Ústav technologie vody a prostředí, VŠCHT Praha
Odborná skupina pro analýzy a měření CzWA
CSlab spol. s r.o.

Sborník 4. konference

HYDROANALYTIKA 2011

HRADEC KRÁLOVÉ, 13. - 14. 9. 2011

Generální partner

Merck Millipore je divize společnosti MERCK

Partneři konference

Královéhradecká provozní, a.s.

editoři
Vladimír Sýkora, Hana Kujalová

ISBN 978-80-904986-0-0

Odborní garanti konference
Prof. Ing. Pavel Pitter, DrSc.
Mgr. Alena Čapková
Doc. Ing. Vladimír Sýkora, CSc.

Organizační výbor
Ing. Alena Nižnanská
Ing. Hana Kujalová, Ph.D.
Ing. Zuzana Cejpková, CSc.
Ing. Eva Břízová, CSc.
RNDr. Pavel Kořínek, Ph.D.
Ing. Jan Vilímec

© CSlab spol. s r.o., 2011

Texty publikované ve sborníku neprošly jazykovou korekturou, proto za věcnou a jazykovou správnost odpovídají jednotliví autoři. Editoři pouze formátováním textu zajistili jednotnou úpravu všech příspěvků.

PŘEDMLUVA 1

SEKCE PLENÁRNÍ 3

CO VYPLÝVÁ Z NOVELY VYHLÁŠKY O KOUPALIŠTÍCH PRO LABORATOŘE? 5
Kožíšek F., Pumann P.

BROMIČNANY V BAZÉNOVÝCH VODÁCH A JEJICH ZDRAVOTNÍ RIZIKA 11
Krýsl S.

NORMY PRO ANALÝZU VODY 17
Fremrová L.

ZMĚNY V NORMÁCH ISO 80000-1 A ISO 80000-9 TÝKAJÍCÍ SE VELIČIN A JEDNOTEK 23
Pitter P.

HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ MEZINÁRODNÍCH PROGRAMŮ ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI (PT) VE VZTAHU K MULTILATERÁLNÍM DOHODÁM EA A ILAC 27
Klokočníková, E.

ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI – VZORKOVÁNÍ SUROVÉ A POVRCHOVÉ VODY 31
Břízová E., Nižnanská A., Kořínek P.

ODBĚR SEDIMENTŮ Z POVRCHOVÝCH VOD TEKOUCÍCH A STOJATÝCH 39
Zelený L.

SLEDOVÁNÍ JAKOSTI VODY V PODÉLNÉM PROFILU ŘEKY LABE S VYUŽITÍM VRTULNÍKU 43
Medek J.

HODNOCENÍ KVALITY VODY NA HORNÍM TOKU LABE 45
Strnadová N., Andrle J., Hladíková Z.

MOŽNOSTI LOGICKÉ KONTROLY VÝSLEDKŮ ROZBORU VODY 53
Vilímec, J.

ODHAD NEJISTOTY MĚŘENÍ PŘI MIKROBIOLOGICKÉ ANALÝZE VODY 57
Stinglová K., Trčková I.

JSOU MODIFIKACE CHSK$_{Cr}$ EKVIVALENTNÍ? 65
Sýkora V., Kujalová H., Pitter P.

MOŽNOSTI A LIMITY VYUŽITÍ TECHNIKY ICP-MS VE VODOHOSPODÁŘSKÉ LABORATOŘI 75
Válek J., Kočová A.

PROBLEMATIKA STANOVENÍ AOX V ODPADNÍCH VODÁCH A PRAKTICKÉ ZKUŠENOSTI S ODSTRAŇOVÁNÍM RUŠIVÝCH VLIVŮ V LABORATOŘI 83
Vyvialová H., Mareš D.

STANOVENIE BROMIČNANOV PRIETOKOVOU COULOMETRIOU VO VODÁCH URČENÝCH NA ĽUDSKÚ SPOTREBU 95
Tkáčová J., Horváth M., Kassai A., Kútniková D., Božíková J.

TEST STANOVENÍ OXIDU CHLORIČITÉHO METODOU DPD-G 103
Sýkorová E., Kollerová Ľ.

VÝSKYT VYBRANÝCH LÁTEK NEPODLÉHAJÍCÍCH PRAVIDELNÉMU SLEDOVÁNÍ V HYDROSFÉŘE ČR 109
Očenášková V., Chrastina D., Medek P., Jursíková K., Jobánek R., Martinková P.

STANOVENÍ POLYVINYLALKOHOLU V RŮZNÝCH TYPECH VOD 115
Vacková L., Procházka J., Rodríguez Y., Bartáček J., Wanner J.

STANOVENÍ VYBRANÝCH LÉČIV V PITNÝCH VODÁCH METODOU GC/MS 125
Pomykačová I., Čadek V., Svobodová V., Kožíšek F.

STANOVENÍ LÉČIV V POVRCHOVÝCH A ODPADNÍCH VODÁCH METODOU LC-MS 129
Martinková P., Pospíchalová D., Jobánek R., Váňa M.

STANOVENÍ VYBRANÝCH LÉČIVÝCH LÁTEK VE VODĚ METODOU SPE/HPLC-UV S GRADIENTOVOU ELUCÍ 135
Smrčková Š., Kordík A.

VYUŽITÍ TECHNIKY GC/ECNI-MS PRO STANOVENÍ BROMOVANÝCH DIFENYLETHERŮ A CHLORALKANŮ V POVRCHOVÝCH VODÁCH 141
Vohralík G.

STANOVENÍ PFOA A PFOS V KALU METODOU LC/MS 147
Pospíchalová D., Martinková P., Jobánek R., Jokešová M., Pokorná Z.

STANOVENÍ CYPERMETHRINU VE VODÁCH A SEDIMENTECH 155
Jursíková K., Jokešová M., Süssenbeková H., Martinková P., Jobánek R., Kvíčalová M., Očenášková V.

SEKCE POSTEROVÁ 159

RŮZNÉ MOŽNOSTI ZAKONCENTROVÁNÍ EXTRAKTŮ PRO STANOVENÍ EOX 161
Handová V., Pokorná Z., Gregor M.

STANOVENÍ DIQUAT DIBROMIDU VE VODÁCH METODOU ITP-CZE 165
Chrastina D., Kuchyňová D., Truxová I.

VYUŽITÍ METODY QUECHERS A LUKEOVY METODY PRO STANOVENÍ VYBRANÝCH PESTICIDŮ V PEVNÝCH MATRICÍCH 169
Jokešová M., Doubravová P., Jobánek R., Jursíková K., Kvíčalová M., Martinková P., Očenášková V., Süssenbeková H., Svobodová A.

STANOVENIE KADMIA A OLOVA PRIETOKOVOU ROZPÚŠŤACOU CHRONOPOTENCIOMETRIOU 175
Horváth M., Tkáčová J., Kassai A.

MPS A ODBER ODPADOVÝCH VÔD 179
Šuster L., Rajczyková E., Tkáčová J., Kassai A.

STANOVENÍ FENOLŮ V SEDIMENTECH A KALECH 183
Truxová I., Chrastina D., Kadlčíková M.

ZÁVISLOST DOBY VARU NA STANOVENÍ CHSK(CR) VYBRANÝCH KVARTERNÍCH PYRIDINIOVÝCH SOLÍ 189
Cypris M., Grubl J., Sýkora V.

KVALITA SRÁŽKOVÉ VODY V OBLASTI LUČNÍ HORA – STRÁŽNÉ 195
Strnadová N., Andrle J., Říhová M.

REJSTŘÍK AUTORŮ 201

INZERCE 205

VŠCHT Praha, Ústav technologie vody a prostředí 207
CSlab spol. s r.o. 209
Česká asociace pro vodu CzWA 211
MERCK spol. s r.o. 213
Pražské vodovody a kanalizace, a.s. 215
Laboratoř MORAVA s.r.o 217
SIAD Czech spol. s r.o. 219
Monitoring s.r.o. 221

PŘEDMLUVA

V roce 2011 se koná v pořadí čtvrtá bienální konference „Hydroanalytika“, opět v tradičním místě Hradci Králové. Lze opět konstatovat, že se jedná o jedinou monotématickou konferenci, která se koná v ČR a která se systematicky zabývá hydroanalytickými problémy a některými hydrochemickými aspekty, které hydroanalytiku doprovázejí. Vysoký počet účastníků těchto konferencí a počet přednesených odborných referátů ukazuje, že se tyto konference těší značné oblibě a poskytují obraz o současném stavu vývoje hydroanalytických metod, jejich normalizaci a legislativních aspektech. Z těchto hledisek byly pro interpretaci vybírány přednášky a postery, aby pokryly co nejširší tématickou aktuální oblast hydroanalytiky a hydrochemie. Je pochopitelné, že součástí konference a sborníku je oddíl zabývající se inzercí umožňující účastníkům konference seznámit se s nabídkami vybavení laboratoří a odborných konzultací od různých firem.

Obsah přednášek a posterů opět zahrnuje širokou tématickou odbornou oblast hydroanalytiky. Jde jednak o poslední informace o vydávaných hydroanalytických normách, přičemž zvláštní pozornost je věnována revidovaným normám, které se týkají veličin a jednotek. Další tématickou oblastí jsou nejistota měření a zkoušení způsobilosti. Samozřejmě nebylo možné vynechat nové poznatky o odběru vzorků a jejich úpravě před vlastní analýzou. Pochopitelně nejvíce pozornosti je věnováno organickým kontaminantům, především léčiv, jejichž počet se stále zvyšuje. Nicméně i klasické organické znečištění stále poutá pozornost hydroanalytiků, včetně tenzidů, uhlovodíků a sumárního stanovení CHSK, kde se stále nacházejí nové poznatky. Pokud se týká anorganických látek, jsou přednášky věnovány převážně stanovení různých forem halogenů. Z uvedeného výčtu je zřejmé, že každý hydroanalytik může v seznamu přednášek najít téma, které by ho mohlo zaujmout a rozšířit jeho odborné znalosti.

Organizátoři konference uvítají připomínky a náměty týkající se perspektivních analytických metod a tématických okruhů, kterým by měla být věnována zvýšená pozornost v další páté konferenci v roce 2013. Pro tento účel budou k dispozici anketní lístky.

Pavel Pitter

SEKCE PLENÁRNÍ

CO VYPLÝVÁ Z NOVELY VYHLÁŠKY O KOUPALIŠTÍCH PRO LABORATOŘE?

František Kožíšek[1,2], Petr Pumann[1]

[1] Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48, Praha 10; e-mail: voda@szu.cz
[2] 3. lékařská fakulta UK, Ruská 87, Praha 10

ÚVOD

V souvislosti s vydáním směrnice Evropského parlamentu a Rady č. 2006/7/ES [1] vyvstala potřeba její transpozice a novelizace české legislativy týkající se koupališť, konkrétně zákona o ochraně veřejného zdraví (č. 258/2000 Sb. ve znění pozdějších předpisů) a jeho prováděcí vyhlášky č. 135/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na koupaliště, sauny a hygienické limity písku v pískovištích venkovních hracích ploch (ve znění pozdějších předpisů).

Přestože měla být transpozice hotova do března 2008, nepodařilo se – především kvůli spojování problematiky koupališť s problematikou reorganizace hygienické služby, na které není politická shoda – potřebnou novelu zákona včas přijmout. Podařilo se to až v roce 2011, když byla novela omezena v podstatě pouze na koupaliště. Novela byla provedena zákonem č. 151/2011 Sb., kterým se mění zákony č. 258/2000 Sb. a č. 254/2001 Sb. [2].

I když se uvedená evropská směrnice omezuje pouze na koupací vody ve volné přírodě, a právě u těchto koupališť dochází k největším změnám, v rámci modernizace legislativy byly provedeny i změny týkající se umělých koupališť (bazénů).

Novela vyhlášky č. 135/2004 Sb. vyjde jako zcela nová vyhláška, byť do značné míry sleduje strukturu existující vyhlášky. Návrh novely prošel na jaře 2011 vnějším připomínkovým řízením a na počátku července byl projednán v legislativní radě vlády. Vydání vyhlášky ve sbírce zákonů se očekává počátkem září 2011.

Účelem tohoto příspěvku není podrobně popisovat tuto novou legislativu, ale jen zmínit důležité změny z hlediska pracovníků laboratoří, které provádějí kontrolu kvality vody v přírodních či umělých koupalištích.

HLAVNÍ ZMĚNY

Zatímco u umělých koupališť můžeme hovořit o zpřesňování stávajících požadavků a za hlavní změnu v této oblasti můžeme označit zařazení léčebných bazénů (které byly dosud z působnosti vyhlášky č. 135/2004 Sb. vyloučeny), u koupališť ve volné přírodě resp. koupacích oblastí dochází k řadě zásadních změn, které souvisí se změnou „filosofického principu“ k regulaci této oblasti – jde o posun od pouhé občasné kontroly kvality vody k více proaktivnímu a preventivnímu přístupu.

Ústředním nástrojem tohoto přístupu je vytvoření tzv. profilů vod (využívaných) ke koupání. Profil zejména obsahuje popis fyzikálních, geografických a hydrologických charakteristik příslušné vody ke koupání, popř. jiných povrchových vod v povodí, které by mohly být příčinou znečištění, dále určení a posouzení příčin znečištění, které mohou mít nepříznivý vliv na vody ke koupání a poškodit zdraví koupajících se; posouzení možného rozmnožení sinic a makroskopických řas nebo fytoplanktonu. Pokud existuje riziko krátkodobého znečištění, musí profil zahrnout i informace o předpokládaném charakteru, četnosti a doby trvání očekávaného krátkodobého znečištění, údaje o zbývajících příčinách znečištění, včetně přijatých opatření řízení a časového plánu k jejich odstranění a opatření řízení přijatá v případě krátkodobého znečištění odpovědnými orgány. Obsah a způsob sestavení profilu, podmínky jeho přezkumu a aktualizace a rozsah a způsob předávání podkladů správcům povodí, kteří profily zpracovávají, stanoví vyhláškou Ministerstvo zemědělství v dohodě s MŽP a MZ.

Byla vytvořena zcela nová kategorie koupališť (nádrže ke koupání a stavby povolené k účelu koupání vybavené systémem přírodního způsobu čištění vody), které jsou svým charakterem na pomezí mezi přírodními a umělými koupališti, včetně definování samostatných požadavků na tuto kategorii.

V souladu se zásadami EU je také výrazně posílena povinnost informování veřejnosti (povinnost informovat přímo na koupacím místě a podrobněji také na internetu) a jejího zapojení např. do navrhování nových koupacích vod.

PŘÍRODNÍ KOUPALIŠTĚ

U přírodních koupališť dochází zdánlivě k největším změnám oproti stávající legislativě. Příloha č. 1 vyhlášky č. 135/2004 Sb. obsahuje 18 ukazatelů, zatímco u nové vyhlášky se základní rozsah omezí na dva mikrobiologické a tři smyslově stanovované ukazatele. Jak je však naznačeno v tabulce 1, změny nebudou zas tak velké, protože některé v nové vyhlášce neobsažené ukazatele byly stejně stanovovány s velmi malou četností (enteroviry, salmonely, saprobní index makrozoobentosu nebo instrumentální stanovení povrchově aktivních

látek, fenolů či minerálních olejů) nebo se jednalo o jednoduchá organoleptická stanovení ukazatelů barva (vizuálně), povrchově aktivní látky (jako výskyt pěny), fenoly (fenolový pach) či minerálních oleje (film na hladině), jejichž stanovení není příliš náročné. Součástí nové vyhlášky již nebudou ani ukazatele pH a rozpuštěný kyslík a celkový fosfor.

Tabulka 1:

Vyhláška 135/2004 Sb.	**Počet analýz v IS PiVo za 2007-10**	**Předkládaná vyhláška**
koliformní bakterie	8331	neobsahuje
termotolerantní koliformní bakterie	8342	*Escherichia coli*
enterokoky	8383	střevní enterokoky
salmonely	136	neobsahuje
enteroviry	0	neobsahuje
pH	8291	neobsahuje
barva	2048	neobsahuje
minerální oleje (film na hladině) minerální oleje (instrumentálně)	7918 278	neobsahuje neobsahuje
povrchově aktivní látky (pěna) povrchově aktivní látky (instrumentálně)	7715 288	neobsahuje neobsahuje
fenoly (čichem) fenoly (instrumentálně)	7942 0	neobsahuje neobsahuje
průhlednost	7528	průhlednost
kyslík rozpuštěný	6109	neobsahuje
viditelné plovoucí znečištění	7686	znečištění odpady přírodní znečištění
jiné chemické látky		neobsahuje
index saprobity makrozoobentosu	109	neobsahuje
chlorofyl *a*	7175	chlorofyl *a*
mikroskopický obraz	6595	mikroskopický obraz
celkový fosfor	4809	neobsahuje
sinice	6898	sinice
vizuální hodnocení	4104	vodní květ

IS PiVo = Informační systém (databáze) kvality pitných a koupacích vod v ČR.

Základní četnost odběru pro přírodní koupací vody daná vyhláškou č. 135/2004 Sb. byla 1x za 14 dní. V případě vyhovujících výsledků bylo možné snížit četnost na 1x za měsíc. Pokud se jednalo o lokalitu, u níž byly překročeny limity I. stupně výskytu sinic, byla zvýšena četnost na 1x týdně. Nová vyhláška bude mít základní četnost 1x za 28 dní pro mikrobiologické ukazatele. Pokud se bude jednat o lokality, u nichž lze předpokládat masový výskyt sinic, je četnost naprosto stejná jako ve vyhl. č. 135/2004 Sb.

Nově však budou muset laboratoře pracovat s tzv. monitorovacím kalendářem, ve kterém již před začátkem koupací budou muset být uvedeny přesné termíny odběrů pro mikrobiologické ukazatele pro celou koupací sezónu. Odběr pak bude muset být proveden nejpozději 4 po termínu uvedeném v monitorovacím kalendáři. V případě výskytu tzv. krátkodobého znečištění budou odebírány nad rámec požadavků monitorovacího kalendáře další vzorky.

Pokud se jedná o metody stanovení u mikrobiologických analýz, pro stanovení enterokoků se nic nemění. V naprosté většině případů bude využívána metoda dle ČSN EN ISO 7899-2 [4] (kultivace na médiu podle Slanetze a Barleyové). Laboratoře budou moci využívat také metodu na mikrotitračních destičkách podle ČSN EN ISO 7899-1 [5], kterou však dle dotazníkového šetření, které jsme letos provedli mezi laboratořemi, které dodávají do IS PiVo data o koupacích vodách, nikdo zatím nevyužívá. Stejně nevyužívaná je metoda pro stanovení *E.coli* na mikrotitračních destičkách podle ČSN EN ISO 9308-3 [6]. U *E.coli* je však situace složitější, protože druhá směrnicí 2006/7/ES [1] povolená metoda podle ČSN EN ISO 9308-1 [7] s kultivací na laktózovém TTC médiu je pro stanovení v přírodních koupích vodách značně nevhodná. Směrnice však umožňuje používat

jiné rovnocenné metody, o kterých členský stát musí poskytnout Evropské komisi potřebné informace. Jiné metody bude podle novely zákona o ochraně veřejného zdraví moci povolit ministerstvo zdravotnictví na základě žádosti. V některých členských státech je jako alternativní metoda pro stanovení *E.coli* schválen Colilert, o což se podle našich informací bude snažit i firma Consygen dodávající Colilert do ČR.

Dalšími změnou, které přináší nové legislativa a které se dotknou i provádění mikrobiologických analýz, je nový způsob hodnocení, který tu však nebudeme rozebírat. Zájemce, kteří si chtějí o tomto způsobu udělat bližší představu, odkazujeme na přílohu 1 směrnice 2006/7/ES [1]. Protože součástí postupu je logaritmická transformace výsledků, budou všechny nulové nálezy muset být nahrazeny mezí detekce použité metody. Pro laboratoře to znamená, že budou muset tyto informace poskytnout (nejlépe rovnou zadávat do IS PiVo). Nulové výsledky totiž nelze automaticky nahradit ve výpočtech jedničkou, protože meze detekce se liší jak podle použité metody, tak podle použitého ředění. Stejně tak budou muset být přijímány vhodné strategie upravující rozsah metody směrem nahoru. Vzorků, u nichž bude výsledek uveden jako „více než“, by mělo být co nejméně, protože taková data mohou značně ovlivnit celkové hodnocení lokality.

Problematika sinic, která je ve směrnici 2006/7/ES [1] ve srovnání s fekálním znečištěním výrazně méně propracovaná, dozná oproti současné vyhlášce jen menších změn. Kromě toho, že budou upřesněny některé limity (především pro sinice, které netvoří typické vodní květy – *Planktothrix agardhii*), bude pro stanovení chlorofylu-a a pro kvantifikaci sinic možné rovněž využít některé moderní metody. V úvahu připadají především fluorescenční sondy, i když je jasné, že srovnání se současně používanými metodami nebude zvláště u některých typů vzorků jednoduché. Významná změna zasáhne také vizuální posuzování vodních květů, které již nebude uváděno jako černobílá stupnice vodní květ přítomen/nepřítomen. Byla pro něj vypracována čtyřbodová stupnice (žádný, pozorovatelný, hojný, masový), která by měla lépe odrážet realitu. Tato stupnice je již uvedena v ČSN 75 7717 [8] (pro stanovení planktonních sinic) a zřejmě bude i součástí vyhlášky.

Poslední změnou, kterou v kapitole věnované přírodním koupalištím chceme zmínit, je nový způsob hodnocení vizuálního sledování odpadu, dalšího znečištění a případného výskytu makroskopických řas, pro něž byla vypracována obdobně jako pro sinice vodních květů čtyřbodová stupnice (tabulka 2). I tento krok byl motivován nedostatečností stávající dvoubodové stupnice.

Tabulka 2:

stupeň	rozsah znečištění	popis
0	zanedbatelné	žádné znečištění není přítomno nebo jen v zanedbatelné míře (většinou přírodního původu)
1	mírné	ojedinělý výskyt odpadků nebo přírodního znečištění, které nemá významný vliv na rekreační využití koupaliště
2	místy značné	na některých místech je nahromaděno znečištění takového rozsahu nebo charakteru, že to značně omezuje nebo znemožňuje rekreační využití postižených částí koupaliště
3	značné podél celého břehu	podél celého břehu je nahromaděno znečištění takového rozsahu, že to značně omezuje nebo znemožňuje rekreační využití koupaliště

Pro laboratoře bude možná trochu nepříjemný požadavek zákona na rychlé poskytování výsledků, které by měly být u přírodních koupacích vod k dispozici do tří dnů od odběru.

NÁDRŽE A STAVBY VYBAVENÉ SYSTÉMEM PŘÍRODNÍHO ZPŮSOBU ČIŠTĚNÍ VODY

Nová legislativa zavádí speciální požadavky na koupaliště s přírodním čištěním vody, které jsou velmi populární v Německu a Rakousku a které se poslední dobou začínají budovat i u nás. Stejné požadavky budou kladeny i na venkovní bazény (a podobné nádrže s nepropustným dnem a stěnami) bez úpravy vody s regulovatelným přítokem. Rozsah kontroly bude velmi podobný jako u „pravých“ přírodních koupališť. Ve vodě v bazénu i ve zdroji se budou stanovovat ukazatele *Escherichia coli* a střevní enterokoky (pomocí stejných metod jako u přírodních koupališť) a ve vodě v bazénu rovněž *Pseudomonas aeruginosa*. Limity pro dva prvně zmíněné ukazatele jsou však přísnější než v „pravých“ přírodních koupalištích. Kontrola rozvoje fytoplanktonu bude spočívat ve sledování průhlednosti. Teprve v případě, že průhlednost poklesne pod jeden metr, bude nutné vyšetřit příčinu. Základní četnost sledování je 1x za 14 dní, ale v případě dobrých výsledků bude možné snížit kontrolu na polovinu (tedy 1x měsíčně).

UMĚLÁ KOUPALIŠTĚ A SAUNY

Umělá koupaliště se pro účely vyhlášky nadále dělí na koupelové a plavecké bazény, brouzdaliště, bazény pro kojence a batolata a nově také na léčebné bazény, které se dále dělí na dvě kategorie podle toho, je-li voda

určena jen pro jednu osobu nebo zda voda necirkuluje a sdílí ji více osob. Pokud se léčebné bazény plní vodou z přírodního léčivého zdroje a stanovené hygienické požadavky na úpravu a recirkulaci vody (které jinak platí pro léčebné bazény stejně jako pro koupelové bazény) by mohly ovlivnit léčivé vlastnosti vody, určí požadavky na úpravu a recirkulaci Český inspektorát lázní a zřídel v „Povolení k využívání zdroje“ tak, aby léčivé vlastnosti vody zůstaly zachovány a byly splněny stanovené požadavky na mikrobiologickou a chemickou čistotu.

Upravují se požadavky na jakost vody ve zdroji, který se používá k plnění koupelových či plaveckých bazénů (nejde-li o zdroj pitné vody), upravují či upřesňují se požadavky na získávání aktuálních údajů o hodnotách sledovaných ukazatelů v plnící vodě (pro ty ukazatele, jejichž hodnocení je závislé na porovnání vstupní – plnící a bazénové vody), upřesňují se požadavky na místa odběru některých vzorků v bazénech.

Ve vztahu k laboratořím lze za klíčové považovat přílohy č. 8 a 9 vyhlášky, které definují požadavky na jakost vody a četnost její kontroly. K hlavním změnám zde patří:

- K limitním hodnotám ukazatelů se přiřazuje jejich statut (nejvyšší mezní hodnota – mezní hodnota), podobně jako je tomu u pitné vody. Nejvyšší mezní hodnoty (NMH) se vztahují k mikrobiologickým ukazatelům (pro překročení NMH je však v některých případech nutné překročení stanoveného limitu u více mikrobiologických ukazatelů) a jednomu chemickému ukazateli – vázanému chloru. Jaká opatření je nutné konat při překročení NMH a MH, je uvedeno ve vyhlášce v § 28 odst. 5.
- Ukazatel CHSK-Mn se nahrazuje ukazatelem celkový organický uhlík (TOC) s limitem (MH) 2,5 mg/l nad hodnotu plnící vody. Jako doporučený (nepovinný) ukazatel pro provozní aktuální sledování zátěže bazénové vody organickými látkami se zavádí absorbance A_{254}(1cm) s doporučeným limitem 0,02 nad hodnotu plnící vody. Vysvětlení ke vztahu mezi těmito ukazateli a jejich hygienickému významu bylo na konferenci Hydroanalytika předneseno již dříve [9] a bylo též publikováno jinde [10].
- Jako další ukazatel k mikroklimatickým požadavkům na vnitřní ovzduší bazénové haly krytého bazénu se zavádí ukazatel trichloramin (ze současného pohledu zdravotně nejrizikovější vedlejší produkt dezinfekce bazénové vody) s limitní hodnotou 0,5 mg/m^3, která sice platí jen jako doporučená hodnota, ale provozovatel by měl usilovat o dosažení co nejnižší hodnoty. Četnost sledování si volí provozovatel bazénu podle potřeby na základě místních podmínek. Odběr vzorku se provádí 20 cm nad hladinou vody v bazénu; pokud to není technicky možné, tak ve výšce 150 cm nad hladinou vody.

ZÁVĚR

Novelu „koupací“ vyhlášky a nejlépe i příslušnou pasáž zákona o ochraně veřejného zdraví si bude muset nastudovat každý pracovník laboratoří, který se problematikou rozborů koupacích vod zabývá, a proto nemá smysl ji zde podrobně reprodukovat. Účelem je upozornit na hlavní změny, která novela přináší, protože jejich aplikace u umělých koupališť začne okamžitě se vstupem vyhlášky v platnost, zatímco s aplikací požadavků na přírodní koupaliště se počítá až od sezóny 2012.

PODĚKOVÁNÍ

Publikace byla zpracována v rámci projektu Technologické agentury ČR „Nové metodické přístupy pro kontrolu a hodnocení povrchových vod ke koupání“; evidenční číslo projektu TA01020675.

LITERATURA

[1] Směrnice Evropského parlamentu a Rady č. 2006/7/ES o řízení jakosti vod ke koupání a o zrušení směrnice 76/160/EHS.

[2] Zákon č. 151/2011 Sb. kterým se mění zákon č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů, a zákon č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon), ve znění pozdějších předpisů.

[3] Vyhláška o profilech povrchových vod využívaných ke koupání. Vyjde v létě 2011.

[4] ČSN EN ISO 7899-2 Jakost vod - Stanovení intestinálních enterokoků - Část 2: Metoda membránových filtrů (2001)

[5] ČSN EN ISO 7899-1 Jakost vod - Stanovení intestinálních enterokoků v povrchových a odpadních vodách - Část 1: Miniaturizovaná metoda stanovení v tekutém médiu (stanovení MPN) (2000).

[6] ČSN EN ISO 9308-3 Jakost vod - Stanovení *Escherichia coli* v povrchových a odpadních vodách Část 3: Miniaturizovaná metoda stanovení v tekutém médiu (stanovení MPN) (2000).

[7] ČSN EN ISO 9308-1 Jakost vod - Stanovení *Escherichia coli* a koliformních bakterií - Část 1: Metoda membránových filtrů (2001).

[8] ČSN 75 7717 Jakost vod - Stanovení planktonních sinic (2008).

[9] Krýsl S., Lexa J. Význam celkového uhlíku a celkového dusíku pro hodnocení kvality bazénových vod. Sborník z konference Hydroanalytika 2007; str. 103-107.

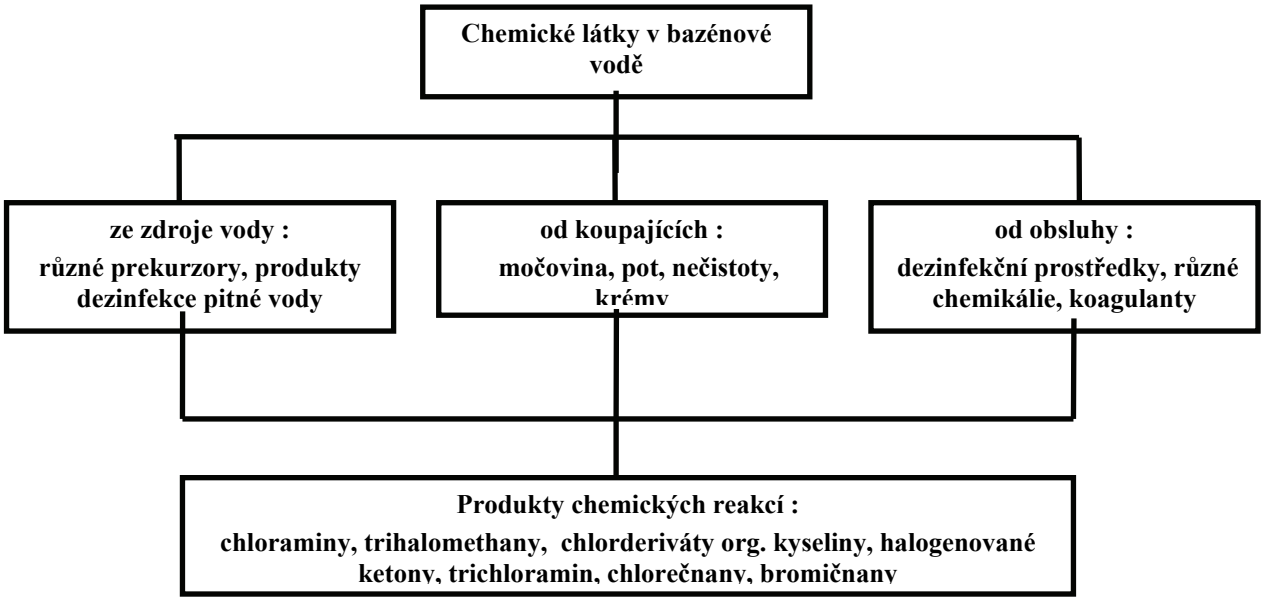
[10] Kožíšek F., Chvátalová M., Krýsl S., Ratajová J. Změny ukazatelů jakosti bazénových vod. *Bazén & sauna*, 2009; 16(9-10): 10-13.

BROMIČNANY V BAZÉNOVÝCH VODÁCH A JEJICH ZDRAVOTNÍ RIZIKA

Svatopluk Krýsl
Zdravotní ústav se sídlem v Plzni
17. listopadu 1, 301 25 Plzeň
svatopluk.krysl@zuplzen.cz

KOUPÁNÍ A CHEMIKÁLIE

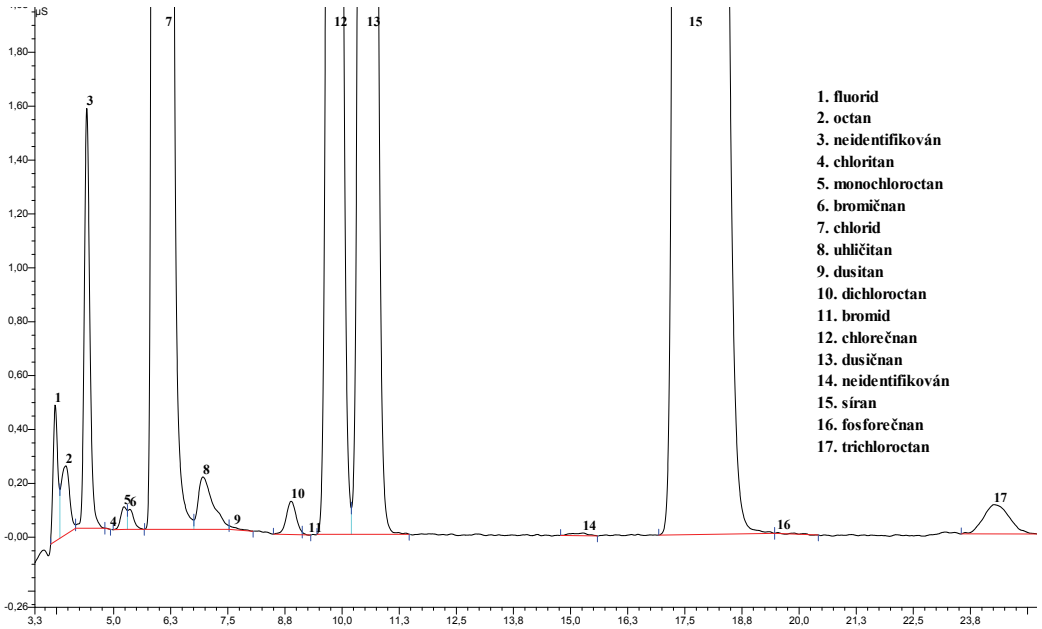
Koupání lidí přináší s sebou nejen riziko utonutí, ale i rizika zdravotní. Zatímco koupání ve volné přírodě může být nebezpečné z hlediska bakteriální infekce nebo jen alergie na přítomnost sinic, pobyt v bazénové vodě může způsobovat, kromě možného vzniku bakteriální infekce v případě nedostatečné dezinfekce vody, i rizika z chronického působení přítomných chemických látek a to zvláště tehdy, jestliže jde o intenzivní a častý způsob koupání.



Obr. 1 Chemické látky v bazénových vodách

Na obr. 1 jsou naznačeny zdroje chemických látek, které jsou v bazénových vodách přítomny. Nejvýznamnějším zdrojem znečištění je především močovina a chlór. Jejich reakcí vznikají chloraminy, jejichž typický zápach je charakteristický pro každý chlórem dezinfikovaný bazén. Na přítomnosti obou reaktantů se podílí jak obsluha dávkující nezbytný chlór, tak plavci, kteří přinášejí do vody v potu i v moči močovinu. Na obr. 2 je uveden chromatogram typické bazénové vody analyzované pomocí iontového chromatografu. Kromě typických anointů – síranů, chloridů a dusičnanů je zde přítomný i méně běžný ion chlorečnanový, v nižších koncentracích jsou zjistitelné chloroctanové a bromičnanové ionty. Trichloraminy nejsou zahrnuty v iontově selektivní separaci, lze je však rovněž sledovat použitím jiných chromatografických technik[1].

Mezi látky, které zasluhují pozornost z hlediska vlivu na zdraví, patří především bromičnany, chlorečnany a trichloramin – jeden ze zmíněných chloraminů. Jejich cesty vstupu do organismu člověka jsou ale rozdílné. Zatímco iontové, ve vodě dobře rozpustné bromičnany a chlorečnany vstupují do organismu neuvědomělým požitím při plavání, trichloramin, při běžné teplotě plyn, přichází do lidského organismu jak jinak než dýcháním. V současné době je poměrně velká pozornost věnována především trichloraminu[2,3], jehož přítomnost v ovzduší bazénů s nedokonalou ventilací vyvolává dráždivé symptomy u očí, nosu a hrtanu a může vést až k astmatu a chronickým bronchitidám[4,5].



Obr. 2 Chromatogram bazénové vody (podmínky analýzy jsou uvedeny v textu)

BROMIČNANY A CHLOREČNANY V BAZÉNOVÝCH VODÁCH

Vliv chlorečnanů a bromičnanů na lidské zdraví je též zevrubně popsán[6], avšak zatím, pokud je nám známo, nebyl uvažován jejich vliv na zdraví z hlediska koupání v bazénových vodách. Napadlo nás sledovat osud bromičnanů přítomných v chlornanu sodném, běžné chemikálii používané na úpravu pitných a bazénových vod, v které je limitován obsah bromičnanu podle přílohy č. 2 k Vyhlášce č. 409/2005 Sb. Vysoké nálezy, často i řádově překračující limitní hodnotu, nalézané ve vzorcích dovážené technické chemikálie lze vysvětlit z hlediska přítomnosti bromidů v chloridu sodném a oxidačnímu působení chlornanu.

Přítomnost bromičnanů v bazénových vodách jsme sledovali v náhodně odebraných vzorcích. Použitá metoda iontové chromatografie umožnila i zjištění koncentrace chlorečnanu. Pro 60 vzorků bazénových vod odebraných na Plzeňsku a Českobudějovicku jsme zjistili průměrnou koncentraci pro **bromičnany 109 µg/l** a **chlorečnany 12,1 mg/l**. Podmínky stanovení byly následující: chromatograf DIONEX IC20 s vodivostním detektorem, mobilní fáze 9mM Na_2CO_3, průtok 1ml/min, aniontová kolona IonPac AS9-HC, 4x250mm, nástřik vzorku 200 µl.

ZDRAVOTNÍ RIZIKA BROMIČNANŮ A CHLOREČNANŮ

Jak je všeobecně známo, jsou bromičnany dobře rozpustné ve vodě, kde mohou snadno vznikat po oxidaci bromidů například ozónem. Jejich chemické vlastnosti je předurčují k tomu, že po vstupu do lidského organismu se relativně snadno absorbují v gastrointestinálním traktu a částečně nezměněny mohou být i vylučovány. To potvrdila například klinická studie[7] u dvouletého dítěte s akutní otravou bromičnanem draselným, který je jednou z hlavních komponent tzv. trvalé ondulace. Dítě vypilo 30-60 ml roztoku obsahujícího cca 10% bromičnanu draselného. Tato dávka odpovídala 230–460 mg BrO_3^-/kg tělesné váhy. Z této dávky se vyloučilo cca 70% bromičnanu močí.

Metabolismus bromičnanů v lidském organismu studovala řada autorů, například M.Fujii[8], který prokázal, že hlavním produktem metabolismu je bromid, který v kyselém prostředí žaludku se může uvolnit jako bromovodík. Na druhé straně jsou publikovány údaje o omezené degradaci bromičnanů v lidském organismu[9]. V každém případě bylo potvrzeno, že přítomnost bromičnanů v lidském organismu vede k silnému dráždění gastrointestinálního traktu, k útlumu centrálního nervového systému a pozdějšími účinky jsou selhání ledvin i ztráta sluchu. Dávka 20 mg až 1 g $KBrO_3$ může být pro člověka smrtelná, což bylo potvrzeno intoxikacemi ať už s náhodným nebo sebevražedným úmyslem - většinou šlo o požití zmíněného neutralizačního roztoku pro trvalou ondulaci[6].

Výsledky *chronických studií*[6] na experimentálních zvířatech prokázaly změnu hmotnosti u krys, akutní selhání ledvin, vznik zhoubných nádorů u ledvin, štítné žlázy a výstelky břišní. Incidence těchto zhoubných projevů byla závislá na dávce. Dalším negativním projevem chronických účinků bylo i zjištění genotoxických vlastností bromičnanů – vznik oxidačního stresu vlivem aktivace onkogenů a inaktivace supresorových genů hraje významnou roli při vzniku karcinomu ledvin. Nelze se tedy divit, že IARC zařadila bromičnany do skupiny

karcinogenů 2B – tedy látek, které mohou být karcinogenní pro člověka. Podobně zařadila bromičnany do skupiny pravděpodobných karcinogenů pro člověka s dostatečnou průkazností na zvířatech i US EPA (skupina B2).

Pro zjištění zdravotních účinků je důležité vždy posoudit možnost vlivu dávky na odezvu organismu. V obsáhlé studii DeAngela[10] byla stanovena hodnota referenční dávky (RfD – Reference Dose) - denní expozice, která při celoživotní expozici pravděpodobně nezpůsobí poškození zdraví. Tato hodnota je vyjadřovaná jako přívod látky na jednotku tělesné hmotnosti za jednotku času (mg/kg/den) a pro bromičnany byla stanovena hodnota RfD = 0,004 mg/kg tělesné váhy za den.

Současné naše představy o vzniku zhoubného bujení předpokládají, že pouze malé změny na molekulární úrovni mohou vést k nekontrolované proliferaci jediné buňky, což může vyústit až k vzniku rakoviny. Tato skutečnost vede k tomu, že pro látky s karcinogenním účinkem nemůžeme stanovit nejnižší dávku, která karcinogenezi může vyvolat. Vztah dávky a pravděpodobnosti jejího účinku musíme tedy vyhodnocovat jinak, například hodnotou směrnice této závislosti (SF – slope factor). Počítáme zde s pravděpodobným rizikem se kterým můžeme očekávat onemocnění rakovinou nad pravděpodobností onemocnět rakovinou z dalších, nezávislých příčin. Faktor směrnice závislosti pravděpodobnosti vzniku zhoubného novotvaru na průměrné denní dávce přijímané po celý život (hodnota SF) byl stanoven[10] pro bromičnany na hodnotě 0.70 na mg BrO_3/kg tělesné váhy a den.

EXPOZICE BROMIČNANŮM V BAZÉNECH

Zjištění průměrné denní dávky (ADD - average daily dose, mg/kg tělesné váhy/den), kterou je zatížen *běžný plavec* - návštěvník bazénu, ale i *sportovní plavec*, podléhající tréninkovému plánu, vychází především z údajů, které byly publikovány na základě pilotní studie, kdy bylo zjišťováno vylučování močí kyseliny kyanurové, která jako jedna z mála látek prochází lidským organismem beze změny[11]. Podle její koncentrace v moči je určen průměrný orální příjem bazénové vody během koupání. Tyto údaje jsou pak vztaženy na jednotlivé věkové skupiny. Pro jednoduchost je lze shrnout do následující tabulky (tab.1). Pro sportovní plavce nebyl, pokud je nám známo, orální příjem během plavání zjišťován, ale lze předpokládat, že je minimálně stejný jako pro rekreační plavce.

Tab.1 Příjem vody během koupacích aktivit

	Orální příjem během koupání (ml/hod.)
Děti	47
Dospělí - muži	30
Dospělí - ženy	19

Výpočet průměrné denní dávky bromičnanu vztažené na kg tělesné hmotnosti vychází jednak z orálně přijatého objemu bazénové vody, průměrné koncentrace bromičnanu v této vodě a z frekvence a času pobytu plavce v bazénu.

Výpočet je proveden podle následujícího vztahu:

$$\mathrm{ADD} = \frac{\mathrm{CW} \times \mathrm{IR} \times \mathrm{ET} \times \mathrm{EF} \times \mathrm{ED}}{\mathrm{BW} \times \mathrm{AT}}$$

kde CW je koncentrace bromičnanu ve vodě (mg/l), IR je množství požité vody v l/den, ET doba plavání hodin za den, EF frekvence expozice ve dnech za rok, ED trvání expozice v letech, BW tělesná hmotnost v kg, AT doba ve dnech, na kterou expozici průměrujeme.

Pro hodnocení karcinogenního rizika uvažujeme namísto ADD tzv. celoživotní průměrnou denní dávku LADD (lifetime average daily dose), kterou zjistíme podle stejného vztahu, kam ale dosadíme za AT = 365 x 70.

Pro kvantitativní vyjádření expozice je nutné stanovit parametry EF a ED. Zde jsme vyšli z údajů, které platí pro dětské a dospělé plavce a souvisí s jejich sportovní tréninkovou aktivitou. Pro rekreační způsob plavání jsme zvolili data z průměrné návštěvnosti koupališť. Pro zajímavost jsme spočítali i dávku, které jsou vystaveni kojenci v rámci propagované akce koupání kojenců.Údaje o průměrné tělesné hmotnosti vychází z výsledků V.celostátního antropologického průzkumu dětí a mládeže v ČR v roce 1991[12].

V tabulce č.2 jsou uvedeny výsledné hodnoty expozic, jak pro nekarcinogenní, tak pro karcinogenní riziko. Z údajů vyplývá, že nekarcinogenní riziko u všech typů plavců je nižší než hodnota referenční dávky, jak byla nahoře uvedena (RfD=0,004 mg/kg tělesné váhy za den). Poměr průměrné denní dávky (ADD) a referenční dávky (tzv. Hazard Quotient, HQ) je uveden v tabulce č.3. Z údajů vyplývá, že hodnota koeficientu

nebezpečnosti HQ je nejvyšší pro sportovní dětské plavce a nejnižší pro běžného rekreačního plavce. V každém případě se vždy jedná o nízké riziko toxických účinků bromičnanů.

V případě karcinogenního rizika bromičnanů v bazénové vodě vycházíme z hodnoty celoživotní průměrné denní dávky (LADD), kterou pro výpočet celoživotního zvýšení pravděpodobnosti vzniku nádoru násobíme stanovenou hodnotou faktoru směrnice SF, který byl pro bromičnany stanoven na hodnotě 0.70 (na mg BrO_3/kg tělesné váhy a den - viz výše).

Tab. 2 Hodnocení expozice pro různé typy plavců

	plavec-dospělý muž	plavec - dítě	běžný dospělý plavec	plavec-kojenec
CW koncentrace BrO_3 ve vodě [mg/l]	0,109 mg/l			
IR..množství požité vody [l/hod.]	0,022	0,037	0,022	0,037
ET..doba plavání [hod./den]	4	3,5	1	1
množství požité vody [l/den]	0,088	0,1295	0,022	0,037
EF..frekvence expozice [dny/rok]	200	200	40	25
ED..trvání expozice [rok]	7	9	20	2
BW..tělesná hmotnost [kg]	70	29	70	10
AT..celková doba, na kterou expozici průměrujeme - **nekarcinogenní riziko** [dny]	2520	3240	7200	720
AT..celková doba, na kterou expozici průměrujeme - **karcinogenní riziko** [dny]	25550	25550	25550	25550
ADD [mg/kg t.hm./den]	**7,61E-05**	**2,70E-04**	**3,80E-06**	**2,80E-05**
LADD [mg/kg t.hm./den]	**7,50E-06**	**3,43E-05**	**1,073E-06**	**7,89E-07**

Výsledné hodnoty vzestupu pravděpodobnosti karcinogenního rizika (ILCR – Individual lifetime cancer risk) jsou společně s indexem nebezpečnosti uvedeny v tab. č.3.

Tab. 3 Charakterizace toxického a karcinogenního rizika pro různé typy plavců

	Sportovní plavec dospělý muž	Sportovní plavec - dítě	běžný dospělý plavec	Plavec-kojenec
koeficient nebezpečnosti toxických účinků (HQ)	0,019	0,067	0,0009	0,007
míra rizika karcinogenního účinku (ILCR)	0,0000053	0,000024	0,0000008	0,0000007

Jak je patrné z výsledků uvedených v tab. 3, jsou *toxické účinky orálního příjmu* bromičnanů přítomných v bazénové vodě o průměrné koncentraci 0,109 mg/l nevýznamné. Pokud míru rizika karcinogenních účinků porovnáváme s tzv. „přijatelným rizikem“, což je hodnota pravděpodobnosti $1x10^{-6}$, jsou zjištěné údaje karcinogenního rizika pro sportovní dospělé plavce a zvláště pro dětské sportovní plavce značně vyšší než je toto „přijatelné riziko“. Pro dětské plavce v intenzivním tréninku, jak jej v tab. 2 kvantitativně vyjadřujeme časovými faktory expozice, je karcinogenní riziko dokonce 24x vyšší! Pro kojence a běžného rekreačního plavce však zvýšené karcinogenní riziko nevzniká.

ZÁVĚR

Bromičnany vstupují do bazénové vody společně s chlornanem a ve vodě se kumulují. Nalezená průměrná koncentrace bromičnanů v bazénových vodách plzeňského a českobudějovického kraje je cca 10x vyšší než je hygienický limit (nejvyšší mezní hodnota) pro pitnou vodu. Nálezy až gramových koncentrací bromičnanů v litru běžně používaného dezinfekčního prostředku jakým je chlornan sodný nás vedli k domněnce, že může existovat zdravotní riziko bromičnanů z orálního příjmu bazénové vody u plavců. Zvažována byla zdravotní rizika pro různé typy sportovních i rekreačních plavců. U sportovních dospělých plavců bylo zjištěno 5násobné překročení karcinogenního rizika, pro plavce – žáky bylo toto riziko až 24x vyšší. Pro rekreační plavání dospělých i dětí včetně kojenců se riziko nepotvrdilo. Východiskem pro zlepšení tohoto kritického stavu je

(v případě dezinfekčních prostředků na bázi chlóru) kontrola obsahu bromičnanů v bazénových vodách, a přísnější kontrola v dodávkách chlornanu.

LITERATURA

1. S.Krýsl, H. Nebeská, M.Švecová: nepublikované výsledky
2. S.Krýsl, M.Švecová: Trichloramin v ovzduší bazénů, konzultační den SZÚ, Praha 2009
3. I.Černý: The significance of some nitrogen related hygienic parameter in swimming pools, Swimming Pool&Spa, International Conference 2009, paper 10.2.
4. N.Massin et al: Occup.Environ. Med. **55,** 258-263 (1998).
5. K.M.Thickett et al: Eur.Respir.J.: **19**, 827-832 (2002).
6. Toxicological review of Bromate, IRIS, březen 2001, U.S.EPA.
7. R. Lichtenberg, W.P. Zeller, R.Gatson: Bromate poisoning. J Pediatr. **114**, 891-894 (1989).
8. M. Fujii, K. Oikawa, H. Saito: Metabolism of potassium bromate in rats: I. In vivo studies. Chemosphere **13**,1207-1212 (1988).
9. A.Kutom, N.G.Bazilinski, L.Magana: Bromate intoxication: hairdressers' anuria. Am. J. Kidney Dis. **15**, 84-85 (1990).
10. A.B. DeAngelo, M.H. George, S.R.Kilburn: Carcinogenicity of potassium bromate administered in the drinking water to male B6C3F1 mice and F344/N rats. Toxicol. Pathol. **26**, 587-594(1998).
11. A.P.Dufour, O.M.Evans, L.J.Behymer,: Water ingestion during swimming activities. J. Water and Health, **4**, 425-430 (2006).
12. L.Lhotská, P.Bláha, J.Vignerová, Z.Roth, M.Prokopec: V. celostátní antropologický výzkum dětí a mládeže 1994, SZÚ Praha.

NORMY PRO ANALÝZU VODY

Lenka Fremrová

HYDROPROJEKT CZ a.s., Táborská 3, 140 16 Praha 4
e-mail: lenka.fremrova@hydroprojekt.cz

V tomto příspěvku je uveden přehled norem pro analýzu vody vydaných od listopadu 2010 do srpna 2011 a informace o rozpracovaných normách.

Do soustavy českých technických norem bylo zavedeno překladem několik mezinárodních norem, které připravila technická komise ISO/TC 147 „Jakost vod“ Mezinárodní organizace pro normalizaci (ISO). Příslušné normy ČSN jsou uvedeny dále:

ČSN ISO 5667-21 (75 7051) Jakost vod – Odběr vzorků – Část 21: Návod pro odběr vzorků pitné vody dodávané cisternami nebo jinými způsoby než vodovodní sítí

Tato část normy ISO 5667 určuje zásady, kterými je potřeba se řídit při postupech odběru vzorků vody určené k pití a pro výrobu potravin a nápojů. Návod uvedený v této části ISO 5667 je omezen na situace, kdy je voda odebírána z vodovodní sítě určené pro veřejnou potřebu nebo z podobné vodovodní sítě nebo z individuálního odběru, kde na základě předchozí úpravy nebo hodnocení jakosti byla voda klasifikována jako vhodná pro pití nebo výrobu potravin a nápojů. Tato část ISO 5667 je výslovně určena pro vodu, která je dodávána cisternami nebo jinými nekontinuálními způsoby, ale nikoli kontinuálně vodovodní sítí. Tato část ISO 5667 je použitelná také pro rozvod a skladování vody v letadlech, v nákladních autech, ve vlacích, na lodích a na dalších plavidlech a ve vozidlech, a také pro situace odběru vzorků, které mohou vzniknout během průzkumu závad v soustavách, během uvedení nových soustav do provozu, opětovného spuštění soustav, které nebyly delší dobu v provozu, nebo v nouzových situacích.

Tato část ISO 5667 neposkytuje návod pro:

a) odběr vzorků z vodních zdrojů, např. podzemní vody nebo vody z vodních nádrží;

b) odběr vzorků dodávek pitné vody z kontinuálních zdrojů, které jsou zahrnuty v ISO 5667-5 Jakost vod – Odběr vzorků – Část 5: Návod pro odběr vzorků pitné vody z úpraven vody a z vodovodních sítí;

c) odběr vzorků nápojů (včetně balené vody) nebo potravin, k jejichž přípravě se používá pitná voda;

d) odběr vzorků z nápojových automatů.

Norma byla vydána tiskem v srpnu 2011.

ČSN ISO 22743 (75 7478) Jakost vod – Stanovení síranů – Metoda kontinuální průtokové analýzy (CFA)

Tato norma specifikuje metodu kontinuální průtokové analýzy (CFA) pro stanovení síranů v různých typech vod (jako je podzemní voda, pitná voda a odpadní voda). Metoda se používá pro vzorky s hmotnostní koncentrací síranů od 30 mg/l do 300 mg/l. Jsou použitelné také jiné koncentrační rozsahy, pokud pokrývají přesně jeden řád koncentračních jednotek (např. 100 mg/l až 1 000 mg/l).

Sírany reagují v kyselém roztoku s chloridem barnatým za vzniku síranu barnatého. Baryum tvoří komplex s methylthymolovou modří. Přebytečný chlorid barnatý reaguje s methylthymolovou modří v alkalickém roztoku. Absorbance volné nechelatované methylthymolové modři se měří při 460 nm ± 10 nm v průtokovém detektoru. Další kovy, jako je vápník, hořčík, železo a hliník, se před reakcí s baryem odstraňují kolonou s měničem iontů. Norma byla vydána tiskem v listopadu 2010.

ČSN ISO 16265 (75 7533) Jakost vod – Stanovení aniontových tenzidů methylenovou modří (MBAS) – Metoda kontinuální průtokové analýzy (CFA)

Tato norma specifikuje metodu stanovení aktivních látek reagujících s methylenovou modří (MBAS) v rozsazích 0,05 mg/l až 0,5 mg/l a 0,5 mg/l až 5,0 mg/l, ve vzorcích různých vod (např. podzemní voda, pitná voda, povrchová voda, odpadní voda a výluhy). Aniontové tenzidy jsou nejdůležitějšími látkami reagujícími s methylenovou modří. Tato metoda je proto užitečná pro odhadování obsahu aniontových tenzidů [včetně aniontových tenzidů s karboxylovými skupinami (např. mýdel)] ve vodě. Jiné typy látek mohou také reagovat s methylenovou modří a přispívat k výsledku. Rozsah analýzy může být měněn případ od případu a metoda může být použita pro jiné koncentrace, pokud pokrývají přesně jeden řád koncentračních jednotek.

Vzorek je smíchán v kontinuálním proudu s alkalickým roztokem methylenové modři, tvořící barevné iontové páry s určitými typy organických látek (např. s aniontovými tenzidy) obsaženými ve vzorku. Tyto iontové páry jsou extrahovány trichlormethanem. Organická fáze se upraví kyselým roztokem methylenové modři a její

absorbance se stanoví fotometricky při vlnové délce 650 nm ± 10 nm. Výsledek se vyjadřuje jako koncentrace natrium-dodecylsulfátu (dodecylsulfátu sodného). Norma byla vydána tiskem v listopadu 2010.

ČSN ISO 17858 (75 7591) Jakost vod – Stanovení polychlorovaných bifenylů podobných dioxinům – Metoda plynové chromatografie/hmotnostní spektrometrie

Tato norma specifikuje metodu stanovení tetra- až hepta-chlorovaných bifenylů (PCB) podobných dioxinům ve vodě a v odpadní vodě (obsahující méně než 1 % nerozpuštěných látek) s použitím plynové chromatografie s vysokým rozlišením/hmotnostní spektrometrie s vysokým rozlišením (HRGC/HRMS). Metoda je optimalizována pro PCB podobné dioxinům, ale může zahrnovat další koplanární sloučeniny, jako jsou polychlorované dioxiny a furany (PCDD/PCDF) a polychlorované naftaleny (PCN). Tato metoda může být použita pro stanovení PCB podobných dioxinům v jiných matricích (např. biota, sedimenty, vzduch); pro vzorky s vysokým obsahem organických látek však mohou být požadovány dodatečné kroky a postupy čištění.

Tato metoda je použitelná pro dvanáct PCB bez atomů chloru v ortho-polohách a s jedním atomem chloru v ortho-poloze („non-ortho PCB a mono-ortho PCB“), určených Světovou zdravotnickou organizací, a také pro další PCB a koplanární sloučeniny. Meze detekce a meze stanovitelnosti této metody závisí na rušivých vlivech a na možnostech přístrojů. Norma byla vydána tiskem v únoru 2011.

Technická normalizační informace TNI ISO/TR 11044 (75 7744) Jakost vod – Vědecké a technické aspekty vsádkových zkoušek inhibice růstu řas

Předmětem této technické normalizační informace jsou vědecké a technické aspekty, které byly brány v úvahu v souvislosti s vývojem postupů vsádkových zkoušek inhibice růstu řas, specifikovaných v ČSN EN ISO 8692 Jakost vod – Zkouška inhibice růstu sladkovodních zelených řas a v ČSN EN ISO 10253 Jakost vod – Zkouška inhibice růstu mořských řas *Skeletonema costatum* a *Phaeodactylum tricornutum*. Do TNI ISO/TR 11044 byly zahrnuty dříve nepublikované výsledky pokusů, provedených v Norském institutu pro vodohospodářský výzkum (Norwegian Institute for Water Research, NIVA). Technická normalizační informace byla vydána tiskem v lednu 2011.

ČSN ISO 12890 (75 7763) Jakost vod – Stanovení toxicity pro embryonální a larvální stadia sladkovodních ryb – Semistatická metoda

Tato norma specifikuje semistatickou metodu stanovení toxicity chemických látek, vod a odpadních vod pro embrya a časná larvální vývojová stadia druhu sladkovodní ryby *Danio rerio* Hamilton-Buchanan (*Teleostei, Cyprinidae*) (běžně nazývané danio pruhované). Pokud je potřeba, může toto stanovení zahrnovat zkoušku akutní toxicity pro stanovení 96-h LC_{50} pro danio pruhované podle ISO 7346 Jakost vod – Stanovení akutní letální toxicity látek pro sladkovodní ryby [*Brachydanio rerio* Hamilton-Buchanan (Teleostei, Cyprinidae)]. Metoda je použitelná také pro jiné sladkovodní ryby, než je danio pruhované, pokud jsou provedeny vhodné modifikace podmínek zkoušky.

Čerstvě oplodněné jikry jsou exponovány řadě koncentrací zkoušeného vzorku, včetně kontrol (koncentrace 0). Počet přeživších a vykulených jiker nebo larválních jedinců se denně zaznamenává ve všech zkoušených roztocích, které jsou denně obnovovány (semistatická metoda). Zkušební organismy se nekrmí. Standardní doba expozice při této zkoušce je 10 dnů, ale zkouška může být prodloužena až na 14 dnů, aby se zvýšila citlivost. Získané údaje jsou použity pro výpočty mediánu časů pro vykulení a přežití ve zkoušených koncentracích a v kontrolách. Ze vztahů koncentrace-účinek pro vykulení a přežití jsou stanoveny neúčinné koncentrace (NEC). Mohou být stanoveny také účinné koncentrace (EC_X) a výsledky mohou být vyhodnoceny také jako nejvyšší koncentrace, při níž nebyl pozorován žádný účinek (NOEC) a jako nejnižší koncentrace s významným účinkem v porovnání s kontrolami (LOEC). Norma byla vydána tiskem v prosinci 2010.

ČSN ISO 19250 (75 7855) Jakost vod – Průkaz přítomnosti bakterií rodu Salmonella

Tato norma specifikuje metodu průkazu přítomnosti (detekce) bakterií rodu *Salmonella* (presumptivních nebo potvrzených) ve vzorcích vody. Je možné, že pro epidemiologické účely nebo během sledování při mimořádných situacích jsou požadována také jiná média. Je možné, že tato metoda nezahrne všechny bakterie *Salmonella* sv. Typhi a sv. Paratyphi. Pro semikvantitativní stanovení mohou být provedeny zkoušky metodou nejpravděpodobnějšího počtu (MPN) s vhodnými objemy vzorku.

Průkaz přítomnosti bakterií rodu *Salmonella* vyžaduje čtyři po sobě následující stupně:

1. primární pomnožení v neselektivním tekutém médiu,
2. pomnožení v selektivních tekutých médiích,
3. vyočkování a identifikace,
4. potvrzení.

V souladu s výsledky biochemických testů a sérologického potvrzení se uvede, zda byly ve zkoušeném objemu vzorku detekovány presumptivní nebo potvrzené bakterie rodu *Salmonella.* Norma byla vydána tiskem v dubnu 2011, současně byla zrušena TNV 75 7855 z roku 1999.

ČSN ISO 17995 (75 7875) Jakost vod – Stanovení termotolerantních bakterií rodu Campylobacter

Tato norma specifikuje metodu detekce a semikvantativního stanovení počtu termotolerantních bakterií rodu *Campylobacter.* Tato metoda může být použita pro všechny druhy filtrovatelných vod. Metoda může být použita také jako zkouška prezence/absence pro bakterie rodu *Campylobacter* ve specifikovaném objemu vzorku. Kvantitativnější výsledek může být získán s použitím uspořádání pro metodu nejpravděpodobnějšího počtu (MPN) (viz ČSN EN ISO 8199 Jakost vod – Obecný návod pro stanovení mikroorganismů kultivačními metodami).

Vzorek vody je zfiltrován membránovými filtry s velikostí pórů 0,45 μm. Filtry jsou přeneseny na selektivní kultivační média a inkubovány v mikroaerobním prostředí při (37 ± 1) °C po dobu (44 ± 4) h. Po inkubaci je inokulum z každého média vyočkováno na pevné médium, modifikovaný dezoxycholátový agar s aktivním uhlím a cefoperazonem (mCCDA), a inkubováno v mikroaerobním prostředí při (41,5 ± 1) °C po dobu (44 ± 4) h. U kolonií, které se podobají kampylobakterům, se zkouší aerobní růst, a pokud je negativní, vyšetřují se mikroskopicky. Pokud je to nutné, provedou se další biochemické reakce.Pokud jsou nalezeny typické kampylobaktery, je vzorek pozitivní na termotolerantní kampylobaktery. Výsledek se uvádí jako semikvantitativní odhad na objem vzorku. Nefiltrovatelné vody mohou být analyzovány přímou inokulací vzorku do kultivačních médií. Podíl vzorku ke kultivačnímu médiu musí být 10 % nebo menší. Norma byla vydána tiskem v prosinci 2010.

V roce 2007 byly prověřeny odvětvové technické normy vodního hospodářství (TNV) v oblasti jakosti vod a byla posouzena možnost jejich transformace do ČSN. Na základě prověrky bylo doporučeno transformovat šestnáct nejdůležitějších TNV do ČSN. Členové technické normalizační komise „Jakost vod“ od roku 2008 postupně zpracovávají příslušné ČSN. Při transformaci byly TNV technicky revidovány, pokud to bylo potřebné, a byla doplněna kapitola týkající se prokazování a řízení kvality i statistické charakteristiky. V prvním čtvrtletí roku 2011 bylo vydáno několik norem ČSN, které vznikly transformací TNV:

ČSN 75 7315 Jakost vod – Úprava vzorků odpadních vod před chemickou analýzou

Významným zdrojem neporovnatelnosti výsledků analýz vzorků odpadních vod je jejich heterogenita. V přítomnosti tuhé fáze nebo kapalné fáze nemísitelné s vodou může způsob úpravy vzorku před analýzou značně ovlivnit analytické výsledky. O problematice tuhé fáze se zmiňuje ČSN ISO 5667-10 Jakost vod – Odběr vzorků – Část 10: Pokyny pro odběr vzorků odpadních vod v poznámce k článku 5.1.2 a v článku 5.1.3, kde se uvádí, že se má věnovat značná péče odstraňování nebo minimalizování látkové heterogenity, která je často vyvolána přítomnými nerozpuštěnými látkami. To lze často splnit pouze zřízením vhodného vzorkovacího objektu (viz ČSN ISO 5667-10 Změna Z1). Přítomnost kapalné fáze nemísitelné s vodou ve vzorku neřeší ani ČSN ISO 5667-10, ani ČSN EN ISO 5667-3 Jakost vod – Odběr vzorků – Část 3: Návod pro konzervaci vzorků a manipulaci s nimi.

Norma ČSN 75 7315 popisuje úpravu vzorků odpadních vod před analýzou s cílem usnadnit získání porovnatelných analytických výsledků i v případě, že vzorky obsahují nerozpuštěné tuhé nebo kapalné látky. Upřesněné definice ukazatelů znečištění (celkový, rozpuštěný) a příslušné postupy úpravy jsou shrnuty v příloze A. Postup uvedený v této normě se používá zejména v případě, že výsledky chemických analýz slouží pro účely zpoplatnění množství znečištění vypouštěných odpadních vod, pro porovnávání stavu znečištění odpadních vod s emisními standardy, emisními limity a pro účely porovnávání s limity předepsanými kanalizačním řádem. Odstranění rušivých vlivů je součástí postupu.

Podstata úpravy vzorků je shrnuta v těchto krocích:

- úprava vzorků při odběru;
- směšování a dělení vzorků;
- úprava vzorků podle definice ukazatele;
- konzervace vzorků;
- odběr zkoušeného objemu vzorku.

ČSN 75 7315 obsahuje normativní přílohu A, v níž jsou uvedeny ukazatele znečištění odpadních vod s uzančním postupem úpravy vzorku (ukazatele znečištění pro účely stanovení poplatků za vypouštění odpadních vod do vod povrchových, ukazatele znečištění městských odpadních vod, ukazatele znečištění průmyslových odpadních vod a ukazatele znečištění odpadních vod s obsahem uvedených zvláště nebezpečných látek).

V informativní příloze B jsou uvedeny statistické charakteristiky a nejistota. Normativní příloha C obsahuje popis oddělení nehomogenizovatelných částí vzorku při odběru. Norma byla vydána tiskem v březnu 2011, současně byla zrušena TNV 75 7315 z roku 2007.

ČSN 75 7367 Jakost vod – Stanovení oxidačně-redukčního potenciálu (ORP)

Značná část chemických a biochemických reakcí probíhajících ve vodách a při úpravě a čištění vod závisí kromě hodnoty pH také na hodnotách oxidačně-redukčního potenciálu (ORP). Stanovení ORP je nezbytné pro výpočet forem výskytu těch složek vody, které se vyskytují ve více oxidačních stupních. Používá se při kontrole chlorace vod a do určité míry i při kontrole biologického čištění odpadních vod. Mezní hodnoty pro oxidačně-redukční potenciál, vyjádřené jako ORP_M (ORP změřený proti referenční elektrodě), jsou uvedeny v legislativních požadavcích pro jakost vod umělých koupališť (bazénové vody).

Norma ČSN 75 7367 specifikuje stanovení oxidačně-redukčního potenciálu ve všech typech vod, tj. v pitné vodě, přírodních vodách (podzemních a povrchových) a v odpadních vodách. Metoda umožňuje měření oxidačně-redukčního potenciálu v rozsahu ORP_M ±1 500 mV. Stanovení ORP může být ovlivněno především inaktivací měřicí elektrody, která může být způsobena adsorpcí některých složek vody na platinové elektrodě nebo přítomností kontaktních jedů. Tyto vlivy mohou někdy znemožnit správné měření ORP některých odpadních vod. Mezi rušivé látky patří např. organické látky, sulfidy, mangan a některé kovy. Některé tyto vlivy lze odstranit čištěním elektrod nebo použitím tzv. odolných elektrod.

Hodnota ORP se měří platinovou elektrodou proti referenční elektrodě a přepočte se proti standardní vodíkové elektrodě. Protože hodnota ORP závisí také na teplotě a na hodnotě pH, měří se současně také tyto dvě veličiny. Norma byla vydána tiskem v březnu 2011, současně byla zrušena TNV 75 7367 z roku 2007.

ČSN 75 7481 Jakost vod – Stanovení rozpuštěného reaktivního křemíku molybdenanem amonným

Tato norma specifikuje fotometrické stanovení rozpuštěného reaktivního křemíku molybdenanem amonným. Zkouška je použitelná při rozboru povrchové, podzemní a pitné vody a vody pro energetické účely. Bez objemové úpravy vzorku (50 ml) lze stanovit reaktivní křemík (Si) v koncentračním rozsahu asi od 0,25 mg/l do 15 mg/l, v závislosti na optické délce použité kyvety. Při přepočtu na SiO_2 vychází rozsah asi od 0,5 mg/l do 30 mg/l.

Vliv fosforečnanů, které reagují s molybdenanem amonným podobně jako křemičitany, je v pracovním postupu eliminován kyselým prostředím s přídavkem kyseliny citronové. Stanovení ruší fluoridy a redukční a oxidační činidla (např. Fe^{II}, sulfidická síra). Při běžném složení vod není vliv uvedených látek významný, pokud se nepracuje v oblasti velmi nízkých koncentrací křemíku. Sulfidická síra se odstraní provzdušněním okyseleného roztoku. Fe^{II} a jiné redukční látky se oxidují přídavkem roztoku peroxodisíranu amonného. Stanovení ruší také barva a zákal vody. Jejich vliv se eliminuje odečtením absorbance vzorku s přídavkem všech roztoků, avšak bez přídavku molybdenanu amonného.

Rozpuštěné reaktivní sloučeniny křemíku reagují s molybdenanem amonným v kyselém prostředí za vzniku žlutě zbarvené kyseliny molybdátokřemičité, která je vhodná pro spektrofotometrické stanovení. Reakční produkty jsou obvykle definovány jako anionty kyseliny dodekamolybdátokřemičité s molárním poměrem Mo:Si =12:1. Jde ale o směs různých heteropolyaniontů. Absorpční charakteristika těchto heteropolyaniontů má poměrně strmý průběh bez maxima. Absorbance se obvykle měří při 430 nm. Norma byla vydána tiskem v březnu 2011, současně byla zrušena TNV 75 7785 z roku 2003.

ČSN 75 7536 Jakost vod – Stanovení huminových látek (HL)

Tato norma specifikuje stanovení huminových látek (HL) extrakční fotometrickou metodou. Zkouška je použitelná při rozboru povrchové vody a surové vody určené k úpravě na vodu pitnou. Je vhodná i pro stanovení HL v pitné vodě. Metodu lze použít pro stanovení hmotnostních koncentrací HL od 0,5 mg/l do 15 mg/l v kyvetách s optickou délkou 5 cm. Vyšší koncentrace se stanoví v kyvetách kratších optických délek. Stanovení mohou rušit barevné látky obdobných vlastností (obecně sloučeniny polyfenolového typu), močové pigmenty (urochromy), třísloviny a melaniny.

Huminové látky se po filtraci vzorku extrahují z kyselého prostředí do pentan-1-olu a odtud zpět do roztoku hydroxidu sodného. Intenzita zbarvení alkalické vodné fáze při 420 nm je úměrná koncentraci HL. Metoda je empirická a k výpočtu výsledku se používá empirický koeficient. Zkouška je založena na předpokladu, že HL jsou hlavní součástí barevných rozpuštěných látek přítomných ve vodách. Empirický koeficient je založen na údajích získaných při analýze 115 vzorků rašelinných vod odebraných v různých částech ČR. Byl vyhodnocen vztah mezi $CHSK_{Mn}$ a koncentrací HL izolovaných z rašelinných vod a vztah mezi absorbancí (při 420 nm) extraktu získaného předepsaným postupem a $CHSK_{Mn}$ téhož vzorku rašelinné vody. Oba vztahy byly lineární. Byl zjištěn velmi těsný vztah mezi absorbancí vzorku vody a jeho extraktem, získaným navrženým postupem. Spojením těchto vztahů byla odvozena rovnice platná za daných podmínek. Norma byla vydána tiskem v březnu 2011, současně byla zrušena TNV 75 7536 z roku 2003

V plánu technické normalizace na rok 2011 je **zavedení několika evropských a mezinárodních norem překladem**. Jsou rozpracovány například normy:

- revize a sloučení norem ČSN ISO 5667-11 Jakost vod – Odběr vzorků – Část 11: Pokyny pro odběr vzorků podzemních vod a ČSN ISO 5667-18 Jakost vod – Odběr vzorků – Část 18: Pokyny pro odběr vzorků podzemních vod na znečištěných místech;
- revize ČSN EN ISO 5667-13 Jakost vod – Odběr vzorků – Část 13: Pokyny pro odběr vzorků kalů z čistíren odpadních vod a úpraven vod;
- ČSN EN ISO 5667-23 Jakost vod – Odběr vzorků – Část 23: Návod pro pasivní odběr vzorků v povrchových vodách;
- ČSN ISO 11349 Jakost vod – Stanovení málo těkavých lipofilních látek – Gravimetrická metoda;
- ČSN ISO 29441 Jakost vod – Stanovení celkového dusíku po rozkladu UV zářením – Metoda průtokové analýzy (CFA a FIA) se spektrometrickou detekcí;
- revize ČSN ISO 9698 Jakost vod – Stanovení objemové aktivity tritia – Kapalinová scintilační měřicí metoda;
- technická normalizační informace TNI CEN/TR 16151 Jakost vod – Návod pro navrhování multimetrických indexů.

Členové technické komise ISO/TC 147 „Jakost vod“ připravují **revizi normy ISO 5667-3 Jakost vod – Odběr vzorků – Část 3: Návod pro konzervaci vzorků a manipulaci s nimi**. Při revizi byly do normy doplněny způsoby konzervace vzorků pro stanovení dalších ukazatelů, například pro těkavé organické látky (VOC), pro extrahovatelné organicky vázané halogeny (EOX) a pro některé druhy pesticidů. Příprava vzorkovnic je popsána v informativní příloze A. Způsoby konzervace vzorků při větším počtu složek byly přesunuty do informativní přílohy B. Do bibliografie byly doplněny citace několika validačních studií. Revize normy ISO 5667-3 bude dokončena v roce 2012, po vydání bude norma zavedena překladem jako ČSN.

Normy ČSN jsou přístupné především v elektronické formě – přístup k ČSN je umožněn prostřednictvím internetu. Podrobnosti naleznete na internetu na stránkách Úřadu pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví (ÚNMZ) (www.unmz.cz, ikona „ČSN online“). Na stránkách ÚNMZ je dostupný také Věstník Úřadu pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Ve věstníku jsou zveřejňovány informace o vydaných normách a o zahájených normalizačních úkolech, k nimž se můžete přihlásit u zpracovatele návrhu normy.

Informace o normách vodního hospodářství jsou dostupné na internetu na adrese www.hydroprojekt.cz, pod nadpisem Technická normalizace.

ZMĚNY V NORMÁCH ISO 80000-1 A ISO 80000-9 TÝKAJÍCÍ SE VELIČIN A JEDNOTEK

Pavel Pitter

Ústav technologie vody a prostředí
Fakulta technologie ochrany prostředí, VŠCHT Praha
Technická 5, 166 28 Praha 6
e-mail: Pavel.Pitter@vscht.cz

Od vydání norem ČSN ISO 31-0 a ČSN ISO 31-8, týkající se veličin a jednotek používaných v různých oborech chemie, uplynulo již více než 10 let. Lze proto jen uvítat, že došlo k jejich revizi a doplnění a k novému vydání v letech 2009 a 2010 pod změněným označením:

ISO 80000-1 Quantities and units - Part 1: General (2009). Tato norma byla v roce 2011 přeložena a vydána jako ČSN ISO 80000-1 Veličiny a jednotky – Část 1: Obecně.

ISO 80000-9 Quantities and units - Part 9: Physical chemistry and molecular physics (2009). Tato norma byla v roce 2011 přeložena a vydána jako ČSN ISO 80000-9 Veličiny a jednotky – Část 9: Fyzikální chemie a molekulová fyzika.

Účelem této přednášky je jednak seznámit pracovníky v oboru hydrochemie a hydroanalytiky se změnami v porovnání s dřívějšími normami ISO 31-0 a ISO 31-8 a jednak upozornit na nadále používanou terminologii v uvedených oborech souvisící především s analytickou a fyzikální chemií.

V úvodu bych ještě rád konstatoval, že většina dále uvedených základních požadavků byla v analytické chemii akceptována již před více než dvaceti lety v rozsáhlé vysokoškolské učebnici používané při výuce analytické chemie v Praze a Pardubicích, vydané v roce 1987 [1]! V současné době jsou tyto zásady akceptovány i ve většině středoškolských učebnic anorganické chemie.

ČSN ISO 80000-1 VELIČINY A JEDNOTKY. ČÁST 1: OBECNĚ

Tato norma bylo téměř dvojnásobně rozšířena a doplněna o tři normativní přílohy A, B a C. Součástí je samostatná kapitola 3 „Termíny a definice“. Pokud se týká rozměru veličiny, jejíž všechny rozměrové exponenty se rovnají nule, dává se přednost termínu *veličina s rozměrem jedna*. Z historických důvodů se připouští termín „*bezrozměrová veličina“* (nikoli bezrozměrná !). Měřící jednotky veličin s rozměrem jedna jsou čísla. Někdy se těmto měřícím jednotkám dávají zvláštní jména, např. radian, steradian, decibel nebo jsou vyjadřovány jako poměr (podíl, kvocient), např. mmol/mol, mg/kg a tento způsob se v uvedené normě připouští, protože je na první pohled srozumitelný a nemůže docházet k omylům. Například látkový zlomek je sice číslo s rozměrem jedna, avšak velmi srozumitelné je vyjádření např. jako 3 mmol/mol, než jen 0,003.

Nově je jako odvozená jednotka zařazena jednotka *katalytické aktivity* s názvem *katal*, značkou *kat*, s následující definicí : kat = mol/s.

Vztah k procentům uvedený v ISO 31-0 je v ISO 80000-1 zachován. Ježto procento je číslo, nemá v podstatě smysl hovořit o hmotnostním nebo o objemovém procentu. Proto se ke značce jednotky % nemají připojovat přídavné informace typu % (*m*/*m*) nebo % (*V*/*V*). Údaje se vyjadřují jako *hmotnostní nebo objemový zlomek*, např. hmotnostní zlomek látky B w_B = 0,78, resp. w_B = 78 %. Hmotnostní nebo objemové zlomky lze vyjadřovat také ve tvaru např. 5 µg/g nebo 4,2 ml/m^3, které jsou pro čtenáře zcela srozumitelné. To se týká i *látkového zlomku* x_B. Jestliže se látkový zlomek x_B = 0,1, lze použít srozumitelnější zápis x_B = 100 mmol/mol . Tyto způsoby zápisu lze obecně doporučit, protože vylučují chybnou interpretaci.

Zde je nutno dodat, že nesystematický název „molární zlomek“ se omezuje. Používá se systematický název „*látkový zlomek*“ (který již byl aplikován v analytické chemii v roce 1987 [1]).

Pokud se týká „promile“ (‰) v původní ISO 31-0 se uvádělo, že tato jednotka se nemá používat. Avšak v ISO 80000-1 se konstatuje, že její použití přichází v úvahu.

V obou normách se jednoznačně uvádí, že zkratky ppm, ppb a ppt se *nesmí* používat. Dále se v obou normách konstatuje, že pro značku jednotky „litr“ lze nadále používat jak malé „l“, tak i velké „L“. Rozhodnutí se ponechává na národních zvyklostech.

Ke změně došlo u jednotek používaných v SI, jejichž hodnoty v jednotkách SI byly získány pokusně. Sem patří jednotka energie „elektronvolt“ a „astronomická jednotka“ jako jednotka délky. Do této skupiny byla nově zařazena u veličiny „hmotnost“ jednotka „**dalton**“ se značkou „Da“, která sice nezapadá do systému jednotek SI, ale nahrazuje dosavadní unifikovanou atomovou hmotnostní jednotku (konstantu) „*u*“, definovanou jako 1/12 hmotnosti atomu nuklidu ^{12}C (1,66 · 10^{-27} kg). „Mol“ je látkové množství soustavy, která obsahuje právě tolik částic (atomů, molekul, iontů) kolik je atomů v 0,012 kg nuklidu ^{12}C.

Jednotku „dalton“ schválil IUPAC již v roce 1993. V roce 2003 doporučil IUPAC přednostně používat jednotku „dalton“ před unifikovanou atomovou hmotnostní jednotkou „*u*“, což potvrdil v roce 2005. V roce 2009 byla tato jednotka hmotnosti preferována také v ISO 80000-1.

Historický vývoj této jednotky stojí za zmínku. Chemik Dalton v roce 1803 původně jako referenční jednotku zvolil vodík. Začátkem 20. století byl zvolen ^{16}O jako referenční jednotka a posléze v roce 1961 byl kyslík nahrazen uhlíkem ^{12}C. Historické podrobnosti lze nalézt např. v literatuře [5,6]. V posledních letech se zdá, že v chemii se postupně dává přednost jednotce s názvem „dalton“ před unifikovanou atomovou hmotnostní jednotkou „*u*“.

Výsledky atomové nebo molekulární hmotnosti lze uvést např. u vody takto: molární hmotnost vody je 18 g/mol, relativní molekulová hmotnost vody 18 , resp. molekulová hmotnost vody je 18 Da. Číselná hodnota zůstává stejná. Tato jednotka není sice dosud v chemii běžně používána, avšak našla uplatnění v biochemii, kde se používá pro vyjádření molekulové hmotnosti biomakromolekul a v molekulární biologii [3]. Často se používají násobky této jednotky *kilodalton* , kDa.

V poslední části normy se popisují ***pravidla pro tisk.*** Podle těchto pravidel postupuje ÚNMZ při tvorbě ČSN a překladech norem ISO a EN. Jednou ze základních zásad je, že ***vyjádření jednotek nesmí obsahovat nic jiného než značky jednotek a matematické značky.*** Mezi jednotky a matematické značky se nesmí vkládat další přídavky dávající informaci o zvláštní povaze veličiny nebo o způsobu měření. Zde se v hydrochemii a technologii vody často chybuje. Např. někdy uváděný údaj, že objemové zatížení kalu je 10 kg $BSK_5 \cdot m^{-3} \cdot d^{-1}$ je nesprávný. Je nutno psát, že objemové zatížení kalu v BSK_5 je 10 $kg \cdot m^{-3} \cdot d^{-1}$. Stejně tak nelze psát, že organické znečištění vody bylo 100 mg $COD \cdot l^{-1}$, ale organické znečištění vody v COD bylo 100 $mg \cdot l^{-1}$. Zcela zbytečný je např. zápis, že koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vodě je 10 mg $O_2 \cdot l^{-1}$, jednak z uvedených důvodů a jednak proto, že se jedná o kyslík je již uvedeno v názvu stanovení.

Již v předchozím referátu na konferenci „Hydroanalytika 2009“ byla zdůrazněna stejná číselná hodnota u výsledků obsahu aktivního chloru ve vodách nebo v bělicích a dezinfekčních přípravcích, ať je vyjadřována v mg/l jako Cl_2 resp. jako Cl. To se týká i hmotnostních koncentrací kyslíku ve vodách a podobných případů, např. 10 mg/l Cl_2 = 10 mg/l Cl, resp. 5 mg/l O_2 = 5 mg/l O. Zdůvodnění a příklady z různých odborných oblastí (analytické chemie, posuzování jakosti bělicích a dezinfekčních přípravků) byly uvedeny v článku [4].

Pokud se týká dalších pravidel pro tisk lze uvést následující zásady:

Značky veličin se píší kurzívou. Pokud se týká kombinace značek pro veličiny je nutné dodržovat následující možnosti:

$$ab = a\ b = a \cdot b = a\ x\ b$$

$$\frac{a}{b} = a / b = a\ b^{-1} = a \cdot b^{-1}$$

$$\frac{a}{bc} = a /(b \cdot c),\ nikoli\ a / b \cdot c$$

$$\frac{a / b}{c} = \frac{a}{bc} = (a / b) / c = a /(bc),\ nikoli\ a / b / c\ .$$

Mezi numerickou hodnotou a značkou jednotky musí být vynechán prostor, např. t = 23 °C, nikoli 23°C, 15 %, nikoli 15%, 250 V, nikoli 250V. Značky jednotek se píší antikvou. Pokud se týká skupiny čísel musí být uváděny nejvýše po třech, např. 1 234 nebo 0,567 8. To se netýká časového údaje v letech, např. rok 2009. Znaménka plus a minus se píší hned před číslem, např. +5 °C.

Pokud se týká závislosti dvou veličin A a B podle rovnice $A = k \cdot B$ uvádí norma následující doporučení. Značka k se často nazývá koeficient nebo faktor. Název „*koeficient*“ by měl být použit, jestliže obě veličiny mají různý rozměr. Název „*faktor*“ byl měl být použit, jestliže obě veličiny mají stejný rozměr.

Přídavné jméno *specifický* se připojuje k názvu veličiny tehdy, pokud je vztažena na jednotku hmotnosti, např. specifický objem, specifická tepelná kapacita. Někdy se místo „specifický“ používá přídavné jméno „hmotnostní“ nebo „měrný“.

Názvy „hustota“ nebo „objemový“ se používá tehdy, pokud je veličina vztažena na jednotku objemu. Přídavné jméno „molární“ se používá tehdy, pokud je veličina vztažena na látkové množství, např. molární objem, molární hmotnost.

V příloze B normy jsou uvedeny obecné *zásady pro zaokrouhlování výsledků.*

ČSN ISO 80000-9 VELIČINY A JEDNOTKY – ČÁST 9: FYZIKÁLNÍ CHEMIE A MOLEKULOVÁ FYZIKA

Největší technické změny proti předchozí normě se týkají nových veličin, nových chemických prvků a byla zrevidována příloha C týkající se hodnoty pH. Pokud se týká nových prvků jsou uvedeny názvy prvků s atomovým číslem 104 až 111, u kterých došlo k názvoslovné změně: rutherfordium (Rf), dubnium (Db), seaborgium (Sg), bohrium (Bh), hassium (Hs), meitnerium (Mt), darmstadtium (Ds) a rentgenium (Rg).

V dalším textu jsou z uvedené normy převzaty jen některé názvy, značky a definice, které běžně přicházejí v úvahu v hydroanalytice a hydrochemii. Značka = se používá pro označení „je přesně rovno“, značka ≈ se používá pro „je přibližně rovno“ a značka := se používá pro „je podle definice rovno“. V článku 0.4 jsou uvedeny příklady zápisu, pokud se týká nejistoty měření. Horní index $^{\Theta}$ se používá ve významu „standardní“. Např. standardní koncentrace 1 mol/l se značí c^{Θ}, standardní tlak p^{Θ}, standardní rovnovážná konstanta K^{Θ} aj.

Jednou ze základních veličin fyzikální chemie je *látkové množství (n)* s jednotkou mol. Mol je látkové množství soustavy, která obsahuje tolik elementárních entit, kolik je atomů v 0,012 kg nuklidu ^{12}C. Pro látkové množství se často nesprávně používá termín „počet molů“, protože název veličiny by se měl od názvu jednotky odlišovat. V názvu „látkové množství“ lze slovo „látkové“ v jednotlivých případech pro zjednodušení nahradit slovem označujícím uvažovanou látku, např. „množství“ benzenu. Při použití molu musí být elementární entity určeny. Mohou to být atomy, molekuly, ionty, elektrony nebo jiné částice. Pro *počet částic* se používá značka N, např. N_B je počet částic entity . Značkou pro *molární hmotnost* je M, např. v g/mol, která je podílem hmotnosti m a látkového množství n ($M = m/n$). Mezi další molární veličiny (tj. vztažené na 1 mol látky) patří např. molární objem v m^3/mol a všechny termodynamické energie v J/mol.

Od molární hmotnosti je nutné odlišovat *relativní molekulovou hmotnost* M_r, která je číselně stejná jako M, ale je veličinou s rozměrem jedna (bezrozměrovou). Je poměrem průměrné hmotnosti molekuly nebo určené entity látky k 1/12 hmotnosti atomu nuklidu ^{12}C. Obdobně *relativní atomová hmotnost* A_r je poměr průměrné hmotnosti atomu prvku k 1/12 hmotnosti atomu nuklidu ^{12}C. Obě tyto veličiny jsou bezrozměrové. Historické názvy „molekulová váha“ a „atomová váha“ se považují za nevhodné.

Koncentrace látkového množství látky B (c_B), $c_B = n_B/V$, např. mol/l, se obvykle zkracuje do jednoho slova „koncentrace“. *Nesprávně se někdy hovoří o molární koncentraci, která však nemůže být molární veličinou, protože je vztažena nikoli na mol, ale na objemovou jednotku.* Toto bylo akceptováno v analytické chemii již před více než 20 lety [1]!!

V této souvislosti je nutno odlišit termín *molekulová koncentrace* látky B, která je dána poměrem počtu molekul látky B (N_B) a objemu směsi V.

Poměr hmotnosti a objemu se nazývá buď *objemová hmotnost* nebo *hustota* se značkou ρ, která je definována jako poměr hmotnosti m a objemu V, např. kg/m^3.

V analytické chemii se často používají termíny hmotnostní, objemový a látkový zlomek (fraction). *Hmotnostní zlomek látky* B (w_B) je definován jako poměr m_B/m (hmotnost látky B k celkové hmotnost směsi). Obdobně je definován *objemový zlomek látky* B (φ_B) a *látkový zlomek látky* B ($x_B = n_B/n$), pro který se používá také nesystematický název *molární zlomek.* (Název látkový místo molární zlomek byl navržen v analytické chemii již v roce 1987 [1]). Jedná se o veličiny s rozměrem jedna (bezrozměrové veličiny), jejichž hodnoty se většinou udávají jako desetinné číslo nebo v procentech. Pro lepší srozumitelnost lze výsledky uvádět také jako poměr jednotek, např. místo látkový zlomek 0,001 údaj 1 mmol/mol, místo hmotnostní zlomek 0,002 údaj 2 mg/g nebo místo objemový zlomek 0,003 údaj 3 l/m^3 apod.

Zachována zůstává veličina *molalita rozpuštěné látky* B, definována jako poměr látkového množství látky B (n_B) k hmotnosti rozpouštědla A (m_A). *Parciální tlak látky* B (p_B) je dán součinem látkového zlomku látky B (x_B) a celkovým tlakem směsi p.

U značek chemických prvků a nuklidů se *nukleonové (hmotnostní) číslo* uvádí jako levý horní index, např. ^{14}N, a *atomové (protonové) číslo* jako levý dolní index, např. $_{82}$Pb.

U iontů se uvádí *nábojové číslo iontu (z),* což je poměr elektrického náboje iontu a elementárního náboje 1,602 176 487 · 10^{-19} C. Nábojové číslo iontu je bezrozměrová veličina. Chybně se hovoří o náboji iontu.

Názvy specifická či měrná vodivost se již nepoužívají. Tato veličina se nazývá *elektrolytická konduktivita* κ, která je poměrem hustoty elektrolytického proudu a intenzity elektrického pole. Rozměrem je Siemens na metr (S/m), v hydroanalytice obvykle v mS/m.

Značky chemických prvků a nuklidů: Připojené horní a dolní indexy mají dále uvedený význam a polohu:

Nukleonové (hmotnostní) číslo se uvádí jako levý horní index (např. ^{14}N).

Atomové (protonové) číslo se uvádí jako levý dolní index (např. $_{7}$N).

Počet atomů nuklidu v molekule se uvádí jako pravý dolní index (např. N_2).

Přílohu C normy ČSN ISO 80000-9 tvoří přepracovaná kapitola týkající se *definice a stanovení hodnoty pH.*

Údaje o různých konstantách a jejich hodnotách jsou podrobně uvedeny v lit. [2].

