

# Zneškodňování ropných kontaminací

## 5. Analytické metody



### Copyright

Volně přístupný materiál určený především pro studijní účely.  
*Používejte pouze s citací zdroje.*

*Those materials are open source.  
Copy it, adapt it, use it  
– but acknowledge the source!*

Milan Geršl

Brno, 2015

ÚZPET, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně

# Analytické metody

## Klasické metody

## Instrumentální metody

Klasická analýza	Instrumentální analýza
Vysoká přesnost stanovení až 0,1% rel.	Proměnlivá přesnost stanovení 5 -10 -20 % rel.
Stanovitelnost analytu do cca 0,1 %	Stanovitelnost analytu do $10^{-4}$ - $10^{-10}$ %, ale též ještě nižší
Založena na základním chemismu	Založena na fyzikálně-chemických, ale častěji na fyzikálních dějích
Vážková a odměrná analýza	Elektroanalytické, optické, separační instrumentální metody

# Analytické metody

**Kvalitativní stanovení**= zjištění přítomnosti látek (co?)

**Kvantitativní stanovení** = zjištění množství látek (kolik?)

## Validace analytických metod

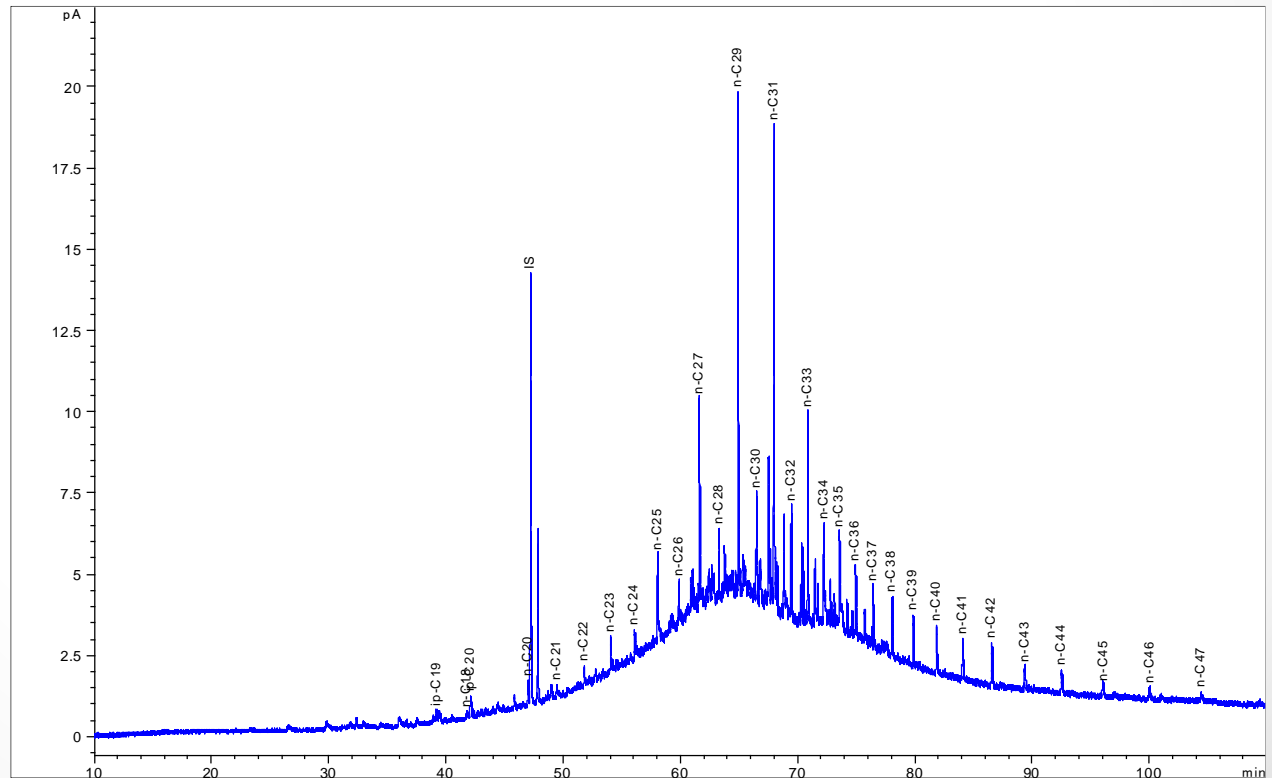
**Validace** - prokázání toho, že použitý postup je vhodný pro zamýšlené použití. Kritický je výběr validačních parametrů - základní kritérium jak získat dostatek údajů, aby bylo možno posoudit, zda metoda či systém, jsou vhodné pro zamýšlený účel.

**Kalibrace** – postup, kterým se navazuje měřidlo na státní etalony. Jedná se o určení vztahu mezi výstupní a vstupní veličinou, platného pro měřicí systém.

# Kvantitativní analýza

## Metoda interního standardu (IS)

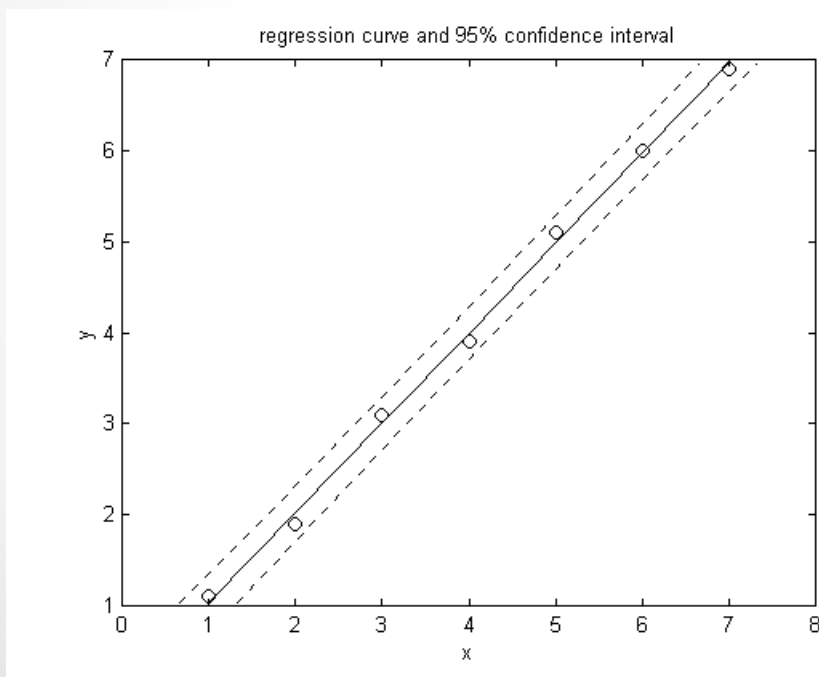
IS = látka, která se ve analyzovaném vzorku nevyskytuje. Znamé množství IS se přidá do. Podle poměrného zastoupení IS se stanoví obsah požadovaných složek.



# Kvantitativní analýza

## Metoda kalibrační přímky

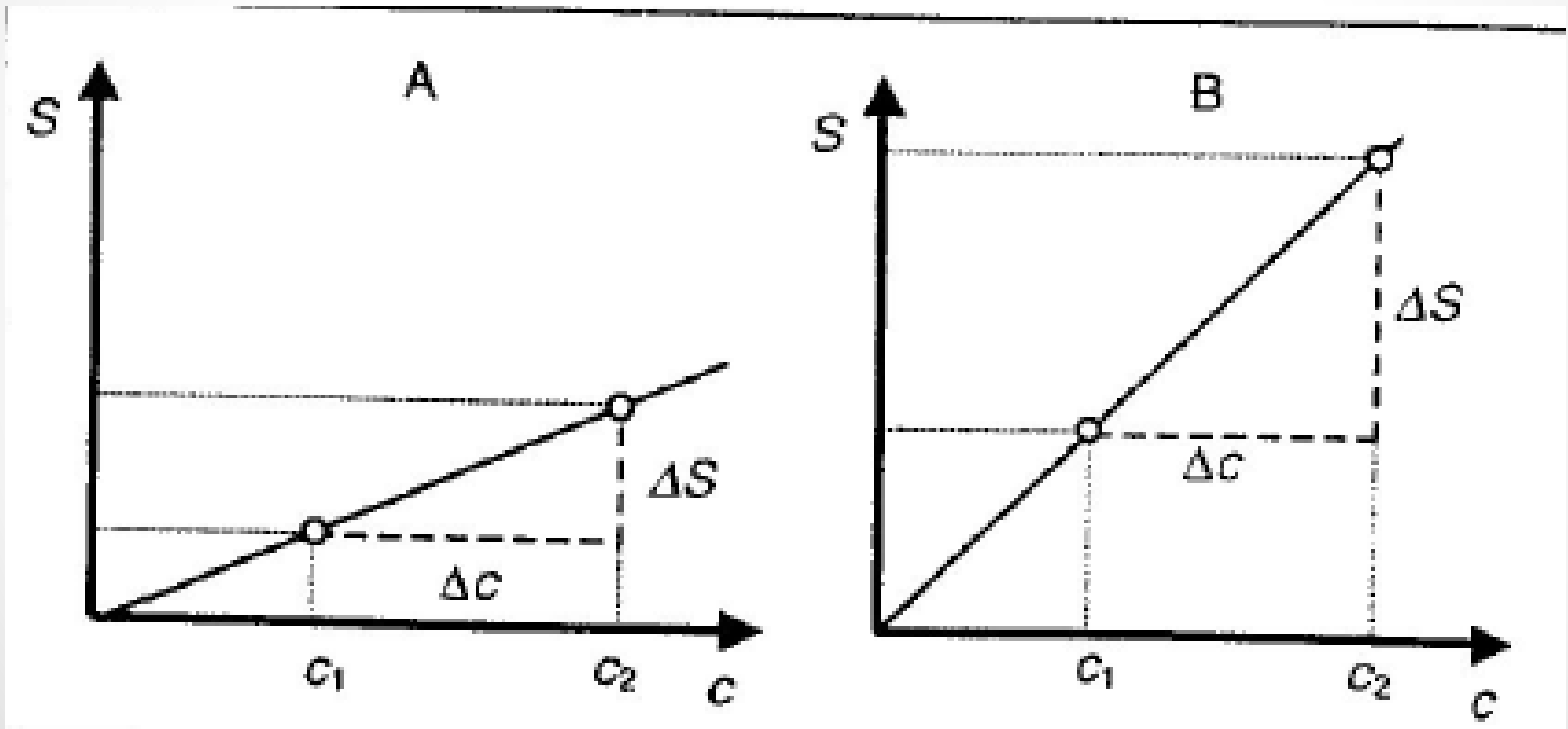
- připravíme sadu vzorků o známém složení, stanovíme závislost odezvy na koncentraci standardu v předpokládaném rozmezí ve vzorku.



