



EVROPSKÁ UNIE
Evropské strukturální a investiční fondy
Operační program Výzkum, vývoj a vzdělávání



Laboratoř environmentální chemie

Ing. Jiří Hendrych, Ph.D.

Ing. Hana Kujalová, Ph.D.

Ing. Jiří Kroufek, Ph.D.

Ing. Viktor Tekáč, Ph.D.



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ V PRAZE**
Fakulta technologie ochrany prostředí



Dílo podléhá licenci Creative Commons 4.0 Česko
Uveďte původ - Zachovejte licenci

PŘEDMLUVA

Návody pro Laboratoř environmentální chemie jsou základním studijním materiálem a pomůckou pro zvládnutí stejnojmenného předmětu na Vysoké škole chemicko-technologické v Praze.

Autoři se snažili jasným způsobem vymezit cíl a účel jednotlivých prací, představit principy s následným popisem prováděných procedur a texty k jednotlivým tématům podat v kontextu širšího významu, a pokud to je možné, s vazbou na provedení v souladu se standardizovanými postupy. V mnoha případech však musely být původní standardizované metodiky pro účel laboratoře a časovou dotaci předmětu modifikovány. Vzhledem k tomu, že se k práci používají automatizované analyzátory, je ve většině případů analytická koncovka uvedena principiálně, seznámení s přístroji a jejich detailní ovládání je předmětem samotné laboratorní práce. Vyspělá instrumentální technika v mnohém usnadňuje a urychluje práci v laboratoři, ale zároveň nesnižuje nároky z hlediska správného zpracování vzorků k analýzám.

Tematicky se snažili autoři vyváženým způsobem pokrýt velmi širokou oblast, přičemž se posluchači seznámí se zpracováním matric pevných, kapalných i plyných a osvojí si procedury analýzy širokého spektra látek a stanovení mnoha ukazatelů, které představují z hlediska environmentální analýzy, chemie a hodnocení vlastností matric stěžejní parametry.

OBSAH

Úloha 1: Vyluhovatelnost podle normovaného postupu a stanovení vybraných parametrů	1
Úloha 2: Mineralizace tuhé matrice a stanovení vybraných těžkých kovů	6
Úloha 3: Stanovení pesticidních látek v environmentální matrici	11
Úloha 4: Adsorbovatelné organicky vázané halogeny v environmentální matrici	16
Úloha 5: Acidobazické chování matric, titrační křivka materiálu a riziko mobilizace kovů	22
Úloha 6: Aktivovaný kal a jeho využití při testu biodegradability	27
Úloha 7: Sumární stanovení organických látek a měření respirační rychlosti kalu	33
Úloha 8: Stanovení nutrientů, rozpuštěného kyslíku a BSK ₇ v povrchových vodách	41
Úloha 9: Hodnocení agresivity vody mramorovou zkouškou	49
Úloha 10: Stanovení sušiny různými postupy, stanovení ztráty žíháním	53
Úloha 11: Stanovení obsahu uhlovodíků gravimetrickou metodou	59
Úloha 12: Stanovení obsahu uhlovodíků C ₁₀ až C ₄₀ plynovou chromatografií	63
Úloha 13: Fotometrické stanovení formaldehydu v ovzduší	71
Úloha 14: Stanovení oxidů dusíku a ozonu v ovzduší	74

Úloha 1:

VYLUHOVATELNOST PODLE NORMOVANÉHO POSTUPU A STANOVENÍ VYBRANÝCH PARAMETRŮ

Cílem práce je osvojit si předúpravu vzorku materiálu, standardizovanou vyluhovací proceduru a analytické metody pro stanovení vybraných parametrů určených z množiny ukazatelů limitovaných platnou legislativou pro určování třídy vyluhovatelnosti odpadů.

Předmětem výluhových zkoušek budou materiály typu průmyslových odpadů, zejména se bude jednat o průmyslové odprašky, solidifikát odpadu, průmyslový kal, kontaminovanou zeminu, popílek, strusku.

Účel a princip

Vyluhování lze charakterizovat jako proces, kdy dochází k přechodu složek z exponované matrice do kapalně fáze. Schopnost složek uvolňovat se do kapalně fáze je dána jejich rozpustností v loužící kapalině a vlivem fyzikálně-chemických podmínek. Vyluhovacích procedur pro charakterizaci environmentálních matric a odpadů se používá celá řada, mnohé z nich jsou zakotvené v tuzemských a zahraničních standardizovaných postupech. Účelem vyluhovacích zkoušek je jednak ověření vlastností louženého materiálu z hlediska uvolňování složek a porovnání kvality výluhu s danými kritérii, dále potom jsou vyluhovací zkoušky nástrojem pro ověřování chování materiálů za specifických podmínek, například v souvislosti s využíváním odpadů, predikcí jejich chování v určitém prostředí. Jednotlivé postupy a metodiky se liší zejména v použité zrnitosti exponovaného materiálu, relativním množství kapalně loužící fáze, její hodnoty pH a obsahu solí, dále způsobu kontaktu fází, vsádkovém či průtočném uspořádání a dalších parametrech.

V souvislosti s potřebami charakterizace vyluhovatelnosti odpadů a následnou možností ukládání odpadů (odpadů po úpravě) na skládky odpadů jsou v současnosti v ČR stanoveny legislativní požadavky uvedené ve vyhlášce č. 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady, která mimo jiné udává limity pro jednotlivé třídy vyluhovatelnosti. Limitní koncentrace ukazatelů jsou uváděny pro parametry: hodnota pH, rozpuštěné látky, fenolový index, rozpuštěný organický uhlík (DOC), chloridy, sírany, fluoridy a následující těžké kovy As, Ba, Cd, Cr_{celk.}, Cu, Hg, Ni, Pb, Sb, Se, Zn, Mo. Konkrétní limitní hodnoty pro jednotlivé parametry a třídy vyluhovatelnosti lze nalézt konkrétně v příloze č. 2 uvedené vyhlášky, která rovněž uvádí standardizovanou metodiku pro přípravu vodného výluhu.

Postup vyluhovací zkoušky je přesně stanoven normou ČSN EN 12457 – 4 Charakterizace odpadů – Vyluhování - Ověřovací zkouška vyluhovatelnosti zrnitých odpadů a kalů. V následujícím odstavci jsou stručně přiblíženy a shrnuty podmínky vyluhovací zkoušky podle uvedené normy.

Postup provedení

Zkouška vyluhovatelnosti je prováděna na materiálech s velikostí částic menší než 10 mm, proto u některých z testovaných odpadů bude nutné nejprve upravit velikost částic pomocí palice na dezintegrační desce a prosít přes síto s velikostí otvorů 10 mm (Obr. 1-1). Dále je nutné u materiálů stanovit sušinu pro určení správné hmotnosti vsádky vzhledem k dále uvedenému požadavku.

Předupravený vzorek se převede v množství cca 100 g do vzorkovnice o objemu 1000 ml, zváží se a zaznamená přesná hmotnost, poté se vzorek zalije destilovanou vodou tak, aby poměr kapalné fáze a pevné fáze (vztaženo na sušinu) činil $10 \text{ l/kg} \pm 2 \%$, přesná hmotnost přidané destilované vody se opět zaznamená.

Těsně uzavřené vzorkovnice se umístí na třepačku typu hlava - pata, pevně a precizně se připevní gumovými fixačními popruhy do přihrádek rotačního elementu (Obr. 1-2) a nechají třepat 24 hodin při rychlosti otáčení 6,5 ot./min. Po 24 hodinách se vzorkovnice sejmou, obsah se ponechá pár minut sedimentovat pro snazší separaci a následně se výluh zfiltruje přes membránový filtr s velikostí pórů $0,45 \mu\text{m}$ za použití podtlakového zařízení s filtračním nástavcem Millipore (Obr. 1-3). Pro účel analýz je třeba získat alespoň 100 ml filtrátu.

Podle charakteru stanovovaných parametrů je třeba získat filtrát bez úpravy a konzervovaný. Filtrát se tedy rozdělí do dvou vzorkovnic na dva přibližně stejné podíly, první se ponechá bez úpravy a druhý se okyselí několika kapkami koncentrované HNO_3 do silně kyselé oblasti.

Bezprostředně po separaci se změří hodnota pH a dále se stanoví obsah vybraných parametrů – chloridů, síranů a obsah rozpuštěného organického uhlíku.



Obr. 1-1: Předúprava materiálu – drcení na požadovanou velikost částic



Obr. 1-2: Uchycení na třepačku hlava-pata



Obr. 1-3: Filtrační nástavec Millipore

Princip prováděných analýz

Sušina

Sušina vzorku náleží mezi základní charakteristiky materiálu, je stanovena sušením vzorku na Petriho misce v sušárně při 105°C po dobu 4 hodin, resp. do konstantní hmotnosti. Vlhkost, resp. sušina se vypočte podle zjištěného úbytku hmotnosti vzorku a vyjádří procentuálně.

Množství vzorku podrobeného sušení se volí řádově v jednotkách gramů podle jeho charakteru a homogenity.

Hodnota pH

Měření je založené na elektrochemickém principu. Používá se kombinace dvou elektrochemických článků, kdy potenciál jednoho článku je referenční a druhý potenciál je závislý na koncentraci vodíkových iontů v roztoku obklopujícím elektrodu. Při ponoření elektrody do roztoku se na jejích svorkách ustálí napětí a přístroj podle kalibračních údajů zobrazí aktuální hodnotu pH. Před měřením je třeba ověřit správnost odezvy pomocí pufrů nebo recalibrovat.

Další analytické metody stanovení jsou představeny principiálně, použité vybavení představuje plně automatické analyzátory a konkrétní práce s přístroji pro kapilární zónovou elektroforézu (Agilent CE 7100 – Obr. 1-4) a stanovení uhlíku (Elementar Vario TOC Select – Obr. 1-5) a práce s autosamplrem budou vysvětleny názorně v laboratoři. Konkrétní konstrukce přístrojů, funkčních prvků a celků bude vysvětlena před provedením analýz, rovněž i seznámení s řídicím software a způsobem integrace křivek odezvy detektorů. Práce s analyzátory probíhá pouze pod dozorem vyučujícího.

Kapilární zónová elektroforéza

Metoda kapilární zónové elektroforézy je používána mimo jiné pro zjišťování obsahu aniontů v kapalných vzorcích.

Kapilární zónová elektroforéza je elektromigrační analytická metoda, která spočívá v migraci elektricky nabitých částic ve stejnosměrném elektrickém poli. Kapilára je naplněna elektrolytem, který neovlivňuje složení vzorku a umístěna v tzv. kazetě v temperovaném prostoru přístroje. Konce kapiláry jsou ponořeny do zásobníků s elektrolytem společně s elektrodami, mezi které se vkládá stejnosměrné napětí až 30 kV. Vzorek se po nadávkování do kapiláry (dávkování tlakem) separuje v důsledku různých elektroforetických pohyblivostí částic. Na pohyblivost iontu má vliv zejména jeho velikost, náboj a teplota. Kapilárou prochází paprsek ze zdroje UV záření a směřuje do detektoru (sledování absorpce UV záření) a výstupem je záznam odezvy detektoru v závislosti na čase. Záznam je obdobný jako u chromatogramu, kdy retenční čas píků určuje kvalitu složky a plocha píku kvantitu složky. Kapilára je vyrobená z taveného křemene a potažená ochrannou vrstvou polymeru pro zvýšení mechanické odolnosti. V oblasti průchodu paprsku kapilárou je ochranná vrstva odstraněná stejně jako na koncích kapiláry, které procházejí skrz silikonové víčko měrných vialek.



Obr. 1-4: Přístroj Agilent CE 7100



Obr. 1-5: Přístroj Elementar Vario TOC Select

Na základě proměření odezvy pro kalibrační roztoky a konstrukce kalibrační křivky se vypočte koncentrace chloridů a síranů ve vodném výluhu. Standardy jsou tvořeny komerčně dostupnou směsí aniontů, kde jsou obsaženy anionty o koncentraci 1000 mg/l. Kalibrační rozsah pro sledované analyty je 1 – 50 mg/l u obou sledovaných aniontů.

Stanovení rozpuštěného organického uhlíku

Principem metody je postupné stanovení celkového anorganického (TIC) a celkového uhlíku (TC) ve zfiltrovaném vzorku. Obsah celkového rozpuštěného organického uhlíku je následně stanoven diferenčně pomocí známých hodnot TC a TIC.

Nejprve je vzorek v přístroji okyselen přidavkem zředěné kyseliny fosforečné a dojde k rozkladu přítomných látek obsahujících anorganický uhlík. Vzniklý oxid uhličitý je následně vystřipován proudem syntetického vzduchu a po přečištění a vysušení (odstranění složek absorbujících v IČ oblasti spektra) je proud plynu veden do IČ detektoru. Odezva je úměrná množství TIC.

Následně dojde k injektáži dalšího podílu vzorku a k ohřevu vzorku v křemenném reaktoru až k teplotě 850 °C, kdy jsou organické látky spáleny a přítomné hydrogenuhličitany a uhličitany rozloženy a vzniklý oxid uhličitý je analyzován v proudu syntetického vzduchu po přečištění a vysušení obdobně jako v předchozím kroku. Odezva detektoru je úměrná množství TC.

Na základě proměření odezvy pro kalibrační roztoky a konstrukce kalibrační křivky se vypočte koncentrace TIC/TC/TOC ve vodném výluhu.

Standardy jsou tvořeny uhličitánem sodným a hydrogenftalátem draselným. Z těchto látek je potřeba připravit řadu kalibračních roztoků. K dispozici je připravený zásobní roztok o koncentraci 250 mg/l TIC a 250 mg/l TOC (tzn. 500 mg/l TC). Kalibrační rozsah podle zvolené metody pro měření je 2–50 mg/l TIC a 5 - 100 mg/l TC.

Pro vyhodnocení obsahu hledaných parametrů se využijí standardní funkce MS Excel a nástroje pro lineární regresi. Výsledky se zapíší s ohledem na případné ředění vzorků k analýze.

Literatura

Vyhláška č. 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady. Sbírka zákonů České republiky.

ČSN EN 12457-4. Charakterizace odpadů - Vyluhování - Ověřovací zkouška vyluhovatelnosti zrnitých odpadů a kalů - Část 4: Jednostupňová vsádková zkouška při poměru kapalné a pevné fáze 10 l/kg pro materiály se zrnitostí menší než 10 mm (bez zmenšení velikosti částic, nebo s ním), 2003.

Úloha 2:

MINERALIZACE TUHÉ MATRICE A STANOVENÍ VYBRANÝCH TĚŽKÝCH KOVŮ

Cílem práce je seznámit se s mineralizační procedurou a se stanovením vybraných složek zastoupených ve zpracovávané matrici - těžkých kovů metodou atomové absorpční spektrometrie.

Zpracovávané materiály budou ze skupiny obsahující kontaminované zeminy z průmyslového areálu, smetky, odprašky, sedimenty z vodní nádrže, průmyslový kal, popílek, odpad zpracovaný fyzikálně-chemickým postupem, čistírenský kal, odpad z elektrokoagulace.

Účel a princip

Obsah prvků v materiálu, například těžkých kovů, při hodnocení složení odpadů, kalů či zemin se opírá o metodu kyselinového rozkladu a následnou analýzu mineralizačního roztoku. Jde tzv. rozklad na mokré cestě. Jednotlivé konkrétní procedury rozkladu z hlediska množství a poměru činidel, způsobu ohřevu (klasický, mikrovlnný), době zdržení, použitých nádob, tlakových poměrů (uzavřený tlakový systém v mikrovlnném poli, otevřený systém pod zpětným chladičem) apod., se liší. Volba závisí na dostupném laboratorním vybavení a rovněž na charakteru vzorku. Vzorky obsahující silikáty je potřeba vystavit mineralizačnímu činidlu obsahujícímu kyselinu fluorovodíkovou, ve většině případů se však k rozkladu používá lučavka královská. Pro snadno rozložitelné vzorky, například kaly z elektrokoagulace stačí použití kyseliny dusičné. Jednotlivé postupy jsou předmětem různých normovaných postupů.

Principiálně jde však vždy o mineralizační postup prováděný za specifických podmínek ohřevu a působení silných anorganických kyselin. Potom následuje stanovení vybraných kovů metodou atomové absorpční či emisní spektrometrie, případně atomové emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem nebo hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.

Jako jeden z nenáročných postupů z hlediska instrumentálního vybavení lze uvést například metodu vycházející z metodiky EPA 3050B, kdy je navážka vložena do kádinky a přelita roztokem kyseliny dusičné a zahřívána na topné desce pod hodinovým sklíčkem po určenou dobu, následuje druhý přídavek kyseliny dusičné v koncentrované podobě a další ohřev. Po vychladnutí se přidá určený objem destilované vody a peroxidu vodíku pro proběhnutí peroxidové reakce. Je zřejmé, že tento postup nevyžaduje žádné specifické přístroje a lze ho realizovat téměř v každé laboratoři.

Naopak velkými nároky z hlediska přístrojového vybavení je charakterizován mikrovlnný rozklad podle norem ČSN EN 13657 nebo ČSN EN 13656, pro který je třeba mikrovlnné zařízení s programovatelným regulovatelným výkonem s dobře odvětrávanou kavitou a garantovaným homogenním ohřevem vzorků. Nádobky pro rozklad musejí být vyrobeny z inertního materiálu transparentního pro mikrovlnné záření (nejčastěji teflon, peek),

opatřeny přetlakovým ventilem nebo jiným řešením, které zamezí prasknutí nádoby v případě náhlého zvýšení tlaku. Aparát včetně elektroniky musí být konstruován tak, aby dobře odolával korozivním páram.

Postup provedení

Předúprava testovaného vzorku může zahrnovat podle jeho charakteru homogenizaci, sušení, dezintegraci. Je třeba si připravit dostatečné množství vzorku i pro paralelní stanovení sušiny pro adekvátní kalkulaci výsledků vyjadřujících obsahu prvků.

Varianta A – rozklad v kádinkách na topné desce s kyselinou dusičnou (Obr. 2-1)

Do vysoké kádinky adekvátního objemu se naváží vzorek v množství přesně asi 1 g, vztaženo na sušinu. Ke vzorku se přidá 10 ml zředěné kyseliny dusičné (1:1). Vzhledem k tomu, že jsou přítomné částice mineralizovaného materiálu, není třeba přidávat varné kamínky. Kyselinu je třeba přidávat pomalu a opatrně, v případě materiálu s obsahem uhličitánů či jiných látek, které podléhají bouřlivému rozkladu v přítomnosti kyselin, může dojít k překypění směsi z kádinky. Po odeznění počáteční reakce (pokud probíhá) se směs přiklopí hodinovým sklem a nechá na topné desce probíhat rozklad při 95 °C po dobu 10-15 minut. Po zchladnutí se přidá 5 ml koncentrované kyseliny dusičné a refluxuje se 30 minut. Krok se opakuje, pokud dochází ke vzniku hnědých dýmů. Po zchladnutí se přidají 2 ml destilované vody a 3 ml peroxidu vodíku (30%). Kádinka se uvede zpět na teplou topnou desku a nechá se proběhnout peroxidová reakce. Peroxid se přidává v dávkách po 1 ml, dokud dochází k vývinu plynů. Nesmí se však přidat více než 10 ml peroxidu. Po vychladnutí je mineralizační roztok připravený k dalšímu zpracování.



Obr. 2-1: Mineralizace na topné desce

Po adekvátním ochladnutí vzorku po sejmutí z plotny se provede kvantitativní filtrace (tzn. převedení obsahu kádinky, důkladné opláchnutí stříčkou, opláchnutí přiklápěcího

hodinového skla, promytí zbytků na filtru destilovanou vodou) do odměrné baňky (200, 250 nebo 500 ml) přes papírový filtr.

Po doplnění objemu po rysku (případně potřebném naředění) se obsah vybraných kovů stanoví metodou AAS. Pro vyhodnocení obsahu kovů je třeba přepočít na sušinu.

Varianta B – mikrovlnný rozklad v zařízení Milestone s lučavkou královskou (Obr. 2-2)

Do speciální teflonové vložky se naváží přesně 0,2-0,5 g vzorku, vztaženo na sušinu. Je-li to třeba, je možné vzorek zvlhčit minimálním množstvím destilované vody. Potom se přidá odděleně 6 ml kyseliny chlorovodíkové (35%) a 2 ml kyseliny dusičné (65%). Pokud probíhá bouřlivá reakce, nechá se doznít před další manipulací s teflonovou vložkou. Následně se vložka umístí do vestavby z peeku do otočného karuselu. Provede se těsné uzavření s vložením bezpečnostního elementu umožňujícího eliminaci přetlaku při překročení mezního tlaku v reakční směsi a dotažení momentovým klíčem podle pokynů vyučujícího.

Zahájí se ohřev podle následujícího programu výkonu: 2 min/250 W; 2 min/0 W; 5 min/250 W; 5 min/400 W; 5 min/500 W. Uvedený výkon je přizpůsobený obsazení 6 pozic v karuselu, v případě, že není tolik vzorků ke zpracování, do neobsazených pozic je třeba umístit blank nebo duplikáty. Po ukončení tepelného procesu se nechají vestavby vychladnout na teplotu laboratoře. Po provedení kontroly, že nedošlo ke ztrátě vzorku (bezpečnostní element), se vestavby opatrně otevrou, nádoby se nacházejí odvětrat v digestoři a proběhne kvantitativní filtrace (převedení veškerého obsahu, důkladné vypláchnutí nádoby a promytí případných zbytků po rozkladu na filtru) do připravené odměrné baňky (200, 250 ml) přes papírový filtr.

Po doplnění objemu po rysku (případně potřebném naředění) se obsah vybraných kovů stanoví metodou AAS. Pro vyhodnocení obsahu kovů je třeba přepočít na sušinu.



Obr. 2-2: Mikrovlnné zařízení Milestone a detail otočného karuselu

Vzhledem k použití silných minerálních kyselin a manipulaci s nimi v koncentrovaném stavu

a provádění rozkladu v mikrovlnném zařízení za zvýšeného tlaku je nezbytně nutné dodržovat po celou dobu důsledné použití ochranných pomůcek!

Princip prováděných analýz

Sušina

Sušina vzorku náleží mezi základní charakteristiky materiálu, je stanovena sušením vzorku na Petriho misce v sušárně při 105 °C po dobu 4 hodin, resp. do konstantní hmotnosti. Vlhkost, resp. sušina se vypočte podle zjištěného úbytku hmotnosti vzorku a vyjádří se procentuálně. Množství vzorku podrobeného sušení se volí řádově v jednotkách gramů podle jeho charakteru a homogenity.

Další analytická metoda stanovení je představena principiálně, použitá instrumentace a konkrétní práce s přístrojem pro atomovou absorpční spektrometrii (GBC SensAA – Obr. 2-3) bude vysvětlena názorně v laboratoři. Konkrétní konstrukce přístroje, funkčních prvků a celků bude vysvětlena před provedením analýz, rovněž i seznámení s řídicím software a nastavením měřicího režimu (optimalizace dráhy paprsku, poměru vzduch/palivo atd.). Práce s analyzátozem probíhá pouze pod dozorem vyučujícího.

Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie je analytická metoda založená na absorpci záření volnými atomy prvků v základním energetickém stavu. Pohlcením fotonu se volné atomy dostávají na některou z vyšších energetických hladin. Rozdíly energií mezi jednotlivými elektronovými stavy jsou pro každý prvek specifické a úbytek primárního záření je pak mírou koncentrace volných atomů prvku, který toto záření absorboval. Měření AAS se běžně provádí při teplotách 2000 – 3000 K, kdy je většina volných atomů prvků v základním energetickém stavu.

Použitý přístroj využívá plamenovou techniku. Jako palivo se využívá acetylen a zároveň je potřeba do hořáku přivádět oxidující plyn - stlačený vzduch. Vzorek je nasáván pneumatickým zmlžovačem okolo tříštící kuličky do zmlžovací komůrky, odkud je veden směrem ke šterbinovému hořáku. Plamen vytváří absorpční prostředí, kde dochází k atomizaci prvků. Plamenem prochází paprsek ze zdroje záření – výbojky s dutou katodou, která je zhotovena z měřeného prvku či jeho slitiny a emituje čárové spektrum. Za plamenem ve směru procházejícího paprsku je umístěn mřížkový monochromátor, kterým se volí požadovaná vlnová délka. Následuje detektor obsahující fotonásobič pracující na principu fotoelektrického jevu.



Obr. 2-3: Přístroj GBC SensAA

Použitý přístroj provádí automaticky kalkulaci koncentrace analytu u změřených vzorků na základě proměření odezvy pro kalibrační roztoky.

Kalibrační roztoky se připraví ředěním z komerčně dostupných standardů. K dispozici je připravený zásobní roztok o koncentraci 100 mg/l stanovovaných kovů. Kalibrační rozsah je odlišný pro různé kovy a bude upřesněn na základě konkrétního hledaného těžkého kovu ve vztahu ke zpracovávanému typu vzorku.

Změřené hodnoty se přepočítají podle případného ředění filtrátu k analýze a dále podle bilance navážky pro mineralizaci, zjištěné sušiny a objemu zvolené odměrné baňky pro filtraci mineralizačního roztoku.

Literatura

ČSN EN 13657 Charakterizace odpadů - Rozklad k následnému stanovení prvků rozpustných v lučavce královské, 2003.

ČSN EN 13656 Charakterizace odpadů - Mikrovlnný rozklad směsí kyselin fluorovodíkové (HF), dusičné (HNO₃) a chlorovodíkové (HCl) k následnému stanovení prvků, 2003.

EPA Method 3050B: Acid Digestion of Sediments, Sludges, and Soils, 1996.

Úloha 3:

STANOVENÍ PESTICIDNÍCH LÁTEK V ENVIRONMENTÁLNÍ MATRICI

Cílem práce je osvojit si proces rozpouštědlové extrakce, práci s extraktem, jeho úpravu před analýzou a stanovení organochlorovaných pesticidů (OCP) s použitím plynové chromatografie s detektorem elektronového záchytu (GC-ECD).

Zpracovávané matrice představují zejména stavební suť, případně zeminu z okolí průmyslového areálu s někdejší výrobou organických chlorovaných látek, smetky, stavební odpad z bývalého skladu chemikálií, materiál po procesu termické desorpce. Některé z materiálů jsou kontaminované pouze pesticidy (zejména hexachlorcyklohexan a hexachlorbenzen), některé vykazují komplexní kontaminaci a obsahují zároveň polychlorované bifenylly (PCB), které z hlediska zpracování matrice a analytické koncovky podléhají obdobnému procesu. Budou tedy rovněž předmětem zájmu a stanoveny podle toho, jestli budou zastoupeny v aktuálně dostupných předmětných materiálech.

Účel a princip

Stanovované analyty patří mezi persistentní organické polutanty. O jejich vlastnostech a toxických účincích lze nalézt v literatuře velké množství informací. Vzhledem k tomu, o jaký charakter látek se jedná, jsou sledovanými a limitovanými ukazateli v mnoha oblastech.

