



**VŠCHT PRAHA**



**Ústav technologie vody a prostředí, VŠCHT Praha  
CSlab spol. s r.o.**

**Odborná skupina pro analýzy a měření CzWA**

**Sborník 6. konference**

# **HYDROANALYTIKA 2015**

**HRADEC KRÁLOVÉ, 15. - 16. 9. 2015**

**Generální partner**



**Partneři konference**



**Pražské vodovody  
a kanalizace**



**Královéhradecká  
provozní**

**editoři**

**Vladimír Sýkora, Hana Kujalová**

**ISBN 978-80-904986-2-4**

## **Programový a organizační výbor**

Mgr. Alena Čapková

Doc. Ing. Vladimír Sýkora, CSc.

Ing. Alena Nižnanská

Ing. Hana Kujalová, Ph.D.

RNDr. Pavel Kořínek, Ph.D.

Ing. Jan Vilímeč

Ing. Zuzana Cejpková, CSc.

Ing. Eva Břízová, CSc.

Ing. Pavel Hucko, CSc.

**© CSlab spol. s r.o., 2015**

---

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





<b>SEKCE PLENÁRNÍ .....</b>	<b>1</b>
<b>JAK ŘEŠIT VÝSKYT PESTICIDNÍCH LÁTEK VE VODÁCH V SOULADU S PLATNOU LEGISLATIVOU? .....</b>	<b>3</b>
Hušková R. ....	3
<b>NOVÉ TRENDY VE SLEDOVÁNÍ KVALITY HYDROSFÉRY – UKAZATELE, MATRICE, LEGISLATIVA .....</b>	<b>9</b>
Medek J. ....	9
<b>NORMY PRO ANALÝZU VODY .....</b>	<b>13</b>
Fremrová L. ....	13
<b>ZAJIŠTĚNÍ (VYHOVUJÍCÍ) KVALITY VÝSLEDKŮ ANALÝZ VOD .....</b>	<b>19</b>
Klokočnicková E. ....	19
<b>ZOBRAZENÍ VÝSLEDKŮ ANALÝZ PITNÉ VODY V GIS A VYUŽITÍ MOBILNÍ APLIKACE PŘI VZORKOVÁNÍ .....</b>	<b>21</b>
Vavrušková L., Kabátová J. ....	21
<b>SLEDOVÁNÍ NITRIFIKACE NA ČOV LIBEREC .....</b>	<b>25</b>
Bajer T. ....	25
<b>STANOVENÍ CHSKCR, PH A KONDUKTIVITY S VYUŽITÍM ROBOTICKÉHO ANALYZÁTORU .....</b>	<b>27</b>
Vilímec J., Žáková M. ....	27
<b>POSOUZENÍ OXIDOVATELNOSTI ORGANICKÝCH LÁTEK V ZÁVISLOSTI NA OXIDAČNÍCH PODMÍNKÁCH METODY CHSK<sub>Cr</sub> .....</b>	<b>33</b>
Karpíšek I., Sýkora V., Prokešová I., Fuka L., Kujalová H. ....	33
<b>VYUŽITÍ NORMOVANÉ OPTICKÉ METODY MĚŘENÍ KYSLÍKU PRO STANOVENÍ BSK5 .....</b>	<b>43</b>
Škeřík S. ....	43
<b>STANOVENÍ DUSIČNANŮ ANEB KROCENÍ ZLÉ KYSELINY .....</b>	<b>47</b>
Fuka L., Sýkora V., Vojtíšková M., Prokešová I., Karpíšek I. ....	47
<b>NEJISTOTA MĚŘENÍ .....</b>	<b>51</b>
Milde D. ....	51
<b>VYHODNOCENÍ NEJISTOT MĚŘENÍ VE ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI A ZPŮSOB JEJICH STANOVENÍ .....</b>	<b>57</b>
Nižnanská A., Čapková A., Kabátová J., Burda R. ....	57
<b>VYUŽITÍ EPIDEMIOLOGIE ODPADNÍCH VOD PŘI SLEDOVÁNÍ DROG V ODPADNÍCH VODÁCH V ČESKÉ REPUBLICE .....</b>	<b>65</b>
Očenášková V., Tušil P., Pospíchalová D., Svobodová A., Kolářová P., Truxová I., Chrastina D. ....	65
<b>STANOVENÍ STŘEDNĚ TĚKAVÝCH LÁTEK VE VODÁCH – RŮZNÉ PŘÍSTUPY (GC/MS, LC/MS/MS) A JEJICH KRITICKÉ ZHODNOCENÍ .....</b>	<b>73</b>
Ferenčík M. ....	73
<b>RÝCHLA METÓDA STANOVENIA CELKOVÝCH LIPIDOV V RYBÁCH POMOCOU EXTRAKČIE ZMESOU ACETÓNU A ETYLACETÁTU A NÁSLEDNEJ GRAVIMETRICKEJ KVANTIFIKÁCIE .....</b>	<b>79</b>
Miháliková Z., Tölgyessy P. ....	79
<b>VÝVOJ A TESTOVANIE KONCEPTU MOBILNÉHO PASÍVNEHO ODBERU VZORIEK PRE SKRÍNING ORGANICKÝCH ZNEČIŠŤUJÚCÍCH LÁTEK VO VODE .....</b>	<b>87</b>
Vrana B., Smedes F., Rusina T., Okonski K., Allan I., Grung M., Hilscherova K., Novák J., Tarábek P., Grabic R., Slobodník J. ....	87
<b>POUŽITÍ METODY PASIVNÍHO VZORKOVÁNÍ PRO SLEDOVÁNÍ EMERGENTNÍCH POLUTANTŮ VE VODĚ – MEZILABORATORNÍ STUDIE .....</b>	<b>89</b>
Vrana B., Smedes F., Prokeš R., Loos R., Mazzella N., Miege C., Budzinski H., Vermeirssen E., Ocelka T., Gravell A., Kaserzon S. ....	89

<b>SEKCE POSTEROVÁ.....</b>	<b>97</b>
<b>VÝZNAMNÝ RUŠIVÝ VLIV STRONCIA NA STANOVENÍ VÁPŇÍKU TECHNIKOU ICP-MS.....</b>	<b>99</b>
Válek J., Kočová A., Valterová B. ....	99
<b>POSTŘEHY KE STANOVENÍ VOLNÉHO A CELKOVÉHO CHLORU DLE ČSN ISO 7393-2 .....</b>	<b>103</b>
Prokešová I., Sýkora V., Fuka L., Karpíšek I., Kujalová H.....	103
<b>MĚŘENÍ BIODOSTUPNÝCH KONCENTRACÍ POPS V SEDIMENTECH POMOCÍ ROVNOVÁŽNÉHO PASIVNÍHO VZORKOVÁNÍ.....</b>	<b>107</b>
Belháčová M. ....	107
<b>OPTIMALIZÁCIA A KALIBRÁCIA PASÍVNEHO VZORKOVAČA NA BÁZE DIFÚZNEHO GRADIENTU V TENKEJ VRSTVE HYDROGÉLU (DGT) PRE POLÁRNE ORGANICKÉ LÁTKY.....</b>	<b>111</b>
Urík J. ....	111
<b>MOŽNOSTI CHARAKTERIZÁCIE ZNEČISTENIA VÔD ROPNÝMI LÁTKAMI .....</b>	<b>115</b>
Tölgýessy P., Tkáčová J., Rajczyková E., Šimovičová K. ....	115
<b>ODSTRAŇOVÁNÍ VYBRANÝCH CHEMICKÝCH LÁTEK Z VYČIŠTĚNÝCH KOMUNÁLNÍCH ODPADNÍCH VOD .....</b>	<b>119</b>
Halešová T., Seifrtová M., Pešoutová R., Stříteský L., Habr V., Hrich R.....	119
<b>REJSTŘÍK AUTORŮ.....</b>	<b>123</b>
<b>INZERCE .....</b>	<b>127</b>
VŠCHT Praha, Ústav technologie vody a prostředí .....	129
CSlab spol. s r.o.....	131
Česká asociace pro vodu CzWA .....	133
MERCK spol. s r.o.....	135
Pražské vodovody a kanalizace, a.s. ....	137
Laboratoř MORAVA s.r.o.....	139
SIAD Czech spol. s r.o. ....	141

# **SEKCE PLENÁRNÍ**



# JAK ŘEŠIT VÝSKYT PESTICIDNÍCH LÁTEK VE VODÁCH V SOULADU S PLATNOU LEGISLATIVOU?

Radka Hušková

*Pražské vodovody a kanalizace, a.s.*

## ÚVOD

Pesticidy a jejich metabolity (obecněji přípravky na ochranu rostlin – POR) jsou aktuálně velmi sledovanou skupinou látek v povrchové, podzemní i pitné vodě. Tyto látky představují novou výzvu pro hydroanalytické laboratoře resp. pro výrobce pitné vody.

Přítomnost organických pesticidů a jejich metabolitů ve vodě byla díky rozvíjejícím se analytickým metodám zjištěna v posledních letech, stejně jako většina organických mikropolutantů. Aktuálně nejsou k dispozici ucelené informace o jejich aplikaci v životním prostředí a výskytu ve vodách; na různých úrovních probíhá především monitoring těchto látek. Hlavním účelem tohoto monitoringu je zjistit postižené lokality, identifikovat rizikové oblasti a spektrum pesticidních látek a jejich metabolitů (dále jen PL a M), které se ve vodě vyskytují. Toxicita těchto metabolitů může být stejná jako původní účinná látka, v lepším případě může být ve srovnání s mateřskou pesticidní látkou nevýznamná. Situace je o to komplikovanější, že se nemusí jednat jen o metabolity vznikající samovolně v životním prostředí, ale metabolity také mohou vznikat při úpravě vody na vodu pitnou v důsledku aplikace silného oxidačního stupně (např. ozonizace). Některé vzniklé metabolity mohou být ještě toxičtější než jejich mateřské látky, výrobci pesticidů s nimi nepočítají a v povinně předkládané dokumentaci (při uvádění přípravku na trh) je neuvádí.

Zároveň probíhá diskuse na úrovni MŽP, MZe a MZd o možném průniku PL a M do vody, aktuálním tématem je diskuse o vhodné a účinné metodě odstranění PL a M z vody a o legislativním rozlišení relevantních a nerelavantních metabolitů pesticidů.

## PESTICIDY - REGULACE EU A ČR

Základním legislativním a dokumentem zaměřeným na nakládání s pesticidními látkami je Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2009/128/ES, kterou se stanoví rámec pro činnost Společenství za účelem dosažení udržitelného používání pesticidů ze dne 21. října 2009 (dále jen Směrnice).

Vydáním Směrnice byla členskými státy stanovena základní rámcová pravidla pro dosažení trvale udržitelného používání pesticidů s cílem omezení negativního dopadu jejich používání na zdraví lidí a životní prostředí, včetně vody. Obecným cílem strategie EU je dosáhnout udržitelnějšího používání pesticidů prostřednictvím značného snížení jejich rizik, ovšem při zachování nutné ochrany plodin.

Evropská komise očekává, že aplikací Směrnice může dojít ke snížení používaného množství pesticidů v EU o 11–16 %, tedy asi o 31–44 tisíc tun účinných látek ročně. Podle komise by měla implementace legislativy týkající se nakládání s pesticidy přinést prospěch zvláště uživatelům pesticidů, spotřebitelům a životnímu prostředí. Navíc by měl být podpořen výzkum a inovace postupů tlakem na vývoj selektivnějších účinných látek a nechemických (biologických) metod ochrany před škůdci.

Je vhodné uvést i několik stěžejních evropských a národních dokumentů, které se vztahují k této problematice. Jedná se zejména o Rámcovou směrnici o vodní politice 2000/60/ES a Směrnici Evropského parlamentu a Rady 2008/105/ES o normách environmentální kvality v oblasti vodní politiky. Obě tyto Směrnice prošly rozsáhlým přezkumem a byly pozměněny Směrnici Evropského parlamentu a Rady 2013/39/ES, která aktualizuje rozsah prioritních látek v oblasti vodní politiky. Česká legislativa se opírá především o vodní zákon č. 254/2001 Sb., ve znění pozdějších předpisů, a na něj navazující prováděcí předpisy - nařízení vlády č. 61/2003 Sb., ve znění pozdějších předpisů; vyhláška o monitoringu č. 98/2011 Sb.

V roce 2012 byl přijat strategický dokument „Plán na ochranu vodních zdrojů Evropy (Blueprint to Safeguard Europe’s Water Resources)“ (dále jen Blueprint), jehož hlavním cílem je odstranění překážek bránících dosažení cílů vytyčených legislativou v oblasti vod, tedy především dosažení dobrého stavu evropských vodních zdrojů. Tento dokument je souborem politických doporučení v oblasti vodního hospodářství EU na následující období. Zásadním výstupem Blueprintu by mělo být přehodnocení a aktualizace legislativního rámce ve vztahu k vodní politice. Je však nezbytné zajistit ve všech členských státech EU důsledné provádění jednotlivých legislativních předpisů a zajistit integraci cílů z oblasti vod do dalších souvisejících sektorů - jedná se především o Společnou zemědělskou politiku, oblast obnovitelných zdrojů energie, dopravy atd.

Legislativa a dokumenty zaměřené na nakládání s pesticidními látkami v ČR, které vycházejí z předpisů EU, jsou zejména zákon č. 326/2004 Sb., o rostlinolékařské péči a o změně některých souvisejících zákonů, ve znění pozdějších předpisů, vyhláška č. 329/2004, o přípravcích a dalších prostředcích na ochranu rostlin, vyhláška č. 32/2012 Sb. o přípravcích a dalších prostředcích na ochranu rostlin, ve znění pozdějších předpisů

a nelegislativní strategický nástroj - Národní akční plán (dále jen NAP) ke snížení používání pesticidů v České republice. Vláda ČR schválila NAP usnesením č. 660 ze dne 12. 9. 2012. NAP představuje koncepční materiál pro omezení negativních důsledků používání přípravků na ochranu rostlin, a to včetně oblasti povrchových, podzemních i pitných vod. Jeho schválením se Česká Republika zavázala realizovat opatření k udržitelnému používání pesticidů.

Kvalitu pitné vody stanovuje zákon o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů č. 258/2000 Sb., v platném znění (dále jen zákon OOVZ). Obsah pesticidů v pitné vodě je limitován prováděcí vyhláškou k tomuto zákonu č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody, v platném znění (dále jen Vyhláška).

## METABOLITY PESTICIDNÍCH LÁTEK

Směrnice 98/83/ES implementovaná v ČR do Vyhlášky shodně rozumí pod pesticidy „organické insekticidy, herbicidy, fungicidy, nematocidy, akaricidy, algicidy, rodenticidy, slimicidy, příbuzné produkty (např. regulátory růstu) a jejich **relevantní** metabolity, rozkladné nebo reakční produkty“ (tučně vyznačené slovo „relevantní“ bylo do české legislativy doplněno až v roce 2014 – a to vyhláškou č. 83/2014 Sb., která s účinností od května 2014 novelizovala vyhlášku č. 252/2004 Sb.). Tato zdánlivě malá změna vysvětlivky č. 27 ve Vyhlášce (doplnění slova „relevantní“) ovšem představuje rozdílný pohled na metabolity resp. rozkladné produkty pesticidů.

Pojem „relevantní“ (metabolit) není ve směrnici 98/83/ES nijak definován. Pojem „relevantní metabolit“ se objevoval řadu let ve dvou směrniciích EU (ve směrnici 98/83/ES pro pitnou vodu a dnes již zrušené směrnici 91/414/EHS, která se týká uvádění na trh přípravků na ochranu rostlin), ovšem nebyl nijak definován. Určitá definice se objevila až v nařízení č. 1107/2009 ES o uvádění přípravků na ochranu rostlin na trh a o zrušení směrnic Rady 79/117/EHS a 91/414/EHS. Ani tato definice nepodává jednoznačné kritérium, jak posoudit, který metabolit je a který není relevantní.

K problematice relevantních a nerelevantních metabolitů (rozkladných produktů) byl Evropskou komisí (EK) vydán v roce 2003 Metodický návod pro hodnocení relevantnosti metabolitů látek regulovaných podle směrnice Rady 91/414/EHS v podzemní vodě, (dále jen GD).

GD byl vypracován ve spolupráci s členskými státy EU a byl koncipován jako pracovní dokument EK. Jeho cílem není zpracování právně závazných dopadů.

GD popisuje systém pro posouzení rizikosti těch metabolitů, které nejsou identifikovány jako relevantní, ale které musí být přehodnoceny, aby mohlo dojít k rozhodnutí, zda jsou či nejsou zahrnuty mezi účinné látky.

Tímto dokumentem není dotčena pravomoc členských států stanovit si vlastní národní postup. Doporučuje se, aby členské státy vytvořily své vlastní národní a regionální scénáře pro posouzení kontaminace podzemních vod, aby bylo zajištěno, že jsou v místech odběru podzemních vod respektovány mezní hodnoty stanovené právními předpisy Společenství EU. Tímto doporučením se řídila i ČR.

S ohledem na výše uvedená fakta, a aby bylo možné aplikovat novelu Vyhlášky v praxi a přijmout jasná kritéria hodnocení relevantnosti metabolitů, zpracoval Státní zdravotní ústav (SZÚ) metodické doporučení: *Metodické doporučení SZÚ – Národního referenčního centra pro pitnou vodu pro hodnocení relevantnosti metabolitů pesticidů v pitné vodě* (SZÚ-2466/2014) (dostupné on-line: <http://www.szu.cz/tema/zivotni-prostredi/metodicke-doporučení-pro-hodnocení-relevantnosti-metabolitu>), které bylo vydáno dne 9.7.2014. Metodické doporučení vychází z metodiky vydané v roce 2003 EK, potřebná kritéria pro rozlišení relevantních a nerelevantních metabolitů obsahuje, uvádí legislativní souvislosti a hlavně uvádí, jak v praxi přistupovat k nově formulované vysvětlivce č. 27 ve Vyhlášce.

Aby výstupy Metodického doporučení SZÚ mohly být využity v celé vodárenské praxi ČR, bylo MZd prostřednictvím SOVAK ČR ujištěno dopisem ze dne 22.7.2014, že provozovatelé vodovodu, členové SOVAK ČR, poskytnou Ministerstvu zdravotnictví „*Odborné posudky – hodnocení zdravotního rizika*“ a „*Stanovení bezpečné koncentrace nerelevantního metabolitu pesticidu*“ (doporučenou limitní koncentraci v pitné vodě), tedy dokumenty, které si provozovatel vodovodu pro analyticky zjištěný metabolit pesticidu v pitné vodě zajistil.

