

RMI, s.r.o.
Pernštýnská 116
533 41 Lázně Bohdaneč
tel/fax: 466921404
tel/fax: 466921885
e-mail: sale@rmi.cz



Metodika stanovení anionaktivních tenzidů na analyzátoru FLUORAT-02-3M firmy Lumex



**RMI, s.r.o.
Pernštýnská 116
533 41 Lázně Bohdaneč**

Obsah

1. Úvod	3
2. Podstata stanovení	3
3. Charakteristika nejistoty měření	3
4. Pomůcky, sklo a chemikálie	3
5. Podmínky měření	4
6. Odběr a příprava vzorku	4
7. Příprava před provedením měření	4
7.1 Příprava analyzátoru k měření	4
7.2 Příprava pomocných roztoků	4
7.2.1 Roztok 5 %-ního hydroxidu sodného	4
7.2.2 Roztok kyseliny chlorovodíkové o koncentraci 0,1 mol/l	4
7.2.3 Roztok barviva o hmotnostní koncentraci 100 mg/l	4
7.2.4 Roztok anionaktivního tenzidu o hmotnostní koncentraci 100 mg/l	4
7.2.5 Roztok anionaktivního tenzidu o hmotnostní koncentraci 10 mg/l	5
7.2.6 Roztok anionaktivního tenzidu o hmotnostní koncentraci 1 mg/l	5
7.3 Příprava roztoků pro kalibraci analyzátoru	5
7.3.1 Příprava extraktu slepého vzorku a jeho proměření	5
7.3.2 Příprava extraktu kalibračního roztoku a jeho proměření	5
7.4 Ověření správnosti kalibračních charakteristik	5
8. Provedení měření	6
8.1 Odstranění ropných látek ze vzorku vody extrakcí hexanem	6
8.2 Měření koncentrace anionaktivních tenzidů	6
9. Úprava a vyjadřování výsledků měření	7
10. Úprava výsledků měření	7
11. Kontrola stability měření	7
11.1 Kontrola reprodukovatelnosti měření	7
11.2 Kontrola opakovatelnosti měření	8
12. Přílohy	10
12.1 Příloha A	10
12.2 Příloha B	11
12.3 Příloha C	12

1. Úvod

Následující dokument uvádí metodiku pro stanovení hmotnostní koncentrace anionaktivních tenzidů (aniontových povrchově aktivních látek, A-PAL) ve vzorcích povrchové, pitné a odpadní vody na analyzátoru kapalin FLUORAT-02-3M.

Rozsah měřených koncentrací anionaktivních tenzidů je 0,025-2 mg/l, bez ředění vzorků a extraktů. V případě, že koncentrace anionaktivních tenzidů ve vzorku je vyšší než horní hranice výše uvedeného intervalu, je nutné vzorky naředit, maximálně však 100 x. Stanovení ruší přítomnost ropných látek a zbarvení získaných extraktů.

2. Podstata stanovení

Sulfatované a sulfonované anionaktivní tenzidy tvoří ve vodných roztocích s kationickým barvivem-Akridinovou žlutí nebo oranží-barevný komplex (iontový pár). Tento barevný komplex anionaktivních tenzidů je extrahovatelný do chloroformu. Intenzita fluorescence získaného extraktu je přímo úměrná koncentraci anionaktivní povrchové látky ve vzorku.

3. Charakteristika nejistoty měření

Metodika zajišťuje provedení měření s nejistotou významně nepřesahující hodnoty uvedené v tabulce 1.

Tabulka 1: Charakteristiky chyb metody měření při důvěryhodné pravděpodobnosti $P=0,95$

Rozsah měření v mg/l	Charakteristika nejistoty měření $\pm \delta \text{ v } \%$
od 0,025 do 0,1	50
od 0,1 do 1,0	30
od 1,0 do 2,0	20

Nejistota měření neředěných vzorků a vzorků naředěných se neliší o více než 3 %.