Extrakce představuje separační metodu, kterou lze použít k oddělení analyzované látky od původní směsi pomocí extrakčního činidla. Smyslem je oddělení analytu od ostatních složek, které mohou ovlivňovat analýzu, nebo ji zcela technicky znemožňovat. Z pohledu fyzikální chemie je extrakce proces, při kterém přechází složka přes fázové rozhraní mezi nemísitelnými kapalinami. Extrakce však zahrnuje v širším pohledu analytické chemie přechod složky z jedné fáze do druhé, i když jde v principu například o adsorpci (např. extrakce tuhou fází).

V praxi analýzy environmentálních pevných matric a odpadů s obsahem uvedených organických látek se využívá extrakce látek mezi tuhou fází, na kterou jsou zájmové látky sorbovány, a extrakčním činidlem. V případě extrakce PCB existuje normovaný postup (ČSN EN 15308), který lze aplikovat i na OCP. V rámci této normy je vymezen způsob a postup extrakce, typ extrakčních činidel, poměr kontaktovaných fází, čištění extraktu a analytická koncovka GC-ECD. Konkrétní pracovní postup uvedený v dalším odstavci z této normy vychází se zahrnutím určitých modifikací pro daný cíl a konkrétní vybavení, specifika a časovou náročnost úlohy. Jednotlivé extrakční techniky jsou rovněž popsány v různých metodikách, například sonikační extrakce v EPA 3550 nebo Soxhletova extrakce v EPA 3540.

Samotný krok extrakce je tedy možné provést několika postupy.

Sonikační extrakce se provádí s využitím ultrazvukové lázně (frekvence 25 kHz). Vlivem ultrazvuku se vyvíjejí, rostou a zanikají plynné a parní bubliny, dochází k akustické kavitaci. V bublinách dochází ke změnám teplotních a tlakových poměrů a v jejich těsné blízkosti

k turbulentnímu proudění. Probíhající děje mají za následek velmi dobrý kontakt částic extrahovaného materiálu a extrakčního činidla. Metoda se vyznačuje velmi jednoduchým provedením a nároky na skleněné nádoby, neboť lze pracovat se skleněnými vzorkovnicemi, a tedy nejsou požadavky na speciální skleněné kusy, zároveň je rychlá.

Dále lze využít extrakci v mikrovlnném poli, kdy je navážka vzorku spolu s extrakčním činidlem umístěna do speciální teflonové nádoby a ta potom s vestavbou z velmi odolného plastu (peek) do otočného karuselu mikrovlnného zařízení s regulovatelným výkonem. Extrakce se provádí za zvýšené teploty a tlaku podle definovaného programu. Samotné provedení extrakce je jednoduché a rychlé, avšak mikrovlnná instrumentace je nákladná na pořízení.

Soxhletova extrakce se provádí v Soxhletově extraktoru (SE), do něhož se vkládá patrona s extrahovaným materiálem, přes který protéká zkondenzované oddestilované extrakční činidlo ze zpětného chladiče napojeného na SE. SE je nasazen na destilační baňce umístěné na topném hnízdě. Páry extrakčního činidla jsou vedeny obtokem mimo patronu se vzorkem do zpětného chladiče. SE dále obsahuje sifon, který vyprázdní jímku extraktoru s patronou se vzorkem cyklicky zpět do destilační baňky. Výhodou této techniky je použití neustále čerstvého extrakčního činidla, avšak značnou nevýhodou je časová náročnost procesu.

Podle povahy hledaného analytu, charakteru vzorku a faktu, jestli byl předsušený či nikoliv, se volí vhodné rozpouštědlo (směs rozpouštědel, např. aceton/hexan) pro extrakci a následně se provádí promývání hexanového extraktu vodou pro odstranění acetonu.

Dále je možné provádět zakoncentrování extraktu. Pokud se očekává v extraktu výskyt látek, které mohou mít rušivé vlivy na stanovované analyty nebo můžou přítomné látky ovlivnit postup plynové chromatografie (například kontaminace detekčního systému), je třeba provést čištění extraktu.

Postup provedení

Předúprava testovaného vzorku může zahrnovat podle jeho charakteru homogenizaci, dezintegraci. Sušina vzorku bude známá. Proběhne postup podle výběru z variant A/B/C a následující kroky postupu mohou být aktuálně upraveny podle konkrétní dostupné zpracovávané matrice (zaručená nepřítomnost rušivých složek a eliminace kroku čištění extraktu, vlhkost vzorku a použití směsi extrakčních činidel s následným promytím extraktu vodou a odstranění polárního rozpouštědla apod.).

Následující práce s rozpouštědly se provádějí v digestoři.

Varianta A – sonikace (Obr. 3-1)

Do předem zvážené skleněné vzorkovnice o objemu 50 ml se naváží přesně asi 2 g vzorku a přidá se 10 ml hexanu (případně směsi hexan/aceton v aktuálně zadaném poměru). Extrahuje se v ultrazvukové lázni po dobu 20 min. Po extrakci se vzorkovnice nechá vychladnout, osuší a následně zváží. Po usazení sedimentu se extrakt opatrně slije ze vzorkovnice do zkumavky a fixem se na zkumavku označí hrana menisku hladiny.

Varianta B – mikrovlnná extrakce v zařízení Milestone Microsynth (Obr. 3-2)

Do speciální teflonové nádoby se naváží přesně asi 5 g vzorku, přelije 30 ml směsi aceton:hexan 1:1 (V/V), vpraví se do vestavby a ta následně do vysokotlakého segmentového rotoru SK-10, který se vloží doavity mikrovlnné pece Milestone. Teplotní program pro extrakci se nastaví dle pokynů vyučujícího. Po skončení teplotního programu se nádoba nechá zchladnout a 10 ml extraktu se opatrně převede do zkumavky pro další práci.

Varianta C – mikroextrakce na vodní lázni (Obr. 3-3)

Do extrakční patronky mikroextraktoru se vloží smotek křemenné vaty a odváží 1,00 g vzorku. Do zkumavky mikroextraktoru se vloží varný kamínek a následně se sestaví aparatura pro mikroextrakci na vodní lázni. Zkumavka extraktoru se velmi opatrně ponoří do předem vyhřáté (cca 80 °C) vodní lázně. Extrahuje se 2 hod pod zpětným chladičem s 10 ml hexanu, který bude do zkumavky extraktoru nadávkován shora čistou pipetou (nesmí dojít ke kontaktu pipety s ostatním sklem mikroextrakční aparatury, aby nedošlo k sekundární kontaminaci vzorků mezi sebou. Získaný extrakt se nachází přímo ve zkumavce, která se po ukončení procesu vyjme z vodní lázně a sejme z mikroextraktoru.



Obr. 3-1: Sonikace



Obr. 3-2: Přístroj pro MW extrakci



Obr. 3-3: Mikroextrakce na vodní lázni

Následují další kroky práce s extraktem ve zkumavce získaným podle varianty A/B/C směrem k jeho zakoncentrování, čištění a ředění k analýze.

Do zkumavky se vzorkem se vloží kapilára (nejlépe až ke dnu), která se před použitím opláchne acetonem. Pustí se jemný proud dusíku a zkumavka se zahřeje horkou vodou. Je třeba dbát na to, aby hrdlo zkumavky směřovalo vždy od operátora. Proud dusíku se upraví tak, aby extraktem probublávaly jednotlivé velké bubliny. Extrakt se zakoncentruje přibližně na objem 1 ml.

Pro odstranění interferujících látek se provede čištění extraktu na kolonce s Florisilem. Do spodní zúžené části eluční kolonky se vpraví malé množství skleněné vaty a kolonka se naplní aktivovaným Florisilem až po okraj horní zúžené části. Zúžená část s nasypáným Florisilem se lehce poklepe pro odstranění nevyplněných míst.

Zakoncentrovaný extrakt se převede do eluční kolonky. Po zasáknutí extraktu do vrstvy Florisilu se zkumavka promyje ideálně 5 x 1 ml hexanu. Těsně před zasáknutím posledního mililitru hexanu se začne omývat hexanem vrchní část eluční kolonky. Během této operace by nemělo dojít k odpaření rozpouštědla z Florisilu do sucha. Do zkumavky se najímá stejné množství eluátu, jako bylo původní množství extraktu (viz značení menisku hladiny u varianty A).

Do vialky se mikrostříkačkou Hamilton převede nejprve 1000 µl hexanu a následně se pod hladinu hexanu dávkuje 100 µl přečištěného extraktu. Dávkování pod hladinu je důležité proto, aby nedošlo k částečnému odparu extraktu. Mikrostříkačky jsou náchylné k tvorbě bublin v šachtě pístu, které znemožňují přesné dávkování. Bubliny je nutné před dávkováním extraktu do hexanu odstranit opakovanými zdvihy pístu stříkačky, dokud nedojde k jejich vypuzení. Podle potřeby se aplikují obdobným způsobem další kroky ředění.

Princip prováděných analýz

Metoda GC-ECD je představena principiálně, použitá instrumentace a konkrétní práce s přístrojem (HP 5890 – Obr. 3-4) bude vysvětlena názorně v laboratoři. Konkrétní konstrukce přístroje, funkčních prvků a celků bude vysvětlena před provedením analýz, rovněž i seznámení s řídicím software a specifiky automatického dávkovače. Stejně tak bude provedena instruktáž ke způsobu zpracování záznamu, přiřazení píků a integraci plochy píků a vyhodnocení. Práce s analyzátozem probíhá pouze pod dozorem vyučujícího.

Plynová chromatografie s detektorem elektronového zachytu

Plynová chromatografie náleží k separačním technikám, při které se oddělují složky obsažené ve vzorku. Vzorek je dávkován do nástřikové komůrky do proudu nosného plynu, kde dochází k okamžitému odpaření a mobilní fázi je unášen v tomto případě kapilární kolonou, která na své vnitřní stěně nese stacionární fázi. V koloně se složky vzorku rozdělují podle své schopnosti poutat se ke stacionární fázi. Z kolony je mobilní fáze s rozdělenými analyty vedena na detektor.



Obr. 3-4: Přístroj HP 5890

Vybrané parametry GC jsou shnuty následujícím způsobem: mobilní fáze – dusík; stacionární fáze - 5 % difenyl, 95 % dimethylsiloxan; délka kolony – 60 m; vnitřní průměr kolony – 0,25 mm; tloušťka filmu - 0,25 μm ; tlak – 140 kPa; teplotní program - 50 $^{\circ}\text{C}$, 1 min $\rightarrow$ 25 $^{\circ}\text{C}/\text{min} \rightarrow$ 195 $^{\circ}\text{C}$, 0 min $\rightarrow$ 1 $^{\circ}\text{C}/\text{min} \rightarrow$ 205 $^{\circ}\text{C}$, 5 min $\rightarrow$ 3 $^{\circ}\text{C}/\text{min} \rightarrow$ 280 $^{\circ}\text{C}$, 5 min.

Pro halogenované látky je velmi vhodný detektor elektronového záchytu. Obsahuje β zářič, který emituje elektrony a vyvolává ionizační proud. Při průchodu látek obsahujících elektronegativní atomy detektorem dojde k záchytu elektronů a poklesu ionizačního proudu, který se zaznamenává.

Kalibrační standardy jsou tvořeny komerčně dostupnými směsmi OCP a indikátorových kongenerů PCB.

Kalibrační rozsah je odlišný pro různé analyty podle počtu atomů chloru v molekule a bude upřesněn na základě konkrétního hledaného OCP nebo PCB ve vztahu ke zpracovávanému typu vzorku. V případě PCB se v rámci úlohy vyhodnocuje obsah tří indikátorových kongenerů s označením 28, 52 a 101.

Změřené hodnoty se přepočítají podle provedeného ředění extraktu k analýze. Dále se provede kalkulace nalezeného množství látek na hmotnostní jednotku sušiny extrahovaného vzorku s ohledem na množství použitého extrakčního činidla.

Literatura

ČSN EN 15308 Charakterizace odpadů - Stanovení vybraných polychlorovaných bifenyly (PCB) v pevných odpadech plynovou chromatografií s detektorem elektronového záchytu nebo s detekcí hmotnostní spektrometrií, 2017.

EPA Method 3550C Ultrasonic Extraction, 2007.

EPA Method 3540C Soxhlet Extraction, 1996.

Úloha 4:

ADSORBOVATELNÉ ORGANICKY VÁZANÉ HALOGENY V ENVIRONMENTÁLNÍ MATRICI

Cílem práce je osvojit si metodu stanovení skupinového parametru “Adsorbovatelné organické halogeny” (AOX) v pevných a kapalných environmentálních matricích. Parametr AOX slouží jako ukazatel přípustné hodnoty znečištění vypouštěných odpadních vod z některých průmyslových odvětví a je jedním z ukazatelů pro hodnocení kalů určených k aplikaci na zemědělskou půdu.

Matrice pro zpracování a stanovení AOX budou odpadní vody z chemického průmyslu a/nebo kaly z ČOV.

Účel a princip

Termín AOX označuje ekvivalentní hmotnost chloru, bromu a jodu obsaženou v organických sloučeninách. Jedná se o skupinový parametr, který v analýze životního prostředí hraje stále významnější roli, zejména s ohledem na nárůst individuálních halogenovaných organických sloučenin, které by měly být v životním prostředí sledovány. Vychází se přitom z předpokladu, že všechny halogenované organické sloučeniny jsou antropogenního původu, a přestože byl tento předpoklad v minulosti vyvrácen, zůstal AOX jako hodnotící parametr zachován díky relativně snadnému způsobu provedení a dobré opakovatelnosti. Na tuto skutečnost by však v rámci hodnocení měl být vždy brán zřetel a AOX by neměly být automaticky synonymem pro antropogenní znečištění, ale vždy by mělo být o zkoumané matrici uvažováno v širších souvislostech.

Skupinový parametr AOX se stanovuje buď ve vodách, kdy je legislativně ukotven v zákoně č. 254/2001 Sb. o vodách a o změně některých zákonů (tzv. vodní zákon), kde jsou v příloze č. 2 k tomuto zákonu definovány sazby za vypouštění odpadních vod do vod povrchových, kde je tento parametr zpoplatněn 300 Kč/kg a jeho limit zpoplatnění určený ve výši 15 kg/rok a koncentrační limit zpoplatnění 0,2 mg/l a dále v nařízení vlády č. 401/2015 Sb. o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech, kde jsou uvedeny limity AOX pro různé druhy průmyslové činnosti vyjádřené buď jako koncentrace ve vodách, nebo koncentrace vztažená na jednotkovou hmotnost produkce. Co se týká pevných matric, je parametr AOX uveden ve vyhlášce č. 437/2016 Sb. o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě, kde je v příloze č. 3 mezi ostatními hodnotícími ukazateli omezen na hodnotu 500 mg/kg sušiny.

Podstatou stanovení AOX v kapalných vzorcích je oddělení organických halogenovaných látek od environmentální matrice sorpcí na aktivní uhlí, filtrace suspenze, odstranění anorganických halogenů proplachem filtračního koláče aktivního uhlí okyseleným roztokem

dusičnanu a následná analytická koncovka. Ta spočívá v kvantitativním spálení aktivního uhlí v proudu kyslíku při teplotě nejméně 950 °C, absorpce vzniklých halogenovodíků v roztoku elektrolytu a následná argentometrická titrace (nejčastěji mikrocoulometrie). Výsledek je vyjádřen jako ekvivalentní hmotnost chloridů. Standardizované provedení upravuje ČSN EN ISO 9562 z roku 2005 (uvedený postup pro vsádkový třepací postup).

Podstatou stanovení AOX v tuhých vzorcích je vysušení vzorku při 105 °C, dezintegrace a homogenizace, následný přídavek aktivního uhlí a kyselého roztoku dusičnanu ke zkoušenému vzorku a vytřepání směsi na horizontální třepačce. Dále je postup stejný jako v předchozím případě. Normovaný postup upravuje ČSN EN ISO 16166 z roku 2013.

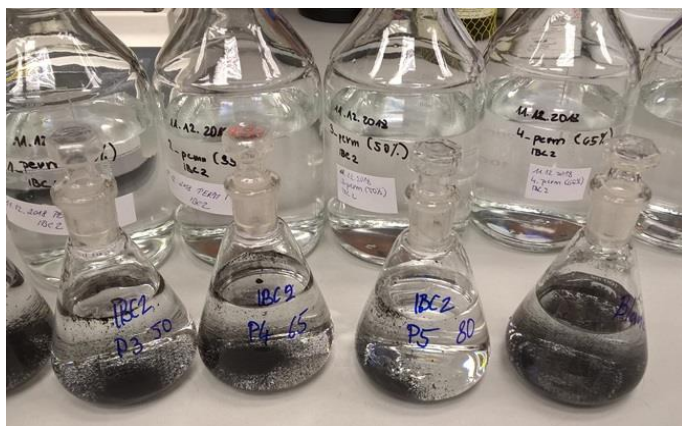
Postup provedení

Nejprve se připraví všechny potřebné roztoky ke stanovení AOX a poté se připraví vzorky pro stanovení AOX v kapalných a/nebo tuhých vzorcích. Potřebnými roztoky jsou roztok dusičnanu (roztok A), který se připraví do odměrné baňky o objemu 200 ml rozpuštěním 3,4 g dusičnanu sodného, přídavkem 5 ml kyseliny dusičné (65%) a doplněním destilovanou vodou po rysku, dále promývací roztok (roztok B), který se připraví pipetováním 10 ml roztoku A do 200ml odměrné baňky a doplněním po rysku destilovanou vodou, a jako poslední standardní roztok 4-chlorfenolu o koncentraci AOX = 1 mg/l (roztok C), který se připraví pipetováním 2,5 ml základního standardního roztoku 4-chlorfenolu (tento roztok bude k dispozici) do 50ml odměrné baňky a doplněním destilovanou vodou po rysku. Následně budou připraveny tři roztoky standardů o koncentraci 10 µg/l, 50 µg/l a 100 µg/l pipetováním 1 ml, 5 ml a 10 ml roztoku C do 100 ml odměrných baněk a doplněním destilovanou vodou po rysku.

Celkem budou stanovovány AOX ve dvou vzorcích odpadních vod ve třech paralelách, ve třech standardních roztocích a jednom slepém stanovení (celkem 10 vzorků). Následující postup je společný jak pro roztoky standardů, tak pro vzorky reálných odpadních vod i slepé stanovení (destil. voda). Do 100ml Erlenmeyerových baněk se nadávkuje přesně 100 ml vzorku a následně se přidá 5 ml roztoku A. Ke vzorkům se následně přidá 50 mg aktivního uhlí Whatman (Obr. 4-1). Takto připravené vzorky jsou umístěny na horizontální třepačku a třepány po dobu 1 hodiny.

Dále budou připraveny vzorky pro stanovení AOX ve vzorku kalu. Předsušený kal, který poskytne vyučující, bude rozetřen ve třetí misce a zhomogenizován. Z vysušeného, rozetřeného a zhomogenizovaného vzorku bude následně připraven vzorek ve třech paralelách tak, že se naváží 5 mg až 100 mg podle očekávaného množství AOX (dle pokynů vyučujícího) do 100ml Erlenmeyerových baněk (přesné navážené množství vzorku je třeba zaznamenat) a k naváženému množství se přidá 20 až 30 mg aktivního uhlí Whatman a 10 ml roztoku A. Souběžně se opět připraví vzorek slepého stanovení (10 ml roztoku A s aktivním uhlím). Je třeba důsledně dbát na stejné dávkované množství aktivního uhlí pro všechny zkoušené vzorky. Připravené vzorky se následně třepají po dobu 1 hodiny na horizontální třepačce.

Po hodině třepání se všechny vzorky (vod i kalu) zfiltrují na podtlakovém filtračním nástavci s použitím filtrů Whatman určených ke stanovení AOX (Obr. 4-2). Každý zfiltrovaný vzorek se promyje několika dávkami promývacího roztoku B v celkovém objemu 25 ml a filtr s filtračním koláčem se následně převede do křemenné spalovací lodičky a ta se uzavře v transportní nádobě k zabránění sekundární kontaminace vzorku. Jakákoliv manipulace s filtrem či zfiltrovaným vzorkem probíhá výhradně pinzetou. Takto připravené vzorky se následně podrobí stanovení ekvivalentního množství chloridů.



Obr. 4-1: Vzorky připravené ke třepání



Obr. 4-2: Podtlakový filtrační nástavec

Princip prováděných analýz

Určení AOX ve vzorcích vyjádřené jako ekvivalentní množství chloridů probíhá na analytickém přístroji LABTECH LTX Unique s manuálním dávkováním vzorků (Obr. 4-3). Dle pokynů vyučujícího se postupně do přístroje manuálně dávkuje vzorky v křemenných spalovacích lodičkách. Spalovací proces i následná mikrocoulometrická argentometrická titrace probíhají již v automatizovaném režimu.

Na začátku samotného procesu měření vzorků je však nutné ověřit správnost funkčnosti titrační cely pomocí standardního roztoku NaCl o koncentraci 1 g/l, který bude k dispozici. Do prostoru titrační cely je dávkováno 10 μ l tohoto standardního roztoku pomocí mikrostříkačky. Přístroj titruje nadávkované množství a vrátí vypočtené množství chloridového ekvivalentu, které by mělo být 10 μ g $\pm$ 0,3 μ g. V případě normální funkce mikrocoulometru je přesnost a správnost měření určována přesností a správností pipetování a správností základního roztoku chloridů. Po ověření funkčnosti cely může být přistoupeno ke spálení vzorků v křemenných lodičkách. Nejprve jsou spalovány vzorky standardů a výsledky jsou porovnány se jmenovitými hodnotami AOX. Po standardech následují vlastní vzorky odpadních vod a kalů.



Obr. 4-3: Přístroj LABTECH LTX unique

Princip argentometrické microcoulometrie

Halogenovodíky vzniklé spalováním vzorků jsou absorbovány v roztoku elektrolytu tvořeného 3,5% NaClO₄ v 60% kyselině octové, ve kterém následně probíhá microcoulometrická srážecí titrace dle dále uvedeného principu.



$$K_{S,a} = [Ag^+] \cdot [Cl^-] \cdot a_{Ag^+} \cdot a_{Cl^-} \quad (1a)$$



Generační proud je postupně a programově snižován podle poklesu potenciálu indikačního článku viz následující rovnice 4.

$$\Delta E = E_i - E_r \quad (4)$$

kde E_r je potenciál referentní a E_i potenciál indikační stříbrné elektrody závislý na koncentraci/aktivitě stříbrného kationtu, podle rovnice 5.

$$E_i = E_0 + \frac{RT}{F} \cdot \ln a_{Ag} \cdot [Ag^+] \quad (5)$$

Snižování generačního proudu a tím rychlosti generace Ag^+ je řízeno tak, aby byla titrace ukončena co nejpřesněji v bodu ekvivalence, resp. v přednastaveném (počátečním) rozdílu potenciálů indikační a referentní elektrody: $E_{bias} = -102 \text{ mV}$, v blízkosti bodu ekvivalence s malým přebytkem Ag^+ .

Množství iontů Ag^+ generovaných coulometrem je proporcionální náboji (Q) prošlému generačním článkem dle následující rovnice (podle tzv. 1. Faradayova zákona),

$$m = A \cdot Q \quad (6)$$

kde A vystupuje jako konstanta úměrnosti, která je pro každou látku charakteristická a nazývá se elektrochemický ekvivalent látky. Výpočet elektrochemického ekvivalentu je potom předmětem 2. Faradayova zákona, viz následující rovnice 7,

$$A = M_m / (n \cdot F) \quad (7)$$

kde M_m je molární hmotnost dané látky (v tomto případě Ag), n je počet vyměňovaných elektronů (v tomto případě $n = 1$) a F je Faradayova konstanta ($F = 96484 \text{ C/mol}$). Komplexně zapsaný Faradayův zákon je uveden na následující rovnici 8.

$$m = \frac{M_m}{n \cdot F} \cdot Q \quad (8)$$

Koncentrace Ag^+ , resp. Cl^- v bodě ekvivalence je dána součinem rozpustnosti podle rovnice 1a, přičemž závisí na prostředí, ve kterém reakce probíhá. V případě použitého elektrolytu je odhadnut $K_s \approx 10^{-14}$, odkud lze potom odvodit $[\text{Ag}^+] \approx 10^{-7} \text{ mol/l}$ a zároveň $[\text{Cl}^-] \approx 10^{-7} \text{ mol/l}$. Z toho vyplývá, že je koncentrace Ag^+ ekvivalentní koncentraci Cl^- . Mikrocoulometricky jsou stanovována nízká množství Cl^- , proto je vhodnější použít rozměr v mC , kdy platí, průchodem 1 mC dojde k vyloučení $m = 1,1179 \mu\text{g Ag}^+$, resp. (podle rovnice 1a) ekvivalentnímu množství Cl^- , tj. $0,3675 \mu\text{g Cl}^-$.

Protože přístroj mění v průběhu titrace titrační proud, výpočet náboje (Q) prošlého roztokem ($1 \text{ C} = \text{A} \cdot \text{s}$) lze zapsat pomocí integrované formy pro proměnný proud I_t (A) a časový interval $0 - t$ (s) dle následující rovnice 9.

$$\int_0^t i_t \cdot dt \quad (9)$$

Takto je počítáno množství stanovených Cl^- , v nichž je konvenčně vyjadřována hodnota AOX. Potom pokud je oxidace generační Ag anody (podle rovnice 1a) kvantitativní a pokud nedochází ke ztrátám Ag^+ sorpcí na sraženinu ani k rozkladu sraženiny AgCl , množství chloridů při nejnižším titračním proudu ($20 \mu\text{A}$) s nejnižší jednotkou času 1 s odpovídá: $20 \mu\text{A} \cdot \text{s} \approx 0,00735 \mu\text{g Cl}^-$. Odtud potom plyne rozlišitelnost měřidla $0,01 \mu\text{g Cl}^-$.

Rušivé vlivy stanovení

Mezi rušivé vlivy při stanovení AOX v kapalných vzorcích patří aktivní chlor a některé sloučeniny bromu a jodu nevratně vázané na aktivní uhlí. Sloučeniny bromu a jodu mohou být oxidovány na vyšší oxidační formy a tudíž nebudou kvantitativně stanoveny (systematická chyba metody), živé buňky ve vzorku mohou uměle navyšovat hodnotu AOX (obsah chloridů v buňkách), vysoký obsah chloridů, které nejsou kvantitativně odstraněny proplachem dusičnanem z filtračního koláče a v důsledku budou zvyšovat hodnotu AOX. Při vysokých hodnotách rozpuštěného organického uhlíku může též docházet ke kompetitivní sorpci na aktivní uhlí.