Kalibrační přímka s 95% intervalem spolehlivosti

**Citlivost** = směrnice kalibrační přímky. Je-li citlivost závislá na matici, nepostačuje kalibrace na čisté látky.

**Podíl změny odezvy měřicího zařízení a odpovídající změny podnětu.**



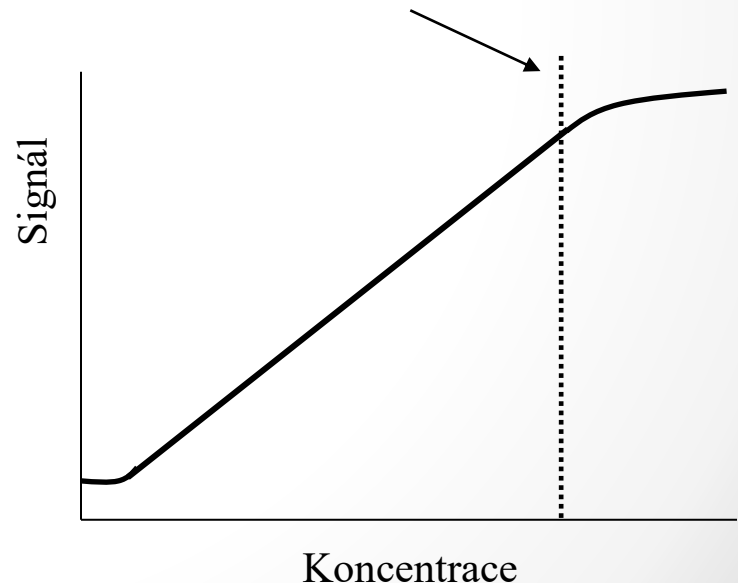
## Linearita (Linearity)

**schopnost metody poskytnout výsledky zkoušky přímo úměrné koncentraci analytu.**

Je zjišťována analýzou vzorků s koncentracemi analytu, které pokrývají deklarovaný rozsah metody.

*Vzorky, použité k určení linearity, mají být analyzovány v sériích 3 - 5 replikátů.*

*Mez linearity, Limit of Linearity (LOL)*



## Rozsah (Range)

### rozsah mezi mezí stanovitelnosti (LOQ) a mezí linearity (LOL)

Oblast v níž metoda poskytuje použitelné výsledky. Metody mají obvykle rozsahy v rozmezí dvou řádů. Některé metody však mají rozsah v hodnotách pěti i šesti řádů.

**Pracovní rozsah** je obecně rozsáhlejší než lineární rozsah. Aby byla metoda účinná, nemusí být vztah mezi odezvou a koncentrací naprosto lineární. Použijí se pak nelineární regresní metody.



**Mez detekce = MD, LOD – Limit od detection**

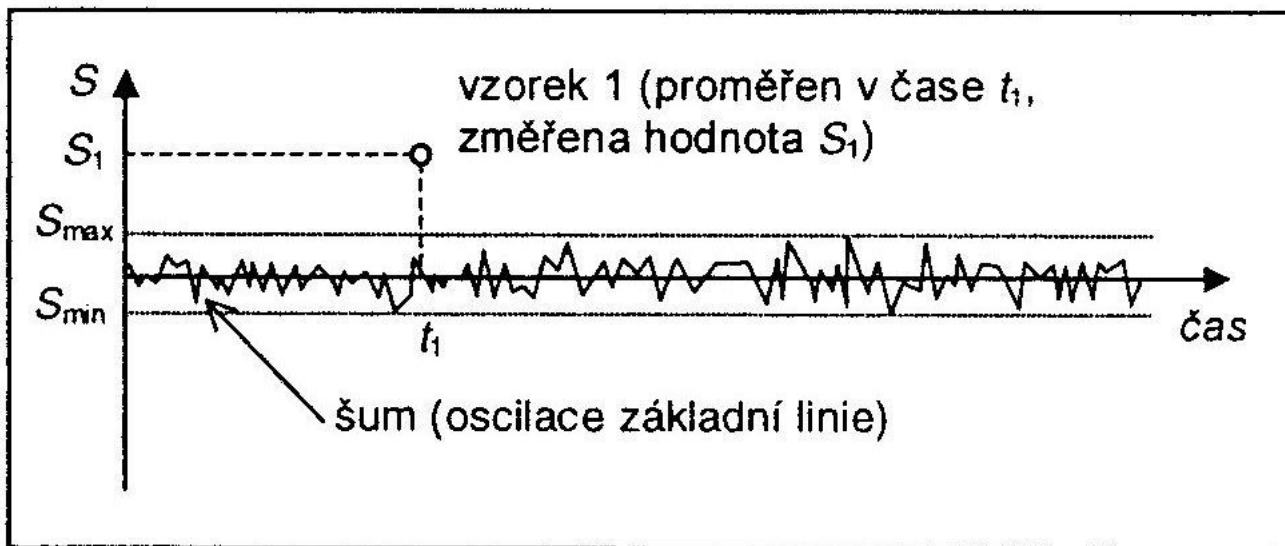
**nejmenší množství složky ve vzorku, které lze stanovit**

signál statisticky významně odlišný od šumu.

Opakované měření slepého vzorku - hodnoty oscilující kolem nuly = **šum**.

Měření vzorku za stejných podmínek - signál  $S$ , musí dostatečně převyšovat šum.

**trojnásobek šumu směrodatné odchylky slepého pokusu**

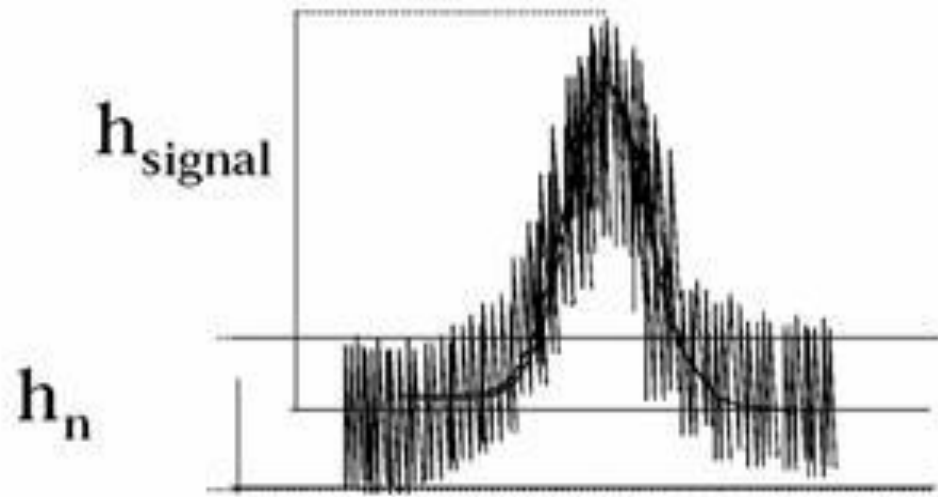


## **Mez stanovitelnosti - LOQ (Limit of quantification)**

**nejnižší množství analytu ve vzorku, které může být stanoveno jako exaktní hodnota s předem zadanou nejistotou.**

Je to nejnižší koncentrace analytu, jež může být stanovena s přijatelným stupněm správnosti a přesnosti.

**Desetinásobek šumu směrodatné odchylky slepého pokus**



$$\text{LOD} = 3 \cdot h_n / m$$

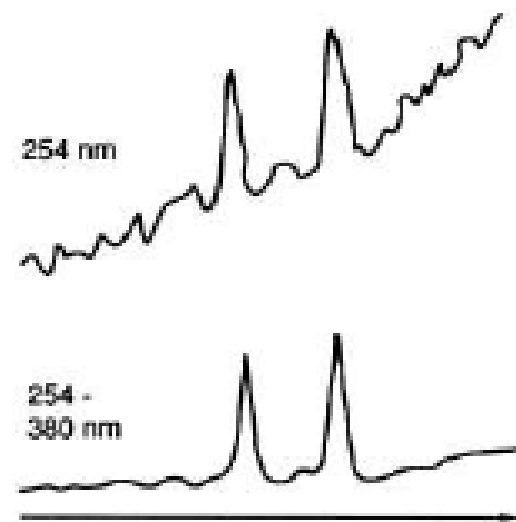
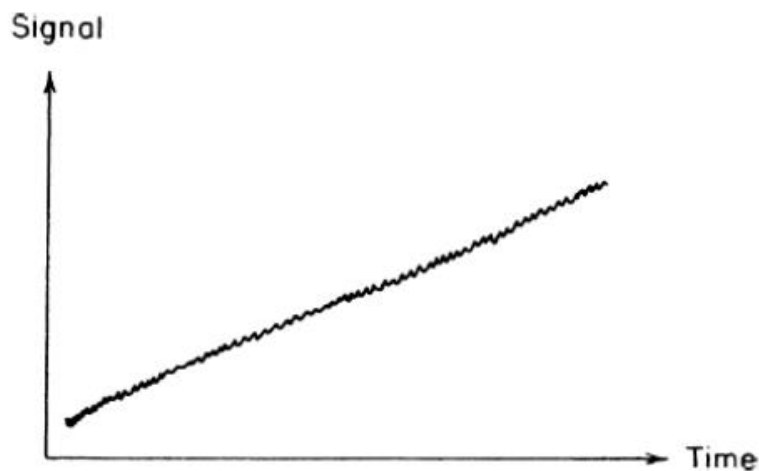
$$\text{LOQ} = 10 \cdot h_n / m$$

$h_n$  = šum na základní linii  
 $m$  je směrnice kalibrační křivky

## Drift základní linie měřicího přístroje

Spojitá nebo přírůstková změna indikace v čase způsobená změnami metrologických vlastností měřicího přístroje.