4. Pomůcky, sklo a chemikálie

- Analyzátor kapalin FLUORAT-02-3M
- Laboratorní analytické váhy 2. třídy přesnosti
- Skleněná pipeta na 5 a 10 ml
- Dělené pipety na 1, 2, 5 ml
- Odměrné baňky na 50, 100, 500 a 1000 ml
- Odměrné válce na 100 a 500 ml
- Dodecylsulfát sodný $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{NaO}_4\text{S}$ (Fluka, Cat. No. 71729)
- Destilovaná voda
- Hexan
- Akridinová žluť $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3 \cdot \text{HCl}$ (Aldrich, Cat. No. 19950-8)
- Hydroxid sodný p. a.
- Kyselina chlorovodíková p. a.
- Chloroform
- Univerzální indikátorový papírek
- Dělicí nálevka na 50 ml

- Odměrné baňky
- Filtrační papír (červená páska)
- Skleněná kádinka na 100 ml
- Skleněné baňky s plochým dnem na 100, 500 a 1000 ml
- Skleněné vzorkovnice se šroubovacím víčkem o objemu 500-1000 ml

5. Podmínky měření

Při stanovení hmotnostní koncentrace tenzidů musí být splněny následující laboratorní podmínky:

Okolní teplota	$20 \pm 5 \text{ }^{\circ}\text{C}$
Atmosférický tlak	84,0 – 106,7 kPa
Vlhkost vzduchu	max. 80 % při 25 $^{\circ}\text{C}$
Napětí v síti	$220 \pm 10 \text{ V}$
Frekvence stejnosměrného proudu	$50 \pm 1 \text{ Hz}$

6. Odběr a příprava vzorku

Odběr vzorků pitné vody se provádí do vzorkovnic ze skla, které jsou nejprve propláchnuty odebíranou vodou. Objem odebraného vzorku vody je minimálně 50 ml. Odebraný vzorek vody je nutno zpracovat do 24 hod po odběru. Vzorek je nutno uchovávat v chladničce při teplotě 4-6 $^{\circ}\text{C}$.

7. Příprava před provedením měření

7.1 Příprava analyzátoru k měření

Analyzátor se nechá min 15 min zahřívát. Do excitačního kanálu se zasune interferenční filtr č. 15 a do záznamového (emisního) kanálu interferenční filtr č. 14.

7.2 Příprava pomocných roztoků

Pro přípravu všech roztoků se používá destilovaná voda.

7.2.1 Roztok 5 %-ního hydroxidu sodného

V 95 ml destilované vody se rozpustí 5 g hydroxidu sodného. Roztok se uchovává v PE-lahvi po dobu 2 měsíců.

7.2.2 Roztok kyseliny chlorovodíkové o koncentraci 0,1 mol/l

Do skleněné baňky s plochým dnem se předloží 50-60 ml destilované vody a opatrně a za míchání se přilévá 0,94 ml koncentrované HCl. Potom se baňka doplní destilovanou vodou na 100 ml.

7.2.3 Roztok barviva o hmotnostní koncentraci 100 mg/l

Do odměrné baňky na 100 ml se naváží 10 mg Akridinové žlutí, přidá se 50-60 ml teplé (40-50 $^{\circ}\text{C}$) destilované vody a obsah baňky se nechá stát za občasného promíchání v temnu do úplného rozpuštění barviva. Po rozpuštění se baňka doplní destilovanou vodou po rysku. Roztok je nutno chránit před světlem a skladovat ve skleněné nádobě po dobu 1 měsíce.

7.2.4 Roztok anionaktivního tenzidu o hmotnostní koncentraci 100 mg/l

Do odměrné baňky na 500 ml se naváží 50 mg dodecylsulfátu sodného, rozpustí se v destilované vodě a baňky se doplní po rysku. Trvanlivost roztoku je 1 měsíc.

7.2.5 Roztok anionaktivního tenzidu o hmotnostní koncentraci 10 mg/l

Do odměrné baňky na 50 ml se odpipetuje 5 ml roztoku anionaktivního tenzidu o koncentraci 100 mg/l a doplní se po rysku destilovanou vodou. Trvanlivost roztoku je 1 týden.