Zároveň SOVAK ČR navrhl, aby seznam takto posouzených nerelevantních metabolitů pesticidů, včetně jejich navržených limitních hodnot v pitné vodě – jako **hodnoty doporučené** - byl zveřejňován na webových stránkách MZd, aby navržená doporučená hodnota jednotlivých metabolitů byla jednotná pro celou ČR.

Dne 1.9.2014 byl na webových stránkách MZd zveřejněn první seznam stanovených nerelevantních metabolitů pesticidů včetně jejich doporučených limitních hodnot v pitné vodě. Seznam je na základě posouzení nerelevantnosti metabolitů PL a jejich zdravotních rizik a je postupně rozšiřován. Tyto informace jsou dostupné na: [http://www.mzcr.cz/Verejne/obsah/pitna-voda-pesticidy-nerelevantni-metabolity\\_3170\\_5.html](http://www.mzcr.cz/Verejne/obsah/pitna-voda-pesticidy-nerelevantni-metabolity_3170_5.html)

Novelou Vyhlášky pro pitnou vodu nebylo dotčeno, že provozovatel VaK má povinnost stanovovat rezidua pesticidních látek cíleně podle předpokládaného výskytu. Problémem zůstává, že statistické údaje o množství aplikovaných pesticidů poskytované v současné době ÚKZÚZ jsou neadresné a jsou poskytovány s velkým zpožděním (cca půl roku po skončení kalendářního roku), což je pro vodárenské společnosti pouze hrubě

orientační informace. ÚZKÚZ není schopen podat cílené informace, protože shromažďuje údaje jen od vybraných hospodařících subjektů a tyto údaje nejsou vázány na jednotlivé pozemky, ale na všechny obhospodařované plochy daným subjektem, které mohou být umístěny na různých, i poměrně vzdálených katastrech. ÚZKÚZ je tedy schopen zpracovat seznam látek aplikovaných vybranými hlásícími subjekty na úrovni jednoho či více katastrů přiléhajících k ochranným pásmům či zdrojům. ÚZKÚZ na základě svých dat poskytuje seznam POR od vybraných subjektů, které alespoň částečně hospodaří na stejném katastru. Jedná se o seznam cca 50 látek, který ale nemusí odpovídat potřebám daného provozovatele vodovodu.

Územní pracoviště KHS Jihomoravského kraje a Královéhradeckého kraje začaly na začátku roku 2015 naléhat na provozovatele vodovodů, aby si od ÚZKÚZ vyžádaly informace o aplikovaných přípravcích na ochranu rostlin (POR) v oblasti jejich vodních zdrojů a sledovaly v pitné vodě všechny POR (popř. jejich metabolity) z poskytnutého seznamu. Praxe ukázala, že současný systém evidence aplikovaných POR, který byl vytvořen dříve za jiným účelem a zpřístupňování informací prostřednictvím ÚZKÚZ je pro vodárenskou a hygienickou praxi zcela nepoužitelný, protože není schopen poskytnout cílené informace o POR aplikovaných v oblasti zdroje vody pro konkrétní vodovod.

S ohledem na obtížné až nemožné získat informace o osevních plánech a aplikovaných pesticidech od hospodařících subjektů, vyvíjí ČHMÚ zástupnou metodu družicového snímkování, která by umožnila identifikovat pěstované rostliny a z toho by pak bylo možné usoudit na pravděpodobně aplikované POR. Na základě vyhodnocení družicových snímků by měl být ČHMÚ schopen poskytnout přehled ozimů (a doprovodnou pravděpodobnost aplikací POR na plodiny). Z jařin je nejvíce četná kukuřice, a pokud se v povodí zdroje nepěstuje větší zastoupení speciálních plodin, umožní tyto podklady výrazně zúžit rozsah sledovaných parametrů u odebraných vzorků. Uvedené informace pomohou přiblížit jak provozovatelům VaK, tak podnikům Povodí, na které účinné látky a jejich metabolity se při monitoringu mají zaměřit. Zveřejňování výsledků se předpokládá na stránkách ČHMÚ.

Na začátku roku 2015, v souladu s dílčími cíli NAP, poskytl ÚZKÚZ přehled nejčastěji aplikovaných pesticidů a jejich metabolitů, které vznikají v životním prostředí včetně toxikologické relevantnosti u většiny metabolitů (<http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal/pripravky-na-or/sdeleni-novinky/prehled-ucinnych-latek-a-jejich.html>). Předpokládá se další postupné doplňování na základě shromážděných poznatků o chování metabolitů PL.

#### **Problémy se sledováním pesticidů v pitných vodách**

Do roku 1990 se pesticidy v pitné vodě sledovaly jen výjimečně, v rámci výzkumných úkolů. K rutinnímu sledování se přistoupilo po roce 1991, když vstoupila v platnost ČSN 75 7111. Ta předepisovala monitorovat deset definovaných pesticidních látek: 2,4-D, DDT, HCP, heptachlor, HCH, methoxychlor, pentachlorfenol, (tetrachlormethan), 2,4,5- a 2,4,6-trichlorfenol.

Situace se změnila a pro výrobce vody zkomplikovala od roku 2001, kdy se do české legislativy transponovala směrnice Rady 98/83/ES [1]. Ve vyhlášce na pitnou vodu (č. 376/2000 Sb., od roku 2004 pak 252/2004 Sb. [2]) se ve shodě s uvedenou směrnicí objevily ukazatele „Pesticidní látky“ a „Pesticidní látky celkem“ s vysvětlivkou: „Stanovují se pouze pesticidy s pravděpodobným výskytem v daném zdroji“. Aby se nemohl provozovatel vyhnout této povinnosti s vysvětlením, že on žádné pesticidy ve svém zdroji nepředpokládá (aniž by to byl schopen nějak odůvodnit), byla tato věta později doplněna: „Stanovují se pouze pesticidy s pravděpodobným výskytem v daném zdroji, nestanovení pesticidních látek se zdůvodní.“

Problémem pro provozovatele vodovodů při naplňování tohoto ustanovení je, že nemají zákonem stanovené žádné právo, jak potřebnou informaci (jaké pesticidy byly v oblasti jejich zdrojů a kdy aplikovány a tudíž je jejich výskyt pravděpodobný) získat. Mohou sice oslovit hospodařící subjekty v oblasti zdrojů, ale ty jim vůbec nemusí odpovědět.

Protože provozovatelé nemají přístup k informacím o látkách aplikovaných v poslední době v oblasti jejich zdrojů surové vody, řeší to obvykle tak, že požádají laboratoř, aby stanovila „nějaké pesticidy“. Laboratoř stanoví nějaké pesticidní látky, které umí stanovit a jejich počet je pro provozovatele finančně únosný – od 5 až do cca 30, výjimečně více látek. Když ve vodě tyto látky nenajdou nebo nepřesahují limit, považují to provozovatelé za důkaz, že voda je z hlediska pesticidních látek v pořádku, i když mohly být stanoveny látky zcela nepřípadné pro daný zdroj surové vody.

Každým rokem je v současné době v pitných vodách ČR stanoveno více než 100 pesticidních látek s různou četností: od 1-2 stanovení až po více než dva tisíce stanovení. Celkem se jedná o více než 60 tisíc analýz (viz tabulka).

**Tabulka 1: Shrnutí výsledků stanovení pesticidů (včetně metabolitů) v pitných vodách v České republice za období let 2012 a 2013. Data vložena podle zákona o ochraně veřejného zdraví výrobcí vody a hygienickou službou do informačního systému IS PiVo.**

Rok	2012	2013
Počet monitorovaných (jednotlivých) pesticidních látek v pitné vodě	115	118
Celkový počet stanovení pesticidních látek v pitné vodě v ČR	61 926	69 157
Počet stanovení s výsledkem pod mezí stanovitelnosti	56 636 (91,5 %)	63 901 (92,4 %)
Počet pesticidních látek, u kterých bylo v daném roce zjištěno alespoň jedno překročení limitní hodnoty	13	7
Počet nálezů s překročením limitní hodnoty	70 (0,113 %)	42 (0,061 %)
Počet zásobovaných oblastí (vodovodů), u kterých musela být kvůli pesticidním látkám udělena „výjimka“, protože nálezy opakovaně překračují limitní hodnotu	16	16
Počet pesticidních látek, kvůli kterým byla udělena výjimka – jedná se o látky: desethylatrazin, terbutylazin, atrazin, metazachlor, hexazinon, metolachlor, chlortoluron a acetochlor	8	8

U 70 % z těchto látek jsou všechny nálezy pod mezí stanovitelnosti, u zbytku je více než 90 % nálezů pod tuto mez. Mezi širokým spektrem analyzovaných látek se stále ještě objevují „staré“ pesticidy, obsažené v již neplatné ČSN 757111 Pitná voda a již po desetiletí zakázané. Jedná se sice o perzistentní látky, jejichž stopy v prostředí přetrvávají, ale jestliže si lze z ročenek kvality pitné vody ověřit, že skoro všechny nálezy za posledních 10 let byly pod mezí stanovitelnosti a bez jediného překročení limitu, nemá pochopitelně další sledování těchto látek smysl, nejedná-li se o zcela nový vodní zdroj nebo nějakou specifickou havárii.

Na druhou stranu, v posledních deseti letech – až do počátku tohoto roku (teprve v březnu 2015 byly první výsledky vloženy do IS PiVo) – nikdo nestanovoval v českých pitných vodách např. glyfosát (CAS No. 1071-83-6), přestože se jedná v současné době snad o nejpoužívanější pesticid na území ČR.

Takový přístup (necílené analýzy s více než 90 % nálezů pod mezí stanovitelnosti) vede na jedné straně k ohromnému plýtvání prostředků, protože většina těchto necílených analýz se dělá zbytečně, na druhé straně vyvolává falešný pocit jistoty, že vše je v pořádku. To nahrává kritikům pitné vody z veřejného zásobování, kteří tvrdí, že se v pitné vodě sice nějaké látky sledují, ale ještě více potenciálně škodlivých látek se nesleduje a proto nelze této vodě důvěřovat.

Analyticky je aktuálně v ČR ve vodě sledován značný počet pesticidních látek (cca 115-120 látek). Tento rozsah sledování je sice velký, ale v porovnání se 400 registrovanými PL (a pravděpodobně také aplikovanými) to vyvolává řadu otázek a nejistotu. Vysoký počet aplikovaných látek do životního prostředí může vést k existenci směsi těchto látek, které se vyskytují nejen v životním prostředí, ale i v potravním řetězci (potraviny i pitná voda). I v případě, že koncentrace těchto látek je ve vztahu k jejich jednotlivým limitům vyhovující, neexistují téměř žádné informace o jejich sumárním účinku a vzájemných interakcích („koktejlový efekt“), tedy jaký je účinek těchto směsí.

### **CESTY SNIŽOVÁNÍ OBSAHU MIKROPOLUTANTŮ (PESTICIDNÍCH LÁTEK) V PITNÉ VODĚ**

Jedním z preventivních opatření regulace mikropolutantů v pitné vodě je nastavení přísných podmínek hospodaření v ochranných pásmech vodního zdroje (OPVZ) a jejich důsledná kontrola. Jak uvádí (mimo jiné) zákon o vodách - k ochraně vydatnosti, jakosti a zdravotní nezávadnosti zdrojů vod s průměrným odběrem více než 10 000 m<sup>3</sup> za rok stanoví vodoprávní úřad ochranná pásma opatřením obecné povahy. Stanovení ochranných pásem je vždy veřejným zájmem.

V praxi dochází často k situaci, kdy při kontrolách hospodaření v OPVZ je nakládání s POR resp. pesticidy v souladu se stanoveným režimem pro OPVZ, ale kontaminace vodního zdroje přesto trvá. Kontrola subjektů hospodařících v OPVZ je velmi komplikovaná a zdlouhavá. V mnoha případech se setkáváme s tím, že kontaminace zejména povrchových zdrojů má původ mimo OPVZ. Významné znečištění vody pesticidními látkami přitéká drobnými vodními toky ze zápolí OPVZ.

Nastupuje tedy druhá možnost, jak snížit obsah mikropolutantů resp. pesticidů v pitné vodě a tou je doplnění technologie o vhodný separační stupeň.



Obecně lze říci, že konvenční chemický proces úpravy vody, tedy běžná dvoustupňová úprava, není schopen rozpuštěné pesticidní látky odstraňovat s požadovaným účinkem. Účinnost odstranění některých pesticidních látek je možné zvýšit oxidací ozónem případně směsí ozonu a peroxidu vodíku (AOP), ovšem zásadní nevýhodou tohoto procesu je tvorba různých fragmentů organických molekul, které jsou jednak potenciálními prekursory trihalometanů a halogenderivátů kyseliny octové, jednak mohou být zdrojem asimilovatelného uhlíku pro přítomné mikroorganismy a v neposlední řadě mohou vytvářet jiné organické sloučeniny, o jejichž dopadu na zdraví člověka nic nevíme.

Mezi nejčastěji aplikovaný a účinný technologický stupeň odstranění pesticidních látek patří adsorpce na granulovaném aktivním uhlí (GAU), méně často na práškovém AU. Tento technologický stupeň je z hlediska efektivity odstranění pesticidních látek velmi účinný (účinnost se pohybuje v rozmezí 60 % až 95 %), zejména pokud adsorpci předchází ozonizace.

Pro efektivní odstranění pesticidů z vody je důležitý výběr aktivního uhlí s vhodnými povrchovými charakteristikami zohledňující typ cílového mikropolutantu i složení a fyzikálně-chemické vlastnosti upravované vody, včetně charakteru obsažených přírodních organických látek.

## ZÁVĚR

Nastavený systém má za sebou zhruba 1 rok „praktického života“, během něhož se objevily některé problémy s praktickým fungováním (např. omezená personální kapacita pro hodnocení relevantnosti metabolitů), které se snad podaří vyřešit. Otázkou je, zda tento systém povede ke zlepšení nebo ke zhoršení stavu s výskytem pesticidů a jejich metabolitů v pitných vodách v ČR. Panuje totiž obava, že zmírněním limitů pro nerelevantní metabolity se zmírní tlak na racionální a správné použití pesticidů, jestliže nebude docházet k překračování závazných limitních hodnot.

Na základě současného stavu a hlavně trendu, jakým se aplikace a analytika pesticidních látek dnes ubírá, lze očekávat, že přítomnost pesticidních látek a jejich metabolitů v pitných vodách bude v nejbližší budoucnosti nejvíce problematické a kontroverzní téma v rámci všech ukazatelů pitné vody. Těžko však odhadnout, jakou cestou se bude řešení tohoto problému ubírat.

Protože obvykle platí, že je vždy lepší a levnější problémům preventivně předcházet, než je zpětně napravovat, může být hlavní zájem a tlak veden na oblast aplikace POR. Ze zkušenosti ale víme, že i velmi důsledná kontrola hospodařících subjektů nezabrání průniku POR do vodních zdrojů.

Z uvedené analýzy i nastínění možných dalších cest vývoje i metod pro snižování expozice obyvatel působnosti pro zdraví relevantních mikropolutantů vyplývá, že jakýkoliv přístup není možné aplikovat izolovaně, ale vždy je nutné navzájem provazovat opatření, tedy jak ochranou vodních zdrojů, tak postupným doplňováním technologie úpravy vody tak, aby proces ochrany lidského zdraví byl efektivní, ekonomicky dostupný a přitom adresný a vždy aktuální.

Možná není nezbytně nutné, aby se situace zlepšovala jen prostřednictvím restriktivních opatření. V rámci Národního akčního plánu ke snížení používání pesticidů v České republice se navrhuje řada doporučení a opatření, jejichž poctivým dodržováním v praxi a vzájemnou otevřenou komunikací a spoluprací mezi resorty MZe, MŽP a MZdr lze obsah pesticidních látek v surových a pitných vodách minimálně snížit.

## LITERATURA

- [1] Směrnice Rady 98/83/ES ze dne 3. 11. 1998 o kvalitě vody určené pro lidskou spotřebu. Official Journal of the European Communities L 330, 5. 12. 1998, p. 32-54.
- [2] Vyhláška č. 252/2004 Sb., kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly pitné vody, v platném znění.
- [3] Zákon č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví, ve znění pozdějších předpisů.
- [4] Evropská komise – DG Sanco: Guidance document on the assessment of the relevance of metabolites in groundwater of substances regulated under Council directive 91/414/EEC (Metodický návod pro hodnocení relevantnosti metabolitů látek regulovaných podle směrnice Rady 91/414/EHS v podzemní vodě). Brusel, 2003.
- [3] ČHMÚ (2012). Zpřesnění dosavadních odhadů dopadů klimatické změny v sektorech vodního hospodářství, zemědělství a lesnictví a návrhy adaptačních opatření - technické shrnutí výsledků projektu 2007-2011.
- [4] Ministerstvo zemědělství II (2014). Zpráva o stavu vodního hospodářství České republiky v roce 2013.
- [5] Návrhy opatření povodí ČR (2015).
- [6] Beneš, O., Chudoba, P. a Král, P. (2014). Moderní trendy v hospodaření s vodou vs. vodohospodářské společnosti; sborník Konference Voda Zlín – 13/3/2014.
- [7] Kožíšek, F.: Pitná voda a relevantní metabolity pesticidů: současný stav řešení problému v České republice. Časopis „Rostlinolékař“, 30. 4. 2015



## NOVÉ TRENDY VE SLEDOVÁNÍ KVALITY HYDROSFÉRY – UKAZATELE, MATRICE, LEGISLATIVA

Jiří Medek

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

Hydroanalytické laboratoře si často kladou otázku, kam se vyvíjí a bude vyvíjet jejich činnost, tj. jaké se budou sledovat ukazatele a v jakých maticích. Od toho se odvíjejí i další otázky – jaké metody se mají a budou používat, do jakých technik a do jakých přístrojů se má investovat, jaké budou nároky na personál apod. Velká část monitoringu povrchových a odpadních vod je sice dlouhodobě dána a žije si svým ustáleným životem, neboť se jedná o dlouhodobě sledované ukazatele kvality vod jako jsou základní ukazatele a sumární ukazatele jakosti vod, živiny, anionty, těžké kovy a metaloidy či dlouhodobě sledované relevantní ukazatele specifického organického znečištění. Vedle toho však vznikají nové požadavky, které jsou dány novými relevantními nálezy dalších látek, které byly sledovány např. v rámci národních či mezinárodních vyhledávacích studií nebo které jsou výstupem výzkumných aktivit v oblasti kvality hydrosféry včetně toxikologických a ekotoxikologických studií., resp. jsou reakcí na změny v používání chemických látek a přípravků v průmyslu, zemědělství či v běžném životě. Tyto změny se promítají do nových přání a požadavků zadavatelů monitoringu a výzkumných studií i do požadavků běžných zákazníků. Tyto trendy se současně významně promítají do nových požadavků legislativy, což má a bude mít přímý dopad na vodohospodářské laboratoře.