ZÁVĚR

V referátu jsou shrnuty změny v normách ČSN ISO 80000-1 a ČSN ISO 80000-9 nahrazující dřívější ČSN ISO 31-0 a ČSN ISO 31-8, týkající se všeobecných zásad a fyzikální chemie. Vybrány byly jen základní veličiny a takové změny, které mají význam v hydroanalytice a hydrochemii a zdůrazněny veličiny a jednotky a takové kombinace, ve kterých se stále nejčastěji chybuje.

PODĚKOVÁNÍ

Příspěvek byl vypracován v rámci řešení výzkumného záměru MSM 6046137308 a grantu GAČR 203/09/1349.

LITERATURA

[1] Holzbecher Z., Churáček J. a kol.: Analytická chemie. SNTL, ALFA, Praha, Bratislava 1987.

[2] CODATA 2006, http://physics.nist.gov/cuu/Constants/bibliography.html

[3] Kodíček M.: Biochemické pojmy. Vydavatelství VŠCHT, Praha 2004.

[4] Pitter P.: Terminologické zvláštnosti a změny v hydroanalytice a hydrochemii. Sborník 3. konference „Hydroanalytika“, s. 13, 2009.

[5] http://en.wikipedia.org/wiki/Atomic_mass_unit

[6] Holden N.E.: http://www.iupac.org/publications/ci/2004/2601/1_holden.html

HODNOCENÍ VÝSLEDKŮ MEZINÁRODNÍCH PROGRAMŮ ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI (PT) VE VZTAHU K MULTILATERÁLNÍM DOHODÁM EA A ILAC

Eva Klokočníková

ČIA, Útvar chemických, mikrobiologických a klinických laboratoří a MPZ
Olšanská 54/3, 130 00 Praha 3
klokocnikovae@cai.cz

Vzájemné uznávání odborné způsobilosti laboratoří je dáno mezinárodními multilaterálními dohodami EA (The European Cooperation of Accreditation) a ILAC (The International Laboratory Accreditation Cooperation). Účinnost těchto multilaterálních dohod (MLA) je sledována zejména vzájemným hodnocením akreditačních orgánů, které jsou členy multilaterálních dohod (the peer evaluation of accreditation bodies), dále je ke sledování účinnosti těchto dohod využíváno hodnocení výsledků mezinárodních programů zkoušení způsobilosti, jichž se akreditované laboratoře účastní a jsou poskytovány profesionálními poskytovateli PT. Pokud jsou výsledky zúčastněných akreditovaných laboratoří srovnatelné, je to důkaz účinnosti multilaterální dohody.

Výsledky těchto hodnocení jsou prezentovány na pravidelných zasedáních EA/LC (Laboratory Committee EA – je fórum pro řešení otázek spojených s posuzováním a akreditací všech typů laboratoří dle norem ISO/IEC 17025 /1/ a ISO 15189 /2/. Činnost tohoto výboru pro akreditaci laboratoří je zaměřena zejména na harmonizaci postupů jednotlivých akreditačních orgánů při posuzování splnění požadavků výše uvedených norem). Výsledky těchto hodnocení jsou pak publikovány na intranetu EA a jsou také předávány týmům posuzovatelů akreditačních orgánů a využívány při vzájemném hodnocení.

Hodnocení výsledků zúčastněných akreditovaných laboratoří probíhá dle jednoznačných postupů, které musí poskytnout spolehlivé výsledky. K tomu, aby mohly být výsledky mezinárodních programů PT takto hodnoceny a využívány, se musí daného programu zúčastnit dostatečný počet akreditovaných laboratoří, které jsou akreditovány nejméně padesáti procenty členů multilaterální dohody, aktivních v této oblasti (nejméně však 6-8 akreditačními orgány) a program musí být organizován ve shodě s ISO/IEC 17043 /3/. Pokud se zúčastní dostatek laboratoří, které jsou akreditovány akreditačními orgány, jež nepatří do multilaterální dohody EA, nebo nejsou vůbec akreditované, lze porovnávat výsledky laboratoří akreditovaných členy MLA EA s výsledky laboratoří ostatních.

PT programy využívané k hodnocení efektivity MLA musí splňovat tato kritéria:

- dostatečná homogenita a stabilita testované položky,
- výsledky testů vhodné pro daný statistický model hodnocení,
- vhodné pro hodnocení výkonnosti laboratoří,
- akreditovaný PT poskytovatel,
- pokud je to možné, metrologická návaznost a nejistota vztažné hodnoty,
- vhodné pro laboratořemi používané zkušební metody.

K tomu, abychom mohli říci, že MLA je efektivní, musí mít zúčastněné laboratoře vzájemně srovnatelné výsledky. K hodnocení výsledků je většinou používáno z-score. U většiny PT programů se očekává, že alespoň 80% účastníků dosáhne uspokojivých výsledků (tj. z-score od -2 do +2), pak lze říci, že MLA je efektivní. V případě, že je zjištěno, že výsledky srovnatelné nejsou, zabývá se příčinami tohoto neúspěchu pracovní skupina pro mezilaboratorní porovnávání zkoušek (WG ILCś Testing – Permanent Working Group for Interlaboratory Comparisons in the Field of Testing) a navrhuje další opatření, která předkládá ke schválení EA/LC.

Český institut pro akreditaci koordinuje realizaci mezinárodních programů PT v České republice. Po obdržení písemné nabídky ze strany mezinárodního poskytovatele programu PT, obsahující přihlášku k účasti v mezinárodním programu PT a další potřebné technické informace, jsou vyhledány akreditované laboratoře, pro které je daný program vhodný, a těmto laboratořím je zaslána nabídka. V případě souhlasu laboratoře je laboratoř Českým institutem pro akreditaci nominována. Účast v těchto mezinárodních programech PT je dobrovolná, ale ČIA důrazně doporučuje laboratořím účast v těchto programech. Většina takto doporučených programů je pro akreditačními orgány nominované laboratoře bez účastnického poplatku, tyto programy často nabízejí takový rozsah, který je v České republice většinou nedostupný a u některých zkoušek je to dokonce jediná možnost, jak si ověřit kvalitu poskytovaných výsledků.

Ke sledování účinnosti MLA jsou používány programy IMEP, APLAC a další programy profesionálních poskytovatelů PT.

IMEP programy (The International Measurement Evaluation Programms) jsou poskytovány IRMM (The Institute for Reference Materials and Measurements) na základě dohody o spolupráci mezi IRMM a EA. V každém programu poskytovaném IRMM je nabídnuta bezplatná účast nominovaným laboratořím. Každý akreditační orgán může nominovat určitý definovaný počet akreditovaných laboratoří. Výběr laboratoří akreditačním orgánem by neměl být diskriminující, všechny laboratoře by měly mít stejnou šanci se vybraných programů zúčastnit, jedinou podmínkou je akreditace pro danou oblast, které se vybraný program týká.

APLAC programy jsou organizovány APLAC (Asia Pacific Laboratory Accreditation Coperation), mezinárodní organizací pro akreditaci laboratoří v Asii, obdoba EA. Evropské akreditované laboratoře jsou většinou přizváni k účasti v těchto programech zdarma. Akreditační orgány vybírají k nominaci laboratoře dle svých postupů. Vzhledem k tomu, že účast je bez poplatku, očekává se, že nominované laboratoře se těchto programů zúčastní.

Programy dalších profesionálních poskytovatelů PT jsou většinou vyhledávány z mezinárodní databáze programů PT EPTIS *(*www.eptis.bam.de*)* a vhodně doplňují nabídku mezinárodních programů PT pro hodnocení efektivity MLA. U těchto programů musí účastníci zaplatit cenu, za kterou poskytovatel PT účast nabízí. Účastníci se přihlašují přímo u poskytovatele vybraného programu a počet účastníků z jednotlivých států není limitován. U těch programů, kde laboratoře platí poplatek za účast, je účast laboratoří dobrovolná. U zkoušek, u kterých není možné využít kromě programů PT jiný způsob zajištění kvality (kap. 5.9 normy ISO/IEC 17025), může akreditační orgán na účasti v takovém programu trvat, zejména v případě, že účast není spojená s poplatkem hrazeným laboratoří.

Pro potřeby implementace Rámcové směrnice pro vodní politiku (200/60/ES - WFD – Water Frame Directive) jsou poskytovány programy, které nabízí poskytovatel PT –WFD (Network of PT Providers to Support the Implementation of the Water Frame Directive). Tyto programy PT přispívají k plnění požadavků této důležité směrnice, plán programů, které se týkají povrchové vody a většinou malých množství analytů, lze nalézt na www.pt-wfd.eu). V roce 2011 byl z této nabídky k hodnocení účinnosti MLA vybrán program „ New priority pesticides in surface water“.

V případě odděleného hodnocení výsledků akreditovaných a neakreditovaných laboratoří dochází hodnotitelé k různým výsledkům. Autorky příspěvku /4/ došly k závěru, že zavedený systém managementu laboratoře nemá přílišný vliv na výsledky PT. V dnešní době, kdy je velká většina účastníků programů PT v Čechách akreditována, lze takovou studii zopakovat jen velmi obtížně. Zajímavé jsou výsledky, které uvádějí zahraniční publikace. Například /4/ uvádí, že u laboratoří, které provádějí rozbory potravin , nebyl shledán vliv akreditace na výsledky PT. Nicméně množství vybočených výsledků byt dvakrát větší u neakreditovaných laboratoří. V jiné publikaci /6/ však autoři na velkých souborech dat (www.caeal.ca/pt_accred_vs_nonaccred.html) dokazují velmi pozitivní vliv zavedeného systému managementu a akreditace laboratoří na výsledky PT. Výsledky pracovní skupiny EA pro mezilaboratorní porovnávání zkoušek zkušebních laboratoří (EA WG ILCś Testing) ukazují na to, že akreditované metody vykazují v programech PT mírně vyšší úspěšnost než metody neakreditované, tento rozdíl však nelze označit jako významný a závisí také na oblasti, které se program PT týká. Byl také zaznamenán významný vliv na množství statisticky vybočených výsledků PT – neakreditované laboratoře poskytují takové výsledky podstatně častěji, než laboratoře neakreditované. Neakreditované laboratoře také někdy uvádějí vyšší nejistotu v porovnání s laboratořemi akreditovanými, případně ji neuvádějí vůbec.

Laboratoře akreditované ČIA se účastní programů PT vybraných k hodnocení účinnosti MLA poměrně často. Tato činnost, která je koordinována pracovníky ČIA, byla velmi kladně hodnocena při evaluaci ČIA v roce 2011, kdy bylo týmem evaluátorů řečeno, že účast akreditovaných laboratoří v mezinárodních programech PT je silnou stránkou v akreditačním systému ČIA. Například v programu IMEP 25b, který byl zaměřen na bromičnany v pitných vodách, se zúčastnily celkem 3 laboratoře akreditované ČIA, všechny s úspěšnými výsledky. Podobně programu APLAC T 068 a APLAC T 078, které byly oba zaměřeny na polyaromatické uhlovodíky (PAHs) v sedimentu, se zúčastnilo celkem 5 českých laboratoří, jejichž výsledky se v některých případech blížily z - score = 0.

Hodnocení výsledků mezinárodních programů slouží nejen k hodnocení výkonnosti MLA, ale slouží i k odhalení odborných problémů při posuzování některých zkoušek. Tyto problémy jsou pak řešeny na úrovni EA/LC a výsledky řešení jsou předávány zejména odborným posuzovatelům. Dochází tak ke koordinaci a sjednocování postupů posuzování jednotlivými akreditačními orgány, kteří jsou členy multilaterálních dohod.

V roce 2020 očekáváme, že v Evropě bude 20 000 akreditovaných laboratoří a 150 akreditovaných poskytovatelů PT. Důležitým úkolem je zajistit dostupnost vhodných programů PT pro laboratoře. Účast akreditovaných laboratoří v těchto programech pak poslouží nejen řízení kvality v laboratořích, ale i k hodnocení efektivity multilaterálních dohod, což je v době, kdy do těchto dohod vstupují stále častěji i méně vyspělé státy, velmi žádoucí.

LITERATURA:

1. ČSN EN ISO/IEC 17025: Posuzování shody – Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří

2. ČSN EN ISO 15189: Zdravotnické laboratoře – Zvláštní požadavky na jakost a způsobilost

3. ČSN EN ISO/IEC 17043: Posuzování shody – Všeobecné požadavky na zkoušení způsobilosti

4. Klokočníková E., Nižnanská A.: „Má posouzení laboratoře podle normy ČSN EN ISO/IEC 17025 vliv na úspěšnost v mezilaboratorním porovnávání zkoušek?“ Sborník konference“ „Analytická data a jejich využití v praxi“, 2003

5. Thompson M., Mathieson K., Owen L., Damant A.P., Wood R.: The relationship between accreditation status and performance in a proficiency test. Accred Qual Assur (2009) 14:73-78

6. Middlebrook K., Proficiency testing, Accreditation and Environmental Laboratory Data Duality, Internetové stránky Canadian Association for Environmental Analytical laboratories -www.cala.ca, 2007

ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI – VZORKOVÁNÍ SUROVÉ A POVRCHOVÉ VODY

Eva Břízová, Alena Nižnanská, Pavel Kořínek

CSlab spol. s r.o., Bavorská 856, 155 00 Praha 5
e-mail: cslab@cslab.cz

ÚVOD

CSlab spol s r.o. byla založena 29. prosince 2003 jako Centrum služeb laboratořím. Specializujeme se na zkušební laboratoře, které se zabývají analýzami složek životního prostředí včetně odběrů vzorků a vzdělávání pracovníků v uvedených činnostech. Pro pořádání programů zkoušení způsobilosti (PT - proficiency testing) v oblasti fyzikálně - chemických a chemických zkoušek vod, ovzduší, zemin, sedimentů, kalů, odpadů, mikrobiologických a biologických zkoušek vod, ekotoxických testů, vzorkování vod a kalů, a senzorické analýzy vod je společnost držitelem Osvědčení o akreditaci č. 183/2011 pro poskytovatele zkoušení způsobilosti č. 7003 vydaného Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. dle normy ČSN EN ISO/IEC 17043. Zkoušení způsobilosti (PT) je vyhodnocení výkonnosti účastníka vůči předem stanoveným kritériím pomocí mezilaboratorního porovnávání [1]. Jedná se tedy o externí kontrolu účastníka (laboratoří).

Cílem PT je vyhodnocení výkonnosti laboratoří u specifických zkoušek nebo měření, identifikace problémů v laboratořích, stanovení efektivnosti a srovnatelnosti zkušebních nebo měřících metod, poskytnutí další důvěryhodnosti laboratoře pro její zákazníky, identifikace rozdílů mezi laboratořemi, vzdělávání zúčastňujících se laboratoří či validace deklarovaného odhadu nejistoty.

U programů vzorkování se jedná i o porovnání odběrových technik jednotlivých vzorkovacích skupin, porovnání výsledků analýz odebraných vzorků, zjištění případných nedostatků při odběrech. Účast v těchto PT vede k harmonizaci technik odběrů a ke zlepšování práce jednotlivých odběrových skupin.

V tomto příspěvku se budeme zabývat zkoušením způsobilosti - vzorkováním surové a povrchové vody.

CSlab spol. s r.o. při organizování tohoto zkoušení vychází z legislativních předpisů a technických norem.

ZÁKLADNÍ INFORMACE

Program zkoušení způsobilosti Vzorkování surové a povrchové vody označený jako PT/S/SP/1/20XX a akreditovaný jako PT6 byl organizován dvakrát – poprvé 4. 5. 2010 v lokalitě ÚV Sojovice (řeka Jizera) za účasti 24 odběrových skupin a podruhé 6. - 7. 6. 2011 v lokalitě profil Ladná (řeka Dyje) za účasti 15 odběrových skupin. Tyto akce se uskutečnily díky souhlasu a spolupráce vedení Pražských vodovodů a kanalizací, a. s. a Povodí Moravy, státního podniku.

Obr. 1 - PT/S/SP/1/2010 - řeka Jizera - ÚV Sojovice

Obr. 2 - PT/S/SP/1/2011 - řeka Dyje - profil Ladná

REALIZACE PT

1. Posouzení techniky odběru a dokumentace, předvedení odběru pro různé ukazatele - dle výběru účastníka

2. Terénní měření v rámci posouzení

a) teplota, rozpuštěný kyslík (ukazatele povinné), pH, konduktivita, barva, zákal, redox potenciál (ukazatele dobrovolné)

b) měření kontrolního vzorku dodaného poskytovatelem (pH, konduktivita a redox potenciál – jen v roce 2011)

3. Odběr vzorku následující den ve stejnou dobu (všechny odběrové skupiny) - jen v roce 2011

a) měření na místě - rozpuštěný kyslík, teplota, pH, konduktivita, redox potenciál, zákal a barva - dle výběru laboratoře

b) analýza odebraných vzorků v laboratoři - BSK_5, $CHSK_{Cr,}$ $CHSK_{Mn,}$ P_{celk}, amoniakální dusík, dusitanový dusík, dusičnanový dusík, celkový dusík, pH, RL_{105}, RL_{550}, NL_{105}, chloridy, sírany, vápník, hořčík, železo, mangan - dle výběru účastníka [2].

Posuzování odběrových skupin

Posuzování odběrových skupin bylo prováděno zkušenými posuzovateli podle kontrolního listu CSlab spol. s r.o., který byl vypracován na základě platných norem, a sestával se z těchto částí:

1. Posouzení připravenosti odběrových skupin (OS) k provedení odběru vzorku. Připraveností zde bylo myšleno technické vybavení, zajištění bezpečnosti práce, vhodnost a existence potřebné dokumentace (postupy, záznamy), a teoretické znalosti odběrových skupin.

2. Posouzení provedení odběru povrchové vody pro stanovení parametrů v deklarovaném rozsahu a jejich analýza a hodnocení podmínek transportu vzorku do laboratoře včetně jeho předání.

3. Hodnocení dokumentace a záznamů - plánu vzorkování, SOP, vyplnění odběrového protokolu / záznamu o odběru (standardně používaného OS / laboratoří) a předání posuzovateli.

Tento protokol / záznam spolu s vyplněným kontrolním listem byl podkladem pro výsledné hodnocení účastníka.

Příklady závažných nedostatků (důvod pro neúspěšnou účast):

1. Nevhodná technika odběru - nezohlednění specifik odběrového místa do plánu vzorkování.

2. Obecně - použití nevhodné nebo neoznačené vzorkovnice, odběr nedostatečného objemu vzorku pro požadovaný rozsah stanovení, významná neobratnost při práci.

3. Odběr pro mikrobilologický rozbor - nesterilní vzorkovnice, nevhodná manipulace (možnost kontaminace), vypláchnutí vzorkovnice, neponechání vzduchové bubliny, použití vzorkovnice bez označení data přípravy / doby použitelnosti.

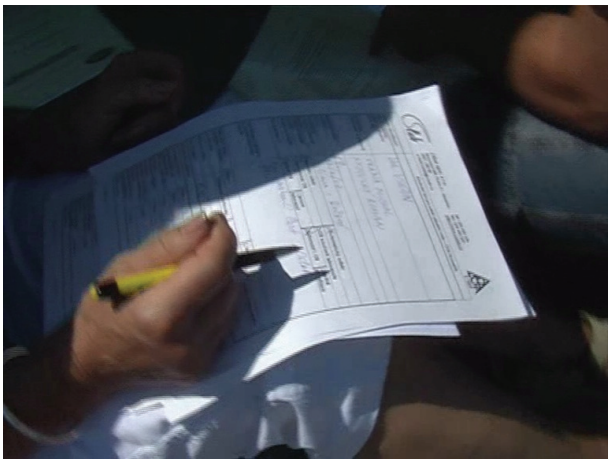
4. Transport odebraných vzorků - bez zajištění odpovídajícího způsobu chlazení (min. termobox s chladicími vložkami).

5. Formálně vedené provozní deníky pro měřící zařízení použitá na místě, jejich nefunkčnost, neprovedení kontroly správné funkce zařízení.

6. Dokumentace - nevypracování plánu vzorkování, neexistence SOP pro odběr vzorků, odběrový protokol / záznam o odběru nevyhovuje danému účelu (nesplňuje požadavky normy).

7. V záznamu o odběru vzorku není uvedena osobní odpovědnost za provedení měření na místě (laboratoř musí přiřadit pracovníky k provádění jednotlivých zkušebních postupů a doložit jejich zaškolení).

Obr. 3 – Dokumentace posouzení odběrové skupiny



Obr. 4 – ÚV Sojovice – PT/S/SP/1/2010

Hodnocení PT se skládá z hodnocení činnosti odběrových skupin a hodnocení naměřených hodnot.

Vyhodnocení měřených hodnot

Vyhodnocení měřených hodnot na místě - terénní měření

Vyhodnocení naměřených hodnot v laboratoři.

Výsledky byly statisticky zpracovány dle normy ČSN ISO 5725 a ISO 13528.

A1. Vyhodnocení výsledků zkoušek způsobilosti bylo navrženo tak, aby odpovídalo schématu pokusu s jednoduchými úrovněmi posuzovaného ukazatele se dvěma opakováními normy ČSN ISO 5725. Pro statistické zpracování výsledků byl použit Cochranův test, který je testem vnitrolaboratorních variabilit, a Grubbsův test, který je testem mezilaboratorní variability. Z dodaných výsledků byl vypočítán aritmetický průměr, směrodatná odchylka za podmínek opakovatelnosti s_r nebo reprodukovatelnosti s_R, směrodatná odchylka mezi laboratořemi s_L a relativní chyba u všech ukazatelů a účastníků vzhledem ke vztažné hodnotě.

A2. Pro hodnocení byla také použita norma ISO 13528 Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons, Ženeva 2005, ANNEX B. Byl vypočítán robustní průměr a robustní směrodatná odchylka. Pro vyloučení odlehlých hodnot byl použit Hamplův test.

B. Určení vztažné hodnoty

Vztažná hodnota byla určena jako robustní průměr laboratoří po vyloučení odlehlých výsledků nebo u konduktivity byl pro určení vztažné hodnoty použit Hornův postup. Toto statistické zpracování vychází z pořádkové statistiky souboru a CSlab ho používá u souborů, kdy počet účastníků je menší nebo se rovná 8 (výsledek byl stejný jako vypočítaný robustní průměr).

C. Hodnocení výkonnosti

Každá laboratoř analyzovala vzorek dvakrát a dodala dva výsledky. Vyhodnocení bylo provedeno standardním způsobem s využitím z-skóre.

VYHODNOCENÍ PT

Vyhodnocení posouzení odběrových skupin (výsledky uvádíme z roku 2011)

Tabulka 1: Výsledky ukazatelů PT/S/SP/1/2011 - výsledky odběru 6. 6. 2011)

Provedení odběru	Počet OS / ∑OS	%
Odběrové zařízení (* jedna OS vzorkovala ze břehu i z mostu)		
tyč (odběr ze břehu)*	6 / 15	40
kbelík, válec (odběr z mostu)*	10 / 15	67
Seznámení pracovníků se SOP a jejich přiřazení k provádění postupů v terénu	15 / 15	100
Bezpečnost práce na místě - jištění, pomůcky	13 / 15	87
Měření na místě		
Vyhovující uložení měřicího zařízení během přepravy	15 / 15	100
Postup pro používání měřicího zařízení je k dispozici	13 / 15	87
Byl pracovník seznámen s postupem pro používání měřícího zařízení	13 / 15	87
Kontrolu kalibrace zařízení provádí		
- laboratoř *	10 / 15	67
** obě možnosti - měřicí skupina *	8 / 15	53
Kontrolu zařízení porovnávacími měřeními s dalším zařízením provádí		
laboratoř	10 / 15	67
měřicí skupina	5 / 15	33
Poslední kontrola kalibrace zařízení proběhla ve vyhovujícím termínu	15 / 15	100
Záložní elektrody jsou součástí výbavy OS	8 / 15	53
Náhradní materiál (např. baterky) je součástí výbavy OS	11 / 15	73
Údržba měřícího zařízení - vhodně dokumentovaná (deníky, karty)	15 / 15	100
Měření teploty vzorku při odběru		
sonda	1 / 15	10
teploměr digitální	13 / 15	80
rtuťový	1 / 15	10
Metrologická návaznost teploměrů		
kalibrovaný externě AKL	10 / 15	67
navázaný v laboratoři	5 / 15	33
Odběr pro mikrobiologický a biologický rozbor	6 / 15	40
- označení exspirace vzorkovnice	6 / 6	100
- použití vhodných vzorkovnic	6 / 6	100
- ponechání dostatečné vzduchové bubliny ve vzorkovnici	6 / 6	100
Odběr pro základní chemický rozbor	15 / 15	100
- plastové vzorkovnice	13 / 15	87
- vypláchnutí vzorkovnice	4 / 15	27
- plnění vzorkovnice přelivem	12 / 15	80
- fixace na místě odběru	0 / 15	0
Odběr pro kovy	10 / 15	67
- plastové vzorkovnice	10 / 10	100
- vypláchnutí vzorkovnice	0 / 15	0
- plnění s ponecháním vzduchové bubliny ve vzorkovnici	1 / 10	10
- fixace na místě odběru	5 / 10	50

Kontrola kvality odběru*		
Kontrolu kvality OS neprovádí	1 / 15	7
Využívané prvky kontroly kvality odběru		
- terénní duplicitní vzorky	13 / 14	93
- slepé transportní vzorky	7 / 14	50
- slepé vzorky (demi voda přelitá na místě)	5 / 14	36
- opakovaný odběr	5 / 14	36
- kontrolní vzorky (standard přelijí na místě)	0 / 14	0
* více možností		
Transport vzorků *		
Termobox s vložkami	12 / 15	80
Autochladnička	6 / 15	20
Chladící vůz	3 / 15	10
* více možností		
Registrace teploty během přepravy	11 / 15	73
- data logger	10 / 15	67

Technika odběru vzorků nebyla předepsána z důvodů zjištění případných rozdílů mezi jednotlivými skupinami.

V roce 2010 probíhal odběr ze břehu pomocí tyče, některé OS použily kbelík. V roce 2011 některé OS použily odběr pomocí vzorkovací tyče ze břehu, část potom klasický odběr z poloviny toku z mostu pomocí kbelíku nebo válce.

Laboratoře povodí jako optimální techniku odběru volí použití odběrového kbelíku (běžně používanou technikou vzorkování ze středu toku - odběr z mostu - pokud možno po jeho vypláchnutí s maximálním ohledem na dodržení podmínek odběru pro vzorky, ve kterých je prováděno mikrobiologické stanovení).

Vodárenské společnosti volí převážně odběr ze břehu s využitím odběrové tyče se vzorkovnicí umístěnou v držáku, odběr přibližně 30 cm pod hladinou.

Dokumentace odběru

Účastníci měli s sebou dokumentaci odběru v požadovaném rozsahu. V rámci posuzování dokumentace byla věnována pozornost aktualizaci SOP jednotlivých OS (zapracování aktuální verze norem Jakost vod – Odběr vzorků - ČSN ISO 5667-4 a ČSN ISO 5667-6), dále plánům vzorkování a záznamům o odběrech. Větší rozdíly byly konstatovány v úrovni zpracování plánů vzorkování a odběrových protokolů / záznamů o odběru. Celková úroveň dokumentace vzorkování surové a povrchové vody byla hodnocena jako velice dobrá.

V plánech vzorkování chyběly některé položky, v záznamech chyběla odpovědnost za naměřená data (odpovědnost za prováděná měření).

Měření na místě

V některých případech nebyl k dispozici postup pro používání měřícího zařízení či pracovník s ním nebyl seznámen. Co se týká náhradní elektrody, či jiných materiálu (gel pro kyslíkovou elektrodu, membránu pro kyslíkovou elektrodu či tlumivé roztoky atd.) asi 1/3 OS je neměla k dispozici, 2/3 měla náhradní baterii. V údržbě měřícího zařízení a její dokumentaci je ještě co zlepšovat.

Odběr pro mikrobiologické ukazatele (MB)

Všichni účastníci použili vhodné, označené vzorkovnice, které byly správně naplněny, bez vyplachování a s ponecháním odpovídajícího volného prostoru. Přímé odběry vzorkovacím zařízením (tyčí) s upevněním sterilní vzorkovnice byly provedeny v souladu s požadavky norem bez závad.

Za závadu lze považovat i odběr provedený ponořením vzorkovnice do kbelíku s odebranou vodou bez ochranných pomůcek, případně ještě po odebrání ukazatelů ZCHR.

U mikrobiologických odběrů je důležité i označení přípravy / expirace vzorkovnice.

	Počet OS / ∑OS	%
Odběr pro mikrobiologické ukazatele	6 / 15	40

Odběr pro stanovení biologických ukazatelů

Všichni účastníci použili vhodné, označené vzorkovnice, objemy odebíraných vzorků byl odpovídající. Odběry provedli všichni účastníci v souladu s požadavky norem bez závad.

	Počet OS / ∑OS	%
Odběr pro biologické ukazatele	3 / 15	20

Odběr pro základní chemický rozbor (ZCHR)

Všichni účastníci použili vhodné, označené vzorkovnice (plastové i skleněné), objemy odebíraných vzorků byly odpovídající. Odběry byly provedeny bez závad v souladu s požadavky norem ČSN EN ISO 5667-3, ČSN ISO 5667-4, ČSN ISO 5667-6 a případně s dispozicemi laboratoře.

	Počet OS / ∑OS	%
Odběr pro ZCHR	15 / 15	100

Odběr pro stanovení kovů

Odběr pro stanovení kovů do plastové vzorkovnice (případně i několika a dle dispozic laboratoře) provedly všechny OS v souladu s požadavky norem bez závad.

	Počet OS / ∑OS	%
Odběr pro stanovení kovů	10 / 15	67

Využívání prvků kontroly kvality

S výjimkou jedné jsou využívány prvky kontroly kvality všemi OS.

	Počet OS / ∑OS	%
Využívání prvků kontroly kvality	14 / 15	93

Transport vzorků

Účastníci měli k dispozici termoboxy s chladicími vložkami. Řada laboratoří je vybavena chladícími vozy, případně autochladničkami, registraci teploty během transportu vzorků neprováděly 4 OS.

Obratnost při práci a týmová spolupráce

Významná neobratnost při práci nebyla konstatována, týmová spolupráce byla ve většině případů velmi dobrá.

Výsledné hodnocení OS

Úspěšnost jednotlivých OS v PT/S/SP/1/20XX - Vzorkování surové a povrchové vody byla vyhodnocena na základě údajů uvedených v kontrolním listu a odběrovém protokolu / záznamu o odběru, který předala OS posuzovateli. V roce 2010 z 24 OS jen 9 OS uspělo bez připomínek, 15 OS uspělo s připomínkou (63%). V roce 2011 z 15 OS 3 OS uspěly s připomínkou (20%).

Vyhodnocení naměřených hodnot

Posuzování měřených hodnot na místě - terénní měření - statisticky nehodnoceny a byly uvedeny ve zprávě k PT.

Posouzení naměřených hodnot v laboratoři - statisticky zpracovány dle normy ČSN ISO 5725 a ISO 13528

Výsledky odběru 7. 6. 2011

Při zkoušení způsobilosti vzorkování surové a povrchové vody PT/S/SP/1/2011 bylo hodnoceno 22 ukazatelů. Nebyly hodnoceny ORP_M, ORP_H, zákal, barva pro malý počet dodaných výsledků a železo pro velký rozptyl výsledků. Výsledky ORP_M (241 mV) a ORP_H (448 mV) dodala jen jedna laboratoř, zákal dva účastníci - 12,4 ZF_n, 7,8 ZF_n, výsledky barvy nedodal žádný účastník.

Výsledky jednotlivých ukazatelů jsou uvedeny ve formě Z-skóre a průměrná úspěšnost laboratoří u hodnocených ukazatelů je 97 %.

Každá vzorkovací skupina obdržela certifikát o účasti na vzorkování s výčtem pracovníků, kteří se ho zúčastnili, a rozsahem odebíraných ukazatelů, zprávu k PT, protokol s výsledky a Osvědčení o účasti ve zkoušení způsobilosti s přílohou, kde jsou vyjmenované ukazatele, u kterých laboratoř dosáhla hodnot z-skóre <-2, +2> .

Nejistoty

Účastníci mohli do protokolu uvést vedle svého výsledků i rozšířenou nejistotu svého stanovení (jen u ukazatelů analyzovaných v laboratoři).

Průměrná rozšířená nejistota všech výsledků je 12,1 %. Uvedené hodnoty nejistot u jednotlivých ukazatelů tohoto porovnání ve srovnání s hodnotami nejistot získaných z chemických programů jsou podobné.

Výsledky odběru jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2: Výsledky ukazatelů PT/S/SP/1/2011 (výsledky odběru 7. 6. 2011)

Ukazatel		Průměr *	Robustní** průměr	Vztažná hodnota	Směrodatná odchylka*					Robustní ** odchylka	Min.	Max.	Toler. [%]
					opakov.	[%]	mezilab.	reprod.	[%]				
Teplota	[° C]	21,6	21,6	21,6	0	0	0,2	0,2	0,9	0,1	21,1	22,1	±0,2
Rozpuštěný kyslík	[mg/l]	6,1	6,2	6,2	0	0	1,1	1,1	18	0,5	3,7	8,7	±40,4
pH (ter. měření)	[-]	7,8	7,8	7,8	0	0	0,1	0,1	1,3	0,1	7,6	8	±0,2
Konduktivita	[mS/m]	77	77,1	77,1	0	0	1,8	1,8	2,3	0,3	69,4	84,8	±10
BSK-5	[mg/l]	2,6	2,6	2,6	0,1	3,8	0,6	0,6	23,1	0,6	1,6	3,6	±40
CHSK-Cr	[mg/l]	20,6	19,8	19,8	1,2	5,8	2,9	3,1	15	1,8	13,9	25,7	±30
CHSK-Mn	[mg/l]	5,17	5,15	5,15	0,16	3,1	0,73	0,75	14,5	0,74	3,61	6,7	±30
Celkový fosfor	[mg/l]	0,22	0,221	0,221	0,011	5	0,029	0,031	14,1	0,03	0,155	0,287	±30
Amoniakální dusík	[mg/l]	0,23	0,23	0,23	0,01	4,3	0,03	0,03	13	0,03	0,16	0,3	±30
Dusitanový dusík	[mg/l]	0,107	0,108	0,108	0,005	4,7	0,005	0,007	6,5	0,004	0,092	0,124	±15
Dusičnanový dusík	[mg/l]	2,07	2,09	2,09	0,03	1,4	0,11	0,11	5,3	0,13	1,78	2,4	±15
Celkový dusík	[mg/l]	3,25	3,23	3,23	0,06	1,8	0,28	0,29	8,9	0,28	2,58	3,88	±20
pH	[-]	7,9	7,9	7,9	0	0	0,1	0,1	1,3	0	7,7	8,1	±0,2
RL sušené	[mg/l]	543	540	540	10	1,8	25	27	5	22	459	621	±15
RL žíhané	[mg/l]	394	394	394	8	2	25	26	6,6	29	335	453	±15
Nerozp. látky sušené	[mg/l]	14	14	14	1	7,1	4	4	28,6	3	6	22	±60
Chloridy	[mg/l]	49,9	50,2	50,2	0,4	0,8	2,3	2,3	4,6	1,9	45,2	55,2	±10
Sírany	[mg/l]	160,2	160,3	160,3	0,9	0,6	8,4	8,4	5,2	7,2	136,3	184,3	±15
Vápník	[mg/l]	68	70	70	1	1,5	7	7	10,3	4	53	88	±25
Hořčík	[mg/l]	32,3	32,5	32,5	0,7	2,2	2,3	2,4	7,4	1,7	26	39	±20
Železo	[mg/l]	0,245	0,244	-	0,006	2,4	0,153	0,154	62,9	0,171	-	-	-
Mangan	[mg/l]	0,36	0,355	0,355	0,006	1,7	0,037	0,038	10,6	0,028	0,266	0,444	±25

* ČSN ISO 5725, Cochranův a Grubbsův test, ** ISO 13528, Hamplův test

Minimum, Maximum - hodnoty pro udělení Osvědčení

Tolerance v % - interval pro udělení Osvědčení o účasti ve zkoušení způsobilosti

ZÁVĚR

Účastníci PT/S/SP/1/20xx prokázali ve většině případů velmi dobrou odbornou připravenost, vhodné technické vybavení pro provedení odběru a vlastního měření na místě. Veškeré připomínky uvedených ve zprávách k PT slouží jako podklad pro zlepšení a sjednocení techniky odběrů povrchových vod a provádění měření na místě. V záznamech o odběru je nutné respektovat osobní odpovědnost za měření prováděná na místě, veškerá zařízení musí mít dohledatelné údaje o použití a jejich kalibraci / kontrole. Vzorky pro mikrobiologická vyšetření musí být odebírána v souladu s normou ČSN EN ISO 19458.

Porovnáním obou dvou odběrových profilů je zřejmá značná konzervativnost v technice odběrů jednotlivých skupin.

Odběrové místo na řece Jizeře bylo situováno nad jezem, což znejistilo odběrové skupiny používající kbelík. Jako alternativu volily odběr z náběhu hrany jezu. Bohužel i odběrové skupiny odebírající pomocí odběrové tyče často nerespektovaly protiproud vznikající v zálivu nad jezem. Optimální odběrová technika v tomto případě byla odběrová tyč, odběr ve vzdálenosti 2,5 m od břehu.

Odběrové místo na řece Dyji bylo možné volit dle situace na místě. U břehu pod mostem byl proud mířící směrem ke břehu, což pro reprezentativní odběr není optimální. Zde naopak byla optimální odběrová technika kbelíkem na středu toku s respektováním požadavků mikrobiologických odběrů. V tomto případě byly jednoznačně ovlivněny některé stanovované ukazatele. Výsledky odběru kbelíkem uprostřed toku (z mostu) ve srovnání s odběrem vzorkovací tyči ze břehu vykazují nižší hodnoty rozpuštěného kyslíku, rozpuštěných látek žíhaných a nerozpuštěných látek (PT/S/SP/1/2011).

Výběr reprezentativního odběrového místa lze tedy považovat za stěžejní, vlastní odběry i měření na místě byly poté již provedeny na velmi dobré úrovni.

LITERATURA

[1] ČSN EN ISO/IEC 17043 Posuzování shody – Všeobecné požadavky na zkoušení způsobilosti, ÚNMZ, 2010

[2] Nižnanská, A. – Kořínek, P. – Břízová, E.: Zprávy ze zkoušení způsobilosti CSlab s r.o. Praha PT/S/SP/1/2010 a PT/S/SP/1/2011.

ODBĚR SEDIMENTŮ Z POVRCHOVÝCH VOD TEKOUCÍCH A STOJATÝCH

Luboš Zelený

Povodí Vltavy, státní podnik
Vodohospodářská laboratoř Plzeň, Denisovo nábřeží 14, 304 20 Plzeň
zeleny@pvl.cz

PRINCIP ODBĚRU

Odběr vzorků sedimentů probíhá v souladu s ČSN EN ISO 5667-1 Návod pro návrh programu odběru vzorků a pro způsoby odběru vzorků, ČSN EN ISO 5667-3 Návod pro konzervaci vzorků a manipulaci s nimi, ČSN ISO 5667-12 Pokyny pro odběr vzorků dnových sedimentů, ČSN ISO 5667-14 Pokyny k zabezpečování jakosti odběru vzorků vod a manipulace s nimi a ČSN EN ISO 5667-15 Pokyny pro konzervaci a manipulaci se vzorky kalu a sedimentu. Odběr se provádí pomocí speciálního vzorkovacího zařízení do vhodných nádob, které neovlivňují vzorek při dalším zpracováním.

RUŠIVÉ VLIVY

Vzorkaři postupují standardně podle programu odběru vzorků a vhodného pracovního postupu pro odběr vzorků sedimentů, zároveň se řídí návody pro používaní vzorkovačů a odběrových zařízení. Během odběru vzorků se vzorkaři mohou setkat s celou řadou rušivých vlivů, které je nutné eliminovat, neboť by mohly zásadně ovlivnit výsledek analýzy. Vzorkař musí na místě rozhodnout o provedení odběru vzorku tak, aby byla dodržena reprezentativnost odebraného vzorku a všechny okolnosti, které mohou významně ovlivnit reprezentativnost odběru zaznamenat do odběrové průvodky.

Jedná ze zejména o tyto vlivy:

Nehomogenita - v podélném a příčném profilu

Působení tepla a světla na odebrané vzorky (ochrana odebraných vzorků před teplem a světlem)

Nestálost některých látek v čase

Pravidelnost - při pravidelném sledování je nutné navštěvovat stále stejné odběrové místo, avšak je třeba dbát na to, aby byla zachována reprezentativnost odběru

Kontaminace při odběru vzorku (vzorkovač, odběrové nádoby) - zdrojem kontaminace mohou být znečištěné pracovní pomůcky. Určitý vliv mohou mít tzv. paměťové efekty nádob, vliv předchozích vzorků apod. Všechny tyto rušivé vlivy je možno eliminovat použitím kvalitních mycích postupů a důsledným dodržováním čistoty při odběru.

NEJČASTĚJŠÍ ZAŘÍZENÍ K ODBĚRU VZORKŮ

Drapák Ekman-Birge – kovový drapák s lopatkovými čelistmi ovládanými ocelovými pery. Používá se pro odběr jemnějších sedimentů ve větších hloubkách, není vhodný pro zrnitější, popřípadě kamenitý materiál.

Drapák Van-Veen – ocelový drapák s čelistmi ovládanými lanem. Používá se pro odběr nehrubozrnných sedimentů.

Jádrový vzorkovač – trubice z organického skla, upevněná v zatíženém nosiči s odběrovou manžetou z kovu umožňuje odběr vzorků kompaktnějších (ne příliš hutných) materiálů se zachováním hloubkového rozložení jednotlivých vrstev. Používá se převážně pro odběr horních vrstev dnových sedimentů ve vodních nádržích. Uzavírá se na principu přísavné membrány na horní části zařízení.

Pístový vzorkovač (multisampler fy Eijkelkamp) – dokonalejší obdoba předchozího. Trubice z organického skla, upevněná v nosiči, s odběrovou hlavicí a pístem. Umožňuje odběr vzorků i jemnějších materiálů se zachováním hloubkového rozložení jednotlivých vrstev. Používá se převážně pro odběr dnových sedimentů ve vodních tocích a nádržích.

Rašelinový vzorkovač (fy Eijkelkamp) – zařízení určené pro odběr kompaktních materiálů. Vlastní zařízení se zarazí do dna a otočením o 180° se uzavře a získá se tak cca 50 cm dlouhý sloupec sedimentu.

Vzorkovač z nerezu na teleskopické tyči

Nerez nádoby, cedník, lopatka

Nádoba na homogenizaci odebraného materiálu

Odměrný válec

PE vzorkovnice, krabičky s pevným víčkem apod.

Ochranné pracovní pomůcky

ODBĚR VZORKŮ

Volba místa odběru – odběrové místo je definováno účelem odběru, a to s přihlédnutím k možnostem ukládání sedimentu, k reprezentativnosti vzorku, k dosažitelnosti lokality a k přístupnosti k samotnému toku.

Volba bodu odběru – závisí na geofyzikální povaze dnových oblastí. Nejprve se proto provede průzkum lokality, přičemž se vybere několik bodů, kde se sediment odebere.

Volba způsobu odběru – závisí na přístupu k toku, resp. na hloubce vody v toku.

ODBĚR VZORKŮ Z TEKOUCÍCH VOD

Odebírá se 1 – 2 cm vrstva dnových sedimentů, které se hromadí v plastové nádobě nebo nerezové nádobě. Je nutné dbát na to, aby se odebíral skutečný sediment, nikoliv stabilní materiál dna nebo materiál ze břehu. Pokud je možné, odebere se vzorek alespoň ze tří bodů. V mělkých vodách, kde lze sestoupit přímo do toku se použije malá lopatka. Je-li hloubka vody velká, použije se odběrák na teleskopické tyči (případně jiné vhodné vzorkovače), kterým se sediment seškrabuje ze dna.

Po odebrání potřebného množství sedimentu se veškerý materiál v nádobě důkladně promíchá. Vyberou se větší kameny, listy, větvičky apod. Poté se sediment rozdělí do příslušného počtu nádob (počet nádob je dán počtem paralelních opakování nebo rozdělením vzorku pro různá stanovení). Rozdělení vzorku musí proběhnout alikvotně (např. řídký podíl lze odměřovat válcem apod.).

ODBĚR VZORKŮ ZE STOJATÝCH VOD

Odběrový bod a typ odebíraného vzorku je závislý na účelu sledování. Převážně se odebírají prosté vzorky sedimentů z určeného hloubkového profilu. Pro velmi jemné sedimenty je nutno použít hloubkový vzorkovač. Běžně se používají i různé typy jádrových vzorkovačů. Povrchový sediment z hlubokých profilů je možno úspěšně odebrat zařízením Ekman-Birge a Van-Veen. Pro prostý i směsný vzorek se odebraný podíl (podíly) sedimentu nejdříve převede do plastové nebo nerezové nádoby (kbelíku, popř. lavoru), kde se provede důkladným promícháním homogenizace vzorku. Potřebný podíl se následně vloží do vhodné vzorkovnice. Reprezentativní podíl při větším množství sedimentu získáme jeho převedením do dělícího zařízení (tj. plastová vanička nebo jiná vhodná nádoba opatřená dělícím křížem). Do stejnoměrné vrstvy sedimentu umístíme dělící kříž a vhodnou lopatkou vyjmeme příslušný podíl, který následně vložíme do vzorkovnice.

ODBĚR VZORKŮ PRO STANOVENÍ TOL

Specifickým odběrem je odběr vzorků pro stanovení TOL. V rámci přípravy vzorkovnic na plánovaný odběr vzorků se vzorkovnice k odběru vzorků pro stanovení TOL berou z exsikátoru až bezprostředně před odjezdem vzorkovací skupiny do terénu, neboť při delším uskladnění vzorkovnic mimo exsikátor nebo při uskladnění vzorkovnic na jiném místě laboratoře vzniká nebezpečí kontaminace (především dichlormetanem). Každý odběr je prováděn replikátně do dvou vzorkovnic. Vzorkovnice (vialky) se otevírají až bezprostředně před odběrem vzorku. Odebírá se 3 – 5 g homogenního podílu vzorku (1 nerezová lžička). Vzorkovnice se následně dolije vodou (Millipore nebo Dobrá voda – stripovaná v laboratoři a dopravená na místo vzorkování ve vhodné uzavřené nádobě) a uzavře se plná, bez bubliny. Toho lze dosáhnout naplněním vialky tak, aby hladina tvořila u hrdla čepičku, a pak se opatrně uzavře. Vialky se vzorky se přepravují v elektrických chladících kabelách nebo v chladících kabelách opatřených chladícími vložkami.

KONZERVACE, DOPRAVA A UCHOVÁVÁNÍ VZORKŮ

Odebrané vzorky mohou být po odběru náchylné ke změnám jakosti v důsledku fyzikálních, chemických nebo biologických reakcí, které ve vzorku probíhají v době od odběru do jeho zpracování. Ihned po odběru jsou proto uloženy do transportních beden s termoizolační vrstvou, případně s využitím chladících vložek. Po příjezdu do laboratoře se odebrané vzorky mrazí.

OZNAČOVÁNÍ VZORKŮ A ZÁZNAMY

Každá odebraná vzorkovnice musí být jednoznačně označena. O každém odběru musí být vyplněna odběrová průvodka. Do průvodky pro odběr sedimentů je vhodné zapisovat následující údaje: datum a hodina odběru, způsob odběru, počet bodů odběru, popis sedimentu, počasí a stavu hladiny toku (vodní nádrže). Zápis se provádí na místě odběru po odběru vzorků.

ZABEZPEČENÍ KVALITY VZORKOVÁNÍ

Program odběru vzorků sedimentů je natolik specifický, že nelze vytvořit generální návrh na zabezpečení kvality. Paralelní odběr sedimentu (jiné místo, jiná osoba) není vhodný, resp. je nevyhodnotitelný. Zjišťování stupně mikrokontaminace vzorku při odběru a převozu je v tomto případě obvykle zbytečné, neboť je nevýznamné. Významnější vliv má jednak možná kontaminace vzorkovnice, jednak souhrn chemických, biochemických, fotochemických a biologických dějů, které probíhají ve vlastním odebraném vzorku. Tento vliv je minimalizován ochlazením, resp. zmražením vzorku a jeho uchováváním na místě bez přístupu světla. Účelem konzervace je uchovat integritu odebraného materiálu takovou, jaká byla v terénu, s ohledem na analyzované parametry. Pro postup konzervace nebo uchovávání nelze uvést žádná univerzální doporučení. Metoda konzervace používaná pro jednu skupinu parametrů může rušit analýzu dalších skupin parametrů.

V rámci zabezpečení kvality je možno aplikovat principy statistického vyhodnocování získaných výsledků stanovení. Odebraný vzorek se rozdělí na 2 až 4 alikvotní podíly. Do laboratorní databáze je vzorek zadán standardním způsobem, pod jedním číslem, s tím, že výsledky měření jsou zapsány po statistickém zpracování výsledků z jednotlivých podílů vzorků.Pokud to technické podmínky dovolí, provede se u každého vzorku.

BEZPEČNOST PRÁCE A OCHRANA ZDRAVÍ PRACOVNÍKŮ PŘI ODBĚRU VZORKŮ

Při odběru vzorků sedimentů je nutno dbát zvýšené opatrnosti, zajistit bezpečný přístup k místu odběru, dále pak je nutno chránit se před infekcí používáním předepsaných ochranných pracovních pomůcek. Vzorkaři jsou povinni dodržovat zásady bezpečnosti práce.

SLEDOVÁNÍ JAKOSTI VODY V PODÉLNÉM PROFILU ŘEKY LABE S VYUŽITÍM VRTULNÍKU

Jiří Medek

Povodí Labe, státní podnik, Víta Nejedlého 951, 500 03 Hradec Králové 3
E-mail: medek@pla.cz

Využití vrtulníku pro odběr vzorků povrchových vod patří mezi ojedinělé a v českých podmínkách jen vzácně používané způsoby monitoringu jakosti povrchových vod. Přesto máme s tímto postupem téměř dvacetileté zkušenosti, neboť v rámci česko-německého sledování Labe se tento přístup používal a používá od počátku 90.let až do současnosti (i když s určitými přestávkami). Přitom se vycházelo ze zkušeností německých laboratoří, zejména z oblasti slapového úseku Labe mezi Hamburkem a ústím Labe do Severního moře, kde se tento postup úspěšně využíval již koncem 80.let jak pro sledování kvality labské vody v úseku silně ovlivněném přílivem a odlivem, tak pro sledování kvality mořské vody v oblasti zaústění Labe.

V 90.letech se jednalo o pro řešení některých výzkumných projektů a vyhledávacích studií, které byly orientovány na průzkum znečištění řeky Labe jako např. projekt Zjišťování a hodnocení zatížení Labe škodlivými látkami (německý výzkumný úkol spolkového ministerstva vzdělávání a výzkumu BMBF 02-WT 9355/4), resp. řada projektů souborně označovaných ELBE 2000. V rámci těchto projektů byla opakovaně zmapována jakost vody v podélném profilu českého a německého úseku Labe, tento způsob odběru vzorků byl využit i při sledování jakosti vody ve významných labských přítocích, tj. při sledování podélného profilu Ohře, Jizery a Vltavy včetně některých jejich přítoků. Tímto postupem byl získán ojedinělý soubor dat, který verifikoval data pořízená v laboratořích v rámci rutinního monitoringu a který je vhodným způsobem doplnil o ukazatele, které nebyly běžně monitorovány (rozpuštěné formy kovů, vybrané organické polutanty apod.). To přispělo významným způsobem k důkladnému průzkumu kvality labské vody včetně dohledání problémových ukazatelů, které byly kritické z hlediska kvality, i k dohledání zdrojů těchto látek, resp. oblastí, které byly nejvíce zatíženy. Řada kritických ukazatelů byla následně zahrnuta do rutinních monitorovacích programů jak na národní, tak na mezinárodní úrovni.

V posledním desetiletí se potom sledování kvality labské vody v podélném profilu stalo víceméně rutinní součástí monitorovacích programů a probíhalo zpravidla 2x ročně, v letech 2010 a 2011 bylo potom dílčí částí Mezinárodního programu měření Labe, který každoročně schvaluje Mezinárodní komise pro ochranu Labe (MKOL). Ustálil se tým spolupracujících laboratoří, které mají dostatek zkušeností s tímto postupem a u kterých je záruka porovnatelnosti naměřených výsledků, ustálil se tým osob, které jsou zapojeny do vlastních odběrů a které mají tento postup zvládnutý a zažitý, ustálila se logistika celé akce. Pravidelně je sledován rutinní soubor ukazatelů:, mezi které patří základní ukazatele (pH, konduktivita, rozpuštěný kyslík, teplota vody, obsah nerozpuštěných látek), živiny (dusík celkový, amoniakální, dusičnanový a dusitanový, celkový a fosforečnanový fosfor), obsah organického uhlíku (TOC, DOC), biochemická spotřeba kyslíku po 7, 14 a 21 dnech, obsah chloridů a některé biologické indikátory kvality (sumární počty a druhové složení fytoplanktonu, chlorofyl-a, feofytin). Na určených profilech se dále sledují vybrané těžké kovy a metaloidy, vybrané organické polutanty (zejména výševroucí chlorované uhlovodíky typu HCH či DDT a jejich metabolity) či obsah křemičitanů. V rámci jednotlivých vrtulníkových kampaní se nepravidelně prováděl průzkum dalších rutinně nestanovovaných látek jako byly např. vybrané kovy a jejich formy, vybraná léčiva, vybrané pesticidní látky, dioxiny, chloralkany C10-C13 apod. Odběr vzorků pomocí vrtulníku byl operativně realizován i za extrémních povodňových stavů na Labi v rovce 2002 a 2006, kdy neexistoval v mnoha lokalitách alternativní způsob získání vzorků labské vody za extrémní situace.

Při všech těchto akcích se uplatnily výhody tohoto přístupu, což je zejména možnost velmi rychle odebrat velké množství vzorků z různých lokalit včetně možnosti velmi rychle tyto vzorky dopravit do laboratoře k nutné předúpravě či ke zpracování vzorků. Během rutinních vzorkovacích kampaní se během 3 dnů odebírá cca 110 až 120 vzorků na velkém území od ústí Labe do Severního moře až po jeho pramen v Krkonoších., přičemž tyto vzorky jsou zpracovávány v cca 3 až 4 vzájemně porovnatelných laboratořích.. Získají se tak data, která charakterizují aktuální a téměř současný stav jakosti vody v celém podélném profilu, tj. jakýsi časový snímek k danému okamžiku.U speciálních stanovení je potom možno vzorky z vybraných profilů velmi rychle transportovat do laboratoře, která toto speciální stanovení provede centrálně. Při odběrech je možné volit ideální reprezentativní odběrové místo (např. z proudnice) či téměř současně odebírat vzorky z obou břehů, neboť s výjimkou některých profilů na horním toku Labe se odběry provádějí přímo z vrtulníku, který je „zavěšen“ v nízké výšce nad vodní hladinou, tj. bez nutnosti přistání. Odběr vzorků se provádí pomocí vzorkovacího koše, který se spustí z vrtulníku tak, aby bylo možno odebrat vzorek vody těsně pod hladinou, přičemž je ověřeno, že tento vzorek není vrtulníkem ovlivněn (např. spalinami z motoru, či zvířením vodní hladiny). Odběrový koš, vyrobený z plastu, umožňuje osazení celou skupinou vzorkovnic, které respektují materiálové a objemové požadavky pro jednotlivá stanovení. Při jednom odběru (ponoření) lze současně naplnit pětilitrovou plastovou nádobu pro základní parametry a živiny, dvoulitrovou plastovou vzorkovnici pro kovy, dvoulitrovou skleněnou

vzorkovnici pro organiku, speciální skleněnou vzorkovnici pro stanovení kyslíku a další menší plastovou vzorkovnici např. pro stanovení křemičitanů.. I když práce s tímto vzorkovacím košem je poměrně náročná, neboť ruční vytažení vzorkovacího koše se všemi plnými vzorkovnicemi o celkovém objemu cca 10 litrů vody vyžaduje trochu zručnosti i fyzické síly, je tento postup velmi dobrý nejen pro kvalitu vzorkování, ale i pro svoji rychlost, takže zastávka vrtulníku při odběru je záležitostí pouze několika desítek vteřin až několika málo minut. Při velkém počtu odebraných vzorků to má svůj pozitivní dopad časový i ekonomický.

Některé parametry je možno měřit přímo ve vzorku na palubě vrtulníku těsně po odběru, vedle teploty se v minulosti měřilo i pH a konduktivita. Vzhledem k rychlému transportu vzorků do laboratoře se však od měření některých fyzikálně-chemických ukazatelů těsně po odběru upustilo. Ve vrtulníku existuje totiž zásadní prostorové omezení. Uložit do prostoru kabiny cca 15 odběrových sad vzorkovnic, mít možnost s nimi manipulovat, provádět základní měření apod. není zcela snadná záležitost, zejména v posledních letech, kdy se z ekonomických důvodů volí levnější, a tedy i prostorově menší vrtulníky.

Nevýhodou jsou potom náklady na let vrtulníku, což je záležitost finančně náročná. Zde je situace v posledních letech odlišná od 90. let. V rámci výzkumných projektů v 90.letech bylo prokázáno, že využití vrtulníku pro odběr a transport velkého počtu vzorků je výhodné nejen logisticky, ale i ekonomicky, neboť tento postup významně šetřil čas i náklady. Alternativním postupem by bylo vzorkování pomocí několika vzorkařských skupin, což by přinášelo značné personální a materiálové náklady na odběr a dopravu vzorků do laboratoře, o logistických komplikacích ani nemluvě. Přesunem tohoto postupu z výzkumných projektů do rutinního sledování se změnil úhel pohledu, úsporná opatření na německé straně vedla v posledních letech k nutnosti spolufinancovat či plně financovat náklady na let vrtulníku na českém úseku Labe českou stranou, což se zatím díky vstřícnému přístupu ministerstva životního prostředí s menšími či většími komplikacemi dařilo. Současná krizová situace ve financování monitoringu však pravděpodobně vyústí v zastavení tohoto programu a vyřazení sledování jakosti labské vody v podélném profilu z Mezinárodního programu měření MKOL.

Odběry vzorků v podélném profilu řeky Labe s využitím vrtulníku se v minulosti občas těšily velkému zájmu médií, objevily se seriózní, ale i bulvární články v tisku či reportáže v televizi. Zejména na německé straně znamenaly tyto akce velmi dobrou propagaci celé problematiky kvality povrchových vod a jejího sledování, resp. všeho, co se kolem čistoty Labe a pro její zlepšení dělá. Německá strana dokázala do kampaní zapojit i některé zástupce vlivných institucí či politiky, což přinášelo pozitivní efekty. Na české straně vyšly tyto snahy naprázdno, což je určitě škoda, neboť potenciál těchto kampaní pro média, politickou sféru či odbornou i laickou veřejnost byl a je velký.

Při závěrečném shrnutí je možno konstatovat, že zkušenosti s odběrem vzorků povrchových vod s využitím vrtulníku při vzorkovacích kampaních, kde je potřeba rychle odebrat a transportovat větší počty vzorků z plošně velkého území, jsou pozitivní. V současnosti je velmi dobře zvládnuta a propracována jak logistika takových vzorkařských kampaní, tak i vlastní technika odběru vzorků a manipulace s nimi včetně následného předání do laboratoří k analytickému zpracování. V rámci česko-německé spolupráce na Labi byly získány ojedinělé datové soubory, které doplnily či rozšířily data ze standardních monitorovacích programů. I přes současné ekonomické problémy s financováním monitoringu, které pravděpodobně povede k zastavení či přerušení těchto kampaní, lze doufat, že získané zkušenosti nebudou ztraceny a najdou uplatnění v budoucích projektech či rutinní činnosti..

První přistání německého vrtulníku u českého pramene Labe v Krkonoších, nedaleko od znaků významných českých a německých měst ležících na Labi, bylo počátkem 90.let přelomovou událostí z hlediska společného sledování a ochrany řeky Labe. Sledování jakosti vody v podélném profilu řeky Labe s využitím vrtulníku se v uplynulých dvaceti letech stalo dobrým příkladem spolupráce českých a německých vodohospodářských laboratoří při zlepšování kvality vody v Labi a symbolem společné péče o tuto řeku. Nezbývá než doufat, že tomu tak bude i v budoucnu, neboť řeka Labe jako významný evropský vodní tok si pozornost a péči zaslouží.

HODNOCENÍ KVALITY VODY NA HORNÍM TOKU LABE

Nina Strnadová, Jaroslav Andrle*, Zuzana Hladíková

Ústav technologie vody a prostředí, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
**Správa Krkonošského národního parku, Dobrovského 3, 543 01 Vrchlabí*
nina.strnadova@vscht.cz

ABSTRAKT

Práce se zabývá hodnocením kvality povrchové vody v první a druhé zóně Krkonošského národního parku. Je zaměřena na hodnocení kvality labské vody od jejího pramene až po Labský důl. Pozornost je věnována 21 odběrovým profilům, mezi které patří i hlavní přítoky řeky Labe – k levostranným patří Pudlava, Dvorský potok a Medvědí potok k pravostranným pak Pančava a Žlabský ručej. Monitoring všech odběrových míst z důvodu sněhové pokrývky zahrnuje duben až říjen 2010, některé profily byly hodnoceny až do prosince 2010. Odběry jsou prováděny měsíčně a pozornost je zaměřena především na hodnocení ukazatelů TOC, $CHSK_{Mn}$, hodnoty pH, konduktivity, některých vybraných kationtů a aniontů.

ÚVOD

Řeka Labe pramení na Labské louce v Krkonoších v nadmořské výšce 1386,6 m. Je tedy tokem prvního řádu a všechny její přítoky jsou řádu druhého. Řeka Labe není jen jednou z nejdelších evropských řek, ale je též významnou vodní cestou. Délka jejího toku činí 1154 km a plocha povodí je 144 055 km^2. Na území České republiky je koryto řeky dlouhé 364,4 km (v KRNAP 25 km). Labe tvoří jedinou spojnici českých vodních cest s evropskými. Pro regulaci vodní hladiny a ochranu před povodněmi je na toku vybudována řada vodních děl.

V rámci povodí Labe můžeme nalézt vzácnou flóru a faunu, stejně jako cenné geologicko-geomorfologické fenomény, na jejichž tvorbě se řeka významným způsobem po tisíciletí podílí. Důkazem tohoto tvrzení jsou vyhlášená velkoplošná chráněná území jako například Krkonošský národní park, CHKO České středohoří, CHKO Labské pískovce a Národní park České Švýcarsko. Díky výraznému zlepšení kvality labské vody po roce 1990, se dnes do Labe vrací mimo jiné lososi, vydry říční či bobři evropští.

CHARAKTERISTIKA HORNÍHO TOKU LABE

Od pramene Labe na Labské louce (1384 m n. m.) – viz obr. 1 teče Labe dále k Labské boudě a odtud přes Labskou rokli Labským vodopádem do Labského dolu. V Labském dole tok značně meandruje a před Špindlerovým Mlýnem se v nadmořské výšce 775 m n. m. stéká s Bílým Labem. Povodí horního Labe, stejně jako převážná část Krkonoš, je součástí krkonošsko – jizerského krystalinika.

Labský důl je druhé největší a nejvýraznější údolí nejen Krkonoš, ale celého Českého Masivu, které poskytuje jeden z mála dokladů o působení horského ledovce na území České republiky. Na dně Labského dolu byla na základě posledních výzkumů sedimentů dokázána dřívější přítomnost ledovcového jezera. Nejvyšším bodem Labského dolu je Vysoké kolo (1505 m. n. m.), čtvrtý nejvyšší vrchol Krkonoš i České republiky, nejníže leží Dívčí Lávky (775 m n.m).

Labský vodopád patří k vodopádům skandinávského typu, které vznikají v tektonicky vyzdvižených plošinách a údolích vyhloubených ledovci – viz obr. 2. Dno Labské rokle pod vodopádem je téměř souvisle v celé délce vyplněno žulovými balvany a bloky, vzniklými rychlou erozí a mrazovou destrukcí skalních stěn. Od ostatních Krkonošských vodopádů se liší hlavně tím, že se nenachází na hraně karu, ale spadá do hluboké a skalnaté Labské rokle.

Pančavský vodopád padá z výšky 148 m (z Pančavského rašeliniště) do Labského dolu. Jedná se o nejdelší vodopád Krkonoš.

Pudlavský vodopád je 122 m dlouhý a padá do Labského dolu směrem od Vysokého kola.

Jak bylo výše uvedeno, povodí horního toku Labe, stejně jako převážná část Krkonoš, je součástí krkonošsko-jizerského krystalinika. Tvoří prvohorní jádro hor. Krkonoše prošly řadou morfologických změn, zejména silným vrásněními. Z nich nejvýznamnější alpinské vrásnění v třetihorách způsobilo tektonický pohyb a pomalé vyzdvižení pohoří. Tím získaly Krkonoše v hrubých rysech dnešní podobu. Na dalším vývoji se podílela ve čtvrtohorách změna klimatu, došlo k velkému ochlazení a během ledových dob se dotvořila stávající podoba Krkonoš. Toto nejvyšší pohoří České republiky zaujímá plochu 631 km^2 a tvoří přirozenou státní hranici mezi Českou a Polskou republikou. Česká část Krkonoš zaujímá dvě třetiny z celkové plochy. Jejich dominantou je hora Sněžka (1602 m. n. m.), nejvyšší hora České Republiky.

Podloží sledovaného povodí je tvořeno převážně žulou.

Obr. 1 Pramen Labe

Obr. 2 Labský vodopád

Klimatická charakteristika

Teplotní charakteristika

Mezi nejdůležitější charakteristické faktory klimatu Krkonoš patří orientace svahů, která způsobuje výrazné rozdíly teplot i na relativně malé vzdálenosti a to z důvodu dopadajícího slunečního záření či stékáním studeného vzduchu do údolí. Orientace svahů ovlivňuje také vznik teplotních inverzí, které jsou zvláště časté v období zimy a podzimu. Neopomenutelným faktorem je též vertikální teplotní stratifikace, která se podílí na úbytku tlaku s výškou a tedy rychlejším proudění vzduchu. V zimních podmínkách je vzduch stabilněji zvrstven a jeho teplota s rostoucí nadmořskou výškou klesá v porovnání s letními měsíci pomaleji. V dlouhodobém průměru tedy teplota vzduchu klesá o 0,6 °C na 100 metrů nadmořské výšky.

Srážky a sněhová pokrývka

Sněhové a dešťové srážky velmi ovlivňují stav a kvalitu vody v krkonošských tocích. Převážná část horního povodí Labe je typická velmi krátkým, chladným létem a vlhkou zimou s velmi dlouhým trváním sněhové pokrývky. Srážková činnost činní v průměru 800 – 1400 mm ročního úhrnu. Nejvíce srážek padá obvykle v červenci, srpnu a prosinci, nejméně pak v dubnu, září či říjnu. Sněhová pokrývka průměrně pokrývá hory osm měsíců v roce (od října do května) a je významně závislá na nadmořské výšce. Prostorové rozložení sněhové pokrývky na sledovaném toku je většinou souvislé od ledna do března. Významným faktorem je též lavinová aktivita. Mohutnost a četnost lavin je závislá na průběhu počasí během zimního období a odvíjí se též od charakteru a kvality sněhové pokrývky.

Větrné poměry

Větrné poměry jsou vzhledem k velké členitosti pohoří složité. Převládají jihozápadní až severozápadní větry. Na Pančavské louce je to především západní proudění, které je vlivem tvaru území rozděleno do tří směrů – na Sněžné jámy, Kotelní jámy a do Labského dolu. Nejvýraznější je tento proudící systém v zimním období a má tak značný vliv na sněhovou pokrývku. Náhorní plošina okolo Labské a Luční boudy spolu s vrcholem Sněžky patří mezi největrnější místa Krkonoš. Specifiku větrných poměrů Krkonoš popsal Jeník [1] ve své teorii anemo-orografických systémů.

Hydrografická charakteristika

Sledovaná část horního toku je prvním dílčím úsekem celého Labe. Umělé vodní nádrže ani člověkem upravená koryta toku se v oblasti nevyskytují. Hlavní rysy říční sítě byly dány ve třetihorách a čtvrtohorách, kdy si Labe našlo cestu středem úzkého Labského dolu ve tvaru „U“. Tvar povodí má zásadní vliv na odtok srážek z povodí a zároveň předurčuje tvar povodňové vlny. Ta je velmi často patrná v době jarního tání, kdy se tání v horních částech toku výrazně projevuje na denních průtocích v nižších polohách. Celý střední a spodní tok Labe lze

označit jako povodí stromového typu, jelikož přítoky do Labe jsou poměrně pravidelně rozloženy po celé délce toku. Naopak horní část povodí je spíše vějířovitého typu, což je dáno profilem oblasti, která vykazuje poměrně vysokou hustotu říční sítě. Tato skutečnost je dána nejen plochým a bažinatým terénem Pančavské a Labské louky, ale také rozvětvením padajících toků.

Zvláště prudký zlom mají pravostranné přítoky, kde nejvýznamnějšími je Pančava (dosahuje obdobných průtoků jako Labe) a Žlabský ručej.

Levostranné přítoky, kterými jsou Pudlava, Dvorský potok a Medvědí potok, překonávají schod údolí z výšky okolo 1000 m n. m.

Zájmové území, které je předmětem monitoringu kvality povrchové vody horního toku Labe, odpovídá části toku Labe, povodí se nachází v západní části Krkonoš v blízkosti státních hranic s Polskem.

Místním správcem tohoto území je Krkonošský národní park. Pro své mimořádné přírodní bohatství bylo území Krkonoš vyhlášeno 17. 5. 1963 národním parkem.

ODBĚROVÉ PROFILY

Pramen Labe

Řeka Labe pramení v Krkonoších v nadmořské výšce 1384 m, v místě zvaném Labská louka. Celková délka toku činí 1 154 km, z čehož na území České republiky protéká 364,4 km. V blízkosti pramene Labe (obr. 1) se nachází Labská bouda, pod níž Labe vtéká do 40 m vysokého vodopádu.

Pančava

Pančava je prvním významným přítokem Labe z pravé strany. Pramení v rašeliništích Pančavské louky. Před soutokem s Labem stéká do Labského dolu Pančavským vodopádem, který představuje nejvyšší český vodopád se svojí výškou 148 – 162 m. Pančavský vodopád patří k našim nejnavštěvovanějším vodopádům. Jeho průtok byl v minulosti uměle navyšován pro vyšší zájem turistů.

Pudlava

Pudlava je prvním jmenovitým levostranným přítokem Labe směrem od pramene a nachází se ve střední části Labského dolu, do kterého stéká mělkým tzv. Pudlavským dolem z jižních svahů Vysokého kola, kde začíná soustava Pudlavského vodopádu. Celá soustava tvoří 122m vysoký vodopád. Hlavní, nejstrmější část vodopádu je považována za Pudlavský vodopád o výšce 30m.

Medvědí potok

Medvědí potok je posledním levostranným přítokem v naší zájmové oblasti. Za jeho soutokem leží poslední odběrové místo - Labský důl

Předmětem hodnocení kvality vody byly nejen výše vyjmenované významné profily, či přítoky Labe, ale i jiné menší toky, které se v této nádherné části Krkonoš nacházejí.

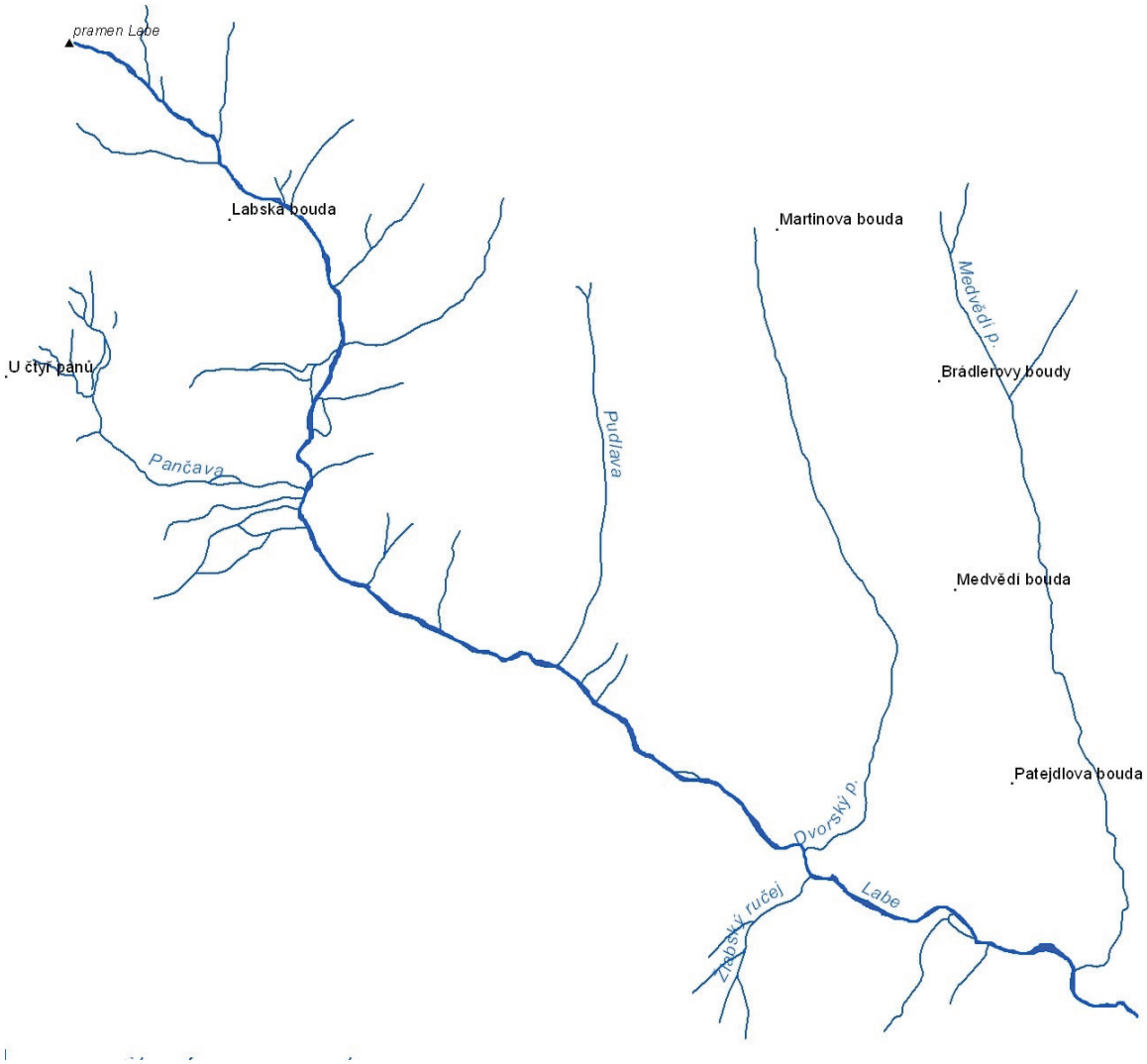
Dále uváděná data představují naměřené hodnoty z vybraných sledovaných profilů této oblasti horního toku Labe a jejich číselné označení, včetně všech sledovaných i malých, a co do vodnosti nevýznamných potůčků, je uvedeno v tabulce 1. Na obr. 3 je pak pro názornost celého monitorovacího území horního toku Labe uvedena jednoduchá mapa. Protože cílem práce bylo posoudit nejen kvalitu vody na horním úseku řeky Labe, ale i kvalitu vody přítoků, byla pozornost také zaměřena na významné pravostranné a levostranné přítoky, jak je uvedeno výše. Za tím účelem byla sledována kvalita vody 10 m nad soutokem a 10 m pod soutokem Labe a jednotlivých přítoků. Ze znalosti těchto informací se nabízí možnost hodnocení hmotnostní bilance pro každý ukazatel v daném odběrovém profilu. Protože však z různých důvodů nebyly současně měřeny aktuální průtoky vody, které jsou pro vyhodnocení hmotnostní bilance nezbytné, je třeba na uvedená data pohlížet pouze ve vztahu k hodnocení kvality vody bodových vzorků a ze změny jednotlivých ukazatelů usuzovat pouze na změnu kvality vody v daném odběrovém místě způsobenou tím kterým přítokem.

Při hodnocení kvality vody byla pozornost zaměřena především na obsah organických látek a iontově rozpuštěných látek. V celém rozsahu byly sledovány hodnoty ukazatelů: pH, konduktivity, amonných iontů, síranů, dusičnanů a chloridů, dále pak TOC (celkový organický uhlík), a hodnota $CHSK_{Mn}$.

Předkládaná data reprezentují období květen až říjen 2010, období, kdy odběrové profily byly přístupny. V listopadu a v prosinci již na některých místech, z důvodu sněhové pokrývky, nebylo možné vzorky vod odebrat.

Tab. 1. Odběrová místa

1	Labe pramen	19	Dvorský potok nad soutokem
2	pravostranný přítok nad Labskou boudou, vodní zdroj	20	Dvorský potok
3	Labská lávka	21	Dvorský potok pod soutokem
9	Pančava nad soutokem	22	Žlabský Ručej nad soutokem
10	Pančava	23	Žlabský Ručej
11	Pančava pod soutokem	24	Žlabský Ručej pod soutokem
12	levostranný přítok	25	pravostranný přítok
13	levostranný přítok	26	Medvědí potok "U staré pily"
14	Pudlava nad soutokem	27	Medvědí potok
15	Pudlava	28	Medvědí potok pod soutokem – Labský důl
16	Pudlava pod soutokem		

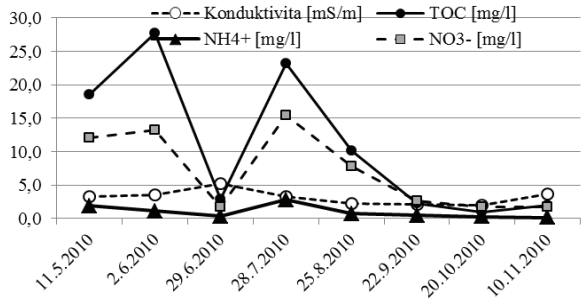


Obr. 3 Mapa sledované oblasti

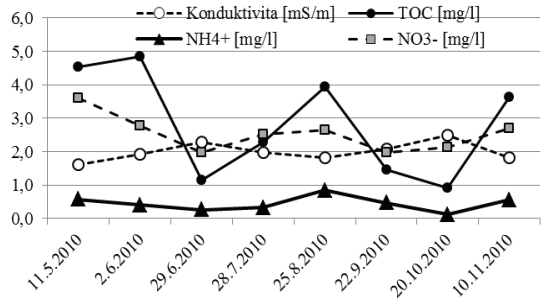
VÝSLEDKY MONITORINGU HORNÍHO TOKU LABE

Mezi nejvýznamnější přítoky na horním toku Labe patří pravostranný přítok Pančava, levostranný přítok Pudlava, Dvorský a Medvědí potok. Pozornost byla věnována i pravostrannému menšímu přítoku Žlabskému ručeji. Co do vodnosti je nejvýznamnějším přítokem řeka Pančava (profil 10) a Pudlava (profil 15). Jak je zřejmé z tabulky 1, prvním odběrovým místem byl pramen Labe (1) a posledním pak byl profil pod soutokem Labe s Medvědím potokem, označovaný jako Labský důl (28). V obrázcích pak mnohde nesouhlasí data posledních odběrů, protože některá místa již z důvodu sněhové pokrývky nebyla přístupná.

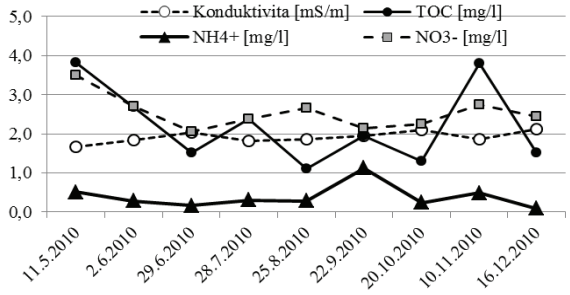
Na obrázcích 4 až 7 je uvedena kvalita vody formou vybraných ukazatelů pro výše zmíněné 4 profily.



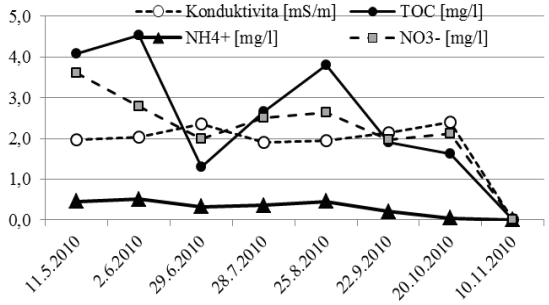
Obr. 4 Charakteristika profilu Labe pramen - 2010



Obr. 6 Charakteristika toku Pančavy - 2010



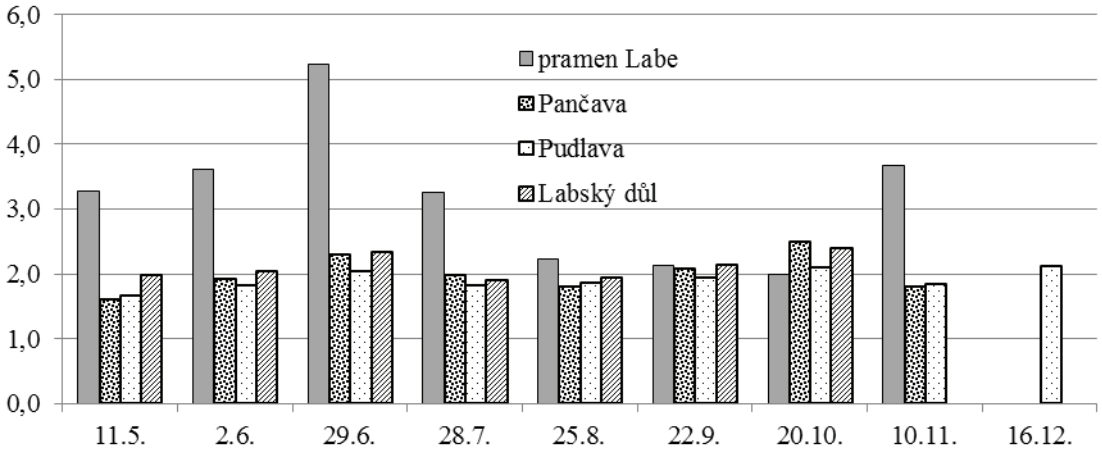
Obr. 7 Charakteristika toku Pudlavy - 2010



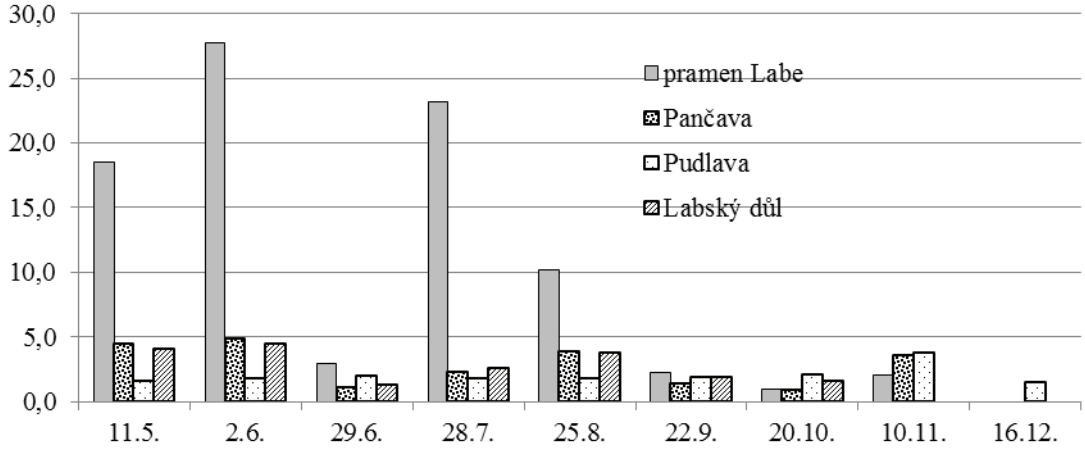
Obr. 5 Charakteristika profilu Labský důl – posledně sledovaný profil Labe - 2010

Nízké hodnoty především TOC ve vzorcích odebraných v červnu 2010 jsou důsledkem déletrvajících dešťů. Z obrázku 4 je zřejmá poměrně vysoká hodnota TOC ve vzorku „pramen Labe“, která vypovídá o významném znečištění vody humínovými látkami.

Časový průběh charakteristických ukazatelů – konduktivity a obsahu organického uhlíku (TOC) pro výše uvedená hodnotící místa je zřejmý z obr. 8 a 9.



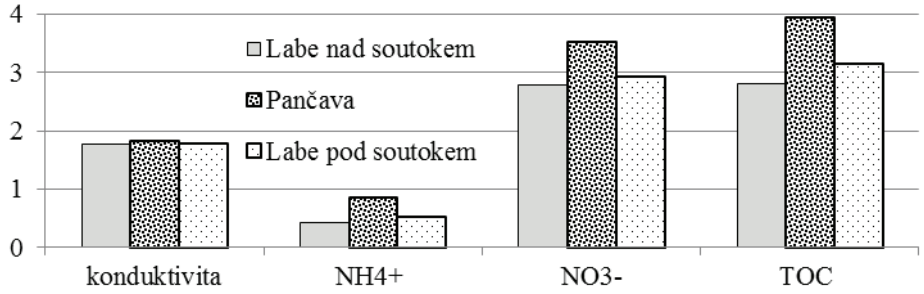
Obr. 8 Hodnoty konduktivity (mS/m) na vybraných profilech – Labe 2010



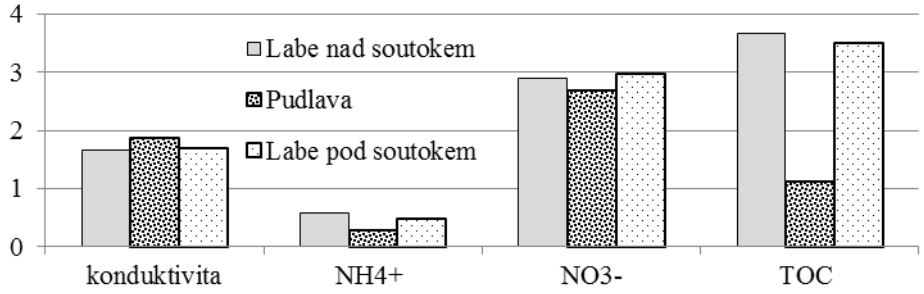
Obr. 9 Hodnoty TOC (mg/l) na vybraných profilech – Labe 2010

Z obrázku 9 je zřejmá vysoká hodnota TOC u pramene Labe, a to především v jarních a letních měsících. Vzorky odebrané u pramene Labe mají i vyšší konduktivitu, na které má svůj podíl zvýšená koncentrace dusičnanů.

hledem k tomu, že cílem práce bylo nejen zmapovat horní tok Labe, ale i samotné ovlivnění kvality labské vody po zaústění všech přítoků, je na obr. 10 a 11 znázorněna kvalita labské vody nad soutokem a pod soutokem významných přítoků s Labem, doplněná i o samotný přítok, v daném případě říčky Pančavy a Pudlavy. Je nutné poznamenat, že odběr vzorku nad a pod soutokem byl prováděn ve vzdálenosti cca 10 – 15 m od místa zaústění a jednotky pro uvedené ukazatele korespondují s jednotkami ve výše uvedených obrázcích. Data jsou zpracována ze srpnového odběru 25.8.2010.



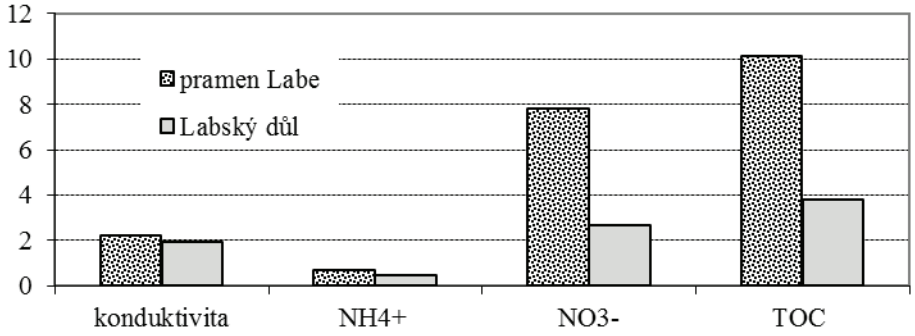
Obr. 10 Odběrový profil Pančava – 25.8.2010



Obr. 11 Odběrový profil Pudlava – 25.8.2010

Oba uvedené obrázky 10 a 11 znázorňují změnu kvality vody nad a pod zaústěním řeky Pančavy a Pudlavy. Je možné konstatovat, že oba toky svojí kvalitou způsobují změnu hodnoty vybraných ukazatelů po jejich zaústění. Řeka Pančava způsobuje 25.8.2010 cca 14% navýšení hodnoty TOC a 7 % navýšení koncentrace dusičnanů. K mírnému cca 5 % navýšení dochází i v případě konduktivity a koncentrace amoniakálního dusíku je téměř vyrovnaná. Řeka Pudlava se naopak svoji nízkou koncentrací TOC a amoniakálního dusíku podílí v daném dni na snížení hodnoty TOC a amoniakálního dusíku, ostatní uvedené ukazatele představují max. 5 % navýšení.

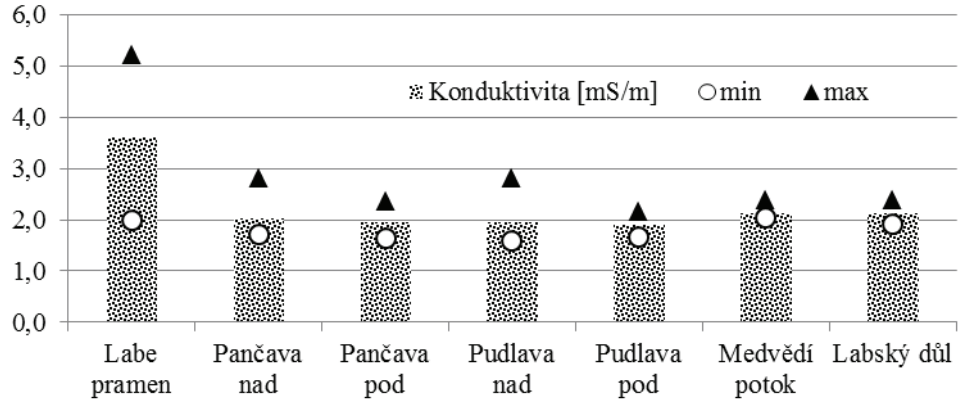
Zajímavá je změna průměrných hodnot vybraných ukazatelů za celé sledované období v nejvýše a nejníže položeném odběrovém místě, resp. u pramene Labe (1) a v posledním odběrovém místě v Labském dole (28) za soutokem Labe s Medvědím potokem – obr. 12.



Obr. 12 Porovnání kvality odběrového místa 1 a 28 – 25.8.2010

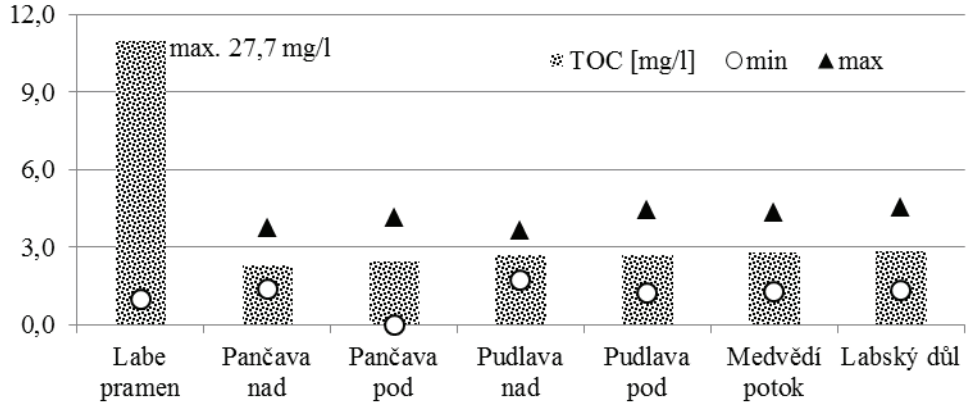
Z obrázku je zřejmé, že v Labském dole je cca 2,5 x nižší hodnota TOC a koncentrace dusičnanů, koncentrace amoniakálního dusíku a hodnota konduktivity je o cca 10 % nižší. Výše uvedené porovnání významně souvisí s vodností toku, resp. průtokem vody, který však měřen nebyl.

Významné je i vyjádření průměrných, minimálních a maximálních hodnot sledovaných ukazatelů na sledovaném horním úseku řeky Labe. Na obrázcích 13 a 14 jsou pro v souladu s výše uváděnými výsledky uvedeny charakteristické statistické hodnoty pro konduktivitu a TOC.