- odchylka základní linie v čase, projevuje se nárůstem směrnice



## **Přesnost (Precision)**

**Těsnost souhlasu mezi nezávislými výsledky zkoušky, získanými za předem specifikovaných podmínek.**

Závisí na rozdělení náhodných chyb a nemá vztah ke skutečné hodnotě. Obvykle se uvádí ve formě směrodatné odchylky.

## **Opakovatelnost (Repeatability):**

**Přesnost za podmínek opakovatelnosti.** Vyjadřuje těsnost souhlasu mezi výsledky nezávislých měření stejného analytu, provedených stejnou metodou, stejným pracovníkem, na stejné přístroji, na stejném místě, za stejných podmínek v krátkém časovém intervalu. Opakovatelnost je vlastností metody, ne výsledku.

***Mez opakovatelnosti (Repeatability limit) – Hodnota, o níž lze s pravděpodobností 95 % předpokládat, že bude pod ní ležet nebo jí bude rovna absolutní hodnota rozdílu mezi dvěma výsledky zkoušek (měření), které byly získány za podmínek opakovatelnosti.***

## **Reprodukovatelnost (Reproducibility): Přesnost za podmínek**

**reprodukovatelnosti.** Vyjadřuje těsnost souhlasu mezi výsledky měření stejného analytu ve vzorcích stejného materiálu, kdy jsou jednotlivá měření prováděna za různých podmínek (pracovník, přístroj, místo, podmínky, čas, avšak stejná metoda). Okružák

***Mez reprodukovatelnosti (Reproducibility limit) – Hodnota, o níž lze s pravděpodobností 95 % předpokládat, že pod ní bude ležet nebo jí bude rovna absolutní hodnota rozdílu mezi dvěma výsledky zkoušek (měření), které byly získány za podmínek reprodukovatelnosti.***

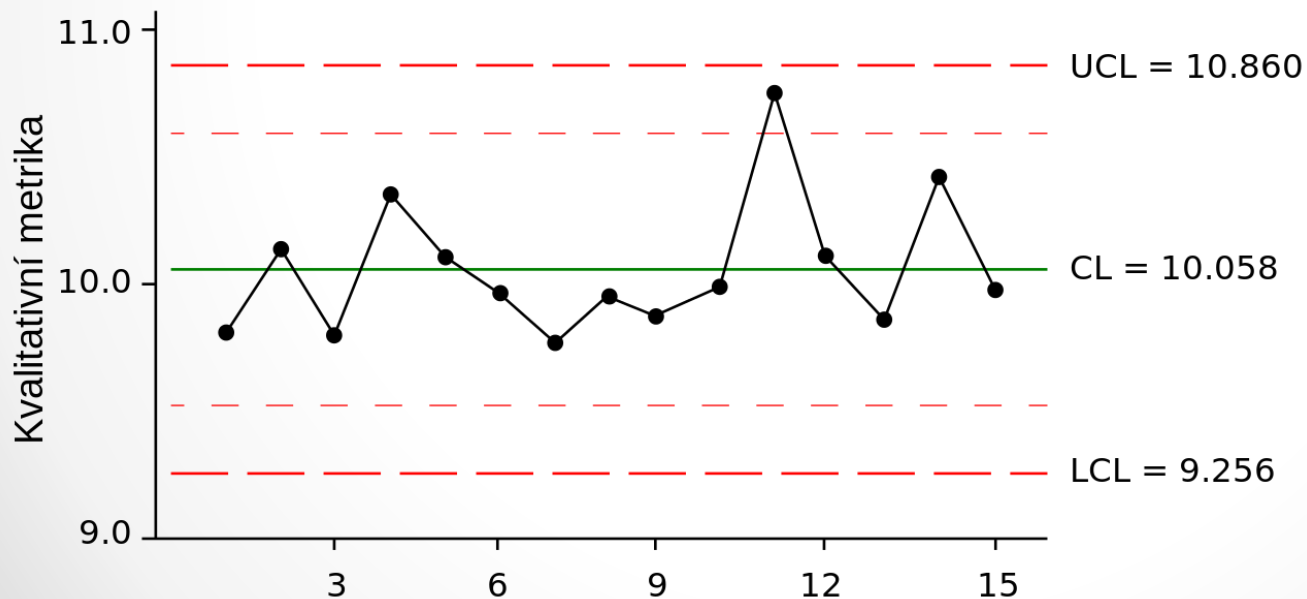
**Regulační diagram:** je nástroj statistické regulace procesu (SPC z anglického Statistic Process Control) je graf, který se používá ke znázornění změn procesu resp. jeho klíčové metriky v průběhu času. Regulační diagram má vždy označenu střední hodnotu (*CL - Central Line*) a horní a dolní regulační mez (*UCL – Upper Control Line* a *LCL – Lower Control Line*), tzv. akční meze, které jsou určeny buď z historických dat, nebo jsou cílovou hodnotou určenou předpisem. Z časového průběhu diagramu je možné udělat závěr zda je chování procesu či metriky regulované, nebo zda je nepředvídatelné (mimo kontrolu).

IŠIKAWA, Kaoru. *Introduction to Quality Control*. 1. vyd. Tokyo : 3A Corp, 1990. ISBN 9784906224616. OCLC 23372992. S. 98.

Nancy R. Tague. *Seven Basic Quality Tools* [online]. Milwaukee, Wisconsin: American Society for Quality, [cit. 2010-02-05]. (The Quality Toolbox.) S. 15.

## Regulační diagram:

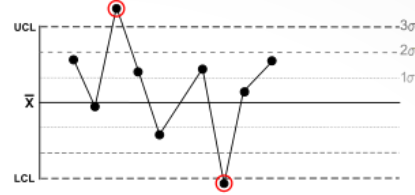
Regulační diagramy tak mohou být použity například ke kontrole stability procesu, tedy zjistit zda proces funguje jako stabilní systém s náhodnými vlivy působícími v malém rozsahu (systém s inherentní variabilitou) označovaný též jako proces ve „statisticky zvládnutém stavu“, případně zda dochází ke zlepšení či zhoršení tohoto stavu. Regulační diagram poskytuje uživatelům on-line pohled na chování procesu.



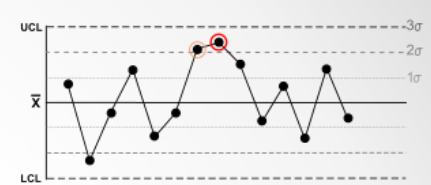


# Regulační diagram:

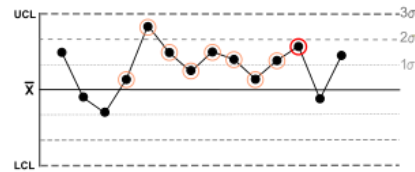
**Rule 1:** One point is more than 3 standard deviations from the mean



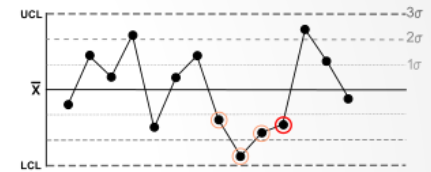
**Rule 5:** Two (or three) out of three points in a row are more than 2 standard deviations from the mean in the same direction



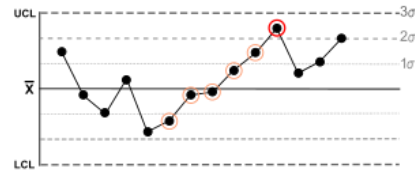
**Rule 2:** Nine (or more) points in a row are on the same side of the mean



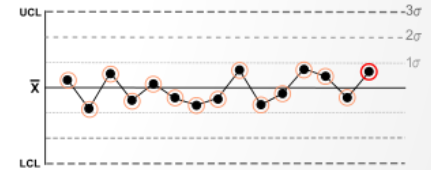
**Rule 6:** Four (or five) out of five points in a row are more than 1 standard deviation from the mean in the same direction



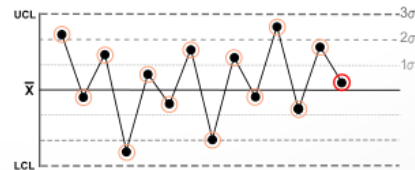
**Rule 3:** Six (or more) points in a row are continually increasing (or decreasing)



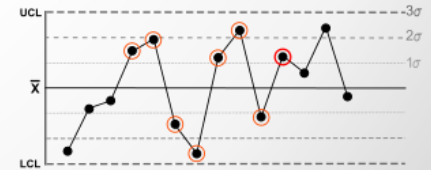
**Rule 7:** Fifteen points in a row are all within 1 standard deviation of the mean on either side of the mean



**Rule 4:** Fourteen (or more) points in a row alternate in direction, increasing then decreasing



**Rule 8:** Eight points in a row exist with none within 1 standard deviation of the mean and the points are in both directions from the mean



[http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Poster\\_-\\_Control\\_Charts\\_for\\_Nelson\\_Rules.svg](http://cs.wikipedia.org/wiki/Soubor:Poster_-_Control_Charts_for_Nelson_Rules.svg)

## Regulační diagram:

Profesionální sw. pro tvorbu, např.:

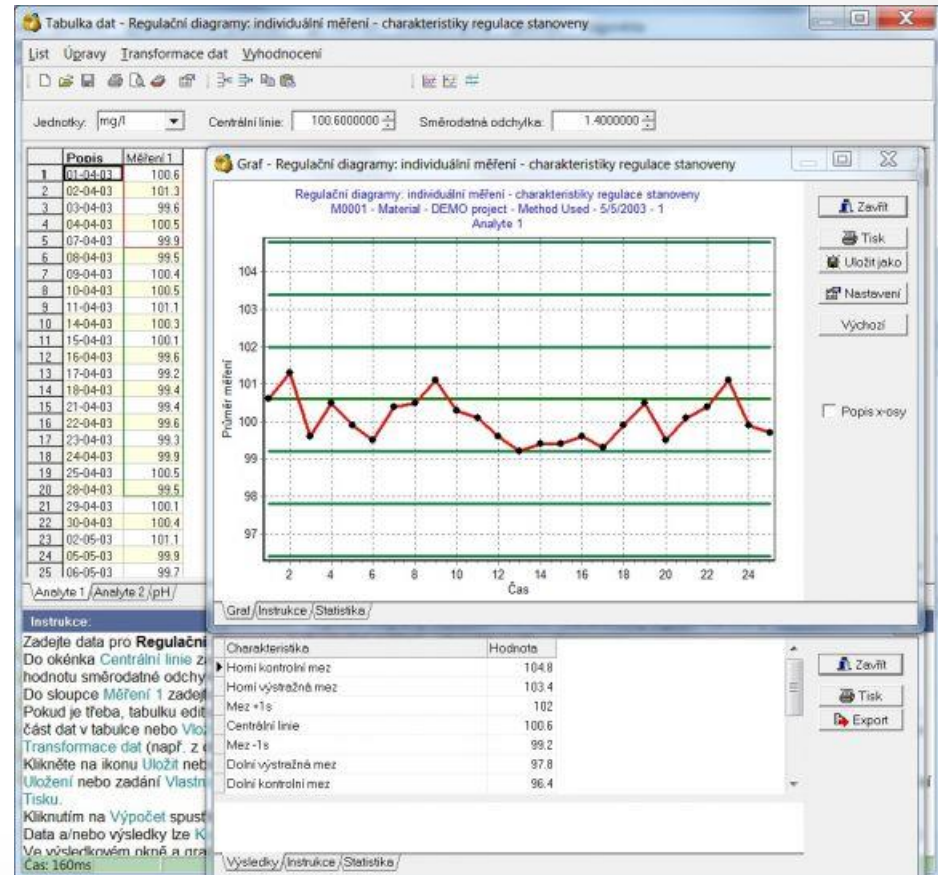
Effichem - <http://www.effichem.cz/>

Statistica - <http://www.statsoft.cz/>

Třeštík - <http://www.trestik.cz/statisticke-nastroje-pro-spc>

A mnoho jiných, **ale pozor:**

Velmi jednoduše lze připravit v jakémkoliv tabulkovém procesoru (MS Excel) i manuálně na papíře.



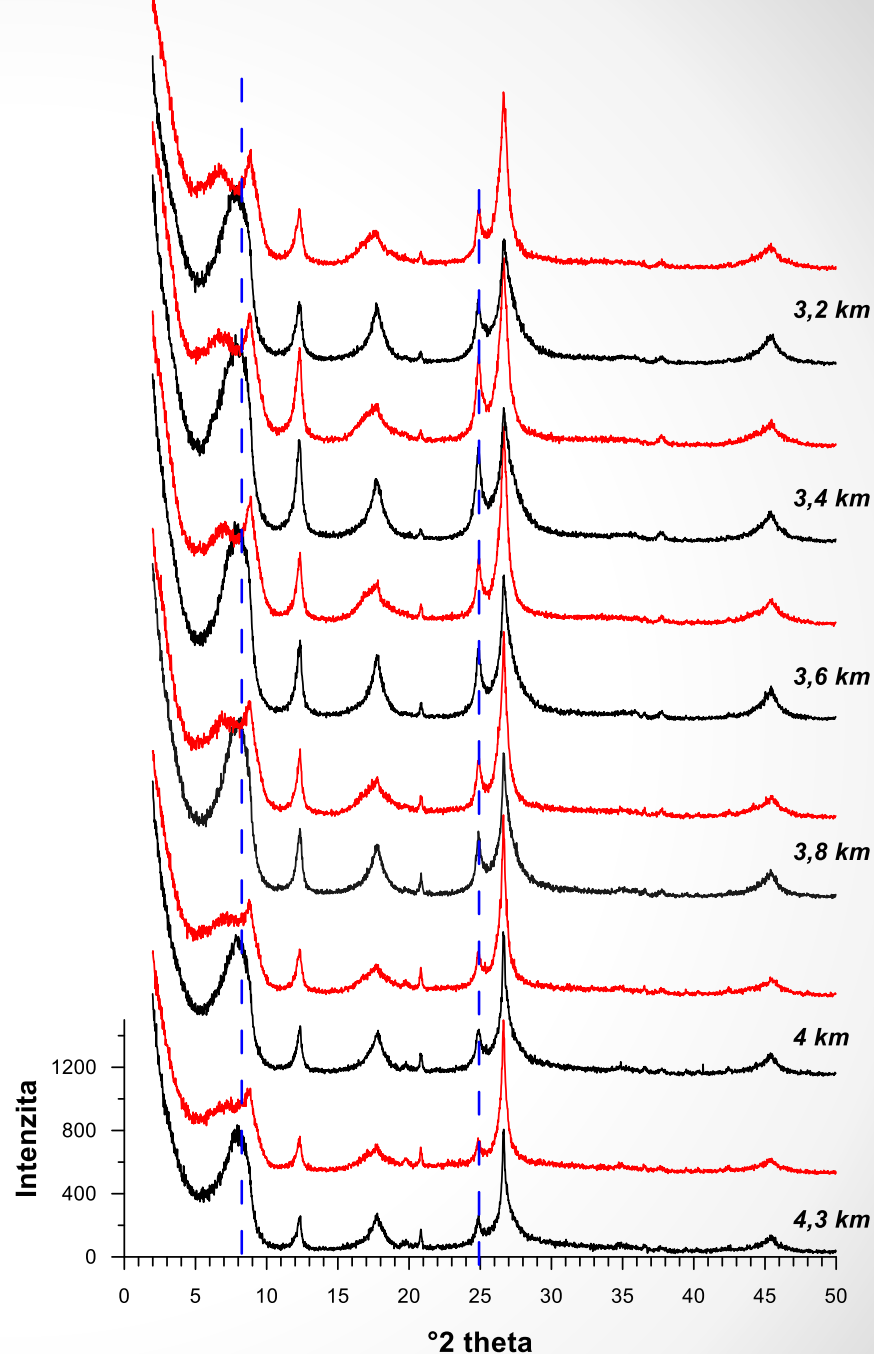
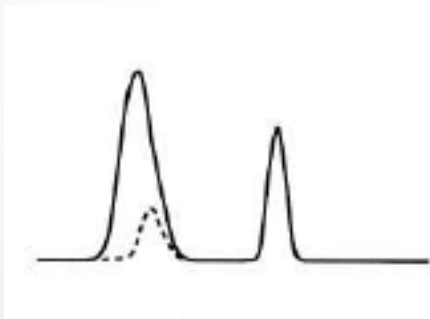
<http://www.effichem.cz>

**Správnost (Accuracy):** Těsnost souhlasu mezi výsledkem měření a skutečnou hodnotou (konvenční skutečnou hodnotou) měřené veličiny. Správnost kombinuje přesnost a pravdivost, tj. vlivy náhodných a systematických faktorů. Za předpokladu, že výsledky použité metody vykazují nulovou nebo malou chybu, správnost se rovná přesnosti. Správnost lze zjistit analyzováním vhodného referenčního materiálu.

**Pravdivost (Trueness):** Těsnost souhlasu mezi průměrnou hodnotou získanou z velkého počtu výsledků měření a dohodnutou referenční hodnotou (skutečnou hodnotou, konvenční skutečnou hodnotou). Pravdivý výsledek je zatížen nulovou systematickou chybou. Míra pravdivosti je odchylka. Průměrnou hodnotou je v definici myšlena střední hodnota základního (statistického) souboru.

## Selektivita (Selectivity)

- udává rozsah, do kterého může být jednotlivý analyt stanoven v komplexní směsi, aniž by došlo k interferenci s ostatními složkami ve směsi. O metodě, která je naprosto selektivní pro analyt nebo skupinu analytů, říkáme, že je specifická.



## **Robustnost (Robustness)**

- míra kapacity zůstat netečný vůči malým, ale záměrným změnám parametrů metody a poskytuje indikaci o jeho spolehlivosti během obvyklého používání.

Změna podmínek může nastat pro případ mezilaboratorních zkoušek (jiná laboratoř, analytik, instrument) nebo změnou podmínek v jedné laboratoři (teplota, koncentrace, doba extrakce).

## **Porovnání s referenčním materiálem**

- materiál musí být dostupný, musí mít deklarovanou koncentraci a danou směrodatnou odchylku
- Opakovaně se analyzuje 6-10x
- Vypočte se směrodatná odchylka a průměrná hodnota
- Porovnáme s deklarovanými hodnotami
- Pro validaci správnosti metody je třeba použít tolik referenčních materiálů aby se pokryl celá koncentrační rozsah a všechny matrice, na které se metoda používá.