Významnou celoevropskou aktivitou byla v roce 2012 vyhledávací studie „Watch List Pilot Exercise“, na které se podílelo 8 laboratoří z 8 zemí včetně laboratoře Povodí Labe, státního podniku. Cílem této studie bylo ověřit relevanci výskytu potenciálních prioritních a prioritních nebezpečných látek v evropských povrchových vodách, přičemž získaná data byla cenným podkladovým materiálem pro rozhodnutí o tom, které látky mají být zařazeny do seznamu prioritních a prioritních nebezpečných látek na celoevropské úrovni, resp. kterým látkách se má věnovat i nadále velká pozornost, aby bylo dostatek dat pro budoucí rozhodování. Ve 220 vzorcích z celé Evropy bylo sledováno 13 organických látek včetně metabolitů, chloridy, bór a stříbro, přičemž se dodržovala zásada, že daná laboratoř sledovala vybrané ukazatele ve všech měrných profilech. Sledování probíhalo v maticích voda, sediment a biota (ryba). Tato poměrně složitá logistika odběru a transportu vzorků do příslušných laboratoří měla zásadní výhodu v tom, že se pro jednotlivé látky opravdu získaly výsledky plošně srovnatelné v rámci celé Evropské unie včetně dalších přidružených zemí.

V roce 2013 byla završena práce na novelizaci evropské směrnice 2008/105/ES, která v příloze 2 obsahovala seznam 20 prioritních a 13 prioritních nebezpečných látek. Byla vydána směrnice 2013/39/EU, která rozšiřuje seznam prioritních látek o dalších šest látek (aclonifen, bifenox, cybutryn, cypermethrin, dichlorvos, terbutryn), seznam prioritních nebezpečných látek také o dalších šest položek (dicofol, PFOS a její deriváty, quinoxifen, dioxiny a dioxinům podobné sloučeniny, hexabromcyclododekan, heptachlor a heptachloreoxid) a dvojici látek přecházejí ze skupiny prioritních látek do skupiny prioritních nebezpečných látek (bis(2-ethylhexyl)ftalát - DEHP, trifluralin). Tato směrnice rovněž nově definuje normy environmentální kvality pro vybrané látky pro matici biota, přičemž není biota přesně definována, což může přinést řadu problémů při zajištění srovnatelnosti dat v celoevropském prostoru a při hodnocení výsledků. Tato směrnice má být implementována na národní úrovni do 14.09.2015, přičemž v rámci tohoto procesu mají být konkrétně uvedeny i detaily, které jsou pro provádění odběrů a zkoušek, tj. pro laboratoře nezbytné. Zejména je potřeba definovat matici biota, která se bude sledovat v rámci národních monitoringů a na kterou se budou používat celoevropsky platné normy environmentální kvality, což je podstatné pro hodnocení stavu vodních útvarů, tj. stavu povrchových vod. Výsledek implementace evropské směrnice do české legislativy není v tuto chvíli znám.

Další probíhající aktivitou na evropské úrovni, která bude mít dopad na monitoring povrchových vod je prováděcí rozhodnutí komise ze dne 20.03.2015, kterým se stanoví seznam sledovaných látek pro monitorování v rámci celé Unie v oblasti vodní politiky podle směrnice Evropského parlamentu a Rady 2008/105/ES. Toto rozhodnutí definuje důvody a postupy pro ověření relevance výskytu dalších látek, které je možno označit za kandidáty pro příští novelizaci seznamu prioritních a prioritních nebezpečných látek pro další plánovací období. Přílohou tohoto rozhodnutí je tabelární přehled deseti látek, resp. skupin látek včetně doporučené indikativní analytické metody a maximálně přípustné meze detekce metody. Jedná se o následující látky/skupiny látek:

- 17-alfa-ethinylestradiol (EE2)
- 17-beta-estradiol (E2), estron (E1)
- diklofenak
- 2,6-di-terc-butyl-4-methyfenol (BHT – „butylovaný hydroxytoluen“)
- 2-ethylhexyl-4-methoxycinnamát
- makrolidová antibiotika: erythromycin, clarithromycin, azithromycin
- methiocarb

- neonicotinoidy: imidokloprid, thiakloprid, thiamethoxam, klothianidin, acetamiprid
- oxadiazon
- triallát

V současnosti se na evropské úrovni připravuje technická zpráva „JRC Technical Report: Water Framework Directive - Watch List – Draft Sampling Guidance“, která má definovat jak přistoupit k monitoringu těchto látek a k získání plošně srovnatelných dat, která mají být podkladem pro následná rozhodnutí o případné prioritizaci těchto látek. Není zatím zřejmé, zda bude opět využit scénář z „Watch List Pilot Exercise“ z roku 2012 nebo zda bude odpovědnost přenesena na jednotlivé členské země, kde je ovšem riziko, zda získaná data budou srovnatelná a zda všechny členské země budou schopny tyto analýzy zajistit. Z analytického pohledu se jedná o pestrou paletu látek, pro jejichž stanovení je potřeba kvalitní vybavení LC-MS/MS případně GC-MS/MS většinou s předstupněm SPE. Obtížnost analýz lze odhadnout od relativně snadných až po velmi komplikované, což souvisí i s různými nároky na meze detekce / meze stanovitelnosti pro jednotlivé látky (od 0,025 ng/l pro EE2 a 0,4 ng/l pro E2 a E1 až po 6000 ng/l pro 2-ethylhexyl-4-methoxycinnamát). Pro některé obtížně stanovitelné látky se na evropské úrovni připravuje technická zpráva, např. „JRC Technical Report: Water Framework Directive Watch List Method“ pro analýzy 17-beta-estradiolu a estronu. Diskutabilní je i otázka vzorkování povrchových vod pro tato stanovení, a to zejména z pohledu četnosti a sezónnosti odběrů. Vybrané látky tvoří z hlediska jejich výskytu a používání pestrou paletu – jedná se o léčiva se zimními maximy výskytu ve vazbě na aplikaci (diklofenak, makrolidová antibiotika), steroidní hormony a metabolity bez sezónního vlivu či se zimním maximem vlivem vyšší stability (E1, E2, EE2), insekticidy s převahou aplikace v létě a na podzim (neonicotinoidy) či na jaře (methiocarb), herbicidy s jarní aplikací (oxadiazon, triallát), průmyslovou chemikálií bez sezónního vlivu v aplikaci a s maximem v zimě vlivem vyšší stability (BHT) a prostředek na ochranu před UV zářením aplikovaný během letní sezóny zejména v rekreačních oblastech a na koupacích vodách.

Jiný pohled na současné trendy nám mohou přinést mezinárodní monitorovací programy, přičemž jako příklad bych chtěl uvést dvě významná evropská povodí – povodí Labe a Rýna.

Mezinárodní program měření Labe, který je každoročně aktualizován, obsahuje v roce 2015 sledování 122 fyzikálně chemických a chemických ukazatelů v dílčím programu měření pro vodu, a 81 ukazatelů v dílčím programu měření pro sedimentovatelné plaveniny, přičemž řada ukazatelů se sleduje pouze v některých měrných profilech s relevantním výskytem. V rámci těchto měřicích programů hrají dominantní roli organické sloučeniny včetně 18 chlorovaných pesticidů, 20 pesticidů obsahujících dusík a jejich metabolitů, 13 léčiv, 15 polycyklických aromatických uhlovodíků apod. Je sledováno 15 kovů a metaloidů, přičemž u většiny z nich se sleduje celkový obsah a rozpuštěný podíl ve vodě a celkový obsah v pevné matici. Pro rok 2016 je navrhováno sledování 136 ukazatelů v dílčím programu měření pro vodu, 68 ukazatelů v dílčím programu pro sedimentovatelné plaveniny a nově 35 ukazatelů v dílčím programu pro biotu. Změny jsou způsobeny potřebou ověřit výskyt látek z evropské legislativy, i když v minulosti nebyly relevantní. Ze stejných důvodů je nově zařazeno sledování obsahu vybraných látek v biotě, které by mělo proběhnout na podzim roku 2016. Poprvé je do programu navrhováno sledování drogy metamfetamin ve významných měrných profilech včetně hraničního profilu Labe- Schmilka. Podrobnosti lze nalézt na [www.ikse-mkol.org](http://www.ikse-mkol.org).

Naproti tomu mezinárodní program sledování Rýna (Rheimessprogramm Chemie), který je sestaven na období 2015-2020, obsahuje ve své základní části 6 základních a fyzikálních parametrů (průtok, teplota vody, obsah kyslíku, pH, konduktivita, nerozpuštěné látky), 6 ukazatelů živin (dusičnanový, dusitanový, amoniakální a celkový dusík, fosforečnanový a celkový fosfor), 2 sumární parametry (DOC/TOC a AOX) a 8 anorganických látek (chloridy, sírany, hydrogenuhličitan, křemičitany, Ca, Mg, Na,K). Vedle toho obsahuje závazná část sledování 10 kovů a metaloidů, 2 lehce těkavých uhlovodíků, 18 výševroucích uhlovodíků, 14 pesticidů, 2 deriváty fenylmočoviny, 3 triaziny, 9 dalších přípravků na ochranu rostlin, 1 biocid, 1 sladidlo, 7 bromovaných difenyletherů, 1 perfluorovaný tenzid, 2 komplexotvorné látky, 28 léčiv, 4 rentgenkontrastní látky a 7 polycyklických aromatických uhlovodíků. V případě relevance na daném měrném profilu se dále sledují látky z nepovinného seznamu, který obsahuje mimo jiné dalších 34 pesticidů, 6 biocidů, 3 sladidla, 1 bromovanou sloučeninu, 27 léčiv, 1 rentgenkontrastní látku, 1 komplexotvornou látku, 2 polycyklické mošusové látky, 4 polycyklické aromatické uhlovodíky, 2 organociničité sloučeniny a 4 radiologické ukazatele. Všechny ukazatele, resp. sledované látky jsou rozděleny do 4 skupin podle toho, zda jsou převážně rozpuštěny ve vodné fázi či zda a v jaké míře se sorbují na pevnou matici – podle toho jsou zařazeny do měřicího programu ve vodě či v plavenině. Vedle tohoto pravidelného měřicího programu bude v rámci šestiletého období provedeno zvláštní sledování, které bude povinně, resp. nepovinně zaměřeno na dalších 8, resp. 4 výševroucí uhlovodíky, 8, resp. 10 pesticidů, 1, resp. 1 biocid, 25, resp. 13 léčiv a 1, resp. 1 rentgenkontrastní látku. Na vybraných měřicích stanicích se dále provádějí screeningové „non-target“ analýzy z průměrných denních vzorků pomocí GC-MS, resp. LC-MS/MS technik. Podrobnosti lze nalézt na [www.IKSR.org](http://www.IKSR.org).

Při pohledu na široké spektrum sledovaných ukazatelů v rozšiřující se paletě matic (voda, pevné matrice – sedimenty, plaveniny, sedimentovatelné plaveniny, ale také biota, pasivní vzorkovače), kdy je velmi obtížné a nákladné udržovat pro všechny analyty odpovídající standardní metody a kdy velká část výsledků leží pod mezí stanovitelnosti, se někdy objevuje otázka, zda je to potřeba a zda nelze sledování hydrosféry zjednodušit. Pro posouzení relevantnosti výskytu dané látky, resp. pro posouzení významnosti tohoto výskytu či pro hrubý odhad

míry kontaminace hydrosféry, ale i pro sledování trendů není podle mého názoru vždy nutná znalost zcela "korektních" kvantitativních čísel s přesně definovanou nejistotou a vším, co k tomu náleží. Sledování kvality hydrosféry by zjednodušilo a zlevnilo, pokud by část analýz byla pouze semikvantitativních, protože pokud se nález pohybuje na úrovni toxikologicky a ekotoxikologicky zcela nevýznamné, potom zcela přesné číslo nepotřebujeme znát, neboť nám neovlivní hodnocení stavu hydrosféry. Teprve v okamžiku, kdy jsou nálezy významné z pohledu kvality hydrosféry, využití vod apod. potřebujeme přesně kvantifikovat nálezy. Jsem si vědom, že toto je poněkud kacířský názor, jehož aplikace v praxi by přinesla řadu dosud nevyřešených otázek – jak s těmito čísly nakládat, jak je označit v databázích, jakou mají vypovídací schopnost, kdy je nutná kvantita a kdy stačí semikvantita, apod. Přesto se domnívám, že by z pohledu sledování kvality hydrosféry (a možná i v jiných oblastech) byl takový postup přínosný, neboť by ušetřil laboratorním čas, finanční prostředky a kapacity, které by bylo možno využít efektivněji. Příkladem nám může být opět sledování Rýna, kde se vedle kvantitativních analýz v souladu s měřicím programem, provádí na vybraných měřicích stanicích velmi rozsáhlé sledování zaměřené na vyhledávání nových neznámých látek, jejichž přítomnost není v daném profilu obvyklá, resp. na semikvantitativní orientační stanovení širokého spektra organických látek. Získá se tak velmi podrobná a široká databáze údajů o kvalitě vody, která umožňuje odhalit atypické situace (a to často dříve než vznikne opravdový problém či havarijní stav), nalézt nové relevantní problémové látky, které je potřeba kvantifikovat a rutinně sledovat, resp. se získá spolehlivá informace o tom, že se daná látka nevyskytuje ve významnějším množství.

Podobnou roli může sehrát i využití pasivních vzorkovačů pro sledování organických polutantů, ale i vybraných kovů v povrchových vodách. I když přepočtení výsledků na koncentrace ve vodě s možností porovnání s limity je velmi diskutabilní až nereálný, tento postup nám rovněž umožňuje získat spolehlivou semikvantitativní informaci o výskytu daných látek a jejich přibližné koncentraci, o trendech, atypických situacích apod. Velkou výhodou je možnost získat integrovaný vzorek za delší časové období, např. jednoho měsíce. Z těchto důvodů bychom rádi uplatnili tento přístup při případné obnově a rekonstrukci měřicích stanic na Labi, kdy by touto cestou bylo možno získávat relevantní informace o výskytu široké škály látek v Labi. Přitom tento přístup by byl podstatně jednodušší a levnější než postup používaný na Rýnu, kdy se na vybraných stanicích odebírají integrované denní vzorky, které se následně měří technikou GC-MS, resp. LC-MS/MS a výsledky se vyhodnocují podle látek semikvantitativně, kvantitativně, příp. alespoň kvalitativně.

Dalším trendem, který je patrný na evropské úrovni včetně zapojení některých českých pracovišť, jsou takzvané „analýzy zaměřené na účinek“ (effect-based analysis). Zainteresovanými pracovišti bývá zdůrazňována velká úspora nákladů, neboť vybavení pro tyto analýzy je skutečně méně nákladné než vybavení pro špičkové chromatografické analýzy. Jako příklad bývá zmiňována problematika sledování estrogenů, kdy lze „effect-based“ analýzy použít pro screening a oddělení zajímavých a nezajímavých vzorků, tj. zajímavých a nezajímavých lokalit. Interpretačně však touto cestou nezískáme zcela srovnatelnou informaci s kvantitativním stanovením. Navíc častý argument o levnějším analytickém vybavení není zcela korektní, protože např. špičková sestava HPLC-MS/MS je sice významně dražší, ale má také podstatně širší využití pro širokou škálu analýz a analytů. Podle mého názoru představuje přístup s použitím „effect-based“ analýz vlastní paralelní cestu, která vhodně doplňuje klasickou instrumentální analýzu, ale nemůže ji nahradit.

Výše uvedený příspěvek se pokusil naznačit, jakými směry se bude ubírat hydroanalýtika a jaké úkoly budou čekat před hydroanalýtickými laboratořemi. Z hlediska nových parametrů jednoznačně dominuje oblast organických látek, kde se vedle tradičně sledovaných látek a skupin nadále významně rozšiřuje počet sledovaných pesticidů včetně jejich metabolitů a rychle narůstá počet sledovaných léčiv, ale kde se objevují i další relevantní látky používané v průmyslu, zemědělství, stavebnictví i v běžném životě včetně přípravků osobní péče. V blízké budoucnosti se mohou stát předmětem pozornosti i metabolity léčiv, případně drogy. V oblasti stanovení kovů a metaloidů, kdy se již dnes vedle celkových obsahů standardně sleduje rozpuštěný podíl, lze výhledově očekávat u vybraných toxických kovů i sledování speciací vzhledem k rozdílné toxicitě a ekotoxicitě jednotlivých forem, případně sledování organokovových sloučenin opět ve vazbě na různou toxicitu. V oblasti základních a sumárních ukazatelů nelze předpokládat dramatické změny ve výběru ukazatelů. Ekonomický tlak na laboratoře, postupné zdražování lidské síly a rostoucí požadavky na kapacitu laboratoří však otevírají prostor pro moderní instrumentální metody, které lze automatizovat či robotizovat. Z hlediska matric bude vedle sledování vodné fáze hrát nadále významnou roli sledování pevných matric z hydrosféry (sedimenty, plaveniny,...) a pod tlakem legislativy nově také sledování vybraných ukazatelů v biotě. Budoucnost ukáže, zda se do rutinní praxe prosadí využití pasivních vzorkovačů, které se jeví jako perspektivní zejména pro sledování organických polutantů a případně kovů. Budoucnost rovněž ukáže, zda se uplatní i některé zatím netradiční přístupy screeningových, necílených („non-target“) či semikvantitativních metod, které mají velkou vypovídací schopnost a mohou vhodně doplnit „klasické“ kvantitativní metody. Na širší využití těchto metod nejsou zatím české laboratoře, ale ani uživatelé jejich výstupů připraveni.