7.2.6 Roztok anionaktivního tenzidu o hmotnostní koncentraci 1 mg/l

Do odměrné baňky na 100 ml se odpipetuje 10 ml roztoku anionaktivního tenzidu o koncentraci 10 mg/l a doplní se po rysku destilovanou vodou. Tento roztok se připravuje vždy čerstvý.

7.3 Příprava roztoků pro kalibraci analyzátoru

7.3.1 Příprava extraktu slepého vzorku a jeho proměření

Do dělicí nálevky se předloží 9 ml destilované vody, odpipetuje se 1 ml roztoku barviva, 1 ml 0,1 M roztoku kyseliny chlorovodíkové a 5 ml chloroformu. Obsah děličky se intenzivně protřepává 1 min. Po oddělení fází se 0,5-1 ml spodní (organické) fáze odpustí (tím se vypláchne kohout a stonek) a následující 2,5-3 ml se odpustí do kyvety a proměří.

V menu se vybere položka „KALIBRACE“, nastaví se C1=1, kursor se nastaví na pozici parametru J1 a do držáku kyvet se umístí kyveta s kalibračním roztokem o koncentraci 1 mg/l a stiskne se Ent. Po proměření fluorescence se odpovídající hodnota slepého pokusu zobrazí na displeji u parametru J1.

7.3.2 Příprava extraktu kalibračního roztoku a jeho proměření

Do dělicí nálevky na 50 ml se předloží 5 ml roztoku dodecylsulfátu sodného o koncentraci 1 mg/l, přidají se 4 ml destilované vody, 1 ml 0,1 M roztoku HCl, 1 ml roztoku barviva, 5 ml chloroformu a obsah baňky se intenzivně protřepává 1 min. Po rozdělení fází se první 1,5-2 ml odpustí (výplach kohoutu) a 2,5-3 ml se nalijí do kyvety a proměří.

V menu se vybere položka „KALIBRACE“, nastaví se C1=1, kursor se nastaví na pozici parametru J1 a do držáku kyvet se umístí kyveta s kalibračním roztokem o koncentraci 1 mg/l a stiskne se Ent. Po proměření fluorescence se odpovídající hodnota zobrazí na displeji u parametru J1.

7.4 Ověření správnosti kalibračních charakteristik

Kalibrace analyzátoru se provádí před analýzou každé sady vzorků, poté se proměří signály fluorescence kalibračních roztoků (tabulka 2) v režimu „Měření“.

Při přípravě kalibračních roztoků se postupuje podle instrukcí v tabulce 2 a při extrakci je nutno se řídit podle návodu popsaného v kapitole 7.3.2, k extrakci se vždy použije 5 ml roztoku. Kalibrace analyzátoru je správná, pokud se získané hodnoty koncentrací odpovídajících roztoků anionaktivních tenzidů neliší o více než 10 % v koncentračním rozsahu 2,0-0,5 mg/l a o 35 % v nižším koncentračním rozsahu.

Kontrola přesnosti kalibračních charakteristik se provádí po každé kalibraci přístroje a při použití jiné lahve chloroformu nebo naředění nových vzorků.

Tabulka 2: Směsi pro kontrolu přesnosti kalibračních charakteristik

Číslo roztoku	Popis	Objem v ml	Koncentrace v mg/l	Vztažená nejistota (P=0,95) v %
1	100 mg/l A-PAL ₄ dest. voda	5 do 50	10	1,6
2	roztok č. 1, dest. voda	20 do 100	2	1,8
3	roztok č. 1, dest. voda	10 do 100	1	1,8
4	roztok č. 1, dest. voda	5 do 100	0,5	2,1
5	roztok č. 3, dest. voda	20 do 100	0,2	2,1
6	roztok č. 3, dest. voda	10 do 100	0,1	2,1
7	roztok č. 3, dest. voda	5 do 100	0,05	2,1
8	roztok č. 6, dest. voda	25 do 100	0,025	2,4

Při měření koncentrací nad 1 mg/l je nutno provést kontrolu úplnosti extrakce podle postupu uvedeného v příloze B.