**Certifikovaný referenční materiál (CRM - Certified Reference Material, v USA SRM): Referenční materiál doprovázený dokumentem vydaným způsobilou osobou a poskytující jednu nebo více specifikovaných hodnot vlastnosti s přidruženými nejistotami a návaznostmi s použitím platných postupů.**

# Analýza plynu

- stanovení hlavních složek
- stanovení vedlejších složek
- stanovení izotopického složení zájmových komponent

**Kde:** podzemní zásobníky plynu, ložiskový plyn, půdní plyn, důlní plyn, rozpuštěný plyn ve vodách.

**Co:** původ plynu, technologické zpracování, sanace

## ***Chemické složení suché a čisté troposféry:***

<b>Plyn</b>	<b>Chemická značka</b>	<b>% objemu</b>
<b>dušík</b>	<b>N<sub>2</sub></b>	<b>78,084</b>
<b>kyslík</b>	<b>O<sub>2</sub></b>	<b>20,948</b>
<b>argon</b>	<b>Ar</b>	<b>0,934</b>
<b>oxid uhličitý</b>	<b>CO<sub>2</sub></b>	<b>0,031</b>
<b>neon</b>	<b>Ne</b>	<b>0,001 818</b>
<b>hélium</b>	<b>He</b>	<b>0,000 524</b>
<b>metan</b>	<b>CH<sub>4</sub></b>	<b>0,000 200</b>
<b>krypton</b>	<b>Kr</b>	<b>0,000 114</b>
<b>vodík</b>	<b>H<sub>2</sub></b>	<b>0,000 050</b>
<b>oxid dusný</b>	<b>N<sub>2</sub>O</b>	<b>0,000 050</b>
<b>xenon</b>	<b>Xe</b>	<b>0,000 009</b>
<b>oxid siřičitý</b>	<b>SO<sub>2</sub></b>	<b>0 až 0,000 100</b>
<b>ozón</b>	<b>O<sub>3</sub></b>	<b>0 až 0,000 007</b>
<b>oxid dusičitý</b>	<b>NO<sub>2</sub></b>	<b>0 až 0,000 002</b>
<b>čpavek</b>	<b>NH<sub>3</sub></b>	<b>stopy</b>
<b>oxid uhelnatý</b>	<b>CO</b>	<b>stopy</b>
<b>jód</b>	<b>I<sub>2</sub></b>	<b>stopy</b>

### Plyn

- omezení při přepravě
- zpracování do 1 týdne od odběru



# Terénní měření

## DRÄGER X-am 7000

Přístroj pro kontinuální měření až 5 druhů plynů.

3 elektrochemické a 2 katalytické nebo IČ senzory.

Možnost měření TWA, STEL, maxima i minima.

Doba měření až 20 hodin. Vestavěná pumpa, odběrová hadička 45 m.

Záznam provozních hodnot až 50 hodin, čtení dat na PC.

Váha 1090g.



# Analýza hornin, zemin

- stanovení organických sloučenin
- stanovení anorganických sloučenin

## Specifické problémy environmentálních analýz

- nízká homogenita vzorků
- nízká stabilita vzorků
- hodně typů matrice
- široké spektrum koncentrací
- monitorování na hranici detekčních limitů
- rizika sekundárních kontaminací
- vysoká finanční náročnost

# Organické látky



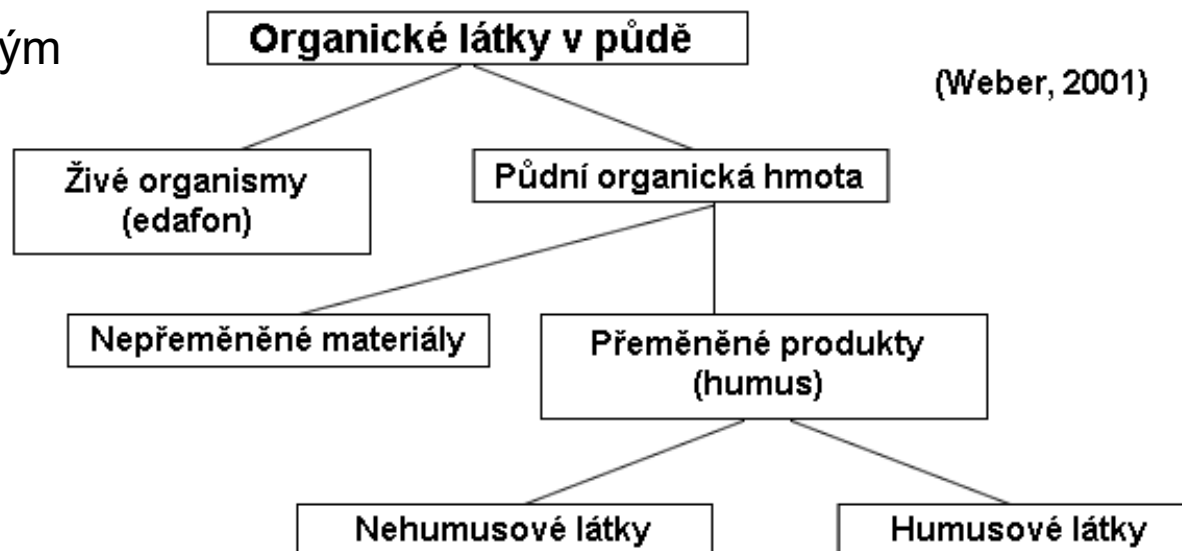
- Vysoká diverzita s ohledem na strukturu a fyzikálně chemické vlastnosti
- Vyskytují se ve vodě nebo půdě podle polaritě vyjádřené hodnotou  $K_{ow}$  (hydro / lipofilní) – vliv na transport a následnou distribuci

## • Antropogenní látky

prioritní polutanty  
nové polutanty

## • Přírodní látky

Xenobiotika – látky cizorodé živým organismům

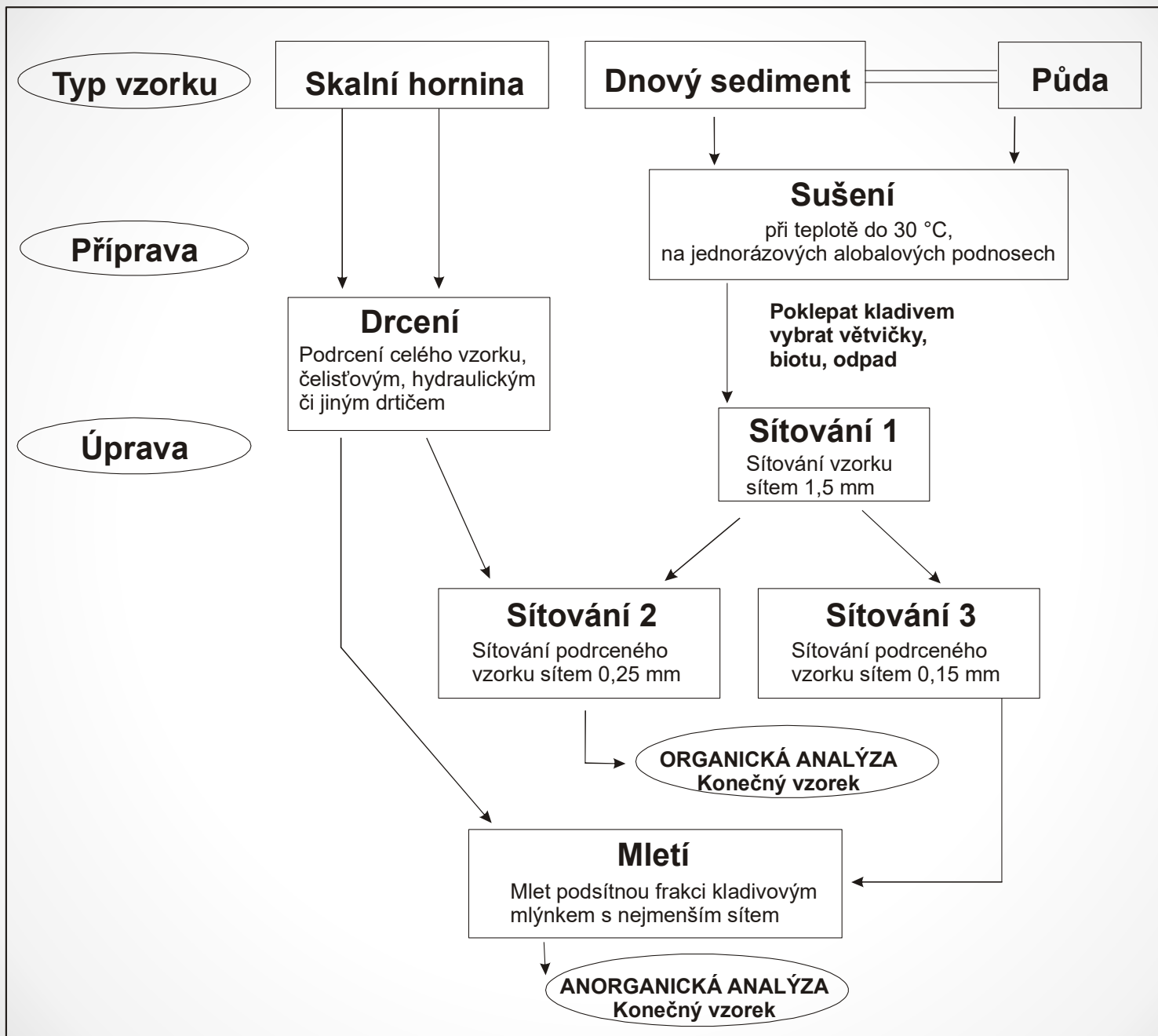


# Chemická analýza geomateriálů anorganická

- Stanovení hlavních a vedlejších prvků (silikátová analýza)
- Stanovení stopových prvků
- Stanovení izotopových poměrů stabilních i radiogenních izotopů

Pevný vzorek je nutné vzorek upravit (nábrus, tableta atp.) případně převést do roztoku mineralizací (rozkladem)