Mezi rušivé vlivy stanovení AOX v tuhých vzorcích patří málo rozpustné anorganické soli obsahující halogen, které mohou být nedostatečně odstraněny při proplachu filtračního koláče. V takovém případě je nutné upravit množství promývacího roztoku dusičnanu. Halogenované látky, které vytěkají během sušení nejsou stanoveny. Stejně tak i zde platí, že sloučeniny bromu a jodu mohou být oxidovány na vyšší oxidační formy a tudíž nebudou kvantitativně stanoveny (systematická chyba metody).

Literatura

Asplund G.; Grimvall A.; Pettersson C. Naturally produced adsorbable organic halogens (AOX) in humic substances from soil and water. Science of the Total Environment, 1989, 81: 239-248.

Zákon č. 254/2001 Sb. o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon).

Nařízení vlády č. 401/2015 Sb. o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod, náležitostech povolení k vypouštění odpadních vod do vod povrchových a do kanalizací a o citlivých oblastech.

Vyhláška č. 437/2016 Sb. o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady a změně vyhlášky č. 341/2008 Sb., o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady a o změně vyhlášky č. 294/2005 Sb., o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady (vyhláška o podrobnostech nakládání s biologicky rozložitelnými odpady).

ČSN EN ISO 9562 (757531) Jakost vod- Stanovení adsorbovatelných organicky vázaných halogenů (AOX), 2005.

ČSN EN 16166 (838150) Kaly, upravený bioodpad a půdy – Stanovení adsorbovatelných organicky vázaných halogenů (AOX), 2013.

<http://www.labtech.eu/analyzatory-aox-eox-labtech>.

Úloha 5:

ACIDOBAZICKÉ CHOVÁNÍ MATRIC, TITRAČNÍ KŘIVKA MATERIÁLU A RIZIKO MOBILIZACE KOVŮ

Cílem práce je seznámit se s procedurou, která vypovídá o acidobazickém chování matrice a s realizací testovacího postupu vedoucího ke konstrukci titrační křivky. Hodnota pH má stěžejní vliv na mobilitu různých kontaminantů, zejména těžkých kovů. Znalosti v této oblasti jsou podstatné a žádoucí například u deponovaných materiálů, sanačních zásahů, u materiálů vystavených obecně agresivnímu prostředí či za obdobných podmínek namáhaných.

Materiály podrobené testům budou ze skupiny zemin se zvýšeným obsahem těžkých kovů, biopopílku, kalů, odprašků.

Účel a princip

Význam znalosti chování materiálů (zeminy, kalu, popílku,...) z hlediska změny hodnoty pH systému a s tím související možné mobilizace složek v nich obsažených tkví zejména v možnosti predikce rizika, které může v důsledku acidifikace systému nastat, a prostřednictvím bilance lze také odhadovat dobu, kdy k takovému stavu může dojít a jak velkou emisi znečišťujících látek lze očekávat v případě deponovaných materiálů, havarijních situací apod. Další oblastí, kde jsou informace tohoto typu užitečné, je odhad potřebného množství činidla, které je nutné pro sanační opatření, jehož součástí je úprava hodnoty pH prostředí, ve kterém probíhá například promývání zemin či zásah pomocí Fentonova činidla. Rovněž jsou informace nezbytné například pro možnost případného vyloučení uvažovaných nápravných opatření a posouzení jejich sekundárních dopadů nebo při posouzení možnosti mobilizace těžkých kovů například z upotřebených sorbentů a zásypů nebo při zakládání vytěžených důlních děl.

Titrační křivka přináší informaci o tom, jakých změn hodnoty pH systému (v tomto konkrétním případě materiálů suspendovaných s destilovanou vodou) bylo dosaženo na základě definovaných přídavek roztoku kyseliny a zásady. Výchozí hodnotou pH matrice je její vlastní hodnota pH bez přídávku jakýchkoliv činidel. Následně se vyšetřuje pokles hodnoty pH v závislosti na množství přidaných H^+ iontů a nárůst hodnoty pH v závislosti na množství přidaných OH^- iontů do testovacího systému. Míra přídávku činidel se obvykle vyjadřuje v molech H^+/OH^- vztažených na kilogram sušiny materiálu. Měření se provádí pomocí pH elektrody, která snímá hodnotu pH v suspenzi po určitých konstantních přídavek roztoku činidla do této suspenze.

Dalším informačním výstupem může být znalost množství komponent (nejčastěji těžkých kovů), které se mobilizují vlivem změny pH systému, pokud je předmětem testování materiál, který nějaké z těžkých kovů obsahuje. Výstupem je potom závislost nalezeného obsahu kovu uvolněného do kapalné fáze vlivem změny jeho formy výskytu na dosažené

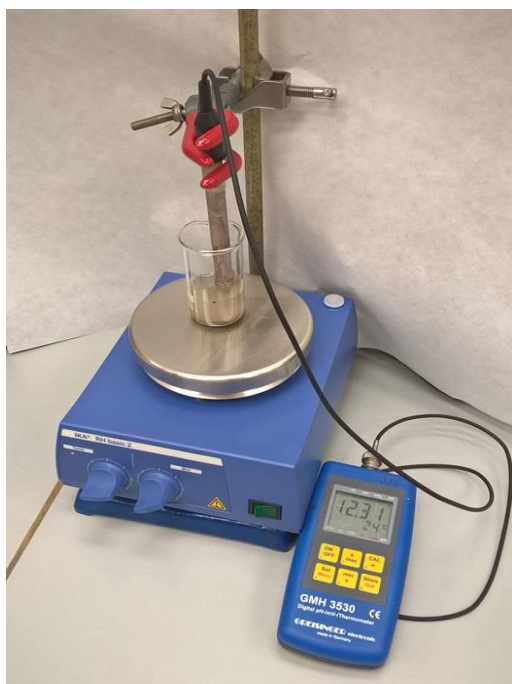
hodnotě pH systému a ostatních podmínkách procesu. Obvyklé vyjádření je v podobě hmotnostní jednotky dané komponenty nalezené v kapalně fázi na hmotnostní jednotku sušiny exponovaného materiálu za daných podmínek, nebo lze použít relativní vyjádření, kdy jako celkový obsah těžkého kovu slouží jeho obsah zjištěný mineralizací vzorku (viz úloha týkající se mineralizace). Pro Analytickou koncovku pro stanovení těžkých kovů po separaci suspendovaných částic matrice v získané kapalně fázi s výhodou poskytuje atomová absorpční spektrometrie.

Postup provedení

Pro práci se odebere ze zásobní nádoby vzorek materiálu o hmotnosti cca 100 g. V případě průmyslového kalu (kašovitě či pastovitě hmoty nebo hmoty v rypném stavu) je třeba provést důkladnou homogenizaci. V případě sypkých materiálů se může jednat o jemnozrnný materiál (např. biopopílek) nebo zrnitý materiál (zemina). Zrnitý materiál je potřeba nejprve dezintegrovat a zpracovat ve třecí misce. Tím se dosáhne následně přípravy velmi jemné suspenze a díky tomu bude docíleno dřívějšího ustálení odečítané hodnoty pH. Pro vyjadřování výsledků a bilanci se provede stanovení sušiny materiálů.

Příprava testovací suspenze spočívá v tom, že je navážka přelita destilovanou vodou v kádince o vhodném objemu. Objem a typ kádinky je potřeba volit vzhledem k celkovému objemu suspenze a s ohledem na to, aby bylo možné do suspenze vkládat pH elektrodu aniž by muselo být vyjmuto magnetické míchadlo. Konkrétní doporučená navážka vzorku a objem destilované vody budou upřesněny ve vztahu k aktuálně testovaným materiálům, bude se pohybovat rámcově v rozmezí 5-10 g materiálu a 20-30 ml destilované vody.

Následně se vsádka umístí na magnetickou míchačku a nechá se 30 minut míchat (Obr. 5-1).



Obr. 5-1: Proměření titrační křivky

Poté se změří výchozí hodnota pH. Potom se postupně přidávají konstantní přídavky roztoku kyseliny resp. zásady a po každém přídavku se nechá směs alespoň 20 minut míchat. Doba, po kterou je prováděno míchání by měla být co nejdelší, avšak s ohledem na časový rámec laboratorní úlohy. Doporučená koncentrace činidel (HNO_3 , NaOH) je v rozmezí 0,02 – 0,5 mol/l a krok přídavku 200 μl (bude upřesněno v závislosti na aktuálně testovaných materiálech vzhledem k jejich očekávané podstatě a složení).

Pokud hodnota pH suspenze klesá po přídavcích kyseliny velmi pomalu, je možné přídavek kyseliny v jednom kroku znásobit. V každém kroku se zaznamenává hodnota pH a počet přídavků kyseliny (resp. objem). Závislost hodnoty pH na množství přidaných iontů H^+/OH^- na hmotnostní jednotku sušiny materiálu je vhodné vyšetřit v oblasti hodnot pH 3 až 12, pokud není určeno jinak.

Vzhledem k tomu, že přídavky kyseliny a zásady se realizují postupně, je uvedený postup časově relativně náročný. O změně pH v systému lze získat přehled i způsobem, kdy jsou pro jednotlivé přídavky činidel vyčleněné samostatně připravené vsádky. Výhodou je, že v rámci laboratorní úlohy lze využít delší časovou prodlevu k ustálení hodnoty pH a zároveň lze za stejný časový úsek prověřit větší množství vzorků/materiálů.

Do těsně uzavíratelných polypropylenových zkumavek typu Falcon o objemu 50 ml nebo jiných těsně uzavíratelných vzorkovnic se naváží přesně asi 5-10 g materiálu a přelije se 20 ml destilované vody. Vsádek se zároveň připraví tolik, kolik se očekává přídavků roztoku kyseliny/zásady pro konstrukci titrační křivky a jedna vsádka je realizována bez přídavku činidel (výchozí hodnota pH suspenze). Suspenze se nechají třepat na třepačce typu hlava-pata a potom se změří hodnota pH.

Výsledkem je obdobně konstrukce grafu závislosti pH suspenze na množství přidaných H^+ iontů v molech na kilogram sušiny materiálu. Při tomto postupu je nutné pracovat s nádobou s jejím celkovým objemem a objemem plnění tak, aby byl zajištěný dostatečný volný prostor v pracovní nádobě, kvůli možnému natlakování vznikajícími produkty.

Za účelem odhadu vlivu hodnoty pH na mobilizaci vybraných těžkých kovů (budou upřesněny pro jednotlivé materiály podle jejich zastoupení) lze provést test při několika hodnotách pH v systému v rozsahu hodnoty pH, která se ustálí vlivem samotné přítomnosti jemně rozetřeného materiálu v suspenzi, až hodnoty pH cca 3,5. Snižování hodnoty pH v systému bude dosahováno opět přídavky roztoku kyseliny. Je třeba dodržet bilancovatelné podmínky (zachování konstantního poměru materiálu a kapalně fáze ve všech případech, tzn. v případě různých přídavků roztoku kyseliny doplnit dávkovaný objem na určitou konstantní hodnotu). Samotný postup práce je obdobný jako v předchozí části popisující přípravu individuálních testovacích vsádek, s tím rozdílem, že třepání po přídavku roztoku kyseliny probíhá minimálně 4 hodiny (s ohledem na harmonogram práce je nutné dobu zkrátit či organizovat práci s předstihem resp. přípravu vsádek provést předchozí den).

Vzhledem k různému složení testovaných materiálů a jejich acidobazickému chování je obtížné nastavit na začátku testu podmínky tak, aby byla hodnota pH v suspenzi po sejmutí z třepačky na předem stanovených hodnotách. Proto nejsou vyžadovány určité přesné cílové

hodnoty pH, je však nutné tyto hodnoty zjistit a zapsat před provedením filtrace kapalné fáze a měřením obsahu kovů. S výhodou lze využít zjištění pořízená v první části úlohy při tvorbě titrační křivky.

Pro analýzu vyloučených těžkých kovů je třeba separovat suspendované částice z kapalné fáze. Filtrace se provede pomocí injekčních stříkaček a stříkačkových filtrů s velikostí pórů 0,45 μm . Získané filtráty je třeba dále okyselit (zejména ty, kde nebyl realizován přídavek roztoku kyseliny pro úpravu pH, resp. byly realizovány přídavky velmi malé) pár kapkami koncentrované kyseliny dusičné. Koncentrace přítomných kovů se změří pomocí AAS.

Obvykle se výsledek vyjadřuje v hmotnostní jednotce kovu na hmotnostní jednotku sušiny materiálu. Výstupem je pak vyjádření množství nalezeného uvolněného kovu v závislosti na konkrétní klesající dosažené hodnotě pH systému (suspenze před filtrací).

Princip prováděných analýz

Sušina

Sušina vzorku náleží mezi základní charakteristiky materiálu, je stanovena sušením vzorku na Petriho misce v sušárně při 105 °C po dobu 4 hodin, resp. do konstantní hmotnosti. Vlhkost, resp. sušina se vypočte podle zjištěného úbytku hmotnosti vzorku a vyjádří procentuálně.

Množství vzorku podrobeného sušení se volí řádově v jednotkách gramů podle jeho charakteru a homogenity.

Hodnota pH

Měření je založené na elektrochemickém principu. Používá se kombinace dvou elektrochemických článků, kdy potenciál jednoho článku je referenční a druhý potenciál je závislý na koncentraci vodíkových iontů v roztoku obklopujícím elektrodu. Při ponoření elektrody do roztoku se na jejích svorkách ustálí napětí a přístroj podle kalibračních údajů zobrazí aktuální hodnotu pH. Před měřením je třeba ověřit správnost odezvy pomocí pufrů nebo rekalibrovat.

Další analytická metoda stanovení je představena principiálně, použitá instrumentace a konkrétní práce s přístrojem pro atomovou absorpční spektrometrii (GBC SensAA – Obr. 5-2) bude vysvětlena názorně v laboratoři. Konkrétní konstrukce přístroje, funkčních prvků a celků bude vysvětlena před provedením analýz, rovněž i seznámení s řídicím software a nastavením měřicího režimu (optimalizace dráhy paprsku, poměru vzduch/palivo atd.). Práce s analyzátozem probíhá pouze pod dozorem vyučujícího.

Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie je analytická metoda založená na absorpci záření volnými atomy prvků v základním energetickém stavu. Pohlcením fotonu se volné atomy dostávají na některou z vyšších energetických hladin. Rozdíly energií mezi jednotlivými elektronovými stavy jsou pro každý prvek specifické a úbytek primárního záření je pak mírou koncentrace volných atomů prvku, který toto záření absorboval. Měření AAS se běžně provádí při

teplotách 2000 – 3000 K, kdy je většina volných atomů prvků v základním energetickém stavu.

Použitý přístroj využívá plamenovou techniku. Jako palivo se využívá acetylen a zároveň je potřeba do hořáku přivádět oxidující plyn - stlačený vzduch. Vzorek je nasáván pneumatickým zmlžovačem okolo tříšticí kuličky do zmlžovací komůrky, odkud je veden směrem ke štěrbinovému hořáku. Plamen vytváří absorpční prostředí, kde dochází k atomizaci prvků. Plamenem prochází paprsek ze zdroje záření – výbojky s dutou katodou, která je zhotovena z měřeného prvku či jeho slitiny a emituje čárové spektrum. Za plamenem ve směru procházejícího paprsku je umístěný mřížkový monochromátor, kterým se volí požadovaná vlnová délka. Následuje detektor obsahující fotonásobič pracující na principu fotoelektrického jevu.

Použitý přístroj provádí automaticky kalkulaci koncentrace analytu u změřených vzorků na základě proměření odezvy pro kalibrační roztoky.



Obr. 5-2: Přístroj GBC SensAA

Kalibrační roztoky se připraví ředěním z komerčně dostupných standardů. K dispozici je připravený zásobní roztok o koncentraci 100 mg/l stanovovaných kovů. Kalibrační rozsah je odlišný pro různé kovy a bude upřesněn na základě konkrétního hledaného těžkého kovu ve vztahu ke zpracovávanému typu vzorku.

Výsledky se zapíší s ohledem na případné ředění vzorků k analýze. Hodnoty se dále přepočtou vzhledem k navážkám vzorků, jejich sušině a celkového objemu kapalně fáze přidané ke vzorku pro vytvoření suspenze a úpravu hodnoty pH.

Literatura

Johnson, C. A., Brandenberger, S., Baccini, P. (1995). Acid neutralizing capacity of municipal waste incinerator bottom ash. *Environmental science & technology*, 29(1), 142-147.

Dijkstra, J. J., Van Der Sloot, H. A., Comans, R. N. (2006). The leaching of major and trace elements from MSWI bottom ash as a function of pH and time. *Applied Geochemistry*, 21(2), 335-351.

Úloha 6:

AKTIVOVANÝ KAL A JEHO VYUŽITÍ PŘI TESTU BIODEGRADABILITY

- Cíl:**
- Připravit aktivovaný kal k použití
 - Stanovení sušiny biomasy v kalu
 - Nasazení testu biologické rozložitelnosti

1. Aktivovaný kal

Aktivovaný kal je suspenze biomasy bakterií a dalších druhů mikroorganismů, jejíž charakteristickou strukturou jsou tzv. **vločky**. Tato směsná kultura mikroorganismů se přirozeně vyskytuje ve splaškových odpadních vodách a spontánně se rozmnožuje při provzdušňování v aktivačních nádržích na ČOV. Mikroorganismy aktivovaného kalu využívají jako substrát pro svůj metabolismus organické látky i anorganické nutrienty (sloučeniny dusíku a fosforu) přítomné v odpadních vodách.

Aktivovaný kal obsahuje kromě bakterií také vláknité mikroorganismy, nálevníky, měňavky, bičíkovce, vířníky aj. Zastoupení mikroorganismů v aktivovaném kalu závisí na mnoha faktorech, především na stáří kalu (tj. průměrná doba pobytu vločky - od jejího vzniku až po okamžik odstranění ze systému v podobě přebytečného kalu) a na zatížení kalu (tj. množství substrátu, které připadá na hmotnostní jednotku biomasy aktivovaného kalu za časovou jednotku). Vločky aktivovaného kalu jsou tvořeny vlákny a na ně přisedlí organismy; část osídlení aktivovaného kalu se volně vznáší mezi vločkami. Při provzdušňování suspenze kalu se vločky udržují ve vznosu a zároveň je mikroorganismům zajištěn nezbytný přísun kyslíku. Pokud se provzdušňování suspenze kalu přeruší, vločky sedimentují a nad nimi zůstává (víceméně čirá) tzv. kalová voda.

Aktivovaný kal odebraný na ČOV nebo z laboratorního modelu aktivace se využívá jako **inokulum** (zdroj živých mikroorganismů) při některých testech biodegradability organických látek. Pro správné provedení těchto testů je nezbytné, aby byl roztok testované látky naočkován vhodným množstvím mikroorganismů v dobrém fyziologickém stavu. Proto je potřeba se vzorkem aktivovaného kalu náležitě zacházet od okamžiku odběru až po inokulaci, zejména zajistit kontinuální provzdušňování a přiměřenou teplotu prostředí. Dále bývá nezbytné kalové vločky oddělit od potenciálního substrátu přítomného v kalové vodě a kvantifikovat jejich množství, aby bylo možno inokulum dávkovat.

Ačkoliv se aktivovaný kal používá k inokulaci při testech, jejichž metodika je *standardizována* v normách nebo i v jiných dokumentech, nutno zdůraznit, že **aktivovaný kal nelze standardizovat**. Jeho biocenóza se liší v závislosti na technologických parametrech čistírny i na složení odpadních vod v dlouhodobém časovém horizontu, reaguje na změny a mění se v čase, proto každý jednotlivý vzorek kalu odebraný na různých ČOV nebo na stejné ČOV v jinou dobu je zcela unikátní. K této skutečnosti je samozřejmě nutné přihlížet při hodnocení biodegradability látek na základě výsledků provedených testů a zejména při porovnávání výsledků.

2. Úprava kalu před použitím

Aktivovaný kal se na čistírně, která zpracovává převážně splaškové odpadní vody, odebírá zpravidla na odtoku přebytečného kalu z aktivační nádrže nebo z tzv. regenerační nádrže, a to do plastové lahve nebo kanystru. Po přenesení do laboratoře se suspenze kalu přelije přes síto do válce nebo jiné vhodné (úzké a vysoké) nádoby a opakovaně se provede **dekantace**: kal se nechá několik minut sedimentovat, poté se odlije kalová voda i s plovoucími nečistotami, nahradí se odstátou pitnou vodou, suspenze se promíchá a celý postup se zopakuje. Pokud kal obtížně sedimentuje, lze sedimentaci nahradit odstředěním. Promýváním a dekantací se kal zbaví substrátu a zbytkových organických látek přítomných v kalové vodě.

Po dekantaci se musí zajistit **kontinuální provzdušňování**. Intenzitu provzdušňování je třeba upravit tak, aby byla dostatečná pro respiraci, ale nezpůsobovala vystřikování suspenze z nádoby nebo nadměrné pění. Je vhodné nádobu zakrýt např. alobalem. Fáze provzdušňování kalu před jeho použitím může trvat několik hodin až týden, v závislosti na požadavcích daných metodikou testu, pro který má být kal použit jako inokulum. V průběhu provzdušňování bez přísunu substrátu se mikroorganismy postupně dostávají do stavu **endogenní respirace**, což znamená, že využívají pouze zásobní látky v rámci endogenního buněčného metabolismu, nikoliv substrát. V případě některých testů je naopak požadováno, aby byl kal pravidelně živěn uměle připravenou odpadní vodou, která zajistí standardizovaný přísun substrátu a tím udržuje vysokou metabolickou aktivitu mikroorganismů.

Při manipulaci a uchovávání aktivovaného kalu je nutné mít na zřeteli, že se jedná o materiál obsahující živé organismy, které je žádoucí udržet plně „funkční“, tedy schopné rozkládat substrát stejně jako před odběrem. Biocenóza aktivovaného kalu proto nesmí být vystavena působení žádných toxických látek. Z toho důvodu se na promytí kalu používá voda odstátá, aby pokud možno neobsahovala aktivní chlor. Pitná (kohoutková) voda je vyhovující navzdory nutnosti vyčkat odtěknání chloru, protože na rozdíl od demineralizované vody nezpůsobuje destrukci buněk a zároveň je zdrojem biogenních prvků. Alternativně lze použít tzv. minerální médium, které se připravuje rozpuštěním určitých solí biogenních prvků v demineralizované vodě. Dekantovaný nebo odstředěný kal se resuspenduje v takovém objemu vody nebo minerálního média, aby se koncentrace nerozpuštěných látek pohybovala v rozmezí $2 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$ až $10 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$.

Bezpečnost práce

Zacházení s aktivovaným kalem vyžaduje **důsledné dodržování hygieny při práci**, protože kal může obsahovat různé **patogenní organismy**, např. bakterie rodu *Salmonella*, *Shigella*, fekální streptokoky, viry *Hepatitis*, rotaviry, parazitické červy aj. Ačkoliv množství patogenů obsažených v odpadní vodě se při aktivačním procesu snižuje, přesto existuje riziko infekce při přímém kontaktu s kalem. Proto je nezbytně nutné používat **ochranné rukavice**, dezinfekční prostředky na čištění pracovní plochy i pomůcek a **laboratorní nádobí vyčleněné pouze na práci s kalem**.

3. Gravimetrické stanovení sušiny biomasy

Při testech biodegradability se suspenze aktivovaného kalu dává do testovacích nádob tak, aby bylo dosaženo určité předepsané koncentrace biomasy. **Kvantifikace obsahu biomasy** se provádí gravimetricky - jedná se o stanovení sušiny, tj. nerozpuštěných látek po vysušení při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti. Lze využít metodiku specifikovanou v ČSN EN 872 Jakost vod - Stanovení nerozpuštěných látek - Metoda filtrace filtrem ze skleněných vláken.

Stanovení nerozpuštěných látek je *uzančným* stanovením, protože volbou filtračního materiálu je vymezena velikost částic, které budou zachyceny na filtru a budou tedy považovány za nerozpuštěné látky. Pro stanovení sušiny kalu se obvykle používají **filtry ze skleněných vláken**, které se však liší svojí porozitou (např. typ Whatman GF/C má deklarovanou střední velikost pórů 1,2 µm).

Filtry se předem promyjí demineralizovanou vodou, vysuší se do konstantní hmotnosti a zvaží na analytických vahách. Suspenzi kalu je nezbytné dobře homogenizovat, což lze zajistit intenzivním mícháním na magnetické míchačce. Vhodný objem suspenze se odebere speciálně uzpůsobenou skleněnou pipetou (se seříznutou špičkou), vypustí na navlhčený filtr připravený na filtračním zařízení a zfiltruje za sníženého tlaku. Filtr se zachycenými nerozpuštěnými látkami se umístí do sušárny a suší se při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti, poté se nechá vychladnout v exsikátoru, zvaží se a z rozdílu hmotností a objemu suspenze se vypočítá koncentrace nerozpuštěných látek (ρ_{NL}) v suspenzi kalu.

Výpočet

$$\rho_{NL} = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 10^3}{V_{vz}}$$

ρ_{NL} koncentrace nerozpuštěných látek [g·l⁻¹]

m_2 hmotnost filtru s nerozpuštěnými látkami [g]

m_1 hmotnost prázdného filtru [g]

V_{vz} objem vzorku k filtraci [ml]

4. Test biologické rozložitelnosti

Biologická rozložitelnost neboli biodegradabilita látek znamená jejich schopnost podléhat biologickému rozkladu tj. souboru biochemických reakcí, které vedou k přeměně organických látek na anorganické nebo alespoň jednodušší organické sloučeniny. Mikroorganismy využívají organické látky jako substrát při tvorbě svých zásobních látek a nové biomasy. Biodegradabilita látek závisí na jejich chemické struktuře a na podmínkách prostředí (teplota, pH, koncentrace rozpuštěného kyslíku, zastoupení mikroorganismů, poměr koncentrace substrátu a sušiny biomasy aj.).

Testy biodegradability simulují chování testované látky ve vodním prostředí nebo při procesu čištění odpadních vod a umožňují posoudit její biologickou rozložitelnost za daných podmínek. K inokulaci se používá směsná kultura mikroorganismů, jejímž zdrojem může být aktivovaný kal, vyčištěná odpadní voda, povrchová voda, půdní výluh aj. Testovaná látka je pro mikroorganismy jediným zdrojem uhlíku a energie. Inkubace probíhá za přesně definovaných podmínek dle příslušné metodiky. Rozklad látky se sleduje zpravidla po dobu 28 dní a vyjadřuje se pomocí **stupně rozkladu D_t** v procentech, a to na základě úbytku organického uhlíku v kapalně fázi nebo spotřeby O_2 či produkce CO_2 při respiraci mikroorganismů v závislosti na čase. Paralelně s testovanou látkou se provádí tzv. slepé stanovení, které slouží ke korekci výsledků, a nedílnou součástí bývá i kontrola aktivity inokula, kontrola abiotického rozkladu testované látky, případně i kontrola inhibičních účinků testované látky na kal.