Při měření koncentrací nižších než 0,2 mg/l je nutno dbát na čistotu dělicí nálevky a první 1,5-2 ml organické fáze po oddělení vrstev vždy vylít, tím se vypláchne kohout i stonek děličky. Oddělení fází lze podpořit krouživým pohybem baňky.

V případě, že slepý pokus vykazuje vysokou hodnotu fluorescence, je nutno ho podrobit přečištění postupem uvedeným v příloze C.

8. Provedení měření

8.1 Odstranění ropných látek ze vzorku vody extrakcí hexanem

Extrakce se provádí pouze u silně znečištěných vzorků s koncentrací ropných látek okolo 5 mg/l a také u vzorků, jejichž extrakt je zbarven ještě před přidavkem barviva. Do dělicí nálevky na 50 ml se předloží 5 ml vzorku vody, přidá se 4-5 ml destilované vody a 10 ml hexanu. Obsah baňky se intenzivně protřepává 30 s a pak se vyčká rozdělení fází. Horní hexanová vrstva se odebere.

Pozn: V případě, že vzorek vody obsahuje sediment, je potřeba extrakci prodloužit až na 3 min a v případě potřeby extrakt ještě přefiltrovat.

8.2 Měření koncentrace anionaktivních tenzidů

Do dělicí nálevky na 50 ml se předloží 5 ml vzorku vody, přidají se 4 ml destilované vody a indikátorovým papírkem se zkontroluje pH. V případě, že se ze vzorku vody před analýzou odstraňují ropné látky výše popsáním způsobem, je nutné provést úpravu pH vzorku vody. Je-li pH vzorku vody 3-8, používá se k jeho úpravě kyseliny chlorovodíkové nebo hydroxidu sodného. Do dělicí nálevky se vzorkem se přidá 1 ml 0,1 M HCl, 1 ml Akridinové žlutí a 5 ml chloroformu a provede se extrakce v trvání 1 min. Po oddělení fází se odlije první 1,5-2 ml extraktu. Další 2,5-3 ml se odpustí do kyvety a proměří se v režimu měření.

Objem vzorku vody lze zvýšit až na 20 ml, což se provádí především při stanovování koncentrací menších než 0,1 mg/l. V takovém případě se ke vzorku vody (pH=3-8) v dělicí

nálevce na 50 ml přidají 2 ml 0,1 M HCl a 1 ml barviva, pak se provede extrakce obvyklým způsobem.

V případě, že změřená koncentrace je vyšší než 2 mg/l, je nutno vzorky vody naředit tak, aby se měřená koncentrace pohybovala v intervalu 0,1-2 mg/l. Ředění je potřeba provádět přesně pomocí pipet a odměrných baněk. V případě, že vzorek vody obsahuje viditelnou sraženinu nebo sediment je potřeba extrakci prodloužit až na 3 min.

Pozn: V žádném případě se nesmí do kyvety dostat s organickou fází i fáze vodná. Organickou fází je tedy nutno odebírat pečlivě, pak není třeba extrakt filtrovat nebo nechat procházet přes kolonku se sušidlem.

9. Úprava a vyjadřování výsledků měření

Výpočet koncentrace anionaktivních tenzidů v roztoku se provádí podle rovnice:

$$X = C_{\text{měř}} \cdot Q_1 \cdot Q_2 \quad (1)$$

kde $C_{\text{měř}}$ je naměřená koncentrace anionaktivního tenzidu ve vzorku v mg/l

Q_1 je koeficient ředění (není-li vzorek naředěn, je roven 1)

Q_2 je stupeň zakoncentrování vzorku při extrakci (je-li objem vzorku 5 ml, pak je $Q_2=1$, je-li objem vzorku 20 ml, pak je $Q_2=0,25$)

10. Úprava výsledků měření

Za výsledek analýzy $\bar{X}$ je považován střední aritmetický průměr paralelních stanovení X_1 a X_2 :

$$\bar{X} = (X_1 + X_2) / 2$$

Rozdíl mezi oběma hodnotami nepřesahuje normativ kontroly shody d. Hodnoty normativu shody jsou uvedeny v tabulce 2. Hodnoty d se volí na základě aritmetického průměru $\bar{X}$.