# NORMY PRO ANALÝZU VODY

Lenka Fremrová

Sweco Hydroprojekt a.s., Táborská 31, 140 16 Praha  
e-mail: lenka.fremrova@sweco.cz

**V referátu je uveden přehled norem pro chemickou analýzu vody, které byly vydány od ledna 2014, a seznam připravovaných norem.**

Do soustavy českých technických norem bylo zavedeno překladem několik norem, které připravila technická komise CEN/TC 230 „Rozbor vod“ Evropského výboru pro normalizaci (CEN) a technická komise ISO/TC 147 „Kvalita vod“ Mezinárodní organizace pro normalizaci (ISO). Stručný obsah příslušných norem ČSN je uveden dále:

## **ČSN ISO 17378-2 (75 7403) Kvalita vod – Stanovení arsenu a antimonu – Část 2: Metoda atomové absorpční spektrometrie s generováním hydridů (HG-AAS)**

Tato část ČSN ISO 17378 specifikuje metodu pro stanovení arsenu a antimonu. Tato metoda je použitelná pro pitnou, povrchovou, podzemní, dešťovou a odpadní vodu. Přibližný lineární rozsah použití této části ČSN ISO 17378 pro oba prvky je od 0,5 µg/l do 20 µg/l. Vzorky obsahující vyšší koncentrace než uvedený rozsah použití mohou být analyzovány po vhodném zředění. Tato metoda pravděpodobně nedetekuje sloučeniny s organicky vázaným arsenem a antimonem. Citlivost metody závisí na zvolených provozních podmínkách.

**Stanovení arsenu:** Alikvotní objem vzorku se okyslí kyselinou chlorovodíkovou. Přidá se činidlo jodid draselný–kyselina askorbová, aby byla zajištěna kvantitativní redukce arsenu(V) na arsen(III). K roztokům vzorku je přidán tetrahydridboritan sodný a vzniká kovalentní plynný hydrid arsenitý (arsin, AsH<sub>3</sub>). Tento hydrid a přebytečný vodík jsou odvedeny z vyvíjecí nádoby v případě vsádkového způsobu a ze separátoru plyn/kapalina v případě kontinuálního způsobu do vyhřívané křemíkové kyvety. Po atomizaci se stanoví absorbance arsenu při vlnové délce  $\lambda = 193,7$  nm. Postup je automatizován pomocí automatického podavače vzorků a řídicího softwaru.

**Stanovení antimonu:** Alikvotní objem vzorku se rozloží kyselinou chlorovodíkovou. Přidá se činidlo jodid draselný–kyselina askorbová, aby byla zajištěna kvantitativní redukce antimonu(V) na antimon(III). K roztokům vzorku je přidán tetrahydridboritan sodný a vzniká kovalentní plynný hydrid antimonitý (stiban, SbH<sub>3</sub>). Tento hydrid a přebytečný vodík jsou odvedeny z vyvíjecí nádoby v případě vsádkového způsobu a ze separátoru plyn/kapalina v případě kontinuálního způsobu. Po atomizaci se stanoví absorbance antimonu při vlnové délce  $\lambda = 217,6$  nm. Postup je automatizován pomocí automatického podavače vzorků a řídicího softwaru.

Norma byla vydána v červenci 2015 a nahradila ČSN EN ISO 11969 Jakost vod – Stanovení arsenu – Metoda atomové absorpční spektrometrie (technika hydridů).

## **ČSN ISO 17289 (75 7461) Kvalita vod – Stanovení rozpuštěného kyslíku – Metoda s optickým senzorem**

Tato norma specifikuje optickou metodu pro stanovení rozpuštěného kyslíku ve vodě s použitím senzoru založeného na zhášení fluorescence. Je možné měřit buď koncentraci kyslíku v miligramech na litr, nebo nasycení v procentech (% rozpuštěného kyslíku), nebo obojí. Podle druhu použitého přístroje je možné podle návodu výrobce dosáhnout mezi detekce 0,1 mg/l nebo 0,2 mg/l. Většina přístrojů umožňuje měřit hodnoty větší než 100 %, tj. přesycení. Pokud se provádí měření ve vodách s nasycením vyšším než 100 %, jsou nezbytné úpravy, aby se zabránilo úniku kyslíku během manipulace se vzorky a měření. Podobně je důležité, aby bylo zamezeno transportu kyslíku do vzorku, pokud je nasycení nižší než 100 %.

Tato metoda je vhodná pro terénní měření a pro kontinuální monitoring rozpuštěného kyslíku i pro měření v laboratoři. Je jednou z metod, které se přednostně používají pro velmi zbarvené a zakalené vody a také pro analýzu vod, u nichž není vhodná Winklerova odměrná metoda vzhledem k obsahu železa a látek, které vážou jod, což může rušit při metodě specifikované v ČSN EN 25813 Jakost vod – Stanovení rozpuštěného kyslíku – Jodometrická metoda. Metoda podle ČSN ISO 17289 je vhodná pro pitné, přírodní, odpadní a slané vody. Pokud se používá pro slané vody, musí se pracovat s korekcí na salinitu.

Optické senzory, které měří dobu trvání luminiscence/fluorescence nebo fázový posun luminiscence/fluorescence, se obvykle skládají z luminoforu nebo fluorescenčního barviva umístěného v měřicí hlavici senzoru, ze zdroje záření (např. z diody emitující světlo, LED) a z fotodetektoru. Pulzní nebo modulované záření ze zdroje způsobuje excitaci luminoforu, který je v přítomnosti kyslíku zhášen. Fotodetektor převádí vznikající emitované záření na elektrický signál, který může být zaznamenán a zpracován, aby se vypočítal fázový posun nebo doba trvání fluorescence nebo luminiscence. Fázový posun nebo doba trvání excitace se používají pro kvantifikaci koncentrací rozpuštěného kyslíku.

Teplota má dva různé vlivy. První vliv se týká změny procesu zhášení membrány s teplotou. Primární signál sondy tak musí být kompenzován vřazeným teplotním senzorem. Moderní přístroje jsou schopny provést kompenzaci automaticky. Druhý vliv je dán vzorkem a teplotní závislostí rozpustnosti kyslíku ve vzorku. Významný vliv může mít také salinita.

Pro výpočet nasycení v procentech u vzorků, které jsou ve styku s ovzduším, je nutné zahrnout skutečný tlak. To je možné provést manuálně nebo vřazením tlakového senzoru pro automatickou kompenzaci. Norma byla vydána v červenci 2015.

#### **ČSN P ISO/TS 17379-2 (75 7480) Kvalita vod – Stanovení selenu – Část 2: Metoda atomové absorpční spektrometrie s generováním hydridů (HG-AAS)**

Tato část ČSN P ISO/TS 17379 specifikuje metodu pro stanovení selenu. Metoda je použitelná pro pitnou, povrchovou, podzemní, dešťovou a odpadní vodu. Rozsah použití této části ČSN P ISO/TS 17379 je přibližně od 0,5 µg/l do 20 µg/l. Vzorky obsahující selen ve vyšších koncentracích, než je uvedený rozsah použití, mohou být analyzovány po vhodném zředění. Tato metoda pravděpodobně nedetekuje sloučeniny s organicky vázaným selenem. Citlivost metody závisí na zvolených provozních podmínkách.

Alikvotní objem vzorku se okyselí kyselinou chlorovodíkovou. Se(VI) se předem redukuje na Se(IV) mírným varem v kyselině chlorovodíkové o koncentraci 6 mol/l HCl po dobu 1 h pod zpětným chladičem. Je třeba dbát na to, aby se zamezilo ztrátám těkavých sloučenin selenu. Vhodný přístroj je znázorněn v informativní příloze normy. Potom je k roztokům vzorku přidán tetrahydridoboritan sodný a vzniká kovalentní plynný hydrid (SeH<sub>2</sub>). Tento hydrid a přebytečný vodík jsou odvedeny z vyvíjecí nádoby v případě vsádkového způsobu a ze separátoru plyn/kapalina v případě kontinuálního způsobu do vyhřívané křemenné kyvety. Po atomizaci se stanoví absorbance selenu při vlnové délce  $\lambda = 196,0$  nm. Postup je automatizován pomocí automatického podavače vzorků a řídicího softwaru.

Norma byla vydána v červenci 2015 a nahradila ČSN ISO 9965 Jakost vod – Stanovení selenu – Metoda atomové absorpční spektrometrie (technika hydridů).

#### **ČSN EN ISO 12010 (75 7593) Kvalita vod – Stanovení polychlorovaných alkanů s krátkým řetězcem (SCCP) ve vodách – Metoda plynové chromatografie-hmotnostní spektrometrie (GC-MS) a negativní chemické ionizace (NCI)**

Tato norma specifikuje metodu pro kvantitativní stanovení sumy polychlorovaných *n*-alkanů s krátkým řetězcem, označovaných také jako chlorované parafiny s krátkým řetězcem (SCCP), s délkou uhlíkového řetězce v rozsahu *n*-C<sub>10</sub> až *n*-C<sub>13</sub> včetně, ve směsích s hmotnostním zlomkem chloru mezi 49 % a 67 %, které zahrnují asi 6 300 z přibližně 8 000 kongenerů. Metoda je použitelná pro stanovení sumy SCCP v nefiltrované povrchové vodě, podzemní vodě, pitné vodě a odpadní vodě s použitím plynové chromatografie-hmotnostní spektrometrie s elektronovým záchytem po negativní chemické ionizaci (GC-ECNI-MS). Tuto metodu je možné používat pro vzorky, které obsahují 0,1 µg/l až 10 µg/l SCCP.

K SCCP v celkových vzorcích vody je přidán vnitřní standard a potom jsou extrahovány extrakcí kapalina-kapalina s organickým rozpouštědlem. Po přidavku vnitřního standardu následuje čištění vzorku, kterým se odstraní rušivé látky. Plynová chromatografie se provádí s použitím krátké kapilární kolony s krátkým rozsahem retenčních časů. Detekce vybraných hmotnostních fragmentů se provádí hmotnostní spektrometrií v modu monitoringu vybraného iontu s použitím elektronového záchytu po negativní chemické ionizaci. Výběr hmotnostních fragmentů je specifický pro různé technické směsi i pro obsah chloru v nich a pro rozdělení délky uhlíkového řetězce. Vybraný chromatogram se integruje v celém rozsahu retenčních časů SCCP. Kvantifikace sumy SCCP se provádí po provedení kalibrace s použitím několikanásobné lineární regrese. Analyzují se roztoky různých technických směsí s přidavkem vnitřního standardu.

Pro kalibraci jsou potřebné nejméně tři různé směsi standardu, z nichž každá má podobné rozdělení délky uhlíkového řetězce a obsah chloru jako různé technické směsi. To odráží různé obsahy chloru a rozdělení délky uhlíkového řetězce v různých technických směsích SCCP a úrovně SCCP vyskytující se v environmentálních vzorcích, které nemohou být popsány jedinou definovanou standardní látkou. Tato metoda umožňuje kvantifikaci sumy SCCP s očekávanou rozšířenou nejistotou měření menší než 50 %. Norma byla vydána v listopadu 2014.

Členové technické normalizační komise **TNK 104 Kvalita vod** připravili několik „čistých“ norem ČSN a technických normalizačních informací (TNI). Jejich stručný obsah je uveden dále.

#### **ČSN 65 0102 Chemie – Obecná pravidla chemického názvosloví, označování čistoty chemikálií, vyjadřování koncentrace, veličin a jednotek (revize ČSN 65 0102:2006)**

Tato norma je návodem, jak správně uvádět požadavky na kvalitu chemických látek a směsí. Zabývá se chemickým názvoslovím, označováním čistoty chemikálií, veličinami a jednotkami používanými v chemii



a vyjadřováním a označováním koncentrace roztoků chemikálií. Norma se nezabývá kontrolou kvality a vzorkováním chemikálií, které jsou předmětem jiných norem. Rovněž se nezabývá klasifikací a označováním chemických látek a směsí podle nebezpečných vlastností, které upravují příslušné právní předpisy. Norma je pomůckou pro překlady evropských a mezinárodních norem, které se týkají kvality chemických látek a analytických metod. Proto jsou do normy zařazeny dvě informativní přílohy. Příloha A uvádí příklady anglických termínů a jejich českých ekvivalentů, které se týkají kvality chemických výrobků. Příloha B uvádí příklady anglických termínů a zkratk, které se týkají analytických metod. Norma byla vydána v srpnu 2014.

#### **ČSN 75 7422 Kvalita vod – Stanovení chloridů – Absorpční fotometrická metoda s thiokyanatanem rtuťnatým – Metoda ve zkumavkách**

Tato norma určuje absorpční fotometrickou metodu stanovení chloridů ve zkumavkách. Zkouška je použitelná k rozboru všech druhů vod, pokud neobsahují rušivé vlivy nebo jsou tyto vlivy odstraněny. Je vhodná zejména pro analýzu přírodních vod a pitné vody. Při použití fotometrických zkumavek o vnějším průměru 16 mm a zkoušeném objemu vzorku 1 000 µl je možno bez ředění vzorku stanovit koncentraci chloridů od 5 mg/l do 20 mg/l Pracovní rozsah je možno rozšířit použitím jiného zkoušeného objemu a ředěním vzorku.

Je možno stanovit bez ředění i vyšší koncentrace chloridů. V tom případě však není kalibrační funkce lineární a k jejímu hodnocení nelze použít ČSN ISO 8466-1 Jakost vod – Kalibrace a hodnocení analytických metod a určení jejich charakteristik – Část 1: Statistické hodnocení lineární kalibrační funkce. Je nutno použít kalibrační funkci druhého stupně podle ČSN ISO 8466-2 Jakost vod – Kalibrace a hodnocení analytických metod a odhad jejich charakteristik – Část 2: Kalibrační strategie v případě nelineárních kalibračních funkcí druhého stupně.

Chloridy reagují s thiokyanatanem rtuťnatým za vzniku málo disociovaného chloridu rtuťnatého. Uvolněné thiokyanatanové ionty reagují s Fe(III) ve směsném činidle za vzniku červeně zbarveného komplexu. Absorbance komplexu, která je úměrná koncentraci chloridů, se měří fotometricky. Absorpční charakteristika tohoto komplexu má v rozsahu vlnových délek 440 nm až 480 nm pouze nevýrazné maximum. K měření je proto možno použít různé vlnové délky v uvedeném intervalu. Norma byla vydána v únoru 2015.

#### **TNI 75 7021 Kvalita vod – Metoda přidavků standardu**

Účelem této technické normalizační informace je doplnit kalibrační postupy uvedené v ČSN ISO 8466-1 Jakost vod – Kalibrace a hodnocení analytických metod a určení jejich charakteristik – Část 1: Statistické hodnocení lineární kalibrační funkce a ČSN ISO 8466-2 Jakost vod – Kalibrace a hodnocení analytických metod a odhad jejich charakteristik – Část 2: Kalibrační strategie v případě kalibračních funkcí druhého stupně o metodu přidavků standardu, která byla navržena jako třetí část ISO 8466-3, ale vydána nebyla. Metoda přidavků standardu se při analýze vody používá v řadě norem. Většinou se jedná o normy popisující náročnější instrumentální analytické metody (např. chromatografické) a stanovení velmi nízkých koncentrací (např. spektrometrické stanovení stopových prvků). Použití při běžné analýze vody, např. při základním chemickém rozboru vody, však zatím není rozšířeno. Tato TNI má přispět k většímu využití metody přidavků standardu.

Tato technická normalizační informace:

- doplňuje kalibrační postupy uvedené v ČSN ISO 8466-1 a ČSN ISO 8466-2 o metodu přidavků standardu;
- umožňuje zjistit rušivý vliv matrice vzorku;
- poskytuje nástroj pro korekci proporcionálních systematických rušivých vlivů;
- umožňuje získat spolehlivé analytické výsledky i u vzorků se složitější maticí, kterou není možné modelovat.

Metoda přidavků standardu je popsána ve dvou variantách: vícebodová metoda přidavků standardu s kalibrační přímkou a jednobodová metoda přidavků standardu, která je zjednodušenou verzí první metody.

Podstatou vícebodové metody přidavků standardu je vytvoření kalibrační křivky v matici vzorku několika přidavky standardu k několika alikvotním objemům vzorku. Jednobodová metoda přidavku standardu používá jeden přidavek standardu k jednomu alikvotnímu objemu vzorku. V obou případech se extrapoluje směrnice závislosti absorbance na koncentraci/objemu přidavku na nulovou absorbanci s cílem získat hodnotu koncentrace v původním vzorku korigovanou na možný rušivý vliv matrice vzorku, např. pH, iontové síly a dalších proporcionálních rušivých vlivů.

Vícebodová metoda přidavků standardu se může zredukovat na jednobodovou metodu přidavků standardu v případě, že je složení vzorků přibližně konstantní. Podmínkou jejího použití je platnost kalibrační přímky sestavené v dané matici vzorku vícebodovou metodou přidavků standardu.

Jednobodová metoda přidavků standardu slouží k rychlému zjištění a korekci rušivých vlivů matrice při rutinních analýzách. Pro poměr analyticky zjištěné koncentrace přidavku standardu a přidané koncentrace přidavku standardu, vyjádřený v procentech, se používá termín „výťažnost“. Pokud se výťažnost významně liší

od 100 %, znamená to, že pro daný vzorek není předpokládána kalibrace platná a má se sestrojít celá kalibrační přímka v matrici s použitím vícebodové metody přidavků standardu.

Použití metody přidavků standardu je omezeno na lineární oblast kalibrační funkce. Metoda přidavků standardu není vhodná ke korekci spektrálních rušivých vlivů a nespecifických rušivých vlivů pozadí. Použitím metody přidavků standardu nejsou korigovány konstantní systematické rušivé vlivy, dané např. posunem nulové linie. TNI 75 7021 byla vydána v lednu 2014.

#### **TNI 75 7364 Kvalita vod – Stanovení barvy pitné vody**

Účelem této technické normalizační informace je doplnit a upřesnit metodu C v ČSN EN ISO 7887:2012 Kvalita vod – Stanovení barvy tak, aby bylo možno stanovovat barvu pitné vody na základě objektivního spektrofotometrického měření nezávislého na subjektu pozorovatele. Pitná voda jako matrice není u metody C v ČSN EN ISO 7887:2012 uvedena.

ČSN EN ISO 7887:2012 uvádí čtyři metody stanovení barvy (A až D). Metoda C je objektivní - měření optickým přístrojem při  $\lambda = 410$  nm s jednobodovou kalibrací barevným roztokem hexachloroplatičitanu draselného (100 mg/l Pt) není určeno pro stanovení barvy pitné vody.