Jedním z testů biodegradability, které pracují s aktivovaným kalem a biodegradaci hodnotí na základě úbytku DOC, je **Zahnův-Wellensův test**, specifikovaný v ČSN EN 29888. Roztok testované látky v minerálním médiu se inokuluje aktivovaným kalem na výslednou koncentraci sušiny biomasy $200\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ až $1000\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a za stálého míchání a provzdušňování se inkubuje ve tmě či v rozptýleném světle při teplotě $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ až $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu obvykle 28 dní. Experimentální uspořádání je patrné z Obr. 6-1. Počáteční koncentrace testované látky se volí taková, aby koncentrace rozpuštěného organického uhlíku (DOC) byla v rozmezí $50\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ až $400\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Vzorke pro stanovení DOC se odebírají na začátku testu a dále ve vhodných intervalech s ohledem na průběh rozkladu. Zvláštní význam má odběr na začátku testu v čase t_1 , což má být $(3,0 \pm 0,5)\text{ h}$ po inokulaci: příslušný pokles koncentrace DOC se považuje za úbytek látky způsobený adsorpcí na kal, nikoliv biologickým rozkladem. Nicméně význam tohoto „tříhodinového odběru“ je diskutabilní, protože i adsorbovaný podíl látky může podlehnout biodegradaci, a proto je někdy čas t_1 nahrazován časem 0 (okamžik inokulace). Vynesením vypočtených hodnot D_t v závislosti na čase se získá **křivka biologického rozkladu**. Testovaná látka se klasifikuje jako **snadno biologicky rozložitelná**, jestliže stupeň rozkladu po 28 dnech překročil 70 %, tzn. **$D_{28} > 70\%$** .



Obr. 6-1: Sada testovacích nádob při Zahnově-Wellensově testu

Aktivita inokula se ověřuje pomocí tzv. **referenční látky**, což je látka snadno rozložitelná, kterou mikroorganismy bez prodlení či akumulace metabolizují (např. benzoan sodný, ethylenglykol nebo anilín). Kontrola **inhibičních účinků** se provádí pomocí ekvimolární směsi testované látky a referenční látky; jestliže testovaná látka inhibuje mikroorganismy, potlačí se i rozklad snadno rozložitelného substrátu. Při kontrole **abiotické eliminace** se využívá inaktivace inokula přídavkem vysoce toxické látky (HgCl_2) a výsledky umožňují odlišit úbytek testované látky z vodné fáze nebiologickými procesy jako je odtěkání, srážení nebo adsorpce na kal či na stěny nádoby. Obvykle se každý typ směsi inkubuje paralelně dvakrát a do výpočtu stupně rozkladu se zahrnují průměrné hodnoty.

Výchozí podmínky pro test biodegradability

Pro nasazení testu bude k dispozici roztok zvolené látky o známé koncentraci DOC. Dávkován bude do minerálního média (složení dle ČSN EN 29888) tak, aby výsledná koncentrace v testovací směsi činila $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ v jednotkách DOC. Inokulovat se bude upraveným aktivovaným kalem v takovém množství, aby počáteční koncentrace sušiny biomasy v testovací směsi činila $200 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Zároveň s biodegradací testované látky bude sledován abiotický rozklad a inhibice. Počáteční odběr bude proveden v čase 0 (nikoliv $3 \text{ h} \pm 0,5 \text{ h}$).

Postup nasazení testu

1. Kal promýt, dekantovat a resuspendovat v minerálním médiu.
2. Stanovit sušinu biomasy v kalu.
3. Do sady třílitrových kádinek připravit po 2 l jednotlivých testovacích směsí dle rozpisu v Tab. 6-1.
4. Do každé kádinky vložit magnetické míchadlo a provzdušňovací trubičku. Všechny kádinky umístit na magnetické míchačky, upravit intenzitu míchání a provzdušňování.
5. Inokulovat vypočteným objemem suspenze kalu. Zaznamenat čas zahájení testu a fixou označit výšku hladiny v kádinkách.

Odběr vzorku

1. Pomocí stříčky spláchnout kal ulpělý nad hladinou, doplnit odpařenou vodu demineralizovanou vodou (na rysku) a dobře promíchat.
2. Odebrat přiměřené množství testované směsi do malé kádinky a fixou označit výšku hladiny po odběru.
3. Odebraný vzorek zfiltrovat přes filtr ze skleněných vláken a ve filtrátu stanovit DOC (na automatickém analyzátoru uhlíku).

Tab. 6-1: Specifikace testovacích směsí v Zahnově-Wellensově testu

č. kádinky	1	2	3	4	5
typ	slepé stanovení	kontrola aktivity inokula	testovaná látka	kontrola inhibice	kontrola abiotického rozkladu
látka	x	benzoan sodný	vzorek	vzorek + benzoan sodný	vzorek
počáteční DOC [mg·l ⁻¹]	0	50	50	50 + 50	50
počáteční ρ _{NL} [mg·l ⁻¹]	200	200	200	200	0

Výpočet

$$D_t = \left(1 - \frac{\rho_{t,vz} - \rho_{t,sl}}{\rho_{t1,vz} - \rho_{t1,sl}}\right) \cdot 100$$

D_t	stupeň biodegradace testované látky v čase t [%]
$\rho_{t,vz}$	koncentrace DOC v čase t v nádobě s testovanou látkou [mg·l ⁻¹]
$\rho_{t,sl}$	koncentrace DOC v čase t v nádobě se slepým stanovením [mg·l ⁻¹]
$\rho_{t1,vz}$	koncentrace DOC v čase t_1 v nádobě s testovanou látkou [mg·l ⁻¹]
$\rho_{t1,sl}$	koncentrace DOC v čase t_1 v nádobě se slepým stanovením [mg·l ⁻¹]

Vyhodnocení testu

Ze stanovených hodnot DOC pro jednotlivé časy odběrů se vypočítá stupeň rozkladu v čase t v procentech, s korekcí na slepé stanovení a na úbytek testované látky v čase t_1 (v našem případě $t_1 = 0$). Sestrojí se křivka biologického rozkladu tzn. závislost stupně rozkladu na čase. Pro srovnání by graf měl obsahovat i křivku pro referenční látku a pro kontrolu inhibice a abiotického rozkladu. Výsledný stupeň rozkladu (28. den) se porovná s požadovaným limitem 70 %. Pokud je aktivita inokula dostatečná, referenční látka by měla dosáhnout stupně rozkladu alespoň 80 % nejdéle do 5 dní od zahájení testu.

Literatura

ČSN EN 872 (1998) Jakost vod. Stanovení nerozpuštěných látek – Metoda filtrace filtrem ze skleněných vláken.

ČSN EN 29888 (1991) Jakost vod. Hodnocení aerobní biologické rozložitelnosti organických látek ve vodním prostředí. Statická zkouška (Zahn-Wellensova metoda).

Úloha č. 7:

SUMÁRNÍ STANOVENÍ ORGANICKÝCH LÁTEK A MĚŘENÍ RESPIRAČNÍ RYCHLOSTI KALU

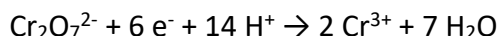
- Cíl:**
- Stanovení CHSK_{Cr} v povrchových a odpadních vodách semimikrometodou
 - Stanovení DOC v pitných a povrchových vodách
 - Měření koncentrace rozpuštěného kyslíku optickou sondou
 - Stanovení respirační rychlosti kalu

1. Sumární stanovení organických látek

Organické látky jako celek se dají stanovit buď jako **organický uhlík**, anebo jako CHSK (chemická spotřeba kyslíku). Při stanovení organicky vázaného uhlíku se výsledky vyjadřují v miligramech C_{org} v jednom litru vzorku a lze předpokládat, že zahrnují prakticky všechny organické látky přítomné ve vzorku. Při stanovení CHSK se výsledky vyjadřují v tzv. **kyslíkových ekvivalentech**, tedy v mg kyslíku, který je potřeba na oxidaci organických látek přítomných v jednom litru vzorku, oxidovatelných za podmínek stanovení. Jako oxidační činidlo však neslouží kyslík, ale K₂Cr₂O₇ (dichromanová metoda, vhodná pro povrchové a odpadní vody) nebo KMnO₄ (manganistanová metoda, vhodná pro pitné, příp. i povrchové vody). Různé organické látky se za daných podmínek stanovení oxidují v různém rozsahu. Neexistuje žádná korelace mezi DOC, CHSK_{Cr} a CHSK_{Mn}.

2. Stanovení CHSK_{Cr} semimikrometodou

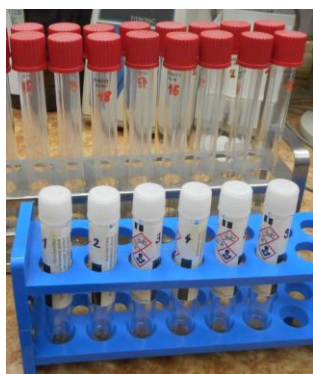
Princip stanovení CHSK_{Cr} spočívá v **oxidaci organických látek obsažených ve vzorku působením K₂Cr₂O₇ při teplotě 150 °C po dobu 2 h v silně kyselém prostředí (H₂SO₄) za katalytického působení Ag₂SO₄**. V reakční směsi je nutné eliminovat **rušivý vliv chloridů**, a to přidávkou **HgSO₄**, s nímž vytvoří stabilní chlorortuťnatany. **Hodnota CHSK_{Cr} vzorku je úměrná nezreagovanému množství dichromanu**, které lze stanovit titrací síranem diamonno-železnatým na indikátor ferroin, **nebo též koncentraci vyredukovaných chromitých iontů**, které lze stanovit spektrofotometricky. Princip stanovení CHSK vyjadřuje následující rovnice, v níž figurující uvolněné elektrony pocházejí z molekul organických látek, které se za daných reakčních podmínek oxidují:



Při standardním provedení CHSK_{Cr} se většina organických látek zoxiduje z více než 90 %; pouze některé typy sloučenin (např. deriváty pyridinu nebo nižší alifatické aminy) se oxidují příliš pomalu a neúplně.

Existuje několik různých metodik stanovení CHSK_{Cr}, které se liší experimentálním uspořádáním, složením roztoků činidel, volbou analytické koncovky, rozsahem použití.

Z hlediska jednoduchosti provedení a úspory chemikálií je výhodná tzv. **semimikrometoda**, specifická tím, že oxidace vzorku probíhá **v uzavíratelných zkumavkách** o průměru 15 mm až 20 mm, výšky 100 mm až 200 mm, se závitem a se šroubovým uzávěrem odolným tepelně i chemicky (nejlépe s teflonovým těsněním), anebo ve **fotometrických zkumavkách**, které slouží zároveň jako reakční nádoba i kyveta pro měření absorbance. Oba druhy zkumavek jsou znázorněny na Obr. 7-1. Přístroj pro měření absorbance ve fotometrických zkumavkách je znázorněn na Obr. 7-2. Uzavřené zkumavky s reakční směsí se nejprve na 2 h vkládají do tzv. **mineralizačního boxu**, což je masivní duralový válec s otvory o průměru odpovídajícím typu používaných zkumavek, vyhřívaný na teplotu **150 °C** (viz Obr. 7-3). Po fázi oxidace a následném ochlazení reakční směsi se měří absorbance při vlnové délce 600 nm, která je úměrná obsahu organických látek ve vzorku, a výsledky se vyhodnotí metodou kalibrační přímky. Semimikrometoda je vhodná pro stanovení CHSK_{Cr} všech typů vod, jejichž CHSK_{Cr} přesahuje $30 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (pro nižší koncentrace se preferují jiné metodiky CHSK_{Cr}).



Obr. 7-1: Zkumavky pro stanovení CHSK_{Cr}



Obr. 7-2: Zkumavkový spektrofotometr



Obr. 7-3: Mineralizační box

Přístrojové vybavení

- mineralizační box s možností ohřevu a regulace teploty
- zkumavkový spektrofotometr

Činidla

- oxidační roztok ($K_2Cr_2O_7$, H_2SO_4 , $HgSO_4$)
Pozor, oxidační roztok je žíravý a vysoce toxický!
- katalyzátorový roztok (Ag_2SO_4 , H_2SO_4)
Pozor, katalyzátorový roztok je žíravý!

Postup

1. Do zkumavky se pipetou odměří 2,5 ml vzorku.
2. Pístoventilovým dávkovačem se přidá 1,5 ml oxidačního roztoku a 3,5 ml katalyzátorového roztoku.
3. Zkumavka se pevně uzavře a překlápěním se důkladně promíchá.
4. Připravené zkumavky se vloží do mineralizačního boxu, předem vyhřátého na teplotu 150 °C.
5. Reakční doba v mineralizačním boxu 2 h při 150 °C.
6. Zkumavky se opatrně vyndají z boxu do kovového stojánu a nechají se vychladnout.
7. *Další postup závisí na tom, v jakém typu zkumavek probíhala oxidace vzorku.*

Pokud byly použity fotometrické zkumavky:

překlopením se promíchají, vnější stěna se otře speciální utěrkou a absorbance se měří po vložení do zkumavkového spektrofotometru, na němž byl nastaven optický filtr odpovídající vlnové délce 600 nm (nebo nejbližší nižší či vyšší).

Pokud byly použity obyčejné zkumavky:

do každé se přidá 5,0 ml demineralizované vody, zkumavka se uzavře, překlápěním promíchá a absorbance se měří v kyvetě s optickou dráhou 5 cm při vlnové délce 600 nm.

Pozor, veškerý odpad se slévá do sběrné nádoby!

Výpočet

$$CHSK_{Cr} = \frac{A - q}{k}$$

$CHSK_{Cr}$ chemická spotřeba kyslíku [$mg \cdot l^{-1}$]

A absorbance

q úsek v kalibrační závislosti

k konstanta v kalibrační závislosti

3. Stanovení DOC

Rozpuštěný organický uhlík (DOC, *dissolved organic carbon*) se stanovuje pomocí automatických analyzátorů, které pracují na principu katalyzované termické oxidace nebo oxidace na mokré cestě a převádějí veškerý uhlík na CO_2 . Obsahuje-li vzorek nerozpuštěné

látky, musí se před stanovením DOC zfiltrovat např. přes filtr ze skleněných vláken. V případě analýzy nefiltrovaného vzorku se stanoví TOC (*total organic carbon* tj. celkový organický uhlík). Koncentrace DOC (resp. TOC) se vyjadřuje v jednotkách $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

Termická oxidace probíhá při teplotě asi 700 °C až 1000 °C za přítomnosti katalyzátorů např. na bázi platiny. Vzniklý CO_2 je buď přímo, nebo po konverzi na metan stanovován nejčastěji plameno-ionizačním nebo infračerveným detektorem. Při analýze se oxidují kromě organického uhlíku i anorganické formy, a proto je třeba paralelně stanovit TIC (*total inorganic carbon*, tj. celkový anorganický uhlík), a to oxidací při teplotě 180 °C bez katalyzátorů. Parametr TOC se pak vyhodnotí diferenčně ($\text{TOC} = \text{TC} - \text{TIC}$). Jinou možností je eliminovat anorganický uhlík ze vzorku okyselením na pH 2 a následným probubláváním dusíkem a potom v takto upraveném vzorku stanovit hodnotu NPOC (*non-purgeable organic carbon*, tj. neodtěkatelný organický uhlík). Avšak hodnoty TOC a NPOC jsou totožné pouze za předpokladu, že vzorek neobsahuje těkavé složky.

Přístrojové vybavení

Analyzátorů uhlíku v kapalných vzorcích existuje celá řada od různých výrobců. Některé jsou vybaveny podavačem vzorků (tzv. karuselem), jiné vyžadují manuální obsluhu, některé jsou vybaveny monitorem s možností ovládání na těle přístroje a některé lze propojit s počítačem a na něm pak nastavit všechny parametry analýzy i zpracovávat naměřená data. Jeden z velmi spolehlivých a uživatelsky komfortních analyzátorů uhlíku je Shimadzu TOC-V_{CPH} (viz Obr. 7-4), který umožňuje stanovení TOC (DOC), IC, NPOC a také celkového dusíku.



Obr. 7-4: Analyzátor uhlíku Shimadzu TOC-V_{CPH}

Postup

Vzorek se v případě obsahu nerozpuštěných látek zfiltruje a nalije se do speciální skleněné nádoby (*vialky*), uzavře se víčkem a vloží do podavače vzorků (*karuselu*). Na analyzátoru se nastaví požadované parametry a zahájí se analýza.

4. Měření koncentrace rozpuštěného kyslíku optickou sondou

Princip měření optickou sondou spočívá v měření intenzity záření na luminiscenční vrstvě, která je nanesena na měřicí hlavici sondy. Dioda (LED) zabudovaná v sondě vysílá krátký světelný impuls o vysoké energii (modré světlo), což způsobí excitaci luminoforu a tím i vyzařování červeného světla z luminiscenční vrstvy na měřicí hlavici. Molekuly kyslíku pohlcují energii tohoto záření, a proto **koncentrace rozpuštěného kyslíku ve vzorku je nepřímě úměrná intenzitě luminiscenčního záření**. Emitované záření je fotodetektorem převáděno na elektrický signál.

Výsledky se vyjadřují buď jako **hmotnostní koncentrace** rozpuštěného kyslíku (O_2) v $mg \cdot l^{-1}$, nebo jako **stupeň nasycení** kyslíkem v **procentech**, přičemž nasycení 100 % odpovídá rovnovážné koncentraci rozpuštěného kyslíku za dané teploty a tlaku. Vždy se zároveň měří teplota, protože jednak ovlivňuje signál sondy a jednak i rozpustnost kyslíku ve vodě.

Měřicí hlavice sondy se uchovává v pouzdře se silikagelem. Luminiscenční vrstvy se nesmíme dotýkat ani ji mechanicky čistit, aby se nepoškodila. Koncentrace kyslíku se v laboratoři obvykle měří v **kyslíkovce** (tj. speciální typ vzorkovnice), v terénu ponořením sondy přímo do vodního tělesa. Při měření je potřeba zabránit kontaktu vzorku se vzduchem, tvorbě bublin a zajistit proudění vzorku kolem měřicí hlavice, např. pomocí magnetického míchadla. Koncentraci kyslíku lze měřit nejen ve vodě, ale také v suspenzi kalu, což se využívá při kontrole a řízení aktivačního procesu na ČOV.

Přístrojové vybavení

- přenosný oxymetr Hach LDO HQ 10 (viz Obr. 7-5)
- magnetická míchačka



Obr. 7-5: Oxymetr Hach LDO HQ 10

Postup

1. Seznámit se s obsluhou oxymetru (dle návodu výrobce) a připravit jej k měření.
2. Kyslíkovku naplnit vzorkem, opatřit magnetickým míchadlem, měřicím nástavcem a umístit na magnetickou míchačku.

3. Upravit intenzitu míchání.
4. Ponořit sondu a po ustálení zapsat naměřenou koncentraci rozpuštěného kyslíku, stupeň nasycení a teplotu.
5. Vyjmout sondu z kyslíkovky, opláchnout ji demineralizovanou vodou, jemně osušit tělo sondy (nikoliv luminiscenční vrstvu!) a uložit do pouzdra.

Vyjadřování výsledků

$\rho(\text{O}_2)$ hmotnostní koncentrace kyslíku [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]

$w(\text{O}_2)$ nasycení kyslíkem [%]

5. Stanovení respirační rychlosti kalu

Respirační rychlostí kalu se rozumí **rychlost spotřeby kyslíku** (O_2) mikroorganismy aktivovaného kalu v objemové jednotce kalu za časovou jednotku a vyjadřuje se v $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. Pokud se vztahuje na hmotnostní jednotku sušiny kalu, jedná se o *specifickou* rychlost spotřeby kyslíku neboli **specifickou respirační rychlost** a vyjadřuje se v $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$. Dojde-li za přítomnosti nějaké látky k **poklesu respirační rychlosti kalu**, svědčí to o **inhibičním účinku** této látky na mikroorganismy aktivovaného kalu.

Před měřením respirační rychlosti kalu se testovaná směs, která obsahuje snadno rozložitelný substrát (a případně navíc i testovanou látku), nechá dostatečně dlouho provzdušňovat, aby se nasýtila kyslíkem a mikroorganismy mohly začít metabolizovat substrát. Ve vhodný okamžik se část testované směsi odebere do kyslíkovky, kde již nedochází k provzdušňování a **koncentrace rozpuštěného kyslíku je tudíž ovlivněna pouze respirací přítomných mikroorganismů**. Měří se koncentrace rozpuštěného kyslíku v kyslíkovce v závislosti na čase a **z poklesu koncentrace rozpuštěného kyslíku za časovou jednotku se vypočítá respirační rychlost kalu**. Pro výpočet se používá metoda lineární regrese a pracuje se pouze s lineární částí naměřené závislosti, ideálně v rozmezí koncentrace rozpuštěného kyslíku mezi $7\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a $2\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

Činidla

- syntetická odpadní voda
- roztok 3,5-dichlorfenolu ($\rho = 1,00\text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$)
- roztoky HCl a NaOH na úpravu pH

Postup

Vzorek čerstvě odebraného kalu, jehož respirační rychlost v přítomnosti určitého substrátu máme stanovit, je nejprve potřeba náležitě připravit ke zkoušce. Příprava zahrnuje následující operace v uvedeném pořadí:

- dekantace
- odstředění

- resuspendace v odstáté kohoutkové vodě
- odstředění
- resuspendace v odstáté kohoutkové vodě
- stanovení sušiny biomasy
- naředění odstátou kohoutkovou vodou na koncentraci sušiny cca $3 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$
- provzdušňování až do okamžiku použití

Paralelně s úpravou kalu již lze připravovat jednotlivé **testovací směsi**. Každá z nich obsahuje vypočtený objem uměle připravené (syntetické) odpadní vody, demineralizované vody, suspenze kalu pro inokulaci a příp. zásobního roztoku určité látky. Každá série testu zahrnuje kromě nádoby se zvolenou testovanou látkou také **kontrolní vzorek**, který slouží ke kontrole aktivity inokula, dále **referenční látku** (3,5-dichlorfenol), která silně inhibuje respiraci kalu, a dle potřeby může být zařazena i kontrola inhibice s korekcí na nitrifikaci, kde je kromě testované látky přítomen inhibitor nitrifikace (allylthiomocovina). Složení syntetické odpadní vody a ostatních potřebných roztoků, jakož i pracovní postup a pokyny k vyhodnocení lze nalézt v normě ČSN EN ISO 8192.

Před zahájením testu je nezbytné zkontrolovat a případně upravit hodnotu pH všech testovacích směsí na **pH v rozmezí 7 až 8** a všechny testovací nádoby (větší kádinky nebo kónické baňky) vybavit provzdušňovacími trubičkami a míchadly a umístit je na magnetické míchačky. **Inokulace jednotlivých testovacích směsí se musí provádět postupně s přiměřeným časovým odstupem** (např. 15 min), aby později bylo reálné měřit koncentraci kyslíku jednotlivých vzorků v potřebném čase (pochopitelně nelze jednou sondou měřit v několika nádobách současně). Dávka suspenze kalu se volí taková, aby výsledná **koncentrace sušiny biomasy** v testovací směsi byla **$1500 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$** . Čas inokulace jednotlivých testovacích směsí se eviduje jako začátek testu. Mícháním se vločky kalu udržují ve vznosu a intenzita provzdušňování se upraví tak, aby nasycení kyslíkem přesahovalo 60 % (nutno průběžně kontrolovat).

Respirační rychlost se měří po odběru vzorku z testovací nádoby do kyslíkovky, a to ve zvolených časových intervalech, obvykle **po 30 min od zahájení testu** a potom např. po 180 min. Kyslíkovka vybavená míchadlem se vždy plní až po hrdlo a do něj se vkládá měřicí nástavec, který umožňuje relativně těsné zanoření sondy a zajistí prostor pro přetečení vzorku z kyslíkovky. Jakmile je kyslíkovka se vzorkem připravena, okamžitě se do ní ponoří sonda oxymetru a zaznamenává se koncentrace kyslíku v závislosti na čase, dokud koncentrace kyslíku neklesne pod $2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, což obvykle trvá 5 až 10 minut. Rovněž se zaznamená teplota vzorku. Po ukončení měření se vzorek z kyslíkovky vrátí zpět do testovací nádoby a kyslíkovka se připraví pro měření dalšího vzorku.

Na základě vlivu testované látky na respirační rychlost aktivovaného kalu lze posoudit inhibiční účinky dané látky na mikroorganismy kalu. Zkouška je použitelná pro testování chemických sloučenin nebo jejich směsí, ale i odpadních vod. Aby výsledky mohly být považovány za platné, musí být respirační rychlost v kontrolním vzorku alespoň $20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$.

Výpočet

$$R_s = \frac{\rho_1 - \rho_2}{\rho_{NL} \cdot \Delta t} \cdot 60$$

R_s	specifická respirační rychlost [$\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$]
ρ_1	hmotnostní koncentrace rozpuštěného kyslíku na začátku vybrané části lineárního úseku [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]
ρ_2	hmotnostní koncentrace rozpuštěného kyslíku na konci vybrané části lineárního úseku [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]
ρ_{NL}	koncentrace nerozpuštěných látek (sušiny biomasy) [$\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$]
Δt	časový interval mezi měřeními ρ_1 a ρ_2 [min]

Vyhodnocení

Respirační rychlost kalu závisí na podmínkách, v jakých je kal uchováván (přísun substrátu, nutrientů, kyslíku), a zejména je ovlivněna látkami, s nimiž mikroorganismy byly nebo jsou v kontaktu. Přítomnost látek toxických resp. vykazujících inhibiční účinky snižuje respirační rychlost kalu a v důsledku toho i snadno rozložitelný substrát může být metabolizován podstatně pomaleji nebo dokonce vůbec. Na základě proměření respiračních rychlostí ucelené série vzorků lze vypočítat stupeň inhibice testované látky a v případě proměření koncentrační řady testované látky v rozsahu několika řádů lze dokonce vypočítat rozsah koncentrací testované látky, při nichž dochází k inhibici 0 % až 100 %, nebo též hodnotu EC_{50} tj. účinnou koncentraci látky, při které dochází k 50 % inhibici v porovnání s kontrolním vzorkem.

Literatura

Sýkora V.: Stanovení chemické spotřeby kyslíku dichromanem draselným ($CHSK_{Cr}$), „semimikrometoda“ Odd. 5.2.3. In: Horáková a kol. *Analytika vody*. Str. 269 - 272. VŠCHT, Praha 2003.

Strnadová N.: Celkový organický uhlík. Odd. 5.3. In: Horáková a kol. *Analytika vody*. Str. 273 - 276. VŠCHT, Praha 2003.

ČSN ISO 17289 (2015) Kvalita vod - Stanovení rozpuštěného kyslíku - Metoda s optickým senzorem.

ČSN EN ISO 8192 (2007) Jakost vod - Zkouška inhibice spotřeby kyslíku aktivovaným kalem při oxidaci uhlíkatých látek a amoniakálního dusíku.

