Тема моего доклада: **«Измерение содержания нефтепродуктов в почве методами флуориметрии и гравиметрии». !**

Диапазон измерений массовой доли НП флуориметрическим методом составляет от 5 до 20000 мг/кг, для гравиметрического метода от 20 до 500000 мг/кг. Масса навеска для флуориметрического метода 1г., гравиметрического варьируется от 2 до 30г. (в зависимости от загрязнения почвы). **!**

Флуориметрический и гравиметрический метод измерений массовой доли НП в почве заключается в последовательном проведении следующих стадий:

1. Экстракция НП из навески почвы, хлороформом. **!**
2. Далее полученный экстракт выпаривают досуха в токе воздуха.

Следующий этап – очистка экстракта методом колоночной хроматографии. **!**

1. Сухой остаток растворяют гексаном.
2. Гексановый экстракт переносят на хроматографическую колонку.
3. Колонку промывают гексаном и собирают элюат. **!**

Далее для флуориметрического метода измеряют массовую концентрацию НП в очищенном экстракте (элюате) на анализаторе жидкости «Флюорат». И вычисляют массовую долю НП.

Суть флуориметрического метода: «При поглощении ультрафиолетового излучения молекулы вещества переходят в «возбужденное» состояние. Возбужденная молекула не может долго сохранять излишек энергии и возвращается в нормальное состояние путем излучения поглощенной энергии – флуоресценции». **!**

Пример флуоресценции. В одной пробирке находится чистый растворитель гексан, в другой гексановый экстракт почвы загрязненной НП. При включении уф-лампы, мы наблюдаем флуоресценцию . **!**

Для гравиметрического метода, определение массовой доли НП в пробе почвы проводят взвешиванием после упаривания растворителя. **!**

Рассмотрим поподробнее методику определения НП в почве флуориметрическим методом.

На данном слайде приводятся все основные стадии методики. Перед тем как начать пробоподготовку (выделено на схеме фиолетовым цветом) нужно пройти предварительные стадии контроля (проверка чистоты растворителя - гексана, проверка чистоты экстрагента - хлороформа, контроль условий элюирования, проверка чистоты колонки).

Главный акцент я хотела бы сделать на контроле качества для каждой стадии.**!** Первая стадия **– проверка чистоты гексана. !**

Проверка чистоты гексана проводится по интенсивности сигнала флуоресценции (пределы действия рассчитывается по формуле *J±2S(J)*).

И по содержанию НП в гексане, по методике гексан считается, пригоден, если полученное значение минимальной определяемой массовой концентрации НП не превышает 0,1 мг/дм3. По нашим данным мы получаем такой набор точек.

Для своей работы мы используем гексан классификации осч. производитель «Криохром» - зелёные точки на графике. Закупив, новую партия гексана, другого производителя он оказался не пригодным для дальнейшей работы красные точки на графике, так как интенсивность сигнала значительно превышает (в 2 раза) допускаемые значения. Рассчитав минимально определяемое значение массовой концентрации НП в гексане, мы получаем красную точку на графике выше норматива контроля. В данном случае растворитель необходимо заменить. Перегнав гексан, получили синие точки на графике, перегнанный гексан соответствовал нашим требованиям. Можно продолжить работу. **!**

Следующая стадия – **градуировка прибора (си) и контроль стабильности градуировочной характеристики. !**

Для градуировки прибора приготавливают серию растворов (АС) НП в гексане с разной массовой концентрацией из СО (ГСО 7950-2001 – нефтепродукты в гексане). Строятся градуировочная зависимость, диапазон от 0 до 10 мг/дм3.

Основные характеристики данной градуировочной зависимости приведены в таблице (рассчитывает программа). Каждый день я не строю градуировочную зависимость, она остается в памяти прибора. Но каждый раз проводиться оперативный контроль стабильности градуировочной характеристики (КСГХ), для этого из ГСО 7950-2001 НП в гексане готовим серию контрольных растворов (АС) с массовой концентрацией НП 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 2; 5 мг/дм3. Если для градуировочной зависимосити используются 4 или 5 АС, то для КСГХ используют не менее двух АС, выбираем, такую массовую концентрацию, чтоб соответствовало нашим (реальным) пробам. Несколько примеров КСГХ приведены в таблице. В один день приготовлены АС с массовой концентрацией НП 0,05 и 0,5 мг/дм3. Измеряем массовую концентрацию НП в режиме измерения с использованием градуировочной характеристики, заложенной в памяти прибора. Измеренную массовую концентрацию сравниваем с нормативом, диапазоном допускаемых значений. Получаем результат контроля удовлетворительный. Аналогично для всех концентраций. **!**

На этом слайде представлен **Статистический контроль стабильности градуировочной зависимости** в виде карт Шухарта. Где красные линии – это верхний и нижний предел предупреждения (по методике). А зелёные линии – это верхний и нижний внутрилабораторный предел предупреждения (установленный лабораторией, 1/3 погрешности методики). Для каждой точки на градуировочной зависимости ведется такой контроль. Равномерное распределение свидетельствует об отсутствие систематической погрешности. Мы можем наблюдать, насколько стабильность высока.**!**

Таким образом, мы проконтролировали чистоту одного из растворителей и посмотрели, как осуществляется КСГХ.