Technická normalizační informace TNI 75 7364:

- doplňuje a upřesňuje metodu C uvedenou v ČSN EN ISO 7887:2012, která byla vyvinuta pro analýzu huminových vod tak, aby byla vhodná pro běžnou analýzu pitné vody;
- zabývá se měřením barvy pitné vody i při jiných vlnových délkách než 410 nm (metoda C podle ČSN EN ISO 7887:2012), zejména těch, které jsou publikované a používané (420 nm, 436 nm, 455 nm a 457 nm) s cílem umožnit laboratorům používat k měření barvy ty vlnové délky, které mají zavedené a dlouhodobě praxí ověřené;
- doplňuje pokyny pro kalibraci a výpočty podle ČSN ISO 8466-1 (metoda C podle ČSN EN ISO 7887:2012 používá pouze specifický absorpční koeficient kalibračního roztoku 100 mg/l Pt, tj. jednobodovou kalibraci);
- zabývá se použitím alternativního, praxí ověřeného barevného roztoku pro přípravu kontrolního/kalibračního roztoku, protože kyselina huminová uvedená v informativní příloze A ČSN EN ISO 7887:2012 v praxi nevyhovuje vzhledem k nestabilní koncentraci a problematické přípravě roztoku;
- doplňuje praxí ověřené kritérium pro filtraci vzorku (zákal vyšší než mez stanovitelnosti); v ČSN EN ISO 7887:2012 je při stanovení skutečné barvy vody filtrace vzorku požadována vždy, což může u pitné vody znamenat nejen vyšší pracnost, ale i vyšší chybovost.

Podkladem pro zpracování této TNI byly experimentální výsledky měření při různých vlnových délkách, které jsou uvedeny v přílohách A a B. V příloze A je také uvedena diskuse k výběru vlnové délky a kalibračního/kontrolního roztoku. V příloze B jsou uvedeny příklady absorpčních spekter pitné vody a kalibračních roztoků. TNI 75 7364 byla vydána v lednu 2014.

#### **TNI 75 7507 Kvalita vod – Stanovení uhlovodíků C<sub>10</sub> až C<sub>40</sub> ve vodách s nízkou koncentrací uhlovodíků – Metoda plynové chromatografie po extrakci rozpouštědlem**

Tato technická normalizační informace na základě zkušeností z praxe zpřesňuje postup stanovení uhlovodíků C<sub>10</sub> až C<sub>40</sub> uvedený v ČSN EN ISO 9377-2 Jakost vod – Stanovení uhlovodíků C<sub>10</sub> až C<sub>40</sub> – Část 2: Metoda plynové chromatografie po extrakci rozpouštědlem, aby bylo možné dosáhnout nižší meze stanovitelnosti. Snížení této meze je potřebné vzhledem ke skutečnosti, že významná část vzorků analyzovaných v laboratořích je na koncentrační úrovni meze stanovitelnosti ČSN EN ISO 9377-2, tj. 0,1 mg/l nebo pod ní. Výsledky pod mezí 0,1 mg/l jsou často omezeně použitelné. Nepoužitelné jsou například pro sledování a kategorizaci surových vod, protože jejich vypovídací schopnost je velmi nízká.

Podstata zkoušky specifikovaná v kapitole 5 ČSN EN ISO 9377-2 se nemění. Úprava postupu navržená v TNI 75 7507 není náročná a nevyžaduje nákladné technické vybavení. Základem je pečlivá analytická práce, řízené podmínky analýzy a optimálně konfigurovaný a vyladěný chromatografický systém. Tato technická normalizační informace dále uvádí postupy řízení kvality a validační charakteristiky zpřesněného postupu. TNI 75 7507 byla vydána v únoru 2015.

#### **Připravované normy**

Do konce roku 2015 budou zpracovány dále uvedené normy:

**ČSN EN 16691 Kvalita vod – Stanovení vybraných polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) v celkových vzorcích vody – Metoda extrakce kapalina tuhá fáze kombinovaná s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií (GC-MS);**

ČSN P CEN/TS 16692 Kvalita vod – Stanovení tributylcínu (TBT) v celkových vzorcích vody – Metoda extrakce tuhou fází (SPE) s disky SPE a plynové chromatografie s trojnásobnou kvadrupólovou hmotnostní spektrometrií;

ČSN EN 16693 Kvalita vod – Stanovení organochlorových pesticidů (OCP) v celkových vzorcích vody – Metoda extrakce tuhou fází (SPE) s disky SPE kombinovaná s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií (GC-MS);

ČSN EN 16694 Kvalita vod – Stanovení pentabromdifenyletheru v celkových vzorcích vody – Metoda extrakce tuhou fází (SPE) s disky SPE kombinovaná s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií (GC-MS).

#### Dostupnost norem

Normy ČSN jsou přístupné především v elektronické formě – přístup k ČSN je umožněn prostřednictvím internetu. Podrobnosti naleznete na internetu na stránkách Úřadu pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví (ÚNMZ) ([www.unmz.cz](http://www.unmz.cz), nadpis „ČSN online“). Na stránkách ÚNMZ je dostupný také Věstník Úřadu pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Ve věstníku jsou zveřejňovány informace o vydaných normách a o zahájených normalizačních úkolech.

Informace o normách vodního hospodářství můžete získat ve Sweco Hydroprojekt a.s. na adrese: [www.sweco.cz](http://www.sweco.cz), ve složce **Služby**, pod nadpisem **Tvorba norem pro vodní hospodářství a ekologii**. Sweco Hydroprojekt a.s. vydává v lednu a v červenci každého roku aktualizovaný seznam technických norem vodního a odpadového hospodářství.

#### Veřejné připomínkování návrhů technických norem v elektronické formě

V roce 2014 bylo na stránkách ÚNMZ zahájeno veřejné připomínkování návrhů technických norem v elektronické formě. Postup připomínkování je popsán na [www.unmz.cz](http://www.unmz.cz), pod nadpisem **Veřejné připomínkování návrhů technických norem**.

#### Jednoduchý způsob připomínkování návrhů technických norem

Je možné připomínkovat návrhy evropských norem (prEN) a návrhy ČSN. Připomínkování probíhá ve čtyřech krocích:

1. **Hledání** - Hledání **podle klíčových slov** nebo procházení návrhů technických norem **podle zaměření** (např. **Zdraví, životní prostředí a zdravotní zařízení**)
2. **Čtení** - Nahlédnutí do návrhů technických norem (pro čtení je potřebná registrace – uvedení e-mailové adresy a hesla)
3. **Připomínky** - Připomínkování návrhů technických norem (uvést nejen připomínku, ale i navrhovanou změnu nebo odůvodnění)
4. **Sdílení** - Sdílení připomínek nebo oblíbených návrhů norem s kolegy

Vaše připomínky obdrží zpracovatel návrhu normy. Všechny připomínky budou zpracovány, některé z nich budou akceptovány a včleněny do konečného návrhu normy.



# ZAJIŠTĚNÍ (VYHOVUJÍCÍ) KVALITY VÝSLEDKŮ ANALÝZ VOD

Eva Klokočnicková

Český institut pro akreditaci, o.p.s.

*„Kvalita nebo jakost - filozoficky znamená všechno to, nač se ptáme otázkou „jaký?“, vlastnost, již nelze měřit a vyjádřit číslem. Programem novověké vědy bylo nahradit kvality měřitelnými kvantitami.“*

*(Heslo: kvalita. In: Všeobecná encyklopedie ve čtyřech svazcích II. g/l. Praha: Nakladatelský dům OP 1996, str. 580.)*

*„Quality is what makes a thing to what it is.“ (Democritus)*

Filozoficky vzato – měli bychom v souvislosti s výsledky zkoušek mluvit o vyhovující kvalitě, vhodné a očekávané pro daný účel. Kvalita je obecně vlastnost a může být tudíž dobrá, špatná, výborná, atd. Jak ale stanovit, jaká kvalita je vyhovující pro daný účel?

Tyto úvahy bychom měli odvíjet od otázky, proč vlastně provádíme analýzy vod, k čemu budou tyto výsledky sloužit: jde nám většinou o stanovení koncentrace látky (veličina) v nějakém vzorku vody určitým zkušebním postupem k zhodnocení této veličiny dle předepsaných limitů, které jsou v oblasti analýz vod dané legislativou. K těmto účelům je nutné použít zkušební postupy vhodné pro daný účel. Tento účel je vždy potřeba specifikovat ve spolupráci se zákazníkem. Klade důraz na slovo účel, protože při akreditaci se někdy setkávám s tím, že laboratoř nebere v úvahu to, k čemu má výsledek analýzy sloužit. Je nutné zvážit, zda jde o orientační stanovení, nebo o výsledek, kde je vyžadována maximální přesnost. Pokud jde o porovnání s limitní hodnotou, zvláštní pozornost vyžadují výsledky, které se pohybují kolem této hodnoty. Z podobných analýz by se měl odvíjet i vyhovující způsob zajištění kvality výsledků, požadavek na nejistotu a metrologickou návaznost a samozřejmě cena za provedenou zkoušku.

Kvalita je stupeň splnění požadavků souborem inherentních charakteristik. Požadavek je pak definován jako potřeba nebo očekávání, které jsou stanoveny (dány například normou ČSN EN ISO/IEC 17025), obecně se předpokládají (zákazníky, regulátory) nebo jsou závazné (akreditace, normy, atd.). Kvalita výsledku je dána především nejistotou. Ale samozřejmě i dalšími ukazateli kvality.

Požadavky na zajišťování kvality výsledků zkoušek jsou uvedeny v normě ČSN EN ISO/IEC 17025:2005. Tato mezinárodní norma stanovuje požadavky na způsobilost zkušebních laboratoří včetně vzorkování a využívá se též při jejich akreditaci. Dle této normy musí mít laboratoř postupy pro řízení kvality pro monitorování platnosti provedených zkoušek včetně analýz trendů a přijímání nápravných opatření v případě potřeby. Mezi interní kontrolu kvality v laboratoři patří používání vhodných referenčních materiálů, opakování zkoušek při použití stejných nebo jiných metod za stejných nebo jiných podmínek, analýzy duplicitních nebo slepých vzorků, vzorků s přídatkem, atd. Externí kontrola kvality představuje hlavně účast ve vhodných programech zkoušení způsobilosti nebo mezilaboratorního porovnávání. Pro výsledky interní a externí kontroly kvality je vhodné vést regulační diagramy.

Požadavky na účast ve zkoušení způsobilosti pro akreditaci laboratoře jsou dány metodickým pokynem ČIA MPA 30- 03 .. a odpovídají mezinárodním požadavkům. Aktivity v oblasti zkoušení způsobilosti musí být plánované a musí být zvolena vhodná úroveň a četnost účasti ve zkoušení způsobilosti. Při tvorbě plánu účasti musí laboratoř vycházet zejména z míry rizika spojeného se zkušební činností (četnost prováděných zkoušek, použití výsledků, způsobilost personálu, zajištění interní kontroly kvality, hodnota nejistoty, provozní změny v laboratoři týkající se personálu, přístrojů, prostor, používaných zkušebních postupů). Je samozřejmě potřeba splnit legislativní požadavky pro účast v PT. Metodickým pokynem jsou dány minimální aktivity v oblasti zkoušení způsobilosti před zahájením akreditace a minimální aktivity v průběhu platné akreditace. Laboratoř by měla ve vlastním zájmu plánovat účast v PT nejen na základě požadavků akreditace, ale i – a možná především - na základě potřeb laboratoře.

Plán účasti ve zkoušení způsobilosti by měl být vypracován v souladu s návodem EA-4/18 „Návod pro určení úrovně a četnosti ve zkoušení způsobilosti“. Laboratoř pak vypracovává program účasti na jeden rok a vede záznamy o účasti a hodnocení výsledků. Plán účasti ve zkoušení způsobilosti je dokument, který by se měl pravidelně přezkoumávat a dle potřeb laboratoře revidovat.

Laboratoř by měla zvolit vhodný program PT vzhledem k matici, analytu a jeho koncentraci. Dále by měla hodnotit, zda jejím potřebám vyhovuje způsob statistického zpracování dat, počet analytů a počet výsledků, způsob získání výsledků od účastníků, počet účastníků a jejich původ, použité metody, hodnocení úspěšnosti - kritéria, porovnání nejistot. Laboratoř musí hodnotit poskytovatele PT jako významného dodavatele laboratoře, přednostně využívat služeb akreditovaných poskytovatelů nebo poskytovatelů se zavedeným systémem managementu dle normy ČSN EN ISO 17043. Důležité jsou i odborné zkušenosti poskytovatele PT, jeho

zákaznický servis. Seznam všech akreditovaných poskytovatelů PT je na internetových stránkách ČIA, další informace o poskytovatelích lze dohledat v databázi EPTIS. Tato databáze ([www.eptis.bam.de](http://www.eptis.bam.de)) je mezinárodní databází pro vyhledávání programů zkoušení způsobilosti. Je využíván software k vyhledávání vhodných programů PT. Využití této databáze vzrostlo v roce 2014 o 30%, obsahuje 2200 programů od 300 poskytovatelů z 38 zemí.

V případě, že nejsou nebo momentálně nejsou k dispozici žádné programy, které poskytují profesionální poskytovatelé PT, je možné zorganizovat mezilaboratorní porovnání s malým počtem účastníků. Zkušební vzorek by měl být připraven a otestován kompetentní laboratoří (laboratoř, která splňuje požadavky ČSN EN ISO/IEC 17025). Pracoviště, která volí tento způsob porovnání, by se měla na podmínkách porovnání dohodnout předem včetně hodnocení výsledků a stanovení kritérií uspokojivého výsledku. Vlastní hodnocení výsledků takového programu by měla provést nezávislá odborně způsobilá osoba.

Pro organizování mezilaboratorních porovnání s malým počtem účastníků připravuje mezinárodní pracovní skupina EEE PT nový dokument, který by měl být návodem k tomu, jak vyhovět požadavkům normy ČSN EN ISO/IEC 17043 v těch kritériích, která připadají v úvahu. Splnění předepsaných požadavků má zajistit důvěru v takový náhradní program. U vodařských laboratoří je tento způsob porovnání využitelný pro případ, kdy není momentálně k dispozici vhodný program PT, ale laboratoř nutně potřebuje akreditaci. Důležité je vždy stanovit, kdo ponese odpovědnost za takový program. Dokument poskytuje také návod, jak statisticky vyhodnotit tak malý počet výsledků, jsou navrženy tři různé možnosti, které mohou v praxi nastat: první možností je případ, kdy je k dispozici vzorek se stanovenou vztahnou hodnotou, která byla stanovena externě (CRM, nezávislé laboratoře, výsledky z předchozích PT). Druhou možností je případ, kdy je vztahná hodnota stanovena z výsledků účastníků, toto lze použít za účasti již zkušených laboratoří, které mají systém řízení kvality v laboratoř nebo za účasti laboratoře s metrologicky vyšší úrovní (nižší nejistoty měření), její výsledek by měl být použit jako výsledek referenční. Třetí možnost je nestanovit vztahnou hodnotu pro hodnocení výsledků. V takovém případě nelze hodnotit výsledky pomocí skóre, lze hodnotit pouze individuální výkony laboratoře (porovnání výsledků, hodnocení opakovatelnosti výsledků za podmínek opakovatelnosti, statistické rozložení výsledků, hodnocení odlehklých hodnot výsledků, porovnání nejistot výsledků účastníků).

Laboratoř by měla hodnotit své výsledky a hledat příčinu neúspěchu, pokud taková situace nastane, ověřit celý proces stanovení výsledku PT, prověřit celý analytický postup, vyloučit administrativní pochybení, případně se obrátit na poskytovatele s žádostí o spolupráci na identifikaci možné neshodné práce. Laboratoř musí sledovat a vyhodnocovat trendy svých výsledků zajištění kvality.

ČIA při svém posuzování účasti v PT vychází z normy ČSN EN ISO 17043, z její přílohy C. 5. Posuzuje celý proces účasti v PT, jeho zavedení v laboratoři, případné neúspěchy v programech PT posoudí na místě v laboratoři společně s dalšími výsledky například interní kontroly kvality. Důležitá je pro toto hodnocení také historie účasti laboratoře v PT, o které by v laboratoři měly být vedeny dostatečné záznamy. Výsledky účasti v PT jsou důležitým indikátorem kvality.

Ve zkoušení způsobilosti není nikdo nejlepší a nikdo nejhorší. Jsou jenom laboratoře, které vyhovely požadavkům a laboratoře, jejichž výsledky jsou neuspokojivé. Při celkovém zhodnocení neuspokojivého výsledku by laboratoř měla zvážit hodnocení rizika a vzít také v úvahu nejistotu daného zkušebního postupu.

Co říci závěrem: Velmi nebezpečným jevem v laboratoři, se kterým se také při posuzování setkáváme, je psychické vyhoření laboratorních pracovníků, které může být zdrojem hrubých chyb při provádění analýz. Zde nepomůže žádné z výše zmíněných opatření pro zajištění kvality. Zde pomůže preventivní opatření - poskytnutí dostatečného odpočinku pracovníkům, omezení stresu a dobré podmínky na klidnou analytickou práci. Je to i jeden ze základních požadavků normy ČSN EN ISO/IEC 17025.

# ZOBRAZENÍ VÝSLEDKŮ ANALÝZ PITNÉ VODY V GIS A VYUŽITÍ MOBILNÍ APLIKACE PŘI VZORKOVÁNÍ

Lenka Vavrušková, Jana Kabátová

*Pražské vodovody a kanalizace, a.s.*

Pražské vodovody a kanalizace, a.s. (PVK) je společnost, která zajišťuje výrobu a distribuci pitné vody, provozování vodovodů a vodárenských zařízení, rozborů vod a chemikálií, odkanalizování a čištění odpadních vod. PVK zajišťuje i další služby související s touto hlavní činností tak, aby poskytovala komplexní služby v oboru vodovodů a kanalizací. Laboratorní činnost – kontrola kvality pitné, balené, povrchové, surové, podzemní a odpadní vody a kalů, vody z technologických mezistupňů (mezioperační vody) a vody ke koupání a s tím spojené vzorkování je prováděno útvarem kontroly kvality vody (ÚKKV).

Služby ÚKKV jsou poskytovány jak pro vlastní potřebu akciové společnosti, tak v rámci skupiny Veolia a všem fyzickým a právnickým osobám na objednávku.