Úloha 8:

STANOVENÍ NUTRIENTŮ, ROZPUŠTĚNÉHO KYSLÍKU A BSK₇ V POVRCHOVÝCH VODÁCH

- Cíl:**
- Spektrofotometrické stanovení anorganických forem dusíku a fosforu
 - Stanovení rozpuštěného O₂ jodometrickou titrací
 - Nasazení BSK₇
 - Klasifikace vzorku povrchové vody dle ČSN 75 7221

1. Spektrofotometrické stanovení anorganických forem dusíku a fosforu

Dusík a fosfor náleží do skupiny **nutrientů**, jejichž zdrojem jsou především (vyčištěné) odpadní vody a splachy hnojiv ze zemědělské půdy. Vznikají též při rozkladu organických látek přírodního původu. Důsledkem nadměrného obohacování povrchových vod o sloučeniny dusíku a fosforu je přemnožení některých druhů mikroorganismů (řas, sinic), které postupně odumírají, a rozkládající se biomasa způsobuje pokles koncentrace kyslíku. Celý proces se nazývá **eutrofizace**. V důsledku eutrofizace dochází k narušení kyslíkového režimu a oslabení samočisticí schopnosti přírodních vod.

Mezi anorganické formy dusíku patří **dusitany, dusičnany a amoniakální dusík**, který se může vyskytovat ve formě amoniaku nebo amonných iontů (zastoupení těchto forem výskytu závisí na hodnotě pH). Z anorganických sloučenin fosforu jsou významné zejména tzv. **orthofosforečnany**, což je kyselina fosforečná a všechny její soli; minoritní význam mají polyfosforečnany. Stanovení koncentrace forem dusíku a orthofosforečnanů je nezbytné při monitorování znečištění povrchových vod a hodnocení rizika eutrofizace.

Dusičnanový, dusitanový a amoniakální dusík a rovněž orthofosforečnany lze stanovit **spektrofotometrickými metodami**. Společným principem všech spektrofotometrických stanovení je převedení analytu pomocí vhodného činidla na barevnou sloučeninu; intenzita zbarvení (absorbance) je úměrná koncentraci analytu ve vzorku. Výpočet koncentrace vychází z Lambert-Beerova zákona a obvykle se pracuje metodou kalibrační přímky. Pro orientační stanovení je vhodné využít **modifikace standardních metod ve fotometrických zkumavkách**, protože provedení je úspornější z hlediska času i spotřeby chemikálií. Ve fotometrických zkumavkách probíhá vybarvovací reakce a poté se vkládají do speciálního spektrofotometru, kde proběhne měření absorbance (viz Obr. 8-1). Obsahuje-li vzorek nerozpuštěné látky, je nutné jejich odstranění filtrací před analýzou.

Výpočet

$$\rho = \frac{A - q}{k}$$

ρ	hmotnostní koncentrace analytu [mg·l ⁻¹]
A	absorbance
q	úsek v kalibrační závislosti
k	konstanta v kalibrační závislosti

Spektrofotometrické stanovení dusitanů
s NED-dihydrochloridem, modifikace ČSN EN 26777

Princip

Dusitany přítomné ve vzorku reagují v prostředí kyseliny fosforečné při hodnotě pH 1,9 s amidem kyseliny sulfanilové za vzniku diazoniové soli, která s NED-dihydrochloridem tvoří růžové azobarvivo. Absorbance vybarveného vzorku se měří při vlnové délce 540 nm.

Činidla

Vybarvovací činidlo SANED obsahuje kyselinu fosforečnou, 4-aminobenzen-sulfonamid a N-(1-naftyl)-1,2-ethylendiamin dihydrochlorid. *Pozor, činidlo SANED je toxické!*

Postup

1. Pipetou odměřit 5,0 ml vzorku do fotometrické zkumavky.
2. Přidat 125 μ l vybarvovacího činidla SANED, promíchat.
3. Přidat 1,1 ml demineralizované vody, promíchat.
4. Reakční doba 20 min.
5. Měřit absorbanci při vlnové délce 540 nm.

Spektrofotometrické stanovení dusičnanů
s 2,6-dimethylfenolem dle ČSN 75 7455

Princip

Dusičnany přítomné ve vzorku reagují s 2,6-dimethylfenolem v prostředí směsi koncentrované kyseliny sírové a koncentrované kyseliny fosforečné za vzniku cihlově červeného 4-nitro-2,6-dimethylfenolu. Absorbance vybarveného vzorku se měří při vlnové délce 324 nm.

Činidla

- 2,6-dimethylfenol (roztok v konc. kyselině octové)
- směs kyselin: konc. H_2SO_4 a konc. H_3PO_4 v objemovém poměru 1:1
Pozor, směs kyselin je silná žíravina!
- kyselina amidosírová (roztok)

Postup

1. Pipetou odměřit 0,5 ml vzorku do fotometrické zkumavky.
2. Přidat 50 μ l roztoku amidosírové kyseliny, promíchat.
3. Přidat 3,5 ml směsi kyselin a velmi opatrně promíchat.
4. Přidat 0,5 ml 2,6-dimethylfenolu, zkumavku uzavřít a důkladně protřepat.
5. Reakční doba 10 minut.
6. Měřit absorbanci při vlnové délce 340 nm.

Spektrofotometrické stanovení amoniakálního dusíku **indofenolovou metodou, modifikace ČSN ISO 7150-1**

Princip

Amoniakální dusík v alkalickém prostředí reaguje s chlornanem a salicylanem za katalytického účinku nitroprussidu sodného. Vzniká modré barvivo indofenolového typu, které však společně se žlutě zbarveným nitroprussidem výsledně dává zelené zbarvení. Absorbance vybarveného vzorku se měří při vlnové délce 655 nm.

Činidla

- SCNP: salicylan sodný, citronan trisodný a nitroprussid sodný
- DCIK: dichlorisokyanuratan sodný, NaOH (*Pozor, roztok DCIK je silně alkalický!*)
- čisticí roztok: NaOH, demineralizovaná voda, ethanol (*Pozor, žíravina!*)

Postup

1. Pipetou odměřit 5,0 ml vzorku do fotometrické zkumavky.
2. Přidat 0,5 ml činidla SCNP, promíchat.
3. Přidat 0,5 ml činidla DCIK, zkumavku uzavřít a promíchat.
4. Reakční doba 1 h.
5. Měřit absorbanci při vlnové délce 655 nm.
6. Zkumavky se po použití vyplachují *čisticím roztokem* a pak teprve demineralizovanou vodou.

Spektrofotometrické stanovení orthofosforečnanů **s molybdenanem amonným, modifikace ČSN EN ISO 6878**

Princip

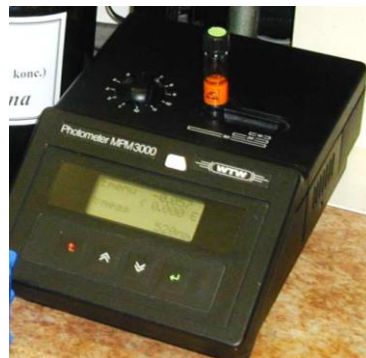
Orthofosforečnany tvoří v kyselém prostředí, za katalytického účinku antimonitých iontů, v přítomnosti nadbytku molybdenanových iontů žlutý heterokomplex polykyseliny molybdátosforečné. Tento komplex se redukuje kyselinou askorbovou na molybdenovou modř. Absorbance vybarveného vzorku se měří při vlnové délce 690 nm.

Činidla

Směsné činidlo se připravuje bezprostředně před použitím smísením předepsaných objemů roztoku H_2SO_4 , molybdenanu amonného, vinanu antimonylodraselného a askorbové kyseliny. *Pozor, vinan antimonylodraselný je toxická látka!*

Postup

1. Pipetou odměřit 5,0 ml vzorku do fotometrické zkumavky.
2. Přidat 1,0 ml směsného činidla, zkumavku uzavřít a promíchat.
3. Reakční doba přesně 15 min.
4. Měřit absorbanci při vlnové délce 690 nm.



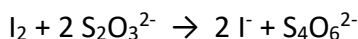
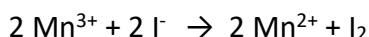
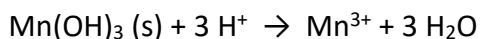
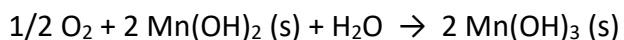
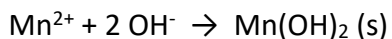
Obr. 8-1: Fotometrické zkumavky a zkumavkový spektrofotometr WTW MPM3000

2. Jodometrické stanovení rozpuštěného kyslíku

Koncentrace kyslíku v povrchových vodách je velmi důležitým **ukazatelem kyslíkového režimu** a je dána rovnováhou mezi procesy, při kterých je voda kyslíkem obohacována, a procesy, při kterých je kyslík rozpuštěný ve vodě spotřebováván. Zdrojem kyslíku je jednak fotosyntéza a jednak přestup kyslíku ze vzduchu do vody. K úbytku kyslíku dochází v důsledku dýchání vodních živočichů a rozkladu organických látek při procesech samočištění. Koncentrace kyslíku ve vodě je také limitována jeho rozpustností, která závisí na teplotě. Aktuální koncentraci rozpuštěného kyslíku lze stanovit membránovou sondou, nebo pomocí optického senzoru, anebo jodometrickou titrací (viz dále).

Princip

Kyslík rozpuštěný ve vodě se reakcí s hydroxidem manganatým v alkalickém prostředí převádí na ekvivalentní množství směsi hydroxidů manganitého a manganičitého. Jedná se o tzv. **fixaci** kyslíku. Následuje okyselení vzorku, při kterém se Mn^{III} a Mn^{IV} přítomnými jodidovými ionty redukuje zpět na Mn^{2+} a současně se ekvivalentní množství jodidu oxiduje na jod. Uvolněný jod se pak stanoví titrací odměrným roztokem thiosíranu na škrob jako indikátor. Rozpuštěný kyslík se tedy stanovuje **nepřímo, po převedení na jod**.



Odběr vzorku

Vzorek vody se odebírá přímo do tzv. **kyslíkovky**, což jsou úzkohrdlé reagenční lahve se speciálně zabroušenou zátkou s přesně známým a vyznačeným objemem v rozmezí 130 ml až 350 ml. Kyslíkovky se plní takovým způsobem, aby vzorek vody byl přiváděn ke dnu a aby

zcela vytěsnil vzduch obsažený v lahvičce. Po naplnění kyslíkovky se vzorek ještě nechá přetékat, aby se objem několikrát (alespoň 5x) vyměnil. Kyslíkovka naplněná vzorkem až po okraj se pevně uzavře zátkou tak, aby pod ní nezůstala vzduchová bublina.

Činidla

- srážecí roztok I (MnSO_4)
- srážecí roztok II (alkalický roztok jodidu a azidu)
- H_2SO_4 zřed. v objemovém poměru 1 : 1
- odměrný roztok $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ($c = 0,01 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$)
- škrobový indikátor

Postup

1. Do vzorku v kyslíkovce se *pod hladinu* přidá 0,5 ml srážecího roztoku I a 1 ml srážecího roztoku II.
2. Kyslíkovka se uzavře a důkladně se promíchá obracením (vznikne sraženina).
3. Sraženina v kyslíkovce se nechá sedimentovat, dokud fázové rozhraní neklesne do dolní třetiny objemu lahvičky.
4. Do kyslíkovky s fixovaným kyslíkem se *pod hladinu* přidá 0,75 ml zřed. H_2SO_4 . Kyslíkovka se ihned uzavře. Kyslíkovka se důkladně promíchá obracením, až se rozpustí veškerá sraženina.
5. Uzavřená kyslíkovka se nechá stát 5 min ve tmě.
6. Potom se obsah kyslíkovky kvantitativně převede do jodační baňky a hned se titruje se odměrným roztokem thiosíranu do světle žlutého zbarvení.
7. Přidá se škrobový indikátor (titrovaný roztok se zbarví modře) a dotitruje se právě do odbarvení.

Výpočet

$$\rho(\text{O}_2) = \frac{f \cdot c(\text{S}_2\text{O}_3^{2-}) \cdot V(\text{S}_2\text{O}_3^{2-}) \cdot M(\text{O}_2) \cdot 10^3}{V_K - V_{SR}}$$

$\rho(\text{O}_2)$	hmotnostní koncentrace rozpuštěného kyslíku [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]
f	titrační faktor ($f = \frac{1}{4}$)
$c(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$	titr odměrného roztoku [$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$]
$V(\text{S}_2\text{O}_3^{2-})$	spotřeba odměrného roztoku [ml]
$M(\text{O}_2)$	molární hmotnost kyslíku [$\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$]
V_K	objem kyslíkovky [ml]
V_{SR}	celkový objem srážecích roztoků [ml]

3. Stanovení BSK₇

Biochemická spotřeba kyslíku (BSK) vypovídá o koncentraci **biologicky rozložitelných látek** ve vodě. Stanovuje se **z rozdílu koncentrace rozpuštěného kyslíku** na začátku a na konci inkubace vzorku v uzavřených lahvičkách (kyslíkovkách) za uzančných podmínek, s přihlédnutím k ředění vzorku. Výsledky se vyjadřují v mg kyslíku, který se spotřebuje na biochemickou oxidaci organických látek přítomných v jednom litru vzorku. Inkubace probíhá ve tmě při teplotě 20 °C zpravidla 5 dní (BSK₅), ale připouští se i 7 dní (BSK₇), což je výhodnější z hlediska kontinuálního zpracovávání vzorků v průběhu týdne. Pro lepší srovnatelnost výsledků BSK₅ a BSK₇ se doporučuje v případě sedmidenní inkubace zvolit režim „2+5“, kdy se první dva dny vzorky inkubují při teplotě v rozmezí 0 °C až 4 °C a teprve následujících 5 dní při teplotě 20 °C.

Při stanovení BSK **standardní zředovací metodou** se vhodné množství vzorku dává do tzv. očkované zředovací vody, která je při dané teplotě nasycena kyslíkem, obsahuje nezbytné biogenní prvky (Ca, Mg, Fe), fosforečnanový tlumivý roztok, inhibitor nitrifikace (allylthiomocovinu) a inokulum (např. povrchovou vodu nebo odtok z ČOV). Inhibitor nitrifikace zabrání případné spotřebě kyslíku na oxidaci amoniakálního dusíku nebo dusitanů, která by zkreslovala výsledky. Inkubace vzorku má probíhat za aerobních podmínek, a proto je požadováno, aby koncentrace rozpuštěného kyslíku v lahvičkách činila alespoň 8 mg·l⁻¹ na začátku a 2 mg·l⁻¹ na konci inkubace. A aby výsledky byly průkazné, požaduje se spotřeba kyslíku během inkubace vzorku alespoň 2 mg·l⁻¹. Vhodné ředění se odhaduje na základě stanovené hodnoty CHSK_{Cr} vzorku, vychází se z předchozích zkušeností s daným typem vzorku a volí se paralelně několik různých ředění. Současně se vzorkem se vždy nasazuje tzv. slepé stanovení a kontrolní stanovení s referenční látkou (např. benzoan sodný). Připravenými testovacími roztoky se plní kyslíkovky, obvykle po čtyřech kusech: ve dvou se stanoví rozpuštěný kyslík 0. den a dvě se uloží do termostatu, aby se mohly zpracovat 5. den, anebo 7. den inkubace.

Postup

1. Připravit očkovanou zředovací vodu.
2. Připravit testovací roztoky (slepé stanovení, vzorek, referenční látka) a naplnit jimi kyslíkovky.
3. Kyslíkovky určené k inkubaci uložit do termostatu a v ostatních stanovit koncentraci rozpuštěného kyslíku.
4. Po 7 dnech stanovit koncentraci rozpuštěného kyslíku ve zbývajících kyslíkovkách a vypočítat hodnoty BSK.

Výpočet

$$BSK_7 = \{[\rho(O_2)_{0,TS} - \rho(O_2)_{7,TS}] \cdot V_{TS} - [\rho(O_2)_{0,sl} - \rho(O_2)_{7,sl}] \cdot (V_{TS} - V_{vz})\} \cdot 1/V_{vz}$$

BSK_7	biochemická spotřeba kyslíku za 7 dní [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]
$\rho(\text{O}_2)_{0,\text{TS}}$	hmotnostní koncentrace rozpuštěného kyslíku v testovací směsi 0. den [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]
$\rho(\text{O}_2)_{7,\text{TS}}$	hmotnostní koncentrace rozpuštěného kyslíku v testovací směsi 7. den [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]
V_{TS}	objem testovací směsi [ml]
$\rho(\text{O}_2)_{0,\text{sl}}$	hmotnostní koncentrace rozpuštěného kyslíku ve slepém stanovení 0. den [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]
$\rho(\text{O}_2)_{7,\text{sl}}$	hmotnostní koncentrace rozpuštěného kyslíku ve slepém stanovení 7. den [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]
V_{vz}	objem vzorku dávkovaný do testovací směsi [ml]

4. Klasifikace kvality povrchové vody

Na základě stanovené koncentrace nutrientů, rozpuštěného kyslíku a BSK_5 (resp. BSK_7) lze povrchové vody dle ČSN 75 7221 klasifikovat do tzv. **tříd kvality**, které vyplývají z rozsahu ovlivnění kvality vody lidskou činností:

- I. *neznečištěná voda* - ukazatele jakosti vody nepřesahují hodnoty odpovídající běžnému přirozenému pozadí v tocích
- II. *mírně znečištěná voda* - bohatý, vyvážený a udržitelný ekosystém
- III. *znečištěná voda* - nemusí být zajištěny podmínky pro existenci bohatého, vyváženého a udržitelného ekosystému
- IV. *silně znečištěná voda* - nevyvážený ekosystém
- V. *velmi silně znečištěná voda* - silně nevyvážený ekosystém

Ukazatelů znečištění pro klasifikaci povrchových vod je celkem 65 a jsou rozděleny do pěti skupin (obecné, fyzikální a chemické ukazatele; organické látky; kovy a metaloidy, mikrobiologické a biologické ukazatele; radiologické ukazatele). Základní rozsah ukazatelů zahrnuje BSK_5 , $CHSK_{\text{Cr}}$, N-NO_3^- , N-NH_4^+ , P_{celk} a saprobní index. Účelově lze klasifikaci provádět na základě vybraného okruhu ukazatelů. Výsledná třída se určí podle nejnepříznivějšího zařazení zjištěného u jednotlivých vybraných ukazatelů. S danou limitní koncentrací pro každý ukazatel se má porovnávat stanovená hodnota s pravděpodobností (ne)překročení 90 %, získaná dlouhodobějším monitoringem. Limity pro některé ukazatele jsou uvedeny v Tab. 8-1.

Tab. 8-1: Mezní hodnoty vybraných ukazatelů pro klasifikaci povrchových vod

ukazatel	jednotka	třída kvality				
		I.	II.	III.	IV.	V.
$\rho(N_{\text{amon}})$	$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$	< 0,2	< 0,4	< 0,8	< 1,6	$\geq 1,6$
$\rho(N\text{-NO}_2^-)$	$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$	< 0,05	< 0,15	< 0,25	< 0,4	$\geq 0,4$
$\rho(N\text{-NO}_3^-)$	$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$	< 2,5	< 5,0	< 8,0	< 12	≥ 12
$\rho(N_{\text{celk}})$	$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$	< 3	< 6	< 10	< 14	≥ 14
$\rho(P_{\text{celk}})$	$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$	< 0,05	< 0,15	< 0,4	< 1,0	$\geq 1,0$
$\rho(\text{O}_2)$	$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$	> 7,5	> 6,5	> 5,0	> 3,0	$\leq 3,0$
BSK ₅	$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$	< 2	< 4	< 8	< 15	≥ 15
CHSK _{Cr}	$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$	< 15	< 25	< 45	< 60	≥ 60
DOC	$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$	< 7	< 10	< 16	< 20	≥ 20

Literatura

Horáková M.: Dusitany. Odd. 4.1.3. In: Horáková a kol. *Analytika vody*. Str. 154 - 160. VŠCHT Praha 2003.

Kujalová H.: Spektrofotometrické stanovení dusičnanů s 2,6-dimethylfenolem ve fotometrických zkumavkách. Odd. 4.1.2.2. In: Horáková a kol. *Analytika vody*. Str. 152 - 154. VŠCHT Praha 2003.

Horáková M.: Spektrofotometrické stanovení amoniakálního dusíku indofenolovou metodou. Odd. 4.1.1.1. In: Horáková a kol. *Analytika vody*. Str. 138 - 141. VŠCHT Praha 2003.

ČSN EN ISO 6878 (2005) Jakost vod - Stanovení fosforu - Spektrofotometrická metoda s molybdenanem amonným.

Horáková M.: Kyslík (rozpuštěný). Odměrné jodometrické stanovení s přidavkem azidu (Alsterbergova modifikace Winklerovy metody). Odd. 4.6, 4.6.1. In: Horáková a kol. *Analytika vody*. Str. 205 - 215. VŠCHT Praha 2003.

Horáková M.: Stanovení BSK₅ standardní (zředovací) metodou. Odd. 5.1.1. In: Horáková a kol. *Analytika vody*. Str. 245 - 256. VŠCHT Praha 2003.

ČSN 75 7221 (2017) Kvalita vod - Klasifikace kvality povrchových vod.

Úloha č. 9:

HODNOCENÍ AGRESIVITY VODY MRAMOROVOU ZKOUŠKOU

- Cíl:**
- Stanovení KNK povrchových vod
 - Chelatometrické stanovení vápníku
 - Provedení a vyhodnocení mramorové zkoušky

1. Stanovení KNK

Kyselinová neutralizační kapacita (KNK) je důležitý ukazatel při posuzování **tlumivé kapacity vody**, tedy schopnosti vody vyrovnávat se s přidavkem látek kyselého charakteru, aniž by došlo k výraznému snižování pH vody. Ve většině vod převládá **uhličitanový tlumivý systém**, tj. formy výskytu oxidu uhličitého: hydrogenuhličitaný, volný CO₂ a případně uhličitany.

Hodnota KNK se stanovuje **neutralizační titrací** a je definována jako látkové množství silné jednosytné kyseliny, které se spotřebuje na titraci jednoho litru vody do určité hodnoty pH, zvané **titrační exponent** (značí se jako dolní index). V souvislosti s uhličitanovým systémem běžných typů vod je důležitá hodnota **KNK_{4,5}**, která koresponduje s koncentrací HCO₃⁻ ve vodě. Jako titrační činidlo se používá HCl a bod ekvivalence se určuje potenciometricky nebo pomocí acidobazických indikátorů. Zvláštní pozornost je potřeba věnovat vzorkům acidifikovaných vod, při jejichž titraci jsou spotřeby odměrného roztoku velice nízké. V těchto případech se používá speciální instrumentace pro mikrotitraci, příp. automatické titrátory a pro vyhodnocení bodu ekvivalence jsou k dispozici různé matematické transformace závislosti pH na přidavku titračního činidla, z nichž nejznámější je Granova metoda. Pro běžné vzorky vod však postačuje klasická neutralizační titrace.

Činidla

- odměrný roztok HCl ($c = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$)
- methyloranž nebo směsný indikátor (methylčerveň a bromkresolová zeleň)

Postup

1. Odměřit 100 ml vzorku do titrační baňky.
2. Přidat 2 až 3 kapky indikátoru, promíchat.
3. Titrovat odměrným roztokem HCl do změny barvy:
na methyloranž do tzv. cibulové, resp. na směsný indikátor do vymizení modré.

Výpočet

$$KNK_{4,5} = \frac{c_{HCl} \cdot V_{HCl} \cdot 10^3}{V_{vz}}$$

KNK _{4,5}	kyselinová neutralizační kapacita [mmol·l ⁻¹]
c _{HCl}	titr odměrného roztoku [mol·l ⁻¹]
V _{HCl}	spotřeba odměrného roztoku [ml]
V _{vz}	objem vzorku k titraci [ml]

2. Chelatometrické stanovení vápníku

Vápník je běžnou složkou všech typů vod a obvykle bývá doprovázen hořčíkem. Jedná se o biogenní prvek, který se účastní vápenato-uhličité rovnováhy ve vodách, a proto ovlivňuje chování vody ve smyslu tvorby inkrustací, nebo naopak agresivity vody vůči materiálu potrubí, stavebním materiálům apod.

Klasickou metodou stanovení vápníku ve vodě je chelatometrická titrace, která je založena na tvorbě komplexních sloučenin (chelátů) mezi iontem stanovovaného kovu a **chelatonem 3** (tj. disodná sůl ethylendiamintetraoctové kyseliny, Na₂EDTA). Bod ekvivalence se určuje pomocí tzv. **metalochromních indikátorů**. Pro stanovení vápníku lze použít indikátor HSN (tj. kalkonkarboxylová kyselina), fluorexon, anebo směsný indikátor (murexid, fluorexon a thymolftalexon). Titrace probíhá po alkalizaci vzorku na **pH 12 až 13**, aby byla zajištěna stabilita vznikajícího komplexu, odpovídající barevný přechod indikátoru a aby se hořčík přítomný ve vzorku vysrážel a nerušil stanovení vápníku.

Činidla

- roztok NaOH ($c = 2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$)
- odměrný roztok chelatonu ($c = 0,01 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$)
- indikátor HSN

Postup

1. Odměřit 50 ml vzorku do titrační baňky.
2. Přidat 2,0 ml roztoku NaOH a promíchat.
3. Přidat špetku indikátoru, promíchat.
4. Titrovat odměrným roztokem chelatonu do změny barvy z fialové do modré.

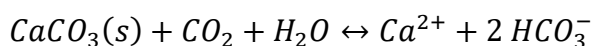
Výpočet

$$c_{Ca} = \frac{c_{chel} \cdot V_{chel} \cdot 10^3}{V_{vz}}$$

c_{Ca}	látková koncentrace vápníku [$\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$]
c_{chel}	titr odměrného roztoku [$\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$]
V_{chel}	spotřeba odměrného roztoku [ml]
V_{vz}	objem vzorku k titraci [ml]

2. Mramorová zkouška

Mramorová zkouška umožňuje posouzení tzv. **agresivity vody**, což je **tendence vody rozpouštět CaCO₃**. Ponechá-li se vzorek vody v uzavřené nádobě v kontaktu s práškovým mramorem až do ustavení **vápenato-uhličitanové rovnováhy**, přírůstek či úbytek iontů Ca²⁺ a HCO₃⁻ je úměrný obsahu tzv. agresivního CO₂ v původním vzorku vody. Princip mramorové (též Heyerovy) zkoušky lze vyjádřit následující rovnicí:



Agresivním CO₂ se rozumí ta část CO₂, o kterou je koncentrace rozpuštěného CO₂ ve vodě vyšší než rovnovážná koncentrace CO₂ za daných podmínek. Ze změny koncentrace Ca²⁺, HCO₃⁻ a pH při mramorové zkoušce lze kvalitativně odhadnout, zda voda vykazuje agresivitu, nebo naopak **inkrustační účinky** tzn. **tendenci vylučovat CaCO₃**. Posuzování agresivity vody je důležité např. z hlediska dopravování vody distribuční sítí (potrubím) a obvykle se provádí na základě vyčíslení Langelierova nebo Ryznarova indexu, anebo dle přesycení vody CaCO₃.