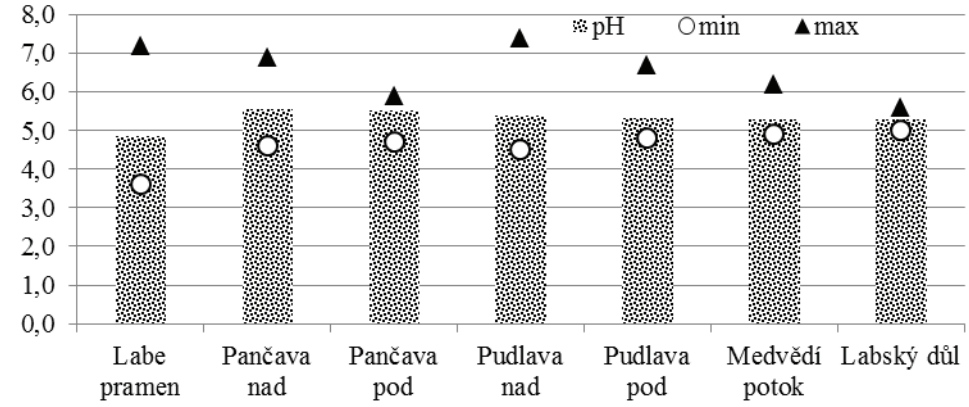


Obr. 13 Průměrné, minimální a maximální hodnoty konduktivity – podélný profil horního toku Labe

Hodnoty uvedené na obr. 14 jednoznačně ukazují, že průměrná koncentrace TOC se po zaústění největších přítoků do Labe významně nemění a dosahuje hodnoty cca 2,5 mg/l. Odlišná však je závislost pro konduktivitu, kde po zaústění posledního přítoku do Labe, Medvědího potoka, dochází k nepatrnému navýšení její hodnoty, cca o 10%, jak je zřejmé z obr. 13. Zajímavé je i vyjádření hodnot základních statistických charakteristik pro hodnotu pH – obr. 15, která směrem po toku představuje větší rozdíly mezi minimálními a maximálními hodnotami, nicméně v posledně sledovaném profilu 28 je rozdíl za celé sledované období minimální, představuje cca 0,6 jednotky pH. Průměrná hodnota pH je od profilu zaústění Pudlavy téměř stejná.



Obr. 14 Průměrné, minimální a maximální hodnoty TOC – podélný profil horního toku Labe



Obr. 15 Průměrné, minimální a maximální hodnoty pH – podélný profil horního toku Labe

ZÁVĚR

Vzhledem k tomu, že se jedná o velký soubor experimentálních dat, jsou v článku zpracovány pouze pro některé vybrané ukazatele. Domníváme se, že reprezentativními ukazateli jsou konduktivita a obsah organických látek vyjádřený hodnotou TOC. Na základě zpracovaných dat, především formou obrázků je možné konstatovat:

- Jedná se o první práci, která poměrně podrobně hodnotí chemickou charakteristiku horního toku Labe.
- Ukazatel, který doznává největší změny na úseku pramen Labe - Labský důl je koncentrace celkového organického uhlíku TOC. Vyjádřeno průměrnou hodnotou za sledované období květen až říjen 2010 se jedná o snížení o 80 %.
- Nejvýznamnější přítoky na horním toku Labe, Pančava a Pudlava, se podílí na navýšení průměrné hodnoty TOC cca z 8%.
- Nejnižší „znečištění“ ze sledovaných přítoků přináší Dvorský potok a Žlabský ručej.

PODĚKOVÁNÍ

Příspěvek byl vypracován s podporou projektu VZ MSM 6046137308.

LITERATURA

[1] Jeník J.: Větrné poměry v Krkonoších. Acta Mus. Reginaehrad., ser. A – Sci. Nat. 2: 73-103, Hradec Králové, 1959.

MOŽNOSTI LOGICKÉ KONTROLY VÝSLEDKŮ ROZBORU VODY

Jan Vilímec

Pražské vodovody a kanalizace a.s, Ke Kablu 971, 102 00 Praha 10,
e-mail: jan.vilimec@pvk.cz

ÚVOD

V každé laboratoři se výsledky před jejich vydáním formou protokolu či elektronickým přenosem dat jistě důkladně kontrolují. S narůstající velikostí laboratoře, počtem vzorků analyzovaných ukazatelů a tedy vydávaných výsledků se obvykle objevují určité problémy, jak v postupně narůstajícím počtu čísel uhlídat běžné překlepy při zápisu do laboratorního informačního systému (LIS), záměny výsledků mezi vzorky a v neposlední řadě i chybné výsledky. Pokud bychom uvažovali rozumnou chybovost při zápisu výsledků 1 %, vychází při počtu 100 000 výsledků za rok 1 000 špatných výsledků, pokud by byla chybovost 0,1 %, zůstává ještě stále 100 špatných výsledků a to může znamenat 100 špatných protokolů o zkoušce.

Pochopitelně je rozdíl, pokud pracovník laboratoře během směny zpracuje 10 vzorků s 10 výsledky nebo obsluhuje výkonný analytický přístroj, který mu umožní za den analyzovat 50 a více vzorků a v každém stanovit 5 ukazatelů, což již přináší zápis 250 čísel (a skutečnost může být mnohem vyšší). Při takovém počtu je pravděpodobnost překlepu vysoká a i přes sebevětší pečlivost k němu dojít může. Laboratoře přijímají různá opatření, jako jsou opakované kontroly zapsaných výsledků nebo důraz na pečlivost při zápisu výsledků. Moderní přístroje produkující velké počty výsledků dnes již umožňují přímý export výsledků z přístroje do LIS, což sice odstraňuje lidský faktor z přepisu výsledků, na druhé straně umožňuje při nedostatečné pozornosti zavlečení řady nesprávných výsledků do LIS třeba při mírném vychýleném nastavení přístroje. Někdy je ovšem také nutné zhodnotit reálnost naměřených výsledků ve vztahu ke zjištěnému složení vzorku a zde žádná automatizace možná není.

Právě používání LIS umožňuje provádění automatické či poloautomatické kontroly zapsaných výsledků ve vztahu k výsledkům jiných ukazatelů, ke vzorku jako celku nebo k typu vzorku. Patří sem kontrola prostřednictvím výpočtu celkové mineralizace, kontrola jednoduchých vztahů mezi ukazateli i uplatnění speciálních kritérií pro hodnoty ukazatelů pro určitý typ vzorků. Poslední možností individuální kontroly výsledků u vzorku je pak hodnocení složitějších vztahů mezi ukazateli, kde je potřebný expertní přístup a nasazení LIS by bylo značně obtížné.

1) KONTROLA ÚPLNÝCH ROZBORŮ VOD - CELKOVÁ MINERALIZACE

Jednoduchý způsob kontroly výsledků rozboru vody představuje výpočet celkové mineralizace dle normy ČSN 75 7358 [1]. Tuto kontrolu lze však provádět jen u tzv. úplných rozborů vzorků pitných, podzemních nebo povrchových vod, kde se stanoví prakticky všechny makrosložky přítomné ve formě kationtů a aniontů. Jedná se především o chloridy, sírany, dusičnany, hydrogenuhličitany, fosforečnany, vápník, hořčík, sodík a draslík. Často je třeba také zahrnout i další složky, jako jsou dusitany, amonné ionty, fluoridy, železo a mangan. Platí podmínka, že součet látkových koncentrací aniontů vynásobených příslušným nábojovým číslem se musí rovnat součtu látkových koncentrací kationtů vynásobených opět příslušným nábojovým číslem, maximální přípustná odchylka dle normy je 5 %. Pro výpočet se použije vztah:

$$(cz)_{anionty} = (cz)_{kationty} =$$
$$= c(Cl^-) + 2\,c(SO_4^{2-}) + c(NO_3^-) + c(HCO_3^-) + 3c(PO_4^{3-}) + \ldots =$$
$$= 2c(Ca^{2+}) + 2c(Mg^{2+}) + c(Na^+) + c(K^+) + c(NH_4^+) + \ldots.$$

Pokud se při kontrole zjistí nesplnění přípustné odchylky, je nutné prověřit jednotlivé výsledky, případně dohledat další možné makrosložky, které se ve většině běžných vzorků nevyskytují (např. sloučeniny křemíku či bóru u podzemních vod).

Velkou výhodu pak představuje možnost provádění této kontroly v laboratorním informačním systému (LIS) včetně upozornění na nesplnění stanovené podmínky elektroneutrality. Softwarová realizace pak samozřejmě záleží na schopnostech autorů příslušného LIS.

Specifický případ představují málo mineralizované vody, jako jsou například srážkové vody. Vzhledem k tomu, že tam se hodnoty celkových látkových koncentrací kationtů či aniontů pohybují často kolem 0,5 mmol/l, mohou se zde uplatnit při pH 4 i koncentrace vodíkových iontů (ve skutečnosti samozřejmě iontu H_3O^+). V takovém případě je nutné do výpočtového vztahu doplnit na straně kationtů i koncentraci H^+ vypočtenou z pH. Je pochopitelné, že u těchto nízkých koncentrací jsou i chyby analytických metod vyšší a podmínku 5 % je třeba

vhodně rozšířit. Značné chyby zde mohou vnášet výsledky stanovení KNK-4,5, které jsou pro srážkové vody s hodnotou pH <5 velmi nízké a jejich stanovení je zatíženo vysokou nejistotou. Pro vzorky srážkových vod lze také v komerčním LIS doplnit výpočetní vztah celkové mineralizace o přepočet pH na látkovou koncentraci H^+ a tu zahrnout do výpočtu.

2) JEDNODUCHÁ LOGICKÁ KONTROLA VÝSLEDKŮ

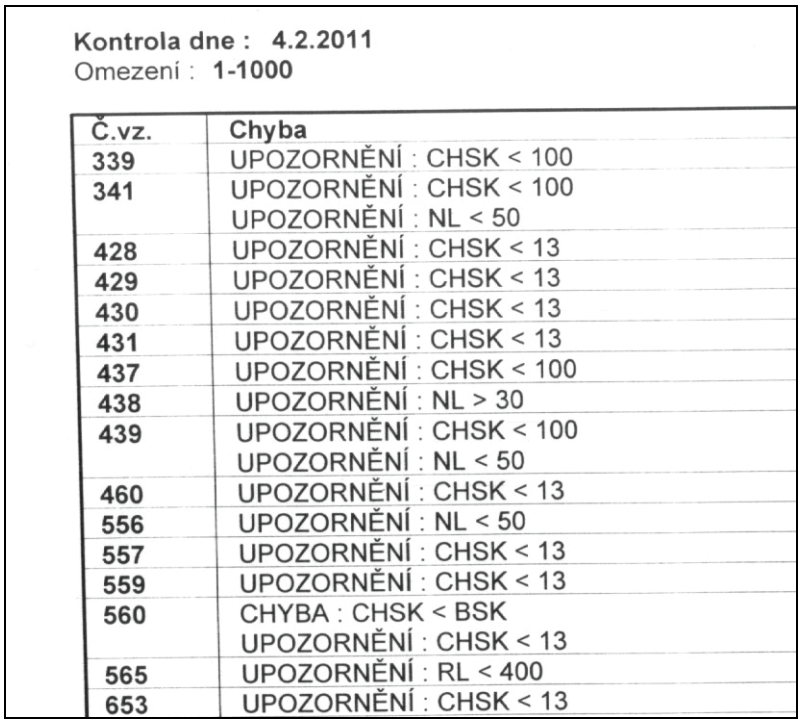
Tyto kontroly jsou založeny na jednoduchých porovnáváních typu A > B (lze i A≥ B, pro zjednodušení zde uvádíme jen znak >). Tyto rychlé kontroly slouží hlavně k opravě překlepů vzniklých při zápisu výsledků do LIS, někdy se takto může objevit i chybný výsledek a vzhledem k rychlosti kontroly je možné analýzu zopakovat. Stručný přehled základních logických vztahů je uveden v tabulce 1, je samozřejmě možné jich nalézt ještě více a libovolně aplikovat. Aplikace těchto vztahů do LIS je mnohem jednodušší než výpočty celkové mineralizace a neměla by činit žádné problémy.

Tabulka 1. Přehled vztahů uplatňovaných při kontroly logiky výsledků

Srovnávací vztah
CHSKCr > BSK
CHSKCr > TOC
Pcelk > P-PO_4
Kjeldahl. N >N-NH_4
Nc > Nanorg.
EL > NEL (resp. Tuky a oleje > C_{10}-C_{40})
RL >RAS
NL > RL
VLsuš. > NL

3) MOŽNOSTI LOGICKÉ KONTROLY VÝSLEDKŮ U ODPADNÍCH VOD

Kromě kontrol uvedených v odstavci 2 se při analýzách odpadních vod může používat ještě řada srovnání vázaných na typ vzorku. Lze tak rozlišovat surovou odpadní vodu ze stokové sítě nebo z nátoku na ČOV a vyčištěnou odpadní vodu opouštějící ČOV nebo jiné zařízení na úpravu odpadní vody. Pro každý typ odpadní vody pak lze pro nejčastěji stanovované ukazatele nastavit spodní či horní hranice koncentrací pro příslušný typ odpadní vody. Jako příklad uvedeme nerozpuštěné látky, u nichž je pro surové odpadní vody nastavena nejnižší koncentrace 50 mg/l a pro vyčištěné odpadní vody nejvyšší koncentrace 30 mg/l. V případě podkročení této hodnoty u surové odpadní vody nebo překročení limitu pro vyčištěnou odpadní vodu se při kontrole prováděné prostřednictvím LIS objeví varovné hlášení (viz obr. 1). Tato hlášení jsou neocenitelnou pomůckou při záchytu překlepů nebo anomálních hodnot, a i když je výsledek zadán správně, je na základě tohoto hlášení prověřen. Každá laboratoř si limity může nastavit podle obvyklých koncentrací ve většině vzorků stejného typu. Pokud laboratoře analyzují většinu pitných či povrchových vod, lze tento přístup pochopitelně upravit pro ukazatele a hodnoty obvyklé pro rozsahy analýz těchto typů vzorků.



Kontrola dne : 4.2.2011
Omezení : 1-1000

Č.vz.	Chyba
339	UPOZORNĚNÍ : CHSK < 100
341	UPOZORNĚNÍ : CHSK < 100 UPOZORNĚNÍ : NL < 50
428	UPOZORNĚNÍ : CHSK < 13
429	UPOZORNĚNÍ : CHSK < 13
430	UPOZORNĚNÍ : CHSK < 13
431	UPOZORNĚNÍ : CHSK < 13
437	UPOZORNĚNÍ : CHSK < 100
438	UPOZORNĚNÍ : NL > 30
439	UPOZORNĚNÍ : CHSK < 100 UPOZORNĚNÍ : NL < 50
460	UPOZORNĚNÍ : CHSK < 13
556	UPOZORNĚNÍ : NL < 50
557	UPOZORNĚNÍ : CHSK < 13
559	UPOZORNĚNÍ : CHSK < 13
560	CHYBA : CHSK < BSK UPOZORNĚNÍ : CHSK < 13
565	UPOZORNĚNÍ : RL < 400
653	UPOZORNĚNÍ : CHSK < 13

Obrázek 1. Hlášení LIS při provádění kontroly výsledků pro 1000 vzorků

4) UPLATŇOVÁNÍ LOGIKY VZTAHŮ MEZI UKAZATELI PŘI VYŘIZOVÁNÍ REKLAMACÍ

Při kontrole producentů odpadních vod se někdy setkáváme s námitkami kontrolovaných subjektů proti výsledkům našich analýz na základě rozboru předaného podílu vzorku v jiné akreditované laboratoři. Při srovnání našich výsledků s výsledky dodanými z jiné laboratoře v nich často narážíme na nelogické či „záhadné“ nesrovnalosti. Jde například o neobvykle nízké výsledky extrahovatelných látek v odpadních vodách z potravinářství při velmi vysoké CHSKCr (vzorek neobsahoval žádné jiné možné organické znečištění), výrazně nižší výsledky stanovení těžkých kovů v odpadních vodách z neutralizační stanice obsahující mnoho nerozpuštěných látek nebo naopak rozpuštěných anorganických solí, či výrazné rozdíly při stanovení AOX. Příčinami takových nesrovnalostí může být buď záměna vzorků kontrolovaným subjektem, nebo chyba při analýze v kontrolní laboratoři. Konkrétní příklady budou ukázány při prezentaci. K účinným postupům boje proti padělání vzorků patří používání zapečetěných archivních vzorků analyzovaných v případě potřeby v třetí nezávislé laboratoři, které jsou ovšem použitelné jen pro stabilní analyty, jako jsou např. těžké kovy. Další možností boje proti možné záměně či padělání vzorků pak patří přítomnost vzorkaře kontrolní laboratoře při odběru vzorků.

5) ZÁVĚR

Kontrola výsledků v analytické laboratoři se může provádět řadou různých způsobů. Každá laboratoř si hledá vlastní cestu podle typu analyzovaných vzorků a sledovaných analytů, v neposlední řadě je přitom důležité také celkové množství vzorků a jednotlivých výsledků za den, měsíc či rok. Je vhodné se někdy nad celou problematikou zamyslet a třeba ve spolupráci s dodavatelem LIS vymyslet řešení, které všem usnadní práci a ve výsledku sníží chybovost výsledků nebo dokonce počet neshodných prací.

SEZNAM LITERATURY

[1] ČSN 75 7358 Jakost vod – Výpočet celkové mineralizace (1998).

ODHAD NEJISTOTY MĚŘENÍ PŘI MIKROBIOLOGICKÉ ANALÝZE VODY

Kateřina Stinglová, Iveta Trčková

Severočeské vodovody a kanalizace a.s., Laboratoř Sokolov
katerina.stinglova@scvk.cz

1. ÚVOD

Výsledek každého měřícího procesu, je odhadem skutečné hodnoty. Je ovlivněn výskytem jak náhodných, tak systematických chyb v průběhu měřícího procesu. Výsledek stanovení tedy nemůže představovat exaktní hodnotu a bez přidruženého údaje, který by charakterizoval odhad rozsahu zahrnutých chyb, není plnohodnotnou informací. Je proto důležité, aby výsledky analýz, byly doprovázeny určitou informací o jejich kvalitě. Takovým údajem je hodnota nejistoty měření.

Výsledky mikrobiologických měření se již tradičně uvádějí bez jakýchkoliv údajů o nejistotě. Hlavním důvodem je nedostupnost výsledků mikrobiologických zkoušek na standardních materiálech s dokumentovaným obsahem mikroorganismů. Kromě toho činí přirozené vlastnosti mikroorganismů použití stejných principů, které jsou aplikovány u chemických analýz, velice obtížné.

Práce se zabývá analýzou faktorů, které se podílí na variabilitě mikrobiologických výsledků a tedy i jejich nejistotě a stanovením nejistoty měření v mikrobiologické laboratoři Sokolov (rozbor vod) v letech 2005-2010.

2. FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ KVALITU MIKROBIOLOGICKÝCH ZKOUŠEK

U mikrobiologických metod lze z běžně používaných charakteristik (citlivost, správnost, pravdivost, přesnost, opakovatelnost a reprodukovatelnost) s určitou spolehlivostí hodnotit pouze opakovatelnost, tj. těsnost shody mezi výsledky opakovaných nezávislých analýz provedených stejným analytikem, na stejném vzorku, za stejných podmínek měření.

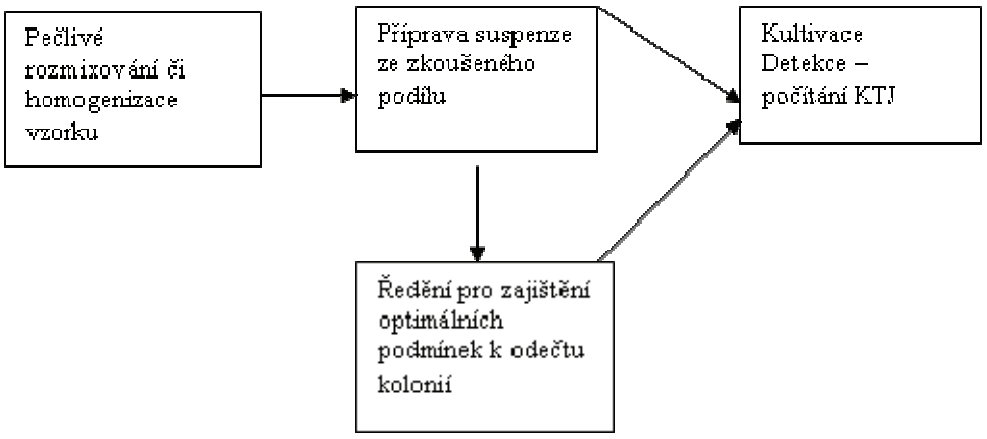
Stanovení nejistoty měření je na rozdíl od chemické analýzy obtížné, neboť vedle řady faktorů, které se na ní podílí, je třeba brát rovněž v úvahu:

- Referenční materiály – hlavním problémem při standardizování metod je nedostatek použitelných referenčních materiálů.
- Velké diferenciace mezi výsledky – rozdíly mezi výsledky analýz provedených na stejném vzorku bývají často značné (rozdílné výsledky paralelních stanovení, různých ředění, kombinace výsledků u metod MPN).
- Distribuce mikroorganismů ve vzorku - rozložení mikroorganismů ve vzorku není rovnoměrné, četnější výskyt je obecně na povrchu než uvnitř. K odstranění tohoto problému se užívá homogenizace, je však třeba mít stále na zřeteli nestejnou účinnost tohoto procesu.
- Růst mikroorganismů - řada důležitých mikroorganismů je schopna se rozmnožovat v různých stádiích zpracování vzorků – od odběru až po zpracování. Je tedy třeba řídit teplotu a dodržovat standardizované časy jednotlivých stádií.
- Procedurální odlišnosti - výrazné změny ve vzorku mohou způsobit některé mechanické operace (homogenizace - schopnost mikroorganismů shlukovat se, ředění vzorku – rozbíjení shluků mikroorganismů = zvýšení KTJ, ale i možnost snížení vitality mikroorganismů).

3. ODHAD A VYJÁDŘENÍ NEJISTOTY MĚŘENÍ PRO METODU POČÍTÁNÍ KOLONIÍ

Aby bylo možné provést výpočet kombinované nejistoty z jejích jednotlivých složek, bylo nutné nejprve sestavit detailní rozklad celého měřícího procesu.

Rozdělení celého procesu mikrobiologického vyšetření na jednotlivé kroky, důležité z hlediska příspěvků nejistoty, je nesmírně obtížné. Z širšího metrologického hlediska pracují všechny standardní mikrobiologické metody stejně podle následujícího schématu:



Za nejvýznamnější faktory, které se podílí na nejistotě měření byly určeny:

- Nejistota objemu zkoušeného podílu vzorku

Odměřování objemů vzorků, potřebných v procesu mikrobiologických vyšetření, je vždy spojeno s nejistotou. Ta je způsobena opakovatelností, s jakou je prováděno naplňování či vyprazdňování pomůcek pro měření objemu, kvalitou odměrného zařízení a obecně platnou teplotní závislostí objemu. Obvyklým způsobem stanovení této složky nejistoty je metoda gravimetrická.

Pro relativní standardní nejistotu celkového objemu (w_v^2) platí:

$$w_v^2 = \frac{n \times u_a^2}{V^2}$$

n…počet odměřování objemu vzorku

u_a…standardní nejistota odměřování objemu (stanovena gravimetricky)

V…celkový objem vzorku

- Poissonův model rozptylu (příspěvek nejistot daný distribucí mikroorganismů)

V oblasti mikrobiologických vyšetření je obecně přijatý předpoklad, že v dokonale promíchané suspenzi se částečky řídí Poissonovým modelem distribuce. Při popisu distribuce se nejčastěji používají dva hlavní parametry: nejpravděpodobnější hodnota (střední hodnota) a míra rozprostření výsledků kolem této hodnoty (rozptyl nebo směrodatná odchylka). Rozptyl lze u Poissonova rozdělení vypočítat na základě počtu stanovených mikroorganismů. To znamená, že v případě metody počítání kolonií na plotnách neurčuje nejistotu měření počet hodnocených ploten, ale počet počítaných kolonií.

Pro výpočet rozptylu u Poissonova rozdělení platí následující vztah:

$$w_z^2 = \frac{1}{Z}$$

Z… celkový počet počítaných kolonií.

- Nejistota ředícího faktoru

Ředící faktor určuje, kolikrát bylo nutné vzorek ředit, aby se získal počitatelný podíl ve vzorku. Je to vlastně převrácená hodnota ředění (tj. ředící faktor 10 znamená, že byl k 1ml vzorku přidáno 9 ml ředícího roztoku, tj. ředění = 10^{-1}).

Pro nejistotu ředícího faktoru v relativním vyjádření platí:

$$w_f^2 = \frac{u_b^2 + b^2 u_a^2}{(a+b)^2}$$

a…objem suspenze

b…objem ředícího roztoku

u_a…standardní nejistota objemu suspenze

u_b…standardní nejistota objemu ředícího roztoku

Pro případ stejných ředících poměrů při vícenásobném ředění (počet rovná se k) platí:

$$w_F^2 = k \times w_f^2$$

- Nejistota odečtu

Všechna mikrobiologická vyšetření jsou ve finále založena na pozorování kolonií nebo jejich chování a charakteristických projevech. Ve většině případů se k tomu používá lidské oko a rozum. Počítání prováděná tímto „subjektivním“ nástrojem jsou více či méně jistá. Opakované počítání stejné plotny stejným pracovníkem nepřináší vždy stejné výsledky. Nejistota odečtu je tudíž charakterizována mírou opakovatelnosti tohoto procesu.

Průměrná relativní nejistota odečtu w_t téměř nezávisí na počtu počítaných kolonií, z bezpečnostního hlediska je vhodné pracovat s více než 30KTJ.

Pro výpočet nejistoty odečtu platí:

$$w_t^2 = \frac{2}{n} \times \sum_{i=1}^{n} \left(\frac{z_1 - z_2}{z_1 + z_2} \right)^2$$

n…počet stanovení

$z_, z_2$…paralelní hodnoty opakovaného odečtu ploten

Pro relativní rozptyl nejistoty odečtu, pak platí:

$$w_T^2 = w_t^2 \times \frac{\sum_{i=1}^{n} z_i^2}{Z^2}$$

z_i…počet kolonií na i-té plotně

Z…celkový počet kolonií

- Výsledný počet kolonií (Y) je dán váženým průměrem podle vztahu:

$$Y = \frac{\sum_{i=1}^{n} z_i}{\sum_{i=1}^{n} V_i} = \frac{Z}{V}$$

z_i…počet kolonií na i-té plotně

v_i…objem původního vzorku na i-té plotně

KOMBINOVANÁ RELATIVNÍ NEJISTOTA

$$w_x = (\sqrt{w_V^2 + w_F^2 + w_Z^2 + w_T^2})$$

ROZŠÍŘENÁ KOMBINOVANÁ RELATIVNÍ NEJISTOTA:

$$w_y = (\sqrt{w_V^2 + w_F^2 + w_Z^2 + w_T^2}) \bullet 2$$

4. POSTUPU ODHADU NEJISTOTY MIKROBIOLOGICKÝCH ZKOUŠEK V LABORATOŘI SOKOLOV V LETECH 2005 – 2010

V průběhu let 2005 – 2010 byla v laboratoři Sokolov – oddělení mikrobiologické analýzy vod - sbírána data za účelem stanovení nejistoty měření mikrobiologických zkoušek. Stanovení nejistoty měření bylo prováděno dvojím způsobem

1. Analýza vzorku uměle připraveného z CRM

K přípravě suspenze byly použity kmeny na želatinových discích :

- Escherichia coli CCM 394 (ČSM PF Brno)
- Enterobacter cloaceae CCM 1903 (ČSM PF Brno)
- Enterococcus faecalis CCM 4224
- Enterococcus hirae CCM 2423 (ČSM PF Brno)
- Pseudomonas aeruginosa CCM 1960 (ČSM PF Brno)
- Clostridium perfringens CCM 4991 (ČSM PF Brno)
- Staphylococcus aureus CCM 3953 (ČSM PF Brno)

Jednotlivé kmeny byly oživeny na pevném kultivačním médiu (živný agar č.2) dle doporučeného pracovního postupu ČSM PF. Z takto připravené pracovní kultury byla vytvořena suspenze přenesením pracovní kultury do fyziologického roztoku (objem 100 ml) a následně připraveno takové ředění (ředění prováděno v poměru 100 : 900), aby po zpracování a následné kultivaci vzorku byl výsledný počet kolonií na plotně 25 – 60 KTJ/100ml vzorku, pro stanovení VK 22°C a 36°C 25 - 60 KTJ/ml. Pro orientační odhad počtu mikroorganismů v 1ml vzorku v jednotlivých ředěních bylo využito metody stanovení počtu buněk pomocí Bürkerovy počítací komůrky. Ředění, které splňovalo podmínku 25 – 60 KTJ/ Xml vzorku bylo zpracováno paralelně 10x dle příslušné SOP laboratoře.

2. Analýza reálného vzorku

Analyzován byl vzorek surové vody u něhož byl předpoklad mikrobiálního znečištění. Vzorky pitné vody nebyly pro stanovení nejistoty mikrobiologických zkoušek zařazeny z důvodu malé pravděpodobnosti výskytu mikroorganismů. Odebraný vzorek byl zpracován paralelně 10x dle příslušné SOP.

Nejistota odměrného zařízení používaného pro odměřování vzorků, příp. jejich ředění byla stanovena gravimetricky.

Zpracování a odečet vzorků prováděl pracovník laboratoře, který provádí většinu mikrobiologických stanovení. Pro stanovení nejistoty odečtu byl proveden opakovaný odečet náhodně vybraných a již spočítaných ploten. Důraz byl kladen na náhodnost výběru plotny pro opakovaná počítání a vyvarování se tzv.“přenosového efektu“, tzn.tendence osoby provádějící opakovaná počítání přiblížit se co nejvíce prvnímu odečtu. Tím by docházelo k podhodnocení nejistoty.

Pro vyhodnocení nejistoty mikrobiologických zkoušek byl v laboratoři vytvořen program v souboru EXCEL. Do tohoto programu je třeba pro výpočet nejistoty měření zadat hodnoty: výsledky stanovení, objem zpracovaného vzorku, počet odměřování objemu vzorku, standardní nejistota odměřování objemu vzorku, standardní nejistota odměřování objemu ředícího roztoku, objem vzorku použitého k ředění, objem ředícího roztoku, počet ředících kroků. Jednotlivé složky rozšířené nejistoty měření a kombinovaná rozšířená nejistota měření jsou po dosazení těchto hodnot do programu automaticky vyhodnoceny (Tab.2). Validace takto sestaveného programu byla provedena v roce 2005 paralelním porovnáním hodnot vypočtených manuálně s hodnotami získanými pomocí tohoto programu.

V průběhu let 2005 – 2010 bylo prováděno 2x ročně stanovení opakovatelnosti. Data byla v roce 2010 komplexně vyhodnocena a v roce 2010 zakreditováno uvádění nejistoty měření mikrobiologických zkoušek na Protokolech o zkoušce (Tab.1).

Tab.1 Hodnoty kombinované relativní nejistoty mikrobiologických zkoušek a rozšířené kombinované relativní nejistoty mikrobiologických zkoušek stanovené v letech 2005-2010 (%)

	Kolif. bakterie ČSN ISO 9308-1	Kolif. bakterie ČSN 75 7837	Termotol. kolif. bakterie ČSN 75 7835	Intestinální enterokoky ČSN EN ISO 7899-2	Cl.perfr. Vyhl.Mzd 252/2004	VK 22°C ČSN EN ISO 6222	VK 36°C ČSN EN ISO 6222
2005 (CRM materiál)	22,5%	18,8%	11,2%	11%	11%	19%	8%
2005 (reálný vzorek)	14,6%	20,1%	15,8%	14,4%	17,2%	19,5%	6,5%
2006 (CRM materiál)	11,8%	11%	9%	10,8%	8,7%	12%	38,2%
2006 (reálný vzorek)	11,2%	14%	11%	22%	13%	19,1%	17,2%
2007 (CRM materiál)	11,2%	18,2%	8,3%	8,4%	12,4%	20%	20,6%
2007 (reálný vzorek)	10,6%	18%	12%	9,1%	22,4%	19,1%	11%
2008 (CRM materiál)	20%	24%	12,2%	9,5%	12,2%	20,1%	6,2%
2008 (reálný vzorek)	14,5%	28%	13,2%	10,4%	17,6%	19,1%	12,1%
2009 (CRM materiál)	12,8%	12,2%	11,7%	10,6%	12,9%	20,4%	15,7%
2009 (reálný vzorek)	17,2%	18%	13,1%	11,5%	15,9%	25,4%	16,9%
2010 (CRM materiál)	13,4%	17,5%	12,8%	10,9%	11,7%	19,5%	14,9%
2010 (reálný vzorek)	18,5%	19,1%	13,2%	11,9%	16,5%	20,7%	19,5%
Relativní nejistota měření - průměr	14,9%	18,3%	12%	11,7%	14,3%	19,5%	15,6%
Rozšířená relativní nejistota měření	30%	37%	24%	24%	29%	39%	32%
Rozšířená relativní nejistota měření uváděná na Protokole na zkoušce	30%	40%	25%	25%	30%	40%	30%

Tab.2 - Vyhodnocení nejistoty měření mikrobiologických zkoušek v programu EXCEL

Název testu: OPAKOVATELNOST - MIKROBIOLOGIE									
Vzorek: surová voda									
Datum zpracování: 28.11.2010									
Zpracoval: Iveta Trčková									
Číslo stanovení	Kolif.bakt./TTC	E.coli/indol	Kolif.bakt./Endo	Termot.kol.bakt.	E.coli/m-FC	Enterokoky	VK 22 C	VK 36 C	Cl.perfringens
1.	15	x	8	14	x	16	121	93	33,0
2.	20	x	10	18	x	18	132	112	36
3.	19	x	18	21	x	16	135	98	38
4.	17	x	9	21	x	23	90	106	32
5.	14	x	9	13	x	20	107	84	30
6.	19	x	8	13	x	21	117	109	35
7.	30	x	8	13	x	18	128	91	32
8.	16	x	9	16	x	24	118	94	34
9.	23	x	11	18	x	21	144	80	36
10.	19	x	10	16	x	22	104	99	33
Parciální objem (V_i)	2	x	2	50	x	1	0,01	1	100
Celk. objem (V)	20	x	20	500	x	10	0,1	10	1000
Celk.počet kol.(Z)	192	x	100	163	x	199	1196	966	339
n	10	x	10	10	x	10	10	10	10
u_a	0,01	x	0,01	0,05	x	0,006	0,006	0,006	0,08
u_b	0	x	0	0	x	0	0,05	0	0
a	2	x	2	50	x	1	1	1	100
b	0	x	0	0	x	0	9	0	0
k	0	x	0	0	x	0	1	0	0
w_Z^2	0,005208	##########	0,01	0,006135	##########	0,005025	0,000836	0,001035	0,002950
w_V^2	0,0000025	##########	0,0000025	0,0000001	##########	0,0000036	0,036	0,0000036	0,000000064
w_F^2	0	##########	0	0	##########	0	0,00005416	0	0
w_T^2	0,000127	##########	0,000130	0,000124	##########	0,000122	0,000122	0,000122	0,000121
w_Y	14,6	##########	20,1	15,8	##########	14,4	38,5	6,8	11,1
Výsledný počet kol.(Y) (KTJ/ml)	9,6	##########	5	0,326	##########	19,9	11960	96,6	0,339

Nejistota odečtu (w_t^2)

Číslo odečtu	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Odečet 1 (z_1)	121	132	135	90	107	117	128	118	144	104
Odečet 2 (z_2)	113	141	137	106	107	113	121	112	152	109
(z_1-z_2)	-8	9	2	16	0	-4	-7	-6	8	5
(z_1+z_2)	234	273	272	196	214	230	249	230	296	213

$[(z_1-z_2)/(z_1+z_2)]^2$	0,001168822	0,00108683	5,40657E-05	0,00666389	0	0,00030246	0,00079031	0,00068053	0,00073046	0,000551
w_t^2	0,00120284									

Použité odměrné zařízení

Metoda	Odměrné zařízení	ua
Koliformní bakt./TTC	skleněná pipeta 2ml	0,01
E.coli/indol	xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx	
Koliformní bakt./Endo	skleněná pipeta 2ml	0,01
Termotoler.kolif.bakt.	skleněný odměrný válec 50ml	0,05
E.coli/m-FC	xxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxxx	
Enterokoky		
VK 22°C	automatická pipeta 0,01ml	
VK 36°C	skleněná pipeta 1ml	0,006
Clostridium perfringens	skleněná pipeta 100ml	0,08

Použité zkratky

Vi	objem původního vzorku v ml	w_F^2	nejistota ředícího faktoru
V	celkový objem vzorku v ml	w_T^2	nejistota odečtu
Z	celkový počet počítaných kolonií (KTJ)	wy	kombinovaná relativní nejistota
Y	výsledný počet kolonií ve vzorku (KTJ/ml)		
n	počet odměřování objemu vzorku		
u_a	standardní nejistota odměřování objemu vzorku v ml		
u_b	standardní nejistota odměřování objemu ředícího roztoku v ml		
a	objem vzorku použitého k ředění v ml		
b	objem ředícího roztoku v ml		
k	počet ředících kroků		
w_v^2	nejistota objemu zkoušeného podílu vzorku		
wz^2	Poissonův rozptyl		

ZÁVĚR

Návaznost výsledku měření je důležitým prvkem systému jakosti laboratoře. Norma ČSN ISO/IEC 17025 přímo určuje, že laboratoř musí prokázat návaznost svých výsledků. Prokázání návaznosti je spojeno s vyčíslením nejistoty výsledku.

Nejistota se zavádí proto, aby bylo možné kvalitu výsledku charakterizovat souhrnně jedním parametrem, a aby se neporovnávaly nesouměřitelné údaje

Požadavek na uvedení nejistoty výsledku měření není totožný s požadavkem, aby nejistota byla co nejmenší. Znamená to též, že na jednu stranu má být uvedena hodnota nejistoty realistická a na druhou stranu musí úsilí a náklady jejího zjištění odpovídat účelu, pro který je analýza prováděna.

6. SEZNAM LITERATURY

Doškářová Š., Janoš P., Plzák Z., Suchánek M., Šubrt P.: Kvalimetrie – Odhad nejistot chemických a mikrobiologických měření, 36-52 (2003)

Ottová V.: Laboratoře z mikrobiologie pro technologii vody, 43-44 (1991)

JSOU MODIFIKACE $CHSK_{Cr}$ EKVIVALENTNÍ?

Vladimír Sýkora, Hana Kujalová, Pavel Pitter

Ústav technologie vody a prostředí
Fakulta technologie ochrany prostředí, VŠCHT Praha
Technická 5, 166 28 Praha 6
vladimir.sykora@vscht.cz

SUMÁRNÍ STANOVENÍ ORGANICKÝCH LÁTEK

Stanovení, interpretace a poměr hodnot $CHSK_{Cr}$ (COD_{Cr}) a TOC (DOC) pro sumární stanovení organických látek ve vodách stále poutá pozornost hydrochemiků a technologů. V šedesátých a sedmdesátých letech minulého století se dočasně projevila v Německu a Švýcarsku snaha eliminovat stanovení $CHSK_{Cr}$ ve prospěch stanovení TOC (DOC) z důvodů dostupné techniky pro instrumentální stanovení organicky vázaného uhlíku, kterou byla v tehdejší době vybavena již většina vodohospodářských laboratoří v uvedených dvou zemích. V té době někteří známí technologové, jako byl Husmann a Wuhrmann, počali vyjadřovat zatížení biologického čištění nikoli v BSK_5 či CHSK, ale v TOC resp. DOC. Tento entuziasmus však trval jen omezenou dobu z dále uvedených důvodů. V současné době se diskutuje problém přítomnosti toxických látek $HgSO_4$ a Ag_2SO_4 při stanovení chemické spotřeby kyslíku, který opět vede k návrhům na eliminaci $CHSK_{Cr}$ jako ukazatele znečištění a jeho nahrazení stanovením TOC (DOC). To se projevilo např. v normotvorné činnosti, kdy k dispozici pro stanovení $CHSK_{Cr}$ jsou pouze mezinárodní normy ISO, avšak nikoli EN.

Ukazuje se, že **hodnoty CHSK a TOC vyjadřují organické znečištění z jiného hlediska** a obě jsou pro objektivní hodnocení organického znečištění nezbytné. Při biologickém čištění a samočištění v tocích nás zajímají především **kyslíkové ekvivalenty organických látek.** Oba ukazatele postihují různé vlastnosti organických látek a měly by být stanovovány současně. Organické látky nespotřebovávající kyslík vykazují při chemické nebo biochemické oxidaci jen TOC, nikoli CHSK. Mezi tyto sloučeniny patří např. močovina, kyselina karbamová, kyanamid, tetrachlormethan. Tyto látky se rozkládají hydrolýzou bez spotřeby kyslíku. protože obsahují v molekule uhlík v oxidačním čísle +IV.

Významný je poměr mezi oběma ukazateli, ze kterého lze zjistit, do jakého stupně jsou přítomné organické látky oxidovány. Z tohoto hlediska lze např. odhadnout úspěšnost aerobního nebo anaerobního čištění nebo i míru stability kalů. V tomto smyslu lze podpořit i legislativní snahu o zahrnutí TOC mezi ukazatele jakosti odpadních vod, v současné době alespoň jako emisní ukazatel pro kategorie ČOV nad 100 000 EO. Podrobnější rozbor těchto problémů lze nalézt v lit. [1].

VÝVOJ METODIKY $CHSK_{Cr}$

Jak již bylo uvedeno, je „evropské tažení“ proti dichromanové metodě vyprovokováno především používáním toxických chemikálií ($HgSO_4$, Ag_2SO_4, $K_2Cr_2O_7$). Snaha nahradit chemickou oxidaci dichromanem jiným postupem je již velmi starého data. Jiná chemická oxidační činidla (jodičnan, síran ceričitý, peroxodisíran) nebyla úspěšná. I snaha nalézt lepší katalyzátor nevedla k cíli [2]. V poslední době jsou publikovány elektrokatalytické a fotoelektrokatalytické metody pro stanovení CHSK [3]. Avšak aby bylo možné uvažovat o nahrazení dosavadních variant dichromanové metody, bylo by zapotřebí provést s těmito metodami rozsáhlé porovnání s obsáhlým souborem chemických látek, který by se blížil např. tabulkám v literatuře [4, 5].

Klasická (standardní) metoda stanovení $CHSK_{Cr}$ z padesátých let [6, 7], vycházející z principu poprvé publikovaném pro hydroanalytické účely již v roce 1926 [8], byla poté převzata do Amerických standardních metod, do mezinárodní normy ISO a pochopitelně do řady státních norem a různých metod vydávaných v knižních podobách. Tuto metodu lze v podstatě považovat za metodu uzanční a referenční, protože je k dispozici velký seznam organických látek kvantifikující jejich stupeň oxidace tímto klasickým postupem [4]. Snaha vypořádat se s toxickými chemikáliemi a s vysokou spotřebou koncentrované kyseliny sírové vedla k návrhu různých modifikací stanovení $CHSK_{Cr}$, které se snaží aplikaci závadných chemikálií pokud možno omezit.

V této souvislosti je nutné citovat modifikaci Jirky a Cartera [9], kteří úměrně snížili spotřebu činidel tak, aby reakční poměry byly shodné s klasickým (standardním) postupem stanovení $CHSK_{Cr}$ a jako koncovku zařadili fotometrickou metodu při 600 nm indikující přítomnost Cr(III). Tito autoři oprávněně upozorňují na problém některých modifikací klasické titrační metody stanovení $CHSK_{Cr}$, které neberou v úvahu, že porovnatelnost výsledků je možná jen při dodržení základních parametrů.

Snaha o vypracování modifikace, která by zmenšila přísun toxických látek do prostředí při stanovení $CHSK_{Cr}$, se projevil i v mezinárodní normalizaci. V roce 2002 byla vydána mezinárodní norma ISO 15705, která byla do češtiny přeložena v roce 2008 [10]. Hovoří se o tzv. zkumavkových metodách, které nabízí řada výrobců laboratorního zařízení.

Pro snazší porozumění podmínkám standardního **titračního refluxního stanovení** $CHSK_{Cr}$ je vhodné si alespoň stručně připomenout jeho vývoj a všimnout si především složení vlastní reakční směsi.

Jak už bylo řečeno, koncem čtyřicátých let a začátkem let padesátých došlo zejména v práci z roku 1949 (Moore) [6] ke stabilizaci předpisu pro stanovení $CHSK_{Cr}$, který byl založen na varu směsi 50,0 mL vzorku, 25,0 mL roztoku dichromanu draselného o koncentraci 0,04167 mol/L (v původní práci 0,25 N) a 75 mL koncentrované kyseliny sírové pod zpětným chladičem (a následnou titrační koncovkou). Zajímavé je, že v této práci ještě není vůbec zmínka o katalyzátoru síranu stříbrném, byť jeho katalytický účinek pro potřeby $CHSK_{Cr}$ byl publikován již v roce 1936 [11] (Muers). Však se autor v roce 1950 dotčeně ozval, bylo mu však odpovězeno [12], že hlavním tématem jeho článku z roku 1936 bylo čištění odpadních vod ze zpracování syrovátky a tak závažnému postřehu o katalytickém působení síranu stříbrného bylo věnováno minimum pozornosti jak v experimentální části článku, tak ve výčtu závěrů. V roce 1951 byla proto publikována nová práce [7] (Moore), v které byl výše zmíněný předpis již doplněn přídavkem 1 g síranu stříbrného na jedno stanovení. Předpis byl pravděpodobně již tak dobrý (byť ještě neřešil chemické maskování chloridů), že se bezprostředně poprvé objevil v 10. vydání Amerických standardních metod v roce 1955 [13] a beze změn i ve vydání 11. v roce 1960 [14].

Významná změna v předpisu nastala díky práci z roku 1963 [15] (Dobbs), která popisuje eliminaci rušivého vlivu chloridů přídavkem síranu rtuťnatého. Dalším, méně známým faktem vyplývajícím z této práce je snížení dávky pevného síranu stříbrného z původního 1 g (na 50,0 mL vzorku, 25,0 mL roztoku dichromanu a 75 mL koncentrované kyseliny sírové) na 0,75 g. Výsledky této práce byly opět operativně zařazeny do 12. vydání Amerických standardních metod v roce 1965. V tomto vydání doznal předpis dalších drobných změn. Objem činidel byl dvaapůlkrát snížen a byl založen na varu směsi 20,0 mL vzorku, 10,0 mL roztoku dichromanu draselného o koncentraci 0,04167 mol/l (v původní práci 0,25 N) a 30 mL roztoku síranu stříbrného v koncentrované kyselině sírové (v katalyzátorovém roztoku) o koncentraci 10 g/L (v původní práci 22 g na 9 liber koncentrované kyseliny sírové) pod zpětným chladičem. Chloridy byly eliminovány dávkou 0,4 g pevného síranu rtuťnatého na jedno stanovení. Bylo deklarováno, že tato dávka eliminuje chloridy až do koncentrace 2 g/L. Jako alternativní možnost je uvedena tabulka, podle které lze použít různé objemy vzorků od 10,0 mL do 50,0 mL (po 10,0 mL) s příslušnou úpravou dávkování dalších činidel tak, aby výsledné složení reakční směsi bylo vždy stejné. Díky použití roztoku síranu stříbrného v koncentrované kyselině sírové se v tomto předpisu však vytratila informace o skutečné dávce síranu stříbrného na jedno stanovení, která byla 0,3 g. Je proto překvapivé, že v mnoha předpisech ze sedmdesátých a osmdesátých let přetrvávala v Československu dávka pevného síranu stříbrného 0,4 g (na 20,0 mL vzorku atd.), patrně stále vycházející z Amerických standardních metod z roku 1960 [14], obvykle ve formě roztoku v koncentrované kyselině sírové o koncentraci 13,3 g/L. Z těchto předpisů jmenujme například normu ČSN z roku 1982 [16] nebo legendární knihu z roku 1986 [17] případně její druhé vydání v roce 1989 [18] (Horáková).

Ve 14. vydání Amerických standardních metod z roku 1976 se předpis vrací k původním objemům činidel z padesátých let, tzn. 50,0 mL vzorku, 25,0 mL roztoku dichromanu draselného a 75 mL katalyzátorového roztoku doplněné o dávku 1 g pevného síranu rtuťnatého. Možnost alternativního použití jiného objemu vzorku je opět uvedena v tabulce. V této podobě přetrval předpis až do zatím posledního, 21. vydání z roku 2005 [19]. Pouze koncentrace použitého roztoku dichromanu draselného je již vyjádřena v jednotkách pro látkovou koncentraci.

Lze tedy konstatovat, že reakční směs stanovení $CHSK_{Cr}$ podle uvedených zdrojů si po celou dobu používání zachovává prakticky stejné koncentrace použitých činidel, především stejnou koncentraci dichromanu draselného a kyseliny sírové.

Svým vývojem si prošly i tak zvané **zkumavkové semimikrometody**, využívající spektrofotometrickou koncovku. Jedna z prvních prací, která se spekrofotometrickou koncovkou zabývala, se objevila již v roce 1964 [20] (Gaudy). A především již zmíněná práce z roku 1975 [9] (Jirka) inspirovala i autory v Československu, aby se svou prací z roku 1982 [21] (Hejzlar) zasloužili o úspěšné rozšíření semimikrometody i v našich tehdejších skromnějších podmínkách. V 15. vydání Amerických standardní metod z roku 1980 [22] metoda ještě není uvedena, ale v 18. vydání z roku 1992 [23] je předpis na zkumavkovou semimikrometodu již uveden. Při podrobnějším rozboru této metody lze zjistit, že **koncentrační poměry zúčastněných složek jsou** s výjimkou síranu stříbrného **v reakční směsi totožné se standardní titrační refluxní metodou**. Odchylku koncentrace síranu stříbrného lze pokládat za zanedbatelnou.

Z různých předpisů pro stanovení $CHSK_{Cr}$ je možné se ještě zmínit o americké normě ASTM (American Society for Testing and Materials) [24], kde je oproti Americkým standardním metodám odchylka pouze v koncentraci katalyzátorového roztoku pro titrační refluxní metodu a je zvýšena na 15 g síranu stříbrného na 1 litr roztoku v koncentrované kyselině sírové. V případě zkumavkové metody je předpis shodný.

V některých publikacích se lze setkat i s citací metod EPA (U.S. Environmental Protection Agency) [25, 26], které jsou prakticky stejné jako v Amerických standardních metodách.

SROVNÁNÍ VYBRANÝCH MODIFIKACÍ

V současné době je po ukončení platnosti normy TNV 75 7520 [27] pozornost především upřena na normy ČSN ISO 15705, ČSN ISO 6060 [10, 28]. Není od věci připomenout i jejich anglické originály [29, 30].

V normě ISO 6060 je vidět vliv předpisu dle Amerických standardních metod, kdy se vychází z pětkrát menšího objemu činidel a reakční směs tedy vznikne smísením 10,0 mL vzorku, 5,0 mL roztoku dichromanu draselného a 15 mL katalyzátorového roztoku. Avšak složení a způsob přípravy roztoku dichromanu draselného a katalyzátorového roztoku jsou přeci jenom odlišné: v případě roztoku dichromanu draselného byla nepatrně snížena jeho koncentrace z 0,04167 mol/L na 0,04 mol/L a dále je v případě přípravy tohoto roztoku odstraněn handicap předpisu dle Amerických standardních metod, kterým je dávkování síranu rtuťnatého v pevném skupenství. U normy ISO 6060 je síran rtuťnatý součástí přímo roztoku dichromanu draselného, avšak z důvodu jeho omezené rozpustnosti ve vodných roztocích je roztok dichromanu ještě navíc „posílen“ koncentrovanou kyselinou sírovou. Proto byl naopak „zeslaben“ katalyzátorový roztok, jehož příprava zdánlivě nesmyslně spočívá v rozmíchání navážky síranu stříbrného v malém množství destilované vody (35 mL) a následném přidání velkého přebytku koncentrované kyseliny sírové (965 mL). Zde lze spatřit vliv normy DIN [31]. Tato skutečnost se odrazila i v národní poznámce ČSN ISO 6060, v které je doporučeno katalyzátorový roztok připravit pouze z koncentrované kyseliny sírové. Podrobnější rozbor koncentrací jednotlivých složek v reakční směsi však ukazuje, že tato doporučená úprava není opodstatněná, viz dále odstavec o koncentraci kyseliny sírové v reakční směsi. Předmětem kritiky však je množství síranu rtuťnatého. Ve srovnání s výše popsanými metodami z Amerických standardních metod je dávka dvojnásobná a tím přehnaně vysoká. Opět rozbor koncentrací tuto skutečnost potvrzuje a lze usoudit, že při pětinásobném krácení objemů nebyl tento poměr při stanovení dávky síranu rtuťnatého vzat v úvahu. Tuto nesrovnalost řeší **národní příloha** v ČSN ISO 6060 (přesněji ČSN ISO 6060/Z1 OPRAVA 1 z roku 2010), která **doporučuje** pro zásobní odměrný roztok dichromanu draselného použít **poloviční množství síranu rtuťnatého.**

U normy ISO 15705 žádná podobnost v objemech a složení použitých činidel oproti zkumavkové semimikrometodě již není. Předpis je zcela jiný a dokonce je vedle dvou roztoků (roztoku dichromanu a katalyzátorového roztoku) předepsán roztok třetí, roztok síranu rtuťnatého. (Následné smísení obou roztoků, dichromanu draselného a síranu rtuťnatého, se příliš neosvědčilo. I když se ze vzniklého roztoku v lahvi žádná pevná fáze v průběhu doby nevyloučí, píst v pístoventilovém dávkovači „zatuhává“ a jeho pohyb při dávkování není pohodlný.) Oddělené dávkování síranu rtuťnatého však skýtá výhodu: pokud vzorek neobsahuje chloridy a lze kvalifikovaně odhadnout, že se v něm nevyskytují organické látky obsahující chlor, je možné dávkovat pouze odpovídající roztok kyseliny sírové, která síran rtuťnatý neobsahuje.

Rozbor složení reakční směsi ukazuje v porovnání se zkumavkovou semimikrometodou následující parametry. Koncentrace kyseliny sírové je stejná, koncentrace dichromanu draselného je vyšší (o 20 %) a koncentrace síranu stříbrného je také vyšší (o 24 %). Na základě tohoto rozboru, současně s ohledem na výsledky mezilaboratorních porovnávání zkoušek uvedených v dané normě lze konstatovat, že reakční podmínky nejsou významně odlišné od standardní titrační refluxní metody. **Problémem zůstává koncentrace síranu rtuťnatého.** Autoři normy se v tomto případě pravděpodobně inspirovali normou ISO 6060, a tak koncentrace síranu rtuťnatého je opět dvojnásobná. Bohužel, tento fakt již v ČSN ISO 15705 opraven není. Například v práci [32] bylo experimentálně dokázáno, že dávka stanovená již v práci [15] a převzatá a dodržovaná ve všech standardních titračních refluxních verzích stanovení včetně semimikrometody spolehlivě eliminuje rušivý vliv chloridů do 1000 mg/L až se stoprocentní rezervou.

Drobnou změnu by měl doznat i způsob přípravy roztoku zředěné kyseliny sírové potřebného pro přípravu vlastního roztoku síranu rtuťnatého. Jednak je zbytečně rozdělen do dvou kroků a jednak při striktním dodržení předpisu předepsaným způsobem vznikne (sice zanedbatelně, ale přesto) nedostatečný objem roztoku.

Současně by mohlo být v této normě formou národní poznámky umožněno ředění směsi po mineralizaci destilovanou vodou pro účely pohodlného zpracování roztoku v hranolových kyvetách. Jde o případ, kdy experimentátoři nemají možnost měřit přímo ve zkumavkách.

V souvislosti s výše uvedenými fakty je překvapivá informace, že na zasedání ISO ve Vídni v září 2009 bylo odsouhlaseno ustavení pracovní skupiny pro revizi ISO 15705, protože zpracování normy má určité nedostatky. Mnozí experimentátoři by zřejmě uvítali, kdyby místo zcela nového předpisu byla převzata do ISO normy lety prověřená semimikrometoda z Amerických standardních metod, která složením své reakční směsi je prakticky totožná s normou ISO 6060 a která se po určitých peripetiích úspěšně ujala na mnoha pracovištích od Šumavy k Tatrám.

REAKČNÍ PODMÍNKY

V případě porovnávání různých modifikací původní klasické (standardní) metody pro stanovení $CHSK_{Cr}$ je nutno brát úvahu základní chemické a fyzikální parametry ovlivňující kinetiku procesu, tj. především:

- koncentraci dichromanu draselného v reakční směsi,
- koncentraci kyseliny sírové v reakční směsi,
- dobu varu (oxidace),
- teplotu,
- katalyzátor.

Jestliže se hodnoty z některého z uvedených parametrů podstatně liší od standardní metody, nelze očekávat úplnou shodu výsledků. **Pokud mají být dosaženy srovnatelné výsledky, nelze hodnoty jednotlivých parametrů libovolně měnit.** Proto např. nebyla v ČR původní oborová norma TNV 75 7520 Jakost vod – Stanovení chemické spotřeby kyslíku dichromanem ($CHSK_{Cr}$) z roku 2002 převedena na ČSN, protože v postupu B byla předepsána doba varu jen 0,5 h, což je hodnota výrazně odchylná od standardního postupu. Praxe ukazuje, že normy ČSN ISO 6060 a ČSN ISO 15705 pokrývají potřeby praxe pro stanovení $CHSK_{Cr}$.

Co se týče vlivu síranu rtuťnatého na kinetiku procesu, již v práci [33] bylo prokázáno, že jeho vliv na stupeň oxidace je nulový.

Tabulka I: Porovnání koncentrací klíčových složek stanovení $CHSK_{Cr}$ v reakční směsi podle daného předpisu

	$\rho(K_2Cr_2O_7)$	$w(H_2SO_4)$	$\rho(Ag_2SO_4)$	$\rho(Hg_2SO_4)$	max-CHSK *)	max-Cl^- **)	max_{ST}-Cl^- ***)
	[g/L]	[%]	[g/L]	[g/L]	[mg/L]	[mg/L]	[mg/L]
Moore 1949	2,2	62,2	0	0	1000	0	0
Moore 1951	2,2	62,2	7,2	0	1000	0	0
ASM 1955, 1960	2,2	62,2	7,2	7,2	1000	0	0
Dobbs 1963	2,2	62,2	5,4	7,2	1000	2000	4780
ASM 1965 až 2005	2,2	62,2	5,4	7,2	1000	2000	4780
ČSN 83 0540 1982	2,2	62,2	7,2	7,2	1000	1000	4780
ASM SM 2005	2,2	61,8	5,0	7,1	1000	1000	4780
ISO 6060	2,1	62,2	5,4	14,2	960	1000	9561
ČSN ISO 6060 (dle NP)	2,1	63,4	5,4	7,1	960	1000	4780
ISO 15705	3,0	62,0	6,2	16,4	1200	1000	9561

*) **max-CHSK** – maximální možná stanovitelná hodnota CHSK

) **max-Cl^- – maximální **deklarovaná** koncentrace chloridů eliminovaná předepsanou dávkou síranu rtuťnatého

***) **max_{ST}-Cl^-** – **stechiometrická** teoretická koncentrace chloridů odpovídající dávce síranu rtuťnatého (na chlorid rtuťnatý)

(ASM – Americké standardní metody;
ASM SM 2005 – Americké standardní metody z roku 2005 (semimikrometoda);
ČSN ISO 6060 (dle NP) – přihlédnutí k národní poznámkám (způsob přípravy roztoku síranu stříbrného v koncentrované kyselině sírové a složení roztoku se síranem rtuťnatým)

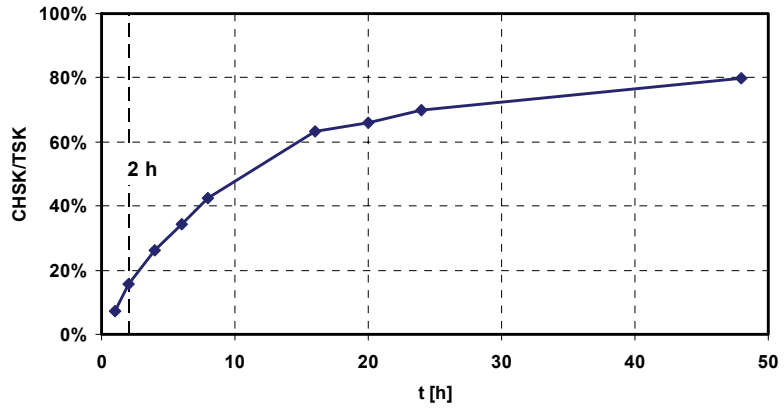
Z výše uvedené **tabulky I** je vidět, že **koncentrace dichromanu draselného v reakční směsi** je v „tradičních" metodách stejná. Určité zvýšení v ISO 15705 nemá na výsledky žádný vliv a toto zvýšení bylo patrně ovlivněno snahou rozšířit horní mez stanovení $CHSK_{Cr}$ spolehlivě na 1000 mg/L. Vliv koncentrace dichromanu draselného

na účinnost oxidace v modifikovaných metodách pro stanovení nízkých hodnot $CHSK_{Cr}$ založených například na měření absorbance při vlnové délce 440 nm, ve kterých se používá řádově nižší koncentrace dichromanu, bude předmětem dalšího výzkumu.

Koncentrace kyseliny sírové v reakční směsi, která u refluxních metod určuje teplotu varu směsi, je také ve všech popsaných metodách neměnná. Při této příležitosti je třeba se kriticky vyjádřit k národní poznámce v ČSN ISO 6060 na straně 8. Jak už zde bylo řečeno, tato národní poznámka umožňuje přípravu roztoku síranu stříbrného přímo v koncentrované kyselině sírové bez přídavku vody, byť na první pohled zanedbatelného množství. Při použití takto připraveného katalyzátorového roztoku se však zvýší koncentrace kyseliny sírové v reakční směsi ze zamýšlených 62,2 % na 63,4 % a tím dojde i k ovlivnění bod varu reakční směsi. Experimentálně bylo ověřeno, že bod varu se zvýší o cca 2,5 °C. V níže uvedeném odstavci o vlivu teploty na stanovení $CHSK_{Cr}$ si lze učinit představu, do jaké míry může být tento „nepatrný detail“ závažný. Nutno přiznat, že i u zkumavkové semimikrometody [19] je koncentrace kyseliny sírové v reakční směsi mírně odlišná, avšak teplota mineralizace není dána teplotou bodu varu směsi, ale nastavenou teplotou mineralizačního zařízení. Ještě po mnoha letech od vzniku semimikrometody vzbudí úsměv přepočítání dávky kyseliny sírové pro přípravu oxidačního roztoku, kdy se při zvýšení dávkovaného objemu z původních 167 mL na 187 mL docílí prakticky stejné koncentrace kyseliny sírové v reakční směsi jako je u standardní titrační refluxní metody.

Pokud se týká vlivu doby varu na stupeň oxidace organických látek při standardní metodě, je k dispozici řada zajímavých výsledků dokládajících, že doba varu patří mezi významné ukazatele, viz například práce [34] (Chudoba). Ukazuje se, že některé sloučeniny se sice oxidují, avšak za uzančních podmínek standardní metody jen velmi obtížně. Vliv chemické struktury je významný. Příkladem je relativní chemická stabilita ethylaminu na rozdíl od poměrně snadné oxidace propylaminu a butylaminu. Z výsledků výše uvedené práce je patrné, že v případě butylaminu doba varu 0,5 h nestačí pro úplnou oxidaci této sloučeniny. Chemická stabilita derivátů pyridinu je v organické chemii a při stanovení $CHSK_{Cr}$ všeobecně známá. Avšak i zde se výrazně uplatňuje doba varu. I kyselina pyridin-3-karboxylová (nikotinová) a methylpyridiny se oxidují velmi pomalu. Stupeň oxidace závisí do značné míry na počtu substituentů na pyridinovém jádře. Čím je počet substituentů větší, tím jsou tyto sloučeniny snáze oxidovatelné. Nejedná se o žádné nové zjištění, protože relativní stabilita sloučenin pyridinu vůči oxidaci (na rozdíl od benzenu) je v organické chemii již dlouho známa [35, 36]. Dalším sloučeninám, u nichž se autoři věnovali závislosti bodu varu na stupni oxidace, je věnována práce [37].

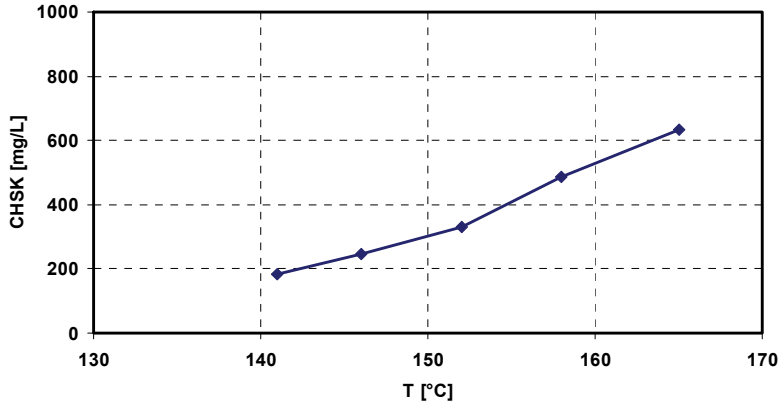
Pro ilustraci byla dle normy ISO 15705 stanovena a ověřena rychlost oxidaci kyseliny nikotinové (obr. 1).



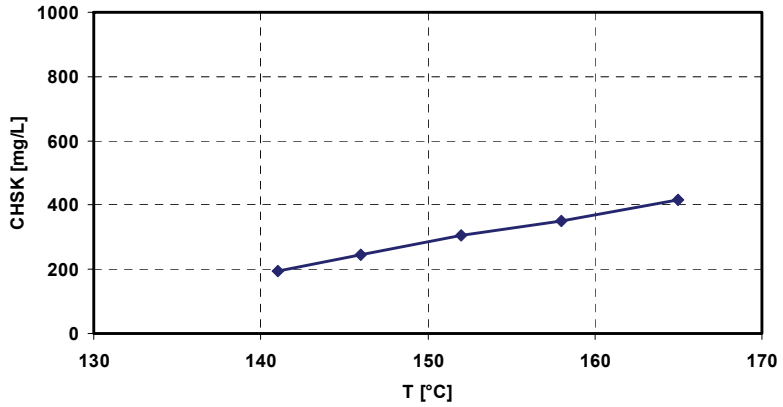
Obr. 1: Rychlost oxidace kyseliny nikotinové

Teplota varu reakční směsi je dána teplotou varu dané směsi za atmosférického tlaku. Teplota varu kyseliny sírové o koncentraci 62,2 % je cca 144 °C. Vlivem obsahu solí v reakční směsi se teplota varu zvýší a experimentálně bylo ověřena hodnota 148 °C. Tato teplota pak určuje teplotu mineralizace v případě zkumavkových metod. V případě použití mineralizačních zařízení různé konstrukce je proto důležité, aby tato teplota byla s minimálním rozptylem dosažena v reakční směsi. Je proto nanejvýš nutné tuto teplotu vždy ověřit, bez ohledu na hodnotu teploty nastavitelnou na zařízení a případně zobrazovanou na displeji. Z tohoto důvodu je nutné též zajistit, aby teplota mineralizace byla dosažena v celém objemu směsi.

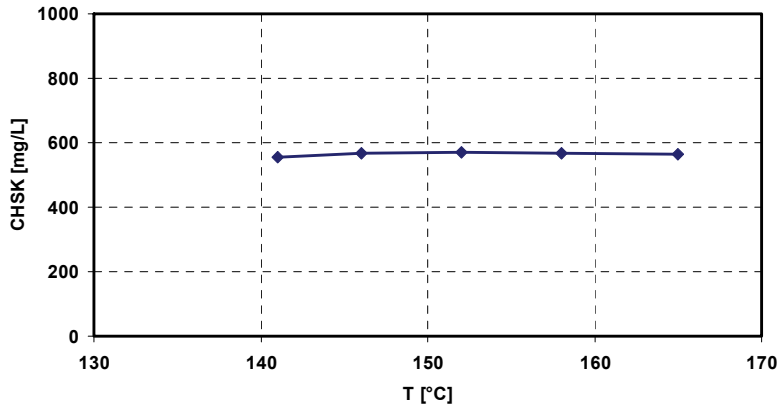
Pro studium vlivu teploty na stupeň oxidace byly vybrány tři sloučeniny: kyselina nikotinová, ethylpyridiniumchlorid a hexadecylpyridiniumchlorid. U těchto látek byla stanovena $CHSK_{Cr}$ dle normy ISO 15705, avšak při různých teplotách. Výsledku jsou shrnuty na následujících obrázcích 2 až 4.



Obr. 2: Vliv teploty mineralizace na stanovení $CHSK_{Cr}$ roztoku kyseliny nikotinové



Obr. 3: Vliv teploty mineralizace na stanovení $CHSK_{Cr}$ roztoku ethylpyridinium chloridu



Obr. 4: Vliv teploty mineralizace na stanovení $CHSK_{Cr}$ roztoku hexadecylpyridinium chloridu

Z průběhů závislosti $CHSK_{Cr}$ na teplotě mineralizace je patrné, že teplotu mineralizace nelze podceňovat. Hrubým odhadem lze stanovit, že u kyseliny nikotinové je v testovaném rozmezí teplot gradient zvyšování $CHSK_{Cr}$ 20 mg/l na 1 °C. U ethylpyridinium chloridu je tento gradient $CHSK_{Cr}$ 9 mg/l na 1 °C. Hodnota $CHSK_{Cr}$ hexadecylpyridinium chloridu není v daném rozmezí teplot ovlivněna. Nepochybně je stupeň oxidace ovlivněn stejnými důvody, které jsou zmíněny v odstavci o vlivu doby varu. S ohledem na charakter testovaných sloučenin není třeba nijak dramatizovat uvedené výsledky, nicméně se ukazuje, že teplota mineralizace by zejména v případě organicky znečištěných průmyslových odpadních vod neměla být podceňována. Zároveň je třeba zvážit, zda teplotní interval (150 °C ± 5 °C) předepsaný v normě ISO 15705 pro ohřev mineralizačního zařízení není příliš velkorysý a zda by nebylo dobré se přece jenom inspirovat v Amerických standardních

metodách, v kterých je interval menší (150 °C ± 2 °C). Obdobně tomu bylo i v literatuře [38]. Při současném stavu regulační techniky a po zkušenostech s komerčními zařízeními by mohl být tento interval ještě menší, např. 150 °C ± 0,5 °C. Komerčně jsou dostupná zařízení, která pro stanovení $CHSK_{Cr}$ mají regulaci nastavenou přesně na 148 °C, kdy při jejich provozu prakticky nedochází ke kolísání teploty. Stále je ale potřebné se i v případě takto kvalitních zařízení vhodným způsobem přesvědčit a ověřit teplotu reakční směsi přímo ve zkumavce.

Vlivu katalyzátoru se obšírně věnují například práce již z roku 1966 [2, 33]. Ukazují, že síran stříbrný je katalyzátorem nejúčinnějším a dokonce v práci [39] je konstatováno s určitou mírou zklamání, že alternativu k síranu stříbrnému se nalézt nepodařilo. Lze také zaznamenat snahy o omezení dávky a tím i koncentrace síranu stříbrného v reakční směsi. I když by z hlediska fyzikálně-chemického neměla mít koncentrace katalyzátoru vliv na průběh reakce, historie stanovení $CHSK_{Cr}$ ukazuje, že významnější snížení dávky se vůbec neujalo. To dokresluje i případ z minulosti při zavádění zkumavkové semimikrometody do praxe v Československu. V již zmíněné práci [21] autoři modifikují základní předpis formulovaný v literatuře [9] tím způsobem, že změnili pouze koncentraci roztoku síranu stříbrného v koncentrované kyselině sírové z 9,78 g/L na 4,76 g/L. Bohužel bylo toto snížené množství převzato i do knihy [17], včetně jejího druhého vydání v roce 1989. Po svých zkušenostech se však nejen autoři, ale i další experimentátoři rychle vrátili již v průběhu osmdesátých let k dodnes používané koncentraci 10 g/L.

ZÁVĚRY

Při posuzování organického znečištění odpadních a povrchových vod má souběžné stanovení sumy organických látek, vyjádřené jako $CHSK_{Cr}$ a TOC (DOC), svůj praktický i teoretický význam. Oba ukazatele vystihují různé vlastnosti organických látek a měly by být stanovovány současně. Poměr $CHSK_{Cr}$ a TOC je mírou stupně, do jakého jsou organické látky oxidovány (stabilizovány).

S ukončením platnosti normy TNV 75 7520 koncem roku 2010 mají hydroanalytické laboratoře pro stanovení $CHSK_{Cr}$ oporu prakticky pouze v normách ISO 6060 a ISO 15705 (obě i v překladu jako ČSN).

Norma ISO 6060 zahrnuje plnohodnotnou náhradu standardní titrační metody, pro kterou jsou k dispozici údaje o širokém spektru organických látek shrnuté v obsáhlých tabulkách. Pro plnou shodu ve složení reakční směsi se standardní titrační metodou je však potřeba do původní anglické verze při revizi prosadit sníženou dávku síranu rtuťnatého tak, jak je publikováno v národní poznámce ve znění opravy 1 k normě ČSN ISO 6060. Na druhou stranu by z důvodu dodržení stejných reakčních podmínek bylo vhodné zrušit národní poznámku v ČSN ISO 6060 „usnadňující“ způsob přípravy roztoku síranu stříbrného v koncentrované kyselině sírové.

Pokud dojde u normy ISO 15705 resp. ČSN ISO 15705 k obdobné úpravě ve snížení dávky síranu rtuťnatého, pak budou reakční podmínky prakticky stejné jako ve standardní titrační metodě a není důvod pochybovat o srovnatelnosti výsledků. Otázkou zůstává, zda jsou naprosto stejné reakční podmínky dodrženy u všech komerčně dodávaných sad zkumavkových metod, které v dané normě mají významné zastání. Dále doporučujeme, aby byl upraven do jednoho kroku způsob přípravy roztoku síranu rtuťnatého ve zředěné kyselině sírové.

Vedle potřeby dodržení chemických parametrů daných vlastním předpisem, je třeba zdůraznit nutnost dodržení i parametrů fyzikálních. Důležité je nejen dodržení doby varu, které je v historii a i v současnosti věnována v publikacích dostatečná pozornost, ale nelze také podceňovat teplotu mineralizace, jejíž předepsaná hodnota musí být dosažena spolehlivě ve vlastní reakční směsi (bez ohledu na nastavení na minaralizačním zařízení), a to v celém objemu reakční směsi, tzn. aby kapalina ve zkumavce byla dokonale „ponořená“ do nitra mineralizačního zařízení.

Stále je třeba mít na paměti, že standardní metoda je metoda uzanční a pokud tedy mají být výsledky získané jejími modifikacemi srovnatelné, nelze jednotlivé parametry (koncentraci dichromanu v reakční směsi, koncentraci kyseliny sírové, dobu oxidace, teplotu, katalyzátor) v širších mezích libovolně měnit.

PODĚKOVÁNÍ

Příspěvek byl vypracován v rámci řešení výzkumného záměru MSM 6046137308 a grantu GAČR 203/09/1349.

LITERATURA

[1] Pitter, P., *Hydrochemie*. 4. ed.; VŠCHT: Praha, 2009.

[2] Palatý, J.; Baborovský, J., Catalytic effect of some salts on determination of the chemical oxygen demand. *Chemistry and Industry,* **1966**, 829.

[3] Zhang, J.; Zhou, B.; Zheng, Q.; Li, J.; Bai, J.; Liu, Y.; Cai, W., Photoelectrocatalytic COD determination method using highly ordered TiO_2 nanotube array. *Water Research,* **2009,** *43* (7), 1986-1992.

[4] Baker, J. R.; Milke, M. W.; Mihelcic, J. R., Relationship between chemical and theoretical oxygen demand for specific classes of organic chemicals. *Water Research,* **1999,** *33* (2), 327-334.

[5] Türkölmez, S., Vergleichende Untersuchungen über das Ausmass der Erfassung organischer Verbidungen in der Industrieabwässern durch oxydative methoden und durch die Bestimmung des gelösten organischen Kohlenstoffes. *Vom Wasser,* **1964,** *31*, 153-180.

[6] Moore, W. A., Dichromate reflux method for determination of oxygen consumed effectiveness in oxidation of organic compounds. *Analytical Chemistry,* **1949,** *21* (8), 953-957.

[7] Moore, W. A.; Ludzack, F. J.; Ruchhoft, C. C., Determination of oxygen-consumed values of organic wastes: A comparative study of methods. *Analytical Chemistry,* **1951,** *23* (9), 1297-1300.

[8] Adeney, W. E.; Dawson, B. B., The estimation of organic mater in water by means of potassium bichromate and sulphuric acid. *Scientific Proceedings of the Royal Dublin Society,* **1926,** *XVIII* (17), 199-202.

[9] Jirka, A. M.; Carter, M. J., Micro semi-automated analysis of surface and wastewaters for chemical oxygen demand. *Analytical Chemistry,* **1975,** *47* (8), 1397-1402.

[10] ČSN ISO 15705. Jakost vod - Stanovení chemické spotřeby kyslíku ($CHSK_{Cr}$) - Metoda ve zkumavkách. 2008.

[11] Muers, M. M., The biological purification of whey solutions. *Journal of the Society of Chemical Industry,* **1936,** *55*, 71T - 77T.

[12] Ruchhoft, C. C., Letter to the editor [3]. *Analytical Chemistry,* **1950,** *22* (6), 846.

[13] Oxygen Consumed (COD). In *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 10 ed.; Amer. Publ. Health Assoc.: New York, 1955; pp 332-335.

[14] Oxygen Demand (Chemical). In *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 11 ed.; Amer. Publ. Health Assoc.: New York, 1960; pp 399-402.

[15] Dobbs, R. A.; Williams, R. T., Elimination of chloride interference in the chemical oxygen demand test. *Analytical Chemistry,* **1963,** *35* (8), 1064-1067.

[16] ČSN 83 0540 část 8. Chemický a fyzikální rozbor odpadních vod; Stanovení oxidovatelnosti dichromanem - ChSK(Cr). 1982.

[17] Horáková, M.; Lischke, P.; Grünwald, A., *Chemické a fyzikální metody analýzy vod*. 1. ed.; SNTL/ALFA: Praha, Bratislava, 1986.

[18] Horáková, M.; Lischke, P.; Grünwald, A., *Chemické a fyzikální metody analýzy vod*. 2. ed.; SNTL/ALFA: Praha, Bratislava, 1989.

[19] 5220 Chemical oxygen demand (COD). In *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21 ed.; Amer. Publ. Health Assoc.: Washington, 2005; pp (5)14-(5)19.

[20] Gaudy, A. F., Jr.; Ramanathan, M., A Colorimetric Method for Determining Chemical Oxygen Demand. *Journal (Water Pollution Control Federation),* **1964,** *36* (12), 1479-1487.

[21] Hejzlar, J.; Chudoba, J.; Chudoba, P. In *Příspěvek ke stanovení CHSK dichromanovou metodou*, Hydrochémia '82, Bratislava, ČSVTS: Bratislava, 1982; pp 129-144.

[22] 508 Oxygen Demand (Chemical). In *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 15 ed.; Amer. Publ. Health Assoc.: Washington, 1980; pp 489-493.

[23] APHA, 5220 Chemical oxygen demand (COD). In *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 18 ed.; Amer. Publ. Health Assoc.: Washington, 1992; pp (5)6-(5)10.

[24] ASTM, D 1252 – 06. Standard Test Methods for Chemical Oxygen demand (dichromate Oxygen Demand) of Water. 2009.

[25] U.S. Environmental Protection Agency: 410.4 The determination of Chemical Oxygen Demand by Semi-Automated Colorimetry. In *Methods and Guidance for the Analysis of Water*, 1999.

[26] U.S. Environmental Protection Agency: 410.1 The determination of COD Mid Level (Titrimetric). In *Methods and Guidance for the Analysis of Water*, 1999.

[27] TNV 75 7520. Jakost vod - Stanovení chemické spotřeby kyslíku dichromanem ($CHSK_{Cr}$) 1998. 1998.

[28] ČSN ISO 6060. Jakost vod - Stanovení chemické spotřeby kyslíku. 2008.

[29] ISO 6060. Water quality - Determination of the chemical oxygen demand. 1989.

[30] ISO 15705. Water quality — Determination of the chemical oxygen demand index (ST-COD) — Small-scale sealed-tube method. 2002.

[31] DIN 38 409, Teil 41. Bestimmung des Chemischen Sauerstoffbedarfs (CSB) um Bereich über 15 mg/l. 1980.

[32] Sýkora, V.; Schejbal, P. In *Příspěvek ke stanovení CHSK-Cr ve zkumavkách*, Hydrochémia '96, Bratislava, ČSVTS: Bratislava, 1996.

[33] Palatý, J.; Bartošová, V., Stanovení chemické spotřeby kyslíky dvojchromanovou metodou. II. Katalytický účinek některých kovových solí. *Sborník VŠCHT, Technologie vody,* **1969,** *F 15*, 107-149.

[34] Chudoba, J.; Zeis, K., Kinetics of Oxidation of Lower Aliphatic Amines and Pyridine Derivatives by the Dichromate Method. *Acta hydrochimica et hydrobiologica,* **1975,** *3* (3), 275-282.

[35] Červinka, O.; Dědek, V.; Ferles, M., *Organická chemie*. SNTL/ALFA: Praha, Bratislava, 1980.

[36] Hudlický, M.; Trojánek, J., *Preparativní reakce v organické chemii. Díl I.: Redukce a oxidace*. Nakladatelství ČAV: Praha, 1953.

[37] Cypris, M.; Grubl, J.; Sýkora, V., Závislost doby varu na stanovení CHSK(Cr) vybraných kvarterních pyridiniových solí. In *Hydroanalytika 2011*, Sýkora, V.; Kujalová, H., Eds. Hradec Králové, 2011; pp 189-193.

[38] TNV 75 7520. Jakost vod - Stanovení chemické spotřeby kyslíku dichromanem ($CHSK_{Cr}$). 2002.

[39] Moore, L., Alternatives to a silver catalyst in chemical oxidation demand analysis. *Journal of the Water Pollution Control Federation,* **1976,** *48* (10), 2327-2331.

MOŽNOSTI A LIMITY VYUŽITÍ TECHNIKY ICP-MS VE VODOHOSPODÁŘSKÉ LABORATOŘI

Jan Válek, Alena Kočová

Vodohospodářská laboratoř Praha, Povodí Vltavy, státní podnik, Na Hutmance 5a, 158 00 Praha 5
jan.valek@pvl.cz, alena.kocova@pvl.cz

1. ÚVOD ICP-MS OBECNĚ

Následující příspěvek vychází z praktických zkušeností s používáním techniky ICP-MS pro rutinní analýzy vzorků životního prostředí a neklade si za cíl komplexně popsat velice širokou problematiku analytické techniky ICP-MS, ale spíše poukázat na některá úskalí, ale zároveň i výhody používání této techniky v analytické praxi běžné vodohospodářské laboratoře.

Ve vodohospodářské laboratoři Povodí Vltavy, s.p. máme zkušenosti s používáním kvadrupólového ICP-MS Agilent 7500ce s kolizně-reakční celou od roku 2005, kdy jsme technikou ICP-MS nahradili kapacitně nevyhovující přístrojovou techniku AAS.

2. ICP-MS OBECNĚ

Metoda ICP-MS je založena na atomizaci a následné ionizaci aerosolu vzorku, vnášeného do indukčně generovaného a vázaného argonového plazma o teplotě až 10 000°C. Tenký paprsek iontů je pak přímo z plazmatu vysokou rychlostí nasáván malým otvorem kuželovitého sampleru do vakua hmotnostního spektrometru. Iontový paprsek prochází na cestě do analyzátoru elektromagnetickými čočkami a v případě kvadrupólových ICP-MS i kolizně-reakční celou, sloužící k odstraňování některých rušivých vlivů. Fokusovaný a v případně kvadrupólových ICP-MS také „vyčištěný“ iontový paprsek vstupuje do analyzátoru. Ty pracují na různých principech. V případě kvadrupólových analyzátorů propustí analyzátor v daný okamžik pouze ionty určitého poměru hmotnosti a náboje - m/z. U průletových analyzátorů - TOF rozdělí letící ionty dle poměru m/z v čase. U sektorových analyzátorů s vysokým rozlišením rozdělí ionty dle poměru m/z v prostoru. Ionty po průchodu analyzátorem dopadají na detektor, který dopad iontů převede na elektrický signál.

Příspěvek se bude v dalším textu zabývat problematikou kvadrupólových ICP-MS, které jsou aktuálně nejpoužívanější technikou ICP-MS ve vodohospodářských laboratořích a to díky své universální použitelnosti pro analýzy vzorků životního prostředí a současně také díky přijatelné pořizovací ceně.

Problematika práce na dalších typech ICP-MS např. TOF je významně odlišná. Společné mají tyto techniky ICP-MS jen základní problémy s rušivými vlivy spektrálními i nespektrálními a samozřejmě oblast přípravy vzorků pro analýzu. Vzhledem k tomu, že s technikou TOF-ICP-MS nemáme vlastní zkušenosti, nebudu se jí dále zabývat.

Využití ICP-MS jako universální rutinní analytické techniky ve vodohospodářských laboratořích a v analytice vzorků životního prostředí obecně, je podmíněno možností účinné universální eliminace rušivých vlivů, spojených se silně proměnným a často také neznámým složením matrice vzorků životního prostředí. Využití ICP-MS v rutinních analýzách vzorků životního prostředí se tak ve větší míře objevuje až s technickým pokrokem v oblasti potlačování spektrálních rušivých vlivů. Z tohoto pohledu se stále ještě jedná o relativně novou techniku, která přináší nové aplikační příležitosti. Pro kvadrupólová ICP-MS je z pohledu eliminace rušivých vlivů stěžejní součástí dobře fungující kolizní nebo reakční cela. V opačném případě je prakticky vyloučená úspěšná analýza celé řady prvků, jejichž signál je významně překrytý rušivými vlivy, které nejsou vždy plně popsány a mohou být vzorek od vzorku velice proměnlivé. Konkrétní technické řešení kolizně-reakční cely v určitém přístroji ICP-MS je otázkou patentů jednotlivých výrobců a tak se ve svých vlastnostech a funkčnosti mezi jednotlivými výrobci ICP-MS relativně významně liší. Je důležité zmínit, že mezi jednotlivými přístroji ICP-MS najdeme funkčně větší rozdíly, než na které jsme běžně zvyklí např. u techniky AAS. Z tohoto důvodu je nutno uvést, že uvedené příklady a aplikace jsou platné pro ICP-MS výrobce Agilent a nelze zcela zaručit,že je možné je úspěšně aplikovat i na jiné přístroje ICP-MS.

3. ZÁKLADNÍ VÝHODY A NEVÝHODY ICP-MS

Největší výhodou metody ICP-MS je simultánní charakter analýzy přes celý rozsah hmotnostního spektra při velmi vysoké citlivosti, universálnosti a relativně vysoké kapacitě zpracování vzorků. Výhodou je také široký lineární rozsah kalibrací, běžně přes 6 a více řádů. Při dobře fungující kolizní cele a správném nastavení přístroje pak také výborná matriční robustnost měření. S trochou nadsázky lze konstatovat, že na běžnou kalibraci pro vodné vzorky lze s přijatelnou chybou úspěšně současně změřit sadu vzorků obsahující pitné a odpadní vody, lučavkové výluhy sedimentů i rozložené biologické vzorky.

Hlavní nevýhodou instrumentace ICP-MS pak je, kromě vyšších pořizovacích i provozních nákladů a významně vyšších nároků na zkušenost obsluhy přístroje, zejména velice široké spektrum rušivých vlivů, které je nezbytné při analýze dostatečně eliminovat. Rušivé vlivy jsou v ICP-MS velice proměnné, často jen těžko předvídatelné a není vždy snadné je vůbec identifikovat, tím mají zcela zásadní vliv na kvalitu produkovaných výsledků.

4. RUŠIVÉ VLIVY V ICP-MS A MOŽNOSTI JEJICH ELIMINACE

Rušivé vlivy v ICP-MS lze rozdělit do dvou základních kategorií - na spektrální a nespektrální. V každé kategorii zmíním nejdůležitější rušivé vlivy z pohledu rutinních analýz vzorků životního prostředí.

Spektrální rušivé vlivy:

- polyatomové (molekulární) ionty, tvořící se ve vysokoteplotním plazma z nosného plynu argonu, kyslíku z molekul vody a makroprvků matrice (např. Cl, N, S, C, Si), se stejnou hmotností jako má izotop analytu
- dvojnásobně nabité ionty, které se při poměru m/c detekují jako izotopy s poloviční hmotností než má dvojnásobně nabitý iont
- izotopy jiného prvku se stejnou hmotností jako má izotop analytu

Možností eliminace zejména největšího problému - polyatomových iontů je několik, např. chlazení rozprašovací komory, minimalizace obsahu chloridů, desolvatace aerosolu, matematické korekční rovnice, volba alternativního izotopu daného prvku s jinou hmotností – všechny tyto postupy však odstraňují vždy jen část problémů a předpokládají znalost a případně také stálost složení matrice vzorků. Někdy také znamenají nárůst jiných problémů při analýze. Pro rutinní multiprvkové analýzy vzorků životního prostředí nejsou tyto postupy eliminace rušivých vlivů dostatečné a vyhovující, přestože je norma ČSN EN ISO 17294-1 zmiňuje.

Universální a dostatečně účinnou možnost eliminace spektrálních rušivých vlivů umožňují:

- přístroje ICP-MS s vysokým rozlišením (vysoká pořizovací cena pro rutinní analýzy vzorků životního prostředí)
- dobře fungující kolizní nebo reakční cely u kvadrupólových ICP-MS

Použití cely v reakčním modu s reakčními plyny má však určitá omezení, protože při reakcích jsou sice některé rušivé vlivy potlačeny, ale naopak mohou také neočekávaně, na základě složení matrice vzorku, vznikat některé nové polyatomové ionty, které ruší stanovení dalších prvků. Použití reakční cely není proto zcela universální a je vhodné jen pro stanovení určitých prvků.

Opravdu universální způsob odstraňování spektrálních rušivých vlivů představuje pro kvadrupólová ICP-MS v současné době kolizní cela v čistě kolizním modu s inertním He, pracující pouze na fyzikálních základech, kdy nevznikají nové polyatomové ionty. V kolizním modu jsou uspokojivě potlačovány rušivé vlivy pro všechny prvky přes celé hmotnostní spektrum současně.

Pro příklad – v našich aplikacích používáme reakční mod cely s reakčním plynem H_2 pouze při stanovení Se a kolizní mod s inertním He pro současné stanovení dalších cca 30 prvků.

Nespektrální rušivé vlivy (obecně vlivy matrice vzorku)

- při zmlžování mohou rušivě působit zejména rozdíly v obsahu rozpuštěných látek, kyselin a jejich koncentrací mezi roztokem vzorku a standardu (viskozita, povrchové napětí, hustota)
- rušivé vlivy vznikající při dějích v plazmatu, zejména pro prvky s vysokým ionizačním potenciálem např. P, Cd, As, Se, které jsou ionizovány neúplně, s výtěžností i menší než 20%. Dle našich zkušeností např. při stanovení P působí rušivě již relativně malé rozdíly v koncentraci HNO_3 mezi vzorky. To může být dáno ovlivněním ionizace P, ale také se může jednat o spektrální rušení polyatomovými ionty na bázi NO, zejména pro velmi nízké koncentrace fosforu na mezi stanovitelnosti, případně také o kombinaci obojího
- nestabilita nasávání vzorku peristaltickým čerpadlem

Možností eliminace nespektrálních rušivých vlivy je několik

- dodržení shodného matričního složení vzorků a standardů (to je reálné pouze pro používaná množství konzervačních či rozkladných kyselin)
- ředění vzorků - často představuje velice účinný a jednoduchý způsob eliminace rušivých vlivů
- využití korekce signálu na vnitřní standardy (referenční prvky), přidané nebo častěji současně nasávané v konstantní koncentraci během celé analýzy se standardy i se vzorky. Použití vnitřních standardů má však několik podmínek – zejména zanedbatelnou koncentraci referenčních prvků ve vzorcích. Dále je při volbě referenčního prvku nutné mít na paměti pravidlo podobnosti – analyzovaný prvek a referenční prvek by si měli být co nejpodobnější hmotnostně a zejména velikostí svého ionizačního potenciálu. Jen v tom případě

může korekce na vnitřní standardy poskytovat správné výsledky. I při dodržení všech podmínek však korekce na vnitřní standardy zdaleka ne vždy musí poskytnout stoprocentní výsledky. Za různých okolností může docházet k nedokorigování , ale někdy také k překorigování signálu. V těchto případech vždy záleží na zkušenosti a také pozornosti obsluhy ICP-MS zda tuto skutečnost v rámci vyhodnocení analýzy identifikuje a eliminuje

– na stabilitě dávkování vzorku peristaltickým čerpadlem je přímo závislá úspěšnost celého měření, proto je velmi užitečné průběžně monitorovat a zaznamenávat stabilitu průtoku vhodným průtokoměrem, vloženým mezi peristaltické čerpadlo a zmlžovací komoru.