## ÚVOD

Cílem příspěvku je seznámit odbornou veřejnost s projektem Smart Water Integrated Management (SWIM), jehož součástí je také zobrazování výsledků analýz pitné vody v Geografickém informačním systému (GIS) a systémem mobilního vzorkování v laboratoři ÚKKV. Mobilní vzorkování = odběr vzorku se záznamem o odběru v elektronické formě v aplikaci GEOM Lab Mobile – Laboratorní odběry v tabletu (dodavatel firma GISIT s.r.o. Brno).

## PROJEKT SWIM (SMART WATER INTEGRATED MANAGEMENT)

Jedná se o unikátní systém, který integruje deset různých oblastí vodohospodářského managementu v PVK a zahrnuje také systém kontroly kvality vody, v rámci které je pro zaměstnance provozní společnosti (interní zákazníci) aplikováno elektronické zobrazování výsledků analýz vybraných parametrů kvality pitné vody v GIS a pro veřejnost na webových stránkách PVK. Součástí projektu je „Mobilní vzorkování“ s využitím mobilní aplikace v tabletu, které zefektivnilo proces odběru a příjmu vzorku v laboratoři.

SWIM je vyústěním dlouhodobého procesu inovací a implementace moderních technologií ve vodárenství. Jedná se o nástroj řízení, který je dostupný 24 hodin denně, 7 dní v týdnu. Díky jednotlivým aplikacím jsou zaměstnanci provozní společnosti v reálném čase informováni o provozních událostech. Jde o monitorovací a kontrolní systém pro veškerý vodárenský cyklus zahrnující cestu vody od zdroje až k zákazníkovi, včetně odvádění a čištění odpadní vody.

PVK využívají několik stěžejních informačních systémů, které dlouhodobě rozvíjí. Tyto systémy obsahují velké množství informací.

Stěžejní informační systémy PVK jsou:

- Informační a řídicí systém (SCADA)
- Technický informační systém
- Ekonomický a personální informační systém
- Zákaznický informační systém
- Geografický informační systém (GIS)
- Laboratorní informační systém (Labsystém)
- Systém centralizovaného a sledování a ovládání elektronického zabezpečení
- Systém sledování GPS vozidel
- Systém hydraulického modelování vodovodní sítě
- Intranet společnosti
- Web společnosti a Google maps

Pomocí těchto jednotlivých systémů je zpracováváno a dále předáváno velké množství dat. Proto, aby bylo možné jednotlivé informace předávat v nezkráceném stavu a potřebném čase bez nutnosti obsluhovat více různorodých systémů, vznikl unikátní systém, který integruje deset různorodých oblastí vodohospodářského managementu.

Data ze systému SWIM slouží k vyhodnocení a dalšímu zdokonalení poskytovaných služeb.

## PŘEHLED PROCESŮ INTEGROVANÝCH V SYSTÉMU SWIM

**Systém dispečerského řízení vodohospodářských zařízení** – on-line sledování provozních událostí, dálkový monitoring a řízení distribučního systému pitné a průmyslové vody, včetně monitoringu odvádění a čištění odpadní vody, sledování meteorologických údajů.

**Havarijní management včetně integrovaného systému řízení náhradního zásobování vodou** – vyhlásování havarijních stavů, koordinace oprav s ostatními správci inženýrských sítí a dalšími složkami města, aktivace a řízení systému náhradního zásobování vodou, zajištění informovanosti odběratelů a přerušení dodávky vody, komunikace s kontaktním centrem.

**Systém kontroly kvality vody** – integrovaný systém laboratorního sledování kontroly kvality vody doplněný o systém sond s on-line přenosem hodnot měřených ve vodovodní, stokové síti, úpravnách vody a čistírnách odpadních vod, včetně přenosu dat potřebných pro řízení jednotlivých procesů.

Do tohoto systému je také začleněn přenos informací z laboratorního sledování kvality vody a systém mobilního vzorkování.

**Integrovaný systém krizového řízení** – sledování a řešení krizových situací, havarijní a krizové plány, přímé spojení s operačním střediskem krizového štábu Hlavního města Prahy, koordinace činností s dalšími složkami Integrovaného záchranného systému, koordinace odstraňování následků krizových situací, systém protipovodňové ochrany.

**Systém plánování preventivní údržby a oprav** – management preventivní údržby, systém kamerového průzkumu stokové sítě, systém diagnostiky úniků ve vodovodní síti.

**Systém ochrany vodohospodářských zařízení** – mechanické a elektronické zabezpečení objektů včetně kamerových systémů. Reakce na poplachové hlášení, on-line připojení významných objektů na pult centrální ochrany PČR.



Obr. 1: Základní schéma procesů integrovaných v systému SWIM

**Systém sledování výroby a spotřeby vody** – on-line sledování informací z výrobních a předávacích měřidel a distribučních a pásových měřidel, vyhodnocování ztrát v zásobních pásmech, optimalizace tlaků v síti v souvislosti se spotřebou.

**Systém řízení zdrojů** – řízení vozidel náhradního zásobování vodou, technologických vozidel a dalších posádek v terénu prostřednictvím GPS, propojení záznamů o umístění prostředků náhradního zásobování vodou se souřadnicemi GPS.

**Systém informovanosti odběratelů, veřejnosti a klíčových osob** – řízení systémů komunikace s prvky integrovaného záchranného systému, krizovým štábem Hlavního města Prahy a dalšími účastníky krizové komunikace, zasílání informačních zpráv (SMS, e-mail) o provozních událostech klíčovým osobám, zajištění informovanosti odběratelů (informační portál PVK, letáky, městský rozhlas...).



## PŘENOS INFORMACÍ Z LABORATORNÍHO SLEDOVÁNÍ KVALITY VODY

V rámci projektu SWIM došlo k implementaci přenosu údajů vybraných parametrů z pravidelného sledování kvality pitné vody ve stálých místech odběru v distribuční síti:

- Přenos informací o kvalitě pitné vody provozním pracovníkům PVK prostřednictvím zobrazení dat v Geografickém informačním systému.
- Přenos informací o kvalitě pitné vody veřejnosti prostřednictvím webových stránek společnosti.

Pro přenos údajů o kvalitě pitné vody byly vybrány parametry zajímavé z pohledu distribuce vody a parametry, které jsou předmětem častých dotazů z pohledu zákazníků společnosti. Výsledky analýz jsou reportovány k následujícím ukazatelům: dusičnany, železo, chlor, pH, suma vápníku a hořčíku, koliformní bakterie, Escherichia coli, počty kolonií při 22 °C, počty kolonií při 36 °C.

## MOBILNÍ VZORKOVÁNÍ V PVK

Od letošního roku je mobilní vzorkování zavedeno v oddělení vzorkování pitné vody, aktuálně probíhá příprava aplikace pro oddělení vzorkování odpadní vody. Při uvádění do provozu byl přibližně 2 měsíce realizován souběh zavedeného systému „papírových záznamů“ o odběru a záznamů v elektronické formě v mobilní aplikaci. Pro vzorkaře byl vypracován plán zácviku (na 2 měsíce) zaměřený na osvojení práce s tabletem, zvládnutí aplikace GEOM Lab, GEOM Lab Mobile a GEOM Smart – GIS a zpracování dokumentů (včetně SOP na obsluhu tabletu v rozsahu aplikací mobilního vzorkování).

Paralelně s mobilním vzorkováním jsou udržovány formuláře „papírových záznamů o odběru“ (pro pohotovost, vybrané typy odběrů, např. proplachy, jako záloha na místě odběru a pro externí zakázky).

### Využití mobilního vzorkování a výhody pro vzorkaře:

- pořízení Záznamu o odběru vzorku v elektronické formě prostřednictvím mobilní aplikace GEOM Lab Mobile („Laboratorní odběry“),
- 1 formulář (2 obrazovky) pro všechny druhy vzorků,
- maximum údajů o vzorku vyplněno před realizací vlastního odběru již v Labsystému (zobrazují se v tabletu),
- požadované terénní analýzy jsou zvýrazněny (rozsah je variabilní, tj. lze zapsat výsledky všech provedených zkoušek),
- fotodokumentace a příp. nákres na místě odběru (přímo ke vzorku),
- využití aplikace GEOM Smart – GIS na místě odběru (off-line přístup do GIS),
- identifikace odběrového místa pomocí souřadnic GPS,
- převedení Složky vzorkaře do elektronické formy v tabletu (náhrada za složku tištěných dokumentů), čitelné jsou všechny formáty (word, excel, pdf).

### Výhody pro laboratoř:

- odpadá „luštění“ rukopisu vzorkařů a ruční přepis záznamů o odběru do Labsystému (minimalizace chybného zadání, údaje o vzorku se píšou pouze jednou),
- automatický zápis výsledků terénních analýz (bez možnosti chybného zápisu dat),
- zrychlení procesu příjmu vzorků (bez ručního přepisu dat),
- údaje o odběru se zasílají z terénu, tj. příjem vzorků má časový náskok pro kontrolu údajů, přípravu průvodek vzorků a následně dořešení nejasností při předání vzorků,
- vzorky jsou v Labsystému evidovány on-line při přijetí do laboratoře (pracovníci mají aktuální informace o zpracovávaných vzorcích).

### Popis systému:

- vzorek je předregistrován v Labsystému ⇒ příkazem odeslán do aplikace GEOM Lab (na „překladiště dat“) ⇒ pomocí funkce Import přenesen do aplikace GEOM Lab Mobile – Laboratorní odběry v tabletu. Pořízený záznam o odběru vzorku v tabletu je pomocí funkce Export přenesen zpět do aplikace GEOM Lab (na „překladiště dat“) ⇒ příkazem (zápisem vzorku z Předregistrace) jsou data zapsána do Labsystému,
- přenáší se pouze údaje pořízené přímo na místě odběru,
- tablet je nástroj pro obsluhu aplikace, nezůstávají zde žádná data o vzorcích,
- neodebrané vzorky zůstávají v předregistraci (lze přeplánovat),
- 1 operátor z týmu vzorkařů (a dostatečný počet zástupců) provádí předregistraci vzorků a rozesílá vzorky do tabletů tj. „rozděluje práci vzorkařům“,

### **DATOVÉ SPOJENÍ A ZABEZPEČENÍ**

System je provozován prostřednictvím zabezpečené O2 linky 3 G sítě (přes datové centrum Veolia), záložní spojení je realizováno zabezpečenou WIFI s dvojitou certifikací (umístěnou v laboratoři).

Nezbytná je funkční podpora pracovníků IT.

Přístup do tabletu a do aplikace GEOM Lab Mobile je zabezpečen heslem.

Aplikace GEOM Lab („překladiště dat“) je upravena dle požadavků PVK (všechny údaje pořízené v tabletu jsou dohledatelné a ověřitelné). Výsledky terénních analýz jsou na překladišti zobrazovány ve formátu zadaném do tabletu.

Primární data v GEOM Lab jsou na serveru PVK pro GIS (zálohování zajišťuje IT PVK).

### **LABSYSTÉM**

Vzorky odeslané do mobilní aplikace jsou v Předregistraci zvýrazněny žlutě, odebraný vzorek připravený k přijetí z mobilní aplikace je zvýrazněn zeleně.

Z Labsystému lze vytisknout výstupní dokumenty:

- Záznam o odběru vzorku (včetně podpisu zákazníka),
- Protokol o odběru vzorku (v rámci samostatného vzorkování),
- souhrnnou Průvodku vzorků do laboratoře (s údaji pro zpracování vzorku),
- pracovní listy pro laboratoř (s přehledem požadovaných analýz).

### **GEOM SMART – GIS**

Využívá se pro orientaci a dohledávání údajů přímo v terénu, na místě odběru.

### **AKREDITACE ČIA**

Využití nového systému řízení záznamů o odběru v elektronické formě bylo ohlášeno na ČIA ihned po zavedení systému (změny v příručce kvality). Posouzení systému odborným posuzovatelem proběhlo v rámci pravidelné dozorové návštěvy.

### **ZÁVĚR**

Komplexní přehled relevantních informací na jednom místě umožňuje včasně reagovat na mimořádné situace, hlášení zákazníků a operativně řešit nápravná opatření při haváriích. Na základě nových zkušeností se systém neustále rozvíjí a doplňují se nové oblasti použití tak, aby docházelo k neustálému zlepšování systému úpravy a distribuce pitné vody a odvádění a čištění odpadních vod, včetně komunikace při řešení nestandardních událostí.

Mobilní vzorkování, které bylo zavedeno jako jedna ze součástí projektu SWIM se v provozní praxi osvědčilo, žádný z pracovníků neměl problém se zvládnutím „moderní techniky“ a mobilní aplikace. Významným přínosem je zefektivnění pořizování záznamů o odběru vzorku v terénu, zrychlení příjmu vzorků do laboratoře a minimalizace chybného zadání údajů do Labsystému.

### **PODĚKOVÁNÍ**

Děkujeme všem vzorkařům a pracovníkům na příjmu vzorků za jejich úsilí při zavádění a zlepšování systému mobilního vzorkování.

# SLEDOVÁNÍ NITRIFIKACE NA ČOV LIBEREC

Tomáš Bajer

Severočeské vodovody a kanalizace, a.s.

KDE? - ČOV Liberec  
 KDY? - květen-červen 2012  
 KDO? - Útvar podpory výroby (interní zákazník)  
 CO? - požadavek na sledování nitrifikace  
 PROČ? - nastavení řídicího systému řídicího

## POŽADAVKY:

Místa odběru: nátok do usazovacích nádrží (CHSKcr, Ncelk, NL)  
 odtok z nitrifikačních nádrží (N-NO<sub>3</sub>, N-NH<sub>4</sub>)

Konzervace vzorků: ANO (kyselina sírová)

Doba vzorkování: 7 dnů

Interval odběru vzorků: 2 hodiny

Cíle zkoušky: Odebrat vzorky ze systému v daných časových intervalech a zhodnotit účinnost odstraňování dusíkatého znečištění. Posoudit účelnost dávkování externího substrátu na podporu denitrifikačních procesů. Zhodnotit další možnosti intenzifikace biologických procesů na ČOV

Po zahájení analýz se začaly projevovat rušivé vlivy konzervace, a proto muselo být vzorkování přerušeno. Rozhodli jsme, že místo konzervace kyselinou sírovou budeme konzervovat vzorky chlazením. Provedli jsme validaci tohoto postupu. Odebrali jsme vzorky z nitrifikace, přefiltrovali a uložili v chladničce při 4 °C. Ve filtrátu jsme prováděli stanovení v různém čase. Výsledky analýz byly uspokojivé (obr.1), proto jsme zahájili nové vzorkování.

Rozdíl oproti původnímu zadání byl v tom, že jsme po ihned odběru provedli předúpravu a vzorek chladili. Pro laboratoř to znamenalo navýšení počtu o 504 vzorků a 3024 ukazatelů a ve výkonech 160 tis Kč za týden.

## ZÁVĚR

Zákazník byl s celou akcí spokojen a z výsledků měření pro něj vyplynulo toto:

měřit obsah kyslíku v denitrifikačních nádržích

dávkovat síran železitý

sledovat provoz kalové odstředivky

Obr.1 - Koncentrace analytu v závislosti na čase (mg/l)

	0 hod	3 hod	21 hod	27 hod	46 hod	Var.k.opak
N-NH <sub>4</sub>	0,058	0,049	0,036	0,060	0,037	23,5%
N-NH <sub>4</sub>	3,81	3,94	3,75	3,73	3,65	2,9%
N-NO <sub>3</sub>	6,8	6,10	6,00	6,80	6,36	5,9%
N-NO <sub>3</sub>	6,84	6,11	6,40	6,45	6,44	4,0%
Ncelk	8,5	8,4	9,6	8,4	8,9	5,8%
Ncelk	14,2	14,2	15,0	13,8	14,8	3,4%

Mez stanovitelnosti N-NH<sub>4</sub> = 0,25 mg/l, nejistota 15%



# STANOVENÍ CHSKCr, PH A KONDUKTIVITY S VYUŽITÍM ROBOTICKÉHO ANALYZÁTORU

Jan Vilímeč, Michaela Žáková

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

## ÚVOD

Stanovení CHSKCr patří k základním charakteristikám organického zatížení vod. U odpadních vod je CHSKCr významným ukazatelem i z hlediska legislativy, jeho hodnoty jsou limitovány z hlediska placení poplatků za vypouštění odpadních vod (OV) do vod povrchových [1], rovněž jsou stanoveny mezní hodnoty pro vypouštění vyčištěných odpadních vod do vodotečí [2] nebo do stokové sítě [3]. Pro chod technologie čištění OV jsou nutné informace o hodnotách CHSKCr na přítoku, ve významných mezistupních čištění OV a samozřejmě na odtoku z čistírny. V kalovém hospodářství jsou hodnoty CHSKCr v kalech zcela nezastupitelné pro navrhování a vyhodnocování procesu vyhnívání čistírenských kalů.

Stanovení chemické spotřeby kyslíku dichromanem se provádí usanční metodou, tzn. v laboratořích musí být v maximální možné míře zajištěny shodné podmínky jeho provádění (např. složení používaných činidel, objem vzorku, teplota a doba digesce). V České republice se do roku 2000 používal postup dle normy ČSN 83 0840/8 [4] využívající metodu obdobnou mezinárodní normě ISO 6060 [5] s dvojnásobnými objemy vzorku a činidel. Pro snížení ekologických dopadů stanovení CHSKCr podle těchto dvou norem byla vyvinuta a zavedena tzv. semimikrometoda stanovení CHSKCr ve zkumavkách, při níž se používají mnohem menší objemy činidel a vzniká tak výrazně menší množství odpadů obsahujících toxickou rtuť, chrom, stříbro a poměrně koncentrovanou kyselinu sírovou. V ČR byla v roce 1998 přijata odvětvová norma TNV 75 7520 [6], která zavedla stanovení CHSKCr semimikrometodou v různých variantách se spektrofotometrickou nebo titrační koncovkou. Od roku 2008 pak byla převzata mezinárodní norma ISO 15705 Jakost vod – Stanovení chemické spotřeby kyslíku (CHSKCr) – Metoda ve zkumavkách jako ČSN 75 7521 [7] a TNV 75 7520 byla zrušena. Pro dosažení maximální shody z hlediska koncentrací činidel při užívání makrometody dle ISO 6060 a semimikrometody dle ISO 15705 byla v roce 2013 vydána v ČR technická normalizační informace TNI 75 7521 [8] s doplňkovými informacemi k semimikrometodě dle ČSN ISO 15705 a zpřesněním některých postupů z této normy.