Činidla

- čistý bílý mramor - rozdrcený a rozetřený na prášek, promytý, vyvařený v demineralizované vodě a vysušený při teplotě 105 °C
- dále viz stanovení KNK_{4,5} a Ca²⁺

Postup

1. Ve vzorku vody se změří teplota, pH a titračně se stanoví KNK_{4,5} a c(Ca²⁺).
2. Do reagenční lahve o objemu 250 ml se vloží 1 g až 2 g práškového mramoru, vloží se magnetické míchadlo a naplní se zkoušenou vodou až po hrdlo a uzavře se tak, aby v lahvi nebyly vzduchové bubliny.
3. Lahev se alespoň na 6 hodin umístí i s magnetickou míchačkou do termostatu s nastavenou teplotou odpovídající teplotě vzorku. Práškový mramor se mícháním udržuje ve vznosu.
4. Poté se lahev otevře, změří se rovnovážná hodnota pH (pH_r) a obsah lahve se zfiltruje do suché nádoby (první podíl filtrátu cca 50 ml se vylije).
5. Ve filtrátu se stanoví rovnovážná koncentrace KNK_{4,5} a vápníku.
6. Vypočítá se přesycení vody uhličitánem vápenatým (P), Langelierův index nasycení (I_S) a Ryznarův index stability vody (R_{IS}). Výsledky se vyhodnotí.

Výpočet a vyhodnocení

Ze stanovených hodnot pH a koncentrace vápníku na začátku a na konci mramorové zkoušky se vypočítají následující ukazatele:

Langelierův index nasycení	$I_S = pH - pH_r$
-----------------------------------	-------------------

Ryznarův index stability vody	$R_{IS} = 2 pH_r - pH$
--------------------------------------	------------------------

přesycení uhličitánem vápenatým	$P = c_{Ca} - (c_{Ca})_r$
--	---------------------------

Hodnoty s indexem „r“ se týkají rovnovážného stavu při kontaktu vody s CaCO₃, hodnoty bez indexu se týkají původního vzorku vody. Hodnota pH se měří pomocí pH-metru a látková koncentrace Ca²⁺ se stanovuje chelatometricky. Změna koncentrace iontů Ca²⁺ by měla být úměrná změně KNK_{4,5}:

$$c_{Ca} - (c_{Ca})_r = 0,5 \cdot [KNK_{4,5} - (KNK_{4,5})_r]$$

Koncentraci agresivního CO₂ lze vypočítat ze vztahu:

$$\rho(\text{CO}_2)_{\text{agres}} = 0,5 \cdot [(\text{KNK}_{4,5})_r - \text{KNK}_{4,5}] \cdot M(\text{CO}_2)$$

$\rho(\text{CO}_2)_{\text{agres}}$	hmotnostní koncentrace agresivního CO ₂ [mg·l ⁻¹]
$\text{KNK}_{4,5}$	kyselinová neutralizační kapacita [mmol·l ⁻¹]
$(\text{KNK}_{4,5})_r$	kyselinová neutralizační kapacita, rovnovážná hodnota [mmol·l ⁻¹]
$M(\text{CO}_2)$	molární hmotnost CO ₂ [g·mol ⁻¹]
c_{Ca}	látková koncentrace vápníku [mmol·l ⁻¹]
$(c_{\text{Ca}})_r$	látková koncentrace vápníku, rovnovážná hodnota [mmol·l ⁻¹]

Tendenci vody tvořit inkrustace, anebo naopak působit agresivně (korozivně), lze odhadnout na základě vypočtené hodnoty Ryznarova indexu stability vody, viz Tab. 9-1.

Tab. 9-1: Interpretace hodnot Ryznarova indexu (převzato z TNV 75 7121)

RI _s	charakterizace vody
< 4,0	velmi silná tvorba inkrustací
4,0 až 5,0	silná tvorba inkrustací
5,0 až 6,0	významná tvorba inkrustací
6,0 až 7,0	mírná tvorba inkrustací nebo mírná koroze
7,0 až 7,5	významná koroze
7,5 až 9,0	silná koroze
> 9,0	velmi silná koroze

Literatura

Schejbal P.: Neutralizační kapacity. Odd. 2.10. In: Horáková a kol. *Analytika vody*. Str. 82 - 88. VŠCHT, Praha, 2003.

Schejbal P.: Vápník. Odd. 3.5. In: Horáková a kol. *Analytika vody*. Str. 110 - 116. VŠCHT, Praha, 2003.

Horáková M., Lischke P., Grünwald A.: Chemické a fyzikální metody analýzy vod. SNTL Praha 1989, str. 237 - 239.

TNV 75 7121 (2010) Požadavky na jakost vody dopravované potrubím.

Úloha 10:

STANOVENÍ SUŠINY RŮZNÝMI POSTUPY, STANOVENÍ ZTRÁTY ŽÍHÁNÍM

Cílem práce je naučit se určit sušinu a ztrátu žíháním u vzorků kontaminovaných ropnými uhlovodíky.

Analyzovanými vzorky budou čtyři směsi kontaminované uhlovodíky a obsahující různé množství vody. Jako vzorky k analýze mohou sloužit: zemina kontaminovaná motorovým olejem, písek kontaminovaný motorovou naftou, kalná voda kontaminovaná motorovou naftou, směs zeminy, písku, vody a mazutu nebo další podobné směsi.

Účel a princip

V případě analýz odpadů se obvykle neuvažuje voda jako část vzorku a výsledky jsou vztaheny na tzv. sušinu, což je bezvodý podíl vzorku. Obsah sušiny ve vzorku lze stanovit přímo nebo nepřímo. Princip přímého stanovení sušiny spočívá v odstranění vodného podílu sušením. Tento způsob se používá pro vzorky pevné a vzorky, které se stávají pevnými během sušení. Prosté sušení je nejjednodušší a nejméně nákladnou metodou, ale selhává v případě, kdy vzorek obsahuje některé těkavější látky, které se odpaří ze vzorku společně s vodou a zkreslí tak výsledek měření. Během sušení se mohou odpařit například lehčí podíly motorové nafty či lehkého topného oleje.

Nepřímé stanovení obsahu sušiny spočívá v stanovení obsahu vody. Tento způsob se preferuje pro vzorky kapalné nebo vzorky pevné obsahující zvýšené množství těkavých látek, které ovlivňují výsledky přímého stanovení. Pro případ nepřímého stanovení je preferována titrační metoda podle Karla-Fischera. Pokud existuje podezření na přítomnost rušivých látek (např. uhličitany, železnaté soli, fenoly a další), je možné použít metodu azeotropické destilace.

Výběr vhodné metody závisí na vlastnostech vzorku a obsahu těkavých látek. Jednotlivé metody na stanovení sušiny jsou obsaženy v normě ČSN EN 14346.

Ztráta žíháním se často používá k odhadu obsahu netěkavých organických látek v odpadech, kalech nebo sedimentech. Do ztráty žíháním jsou zahrnuty jakýkoliv obsah elementárního uhlíku a těkání organických materiálů nebo chemické reakce s anorganickými sloučeninami.

Postup provedení

Pro každý ze vzorků vyberte vhodnou metodu pro stanovení sušiny a výběr konzultujte s vedoucím práce.

Ve všech vzorcích stanovte sušinu, je žádoucí, aby byly použity různé metody stanovení. Stanovte ztrátu žíháním vzorků, u kterých budete stanovovat sušinu sušením při 105 °C.

Stanovení sušiny sušením při 105 °C

Příprava odpařovací nádoby: Odpařovací nádobku (misku nebo kelímek) umístěte do sušárny vyhřáté na teplotu 105 ± 3 °C po dobu nejméně 30 minut. Poté ji umístěte do exsikátoru. Po ochlazení v exsikátoru na teplotu okolí ji zvažte s přesností na 1 mg (m_A).

Navážení: V závislosti na očekávaném podílu sušiny se naváží vhodné množství vzorku tak, aby podíl sušiny získané vážením byl nejméně 0,5 g. Obsah misky zvažte s přesností na 1 mg (m_B).

Vlastní měření: Odpařovací nádobku se vzorkem umístěte do sušárny. Sušení obvykle trvá dlouhou dobu, někdy přes noc, ale pro účely této práce postačí sušení po dobu 2 hodin. Poté nádobku se vzorkem umístěte v exsikátoru. Po ochlazení nádobku se sušinou zvažte s přesností na 1 mg (m_C).

Opakujte sušení, tentokrát po dobu 1 hodiny. Podíl sušiny ($m_C - m_A$) je považován za konstantní, jestliže hmotnost získaná po další hodině sušení se neliší více jak 0,5 % od předchozí hodnoty nebo je největší rozdíl 2 mg. Proces sušení opakujte, dokud není dosaženo uvedeného stavu.

Výpočet: Podíl sušiny, vyjádřený jako hmotnostní zlomek v % nebo $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, vypočtete podle následující rovnice:

$$w_{DM} = \frac{(m_C - m_A)}{(m_B - m_A)} \cdot f$$

kde:

w_{DM} ... podíl sušiny vzorku vyjádřený v % nebo $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$

m_A ... hmotnost prázdné misky nebo kelímku vyjádřená v g

m_B ... hmotnost misky nebo kelímku se vzorkem vyjádřená v g

m_C ... hmotnost misky nebo kelímku s vysušeným vzorkem vyjádřená v g

f ... převodní koeficient, $f = 100$ pro vyjádření jako hmotnostní zlomek v % nebo $f = 1000$ pro vyjádření výsledků v $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$

Stanovení obsahu vody coulometrickou titrací dle Karla Fischera

Pro stanovení vody se použije coulometr WTK firmy Diram s.r.o. Metoda Karl-Fischera je založena na principu jodometrického stanovení vody v roztoku báze (RN-pyridin, imidazol, atd.), metanolu s oxidem siřičitým a dalšími rozpouštědly případně aditivy podle rovnice:



Voda reaguje s jódem a dalšími složkami roztoku stechiometricky, takže stanovení lze přenést na velmi přesnou coulometrickou metodu s elektrochemickou generací titračního činidla. Jeden mol I_2 se spotřebuje na 1 mol H_2O a dojde k přenesení náboje odpovídajícímu 1 molu elektronů. Vlastní stanovení probíhá na platinové anodě, kde je oxidován jodid na jód, který umožňuje reakci vody s dalšími složkami roztoku. Z prošlého náboje/proudu během měření pak lze pomocí Faradayova zákona vypočítat spotřebovaný jód a následně

i obsah vody ve vzorku. Stanovení vody na výše uvedeném přístroji je absolutní (není nutná kalibrace) a uvádí se v hmotnostních jednotkách. Metoda je velmi přesná pro koncentrace vody do 0,1 % hm.

Navážení a nástřik: K dávkování vzorku použijte plastovou 2 ml injekční stříkačku s jehlou. Stříkačku 3x propláchněte vzorkem a nasajte do ní přibližně 0,5 ml vzorku. Potřebnou navážku vzorku odhadněte podle Tab. 10-1. Stříkačku se vzorkem zvažte na analytických vahách. V případě výskytu více kapalných fází ve vzorku vzorek řádně protřepete, aby se obě fáze co nejlépe promíchaly.

Tab. 10-1: Očekávaný obsah vody

Předpokládaný obsah vody (mg·kg ⁻¹)	Navážka vzorku (g)
100	1 – 2
100 – 5000	0,1 – 1
více než 5000	0,01 – 0,1

Vzorek nastříknete do měřicí cely. Při dávkování vzorku do cely dejte pozor, aby nedošlo k rozstříknutí vzorku po stěnách v důsledku prudkého nástřiku. Měření se spouští automaticky při detekci vody.

Zvažte prázdnou stříkačku a запиšte navážku vzorku.

Konec titrace: Konec titrace přístroj ohlásí zvukovým znamením a na displeji se zobrazí obsah vody v ug. Stiskněte tlačítko „Enter“, zadejte navážku v g a znovu stiskněte tlačítko „Enter“. Na displeji se zobrazí obsah vody v mg·kg⁻¹ (ppm).

Stiskněte tlačítko „Reset“ a počkejte, zda se ustálí hodnota kompenzačního proudu menší než 7 mA. Pokud je hodnota vyšší, přístroj automaticky zahájí titraci a je nutné po skončení stisknout opět tlačítko „Reset“.

Měření opakujte 3x pro každý vzorek.

Stanovení obsahu vody azeotropickou destilační metodou

Podstatou tohoto stanovení je destilace vzorku pod zpětným chladičem ve směsi s rozpouštědlem nemísitelným s vodou. Rozpouštědlo vytváří s vodou azeotrop, který má nižší bod varu než voda. Zkondenzované rozpouštědlo a voda jsou průběžně oddělovány v jímadle na základě rozdílných hustot a omezené mísitelnosti. Voda (spodní fáze) se usazuje v kalibrované části jímadla a rozpouštědlo (horní fáze) se přepadem vrací zpět do baňky. Usazená voda se z kalibrované části může odpouštět kohoutem. Takto je postupně ze vzorku oddestilována veškerá obsažená voda.

Množství vzorku: Množství zkušební vzorku zvolte na základě očekávaného obsahu vody (předchozí pokus) ve vzorku podle Tab. 10-2. Při objemovém stanovení vody vzorek odměřte pomocí odměrného válce opatrným nalitím ze vzorkovnice a pak následně do destilační baňky. Odměrný válec pak pětkrát vypláchněte odpovídajícím množstvím toluenu. V případě hmotnostního stanovení vody vzorek navažte na vahách přímo do destilační baňky. Vzorek

v destilační baňce doplňte toluenem na celkový objem 400 ml. Do destilační baňky vložte varný kamínek!

Tab. 10-2: Navážka vzorku podle očekávaného obsahu

Očekávaný obsah vody % (m/m) nebo % (V/V)	Přibližné množství vzorku (g nebo ml)
50,1 – 100,0	5
25,1 – 50,0	10
10,1 – 25,0	20
5,1 – 10,0	50
1,1 – 5,0	100
0,5 – 1,0	200
Méně než 0,5	200

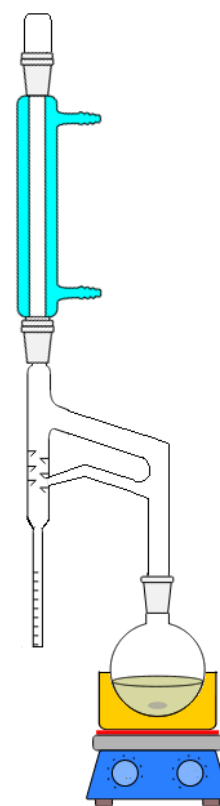
Aparatura: Aparatura (Obr. 10-1) je složená z destilační baňky o objemu 1000 ml, ze skleněného jímadla o objemu 5 ml s hodnotou dílku 0,05 ml, Liebigova chladiče a elektricky vytápěného hnízda.

Destilace: Po sestavení přístroje a kontrole netěsností začněte baňku zahřívat elektrickým topným hnízdem. Body varu směsi se mohou výrazně měnit podle typu vzorku, pokud obsahuje látky s nižším bodem varu než má azeotropická směs. Zpočátku varnou baňku zahřívejte pomalu (cca 0,5 – 1 hodinu), aby se zabránilo utajenému varu a možné ztrátě vody ze systému (kondenzát by neměl vystoupit výše než do $\frac{3}{4}$ délky chladiče). Po počátečním zahřívání nastavte rychlost varu tak, aby kondenzát vystoupal méně než do $\frac{3}{4}$ délky chladiče, v jímadle pak jímejte destilát rychlostí 2 - 5 kapek za sekundu. Destilát jímejte, dokud objem vody v jímadle zůstává konstantní alespoň 5 minut. Jestliže dochází k trvalému shromažďování kapek vody v chladiči, vypláchněte ho toluenem nebo kapky strhněte nerezovým drátem. Pak následně pokračujte v destilaci alespoň 5 minut za pomalého zahřívání. Když je oddestilování vody ukončeno, nechte jímadlo ochladit na laboratorní teplotu. Kapky vody ulpívající na stěnách jímadla a chladiče strhněte nerezovým drátem a umístěte je do vodní vrstvy v jímadle. Hodnota dílku jímadla je 0,05 ml, ale objem zaokrouhlete na nejbližších 0,025 ml.

Výpočet: Obsah vody vypočítejte podle jednoho z následujících vzorců:

$$a) \quad \text{obsah vody (\% obj.)} = \frac{V_2}{V_1} * 100$$

$$b) \quad \text{obsah vody (\% hm.)} = \frac{m_2}{m_1} * 100$$



Obr. 10-1: Aparatura pro azeotropickou destilaci

Kde V_1 objem zkušební vzorku v ml, V_2 objem vody v jímadle v ml, m_1 je hmotnost zkušební vzorku v g a m_2 je hmotnost vody v jímadle v g.

Stanovení ztráty žíháním

Stanovení ztráty žíháním a stanovení sušiny se provádějí na různých zkušebních podílech stejného vzorku. Pro některé odpady je však pohodlné provést stanovení podílu sušiny a ztráty žíháním ve dvou po sobě jedoucích krocích ve stejném kelímku. Ve všech případech by se mělo zabránit absorpci vzdušné vlhkosti vzorkem, dokud není zvážen.

Proveďte stanovení ztráty žíháním na všech vzorcích, u kterých jste stanovili sušinu sušením při 105 °C. Řiďte se postupem pro vzorky neobsahující těkavé látky, který následuje.

Ztráta žíháním pro vzorky neobsahující těkavé látky:

Příprava kelímku: Kelímek vložte do pece a zahřívejte ho 20 minut na 550 ± 25 °C. Poté ho vyndejte z pece, ochlaďte ho na kovové desce, vložte do exsikátoru a nechte vychladnout na teplotu okolí. Prázdný kelímek zvažte na analytických vahách s přesností na 1 mg (m_A).

Navážení: Jestliže provádíte stanovení ztráty žíháním a stanovení sušiny v po sobě jdoucích krocích, zvažte kelímek s vysušeným vzorkem s přesností na 1 mg (m_D).

Žíhání: Kelímek vložte do pece a zahřívejte ho nejméně 1 h při teplotě 550 ± 25 °C. Horký kelímek vyndejte z pece, ochlaďte ho na kovové desce, vložte do exsikátoru a nechte ho vychladnout na teplotu okolí. Vyžíhaný kelímek zvažte na analytických vahách s přesností na 1 mg (m_C). Opakujte žíhání po dobu 30 minut s následujícím chlazením a vážením.

Žíhání můžete považovat za úplné, když dosáhnete konstantní hmotnosti. Jestliže nedosáhnete konstantní hmotnosti ani po třetím žíhání při teplotě 550 ± 25 °C, zaznamenejte stanovenou hodnotu jako poslední měření. Tuto skutečnost zaznamenejte spolu s výsledkem.

Výpočet: Ztrátu žíháním v hmotnostních procentech sušiny vypočítejte podle následující rovnice.

$$w = \left(\frac{m_B - m_C}{m_B - m_A} \cdot 100 - (100 - w_{DM}) \right) \cdot \frac{100}{w_{DM}}$$
$$w = \left(\frac{m_D - m_C}{m_D - m_A} \cdot 100 \right)$$

kde

w ... ztráta žíháním vzorku v procentech podílu sušiny nebo bezvodého vzorku

w_{DM} ... obsah sušiny ve vzorku v procentech

m_A ... hmotnost prázdného kelímku v gramech

m_B ... hmotnost kelímku s nevysušeným vzorkem v gramech

m_C ... hmotnost kelímku se zbytkem po žíhání v gramech

m_D ... hmotnost kelímku s vysušeným vzorkem v gramech

Požadavky na protokol

Do protokolu uveďte označení a popis vzorků, odhadněte, o jaké vzorky se jedná. Uveďte zdůvodnění volby jednotlivých metod stanovení sušiny pro jednotlivé vzorky. Výsledky

stanovení uveďte v tabulce naformátované podle vzoru v Tab. 10-3. V protokolu uveďte veškeré výpočty.

Tab. 10-3: Vzorová tabulka výsledků

	Označení vzorku 1	Označení vzorku 2	Označení vzorku 3	Označení vzorku 4
Zvolená metoda stanovení sušiny				
Obsah vody (% hm.)				
Ztráta žíháním (% hm.)				

Literatura

ČSN EN 14346 Charakterizace odpadů - Výpočet sušiny stanovením podílu sušiny nebo obsahu vody, 2007.

Úloha 11:

STANOVENÍ OBSAHU UHLOVODÍKŮ GRAVIMETRICKOU METODOU

Cílem práce je naučit se stanovit obsah uhlovodíků kontaminujících zamořené půdy. Analyzované vzorky přecházejí z úlohy 10. V této práci budete analyzovat všechny vzorky z úlohy 10.

Účel a princip

Zdrojem uhlovodíků v životním prostředí jsou skupiny látek omezeně rozpustných ve vodě, vyskytujících se jak ve splaškových, tak v průmyslových odpadních vodách. Z chemického hlediska se jedná především o tuky, oleje a ropné produkty. Do prostředí se mohou dostat například při ekologických haváriích, při likvidaci znečištěných půd z průmyslových podniků, skladů a garáží a také jako součást starých skládkových zátěží.

Jako ukazatel kontaminace ropnými látkami byl dříve zaveden termín NEL - nepolární extrahovatelné látky. Ty byly dříve stanovovány kombinací extrakce halogenovanými rozpouštědly (např. 1,1,2-trifluor-1,2,2-trichlorethan nebo tetrachlorethan) a infračervené spektrometrie. Vzhledem k toxicitě použitých rozpouštědel byl tento postup nahrazen jinými metodami.

Celkový obsah výševroucích uhlovodíků v odpadech (bod varu nad 250 °C) lze stanovit pomocí jednoduché gravimetrické metody popisované v normě ČSN EN 14345 Charakterizace odpadů - Stanovení obsahu uhlovodíků gravimetrickou metodou. Metoda je použitelná pro stanovení obsahu uhlovodíků vyšších než 0,5 % hm. v sušině. Metoda neposkytuje kvalitativní informace o druhu a zdroji uhlovodíků.

Velkou výhodou gravimetrického stanovení oproti instrumentálním metodám je její nenáročnost na vybavení laboratoře. Cena potřebného vybavení je řádově nižší než u metod vyžadujících např. plynový chromatograf.

Postup provedení

V této práci stanovíte obsah uhlovodíků pomocí gravimetrické metody ve vzorcích odpadů. Následně určíte dva vzorky s nejnižším obsahem uhlovodíků, které budete dále analyzovat v úloze 12.

Příprava náplně extrakční kolony: Florisil před použitím aktivujte ohřevem na teplotu 140 °C po dobu 16 hodin.

Bezvodý síran sodný sušte ohřevem na teplotu 550 °C nejméně po dobu 2 hodin.

Příprava roztoku standardu uhlovodíků: Pokud je tento roztok k dispozici, nemusíte připravovat čerstvý. Do odměrné baňky 100 ml navažte 2 g těžkého oleje bez aditiv (např. HC-22). Odměrnou baňku doplňte petroletherem a řádně promíchejte.

Organizace měření: Kromě měření vzorků provedete souběžně také test výtěžnosti roztoku standardu uhlovodíků. Kvůli optimalizaci času postupujte při extrakci v pořadí podle

jednotlivých bodů vždy pro každý vzorek tak, aby extrakce vytřepáváním probíhala pro všechny měřené látky najednou.

Extrakce

Navážení: Do skleněné Erlenmeyerovy baňky navažte přibližně 20 g homogenizovaného vzorku s přesností na 0,1 g a navážku si poznamenejte.

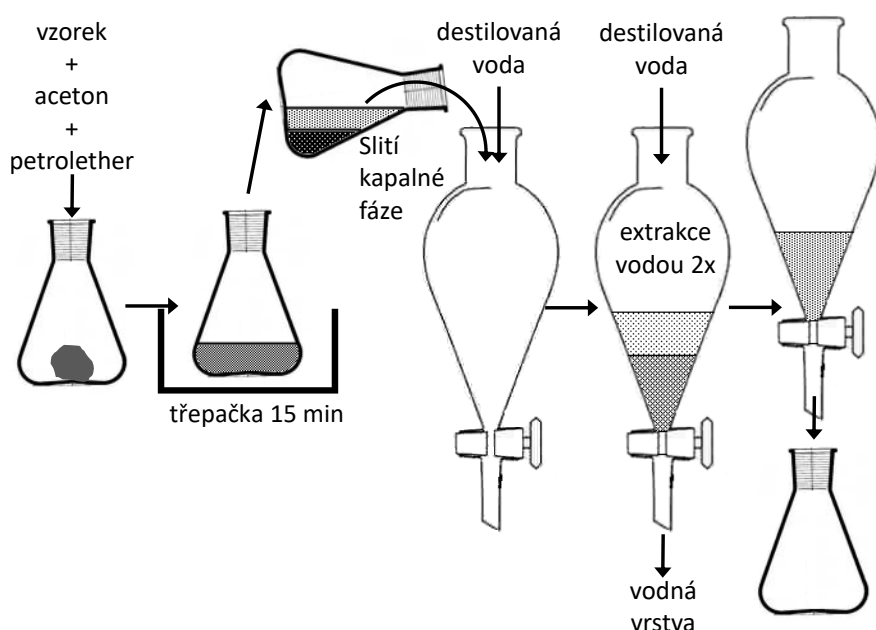
Extrakce: Do baňky ke vzorku přidejte 40 ml acetonu a obsah krátce intenzivně protřepejte. Přidejte 20 ml petroletheru a následně vzorek 15 minut extrahujte vytřepáváním na třepačce.

Po ukončení extrakce počkejte, až se usadí pevné částice, a maximum kapalně fáze přelijte do dělicí nálevky. Extrakci a následné přelití oddělené kapalně fáze do děličky zopakujte se stejnými objemy rozpouštědel. Dále do děličky přidejte 100 ml destilované vody a intenzivně protřepejte, čímž z organické fáze vymyjete aceton. Spodní vodnou vrstvu odpusťte a odstranění acetonu opakujte ještě jednou se 100 ml destilované vody. Vodnou vrstvu opět odpusťte a organickou vrstvu převedte do Erlenmeyerovy baňky. Pokud se fáze špatně oddělily a v organické vrstvě se vytvořila emulze, přidejte do baňky síran sodný, který ji vysuší. Schéma provedení extrakce je uvedeno na Obr. 11-1.