Základní podmínkou pro úspěšnou eliminaci rušivých vlivů je pak správné seřízení - naladění přístroje ICP-MS před analýzou – optimalizace průtoku vzorku, průtoku nosného plynu, výkonu plazmatu, hloubky vzorkování iontů, nastavení čoček, nastavení kolizně-reakční cely a průtoku kolizního plynu He a reakčních plynů (nejčastěji H_2 a NH_3), nastavení detektoru. Při ladění se používá roztok vhodných prvků a na vybraných hmotách se sleduje citlivost v celém rozsahu hmotností, tvorba oxidů a dvojnásobně nabitých iontů, stabilita odezvy přístroje, úroveň eliminace rušivých vlivů v kolizně-reakční cele atd.

Při ladění podmínek měření na kvadrupólových ICP-MS velice často maximalizace jedné složky způsobuje pokles nebo zhoršení jiné vlastnosti – pro správné naladění přístroje se vždy musí jednat o optimalizaci všech požadovaných složek na přijatelné hodnoty.

5. ZÁSADY RUTINNÍ PRÁCE NA ICP-MS

Každodenní rutinní práce s přístrojem ICP-MS zahrnuje pravidelnou údržbu přístroje, což je nejčastěji čistění vstupních kónusů přístroje, kterými je nasáván úzký paprsek iontů přímo z plazmatu do přístroje. Vstupní kónusy je potřeba čistit cca po 200 – 500 vzorcích, protože na nich dochází postupně k depozici pevných úsad z plazmy (zejména u zasolených vod nebo třeba lučavkových výluhů zemin) a to způsobuje změnu velikosti a tvaru vstupní štěrbiny. To má rostoucí vliv na změnu podmínek počátečního naladění přístroje a tím na stabilitu měření. Kontrola ladění nebo celkové nové naladění přístroje probíhá po každé větší sadě (100 – 180) vzorků a představuje zásadní krok přípravy přístroje na analýzu, rozhodující o správnosti měřených dat v následující sadě vzorků. Při ladění se nastavuje potřebná citlivost přístroje a zároveň také dostatečná úroveň eliminace rušivých vlivů. Tyto dva způsoby naladění přístroje však jdou proti sobě. Při naladění přístroje na maximální dosažitelnou citlivost se objevují výraznější rušivé vlivy, naopak při naladění na maximální potlačení rušivých vlivů významně klesá citlivost. Vždy je tak nutné volit kompromis mezi nastavením citlivosti odezvy přístroje a úrovní eliminace rušivých vlivů. Pro vzorky s neznámým složením matrice, což je i většina vzorků z monitorování složek životního prostředí je nutné používat tzv. robustní ladění přístroje ICP-MS. Přístroj je nutné dobře naladit zejména pro dostatečnou eliminaci rušivých vlivů a to i za cenu většího potlačení citlivosti. Pro většinu prvků je naštěstí rezerva v citlivosti stanovení, pro účely běžných analýz vzorků životního prostředí, více než dostatečná. Pozornost je potřeba dát zda zůstala dostatečná citlivosti pro stanovení prvků s vysokou ionizační energií, jejichž výtěžnost ionizace v plazmě je nízká a požadované meze stanovitelnosti jsou relativně blízko mezi detekce přístroje, toto platí např. pro P, Se a Be.

Vlastní měření vzorků probíhá v sadách obsahujících až 180 vzorků. Vzhledem k době nutné pro změření 1 vzorku cca 3 – 5 minut (nasátí, ustálení, měření, proplach), probíhá měření sady vzorků většinou přes noc. Pokud existuje z různých důvodů pro sadu určitých vzorků pochybnost o dostatečné stabilitě měření po celou dobu měření, je vhodnější použít rozdělení sady s vložením změření nové kalibrace. Odsazené vzorky se opatrně odlévají do vialek autosampleru, většinou po předchozí mineralizaci. Filtrace mineralizovaných vzorků před analýzou je nutná jen výjimečně, v případě vzorků s obsahem zbytkových nerozpuštěných látek, které zůstávají ve vznosu a neusazují se na dně vzorkovnice.

Na začátku měřením sady vzorků probíhá kalibrace přístroje pro všechny měřené prvky (5 – 8 kalibračních bodů). Vzhledem k tomu, že se měří až 30 prvků současně, je nezbytné používat kvalitní multiprvkové kalibrační roztoky, určené pro ICP-MS. Teoreticky je možné použít i uloženou kalibraci z předchozího měření, ale prakticky je to použitelné jen pro doměření naředěných nebo opakovaných vzorků z předchozí sady. Po jakékoliv změně v ladění přístroje se změní jeho odezva a pro následně měřené vzorky je potřeba provést novou kalibraci. Po změření všech kalibračních roztoků je nutné zkontrolovat platnost všech kalibrací kontrolními vzorky a následně kontrolovat stabilitu měření a platnost kalibrací vkládáním kontrolních vzorků po každých cca 20 – 30 vzorcích a samozřejmě na konci sady vzorků. Používány jsou kontrolní vzorky několika typů – roztoky kontrolních standardů v několika úrovních koncentrací, reálné matriční vzorky vody se stabilní koncentrací analytu, vzorky z analýz okružních rozborů se známými koncentracemi a certifikované referenční materiály pro pevné matrice (sedimenty, biologické vzorky).

Po skončení měření, v rámci vyhodnocování výsledků, je nutné zkontrolovat kalibrace všech prvků, stabilitu interních standardů, výsledky kontrolních vzorků, stabilitu měření a výsledky jednotlivých vzorků (RSD, výsledky v rozsahu kalibrací). Přenos výsledků do laboratorního databázového SW probíhá pomocí exportu a

následného importu upravené tabulky v SW Excel. Jedná se o relativně velká množství dat, až 180 vzorků s kontrolami a výsledky až 30 prvků.

6. VYUŽITÍ TECHNIKY ICP-MS PŘI STANOVENÍ KOVŮ, P, SI A STANOVENÍ ROZPUŠTĚNÝCH FOREM KOVŮ A P

Využití ICP-MS v rutinní analýze vodohospodářské laboratoře je pro celý rozsah běžně stanovovaných kovů obdobné, jako u technik ICP-OES nebo AAS. Výhodou je universálnost díky vysoké citlivosti a velkému lineárnímu rozsahu kalibrací, umožňujícímu měřit v rámci jedné analýzy současně vzorky s velkými rozdíly v koncentracích daného prvku nebo např. přírodní vody s obsahem Na a Ca v desítkách až stovkách ppm vedle Cd a Be v setinách ppb.

Relativně bezproblémové je na ICP-MS stanovení bóru a křemíku a to i v nízkých koncentracích, které třeba pro metody AAS představují velký problém, v oblasti nízkých koncentracích téměř neřešitelný.

Další možností využití ICP-MS je v rámci radiochemických analýz - stanovení U a potenciálně i Th, s mezí stanovitelnosti v desetinách ppb, což metodami AAS nebo ICP-OES není rutinně možné. Pro metodu ICP-MS představuje uran naopak prvek, vzhledem ke své vysoké atomové hmotnosti, patřící mezi snadněji stanovitelné prvky s minimem rušivých vlivů a velmi dobrou citlivostí. Metoda ICP-MS také umožňuje stanovit izotopický poměr jednotlivých izotopů uranu přítomných ve vzorku.

Velice užitečnou a z mého pohledu i důležitou aplikací ICP-MS pro rutinní vodohospodářskou laboratoř je možnost stanovení obsahu celkového fosforu ve vzorku v rámci jedné analýzy spolu se stanovovanými kovy. Rozhodující výhodou stanovení P na ICP-MS je, že nezáleží na jeho chemické formě, v jaké se vzorku nachází a ve které je přiváděn k ionizaci do vysokoteplotního plazma. Jedinou podmínkou úspěšné analýzy je, že veškerý fosfor přítomný ve vzorku musí být převeden do roztoku.

Tato skutečnost pro práci v laboratoři znamená zjednodušení, protože odpadá nutnost totální mineralizace vzorku pro stanovení celkového fosforu, nezbytná pro spektrofotometrické stanovení. Pro vzorky s obsahem pevných částic stačí pouze velmi jednoduchá mineralizace vzorku, používaná před stanovením kovů, jak bude popsáno dále. Pro čiré vzorky pak není potřeba provádět žádnou mineralizaci.

Rozhodující výhodou je také vysoká citlivost stanovení celkového fosforu na ICP-MS (v rámci našich aplikací je mez stanovitelnosti fosforu 0,002 ppm). Stanovení takto nízkých koncentrací P je nezbytné např. pro monitorování nízkých koncentrací fosforu ve vodních nádržích, jako limitující základní živiny ovlivňující rozvoj řas a sinic. Stejně tak lze pomocí ICP-MS úspěšně stanovovat celkový fosfor také ve vyšších koncentracích třeba v odpadních vodách nebo v sedimentech a zeminách. V tabulce 1 jsou uveden příklad výsledků srovnávacích analýz obsahu celkového fosforu v reálných vzorcích povrchových a odpadních vod mezi ICP-MS a klasickými analytickými metodami.

Tabulka 1 – výsledky srovnávacích analýz celkového fosforu (mg/l)

ICP-MS	spektrofotometrie	CFA	matrice
0,075	0,082	0,070	povrchová voda
0,37	0,39	0,30	povrchová voda
0,046	0,044	0,043	povrchová voda
0,32	0,32		povrchová voda
1,72	1,60		povrchová voda
1,30	1,20		povrchová voda
3,2	3,1	3,1	odpadní voda
7,8	7,9	7,4	odpadní voda
0,20	0,21	0,23	odpadní voda
1,63	1,50		odpadní voda
1,99	1,80		odpadní voda
0,63	0,66		odpadní voda

Základní podmínkou pro úspěšné analýzy fosforu v nízkých koncentracích, je dodržení vysoké čistoty vzorkovnic a laboratorního nádobí, vzhledem k obecně hrozící kontaminaci fosforem při přípravě vzorkovnic nebo předúpravě vzorků. Z tohoto pohledu je výhodou společné analýzy fosforu s kovy to, že běžné postupy čištění vzorkovnic pro stanovení kovů i způsoby mineralizace vzorků jsou pro stanovení fosforu na ICP-MS

velice vhodné. V naší laboratoři byl tak přechod na měření celkového fosforu ve vzorcích odebraných a konzervovaných pro stanovení kovů velice snadný a nevyžadoval žádnou úpravu pracovních postupů, používaných pro stanovení kovů.

Vysoká citlivost ICP-MS, stabilita měření a vysoká průchodnost vzorků umožňuje také významný rozvoj analýz rozpuštěných forem kovů a celkového fosforu. Stanovení rozpuštěných forem celkového fosforu a kovů je již několik let využíváno při provozním monitoringu vodních nádrží Povodí Vltavy, s.p. Při odběru vzorků na nádržích se v několika odběrových svislicích, z různých hloubek, odebírají vzorky na stanovení Fe, Mn, příp. Al a hlavně P a to zároveň v celkovém vzorku i v rozpuštěné formě. Lze tak získat např. odlišit o podíl fosforu aktuálně vázaného v buňkách řas a dalších mikroorganismech od fosforu přítomného v rozpuštěné formě a tak snadno a rychle dostupného, jako živina pro rozvoj řas. Příklad hodnot měřených na vodních nádržích a jejich přítocích je uvedený v tabulce 2.

Tabulka 2 – příklad měřených hodnot celkových obsahů a rozpuštěných forem P a kovů ve vodních nádržích

Místo odběru	P celkový *mg/l*	P celk. rozpuštěný *mg/l*	Mangan *mg/l*	Mangan rozpuštěný *mg/l*	Železo *mg/l*	Železo rozpuštěné *mg/l*
Radbuza VN České Údolí hráz hladina	0,17	0,032	0,12	<0,01	0,37	0,02
Radbuza VN České Údolí hráz 01m	0,17	0,032	0,12	<0,01	0,36	0,02
Radbuza VN České Údolí hráz 02m	0,16	0,031	0,12	<0,01	0,38	0,02
Radbuza VN České Údolí hráz 03m	0,16	0,047	0,16	0,03	0,73	0,03
Radbuza VN České Údolí hráz 04m	0,21	0,086	0,28	0,14	1,4	0,06
Radbuza VN České Údolí hráz dno	0,25	0,067	0,43	0,33	2,0	0,07
Vltava VN Slapy hráz střed hladina	0,021	0,008	<0,01	<0,01	0,02	0,01
Vltava VN Slapy hráz střed 05m	0,026	0,008	0,01	<0,01	0,05	0,02
Vltava VN Slapy hráz střed 10m	0,016	0,011	<0,01	<0,01	0,05	0,03
Vltava VN Slapy hráz střed 20m	0,034	0,027	<0,01	<0,01	0,08	0,04
Vltava VN Slapy hráz střed 30m	0,041	0,035	<0,01	<0,01	0,09	0,05
Vltava VN Slapy hráz střed 40m	0,043	0,037	0,03	0,01	0,11	0,06
Vltava VN Slapy hráz střed dno	0,059	0,048	0,22	0,06	0,18	0,06
Litavka VN Láz hráz hladina	0,009	0,002	0,18	0,18	0,17	0,03
Litavka Brdy (přítok VN Láz)	0,006	0,003	0,09	0,09	0,17	0,12
Pilský potok VN Pilská hráz	0,007	<0,002	0,19	0,19	0,14	0,04
Pilský potok (přítok VN Pilská)	0,007	0,003	0,12	0,12	0,10	0,06
Obecnický potok VN Obecnice hráz	0,010	0,002	0,10	0,09	0,17	0,09
Obecnický potok (přítokVN Obecnice)	0,008	0,003	0,04	0,03	0,17	0,12

V rozpuštěné formě je dále stanovována celá škála kovů např. v rámci Mezinárodního programu měření Labe (MKOL) a také v rámci monitoringu podzemních vod (ČHMU). Informace o podílu rozpuštěných kovů je velice zajímavá zejména z hlediska interpretací výsledků, protože stanovované koncentrace řady kovů ve vzorcích přírodních vod jsou přímo úměrné obsahu nerozpuštěných látek ve vzorku. Ty mohou buď přímo obsahovat nebo jen nést na svém povrchu velké množství adsorbovaných kovů. S kolísajícím obsahem nerozpuštěných látek v odebíraných vzorcích pak kolísají i měřené koncentrace kovů někdy i přes dva až tři řády. Neplatí to však stejně pro všechny kovy, některé se nacházejí převážně v rozpuštěné formě (např. Ni) a vliv obsahu nerozpuštěných látek ve vzorku je menší, další kovy se naopak v rozpuštěné formě běžně téměř nenacházejí (např. Pb, Cr) a zde je vliv obsahu nerozpuštěných látek ve vzorku zcela zásadní, ale to je již jiná problematika. Příklad stanovovaných hodnot celkového obsahu kovů a obsahu rozpuštěných forem kovů v povrchové vodě (v rámci aktuálního rozsahu Mezinárodního programu měření Labe), zároveň s uvedením závislosti koncentrací kovů na rostoucím obsahu nerozpuštěných látek, je uveden v tabulce 3.

Tabulka 3 - příklad měřených koncentrací celkových obsahů a rozpuštěných forem kovů v říční vodě

parametr	jednotka	Vltava 1	Vltava 2	Vltava 3	Vltava 4	Vltava 5
Nerozpuštěné látky -105°C	mg/l	3,1	11	23	39	72
B	ug/l	28	32	25	19	22
B - rozp	ug/l	28	32	27	19	22
V	ug/l	0,8	1,4	1,0	2,1	3,8
V - rozp	ug/l	0,6	0,9	0,7	<0,5	1,0
Cr	ug/l	<0,5	0,7	<0,5	1,4	2,2
Cr - rozp	ug/l	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
Mn	mg/l	0,04	0,08	0,09	0,10	0,27
Mn - rozp	mg/l	0,01	<0,01	<0,01	0,03	0,05
Fe	mg/l	0,15	0,37	0,24	0,69	1,9
Fe - rozp	mg/l	0,06	0,05	0,02	0,07	0,15
Co	ug/l	<0,5	<0,5	<0,5	0,6	1,6
Co - rozp	ug/l	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
Ni	ug/l	1,9	2,6	2,0	2,8	5,2
Ni - rozp	ug/l	1,9	2,2	1,7	2,3	3,5
Cu	ug/l	1,5	18	2,0	5,1	5,3
Cu - rozp	ug/l	1,3	1,7	1,4	2,2	2,5
Zn	ug/l	7,3	25	11	14	31
Zn - rozp	ug/l	6,9	<5,0	8,5	7,1	14
As	ug/l	1,7	2,6	1,6	1,8	2,7
As - rozp	ug/l	1,6	2,1	1,3	1,2	1,2
Cd	ug/l	<0,05	<0,05	0,07	0,07	0,22
Cd - rozp	ug/l	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05	<0,05
Ba	ug/l	28	38	35	42	55
Ba - rozp	ug/l	28	33	32	32	34
Pb	ug/l	<0,5	1,1	0,9	3,2	5,6
Pb - rozp	ug/l	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
U	ug/l	0,7	0,9	0,8	<0,5	1,0
U - rozp	ug/l	0,7	0,9	0,8	<0,5	0,9

7. POUŽÍVANÉ VZORKOVNICE, KYSELINY, ZPŮSOBY KONZERVACE A PŘEDÚPRAVY VZORKŮ PRO ICP-MS

Základní podmínkou pro stanovení správných hodnot jakéhokoliv analytu je reprezentativní odběr vzorků do vhodných a správně připravených vzorkovnic. Pro odběr vzorků na stanovení ICP-MS jsou nejvhodnější teflonové vzorkovnice, to je však z finančního hlediska pro běžnou rutinní laboratoř naprostá utopie. Naštěstí existuje i podstatně levnější a téměř stejně dobrá alternativa – PP vzorkovnice, ideálně širokohrdlé pro snadnou manipulaci a plnění vzorkem v terénu.

Pro metody ICP-MS používáme několik typů PP vzorkovnic o objemu 25 – 100 ml, které se mezi jednotlivými odběry vzorků čistí podle potřeby za použití ultrazvuku nebo loužením zředěnou HNO_3. Pro daný typ vzorků je vždy vyčleněný určitý typ vzorkovnic, aby byla minimalizována možnost případné náhodné kontaminace mezi vzorky. Pro pitné, povrchové a podzemní vody používáme širokohrdlé PP 100 ml vzorkovnice. Vzorky povrchových vod z vodních nádrží se odebírají do PP 50 ml zkumavek. Vzorky na stanovení rozpuštěných forem kovů a P se filtrují přímo v terénu do PP 25 ml vzorkovnic. Odpadní vody jsou odebírány do skleněných 250 ml vzorkovnic se širším šroubovacím uzávěrem, pro vyšší obsahy kovů v odpadní vodě není materiál vzorkovnice již natolik rozhodující.

Vzhledem ke zcela odlišným požadavkům na způsob konzervace se samostatně do 50 ml skleněných vzorkovnic odebírají vzorky na stanovení rtuti. Metodou ICP-MS ale rtuť zatím z různých důvodů nestanovujeme, na stanovení rtuti používáme přístroje AMA 254.

Důležité pro práci na ICP-MS je samozřejmě výhradní používání ultračistých kyselin na konzervaci vzorků, jejich mineralizaci i pro přípravu standardů a kontrolních vzorků. V naší laboratoři dlouhodobě používáme kyseliny, které si sami přečišťujeme podvarovou destilací, což je výhodné i z ekonomického hlediska. Čistota kyselin musí být taková, aby měřené koncentrace ve slepých stanoveních byly bezpečně pod mezí stanovitelnosti pro všechny stanovované prvky a musí být průběžně kontrolována.

Vzorky vody se konzervují přímo při odběru vzorku pomocí HNO_3 v množství 2 ml na 100 ml vzorku. Používáme postup, kdy je konzervační kyselina již před odjezdem vzorkařů na odběr vzorků nadávkována do vzorkovnic na stanovení kovů. Vzorky odebírané na vodních nádržích se, vzhledem k omezenému rozsahu stanovení (Fe, Mn, Al, P) a často velmi problematické manipulaci se vzorkovnicemi při odběru vzorků z lodi, konzervují až po příjezdu do laboratoře. Validací bylo prokázáno, že vzhledem k následné mineralizaci okyselených vzorků za horka přímo ve vzorkovnici, nepředstavuje tento postup dodatečné konzervace problém a nedochází ke ztrátě měřených prvků.

Vzorky na stanovení rozpuštěných forem kovů a fosforu jsou filtrovány ihned při odběru vzorků přes jednorázové nylonové filtry 0,45 um přímo do vzorkovnic a ihned konzervovány HNO_3 (opět s výjimkou vzorků z vodních nádrží). Za zcela zásadní podmínku správného provedení tohoto typu analýz považuji provedení filtrace vzorku na stanovení rozpuštěných forem kovů a P přímo v terénu při odběru vzorku. Případná následná filtrace vzorku až v laboratoři zcela jistě nezaručuje získání správné a pravdivé informace o poměru rozpuštěných a celkových forem kovů a fosforu ve vzorku. Pro zajímavost lze uvést, že při testování vlivu konzervace na stabilitu filtrovaných vzorků na stanovení rozpuštěných forem kovů a fosforu se ukázalo, že v PP vzorkovnicích jsou tyto vzorky po relativně dlouhou dobu velice stabilní i zcela bez konzervace.

Před měřením na ICP-MS je většinou nutné provést mineralizaci vodných vzorků s obsahem nerozpuštěných látek, čiré vzorky vody lze na ICP-MS stanovovat přímo bez mineralizace. Pro vzorky povrchových vod pro účely provozních monitoringů podniků Povodí (včetně monitoringu vodních nádrží) se používá uzanční postup mineralizace vzorku – zahřátí vzorku, okyseleného pouze konzervační kyselinou, přímo ve vzorkovnici pomocí MW na cca 80°C a následně extrakce horkého vzorku v zahřáté ultrazvukové lázni po dobu cca 20 minut. Tento postup zajišťuje uvolnění většiny dostupných kovů z nerozpuštěných látek a zároveň také uvolnění fosforu např. z rozpadlých buněk a dalších organických částic.

Filtrované vzorky na stanovení rozpuštěného podílu kovů a fosforu není nutné mineralizovat.

Odpadní vody, sedimenty a biologické vzorky se mineralizují různými postupy vysokotlakých MW rozkladů, podle požadovaného účelu analýzy vzorků. Používané postupy předúprav vzorků pro stanovení kovů jsou obecně totožné s postupy používanými pro metody AAS nebo ICP-OES.

8. ZÁVĚR

Přechod na techniku ICP-MS znamenal pro naší laboratoř významný krok v oblasti aplikační i v oblasti kvality produkovaných dat, znamenal výrazné zkrácení lhůt analýz kovů a také významný nárůst produktivity práce v laboratoři. Pro analýzy kovů ve vzorcích životního prostředí se v současnosti jedná o nejuniverzálnější i když zároveň také nákladnou a náročnou techniku. Další rozvoj a využití metod ICP-MS lze předpokládat např. v oblasti speciačních analýz.

Na závěr je nutné uvést ještě to nejdůležitější – pro ICP-MS platí dvojnásob to, co platí pro instrumentální techniky obecně - sebedokonalejší přístrojová technika sama o sobě zdaleka nezaručuje správné výsledky analýz (někdy spíše naopak) – získání správných výsledků mohou zaručit jen dostatečně zkušení, odborně zdatní a zejména pečliví a spolehliví pracovníci laboratoře, kteří jsou její nejdůležitější součástí a zároveň také jejím největším bohatstvím.

Tímto chci také poděkovat všem pracovníkům úseku analýzy kovů, kteří se na zavádění metod a zpracování vzorků na ICP-MS v naší laboratoři podíleli a podílejí.

LITERATURA

ČSN EN ISO 17294-1 Jakost vod - Použití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) - Část 1: Všeobecné směrnice

ČSN EN ISO 17294-2 Jakost vod - Použití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) - Část 2: Stanovení 62 prvků

PROBLEMATIKA STANOVENÍ AOX V ODPADNÍCH VODÁCH A PRAKTICKÉ ZKUŠENOSTI S ODSTRAŇOVÁNÍM RUŠIVÝCH VLIVŮ V LABORATOŘI

Helena Vyvialová, David Mareš

Severočeské vodovody a kanalizace, a.s., Přítkovská 1689, 415 50 Teplice,
helena.vyvialova@scvk.cz

ÚVOD

Laboratoř, která zavádí do praxe ukazatel, se snaží eliminovat zdroje možných chyb, které jsou z praktického hlediska možné.

Samotné stanovení AOX je specifické a závislé na mnoha vlivech. V rámci postupu stanovení tohoto ukazatele jsme hodnotili tyto kroky:

A) ODBĚR VZORKŮ

B) UCHOVÁNÍ, PŘEDÚPRAVA A TRANSPORT VZORKŮ K VLASTNÍMU STANOVENÍ

C) RUŠIVÉ VLIVY A JEJICH ODSTRANĚNÍ

D) VLASTNÍ STANOVENÍ

E) OKRUŽNÍ ROZBORY, ODBĚRY

A) ODBĚR VZORKŮ

Z důvodu velkého množství vzorků pro ukazatel AOX, od zákazníků z různě vzdálených míst, do naší laboratoře jsme řešili odběr vzorků a následné zamražení vzorku pro uchování a transport, který by byl pro zákazníka vyhovující.

Na vybrané ČOV byly odebírány vzorky, které byly rozděleny a třemi odlišnými způsoby uchovány:

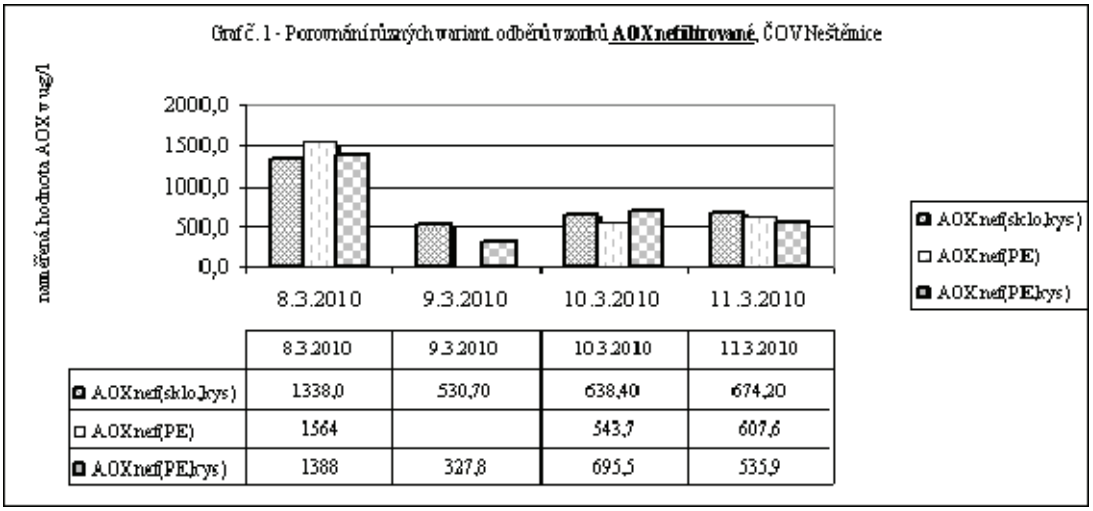
- skleněná, tmavá vzorkovnice 300 ml s 0,5 ml konc. HNO_3
- plastová vzorkovnice 250 ml bez konc. HNO_3
- plastová vzorkovnice 250 ml s 0,5 ml konc. HNO_3

Výsledky jsou uvedeny v grafu č.1, 2 a 3

- interní MPO – sjednocení odběru

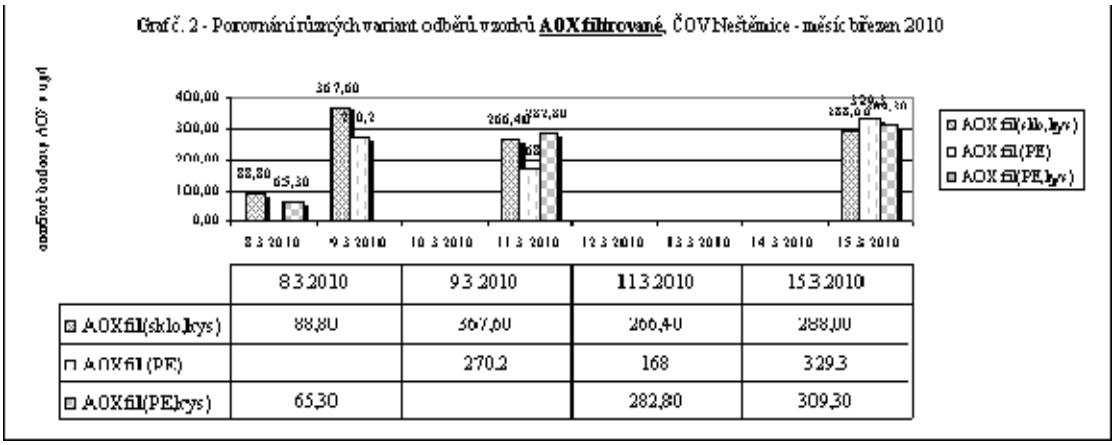
Výsledky jsou uvedeny v grafu č. 4, 5, 6 a7

Výsledky porovnání různých variant odběrů dělených vzorků v parametru **AOX nefiltrované** (první sloupec je vztažná hodnota – odběr a uchování dle ČSN EN ISO 5667-3)

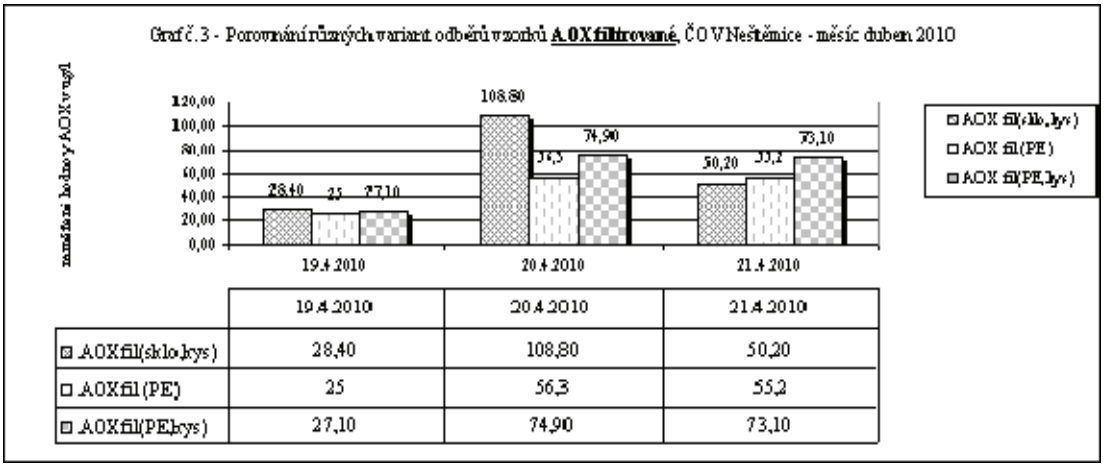


	8.3.2010	9.3.2010	10.3.2010	11.3.2010
AOXnef(sklo,kys)	1338,0	530,70	638,40	674,20
AOXnef(PE)	1564		543,7	607,6
AOXnef(PE,kys)	1388	327,8	695,5	535,9

Výsledky porovnání různých variant odběrů vzorků dělených vzorků v parametru **AOX filtrované** (první sloupec je vztažná hodnota – odběr a uchování dle ČSN EN ISO 5667-3)

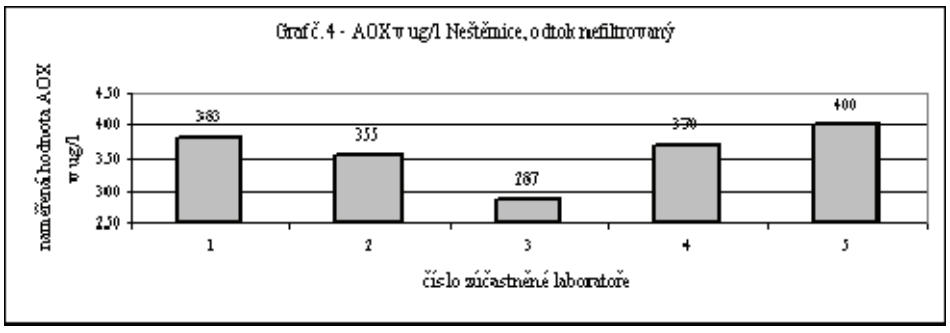


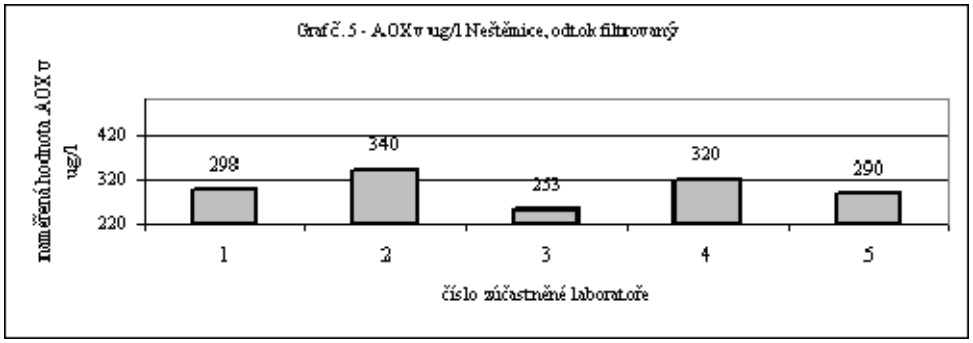
	8.3.2010	9.3.2010	11.3.2010	15.3.2010
AOXfil(sklo,kys)	88,80	367,60	266,40	288,00
AOXfil(PE)		270,2	168	329,3
AOXfil(PE,kys)	65,30		282,80	309,30

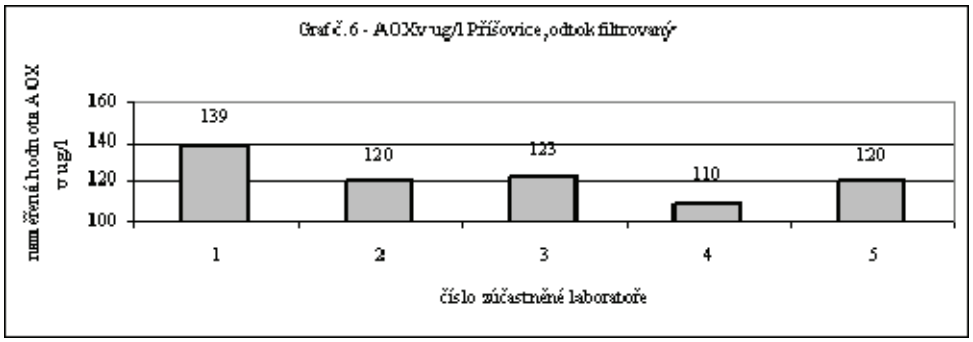


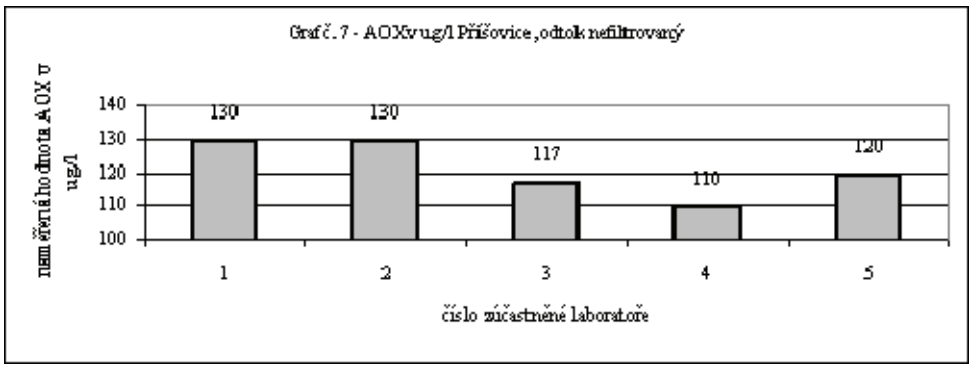
	19.4.2010	20.4.2010	21.4.2010
AOXfil(sklo,kys)	28,40	108,80	50,20
AOXfil(PE)	25	56,3	55,2
AOXfil(PE,kys)	27,10	74,90	73,10

Dále bylo uspořádáno interní MPO z důvodu sjednocení odběru vzorků. Interního MPO se zúčastnilo 5 laboratoří. Kromě jedné laboratoře, která používá kolonkovou metodu (laboratoř č. 3), všechny laboratoře zpracovávaly vzorky metodou vsádkovou. Byly vybrány dvě místa odběru. Na každém místě se odebral vzorek, který byl rozdělen do pěti stejných, tmavých vzorkovnic 300 ml s předem nadávkovaným konzervačním činidlem (0,5 ml konc. HNO_3). Vzorky byly ihned rozvezeny do daných laboratoří. Vzorky se začaly zpracovávat ve stejný den a byly stanovovány ukazatele AOX filtrované a nefiltrované. Výsledky jsou znázorněny v grafech č. 4, 5, 6 a 7.









Vyhodnocení

Z rozptýlených výsledků kolem vztažné hodnoty u grafů č. 1, 2 a 3 vyplývá jednoznačný závěr : odběr vzorků pro ukazatel AOX musí být přímo do skleněných tmavých vzorkovnic. Na místě zhomogenizovaný vzorek přelít do této vzorkovnice, s předem nadávkovanou konc. HNO_3 (0,5 ml konc. HNO_3 do 250 ml) bez vzduchové bubliny. Pokud se vzorek musí zamrazit, přelije se v laboratoři do PE vzorkovnice (se vzduchovou bublinou) již okyselený a ihned se zamrazí při –20 ^oC.

Správně provedený odběr za stejných podmínek (vzorkovnice, homogenizace, konz. činidlo, doprava, začátek stanovení) a tím eliminace velké chyby již při odběru vzorků je potvrzen výsledky z interního MPO vyhodnoceného v grafech č. 4, 5, 6 a 7.

B) UCHOVÁNÍ, TRANSPORT A PŘEDÚPRAVA VZORKŮ K VLASTNÍMU STANOVENÍ

Vzorky pro stanovení AOX dle ČSN EN ISO 5667-3 se uchovávají při teplotě 4 ^oC a musí se začít zpracovávat do 5-ti pracovních dní. Pokud se vzorek nestihne zpracovat do 5-ti dnů, vzorek se zamrazí při –20 ^oC a zpracovává se do 1 měsíce.

V naší laboratoři se zpracovává 80 % mražených vzorků transportovaných vlakem v chladících boxech. Z tohoto důvodu jsme museli najít způsob správného rozmražení vzorku. Vyzkoušeli jsme rozmrazování:

- přirozenou cestou při pokojové teplotě
- ultrazvuková lázeň při teplotě 20 – 25 ^oC

Byl připraven modelový vzorek o koncentraci 200 μg/l, rozdělen do 20-ti vzorkovnic a zamražen.10 vzorků bylo rozmraženo v ultrazvukové lázni a 10 při pokojové teplotě a stanoveny. Výsledky s odchylkou jsou uvedeny v tabulce č. 1.

Tabulka č. 1 – Porovnání výsledků AOX připraveného modelového vzorku o c = 200 μg/l podle způsobu rozmražení

poř. č.	ultrazvuk	pokojová teplota
1.	189,7	166,4
2.	189	172,9
3.	196,7	172,4
4.	184	176
5.	196	173,7
6.	189,3	174,5
7.	195,7	175,8
8.	194,9	187,4
9.	199,8	175,6
10.	198,4	179,6
Průměr	193,35	175,43
RSD v %	**-3,3**	**-12,3**

Dále byl připraven modelový vzorek o koncentraci 100 μg/l, rozdělen do 10-ti vzorkovnic a 5 vzorků bylo zamraženo a 5 vzorků bylo stanoveno ihned po přípravě a rozlití vzorku. Výsledky s odchylkou stanovení čerstvého vzorku a vzorku rozmraženého v ultrazvuku jsou uvedeny v tabulce č. 2.

Tabulka č. 2 – Porovnání výsledků mraženého a nemraženého modelového vzorku o c = 100 μg/l

poř. č.	mražený vzorek, výsledky v μg/l	nemražený vzorek, výsledky v μg/l
1.	103	101
2.	100	102
3.	101	102
4.	115	101
5.	104	105
RSD v %	**4,6**	**2,2**

Vyhodnocení

12-ti % odchylka výsledků je výrazná a vyplývá jednoznačný závěr: **vzorky musí být rozmrazovány v ultrazvukové lázni při teplotě 20 – 25 °C**.

Mražení vzorků a rozmražení v ultrazvukové lázni, nemá vliv na výsledek zkoušky. **Odchylka je zanedbatelná**.

C) RUŠIVÉ VLIVY A JEJICH ODSTRANĚNÍ

Podle normy ČSN EN ISO 9562 (5/2005) Stanovení adsorbovatelných organicky vázaných halogenů (AOX) patří mezi rušivé vlivy:

- aktivní chlór a některé anorganické sloučeniny bromu a jodu, které mají za důsledek zvýšené výsledky – **odstranění přídavkem siřičitanu sodného**
- sloučeniny organicky vázaného bromu a jodu – vyšší oxidační formy vznikající během spalování nemusí být stanoveny úplně, což se může projevit negativní stranností (systematická chyba)

- živé buňky (mikroorganismy, řasy apod.) mohou obsahovat chloridy a tím navyšovat výsledky – **odstranění je analýza vzorků nejméně 8 hodin po okyselení (odběru)**
- CHLORIDY. **Problémy způsobené přítomností CHLORIDŮ ve vzorku:**
  - nízký obsah AOX (pod 100 μg/l) a vysoký obsah chloridů (od 250 mg/l)
  - vysoký obsah AOX (nad 100 μg/l) a vysoký obsah chloridů (od 250 mg/l)
  - nefiltrované vzorky AOX – vysoký podíl NL s významným podílem chloridů

Nejvýznamnějším rušivým vlivem, který může zcela zkreslit výsledky AOX jsou CHLORIDY. Tímto problém se naše laboratoř zabývala velmi podrobně vzhledem k velkému počtu vzorků průmyslových vod stanovovaných v naší laboratoři. V tabulce č. 3 je uveden příklad míst odběru s hodnotami chloridů, které bývají obsaženy v odpadních vodách.

Tabulka č. 3 – Příklady množství chloridů reálných vzorků OV

místo odběru	výsledky chloridů v mg/l
Spolchemie	4000 – 9000
Neštěmice přítok	2000 – 2500
Neštěmice odtok	2000 – 2500
Nemocnice UL	70 – 100
SITA CZ, skládka Všebořice	700 – 1800
SITA CZ, spalovna Trmice	2500 – 3500
Strategický rozvoj – skládka Chabařovice, šachta Š7	6500

Norma se zmiňuje o použití promývacího roztoku dusičnanu, který snižuje rušivý vliv chloridů, ale zároveň snižuje výtěžnost AOX a použití ředění při koncentraci chloridů do 500 mg/l a nad 500 mg/l vylučuje ředění.

Zabývali jsme se zjištěním, jak rušivý vliv chloridů odstranit, zda má zvyšování objemu a koncentrace promývacího roztoku dusičnanu vliv na snižování výtěžnosti AOX a zároveň snižuje rušivý vliv anorganických chloridů a zda různým ředěním vzorků nedosáhneme eliminace rušivého vlivu chloridů při koncentracích vyšších než 1000 mg/l.

K analýzám byla použita vsádková metoda.

PRAKTICKÁ ČÁST

Příprava analytických vzorků

1) PROMÝVACÍ ROZTOK $NaNO_3$, c = 0,01 mol/l; c = 0,04 mol/l

a) byl připraven modelový vzorek o koncentraci 200 μg/l AOX s přídavkem anorganických chloridů 10 g/l

b) byl připraven modelový vzorek o koncentraci 50 μg/l a 200 μg/l AOX s přídavkem anorganických chloridů 10 g/l

c) byl odebrán reálný vzorek odpadní vody s nízkým obsahem AOX, ke kterému bylo přidáno 10 g/l anorganických chloridů

d) byl připraven modelový vzorek o koncentraci 500 μg/l AOX

2) ŘEDĚNÍ VZORKŮ

a) byl připraven modelový vzorek o koncentraci 200 μg/l AOX s přídavkem anorganických chloridů 20 g/l

Modelové vzorky byly připraveny z 4-chlorfenolu (firma Merck).

Jako přídavek anorganických chloridů byla použita kuchyňská sůl (NaCl). Koncentrace chloridů v kuchyňské soli byla experimentálně ověřena a vypočítána přesná navážka k přídavku 10 g/l a 20 g/l.

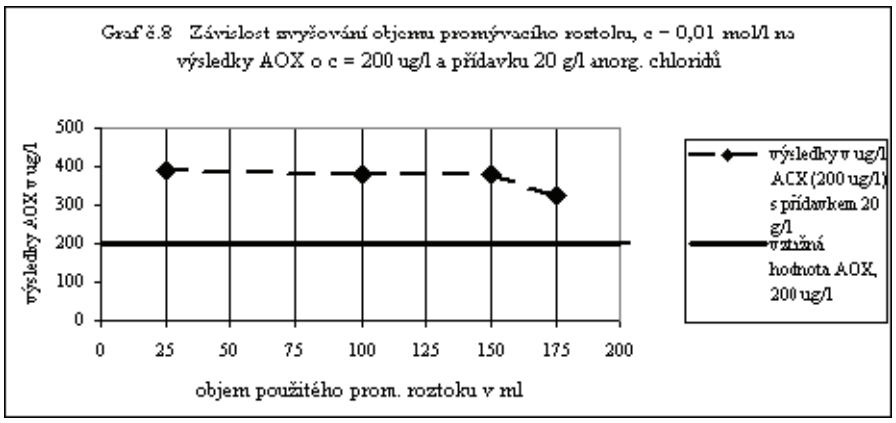
Analytické vzorky byly ihned po odběru okyseleny konc. kyselinou dusičnou, která slouží jako konzervační činidlo (0,5 ml kys. dusičné na 250 ml vzorku).

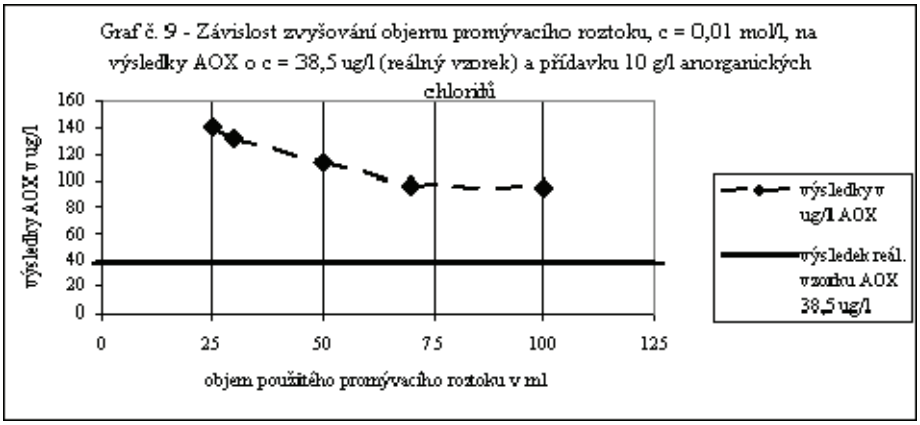
Analytické vzorky byly stanovovány jako vzorky nefiltrované.

Ad1) OVĚŘENÍ POUŽITÍ PROMÝVACÍHO ROZTOKU K POTLAČENÍ RUŠIVÉHO VLIVU ANORGANICKÝCH CHLORIDŮ

Výsledky

- **Sledování závislosti zvyšování objemu (v ml) promývacího roztoku $NaNO_3$, c = 0,01 mol/l na výsledky AOX v µg/l – graf č. 8 a graf č. 9**

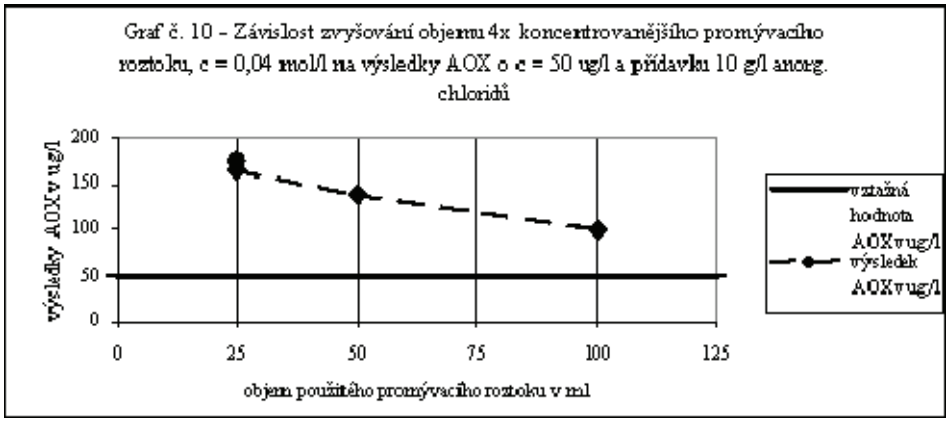


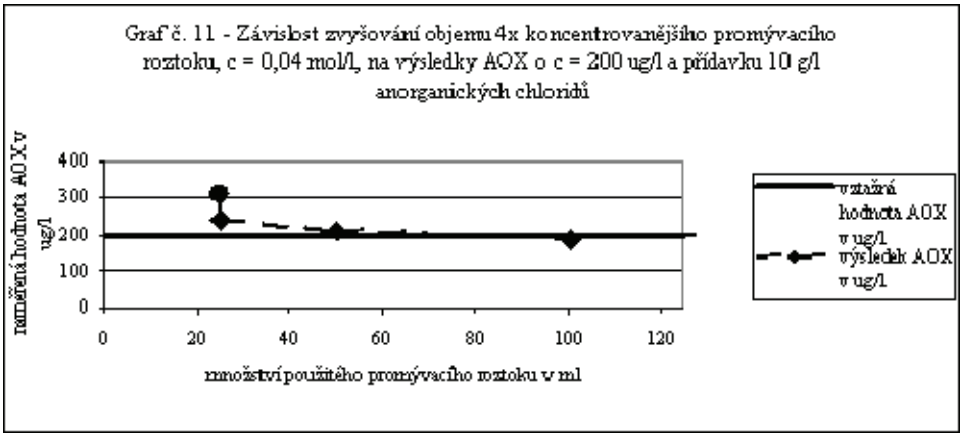


Vyhodnocení

U vzorků s malým i vysokým obsahem AOX a vysokým obsahem anorganických chloridů je zvyšování objemu promývacího roztoku $NaNO_3$ (c = 0,01 mol/l) neúčinné!

- **Sledování závislosti zvyšování objemu (v ml) 4x koncentrovanějšího promývacího roztoku $NaNO_3$, c =0,04 mol/l, na výsledky AOX v µg/l – graf č. 10 a graf č. 11**





Vyhodnocení

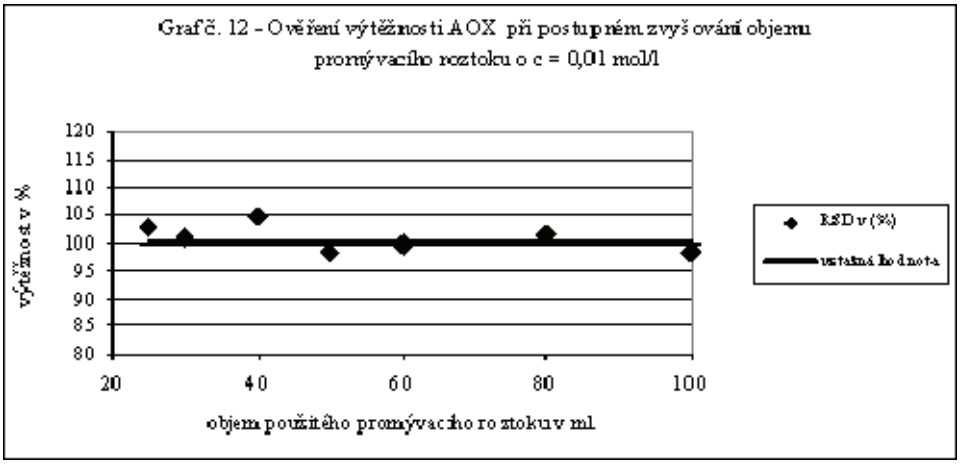
U vzorků s vysokým obsahem AOX (nad 100 µg/l) a vysokým obsahem anorganických chloridů (nad 1000 mg/l) je 4x koncentrovanější promývací roztok (c = 0,04 mol/l) a zvyšování objemu tohoto roztoku **účinné!**

U vzorků s nízkým obsahem AOX (50 µg/l) a vysokým obsahem anorganických chloridů (nad 1000 mg/l) je 4x koncentrovanější promývací roztok (c = 0,04 mol/l) a zvyšování objemu tohoto roztoku **neúčinné!**

Norma ČSN EN ISO 9562 dále uvádí - při použití > 25 ml promývacího roztoku $NaNO_3$, c = 0,01 mol/l, se snižuje rušivý vliv chloridů, ale zároveň dochází ke snižování výtěžnosti AOX. Z tohoto důvodu byla zároveň sledována výtěžnost AOX při postupném zvyšování objemu promývacího roztoku o c = 0,01 mol/l a c = 0,04 mol/l – tabulka č. 4 a graf č. 12; tabulka č. 5 a graf č. 13

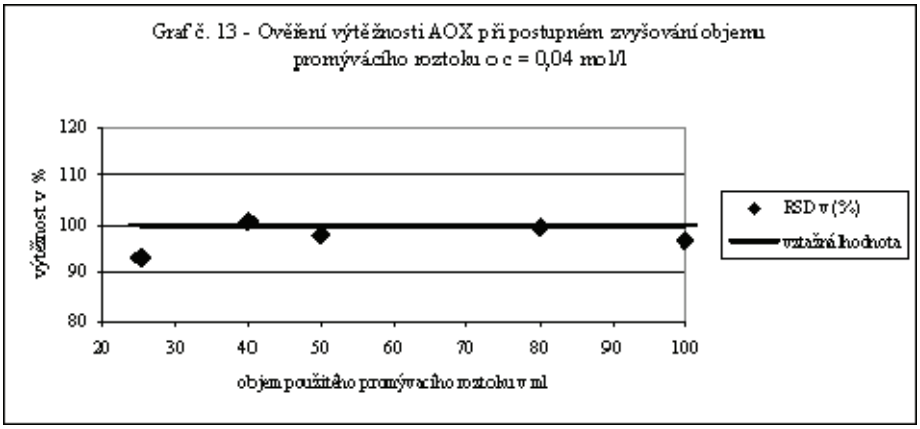
Tabulka č. 4 – Ověření výtěžnosti AOX při postupném zvyšování objemu promývacího roztoku $NaNO_3$ o c = 0,01 mol/l

poř. č.	výsledky v µg/l AOX (500 µg/l)	objem použitého prom. roztoku v ml	RSD v %
1.	513	25	**102,6**
2.	505	30	**101**
3.	524	40	**104,8**
4.	492	50	**98,4**
5.	498	60	**99,6**
6.	507	80	**101,4**
7.	491	100	**98,2**
průměr:	504,3		**100,9**



Tabulka č. 5 – Ověření výtěžnosti AOX při postupném zvyšování objemu promývacího roztoku $NaNO_3$ o c = 0,04 mol/l

poř. č.	výsledky v µg/l AOX (500 µg/l)	objem použitého prom. roztoku v ml	RSD v %
1.	465	25	**93**
2.	502	40	**100,4**
3.	490	50	**98**
4.	497	80	**99,4**
5.	483	100	**96,6**
průměr:	487,4		**97,5**



Vyhodnocení

Zvyšování objemu promývacího roztoku o c = 0,01 mol/l a o c = 0,04 mol/l **nesnižuje** výtěžnost AOX.

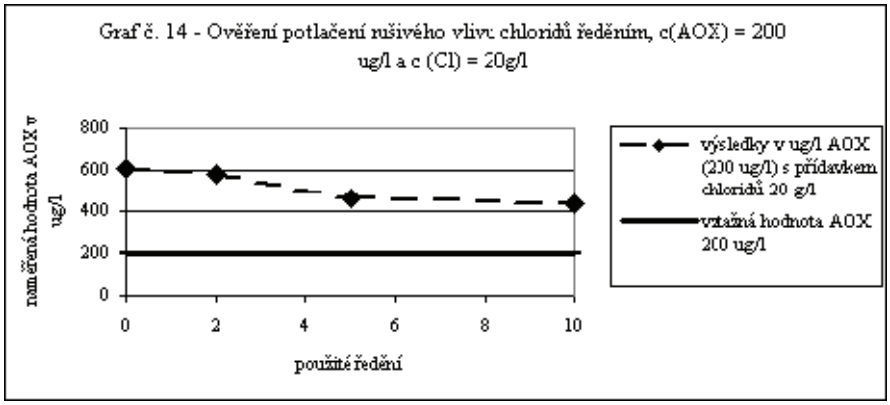
Ad 2) OVĚŘENÍ ŘEDĚNÍ K POTLAČENÍ RUŠIVÉHO VLIVU ANORGANICKÝCH CHLORIDŮ (nad 1000 mg/l)

Norma ČSN EN ISO 9562, v kap.1, uvádí ředění analytických vzorků s koncentracemi chloridů nad 1000 mg/l. Dále u analytických vzorků s koncentracemi anorganických chloridů od 500 mg/l do 1000 mg/l nelze ředit, protože by se úměrně s ředěním snižovala hodnota AOX a doporučuje použití adsorpce na koloně.

Výsledky

- **Sledování postupného ředění vzorku s vysokým obsahem AOX (c = 200 ug/l) a vysokým obsahem anorganických chloridů (c = 20 g/l) – graf č. 14**

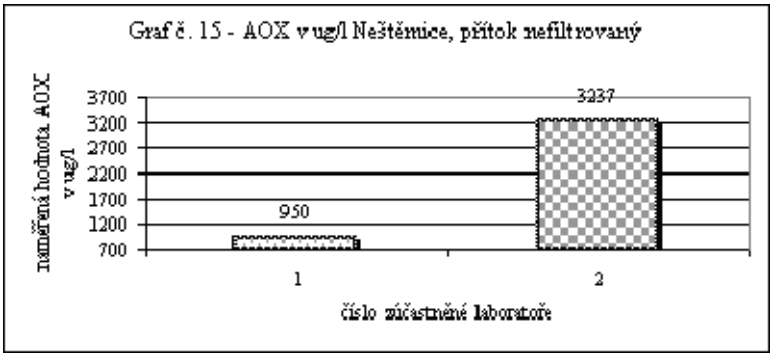
Výsledky modelového vzorku o koncentraci 200 ug/l AOX s přídavkem chloridů 20 g/l s postupným ředěním a použitím 25 ml promývacího roztoku o c = 0,01 mol/l

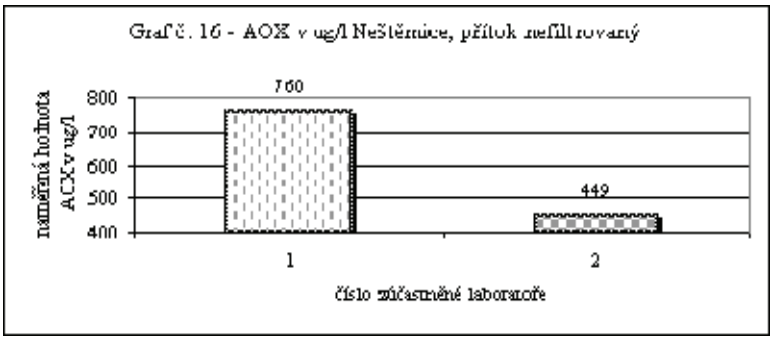


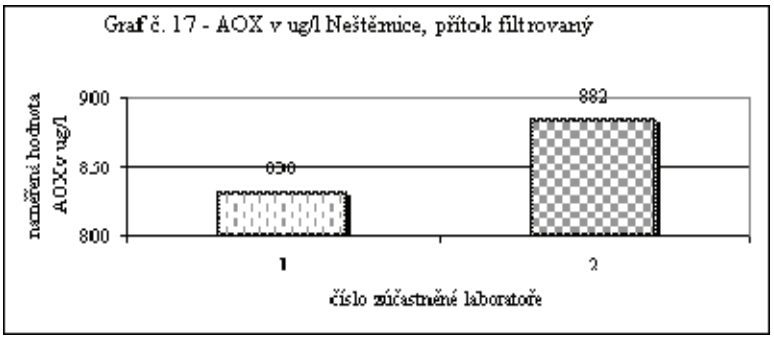
Vyhodnocení

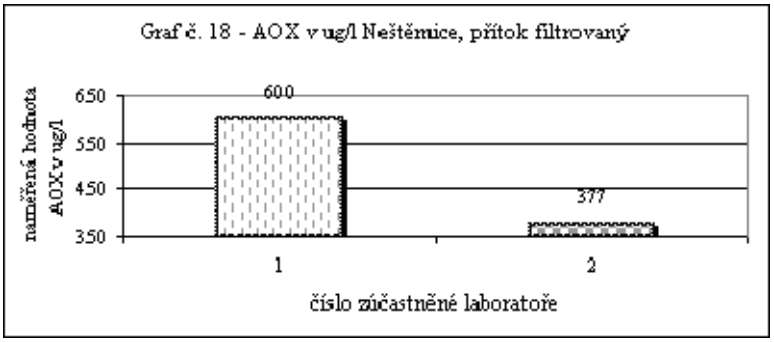
U vzorků s vysokým obsahem AOX a vysokým obsahem anorganických chloridů (nad 1000 mg/l) nelze použít ředění k potlačení rušivého vlivu anorganických chloridů. U konečného zkoušeného ředění (10x) byl výsledek stále dvojnásobně překročen.

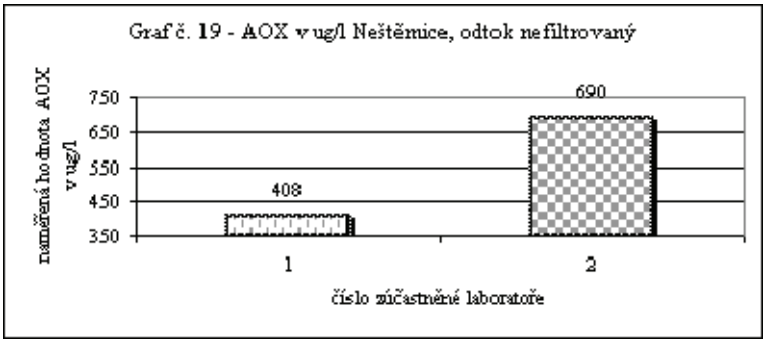
V grafech č. 15 až č. 22 jsou uvedeny příklady rozptýlených výsledků ukazatele AOX děleného vzorku, stanovovaného ve dvou laboratořích. U vzorků byl sjednocen odběr (konzervace ihned po odběru, vzorkovnice, homogenizace apod..) Z výsledků je zřejmý významný rušivý vliv chloridů, jeho případný způsob odstranění, NL, dále chyba při odlišné vlastní předúpravě, analýze vzorku, rozdílné přístroje. Vzorky byly stanovovány jako filtrované i nefiltrované z jedné vzorkovnice. Laboratoře stanovovaly vzorky metodou vsádkovou.

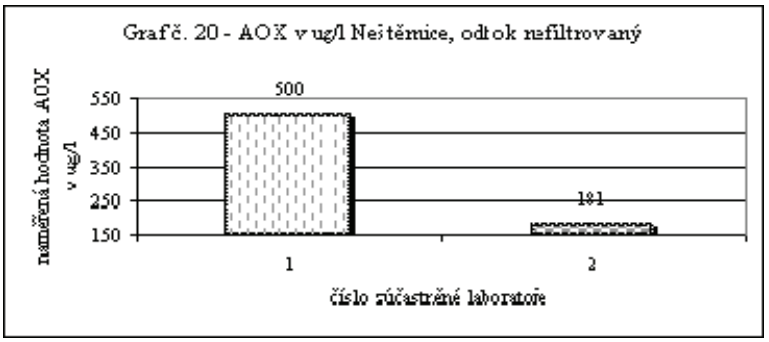


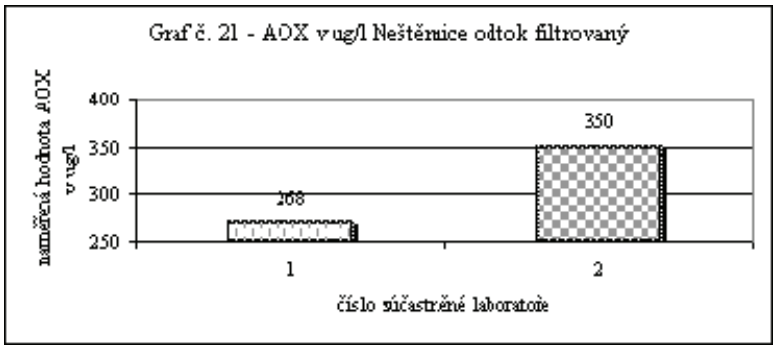


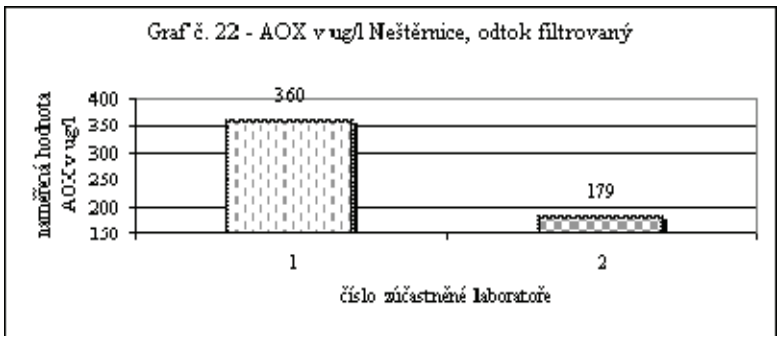












D) VLASTNÍ STANOVENÍ

Postup

Analytické vzorky jsou zpracovávány dle postupu uvedeného v normě ČSN EN ISO 9562. Je odměřeno 100 ml homogenizovaného (třepání, míchání) vzorku. Objem se převede do uzavíratelné Erlenmeyerovy baňky. Ke vzorku je přidáno 5 ml roztoku $NaNO_3$ o c = 0,2 mol/l, 2,5 ml roztoku Na_2SO_3 o c = 1,0 mol/l. Ve vzorcích je pH ověřeno papírkem (pH <2) a následně ke všem vzorkům přidáno 50 mg aktivního uhlí (firmy Merk, Element Microanalysis). Erlenmeyerovy baňky se uzavřou a nechají se v třepačce 1,5 hodiny protřepávat. Po protřepání se vzorky přefiltrují přes polykarbonátové filtry o průměru 25 mm a velikosti pórů 40 μm (firmy Whatman). Filtrační koláč je promýván daným objemem promývacího roztoku $NaNO_3$ $c(NaNO_3)$ = 0,01 mol/l, nebo o $c(NaNO_3)$ = 0,04 mol/l, v rozmezí objemu 25 ml až 100 ml. Objem zvolen podle hodnoty chloridů. Vlhký filtr s filtračním koláčem je vložen do křemenné spalovací lodičky a spálen v proudu kyslíku při 950 ^oC.

U surových vod se odměřuje pro stanovení 750 ml vzorku, který se převede do 1000 ml vzorkovnice se šroubovatelným uzávěrem a zpracovává se stejným postupem.

Metoda a přístroj

Analytické vzorky byly zpracovány vsádkovou metodou dle normy ČSN EN ISO 9562 Jakost vod – Stanovení adsorbovatelných organicky vázaných halogenů (AOX) na přístroji LTX-2000 od firmy Labtech, spol. s r.o. Brno.

E) OKRUŽNÍ ROZBORY

Laboratoř se účastní mezilaboratorních porovnávacích zkoušek na úrovni pitných, povrchových, odpadních vod a kalů. Vzorky jsou připraveny z demineralizované vody s přídavkem standardu na dané koncentrační úrovni a rozeslány do laboratoří ke stanovení. Úspěšnost laboratoří v těchto okružních mezilaboratorních porovnávacích zkouškách je od roku 2006 96%. Bohužel, tyto porovnávací zkoušky nepostihují rušivé vlivy, především chloridů, které jsou ve velké míře zastoupené ve vzorcích REÁLNÝCH (odpadních vodách), a úspěšnost laboratoří tyto rušivé vlivy eliminovat se správným výsledkem.

Laboratoř se účastní každoročně i programu zkoušení způsobilosti vzorkování odpadní vody. V rámci odebraných reálných vzorků na nátoku do ČOV se stanovuje i ukazatel AOX. V roce 2007 a 2009 byl tento ukazatel hodnocen. V roce 2008 a 2010 nebyl ukazatel hodnocen z důvodu velkého rozptylu dodaných výsledků z účastněných laboratoří. V roce 2010 bylo doporučeno laboratořím před vlastním stanovením vzorek filtrovat. I přes toto doporučení byly velké rozptyly výsledků. Na těchto vyhodnoceních je zřejmé kolísání výsledků v důsledku rušivých vlivů, různé předúpravy vzorků, rozdílných způsobu vlastního stanovení apod.. Tyto mezilaboratorní porovnávací odběry ukazují na reálných vzorcích schopnost laboratoří reálně prokázat srovnatelnost výsledků.

ZÁVĚR

Na základě výsledků jednotlivých kroků stanovení AOX je největší podíl chyb v přítomnosti chloridů ve vzorku. Z tohoto důvodu postupujeme:

a) u výsledku AOX > 100 μg/l jsou vždy změřeny chloridy

b) pokud je výsledek chloridů od 250 mg/l do 500 mg/l a výsledek AOX > 100 μg/l vzorek ředíme minimálně 2x

c) pokud je výsledek větší než 500 mg/l a výsledek AOX > 100 μg/l použijeme 4x koncentrovanější roztok promývacího roztoku $NaNO_3$, c = 0,04 mol/l

d) u výsledku chloridů > 250 mg/l a výsledku AOX < 100 μg/l, rušivý vliv chloridů u těchto nízkých koncentrací je zanedbatelný. Tuto variantu rušivého vlivu nelze eliminovat.

Norma nabízí variantu pro vzorky s vysokým obsahem chloridů (max do 100g/l) modifikovanou metodu – extrakce na tuhou fázi (SPE-AOX). Metoda je použitelná pouze pro vzorky filtrované a nelze předpokládat ekvivalentní výsledky s metodou normovanou.

Největší rozptyly, chyby jsou u stanovení AOX NEFILTROVANÝCH, kde je velký podíl NL, na které mohou být vázány chloridy. U problematických vod (průmyslové apod. – nelze specifikovat, každá odpadní voda má jiný charakter) jsou výsledky natolik rozdílné, že jsou nesrovnatelné ⇒ **výsledky AOX NEFILTROVANÝCH by neměly být mezi sebou porovnávány.**

Další velké odchylky výsledků jsou u výše vyjmenovaných variantách rušivých vlivů chloridů. Ukazatel AOX může být stanoven jako FILTROVANÝ, ale pokud laboratoř neeliminuje rušivý vliv chloridů, výsledky jsou opět nesrovnatelné.

STANOVENIE BROMIČNANOV PRIETOKOVOU COULOMETRIOU VO VODÁCH URČENÝCH NA ĽUDSKÚ SPOTREBU

Jana Tkáčová, Matej Horváth, Angelika Kassai, Dana Kútniková, Jarmila Božíková*

Výskumný ústav vodného hospodárstva v Bratislave
**Slovenská technická univerzita v Bratislave, Stavebná fakulta*
e-mail: tkacova@vuvh.sk

KĽÚČOVÉ SLOVÁ

nenormovaná metóda, bromičnany vo vode, prietoková coulometria, minerálna voda

ABSTRAKT

Národné referenčné laboratórium pre oblasť vôd na Slovensku je akreditované Slovenskou národnou akreditačnou službou podľa normy STN EN ISO/IEC 17025 (2005). Akreditované laboratóriá by mali prednostne používať metódy publikované v medzinárodných, regionálnych alebo národných normách. Príspevok sa zaoberá požiadavkami, ktoré je nevyhnutné splniť pri príprave nenormovanej metódy na akreditáciu podľa STN EN ISO/IEC 17025. Metóda prietokovej coulometrie na stanovenie bromičnanov v dezinfikovanej vode s použitím makroporéznej uhlíkovej elektródy bola podľa týchto požiadaviek pripravená na akreditáciu a koncom roka 2010 úspešne akreditovaná Slovenskou národnou akreditačnou službou. Metóda je vhodná aj na stanovenie bromičnanov vo vysoko mineralizovaných vodách. Správnosť stanovenia bromičnanov v minerálnych vodách bola overená na súbore desiatich minerálnych vôd s rôznym stupňom mineralizácie.

Voda je základný prírodný prvok dôležitý pre život a vývin všetkých živých organizmov, predovšetkým ľudí. Požiadavky na kvalitu pitnej vody vzťahujúce sa na všetky členské štáty Európskej únie sú dané smernicou Rady 98/83/ES z novembra 1998 o kvalite vody určenej na ľudskú spotrebu. Štandardy pre kvalitu pitnej vody uvedené v tejto smernici vychádzajú z odporúčaní Svetovej zdravotníckej organizácie. Cieľom smernice je chrániť zdravie obyvateľov EÚ. Smernica okrem iného zaväzuje členské štáty pravidelne monitorovať kvalitu pitnej vody a poskytovať spotrebiteľom dostatočné a aktuálne informácie o jej kvalite. Slovenská republika implementovala smernicu do Nariadenia vlády SR č. 496, Z.z., z decembra 2010. Toto nariadenie mení a dopĺňa Nariadenie vlády SR č. 354/2006 Z.z., ktorým sa ustanovujú požiadavky na vodu určenú na ľudskú spotrebu a jej kontrolu. Nariadenia vlády SR č. 496, Z.z. ustanovuje požiadavku sledovať vo vode určenej na ľudskú spotrebu aj bromičnany, ktoré sa v nej vytvárajú pri ozonizácii ako vedľajší produkt jej hygienického zabezpečenia. Na základe uvedeného nariadenia metódy používané na určenie kvality vody určenej na ľudskú spotrebu musia zabezpečiť získanie pravdivých a porovnateľných výsledkov. Na splnenie týchto požiadaviek musia všetky analytické metódy spĺňať určité minimálne pracovné kritériá týkajúce sa ich citlivosti, presnosti a správnosti, vrátane požiadaviek na neistoty meraní a limity stanovenia. Hodnoty rozšírenej neistoty merania (s koeficientom rozšírenia k = 2) by mali byť maximálne 50 % (odhadovanej na úrovni limitov) a limity stanovenia (LOQ) by mali byť rovné alebo nižšie ako 30 % z hodnoty limitov uvedených v príslušnej legislatíve (Smernica komisie 2009/90/ES).

Na stanovenie bromičnanov v pitných vodách sa najviac používajú moderné separačné metódy ako iónová kvapalinová chromatografia alebo elektromigračné metódy, prípadne spektrofotometrické metódy. V poslednom čase sa pri kontrole a ochrane životného prostredia čoraz viac používajú elekrochemické metódy, predovšetkým pre ich vysokú citlivosť, selektivitu, presnosť a správnosť produkovaných výsledkov. Ďalšou ich prednosťou je pomerne krátky čas analýzy, jednoduchá alebo žiadna predúprava vzorky a možnosť automatizácie postupov od prípravy až po vyhodnotenie vzorky.

Metóda stanovenia bromičnanov prietokovou coulometriou na prístroji EcaFlow sa ukázala ako presná, spoľahlivá, rýchla a finančne nenáročná metóda na ich stanovenie vo vodách určených na ľudskú spotrebu. Nakoľko ide o nenormovanú metódu, cieľom našej práce bolo metódu stanovenia bromičnanov vo vodách na ľudskú spotrebu vypracovať a optimalizovať tak, aby spĺňala všetky potrebné požiadavky vyplývajúce z STN EN ISO/IEC 17025 pre akreditáciu skúšobnej metódy a metódu akreditovať.

1. PRÍPRAVA NENORMOVANEJ METÓDY NA AKREDITÁCIU

Požiadavky na akreditáciu nenormovanej metódy vychádzajú z požiadaviek normy STN EN ISO/IEC 17025 z roku 2005. Aby laboratórium vyhovelo požiadavkám tejto normy, musí splniť nasledovné kritériá (KLOKOČNÍKOVÁ E., 2007, TKÁČOVÁ J., 2010):

- Na základe pracovného postupu na analýzu dodaného výrobcom vypracovať vlastný štandardný operačný postup (ŠOP) (kap. 5.4.4),
- v prílohe osvedčenia o akreditácii vyznačiť v názve metódy zdroje, ktoré slúžili k vypracovaniu ŠOP,

- vykonať dôslednú verifikáciu validačných parametrov uvedených výrobcom, prípadne ich doplniť v dodatočnej validácii metódy,
- vykonať odhad neistoty merania podľa požiadaviek normy (kap. 5.4.6),
- v rámci verifikácie/validácie metódy porovnať výsledky namerané nenormovanou metódou s výsledkami nameranými normovanou metódou v prípade, že taká existuje,
- výsledky nenormovanej metódy pravidelne overovať v Programoch skúšok spôsobilosti (kap. 5.9),
- ak bola metóda použitá na inej matrici ako je uvedená výrobcom, je potrebné vykonať validáciu v odpovedajúcom rozsahu.

2. ELEKTROCHEMICKÁ ANALÝZA BROMIČNANOV

Bromičnany boli analyzované na prístroji EcaFlow 150 GLP od firmy Istran s.r.o. Bratislava. Je to automatizovaný, moderný, vysoko citlivý elektrochemický analyzátor riadený počítačom. Analyzátor využíva patentovanú kompaktnú trojelektródovú elektrochemickú meraciu celu, v ktorej je umiestená makroporézna meracia uhlíková elektróda. Výhoda elektródy spočíva v jej veľkom aktívnom povrchu pri kompaktných rozmeroch. Na stanovenie bromičnanov sa používa vnútroelektródová coulometrická titrácia, ktorá prebieha v každom póre uhlíkovej elektródy. Prístroj umožňuje stanovenie všetkých elektroaktívnych prvkov, ako napr. chloritany, bromičnany, As, Cd, Cu, Cr(VI), Fe, Hg, Pb, Se, Sn, Tl, Ga, Bi, Sb, Mn, Ni, Zn a pod. Najnižšie merateľné koncentrácie sa pohybujú približne od 0,1 μg/l, pričom je možné merať koncentrácie až do 1000 mg/l bez zriedenia vzorky v závislosti od stanovovaného analytu.

2.1 Vypracovanie štandardného operačného postupu

Štandardný operačný postup na stanovenie bromičnanov v pitnej vode prietokovou coulometriou na prístroji EcaFlow 150 GLP firmy Istran s.r.o. Bratislava bol vypracovaný podľa aplikačného listu č. 38, ktorý dodáva výrobca analyzátora. Autor aplikačného listu neudáva žiadnu normovanú metódu, ktorá by bola použitá k jeho vypracovaniu. Postup bol optimalizovaný tak, aby vyhovoval našim požiadavkám a požiadavkám normy STN EN ISO/IEC 17025.

Typy vzoriek

Na analýzu sú vhodné všetky typy vzoriek dezinfikovaných vôd, pričom ich jediná predúprava spočíva v odstránení látok pochádzajúcich z dezinfekcie (chlór, chlórnan, ozón, oxid chloričitý, pri sýtených vodách oxid uhličitý) varom alebo pôsobením ultrazvuku.

Rozsah metódy

Podľa aplikačného listu je koncentračný rozsah metódy 0,5 - 50 μg/l BrO_3^-. Výsledky validácie ukázali, že je potrebné zvýšiť limit kvantifikácie (dolnú hranicu rozsahu použiteľnosti metódy) z hodnoty 0,5 μg/l BrO_3^- na 1,0 μg/l BrO_3^-. Horná hranica rozsahu je obmedzená len možným riedením vzorky.

Princíp metódy

Stanovenie využíva tzv. vnútroelektródovú coulometrickú titráciu, pri ktorej sa bromičnany v kyslom prostredí redukujú bromidovými iónmi na bróm:

$$BrO_3^- + 5\ Br^- + 6\ H^+ \rightarrow 3\ Br_2 + 3\ H_2O$$

$$Br_2 \rightarrow 2\ Br^- + 2e^-$$

Meranie elektrického náboja spotrebovaného na konverziu analytu je princípom coulometrie. Pri prietokovej coulometrii sa registruje aj čas konverzie analytu. Plocha zaregistrovaného signálu – chronopotenciogramu je priamo úmerná koncentrácii bromičnanov vo vzorke. Rušivý vplyv chloritanov a iných oxidovadiel sa odstráni ich redukciou iónmi Fe^{2+} pred prídavkom bromidu.

Použité prístroje a pomôcky

- EcaFlow model 150 GLP firmy Istran s.r.o. Bratislava, vybavený prietokovým systémom s peristaltickým čerpaním, inertnými elektromagnetickými ventilmi a meracou elektronikou
- Meracia cela: EcaCell 104
- Porézna uhlíková elektróda - pracovná elektróda, typ E-104C
- EcaFlow softvér, verzia. 2.3
- Analytické váhy Sartorius BP221S
- Predvážky do 610 g, Mettler Toledo PB 602 S

- Ultrazvuk

Činidlá a chemikálie

- deionizovaná voda (elektrolytická vodivosť nižšia ako 1 μS/cm), ďalej len voda
- ZŠR - zásobný štandardný roztok - referenčný materiál (RM): 1000 mg/l BrO_3^-, pripravený navážením pevnej látky $NaBrO_3$ od fy Merck, naviazaný na certifikovaný referenčný materiál (CRM) od fy SPEX USA. Do 100 ml odmernej banky (OB) navážené 0,1180 g $NaBrO_3$ (vysušený do konštantnej hmotnosti pri 105°C) a doplnené po rysku vodou. Roztok sa uchováva pri 1°C až 6°C v polyetylénovej alebo sklenej fľaši. Roztok je stály 12 mesiacov. RM bol taktiež nadviazaný na skúšky spôsobilosti (PT), čo je uvedené v kap. 3.6.
- PŠR – pracovný štandardný roztok 10 mg/l BrO_3^-: Do 100 ml OB sa odpipetuje 1,0 ml **ZŠR** 1000 mg/l BrO_3^- a objem sa doplní po značku vodou. Roztok sa uchováva sa pri 1 °C až 6°C. Roztok je stály 3 mesiace.
- roztok etyléndiamínu (EDA): 2,2 ml etyléndiamínu sa odpipetuje do 20 ml PE fľašky a pridá sa 17,8 ml vody.
- elektrolyt R-013, komerčne dostupný (firma Istran, s.r.o. Bratislava), obsahujúci menej ako 1 % kyseliny chlorovodíkovej v demineralizovanej vode.
- roztok KBr, (R-027 firmy Istran, s.r.o. Bratislava), komerčne dostupný, obsahujúci menej ako 13 % bromidu draselného v demineralizovanej vode.
- roztok Fe^{2+}: 0,1g kryštalického heptahydrátu síranu železnatého ($FeSO_4.7H_2O$) sa naváži do 20 ml PE fľašky a pridá sa 18,9 ml 0,1 mol/l kys. sírovaj (H_2SO_4).
- roztok HCl-EDTA-Triton X-100: Do 100 ml PE fľašky sa odmerným valcom naleje 50 ml HCl, pridá sa 2,5 ml 0,1 mol/l EDTA ($[CH_2N(CH_2CO_2H)_2]_2$) a 0,5 ml Tritonu X-100 [$C_{14}H_{22}O(C_2H_4O)_n$].

Odber, úprava a uchovanie vzorky pred analýzou

Podľa aplikačného listu je potrebné odoberať vzorky do tmavých fliaš a pridať etyléndiamín tak, aby jeho výsledná koncentrácia vo vzorke bola 50 mg/l. Pred analýzou treba zo vzorky odstrániť látky, ktoré môžu vznikať pri dezinfekcii vody (chlór, chlóramín, chlórdioxid, ozón, prípadne oxid uhličitý) prevarením vzorky po dobu 5 min. Pre zjednodušenie predúpravy vzorky bol var nahradený 15 min. odplyňovaním v ultrazvuku. Bolo overené, že oba spôsoby odplyňovania vzorky dávali identické výsledky. Upravené vzorky vzorky je možné skladovať pri teplote 1-5°C najviac 28 dní (U.S. EPA 300.1).

Postup stanovenia

Podľa pokynov výrobcu bol prietokový analyzátor pripravený na meranie. Na stanovenie bromičnanov bol použitý základný elektrolyt R-013 dodávaný výrobcom. V prietokovom systéme sa použila trojelektródová elektrochemická cela EcaCell 104 s makroporéznou uhlíkovou elektródou typu E-104C. Experimentálne parametre vhodné na stanovenie bromičnanov boli vybrané z ponuky analyzátora. Pracovalo sa v potenciostatickom móde metódou kalibračnej priamky. Postup uvedený v aplikačnom liste č. 38 bol optimalizovaný nasledovne:

1. Do 50 ml OB bolo napipetovných 0,25 ml roztoku Fe^{2+}. OB bola po rysku doplnená vzorkou a obsah banky bol premiešaný. Roztok sa nechal stáť po dobu 5 min.

2. Následne bolo pridané 1 ml roztoku HCl-EDTA-Triton a obsah banky bol premiešaný.

3. Do 25 ml odmerného valca bolo napipetovaných 50 μl roztoku KBr. Do valca sa pridalo 25 ml vzorky odliatej z 50 ml OB. Po uzavretí valca bol roztok premiešaný a po uplynutí 5 min bola vzorka pripravená na meranie.

4. Zvyšný roztok v 50 ml OB bol použitý pri meraní ako slepá vzorka (blank).

Optimalizácia kalibrácie

Výrobca navrhuje použitie trojbodovej kalibračnej krivky 5-10-15 μg/l BrO_3^- (maximálny počet kalibračných bodov, ktorý umožňuje softvér). Použitie trojbodovej kalibračnej krivky sa nám neosvedčilo. Coulometria je primárna metóda a kalibrácia metódy sa používa na overenie správnosti prebiehajúcej analýzy. Z dôvodu postupne sa meniacej kvality poréznej uhlíkovej elektródy bolo na zabezpečenie správnosti stanovenia vhodnejšie používať jednobodovú kalibráciu. Koncentráciu kalibračného bodu jednobodovej kalibračnej krivky je potrebné zvoliť podľa predpokladanej koncentrácie bromičnanov vo vzorke. Validáciou bolo overené, že hodnota koncentrácie použitého kalibračného bodu by mala byť približne rovnaká alebo vyššia ako koncentrácia bromičnanov v meranej vzorke, ale nemala by presiahnuť dvojnásobok tejto koncentrácie. Po zmeraní vzorky bolo potrebné platnosť kalibrácie pravidelne overovať pomocou merania bodu do regulačného diagramu (RD).

2.2 Validácia navrhnutého postupu stanovenia bromičnanov

Po zavedení a optimalizovaní metódy bol navrhnutý postup stanovenia bromičnanov zvalidovaný. Príprava validácie tejto metódy sa odvíjala od špecifických požiadaviek na kvalitu vody určenej na ľudskú spotrebu, uvedených v Nariadení vlády SR č. 496/2010 Z. z., časť c/: „Dezinfekčné prostriedky a ich vedľajšie produkty“ a zo všeobecných požiadaviek na pracovné charakteristiky analytickej metódy (príloha č.3: Kritériá správnosti a presnosti metód). Podľa MSA-L/06: „Validácia skúšobných metód“ bol zvolený spôsob validácie metódy: „Systematické zisťovanie vplyvu veličín a pracovných podmienok“. Prvkami validácie boli: RM 1000 mg/l BrO_3^- (Merck p.a.).

Vyhodnotenie validácie bromičnanov

Závery validácie: Metóda vyhovuje v plnom rozsahu. Výsledky potvrdzujúce tieto závery sú zhrnuté v tabuľke č. 1. Správa o validácii metódy bola posúdená a odsúhlasená externým expertom.

Tab. 1: Výsledky validácie bromičnanov stanovených metódou vnútroelektródovej coulometrickej titrácie

POŽIADAVKY NA METÓDU			*VÝSLEDKY VALIDÁCIE*	
PRACOVNÉ CHARAKTERISTIKY	*Vyjadrené ako*	*Požiadavky*	*Skutočnosť*	*Závery*
DETEKČNÝ LIMIT (LOD)	LOD (s_w)	1 µg/l	0,3 µg/l	vyhovuje
	LOD *	2,5 µg/l		vyhovuje
ZHODNOSŤ (PRE)	s_w	5 %	1,7 – 4,4 %	vyhovuje
	s_b	10 %	3,0 – 9,3 %	vyhovuje
	s_t	10 µg/l	2,2 µg/l	vyhovuje
PRESNOSŤ (ACC)	Rozsah	75 – 125 % *	88,0 – 115 %	vyhovuje
SPRÁVNOSŤ (TRU)	vychýlenie	75 – 125 % *	99,0 – 106 %	vyhovuje
		± 2,5 µg/l *	± 2,5 µg/l	vyhovuje
	výťažnosť (PV)	100 ± 25 % *	89,7 %	vyhovuje
ROZSAH METÓDY (RAN)	RAN	1 – 50 µg/l	1 – 50 µg/l	vyhovuje

*Kritériá správnosti a presnosti metód uvedené v Nariadení vlády SR č. 496/2010 Z. z., príloha č. 3.

2.3. Odhad neistoty merania

Na vykonanie odhadu neistoty merania bromičnanov prietokovou coulometriou bol použitý postup uvedený v literatúre (SUCHÁNEK M., 2005), ktorý je v súlade s pripravovanou normou (DRAFT ISO/DIS 11352). Tento postup vychádza z predpokladu, že systematická odchýlka metódy merania a dlhodobá vnútrolaboratórna presnosť, resp. reprodukovateľnosť získané z vnútornej kontroly kvality sú v danom koncentračnom rozsahu konštantné. Doporučuje sa určiť odhad neistôt na dvoch alebo viacerých hodnotách obsahu (pokrytá horná aj dolná časť rozsahu).

Postup odhadu neistoty merania:

1/ $u_{r,repro}$ - dlhodobá presnosť z regulačných diagramov (reprodukovateľnosť, intermediate precision),

2/ $u_{r,ref}$ - neistota hodnôt certifikovaného referenčného materiálu, (udaná výrobcom na certifikáte),

3/ B_r - systematická odchýlka (vychýlenie, bias), výťažnosť z validácie metódy,

4/ $u_{r,xp}$ - neistota systematickej odchýlky (vychýlenie, bias), opakovateľnosť (n =10).

Kombináciu odhadov dielčích neistôt do relatívnej kombinovanej ($u_{r,tot}$) a rozšírenej neistoty ($U_{r,tot}$, pre k = 2) dostaneme výslednú neistotu pre stanovenie bromičnanov vnútroelektródovou coulometrickou titráciou na prístroji EcaFlow:

$$u_{r,tot} = \sqrt{u_{r,repro}^{\ 2} + B_r^{\ 2} + u_{r,ref}^{\ 2} + u_{r,rp}^{\ 2}} = \sqrt{5{,}20^2 + 10{,}3^2 + 0{,}15^2 + 2{,}46^2} = 11{,}8\ \%$$

$$U_{r,tot} = 2.u_{r,tot} = 24\ \%$$

2.4 Porovnanie výsledkov stanovenia bromičnanov prietokovou coulometriou a normovanou metódou iónovej kvapalinovej chromatografie

Akreditovanou metódou na stanovenie bromičnanov v našom laboratóriu je metóda iónovej kvapalinovej chromatografie (IC). Validácia a akreditácia IC metódy stanovenia bromičnanov sa uskutočnila v roku 2003.

V tabuľke č. 2 je uvedené porovnanie dosiahnutých validačných parametrov metódou IC, metódou prietokovej coulometrie (PRC) a požiadaviek vyplývajúcich z legislatívy. V tabuľke č. 3 je uvedené porovnanie dosahovaných parametrov, ktoré boli požadované našim laboratóriom.

Tab. 2: Porovnanie vybraných pracovných charakteristík požadovaných legislatívou SR s výsledkami IC a PRC metód.

