительный интервал - ± 8.0 % (0.95). Наиболее существенной составляющей общей погрешности оказалась неповторяемость потерь Б[а]П как при калибровке, так и при анализе реальных проб. Уменьшение этих потерь и их неповторяемости может существенно снизить общую погрешность.

На основании проведенного расчета можно установить предел допускаемой погрешности для аттестуемой МВИ ± 10 % при доверительной вероятности 0.99.

Контроль точности результатов измерения

Оперативный контроль точности измерений можно проводить по расхождению результатов анализа двух параллельных проб, которое не должно превышать 7.0 %.

Для периодического контроля следует проводить сравнение концентраций Б[а]П в АС и в приготовленном из нее имитаторе экстракта. Расхождение между средними результатами не должно быть более 8.0 %, СКО при хроматографировании не более 2 %.

Расчет погрешностей измерения

Таблица

Источник погрешности	НСП, %		Случайные, %		Полная, %		Поправка, %
	$\delta_{\text{нсп}}$	$\sigma_{\text{нсп}} = 0,5 \delta_{\text{нсп}}$	$\delta_{\text{сл.}}$	$\sigma_{\text{сл.}} = 0,58 \delta_{\text{сл.}}$	$\delta_{\text{п}}$	$\sigma_{\text{п}}$	
1	2	3	4	5	6	7	8
Погрешности градуировки							
1. Приготовление аттестованной смеси							
1.1. Вариант 1. На основе реактива Б[а]П							
1.1.1. Наличие примесей в реактиве при чистоте 99%	±0,50	0,29					-0,50
1.1.2. Навеска реактива Б[а]П 10 мг на весах 200 г, 2 кл., ±0,05 мг	±0,50	0,25	±0,25	0,14			
1.1.3. Объем АС в колбе 500 мл, 2 кл, ±1 мл	±0,20	0,10	±0,10	0,05			
1.1. Общая погрешность АС	±1,20	0,40	±0,35	0,15	±1,55 (0,86)*	0,43	-0,50
1.2. Вариант 2 – на основе ГСО							
1.2.1. Концентрация раствора ГСО	±1,20	0,60					
1.2.2. Измерение объема ГСО пипеткой тип 2, 2 мл, кл.2, ±0,02мл	±1,00	0,50	±0,50	0,29			
1.2.3. Объем АС в колбе 10 мл, 2 кл, ±0,05 мл	±0,50	0,25	±0,25	0,14			
1.2. Общая погрешность АС	±2,70	0,85	±0,75	0,32	±3,45 (±1,82)*	0,91	
2. Приготовление градуировочных растворов (имитаторов экстракта)							
2.1. Дозирование АС микрошприцем, 200 мкл, МШ-50М, ±1%	±1,00	0,50	±0,50	0,25	±1,50	0,56	
2.2. Дозирование АС микрошприцем, 100 мкл, МШ-50М, ±1%	±1,00	0,50	±0,71	0,35	±1,71	0,61	
2.3. Общая погрешность имитатора экстракта, $C_{\text{п}}=20$ нг/л с АС по 1 варианту (п.1.1. + п. 2.1.)	±2,20	0,64	±0,85	0,29	±3,05 (±1,40)*	0,70	
2.4. Общая погрешность имитатора экстракта, $C_{\text{п}}=10$ нг/л с АС по 1 варианту (п.1.1. + п. 2.2.)	±2,20	0,64	±1,06	0,38	±3,26 (±1,50)*	0,74	