Příprava čistící kolony: Na dno kolony umístěte smotek skleněné vaty a udusejte ji drátem tak, aby se zamáčkla do špičky kolony, ale aby nedošlo k rozbití špičky. Na předvážkách navažte 2 g Florisilu a nasypťte jej do kolony. Uchopte kolonu do ruky tak, aby volně visela a intenzivně ji roztřeste lehkými údery hadicí. Kolona má vibrovat, díky čemuž se náplň kolony usadí bez zbytečných mezer. Dále na předvážkách odvažte 2 g síranu sodného a stejným způsobem ho vpravte do kolony.

Čištění: Extrakt kvantitativně převedte z Erlenmeyerovy baňky na kolonu. Baňku dvakrát vypláchněte 5 ml petroletheru a roztok přidejte také na kolonu. Kolonu předem nesmáčejte. Jímejte veškerý eluát do předem zvážené srdcové baňky. Propláchněte kolonu dvakrát 5 ml petroletheru a tento eluát přidejte do stejné srdcové baňky. Schéma čištění extraktu je na Obr. 11-2.

Čištění provádějte souběžně vždy pro dva měřené vzorky tak, aby souběžně probíhalo čištění na dvou kolonách. Následně kolony vyčistěte a pokračujte s dalšími dvěma vzorky.



Obr. 11-1: Schéma provedení extrakce

Obr. 11-2: Schéma čištění

Vyčištění čistící kolony: Kolonu vyjměte z držáku. Ve výlevce nad kádinkou na odpadní sorbent pomocí čistící hadičky vypláchněte vodou skrz tlustý konec kolony sorbent z kolony ven. Pokud v koloně zůstane smotek vaty, připojte kolonu tenkým koncem k vodě a tlakem vody ji vytlačte z kolony ven. Kolonu následně vymyjte vodou s detergentem a čistou vodou. Vymytou kolonu vypláchněte methanolem, toluenem a acetonem v uvedeném pořadí. Kolonu připojte tenkým koncem k vývěvě a zbytky acetonu odstraňte proudem vzduchu. Takto vyčištěná a vysušená kolona je připravena k dalšímu použití.

Gravimetrické stanovení obsahu uhlovodíků: Na rotační vakuové odparce odstraňte z extraktu rozpouštědlo a extrakt nakonec vysušte v sušárně při teplotě 80 °C po dobu 15 minut. Po vychladnutí baňku zvažte a z rozdílu hmotností vypočítejte hmotnost extrakčního zbytku m_2 .

Hmotnostní obsah uhlovodíků (% hm.) nakonec vypočítejte dle vzorce:

$$w = \frac{m_2}{m_1} \times 100$$

kde w je obsah uhlovodíků ve vzorku (% hm.)

m_1 je navážka vzorku (g)

m_2 je hmotnost extrakčního zbytku (g)

Test výtěžnosti roztoku standardu uhlovodíků: Před zahájením čištění extraktů ze vzorků proveďte test výtěžnosti roztoku standardu uhlovodíků. Do Erlenmeyerovy baňky napipetujte 10 ml roztoku standardu uhlovodíků a přidejte 40 ml petroletheru. Dále proveďte postup čištění na nově naplněné koloně a stanovení obsahu uhlovodíků popsané v předchozích odstavcích. Hmotnost zbytku m_2 musí být nejméně 160 mg (= výtěžnost

standardu vyšší než 80 %). Pokud je výtěžnost roztoku standardu uhlovodíků nižší, je třeba nově aktivovat Florisil. Test výtěžnosti může provést před zahájením práce vedoucí práce.

Požadavky na protokol

V protokolu respektujte pravidla pro psaní protokolu. Do protokolu uveďte výsledek testu výtěžnosti roztoku standardu uhlovodíků a výsledky extrakce uhlovodíků z analyzovaných vzorků. Na základě získaných výsledků rozhodněte, které dva vzorky postoupí do úlohy 12.

Literatura

ČSN EN 14345 Charakterizace odpadů - Stanovení obsahu uhlovodíků gravimetrickou metodou, 2005.

Úloha 12:

STANOVENÍ OBSAHU UHLOVODÍKŮ C_{10} AŽ C_{40} PLYNOVOU CHROMATOGRAFIÍ

Cílem práce je naučit se stanovit uhlovodíky jako kontaminant půd pomocí plynové chromatografie. Budou k tomu využity metody extrakce a plynové chromatografie.

V této práci budou analyzovány dva vzorky z úlohy 11.

Účel a princip

Zdrojem uhlovodíků C_{10} - C_{40} v životním prostředí jsou skupiny látek omezeně rozpustných ve vodě, vyskytujících se jak ve splaškových, tak v průmyslových odpadních vodách. Z chemického hlediska se jedná především o tuky, oleje a ropné produkty. Do prostředí se mohou dostat například při ekologických haváriích, při likvidaci znečištěných půd z průmyslových podniků, skladů a garáží a také jako součást starých skládkových zátěží.

Obsah uhlovodíků C_{10} - C_{40} je v České republice legislativně sledován např. v odpadech pro skládkování podle vyhlášky č. 294 (příloha č. 4 k vyhlášce č. 294/2005 Sb. a příloha č. 10 k vyhlášce č. 294/2005 Sb.), kde jsou uvedeny i nejvýše přípustné koncentrace uhlovodíků C_{10} - C_{40} pro odpady, které nesmějí být ukládány na skládky skupiny S - inertní odpad (500 mg kg^{-1} sušiny) a v sušině odpadů využívaných na povrchu terénu (300 mg kg^{-1} sušiny). Také příloha č. 9 zákona č. 185/2001 Sb., o odpadech, určuje limitní hodnoty koncentrací uhlovodíků C_{10} - C_{40} ve vytěžených zeminách a vytěžených hlušinách, včetně sedimentů z vodních nádrží a koryt vodních toků na 300 mg kg^{-1} sušiny.

Jako ukazatel kontaminace ropnými látkami byl dříve zaveden parametr NEL (nepolární extrahovatelné látky). Ten byl definován jako hmotnostní koncentrace organických látek, které je možno vyextrahovat ze vzorku vody trichlortrifluorethanem a po odstranění polárních látek spektrometricky stanovit v infračervené oblasti spektra. Z důvodu toxicity a škodlivosti rozpouštědel používaných pro stanovení NEL vůči ozonové vrstvě byly snahy nahradit tento parametr sumou uhlovodíků C_{10} - C_{40} .

Podle normy „ČSN EN 14039 Charakterizace odpadů – Stanovení obsahu uhlovodíků C_{10} - C_{40} plynovou chromatografií“ lze tento ukazatel definovat jako sumu sloučenin extrahovatelných směsí propanonu a heptanu, které se neadsorbují na florisilu a které lze stanovit plynovou chromatografií s plamenově-ionizačním detektorem (GC-FID) na nepolární kapilární koloně, přičemž jejich retenční časy leží mezi retenčními časy n-dekanu ($C_{10}H_{22}$) a n-tetrakontanu ($C_{40}H_{82}$). Látky splňující tuto definici jsou většinou nepolární alifatické, alicyklické, polycyklické nebo alkylované aromatické uhlovodíky s dlouhými nebo rozvětvenými řetězci. Obdobný parametr stanoví také norma „ČSN EN ISO 16703 Kvalita půdy - Stanovení obsahu uhlovodíků C_{10} - C_{40} plynovou chromatografií“.

Postup provedení

Ve dvou vzorcích s nejnižším obsahem uhlovodíků z laboratorní úlohy 11 stanovíte jejich obsah pomocí plynové chromatografie.

Příprava náplně extrakční kolony: Florisil před použitím aktivujte ohřevem na teplotu 140 °C po dobu 16 hodin.

Bezvodý síran sodný sušte ohřevem na teplotu 550 °C nejméně po dobu 2 hodin.

Příprava roztoku pro určení okna retenčních časů (RTW): Pokud je tento roztok k dispozici, nemusíte připravovat čerstvý. Do odměrné baňky 1 l navažte 30 mg tetrakontanu a úplně ho rozpustíte v malém množství n-heptanu. Dále přidejte 30 µl dekanu, roztok dobře promíchejte a baňku doplňte n-heptanem.

Příprava roztoku standardu uhlovodíků: Pokud je tento roztok k dispozici, nemusíte připravovat čerstvý. Do odměrné baňky 100 ml navažte po 0,4 g dvou různých druhů minerálních olejů. Prvním olejem může být motorová nafta bez aditiv, druhým může být mazací olej bez aditiv (např. HC-22). Odměrnou baňku doplňte n-heptanem a řádně promíchejte. Pro účely kalibrace FID detektoru můžete tento standard ředit do pěti různých koncentrací

Do odměrné baňky 10 ml napipetujte 5 ml roztoku uhlovodíků a doplňte ho roztokem RTW. Tento roztok použijte jako standard při GC analýze.

Organizace měření: Kromě měření vzorků provedete souběžně také slepý pokus, během kterého budete postupovat identicky jako u vzorků, jen na začátku nenavážíte žádný vzorek. Kvůli optimalizaci času postupujte při extrakci v pořadí podle jednotlivých bodů vždy pro každý vzorek tak, aby ultrazvuková extrakce probíhala pro všechny měřené látky najednou. Při analýze plynovou chromatografií únik stacionární fáze zjistíte na začátku měření a poté při každé změně vzorku, následně proveďte analýzy jednotlivých vzorků.

Extrakce

Navážení: Do skleněné Erlenmeyerovy baňky navažte přibližně 20 g homogenizovaného vzorku s přesností na 0,1 g a navážku si poznamenejte.

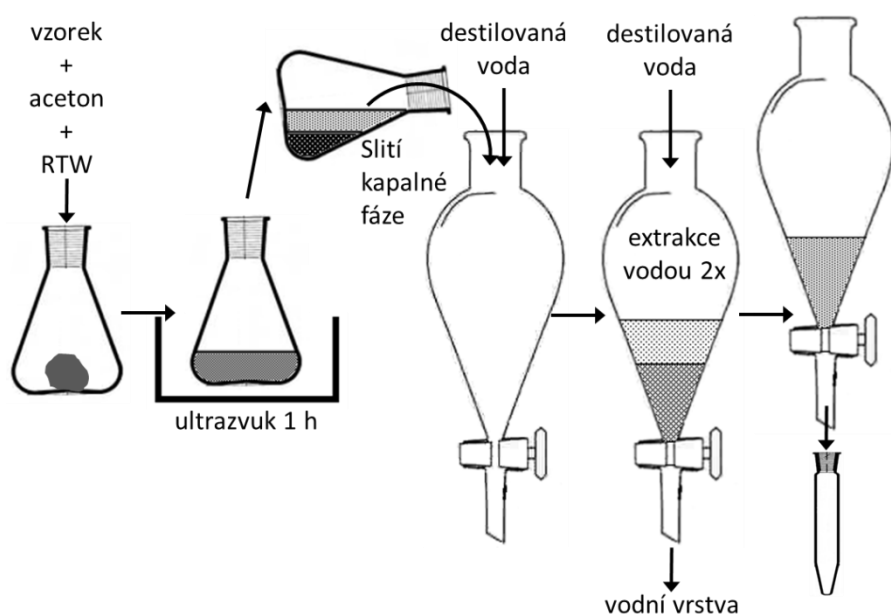
Extrakce: Do baňky ke vzorku přidejte 40 ml acetonu a obsah krátce intenzivně protřepejte. Přidejte 20 ml roztoku standardu RTW a následně vzorek 1 h extrahujte v ultrazvukové lázni. Po ukončení extrakce počkejte, až se usadí pevné částice, a maximum kapalně fáze přelijte do dělicí nálevky. Dále do děličky přidejte 100 ml destilované vody a intenzivně protřepejte, tím se z organické fáze vymývá aceton. Spodní vodnou vrstvu odstraňte a odstranění acetonu opakujte ještě jednou se 100 ml destilované vody. Vodnou vrstvu opět vylijte a organickou vrstvu přelijte do zkumavky. Pokud se fáze špatně oddělily a v organické vrstvě se vytvořila emulze, přidejte do zkumavky síran sodný, který ji vysuší. Schéma provedení extrakce na Obr. 12-1.

Příprava čistící kolony: Na dno kolony umístěte smotek skleněné vaty a udusejte ji dusadlem tak, aby se zamáčkla do špičky kolony, ale aby nedošlo k rozbití špičky. Na předvážkách navažte 2 g Florisilu a nasypete jej do kolony. Uchopte kolonu do ruky tak, aby volně visela a intenzivně ji roztřeste lehkými údery hadicí. Kolona má vibrovat, díky čemuž se náplň

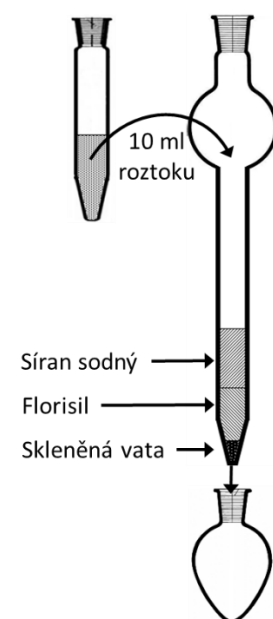
kolony usadí bez zbytečných mezer. Dále na předvážkách odvažte 2 g síranu sodného a stejným způsobem ho vpravte do kolony.

Čištění: Ze zkumavky odeberte 10 ml extraktu a nalijte ho do kolony. Kolonu předem nesmáčejte. Jímejte veškerý eluát do srdcové baňky. Eluát použijete pro analýzu na plynovém chromatografu. Schéma čištění extraktu je na Obr. 12-2.

Vyčištění čistící kolony: Kolonu vyjměte z držáku. Ve výlevce nad kádinkou na odpadní sorbent pomocí čistící hadičky vypláchněte vodou skrz tlustý konec kolony sorbent z kolony ven. Pokud v koloně zůstane smotek vaty, připojte kolonu tenkým koncem k vodě a tlakem vody ji vytlačte z kolony ven. Kolonu následně vymyjte vodou s detergentem a čistou vodou. Vymytou kolonu vypláchněte methanolem, toluenem a acetonem v uvedeném pořadí. Kolonu připojte tenkým koncem k vývěvě a zbytky acetonu odstraňte proudem vzduchu. Takto vyčištěná a vysušená kolona je připravena k dalšímu použití.



Obr. 12-1: Schéma provedení extrakce



Obr. 12-2: Schéma čištění

Analýza plynovou chromatografií

Spuštění chromatografu: Otevřete tlakové nádoby s pracovními plyny. Spusťte chromatograf přepnutím vypínače Power do polohy ON. Vypínač se nachází na zadní straně chromatografu v jeho pravé části. Zapněte počítač připojený ke chromatografu. Po naběhnutí chromatografu bude jeho další ovládání prováděno pomocí počítače.

Vzorky po vyčištění napipetujte do vialky, zavřete víčko a vialky vložte do zásobníku autosampleru plynového chromatografu (Obr. 12-3).

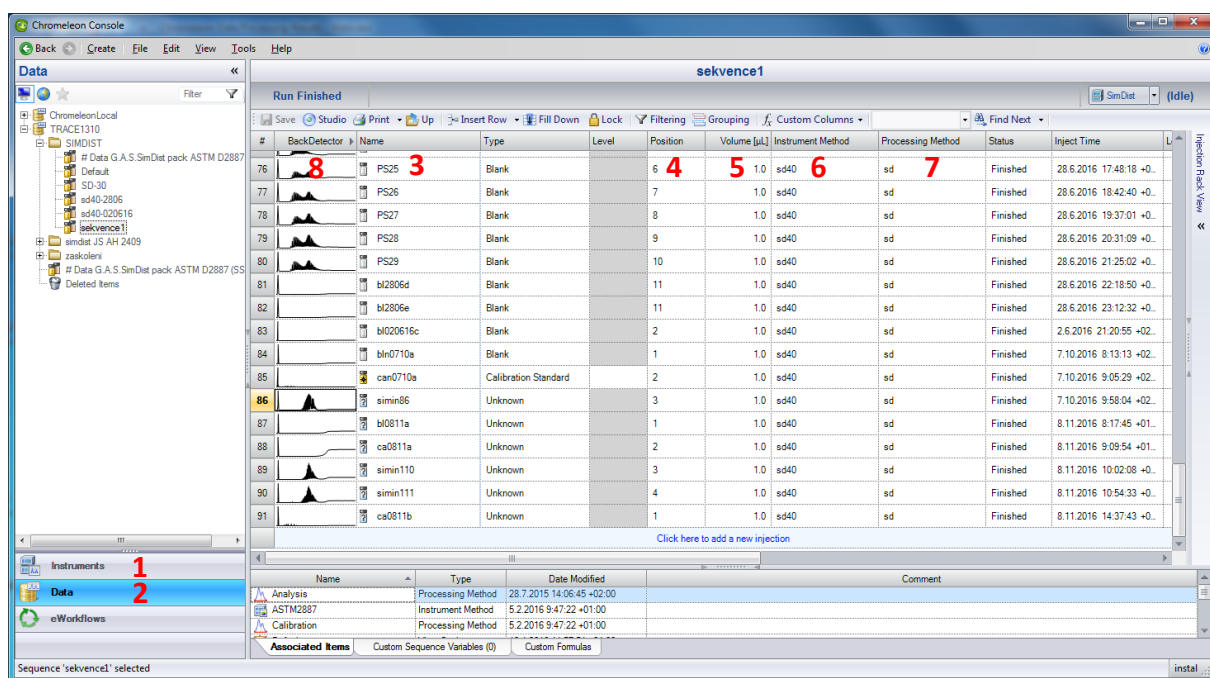
Ovládání chromatografu: Chromatograf je ovládán z prostředí programu Chromeleon 7, který spustíte pomocí ikony na ploše počítače. Nastavení parametrů analýzy se provádí pomocí záložky Instruments v levé spodní části okna, mezi jednotlivými částmi chromatografu se následně překlíkává pomocí odpovídajících karet.

Před spuštěním jednotlivých analýz je třeba doplnit údaje do sekvence analýzy, kterou lze vidět na Obr. 12-4 a do které je možné se přepnout pomocí záložky Data v levé spodní části okna.

Nový řádek v sekvenci se otevře kliknutím na nápis „Click here to add a new injection“ na spodku stávajícího seznamu. V novém řádku je třeba vyplnit hodnoty ve sloupečcích Name (unikátní jméno měřeného vzorku), Position (číslo pozice, ve které se nachází vialka, lze ho přechíst na destičce v autosampleru), Volume (nastříkované množství vzorku v μl), Instrument Method (metoda provedení analýzy, zadá vedoucí práce) a Processing Method (metoda automatického zpracování chromatografu, zadá vedoucí práce.). Po založení nového řádku spusťte analýzu podle pokynů vedoucího práce a pokračujte v zadávání dalších řádků. Po skončení analýzy je k dispozici chromatogram pro zpracování po dvojkliku na miniaturu chromatogramu v levém sloupci sekvence.



Obr. 12-3: Plynový chromatograf



- | | |
|-------------------------|--------------------------------------|
| 1 – Záložka Instruments | 5 – Sloupec Volume |
| 2 – Záložka Data | 6 – Sloupec Instrument Method |
| 3 – Sloupec Name | 7 – Sloupec Processing method |
| 4 – Sloupec Position | 8 – Sloupec dostupných chromatogramů |

Obr. 12-4: Nastavení sekvence v software Chromeleon 7

Zjištění úniku stacionární fáze: Únik zakotvené fáze z chromatografické kolony sledujte během chromatografie, kdy nastříknete pouze vhodné množství n-heptanu. Míra úniku zakotvené fáze slouží ke správnému určení základní linie při integraci plochy.

Analýza standardu uhlovodíků: Do plynového chromatografu nastříkujte vždy 2 μ l roztoků. Podmínky analýzy jsou shrnuty v Tab. 12-1. Před analýzou vzorků a slepého pokusu proveďte analýzu roztoku standardu uhlovodíků.

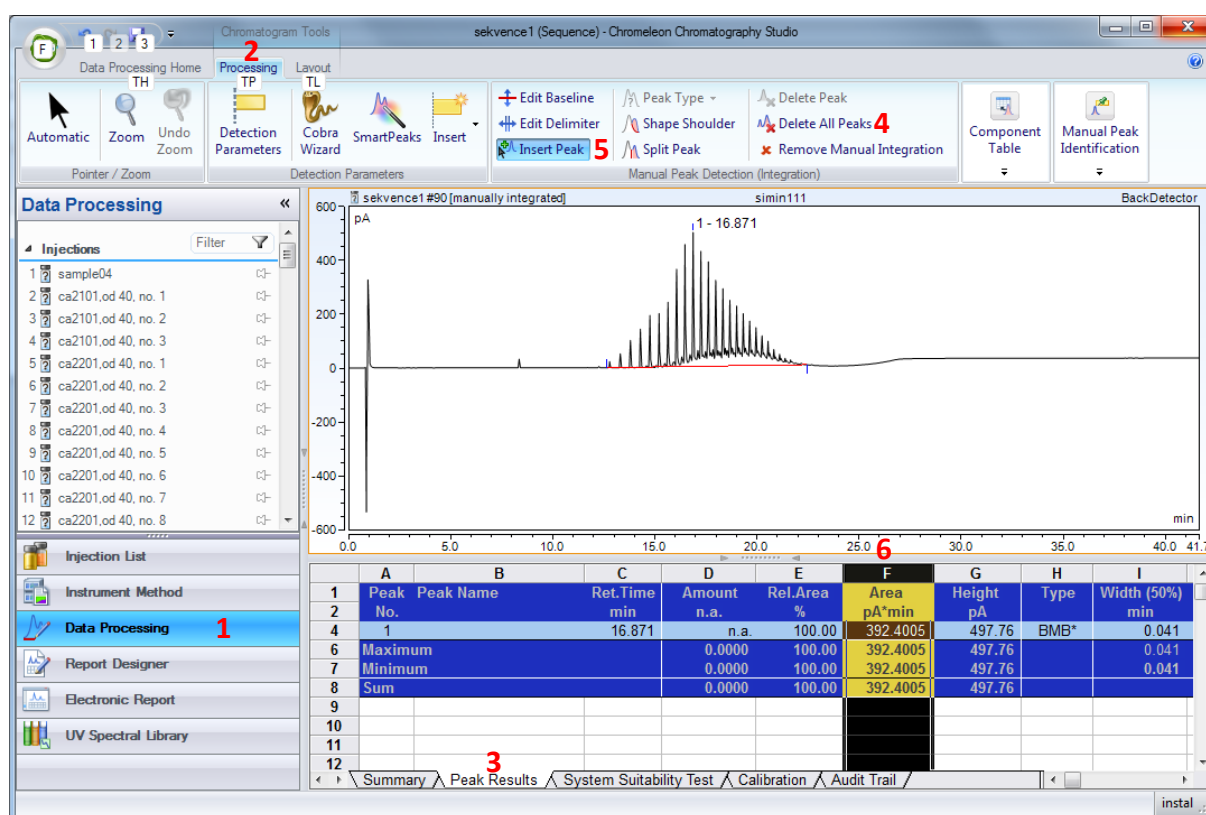
Tab. 12-1: Podmínky plynové chromatografie

Parametr	Hodnota parametru
Technika nástřiku	on-column
Objem nástřiku	2 μ l
Nosný plyn	helium, 150 kPa
Předkolona	kapilární kolona z taveného křemene, 2 m x 0,53 mm
Kolona	kapilární kolona z taveného křemene, 12 m x 0,25 mm, zakotvená fáze PDMS
Teplotní program	80 °C 1 min, 20 °C/min do teploty 360 °C, 360 °C 15 min
Detektor	FID, teplota 360 °C

Měření: Analýzu slepého pokusu a vzorků proveďte za stejných podmínek jako analýzu roztoku standardu uhlovodíků. Vždy před změnou vzorku proveďte analýzu n-heptanu.

Zpracování chromatogramu: Pro zpracování chromatogramu dvakrát poklikejte na miniaturu chromatogramu v levém sloupci v okně sekvence. Otevře se okno Data Processing. V něm přepněte na záložku Processing v levém horním rohu okna, čímž se dostanete k manuálnímu zpracování chromatogramu, které je na Obr. 12-5. Pro dobrou orientaci zapněte zobrazení Peak Results, kde najdete plochu píků chromatogramu. Před vybráním píku smažte veškeré píky, které jsou v chromatogramu zobrazené pomocí tlačítka Delete All Peaks. Žádaný pík vytvoříte tak, že kliknete na tlačítko Insert Peak, následně v chromatogramu kliknete na místo, kde má být jeden konec píku a s držením levého tlačítka myši táhnete až na druhý konec píku, kde tlačítko pustíte. Vybraný pík dostane na základně červenou hranici, ke které je integrován.

Na kartě Peak Results ve sloupci F pak přečtete plochy všech takto vyznačených píků.



1 – Záložka Data Processing

2 – Karta Processing

3 – Karta Peak Results

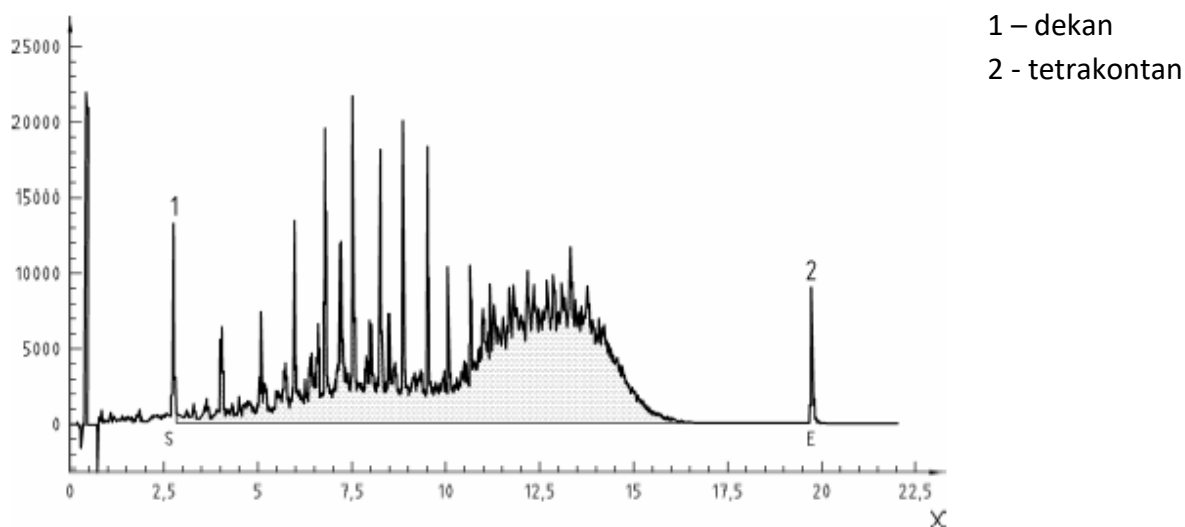
4 – Tlačítko Delete All Peaks

5 – Tlačítko Insert Peak

6 – Sloupec s plochami píků

Obr. 12-5: Zpracování chromatogramu

Integrate: Okno pro integraci určují píky dekanu a tetrakontanu. Dekan eluuje první, za ním následují sledované uhlovodíky a jako poslední eluuje tetrakontan. Před samotnou integrací odečtete od chromatogramu nejbližší předcházející chromatogram heptanu, čímž provedete korekci na únik zakotvené fáze. Integrate začíná hned za píkem dekanu a základna se nastaví na úrovni signálu před elucí dekanu. Integrate končí těsně před píkem tetrakontanu na stejné úrovni signálu jako na začátku. Příklad integrace standardu uhlovodíků je na Obr. 12-6.