STANOVENIE BROMIČNANOV IC vs. PRC			*VÝSLEDKY VALIDÁCIE*	
PRACOVNÉ CHARAKTERISTIKY	*Vyjadrené ako*	*Legislatívne požiadavky*	*IC*	*PRC*
DETEKČNÝ LIMIT (LOD)	LOD	2,5 µg/l * 0,75 µg/l **	2,0 µg/l	0,3 µg/l
PRESNOSŤ (ACC)	rozsah	75 – 125 % *	97,0 – 106 %	88,0 – 115 %
SPRÁVNOSŤ (TRU)	vychýlenie	75 – 125 % *	102 – 103 %	99,0 – 106 %
		± 2,50 µg/l *	± 4,0 µg/l	± 2,5 µg/l
	výťažnosť (PiV)	100 ± 25 % *	109 %	89,7 %

*Kritériá správnosti a presnosti metód uvedené v Nariadení vlády SR č. 496/2010 Z. z., príloha č. 3.

**Vyplýva z Potravinového kódexu SR pre bromičnany

Tab. 3: Porovnanie vybraných pracovných charakteristík požadovaných laboratóriom s výsledkami validácie dosiahnutými IC a PRC metódou.

STANOVENIE BROMIČNANOV IC vs. PRC			*VÝSLEDKY VALIDÁCIE*	
PRACOVNÉ CHARAKTERISTIKY	*Vyjadrené ako*	*Požiadavky laboratória*	*IC*	*PRC*
LIMIT KVANTIFIKÁCIE (LOQ)	LOQ	1,0 µg/l**	10,0 µg/l	1,0 µg/l
ZHODNOSŤ (PRE)	s_w	5 %	1,1 – 2,5 %	1,7 – 4,4 %
	s_b	10 %	0 – 1,8 %	3,0 – 9,3 %
	s_t	10 µg/l	3,0 µg/l	2,2 µg/l
ROZSAH METÓDY (RAN)	RAN	1 – 50 µg/l	10 – 100 µg/l	1 – 50 µg/l

**Vyplýva z Potravinového kódexu SR pre bromičnany

Hlavnou prednosťou prietokovej coulometrie oproti metóde iónovej kvapalinovej chromatografie je nižší limit stanovenia bromičnanov. Legislatívou stanovený limit pre obsah bromičnanov v pitnej vode je 10 µg/l. Limit 3 µg/l BrO_3^- je uvedený vo Výnose MP SR a MZ SR z marca 2004 č. 608/9/2004-100 (Potravinový kódex SR) ako najvyššia medzná hodnota pre bromičnany v prírodnej minerálnej vode, pramenitej vode a balenej pitnej vode. Podľa Smernice komisie 2009/90/ES z júla 2009, ktorou sa ustanovujú technické špecifikácie pre chemickú analýzu a sledovanie stavu vôd je potrebné, aby limit stanovenia dosiahnutý použitou metódou bol rovný alebo nižší ako 30 % limitu uvedeného v príslušných normách kvality životného prostredia. Z toho vyplýva, že požadovaná hodnota limitu stanovenia pre bromičnany je 3 µg/l pre pitnú vodu (prípadne 1 µg/l pre minerálnu, pramenitú vodu a balenú pitnú vodu). Metóda PRC dosiahla limit stanovenia pre bromičnany 1 µg/l, metóda IC dosiahla LOQ pre bromičnany 10 µg/l (novšia prístrojová technika IC dosahuje pre bromičnany LOQ na úrovni 2 -3 µg/l).

Ostatné sledované parametre dosiahnuté metódou IC oproti metóde PRC sú porovnateľné alebo o niečo lepšie (predovšetkým zhodnosť). Nevýhodou stanovenia bromičnanov metódou PRC oproti metóde IC je spotreba väčšieho objemu vzorky na jedno stanovenie. Nepopierateľnou výhodou je však niekoľkonásobne nižšia cena prístroja a aj nižšie náklady na analýzu jednej vzorky.

2.5 Overenie navrhnutého postupu stanovenia bromičnanov v Programoch skúšok spôsobilosti

Navrhnutý postup stanovenia bromičnanov bol verifikovaný externou kontrolou - účasťou na medzilaboratórnych porovnávacích skúškach spôsobilosti (PT - Proficiency Testing). V apríli 2009 sme sa zúčastnili PT/CHA/4/2009 organizovanou CSlab Praha (prijatá referenčná hodnota bola 22 μg/l BrO_3^-, nami stanovená 25,1 μg/l BrO_3^-). Rovnako v septembri 2010 sme sa zúčastnili PT#7 V-7-2010 organizovanou SZÚ Praha (prijatá referenčná hodnota bola 8,0 μg/l BrO_3^-, nami stanovená 10,0 μg/l BrO_3^-). Na základe dosiahnutia uspokojivých výsledkov bola účasť v obidvoch medzilaboratórnych porovnávacích skúškach pre stanovenie bromičnanov metódou prietokovej coulometrie úspešná.

2.6 Verifikácia zavedenej metódy na stanovenie bromičnanov v minerálnych vodách pochádzajúcich z rôznych zdrojov

Od rôznych výrobcov balených minerálnych vôd zo Slovenska bolo získaných 16 vzoriek minerálnych vôd (MinV). Osem vzoriek pochádzalo z rôznych zdrojov minerálnych vôd (MinV-zdroj) a ku každej vzorke pochádzajúcej zo zdroja bola dodaná aj rovnaká vzorka minerálnej vody upravená vzduchom obohateným ozónom (MinV-po úprave). Na identifikáciu vzoriek uvádzame len obsah celkovej mineralizácie z dôvodu zachovania ich anonymity.

Úprava vzoriek pred analýzou

Po prijatí vzoriek v laboratóriu NRL bol ku všetkým vzorkám v 1,5 l PET fľašiach pridaný etyléndiamín (na výslednú koncentráciu EDA 50 mg/l). Všetky vzorky boli vložené na 30 min do ultrazvuku a následne upravené preliatim cez pripravenú kolónu so silne kyslým katexom (objem 50 ml). Kolóna bola pred každou vzorkou najprv prepláchnutá 100 ml deionizovanej vody (DV), regenerovaná 100 ml 1 mol/l NaCl, znovu prepláchnutá 100 ml DV a 50 ml vzorky (odpad). Následne sa 250 ml eluátu vzorky odobralo na ďalšie spracovanie. Pred analýzou boli vzorky znova odplynené v ultrazvuku počas 15 min.

Analýza vzoriek minerálnych vôd

Pri úvodnom testovacom meraní boli všetky vzorky zmerané pomocou jednobodovej kalibračnej krivky so štandardným kalibračným roztokom s koncentráciou 5 μg/l BrO_3^-. Týmto spôsobom bol stanovený približný obsah bromičnanov v každej vzorke.

Podľa výsledkov testovacieho merania vzoriek bola pre každú vzorku zvolená vhodná kalibračná krivka podľa pravidla overeného validáciou metódy, podľa ktorého hodnota koncentrácie použitého kalibračného bodu bola približne rovnaká alebo vyššia ako koncentrácia bromičnanov v meranej vzorke, ale nepresiahla dvojnásobok tejto koncentrácie. Všetkých šestnásť vzoriek bolo potom priamo bez ďalšej úpravy (resp. po vhodnom zriedení) zmerané s vhodnou jednobodovou kalibračnou krivkou vyhovujúcou tomuto pravidlu. Pomocou priameho stanovenia bromičnanov v dodaných minerálnych vodách bolo zistené, že obsah bromičnanov vo všetkých minerálnych vodách pochádzajúcich zo zdrojov bol pod úrovňou limitu stanovenia metódy, teda < 1 μg/l BrO_3^-. Obsah bromičnanov v upravených vzorkách minerálnych vôd bol rôzny. Dve vzorky upravenej minerálnej vody obsahovali < 1 μg/l BrO_3^-. Obsah bromičnanov v dvoch ďalších vzorkách upravenej minerálnej vody bol 2,16 a 2,17 μg/l BrO_3^-. Koncentrácia bromičnanov v štyroch posledných upravených minerálnych vodách bola nad povolený limit 3 μg/l BrO_3^- a pohybovala sa v rozsahu od 13,7 do 96,5 μg/l BrO_3^-.

Po priamom stanovení koncentrácie bromičnanov vo vzorkách minerálnej vody boli všetky vzorky obohacované dvomi prídavkami štandardu. Ich koncentrácie boli zvolené podľa koncentrácie bromičnanov v pôvodnej vzorke, buď 1 a 2 μg/l BrO_3^- alebo 5 a 10 μg/l BrO_3^-. Pomocou programu Excel bola pre každú vzorku minerálnej vody zistená grafická závislosť nameranej koncentrácie bromičnanov vo vzorke s prídavkom od koncentrácie pridaného štandardu. Pomocou tejto grafickej závislosti bola stanovená koncentrácia bromičnanov v pôvodnej vzorke (pri nulovej hodnote prídavku). V nasledovnej tabuľke č. 4 sú uvedené výsledky priameho stanovenia koncentrácie bromičnanov v dodaných minerálnych vodách (A) a ich stanovenia pomocou štandardného prídavku (B).

Z výsledkov stanovenia koncentrácie bromičnanov v minerálnych vodách uvedených v tab. č. 4 je zrejmé, že aj priama metóda stanovenia bromičnanov vnútroelektródovou coulometrickou titráciou pomocou jednobodovej kalibračnej krivky poskytuje správne výsledky, čo bolo potvrdené pomocou metódy dvoch štandardných prídavkov pridávaných ku vzorkám minerálnych vôd. Výťažnosť priamej metódy (A) oproti metóde prídavkov štandardov (B) sa pohybovala v rozsahu 93 – 107 % a je dôkazom dosahovania správnych výsledkov analýzy bromičnanov vnútroelektródovou coulometrickou titráciou v značne mineralizovaných vodách aj ich priamou.

Tab. 4: Výsledky stanovenia bromičnanov v minerálnych vodách metódou vnútroelektródovej coulometrickej titrácie – porovnanie priameho stanovenia so stanovením pomocou dvoch prídavkov štandardov

Por.č.	*Kód vzorky*	*Celková mineralizácia (cca) v mg/l*	*Riedenie*	*BrO_3^- v µg/l stanovenie (A)*	*BrO_3^- v µg/l stanovenie (B)*	*REC v %*
1	11	2200	N	< 1	< 1	*100*
2	21	3900	N	< 1	< 1	*100*
3	31	2200	N	< 1	< 1	*100*
4	41	3400	N	< 1	< 1	*100*
5	51	1800	N	< 1	< 1	*100*
6	61	3200	N	< 1	< 1	*100*
7	71	1300	N	< 1	< 1	*100*
8	81	2000	N	< 1	< 1	*100*
9	12	viď. 11	2,5	44,0	45,0	*98*
10	22	viď. 21	N	2,17	2,02	*107*
11	32	viď. 31	N	2,16	2,33	*93*
12	42	viď. 41	N	< 1	< 1	*100*
13	52	viď. 51	N	13,7	13,2	*104*
14	62	viď. 61	5	96,5	90,5	*107*
15	72	viď. 71	N	23,8	24,6	*97*
16	82	viď. 81	N	< 1	< 1	*100*

Vysvetlivky: kód vzorky - prvé číslo: porad. číslo výrobcu min. vody, druhé: 1 - zdroj, 2 - upravená min. voda z daného zdroja; riedenie (2,5 alebo 5 krát; N - neriedená vzorka); koncentrácia BrO_3^- v µg/l - priame stanovenie (A); koncentrácia BrO_3^- v µg/l - stanovenie pomocou dvoch prídavkov štandardu (B); REC - výťažnosť.

Z uvedeného vyplýva, že všetky sledované vzorky pochádzajúce zo zdrojov minerálnych vôd obsahovali < 1 µg/l BrO_3^- a vyhovujú limitu daného legislatívou (Potravinový kódex SR, 2004). Štyri vzorky minerálnych vôd po úprave ozónom vyhovovali danému limitu a obsahovali < 3 µg/l BrO_3^-. Zvyšné štyri vzorky minerálnych vôd po úprave ozónom nevyhovovali tomuto limitu a ich obsah 4 až 30 - násobne prekračoval povolený limit. Je potrebné uviesť, že tieto vzorky minerálnych vôd neboli získané z obchodnej siete, ale dodané výrobcami na testovanie ich hygienického zabezpečenia.

3. ZÁVER

Bol vypracovaný a optimalizovaný štandardný operačný postup na stanovenie bromičnanov prietokovou coulometriou na prístroji EcaFlow 150 GLP v pitných vodách v koncentračnom rozsahu 1 – 50 µg/l BrO_3^-. Optimalizovaný postup bol zvalidovaný. Bola vykonaná verifikácia publikovaných validačných parametrov metódy, doplnená údajmi o dosiahnutej správnosti, presnosti a zhodnosti metódy. Dosiahnuté parametre vyhoveli aj legislatívnym požiadavkám a kritériám Smernice Rady 98/83/ES. Bol vykonaný odhad neistoty metódy založený na dátach kontroly analytickej kvality a jej validačných dátach. Výsledky stanovenia bromičnanov prietokovou coulometriou boli porovnané s výsledkami nameranými metódou iónovej chromatografie a bola potvrdená dobrá zhoda výsledkov produkovaných obidvomi metódami. Správnosť výsledkov dosahovaných vypracovanou metódou bola potvrdená úspešnou účasťou v dvoch zahraničných skúškach spôsobilosti. Metóda stanovenia bromičnanov prietokovou coulometriou v pitných vodách bola koncom roka 2010 úspešne akreditovaná. V závere práce bola v laboraóriách NRL overovaná a potvrdená vhodnosť použitia metódy vnútroelektródovej coulometrickej titrácie na stanovenie bromičnanov v značne minerálnych vodách zabezpečených vzduchom obohateným ozónom s rôznym obsahom mineralizácie.

LITERATÚRA

APLIKAČNÝ LIST Č. 38: Stanovenie bromičnanov v dezinfikovaných vodách. Aplikácie pre EcaFlow 150 GLP, Istran s.r.o. Bratislava.

DRAFT ISO/DIS 11352: Water quality - Determination of measurement uncertainty of chemical and physicochemical methods based on validation and analytical quality

control data, august 2009.

KLOKOČNÍKOVÁ E., KÁBRT L., BŘÍZOVÁ E.: Akreditácia komerčne dostupných metód skúšania („READY-TO-USE TEST KIT METHODS"), str. 109, Hydroanalytika Praha, 2007.

NARIADENIE VLÁDY SR z 8. decembra 2010, Z.z. č. 496/2010, ktorým mení a dopĺňa nariadenie vlády Slovenskej republiky č. 354/2006 Z.z., ktorým sa ustanovujú požiadavky na vodu určenú na ľudskú spotrebu a kontrolu kvality vody určenej na ľudskú spotrebu.

MSA-L/06, 2002: Metodická smernica na akreditáciu. Validácia skúšobných metód. Všeobecné zásady a požiadavky, SNAS Bratislava, jún 2002.

SMERNICA RADY 98/83/ES z 3. novembra 1998 o kvalite pitnej vody.

SMERNICA KOMISIE 2009/90/ES z 31. júla 2009, ktorou sa v súlade so smernicou Európskeho parlamentu a Rady 2000/60/ES ustanovujú technické špecifikácie pre chemickú analýzu a sledovanie stavu vôd.

STANDARD METHODS FOR EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER, APHA, AWWA, WEF; 21-th Edition, Maryland, 2005.

STN EN ISO 10304-4. Kvalita vody – Stanovenie rozpustených aniónov iónovou kvapalinovou chromatografiou, časť 4: Stanovenie chlorečnanov, chloridov a bromičnanov v málo znečistených vodách. 1997.

STN EN ISO/IEC 17025: Všeobecné požiadavky na kompetentnosť skúšobných a kalibračných laboratórií, Október 2005.

STN EN ISO 5667-3: Kvalita vody. Odber vzoriek. Časť 3: Pokyny na konzerváciu vzoriek vody a manipuláciu s nimi, Január 2005.

STN ISO 3534-1: Štatistika. Slovník a značky. Časť 1. Pravdepodobnosť a všeobecné štatistické termíny, Júl 1999.

Suchánek M. Fredecký B., Kratochvíla J., Budina M., Bartoš V.: Doporučení pro určení odhadů nejistot výsledků meření/klinických testů v klinických laboratořích, Klin. Biochem.

Metab., 2006, 14, 1, s. 43–52.

TKÁČOVÁ J., KASSAI A:, KÚTNIKOVÁ D., HORVÁTH M.: Akreditácia metódy stanovenia chloritanov vnútroelektródovou coulometriou, Hydrochémia, Bratislava, 2010.

VÝNOS MINITERSTVA PÔDOHOSPODÁRSTVA SR A MINISTERSTVA ZDRAVOTNÍCTVA SR z 15. marca 2004 č. 608/9/2004-100, ktorým sa vydáva hlava Potravinového kódexu Slovenskej republiky upravujca prírodnú minerálnu vodu, pramenitú vodu a balenú pitnú vodu.

TEST STANOVENÍ OXIDU CHLORIČITÉHO METODOU DPD-G

Eva Sýkorová, Ľubica Kollerová

ÚTVP VŠCHT v Praze, Technická 5, Praha 6, 166 28
e-mail: eva.sykorova@vscht.cz, lubica.kollerova@vscht.cz

SOUHRN

Oxid chloričitý patří do skupiny látek, souhrnně označovaných aktivní chlor, které se využívají především k dezinfekci a to nejen pitných vod. Koncentrace aktivního chloru ve vodách lze stanovit spektrofotometrickou metodou DPD (N,N-diethyl-1,4-fenylendiamin). Postupem DPD-G, spadajícím pod tuto metodu, lze stanovit oxid chloričitý. K tomu je zapotřebí inaktivace ostatních forem aktivního chloru. Inaktivace je v této metodě prováděna glycinem. Pro testování účinnosti a podmínek inaktivace ostatních forem aktivního chloru byly použity modelové vzorky se známou hodnotou pH, obsahující aktivní chlor ve formě oxidu chloričitého, chlornanu a chloritanu. Obměnami standardního postupu DPD-G a testováním vlivu doby působení glycinu ve vzorku s obsahem aktivního chloru, byly získány výsledky, podle kterých lze charakterizovat podmínky a účinnost inaktivace.

KLÍČOVÁ SLOVA

aktivní chlor; stanovení oxidu chloričitého; metoda DPD-G; modifikace postupu DPD-G;

ÚVOD

Oxid chloričitý je silné oxidační a dezinfekční činidlo, jehož hlavní výhodou jsou bezchlorační účinky. Vzhledem ke svým vlastnostem je možnou náhradou dosud hojně užívaného dezinfekčního činidla chlornanu. Zamezí se tak vzniku chlorovaných organických látek, podezřelých z karcinogenity, či vzniku zapáchajících vedlejších produktů dezinfekce. Oxid chloričitý je plyn, který nelze stlačit a skladovat, je nutné vyrábět jej v místě potřeby, což může být nevýhodou i výhodou jeho použití.

Jednou z metod stanovení aktivního chloru je spektrofotometrická metoda DPD. Výsledkem stanovení postupu DPD-G, který je založen na inaktivaci ostatních forem aktivního chloru mimo oxid chloričitý, je 1/5 jeho koncentrace. Metoda je citlivá na hodnotu pH vzorku, podmínky vybarvovací reakce a na přítomnost ostatních forem aktivního chloru ve vzorku.

Pro optimalizaci podmínek stanovení oxidu chloričitého metodou DPD-G byl proveden test inaktivace ostatních forem aktivního chloru pomocí modifikací standardního postupu metody DPD-G. Testovány byly modelové roztoky o známé hodnotě pH s obsahem aktivního chloru ve formě oxidu chloričitého, chlornanu a chloritanu. Dále byl testován vliv doby působení glycinu na inaktivaci chlornanu.

STANOVENÍ AKTIVNÍHO CHLORU

Pod pojmem aktivní chlor se rozumějí všechny formy chloru, které v kyselém prostředí oxidují jodidy na jód. Rozlišuje se volný aktivní chlor, tj. molekulární chlor, chlornany, oxid chloričitý a vázaný aktivní chlor, tj. anorganické chloraminy. Elementární chlor, chlornany, kyselina chlorná a oxid chloričitý tvoří koncentraci tzv. „celkového aktivního chloru“ ve vodách. Všechny formy chloru, které způsobí vybarvení v kyselém prostředí po následné neutralizaci na hodnotu pH = 6,5, tvoří tzv. celkový dostupný chlor. Pojmem veškerý chlor se rozumí celkový aktivní chlor a chloridy [1].

Ke stanovení aktivního chloru se nejčastěji používají metody odměrné, amperometrické a spektrofotometrické. Spektrofotometrické stanovení aktivního chloru metodou DPD je modifikací stanovení volného chloru a chloraminů ve vodě [2]. Roztok DPD (N,N-diethyl-1,4-fenylendiamin) poskytuje při hodnotě pH 6,5 vybarvení, jež je možné vyhodnotit spektrofotometricky. Metoda DPD zahrnuje čtyři způsoby stanovení aktivního chloru. Postupem A, C se stanoví volný a celkový aktivní chlor, postupem G oxid chloričitý, postupem D dostupný aktivní chlor [1].

V metodě DPD-G je k inaktivaci všech forem aktivního chloru, mimo oxid chloričitý, používán glycin (kyselina aminooctová) [1]. Při vyhodnocování směsí různých sloučenin chloru je nutné potlačit ostatní formy aktivního chloru před reakcí vzorku s činidlem DPD. Glycin okamžitě reaguje s aktivním chlorem, který má chlorační účinky, na kyselinu chloraminoctovou. Oxid chloričitý chlorační účinky nemá, a s glycinem proto nereaguje [2].

Stanovení ruší oxidující látky vyskytující se ve vzorcích, tyto látky jsou rozděleny do dvou skupin. V první skupině jsou sloučeniny obsahující chlor. Do druhé skupiny patří ve vodě se vyskytující oxidační činidla, jako například MnO_4^-. Dále stanovení ruší ionty kovů, které lze maskovat přidáním ethylendiamintetraoctové kyseliny (EDTA), a draselné ionty, které reagují s DPD stejným způsobem, jako volný chlor [2].

TESTOVÁNÍ METODY DPD-G

Ve standardním postupu metody DPD-G je ke vzorku přidáván glycin ($c(NH_2CH_2COOH)$ = 1,066 mol/l), tlumivý roztok (pro zajištění hodnoty pH 6,5) a roztok DPD (okyselený roztok bezvodého síranu DPD s přídavkem EDTA) v uvedeném pořadí. Přídavkem glycinu dochází k inaktivaci forem aktivního chloru mimo oxid chloričitý. Přídavkem roztoku DPD, za hodnoty pH 6,5, dochází k vybarvení roztoku. Výsledkem stanovení je pak 1/5 koncentrace oxidu chloričitého [2].

Vzorky pro testování inaktivace v metodě DPD-G se stávaly z 55 ml modelového roztoku (MR) o různé hodnotě pH a standardního přídavku (10 ml) jedné z forem aktivního chloru: chlornan (komerčně dostupný roztok, $c(NaClO) \approx 494$ mmol/l), chloritan ($c(NaClO_2) \approx 1{,}125$ mmol/l), oxid chloričitý ($c(ClO_2) \approx 4{,}223$ mmol/l). Jednotlivé roztoky chloru byly pro přípravu vybarvovacích roztoků naředěny na koncentrace vyhovující rozsahu kalibrace. Modelové roztoky byly připraveny z hydrogenuhličitanu sodného ($c(HCO_3^-)$ = 0,2 mol/l), kyseliny chlorovodíkové (c(HCl) = 0,2 mol/l) a demineralizované vody [3]. Výsledné hodnoty pH modelových roztoků jsou uvedeny v tabulce č. 1.

Tab. 1: Hodnoty pH modelového roztoku před přídavkem aktivního chloru [3]

roztok	MR0	MR1	MR2	MR3	MR4	MR5	MR6
pH	8,3	6,7	6,3	5,9	5,7	2,2	1,4

Pomocí modifikací standardního postupu metody DPD-G, tj. změn pořadí přídavku jednotlivých činidel, byl proveden test účinnosti inaktivace. K modelovým roztokům s obsahem aktivního chloru byla přidávána příslušná činidla v pořadí dle jednotlivých postupů (tabulka č. 2). Odměrná baňka byla vždy doplněna po rysku demineralizovanou vodou na objem 100 ml [3]. K přípravě roztoků bylo použito nádobí připravené tak, aby nevykazovalo potřebu chloru [1].

Tab. 2: Modifikace standardního postupu metody DPD-G [3]

Název	Ozn.	Pořadí činidel
Std. postup	GTD	2 ml glycinu + 10 ml tlumivého roztoku + 5 ml roztoku DPD
Modif.č. 1	TGD	10 ml tlumivého roztoku + 2 ml glycinu + 5 ml roztoku DPD
Modif.č. 2	TD	10 ml tlumivého roztoku + 5 ml roztoku DPD
Modif.č. 3	KTD	1g KI + 10 ml tlumivého roztoku + 5 ml roztoku DPD

Vliv doby působení glycinu byl testován pomocí standardního postupu metody DPD-G na vzorku aktivního chloru ve formě chlornanu. Inaktivace byla prováděna ve třech fázích. Každý vybarvovací roztok, obsahující modelový roztok a aktivní chlor, byl zhotoven třikrát. Ke všem roztokům byly přidány 2 ml glycinu, poté 10 ml tlumivého roztoku a 5 ml roztoku DPD v odlišném čase (ihned, po 5 a po 10 minutách) [4].

Pro měření absorbance všech vybarvených roztoků byl použit Spektrofotometr WTW PhotoLab Spektral, s možností měřit v rozsahu vlnových délek od 330 do 800 nm. Vzorky byly proměřovány v kyvetě s optickou dráhou 5 cm. Absorbance vybarvených roztoků byla měřena ihned po přídavku činidel mimo obměnu KTD, kdy byla měřena po dvou minutách od vybarvení.

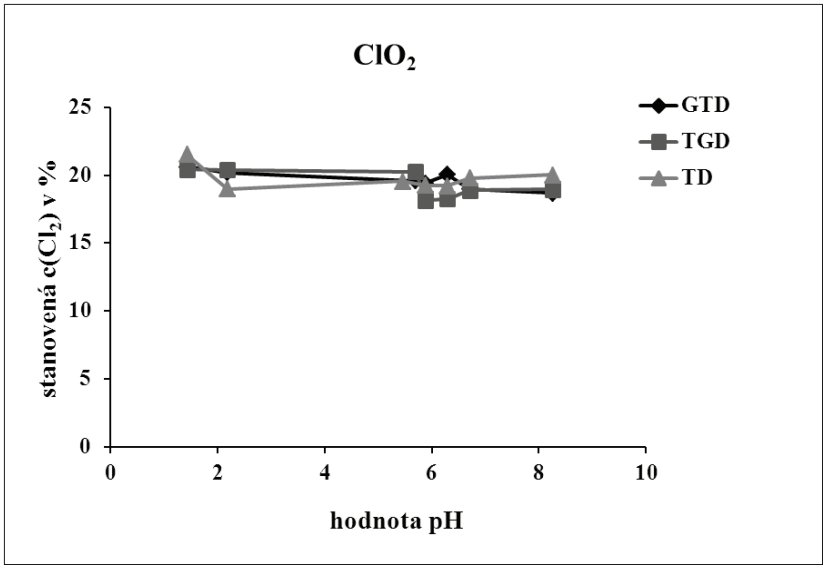
VÝSLEDKY A DISKUZE

Pro vyhodnocování výsledků testování metody DPD-G byla z naměřených hodnot absorbancí dle kalibrační rovnice vypočtena koncentrace chloru (Cl_2) a z ní poté určen podíl stanovené koncentrace chloru ve vzorku (jako 100 % byla brána původní koncentrace testovaného roztoku aktivního chloru). Výsledky stanovení jednotlivých vzorků aktivního chloru, v rámci testování účinnosti inaktivace, jsou porovnány na grafech č. 1 až 3. Vzhledem k navýšení stanovené koncentrace vlivem absence inaktivačního činidla je poslední obměna KTD uvedena samostatně (graf č. 4). Vliv doby působení glycinu na účinnost inaktivace byl sledován na vzorku chlornanu a je znázorněn na grafu č. 5.

Test účinnosti inaktivace

Jak je patrné z grafu č. 1, standardním postupem GTD i jeho obměnami TGD a TD byla stanovena 1/5 (resp. 20 %) koncentrace oxidu chloričitého (ClO_2) a to nezávisle na hodnotě pH. Potvrzuje se fakt, že stanovením získáme 1/5 koncentrace ClO_2 ve vzorku.

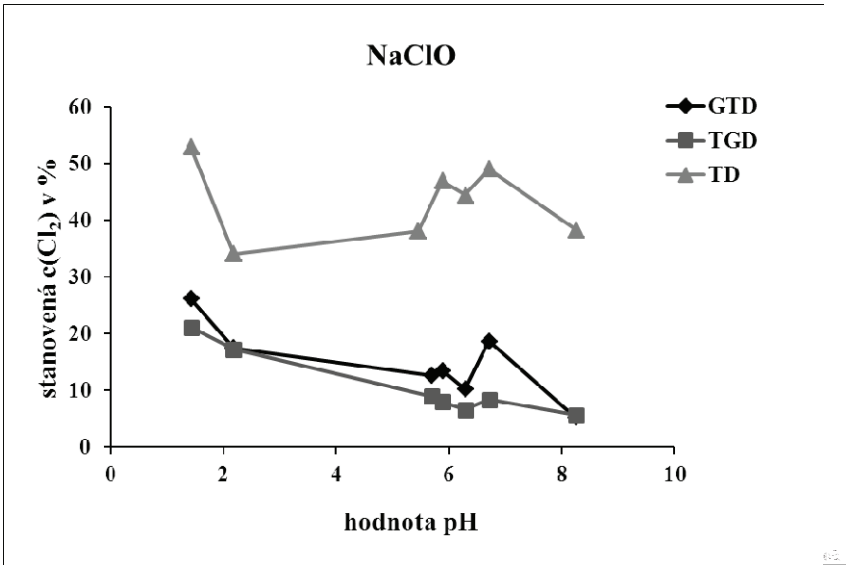
V obměně TD nedošlo k navýšení stanovené koncentrace oxidu chloričitého, jelikož byl použit čistý vzorek, který neobsahoval jiné formy aktivního chloru. Při porovnání standardního postupu a obměny TGD nedochází k výrazně odlišným výsledkům. Můžeme tedy konstatovat, že přídavek glycinu, do již utlumeného roztoku na hodnotu pH vybarvovací reakce 6,5 (obměna TGD), nemá na stanovení oxidu chloričitého vliv.



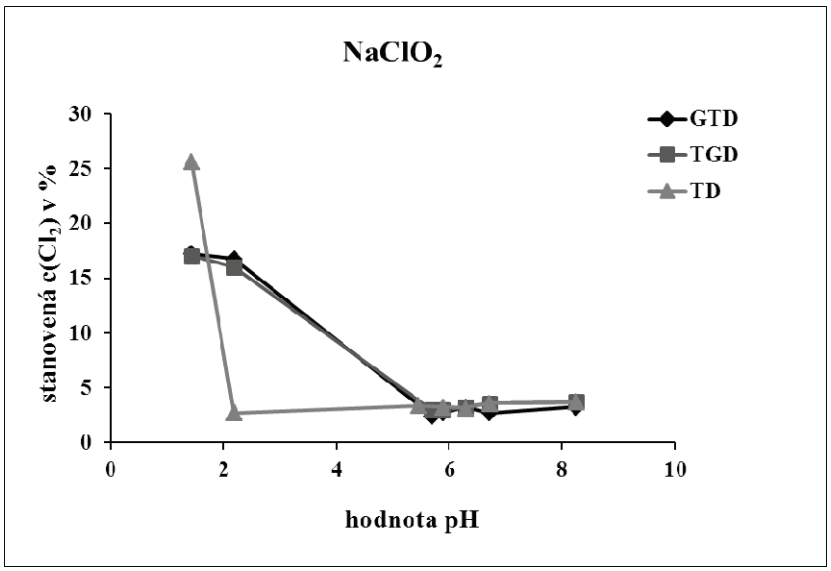
Graf č. 1 Porovnání výsledků stanovení jednotlivých modifikací, vzorek s obsahem ClO_2

Ve vzorku s obsahem chlornanu sodného (NaClO) můžeme v obměně TD pozorovat nárůst stanovené koncentrace chloru vlivem absence inaktivačního činidla (graf č. 2). Při porovnání standardní metody a obměny TGD je patrné, že postupem TGD došlo k lepší inaktivaci chlornanu, respektive pozitivní chyba stanovení je nižší, než u standardního postupu. Inaktivace chlornanu je nejúčinnější v alkalických vzorcích, avšak nedochází k jeho úplné inaktivaci, a je tudíž nutno při stanovení oxidu chloričitého standardní metodou DPD-G počítat s přibližně 15% a v postupu TGD se 7% pozitivní chybou stanovení způsobenou chlornanem.

Z nízkých stanovených koncentrací chloru (graf č. 3) ve vzorku s obsahem chloritanu sodného ($NaClO_2$) vyplývá, že v metodě DPD-G i v jejích modifikacích je $NaClO_2$ dostatečně inaktivován. Podmínky metody zřejmě nevyhovují stanovení $NaClO_2$ a jeho vliv na stanovení oxidu chloričitého je tudíž zanedbatelný. Chloritan způsobuje vyšší pozitivní chybu stanovení pouze ve vzorcích o nižší hodnotě pH, v ostatních vzorcích průměrně způsobuje přibližně 3% pozitivní chybu stanovení.

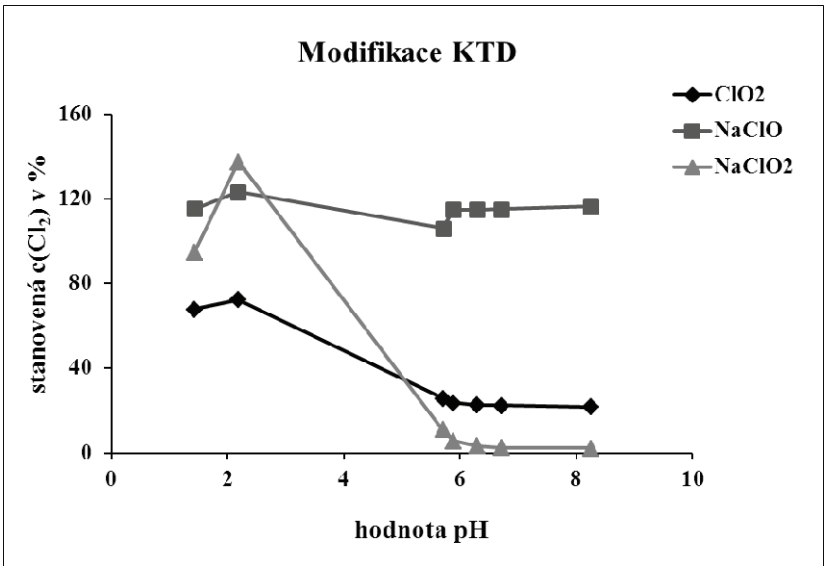


Graf č. 2 Porovnání výsledků stanovení jednotlivých modifikací, vzorek s obsahem NaClO



Graf č. 3 Porovnání výsledků stanovení jednotlivých modifikací, vzorek s obsahem $NaClO_2$

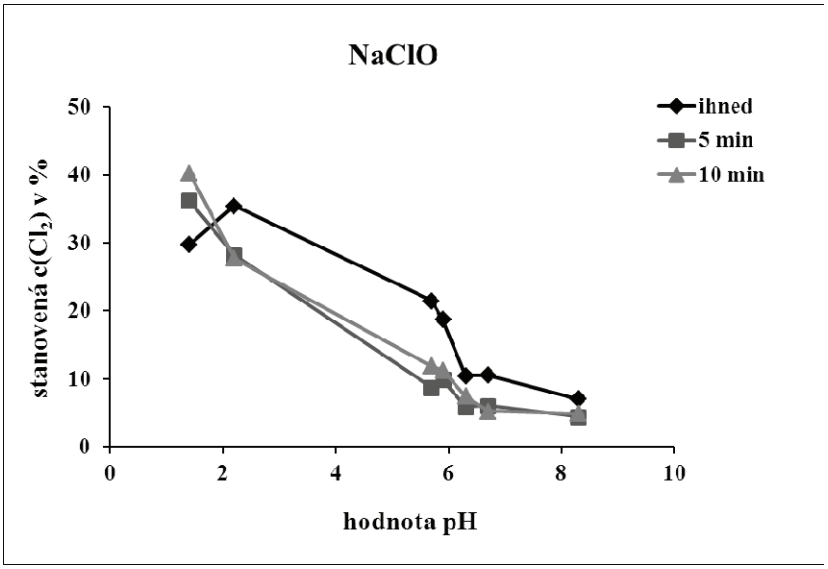
Shrnutí poslední obměny, tj. přídavku jodidu draselného do vzorku bez inaktivace glycinem, je znázorněno na grafu č. 4. Vzhledem k přítomnosti jodidů ve vzorku s obsahem aktivního chloru dochází ve všech třech vzorcích s nižší hodnotou pH k navýšení stanovené koncentrace chloru vlivem vývinu jódu způsobujícího pozitivní chybu stanovení [3]. Nejochotněji s přítomnými jodidy reaguje chlornan, kdy k navýšení jeho koncentrace došlo i ve vzorcích o vyšší hodnotě pH. V roztoku chlornanu pravděpodobně dochází k reakci přítomných oxidovaných produktů, které s jodidy reagují nezávisle na hodnotě pH vzorku. Nejméně působí tato obměna na vzorek ClO_2. V silně kyselých vzorcích došlo vlivem reakce s jodidy k navýšení stanovené koncentrace oxidu chloričitého cca na 70 %. V rozmezí hodnot pH 6 až 8 je však výsledkem opět 1/5 připravené koncentrace. Vliv jodidů (například při uchovávání vzorku ClO_2) je v případě, že se jedná o vzorek neutrální či zásadité povahy, zanedbatelný [3].



Graf. č. 4: Modifikace KTD, závislost stanovených koncentrací Cl_2 na hodnotě pH [3]

Test doby působení glycinu

Účelem tohoto pokusu bylo zjistit, zda je inaktivace chlornanu, jakožto nežádoucí formy aktivního chloru při stanovení oxidu chloričitého metodou DPD-G, závislá na hodnotě pH vzorku. V předchozích měřeních bylo zjištěno, že chlornan ze 100 % inaktivovat nelze. V pokusu byly testovány delší doby působení glycinu v roztocích s obsahem chlornanu při různých hodnotách pH, aby se ověřilo, za jakých podmínek a zda vůbec budou mít vliv na jeho inaktivaci.



Graf č. 5: Testování vlivu doby působení inaktivace, vzorek s obsahem NaClO [4]

Z grafu č. 5 vyplývá, že s rostoucí hodnotou pH vzorku se snižuje stanovená koncentrace volného aktivního chloru, resp. chlornanu, tedy se zvyšuje účinnost inaktivace glycinem. Dále je patrné, že nejúčinnější pro inaktivaci ostatních forem aktivního chloru je pěti minutové působení glycinu ve vzorku, avšak ani delší působení glycinu nevykazuje 100% inaktivaci chlornanu [4].

ZÁVĚR

Standardním postupem stanovení oxidu chloričitého metody DPD-G (v článku označen GTD) je v souladu s literaturou stanovena koncentrace, která odpovídá 1/5 (resp. 20%) koncentrace oxidu chloričitého ve vzorku. V postupu GTD je pozitivní chyba chlornanu 15%, chloritanu 3% v rozmezí hodnot pH vzorku 6 až 8. Nižší hodnota pH vzorku poskytuje u chlornanu i chloritanu chybu stanovení blízkou 20%.

Vyšší účinnost inaktivace ostatních forem aktivního chloru vykazuje, oproti standardnímu postupu, modifikace TGD (inaktivace při hodnotě pH 6,5). Metodou je rovněž stanoveno 20% původní koncentrace oxidu chloričitého ve vzorku, avšak v rozmezí hodnot pH vzorku 6 až 8 je pozitivní chyba chlornanu nižší (7%), u chloritanu 3%. Při nižších hodnotách pH i v této modifikaci způsobuje chlornan i chloritan vysokou pozitivní chybu stanovení.

Inaktivace ostatních forem aktivního chloru v metodě DPD-G klesá s klesající hodnotou pH. Nejúčinnější je inaktivace v neutrální a alkalické oblasti hodnot pH a dále při pěti minutovém působení inaktivačního činidla (kyseliny aminooctové) ve vzorku.

Pro spektrofotometrické stanovení oxidu chloričitého doporučujeme modifikaci metody DPD s inhibicí jiných forem aktivního chloru, až po nastavení hodnoty pH 6,5 tlumivým roztokem. Hodnota pH vzorku musí být v rozsahu hodnot 6 až 8.

PODĚKOVÁNÍ

Tento příspěvek vznikl v rámci výzkumného záměru MSM 6046137308 a za účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum MŠMT (Rozhodnutí č. 21/ 2011).

LITERATURA

[1] Horáková M. a kolektiv (2007): Analytika vody; VŠCHT, Praha.

[2] Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (1998); 20. vydání; American public Health Association, Washington.

[3] Sýkorová E. (2010); Diplomová práce - Formy aktivního chloru v postupu DPD-G, Ústav technologie vody a prostředí, VŠCHT Praha

[4] Sýkorová E. (2009); SVK 2009 - Test stanovení aktivního chloru postupem DPD-G; Ústav technologie vody a prostředí, VŠCHT Praha

VÝSKYT VYBRANÝCH LÁTEK NEPODLÉHAJÍCÍCH PRAVIDELNÉMU SLEDOVÁNÍ V HYDROSFÉŘE ČR

Věra Očenášková, David Chrastina, Petr Medek, Kristýna Jursíková, Roman Jobánek, Pavla Martinková

VÚV TGM, v.v.i.

Přestože škála sloučenin sledovaných pravidelně v hydrosféře České republiky je již velmi široká, stále je velké množství látek, jejichž rozšíření v životním prostředí se nesleduje a informace o zatížení hydrosféry těmito látkami jsou minimální. Patří sem i řada pesticidních přípravků. Nejedná se přitom o látky, jejich spotřeba by v České republice byla zanedbatelná – z evidence účinných látek vedené Státní rostlinolékařskou správou vyplývá, že např. spotřeba nad 10.000 kg ročně se týká několika desítek látek, jejichž sledování se v ČR věnuje minimální až žádná pozornost. Pro tuto studii byly vybrány látky, které se dosud v České republice pravidelně nesledují, ale jejich roční spotřeba je nad 10 000 kg ročně a jejichž některé další vlastnosti – nízká přijatelná denní dávka ADI (acceptable daily intake) či jejich nebezpečnost dle klasifikace WHO - zavdávají příčinu k jejich sledování. V době výběru pesticidů jsme měli k dispozici údaje o spotřebě v roce 2007. Vývoj spotřeby v dalších letech ukazuje tabulka 1.

Tabulka 1: Spotřeba vybraných pesticidů (v kg) v letech 2007 až 2010

Pesticid	CAS-No.	2007	2008	2009	2010
Carbendazim	10605-21-7	55 921	69 613	58 863	50 657
Carboxin	5234-68-4	22 197	50 817	974	442
Chloridazon	1698-60-8	38 511	43 788	44 173	42 583
Clomazone	81777-89-1	14 950	17 580	17 993	16 352
Cypermethrin	52315-07-08	12 500	18 782	17 175	16 783
Diquat-dibromid	88-00-7	19 450	24 476	26 468	23 453
Fenpropidin	67360-00-7	27 182	33 441	26 633	32 541
Fluroxypyr	693777-81-7	11 083	22 445	18 559	15 780
Guazatin-acetát	115044-19-4	13 430	823	134	140
Phenmedipham	13684-63-4	26 850	27 558	27 731	28 944
Spiroxamin	118134-30-8	22 829	28 267	20 269	17 923

Carbendazim CAS-No. 10605-21-7 je benzimidazolový fungicid používaný především na ochranu obilnin, např. proti padlí travnímu a rzi. Je součástí povolených přípravků Alert Beta, Alert S, Alert Sun, Alto Combi 420 SC, Bavistin WG, Duett, Harvesan, Karben 500 SC, Karben Flo Stefes, KeMiChem-Prochloraz Extra 380 SC, Sportak Alpha HF. ADI je 0,03 g/kg hmotnosti a den, dle WHO je pravděpodobně nebezpečný. Nálezy lze očekávat ve vodách.

Fungicid **Carboxin CAS-No. 5234-68-4** ze skupiny fenylamidů je používaný na ochranu obilovin, řepky, brambor a dalších plodin proti houbovým chorobám, např. proti sněti, skvrnitosti, fuzariozám a dalším. Je účinnou látkou přípravků Vitavax 200 WP, Vitavax 2000. V roce 2007 ho bylo v ČR aplikováno 22 197 kg. Jeho ADI je 0.01mg/kg těl. hmotnosti a den a dle WHO je pravděpodobně nebezpečný. Nálezy lze očekávat ve vodách.

Pyridazinon **Chloridazon CAS-No. 1698-60-8** je systémový herbicid používaný pro ošetření cukrové a krmné řepy, hubí širokou škálu jednoletých dvouděložných plevelů, s výjimkou trvalých druhů. Chloridazon je obsažen a aplikován v přípravcích BUREX 430 DKV (obsahuje 430 g chloridazonu/l, aplikuje se v dávkách 5 – 7,5 l/ha), BUREX EKO (320 g/l – aplikuje se v dávkách 3–4,5 l/ha), FLIRT (418 g chloridazonu + 42 g quinmeracu /l – aplikuje se v dávkách 5–6 l/ha), PYRADEX FL (430 g/l – aplikuje se v dávkách 5–6 l/ha) a PYRAMIN TURBO (520 g/l). ADI je 0,16 mg/kg hmotnosti a den, dle WHO je pravděpodobně nebezpečný. Nálezy lze očekávat ve vodách.

Clomazon CAS-No. 81777-89-1 je účinnou látkou herbicidních přípravků používaných pro hubení jednoletých dvouděložných plevelů v porostech řepky olejné ozimé a jarní, bramborách, hrachu a máku. V roce 2007 bylo v České republice spotřebováno 14 947 kg clomazonu. Je obsažen a aplikován v přípravcích BRASAN 540 EC (obsahuje 40 g clomazonu /l + 500 g dimetachloru /l – aplikuje se v dávkách 2–3 l/ha), COMMAND 36 CS (360 g/l – aplikuje se v dávkách 0,125–0,25 l/ha). Na člověka při kontaktu s kůží tyto přípravky působí dráždivě, pro vodní organizmy jsou toxické a mohou vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí. ADI je 0,12 mg/kg hmotnosti a den, dle WHO je středně nebezpečný. Nálezy lze očekávat ve vodách.

Cypermethrin CAS-No. 52315-07-08, který patří mezi pyrethroidy, je součástí insekticidních přípravků Alimetrin 10 EM, Cyper 10 EM, Cyperkill 25 EC, Cyples, Nurelle D, které se používají na ochranu jehličnanů

proti některým škůdcům (lýkožrout smrkový, klikoroh borový), brambor a rajčat proti mandelince bramborové, jabloní proti obaleči jablečnému a dalším škůdcům. ADI je 0,05 mg/kg hmotnosti a den, dle WHO je středně nebezpečný. Nálezy lze očekávat v povrchové vodě, plaveninách, sedimentech a biotě.

Diquat dibromid CAS-No. 88-00-7) patří mezi neselektivní kontaktní herbicidy. Je účinnou složkou přípravků Agri Diquat - 200 SL, KeMiChem-Diquat 200 SL, KeMiChem-Diquat-I 200 SL, RC-Diquat 200 SL, REGO, RealChemie-Diquat 200 SL, Reglone, Regular. Aplikuje se např. v porostech brambor k desikaci natě. ADI je 0,002 mg/kg hmotnosti a den, dle WHO je středně nebezpečný. Nálezy lze očekávat ve vodách, plaveninách a sedimentech.

Fungicid ze skupiny morfolinů **Fenpropidin CAS-No. 67306-00-7** je součástí přípravků určených k ochraně pšenice a ječmene proti houbovým chorobám. Je obsažen a aplikován v přípravku ARCHER TOP 400 EC (obsahuje 275 g fenpropidinu/l + 125 g propiconazolu/l – aplikuje se v dávkách 0,8–1 l/ha). Na člověka při kontaktu s kůží a vdechnutí přípravek působí dráždivě, pro vodní organizmy je toxický a může vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí. ADI je 0,005 mg/kg hmotnosti a den, dle WHO je středně nebezpečný. Nálezy lze očekávat ve vodách.

Fluroxypyr CAS-No. 693777- 81-7, herbicid zařazený mezi pyridyloxykyseliny, je součástí přípravků na odstraňování dvouděložních plevelů ze všech typů trávníků, z porostů obilovin, pícnin, olejnin a dalších kulturních rostlin, jako např. pažitky, cibule, kmínu, révy vinné, narcisů a tulipánů, z ovocných sadů. Je účinnou složku přípravků Bofix, KeMiChem-Fluroxypyr 250 EC, KeMiChem-Fluroxypyr–I 250 EC, Lancet, Nestor 25 EC, RC- Fluroxypyr 250 EC, Starane 250 EC, Tandus 250 EC, Tomigan 250 EC, Travin, Xypyr-250 EC. Přípravky Lancet a Travin je již možno používat pouze do vypotřebování zásob. ADI je 0,8 mg/kg těl. hmotnosti a den a dle WHO je klasifikován jako pravděpodobně nebezpečný. Je toxický pro ryby, pro živočichy sloužící rybám za potravu a pro řasy. Je zařazen jako nebezpečný pro životní prostředí. Nálezy lze očekávat v povrchových vodách.

Karbamát **Phenmedipham CAS-No. 13684-63-4** je selektivní herbicid používaný především proti dvouděložním jednoletým plevelům. Je účinnou složkou přípravků Betanal Elite 274 EC, Betanal Expert, Betanal Quattro, Betasana SC, Betasana Trio SC, ChemTrade-Desmedipham Extra, Duofan, Fenifan, KeMiChem-Desmedipham Plus, KeMiChem-Ethofumesat Plus, Kompakt Stefes Flo, Kontakttwin, Mix Double EC, Mix Stefes, Powertwin, Synbetan Duo, Synbetan Mix, Synbetan P forte, Tandem Stefes. ADI je 0,03 mg/kg a den a dle WHO je pravděpodobně nebezpečný. V hydrosféře ho lze očekávat v povrchových vodách, plaveninách a sedimentech.

Spiroxamin CAS-No. 118134-30-8 je součástí přípravků používaných k ochraně pšenice a ječmene proti houbovým chorobám a révy vinné proti padlí révovému. Je obsažen a aplikován v přípravcích FALCON 460 EC (obsahuje 167 g tebuconazolu/l + 43 g triadimenolu/l + 250 g spiroxaminu/l – aplikuje se v dávkách 0,6 l/ha na obilí, 0,3–0,4 l/ha na révu vinnou) a IMPULSE 500 EC (obsahuje 500 g spiroxaminu/l). Přípravky jsou zdraví škodlivé při vdechování, styku s kůží a při požití, způsobují poleptání a vážné poškození očí, jsou vysoce toxické pro vodní organizmy a mohou vyvolat dlouhodobé nepříznivé účinky ve vodním prostředí. ADI je 0,025 mg/kg hmotnosti a den, dle WHO je středně nebezpečný. Nálezy lze očekávat ve vodách.

Guazatin acetát CAS-No. 115044-19-4 je součástí nertuťnatých mořidel ve formě kapalného koncentrátu mísitelného s vodou na moření pšenice, žita a triticale. V roce 2007 bylo v České republice aplikováno 17 146 kg účinné látky. Je obsažen a aplikován v přípravcích PANOCTINE 35 LS (obsahuje 350 g guazatin acetátu/l – aplikuje se v dávkách 2 l/t obilí) a PANOCTINE TOTAL (obsahuje 300 g guazatin acetátu/ + 25 g triticonazolu/l – aplikuje se v dávkách 1,5 l/t obilí. Jedná se o směs reakčních produktů amidinace technického iminodi(oktamethylen)-diaminu, obsahující několik guanidinů a polyaminů, přičemž hlavní složky jsou oktamethylendiamin, iminodi (oktamethylen)diamin a oktamethylen-bis-iminoktamethylen-diamin ve formě triacetátu. ADI není určeno, dle WHO je středně nebezpečný. Nálezy lze očekávat v povrchových vodách.

POUŽITÉ ANALYTICKÉ METODY PRO STANOVENÍ SLEDOVANÝCH PESTICIDŮ V POVRCHOVÝCH VODÁCH

Pro stanovení clomazonu, spiroxaminu, fenpropidinu a chloridazonu byla zvolena metoda plynové chromatografie s hmotnostní detekcí. Mez stanovitelnosti pro tyto analyty metodou GC/MS v reálných vzorcích je 0,06 $\mu g.l^{-1}$; 0,1 $\mu g.l^{-1}$; 0,08 $\mu g.l^{-1}$ a 0,05 $\mu g.l^{-1}$ v pořadí, jak jsou uvedeny.

Pro stanovení carbendazimu, carboxinu, phenmediphamu a rovněž fenpropidinu, chloridazonu a clomazonu byla použita metoda stanovení pesticidů po přímém nástřiku velkého objemu odstředěného vzorku vody kapalinovou chromatografií s hmotnostní detekcí detektorem na principu trojitého kvadrupolu za podmínek ionizace elektrosprejem v pozitivním modu. Meze stanovitelnosti pro jednotlivé analyty jsou postupně 0,05 $\mu g.l^{-1}$, 0,03 $\mu g.l^{-1}$, 0,02 $\mu g.l^{-1}$, 0,05 $\mu g.l^{-1}$, 0,05 $\mu g.l^{-1}$, 0,02 $\mu g.l^{-1}$, mez detekce je na úrovni 1/3 meze stanovitelnosti. Pro clomazon a fenpropidin je při využití této metody dosaženo nižší meze stanovitelnosti než metodou GC/MS.

Fluroxypyr byl stanovován metodou on-line SPE-LC/MS za podmínek ionizace elektrosprejem v negativním modu. Mez stanovitelnosti pro tuto látku je 0,01 $\mu g.l^{-1}$, mez detekce je 1/3 meze stanovitelnosti.

Pro stanovení cypermethrinu byla zvolena metoda plynové chromatografie s hmotnostní detekcí technikou negativní chemické ionizace v SIM modu. K extrakci vzorků z vody byla použita technika SPE. Mez stanovitelnost je 0,1 $\mu g.l^{-1}$ vody.

Pro stanovení diquatu byla použita technika kapilární izotachoforézy s kapilární zónovou elektroforézou (ITP-CZE). Při zavádění metodiky bylo nutno řešit volbu vhodného elektrolytu, vlnových délek a postup SPE extrakce.

Guazatine-acetát byl se sledování vyřazen, neboť v literatuře nebyla nalezena vhodná metoda pro stanovení této látky a v rámci studie nebyl prostor na samostatný vývoj analytické metody. Spotřeba této látky v posledních dvou letech výrazně poklesla v souvislosti s Rozhodnutím Komise 2007/597/ES ze dne 27. srpna 2007 o nezařazení guazatin-acetátu do přílohy I, IA nebo IB směrnice Evropského parlamentu a Rady 98/8/ES o uvádění biocidních přípravků na trh. Stejně významně poklesla spotřeba carboxinu. Pro obě uvedené látky platí Rozhodnutí Komise 2008/934/EC o nezařazení určitých aktivních látek do přílohy I směrnice Rady 91/414/EEC.

POUŽITÉ ANALYTICKÉ METODY PRO STANOVENÍ SLEDOVANÝCH PESTICIDŮ V SEDIMENTECH

Pro izolaci sledovaných pesticidů z pevné matrice byl hledán takový postup přípravy vzorku, který by umožnil pouze jednou extrakci vzorku ke stanovení koncentrace všech daných pesticidů. Vzhledem k rozdílným chemickým i fyzikálním vlastnostem jednotlivých sloučenin bylo však třeba použít několik způsobů extrakce, aby bylo dosaženo uspokojivé výtěžnosti. Byly porovnávány různé modifikace metody QuEChERS, Lukeovy metody a extrakce alkalizovanou směsí rozpouštědel. Dosažené výsledky jsou publikovány v samostatném příspěvku na této konferenci, stejně jako postup pro izolaci cypermethrinu a pro izolaci diquatu dibromidu ve spojení s ITP-CZE.

ODBĚROVÉ PROFILY

Pro odběry vybrány profily, ve kterých se pesticidy dlouhodobě vyskytují s větší četností i ve vyšších koncentracích. Přehled profilů je uveden v tabulce 2.
Na jižní Moravě byly dále odebírány vzorky i v lokalitách Valová - Polkovice, Okluky - Uherský Ostroh, Blata - Tovačov, Haná - Hradisko, Trkmanka - Podívín , Spálený potok - Krumvíř a Litava - Židlochovice, na severní Moravě v lokalitách Hvozdnice - nad Moravicí, Velká - nad Opavou, Heraltický potok - nad Opavou, Husí potok - nad Odrou, Opusta - nad Opavou. Jedná se o lokality s intenzivní zemědělskou činností s tradičně vyššími nálezy pesticidů hydrosféře.
Odběry probíhaly ve třech kolech, jarním (pouze některé profily) a podzimním v roce 2010 a jarním v roce 2011. Na podzim r. 2010 byly odběry v září a říjnu, na jaře 2011 od dubna do června s měsíční frekvencí.

Tabulka 2: Přehled profilů povrchových vod pro sledování výskytu vybraných pesticidů

Vybrané odběrové profily	
Dyje - Jevišovka	Úslava - Doubravka
Jihlava - Iváň	Olše - ústí
Cidlina - Sány	Sázava - Zruč nad Sázavou
Rakovnický potok - Křivoklát	Bečva - Troubky
Dyje - Pohansko	Berounka - Lahovice
Svratka - Vranovice	Lužnice - Bechyně (SM)
Dřevnice - Otrokovice	Bílina - Ústí nad Labem
Berounka - Srbsko	Loděnický p. - Hostim
Morava - Lanžhot	Střela - Borek
Radbuza - Dobřany pod (Šlovice)	Vltava - Zelčín
Svitava - Ústí	Labe - Liběchov
Morava - Nedakonice	Labe - Schmilka - pravý břeh
Blanice - Radonice	Loučná - Dašice
Berounka - Bukovec	Labe - Valy
Chrudimka - Nemošice	Labe - Lysá nad Labem
Odra - Svinov	Odra - Bohumín
Olšava - Kunovice	Litavka - Beroun
Sázava - Pikovice	

VÝSLEDKY MĚŘENÍ

V době přípravy tohoto příspěvky byly k dispozici výsledky měření z roku 2010. Výsledky z roku 2011 byly teprve vyhodnocovány.

Výsledky měření pro diquat dibromid

Ve vzorcích odebraných v Moravskoslezském kraji v průběhu června až srpna 2010 byly nálezy diquatu ve všech případech pod mezí stanovitelnosti, tedy menší než 0,05 $\mu g.l^{-1}$. Některé vzorky přesto obsahovaly stopy diquatu. Tabulka 3 zobrazuje nálezy diquatu mezi mezí stanovitelnosti a mezí detekce. Číselná hodnota je tedy pouze orientační. Mez detekce je 0,02 $\mu g.l^{-1}$. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 3. Moravskoslezský kraj je nejzranitelnější oblastí ČR pro povrchové vody ve vztahu k možné kontaminaci diquat dibromidem.

Podzimní odběry v 35 dalších profilech proběhly v září a říjnu. Nálezy diquatu byly u všech vzorků v podzimních odběrech pod mezí stanovitelnosti.

Tabulka 3: Pozitivní nálezy diquat dibromidu [$\mu g.l^{-1}$]

	8.6.2010	24.6.2010	15.7.2010	28.7.2010	3.8.2010	10.8.2010
Hvozdnice - nad Moravicí	-	0,024	-	-	-	-
Velká - nad Opavou	-	0,028	-	-	-	-
Heraltický potok - nad Opavou	0,024	0,043	-	-	-	-
Husí potok - nad Odrou	-	0,024	-	-	-	-
Opusta - nad Opavou	-*	-	-	0,023	-	-

* V tomto termínu byl odebrán profil Luha – nad Opavou, který byl již v dalších odběrech nahrazen profilem Opusta – nad Opavou.

Výsledky měření pro cypermetrin

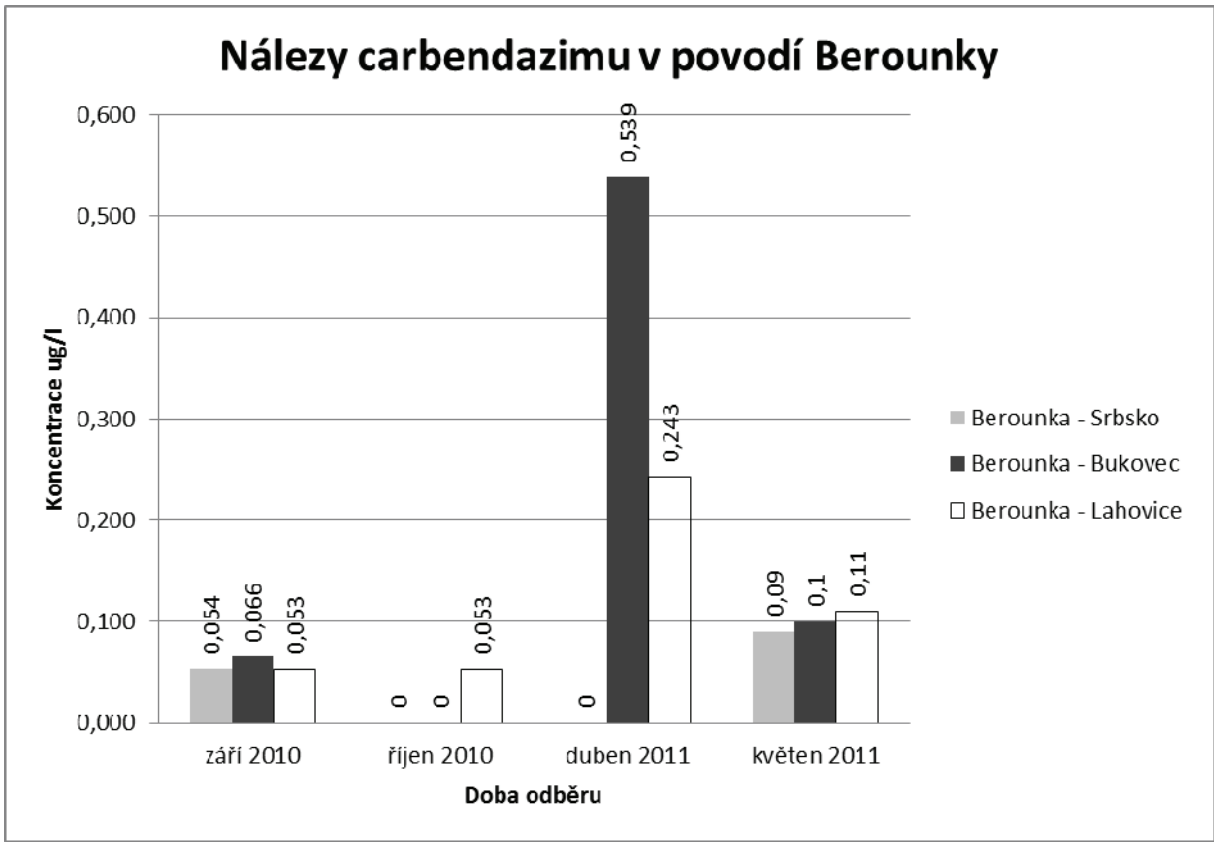
V podzimních odběrech byly všechny hodnoty měření pro cypermethrin pod mezí stanovitelnosti, ale v zářijovém odběru byl cypermethrin detekován v 71,4 % vzorků a v říjnovém ve 28,6 % vzorků.

Výsledky měření pro clomazon, fenpropidin a chloridazon metodou GC/MS a LC/MS a pro spiroxamin metodou GC/MS

V jarním kole odběrů 2010 byla pro sledování těchto látek použita pouze metoda plynové chromatografie, na podzim bylo měření prováděno i metodou LC/MS (s výjimkou spiroxaminu). Clomazon byl v jarních odběrech pouze detekován ve 3 vzorcích z celkového počtu 57 vzorků. Fenpropidin byl na jaře 2010 nalezen v několika případech ve stanovitelných koncentracích, avšak je zde obava z falešně pozitivních výsledků, proto hodnoty nejsou uvedeny. V podzimních kolech odběrů byla tato látka stanovována i metodou LC/MS, která má větší citlivost, a nebyla ani detekována v žádném ze 70 vzorků. Herbicid chloridazon byl stanoven na jaře v profilech Valová – Polkovice (4,08 a 1,87 $\mu g.l^{-1}$), Tišínka – Těšice pod (0,06 $\mu g.l^{-1}$ a 0,052 $\mu g.l^{-1}$), Litava – Židlochovice (0,059 $\mu g.l^{-1}$), Okluky – Uherský Ostroh (0,337 $\mu g.l^{-1}$), Moštěnka – Plešivec pod (0,093 $\mu g.l^{-1}$), Blata – Tovačov – Annín (0,241 a 0,133 $\mu g.l^{-1}$) a Rostěnický potok – Rostěnice (0,207 $\mu g.l^{-1}$). V dalších pěti vzorcích byl chloridazon detekován. V podzimním kole odběrů byl chloridazon stanovován rovněž metodou LC/MS (obě metody mají stejnou citlivost 0,05 $\mu g.l^{-1}$). Byl pouze ve třech případech detekován metodou LC/MS. Spiroxamin nebyl v jarním kole odběrů nalezen v žádném z analyzovaných vzorků, na podzim byl stanoven v profilu Morava – Nedakonice (0,148 $\mu g.l^{-1}$), Dřevnice – Otrokovice (0,52 $\mu g.l^{-1}$) a Jihlava – Iváň (0,158 $\mu g.l^{-1}$).

Výsledky měření pro carbendazim, carboxin, phenmedipham a fluroxypyr metodou LC/MS

Tyto látky byly sledovány pouze v podzimních odběrech 2010 a na jaře 2011. Carbendazim byl alespoň detekován ve všech vzorcích (70 vzorků). V 74,5 % vzorku se vyskytoval ve stanovitelných koncentracích, které se pohybovaly od 0,05 $\mu g.l^{-1}$ do 0,56 $\mu g.l^{-1}$ v profilu Loučná – Dašice. I z předběžných výsledků za rok 2011 vyplývá, že pesticid carbendazim se ze všech sledovaných pesticidů nejčastěji vyskytoval v kvantifikovatelném množství. Příkladem jsou např. nálezy v povodí Berounky uvedené na obrázku 1. Carboxin a phenmedipham nebyly ani detekovány v žádném ze 70 analyzovaných vzorků. Fluroxypyr byl nalezen v koncentracích nad mezí stanovitelnosti v 37 % vzorků (70 vzorků). Nalezené hodnoty se pohybovaly většinou těsně nad mezí stanovitelnosti. Nejvyšší koncentrace byla nalezena v profilu Dřevnice – Otrokovice (0,029 $\mu g.l^{-1}$).



Obrázek 1: Nálezy carbendazimu v povodí Berounky

ZÁVĚRY

Z dosud vyhodnocených výsledků vyplývá, že z vybraných pesticidů se v kvantifikovatelném množství nejčastěji vyskytoval carbendazim. Spotřeba tohoto fungicidu používaného především na ochranu obilnin proti padlí travnímu a rzi byla také nejvyšší – v roce 2010 ho bylo v ČR aplikováno 50 657 kg. Dalším pesticidem s nálezy nad mezí stanovitelnosti byl herbicid fluroxypyr (spotřeba v roce 2010 byla 15 780 kg), součást přípravků sloužících k odstraňování dvouděložných plevelů z porostů obilovin a dalších kulturních rostlin a všech typů trávníků. Ostatní pesticidy byly v povrchových vodách nalezeny většinou pouze v detekovatelném množství – cypermethrin, diquat dibromid, ojeděněle i v množství kvantifikovatelném (chloridazon). Definitivní závěry však půjde udělat až po zpracování všech získaných výsledků.

POUŽITÁ LITERATURA

Seznam registrovaných přípravků a evidovaných prostředků na ochranu rostlin 2010 Věstník SRS, ročník VII., únor 2010 [on line] [cit.16. 11. 2010].Dostupné z <http://www.srs.cz/>

ČHMÚ – pasportizace pesticidů [on line] [cit. 15. 7. 2011]. Dostupné z http://hydro.chmi.cz/pasport/

Tato studie je součástí výzkumného záměru MZP 0002071101 Výzkum a ochrana hydrosféry.

STANOVENÍ POLYVINYLALKOHOLU V RŮZNÝCH TYPECH VOD

Lenka Vacková, Jindřich Procházka, Yadira Rodríguez Muñoz*, Jan Bartáček, Jiří Wanner

Ústav technologie vody a prostředí, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28, Praha 6, lenka.vackova@vscht.cz
**Faculty of Sciences, University of Málaga, Teatinos Campus, s/n. 29071 Málaga, Španělsko*

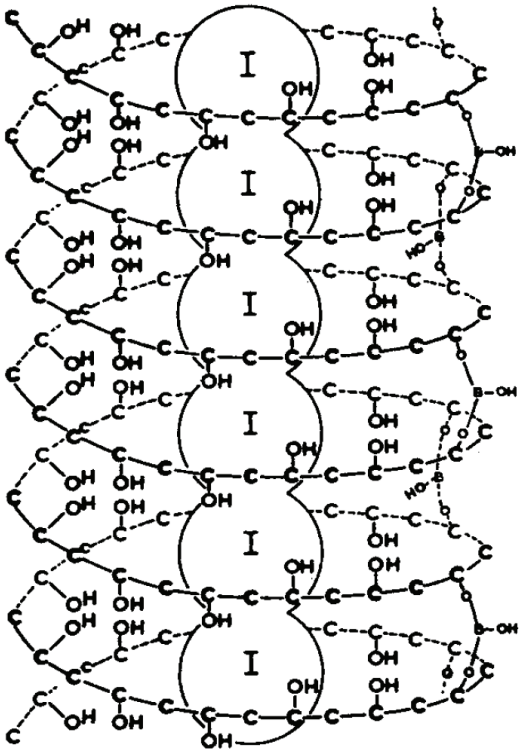
1. ÚVOD

V dnešní době je polyvinylalkohol (PVA) stále používanějším syntetickým polymerem. Nachází široké uplatnění v průmyslu, například při povrchových úpravách papíru (Nada et al., 1996) i textilu (Porter, 1998), ale také například jako stabilizační či emulgující činidlo v očních kapkách a dalších léčivech (Sakai et al., 2005, Ferdous, 1995) nebo v produkci obalových materiálů (Hallensleben, 2000). V komplexech s jódem se používá jako polarizační vrstva v displejích LCD (Ma et al., 2011). Pro své výborné mechanické a chemické vlastnosti se stále častěji používá také jako nosič enzymů či živých mikroorganismů používaný při biotechnologických procesech, ať už v potravinářství, lihovarnictví (Rebroš et al., 2008), farmacii (Wilson et al., 2004), nebo při čištění odpadních vod (Song et al., 2005, Schlieker a Vorlop, 2006, Sievers et al., 2003a, Sievers et al., 2003b, Vacková et al., 2009). Pro svou rozpustnost ve vodě se používá také jako materiál pro uzavření rybářských návnad (www.nachytano.cz, 2011).

Polyvinylalkohol je sloučenina známá od roku 1924. Jeho vlastnosti jsou silně ovlivněny vnitřní chemickou strukturou polymeru, například obsahem 1,2-diolu, polymeračním stupněm, stupněm hydrolýzy nebo stupněm saponifikace. Polyvinylalkohol je až na výjimky nerozpustný v organických rozpouštědlech, ve vodě se rozpouští, zpravidla za zvýšené teploty okolo 90 °C (Hallensleben, 2000). Rozpustnost ve vodě roste s klesající velikostí molekuly (Gangolli, 2005). Polyvinylalkohol je pro organismy netoxický, avšak jeho vysoká povrchová aktivita a produkce pěny v roztocích mohou negativně ovlivňovat rozpouštění kyslíku ve vodě, a ohrožovat tak vodní organismy (Kawai a Hu, 2009). Biologická rozložitelnost polyvinylalkoholu silně závisí na provedení procesu a druhu zúčastněných mikroorganismů, biologická rozložitelnost závisí na polymeračním stupni, tedy velikosti makromolekuly, na stupni saponifikace, na stereochemickém uspořádání polymeru a obsahu 1,2-diolu. Mezi mikroorganismy schopné aerobního rozkladu polyvinylalkoholu patří například někteří zástupci rodů *Pseudomonas* a *Sphingomonas, Bacillus, Streptomyces*, nebo některé houby rozkládající lignin (Kawai a Hu, 2009), anaerobní rozložitelnost polyvinylalkoholu je v porovnání s aerobní rozložitelností nízká (Kawai a Hu, 2009, Matsumura et al., 1993).

Přestože je polyvinylalkohol velmi rozšířenou sloučeninou, neexistuje standardní metoda pro jeho detekci ani kvantifikaci. Většina autorů zabývajících se kvantifikací PVA využívá reakce PVA s jódem v prostředí kyseliny borité za vzniku modrého komplexu (Aleksandrovich a Lyubimova, 1992, Pritchard a Akintola, 1972, Finley, 1961, Joshi et al., 1979, Morishima et al., 1978), jehož koncentraci lze vyhodnotit spektrofotometricky. Dalšími metodami stanovení PVA jsou například adsorpční rozpouštěcí voltametrie po komplexaci PVA s iontem kovu (Song et al., 1997), chromatografie na tenké vrstvě, turbidimetrie, infračervená spektroskopie (Song et al., 1997), gelová filtrační chromatografie s refraktometrickou (Jones et al., 2004) či ELS (evaporative light scattering) (Dunn, 2001) detekcí. Mnohé z těchto metod se však vyznačují vysokou mezí detekce (turbidimetrie a chromatografie na tenké vrstvě), jsou poměrně málo specifické (reakce PVA s jódem), či vyžadují použití sofistikovaných zařízení (gelová chromatografie). Většina metod byla vyvinuta pro potřeby textilního a papírenského průmyslu, s důrazem na odlišení PVA a škrobu, případně pro potřeby farmaceutického průmyslu, kde je nutná vysoká přesnost analýz.

Nejjednodušší metodou pro kvantifikaci PVA je spektrofotometrická metoda založená na reakci PVA s jódem. PVA tvoří komplex ve tvaru šroubovice s 12 vinylalkoholovými skupinami v jednom závitu. Uvnitř šroubovice se v každém závitu nachází jeden atom jódu a celá struktura je fixována pomocí molekul kyseliny borité (Zwick, 1965), obrázek 1. Alternativní teorií vzniku modrého komplexu je tvorba agregátů PVA a jódu s řetězci jódu umístěnými mezi šroubovicemi PVA (Noguchi et al., 1997). Minimální polymerační stupeň pro vznik modrého komplexu je 14 (Morishima et al., 1978). Absorpční maximum se nachází mezi 580 a 700 nm v závislosti na podmínkách reakce (Zwick, 1965).



Obr. 1: Struktura komplexu PVA, jódu a kyseliny borité. Převzato z práce Zwicka (1965)

Cílem práce bylo otestování vhodné metody pro kvantifikaci PVA v různých vzorcích vod. Pro účely provedení reakce ve spektrofotometrických zkumavkách byl upraven postup dle Pritcharda (1972) a byla zjištěna optimální reakční doba a rozsah lineární části kalibrační přímky. Testován byl vliv druhu vody na jodometrické stanovení, zvláště s ohledem na reaktivitu jódu s mnohými složkami odpadních vod, například amoniakálním dusíkem (McAlpine, 1952). Určena byla mez detekce a mez stanovitelnosti metody. Dále bylo porovnáno použití roztoku jódu a jódu přímo generovaného ve vzorku.

2. MATERIÁL A METODY

2.1 Polyvinylalkohol

Pro testy byly použity tři druhy polyvinylalkoholu od stejného výrobce, konkrétně PVA Mowiol 4-98 se spíše nižší relativní molekulovou hmotností a vysokým stupněm hydrolýzy, dála PVA Mowiol 28-99 s taktéž vysokým stupněm hydrolýzy, ale vyšší molekulovou hmotností. Posledním použitým typem PVA byl Mowiol 18-88 s téměř shodnou velikostí molekuly jako Mowiol 28-99, ale nižším stupněm hydrolýzy. Podrobnější parametry jsou uvedeny v tabulce1.

Tab. 1: Vybrané parametry použitých typů polyvinylalkoholu

Typ PVA	Výrobce	Relativní molekulová hmotnost	Stupeň hydrolýzy [% mol]	Max. obsah anorganických nečistot [% hm]	Viskozita 4% roztoku při 20 °C [mPa·s]
Mowiol 4-98	Kuraray Europe GmbH	27 000	98 – 98,8	0,5	4,0-5,0
Mowiol 28-99	Kuraray Europe GmbH	145 000	99 – 99,8	0,5	26,0-30,0
Mowiol 18-88	Kuraray Europe GmbH	130 000	86,7-88,7	0,5	16,5-19,5

Roztoky PVA o příslušné koncentraci byly připraveny rozpuštěním PVA v demineralizované vodě provedeném za teploty blízké bodu varu po dobu alespoň 15 minut.

2.2 Kalibrační roztoky

Jako matrice pro roztoky PVA byly použity čtyři typy vod:

- Demineralizovaná voda
- Syntetická odpadní voda, obsahující 0,5 g/l $NaHCO_3$, 2,3 g/l KH_2PO_4 a 2,9 g/l K_2HPO_4, k ředění byla použita vodovodní voda. Hodnota pH: 7,1.
- Odpadní voda, odebraná za českými městské čistírny odpadních vod, upravená filtrací přes membránový filtr o průměru pórů 0,4±0,06 μm. Voda obsahovala 17 mg/l N-ammon, 0,16 g/l CHSK.
- Kalová voda pocházející z anaerobní termofilní stabilizace kalu městské čistírny odpadních vod, odebraná z odvodňovací centrifugy, upravená filtrací přes membránový filtr o průměru pórů 0,4±0,06 μm. Voda po filtraci měla pH 8,22 a obsahovala 1,25 g/l N-ammon a 1,12 g/l CHSK.

Kalibrační roztoky byly připraveny smícháním 0,1 ml PVA rozpuštěného v demineralizované vodě o koncentraci čtyřikrát vyšší než požadovaná kalibrační koncentrace, a 0,3 ml matrice, čímž bylo dosaženo požadované koncentrace PVA.

Testovány byly koncentrace 0, 5, 10, 15, 20, 25, 50, 75, 100, 150, 200, 250, 300, 400 a 500 mg/l PVA.

Ze závislosti absorbance na koncentraci roztoku byly vypočteny koeficienty a a b kalibračních rovnic (rovnice 1):

$$koncentrace\ PVA = (A - b) \cdot a \qquad (1)$$

kde A je změřená absorbance.

2.3 Spektrofotometr

K získání absorpčních spekter jednotlivých roztoků byl použit spektrofotometr Scinco S-3100, optická dráha kyvety 1 cm. Absorbance při ostatních experimentech pak byly měřeny pomocí spektrofotometru WTW PhotoLab Spektral, umožňujícího měření ve spektrofotometrických zkumavkách s optickou drahou 1 cm.

2.4 Podmínky reakce (modifikovaná metoda Pritcharda (1972))

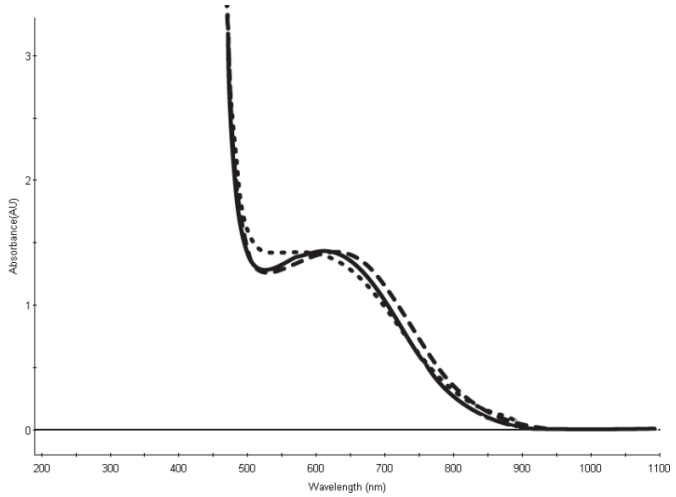
Do spektrofotometrické zkumavky bylo nadávkováno 0,4 ml vzorku, 1,5 ml roztoku kyseliny borité (40 g/l) a 0,3 ml roztoku jódu (25 g KI a 12,7 g I2 v 1 l roztoku). V případě generování jódu in situ bylo místo roztoku jódu přidáno v tomto pořadí 0,1 ml roztoku H_2SO_4 (14 obj. %), 0,1 ml roztoku KI (116,5 g/l) a 0,1 ml roztoku KIO_3 (10,7 g/l). Reakce probíhá dle rovnice 2. V obou případech bylo množství jódu ve výsledném roztoku shodné. Vybarvování probíhalo na světle při laboratorní teplotě.

$$5I^- + IO_3^- + 6H^+ \rightarrow 3I_2 + 3H_2O \qquad (2)$$

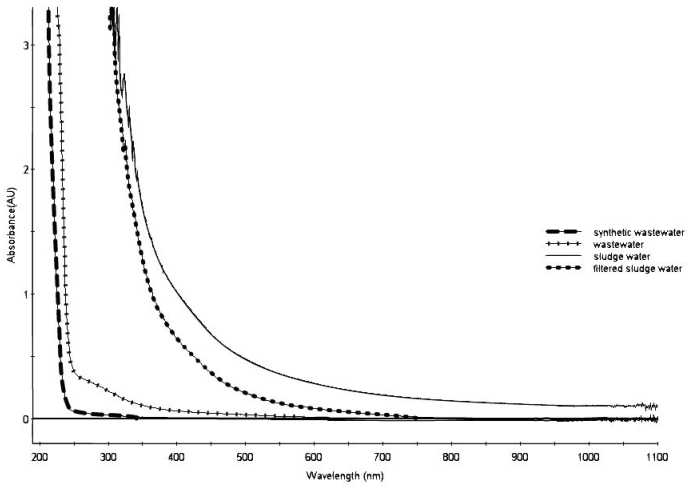
3. VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Vlnová délka

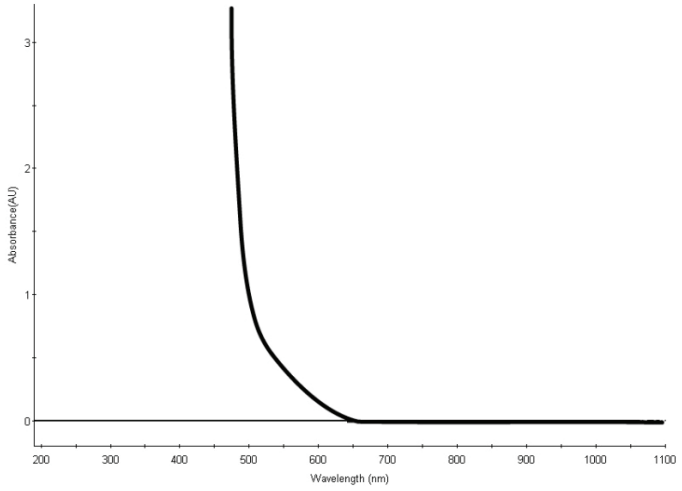
Absorpční spektrum všech tří druhů PVA po komplexační reakci mělo podobný průběh. Detekován byl poměrně široký pík s maximem při vlnové délce 614 nm pro PVA 18-88, 631 nm pro PVA 4-98 a 602 nm pro PVA 28-99 (obr. 2). Tato maxima jsou v porovnání s původní prací Pritcharda (1972) o 60 až 90 nm nižší, což bylo zřejmě způsobeno jednak upravením reakčních podmínek a jednak použitím jiného typu polyvinylalkoholu. Změřena byla také absorpční spektra jednotlivých matric bez PVA (obr. 3) a slepého pokusu (tzn. demineralizovaná voda s reakčními činidly, obr. 4). Kvůli minimalizaci vlivu nezreagovaného jódu na absorbanci vzorku, a vzhledem k poměrně značné šířce píků, byla jako optimální vlnová délka pro detekci zvolena délka 630 nm.



Obr. 2: Absorpční spektra komplexů s různými druhy PVA. Plná čára: 18-88, tečkovaně: 28-99, čárkovaně: 4-98



Obr. 3: Absorpční spektra použitých matric. Synthetic wastewater – syntetická odpadní voda, wastewater – odpadní voda, sludge water – kalová voda po centrifugaci 30 minut při 9 000 rpm (8 422 g), filtered sludge water – kalová voda filtrovaná přes membránový filtr o průměru pórů 0,4±0,06 µm

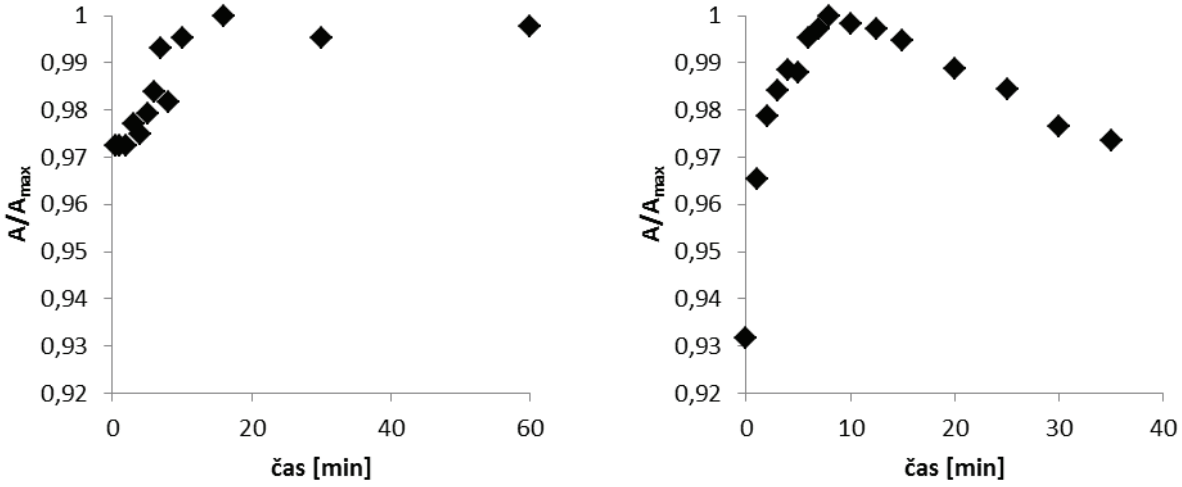


Obr. 4: Absorpční spektrum slepého pokusu s demineralizovanou vodou

3.2 Reakční doba

Po smíchání reakčních činidel došlo k okamžité tvorbě modrého komplexu. Již po jedné minutě bylo v případě použití roztoku jódu i jódu generovaného in situ dosaženo přes 90 % maximální absorbance. Při použití roztoku jódu bylo maximální absorbance dosaženo zhruba po dvaceti minutách a komplex zůstával stabilní i nadále, v případě generovaného jódu byla maximální absorbance dosažena dříve, již po deseti minutách, a poté absorbance s časem velmi mírně klesala (obr. 5). Tento pokles zřejmě souvisel s průběhem reakce: při generování jódu in situ byla po přídavku jodičnanu pozorována nerovnoměrná tvorba jódu i modrého komplexu, vznikaly tmavé „pruhy“, které bylo možné rozmíchat.

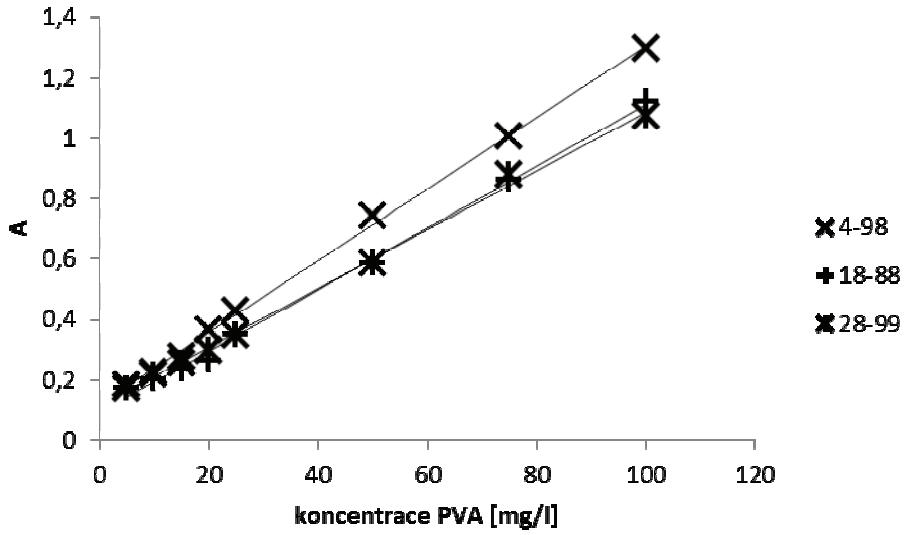
Jako optimální reakční doba byla zvolena doba 20 minut, v případě použití roztoku jódu je možné vzorky ponechávat v klidu, v případě generování jódu in situ je vhodné občasné promíchání směsi.



Obr. 5: Závislost absorbance na reakční době. Vlevo: použití roztoku jódu, vpravo: generování jódu in situ, oba vzorky promíchány pouze po smíšení činidel. Použit PVA 18-88.

3.3 Vliv druhu PVA

Závislost absorbance na koncentraci PVA v demineralizované vodě byla lineární pro všechny tři druhy PVA (obr. 6). Koeficienty kalibrační rovnice (1) se však již pro jednotlivé druhy PVA lišily. Koeficient a, tedy směrnice přímky, měla pro PVA 4-98 hodnotu 84 mg/l, pro PVA 18-88 hodnotu 97 mg/l a pro PVA 28-99 hodnotu 102 mg/l. Mírně se lišil také úsek (koeficient b): pro PVA 4-98 dosahoval 0,12, pro PVA 18-88 0,09 a pro PVA 28-99 0,11. Závislost absorbance na koncentraci byla tedy pro typy PVA 18-88 a 28-99 téměř identická. Tyto polymery se vyznačovaly podobnou molekulární hmotností a odlišným stupněm hydrolýzy (tab. 1), ovšem pro jednoznačné určení charakteristiky, která dominantně ovlivňuje tvar kalibrační přímky, by bylo nutné porovnat mnohem více různých druhů PVA. Například při porovnání devíti různých druhů PVA nebyl pozorován jednoznačný vliv velikosti molekuly na směrnici kalibrační přímky (Zwick, 1965).



Obr. 6: Závislost absorbance na koncentraci PVA pro různé druhy PVA

3.4 Mez detekce a mez stanovitelnosti

Mez detekce a mez stanovitelnosti byly stanoveny podle rovnic 3 a 4 (Thomsen et al., 2003) z desetkrát opakovaného slepého pokusu, kde si je směrodatná odchylka slepých pokusů a $\frac{\Delta c}{\Delta A}$ je směrnice kalibrační přímky.

Mez detekce a mez stanovitelnosti nabývají pro různé typy PVA hodnot uvedených v tabulce 2.

$$mez\ detekce = 3 \cdot s_i \cdot \frac{\Delta c}{\Delta A} \quad (3)$$

$$mez\ stanovitelnosti = 10 \cdot s_i \cdot \frac{\Delta c}{\Delta A} \quad (4)$$

Tab. 2: Mez detekce a mez stanovitelnosti pro různé druhy PVA

Typ PVA	Mowiol 4-98	Mowiol 28-99	Mowiol 18-88
mez detekce [mg/l]	0,45	0,55	0,52
mez stanovitelnosti [mg/l]	1,5	1,8	1,7

Tyto hodnoty jsou mnohem nižší než u jiných autorů a u jiných metod detekce a kvantifikace PVA, například Jones (2004) pomocí gelové chromatografie dosáhl meze detekce 0,14 g/l a meze stanovitelnosti 0,47 g/l, Dunn (2001) zjistil dle použitého detektoru detekční limit mezi 4 a 20 mg/l. Nižší meze detekce dosáhl pouze Song (1997) voltametrickou metodou, a to 0,01 mg/l. Pritchard (1972), jehož modifikované metoda byla v této práci použita, pozoroval mez detekce 0,4 mg/l, což je v dobré shodě s předkládanou prací.