Следующий **Контроль чистоты экстрагента. !** Перед тем как преступить к экстракции НП из образца почвы нам нужно проверить чистоту экстрагента (хлороформа). По методике допускается содержание НП не более 0,1 мг/дм3, в противном случае экстрагент необходимо заменить или произвести его очистку. Успешный результат достигается путем перегонки хлороформа, исходный хлороформ (Экос-1, х.ч.) для этой процедуры не пригоден.

Проверив чистоту экстрагента (хлороформа) и получив удовлетворительный результат, мы можем приступить к экстракции НП из почвы. **!**

Получив почвенный экстракт, в котором находятся самые различные компоненты, прямое измерение на приборе не возможно – требуется очистка экстракта от мешающих компонентов. Для этого мы используем классический метод колоночной хроматографии на оксиде алюминия. Но перед тем как экстракт перенести на хроматографическую колонку, проводим **Контроль условий элюирования** НП. **!**

Проверяется работоспособность колонки методом введено-найдено.

При использовании каждой новой партии сорбента (используем оксид алюминия фирмы Panreac) перед работой необходимо проводить контроль условий элюирования стандартного раствора НП в гексане с колонки. Через хроматографическую колонку пропускаем раствор НП в гексане с массовой концентрацией 100 мг/дм3. Рассчитывается коэффициент извлечения НП после прохождения через колонку. По методике – сорбент пригоден к использованию, если результат находится в диапазоне от 0,75 до 1,05 (норматив контроля обнавленной методики, изд. 2012г.). Ранее норматив контроля был другой, потери не должны были превышать 15% - фиолетовая линия на графике. Как видно мы хорошо укладываемся в эти пределы. **!**

Следующая стадия контроля  **Подготовка хроматографической колонки (проверка чистоты хроматографической колонки). !**

После заполнения колонку с оксидом алюминия промывают 15 см3 гексана. Последние порции гексана (3-4 см3) собирают в кювету и измеряют массовую концентрацию НП, которая не должна превышать 0,1 мг/дм3. В противном случае промывку колонки гексаном продолжают до достижения вышеуказанного значения. Приготовленную колонку используют однократно. На этом графике мы наблюдаем хорошие результаты, но бывают результаты, превышающие 0,1 мг/дм3, это зависит от чистоты посуды (посуда плохо отмывается после сильно загрязненных проб). **!**

После проверки чистоты растворителей (гексан, хлороформ), контроля стабильности градуировочной характеристики, контроля условий элюирования и подготовки хроматографической колонки, получив на всех стадиях удовлетворительный результат, мы можем приступить к стадии выполнение измерений.

После выполнения измерений, следующий этап контроль качества измерений. По методике это:

1. Контроль повторяемости результатов измерений;
2. и контроль точности методом добавок.

Мы применяем дополнительные варианты контроля точности:

1. с использованием ГСО 10408-2014 (Петроаналитика);
2. С использованием почвенных образцов.

Рассмотрим подробнее. **!**

**Для контроля повторяемости результатов измерений берется каждая 10-я проба почвы.**

От пробы почвы берут две равные навески и анализируют их в точном соответствии с методикой, получая в одинаковых условиях два единичных результата измерения х1 и х2. Результат контроля признают удовлетворительным, если относительное фактическое расхождение *r*факт.≤ *r* допускаемого относительного расхождения. **!**

**Контроль точности методом добавок !**

От пробы почвы берут две равные навески. Проводят анализ первой из них, получая результат измерений (Х1). Во вторую навеску вводят добавку НП в виде раствора НП в гексане. Проводят анализ навески с добавкой, получая результат измерений (Х1+д). Правильность применения методики считается подтвержденным при выполнении условия. Где расхождение фактическое не должно превышать норматива контроля. Как мы видим результат положительный. В моей практике результатов контроля точности методом добавок, выходящие за пределы норматива нет. **!**

**Контроль точности измерений с использованием ГСО 10408-2014** стандартный образец массовой концентрации НП в гексане (СО НГ-ПА(5)). Он предназначен для контроля точности результатов измерений массовой концентрации НП в водах и почвах флуориметрическим методом. Из него (стандартного образца СО НГ-ПА(5)) приготовлено два раствора с массовой концентрацией НП **0,5** и **5 мг/дм3**. Результаты контроля представлены на слайде. Сравнивается результат анализа контрольной пробы с истинным значением. Расхождение фактическое не должно превышать норматива контроля. **!**

**Контроль точности с использованием почвенных образцов**. **! !**

В настоящее время существуют стандартные образцы почвы для определения НП гравиметрическим и ИК-спектрометрическим методом. Для инфракрасной спектрометрии -3 СО, для гравиметрии-2, а для флуориметрического метода почвенного СО нет.