1	2	3	4	5	6	7	8
2.5. Общая погрешность имитатора экстракта, $C_{п}=20$ нг/л с АС по 2 варианту (п.1.2. + п. 2.1.)	±3,70	0,98	±1,25	0,41	±4,95 (±2,2)*	1,08	
2.6. Общая погрешность имитатора экстракта, $C_{п}=20$ нг/л с АС по 2 варианту (п.1.2. + п. 2.2.)	±3,70	0,98	±1,46	0,47	±5,16 (±2,2)*	1,09	
3. Концентрирование эмитаторов экстракта							
3.1. Потеря Б[а]П при концентрировании одной пробы (определено экспериментально)	±7,0	3,5					-12,0
3.2. Средняя потеря Б[а]П по двум имитаторам (пробам)	±7,0 (±5,0)*	2,48					-12,0
4. Растворение концентрата экстракта в микропробирке хроматографа							
4.1. Дозирование растворителя микрошприцем МШ-50М, 200 мкл, ±1%	±1,00	0,50	±0,50	0,25			
4.2. Общая погрешность эквивалентной концентрации $C_{п}$ в микропробирке хроматографа при АС по 1 варианту (п.2.4. + п.4.1. + 3.2.)	±8,20	2,61	±1,56	0,45	±9,76 (±6,0)*	2,65	
4.3. Общая погрешность эквивалентной концентрации $C_{п}$ в микропробирке хроматографа при АС по 2 варианту (п.2.6. + п.4.1. + 3.2.)	±9,70	2,72	±1,96	0,53	11,66 (±6,0)*	2,77	
5. Хроматографирование раствора концентрата							
5.1. Случайная погрешность единичного измерения площади пика S (определена экспериментально)			±4,00	2,00			
5.2. Случайная погрешность среднего из 5 измерений \bar{S}			±1,80	0,89			
5.3. Случайная погрешность суммы $\bar{S}_1 + \bar{S}_2$ при $C_{п1}=20$ нг/л и $C_{п2}=10$ нг/л			±1,30	0,63			
6. Погрешность градуировочного коэффициента							
6.1. По варианту 1 (п.4.2. + п.5.3.)	±8,20	2,61	±2,88	0,80	±11,00 (±5,50)*	2,73	
6.2. По варианту 2 (п.4.3. + п.5.3.)	±9,70	2,72	±3,28	0,85	±1,30 (±5,70)*	2,84	

1	2	3	4	5	6	7	8
Погрешности при измерении							
7. Измерение объема пробы воды цилиндром отливным, 1000 дм ³ , ±10 дм ³	±1,00	0,50	±0,50	0,25	±1,50	0,56	
8. Потеря Б[а]П при экстракции (определена экспериментально)			±0,20	0,12			+0,20
9. Потеря Б[а]П при концентрировании одной пробы			±7,00	3,5			+12,00
9 ^а . Усреднение по потери по двум пробам (п.9/√2)		2,48	±5,00	2,48			+12,00
10. Растворение концентрата в пробирке хроматографа (по п.4.1.)	±1,00	0,50	±0,50	0,25	±1,50	0,56	
11. Хроматографирование раствора концентрата пробы							
11.1 Случайная погрешность суммы площадей пиков на двух длинах волн по одной пробе (по п. 5.2., 5 измерений)			±1,80	0,89			
11.2 Случайная погрешность средней суммы площадей по двум пробам (по п.5.3.)			±1,30	0,63			
12. Общая погрешность определения концентрации Б[а]П в воде:							
<i>градуировка п.6</i>			±3,28	0,85	±5,70	2,84	-12,5
<i>отбор пробы п.7</i>			±0,50	0,25	±1,50	0,56	
<i>концентрирование п.9^а</i>			±5,00	2,48	±5,00	2,48	+12,2
<i>растворение концентрата п.10</i>			±0,50	0,25	±1,50	0,56	
<i>измерение площадей пиков п.11.2</i>			±1,30	0,63	±1,30	0,63	
Итого:			(±5,20)*	2,58	±15,0 (±8,0)*	3,91 (4,00)*	-0,3**

Примечание: *В итоговых строках таблицы в скобках показаны оценки погрешностей, полученные с учетом нормализации суммарной погрешности и применением мажорирования (округления в большую сторону); **Общая поправка –0,3 % незначима.