3.5 Vliv matrice

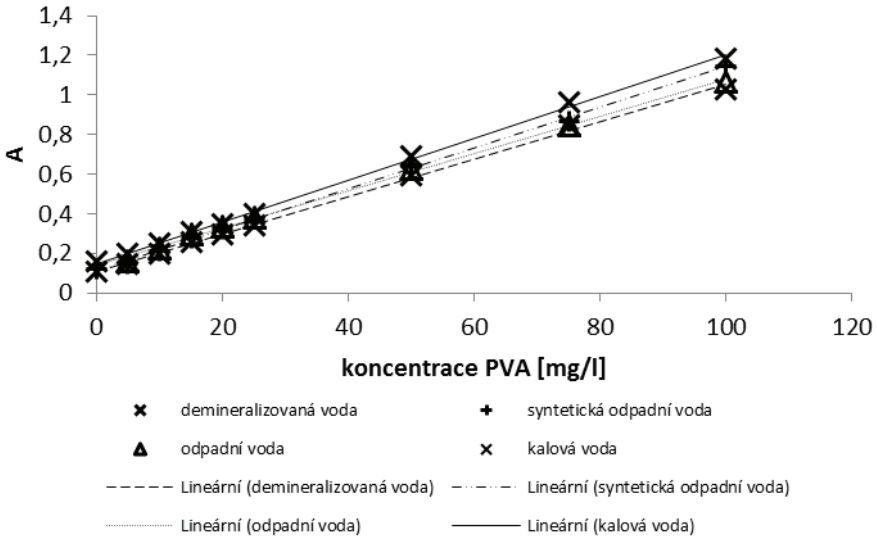
Studován byl také vliv přítomnosti dalších složek vody na stanovení. Proto byly provedeny kalibrace v různých druzích matric s odlišným obsahem především organických látek, sloučenin dusíku, s odlišnou hodnotou pH. Experimenty pro každý typ PVA byly provedeny ve stejný den, tedy při stejném stáří jodového činidla, experimenty pro stejný typ matrice byly provedeny s odstupem jednoho týdne. Přestože kalibrační závislost byla proměřena až do koncentrace 500 mg/l PVA, vzhledem k vysokým absorbancím při těchto koncentracích byl při výpočtech vzat v úvahu pouze interval 0 - 100 mg/l PVA. Souhrnné výsledky udává tabulka 3.

Tab. 3: Parametry kalibračních přímek pro různé matrice a různé druhy PVA. a, b – koeficienty kalibrační rovnice (1), R2 – koeficient determinace

Typ PVA		demineralizovaná voda	syntetická odpadní voda	oproti demi vodě	odpadní voda	oproti demi vodě	kalová voda	oproti demi vodě
Mowiol 4-98	*a* [mg/l]	106	97,1	- 8,3 %	106	± 0 %	94,3	- 11 %
	b	0,109	0,113	+ 3,7 %	0,138	+ 26 %	0,147	+ 35 %
	R^2	0,999	0,999	-	0,999	-	0,999	-
Mowiol 28-99	*a* [mg/l]	149	140	- 6,4 %	148	- 1,0 %	112	- 25 %
	b	0,111	0,119	+ 7,2 %	0,131	+ 18 %	0,132	+ 19 %
	R^2	0,999	0,997	-	0,998	-	0,997	-
Mowiol 18-88	*a* [mg/l]	145	141	- 2,4 %	140	- 3,1 %	121	- 16 %
	b	0,113	0,137	+ 21 %	0,129	+14 %	0,160	+ 42 %
	R^2	0,998	0,999	-	0,998	-	0,999	-

Jak je vidět z tabulky 3, odpadní voda jako matrice má pouze minimální vliv na tvar kalibrační přímky. Její směrnice se oproti kalibraci v demineralizované vodě liší maximálně o 3,1 %. Směrnice kalibrace v syntetické odpadní vodě se liší od směrnice v demineralizované vodě maximálně o 8,3 %, zato kalová voda se od demineralizované liší až o 25 %. Důvodem je spíše zbarvení kalové vody způsobující poměrně vysokou absorbanci samotné matrice při vlnové délce měření, tedy při 630 nm (obr. 3), než reakce matrice s vybarvovacím činidlem.

Kalibrační přímky ve všech případech vykazovaly vysoký koeficient determinace a při použití ani jedné z matric nebyl pozorován zásadní úbytek jódu jako reakčního činidla na vedlejší reakce. Přebytek jódu je tedy takový, že toleruje koncentrace i 1,25 g/l amoniakálního dusíku. Toto zjištění je ve shodě s dalšími pracemi, například Zwicka (1965), který taktéž konstatuje, že pro vznik barevného komplexu stačí jen velmi malé množství jódu. Vedlejší reakce, pokud nevedou ke vzniku produktů absorbujících při vlnové délce měření, neovlivňují stanovení. Všechny získané kalibrační přímky si obecně byly velmi podobné, příklad pro PVA 4-98 je uveden na obrázku 7. Lze tedy říci, že vliv námi testovaných matric na stanovení PVA je téměř zanedbatelný, s výjimkou kalové vody, která vykazuje absorbanci i bez přídavku vybarvovacího činidla. Vzhledem k tomu, že však velmi dobře zachovává lineární tvar závislosti, bylo by pro analýzu v reálných vzorcích vhodnější použití metody standardního přídavku.

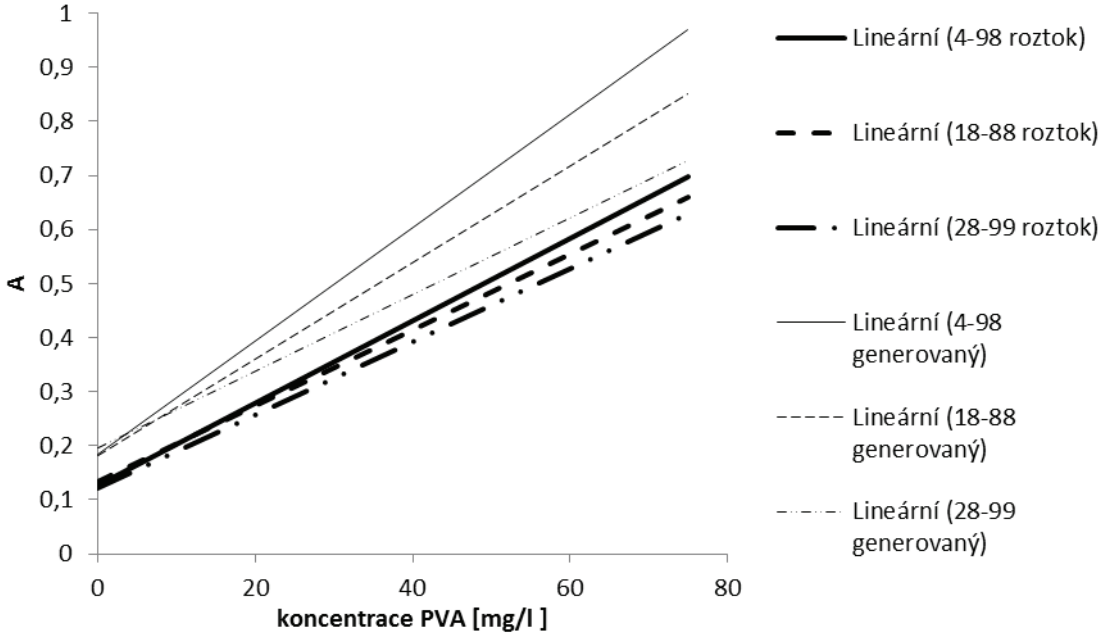


Obr. 7: Vliv matrice na kalibrační přímku pro PVA 4-98

3.6 Zdroj jódu

Vzhledem k tomu, že roztok jódu v jodidu podléhá disproporcionační reakci a jeho aktuální koncentrace kolísá (Gottardi, 2001), byly provedeny také experimenty pro porovnání čerstvého roztoku jódu a jódu generovaného in situ. Tento experiment byl proveden pouze v demineralizované vodě. Kalibrační přímky pro oba způsoby tvorby komplexu jsou uvedeny na obrázku 8.

Jak z obrázku 8 vyplývá, při generování jódu in situ je koncentrace jódu v reakční směsi vyšší než při použití roztoku jódu, čemuž nasvědčuje vyšší hodnota absorbance slepého pokusu i vyšší hodnota úseku (koeficientu b) kalibrační rovnice. Zatímco při použití roztoku jódu jsou kalibrační přímky pro všechny tři testované typy PVA velmi podobné, v případě jódu generovaného in situ se liší výrazněji. V případě roztoku jódu se směrnice kalibračních přímek liší od průměrné směrnice maximálně o 6,5 %, v případě jódu generovaného in situ činí tento rozdíl až 22,5 %. Determinační koeficient je pro oba postupy stanovení v rozmezí koncentrací 0 až 100 mg/l PVA srovnatelný.



Obr. 8: Kalibrační přímky pro jód dodaný v roztoku a pro jód generovaný in situ pro různé typy PVA

4. ZÁVĚR

Stanovení koncentrace polyvinylalkoholu prostřednictvím spektrofotometrického vyhodnocení intenzity modrého komplexu PVA-jód-kyselina boritá je přesným a citlivým nástrojem zjištění koncentrace známého druhu PVA v různých druzích vod. Všechny testované druhy vod měly jen minimální dopad na stanovení, s výjimkou kalové vody, která vykazuje absorbanci při vlnové délce měření a její kalibrační křivka je pak posunutá. Parametry kalibrační přímky závisí především na druhu PVA a na způsobu dodání jódu do reakční směsi.

5. PODĚKOVÁNÍ

Tento příspěvek vznikl v rámci výzkumného záměru MSM 6046137308 a za účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum MŠMT (Rozhodnutí č. 21/ 2011).

6. POUŽITÁ LITERATURA

ALEKSANDROVICH, I. F. & LYUBIMOVA, L. N. 1992. Spectrophotometric determination of the polyvinyl alcohol content of sizing compositions. *Fibre Chemistry,* 24**,** 156-157.

DUNN, K. D. 2001. Determination of polyvinyl alcohol in a poly(DL-lactide-co-glycolide) matrix by size exclusion chromatography using evaporative light scattering detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis,* 25**,** 539-543.

FERDOUS, A. J. 1995. Amount of Polyvinyl Alcohol (PVA) Polymer Adsorbed on the Oil Globules in Liquid Paraffin Emulsions Prepared by PVA. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences,* 8**,** 81-85.

FINLEY, J. H. 1961. Spectrophotometric determination of polyvinyl alcohol in paper coatings. *Analytical Chemistry,* 33**,** 1925-1927.

GANGOLLI, S. 2005. Dictionary of Substances and Their Effects (DOSE, 3rd Electronic Edition). Royal Society of Chemistry.

GOTTARDI, W. 2001. Iodine and iodine compounds. *In:* BLOCK, S. S. (ed.) *Disinfection, sterilization, and preservation.* Lippincott Williams & Wilkins.

HALLENSLEBEN, M. L. 2000. Polyvinyl Compounds, Others. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.*

JONES, S. A., BROWN, M. & MARTIN, G. P. 2004. Determination of Polyvinyl Alcohol Using Gel Filtration Liquid Chromatography. *Chromatographia,* 59**,** 43-46.

JOSHI, D. P., LAN-CHUN-FUNG, Y. L. & PRITCHARD, J. G. 1979. Determination of poly(vinyl alcohol) via its complex with boric acid and iodine. *Analytica Chimica Acta,* 104**,** 153-160.

KAWAI, F. & HU, X. P. 2009. Biochemistry of microbial polyvinyl alcohol degradation. *Applied Microbiology and Biotechnology,* 84**,** 227-237.

MA, J., YE, X. & JIN, B. 2011. Structure and application of polarizer film for thin-film-transistor liquid crystal displays. *Displays,* 32**,** 49-57.

MATSUMURA, S., KURITA, H. & SHIMOKOBE, H. 1993. Anaerobic biodegradability of polyvinyl alcohol. *Biotechnology Letters,* 15**,** 749-754.

MCALPINE, R. K. 1952. The reaction of dilute iodine and ammonia solutions. *Journal of the American Chemical Society,* 74**,** 725-727.

MORISHIMA, Y., FUJISAWA, K. & NOZAKURA, S.-I. 1978. Sequence length required for poly(vinyl acetate) - iodine and poly(vinyl alcohol) - iodine color reactions. *Polymer Journal,* 10**,** 281-285.

NADA, A. M. A., SHOSHA, M. H. A. & IBRAHIM, N. A. 1996. Paper Sheet Treatment with Polyvinyl Alcohol. *Polymer-Plastics Technology and Engineering,* 35**,** 365 - 375.

NOGUCHI, H., JYODAI, H. & MATSUZAWA, S. 1997. Formation of poly(vinyl alcohol) iodine complexes in solution. *Journal of Polymer Science Part B-Polymer Physics,* 35**,** 1701-1709.

PORTER, J. J. 1998. Recovery of polyvinyl alcohol and hot water from the textile wastewater using thermally stable membranes. *Journal of Membrane Science,* 151**,** 45-53.

PRITCHARD, J. G. & AKINTOLA, D. A. 1972. Complexation of polyvinyl alcohol with iodine : Analytical precision and mechanism. *Talanta,* 19**,** 877-888.

REBROŠ, M., ROSENBERG, M., GROSOVÁ, Z., KRIŠTOFÍKOVÁ, L., PALUCH, M. & ŠIPÖCZ, M. 2008. Ethanol Production from Starch Hydrolyzates using Zymomonas mobilis and Glucoamylase Entrapped in Polyvinylalcohol Hydrogel. *Applied Biochemistry and Biotechnology***,** 1-10.

SAKAI, Y., YASUEDA, S.-I. & OHTORI, A. 2005. Stability of latanoprost in an ophthalmic lipid emulsion using polyvinyl alcohol. *International Journal of Pharmaceutics,* 305**,** 176-179.

SCHLIEKER, M. & VORLOP, K.-D. 2006. A Novel Immobilization Method for Entrapment LentiKats. *In:* GUISAN, J. M. (ed.) *Immobilization of Enzymes and Cells.*

SIEVERS, M., VORLOP, K. D., HAHNE, J., SCHLIEKER, M. & SCHAFER, S. 2003a. Advanced nitrogen elimination by encapsulated nitrifiers. *Water Science and Technology,* 48**,** 19-26.

SIEVERS, M., VORLOP, K. D., HAHNE, J., SCHLIEKER, M. & SCHÄFER, S. 2003b. Pre-nitrification by encapsulated nitrifiers - A possibility for self-sufficient energy operation of domestic WWTPs. *Water Science and Technology,* 47**,** 173-180.

SONG, M., MA, H.-M., HUANG, Y.-X. & LIANG, S.-C. 1997. Determination of poly(vinyl alcohol) by adsorptive stripping voltammetry based on its copper(II) complex. *Analytica Chimica Acta,* 338**,** 103-108.

SONG, S. H., CHOI, S. S., PARK, K. & YOO, Y. J. 2005. Novel hybrid immobilization of microorganisms and its applications to biological denitrification. *Enzyme and Microbial Technology,* 37**,** 567-573.

THOMSEN, V., SCHATZLEIN, D. & MERCURO, D. 2003. Limits of detection in spectroscopy. *Spectroscopy,* 18**,** 112-114.

VACKOVÁ, L., ŠKORVAN, O., POKORNÝ, O., PEČENKA, M., WANNER, J. & BOUŠKOVÁ, A. 2009. Čištění odpadních vod pomocí enkapsulované biomasy. *In:* ŘÍHOVÁ-AMBROŽOVÁ, J. (ed.) *Vodárenská biologie 2009.* Praha: Vodní zdroje EKOMONITOR.

WILSON, L., ILLANES, A., PESSELA, B. C. C., ABIAN, O., FERNÁNDEZ-LAFUENTE, R. & GUISÁN, J. M. 2004. Encapsulation of crosslinked penicillin G acylase aggregates in lentikats: Evaluation of a novel biocatalyst in organic media. *Biotechnology and Bioengineering,* 86**,** 558-562.

WWW.NACHYTANO.CZ. 2011. *http://www.nachytano.cz/clanky/lov-kapra/montaze/pva---materialy--(polyvinylalkohol)/a/171/* [Online]. [Staženo 24.5.2011].

ZWICK, M. M. 1965. Poly (vinyl Alcohol)-Iodine Complexes. *journal of Applied Polymer Science,* 9**,** 2393-2424.

STANOVENÍ VYBRANÝCH LÉČIV V PITNÝCH VODÁCH METODOU GC/MS

Ivana Pomykačová[1], Václav Čadek[1], Veronika Svobodová[1], František Kožíšek[1,2]

[1] Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48, Praha 10
ivana.pomykacova@szu.cz
[2] 3. lékařská fakulta UK, Ruská 87, Praha 10

1. ÚVOD

Stopová množství léčiv či jejich metabolitů v pitné vodě jsou typickou ukázkou tzv. „emerging pollutants" čili nově se objevujících kontaminantů pitné vody. „Novost" problému je pak zčásti daná objektivně (se zvyšující se spotřebou léčiv roste jejich uvolňování do životního prostředí, především povrchových vod, a roste tak i riziko jejich výskytu v pitné vodě), zčásti souvisí se zlepšujícími se analytickými metodami, schopnými zachytit stále nižší koncentrace sledovaných látek, a v neposlední řadě se na „popularitě" podílí i nekompetentní nebo bulvární způsob, jakým o problému většinou referují sdělovací prostředky [1].

Přestože v odborné literatuře byla vydána řada dílčích publikací na toto téma popisující situaci v USA a některých západoevropských zemích, včetně několika souhrnných publikací [2, 3], existuje velmi málo systematických monitorovacích studií a údaje jsou v jiných zemích využitelné jen částečně, protože objem i struktura spotřeby léků, ochrana zdrojů vody, podíl využití povrchových a podzemních vod k výrobě pitné vody a využívané technologie úpravy vody se liší stát od státu. Také vzhledem k množícím se zprávám v médiích a rostoucí obavě části obyvatel je žádoucí získat konkrétní údaje o národní situaci, aby byl proces komunikace rizik veřejnosti podložen konkrétními a vědeckými důkazy.

První systematický screening léčiv v pitných vodách probíhá až nyní v rámci výzkumného projektu Grantové agentury ČR č. 203/09/1583 „Výskyt a zdravotní rizika zbytků humánních léčiv v pitných vodách", který v letech 2009-2011 řeší Státní zdravotní ústav Praha. Cílem této práce je provést studii výskytu zbytků léčiv v pitných vodách v České republice a zhodnocení lidské expozice a z ní plynoucí zdravotní riziko. Obecný popis problému byl již publikován dříve [4], v tomto příspěvku jsou prezentovány zkušenosti s použitou analytickou metodou a první výstupy z projektu.

2. METODIKA

Pro stanovení námi vybraných farmaceutických látek (karbamazepin, naproxen, ibuprofen, diklofenak, ethinylestradiol) byla za základ zvolena metoda GC/MS publikovaná kolektivem autorů Yu, Peldszus a Huck [5], která byla v první fázi pokusů zcela dodržena, v druhé fázi došlo k úpravě množství použitého derivatizačního činidla [6, 7].

2.1 Příprava pomůcek, odběr vzorků

Sledované látky se, vzhledem ke své polaritě, velmi snadno adsorbují na skleněné povrchy, a protože jsou v pitných vodách obsaženy pouze ve stopových množstvích, musely být veškeré skleněné pomůcky před použitím silanizovány pomocí 10% roztoku dichlordimethylsilanu v toluenu, aby se ztráty adsorpcí minimalizovaly.

Vzorky pitné vody byly odebírány do dvoulitrových silanizovaných skleněných vzorkovnic s předem přidaným pevným azidem sodným (0,01% w/v) pro zastavení biologické aktivity. Po odběru byly vzorky dopravovány do laboratoře v chladu a temnu a další zpracování se provádělo do 24 hodin od odběru. Z každého odběrového místa se odebíraly dva vzorky.

2.2 Extrakce na pevnou fázi (SPE)

Separace analytů byla provedena metodou SPE. Byly použity extrakční kolonky Oasis HLB (3 ml, 60 mg). Kolonky byly iniciovány proplachem 3 ml ethylacetátu, 3 ml acetonu a 3 ml demineralizované vody okyselené HCl na pH 2. Vodné vzorky byly po převezení do laboratoře okyseleny na pH 2 – 3 a byla k nim přidána směs surogátů (dihydrokarbamazepin a kyselina meklofenamová) na výslednou koncentraci 100 ng/l vody.

Pozn. Karbamazepin je tepelně nestabilní, při nástřiku na kolonu a samotné chromatografické analýze se částečně rozkládá, proto je ke vzorku přidáváno známé množství dihydrokarbamazepinu (má stejnou kinetiku rozkladu), jehož úbytek je úměrný úbytku karbamazepinu.

Takto upravené vzorky byly pomalu přesáty přes extrakční kolonky (2 litry za 4-5 hodin) s využitím 12 místné odsávací linky pro SPE (Merck). Po vysušení náplně kolonky 20 minutovým prosáváním vzduchem byla

provedena eluce zachycených analytů 6 ml směsi ethylacetátu a acetonu (50/50 v/v) jako elučního činidla do silanizovaných vialek. Extrakty byly odpařeny mírným prouděním dusíku při 45 °C a poté derivatizovány.

2.3 Derivatizace

Vysušené extrakty byly v první fázi derivatizovány přidáním 200 µl směsi MTBSTFA + 1% TBDMSC (N-methyl-N-terc-butyl-dimethysilyl-trifluoracetamid + 1% terc-butyl-dimethylchlorsilan). Derivatizace probíhala při 60 °C (termostat plynového chromatografu) po dobu 90 minut. Poté byly vzorky rychle zchlazeny (vodní lázeň s ledem) a extrakty poté převedeny do GC vialek, které byly před analýzou na GC/MS uchovávány při -18 °C. V druhé fázi pokusů bylo namísto 200 µl použito pouze 10 µl derivatizační směsi, která se dávkovala k extraktům rozpuštěným ve 190 µl isooktanu s přidaným bis(pentafluorobenzoyl)benzenem jako interním standardem.

Hmotnostní koncentrace analytů byla vypočtena z hodnot plochy píku pomocí kalibrační závislosti odezvy detektoru na hmotnostní koncentraci analytu s ohledem na plochy píků surogátů při konkrétním měření.

2.4 Chromatografické podmínky

Derivatizované analyty a surogáty byly analyzovány na plynovém chromatografu HP 6890 ve spojení s hmotnostním detektorem HP 5973 a autosamplerem HP 7683. Jako nosný plyn bylo použito helium o průtoku 1,2 ml/min. Nejprve byla využívána kolona DB 17MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm), později byla použita méně polární kolona HP5-MS (30 m x 0,25 mm, 0,25 µm) s lepším dělením píků. Nastřikovány byly 4 µl (resp. 2 µl v druhé fázi) derivátu při teplotě 220 °C. Celková doba analýzy jednoho vzorku je 41 minut. Vzorky byly měřeny v SIM modu.

3. VÝSLEDKY A DISKUSE

Pro zjištění validačních parametrů byly připraveny roztoky se známým přídavkem analytů. Z komerčně dostupných standardů (Sigma Aldrich a Dr. Ehrenstorfer, čistota min. 99,0 %) byly připraveny základní roztoky v methanolu o hm. koncentraci 1000 µg/ml. Z těchto roztoků byl připraven směsný pracovní roztok o hm. koncentraci 1 µg/ml methanolu, z něhož byly ředěním demineralizovanou vodou připraveny modelové roztoky v koncentračním rozsahu 1 až 20 ng/l.

Výtěžnost se pohybovala od 62 % do 107 % při koncentraci 10 ng/l, meze stanovitelnosti od 0,4 ng/l do 0,7 ng/l (pro ethinylestradiol 1,5 ng/l).

Po zavedení metody bylo v první fázi analyzováno 92 vzorků pitné vody z různých vodovodů všech krajů ČR zahrnujících pitné vody využívající jako zdroj surové vody jak povrchovou tak i podzemní vodu. V ani jednom vzorku nebyla nalezena koncentrace nad mezí stanovitelnosti žádné ze sledovaných látek.

S přibývajícím množstvím provedených analýz docházelo ke zhoršování odezvy jednotlivých píků, zhoršování opakovatelnosti a byly nutné častější čištění iontového zdroje, lineru a celého inletu, zejména v důsledku používání derivatizačního činidla nastřikovaného přímo do systému GC/MS. Proto byla před další fází odběru vzorků provedena úprava metody, kdy vysušené extrakty nejsou rozpouštěny pouze v derivatizačním činidle, ale nejprve dojde k rozpuštění v isooktanu a derivatizačního činidla je přidáváno pouze 10 µl. V podmínkách analýzy na GC/MS byl navíc prodloužen čas, po který není výstup z chromatografické kolony analyzován (solvent delay), a po změně rozpouštědla byl snížen objem nástřiku. I přes úpravy v metodě, které vedly k lepší opakovatelnosti, nedošlo k dosažení původních mezí stanovitelnosti a pohybují se od 1 ng/l do 1,5 ng/l (pro ethinylestradiol 6 ng/l).

V současné době se odebírají vzorky upravené pitné vody z úpraven vod, které využívají jako surovou vodu povrchovou vodu z dolních toků řek, zatížených odpadními vodami.

4. ZÁVĚR

Uvedená metoda umožňuje stanovení vybraných léčiv (karbamazepin, naproxen, ibuprofen, diklofenak, ethinylestradiol) v čistých vodách na koncentračních úrovních již od 1 ng/l. Nutnost použití derivatizace před nástřikem na GC kolonu zvyšuje nároky na četnost čištění jednotlivých částí GC/MS systému a snižuje jejich životnost.

PODĚKOVÁNÍ

Publikace byla zpracována v rámci projektu „Výskyt a zdravotní rizika zbytků humánních léčiv v pitných vodách“ (Grantová agentura ČR, č. 203/09/1583).

LITERATURA

[1] Např.: Pitná voda může škodit zdraví (www.idnes.cz; 23.4.2007); Vědci varují před zdravotními vlivy reziduí (Medical Tribune 2.5.2007); Miliónům Američanů teče z kohoutku voda se zbytky léků (www.novinky.cz; 10.3.2008) ad.

[2] Snyder S.A., Trenholm R.A., Snyder E.M., Bruce G.M., Pleus R.C., Hemming J.D.C. Toxicological relevance of EDCs and pharmaceuticals in drinking water. Project 3085. AWWA Research Foundation, 2009.

[3] World Health Organization (WHO). Pharmaceuticals in Drinking-water. WHO/HSE/WSH/11.05. WHO, Geneva 2011.

[4] Kožíšek F., Čadek V., Jeligová H. Výskyt humánních léčiv v pitných vodách. SOVAK – Časopis oboru vodovodů a kanalizací, 2010, 19(3): 71-75.

[5] Yu Z., Peldszus S., Huck P.M. Optimizing gas chromatographic-mass spectrometric analysis of selected pharmaceuticals and endocrine-disrupting substances in water using factorial experimental design. *J Chromatography A,* 2007, 1148: 65-77.

[6] Kim K.-R., Shim W.-H., Shin Y.-J. Capillary gas chromatography of acidic non-steroidal anti-inflammatory drugs as tert.-butyldimethylsilyl derivatives. *J Chromatography ,* 1993, 641: 319-327.

[7] Kim K.-R., Yoon H.-R. Rapid screening for acidic non-steroidal anti-inflammatory drugs in urine by gas chromatography-mass spectrometry in the selected-ion monitoring mode. *J. Chromatography B*, 1996, 682: 55-66.

STANOVENÍ LÉČIV V POVRCHOVÝCH A ODPADNÍCH VODÁCH METODOU LC-MS

Pavla Martinková, Danica Pospíchalová, Roman Jobánek, Miroslav Váňa

Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, veřejná výzkumná instituce
Podbabská 30, 160 00 Praha 6

ÚVOD

Léčiva řadíme do skupiny látek označovaných anglickou zkratkou PPCPs (Pharmaceutical and Personal Care Products, tj. léčiva a prostředky osobní potřeby). Jedná se o široké spektrum látek používaných člověkem pro jeho ochranu či léčbu. Farmaceutický průmysl je nejrychleji se rozvíjejícím průmyslovým odvětvím [16], na trhu se objevují nové a nové přípravky a spotřeba léků rychle stoupá. Po použití se v mnoha případech stávají léčiva nebezpečným odpadem v životním prostředí. Do životního prostředí se léčiva dostávají zejména prostřednictvím odpadních vod z komunálních čistíren odpadních vod, v menší míře též z výroby nebo likvidace nespotřebovaných léků [2, 9, 11]. Vzhledem k tomu, že jsou do životního prostředí uvolňována kontinuálně, nemusí být nutně perzistentní, aby způsobila negativní účinky. Některá léčiva jsou však vysoce stabilní a v životním prostředí se tak mohou akumulovat.

V odborné literatuře již byla publikována řada prací uvádějících koncentrační hladiny léčiv v hydrosféře v různých zemích [2, 3, 5, 8]. V České republice je tato problematika studována poměrně krátce a proto existuje zatím málo informací o jejich výskytu v životním prostředí.

Výběr látek pro naše analýzy vycházel ze znalosti distribuovaných množství farmakologicky účinných látek a podle jejich případného vlivu na vodní prostředí. Vybrány byly látky: karbamazepin (antiepileptikum), ibuprofen (nesteroidní protizánětlivé léčivo), diklofenak (antirevmatikum), kyselina salicylová (metabolit kyseliny acetylsalicylové), kyselina klofibrová (regulátor lipidů v krvi, metabolit fibrátů). Dále pak látky s negativními estrogenními účinky (přirozeně se vyskytující estrogenní hormony) estron (E1), 17β-estradiol (E2) a syntetický analog E2 – 17α-ethynylestradiol (EE2) používaný jako součást hormonálních léčiv, např. antikoncepčních přípravků, léčiv pro hormonální substituční terapii.

MOŽNOSTI STANOVENÍ

Pro stanovení vybraných léčiv se nejčastěji využívají plynová nebo kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC/MS, resp. LC/MS). Protože se jedná většinou o látky málo těkavé, je nutno je před stanovením GC/MS převést derivatizací na těkavější sloučeniny [15-17]. Z tohoto důvodu je stanovení kapalinovou chromatografii výhodnější. Ve spojení s touto separační technikou je možné použít i detekci v UV oblasti [1], která však vzhledem k poměrně nízkým koncentracím těchto látek v životním prostředí nevyhovuje citlivostí. Nové přístrojové vybavení naší laboratoře nám umožnilo zavést metodu LC/MS [2-14].

Vzhledem k nízkým koncentracím sledovaných látek ve vodách a k nutnosti omezit negativní vlivy nežádoucích nečistot ve vzorcích je nutné analyty před LC/MS analýzou separovat a prekoncentrovat [12].

Extrakce tuhou fází (SPE) již prakticky nahradila klasickou extrakci kapalina-kapalina, protože má řadu výhod [10,12]: větší výtěžnosti, lepší selektivitu, přesnost, reprodukovatelnost, nižší spotřebu rozpouštědel, kratší dobu práce a umožňuje automatizaci. Pro SPE se používají polymerní sorbenty ve formě kolonek nebo disků. Nejčastěji používanými materiály jsou kolonky Strata X (Phenomenex) [4, 5, 7, 8, 12], Oasis HLB (Waters) [6, 7, 8, 9, 11, 12] nebo Lichrolute ENV+ [8, 12]. Při nutnosti zpracovávat velké objemy vzorků (1 – 2 litry vody) je výhodné pracovat s disky, které spojují funkci filtrační membrány a sorbentu [7]. Pro eluci léčiv zachycených na SPE materiálu se nejčastěji používají methanol [5, 7, 8, 9], aceton [7, 8, 11], ethylacetát [12], acetonitril [4] popř. směsi rozpouštědel: methanol/MTBE [13], aceton/ethylacetát [8].

Separace analytů LC se provádí výhradně v reverzní fázi [1-12,13], nejčastější mobilní fází je methanol [3, 5, 8, 9, 11] nebo acetonitril [9, 6, 13] s vodou a příměsí pufrů nebo kyseliny mravenčí případně kyseliny octové [3, 5, 6].

Vzhledem k velkým matricovým vlivům (zejména u vzorků odpadních vod) se doporučuje kalibrovat metodou vnitřního standardu [3, 6, 7].

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Vybraná skupina léčiv byla v laboratoři VÚV T.G.M., v.v.i., analyzována metodou LC/MS, prekoncentrace analytů byla prováděna extrakcí tuhou fází (SPE).

Vzhledem k velmi odlišným chemickým vlastnostem a řádovým rozdílům v koncentracích, ve kterých se sledované látky ve vzorcích vyskytují, bylo stanovení rozděleno do dvou samostatných postupů – stanovení

steroidních hormonů (steroidy - estron, 17β-estradiol a 17α-ethynylestradiol) a stanovení nesteroidních léčiv (NSAIDs - karbamazepin, ibuprofen, diklofenak, kyselina salicylová, kyselina klofibrová).

Chemikálie

Jako standardy byly použity komerčně dostupné roztoky v acetonitrilu (steroidy) a čisté pevné látky (NSAIDs) čistoty 97% a vyšší firmy Dr. Ehrenstorfer. Z pevných látek byly připravovány základní roztoky jednotlivých analytů v acetonitrilu. Z roztoků jednotlivých látek byly potom připravovány dva směsné zásobní kalibrační roztoky - steroidy a NSAIDs, které byly používány pro kalibraci, průběžnou kontrolu účinnosti chromatografické separace a přípravu modelových vzorků.

Jako vnitřní standardy byly používány deuterované pevné standardy čistoty 98 % nebo vyšší. Byly používány tyto standardy: estron D4 (E1-D4), 17β-estradiol D5 (E2-D5), 17α-ethynylestradiol D4 (EE2-D4), diklofenak D4 (DCF-D4), ibuprofen D3 (IBP-D3), karbamazepin D10, kyselina klofibrová D4 (vše od firmy CDN Isotopes), kyselina salicylová D4 od firmy CIL.

Z těchto standardů byly připraveny roztoky jednotlivých látek a z nich potom opět 2 směsné pracovní roztoky vnitřních standardů (IS steroidy a IS NSAIDs), které byly přidávány ke vzorkům před analýzou.

K přípravě modelových vzorků a vodné mobilní fáze byla použita ultračistá voda z přístroje Milli Q Plus (UHQ). Pro přípravu zásobních a pracovních roztoků analytů a organických mobilních fází byla použita rozpouštědla firmy Merck v čistotě pro LC/MS. Chemikálie používané pro přípravu vzorků byly čistoty p.a. nebo vyšší.

Vzorkování a příprava vzorků pro stanovení steroidů

Odběr reálných vzorků byl prováděn do skleněných vzorkovnic, vzorky byly konzervovány okyselením kyselinou chlorovodíkovou (pH 2). Vzorky byly po přídavku směsného roztoku vnitřních standardů a úpravě pH na hodnotu 7,8 filtrovány na vakuovém filtračním zařízení Sartorius přes filtr ze skleněných vláken GFC Whatman o porozitě cca 1 μm a filtrát byl extrahován pomocí Solid phase extraction (SPE) za laboratorní teploty s použitím disků BakerBond Speedisk Hydrophobic DVB 8068-06 (J.T.Baker). Před vlastní extrakcí byly SPE disky kondiciovány. Kondicionace byla prováděna 5 ml hexanu, 5 ml ethylacetátu, 10 ml methanolu a 10 ml vody (pH 7,8). Přes takto připravené disky byl rychlostí 15 ml/min filtrován vzorek vody. Po promytí disku 30% vodným roztokem methanolu (MeOH), 50% MeOH okyseleným kyselinou octovou a vysušení tlakovým dusíkem byly zachycené analyty eluovány acetonitrilem, zachycený eluát v proudu dusíku odpařen právě do sucha, odparek rozpuštěn ve směsi hexan : dichlormethan (DCM) (3 : 1) a přečištěn na kolonce naplněné florisilem. Z kolonky byly zachycené analyty vymyty 5% roztokem acetonu v DCM, zkoncentrovány proudem dusíku a převedeny do 1 ml roztoku kompatibilního s následnou LC/MS analýzou.

Vzorkování a příprava vzorků pro stanovení nesteroidních látek

Odběr reálných vzorků byl prováděn do skleněných vzorkovnic, vzorky byly konzervovány okyselením kyselinou octovou (5 ml/250 ml vzorku).

Vzorky byly filtrovány přes membránové filtry z recyklované celulozy (0,45 μm) a po přídavku směsného roztoku vnitřních standardů byl vzorek prekoncentrován on-line SPE na kolonkách Hypersil Gold 20 x 2,1 mm. Odpadní vody byly před on-line SPE ředěny 10krát.

Instrumentální podmínky

LC/MS analýza byla prováděna na kapalinovém chromatografu Agilent 1200 RR s binárním a isokratickým čerpadlem, degaserem, termostatovaným autosamplerem, termostatem kolon a hmotnostním detektorem Applied Biosystems 4000 Q Trap s trojitým kvadrupolem.

Vzhledem k rozdílné povaze sledovaných látek byly použity dvě odlišné LC/MS metody:

Ke stanovení steroidů byla používána kapalinová chromatografie na koloně Synergi Hydro – RP, 150 x 2,00 mm, 4 μm s mobilní fází acetonitril/voda v gradientové eluci. Hmotnostní detekce elektrosprejem v negativním modu (ESI-). Nástřik 10 μl vzorku.

Ke stanovení NSAIDs byla používána LC kolona Zorbax XDB, 50 x 4,6 mm, 4 μm, mobilní fáze methanol/voda okyselená 0,2 % kyseliny octové v gradientové eluci. Hmotnostní detekce elektrosprejem v pozitivním modu (ESI+ pro karbamazepin) a v negativním modu (ESI- pro ostatní). K nástřiku na on-line SPE (objem vzorku 5 ml) bylo použito přístroje Aspec GX – 271 firmy Gilson.

Použité přechody k hmotnostní detekci v MRM (multiple reaction monitoring) modu uvádí tab. 1.

Tabulka 1: Přechody pro MRM detekci

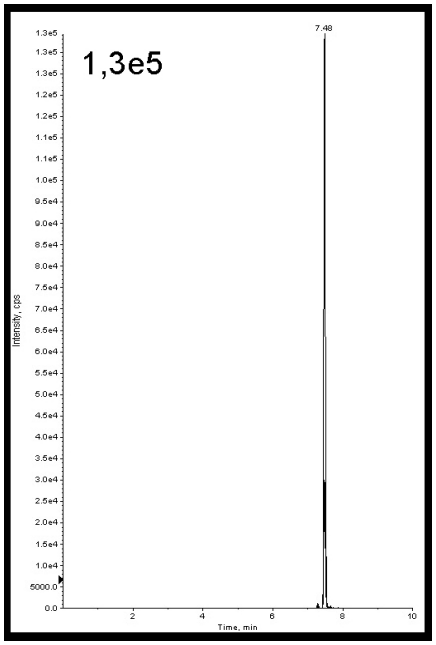
Analyt	Q1	Q3
Kyselina salicylová	136,9	92,8
	136,9	64,9
Karbamazepin	236,9	194,1
	236,9	193,1
Kyselina klofibrová	212,9	126,7
	212,9	84,8
Diklofenak	293,7	249,8
	293,7	213,7
Ibuprofen	204,9	161,0
	204,9	159,0
Estron (E1)	268,9	144,8
	268,9	142,7
17β-estradiol (E2)	270,9	144,8
	270,9	182,9
17α-ethynylestradiol (EE2)	295,0	144,8
	295,0	158,8

VÝSLEDKY

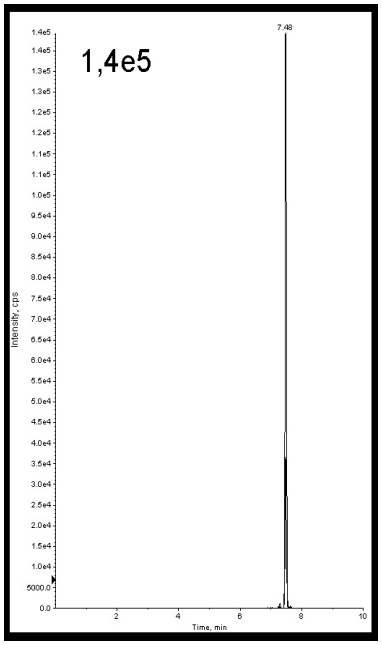
Identifikace jednotlivých látek se provádí porovnáním retenčních časů látek ve vzorku s retenčními časy roztoku standardů a porovnáním shodnosti intenzit dvou sledovaných přechodů dané látky ve vzorku a v roztoku standardu. Kvantifikace se provádí na základě hodnot vypočtených pomocí kalibračních křivek metodou kalibrace s vnitřními standardy (deuterované standardy sledovaných farmak).

Při stanovení léčiv v povrchové a odpadní vodě metodou LC/MS se ukázalo jako velmi nutné používání vnitřních standardů. Matrice silně ovlivňuje ionizaci látek v iontovém zdroji, bylo pozorováno potlačení nebo naopak zvýšení ionizace vlivem látek přítomných ve vzorku. Navíc je tento vliv u každého vzorku jiný.

Změnou původního postupu v přípravě vzorku pro stanovení steroidních látek, tj. SPE při neutrálním pH (7,8) a následným dočištěním extraktu florisilem, se podařilo významně potlačit matricové vlivy. Na obrázku 1 je chromatogram standardu estronu (60 ng/l) v UHQ vodě, obrázek 2 zobrazuje chromatogram standardního přídavku estronu (60 ng/l) do odpadní vody, ve které nebyl estron metodou LC/MS detekován.



Obrázek 1
Chromatogram estronu v UHQ vodě



Obrázek 2
Chromatogram estronu v odpadní vodě

Pro stanovení výtěžnosti použitého postupu extrakce vzorku byly analyzovány vzorky se standardním přídavkem sledovaných farmak do povrchové nebo odpadní vody. Standardní přídavek byl 20 ng/l E1, E2 a EE2; karbamazepin, kyselina klofibrová a salicylová, ibuprofen a diklofenak v koncentraci 200 ng/l. Průměrné výtěžnosti SPE se pohybovaly v intervalu 78,2 – 112,2 % a variační koeficienty (CV) 8,5 – 16,2 %. Průměrné výtěžnosti a CV pro jednotlivé látky v povrchové a odpadní vodě jsou uvedeny v tabulce 2.

Tabulka 2: Průměrné výtěžnosti SPE [%] analytů a CV [%] 20 měření v povrchové a odpadní vodě (koncentrace E1, E2 a EE2 20 ng/l, ostatní látky 200 ng/l)

Analyt	Celkový průměr výtěžností [%]	CV [%]
Kyselina salicylová	78,2	16,1
Karbamazepin	112,2	12,1
Kyselina klofibrová	104,0	16,1
Diklofenak	110,6	13,2
Ibuprofen	100,4	8,5
Estron (E1)	98,4	10,2
17β-estradiol (E2)	111,1	16,2
17α-ethynylestradiol (EE2)	99,4	9,9

Meze stanovitelnosti metody byly stanoveny na základě vyhodnocení poměru signál/šum, tj. k poměru signál/šum 10 byla přiřazena odpovídající koncentrace jednotlivých analytů. Meze stanovitelnosti pro jednotlivé analyty v povrchové vodě a odpadní vodě jsou uvedeny v tabulce 3.

Tabulka 3: Meze stanovitelnosti metody pro jednotlivé analyty v povrchové a odpadní vodě

Analyt	Povrchová voda [ng/l]	Odpadní voda [ng/l]
Kyselina salicylová	100	100
Karbamazepin	1	10
Kyselina klofibrová	1	10
Diklofenak	1	10
Ibuprofen	1	10
Estron (E1)	0,5	2,0
17β-estradiol (E2)	2,0	6,0
17α-ethynylestradiol (EE2)	4,0	10,0

Popsanou metodou byly zpracovány vzorky z městských čistíren odpadních vod v České republice. Vzorky byly odebírány na přítoku na ČOV, odtoku z ČOV a z povrchových vod v místech nad a za výpustí příslušných ČOV. Informativní přehled výsledků analýz je uveden v tabulce 4.

Tabulka 4: Nálezy léčiv v povrchových a odpadních vodách [ng/l]

Analyt	Povrchová voda [ng/l]	Odpadní voda [ng/l]	
		Přítok na ČOV	Odtok z ČOV
Kyselina salicylová	122 - 1450	11000 - 67000	384 – 3900
Karbamazepin	6,6 – 58,2	184 - 1270	277 – 932
Kyselina klofibrová	<1	<10 – 19.6	<10 – 18,3
Diklofenak	7,5 – 41,5	187 - 995	246 - 893
Ibuprofen	11,4 - 216	4670 - 21900	46 – 634
Estron (E1)	<0,5 - 2,4	26,7 – 88,9	<2 – 9,8
17β-estradiol (E2)	<2	10,0 – 31,7	<6
17α-ethynylestradiol (EE2)	<4	<10	<10

ZÁVĚR

Cílem práce bylo vypracovat metodiku stanovení vybraných osmi léčiv (kyselina salicylová, kyselina klofibrová, karbamazepin, diklofenak, ibuprofen, estron, 17β-estradiol a 17α-ethynylestradiol) v povrchové a odpadní vodě.

Stanovení bylo prováděno kapalinovou chromatografií s hmotností detekcí po separaci a zkoncentrování analytů extrakcí tuhou fází (SPE) v on-line a off-line uspořádání.

Metodou byly zpracovány vzorky povrchových vod a odpadních vod z městských čistíren odpadních vod v České republice. Byly zjištěny velmi vysoké koncentrace kyseliny salicylové, ibuprofenu, karbamazepinu a diklofenaku.

PODĚKOVÁNÍ

Příspěvek byl zpracován s podporou Výzkumného záměru MZP0002071101

LITERATURA

1. Pospíchalová D. (2009): Stanovení vybraných farmak v povrchové a odpadní vodě kapalinovou chromatografií s UV detekcí, Vodní hospodářství 59, 3, Čistírenské listy
2. Ternes T.A. (1998): Occurrence of drugs in German sewage treatment plants and rivers , Wat. Res., 32, 11, p. 3245-3260
3. Petrovic M., Hernando M. D., Diaz-Cruz M. S., Barcelo D. (2005): Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review, J. of Chromatogr. A, 1067, p. 1-14
4. Borton Ch., Ghobarach H., Olson L.: (2007): Analysis of endocrine disruptors, pharmaceuticals and personal care products in river water, Application Note, Appllied Biosystems
5. Hilton M.J., Thomas K.V. (2003): Determination of selected human pharmaceutical compounds in effluent and surface water samples by high – performance liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry, J. of Chromatogr. A, 1015, p. 129-141
6. Isobe T., Shiraishi H., Yasuda M. et al. (2003): Determination of estrogens and their conjugates in water using solid-phase extraction followed by high performance liquid chromatography - tandem mass spectrometry, J. of Chromatogr. A, 984, p. 195-202
7. Gabet V., Miege C., Bados P., Conquery M. (2007): Analysis of estrogens in environmental matrice, Trends Anal. Chem., 26, 11, p. 1113-1131
8. Radjenovič M., Petrovič M., Barceló D. (2007): Advanced mass spectrometric methods applied to the study of fate and removal of pharmaceuticals in wastewater treatment, Trends Anal. Chem., 26, 11, p. 1132-1144
9. Bing Shao, Dong Chen et al. (2009): Determination of 76 pharmaceutical drugs by liquid chromatography – tandem mass spectrometry in slaughterhouse wastewater, J. Chromatogr. A, 1216, p. 8312-8318
10. Calliman F.A., Gavrilescu M.(2009): Pharmaceuticals, Personal Care Products and Endocrine Disrupting Agents in the Environment – A review, Clean-soil, air,water, 37, 4-5, p. 985-991
11. Hernando M.D., Heath E., Petrovic M., Barceló D. (2006): Trace - level determination of pharmaceutical residues by LC-MS/MS in natural and treated waters. A pilot – survey study, Anal. Bioanal. Chem., 385, p. 985-991
12. Mutavdžič Pavlovič. D., Sandra Babič et al. (2007): Sample preparation in analysis of pharmaceuticals, Trends Anal. Chem. 26, 11, P. 1062-1077
13. Vanderford B. J., Pearson R. A., Rexing D. J.. et al: Analysis of endocrine disruptors, pharmaceuticals, and personal care products in water using liquid chromatography / tandem mass spektrometry (2003): Anal. Chem. 75, 6265-6274
14. Radjenovič M., Petrovič M., Barceló D. (2005): Liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: A review, J. Chromatogr. A, 1067, p. 1-14
15. Weigel S., Kallenborn R., Hűhnerfuss H.(2004): Simultaneous solid-phase extraction of acidic, neutral and basic pharmaceuticals from aqueous samples at ambient (neutral) pH and their determination by gas chromatography-mass spectrometry, J. Chromatogr. A, 1023, p. 183-195
16. Verenitch S., Lowe Ch. J., Mazumder A.(2006): Determination of acidic drugs and caffeine in municipal wastewaters and receiving waters by gas chromatography-ion trap tandem mass spektrometry, J. Chromatogr. A, 1116, p. 193-203
17. Gibson R., Becerril-Bravo E., Silva-Castro V., JiméneS B.(2007): Determination of acidic pharmaceuticals and potential endocrine disrupting compouds in wastewaters and spring waters by selective elution and analysis by gas chromatography-mass spektrometry, J. Chromatogr. A, 1169, p. 31-39

STANOVENÍ VYBRANÝCH LÉČIVÝCH LÁTEK VE VODĚ METODOU SPE/HPLC-UV S GRADIENTOVOU ELUCÍ

Štěpánka Smrčková, Aleš Kordík

Ústav technologie vody a prostředí, VŠCHT v Praze, Technická 5, 166 28 Praha 6
e-mail:stepanka.smrckova@vscht.cz

1. ÚVOD

Léčivým látkám jako antropogennímu organickému znečištění hydrosféry je věnována pozornost od 80. let minulého století [1]. Díky vysoké frekvenci farmako-terapeutické aplikace jde nejčastěji zejména o analgetika, antibiotika, antidiabetika, β-blokátory, kontraceptiva, hypolipidemika, antidepresiva a kontrastní látky [2].

Různé formy humánních léčivých látek přítomné v surové odpadní vodě jsou na čistírně odpadních vod (ČOV) podrobeny řadě procesů (sorpce na čistírenských kalech, fototransformace, biotransformace/rozklad v aktivovaném kalu). Některé z nich procházejí čistírenskou linkou v původní aplikované formě nebo ve formě produktů humánní biotransformace (metabolity, konjugáty), jiné opouštějí ČOV jako produkty biotransformace vzniklé během biologického stupně čištění, případně jako fototransformační produkty. V odtocích z ČOV byly různé formy léčivých látek kvantifikovány v rozmezí ng·L^{-1} až μg·L^{-1} v řadě zemí světa (Kanada, Spojené státy, Japonsko, Španělsko, Švédsko, Velká Británie, Německo, Austrálie, Vietnam, Taiwan) [3]. V této souvislosti se neadekvátně přečištěné komunální odpadní vody, odpadní vody ze zdravotnických zařízení, průmyslové odpadní vody (farmaceutický, chemický průmysl) vypouštěné do recipientu stávají jedním z významných zdrojů diskutovaného znečištění vody povrchové.

S ohledem na pozitivní přínos léčiv ke kvalitě života lidí i zvířat legislativní regulace jejich výroby a vývoje nových biologicky aktivních preparátů nepřipadá do úvahy. Avšak vzhledem k potenciálnímu dopadu forem výskytu léčivých látek na necílové organismy je třeba hledat způsoby, jak je efektivně z odpadních vod odstraňovat a velice důležitý je také vývoj ekonomicky a časově nenáročného, spolehlivého analytického postupu stanovení vytipovaných markerů znečištění vod léčivými látkami. Experimentální činnost je v této souvislosti věnována vývoji postupu kvantitativního stanovení osmi vybraných léčivých látek ve směsném vodném roztoku dostupnou instrumentální HPLC-UV technikou s dvousložkovým gradientem. Pro separaci a zkoncentrování uvedených cílových analytů byla použita metoda SPE.

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Použité chemikálie a přístroje

Použité chemikálie hydrogenfosforečnan sodný dodekahydrát, chlorovodíková kyselina, kyselina salicylová (SALK), bezvodý chlorid vápenatý (PENTA), bezvodá kyselina octová (MERCK), síran hořečnatý heptahydrát, síran amonný, síran manganatý monohydrát, hydrgenfosforečnan draselný, dihydrogenfosforečnan, draselný a chlorid železitý hexahydrát (LACHEMA) byly čistoty p.a.. Sacharosa (CALBIOCHEM) byla kvality pro bakteriologii. Organická rozpouštědla methanol a acetonitril (LAB SCAN) byly kvality pro HPLC. Roztoky ibuprofenu (IB) a paracetamolu (PAC) byly připraveny z preparátu dodaného firmou ZENTIVA a. s., roztoky sodné soli naproxenu (NPX) a sodné soli diklofenaku (DFK) byly připraveny z preparátů dodaných firmou Sigma Aldrich. Preparáty 17α-ethynylestradiolu (EE2), karbamazepinu (CBZ) a kofeinu (COF) byly dodány firmou FLUKA. Pro filtraci modelové splaškové odpadní vody z domácností byl použit filtr ze skleněných vláken Glas Microfibre Filters GF/C (Maneko).

K úpravě hodnoty pH byl využit přístroj pH 340/ION (WTW). Separace cílových analytů metodou SPE byla prováděna s použitím 26-ti místné odsávací linky pro SPE (Supelco). Pro vlastní zkoncentrování byly použity polypropylenové SPE kolonky Oasis HLB (60 mg; 30 μm, Waters). Pro kvantitativní stanovení analytů metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie na reverzní fázi s UV detekcí (HPLC-UV) byl použit kapalinový chromatografický systém HPLC HP 1050 s multiply wavelenght detektorem (Hewlett-Packard, USA). Podmínky analýzy byly následující: analytická kolona Zorbax Elipse Plus C18, 3,5 μm (4,6 x 150 mm), mobilní fáze: acetonitril (ACN) / 0,1% kyselina octová, průtoková rychlost 1 mL·min^{-1}, objem nástřiku 20 μL, detekce-UV (IB, NPX, DFK, CBZ, EE2) 230 nm, (PAC) 247 nm, (COF) 273 nm, (SALK) 303 nm.

2.2 Pracovní postupy

Z preparátů IB, NPX, DFK, CBZ, EE2, COF, SALK a PAC byly připraveny základní roztoky (1000 mg·L^{-1}) v methanolu. Ze základních roztoků byly postupným ředěním demineralizovanou vodou získány směsné pracovní roztoky 100 mg·L^{-1} a 5 mg·L^{-1}. Ze základních roztoků každého ze sledovaných analytů byl také ředěním methanolem získán pracovní roztok (100 mg·L^{-1}), který byl dále využit k přípravě dvou řad kalibračních roztoků v methanolu (5,0 až 25 mg·L^{-1}, 10 až 50 mg·L^{-1}). Modelové roztoky (DEMI) s obsahem analytů 0,050 nebo 0,50 mg·L^{-1} byly připraveny ředěním pracovního roztoku (5,0 mg·L^{-1}) pomocí vodného roztoku Na_2HPO_4

(0,01 mol·L^{-1}) nebo pomocí vodovodní vody (modelové roztoky VODO) či modelové splaškové odpadní vody (MOV). Přefiltrovaná modelová splašková odpadní voda z domácností [3] obsahovala sacharosu, síran amonný, dihydrogenfosforečnan draselný, hydrogenfosforečnan draselný, síran hořečnatý heptahydrát, síran manganatý monohydrát, chlorid vápenatý a chlorid železitý hexahydrát. Úprava pH modelových roztoků byla na požadovanou hodnotu upravena pomocí koncentrované nebo 2 mol·L^{-1} HCl. Standardní směsný roztok cílových analytů (10 mg·L^{-1}) byl získán ředěním pracovního roztoku (100 mg·L^{-1}) demineralizovanou vodou.

Separace analytů metodou SPE byla provedena následovně. Přes předem předupravenou SPE kolonku (6 mL methanol, 6 mL demineralizovaná voda, ~ 1 mL·min^{-1}) bylo při průtokové rychlosti ~ 3 mL·min^{-1} převedeno 150 mL (800 mL) modelového roztoku s obsahem cílových analytů 0,50 mg·L^{-1} (0,05 mg·L^{-1}). Po vysušení náplně kolonky prosáváním vzduchu bylo k eluci zachycených analytů použito 5 mL methanolu (~ 1 mL·min^{1}).

Stanovená hmotnostní koncentrace analytů byla s ohledem na stupeň zkoncentrování získána metodou HPLC-UV na základě výpočtu z kalibrační závislosti plochy píku příslušného analytu na jeho hmotnostní koncentraci v kalibračním roztoku.

Výtěžnost metody SPE/HPLC-UV vzhledem k danému analytu (η [%]) byla vypočtena po vynásobení podílu stanovené hmotnostní koncentrace ρ [mg·L^{-1}] (s ohledem na stupeň zkoncentrování) a počáteční hmotnostní koncentrace analytu v analyzovaném roztoku hodnotu 100.

3. VÝSLEDKY A DISKUSE

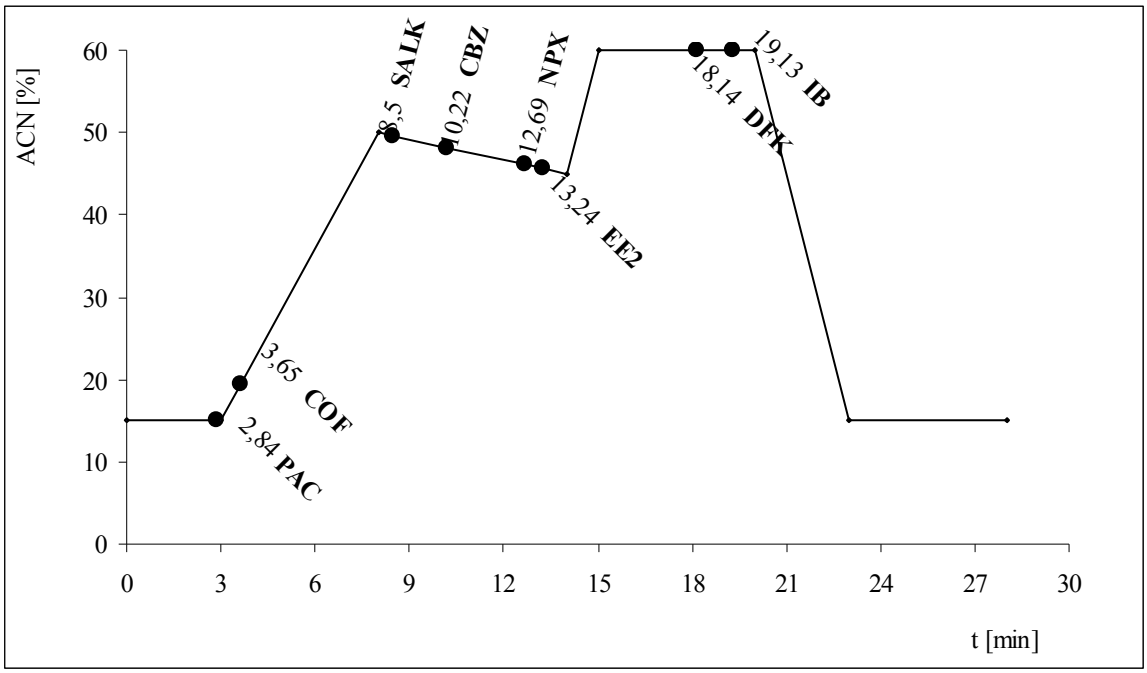
3.1. Výběr cílových analytů a separačního materiálu

Co se týče výběru analytů, přípravky obsahující jako léčivou látku IB, DFK nebo NPX jsou pro širokou škálu farmakologických vlastností celosvětově na předních místech v pořadí četnosti aplikace. Navíc patří mezi tzv. vyhrazená léčiva, tedy jsou volně prodejné (kompozit IB / pseudoefedrin - volně prodejný s omezením). DFK je spolu s CBZ díky nízké účinnosti eliminace čistírenskými procesy obecně považován za tzv. marker znečištění vody léčivy. SALK je jedním z produktů humánní biotransformace kyseliny acetylsalicylové, která je nejstarší léčivou látku z farmako-terapeutické skupiny nesteroidních antirevmatik, nicméně pod názvem aspirin je distribuována již od roku 1898. SALK se dále také objevuje např. jako aditivum v kosmetických přípravcích, potravinách a nelze opomenout ani její přírodní původ. Léčivé látky z anatomicko-terapeutické skupiny ATC pro nervový systém patří každoročně k léčivým látkám s nejvyšším objemem distribuce. K této skutečnosti významně přispívá četná aplikace léčivých přípravků obsahujících PAC včetně kompozitů. Na syntetický estrogen EE2 je soustředěna pozornost zejména jako na látku schopnou zasahovat do hormonální regulace živočichů i lidí. COF je přítomen ve splaškové odpadní vodě především z důvodu konzumace kávy, čaje, čokolády či řady nealkoholických nápojů a je tedy vhodným kandidátem k indikaci a kvantifikaci splaškové odpadní vody z domácností [4]. Současně představuje jednu ze složek nejméně šestnácti kompozitních léčivých přípravků (např. alnagon, ataralgin, baletil, saridon, coldrex, panadol ultra, trigrip, kinedryl, atd.) pro zesílení účinku hlavní léčivé látky (např. kyselina acetylsalicylová, PAC, kyselina askorbová, propyfenazon, fenobarbital, atd.). Z hlediska fyzikálně-chemických vlastností, jsou ve zvoleném spektru analytů zastoupeny jak kyselé, tak i bazické látky.

Jako separační materiál byl na základě doporučeného postupu stanovení PPCPs, steroidů a hormonů ve vodě, půdě sedimentu a biologickém materiálu (EPA 1694) [5] vybrán hydrofilně-lipofilní sorbent - makroporézní poly(*N*-vinylpyrrolidon-divinylbenzen) kopolymer označovaný jako Oasis HLB.

3.2 Podmínky kvantitativního stanovení HPLC-UV technikou s gradientovou elucí po separaci metodou SPE

V první fázi bylo třeba jasně definovat podmínky analytické koncovky HPLC-UV. Konkrétně šlo s ohledem na dobré rozlišení v přijatelné době analýzy o volbu složení mobilní fáze v závislosti na čase a o vhodnou průtokovou rychlost při daných parametrech stacionární fáze analytické kolony. Současně bylo třeba s ohledem na citlivost stanovení zvolit vhodné vlnové délky, při kterých detektor poskytne co nejvyšší odezvu pro každý jednotlivý analyt. Vlnové délky byly určeny na základě UV-spekter roztoků každého z cílových analytů v methanolu s hmotnostní koncentrací 1000 mg·L^{-1}. Cílové analyty byly detegovány při vlnových délkách 230 nm (IB, NPX, DFK, CBZ, EE2), 247 nm (PAC), 274 nm (COF) a 303 nm (SALK). Složení mobilní fáze v závislosti na čase bylo testováno při průtokové rychlosti 0,80 nebo 1 mL·min^{-1} v soustavách acetonitiril / 0,1% kyselina fosforečná nebo methanol / voda. Nicméně jako za daných podmínek nejvhodnější se ukázala soustava acetonitril / 0,1% kyselina octová, při průtokové rychlosti 1 mL·min^{-1}. Optimální složení mobilní fáze v závislosti na čase a retenční časy cílových analytů jsou patrny z obrázku 1.



Obr. 1 Složení mobilní fáze v závislosti na čase a retenční časy cílových analytů

Druhá fáze experimentální práce spočívala ve stanovení cílových analytů v modelových směsných roztocích demineralizované, vodovodní a modelové splaškové odpadní vody. Získané výsledky vyjádřené jako výtěžnost metody v % jsou souhrnně uvedeny v tabulce 1.

Tab. 1 Výtěžnost metody pro stanovení cílových analytů v demineralizované, vodovodní a modelové splaškové odpadní vodě v [%] a hodnoty pK_a analytů

analyt	DEMI			VODO	MOV	DEMI	VODO	MOV	
	pH 7	standard pH 7	pH 3	pH 3	pH 3	pH 3	pH 3	pH 3	pK_a
[mg·L^{-1}]	0,50	15	0,50			0,050			
IB	101	109	100	107	106	100	100	99	4,91
NPX	97	109	103	107	104	104	105	100	4,15
DFK	97	101	100	102	100	102	101	100	4,15
SALK	n.d.	108	109	109	110	115	107	105	2,97
PAC	38	105	41	34	39	35	35	35	9,38
CBZ	98	107	101	107	105	103	95	101	13,9
EE2	91	106	100	101	97	111	103	105	10,5
COF	89	97	94	96	91	94	97	93	10,4

DEMI – demineralizovaná voda; VODO – vodovodní voda; MOV – modelová splašková odpadní voda; hodnoty pH se vztahují k hodnotám pH analyzovaných vzorků; uvedené výsledky v % výtěžnosti metody jsou průměrné hodnoty třech nezávisle provedených experimentů; n.d. – pod mezí detekce; standard pH 7 – standardní směsný roztok cílových analytů (10 mg·L^{-1}) o hodnotě pH 7; pK_a – disociační konstanta

Ze souhrnu výsledků uvedených v tabulce 5 je patrno, že v případě SALK její forma v analyzovaném vzorku pro separaci hraje zásadní roli. Tato skutečnost byla potvrzena přímou HPLC-UV analýzou standardního směsného roztoku cílových analytů (10 mg·L^{-1}) o hodnotě pH 7, kdy je oproti roztoku s hodnotou pH 3 ze 100 % v disociované formě. Při hodnotě pH 3 jsou IB, NPX a DFK z více než 93 % v nepolární formě, SALK je z 50 % disociovaná a PAC, CBZ, EE2 a COF jsou disociovány ze 100 %. Při hodnotě pH 3 se uplatňuje jako separační mechanismus pro IB, NPX a DFK jejich interakce s nepolární částí chemické struktury separačního materiálu. V případě SALK s hodnotou pK_a 2,97 je výklad mechanismu její separace při hodnotě pH analyzovaného

roztoku 3 sporný. Co se týče PAC, CBZ, EE2 a COF jde zřejmě o jejich interakci s pyrrolidonovou částí molekuly kopolymeru, stejně tomu je v roztoku o hodnotě pH 7 (s výjimkou SALK), kdy jsou všechny cílové analyty přítomny ve formě iontů.

Souhrnně lze konstatovat, že IB, NPX, DFK, SALK, CBZ, EE2 a COF byly ve všech testovaných matricích stanoveny metodou SPE/HPLC-UV s průměrnou výtěžností 91 až 110 %. Výjimku představuje PAC ve standardním roztoku stanovený se 105% výtěžností, v analyzovaných modelových roztocích po SPE separaci s asi 40% výtěžností. Výsledky získané pro PAC jsou v souladu s řadou publikovaných prací. Po separaci na stejném separačním materiálu a podobných podmínek např**.** Vanderford et al. [6], Santos et al. [7] či Conley et al. [8] uvádějí výtěžnost 40 % - 53 % nebo údaj pod mezí detekce.

3.3 Interpretace vybraných validačních parametrů

Termín linearita je chápán jako přímková závislost mezi odezvou instrumentace a koncentrací analytu, přičemž těsnost vzájemné závislosti charakterizuje korelační koeficient R. Čím více se R blíží hodnotě +1, tím je závislost obou proměnných těsnější. V kombinaci s korelačním koeficientem je k hodnocení linearity používán QC koeficient, jehož hodnota nesmí být vyšší než 5 %. Citlivost je pro lineární závislost dána změnou signálu v důsledku změny koncentrace analytu. Jedná se o směrnici kalibrační přímky. Co se týče meze detekce LOD a meze stanovitelnosti LOQ, LOD odpovídá koncentraci analytu, pro kterou je odezva statisticky významně odlišná od šumu a LOQ je úroveň, nad kterou lze věrohodně provést kvantitativní stanovení. Opakovatelnost metody je definována jako těsnost shody mezi výsledky získanými během krátkého časového rozmezí opakovaným použitím téhož postupu stanovení, v téže laboratoři, stejným operátorem, za použití stejných přístrojů a zařízení. Statisticky představuje přesnost rozptylu výsledků kolem průměru, bez ohledu na to, jak správně průměr reprezentuje správnou hodnotu měřené veličiny. [9,10]

Hodnoty vybraných validačních parametrů získané programem EffiValidation 3.0 [11] jsou uvedeny v tabulce 2.

Tab.2 Hodnoty vybraných validačních parametrů

parametr / analyt	IB	NPX	DFK	SALK	PAC	CBZ	EE2	COF
R vypočtený linearita	0,99979	0,99979	0,99983	0,99978	0,99966	0,99964	0,99993	0,99991
QC vypočtený [%]	1,05	1,10	1,02	1,13	1,41	1,59	0,67	0,75
citlivost	5,7376	96,7022	13,5077	7,6618	24,5266	24,6304	5,3346	17,1626
LOD [mg·L^{-1}]	3,3	1,5	1,6	1,8	2,2	2,3	1,0	1,1
LOQ [mg·L^{-1}]	3,8	2,3	2,5	2,8	3,4	3,6	1,6	1,8
opakovatelnost metody (% rel.)	7,10	5,11	3,61	5,36	7,35	2,77	5,69	2,63

R – korelační koeficient; QC – QC koeficient; linearita, citlivost, LOD jako mez detekce v mg·L^{-1} a LOQ jako mez stanovitelnosti v mg·L^{-1} byly testovány pro koncentrační rozsah 5,0 až 25 mg·L^{-1} každého analytu, hodnoty R k testování 0,9900 a QC k testování 5 %; opakovatelnost metody pro každý analyt byla testována na koncentrační hladině 0,050 mg·L^{-1} z 6-ti násobného měření, na koncentrační hladině 0,50 mg·L^{-1} z 8-mi násobného měření (EffiValidation 3.0)

4. ZÁVĚRY

Navržený postup stanovení IB, NPX, DFK, SALK, PAC, CBZ, EE2 a COF byl testován pro směsné vodné roztoky těchto analytů v demineralizované, vodovodní a modelové splaškové odpadní vodě a to na koncentračních hladinách 0,050 a 0,50 mg·L^{-1}. Průměrná výtěžnost se pohybovala v rozmezí 91 až 111 %, kromě PAC.

V souladu s některými literárními daty byl PAC stanoven v diskutovaných modelových směsích s průměrnou výtěžností 34 až 41 %. Tyto hodnoty prokazatelně neodrážejí účinnost analytické koncovky, nýbrž se v nich odráží účinnost SPE separačního kroku. Otázkou zůstává, zda problém spočívá v nedostatečně účinné fázi retence či eluce.

Na základě hodnot korelačních koeficientů a QC koeficientů byla prokázána linearita metody pro všechny sledované analyty a v rámci stanovení opakovatelnosti byly potvrzeny hypotézy o normalitě dat. Pro rozsah kalibračních závislostí v rozmezí 5,0 až 25 mg·L^{-1} pro každý analyt byly získány za daného experimentálního uspořádání uspokojivé hodnoty LOD a LOQ.

PODĚKOVÁNÍ

Práce byla provedena za finanční podpory výzkumného záměru MSM 6046137308.

5. POUŽITÁ LITERATURA

[1] Nikolaou A., Meric S., Fatta D.: Anal. Bioanal. Chem. 387, 1225 (2007).

[2] Richardson S. D.: Anal. Chem. 80, 4373 (2008).

[3] Yu T. H., Lin Y. Ch., Lateef S. K., Lin Ch. F., Yang P. Y.: Chemosphere 77, 175 (2009).

[4] Kahle M., Buerge I. J., Müller M. D., Poiger T.: Environ. Toxickol. Chem. 28, 2528 (2009).

[5] EPA Metod 1694: Pharmaceuticals and Personal Care Products in Water, Soil, Sediment and Biosolids by HPLC/MS/MS, December 2007.

[6] Vanderford B. J., Pearson R. A., Rexing D. J., Snyder S. A.: Anal. Chem. 75, 6265 (2003).

[7] Santos J. L., Aparicio I., Alonso E., Callejón M.: Anal. Chim. Acta 550, 116 (2005).

[8] Conley J. M., Symes S. J., Kindelberger S. A., Richards S. M.: J. Chromatogr. A 1185, 206 (2008).

[9] http://www.hplc.cz/Validace/program_validace.htm, staženo dne 27.6.2011.

[10] http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/texty/ana/validace.pdf, staženo dne 27.6.2011.

[11] http://www.effichem.cz/produkty/effivalidation-3-0/moduly/validace-metod/, staženo dne 27.6.2011.

VYUŽITÍ TECHNIKY GC/ECNI-MS PRO STANOVENÍ BROMOVANÝCH DIFENYLETHERŮ A CHLORALKANŮ V POVRCHOVÝCH VODÁCH

Gregor Vohralík

Povodí Labe, státní podnik, odbor vodohospodářských laboratoří, Víta Nejedlého 951, 500 03 Hradec Králové, e-mail: vohralikg@pla.cz

1. ÚVOD

Polybromované difenylethery a chlorované alkany C10-C13 patří do skupiny průmyslově vyráběných látek, které našly uplatnění v nejrůznějších odvětvích lidské činnosti. Jejich původ v životním prostředí je tedy antropogenní. Jedná se o látky perzistentního charakteru vedoucího ke zvyšování množství těchto polutantů v různých typech přírodní matrice.

Polybromované difenylethery (PBDE) jsou strukturně tvořeny dvěma benzenovými jádry spojenými jednoduchou vazbou přes atom kyslíku a substituované různým počtem atomů bromu. PBDE jsou svými vlastnostmi dosti podobné polychlorovaným bifenylům (PCB), jsou stabilní, lipofilní, málo rozpustné ve vodě a obecně málo těkavé. S rostoucím počtem atomů bromu v molekule klesá rozpustnost ve vodě a naopak stoupá afinita k pevným částicím [1]. PBDE se používají hlavně jako zpomalovače hoření ve stavebních materiálech, ale i například v elektronice. Jsou aditivní přísadou do epoxidových pryskyřic, polyesterů, epoxidových pěn a různých textílií. Hlavním zdrojem znečištění živ. Prostředí jsou především továrny vyrábějící tyto produkty.

Chlorované alkany C10-C13 jsou také průmyslově vyráběnou skupinou látek. Jedná se o směs isomerů alifatických uhlovodíků s 10 až 13 atomy uhlíku v řetězci a různým počtem atomů chloru, bezbarvé olejovité konzistence. Vyráběny jsou od 1930 radikálovou chlorací n-alkanů za přítomnosti UV záření. Stejně jako PBDE i chlorované alkany vykazují podobné vlastnosti jako PCB. To je předurčuje k použití jako plastifikátorů, lubrikantů, zpomalovačů hoření. Využití našly i jako aditiva při výrobě barviv a tmelů, jako součásti nejrůznějších řezných emulzí při obrábění kovů. Do životního prostředí se dostávaly hlavně z výroby barev, obuvi a kovoobráběcího průmyslu.

Polybromované difenylethery i chlorované alkany C10-C13 je možné stanovit v povrchových vodách i sedimentech technikou plynové chromatografie s hmotnostní detekcí. Kromě elektronové ionizace (EI) se hojně využívá i negativní chemické ionizace (ECNI). Tato ionizační technika je zvláště vhodná pro analyty obsahující v molekule atomy chloru či bromu. V porovnání s elektronovou ionizací se jedná o „šetrnější“ ionizační techniku. Dochází totiž k nízké fragmentaci a ve spektrech analytů převažují záporně nabité molekulární ionty a tím se dosahuje navýšení citlivosti ve srovnání s elektronovou ionizací.

2. ÚPRAVA A ZPRACOVÁNÍ VZORKŮ

K 1 litru vzorku pitné, povrchové či odpadní vody se přidá vnitřní standard (PCB#203, hexachloroundekan) a 2 ml heptanu. Provede se extrakce, emulze se nechá ustát většinou do druhého dne. Heptanová frakce se oddělí přes extrakční nástavec. Pro stanovení chlorovaných alkanů se ještě provádí dočištění z důvodu odstranění potenciálně interferujících látek, jakými mohou být organochlorované pesticidy, polychlorované bifenyly, chlordan, toxafen a jiné.

Pro pevné matrice (sedimenty, plaveniny, kaly) se provádí extrakce do směsi organických rozpouštědel (hexan:dichlormethan), následuje gelová chromatografie a ve finální fázi se frakce sbíraná z gelového chromatografu dočišťuje na kolonce s Florisilem.

3. VLASTNÍ STANOVENÍ PBDE A CHLOROVANÝCH ALKANŮ C10-C13

Stanovení se provádí plynovou chromatografií s hmotnostním detektorem pracujícím s negativní chemickou ionizací. K měření se používá plynový chromatograf Agilent 7980 s MSD 5975 C, vybavený Multimode Inletem. Nástřik se provádí technikou velkoobjemového nástřiku v tzv. „solvent vent módu“. Byly optimalizovány podmínky tohoto nástřiku, plynového chromatografu i hmotnostního detektoru. Podmínky stanovení PBDE se mírně liší od podmínek stanovení chloralkanů C10-C13.

a) Nastavení inletu

- nastřikuje se 2x 10 µl heptanového extraktu
- počáteční teplota inletu pro PBDE 60 °C
- počáteční teplota inletu pro chloralkany 85 °C

b) Nastavení plynového chromatografu

Stanovení PBDE

- kolona Restek RTX 1 (15m x 250µm x 0,1µm)
- teplotní program: 40 °C (2 min), 325 °C (40°C/min), 325 (4 min)
- nosný plyn He s průtokem 1,5 ml/min
- teplota převodníku GC/MS 300 °C

Stanovení chloralkanů C10-C13

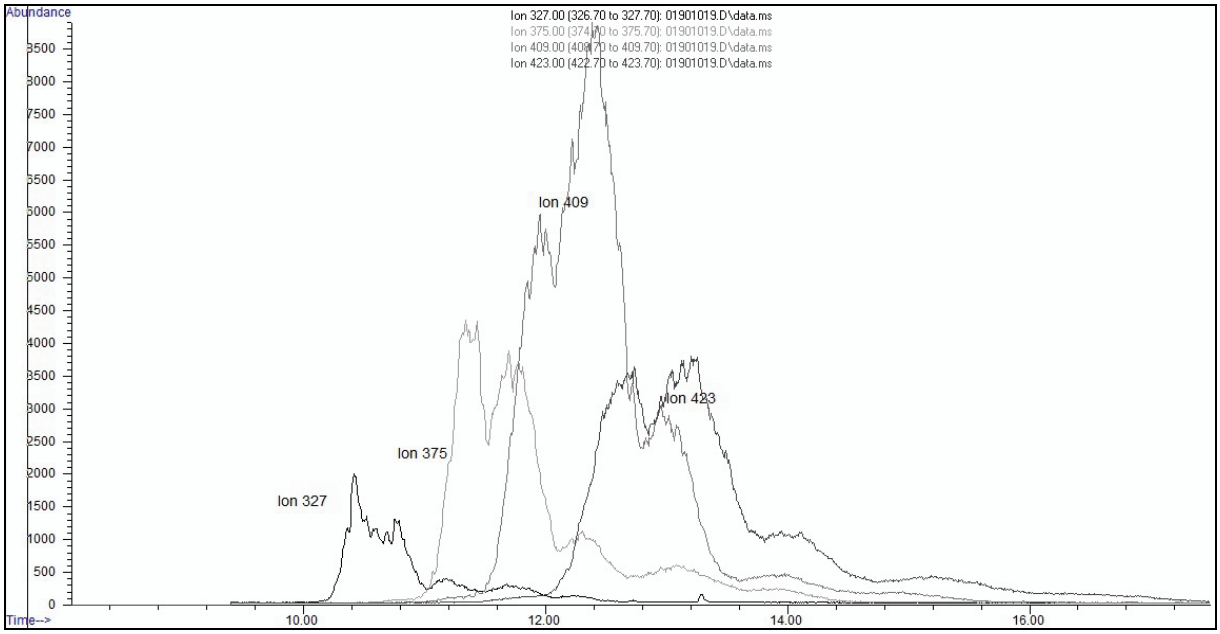
- kolona Restek RTX 1 (15m x 250µm x 0,1µm)
- teplotní program: 40 °C (2 min), 260 °C (50°C/min), 260 (2 min), 300 °C (40°C/min), 300°C (3 min)
- nosný plyn He s průtokem 0,9 ml/min
- teplota převodníku GC/MS 290 °C

d) Nastavení hmotnostního detektoru

- teplota iontového zdroje 150°C
- teplota quadrupólu 150°C
- jako „ionizační plyn“ se používá methan
- měřící mód SIM

Pro stanovení polybromovaných difenyletherů se měří ionty (m/z): 79 $[^{79}Br]^-$ a 81 $[^{81}Br]^-$.

U chlorovaných alkanů je situace komplikovanější. Jedná se totiž o velmi složitou směs až 10 000 isomerů. Není tedy možná separace běžnou instrumentální technikou kapilární plynové chromatografie. Chromatogramy jsou charakteristické širokými pásy. Podle normy ISO 12010 se měří ionty m/z : 327, 375, 409, 423 (viz Obr. č. 1). Koncentrace chlorovaných alkanů se určí pomocí multilineární regrese [2].



Obr. 1: Vyextrahované ionty chlorovaných alkanů C10-C13 (63% Cl, konc. 600 ng/l)

4. PRACOVNÍ CHARAKTERISTIKY METODY

V následující tabulce jsou uvedeny pracovní charakteristiky pro jednotlivé parametry získané validací metody.

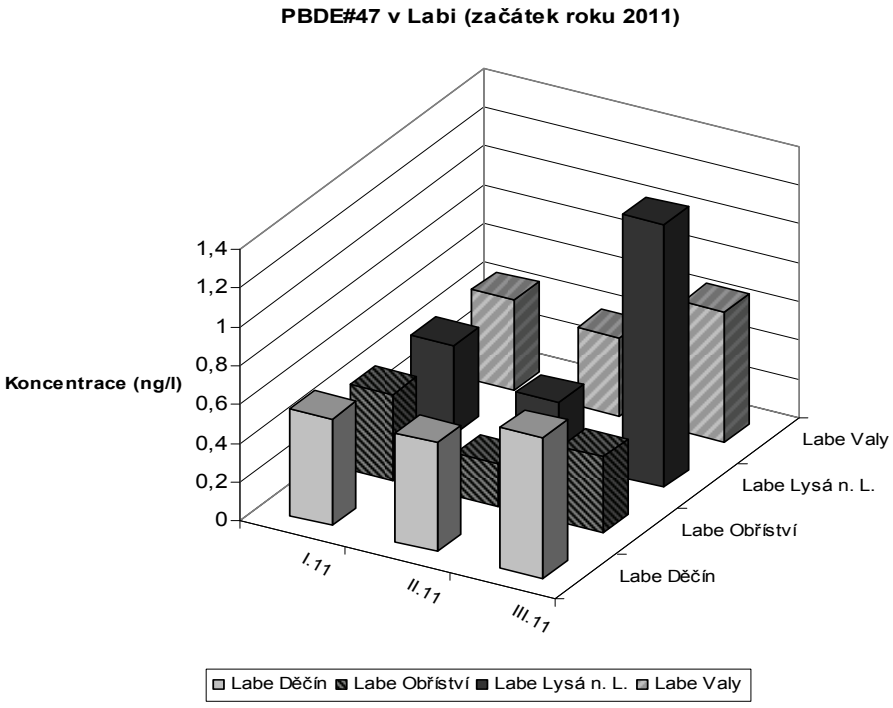
Tabulka č. 1: Pracovní rozsah a nejistota metody pro jednotlivé látky

Parametr	Pracovní rozsah - vody	Nejistota -vody	Pracovní rozsah –pevné vzorky	Nejistota- pevné vzorky
	[ng/l]	[%]	[ug/kg sušiny]	[%]
PBDE # 28	0,2-200	25	3-1000	30
PBDE # 47	0,2-200	25	3-1000	30
PBDE # 99	0,2-200	25	3-1000	30
PBDE # 100	0,2-200	25	3-1000	30
PBDE # 153	0,2-200	25	3-1000	30
PBDE # 154	0,2-200	25	3-1000	30
PBDE # 183	0,2-200	25	3-1000	30
PBDE # 209	10-1000	30	20-1000	30
CA C10-C13	300-10 000	30	50-1000	30

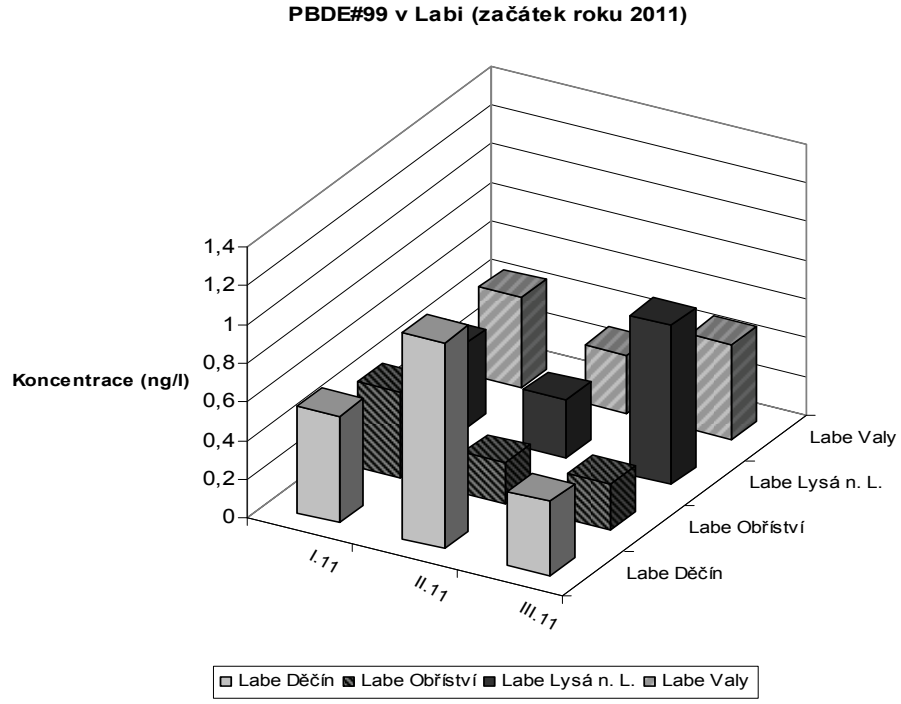
5. VÝSLEDKY, REÁLNÉ NÁLEZY

Z bromovaných difenyletherů se v povrchových vodách nalézají především nižší koncentrace kongenerů PBDE # 47 a PBDE # 99. Hodnoty se pohybují v rozmezí 0,4 až 1,5 ng/l. To je dáno vlastnostmi těchto látek, neboť se jedná o silně lipofilní látky s tendencí vázat se především na pevné materiály. S ohledem na nízké hodnoty koncentrací v povrchových vodách je nutno použít metodu, která poskytne dostatečně nízké meze stanovitelnosti pro tyto látky. Mezi takové metody patří právě spojení plynové chromatografie s hmotnostním detekcí v módu negativní chemické ionizace (GC/ECNI-MS).

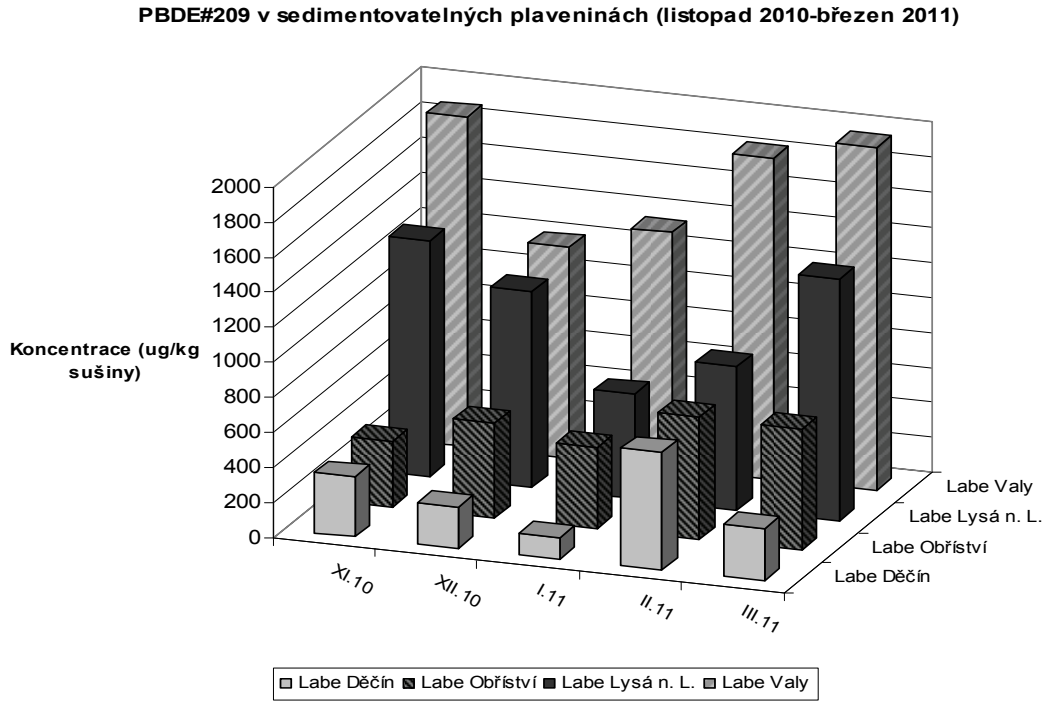
Reálné nálezy PBDE # 47 v řece Labi názorně ukazuje obrázek č. 2. a kongeneru PBDE # 99 obrázek č. 3



Obr. 2: Nálezy kongeneru PBDE#47 v ng/l v povrchové vodě z Labe na začátku roku 2011



Obr. 3: Nálezy kongeneru PBDE#99 v ng/l v povrchové vodě z Labe na začátku roku 2011



Obr. 4: Nálezy kongeneru PBDE#209 v µg/kg sušiny v sedimentovatelných plaveninách z Labe na přelomu roku 2010 a 2011

S ohledem na silnou lipofilitu polybromovaných difenyletherů jsou reálné nálezy u pevných vzorků (sedimenty, sedimentovatelné plaveniny) vyšší než u vod. U nižších kongenerů PBDE se hodnoty pohybují v jednotkách µg na kilogram sušiny vzorku. U kongeneru PBDE#209 jsou běžné koncentrace i v jednotkách miligramů na kilogram sušiny vzorku. To dokládá obrázek č. 4, na kterém jsou graficky znázorněny hodnoty koncentrace PBDE#209 ve vzorcích sedimentovatelných plavenin řeky Labe z konce roku 2010 a začátku roku 2011. Z grafu je patrné, že nejvyšší koncentrace byla na profilu Labe Valy a směrem k dolnímu toku postupně klesala.

Chlorované alkany C10-C13 mají podobné vlastnosti jako PBDE, a proto i jejich nálezy v životním prostředí vykazují obdobný trend. Ve vzorcích vod se jejich koncentrace pohybují pod mezí stanovitelnosti (300 ng/l). S ohledem na tuto skutečnost bude do budoucnosti nutné snížit mez stanovitelnosti a zapracovat na případném odstranění potenciálních interferencí. U pevných vzorků se hodnoty pohybují v jednotkách (vyjmečně ve stovkách) µg na kilogram sušiny vzorku.

Metoda na stanovení chlorovaných alkanů C10-C13 ve vodách byla úspěšně otestována účastí na mezinárodním okružním rozboru PTWD-SCCP's (Short chain chloroparaffins in surface water) pořádaném na konci roku 2010 Association Générale des Laboratories d'Analyse de l'Environment- Lille (Francie).

6. ZÁVĚR

Byla optimalizována a aplikována metoda GC/ECNI-MS ke stanovení polybromovaných difenyletherů a chlorovaných alkanů C10-C13 ve vodách i pevných matricích. Metoda poskytuje dostatečně nízké meze stanovitelnosti pro stanovení PBDE i chlorovaných alkanů C10-C13 v environmentálních vzorcích.

Nálezy PBDE ve vodách se pohybují okolo jednoho nanogramu na litr a jedná se především o PBDE#47 a PBDE#99. V pevných vzorcích jsou nálezy vyšší, u kongeneru PBDE#209 i v mg na kilogram.

Chlorované alkany C10-C13 se vyskytují ve vodách pod mezí stanovitelnosti a v pevných vzorcích v jednotkách µg na kilogram.

LITERATURA

[1] Klasson-Wehler, E., Morck, A., Hakk, H.: Metabolism of Polybrominated Diphenyl Ethers , Sweden, Stockholm 2001.

[2] ISO/CD 12010 Water Quality – Determination of short chain polychlorinated alkanes (SCCP) in water

STANOVENÍ PFOA A PFOS V KALU METODOU LC/MS

Danica Pospíchalová, Pavla Martinková, Roman Jobánek, Marcela Jokešová, Zora Pokorná

VÚV T.G.M., v.v.i., Podbabská 30, 160 00, Praha 6

ÚVOD

Perfluorované a polyfluorované uhlovodíky (PFCs - perfluorinated compounds, PFASs – per- and polyfluorinated alkyl substances) představují rozsáhlou skupinu sloučenin, ve kterých jsou vodíkové atomy vázané na uhlíkovém řetězci nahrazeny atomy fluoru. U perfluorovaných uhlovodíků jsou nahrazeny všechny vodíkové atomy, v případě polyfluorovaných jen část [1,2].