Мы решили попробовать проанализировать стандартный образец флуориметрическим методом, так как образцы однородны и имеются в продаже. Наша задача узнать, возможно, ли использовать СО для флуориметрического метода измерений.

Для сравнения мы взяли почвенный образец **!** для контроля ОК НПП-11 и проанализировали тремя методами (флуориметрическим, гравиметрическим и ИК-спектрометрическим). **!**

Аттестованное значение образца для контроля **ОК НПП-11** (ГСО 10107-2012**) 850 мг/кг** – зеленая линия.Из представленной диаграммы видно, что методы ик-спектрометрии и гравиметрии дают сходимые результаты. Коэффициент корреляции между методами грав. и ик. равен 0,7. Красными линиями обозначены границы погрешности ИК спектрометрического метода (25%). Для гравиметрического метода они на много шире (45%). Но данный образец не подходит для флуоресцентного анализа. Расхождение между флуориметрическим методом и гравиметрическим примерно в 20 раз. Видимо, стандартный образец приготовлен так, что в нем не содержатся флуоресцентные компоненты нефти.

(Среднее значение массовой доли НП флуориметрическим методом составляет 45 мг/кг.) **!**

Для сопоставления результатов полученных флуориметрическим и гравиметрическим методом вынуждены использовать реальные образцы. Для сравнения взяли реальную пробу, загрязненную НП, которая поступила к нам для определения массовой доли НП **ОК-НП-2** и проанализировали двумя методами (гравиметрическим и флуориметрическим). Расхождение между двумя методами 1,5 раза. **!!**

Так же методами гравиметрии и флуориметрии было проанализировано более 70 образцов с разным уровнем загрязнения нефтепродуктами. Условно их разделили на 3 диапазона:

Первый диапазон измерений массовой доли НП от **5** до **300** мг/кг;

Второй диапазон измерений массовой доли НП от **300** до **6000** мг/кг;

Третий диапазон измерений массовой доли НП от **6000** до **20000** мг/кг. Получили следующие данные:

1. **Первый диапазон измерений массовой доли НП от 5 до 300мг/кг**. Как видно из графика, данные не сходятся, между методами низкий коэффициент корреляции. Исходя из этих данных, лучше использовать флуориметрический метод для определения НП в почве. **!**
2. **Второй диапазон от 300 до 6000 мг/кг**. Степень сходства результатов флуориметрического и гравиметрического метода на много выше R=0,6. Данные близки друг к другу в диапазоне от 500 до 3000 мг/кг. Для определения НП в почве применимы оба метода. Если выбирать из двух методов. Предпочтительно определять НП в почве флуориметрическим методом, так как он более стабильный, погрешность методики меньше.  **!**
3. **Третий диапазон от 6000 до 20000 мг/кг**. Есть, какое-то сходство между результатами. R=0,5 Данные по флуориметрическому методу превышают гравиметрические. Скорей всего это связано с многократным разбавлением почвенного экстракта (до 250 раз). В данном диапазоне от 6000-20000 мг/кг, целесообразно использовать метод гравиметрии. Поскольку, тратиться большое количество растворителя (дорогостоящего) - не экономично использовать флуориметрический метод при высоких содержаниях НП в пробе, **!**

**Контроль точности с использованием почвенных образцов, для флуориметрического метода**.

Поскольку почвенного СО нет для флуориметрического метода. Для контроля точности определения НП флуориметрическим методом, мы выбрали имеющийся СО не аттестованный на содержание нефтепродуктов ОК-НП-1 – СО состава «агрохимических показателей» засоленной почвы САЗП-98, среднее значение массовой доли НП 5,5 млн-1. Используем для определения незагрязненных почв.

И второй образец ОК-НП-2 – реальная проба, которая поступила для анализа НП, среднее значение массовой доли НП 1900млн-1. Используем для определения загрязненных почв.

Для них построены карты Шухарта : 1. контролирующая прецизионность в условиях воспроизводимости; 2. контролирующая точность результата измерения.

Мы набираем данные для создания в дальнейшем стандартного образца предприятия. (провели уже более 66 измерений) Полученный массив данных позволяет оценить среднее значение и создать СОП.