Dichroman draselný byl v roce 2013 zařazen mezi látky vzbuzující obavy (SVHC) uvedené v dodatku XIV nařízení REACH. Tyto látky mohou být používány jen v režimu autorizace nebo s uplatněním výjimky pro užití ve vědeckém výzkumu a vývoji (SRD). Požadavek na autorizaci ovšem neznamená **zákaz** této látky, ale možnost jejího užívání za omezujících podmínek.

Strategický poradní orgán CEN pro životní prostředí SABE v prosinci 2014 rozeslal národním normalizačním institucím návrh doporučení k nahrazení CHSKCr jiným ukazatelem (navrhovány BSK, TOC a TOD – total oxygen demand). Přitom ovšem vycházel z mylného výkladu, že uvedení v seznamu SVHC znamená zákaz této látky. Stanovisko české strany ze 12. 1. 2015 předané ÚNMZ bylo jednoznačné: zásadní nesouhlas s návrhem, který vychází z nepochopení rozdílu mezi termíny zákaz a omezení používání. Namísto vývoje nových metod pro „nahrazení“ ukazatele CHSKCr jsme doporučili rozšířit využívání miniaturizovaných testů pro stanovení CHSKCr v uzavřených zkumavkách dostupných ve formě komerčních setů, kde personál vůbec nepřijde s užívanými chemikáliemi do styku, použité zkumavky se vrací výrobci a jejich obsah je recyklován.

Evropská agentura pro chemické látky (ECHA) navíc již koncem roku 2014 vydala stanovisko k zaslánému dotazu, zda lze výjimku z povinnosti autorizace při užití látky ve vědeckém vývoji a výzkumu aplikovat také na směsi před jejich užitím v SRD. Ze stanoviska vyplývá, že pro tento účel rovněž platí tato výjimka dle článku 56(3) REACH, pokud množství užívaných látek je menší než 1 tuna/rok u jednoho subjektu. Proto je používání setů pro semimikrometodu ke stanovení CHSKCr kryto touto výjimkou [9].

Na dalším jednání TC230 CEN pro analýzu vody v dubnu 2015 v Praze již byl patrný určitý posun a snížení horlivosti v odstranění ukazatele CHSKCr, takže hrozba zákazu používání tohoto ukazatele, v mnoha oblastech sledování kvality vod, technologie čištění odpadních vod a zpracování kalů nenahraditelného, v dohledné době nehrozí.

V oddělení laboratorní kontroly odpadních vod (OLK OV) PVK a.s. jsme dosud používali makrometodu stanovení CHSKCr podle normy ISO 6060. V souladu s požadavky na snižování množství vznikajících nebezpečných odpadů a také kvůli budoucímu nárůstu množství vzorků pro stanovení CHSKCr po výstavbě

nové vodní linky ÚČOV v Praze asi o 70 % jsme se rozhodli přejít na stanovení CHSKCr semimikrometodou dle normy ISO 15705, ale v robotizovaném provedení, abychom maximálně zvýšili propustnost vzorků laboratoří a byli schopni poskytovat větší počty výsledků dostatečně brzy po dodání vzorků do laboratoře.

### POUŽITÝ PŘÍSTROJ, MOŽNOSTI JEHO VYUŽITÍ

V laboratořích OLK OV máme dlouhodobé dobré zkušenosti s používáním robotického analyzátoru firmy SKALAR pro stanovení BSK<sub>5</sub> (již od roku 1996). Proto jsme volili pořízení robotického analyzátoru SP2000 od této firmy pro stanovení CHSKCr semimikrometodou a abychom dále využili jeho aplikační možnosti, přibrali jsme ještě opci pro stanovení pH a konduktivity ve zpracovávaných vzorcích. Na obr. 1 je patrné uspořádání analyzátoru.



**Obrázek 1: Robotický analyzátor SP2000 pro stanovení CHSKCr, pH a konduktivity. Zleva: fotometr, rameno pro stanovení CHSKCr s dilutorem a hlavou pro otevírání a zavírání zkumavek nad částí pro mineralizaci a ředění vzorku, vpravo pak rameno s elektrodami pro stanovení pH a konduktivity nad částí pro velké zkumavky pro vzorky.**

Robotický analyzátor SP2000 v daném provedení je vybaven celkem 96 pozicemi na zkumavky se vzorky, 96 pozicemi pro pomocné zkumavky na ředění vzorků, 96 pozicemi na kyvety pro stanovení CHSKCr a mineralizátorem s 48 pozicemi pro kyvety. Poloviční počet mineralizačních míst je dostatečný, protože než se zaplní všech 48 pozic v mineralizátoru, proběhne již u prvních vzorků dvouhodinová doba mineralizace a jejich pozice jsou postupně uvolňovány pro vzorky s pořadovými čísly 49 a vyššími.

#### Popis pracovního postupu analyzátoru:

1. Vložení zkumavek s homogenizovanými vzorky do pravé části přístroje, založení tabulky v SW přístroje s rozlišením setů pro CHSK do 1000 a 150 mg/l, zadání měření pH a konduktivity. Výpočet pozic kyvet pro stanovení CHSKCr.
2. Příslušné kyvety se umístí do analyzátoru. Slepý pokus a kontrolní vzorek. Kalibrace elektrod pro pH a konduktivitu.
3. Spustí se vlastní analýza, začíná se měřením pH a konduktivity – dvojice elektrod pojíždí nad zkumavkami se vzorky, po ponoření se v jedné stanoví pH a ve vedlejší konduktivita.
4. Analyzátor uchopí příslušnou kyvetu pro stanovení CHSKCr, protřepe ji ve vertikálním míchadle a otevře.
5. Vzorek je dilutorem automaticky napipetován do reakční kyvety (po případném zředění).
6. Reakční kyveta se uzavře a přenese do vertikálního míchadla.
7. Reakční kyveta se promíchá a přenese do varného bloku, kde se zahřívá dvě hodiny při 150°C.
8. Analyzátor sleduje dobu reakce každé zkumavky.

9. Když je reakce v příslušné kyvetě ukončena, umístí ji analyzátor do stojanu, kde vychladne na 60°C, a poté ji promíchá, dokud je stále teplá.
10. Po vychladnutí vzorku na teplotu okolí je kyveta vnesena do měrné šachty fotometru Hach při požadované vlnové délce (identifikace QR kódem).
11. Naměřené koncentrace CHSKCr, pH a vodivosti jsou zobrazeny v software, data lze vytisknout, přenést do Excelu nebo laboratorního informačního systému.

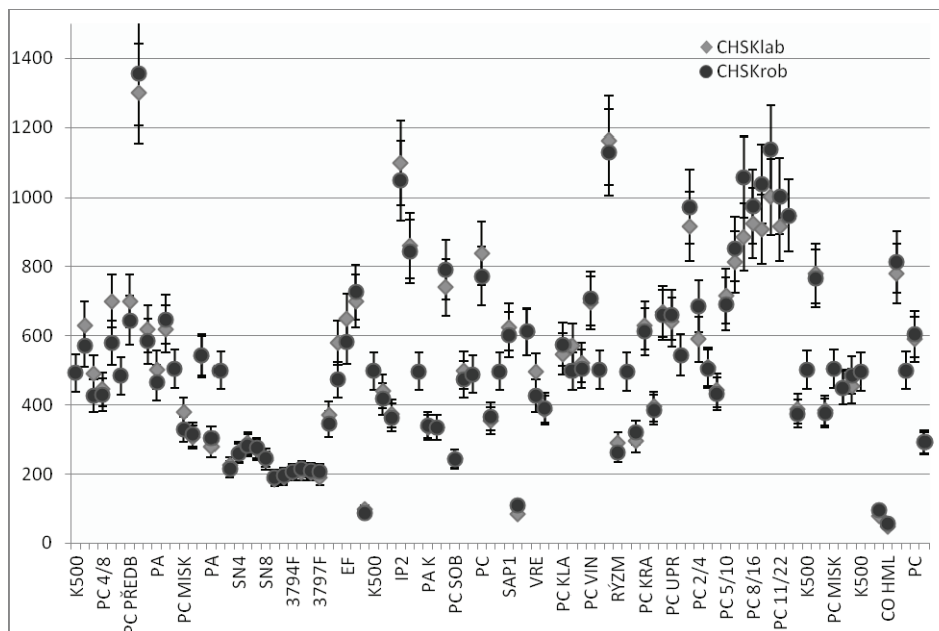
## VÝSLEDKY A DISKUSE

Po zprovoznění přístroje byla pro stanovení CHSKCr, pH a konduktivity provedena validace.

### Stanovení CHSKCr

Používají se dva druhy kyvetových testů pro stanovení CHSKCr firmy Hach LCI400 (rozsah 100 – 1000 mg/l) a LCI500 (7 – 150 mg/l), v nichž koncentrace činidel přesně odpovídají normě ČSN ISO 15705. Vzhledem k vybavení laboratoře spektrofotometrem Hach DR5000 lze navíc při případné poruše robotického analyzátoru proměřit vzorky pro stanovení CHSKCr na tomto spektrofotometru. Byly ověřeny linearity pracovních rozsahů, vypočtena mez stanovitelnosti 7 mg/l. Ověření přesnosti (dříve správnosti) měření bylo provedeno na základě porovnání výsledků s výsledky dle metody ISO 6060. T-test na rozdíly výsledků potvrdil pro rozsáhlé sady výsledků (pro vyšší rozsah bylo proměřeno 100 vzorků, pro nižší cca 200 vzorků) pro oba rozsahy shodu výsledků KT s metodou dle ISO 6060. Na obrázku 2 je ilustrativní srovnání výsledků pro CHSKCr ve vzorcích surové odpadní vody, body pro obě metody jsou doplněny chybovými úsečkami o délce odpovídající rozšířené nejistotě. Všechny měřené body leží v odpovídajících intervalech spolehlivosti, které se navzájem překrývají. Obdobně je na obrázku 3 srovnání výsledků pro CHSKCr ve vzorcích vyčištěných odpadních vod a povrchových vod.

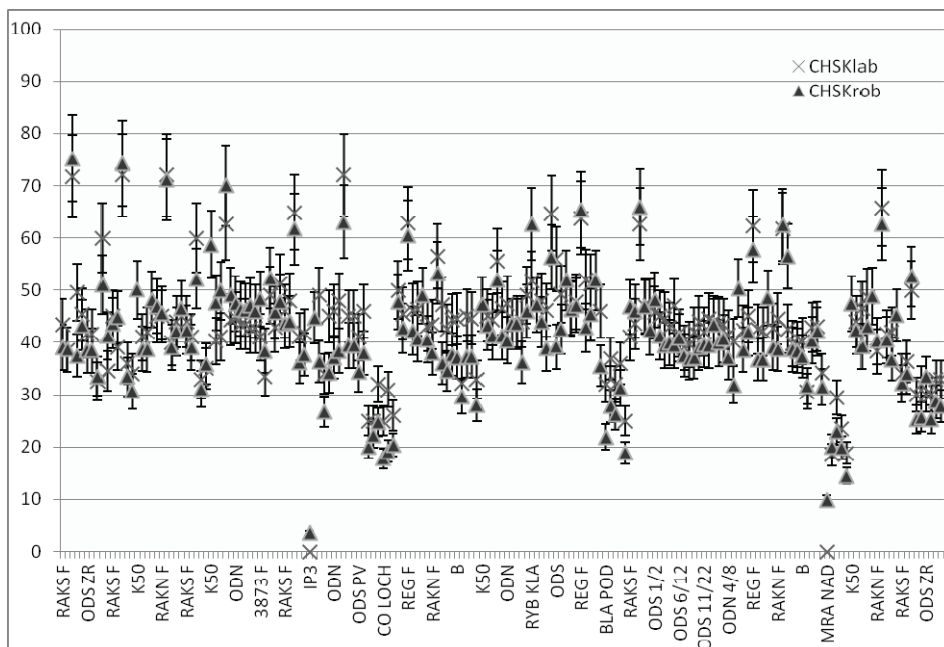
V rámci validace byl dále změřen vzorek z MPZ PT/CHA/4/2015 s výsledkem prakticky shodným s referenční hodnotou, zjištěny hodnoty preciznosti pro oba rozsahy, vypočtena rozšířená nejistota měření ( $\pm 11\%$ ) a podle přílohy C normy ČSN ISO 15705 provedeny testy rozkladu octanu sodného s velmi dobrými výsledky. Závěrem bylo konstatováno, že stanovené validační parametry vyhovují požadavkům na stanovení ukazatele CHSKCr v odpadní vodě, povrchové vodě, tekutých odpadech a kalech.



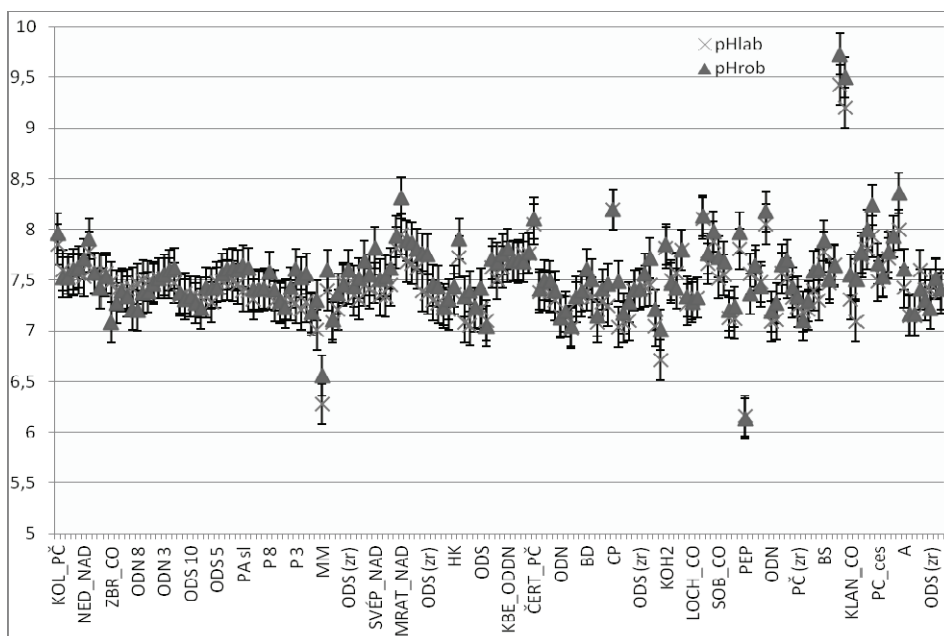
**Obrázek 2: Srovnání výsledků CHSKCr ve vzorcích surových odpadních vod stanovených laboratorní metodou dle ISO 6060 a robotem SP2000 s využitím kyvetového testu LCI400 (rozsah 100 – 1000 mg/l). Chybové úsečky zobrazují rozšířenou nejistotu stanovení  $\pm 11\%$ .**

### Stanovení pH a konduktivity

V době psaní tohoto příspěvku ještě nebyla pro stanovení pH a konduktivity naměřena všechna validační data, neočekáváme však žádné překvapivé odchylky od údajů manuálních metod pro stanovení pH a konduktivity. Obdobně jako u CHSKCr je na obrázku 4 uvedeno srovnání výsledků stanovení pH ve vzorcích odpadních vod stanovených manuální laboratorní metodou a robotem SP2000 (obě metody dle ČSN ISO 10523), na obrázku 5 pak srovnání výsledků stanovení elektrické konduktivity ve vzorcích odpadních vod stanovených manuální laboratorní metodou a robotem SP2000 (obě metody dle ČSN EN 27888). Z obou obrázků je opět patrná velmi dobrá shoda výsledků pH a konduktivity naměřených manuálními metodami a robotickým analyzátořem.

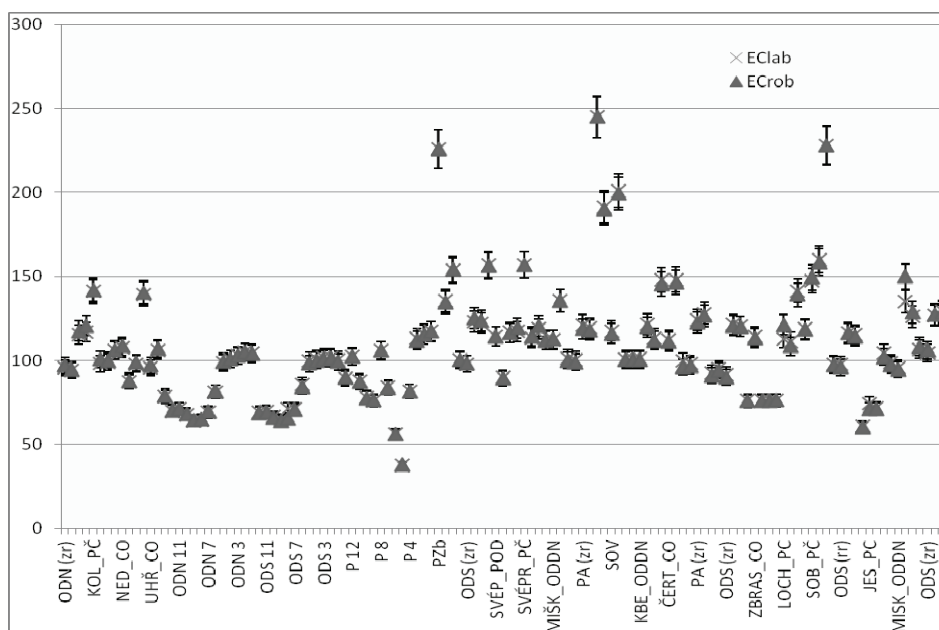


**Obrázek 3: Srovnání výsledků CHSKCr ve vzorcích vycišťených odpadních vod stanovených laboratorní metodou dle ISO 6060 a robotem SP2000 s využitím KT LCI500 (rozsah 7 – 150 mg/l). Chybové úsečky zobrazují rozšířenou nejistotu stanovení  $\pm 11\%$ .**



**Obrázek 4: Srovnání výsledků stanovení pH ve vzorcích odpadních vod stanovených manuální laboratorní metodou a robotem SP2000 (obě metody dle ČSN ISO 10523). Chybové úsečky zobrazují rozšířenou nejistotu stanovení  $\pm 0,2$ .**





**Obrázek 5: Srovnání výsledků stanovení elektrické vodivosti ve vzorcích odpadních vod stanovených manuální laboratorní metodou a robotem SP2000 (obě metody dle ČSN EN 27888). Chybové úsečky zobrazují rozšířenou nejistotu stanovení  $\pm 5\%$ .**

## ZÁVĚR

Použití robotického stanovení pro stanovení CHSKCr semimikrometodou umožňuje zvýšení kapacity laboratoře pro zpracování vyššího množství vzorků bez potřeby zvyšování počtu pracovníků. Při postupném nasazování vzorků do mineralizace odpadů dvouhodinový cyklus mezi nasazením a zpracováním vzorků na stanovení CHSKCr, navíc se pracovník po nasazení série vzorků může vedle dohledu nad přístrojem věnovat i dalším činnostem. Kromě zvýšení produktivity práce se laboratorní pracovníci ještě více vyhnou přímé manipulaci s pracovními roztoky. Otevírání i zavírání kyvet provádí robot a tak se výskyt šestimocného chromu a dalších látek užívaných při stanovení CHSKCr v laboratoři dále sníží.