# Popis vzorků



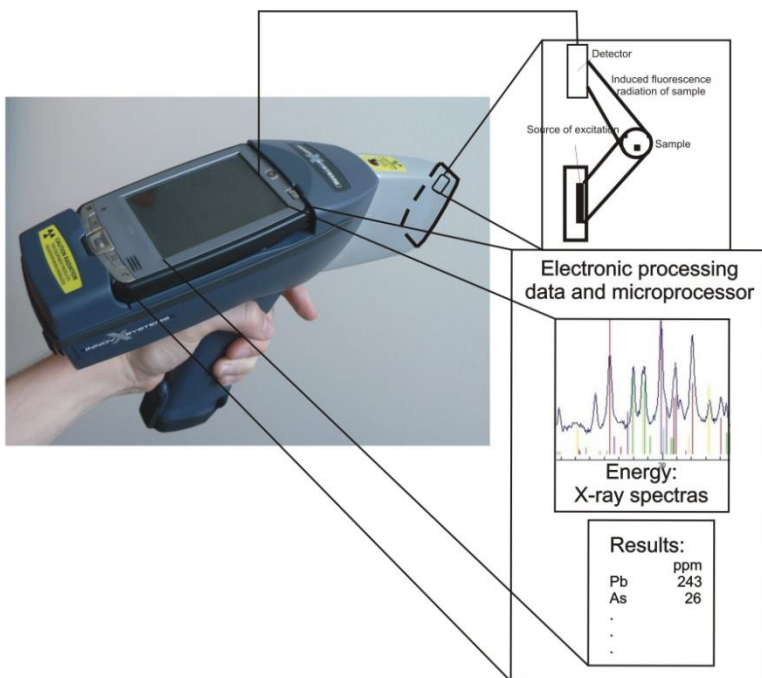
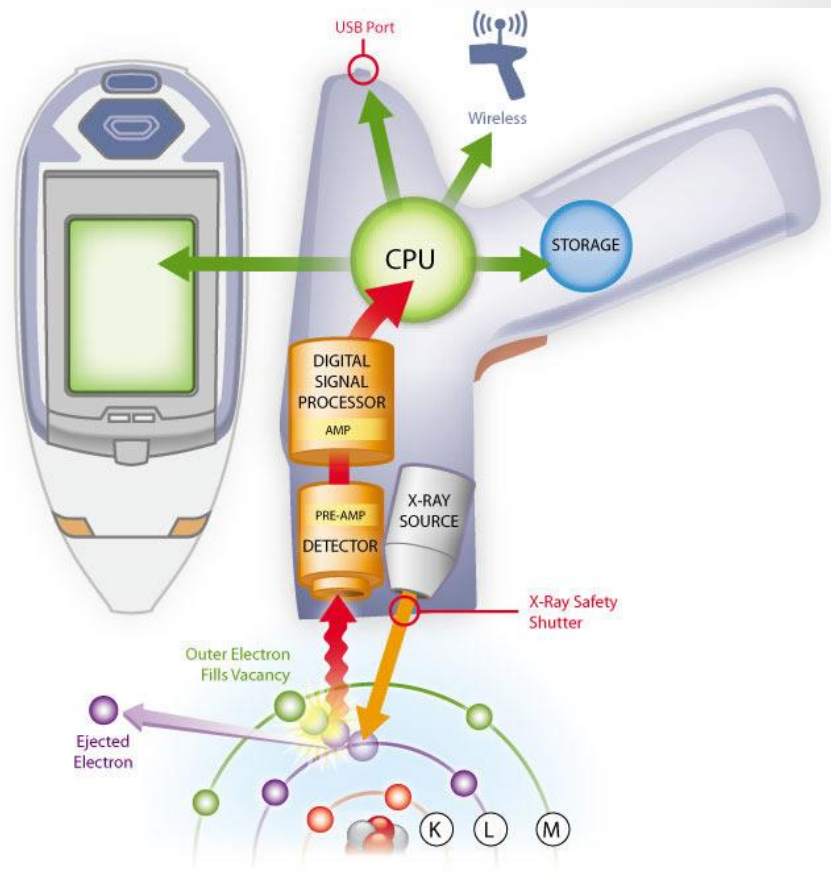
Zemina, sediment

- Barva, zrnitost

Vrtná jádra

- Litologická charakteristika
- Magnetická susceptibilita
- RFA

# Přenosný RFA



*Tabulka 1.5: Srovnání detekčních limitů nejběžnějších metod užívaných v analýze geomateriálů*

Prvek	FAAS <sup>1)</sup>		ICP OES <sup>1)</sup>		ICP MS <sup>2)</sup>		XRF		OES
	ideální roztok (mg l <sup>-1</sup> )	celková hornina (mg kg <sup>-1</sup> )	ideální roztok (mg l <sup>-1</sup> )	celková hornina (mg kg <sup>-1</sup> )	ideální roztok (mg l <sup>-1</sup> )	celková hornina (mg kg <sup>-1</sup> )	ED <sup>3)</sup> hornina ** (mg kg <sup>-1</sup> )	WD <sup>4)</sup> hornina ** (mg kg <sup>-1</sup> )	jiskrový hornina (mg kg <sup>-1</sup> )
Si	0,45	90	0,024	5	*	*	982	467	20
Ti	0,21	42	0,007 6	1,5	0,000 1	0,1	180	144	2
Al	0,06	12	0,046	9	0,000 5	0,5	888	280	10
Fe	0,015	3	0,012 4	2,5	0,05	50	175	182	8
Mn	0,006	1,2	0,002 8	15	0,000 05	0,05	116	186	2
Mg	0,000 6	0,12	0,06	12	0,000 1	0,1	1 542	561	5
Ca	0,003	0,6	0,02	4	*	*	117	65	50
Na	0,001	0,2	0,058	12	0,001	1	7 122	1 781	500
K	0,003	0,6	12	2 400	0,005	5	175	61	7 000
P	120	24 000	0,152	30	0,1	100	234	65	2 000
Cr	0,009	3	0,014	3	0,000 05	0,05-0,5	***	10	2
Sr	0,015	1	0,000 84	2	0,000 005	0,005-0,05	***	10	1
Rb	0,015	1	75	15 000	0,000 05	0,05-0,5	***	8	6
Pb	0,06	1	0,084	20	0,000 005	0,005-0,05	***	20	40
U	90	10 000	0,674	80	0,000 005	0,005-0,05	***	25	430
La	6	1 200	0,022	7	0,000 001	0,001	***	20	30

\* - nestanovuje se, \*\* - tavená peleta, \*\*\* - neuvedeno

Zdroje: <sup>1)</sup> Potts (1995); <sup>2)</sup> např. Strnad (2005, 2008); <sup>3)</sup> Potts et al. (1984); <sup>4)</sup> Norrish a Hutton (1969).



# Chemická analýza organická

**Extrakce** - cílem je přemístit analyt do chemické fáze vhodné pro analýzu, při odstranění interferujících složek a při dosažení vhodné koncentrace

- volba rozpouštědla .....nejlépe rozpouštějící analyt, volba z manuálu nebo zkušenosti

## Rozpouštědla

Pentan

Diethylether

Ethylacetát

Benzen

Propanol

Nitromethan

Acetonitril

Methanol

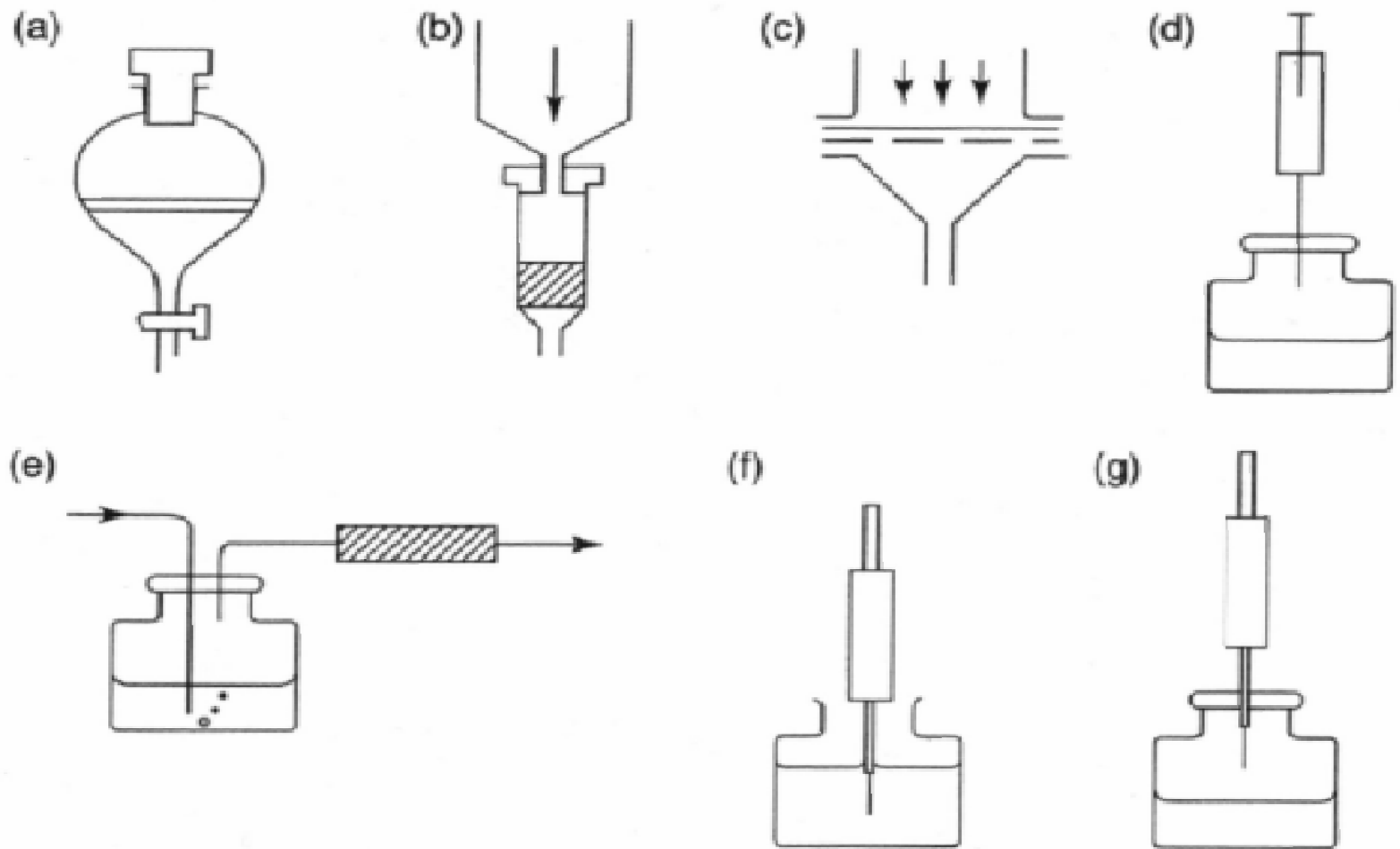
## Extrakční techniky:

- solvent extrakce
- liquid-liquid extrakce
- solid phase extrakce a mikroextrakce
- semipermeable membrane separation
- head space analysis

# Extrakce

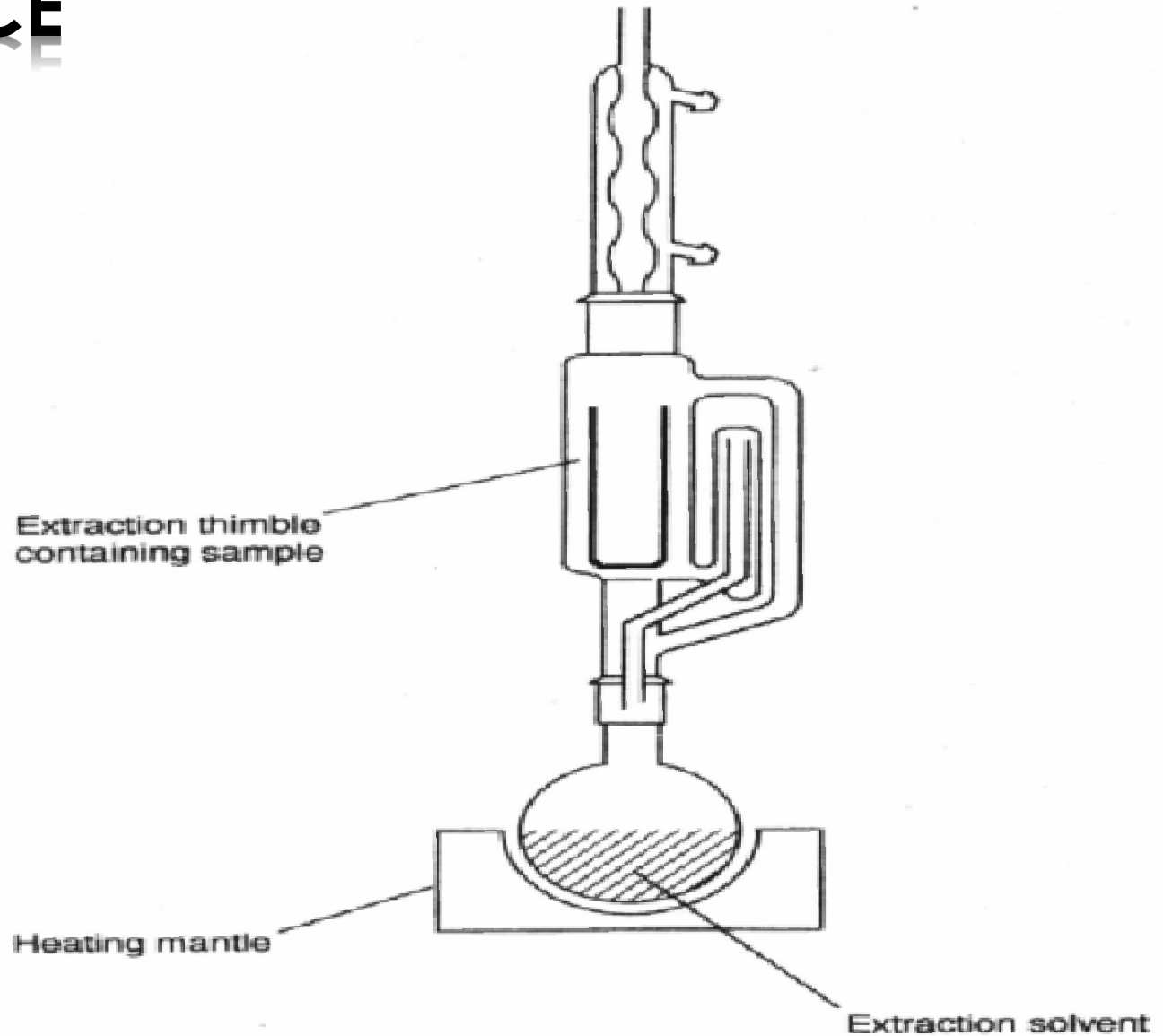
- rozrušování nebo částečný rozklad vzorku (matrice) při extrakci (nebo před)
- selektivita extrakce – při dobré extrakci analytu by se balastní látky měly extrahovat co nejméně
- volba teploty a časového intervalu extrakce
- extrakce v inertní atmosféře, ultrazvukové lázni, za varu, třepáním

## Extrakce



**Figure 4.1** Summary of extraction methods: (a) solvent extraction; (b) solid-phase extraction – cartridge; (c) solid-phase extraction – disc; (d) head-space analysis; (e) purge and trap; (f) solid-phase microextraction – direct; (g) solid-phase microextraction – head-space.

# EXTRAKCE

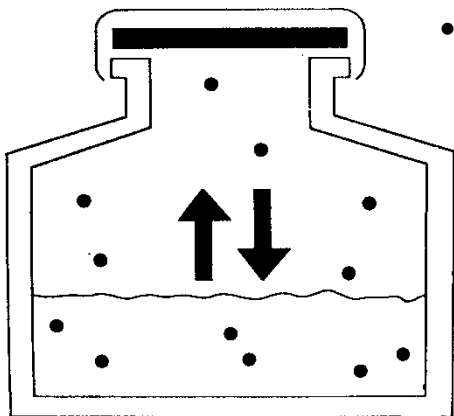


**Figure 5.1** Schematic of a Soxhlet extraction system.

# Extrakce

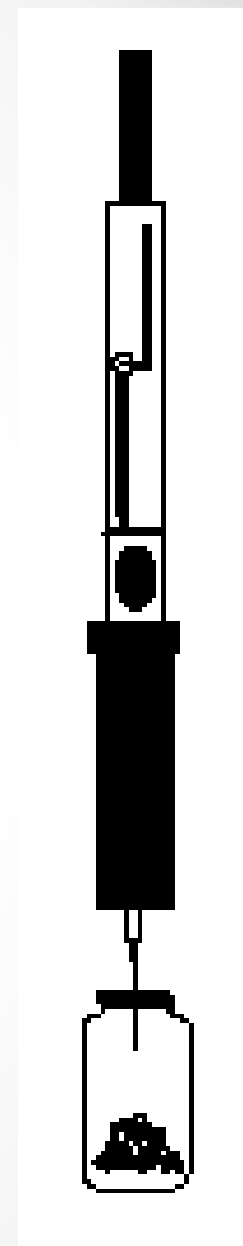
## "Head-space" analýza zemin

- statická
- dynamická



## Mikroextrakce na tuhé fázi

- solid phase microextraction (**SPME**)
- původně vyvinuta pro stopová množství organických látek ve vodných roztocích
- adsorpce na tenký film polysiloxanu
- tepelná desorpce v GC injektoru



# Stanovení organických látek v environmentálních vzorcích

## Chromatografie

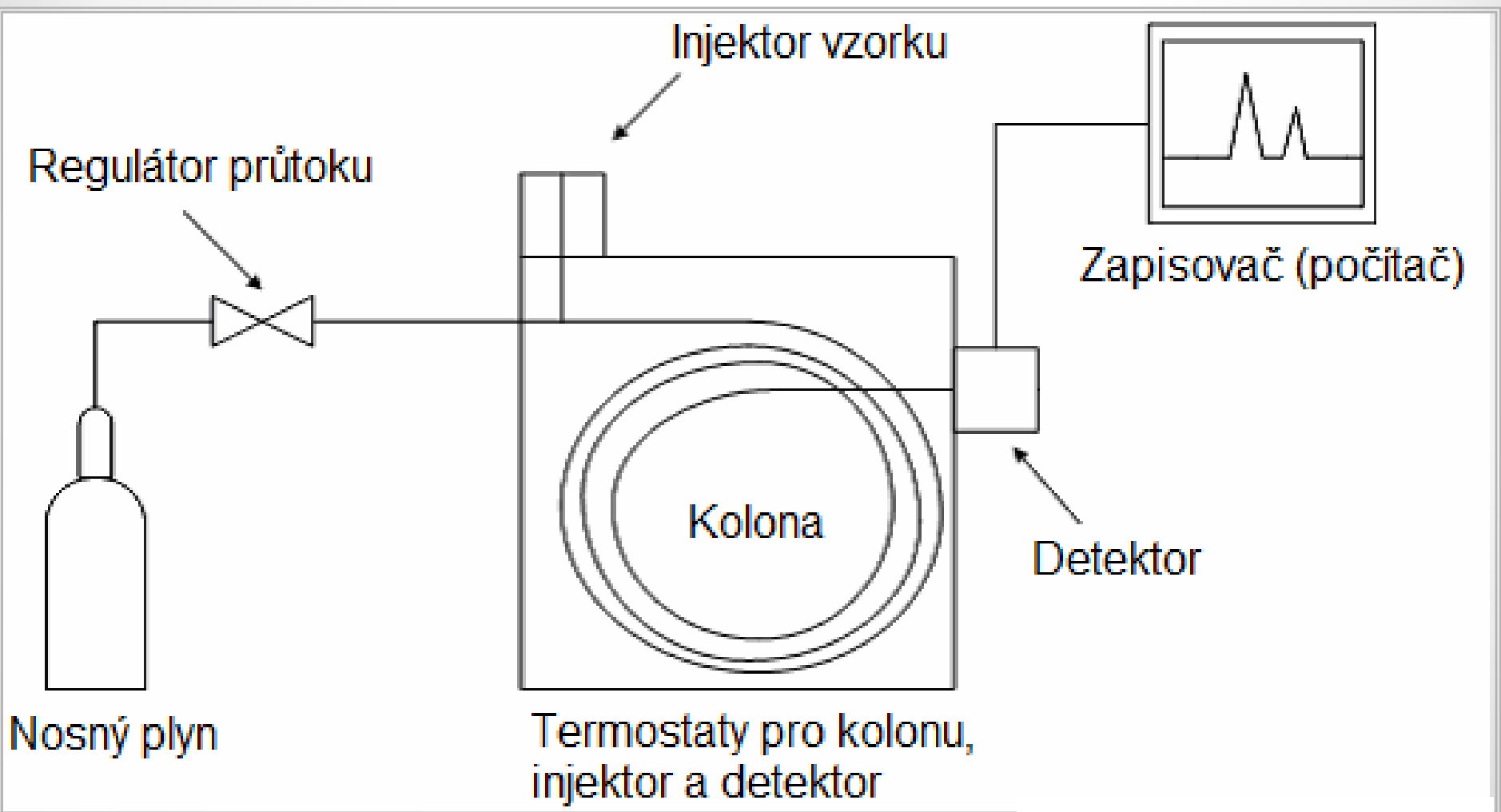
je fyzikální metoda separace, při které jsou separované sloučeniny distribuovány mezi dvěma fázemi, z nichž jedna je stacionární a druhá mobilní.