Do této skupiny patří široce používané polymery a oligomery, povrchově aktivní látky atd. Od počátku výroby v 50. letech 20.stol. pronikly prakticky do všech složek životního prostředí, jejich přítomnost byla zaznamenána i ve velmi odlehlých oblastech [3].

K nejrozšířenějším perfluorovaným polutantům patří

- perfluoralkylsulfonáty, zejména perfluoroktansulfonát (PFOS)
- perfluorkarboxylové kyseliny (PFCA), zejména kys. perfluoroktanová (PFOA)

Kovalentní vazba mezi uhlíkem a fluorem je velmi silná, následkem toho jsou tyto sloučeniny tepelně stabilní a chemicky i biologicky inertní.Vzhledem k těmto vlastnostem a širokému průmyslovému využití patří k významným antropogenním perzistentním organickým polutantům (POPs).

Fluorované deriváty se v živých organismech akumulují hlavně v krevní plazmě a játrech, na rozdíl od ostatních halogenovaných POPs se neváží na tukové, ale bílkovinné části tkání. Mechanismus účinku jednotlivých sloučenin není většinou objasněn, předpokládá se, že mají vliv na transport mastných kyselin, funkce membrán, bioenergetické procesy v mitochondriích [1].

Metabolickými procesy mohou být některé PFASs transformovány na PFOS a PFOA, které se akumulují zejména v játrech, nepodléhají další degradaci a jsou jen velmi pomalu vylučovány z organismu; u člověka je polovina perorálně podané dávky PFOS odstraněna z organismu za 9 let, u PFOA za 1-3 roky [4].

PFCs se vyznačují vlastnostmi, které je předurčují k širokému průmyslovému použití při výrobě mnoha produktů, jsou termostabilní, chemicky inertní, povrchově aktivní (snižují povrchové napětí), jsou hydrofobní i oleofobní.

Samotná PFOA je používána ve formě amonné soli (APFO) jako surfaktant při výrobě fluoropolymerů (např. polytetrafluorethylen-PTFE, polyvinylidenfluorid-PVDF) a fluoroelastomerů [6].

PFOS a PFOS-sloučeniny jsou jako hydro- a oleofobní látky nebo surfaktanty používány v těchto oblastech

- povrchové úpravy (impregnace) povrchu kůže, koberců a textilu (GoreText®)
- hydrofobní i oleofobní úprava papíru pro potravinářské i nepotravinářské použití (karton)
- povrchové úprava kovů – PFOS sloučeniny snižují povrchové napětí chromových lázní a zabraňují tak emisi CrVI
- výroba protipožárních pěn a nátěrů používaných v letectví a námořní plavbě
- výroba čisticích prostředků a leštidel pro domácnosti
- průmysl polovodičů – použití v litografickém procesu při výrobě digitálních fotoaparátů, tiskáren, skenerů
- letecká doprava – přídavek PFOS do hydraulických tekutin

Do životního prostředí se PFCs dostávají přímo jako odpad z jejich výroby a používáním výrobků je obsahujících. PFOS a PFOA jsou finální degradační produkty mnoha PFCs, jejich přítomnost byla prokázána ve složkách životního prostředí i ve velmi odlehlých oblastech (Arktida). Nálezy lze vysvětlit vzdušným transportem těkavějších prekurzorů PFOS a PFOA do těchto oblastí, jejich degradací v atmosféře nebo depozicí a následnou biodegradací [7]. Čistírny odpadních vod byly určeny jako významná cesta uvolňování PFCs do životního prostředí [17]. Zatím je ale málo publikovaných údajů o koncentračních hladinách PFCs v kalu.

MOŽNOSTI STANOVENÍ

Od padesátých let minulého století byly vyvíjeny různé metody na stanovení obsahu PFAS ve vodě a lidských vzorcích (ISE, X-ray fluorescence, FTIR), které však měly nízkou citlivost a selektivitu [2].

Vzhledem k charakteru stanovovaných látek (nízká tenze par, nestabilní deriváty) jsou možnosti plynové chromatografie omezené. PFCs mohou být stanoveny po derivatizaci, deriváty PFOS jsou nestabilní [8,9].

HPLC-FLU (s fluorescenčním detektorem) vyžaduje kvůli absenci fluoroforů v PFASs molekulách rovněž derivatizaci, např. 3-bromo-acetyl-7-methoxycumarinem [10].

Zásadní průlom v analýze PFCs znamenal vývoj kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí (LC-MS, LC-MS/MS). Tyto metody lze nyní považovat za základní standard při stanovení aniontových surfaktantů [10-19]. Nejlepší metodou je TOF-HRMS (time of flight – high resolution MS), která spojuje vysokou selektivitu s dobrou citlivostí [17,19], tuto techniku má ale zatím málo laboratoří a proto se nejčastěji používá LC a MS detekce trojitým kvadrupolem [10,13-18].

Kal z komunálních čistíren odpadních vod je komplexní vzorek životního prostředí a analýza PFCs má určitá omezení. Je to jednak možnost znečištění vzorku PFCs během jeho odběru, skladování a zpracování, nesmí se používat žádné typy fluoropolymerových plastů. Je nutné kontrolovat možné znečištění slepého stanovení z jednotlivých částí použitých přístrojů a pomůcek a pokud je to možné používat jen materiály, jako je např. korozivzdorná ocel, polyetherketon (PEEK), polyethylen nebo polypropylen. Pro odběr vzorků se nesmí používat skleněné nádoby kvůli možné ztrátě analytu adsorpcí. Před použitím se musí kontrolovat možné pozaďové znečištění vzorkovnic.

Extrakce PFCs ze vzorků kalů se provádí nejčastěji v ultrazvukové lázni [14] nebo ASE (Accelerated Solvent Extraction) [17]. Používají se polární rozpouštědla: methylalkohol, směs methylalkoholu a vody, acetonitril, tetrahydrofuran [14-19].

Vliv matrice je stále problém při analýze PFCs v pevných vzorcích. Analýza metodou LC-MS/MS může být rušena ionizačními vlivy způsobenými spoluextrahovanými složkami přítomnými v extraktu, proto se musí extrakty čistit a doporučuje se používat isotopicky značené vnitřní standardy [17]. Čištění se provádí extrakcí pevnou fází (SPE) s kolonkami s náplní: C18 , Oasis HLB, Oasis WAX nebo EnviCarb. Metoda [14], ve které je vzorek kalu extrahován methanolem a čištěn na aktivním uhlí se stala pro svoji citlivost a robustnost základem pro mnoho aplikací.

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

V naší práci jsme vycházeli z poznatků uvedených v normě ČSN ISO 25101[13] a citacích [5,14,17]. K přípravě vzorků byla použita extrakce ultrazvukem a ASE. Byla zkoušena tři extrakční činidla: methanol, tetrahydrofuran a acetonitril a k čištění extraktů dva sorbety: Oasis WAX a EnviCarb.

Vzorky

Vzorky aktivovaného kalu z komunální čistírny odpadních vod byly odebírány do hliníkových fólií, zamraženy na -20°C, lyofilizovány a homogenizovány.

Extrakce a čištění

Extrakce byla prováděna dvěma postupy: ultrazvukem (UZ) a ASE.

UZ + ENVI-Carb

Navážky vzorku (cca 0,3 g) byly extrahovány 60 minut v ultrazvuku při 35°C Extrahováno bylo vždy 2x 10 ml daného rozpouštědla (methanol, acetonitril a tetrahydrofuran). Po odstředění byl extrakt naředěn na objem 25 ml methanolem a 5 ml podíl extraktu byl čištěn SPE na kolonce ENVI-Carb, kondiciované 50 µl CH_3COOH. Po zakoncentrování proudem dusíku a přídavku vnitřních standardů byly extrakty převedeny do plastových vialek a analyzovány metodou LC-MS. Extrakt do tetrahydrofuranu byl velmi znečištěný a proto se toto rozpouštědlo v další práci nepoužívalo.

Výtěžnost extrakce analytů do acetonitrilu v porovnání s extraktem do methanolu byla nižší a proto byl jako vhodnější pro extrakci pevných vzorků vybrán methanol. Další testy byly prováděny pouze s methanolem.

ASE

Navážky vzorku (cca 0,5 g) byly smíchány s hydromatrixem a extrahovány při 70° C dvakrát methanolem, extrakt byl zpracováván dvěma čistícími postupy:

ASE + WAX: SPE na kolonkách Oasis WAX po převedení methanolového extraktu do 50 ml ultračisté vody (UHQ). K eluci PFCs z SPE kolonek byl použit methanol s 0,1% NH4OH, eluát zkoncentrován v proudu dusíku a převeden do mobilní fáze - ASE + WAX.

ASE + ENVI-Carb: Extrakt ASE zkoncentrován na celkový objem 25 ml a 5 ml podíl čištěn SPE ENVI-Carb, stejně jako při extrakci UZ.

Příprava standardů

Ke sledování byly vybrány nejvýznamnější PFCs podle doporučení ČSN ISO 25101[13] a jsou uvedeny v Tabulce 1 .

Tabulka 1 – Analyzované sloučeniny

Analyt	Vzorec a	Zkratka	Číslo CAS b
Perfluor-n-oktansulfonová kyselina (1,1,2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-heptadekafluor-n-oktansulfonová kyselina)	$CF_3(CF_2)_7SO_3H$	PFOS	1763-23-1
Perfluor-n-oktanová kyselina (pentadekafluor-n-oktanová kyselina)	$CF_3(CF_2)_6COOH$	PFOA c	335-67-1

a Analytem je anion.

b CAS = služba Chemických abstrakt.

c PFOA zahrnuje kyselinu a její soli.

Pro vývoj metod a jejich validaci byly používány standardy v pevném stavu od firmy Dr. Ehrenstorfer.

Referenční látky:

Perfluorooctanoic acid, pevná látka, čistota 98.0%

Perfluorooctane sulfonic acid, pevná látka, čistota 99.0%

Vnitřní standardy (ISTD) od firmy Wellington Lab. :

Perfluorooctanoic acid 4C13, 50 ng / µl v MeOH

Perfluorooctane sulfonic acid 4C13, 50 ng / µl v MeOH

Z dodaných pevných látek byly připravovány základní roztoky jednotlivých analytů v methanolu, ze kterého byl připravován směsný zásobní kalibrační roztok.

K přípravě modelových vzorků a mobilní fáze byla použita ultračistá voda (UHQ) a organická rozpouštědla pro LC/MS firmy Merck.

Instrumentální podmínky

LC/MS analýza byla prováděna na kapalinovém chromatografu Agilent 1200 RR s binárním a isokratickým čerpadlem, degaserem, termostatovaným autosamplerem, termostatem kolon a hmotnostním detektorem Applied Biosystems 4000 Q Trap s trojitým kvadrupolem.

Analytické podmínky.

Pro chromatografickou separaci byla použita kolona Zorbax Eclipse XDB-C18 RR , 50x4,6 mm,

mobilní fáze: A voda / 0,2 % kyselina octová

B MeOH / 0,2 % kyselina octová

Průtok 0,6 ml/min

Nástřik 10 µl vzorku na kolonu

gradientová eluce:

čas [min]	% mobilní fáze A
0	98
0,25	70
2	45
10	5
12	5
12,1	98
17	98

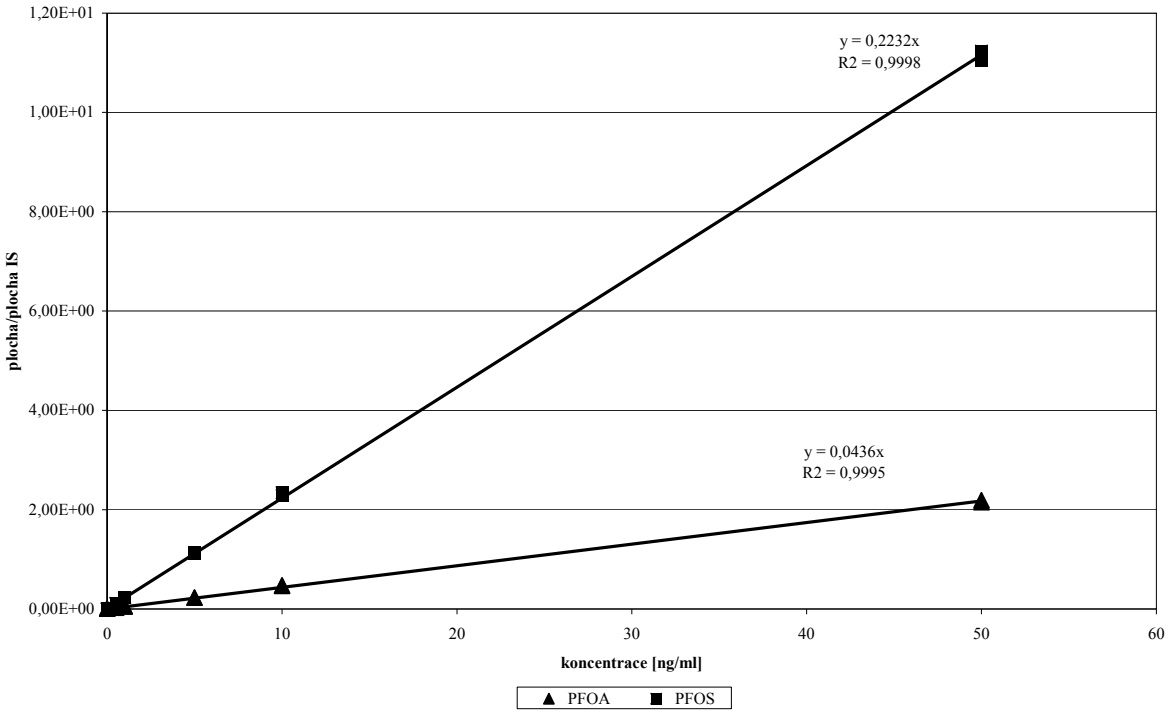
Hmotnostní detekce elektrosprejem v negativním modu (ESI-). Použité přechody k hmotnostní detekci uvádí tabulka 2

Tabulka 2 – Vybrané diagnostické ionty používané při stanovení

Číslo	Analyt	Zkratka	Vybrané diagnostické ionty m/z		
			Prekursor M1 a	Produkt M2 a	Kvalifikační ion M3 a
1	Perfluor-n-oktansulfonová kyselina	PFOS	499	80	99
2	Perfluor-n-oktanová kyselina	PFOA	413	369	169
3	1,2,3,4-13C4-Perfluor-n-oktansulfonová kyselina b	13C4-PFOS	503	80	99
4	1,2,3,4-13C4-Perfluor-n-oktanová kyselina b	13C4-PFOA	417	372	169
a M2 se používá jako produktový ion pro stanovení. M3 se může použít pro identifikaci. M1 je prekurzor používaný ke získání produktového iontu.					
b Vnitřní standard.					

Jednotlivé látky se identifikují porovnáním retenčních časů s retenčními časy standardů a shodnosti intenzit dvou sledovaných přechodů dané látky ve vzorku a v kalibračním roztoku. Kvantifikace se provádí na základě hodnot vypočtených pomocí kalibračních křivek s použitím vnitřních značených standardů obou sledovaných látek. Bylo dosaženo linearity kalibračních křivek v rozsahu 0,1 – 50 ng/ml methanolu.

Kalibrační grafy pro stanovení PFOS a PFOA jsou na obr. 1



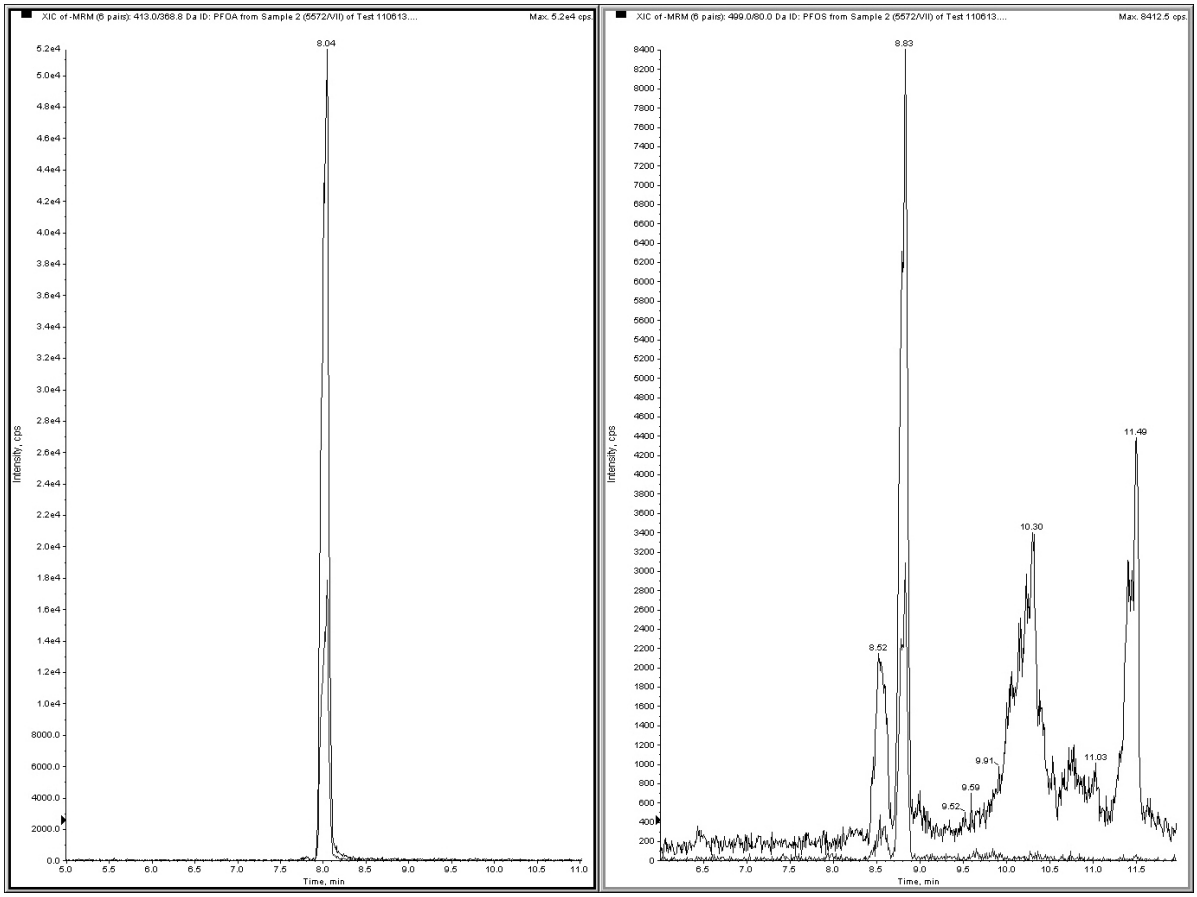
Obrázek 1 Kalibrační graf pro stanovení PFOA a PFOS

Pro ověření metody byl výše uvedenými postupy extrakce a čištění zpracován vzorek kalu se standardními přídavky sledovaných analytů. Navážky vzorku kalu byly spikovány methanolovým roztokem analytů na hladině 10 ng/g a 100 ng/g kalu. Nalezené koncentrace analytů v původním vzorku, výtěžnosti přídavků a variační koeficienty CV[%] standardních přídavků v připravených vzorcích jsou uvedeny v tabulce 3.

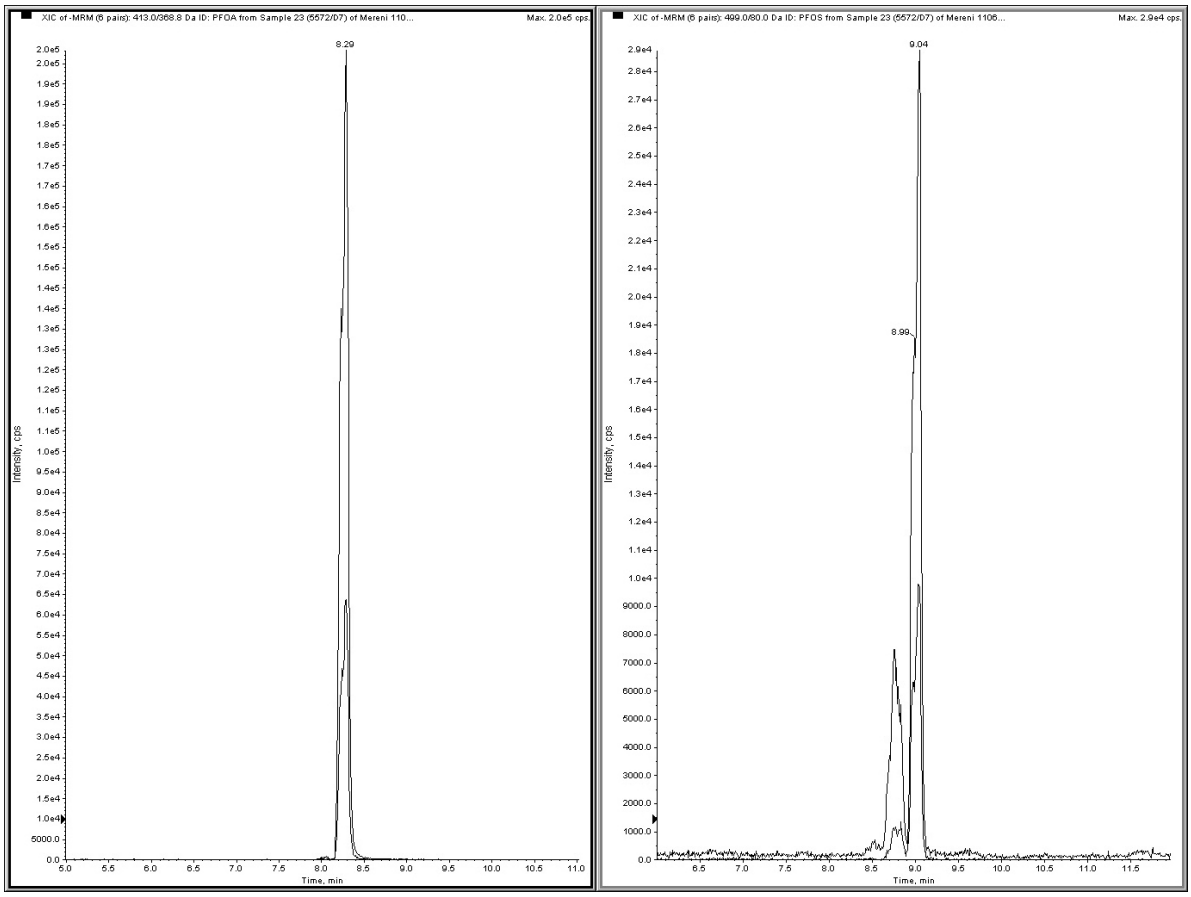
Tabulka 3 Koncentrace PFCs ve vzorku kalu, průměrné výtěžnosti standardních přídavků a variační koeficienty 5 stanovení..

vzorek		UZ + ENVI-Carb		ASE + ENVI-Carb		ASE + WAX	
		PFOA	PFOS	PFOA	PFOS	PFOA	PFOS
kal	koncentrace [ng/g]	5,3	7,8	2,2	7,9	1,3	1,8
kal + 10 ng/g	výtěžnost [%]	102,0	100,0	103,3	150,7	41,9	6,6
	CV [%]	3,9	10,6	6,0	83,5	30,6	4,2
kal + 100 ng/g	výtěžnost [%]	100,9	99,8	104,4	96,5	43,9	12,8
	CV [%]	1,3	1,5	5,1	7,3	7,4	1,7

Z výsledků vyplývá, že nejlepších výsledků bylo dosaženo kombinací extrakce ultrazvukem a následným čištěním extraktu na kolonkách ENVI-Carb. Účinnost tohoto čištění demonstrují i chromatogramy na obr. 2 a 3



Obrázek 2 Chromatogram stanovení PFOA (vlevo) a PFOS ve vzorku kalu (nečištěný extrakt)



Obrázek 3 Chromatogram stanovení PFOA (vlevo) a PFOS ve vzorku kalu (extrakt čištěný kolonkou ENVI-Carb)

ZÁVĚR

Cílem práce bylo vypracovat postup stanovení PFOA a PFOS ve vzorcích kalů z komunálních ČOV. Stanovení bylo prováděno metodou LC-MS/MS. Bylo testováno několik způsobů extrakce analytů a čištění extraktů. Správnost postupu byla ověřována pomocí standardních přídavků. Navržený postup bude použit ke zpracování vzorků kalů z ČOV v ČR.

SEZNAM LITERATURY:

Kallenborn R., Berger U., Jarnberg U., TemaNord 2004:552, Nordic Council of Ministers, © Copenhagen 2004

Voogt P., Sáez M., Trends in Analytical Chemistry 25, No.4, 2006

Giesy J.P., Kannan K., Environ. Sci. Technol. 35 (2001) 1339-1342

Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain, The EFSA Journal 653 (2008) 21-131

Hájková K., Tomaniová M., Hajšlová J., Vědecký výbor fytosanitární a životního prostředí VVF-10-04

Poulsen P.B., Jensen A.A., Enviromental Project No.1013 2005, Danish Ministry of Enviroment

Prevedouros K., Cousins I.T. et al., Critical Review, Environ. Sci. Technol. 40, No.1, 2006

Schröder H. F. (2003), J. Chromatogr. A, 1020, 131-151

Jahnke A., Berger U. (2009), J. Chromatogr. A, 1216, 410-421

Yoo H., Washington J. W., Jenkins T. M. (2009) J. Chromatogr. A, 1216, p. 7831-7839

Leeuwen S.P.J., Swart C.P., van der Veen I., Boer J. (2009), J. Chromatogr. A, 1216, 401-409

Powley C.R., Michalczyk M.J. et al. (2005), Analyst, 130, 1299

ČSN ISO 25101Jakost vod – Stanovení perfluoroktansulfonátu (PFOS) a perfluoroktanoátu (PFOA) – Metoda pro nefiltrované vzorky s použitím extrakce tuhou fází a kapalinové chromatografie/hmotnostní spektrometrie

Powley R., George S., Ryan T.W., Buck R.C., Anal. Chem. (2005), 77, 6353-6358

Moriwaki H., Takata Y., Arakawa R.J.,(2003), Environ. Monit. 5, 753
Mawn M.P., Mc Kay R.G., Ryan T.W. et al. (2005), Analyst , 130, 670
Llorca M., Farré M., Picó Y., Barceló D. (2011), J. Chromatogr. A, 1218, 4840-4846
Zhang T., Hongwen S., Gerecke A. et al. (2010) J. Chromatogr. A, 1217, P. 5026-5034
Guo R., Zhou Q., Cai Y., Juany G. (2008), Talanta 75, 1394-1399

STANOVENÍ CYPERMETHRINU VE VODÁCH A SEDIMENTECH

Kristýna Jursíková, Marcela Jokešová, Hana Süssenbeková, Pavla Martinková, Roman Jobánek, Magdalena Kvíčalová, Věra Očenášková

VÚV T.G.M., v.v.i., Podbabská 30, 160 00, Praha 6
kristyna_jursikova@vuv.cz

ÚVOD

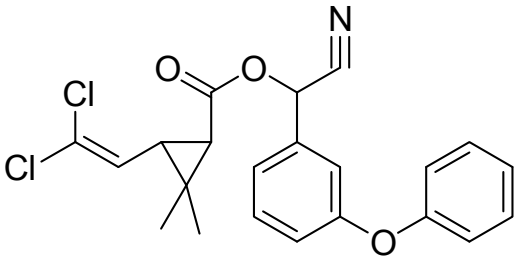
Cypermethrin je syntetický pyrethroid používaný především jako insekticid. U hmyzu účinkuje jako rychle působící neurotoxin. V půdě a rostlinách se snadno odbourává, při aplikaci na vnitřní inertní povrchy je však účinný po řadu týdnů. Cypermethrin je vysoce toxický pro ryby (LC_{50} 1,2, 0,9 a 0,5 ng/ml pro pstruha obecného, kapra a pstruha duhového [1a]), včely a vodní hmyz. Cypermethrin je obsažen v mnoha domácích přípravcích k hubení mravenců a švábů.

Pyrethrum je přírodní insekticid používaný v Evropě již od dvacátých let minulého století. Byl získáván z květů kopretiny starčkolisté. Pro komerční účely je tato rostlina pěstována dodnes v Keni, na Kavkaze, v Japonsku a jinde. Pyrethrum se získává extrakcí sušených drcených květů. Význam pyrethra spočívá v jeho mimořádně rychlém omračujícím účinku na létající hmyz, projevující se během několika vteřin. Z důvodu nedostatku přírodních surovin a nedostatečných reziduálních účinků byly vyvinuty syntetické pyrethriny a podobné látky, souborně nazývané pyrethroidy. Pro teplokrevné živočichy jsou nebezpečnější než přírodní pyrethrum.

Pyrethroidy jsou nervovými jedy. Narušují rovnováhu mezi sodíkovými a draslíkovými ionty a tím axiální vedení nervových vzruchů. Vyvolávají opakované depolarizace nervových membrán, následované křečemi.

Pyrethroidy jsou fotostabilní a termostabilní, ve vodě nepatrně rozpustné, nepronikají do rostlinných pletiv. V půdě se váží (s výjimkou tefluthrinu) na půdní částice a ztrácejí účinnost. Do povrchových ani podzemních vod se nevyplavují, jsou lipofilní. Vážou se na kutikulu rostlin i hmyzu. Nejsou smývány deštěm. Účinkují v nízkých dávkách a rychleji a po delší dobu než většina organofosfátů nebo karbamátů, proto jedno ošetření pyrethroidy je často schopno nahradit dvě ošetření organofosfáty nebo karbamáty. Usmrcují dospělce a larvy, u některých druhů i vajíčka, žravého i savého a bodavého hmyzu. Cypermethrin, cyhalothrin, permethrin vyvolávají neklid členovců. Účinkují repelentně, protipožerově a brání kladení vajíček.

Cypermethrin viz **obrázek 1.** chemickým názvem (3-fenoxyfenyl)kyanmethyl-3-(2,2-dichlorethenyl)-2,2-dimethylcyklopropankarboxylát se vyskytuje ve formě čtyř isomerů (cis–1, cis–2, trans–3, trans–4), insekticidní aktivitu vykazuje cis–2 isomer.



Obrázek. 1 Cypermethrin

Cypermethrin je málo rozpustný ve vodě (<9 µg/l při 20°C), dobře rozpustný je v ethylacetátu, hexanu, o–xylenu, methanolu, chloroformu a acetonu

Cypermethrin je citlivý na pH, citlivost se liší podle typu isomeru, je stabilní od pH 3 do pH 7, DT_{50} je 21,2 dní pro pH 8 u cis isomeru a 9,1 dne u trans isomeru, při pH 11je přibližně 30 minut pro oba isomery.

Cypermethrin stejně jako pyrethroidy má silnou tendenci se adsorbovat na skleněné nádobí, což může způsobit nižší SPE výtěžnosti a značné podhodnocení jejich koncentrace [5].

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Vzorky vod

Nejběžnější techniky pro extrakci pyrethroidů z vodných vzorků jsou extrakce kapalina kapalina **LLE** [5], extrakce tuhou fází **SPE** [1,5,6], mikroextrakce tuhou fází **SPME** [2] a **SBSE** stir bar sorptive extraction [7,8].

Další publikovanou technikou je **UAEE** Ultrasound–assisted emulsification extraction [3]. Jako extrakční technika pro cypermethrin ve vodných vzorcích byla vybrána technika **SPE.**

Vodné vzorky byly nejprve filtrovány. Současně probíhala i kondicionace C_{18} kolonek Strata roztoky hexan–aceton 1:1, methanol a voda. Následně byl přiveden na kolonku vodný roztok (500 ml). Kolonka byla poté sušena proudem dusíku. Nakonec byla provedena eluce roztokem hexan–aceton 1:1.

Vzorky byly měřeny na plynovém chromatografu 6890N s hmotnostním detektorem 5973N s chemickou ionizací GC–MS–NCI od fy Agilent, v SIM modu na koloně Restek RTx–1 30 m×0,25 mm×0,25µm. Pro kvantifikaci byly měřeny ionty 207, 209 a 171 u všech 4 izomerů. Mez stanovitelnosti byla 100 ng/l. Linearita byla splněna v koncentračním rozsahu 0–1000 ng/ml. Opakovatelnost pro dvě koncentrační úrovně včetně směrodatné odchylky a relativní směrodatné odchylky je uvedena v **tab. 1.**

Tabulka 1. Opakovatelnost stanovení cypermethrinu

koncentrace ng/ml	STDEV ng/ml	RSD %
100	5,75	5,69
500	31,91	5,87

Stanovení cypermethrinu v pevných matricích

Pro veškerá stanovení byl použit spikovaný říční písek obsahující cypermethrin a dalších osm pesticidů o stejné koncentraci 4 ng/g nebo 10 ng/g viz příspěvek na tomto semináři (Využití metody QuEChERS a Lukeovy metody pro stanovení vybraných pesticidů v pevných matricích).

K extrakci a čištění vzorků pevných matric bylo použito několik postupů a modifikací metody QuEChERS [9, 10, 11] viz **tab. 2.**

Byl sledován i vliv přídavku vody ke vzorku před QuECheRS extrakcí s použitím směsi solí $MgSO_4$+octan sodný a $MgSO_4$+NaCl v poměru vzorek/voda 1:2 a 1:5.

Tabulka 2. Přehled metod QuECheRS použitých pro stanovení cypermethrinu v pevných matricích

označení metody	složení směsi solí nebo rozpouštědel	přídavek vody, poměr k navážce vzorku (m/m)	rozpouštědlo	cypermethrin výtěžnost %
Q1A	NaCl+ $MgSO_4$	-	ACN	124
Q1B	NaCl+ $MgSO_4$	1:2	ACN	54
Q1C	NaCl+ $MgSO_4$	1:5	ACN	55
Q2A	CH_3COONa + $MgSO_4$	-	ACN	61
Q2B	CH_3COONa + $MgSO_4$	1:2	ACN s 1% CH_3COOH	51
Q2C	CH_3COONa + $MgSO_4$	1:5	ACN s 1% CH_3COOH	44
Q2D	CH_3COONa + $MgSO_4$	1:2	ACN s 1% NH_3	26

Vzorky byly měřeny metodou LC-MS/MS na sestavě kapalinového chromatografu 1200RR (Agilent) s hmotnostním detektorem MSD Q–Trap 4000 (Applied Biosystems). Ionizace ESI^+, kolona Betasil C18 (100 mm×2,1 mm i.d., 5µm) mobilní fáze A = 5mM octan amonný(ve vodě), fáze B = 5mM octan amonný (v methanolu), průtok 0,6 ml/min., objem nástřiku 10µl, teplota na termostatu 35°C.

Na LC/MS/MS byly u cypermethrinu měřeny 2 MRM přechody 433,3→191 a 435,3 →193.

Současně byla provedena i měření na plynovém chromatografu 6890N s hmotnostním detektorem 5973N s chemickou ionizací GC–MS–NCI, v SIM modu na koloně Restek RTx–1 30 m×0,25 mm×0,25µm. Pro kvantifikaci byly vybrány ionty 207, 209 a 171.

Výsledky

U vodných vzorků byla stanovení v roce 2010 ve vybraných 35 profilech po celé České Republice pod mezí stanovitelnosti (100 ng/l). V profilech uvedených v **tab. 3.** byly detekovány positivní hodnoty.

Tabulka 3 Koncentrace cypermethrinu (ng/l) v uvedených profilech v září a říjnu roku 2010

koncentrace ng/l	IX	X
Odra Svinov	11,49	1,92
Odra Bohumín	4,76	5,35
Olše Ústí	9,97	2,55
Loděnický potok Hostim	8,40	6,25

Z výsledků extrakce vzorků pevných matric modifikacemi metody QuECheRS uvedených v **tab. 2** se jako nejúčinnější metoda pro stanovení této látky ukázala metoda extrakce s acetonitrilem a přídavkem solí NaCl+ $MgSO_4$, bez přídavku vody (Q1A). Výsledky měření stejných vzorků na obou přístrojích se příliš neliší a jsou ve vzájemné shodě.

ZÁVĚR

Byla vyvinuta metoda pro stanovení cypermethrinu ve vodných vzorcích.

Reprodukovatelnost stanovení cypermethrinu pro koncentraci 500 ng/ml se pohybuje okolo 6 % RSD.

U stanovení cypermethrinu v pevných matricích se jeví jako nejvýhodnější metoda QuEChERS extrakce acetonitrilem s přídavkem solí NaCl+ $MgSO_4$.

PODĚKOVÁNÍ

Příspěvek byl vypracován s podporou výzkumného záměru MZP0002071101 – Výzkum a ochrana hydrosféry. Analýzy byly provedeny v Referenční laboratoři složek životního prostředí a odpadů VÚV TGM, v.v.i., Praha v oddělení Speciální organické analýzy.

Autoři příspěvku děkují RNDr. Procházkové (Sigma-Aldrich®, Praha) za poskytnutí QuEChERS setu pro úvodní analýzy a konzultaci k této metodě.

LITERATURA

[1] R. M. Gonzáles–Rodríguez, R.Rial–Otero, B. Cancho–Grande, J. Simal–Gándara.: J. Chromatogr. A 1196–1197, (2008), 100–109

[1a] R. R. Stephenson, Aquat. Toxicko.2(1982) 175–185

[2] A. M. Filho, F. N. Dos Santos, P. Alfonso de P. Pereira.: Microchem. J. (2010), doi:10.1016/j.microc.2010.02.018

[3] M.L. Feo, E. Eljarrat, D. Barceló.: J. Chromatogr. A 1217, (2010), 2248–2253

[4] R. Húšková, E. Matisová, S. Hrouzková, L. Švorc.: J. Chromatogr. A 1216, (2009), 6326–6334

[5] D.Wang, D. P. Weston, M.J. Lydy.: Talanta 78, (2009), 1345–1351

[6] N. Xue, X. Xu, Z. Jin.: Chemosphere 61, (2005) 1594–1606

[7] E. V. Hoeck, F. David, P. Sandra.: J. Chromatogr. A 1157, (2007), 1–9

[8] N. Ochai, K. Sasamoto, H. Kanda, E. Pfannkoch.: J. Chromatogr. A 1200, (2008), 72–79

[9] C. Lesueur, M. Gartner.: Talanta 75 (2008), 284–293.

[10] M. Anastassiades, SJ. Lehotay.: Journal of AOAC Int., 86 (2003), 412–431.

[11] M. Anastassiades, QuEChERS A Mini-Multiresidue Method for the Analysis of Pesticide Residues in Low-Fat Products. Stuttgart, CVUA.

SEKCE POSTEROVÁ

RŮZNÉ MOŽNOSTI ZAKONCENTROVÁNÍ EXTRAKTŮ PRO STANOVENÍ EOX

Veronika Handová, Zora Pokorná, Michal Gregor

VÚV T.G.M., v.v.i., Podbabská 30, 160 00, Praha 6

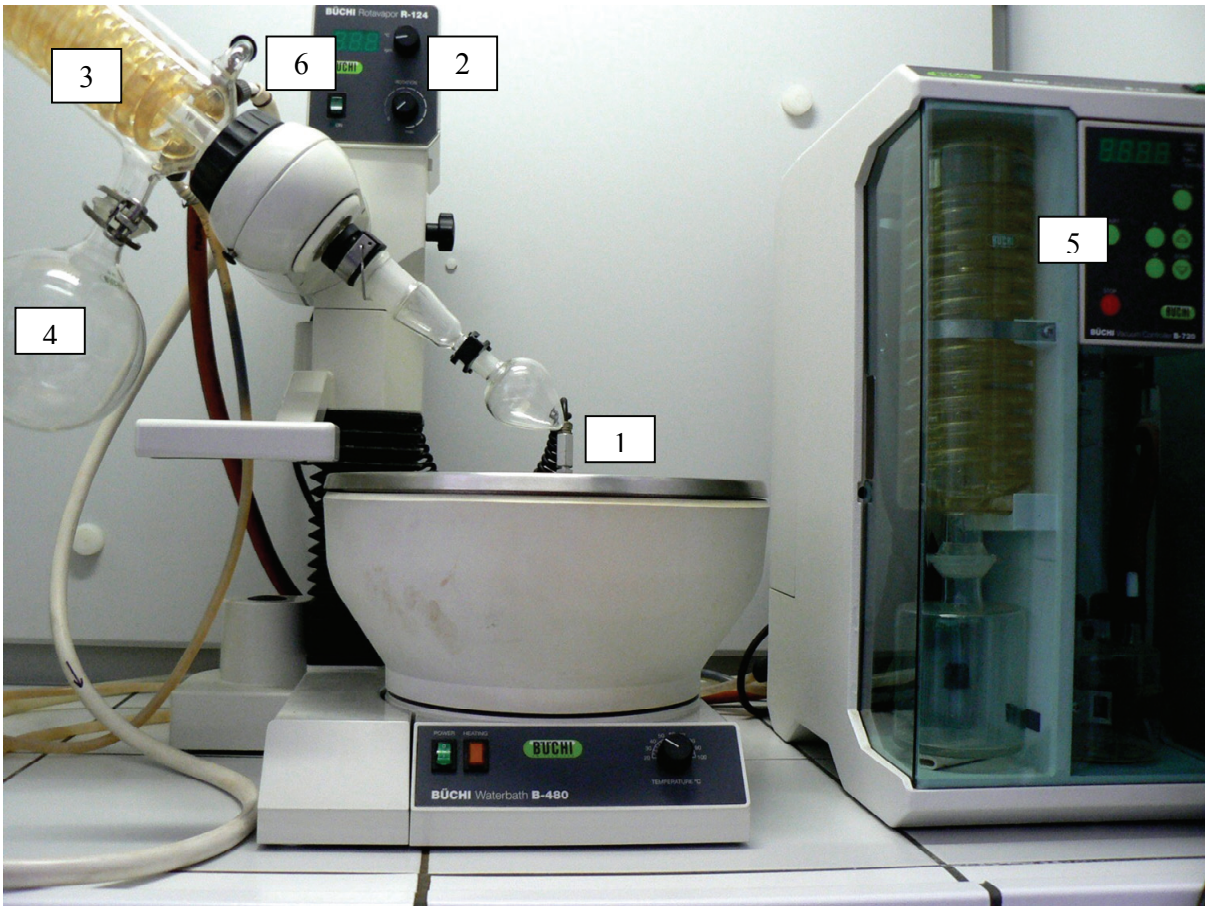
ÚVOD

Tento poster navazuje na minulé sdělení na konferenci Hydroanalytika 2009, kde jsme se zabývali variantními způsoby předúpravy pevných vzorků pro stanovení EOX metodami ASE a Soxhletem. Zjistili jsme že přesto, že meze detekce a meze stanovitelnosti obou metod vyhovují legislativním požadavkům (včetně vyhlášky 294/2005 Sb.), vyžaduje zaměnitelnost Soxhletovy extrakce v oblasti koncentrací < 4 mg/kg metodou ASE detailnější testování. Vzhledem k tomu, že důležitou součástí předúpravy vzorku pro stanovení EOX je zakoncentrování extraktu, je předložená práce věnována tomuto tématu. Jedním z nejběžnějších způsobů zakoncentrování extraktu je způsob s využitím vakuové rotační odparky. Zajímalo nás tedy, jaké jsou příspěvky jednotlivých faktorů, které ho ovlivňují (tj. např. rychlost rotace, objem rozpouštědla, objem odparné nádoby aj.).

EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Rotační vakuová odparka

Je zařízení vytvořené pro odpařování rozpouštědla jednostupňovou destilací, pod vakuem. Skládá se z topné lázně s rotující lahví resp. výparné nádoby (1), zařízení pro nastavení otáček (2), kondenzační části (3), sběrné nádoby (4), zařízení pro nastavení vakua (5) a digitální displej (6)



obr 1. Vakuová rotační odparka

Rozpouštědlo se zahřívá v topné lázni (1). Stupeň vakua je pro bod varu rozpouštědla tabelován. Na vnitřním povrchu rotující výparné nádoby (1) se vytváří tenká vrstva (film) rozpouštědla mající za následek vyšší rychlost odpařování. Rotace zvětšuje aktivní povrch uvnitř baňky a tím zabraňuje přehřátí vzorku. Frekvence

otáček je řízena hnací jednotkou (2). Páry rozpouštědla proudí do kondenzační části (3), kde se energie par rozpouštědla převádí do chladicího média (většinou vody) a rozpouštědlo kondenzuje. Zkondenzované rozpouštědlo proudí gravitační silou do sběrné nádoby(4). Pro snížení teploty varu rozpouštědla (resp. zvýšení efektivity destilačního procesu) se používá vakuum (5). Rychlost odparu je regulována teplotou topné lázně, volbou odparné láhve resp. baňky (její velikostí, množstvím rozpouštědla, které ji naplňuje a viskozitou této látky), tlakem destilace a rychlostí rotace. Při čemž platí, že čím vyšší je rychlost rotace, tím vyšší je rychlost destilace až k bodu, kdy obsah bude tlačit proti zdi baňky centrifugační silou a bude ko-rotovat s láhví. (V tomto případě se bude turbulence opět snižovat) [1].

Norma pro stanovení EOX [2] využívá pro stanovení EOX extrakci vzorku n-hexanem (pro $Tv_{,hex} = 40^{\circ}C$ je p = 335 mbar). V experimentální části jsme se proto soustředili na ověření závislosti rychlosti odparu na

- Rychlosti rotace
- Počátečního objemu n-hexanu v odpařovací baňce
- objemu baňky použité pro zakoncentrování

Při stanovení EOX Soxhletovou extrakcí nebo metodou ASE bylo zjištěno, že počet ml získaného extraktu leží pro extrakci Soxhletovou metodou v intervalu <42,58> ml a pro metodu ASE v intervalu <55,70>ml. Tomu odpovídala i volba testovaného množství n-hexanu (40,50,60,70, 80) ml. Jako odparné nádoby byly použity skleněné, zábrusové baňky srdcového typu (dále jen srdcovky) . S_1 je označena srdcovka s objemem V = 50 ml a S_2 s objemem V = 100 ml. Rychlost odparu byla charakterizována úbytkem původního objemu n-hexanu (V_0) za 30 minut. Úbytek byl zjišťován vážením banky s n-hexanem na počátku a na konci experimentu a přepočtem zjištěné hmotnosti na ml.

$V_h = m_h/\rho_h$

$m_h = m_{h1} - m_{h2}$ (g)

m_{h1}, m_{h2} jsou hmotnosti srdcovky s hexanem před experimentem a po něm

ρ_{hex} :hustota hexanu (~0,66 g/ml)

Vliv rychlosti rotace odparné nádoby na rychlost odparu.

Podmínky: T =40˚C, p = 335 mbar, V_{hex} = 40ml, Doporučená výchozí rychlost rotace byla 35 ot/min.

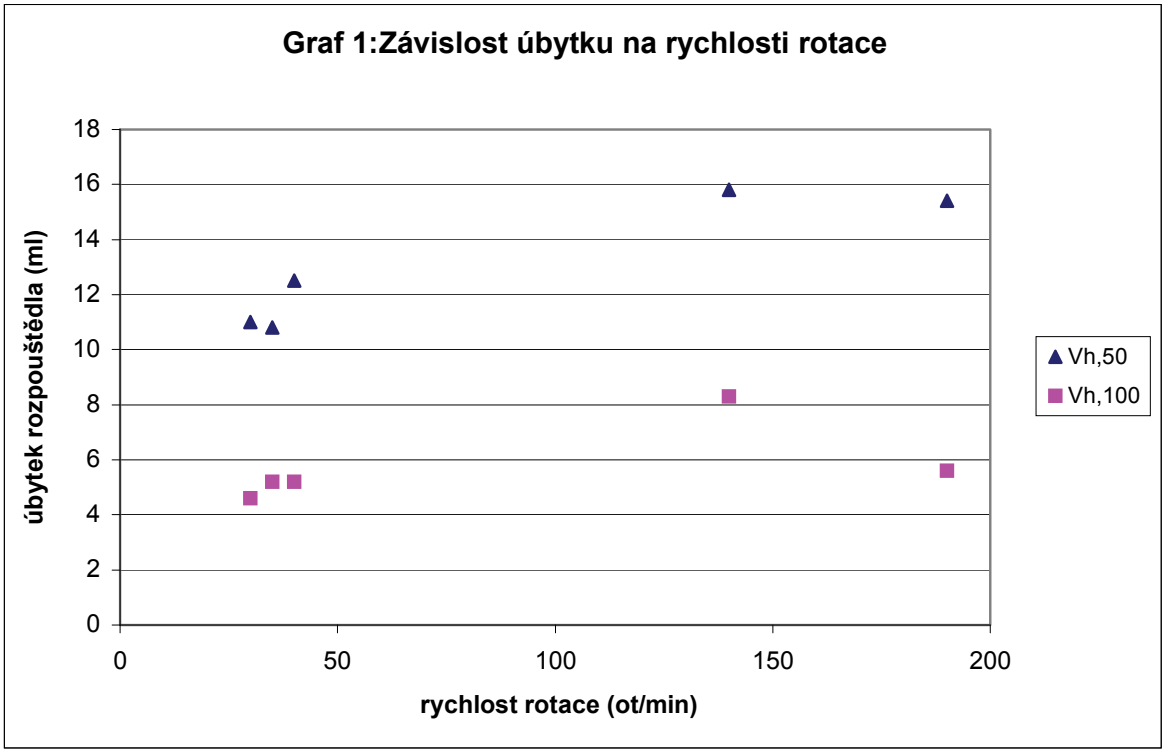
Tabulka 1: „ Závislost úbytku na rychlosti rotace nádoby“

v (ot/min)	$V_{h,50}$ (ml)	$V_{h,100}$ (ml)
30	11,0	4,6
35	10.8	5,2
40	12,5	5,2
140	15,8	8,3
190	15,4	5,6

V:rychlost rotace /ot/min/

$V_{h,50:}$ úbytek n-hexanu v ml při použití baňky srdcového typu (V=50 ml)

$V_{h,100:}$ úbytek n-hexanu v ml při použití baňky srdcového typu (V=100 ml)



Úbytek roste s rychlostí rotace. U srdcové baňky S_1 je velikost úbytku větší. Maximální byl zjištěn při 140 ot/min, poté se v obou případech velikost úbytku snižuje.

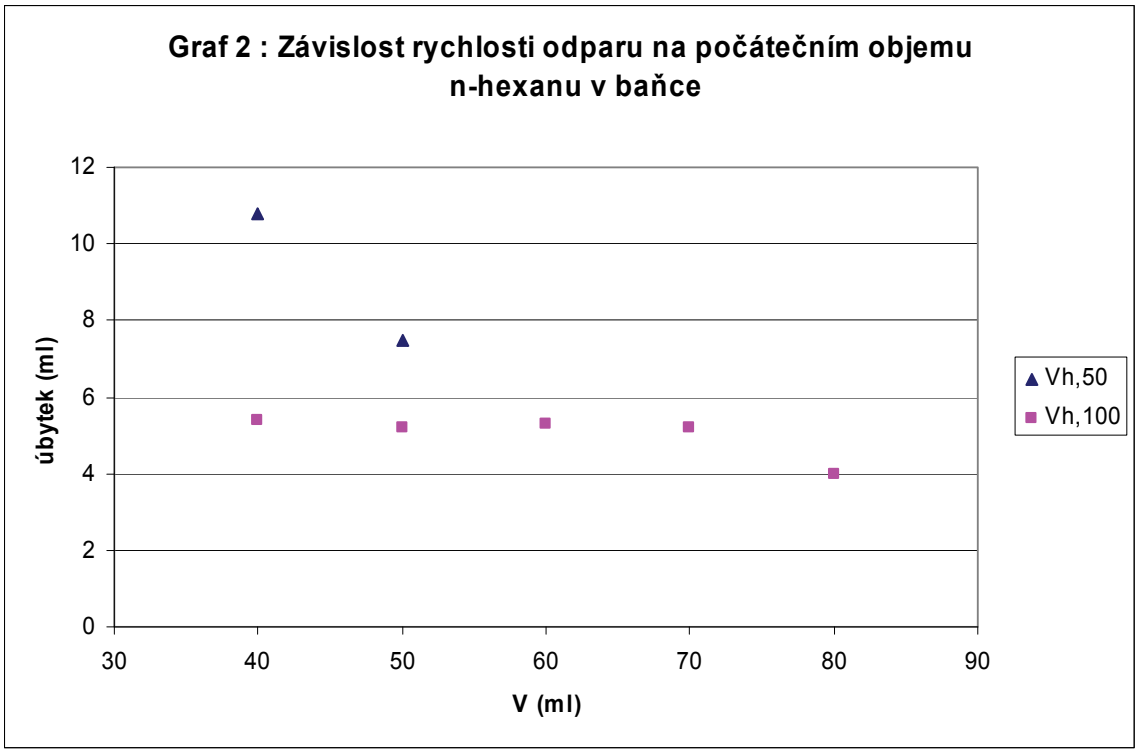
Vliv počátečního objemu n-hexanu v srdcovce

Podmínky: T =40˚C, p = 335 mbar, rychlost rotace v = 40 ot/min

Tabulka 2: „ Závislost rychlosti odparu v na počátečním objemu n-hexanu v srdcovce“

V_h (ml)	$V_{h,50}$ (ml)	$V_{h,100}$ (ml)
40	10,8	5,4
50	7,5	5,2
60		5,3
70		5,2
80		4,0

V_h – počáteční objem n-hexanu v srdcovce (ml)



N-hexan se rychleji zakoncentrovával v srdcové baňce S_1 (V=50 ml). Velikost úbytku rozpouštědla se snižovala s rostoucím množstvím rozpouštědla v baňce. Množství rozpouštědla ve větší srdcové baňce S_2 (V = 100 ml) nemělo na rychlost odpařování vliv až do V= 80 ml, kdy byl jeho vliv negativní, což může být například způsobeno tím, že vlivem větší hmotnosti baňky se mohou zvyšovat případné netěsnosti.

ZÁVĚR

1. Velikost úbytku je závislá na rychlosti rotace. U srdcovky S1 je rychlost odparu cca 2* větší než u srdcovky S_2. Maximum bylo nalezeno v obou případech pro rychlost rotace v = 140 ot/min.
2. Velikost úbytku rozpouštědla s rostoucím množstvím rozpouštědla v baňce snižuje. Množství rozpouštědla v srdcovce S_2 nemělo na rychlost odpařování pozorovatelný vliv až do V= 80 ml, kdy byl vliv počátečního množství n-hexanu spíše negativní, což může být například způsobeno tím, že vlivem větší hmotnosti baňky se mohou zvyšovat případné netěsnosti. Rychlost odparu byla větší v srdcovce S_1. I zde dochází při příliš velkém počátečním množství k jejímu poklesu.
3. Pro objem do 50 ml extraktu je výhodnější použít srdcovou baňku (V= 50 ml). V případě extraktů získaných metodou ASE je třeba počítat s delší dobou zkoncentrování

LITERATURA

[1] BÜCHI Training papers

[2] Entwurf DIN 38414-17: Bestimmung von extrahierbaren organisch gebundenen Halogenen (EOX)

STANOVENÍ DIQUAT DIBROMIDU VE VODÁCH METODOU ITP-CZE

David Chrastina, Darina Kuchyňová, Ivana Truxová

Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, veřejná výzkumná instituce,
pobočka Ostrava, Macharova 5, 702 00 Ostrava
david_chrastina@vuv.cz

ÚVOD

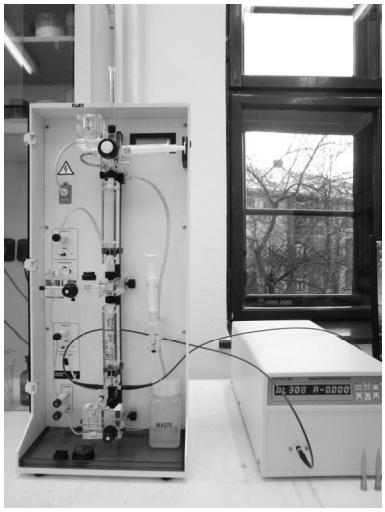
Diquat dibromid (1,1'-ethylen-2,2'-bipyridyldiylium dibromid) patří mezi účinné neselektivní kontaktní herbicidy. Tento bipyridylový herbicid působí pouze na nadzemní části rostlin, kde dochází během fotosyntézy ke vzniku reaktivních kyslíkových radikálů, které napadají buněčnou membránu. Diquat je dobře rozpustný ve vodě. Na půdu je silně vázán, přičemž je rychle deaktivován a nezanechává rezidua [1]. Pod obchodním názvem Reglone se využívá zejména k desikaci polních plodin a zelenin, k hubení plevelů v ovocných sadech, lesních školkách, ale také k ničení řas a nežádoucích rostlin v nádržích, rybnících a vodních tocích.

Značnou nevýhodou při analýze diquatu je jeho adsorpce na skleněné povrchy, citlivost na světlo a hydrolýza v alkalickém prostředí nad pH 10,7. V kyselém a neutrálním prostředí je stabilní. K izolaci a zkoncentrování diquatu je velmi výhodná extrakce na tuhé fázi. K extrakci je možno použít různé druhy sorbentů – kationtově výměnné, CN kyanopropyl, ale i C8, C18, grafitický uhlík. Nejčastější analytickou koncovkou bývá kapalinová chromatografie s UV detekcí [2] nebo ve spojení s hmotnostní spektrometrií [3]. Pro kationtový charakter molekuly je velmi užitečná metoda kapilární zónové elektroforézy [4] s UV, DAD nebo MS detekcí, případně metoda kapilární izotachoforézy [5, 6].

Pro stanovení diquatu ve vodách byla zvolena technika online spojení kapilární izotachoforézy s kapilární zónovou elektroforézou po předchozím zakoncentrování vzorku pomocí extrakce na tuhé fázi [7]. Kapilární izotachoforéza zde plní funkci prekoncentrační techniky a zároveň slouží k oddělení majoritních složek (Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^{+}, K^{+}). Analyzovaný vzorek je nastříknut do předseparační kolony mezi vedoucí elektrolyt (s vyšší pohyblivostí iontů než kterýkoliv ion ve vzorku) a koncový elektrolyt (s nižší pohyblivostí iontů než kterýkoliv ion ve vzorku). V předseparační koloně jsou po vložení elektrického proudu složky děleny podle svých iontových pohyblivostí. Zároveň dochází k zakoncentrování jednotlivých složek směsi, jak popisuje Kohlrauschova regulační funkce. V analytické koloně naplněné nosným elektrolytem (složením odpovídá koncovému elektrolytu) jsou ionty separovány podle svých iontových pohyblivostí a následně detekovány UV detektorem.

PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ

Elektroforetický analyzátor EA 102 (viz obr. 1) ve dvoukolonovém uspořádání (předseparační FEP kapilára 160 mm × 0,8 mm i.d. × 1,15 mm o.d., analytická FEP kapilára 160 mm × 0,3 mm i.d. × 0,7 mm o.d.) s kontaktními vodivostními detektory (Villa Labeco, Slovensko). UV detektor SAFÍR EX (190 – 800 nm) (ECOM, ČR). K vyhodnocení dat byl použit software ACES.



Obr. 1: Elektroforetický analyzátor EA 102

ÚPRAVA A EXTRAKCE VZORKU

Pro odběr a manipulaci se vzorky bylo použito plastové nádobí. Před extrakcí byly vzorky filtrovány přes nylonový filtr 0,45 µm. Pro izolaci a zakoncentrování vzorků byly použity kolonky Supelclean ENVI-Carb 500 mg / 6 ml.

Kondicionace - 2 ml methanol, 2 ml směs MeOH:H_2O 1:1, 2 ml H_2O a 2 ml H_2O upravené na pH 9,0 pomocí 0,1 M NaOH

Extrakce 250 ml vzorku upraveného na pH 9,0 pomocí 0,1 M NaOH, rychlost 2-3 ml/min

Eluce – 2 ml směsi acetonitril:kyselina trifluoroctová (80:20, v/v)

Odpaření k suchu dusíkem

Rozpuštění extraktu v 0,5 ml 1 mM vodném roztoku CTAB (cetyltrimethylamonium bromid)

PRACOVNÍ PODMÍNKY

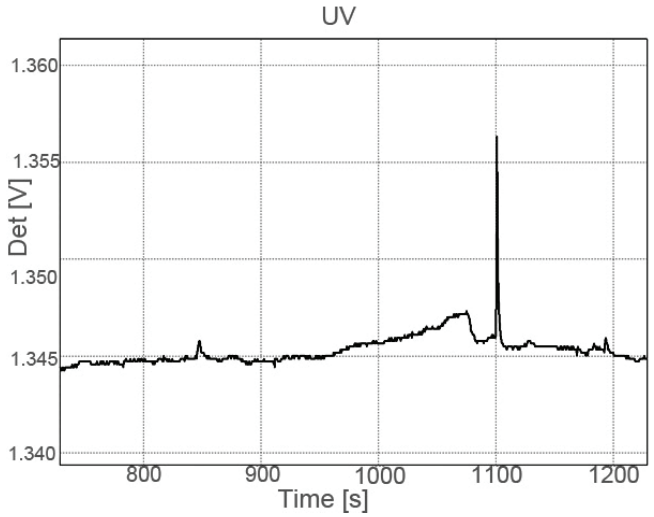
Vedoucí elektrolyt: 10 mM KOH, 4 mM kyselina citronová, 0,1% methylhydroxyethylcelulosa, pH 6,1

Koncový a nosný elektrolyt: 10 mM TRIS (tris(hydroxymethyl)aminomethan), 4 mM kyselina citronová, 1 mM CTAB, 15% PEG, pH 6,1

Hnací proud v předseparační koloně 250 µA, v analytické koloně 100 µA

Nástřik 100 µl

Detekce 308 nm



Obr. 2: Elektroferogram diquatu. Koncentrace standardu 0,1 µg.l^{-1}

ZÁVĚR

Pro stanovení diquat dibromidu byla zvolena metoda ITP-CZE po předchozím zakoncentrování vzorku extrakcí na tuhé fázi. Ukázka elektroferogramu diquatu je zobrazena na obr. 2. Pro analýzu diquat dibromidu v povrchových vodách byly na území Moravskoslezského kraje vytipovány oblasti se zemědělskou aktivitou. Reálné vzorky byly odebírány v průběhu jara 2010 na profilech Hvozdnice – nad Moravicí, Velká – nad Opavou, Heraltický potok – nad Opavou, Husí potok – nad Odrou a Opusta – nad Opavou. Nálezy diquat dibromidu ve sledovaných povrchových vodách byly pod mezí stanovitelnosti 0,05 µg.l^{-1}. Pro další monitoring tohoto herbicidu bylo vybráno celkem 35 profilů z celé republiky. Monitoring probíhal na podzim 2010 a na jaře 2011.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za podpory výzkumného záměru MZP0002071101.

POUŽITÁ LITERATURA

[1] Cremlyn, R. (1985) Pesticidy, Praha, SNTL.

[2] EPA method 549.1 Determination of diquat and paraquat in drinking water by liquid-solid extraction and high performance liquid chromatography with ultraviolet detection. (EPA-500 Series Supplement II, Aug 1992).

[3] Castro, R., Moyano, E., Galceran, M.T. (2001) Determination of quaternary ammonium pesticides by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 914, 111-121.

[4] Núnez, O., Moyano, E., Galceran, M.T. (2002) Solid-phase extraction and sample stacking-capillary electrophoresis for the determination of quaternary ammonium herbicides in drinking water. *J. Chromatogr. A*, 946, 275-282.

[5] Stránský, Z. (1985) Isotachophoresis of cationic herbicides in water and soils. *J. Chromatogr.*, 320 (1), 219-231.

[6] Kaniansky, D., Iványi, F., and Onuska, F.I. (1994) On-line isotachophoretic sample pretreatment in ultratrace determination of paraquat and diquat in water by capillary zone electrophoresis. *Anal. Chem.*, 66, 1817-1824.

[7] Chrastina, D. Stanovení paraquatu a diquatu-dibromidu ve vodách metodou ITP-CZE. *VTEI*, 2010, roč. 52, č. 6, 17-19, příloha *Vodního hospodářství* č. 12/2010.

VYUŽITÍ METODY QUECHERS A LUKEOVY METODY PRO STANOVENÍ VYBRANÝCH PESTICIDŮ V PEVNÝCH MATRICÍCH

Marcela Jokešová, Pavla Doubravová, Roman Jobánek, Kristýna Jursíková, Magdalena Kvíčalová, Pavla Martinková, Věra Očenášková, Hana Süssenbeková, Alena Svobodová

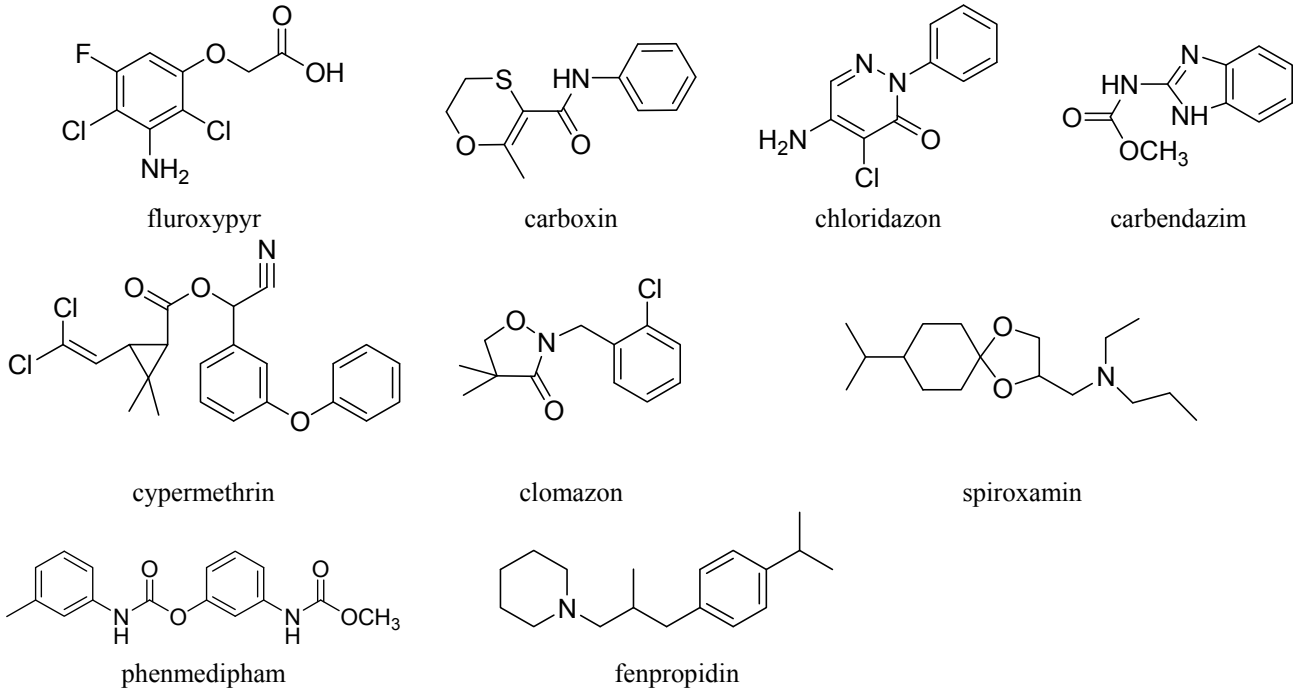
VÚV TGM, v.v.i., Podbabská 30, 160 00 Praha 6
marcela_jokesova@vuv.cz

ÚVOD

Pesticidy jsou chemické sloučeniny, které jsou široce aplikovány k zamezení ztrát na zemědělských kulturách, zásobách potravin nebo krmiv. Během dlouhé doby jejich leckdy nadměrného používání pesticidy kontaminovaly prakticky všechny složky životního prostředí – negativní účinky některých z nich jsou široce známy. Rezidua pesticidů byla nalezena ve všech částech hydrosféry, kde některé z nich vzhledem ke své vysoké toxicitě představují vážné nebezpečí pro vodní organismy a zdroje pitné vody. Výskyt pesticidů v potravinách a potravinářských surovinách je sledován, k těmto stanovením je používána celá řada extrakčních, purifikačních a detekčních metod. Jednou z nově vyvinutých metod přípravy vzorků je metoda QuEChERS, jejíž úspěšné aplikace pro multireziduální analýzy potravin jsou doloženy v literatuře [1]; aplikací na pevné enviromentální matrice je jen omezený počet [2, 3, 4]. Naše práce se zabývá možnostmi využití metody QuEChERS při stanovení vybraných pesticidů v pevných hydrosférických matricích a porovnáním s výsledky dosaženými extrakcí podle Lukea. Jako sledované analyty byly vybrány: carbendazim, carboxin, chloridazon, clomazon, cypermethrin, fenpropidin, fluroxypyr, phenmedipham a spiroxamin. Identifikace a kvantifikace jednotlivých sloučenin byla provedena na LC-MS/MS.

PESTICIDY [5, 6]

Podle vyhlášky Ministerstva zdravotnictví č. 252/2004 (ve znění pozdějších předpisů) se pesticidními látkami rozumí organické insekticidy, herbicidy, fungicidy, nematocidy, akaricidy, algicidy, rodenticidy, slimicidy, příbuzné produkty (např. regulátory růstu) a jejich metabolity nebo reakční produkty. Analyty, na které je zaměřena tato práce, jsou používány jako fungicidy (carbendazim, carboxin, fenpropidin, spiroxamin), herbicidy (chloridazon, clomazon, fluroxypyr) a cypermethrin jako insekticid. Jedná se o soubor sloučenin značně odlišných chemických, fyzikálních i biologických vlastností (viz tab. 1 a 2). Byly vybrány ze souboru pesticidů, jež nepodléhají pravidelnému sledovánív ČR, mají nízké ADI (akceptovatelný denní příjem), podle klasifikace WHO jsou hodnoceny jako středně nebezpečné a jejichž roční spotřeba na území ČR je vyšší než 10 000 t.



Obrázek 1. Strukturní vzorce vybraných pesticidů [5]

Tabulka 1. Identifikace vybraných pesticidů

Analyt	CAS number	IUPAC název	Skupina

			účinných látek
Carbendazim	10605-21-7	methyl-*N*-benzimidazol-2-ylkarbamát	benzimidazoly
Carboxin	5234-68-4	2-methyl-5,6-dihydro-1,4-oxathiin-3-karboxanilid	fenylamidy
Chloridazon	1698-60-8	5-amino-4-chlor-2-fenylpyridazin-3(2*H*)-on	pyridazinony
Clomazon	81777-89-1	2-(2-chlorbenzyl)-4,4-dimethyl-1,2-oxazolidin-3-on	oxazolidinony
Cypermethrin	52315-07-8	(3-fenoxyfenyl)kyanmethyl-3-(2,2-dichlorethenyl)-2,2-dimethylcyklopropankarboxylát	pyrethroidy
Fenpropidin	67306-00-7	1-[3-(4-*terc*-butylfenyl)-2-methylpropyl]piperidin	morfoliny
Fluroxypyr	69377-81-7	2-[(4-amino-3,5-dichlor-6-fluorpyridin-2-yl)oxy]octová kyselina	pyridyl-oxykyseliny
Phenmedipham	13684-63-4	methyl-*N*-({3-[*N*-(3-methylfenyl)karbamoyl]oxy}fenyl)karbamát	karbamáty
Spiroxamin	118134-30-8	*N*-[(8-*terc*-butyl-1,4-dioxaspiro[4,5]dekan-2-yl)methyl]-(*N*-ethyl)propan-1-amin	spiroketalaminy

Tabulka 2. Vybrané vlastnosti pesticidů [5]

Analyt	MW (g/mol)	Rozpustnost ve vodě (mg/l)	log K_{ow}	K_{oc}	Poločas rozkladu – půda (dny)	Rozpustnost v org. rozpouštědlech
Carbendazim	191,21	1,49–29 8 – IUPAC	1,37–1,52	122–9 947	8–365	EtOH, benzen, EtOAc, chloroform
Carboxin	235,3	130–199	2,14–2,3	71–99	0,5–3	MeOH, aceton, EtOAc
Chloridazon	221,6	340–422	1,14–1,19	33–346	10–134	MeOH, toluen, dichlormethan, EtOAc
Clomazon	239,7	1100	2,5	150–562	28–35	MeOH, aceton, dichlormethan
Cypermethrin	416,3	0,004–4,54 0,009 – IUPAC	5,3–6,94	10–160 000	4–91	MeOH, aceton, hexan, EtOAc
Fenpropidin	273,46	6,2–730 530 – IUPAC	2,6–2,9	3 808	4–95	EtOAc, aceton, heptan, xyleny
Fluroxypyr	255,03	91	1,24–5,04	74–24 600	3–36	MeOH, aceton
Phenmedipham	300,31	1,8–6	3,59–3,72	272–10 000	18–25	MeOH, aceton, EtOAc
Spiroxamin	297,5	10–470 405 – IUPAC	1,28–5,08	659–6 417	25–64	MeOH, aceton, hexan

K_{ow} – rozdělovací koeficient n-oktanol/voda; K_{oc} – absorpční koeficient půda/voda; ACN – acetonitril; EtOAc – ethylacetát; EtOH – ethanol; MeOH – methanol

METODY PŘÍPRAVY VZORKŮ

K extrakci a čištění vzorků pevných matric je používána celá řada postupů. Cílem této práce bylo vyzkoušet různé modifikace metody QuEChERS [2, 7, 8] a Lukeovy („holandské“) metody [9]. Protože některé analyty (např. spiroxamin) vykazovaly u obou metod nízkou výtěžnost, byla také testována extrakce směsí acetonitril/voda/amoniak – 80 : 20 : 1 (v/v) [10]. Pracovní postupy pro jednotlivé způsoby extrakce viz tabulku 3.

Tabulka 3. Příprava vzorků (extrakce)

<table>
<tr><td colspan="3">Schéma přípravy vzorků</td></tr>
<tr><td colspan="3">• navážka vzorku do centrifugační zkumavky
• (event. přídavek vody)</td></tr>
<tr><td>QuEChERS</td><td>Lukeova metoda</td><td>Extrakce směsí ACN/H_2O/NH_3</td></tr>
<tr><td>• dávkování acetonitrilu (10 ml)
• disperzivní extrakce – přídavek směsi solí ($MgSO_4$ + chlorid sodný nebo octan sodný)
• třepačka – 260 rpm, 5 min
• odstředění – 2 500 ot./min., 10 min.
• d-SPE čištění (PSA + $MgSO_4$) nebo odstranění zbytku vody přídavkem $MgSO_4$ bezv.</td><td>• 1 hodina stání
• dávkování směsi aceton /hexan/dichlormethan – 1 : 1 : 1 (v/v)
• přídavek Na_2SO_4 bezv.
• třepačka – 260 rpm, 1 hod</td><td>• přídavek směsi ACN/H_2O/NH_3 – 80 : 20 : 1 (v/v)
• třepačka – 260 rpm, 1 hod
• odstředění – 2 500 ot./min, 10 min
• odstranění zbytku vody v extraktu pomocí $MgSO_4$</td></tr>
<tr><td colspan="3">• odstředění – 2 500 ot./min., 10 min
• odebrání extraktu do odpařovací zkumavky
• odpaření rozpouštědla v proudu dusíku na TurboWapu téměř dosucha
• rozpuštění odparku v mobilní fázi
• LC/MS-MS analýza</td></tr>
</table>

Při úvodní sérii testů byly na modelové matrici prověřeny různé směsi solí při disperzivní extrakci a sorbenty pro d-SPE čištění. Vzhledem k charakteru matrice byly zvoleny delší doby extrakce (minimálně 10 min), než je doporučováno v QuEChERS návodech pro přípravu vzorků potravin (1 min). Přijatelné výtěžnosti vykazovala směs NaCl + $MgSO_4$ a octan sodný + $MgSO_4$, proto byly při dalších testech, ve kterých byl zjišťován vliv přídavku vody na účinnost extrakce, používány jen tyto dvě směsi.

Také u Lukeovy metody byla vyzkoušena modifikace s přídavkem vody a bez přídavku.

Z výsledků dále vyplynulo, že extrakce při vyšším pH zvyšuje výtěžnost u některých pesticidů. Tato zkušenost byla aplikována na disperzivní extrakci, která jinak probíhá v neutrálním nebo slabě kyselém prostředí (pufrované metody). Pokud byly extrakty ze spikovaného písku čiré, nebyly dále čištěny pomocí d-SPE. V tomto případě bylo nutné u vzorků s přídavkem vody odstranit zbytkovou vodu z extraktu pomocí $MgSO_4$, jinak se neúnosně protahovala doba potřebná na odpaření extraktu v proudu dusíku. Přehled testovaných způsobů extrakce viz tabulku 4.

Tabulka 4. Přehled extrakčních metod

Označení metody	Složení směsi solí nebo rozpouštědel	Přídavek vody – poměr k navážce vzorku (m/m)	Rozpouštědlo
Q1A	$NaCl + MgSO_4$	–	ACN
Q1B	$NaCl + MgSO_4$	1 : 2	ACN
Q1C	$NaCl + MgSO_4$	1 : 5	ACN
Q2A	$CH_3COONa + MgSO_4$	–	ACN
Q2B	$CH_3COONa + MgSO_4$	1 : 2	ACN s 1% CH_3COOH
Q2C	$CH_3COONa + MgSO_4$	1 : 5	ACN s 1% CH_3COOH
Q2D	$CH_3COONa + MgSO_4$	1 : 2	ACN s 1% NH_3
L1	aceton/hexan/dichlormethan	–	
L2	aceton/hexan/dichlormethan	1 : 2	
AM	acetonitril/voda/amoniak		

PŘÍPRAVA TESTOVACÍHO MATERIÁLU

K testování jednotlivých extrakčních postupů byl nejprve jako modelová matrice použit říční písek s obsahem sledovaných analytů pod mezí LC/MS-MS detekce, který byl spikován na koncentraci 4 a 10 ng/g [2]. Dále byly metody testovány na reálném sedimentu fortifikovaném na koncentraci 10 ng/g.

DETEKCE ANALYTŮ

Identifikace a kvantifikace jednotlivých analytů byla provedena metodou LC-MS/MS na sestavě LC Agilent 1200 RR a MSD Q-Trap 4000 (Applied Biosystems) za těchto podmínek: ionizace ESI $^-$ (fluroxypyr), ESI $^+$ (ostatní analyty), kolona Betasil C18 (100 mm x 2,1 mm i.d.; 5 µm), mobilní fáze A = 5 mM octan amonný (ve vodě), fáze B = 5 mM octan amonný (v methanolu), průtok 0,6 ml/min, objem nástřiku 10 µl, teplota na termostatu 35 °C. Analyty byly detekovány porovnáním retenčních časů s retenčními časy standardů a shodnosti intenzit dvou sledovaných přechodů dané látky ve vzorku a v kalibračním vzorku.

VÝSLEDKY ANALÝZ MODELOVÉ MATRICE

Výsledky analýz vzorků zpracovaných výše uvedenými extrakčními postupy byly srovnány na základě výtěžnosti pro jednotlivé pesticidy – viz tabulku 5. Ze získaných dat vyplývá, že žádná z testovaných metod neposkytuje výsledky s uspokojivou výtěžností (70–130 %) pro všechny analyty.

Tabulka 5. Srovnání výtěžnosti (%) testovaných extrakčních metod

Extrakce	Carbenda-zim	Carboxin	Chlori-dazon	Cloma-zon	Cyper-methrin	Fenpro-pidin	Fluroxy-pyr	Phenme-dipham	Spirox-amin
Q1A	8,8	< 1	159	143	124	22	3	126	37
Q1B	46	< 1	88	30	54	27	40	65	34
Q1C	41	< 1	78	16	55	23	29	60	29
Q2A	32	< 1	68	62	61	43	24	51	52
Q2B	35	< 1	89	56	51	20	46	60	27
Q2C	44	< 1	90	62	44	18	51	58	23
Q2D	61	< 1	95	81	26	55	14	43	52
L1	< 1	5	116	65	30	< 1	< 1	53	2
L2	38	< 1	87	66	29	6	3	67	20
AM	81	1	102	55	65	86	76	3	87

ZÁVĚR

Cílem práce bylo najít vhodnou metodu přípravy vzorků pro stanovení vybraných pesticidů v pevných hydrosférických matricích. Na modelové i reálné matrici byly testovány modifikace metody QuEChERS, Lukeovy metody a extrakce směsí ACN/voda/NH_3. Všechny tyto metody byly původně vyvinuty pro přípravu vzorků pro multireziduální analýzy potravin, takže tato práce zároveň prověřuje možnosti jejich aplikace na pevné enviromentální matrice. Z provedených testů vyplývá, že ke stanovení vybraných analytů s uspokojivou výtěžností je třeba použít paralelně dva různé extrakční postupy. Vhodnou se jeví kombinace Lukeovy metody (L2) a extrakce směsí acetonitril/voda/amoniak (AM); v případě použití dvou QuEChERS postupů (např. extrakce jednou okyseleným, podruhé alkalizovaným acetonitrilem se směsí solí $MgSO_4$/chlorid sodný nebo octan sodný s přídavkem vody) by výtěžnost pro některé analyty byla nižší. Tyto skutečnosti jsou zdůvodnitelné různými chemickými vlastnostmi vybraných pesticidů. Velmi nízké výtěžnosti pro carboxin vyplývají z jeho rychlého rozkladu v pevných matricích (poločas rozpadu v půdě 0,5–3 dny).

Výhodou všech testovaných metod je nízká spotřeba rozpouštědel, snadnost a rychlost provedení.

PODĚKOVÁNÍ

Autoři příspěvku děkují RNDr. Procházkové (Sigma-Aldrich®, Praha) za poskytnutí QuEChERS setu pro úvodní analýzy a informace o této metodě.

Příspěvek byl vypracován s podporou výzkumného záměru MZP0002071101 – Výzkum a ochrana hydrosféry. Veškeré analýzy byly provedeny v Referenční laboratoři složek životního prostředí a odpadů VÚV TGM, v.v.i., Praha.

LITERATURA

[1] Agilent Technologies, Application Notes 5990-3937EN, 5990-6400EN.

[2] Lesueur, C., Gartner, M. et al. :Talanta 75 (2008), 284–293.

[3] Brondi, SHG., de Macedo, AN. et al.: Bull Environ Contam Toxicol 86 (2011), 18–22.

[4] Soukupová, M. Fytoremediační účinnost kultury lupina bílá. Diplomová práce na PřF MU, Brno, 2008.

[5] Http://hydro/chmi.cz/pasporty

[6] Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 252/2004 Sb.

[7] Anastassiades, M., Lehotay, SJ. et al.: Journal of AOAC Int., 86 (2003), 412–431.

[8] Anastassiades, M.: QuEChERS A Mini-Multiresidue Method for the Analysis of Pesticide Residues in Low-Fat Products. Stuttgart, CVUA.

[9] Rosales-Conrado, N.: Chemosphere 77 (2009), 821–828.

[10] Pizzutti et al.: Journal of Chromatography A 1216 (2009), 4539–4552.

STANOVENIE KADMIA A OLOVA PRIETOKOVOU ROZPÚŠŤACOU CHRONOPOTENCIOMETRIOU

Matej Horváth, Jana Tkáčová, Angelika Kassai

Výskumný ústav vodného hospodárstva v Bratislave
e-mail: kassai@vuvh.sk

ÚVOD

Kadmium a olovo patria medzi kovy s preukázaným toxickým účinkom na ľudský organizmus a životné prostredie. Jedným zo spôsobov intoxikácie organizmu je požitie pitnej vody. Kadmium aj olovo sa kumulujú v pečeni a obličkách, čo môže viesť až k rakovine orgánov. Preto je dôležité sledovať tieto kovy v prírodných aj v pitných vodách.

Na stanovenie Cd a Pb sa využívajú hlavne spektroskopické metódy zastúpené atómovou absorpčnou spektrometriou (AAS) alebo atómovou emisnou spektrometriou (AES). Alternatívou k spektrálnym metódam sú moderné elektrochemické metódy, ktoré sa často využívajú pri ochrane životného prostredia. Kombinujú požadovanú citlivosť a selektivitu s rýchlosťou analýzy a nízkymi finančnými nákladmi na analýzu. Keďže Cd a Pb sú elektroaktívne látky, pri ich stanovení je možné využiť všetky prednosti elektrochemickej analýzy.

PODMIENKY ELEKTROCHEMICKEJ ANALÝZY

Princíp metódy

Stanovenie využíva prietokovú rozpúšťaciu chronopotenciometriu, pri ktorej sa ióny kovov elektrochemicky vylúčia na pracovnej elektróde ako elementárny kov:

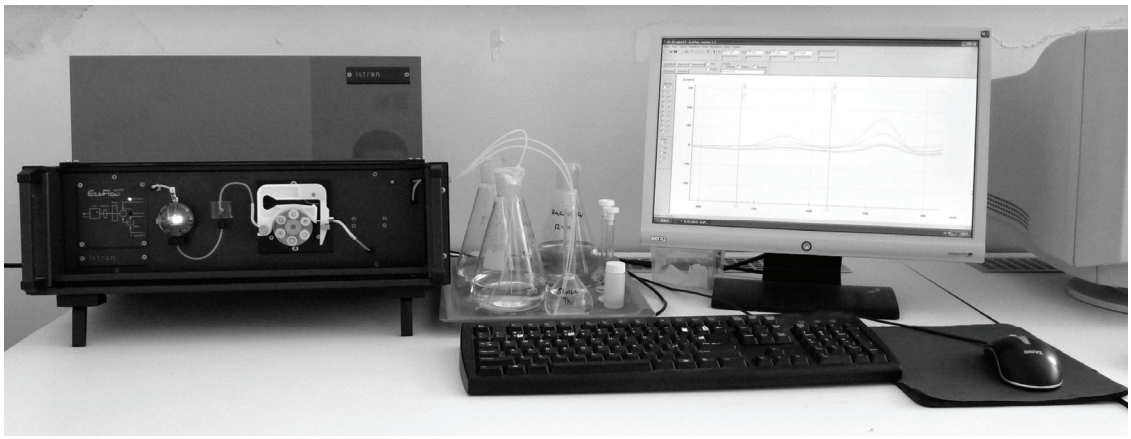
$$M^{2+} \rightarrow M^0 - 2\ e^-$$

Vylúčený depozit sa následne rozpustí konštantým prúdom, pričom sa zaregistruje chronopotenciogram. Plocha zaregistrovaného signálu – chronopotenciogramu je priamo úmerná koncentrácii kovu vo vzorke.

Prístrojové vybavenie:

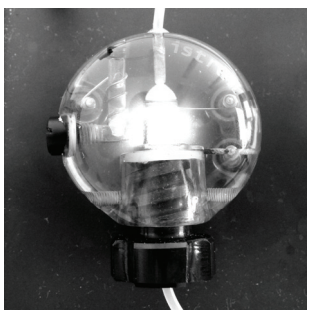
Elektrochemický analyzátor EcaFlow 150 GLP s patentovanou trojelektródovou meracou celou a makroporéznou uhlíkovou elektródou, výrobca Istran s.r.o. Bratislava.

Prístroj EcaFlow 150 GLP s PC



Pracovná makroporézna uhlíková elektróda

Trojelektródová meracia cela



Postup analýzy: Štandardný operačný postup vytvorený podľa aplikačného listu č. 67 dodaného výrobcom.
Použitý štandard: CRM 1000 mg/l Cd a Pb, Slovenský metrologický ústav

KALIBRÁCIA

Bola zvolená trojbodová kalibrácia v rozsahu 1 – 10 µg/l pre Cd a 3 – 30 µg/l pre Pb. Pre všetky kalibračné krivky sa hodnota koeficientu linearity R^2 pohybovala v rozsahu 0,9957 - 0,9995 pre Cd a 0,9982 - 0,9999 pre Pb.

VÝSLEDKY VALIDÁCIE

Nariadenie vlády SR č. 469/2010 Z. z. v časti a/ „Anorganické ukazovatele“ požaduje limit uvedený ako najvyššia medzná hodnota v pitnej vode pre Cd rovný 5 µg/l, limit pre Pb 10 µg/l. Požadovaná správnosť pre Cd aj Pb je 10 %, presnosť 10 % a limit detekcie 10 % z limitu ukazovateľa.

POŽIADAVKY NA METÓDU – STANOVENIE Cd			*VÝSLEDKY VALIDÁCIE*
PRACOVNÉ CHARAKTERISTIKY	*Vyjadrené ako*	*Požiadavky*	*Skutočnosť*
DETEKČNÝ LIMIT (LOD)	*LOD (sw)*	*0,5 µg/l*	*0,2 µg/l*
ZHODNOSŤ (PRE)	*sw*	*10 %*	*2,4 – 7,0 %*
	sb	*10 %*	*0,0 – 3,9 %*
	st	*0,5 µg/l*	*0,3 µg/l*
PRESNOSŤ (ACC)	*rozsah*	*90 – 110 %*	*90,0 – 108,5 %*
SPRÁVNOSŤ (TRU)	*vychýlenie*	*90 – 110 %*	*95,1 - 99,8 %*
		± 0,5 µg/l	*± 0,5 µg/l*
	výťažnosť (PiV)	*100 ± 10 %*	*106 %*
ROZSAH METÓDY (RAN)	*RAN*	*1-10 µg/l*	*1-10 µg/l*
LINEARITA (LIN)	*LIN*	*v celom rozsahu*	*v celom rozsahu*

POŽIADAVKY NA METÓDU – STANOVENIE Pb			*VÝSLEDKY VALIDÁCIE*
PRACOVNÉ CHARAKTERISTIKY	*Vyjadrené ako*	*Požiadavky*	*Skutočnosť*
DETEKČNÝ LIMIT (LOD)	LOD (sw)	1,0 µg/l	0,8 µg/l
ZHODNOSŤ (PRE)	sw	10 %	0,8 – 3,7 %
	sb	10 %	1,3 – 5,1 %
	st	1,0 µg/l	0,6 µg/l
PRESNOSŤ (ACC)	rozsah	90 – 110 %	90,0 – 108 %
SPRÁVNOSŤ (TRU)	vychýlenie	90 – 110 %	96,7 - 102 %
		± 1,0 µg/l	± 0,7 µg/l
	výťažnosť (PiV)	100 ± 10 %	101 %
ROZSAH METÓDY (RAN)	RAN	3-30 µg/l	3-30 µg/l
LINEARITA (LIN)	LIN	v celom rozsahu	v celom rozsahu

sw - zhodnosť výsledkov meraní v rámci série
sb - zhodnosť výsledkov meraní medzi sériami
st - kombinovaná zhodnosť vypočítaná z hodnôt sw a sb

POROVNANIE ATÓMOVEJ ABSORPČNEJ ANALÝZY (AAS) A ELEKTROCHEMICKEJ ANALÝZY (ECAFLOW)

AAS:

- nižší limit detekcie a kvantifikácie
- potrebný menší objem vzorky pre jedno stanovenie
- vyššie náklady na analýzu

EcaFlow:

- vyšší limit detekcie a kvantifikácie
- potrebný väčší objem vzorky pre jedno stanovenie
- nižšie náklady na analýzu

ZÁVER

Elektrochemická metóda stanovenia kadmia a olova v pitnej vode pomocou prístroja EcaFlow plne vyhovuje požiadavkám Nariadenia vlády SR č. 469/2010 Z. z. z hľadiska dosahovaných hodnôt limitu detekcie, kvantifikácie, presnosti a správnosti stanovenia. Jedná sa o nenáročnú techniku stanovenia kadmia a olova metódou prietokovej rozpúšťacej chronopotenciometrie, ktorá umožňuje simultánne stanoviť oba prvky s požadovanou citlivosťou, presnosťou a správnosťou. Výhodou je možnosť automatizácie celého procesu a stanovenie Cd a Pb pri nižších ekonomických nákladoch ako pri porovnateľných spektroskopických metódach.

LITERATÚRA

APLIKAČNÝ LIST Č. 67: Stanovenie zinku, kadmia, olova a medi. Aplikácie pre EcaFlow 150 GLP, Istran s.r.o. Bratislava.

MSA-L/06, 2002: Metodická smernica na akreditáciu. Validácia skúšobných metód. Všeobecné zásady a požiadavky, SNAS Bratislava, jún 2002.

NARIADENIE VLÁDY SR z 8. decembra 2010, Z.z. č. 496/2010, ktorým mení a dopĺňa nariadenie vlády Slovenskej republiky č. 354/2006 Z.z., ktorým sa ustanovujú požiadavky na vodu určenú na ľudskú spotrebu a kontrolu kvality vody určenej na ľudskú spotrebu.

STN ISO 3534-1: Štatistika. Slovník a značky. Časť 1. Pravdepodobnosť a všeobecné štatistické termíny, Júl 1999.

MPS A ODBER ODPADOVÝCH VÔD

Ladislav Šuster, Elena Rajczyková, Jana Tkáčová, Angelika Kassai

Výskumný ústav vodného hospodárstva, Nábr. arm. gen. L. Svobodu 5, 812 49 Bratislava

ÚVOD

Výskumný ústav vodného hospodárstva (VÚVH) v Bratislave, pracovisko Národné referenčné laboratórium pre oblasť vôd na Slovensku (NRL) organizuje medzilaboratórne porovnávacie skúšky (MPS) už tretie desaťročie.