Výsledky analýz jsou prezentovány ve formě $\bar{X}$ (mg/l) s chybou δ (%), tabulka 1, $P=0,95$ nebo ve formě $\bar{X} \pm \Delta$ v mg/l, $P=0,95$, kde

$$\Delta = \frac{\delta}{100} \cdot \bar{X} \quad (2)$$

Δ směrodatná odchylka v mg/l

δ relativní směrodatná odchylka v %

Výsledek analýzy i chyba měření se udává s platností na dvě desetinná místa.

11. Kontrola stability měření

11.1 Kontrola reprodukovatelnosti měření

Reprodukovatelnost je chápána jako přesnost mezi laboratořemi, kdy je posuzovaná analytická metoda aplikována v několika různých laboratořích a výsledky jsou statisticky porovnávány. Sledování reprodukovatelnosti měření je závislé na počtu měření provedených

ve sledovaném období. Pro kontrolu reprodukovatelnosti měření je potřeba provést opakovaný odběr pitné nebo odpadní vody do dvou vzorkovnic a každý objem vzorku zpracovávat zvlášť. Každý vzorek se rozdělí na dvě shodné části a pečlivě se provede jeho analýza dvěma analytiky, avšak stejnou metodou (oba si připraví své roztoky a sady analytického nádobí), čímž se získají dva výsledky stanovení. Výsledky měření jsou pak reprodukovatelné, jestliže je splněna následující podmínka:

$$|\bar{X}_1 - \bar{X}_2| \leq 0,01 \cdot \bar{X} \cdot D \quad (3)$$

$\bar{X}_1$ výsledek analýzy prvního analytika v mg/l

$\bar{X}_2$ výsledek analýzy druhého analytika v mg/l

$\bar{X}$ střední aritmetický průměr z obou hodnot v mg/l

D rozdíl mezi výsledky jednoho a téhož vzorku v % (tabulka 2)

Hodnota D se volí na základě středního aritmetického průměru $\bar{X}$.

Při překročení směrodatné odchylky reprodukovatelnosti je nutno analýzu zopakovat. Při opakovaném překročení této hodnoty je nutno zjistit zdroj chyb a eliminovat ho.

Tabulka 3: Hodnoty normativu shody při odpovídající chybě pro P=0,95

Rozsah měření hmotnostní koncentrace v mg/l	Hodnota d v % (P=0,95, n=2)	Reprodukovatelnost a hodnota D v % (P=0,95, m=2)
od 0,025 do 0,1	50	65
od 0,1 do 1,0	25	40
od 1,0 do 2,0	15	25

11.2 Kontrola opakovatelnosti měření

Opakovatelnost je chápána jako přesnost výsledků analýz provedených za identických podmínek v téže laboratoři, stejným analytikem, na stejném přístroji, v co možná nejkratším časovém intervalu a s použitím stejných chemikálií a roztoků. Sledování opakovatelnosti měření závisí na počtu měření provedených ve sledovaném období a řídí se požadavky metrologa. Kontrola opakovatelnosti měření se provádí na vzorcích přírodních, pitných vod a odpadních vod z čističek. Vzorky vody pro kontrolu přesnosti měření je nutno odebírat ve dvojnásobném objemu. Odebraný objem vody se pak rozdělí na dvě poloviny. První polovina se zanalyzuje přesně podle metodiky stanovení – získá se hodnota X. Do druhé části vzorku se přidá standardní přírůstek stanovované látky a takto upravený vzorek se nadále zanalyzuje přesně podle metodiky – získá se hodnota X'. Přičemž obě analýzy jsou prováděny jedním a týmž analytikem.

Velikost standardního přírůstku by se měla pohybovat v rozmezí od 50 do 150 % koncentrace tenzidu v odpovídajícím vzorku. Jestliže je koncentrace A-PAL v odpovídajícím vzorku nižší než mez stanovení (0,025 mg/l), pak musí být velikost standardního přírůstku 2-3 x větší než mez stanovitelnosti.