Chromatografický proces probíhá díky opakované sorpci a desorpci sloučenin ve vzorku během kontaktu se stacionární fází.

Separace sloučenin je způsobena rozdílností distribučních konstant jednotlivých sloučenin v daném separačním systému.

Výsledkem tohoto procesu je rozdílná migrace chromatografovaných sloučenin.

- GC, HPLC, GC-MS, LC-MS, HRGC



Obecné schéma plynového chromatografu

# Analýza

**Nosný plyn: Vodík, Helium, Argon, Dusík**

**Nástřik vzorku: Split / splitless, On-column, PTV; SPME**

**Separace: Izotermická analýza, teplotní programování; konst. p či V (ml/min)**

**Detektory: ECD, FID, TCD;**

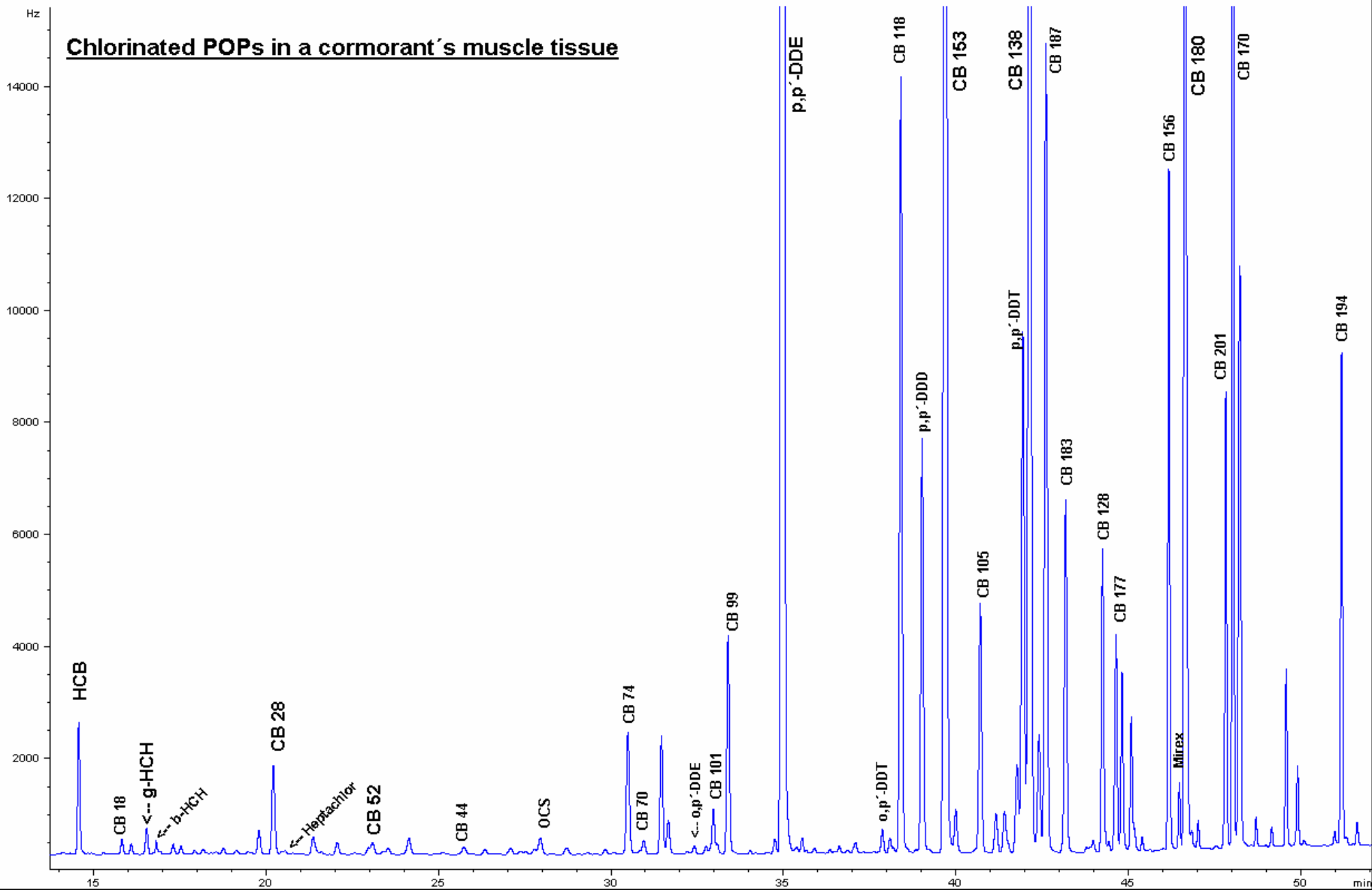




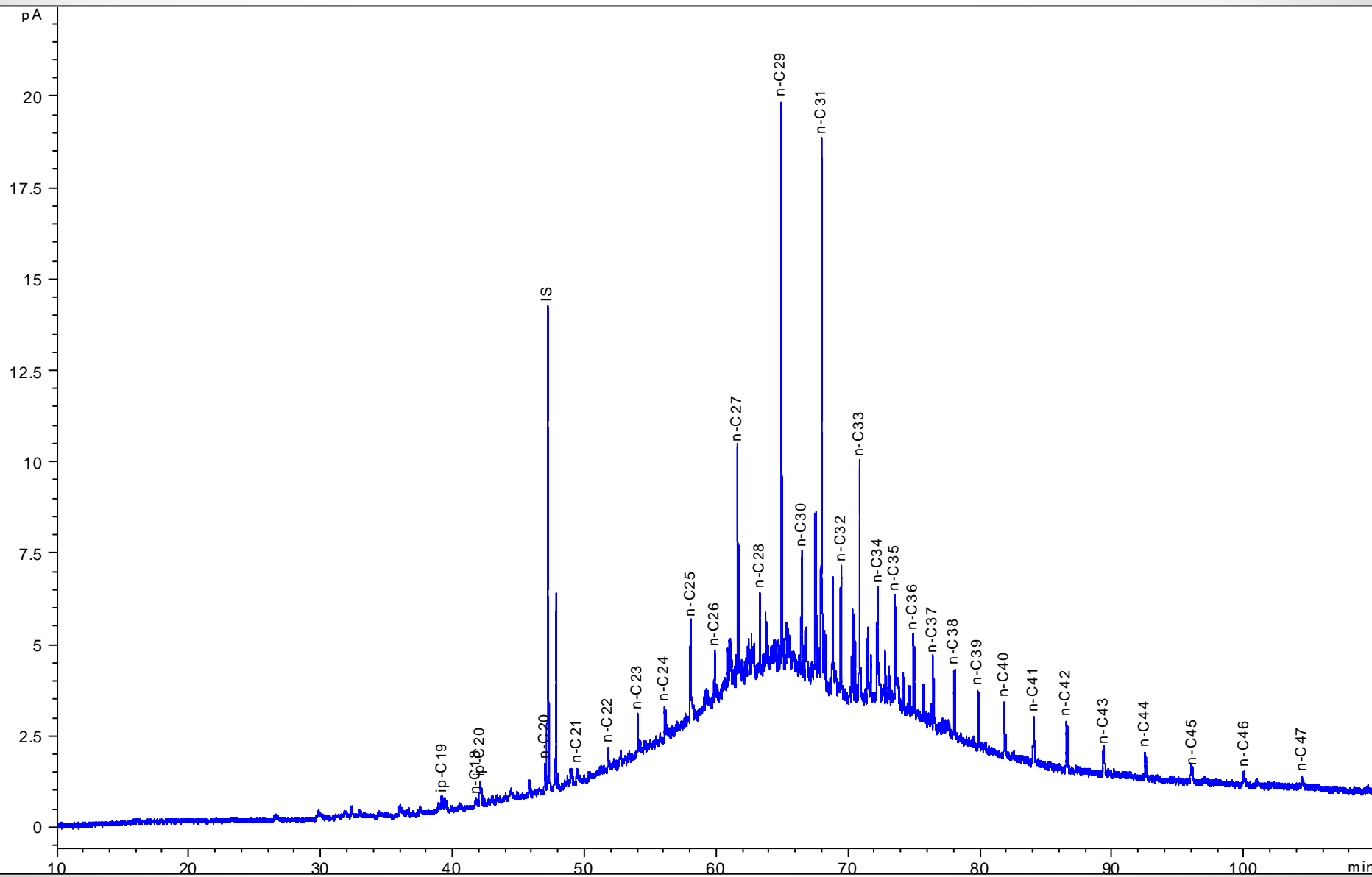
# Analýza - PCB

ECD1 A, (LANAWZDRKY~1WFU\_505.D)

## Chlorinated POPs in a cormorant's muscle tissue



# Analýza – NEL



# Analýza – PAU