V rámci programu skúšok spôsobilosti (PSS) sme zaradili aj MPS zamerané na odbery vzoriek pitnej vody (2006), povrchovej vody (2007) a od roku 2010 aj odpadovej vody. NRL je akreditovaný organizátor MPS. Odbery vzoriek odpadovej vody nie sú zatiaľ akreditovanou činnosťou.

Cieľom MPS je externá kontrola laboratórií, porovnateľnosť výsledkov analýz vzoriek, ktoré si účastníci sami odoberú, porovnanie odberu jednotlivých odberových skupín a odhaľovanie prípadných nedostatkov pri výkone odberu vzoriek odpadovej vody (OV).

ZÁKLADNÉ INFORMÁCIE

Účasť

Odber vzoriek odpadovej vody (MPS-OOV) bol organizovaný v spolupráci s Bratislavskou vodárenskou spoločnosťou a.s. Bratislava na ÚČOV vo Vrakuni (2010) a Podtatranskou vodárenskou prevádzkovou spoločnosťou a.s. Poprad na ČOV Matejovce (2011). Vzorky boli odoberané z odtokového žľabu. Vzorky odpadovej vody si každý účastník odoberal s vlastným odberovým zariadením a do svojich vzorkovníc. Účastníkom MPS sa rozumie odberová skupina (OS) s maximálnym počtom 4 resp. 3 členov (2011). Ich účasť v MPS je dobrovoľná a dosiahnuté výsledky sú anonymné. V tabuľke č.1 je uvedený prehľad počtu účastníkov, odberových skupín a organizácií v MPS-OOV.

Typy odoberaných vzoriek

Boli odoberané dva typy vzoriek: „vzorka b“ a modifikovaná „vzorka c“ podľa Prílohy č. 7 Nariadeniu vlády SR č. 269/2010 Z.z. (NV), ktorým sa ustanovujú požiadavky na dosiahnutie dobrého stavu vôd.

Vzorka „b“ bola dvojhodinová zmiešaná vzorka, získaná zlievaním 5 rovnakých čiastkových vzoriek odobraných v intervale 30 minút. V roku 2010 bola táto vzorka odoberaná dva krát. Vzorku „b1“ odoberali účastníci, ktorí sa prihlásili len na tento odber. Vzorku „b2“ odoberali účastníci, ktorí sa prihlásili na obidva odbery („b“ a „c“).

Modifikovaná vzorka „c“ bola 24 hodinová zmiešaná vzorka, získaná zlievaním 13 rovnakých čiastkových vzoriek odobraných v intervale 90 minút.

Stanovované ukazovatele

Požadované stanovované ukazovatele - $CHSK_{Cr}$, BSK_5, NL, $N\text{-}NH_4$, N_{celk}, P_{celk} - boli v rozsahu všeobecných požiadaviek na limitné hodnoty ukazovateľov znečistenia odpadových vôd, uvedené v Prílohe č. 6 k NV č. 269/2010 Z.z.. Na mieste odberu vzoriek bolo požadované stanovovať pH a teplotu odoberanej vzorky odpadovej vody.

Realizácia MPS

Na posúdenie dokumentácie bol vypracovaný harmonogram. Potrebné informácie (pokyny, identifikačná karta účastníka, harmonogram, mapka miesta odberu) boli zaslané účastníkom vopred mailom a boli dostupné aj na webovej stránke VÚVH.

V MPS zameranej na odber vzoriek odpadovej vody sa hodnotili:

- teoretické znalosti účastníkov o vykonávanom odbere,
- vhodnosť použitého odberového zariadenia,
- technika vykonania manuálneho alebo automatického odberu,
- príslušná odberová dokumentácia používaná účastníkom,
- vykonanie stanovení ukazovateľov kvality vody na mieste odberu alebo v odobratých vzorkách, ak to príslušná norma umožňuje.

Termín na zaslanie výsledkov sledovaných ukazovateľov bol 10 dní po odbere.

Odber vzoriek

Odber vzorky "b" vykonávali účastníci najmä manuálne odberovými tyčami (7 OS) a v roku 2010 aj vedrá (2 OS). Na odber vzorky „c" používali automatické odberové zariadenie (AOZ) najmä ISCO. Z ďalších AOZ mali zastúpenie Burkle, Buchler, EPIC, MAXX, XIAN a pod. Odberové nádoby pred odberom účastníci oplachovali odoberanou vodou.

Obratnosť a zručnosť, ktorú OS preukazovali pri práci s odberovým zariadením, potvrdzovala pravidelnosť vykonávaných odberov a taktiež praktické skúsenosti OS s daným typom odberov. Najčastejšie chyby pozorované u viacerých OS pri AOZ boli: nevhodná dĺžka odberovej hadice, v niektorých prípadoch aj nevyspádovaná resp. nesprávne umiestnenie nasávacej hlavice - blízko steny odberového objektu.

Tabuľka č. 1: Prehľad počtu účastníkov, odberových skupín a organizácií v MPS-OOV

typ vzorky	MPS-OOV-2010									MPS-OOV-2011							
	OS	Počet členov OS				Organizácia				OS	Počet členov OS			Organizácia			
		4	3	2	1	VS	SVP	VÚ	MRL		3	2	1	VS	SVP	VÚ	MRL
„b1"	15	2	5	7	1	8	-	1	6	21	5	7	-	5	2	2	12
„b2"	16	3	3	9	1	7	5	1	3								
„c"	14	2	5	8	1	7	4	1	2	12	5	4	-	5	2	2	3
Celkom	31	5	8	16	2	15	5	2	9	21	10	11	-	5	2	2	12
SVP = slovenský vodohospodársky podnik										VS = vodárenské spoločnosti							
MRL = mimorezortné a privátne laboratóriá										VÚ = výskumné ústavy							

Dokumentácia odberu

Posúdenie dokumentácie aj teoretických znalostí o odbere audítormi sa uskutočnilo pri odbere vzorky „b" počas odberu a pri odbere vzorky „c" pred odberom. Posúdenie sa uskutočnilo na základe Protokolu na odber vzoriek odpadovej vody (kontrolného listu) vypracovaného v NRL. Posudzované skupiny predložili audítorom, určeným pracovníkom NRL, programy (plány) odberu OV, certifikáty/osvedčenia o absolvovaných školeniach, certifikáty o overení/kalibrácii zariadení (pH, teplomery), štandardné operačné postupy/pracovné postupy na odber OV, prípadne ďalšiu dokumentáciu potrebnú pri odber odpadovej vody.

Teoretické vedomosti účastníkov o uskutočnenom odbere boli overované kontrolnými otázkami. Všetci účastníci dostali rovnaké kontrolné otázky týkajúce sa odberu odpadových vôd.

ZISTENIA PRI ODBERE

Účastníci MPS boli väčšinou aj pracovníkmi laboratórií. Okolo 25% OS boli pracovníci zabezpečujúci len odbery vzoriek pre laboratórium. Účastníci boli z akreditovaných pracovísk, ktoré majú akreditované aj odbery vzoriek. Jedna OS mala akreditovaný odber a jedna OS bola z certifikovaného pracoviska. Školenie alebo kurz o odbere odpadových vôd absolvovali všetky OS najmä na VÚVH a päť OS uviedlo aj iné kurzy. Kópiu osvedčenia/certifikátu z kurzu mali so sebou. Frekvencia účasti na kurzoch bola najčastejšie 2 až 3 roky.

Dokumentácia k odberom

Štandardný operačný postup (ŠOP), resp. pracovný postup (PP) na odber mali vypracovaný všetci účastníci MPS a mali ho so sebou pri odbere. Aktualizované ŠOP na revidované normy (STN EN ISO 5667-1, 3) alebo nariadenie vlády nemalo 6 OS. Jedna OS mala záznam o poslednej aktualizácií z roku 2007 a ostatné OS z roku 2010 a 2011.

Program odberu vzoriek

Programy odberu vzoriek mali účastníci s rôznou úrovňou vypracovania, od podrobného programu až po mesačný plán ciest odberov vzoriek v laboratóriu. Program nemalo so sebou pripravený päť OS.

Stanovenia vykonávané na mieste odberu

Na meranie pH používali odberové skupiny najmä prístroje firmy WTW a Lovibond. Okolo 20 % účastníkov meralo pH v laboratóriu. Overovanie prístroja uvádzali účastníci najmä pred každým meraním, ostatní v intervale jeden týždeň až mesiac. Účastníci MPS zabezpečujú metrologické nadviazanie prístrojov firemnými štandardami a (C)RM, v laboratóriu alebo externe službami SLM/SMÚ. Dve OS neuvádzali výsledky pH v zmysle požiadaviek STN ISO 10523, t.j. uvedenie hodnoty pH na dve desatinné miesta.

Na meranie teploty používali OS najmä digitálne teplomery a ojedinele aj ortuťový teplomer. Štyri OS v roku 2010 nemali teplomer s požadovaním delením 0,1°C. Toho roku ho už mali všetci účastníci. Nadviazanie

teplomerov zabezpečujú účastníci MPS buď v laboratóriách na overený teplomer alebo externe službami SMÚ/SLM.

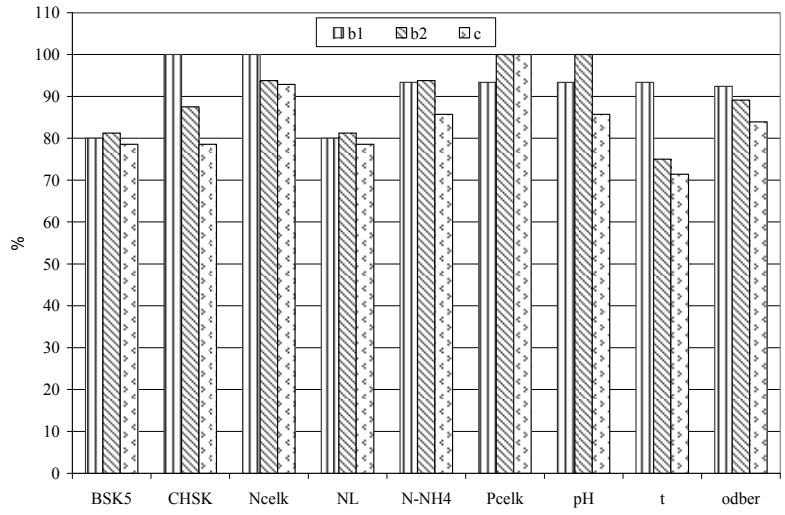
Kvalita záznamov o odbere vzoriek

Všetky skupiny mali so sebou odberové protokoly. Odovzdané protokoly (záznamy) o odbere vzoriek mali OS špecifikované na odber odpadovej vody. Všeobecný protokol na odbere vzoriek malo 7 OS. Označovanie vzoriek v protokole o odbere je uvedený a rozsah evidenčných záznamov boli kontrolované v zmysle normy STN ISO 5667-10 a Vyhlášky č. 315/2004 MŽP SR.

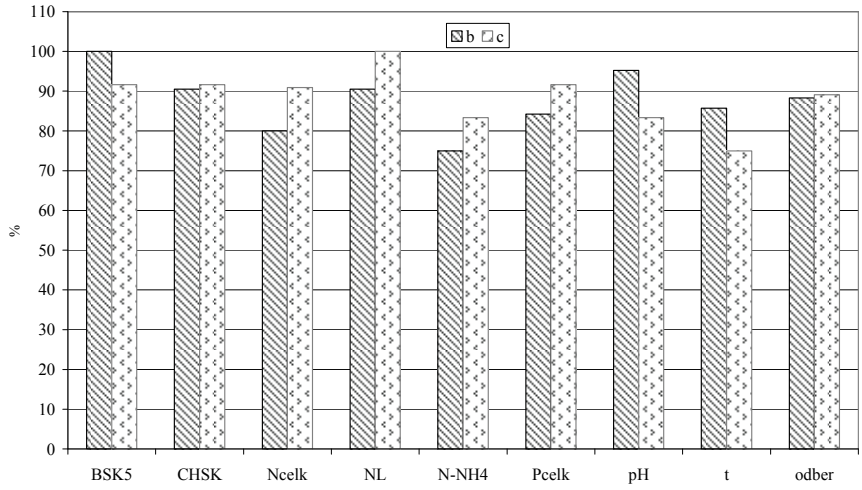
V zmysle uvedených dokumentov neuvádzali OS najmä účel odberu vzoriek, záznam o prevzatí vzorky v laboratóriu, údaje o spôsobe konzervácie vzoriek, resp. odkaz na príslušné PP alebo ŠOP. Nesprávne ako zákazníka uvádzali organizátora MPS.

Kontrola kvality odberu a transport vzoriek

Kontrolu kvality odberov vzoriek zabezpečujú laboratóriá odberom duplicitných vzoriek, opakovaných odberov. Chýbali o tom záznamy v odberovom protokole. Všetci účastníci zabezpečovali chladenie vzoriek Registráciu teploty pri transporte uviedlo 75 % OS. Výsledky meraní teplôt počas transportu poslala iba časť z nich.



Obr. 1: Úspešnosť stanovovaných ukazovateľov a celková úspešnosť v roku 2010



Obr. 2: Úspešnosť stanovovaných ukazovateľov a celková úspešnosť v roku 2011

VYHODNOTENIE MPS

Štatistické spracovanie výsledkov

Odberovej skupine, ktorá sa zúčastnila MPS, bol pridelený identifikačný kód, náhodne generované číslo, ktoré sa mení pri jednotlivých MPS. Získané výsledky boli štatisticky spracované v súlade s STN ISO 5725 "Presnosť (správnosť a zhodnosť) metód a výsledkov merania". Prehľad štatistických parametrov v základnom súbore a súbore po vylúčení odľahlých hodnôt bol v záverečných správach uvádzaný v príslušných tabuľkách. Výsledky účastníkov pre jednotlivé ukazovatele boli prehľadne znázornené v grafoch z-skóre. Interval z-skóre uspokojivých výsledkov je určený rozmedzím <-2 až +2>. Na obrázku č. 1 je z-skóre pre ukazovateľ $CHSK_{Cr}$ z roku 2010.

Pri overovaní teoretických znalostí odberových skupín bola požiadavka správnej odpovede minimálne na štyri otázky. Celková úspešnosť odpovedí bola okolo 90 %.

Referenčná hodnota, kritériá

Prijatá *referenčná hodnota* pre jednotlivé ukazovatele v odobratých vzorkách bola stanovená ako priemerná hodnota z výsledkov akreditovaných laboratórií a výsledkov NRL po vylúčení odľahlých výsledkov podľa kritéria pre daný ukazovateľ. Koeficient spôsobilosti v MPS-OOV bol v rozsahu 0,2 až 0,5 z prijatej referenčnej hodnoty Interval vyhovujúcich výsledkov pre pH bol ±0,3 a pre teplotu ±1,0 °C od referenčnej hodnoty.

VÝSLEDKY

Prehľad úspešnosti stanovovaných ukazovateľov a celkovej úspešnosti pre jednotlivé vzorky je uvedený na obrázku č.1 a 2. Celková úspešnosť sa pohybuje na hranici 90 %. V záverečných správach z MPS boli vyhodnotené aj metódy stanovenia jednotlivých ukazovateľov a rozšírené neistoty meraní.

Účastníci tejto MPS dostali okrem záverečnej správy aj dve osvedčenia. Jedno osvedčenie bolo za účasť v MPS. Druhé osvedčenie obsahovalo hodnotenie vlastného odberu a taktiež vyhodnotenie výsledkov meraní vykonaných na mieste odberu a v odobratých vzorkách. V prílohe tohto osvedčenia sú uvedené výsledky jednotlivých laboratórií.

ZÁVER

Účasť laboratórií v MPS je jedným z prvkov vonkajšieho kontrolného systému kvality. Odber vzoriek je významný prvok pri analýze vody, a preto odhalenie problematických krokov v procese odberu a následné skvalitnenie odberu vody má vplyv na dôveryhodnosť výsledkov analýz produkovaných laboratóriami.

Hlavným cieľom MPS-OOV bolo odhaľovanie závažných nedostatkov pri odbere vzoriek odpadovej vody a porovnanie úrovne odberových skupín, ich teoretických vedomostí, praktických skúseností a celkového súladu s požiadavkami legislatívy pre odber odpadovej vody.

Na základe dosiahnutej celkovej úspešnosti môžeme konštatovať, že účastníci preukázali potrebnú zručnosť a znalosti pre daný typ odberov. Laboratóriá však nevenujú dostatočnú pozornosť pravidelnej aktualizácii noriem v dokumentácii zaoberajúcej sa odberom vzoriek vody a požiadavkám na vypracovanie záznamov o odbere vzoriek v zmysle príslušných nariadení vlády.

Zabezpečovanie a kontrola kvality pri analýzach uskutočňovaných v laboratóriu je dnes už vo väčšine laboratórií samozrejmosťou. Sme presvedčení, že rovnako zodpovedne budú laboratóriá pristupovať aj k zabezpečovaniu a kontrole kvality odberu vzoriek vody, ktorý podstatnou časťou vplýva na kvalitu výsledkov produkovaných laboratóriami.

STANOVENÍ FENOLŮ V SEDIMENTECH A KALECH

Ivana Truxová, David Chrastina, Monika Kadlčíková

VÚV TGM, v.v.i. Praha, pobočka Ostrava, Macharova 5, 702 00
ivana_truxova@vuv.cz

ABSTRAKT

Příspěvek se zabývá skupinovým stanovením fenolu, vybraných methylfenolů, chlorfenolů a nitrofenolů metodou kapalinové chromatografie s detekcí pomocí fluorescenčního detektoru a detektoru s diodovým polem. Pro extrakci vybraných fenolů z pevných vzorků byly porovnány dva způsoby extrakce. První využívá dvojnásobnou extrakci 5%ním hydroxidem sodným a následné zkoncentrování fenolů pomocí SPE. Jako druhá byla zvolena modifikace metody QuEChERS. Meze stanovitelnosti se podle charakteru jednotlivých fenolů pohybují v rozmezí 0,05 – 0,2 mg/kg.

ÚVOD

Problematika výskytu fenolů ve složkách životního prostředí je celkem známá. Fenoly a jejich deriváty (alkylfenoly, chlorfenoly, nitrofenoly) patří mezi prioritní polutanty [1, 2] a do životního prostředí se dostávají především z antropogenních zdrojů, při výrobě ochranných prostředků na dřevo a textil, jako součásti pesticidních prostředků nebo degradační produkty herbicidů, neiontových tenzidů. Chlorfenoly vznikají také při chloraci odpadních vod. Jedná se často o látky toxické a perzistentní. Z tohoto důvodu je velmi důležité jejich sledování ve složkách životního prostředí.

Metody izolace a zkoncentrování fenolů ve vodách jsou založeny především na extrakci kapalina-kapalina. Vhodnou technikou pro izolaci fenolů z vodných vzorků je extrakce na tuhé fázi (SPE) [3, 4] s použitím různých sorbentů. Velice užitečná je mikroextrakce na tuhou fázi (SPME) [5, 6, 7], která je vhodná pro vodné, ale i pevné vzorky. Navíc tato technika nevyžaduje použití organických rozpouštědel. Soxhletova extrakce byla porovnávána s mikrovlnnou asistovanou extrakcí pro analýzu fenolů v pevné matrici [8]. V posledních letech je stále více populární extrakční technika QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe), původně zavedená pro izolaci pesticidů v ovoci a zelenině [9]. Metoda zahrnuje extrakci acetonitrilem, následně oddělení přídavkem octanu sodného, síranu hořečnatého, případně i dalších solí a přečištění pomocí disperzní SPE. Od té doby byla již pozměněna a také vyzkoušena i pro jiné analyty, mimo jiné pro izolaci fenolů z půdy [10]. Pro stanovení fenolů se využívají především chromatografické metody. Zcela běžná je plynová chromatografie [4, 6, 11-14] s FID, ECD nebo MS detekcí po derivatizaci vyextrahovaných fenolů diazomethanem nebo acetanhydridem. Je možné také využít přímou derivatizaci fenolů acetanhydridem a následnou extrakci acetátů organickým rozpouštědlem nebo SPE. České normy popisují pouze stanovení jednotlivých skupin alkylfenolů [13], chlorfenolů [11] a nitrofenolů [12] ve vodách metodou plynové chromatografie. Americká EPA popisuje současné stanovení vybraných alkylfenolů, chlorfenolů a nitrofenolů plynovou chromatografií [14]. Dosti užívanou metodou je kapalinová chromatografie [3, 7, 8] (s UV, DAD, MS nebo elektrochemickou detekcí), u které na rozdíl od GC odpadá nutnost derivatizace. Kapilární zónová elektroforéza jakožto vysoce účinná a rychlá technika může být pro analýzu fenolů vhodnou alternativou chromatografických metod [15-17].

Výběr stanovovaných fenolů vycházel ze seznamu prioritních látek [1, 2] a ze znalosti výskytu látek v povrchových a odpadních vodách v povodí řeky Odry. Zvoleny byly tyto látky: Fenol (Ph), m-kresol (3-MP), o-kresol (2-MP), 4-nitrofenol (4-NP), 2-chlorfenol (2-CP), 2,4-dinitrofenol (2,4-DNP), 2-nitrofenol (2-NP), 2,4-dimethylfenol (2,4-DMP), 2,4-dichlorfenol (2,4-DCP), 2,3,4-trichlorfenol (2,3,4-TCP), 2,4,6-trichlorfenol (2,4,6-TCP), 2,3,4,5-tetrachlorfenol (2,3,4,5-TeCP) a pentachlorfenol (PCP).

Při výběru metody pro skupinové stanovení fenolů v naší laboratoři jsme vycházeli ze známých, výše uvedených extrakčních a separačních postupů, které byly modifikovány a optimalizovány v rámci možností laboratoře (přístrojové a materiální vybavení atd.). Vybrány byly tyto postupy stanovení:

Methylfenoly, chlorfenoly a nitrofenoly byly separovány a stanoveny pomocí HPLC s gradientovou elucí při použití detektoru s diodovým polem (DAD) a fluorescenčního detektoru (FLD). Pro extrakci vybraných fenolů ze vzorků sedimentu, kalu byly porovnány dva způsoby extrakce. První využívá dvojnásobnou extrakci 5%ním hydroxidem sodným [4] a následné zkoncentrování fenolů pomocí SPE na komerčně dostupných sorpčních kolonkách SPE Sorbent–strataTM X plněných polymerním sorbentem, který je určen k extrakci fenolů. V rámci ověření metody byl porovnán vliv použitého elučního rozpouštědla na výtěžnost SPE stanovovaných fenolů. Jako druhá byla zvolena modifikace metody QuEChERS [10].

PRAKTICKÁ ČÁST

Chemikálie, roztoky

Pro přípravu základních roztoků fenolů byly používány standardy v pevném stavu od firmy Dr. Ehrenstorfer. Z těchto standardů byly připraveny roztoky jednotlivých látek v methanolu o koncentraci 1 mg/ml, následně směsný zásobní roztok o koncentraci 50 µg/ml. Tento zásobní roztok byl používán k přípravě pracovních roztoků o požadovaných koncentracích, a to jak pro kontaminaci modelových terénních vzorků, tak jako standardní roztoky pro modelová stanovení a kalibrace.

K přípravě modelových vzorků a mobilní fáze byla použita deionizovaná voda, stupeň 1 podle ISO 3696 (Labconco, USA). Používaná rozpouštědla aceton, methanol (MeOH), dichlormethan (DCM) a acetonitril (ACN) byla kvality Chromapur GG pro HPLC (Chromservis). Všechny ostatní používané chemikálie byly čistoty p.a. (Lach-Ner, ČR). K zahuštění extraktů byl použit dusík kvality 5.0 (Messer).

Použité přístroje a zařízení

Pro SPE extrakci(prekoncentraci) byly použity sorpční kolonky SPE Sorbent–strataTM X - 500mg/6ml polypropenová kolonka s polymerním sorbentem (Phenomenex) a aparatura složená z vakuového čerpadla Vacc–Space 20 a Alltech Vacuum manifoldu s 12 pozicemi. Vzorky byly analyzovány na kapalinovém chromatografu sestava Agilent 1100, která zahrnuje kvartérní čerpadlo, degasser, autosampler, blok pro termostatování kolon, fluorescenční detektor (FLD) a detektor s diodovým polem (DAD) – UV detekce s rozsahem vlnových délek 190 – 400 nm. Separace fenolů byla realizována na koloně Kinetex 2,6um C18 100A, 50 x 4,6 mm chráněné pomocí předklonky Security GardTM - C18, 30 x 4 mm (Phenomenex). Dále byly použity ultrazvuková lázeň UC006DM1(Tesla), centrifuga MPW–6.15/6K15 (Optingservis) a třepačka IKA (Labortechnik).

PŘÍPRAVA VZORKŮ

Vzorkování a příprava vzorků pro stanovení fenolů.

Vzorek sedimentu byl odebrán z řeky Odry v Ostravě Petřkovicích do skleněných vzorkovnic z tmavého skla. Vzorek odvodněného čistírenského kalu byl získán smícháním řady bodově odebraných vzorků přímo z vynášecího zařízení odstředivky na ČOV. Pro experimentální práce byl vzorek sedimentu a kalu sušen 8 hodin při teplotě 150 °C a následně přesítován. Vyšší teplota při sušení vzorků byla zvolena z důvodu snížení možného obsahu fenolů v reálném vzorku před jeho umělou kontaminací fenolovými látkami. Teplota 150 °C byla maximální možná (technicky) nastavitelná teplota sušárny. Pro další práce byla používána frakce o zrnitosti < 2 mm. Vzorky sedimentu, kalu byly před započetím pokusů kontaminovány směsným standardem fenolů v methanolu na potřebnou koncentraci. K ověření dvou zvolených metod z hlediska výtěžnosti analytů pro skupinové stanovení vybraných fenolů v sedimentu byly vzorky kontaminovány na třech koncentračních úrovních: 0,2 mg/kg, 0,5 mg/kg a 1,0 mg/kg. Byly analyzovány tři paralelní vzorky na všech třech úrovních, vždy oběma způsoby. Rovněž byly analyzovány nekontaminované vzorky.

PRACOVNÍ POSTUPY

HPLC analýza

Vzorky byly měřeny na kapalinovém chromatografu ve spojení s DAD a FLD detektorem. Fluorescenční detektor byl používán pro detekci fenolu, 2-methylfenolu, 3-methylfenolu a 2,4-dimethylfenolu, u kterých vykazoval vyšší odezvu. Pro detekci ostatních analytů byl používán DAD detektor. Mobilní fáze byla míchána ze dvou složek. Složka A – voda s 0,1 % H_3PO_4, složka B – acetonitril s 0,1 % H_3PO_4. Při separaci fenolů bylo použito gradientové eluce s následujícím průběhem: počáteční poměr složky A : B je 80 : 20; v čase 0 – 5,5 min. lineární gradient na 5% složky A; isokratický úsek 5,5 – 8,5 min; následně návrat na 80% složky A během 2 minut. Čas na zpětnou ekvilibraci kolony je 5 min po návratu k počátečnímu poměru složek. Teplota kolony byla 24 ºC, průtok mobilní fáze 0,5 ml/min v čase 0 – 5,5 min s následným zvýšením na 1 ml/min v čase 7,5 – 10 min a návrat zpět na 0,5 ml/min. Nástřik vzorku 10 µl. Optimální nastavení vlnových délek fluorescenčního detektoru bylo Ex/Em 275/350 nm. Detekce na DAD detektoru byla prováděna při vlnových délkách 230 a 290 nm. Pracovní podmínky analýzy na kapalinovém chromatografu byly s jistými úpravami převzaty z aplikačního listu firmy Phenomenex Inc. [18].

Extrakce fenolů z pevného vzorku

Postup A (modifikace metody QuECheRS [10]): Na extrakci bylo bráno 5g (10g) kontaminovaného sedimentu a vloženo do 50 ml polypropylenové zkumavky. Bylo přidáno 10 ml ACN s přídavkem 1 % kyseliny octové (V/V) a 5 ml ultračisté vody. Směs byla třepána 1 hod na třepačce s nastavenou frekvencí třepání na 180 ot./min. Poté bylo přidáno 1,7 g octanu sodného (NaOAc), 6 g bezvodého $MgSO_4$ a 4 g NaCl a zkumavka byla ještě třepána 5 min. Po odstředění bylo z acetonitrilové fáze odebráno 1,5 ml do 10 ml zkumavky obsahující ještě 0,5 g

bezvodého $MgSO_4$ k odstranění zbytkové vody. Dále byla potřebná část převedena do vialky k následné HPLC analýze. Nástřik na separační kolonu byl 10 µl. Případné čištění extraktu od koextrahujících látek, které by mohly rušit při chromatografické analýze, v této fázi prací nebylo řešeno.

Postup B: Extrakce 5%ním vodným roztokem NaOH [4]: Ke kontaminovanému sedimentu, kalu, resp. k 5 g terénního neupraveného vzorku bylo přidáno 20 ml 5%ního roztoku NaOH. Směs byla třepána na laboratorní třepačce 30 min. s frekvencí třepání 180 ot./min. Extrakce byla provedena dvakrát. Extrakt byl oddělen odstředěním a spojené extrakty byly okyseleny koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou na pH 2. Sraženina huminových kyselin, která se vyvinula cca po 15 min. stání, byla rovněž oddělena odstředěním. Poté bylo pH vodného extraktu upraveno na pH 3,5 a následovala prekoncentrace analytů na tuhé fázi na kolonkách SPE Sorbent–strataTM X (500mg/6ml) přesně podle postupu popsaného při extrakci fenolů z vodných vzorků.

Výtěžnost extrakce (prekoncentrace) metodou SPE ovlivňuje mnoho faktorů. Naše experimentální pokusy byly v této fázi zaměřeny na ověření vhodného elučního rozpouštědla na kolonkách Sorbent–strataTM X (500mg/6ml).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Volba elučního rozpouštědla

Eluční činidlo použité k desorpci analytů ze sorbentu při SPE je jedním z velmi důležitých faktorů ovlivňujících výtěžnost stanovení. Na kolonkách SPE Sorbent–strataTM X (500mg/6ml) byl testován aceton , aceton v kombinaci s ACN a aceton v kombinaci s DCM. Poslední varianta je doporučována výrobcem kolonek. Sorbované analyty byly eluovány rozpouštědly o celkovém objemu 10 ml, v případě kombinací dvou rozpouštědel byl jejich poměr 1:1. Kontaminace kolonek byla provedena pomocí modelových vodných vzorků na třech koncentračních úrovních a to 0,5µg/l, 5µg/l a 25µg/l. Sorpce probíhala ze 100 ml modelového vzorku. Průměrná výtěžnost SPE vybraných zástupců jednotlivých skupin fenolů je uvedena v tabulce 1. Nižších výtěžností bylo dosahováno pro fenol, methylfenoly a monochlorfenoly při eluci acetonem v kombinaci s DCM, což mohlo být způsobeno ztrátami při zkoncentrování eluátu. Při eluci acetonem byly získány nízké hodnoty výtěžnosti u výše chlorovaných fenolů. Nejvyšších výtěžností bylo dosaženo pro eluční činidlo aceton v kombinaci s ACN. Tato varianta je vhodná i z hlediska následné chromatografické analýzy pomocí HPLC.

Tabulka 1. Průměrné výtěžnosti SPE [%] analytů získané při použití tří různých elučních rozpouštědel

Analyt	Výtěžnost[a]		
	1[b]	2[c]	3[d]
Ph	63,6	92,6	100,6
4-NP	90,8	103	99,2
1,3-MeP	55,4	95,1	83,8
1,2-MeP	58,8	100	96,1
2-CP	46,5	67,6	98,3
2,4-DNP	107	95,8	90,0
2,4-DMP	79,0	53,5	89,0
2,4-DCP	113	119	99,3
2,4,6-TCP	78,1	59,5	95,0
2,3,4,5-TCP	61,2	50,3	90,1
PCP	84,4	73,0	101

[a] relativní výtěžnosti vypočtené ze 3 stanovení

[b] eluce 5ml acetonu + 5 ml DCM

[c] eluce 10 ml acetonu

[d] eluce 5ml acetonu + 5 ml ACN

Stanovení fenolů v pevných vzorcích

Oběma metodami byly analyzovány vzorky sedimentu, kalu kontaminované na třech koncentračních úrovních: 0,2 $mg.kg^{-1}$, 0,5 $mg.kg^{-1}$ a 1,0 $mg.kg^{-1}$. U obou metod bylo dosaženo u vzorků sedimentu srovnatelných výsledků. Výtěžnost stanovení se nacházela v intervalu 65 – 110 %.V tabulce 3 jsou uvedeny průměrné hodnoty výtěžnosti získané ze třech paralelních stanovení na všech koncentračních úrovních pro postup A tj. modifikace metody QuECheRS. Pro postup B byly získané výtěžnosti v průměru o 10 % nižší. Z tohoto důvodu a z důvodu jednoduchosti provedení metody QuECheRS budou následující práce na metodě skupinového stanovení fenolů v pevných vzorcích pokračovat pouze touto metodou. U vzorků kalu se výtěžnost pohybovala v rozsahu 40 – 100 % a nebylo zatím dosaženo uspokojivé reprodukovatelnosti stanovení. Z toho důvodu zatím získané výsledky nepublikujeme.

Tabulka 3. Průměrná relativní výtěžnost stanovení [%] fenolů ve vzorcích sedimentu, vypočtená ze třech měření na třech koncentračních úrovních (0,2 mg/kg, 0,5 mg/kg a 1,0 mg/kg)

Analyt	Výtěžnost	Analyt	Výtěžnost
Ph	77,9	4-NP	67,6
3-MeP	79,9	3-Me-4CP	81,9
2-MeP	87,6	2,4-DCP	75,9
2,4-DNP	82,2	2,4,6-TCP	89,3
2,4-DMP	76,8	2,3,4,5-TCP	76,5
2-CP	67,5	PCP	69,9

Meze stanovitelnosti

Validace metody skupinového stanovení fenolů v pevných vzorcích nebyla v této fázi předmětem prováděných prací. V tabulce 4 jsou uvedeny pouze předběžné hodnoty mezí stanovitelnosti vybraných fenolů, které byly určeny na základě vyhodnocení poměru signál/šum = 10 tj. k hodnotě signálu 10 x větší než hodnota signálu šumu základní linie byla přiřazena odpovídající koncentrace jednotlivých analytů. Poté byly dopočítány meze stanovitelnosti při respektování postupu metodou QuECheRS.

Tabulka 4. Meze stanovitelnosti pro vybrané fenoly v sedimentu

Analyt	Sediment mg/kg	Analyt	Sediment mg/kg
Ph	0,2[a,b]	2,4-DMP	0,05[a,b]
4-NP	0,2[b]	3-Me-4CP	0,1[b]
3-MeP	0,1[a,b]	2,4-DCP	0,1[b]
2-MeP	0,1[a,b]	2,4,6-TCP	0,1[b]
2-CP	0,2[b]	2,3,4,5-TeCP	0,1[b]
2,4-DNP	0,1[b]	PCP	0,05[b]

[a] signál pro výpočet meze stanovitelnosti byl získán pomocí fluorescenčního detektoru

[b] výpočet pro metodu QuECheRS

ZÁVĚR

Cílem práce bylo optimalizovat podmínky pro skupinové stanovení fenolů v sedimentech a kalech. Methylfenoly, chlorfenoly a nitrofenoly byly separovány a stanoveny pomocí HPLC s gradientovou elucí při použití detektoru DAD a FLD. V rámci optimalizace metody byl porovnán vliv použitého elučního rozpouštědla na výtěžnost SPE extrakce stanovovaných fenolů. Rovněž byla uskutečněna optimalizace podmínek chromatografické analýzy. Pro detekci fenolu 2-methylfenolu, 3-methylfenolu a 2,4-dimethylfenolu byl používán fluorescenční detektor, který vykazoval pro tyto látky vyšší odezvu než DAD detektor. Pro extrakci vybraných fenolů ze vzorků sedimentu a kalu byla porovnávána extrakce 5%ním NaOH a modifikace metody QuEChERS. Meze stanovitelnosti se podle charakteru jednotlivých fenolů pohybují v rozmezí 0,05 – 0,2 mg/kg. Pro skupinové stanovení fenolů v pevných vzorcích byla vybrána modifikace metody QuEChERS a další práce budou zaměřeny zejména na extrakci fenolů ze vzorků kalu a na validaci této metody.

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla za finanční podpory Ministerstva životního prostředí České republiky v rámci řešení projektu VaV–SP/2f2/98/07.

LITERATURA

[1] List of the 129 priority pollutants by United States Environmental Protection Agency (U.S. EPA). Appendix A to part 423 [cit. 24. 3. 2011]. Dostupné z <http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/pollutants.cfm>.

[2] Rozhodnutí č. 2455/2001/ES Evropského parlamentu a Rady ze dne 20. listopadu 2001 ustavující seznam prioritních látek v oblasti vodní politiky a pozměňující směrnici 2000/60/ES.

[3] Kostrhounová, R., Hrdlička, A., Sommer, L. Stanovení fenolu a chlorfenolů ve směsích metodou HPLC po předchozím zkoncentrování na pevné hydrofóbní sorbenty. Chemické Listy, 2004, 98, 33-38.

[4] Tesařová, E., Vozňáková, Z., Podehradská, J., Popl, M. Optimalizace podmínek pro izolaci a plynově chromatografické stanovení fenolů v tuhých vzorcích. Chemické Listy, 1999, 93, 334-337.

[5] Barták, P., Čáp, L. Determination of phenols by solid-phase microextraction. Journal of Chromatography A, 1997, 767, 171-175.

[6] Jursíková, K., Janda, V. Analýza chlorfenolů ve vodách mikroextrakcí tuhou fází a plynovou chromatografií s hmotnostně spektrometrickou detekcí. Chemické Listy, 1999, 93, 803-805.

[7] Peñalver, A., Pocurull, E., Borrull, F., Marcé, R.M. Solid-phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography to determine phenolic compounds in water samples. Journal of Chromatography A, 2002, 953, 79-87.

[8] Alonso, M.C., Puig, D., Silgoner, I., Grasserbauer, M., Barceló, D. Determination of priority phenolic compounds in soil samples by various extraction methods followed by liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 1998, 823, 231-239.

[9] Anastassiades, M., Lehotay, S.J., Stajnbaher, D., Schenck, F.J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and „dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. Journal of AOAC International, 2003, 86, 412-431.

[10] Padilla-Sánchez, J.A., Plaza-Bolaños, P., Romeo-González, R., Garrido-Frenich, A., Martínez Vidal, J.L. Application of a quick, easy, cheap, effective, rugged and safe-based metod for the simultaneous extraction of chlorophenols, alkylphenols, nitrophenols and cresols in agricultural soils, analyzed by using gas chromatography-triple quadrupole-mass spectrometry/mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 2010, 1217, 5724-5731.

[11] ČSN EN 12673. Jakost vod – Stanovení některých vybraných chlorfenolů metodou plynové chromatografie. 2000.

[12] ČSN EN ISO 17495. Jakost vod – Stanovení vybraných nitrofenolů – Metoda plynové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí po extrakci tuhou fází. 2003.

[13] ČSN EN ISO 18857-1. Jakost vod – Stanovení vybraných alkylfenolů – Část 1: Metoda pro nefiltrované vzorky s využitím extrakce kapalina-kapalina a plynové chromatografie s hmotnostně selektivní detekcí. 2007.

[14] EPA Method 8041A. Phenols by Gas Chromatography. Revision 1, November 2000.

[15] Martínez, D., Pocurull, E., Marcé, R.M., Borrull, F., Calull, M. Separation of eleven priority phenols by capillary zone electrophoresis with ultraviolet detection. Journal of Chromatography A, 1996, 734, 367-373.

[16] Morales, S., Cela, R. Highly selective and efficient determination of US Environmental Protection Agency priority phenols employing solid-phase extraction and non-aqueous capillary electrophoresis. Journal of Chromatography A, 2000, 896, 95-104.

[17] Rodríguez, I., Turnes, M.I., Bollaín, M.H., Mejuto, M.C., Cela, R. Determination of phenolic pollutants in drinking water by capillary electrophoresis in the sample stacking mode. Journal of Chromatography A, 1997, 778, 279-288.

[18] List of the HPLC Application ID No.: 18677 by Phenomenex Inc. EPA 604-Fast Separation of Phenols Mixture Using Kinetex 2,6 μm C18, 50 x 4,6 mm. Dostupné z http://www.phenomenex.com

ZÁVISLOST DOBY VARU NA STANOVENÍ CHSK(CR) VYBRANÝCH KVARTERNÍCH PYRIDINIOVÝCH SOLÍ

Michal Cypris, Jan Grubl, Vladimír Sýkora

Ústav technologie vody a prostředí
Fakulta technologie ochrany prostředí, VŠCHT Praha
Technická 5, 166 28 Praha 6
michal.cypris@vscht.cz

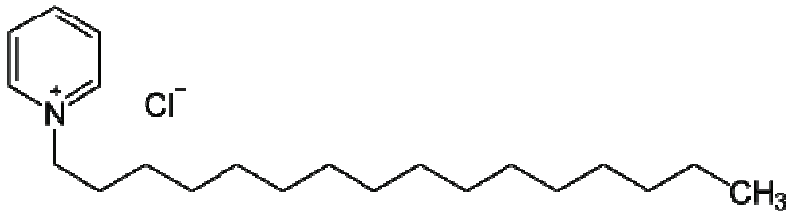
1. ÚVOD

Metoda stanovení chemické spotřeby kyslíku je jedno z nejdéle používaných analytických stanovení ve vodohospodářské praxi. Samotný počátek této metody je datován již rokem 1926, kdy Adeney a Dawson [1] poprvé publikovali metodu stanovení organických látek oxidací dichromanem. Za tuto dobu se metoda postupně vyvíjela. Důležitým počinem ve zlepšení oxidace bylo zejména zavedení katalytických účinků stříbrných iontů v práci Muerse. [2] Důležitým počinem v minimalizaci metody bylo využití spektrofotometrické koncovky [3] a následné zavedení mineralizace ve zkumavkách tzv. semimikrometody. [4] V současné době je stanovení CHSK stále hojně využíváno, i když některé země, např.: Švédsko, uvalily zákaz používání rtuti [5] a nahrazují CHSK jinými stanoveními. [6]

Výsledky stanovení CHSK, i po dlouhém vývoji metody, ovlivňuje stále řada rušivých faktorů. Mezi nejčastější patří vliv velké koncentrace anorganických solí [7] či špatná oxidovatelnost některých specifických látek. Vyšší oxidovatelnosti lze docílit několika způsoby, mezi něž lze také zařadit prodloužení doby varu. Tématem doby varu se zabýval již Chudoba, podle jehož výsledků patří deriváty pyridinu ke skupině látek s nejdelší dobou mineralizace. [8]

2. KVARTERNÍ PYRIDINIOVÉ SOLI

Tato práce se zabývá stanovením CHSK určité skupiny kvartérních pyridinium halogenidů. Jedná se o látky, které mají jako základ pyridinový kruh s kvarterním dusíkovým atomem. Na tento atom dusíku je poté navázán různě dlouhý uhlovodíkový řetězec, jehož délka velmi ovlivňuje vlastnosti molekuly. Látky s delšími uhlovodíkovými řetězci lze zařadit mezi kationtové tenzidy jež se používají jako dezinfekční činidla [9] např.: v ústních vodách či jiných přípravcích. Mezi nejznámější patří hexadecylpyridinium chlorid (cetylpyridinium chlorid) jehož struktura je znázorněna na obrázku 1.



Obr. 1: 1-hexadecylpyridinium chlorid

Další využití našly kvartérní pyridinium sloučeniny jako iontové kapaliny. [10] Některé kvartérní pyridinium halogenidy totiž vykazují výborné vlastnosti jako organická rozpouštědla a nahrazují tak konvenčně používaná rozpouštědla. Hojně se využívají například v analytické chemii při chromatografiích apod.

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

V předešlém příspěvku [11] byl stanovován vliv délky navázaných alkylových řetězců na hodnotu stanovení CHSK při standardní době mineralizace 2 hodin. Na základě těchto výsledků a faktu, že se jedná o látky na bázi pyridinu, bylo rozhodnuto zjistit, v jaké míře se bude stanovená hodnota lišit v závislosti na době mineralizace.

Pro testování bylo vybráno několik alkylpyridinium chloridů, vždy s různě dlouhým alkylovým řetězcem a jeden se substituentem na pyridinovém kruhu. Jejich seznam je uveden v tabulce 1 společně se sumárními vzorci a příslušnou hodnotou TSK.

Tabulka 1: Přehled testovaných látek

Název	označení	vzorec	TSK g/g
1-methylpyridinium chlorid	MePCl	C_6H_8ClN	1,729
1-ethylpyridinium chlorid	EtPCl	$C_7H_{10}ClN$	1,894
1-propylpyridinium chlorid	PrPCl	$C_8H_{12}ClN$	2,030
1-butylpyridinium chlorid	BuPCl	$C_9H_{14}ClN$	2,144
1-butyl-4-methylpyridinium chlorid	BuMePCl	$C_{10}H_{16}ClN$	2,240
1-hexylpyridinium chlorid	HxPCl	$C_{11}H_{18}ClN$	2,323
1-dodecylpyridinium chlorid	doDcPCl	$C_{17}H_{30}ClN$	2,649
1-hexadecylpyridinium chlorid	hxDcPCl	$C_{21}H_{38}ClN \cdot H_2O$	2,637

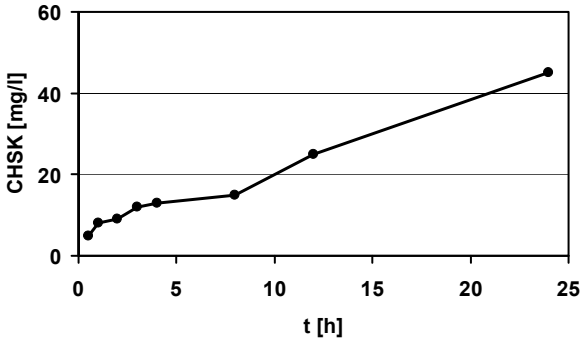
Z každé testované látky byl připraven zásobní roztok o koncentraci 1,00 g/l. Kvůli rozsahu stanovení byly některé zásobní roztoky naředěny a stanovená hodnota CHSK poté přepočtena na původní zásobní roztok. Veškeré uvedené hodnoty CHSK jsou tudíž vztaženy k těmto zásobním roztokům.

Vlastní měření CHSK bylo realizováno dle postupu uvedeném v [12] vycházející ze standardů [13]. Vzorky byly z mineralizačního boxu odebírány v časových intervalech 0,5, 1, 2, 3, 4, 8, 12 ,24 hodin. Ihned po vyjmutí byly ochlazeny a zředěny 5 ml demineralizované vody. U takto zpracovaných roztoků byla měřena absorbance při 600 nm na spektrofotometru v kyvetách o délce 5 cm.

Již Chudoba [8] poukazuje na vyšší koncentrace slepého stanovení, při delší době mineralizace a proto bylo ke každému vzorku také nasazeno paralelně slepé stanovení, jež bylo zpracováváno ve stejných časových intervalech. Naměřené hodnoty CHSK testovaných látek byly poté korigovány těmito výsledky slepého stanovení.

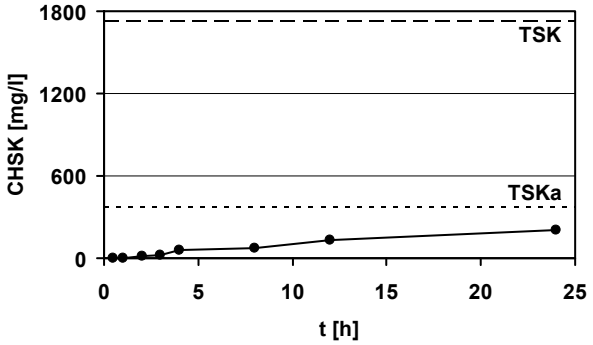
4. VÝSLEDKY A DISKUZE

Průměrné výsledky slepého stanovení jsou uvedeny na následujícím grafu. Tyto výsledky potvrzují, že s prodlužováním doby mineralizace se zvyšuje hodnota slepého stanovení autokatalytickou reakcí dichromanu. Tyto průměrné hodnoty byly odečteny od stanovených hodnot testovaných látek.

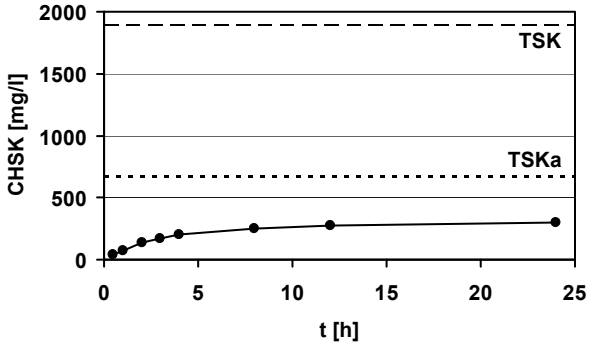


Obr. 2: Graf průměrných naměřených hodnot slepého stanovení.

Na následujících grafech jsou uvedeny křivky naměřených hodnot CHSK testovaných látek v závislosti na době mineralizace. Horizontálními čarami jsou v grafech znázorněny teoretické hodnoty CHSK testovaných roztoků. Vyšší hodnota (TSK) odpovídá teoretické hodnotě úplné oxidace. Nižší hodnota (TSKa) odpovídá teoretické hodnotě oxidace pouze alkylových substituentů navázaných na pyridinovém kruhu.

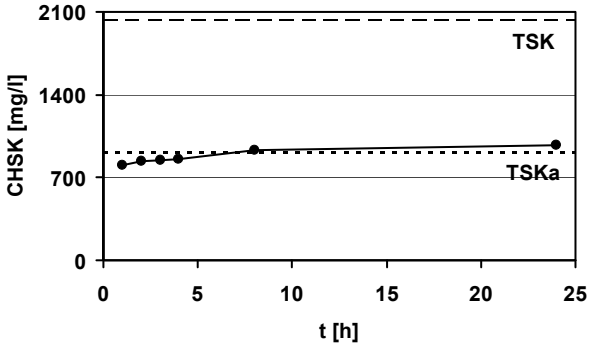


Obr. 3: Křivka naměřených hodnot 1-methylpyridinium chloridu.

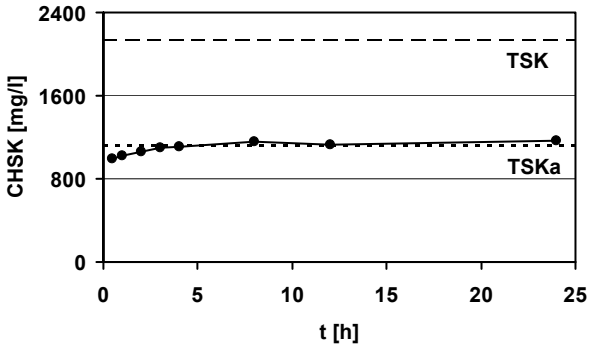


Obr. 4: Křivka naměřených hodnot 1-ethylpyridinium chloridu.

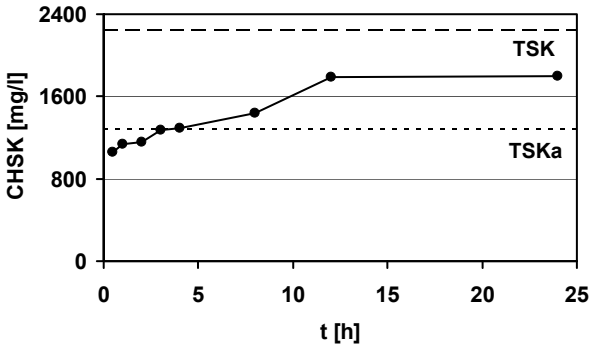
V grafech naměřených hodnot 1-methylpyridinium chloridu a 1-ethylpyridinium chloridu na obrázku 3 a 4 je vidět, že hodnoty se sice během mineralizace zvyšují, ale po 24 hodinách dosahují hodnot 12% (resp. 16%) TSK, což neodpovídá ani částečné oxidaci pouze alifatických substituentů.



Obr. 5: Křivka naměřených hodnot 1-propylpyridinium chloridu.

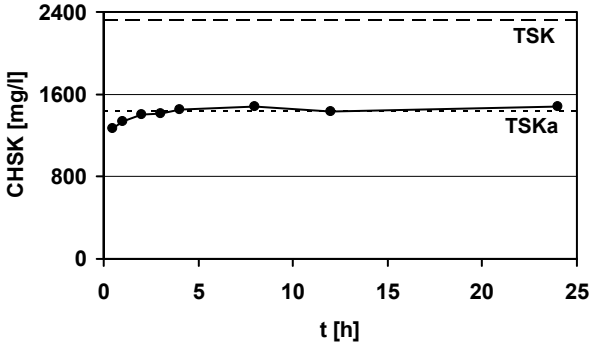


Obr. 6: Křivka naměřených hodnot 1-butylpyridinium chloridu.

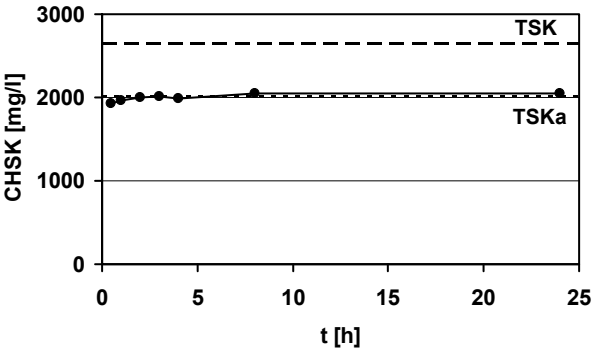


Obr. 7: Křivka naměřených hodnot 1-butyl-4-methylpyridinium chloridu.

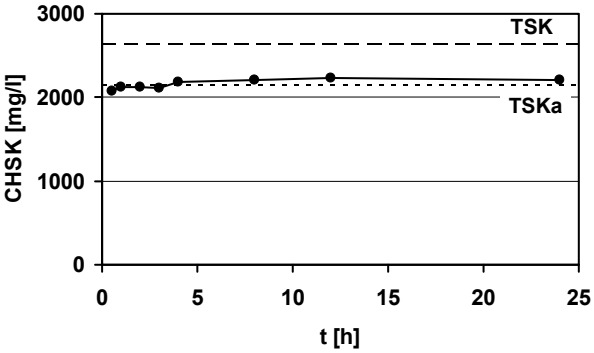
Graf na obrázku 7 ukazuje, že naměřené hodnoty 1-butyl-4-methylpyridinium chloridu, jako jediné sloučeniny z testovaných látek, významně překračují hodnoty částečné oxidace. Spolehlivě lze tedy říci, že u této látky došlo k oxidaci pyridinového kruhu.



Obr. 8: Křivka naměřených hodnot 1-hexylpyridinium chloridu.



Obr. 9: Křivka naměřených hodnot 1-dodecylpyridinium chloridu.



Obr. 10: Křivka naměřených hodnot 1-hexadecylpyridinium chloridu (cetylpyridinium chloridu).

5. ZÁVĚR

Z předložených výsledků vyplývají následující závěry:

- hodnoty slepého stanovení se s rostoucí dobou mineralizace zvyšují, čímž potvrzují autokatalytickou reakci dichromanu draselného v reakčním prostředí,
- žádná z testovaných látek nepodléhá 100% oxidaci ani po 24 hodinové mineralizaci,
- látky s navázaným řetězcem s počtem uhlíků 3 a vyšším, podléhají alespoň částečné oxidaci, která odpovídá oxidaci tohoto alkylového řetězce,
- substituenty navázané přímo na pyridinovém kruhu pozitivně ovlivňují oxidaci pyridinového jádra.

Z uvedeného lze usoudit, že prodloužení doby mineralizace nebude mít zásadní vliv na stanovení CHSK vzorků, obsahujících testované a podobné látky.

PODĚKOVÁNÍ

Příspěvek byl vypracován v rámci řešení výzkumného záměru MSM 6046137308 a grantu GAČR 203/09/1349.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] Adeney, W. E., Dawson, B. B., Determination of organic matter in water by means of potassium dichromate and sulfuric acid. *Scientific Proceedings of the Royal Dublin Society,* **1926,** (18), 199-202.

[2] Muers, M. M., Dichromate reflux method for determination of oxygen consumed [2]. *Analytical Chemistry,* **1950,** *22* (6), 846.

[3] Gaudy, A. F., Ramanathan, M., A colorimetric method for determining chemical oxygen demand [C.O.D.]. *Journal - Water Pollution Control Federation,* **1964,** *36* (12), 8.

[4] Jirka, A. M.; Carter, M. J., Micro semi-automated analysis of surface and wastewaters for chemical oxygen demand. *Analytical Chemistry,* **1975,** *47* (8), 1397-1402.

[5] Ekblom, P., Olsson, A. Swedish ban on mercury is an important step towards a non-toxic environment. http://www.kemi.se/templates/News.aspx?id=3036 (accessed 9. 8.).

[6] Dubber, D.; Gray, N. F., Replacement of chemical oxygen demand (COD) with total organic carbon (TOC) for monitoring wastewater treatment performance to minimize disposal of toxic analytical waste. *J. Environ. Sci. Health Part A-Toxic/Hazard. Subst. Environ. Eng.,* **2010,** *45* (12), 1595-1600.

[7] Kayaalp, N.; Ersahin, M. E.; Ozgun, H.; Koyuncu, I.; Kinaci, C., A new approach for chemical oxygen demand (COD) measurement at high salinity and low organic matter samples. *Environ. Sci. Pollut. Res.,* **2010,** *17* (9), 1547-1552.

[8] Chudoba, J.; Zeis, K., Kinetics of Oxidation of Lower Aliphatic Amines and Pyridine Derivatives by the Dichromate Method. *Acta hydrochimica et hydrobiologica,* **1975,** *3* (3), 275-282.

[9] Zhao, T.; Sun, G., Hydrophobicity and antimicrobial activities of quaternary pyridinium salts. *Journal of Applied Microbiology,* **2008,** *104* (3), 824-830.

[10] Welton, T., Room-Temperature Ionic Liquids. Solvents for Synthesis and Catalysis. *Chemical Reviews,* **1999,** *99* (8), 2071-2083.

[11] Cypris, M.; Sýkora, V.; Francová, J. In *Stanovení CHSK vybraných kvarterních pyridiniových solí*, Hydroanalytika 2009, Hradec Králové, Sýkora, V.; Kujalová, H., Eds. Hradec Králové, 2009; pp 211 - 214.

[12] Sýkora, V., Stanovení chemické spotřeby kyslíku dichromanem draselným ($CHSK_{Cr}$), „semimikrometoda“. In *Analytika vody*, Horáková, M., VSCHT Praha: 2003; pp 269-272.

[13] 5220 Chemical oxygen demand (COD). In *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 21 ed.; Amer. Publ. Health Assoc.: Washington, 2005; pp (5)14-(5)19.

KVALITA SRÁŽKOVÉ VODY V OBLASTI LUČNÍ HORA – STRÁŽNÉ

Nina Strnadová, Jaroslav Andrle*, Martina Říhová

Ústav technologie vody a prostředí, VŠCHT Praha, Technická 5, 166 28 Praha 6
**Správa Krkonošského národního parku, Dobrovského 3, 543 01 Vrchlabí*
nina.strnadova@vscht.cz

ABSTRAKT

Práce se zabývá dvouletým hodnocením kvality srážkových vod v Krkonošském národním parku (období květen 2009 až listopad 2010), přičemž hodnotící intervaly jsou čtrnáctidenní. V textu je zpracován pouze rok 2010. Pozornost je věnována 6 odběrovým místům umístěných po 100 m n. m. v oblasti Luční hora – Strážné. Prakticky se jedná o odběry srážkové vody na Luční hoře, Bufetu na Rozcestí, Adolfce, Lahrovkách, Lahrbushi a v lomu ve Strážném. K hodnotícím ukazatelům patří organické látky, hodnota pH a konduktivita, vybrané kationty a anionty, především sírany a dusičnany. Odběrová místa představují zásobníky se stejnou definovanou sběrnou plochou, aby bylo možné porovnávat i objem akumulované vody a vyhodnotit, zda některý ze zvolených profilů se nachází např. ve srážkovém stínu.

ÚVOD

Kvalita srážkové vody může značně ovlivnit rovnováhu pevninských vodních ekosystémů. Z těchto důvodů byla věnována pozornost i hodnocení kvality srážkových vod v Krkonošském národním parku. V případě extrémního složení mohou srážky způsobit výrazné výkyvy v hodnotě pH jak půd, tak povrchových vod, ale mohou významně ovlivnit i chemické složení půd a povrchových vod. V důsledku toho mohou přispět k zásadnímu porušení rovnováhy ekosystémů s fatálními následky. Lze uvažovat například o narušení vegetace (postupné druhové ochuzování), nebo o erozivním či toxickém působení srážek. Nelze opomenout, že srážky jsou pro ekosystémy zdrojem některých biogenních prvků, především dusíku a fosforu.
Vzorky srážkových vod byly odebírány na šesti odběrových místech v pravidelných čtrnáctidenních intervalech. Jedná se o kapalné srážky, tudíž první a poslední odběry byly prováděny v období, kdy přístup k odběrovým místům ještě nezamezila sněhová pokrývka. Odběrová místa se nachází na transektu Luční hora – Strážné v rozmezí nadmořských výšek cca 800 – 1500 m. n. m.

Atmosférické vody

Mezi atmosférické vody řadíme všechny druhy vod z ovzduší bez ohledu na jejich skupenství. Srážky lze rozdělit na kapalné a tuhé. Množství srážek se vyjadřuje většinou srážkovou výškou (mm). Jeden milimetr srážek odpovídá 1 l vody spadlému na plochu 1 m^2. Úhrn srážek je celková výška srážek spadlých na danou plochu za uvažované období. V České Republice průměrně spadne za rok 700 mm srážek, v Krkonoších 800 – 1400 mm.

Chemické složení srážek

Chemické složení srážek se utváří v oblaku, ale i pod oblakem, kde dochází k vymývání aerosolů a jiných látek. Nemalý vliv na složení srážek má lokalita, znečištění a složení ovzduší, které není vždy stabilní, ale i úhrn srážek, jejich trvání a intenzita. Základní chemické složení odpovídá z kvalitativního hlediska základnímu složení podzemních a povrchových vod v dané oblasti, jsou zde však určité rozdíly kvantitativní. Hodnota celkové mineralizace je u srážek neznečištěných antropogenní činností obvykle pod 10 mg/l a někdy i menší než 1 mg/l. U srážek znečištěných antropogenní činností se může pohybovat v desítkách mg/l.

V atmosférických vodách jsou převážně z kationtů nejvíce zastoupeny amonné ionty a poté vápník, což je hlavní rozdíl od složení vod podzemních a povrchových. Anionty jsou nejčastěji zastoupeny v pořadí sírany, dusičnany, chloridy a fluoridy. Hydrogenuhličitany se nacházejí většinou v minimální koncentraci, jednak z důvodu nižších hodnot pH, ale i malé hodnoty iontové síly.

Chloridy se do vzduchu dostávají vulkanickou činností, z kapek mořské vody nebo ze spalování plastů.

Sloučeniny síry jsou v ovzduší většinou ve formě SO_2 ze spalování paliv nebo z vulkanické činnosti. Se sloučeninami dusíku mají za důsledek acidifikaci atmosférických a povrchových vod.

Sloučeniny dusíku jsou v atmosféře zastoupeny oxidy dusíky, jejichž směs se označuje jako NO_X. Vznikají při spalování paliv, při elektrických výbojích v atmosféře (bouřková činnost), ale nalezneme je i ve výfukových plynech. Společně s uhlovodíky vytváří fotochemický smog.

Amoniakální dusík nalezneme v atmosférickém aerosolu. Do ovzduší se dostává při mikrobiálním rozkladu organické hmoty, při spalovacích procesech či z hnojiv.

Sloučeniny uhlíku jsou v ovzduší nejvíce zastoupeny oxidem uhličitým, který se uvolňuje při spalování paliv. Je důležitý při vzájemném působení mezi atmosférou a hydrosférou, ale je nežádoucí z hlediska působení na klima (skleníkový efekt).

Organické uhlíkaté látky se nejčastěji do ovzduší dostanou z výfukových plynů a spalin. Hojně jsou zastoupeny uhlovodíky a polycyklické aromatické sloučeniny, které se podílejí na produkci smogu.

V souvislosti s atmosférickými vodami je nutné uvést i tzv. podkorunové srážky. Vyskytují se v zalesněných oblastech a tvoří se z odkapávající vody stékající zejména ze stromů. V korunách jehličnatých stromů bývá zachyceno 20 – 50 % srážek. V porovnání se srážkami na volném prostranství dosahují podkorunové srážky vyšších koncentrací analytů, jelikož dochází k vzájemnému působení mezi suchou depozicí zadrženou v koruně stromů i na jejich kmenech. Podkorunové srážky jsou obvykle kyselejší, mají nižší hodnotu pH, vyšší konduktivitu a dosahují vyšších koncentrací draslíku a hořčíku než srážky na volném prostranství. Dlužno dodat, že podkorunové srážky v rámci tohoto experimentu měřeny nebyly.

ODBĚROVÁ MÍSTA

Odběrová místa byla zvolena ve vzdálenosti cca 100 výškových metrů a odpovídala odběrovým místům, na kterých byla prováděna analýza srážkových vod pracovníky KRNAP již od roku 1985. Umístění odběrových míst je zřejmé z obr. 1, na obr. 2 a 3 jsou zobrazeny odběrové stanice. Každá odběrová stanice sestává z ocelového stojanu, který drží plastovou nálevku o jednotném průměru na všech odběrových místech. Voda z nálevky je pomocí silikonové hadice svedena do plastového pětilitrového kanystru, který je obalen hliníkovou folií a částečně zapuštěn do země. Hrdlo kanystru je z důvodu minimalizace odparu potaženo potravinářskou fólií tak, že těsně objímá vsunutou hadici.

Obr. 1 Odběrová místa – transekt Luční hora – Strážné

Nejníže položené odběrové místo se nachází v lomu ve Strážném, následuje odběrné místo Lahrbusch, poté odběrné místo na luční enklávě Lahrovy boudy, dále pak místo poblíž boudy Adolfka, místo u Bufetu na Rozcestí a konečně nejvýše položené odběrové místo v sedle mezi Luční a Studniční horou. Všechna tato odběrová místa kopírují historickou tzv. Slezskou stezku, vedoucí z Vrchlabí přes Luční boudu do Polska.

Lom Strážné

Odběrové místo je umístěno cca 800 m n. m. v prvním patře nad bývalým mramorovým lomem, na okraji enklávy Hříběcí boudy. Jedná se o volnou travnatou plochu.

Lahrbusch

Lesní porost mezi Lahrovými a Hříběcími boudami v nadmořské výšce cca 1000 m. Odběrové místo se nachází na odlesněném palouku pokrytém bylinným patrem.

Lahrovky (Lahrovy boudy)

Odběrové místo leží zhruba 4 km severně od Strážného ve středních Krkonoších. Nachází se na luční enklávě v cca 1100 m n. m.

Adolfka

Na rozhraní předních a zadních Rennerovek v blízkosti horské boudy Adolfka se nachází v cca 1200 m n. m. stejnojmenné odběrové místo. Odběrová stanice je umístěna v pozvolném svahu, jehož povrch tvoří souvislé bylinné patro s vtroušenými juvenilními jedinci smrku ztepilého.

Bufet na Rozcestí

Na významné křižovatce tří turistických cest Krkonoš se nachází bouda Bufet na Rozcestí, v jejíž blízkosti je v cca 1300 m n. m. stejnojmenné odběrové místo. Odběrová stanice je umístěna na náhorní planině u horní hranice lesa, kde převládá smrk s vtroušenou klečí.

Luční hora

Luční hora je na východě oddělena od Studniční hory sedlem, kde se v cca 1500 m n. m. nachází nejvýše položené odběrové místo. Odběrová stanice je situována uprostřed typické arkto-alpínské tundry vysoko nad hranicí lesa, bez výskytu kleče.

Obr. 2 Odběrové místo – Luční hora

Obr. 3 Odběrové místo – Lahrovky

Jak bylo výše uvedeno, pozornost je zaměřena na vyhodnocení základního chemického složení srážkových vod pomocí ukazatelů: hodnoty pH, konduktivity, koncentrace dusičnanů, síranů, fosforečnanů, chloridů, hydrogenuhličitanů, amonných iontů, hodnoty UV_{254} a koncentrace celkového organického uhlíku TOC. Vzhledem k tomu, že sběrná nálevka má přesně definovanou plochu, voda je akumulována ve sběrné nádobě a odběry jsou pravidelně prováděny ve čtrnáctidenním intervalu, je možné okamžité hodnoty sledovaných ukazatelů v základních jednotkách přepočítat na množství daného ukazatele *P* spadlé na definovanou plochu a čas, resp. je možné jeho hodnotu vyjádřit v mg/m^2.den. Za tím účelem je používán vztah:

$$P = \frac{\rho \cdot V \cdot 10^4}{S \cdot t}$$

kde: ρ [mg/l, µg/l] je výsledek stanovení ukazatele,

V [l] je množství srážek,

t [den] je počet odběrových dní,

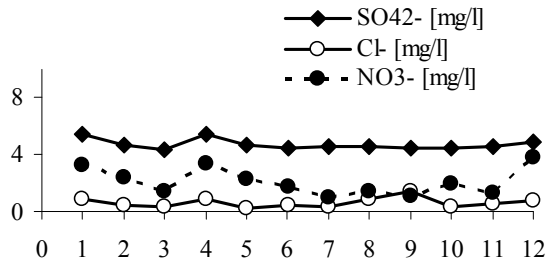
S [cm^2] je záchytná plocha (průměr nádoby 21 cm, S = 346,185 cm^2).

VÝSLEDKY MONITORINGU

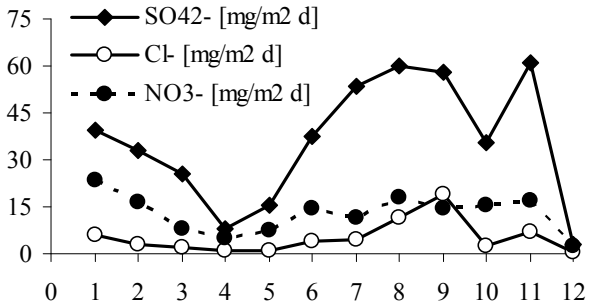
Uvedený přepočítávací vztah nabývá na významu především při posuzování plošného zatížení horské půdy srážkovou činností a je zřejmé, že významný vliv bude mít objem spadlých srážek. Z toho důvodu je uveden v tabulce 1 úhrn spadlých srážek na tom kterém odběrovém místě. V souvislosti s tím, jsou pak na obr, 4 a 5 pro odběrové místo Luční hora uvedena data pro aktuální hodnoty vybraných aniontů a data pro přepočtené hodnoty podle výše uvedeného vztahu. I když ve srovnání odběru 29. června (minimální objem srážek) a 7. října (velký objem srážek) byl objem v říjnu 8,9 x vyšší, plošná hodnota zatížení např. síran byla v říjnu pouze 7,4 x vyšší (aktuální koncentrace síranů byla v říjnu nižší, představovala 4,56 mg/l, červnová hodnota byla 5,45 mg/l).

Tabulka 1 Objem vzorků na jednotlivých stanovištích - 2010

datum	19.5.	2.6.	16.6.	29.6.	14.7.	28.7.	13.8.	25.8.	8.9.	22.9.	7.10.	20.10.
Luční hora	3,50	3,40	2,82	0,73	1,60	4,10	5,66	6,34	6,34	3,88	6,50	0,30
Bufet na Roz.	2,75	3,88	4,36	0,59	1,56	5,24	5,98	5,44	6,34	1,76	6,26	0,21
Adolfka	2,63	3,62	2,80	0,30	0,82	4,70	5,92	6,24	6,34	3,10	6,24	0,20
Lahrovky	2,75	3,70	3,06	0,38	0,62	4,40	5,48	6,42	6,18	3,04	5,94	0,17
Lahrbush	2,75	3,58	2,88	0,45	0,50	4,36	5,92	5,96	5,78	2,64	5,62	0,26
Strážné	2,33	3,04	2,28	0,46	0,38	3,78	6,15	6,15	5,52	2,58	5,62	0,52

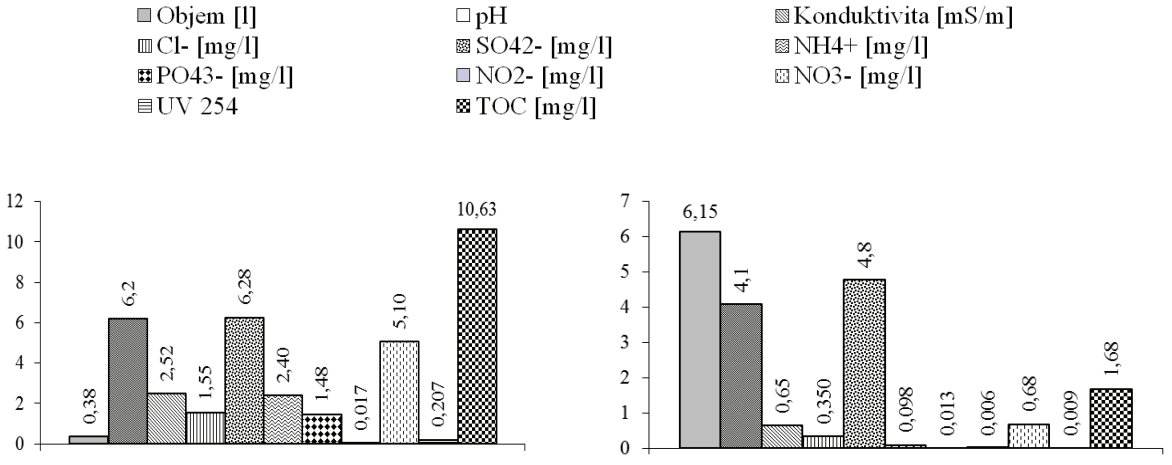


Obr. 4 Naměřená data – Luční hora 2010



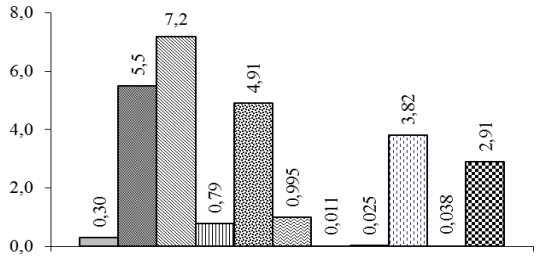
Obr. 5 Přepočtená data – Luční hora 2010

Průběh všech sledovaných ukazatelů na nejníže a nejvýše položeném odběrovém místě sledovaného transektu znázorňují obrázky 6 až 9, přičemž v popisu obrázku v závorce je uveden 14 denní úhrn naměřených srážek. Jednotlivé ukazatele jsou vyjýdřeny rozlišením:

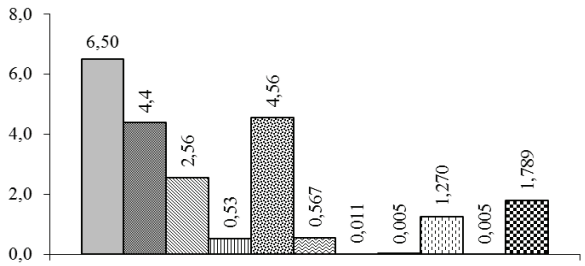


Obr. 6 Naměřená data – Lom Strážné 14.7. (0,38 l)

Obr. 7 Naměřená data – Lom Strážné 25.8. (6,15 l)



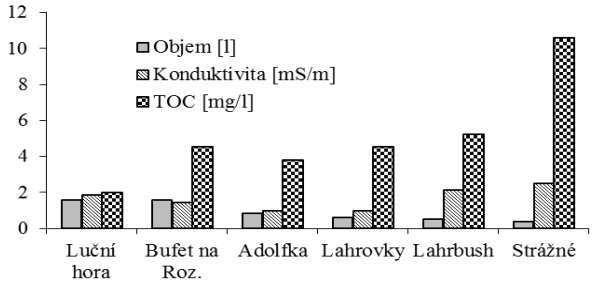
Obr. 8 Naměřená data – Luční hora 20.10. (0,3 l)



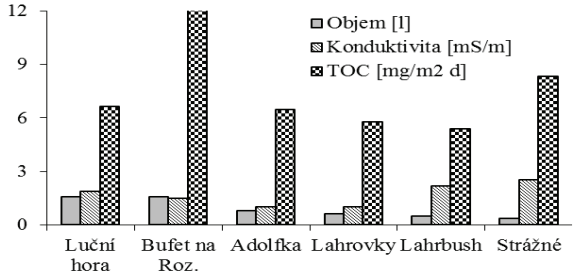
Obr. 9 Naměřená data – Luční hora 7.10. (6,5 l)

Z uvedených obrázků je zřejmé, že čím větší objem spadlých srážek, tím nižší hodnota sledovaného ukazatele. Snížení u všech ukazatelů však není stejné.

Zajímavý je i průběh hodnot sledovaných ukazatelů na celém transektu – viz obr.10 a 11. Pro porovnání byly pro červencový odběr 14.7.2010 vybrány dva charakteristické ukazatele, koncentrace TOC a hodnota konduktivity (max. hodnota TOC pro Bufet na rozcestí na obr. 11 je 14,5 mg/m^2).



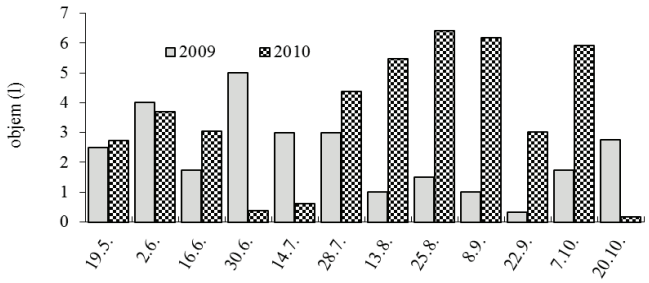
Obr. 10 Naměřená data – transekt 14.7.2010



Obr. 11 Přepočtená data – transekt 14.7.2010

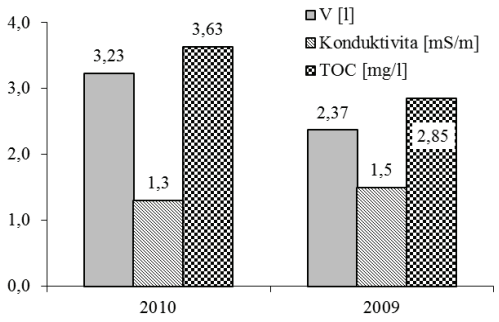
Z obrázků je zřejmé, že z naměřené hodnoty ukazatele nelze jednoznačně usuzovat na plošné zatížení daným ukazatelem, významnou roli hraje objem spadlých srážek.

Vzhledem k tomu, že monitoring srážkových vod probíhá v letošním roce již třetí rok, jsou kompletně zpracována data za rok 2009 a 2010. Srážkový úhrn v obou letech byl rozdílný, v roce 2010 byla průměrná roční hodnota srážek na celém sledovaném transektu cca o 35 % vyšší. Hodnoty objemu srážek za rok 2009 a 2010 např. pro odběrové místo Lahrovky (1100 m n.m.) jsou zřejmé z obr. 12. Datum odběrů souvisí s tabulkou 1, kde jsou uvedeny odběry pro rok 2010. V roce 2009 se datumy liší pouze o jeden, např. datum 14.7.2010 odpovídá datu 13.7.2009.

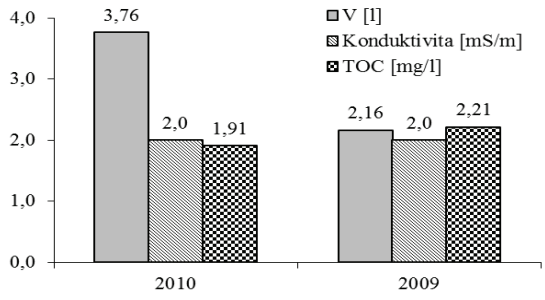


Obr. 12 Objemy spadlých srážek – Lahrovy boudy (14 denní interval mezi měřením)

Porovnání průměrných hodnot vybraných ukazatelů koncentrace TOC a hodnoty konduktivity za oba roky je pro nejvýše a nejníže položené odběrové místo uvedeno na obr. 13 a 14.



Obr. 13 Naměřená data – Lom Strážné



Obr. 14 Naměřená data – Luční hora

Pokládáme za významné uvést i průměrnou hodnotu pH srážek na sledovaném transektu, která se v roce 2009 pohybovala v intervalu 4,1 až 4,6 a v roce 2010 v intervalu 4,4 až 5,0. Minimální hodnota 3,9 byla naměřena v roce 2009 a v roce 2010 to byla hodnota 3,6. Maximální hodnota v roce 2009 byla srovnatelná s rokem 2010 a představovala hodnotu 6,3.

ZÁVĚR

Výše uvedené závislosti jsou pouze malým výčtem ze všech možných kombinací, které lze pro zpracování tak širokého souboru experimentálních dat použít. Zajímavé by bylo i vyhodnocení základních statistických charakteristik sledovaných ukazatelů, trendy hodnot na jednotlivých odběrových místech, či vzájemný vztah konduktivity srážek a koncentrace síranů, chloridů a dusičnanů. S ohledem na hodnotu pH srážek je koncentrace hydrogenuhličitanů nulová, nebo ve srovnání např. s dusičnany minimální. Stejně tak, jak bylo uvedeno u hodnocení povrchové vody horního toku Labe, je možné i zde uvést:

- Jedná se o první práci, která podrobně (ve čtrnáctidenních intervalech po dobu zatím dvou let) hodnotí chemickou charakteristiku srážkové vody na transektu Luční hora – Strážné.
- Při vyhodnocení jak časového sledu depozic, tak výškového rozlišení podle nadmořské výšky odběrného místa lze určit jako jedinou významnou závislost, závislost hodnot ukazatelů na celkovém množství srážek v daném odběrovém místě.
- Lze konstatovat, že závislosti sledovaných ukazatelů ve stejném období nejsou zásadně ovlivněny nadmořskou výškou a umístěním odběrné stanice. Nepatrné rozdíly jsou dány pravděpodobně dálkovým přenosem znečištění, místními podmínkami, inverzní situací atd. Objevuje se zde i tendence zvyšujícího se znečištění s rostoucí dráhou kapiček, a tím snižující se nadmořskou výškou jednotlivých stanic. Nebylo prokázáno, které z těchto i dalších faktorů má dominantní vliv.
- Stanovení obsahu organických látek bylo prováděno i pomocí hodnoty $CHSK_{Mn}$. Poměrná hodnota skupinových ukazatelů TOC a $CHSK_{Mn}$ na všech odběrových místech byla však přibližně konstantní, tudíž lze předpokládat, že sledované srážkové vody mají stejný charakter organického znečištění.

PODĚKOVÁNÍ

Příspěvek byl vypracován s podporou projektu VZ MSM 6046137308.

REJSTŘÍK AUTORŮ

A
Andrle J. 45, 195

B
Bartáček J. 115
Božíková J. 95
Březová E. 31

C
Cypris M. 189

Č
Čadek V. 125

D
Doubravová P. 169

F
Fremrová L. 17

G
Gregor M. 161
Grubl J. 189

H
Handová V. 161
Hladíková Z. 45
Horváth M. 95, 175

Ch
Chrastina D. 109, 165, 183

J
Jobánek R. 109, 129, 147, 155, 169
Jokešová M. 147, 155, 169
Jursíková K. 109, 155, 169

K
Kadlčíková M. 183
Kassai A. 95, 175, 179
Klokočníková, E. 27
Kočová A. 75
Kollerová Ľ. 103
Kordík A. 135
Kořínek P. 31
Kožíšek F. 5, 125
Krýsl S. 11
Kuchyňová D. 165
Kujalová H. 65
Kútniková D. 95
Kvíčalová M. 155, 169

M
Mareš D. 83
Martinková P. 109, 129, 147, 155, 169
Medek J. 43
Medek P. 109

N
Nižnanská A. 31

O
Očenášková V. 109, 155, 169

P
Pitter P. 23, 65
Pokorná Z. 147, 161
Pomykačová I. 125
Pospíchalová D. 129, 147
Procházka J. 115
Pumann P. 5

R
Rajczyková E. 179
Rodríguez Muñoz Y. 115

Ř
Říhová M. 195

S
Smrčková Š. 135
Stinglová K. 57
Strnadová N. 45, 195
Süssenbeková H. 155, 169
Svobodová A. 169
Svobodová V. 125
Sýkora V. 65, 189
Sýkorová E. 103

Š
Šuster L. 179

T
Tkáčová J. 95, 175, 179
Trčková I. 57
Truxová I. 165, 183

V
Vacková L. 115
Válek J. 75
Váňa M. 129
Vilímec, J. 53
Vohralík G. 141
Vyvialová H. 83

W
Wanner J. 115

Z
Zelený L. 39

INZERCE

VYSOKÁ ŠKOLA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ V PRAZE

ÚSTAV TECHNOLOGIE VODY A PROSTŘEDÍ

Ústav technologie vody a prostředí na VŠCHT Praha patří k předním vysokoškolským pracovištím v oboru technologie vody, vodního hospodářství obcí i průmyslu a ochrany vod nejen v České republice, ale i v Evropské unii. Vědeckovýzkumná činnost ústavu je již od jeho založení zaměřena na problematiku:

- **anaerobního čištění odpadních vod,**
- **aerobního čištění odpadních vod,**
- **průmyslových odpadních vod,**
- **hydrobiologie a mikrobiologie,**
- **úpravy vody,**
- **hydrochemie a analytiky vody.**

Kromě výuky zajišťujeme poradenství a kursy v těchto oblastech:

- **čištění městských i průmyslových odpadních vod,**
- **biologická rozložitelnost organických látek,**
- **zpracování kalů,**
- **mikrobiologické hodnocení vod a kalů,**
- **analytika vody,**
- **úprava pitných a užitkových vod.**

www.vscht.cz/tvp

CSlab spol. s r.o.

Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7003
akreditovaný ČIA podle normy ČSN EN ISO/IEC 17043

Držitel OSVĚDČENÍ O AKREDITACI č. 183 / 2011

CSlab spol. s r.o.
Bavorská 856/14, Praha 5, PSČ: 155 00
Telefon: 224 453 124
Fax: 224 452 237
Mobil: 777 970 693

E-mail: cslab@cslab.cz
http://www.cslab.cz

Česká asociace pro vodu CzWA (Czech Water Association)

CzWA sdružuje odborníky, společnosti a instituce s hlavním cílem dosažení efektivního a udržitelného rozvoje v celé oblasti vodního hospodářství a ochrany vodního prostředí. Předmětem činnosti CzWA je zejména:

- výměna poznatků a zkušeností jak mezi členy, tak i s odborníky mimo členskou základnu;
- odborná výchova vlastních členů i odborníků nečlenů;
- přenos odborných poznatků ze zahraničí do ČR;
- vydávání odborných publikací a dalších materiálů v tištěné i el. podobě;
- organizace seminářů, kolokvií, školení, konferencí, výstav a odborných exkurzí;
- aktivní účast při normotvorné a metodické činnosti;
- reprezentace členů CzWA v českých a zahraničních sdruženích stejného či obdobného odborného zaměření a aktivní spolupráce s těmito sdruženími;
- spolupráce s orgány veřejné a státní správy;
- podpora požadavků svých členů, jenž jsou v souladu s etickým kodexem CzWA;
- poskytování expertních, poradenských a konzultačních služeb.

MERCK MILLIPORE

Sustainable Protection
Testy Spectroquant®

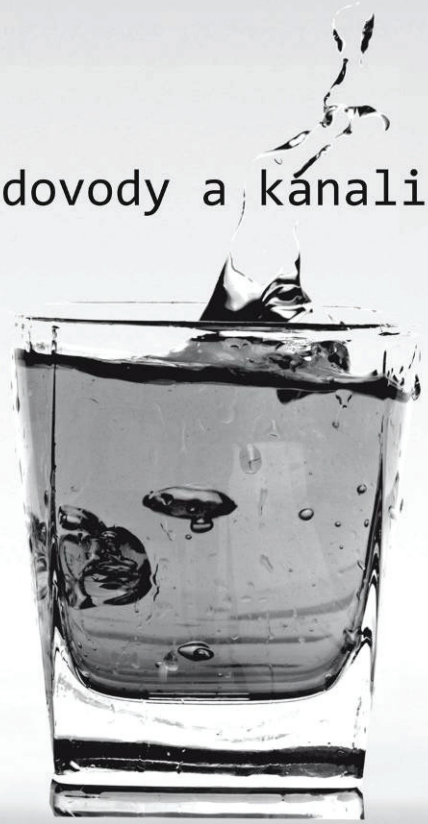
- Spolehlivá a ekonomická alternativa klasických hydroanalytických metod
- Snadné provedení testu a bezpečná manipulace
- Podpora pro validaci/verifikaci jednotlivých postupů Spectroquant®
- Podpora pro zajištění jakosti analytických výsledků

Poskytujeme pokyny-návody pro likvidaci použitých souprav Mobilní analytiky.
Zajišťujeme likvidaci použitých kyvetových testů Spectroquant® zdarma a to kdykoli si ji objednáte – 24 hodin denně.
Stačí jen vyplnit Žádost o poukaz k likvidaci.
Ke stažení na www.mecomm.cz

www.merck-chemicals.cz
www.mecomm.cz

Merck Millipore je divize společnosti MERCK

Pražské vodovody a kanalizace, a.s.



Chraňme si přírodu,
ať můžeme pít zdravou vodu.

Do kanalizace nepatří

Olej z fritézy | Barvy, laky | Léky | Výrobky neohleduplné k ŽP | Pesticidy

Znečišťují životní prostředí a mohou ohrozit zdroje vody.

Pražské vodovody a kanalizace, a.s.
Zákaznické centrum • Dykova 3 • Praha 3
E-mail: info@pvk.cz • www.pvk.cz
Call centrum PVK: 840 111 112

VEOLIA VODA

LABORATOŘ
MORAVA
Laboratoř MORAVA s.r.o.
Oderská 456 - 742 13 - STUDÉNKA
ZL č. 1266 akreditovaná ČIA
Komplexní rozbory
vod, odpadů, krmiv a potravin
Tel.: 556 400 333 - Fax: 556 413 092
www.laborator-morava.cz

SIAD

V našich technických plynech je perla: touha po kvalitě.

Acetylen
Kyslík
Dusík
Argon
Oxid uhličitý
Vodík
Speciální plyny
Medicinální plyny
Svařovací technologie, materiály a pomůcky

Sídlo společnosti:
SIAD Czech spol. s r.o.
435 22 Braňany u Mostu, č..p. 193

Tel.: 476 765 000
Fax: 476 129 286
www.siad.cz - siad@siad.cz

Regionální kanceláře:

Praha
Tel.: 235 097 520
Fax: 235 097 525

Ostrava
Tel.: 596 624 837
Fax: 596 624 837

Hradec Králové
Tel.: 495 716 141
Fax: 495 408 733

Plzeň
Tel.: 377 460 187
Fax: 377 460 187

Děčín
Tel.: 412 530 206
Fax: 412 530 206

Jihlava
Tel.: 567 301 534
Fax: 567 301 534

České Budějovice
Tel.: 383 321 121
Fax: 383 321 121

Ústí nad Orlicí
Tel.: 465 557 185
Fax: 465 557 185

Olomouc
Tel.: 587 433 224
Fax: 587 433 224

Rajhradice
Tel.: 516 102 011
Fax: 547 232 996

Uherské Hradiště
Tel.: 572 545 037
Fax: 572 545 037

Monitoring s.r.o.

Novákových 6, Praha 8, 180 00,
tel.: 266 316 272, tel., fax 266 312 843
E-mail: Moni@moni.cz, htpp://www.moni.cz

Analytická laboratoř
akreditovaná ČIA č.1416

Komplexní laboratorní služby v oblasti ekologie a ochrany životního prostředí:

Rozbory pitných, povrchových, podzemních a odpadních vod a vod umělých koupališť
pro posouzení kvality vod dle platné legislativy
pro identifikaci znečištění nebo původu vod
pro účely vypouštění odpadních vod do vod povrchových

Analýzy zemin, kalů a sedimentů
pro posouzení dle platné legislativy
pro účely sanačních a monitorovacích prací,
ekologických auditů a rizikových analýz
pro identifikaci znečištění

Analýzy odpadů včetně ekotoxikologických zkoušek
pro účely nakládání s odpady dle platné legislativy,
pro hodnocení nebezpečných vlastností odpadů

Odběry vzorků odpadů
kvalifikovanými pracovníky

Akreditované odběry
odpadních, pitných, podzemních a povrchových vod,
vod umělých koupališť, zemin, stavebních materiálů a odpadů