Obr. 12-6: Příklad integrace chromatogramu

Po integraci získáte celkovou plochu všech píků jako jedno číslo, které následně použijte ve výpočtu jako A_s .

Export chromatografických dat: Export dat pro tvorbu chromatogramů proveďte podle pokynů vedoucího práce.

Výpočet: Parametry kalibrační přímky dodá vedoucí práce. Obsah uhlovodíků ve vzorku vypočtete podle následujících rovnic:

$$\text{obsah uhlovodíků (mg/kg sušiny)} = p \cdot \frac{V_n}{m} \cdot \frac{100}{100 - w_w}$$

$$p = \frac{A_s - b}{a}$$

kde p je koncentrace uhlovodíků v extraktu (mg/l)

A_s je integrovaná plocha píků extraktu vzorku

a je směrnice kalibrační funkce (l/mg)

b je úsek mezi průsečíkem kalibrační přímky s osou y a průsečíkem os x a y

V_n je objem heptanu použitý k extrakci (ml)

m je hmotnost vzorku (g)

w_w je obsah vody v původním vzorku stanovený v laboratorní úloze 10 (% hm.)

Výsledek zaokrouhlete na dvě platné číslice.

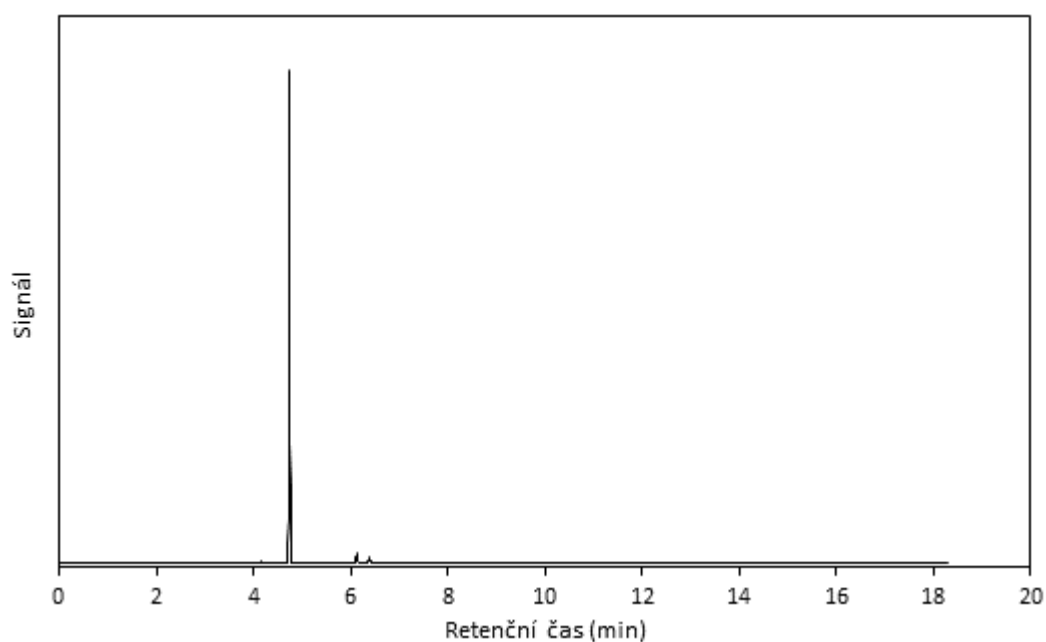
Požadavky na protokol

V protokolu respektujte pravidla pro psaní protokolu. Do protokolu uveďte konstanty kalibrační funkce a a b . Dále uveďte další údaje do tabulky podle vzoru v Tab. 12-2, počet řádků upravte podle skutečnosti.

Tab. 12-2: Vzorová tabulka výsledků

Vzorek	Obsah vody v původním vzorku (% hm.)	Navážka (g)	Integrovaná plocha píků	Obsah uhlovodíků (mg/kg sušiny)

Dále z vyexportovaných chromatografických dat vytvořte chromatogramy a naformátujte je podle vzoru na Obr. 12-7. Od každého změřeného vzorku uveďte jeden chromatogram.



Obr. 12-7: Vzorový chromatogram

Literatura

ČSN EN 14039 Charakterizace odpadů – Stanovení obsahu uhlovodíků C₁₀ - C₄₀ plynovou chromatografií, 2005.

Vyhláška č. 294/2005 Sb. o podmínkách ukládání odpadů na skládky a jejich využívání na povrchu terénu a změně vyhlášky č. 383/2001 Sb., o podrobnostech nakládání s odpady.

Zákon č. 185/2001 Sb. o odpadech a o změně některých dalších zákonů.

Úloha 13:

FOTOMETRICKÉ STANOVENÍ FORMALDEHYDU V OVZDUŠÍ

Cílem práce je stanovení formaldehydu v ovzduší fotometrickou metodou.

Princip metody

Ze vzorku ovzduší se formaldehyd izoluje při průchodu plynu destilovanou vodou. V dalším kroku formaldehyd zachycený v sorpčním roztoku reaguje v prostředí kyseliny sírové s kyselinou chromotropovou za vzniku purpurově zbarveného roztoku. Intenzita zbarvení je úměrná koncentraci formaldehydu v sorpčním roztoku. Hmotnostní koncentrace formaldehydu v sorpčním roztoku se stanoví fotometricky při vlnové délce 580 nm. Výsledek stanovení se přepočte na hmotnostní koncentraci formaldehydu ve vzorku ovzduší.

Chemikálie a roztoky

1) Reagens kyseliny chromotropové

0,1 g disodné soli kyseliny 4,5-dihydroxy-2,7-naftalendisulfonové se rozpustí v 10 ml destilované vody. Roztok je ve tmě a chladu stálý 1 týden.

2) Základní roztok formaldehydu

2,7 ml koncentrovaného formaldehydu (37 % vodný roztok) se doplní destilovanou vodou v odměrné baňce na 1 litr. Roztok je stálý 3 měsíce.

1 ml roztoku odpovídá 1 mg formaldehydu, při požadavku exaktního stanovení je třeba provést standardizaci tohoto roztoku (jodometricky).

3) Standardní roztok formaldehydu

1 ml základního roztoku formaldehydu (2) se doplní v odměrné baňce destilovanou vodou do 100 ml. Roztok se připravuje vždy čerstvý.

1 ml roztoku odpovídá 10 µg formaldehydu.

Pracovní postup

Vzorkovací trať je tvořena standardní sestavou tvořenou dvojicí absorbérů naplněných po 20 ml destilované vody - viz Obr. 13-1. Sestava absorbérů se připojí k přívodu zkoušeného plynu. Průtok zkoušeného plynu nesmí být větší než 0,5 l/min. Provedou se celkem 3 odběry vzorku: 5 l, 25 l a 50 l. Na začátku a na konci každého odběru se zaznamená stav plynoměru, teplota a přetlak plynu v plynoměru. Objem odebraného vzorku plynu se přepočte na normální podmínky.

Po skončení vzorkování se obsah každého absorbérů převede do odměrné baňky na 25 ml a doplní se destilovanou vodou. Každý roztok se analyzuje zvlášť. Do 2 odměrných (graduovaných) zkumavek na 25 ml se odpipetuje po 4,0 ml výše uvedených doplněných sorpčních roztoků. Do každé zkumavky přidejte 0,1 ml reagens kyseliny chromotropové a pipetou **opatrně a pomalu přidejte 6 ml koncentrované kyseliny sírové. Pracujte pozorně a ohleduplně ke svému okolí a hlavně ke svému zraku – roztok se extrémně zahřívá a může**

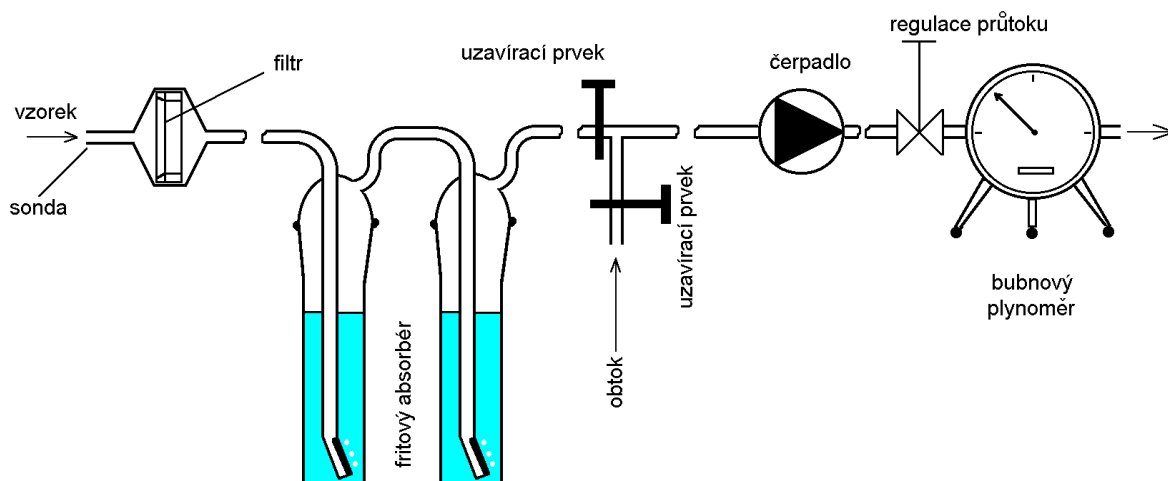
ze zkumavky vystříknout. Roztoky ve zkumavkách nechte zchladnout na laboratorní teplotu (třepáním pod tekoucí vodou) a případně odpařenou vodu doplňte na celkový objem roztoku 10 ml. Poté změřte absorbanci zbarvených roztoků při vlnové délce 580 nm. Pomocí kalibrační přímky určete hmotnostní koncentraci formaldehydu v odměrných zkumavkách. Hmotnostní koncentrace formaldehydu ve výchozích sorpčních roztocích, tj. v odměrných baňkách se sorpčními roztoky převedenými z absorberů a doplněnými na objem 25 ml se vypočítá podle vztahu:

$$\rho_{25}(\text{HCHO}) = 2,5 \rho_{10}(\text{HCHO}), \quad (1)$$

kde

$\rho_{25}(\text{HCHO})$ je hmotnostní koncentrace formaldehydu ve výchozím sorpčním roztoku v odměrné baňce na 25 ml ($\mu\text{g/ml}$),

$\rho_{10}(\text{HCHO})$ je změřená hmotnostní koncentrace formaldehydu v roztoku v odměrné zkumavce ($\mu\text{g/ml}$),



Obr. 13-1: Schéma vzorkovací trati pro stanovení formaldehydu v ovzduší

Kalibrační křivka a výpočet

Do 7 odměrných zkumavek na 25 ml se odměří 0,0 ml, 0,1 ml, 0,3 ml, 0,5 ml, 0,7 ml, 1,0 ml a 2,0 ml standardního roztoku formaldehydu (3). Roztoky se doplní destilovanou vodou na 4,0 ml, přidá se 0,1 ml reagens kyseliny chromotropové a 6 ml koncentrované kyseliny sírové (**dodržujte postup a bezpečnostní pokyny uvedené výše**). Proměřte absorbanci vychladlých roztoků a sestrojte kalibrační přímku. Hmotnostní koncentrace formaldehydu v připravených kalibračních roztocích je 0,0 $\mu\text{g/ml}$, 0,01 $\mu\text{g/ml}$, 0,03 $\mu\text{g/ml}$, 0,05 $\mu\text{g/ml}$, 0,07 $\mu\text{g/ml}$, 0,1 $\mu\text{g/ml}$ a 0,2 $\mu\text{g/ml}$.

Hmotnostní koncentrace formaldehydu v každém ze vzorků suchého plynu za normálních podmínek se vypočte podle vzorce:

$$\rho_N(\text{HCHO}) = \frac{\rho_1(\text{HCHO}) \cdot V_1 + \rho_2(\text{HCHO}) \cdot V_2}{V_N}, \quad (2)$$

kde

$\rho_N(\text{HCHO})$ je hmotnostní koncentrace formaldehydu v suchém vzorku ovzduší za normálních podmínek ($\mu\text{g}/\text{m}^3$),

$\rho_1(\text{HCHO})$ je hmotnostní koncentrace formaldehydu v roztoku v odměrné baňce s roztokem připraveným z obsahu 1. absorbéru ($\mu\text{g}/\text{ml}$),

$\rho_2(\text{HCHO})$ je hmotnostní koncentrace formaldehydu v roztoku v odměrné baňce s roztokem připraveným z obsahu 2. absorbéru ($\mu\text{g}/\text{ml}$),

V_1 je objem roztoku v 1. odměrné baňce (25 ml),

V_2 je objem roztoku ve 2. odměrné baňce (25 ml),

V_N je normální objem odebraného vzorku suchého plynu (m^3).

Objem V_N se vypočte ze stavové rovnice ideálního plynu ve tvaru:

$$V_N = V' \cdot \frac{273,15\text{K} \cdot (p_{\text{amb}} + p_e - p'_w)}{(273,15\text{K} + t) \cdot 101325\text{Pa}}, \quad (3)$$

kde

V' je objem odebraného vzorku plynu změřený bubnovým plynoměrem,

p_{amb} je průměrný barometrický tlak v době odběru vzorku plynu,

p_e je průměrný přetlak plynu v bubnovém plynoměru v době odběru vzorku (poznámka: 1 mm vodního sloupce odpovídá přibližně 9,8 Pa),

p'_w je tenze vodní páry při teplotě t (viz Tab. 13-1),

T je průměrná Celsiova teplota plynu v bubnovém plynoměru v době odběru vzorku.

Tab. 13-1: Tenze vodní páry v závislosti na teplotě

t °C	p'_w Pa
15	1 704
16	1 817
17	1 936
18	2 062
19	2 196
20	2 337
21	2 485
22	2 642
23	2 808
24	2 982
25	3 166

Metodou lze stanovit 0,2 μg HCHO v 1 ml sorpčního roztoku s nejistotou 0,02 μg . Ostatní aldehydy mají zanedbatelný rušivý vliv (pozitivní odchylka 0,01 % ve srovnání s formaldehydem). Malý rušivý vliv vykazují rovněž alkoholy, fenoly a nenasycené uhlovodíky (pozitivní odchylka maximálně 10 % ve srovnání s formaldehydem).

Úloha 14:

STANOVENÍ OXIDŮ DUSÍKU A OZONU V OVZDUŠÍ

Cílem práce je stanovení oxidů dusíku vyjádřených sumárně jako oxid dusičitý a ozonu ve venkovním ovzduší a v ovzduší laboratoře pomocí kontinuálně pracujících analyzátorů.

Měření obsahu oxidů dusíku

Látkové zlomky oxidu dusičitého a oxidu dusnatého se měří automatizovaným analyzátozem APNA-360 (Horiba, Japonsko) pracujícím na chemiluminiscenčním principu.

Chemiluminiscence je emise elektromagnetického záření v průběhu chemické reakce. Při reakci mezi NO a ozonem probíhající v plynné fázi vzniká při návratu excitovaných molekul NO₂ do základního energetického stavu elektromagnetické záření, jehož intenzita je přímo úměrná látkovému zlomku NO. Chemiluminiscenční metoda je založena na reakcích:



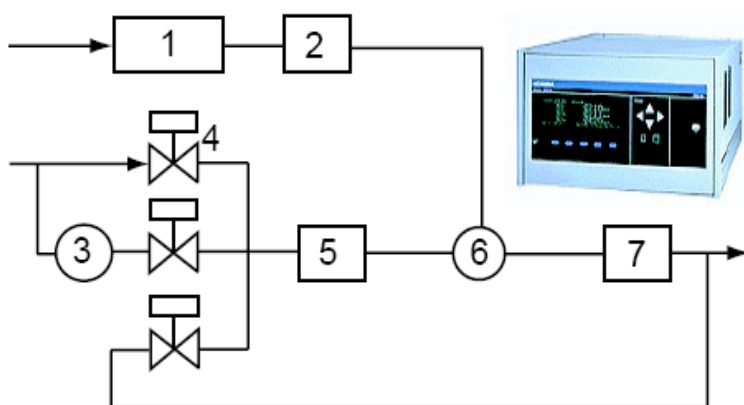
Excitované molekuly oxidu dusičitého NO₂* emitují elektromagnetické záření v blízké infračervené oblasti (600 nm až 3 000 nm) s maximem okolo 1 200 nm. Při stanovení oxidu dusičitého se oxid dusičitý přítomný ve vzorku plynu nejdříve redukuje na oxid dusnatý v konvertoru katalytickou (MnO₂) reakcí za zvýšené teploty (400 °C):



Vzniklý NO je stanoven postupem popsaným rovnicemi (1) a (2).

Mez stanovitelnosti oxidů dusíku při měření analyzátozem APNA-360 je 0,5.10⁻⁹ (látkový zlomek oxidů dusíku). Přístroj je vybaven interferenčním filtrem zaručujícím zanedbatelný rušivý vliv vodní páry a amoniaku (podle výrobce jediné významné rušivé látky). Z důvodu velké tlakové závislosti intenzity chemiluminiscenčního záření je přístroj vybaven soustavou kritických dýz, senzorů a regulátorů tlaku. Nastavení měřicího rozpětí se provádí před měřením pomocí referenční plynné směsi (standardu). Zjednodušené schéma přístroje APNA-360 je uvedeno na Obr. 14-1.

Vzorek vzduchu prochází v chemiluminiscenčním analyzátozem nejprve filtrem (s cílem zabránit kontaminaci plynového systému a optických částí analyzátozem pevnými částicemi). Při stanovení oxidu dusnatého je vzorek veden přímo do reakční cely analyzátozem, v níž se mísí s přebytkem ozonu. Intenzita emitovaného elektromagnetického záření (chemiluminiscence) je přímo úměrná počtu molekul oxidu dusnatého v detekčním poli cely, a tedy i látkovému zlomku oxidu dusnatého. Emitované elektromagnetické záření se filtruje selektivním optickým filtrem a ve fotonásobiči nebo fotodiodě se převádí na elektrický signál.



1 - silikagelový sušič, 2 - generátor ozonu, 3 - konvertor, 4 - elektromagnetický ventil, 5 - permeační sušič, 6 - reakční cela s detektorem, 7 – deozonizátor

Obr. 14-1: Zjednodušené schéma analyzátoru APNA-360

Při stanovení oxidu dusičitého je vzorek vzduchu veden nejdříve do konvertoru, kde se oxid dusičitý redukuje na oxid dusnatý, a dále se stanoví stejným postupem jako oxid dusnatý. Elektrický signál poskytovaný fotonásobičem nebo fotodiodou je přímo úměrný součtu látkových zlomků oxidu dusnatého a oxidu dusičitého. Obsah oxidu dusičitého se vypočítá z rozdílu takto získaného sumárního látkového zlomku a látkového zlomku pouze oxidu dusnatého (neprochází-li vzorek plynu konvertorem).

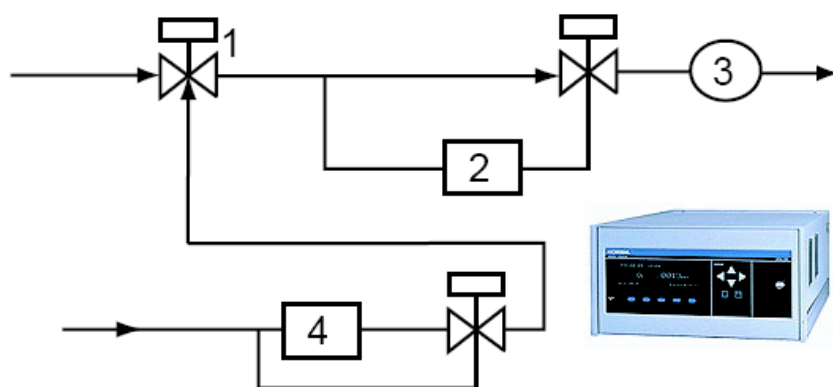
Obsah oxidu dusičitého a oxidu dusnatého se měří přímo jako sumární látkový zlomek obou oxidů, protože intenzita emitovaného elektromagnetického záření při chemiluminiscenční reakci je přímo měrná látkovému zlomku oxidu dusnatého. Konečné výsledky se vyjadřují ve formě hmotnostní koncentrace NO_2 za standardních podmínek (101,325 kPa, 293,15 K), a to v $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

S ohledem na skutečnost, že ve vzorkovaném vzduchu je vždy přítomen O_3 , může vlivem reakce NO s O_3 ve vzorkovacím potrubí docházet ke změnám obsahu NO a NO_2 . Aby se předešlo významným změnám obsahu NO a NO_2 , musí být doba setrvání vzorku ve vzorkovacím potrubí od vstupu do vzorkovacího systému až po vstup do analyzátoru < 5 s. S ohledem na potřebnou délku vzorkovací tratě nelze tento požadavek vždy splnit. V tomto případě je nutné provést korekci změřeného látkového zlomku NO_2 zahrnující vliv doby setrvání v potrubí a obsahu ozonu ve vzduchu vstupujícím do vzorkovacího potrubí.

Vzorkovací potrubí může být v závislosti na volbě umístění odlučovače částic ve vzorkovacím systému kontaminováno prachovými úsadami. Ty mohou způsobovat ztráty NO_2 ve vzorkovacím systému. Proto před začátkem měření musí být rozvodné potrubí vzorkovacího systému a odlučovač částic řádně propláchnuty. Jak vzorkovací potrubí, tak odlučovač částic musí být propláchnuty venkovním ovzduším po dobu nejméně 30 minut za jmenovitého průtoku vzorkovaného ovzduší. Hodnoty změřené v této době nesmí být zahrnuty do výsledků měření.

Měření obsahu ozonu

Látkový zlomek ozonu se měří automatizovaným analyzátozem APOA-360 (Horiba, Japonsko) pracujícím na principu spektrometrického stanovení, a to měřením absorpce elektromagnetického záření v UV oblasti spektra. Mez stanovitelnosti ozonu při měření analyzátozem APOA-360 je $0,5 \cdot 10^{-9}$ (látkový zlomek ozonu v ovzduší). Součástí přístroje je interferenční filtr omezující rušivý vliv vodní páry a toluenu (podle výrobce to jsou jediné významné rušivé složky). Z důvodu tlakové závislosti odezvy fotonásobiče je systém vybaven tlakovými senzory, regulátory tlaku a kritickými dýzami. Kalibrace se provádí periodicky AIC systémem s vlastní generací ozonu, nastavení nebo ověření měřicího rozpětí přímo před měřením je z důvodu principiální nedostupnosti standardních referenčních materiálů neproveditelné. Zjednodušený náčrt přístroje APOA-360 je na Obr. 14-2.



1 - elektromagnetický ventil, 2 - deoxygenátor, 3 - detektor, 4 - generátor ozonu

Obr. 14-2: Zjednodušené schéma analyzátoru APOA-360

Vzorek vzduchu prochází kontinuálně optickou absorpční kyvetou, kde je ozařován monochromatickým zářením o vlnové délce 253,7 nm vycházejícím ze stabilizované nízkotlaké rtuťové (Hg) výbojky. Intenzita UV záření prošlého touto absorpční kyvetou se měří citlivou fotodiodou nebo fotonásobičem a převádí na měřitelný elektrický signál. Absorbance UV záření vzorkem vzduchu v absorpční kyvetě je mírou obsahu ozonu ve venkovním ovzduší.

Analyzátor APOA-360 využívá pouze jediné měřicí kyvety. Absorbance ultrafialového záření ozonem se měří tak, že se do měřicí kyvety střídavě přivádí vzorek vzduchu obsahující ozon a vzduch zbavený ozonem. Tento vzduch neobsahující ozon se získává průchodem vzorkovaného vzduchu katalytickým konvertorem ozonu, v němž je ozon likvidován.

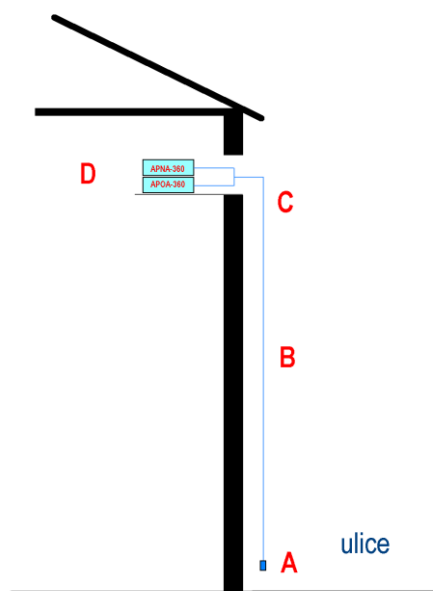
Nejmodernější komerčně dostupné analyzátoři ozonu měří teplotu a tlak vzorku vzduchu v měřicí kyvetě. Za použití těchto údajů pak zabudovaný mikroprocesor automaticky vypočítává měřenou hmotnostní koncentraci ozonu za zvolených standardních podmínek. U analyzátorů, které nejsou vybaveny touto automatickou kompenzací tlaku a teploty se hmotnostní koncentrace za zvolených standardních podmínek vypočítává dodatečně.

Obsah ozonu se měří jako látkový zlomek ozonu, konečné výsledky se vyjadřují ve formě hmotnostní koncentrace O_3 za standardních podmínek (101,325 kPa, 293,15 K), a to v $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

Pracovní postup

Ke zjištění prostorové distribuce oxidů dusíku a ozonu v okolí daného liniového zdroje emisí (ulice Studentská mezi budovami A a B VŠCHT) je použito kombinované vzorkovací trati uvedené na Obr. 14-3.

Pro měření se zvolí tři různé polohy ústí vzorkovací sondy vně budovy A tak, aby bylo možno postihnout efekt dopravní zátěže ovzduší uličního kaňonu vzhledem k venkovnímu ovzduší ovlivňujícímu vnitřní ovzduší v laboratoři.



Obr. 14-3: Polohy vzorkovací sondy (A, B, C a D)

Oba analyzátory pracují zcela automaticky. Data jsou ukládána v tříminutových intervalech do vnitřních pamětí přístrojů. Měření se provede po dobu 4 hodin.

Detailní postup měření a způsob zpracování výsledků budou upřesněny v průběhu laboratorního cvičení.

Literatura

ČSN EN 14211 Kvalita ovzduší – Normovaná metoda stanovení oxidu dusičitého a oxidu dusnatého na principu chemiluminiscence, UNMZ Praha 2014.

ČSN EN 14625 Kvalita ovzduší – Normovaná metoda stanovení ozonu ultrafialovou spektrometrií, UNMZ Praha 2013.