Koncentrace standardního přírůstku (C_{ST} , mg/l) se vypočte podle rovnice:

$$C_{ST} = \frac{C_0 \cdot V_0}{V} \quad (4)$$

C_{ST} koncentrace roztoku v mg/l, použitého na standardní přídavek

V_0 objem roztoku v ml, použitého na standardní přídavek

V objem vzorku v ml

Objem standardního přídavku nesmí přesahovat objem vzorku vody o více než 5 %.

Postačující přesnosti měření je dosaženo, je-li splněna následující podmínka:

$$|X' - X - C_{ST}| \leq K \quad (5)$$

X výsledek analýzy vzorku vody v mg/l

X' výsledek analýzy vzorku vody se standardním přídavkem v mg/l

C_{ST} koncentrace standardního přídavku v mg/l

K směrodatná odchylka opakovatelnosti v mg/l

Směrodatná odchylka opakovatelnosti při mezilaboratorním testování ($P=0,95$) je definován rovnicí:

$$K = \sqrt{\Delta_X^2 + \Delta_{X'}^2} \quad (6)$$

Δ_X a $\Delta_{X'}$ je směrodatná odchylka stanovení v původním vzorku vody a ve vzorku vody se standardním přídavkem (mg/l)

$$\Delta_X = 0,01 \cdot \delta_X \cdot X \quad \Delta_{X'} = 0,01 \cdot \delta_{X'} \cdot X' \quad (7)$$

δ_X a $\delta_{X'}$ je relativní směrodatná odchylka stanovení v původním vzorku vody a ve vzorku vody se standardním přídavkem (%) – tabulka 1.

Směrodatná odchylka opakovatelnosti při vnitrolaboratorním testování ($P=0,90$) je definován rovnicí:

$$K = 0,84 \cdot \sqrt{\Delta_X^2 + \Delta_{X'}^2} \quad (8)$$

Při překročení směrodatné odchylky opakovatelnosti měření je nutno analýzu zopakovat. Dochází-li k opakovanému překračování dané hodnoty, je nutno zjistit příčiny a odstranit eventuelní zdroj chyb.

12. Přílohy

12.1 Příloha A

Čištění analytického skla

Zvláštní pozornost je potřeba věnovat nádobí. Je nutno se vyhnout kontaminacím vzorku vody ze špatně vymytých vzorkovnic a laboratorního nádobí. Je nutno se řídit následujícími pokyny:

1. Analytické sklo se nejdříve vypláchne vodou z vodovodního řádu, následně koncentrovanou kyselinou sírovou nebo dusičnou. V žádném případě nepoužívejte zásady, sodu, chromsírovou směs a syntetické čisticí prostředky.
2. Následuje vypláchnutí destilovanou a redestilovanou vodou (min. 3 x) a ethanolem.
3. Pro každý roztok je vhodné mít vlastní pipetu. Pipetuje se z kádinky, nikoli z celého objemu roztoku.
4. Pro stanovení tenzidů je vhodné mít vyčleněnou sadu analytického skla.

12.2 Příloha B

Kontrola úplnosti extrakce

Nejprve se provede obvyklým způsobem extrakce 5 ml roztoku anionaktivních tenzidů o koncentraci 1 mg/l. Po oddělení fází a proměření organické fáze se provede následná extrakce tohoto roztoku. V případě, že i pak naměřená hodnota převyšuje 1,1 mg/l, provádí se extrakce opakovaně, dokud není dosahováno stabilních výsledků.

12.3 Příloha C

Přečištění chloroformu

V některých případech je nutno chloroform před použitím přečistit. Do dělicí nálevky se předloží chloroform a na každých 1000 ml chloroformu se přidá 50-60 ml destilované vody, provede se extrakce a po oddělení fází se organická fáze odpustí do vzorkovnice z tmavého skla a nechá se 12 hod stát nad vrstvou bezvodého chloridu draselného. Vysušený chloroform se predestiluje, přičemž se shromažďuje frakce vroucí při 60-62 °C. Predestilovaný chloroform je stálý 2 týdny. Je nutné ho zakonzervovat. predestilovaným ethanolem v množství 5 ml na každých 1000 ml chloroformu.