Je třeba neustále připomínat, že stanovení CHSKCr nadále zůstane zásadním ukazatelem pro hodnocení celkových koncentrací organických látek v odpadních vodách. Především při posuzování chodu technologie čištění nemá a jistě dlouho nebude mít žádnou jinou variantu.

Stanovení pH a vodivosti robotickým analyzátozem je dalším bonusem pro zvýšení produktivity práce. Při větších sériích vzorků je velmi výhodné nemuset manuálně proměřovat jednotlivé vzorky na pHmetru a konduktometru, navíc se výsledky získávají ve formě jednotné tabulky společně s výsledky CHSKCr.

Nasazení robotického analyzátoru je samozřejmě vhodné jen tam, kde je to ekonomicky únosné, tzn. kde je zajištěn pravidelný přísun dostatečného množství vzorků.

## SEZNAM LITERATURY

- [1] Zákon o vodách 254/2001 Sb. v platném znění.
- [2] Nařízení vlády 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 23/2011 Sb.
- [3] Vyhláška Ministerstva zemědělství, kterou se provádí zákon č. 274/2001 Sb., o vodovodech a kanalizacích pro veřejnou potřebu 48/2014 Sb.
- [4] ČSN 83 0540-8 Chemický a fyzikální rozbor odpadních vod. Stanovení oxidovatelnosti dichromanem - ChSK(Cr), platnost ukončena v listopadu 2000.
- [5] ČSN ISO 6060. Jakost vod - Stanovení chemické spotřeby kyslíku – ČSN 75 7222. ČNI Praha, 12/2008.
- [6] TNV 75 7520 Jakost vod - Stanovení chemické spotřeby kyslíku dichromanem CHSK, Hydroprojekt Praha, 7/1998.

- [7] ČSN ISO 15705 Jakost vod - Stanovení chemické spotřeby kyslíku CHSKCr – Metoda ve zkumavkách – ČSN 75 7521. ČNI Praha, 9/2008.
- [8] TNI 75 7521 Jakost vod - Stanovení chemické spotřeby kyslíku CHSKCr – Metoda ve zkumavkách. ÚNMZ Praha, 2/2013.
- [9] Decker G., Hönicke P., Hall, D.: COD Analysis and REACH Authorisation. IET March/April 2015, 56 – 57.

# POSOUZENÍ OXIDOVATELNOSTI ORGANICKÝCH LÁTEK V ZÁVISLOSTI NA OXIDAČNÍCH PODMÍNKÁCH METODY CHSK<sub>Cr</sub>

Ivan Karpíšek, Vladimír Sýkora, Iva Prokešová, Lukáš Fuka, Hana Kujalová

*VŠCHT Praha, Fakulta technologie ochrany prostředí,  
Ústav technologie vody a prostředí, Technická 5, 166 28, Praha 6 – Dejvice*

## 1. ÚVOD

Chemická spotřeba kyslíku je jedno ze základních stanovení, které se používá ve vodohospodářství. Kvantitativně vyjadřuje míru celkového organického znečištění v kyslíkových ekvivalentech. Toto vyjádření je významné při posuzování samočištění povrchových vod a při biologickém čištění odpadních vod. Z tohoto důvodu nemůže být zcela nahrazeno stanovením celkového organického uhlíku.

V této práci je postupováno podle normy ČSN ISO 15705. V rámci normy je předepsaný postup pro stanovení CHSK<sub>Cr</sub> s dichromanem draselným o koncentraci 0,1 mol·l<sup>-1</sup> a zároveň stanovení pro nižší rozsah koncentrací s dichromanem draselným o koncentraci 0,015 mol·l<sup>-1</sup>.

Cílem práce je porovnat stanovení CHSK<sub>Cr</sub> s výše uvedenými koncentracemi a posoudit, zda nemá nižší koncentrace dichromanu draselného významný vliv na oxidovatelnost některých hůře oxidovatelných organických látek, a tudíž i na výslednou hodnotu CHSK<sub>Cr</sub>.

## 2. TEORETICKÁ ČÁST

### a) Stanovení CHSK<sub>Cr</sub>

Chemická spotřeba kyslíku je metoda skupinového stanovení organických látek. Míra organických látek odpovídá spotřebě oxidačního činidla za uzančných podmínek a je vyjádřena v kyslíkových ekvivalentech.<sup>1</sup>

Jako oxidační činidlo se používá dichroman nebo manganistan draselný. Stanovením s manganistanem draselným lze stanovit hodnoty i pod 1 mg·l<sup>-1</sup>, čehož se využívá u čistých podzemních, pitných a užitkových vod. Manganistanem draselným však u většiny organických látek nedochází k úplné oxidaci. Stanovení CHSK s dichromanem draselným (CHSK<sub>Cr</sub>) oproti původní metodě dostatečně oxiduje většinu organických látek a redukcí anorganických látek.<sup>1</sup>

Principem stanovení CHSK<sub>Cr</sub> je katalytická oxidace organických látek oxidačním činidlem dichromanem draselným v prostředí kyseliny sírové při teplotě okolo 150 °C po dobu 2 hodin. Reakci katalyzují stříbrné ionty. Analytické stanovení se provádí buď titrací nezreagovaného dichromanu draselného síranem diamonno-železnatým na indikátor ferroin nebo spektrofotometricky při vlnové délce 600 nm, kdy se měří přírůstek chromitých iontů. Pro stanovení nízkých hodnot CHSK<sub>Cr</sub>, kdy se používá méně koncentrovaný dichroman draselný, se u spektrofotometrické koncovky měří nezreagovaný dichroman draselný při vlnové délce 440 nm.<sup>1,2</sup>

Stanovení CHSK<sub>Cr</sub> je rušeno chloridy, amonnými ionty, manganatými ionty, mnohými aromatickými uhlovodíky a pyridiny, které nejsou významněji oxidovány, a těkavými organickými látkami unikajícími odparem. V případě zakaleného vzorku je nutné ke stanovení využít titrační koncovku. Chloridy mohou způsobovat odchylku následujícími mechanismy. Chloridy se oxidují na chlor a způsobují tak pozitivní chybu stanovení. Uvolněný chlor může dále reagovat (oxidací, chlorací) s organickými látkami, anebo se zúčastnit tzv. chloraminového cyklu.<sup>1,2</sup>

Pro odstranění rušivého vlivu chloridů se k reakci přidává maskovací činidlo síran rtuťnatý. Rtuťnaté ionty vytváří s chloridy slabě disociovaný chlorortuťnatý komplex, který potlačuje jejich oxidaci. Rtuťnaté ionty dostatečnou měrou nemaskují bromidy ani jodidy, které pak mohou zejména u průmyslových vzorků ovlivňovat výslednou hodnotu CHSK<sub>Cr</sub>. Při podmínkách stanovení CHSK<sub>Cr</sub> ale disociace není potlačena zcela a při překročení teploty nad 155 °C rychle narůstá. Z toho důvodu není vhodné nadměrné prodlužování doby varu, protože postupnou oxidací disociovaných iontů se rovnováha posunuje ve směru další disociace chlorortuťnatých a s tím vzrůstá i hodnota CHSK<sub>Cr</sub>. S prodlužováním doby varu se současně zvyšuje i autoredukce dichromanu draselného, proto nelze dobu varu prodlužovat, přestože očekáváme, že matrice žádné chloridy neobsahuje.<sup>1,2</sup>

Většina organických látek se při standardním stanovení oxiduje více jak z 90 %. Pro některé látky je ale oxidace relativně pomalá a za daných podmínek se oxidují jen částečně. Jedná se o nižší alifatické aminy, deriváty pyridinu, dusíkaté kvarterní sloučeniny s krátkými alkyly, N-methylderiváty a N,N'-polyethylenderiváty ethylendiaminu.<sup>1</sup>

Pro stanovení CHSK<sub>Cr</sub> existuje několik možných postupů, které jsou předepsány v odpovídajících normách. V této práci byla využita metoda stanovení CHSK<sub>Cr</sub> ve zkumavkách se spektrofotometrickou koncovkou ČSN ISO 15705.<sup>2</sup>

**b) Stanovení TOC**

Stanovení celkového organického uhlíku (TOC) je skupinové stanovení organických látek. Koncentrace TOC se diferenční metodou získá tak, že se celkový anorganický uhlík (TIC) odečte od celkového uhlíku (TC). Koncentrace TC se stanovuje termickou oxidací vzorku v přítomnosti katalyzátoru při teplotách 680 °C až 1000 °C. Tímto způsobem se oxidují veškeré organické a uhlíkaté anorganické látky na oxid uhličitý. Koncentrace TIC se stanovuje mineralizací anorganických látek v kyselém prostředí až na oxid uhličitý, který je nosným plynem veden do detektoru. K detekci oxidu uhličitého se obvykle používá IČ spektrofotometrie.<sup>1,4</sup>

**3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST****a) Testované látky**

V tabulce 1 jsou vypsány testované látky spolu s hodnotami jejich teoretické spotřeby kyslíku a specifického celkového organického uhlíku.

**Tab. 1: Přehled vybraných testovaných látek**

Název látky	Sumární vzorec	TSK <sub>sp</sub> [g·g <sup>-1</sup> ]	TOC <sub>sp</sub> [g·g <sup>-1</sup> ]
Hydrogenftalan draselný	C <sub>8</sub> H <sub>5</sub> O <sub>4</sub> K	1,175	0,470
Glukóza	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub>	1,066	0,400
Pyridin-2,3-dikarboxylová kyselina	C <sub>7</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>4</sub>	1,053	0,503
3-chlornitrobenzen	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NO <sub>2</sub> Cl	1,422	0,460
4-chlornitrobenzen	C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> NO <sub>2</sub> Cl	1,422	0,460
1-methylpyridinium chlorid	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> NCl	1,728	0,556
1-propylpyridinium chlorid	C <sub>8</sub> H <sub>12</sub> NCl	2,030	0,609
1-hexylpyridinium chlorid	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub> NCl	2,323	0,662
Anilin	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> N	2,405	0,774
Hexamethylentetraamin	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> N <sub>4</sub>	1,370	0,514
Kyselina nikotinová	C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> NO <sub>2</sub>	1,430	0,585
Hexyltrimethylammonium bromid	C <sub>9</sub> H <sub>22</sub> NBr	1,927	0,482
Tributylmethylammonium bromid	C <sub>13</sub> H <sub>30</sub> NBr	2,226	0,557
Kyselina močová	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>	0,571	0,357
Sukralóza	C <sub>12</sub> H <sub>19</sub> Cl <sub>3</sub> O <sub>8</sub>	0,966	0,362
Octan sodný trihydrát	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> Na·3H <sub>2</sub> O	0,470	0,177
Sodná sůl dioktyl esteru kyseliny sulfo-1,4-butandiové	C <sub>20</sub> H <sub>37</sub> NaO <sub>7</sub> S	1,979	0,540
Difenhydramin hydrochlorid	C <sub>17</sub> H <sub>22</sub> ClNO	2,303	0,699

Z těchto látek byly připraveny roztoky o hodnotě TSK 600 mg·l<sup>-1</sup> a 100 mg·l<sup>-1</sup>.

Pro 3-chlornitrobenzen a 4-chlornitrobenzen byl vzhledem k jejich nízké rozpustnosti ve vodě připraven pouze roztok o koncentraci 140 mg·l<sup>-1</sup>.

Dále byl sledován okružní vzorek CSLAB se složitou maticí.

**b) Příprava činidel****Roztok dichromanu draselného c(K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) = 0,1 mol·l<sup>-1</sup>**

V 600 ml vody bylo rozpuštěno 29,418 g dichromanu draselného, který byl předem vysušen při 105 °C po dobu 2 h ± 10 min. Bylo vmícháno 160 ml koncentrované kyseliny sírové. Roztok se nechal vychladnout v 1000 ml odměrné baňce a byl doplněn demineralizovanou vodou po rysku. Roztok se nechal den odstát a pokles hladiny byl znovu doplněn po rysku.<sup>3</sup>

**Roztok dichromanu draselného c(K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) = 0,015 mol·l<sup>-1</sup>**

V 600 ml vody bylo rozpuštěno 4,413 g dichromanu draselného, který byl předem vysušen při 105 °C po dobu 2 h ± 10 min. Bylo vmícháno 160 ml koncentrované kyseliny sírové. Roztok se nechal vychladnout v 1000 ml odměrné baňce a byl doplněn demineralizovanou vodou po rysku. Roztok se nechal den odstát a pokles hladiny byl znovu doplněn po rysku.<sup>3</sup>

**Roztok síran rtuťnatého  $c(\text{HgSO}_4) = 0,674 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$** 

Ve 150 ml zředěné kyseliny sírové o koncentraci  $1,8 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  bylo rozpuštěno 40 g síranu rtuťnatého. Roztok byl doplněn v 200 ml odměrné baňce po rysku zředěnou kyselinou sírovou.<sup>3</sup>

**Roztok síranu stříbrného  $c(\text{Ag}_2\text{SO}_4) = 0,0385 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$** 

Ve 2 litrech koncentrované kyseliny sírové bylo rozpuštěno 24 g síranu stříbrného. Směs byla protřepána a nechala se usadit. Roztok byl uchovávan v tmavé lahvi a příležitostně promícháván.<sup>3</sup>

**Roztok hydrogenftalanu draselného  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}(\text{HFK}) = 2000 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$** 

Ve 200 ml demineralizované vody bylo rozpuštěno 0,851 g hydrogenftalanu draselného. Roztok byl v 500 ml odměrné baňce doplněn po rysku.<sup>3</sup>

**c) Přístroje a pomůcky**

**Ohřívací blok:** Udržoval teplotu roztoku ve zkumavkách  $152 \text{ }^\circ\text{C} \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$

**Vysokoteplotní termostat:** HACH HT 200S

**Spektrofotometr:** Merck NOVA 60

**Analyzátor organického uhlíku:** Shimadzu TOC VCPH

**Zkumavky pro mineralizaci:** Od firmy Merck spol. s.r.o.

Nízký rozsah: Pro hodnoty  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  10 až  $150 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$

Vyšší rozsah: Pro hodnoty  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  25 až  $1500 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$

**d) Postup práce**

Nejdříve byla provedena kalibrace  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  pro dichroman draselný s koncentrací  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Byla připravena řada kalibračních roztoků o hodnotách TSK v  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ : 100, 200, 300, 400, 500, 600 a 800. Každý kalibrační roztok byl měřen ve dvou zkumavkách.

Dále byla provedena kalibrace  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  pro dichroman draselný s koncentrací  $0,015 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Byla připravena řada kalibračních roztoků o hodnotách TSK v  $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ : 20, 40, 60, 80 a 100. Každý kalibrační roztok byl měřen ve dvou zkumavkách.

U organických látek vypsanych v tabulce 1 byla stanovena  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ :  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) pro vzorky o TSK  $600 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  a  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ :  $0,015 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ ) pro vzorky o TSK  $100 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Každý vzorek byl měřen ve čtyřech fotometrických zkumavkách.

Podrobněji byl sledován octan sodný, u něhož byla provedena kalibrace pro nízký i vysoký rozsah  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  a byly porovnány směrnice přímek.

U okružního vzorku CSLAB byla stanovena hodnota  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  pomocí oxidačního činidla s koncentrací  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  pro 10krát ředěný vzorek a pomocí oxidačního činidla s koncentrací  $0,015 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  pro 20krát ředěný vzorek. Chování tohoto vzorku bylo dále sledováno při různých teplotních režimech a porovnáno se stejně provedeným měřením se standardním roztokem hydrogenftalanu draselného, který byl naředěn na hodnotu blízkou koncentraci okružního vzorku.

Všechny vzorky byly pro kontrolu měřeny na analyzátoru organického uhlíku.

**e) Postup stanovení**

1. Do prázdné zkumavky bylo pipetováno 2,00 ml vzorku naředěného na vhodnou koncentraci
2. Bylo přidáno 0,20 ml maskovacího roztoku síranu rtuťnatého a roztok byl mírně promíchán
3. Bylo přidáno 0,50 ml oxidačního roztoku dichromanu draselného a roztok byl mírně promíchán
4. Bylo přidáno 2,50 ml katalyzátorového roztoku síranu stříbrného
5. Zkumavka byla uzavřena šroubovým uzávěrem a promíchána několikerým obrácením
6. Zkumavka byla na 2 hodiny vložena do předem vyhřátého ohřívacího bloku na  $150 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ .
7. Po 2 hodinách byla zkumavka vyjmuta a ochlazená v proudu vzduchu
8. Byla měřena absorbance roztoku ve fotometrické zkumavce a vyhodnocena hodnota  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  na základě předem připravené kalibrace.<sup>3</sup>

Stanovení  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  pro nízký i vyšší rozsah bylo prováděno dle stejného postupu s tím rozdílem, že u stanovení pro nízký rozsah hodnot  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  byl použit oxidační roztok dichromanu draselného o koncentraci  $0,015 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  a ke stanovení pro vyšší rozsah hodnot  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  byl použit oxidační roztok dichromanu draselného o koncentraci  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ .

Při pečlivém dodržení postupu přípravy jednotlivých roztoků a dávkování vzorku a jednotlivých činidel do zkumavky lze teoreticky vypočítat, jaké se po dosažení rovnováhy ve zkumavce ustanoví podmínky. Konečné

podmínky jsou vztaženy na teplotu 20 °C. Teoretické orientační podmínky ve zkumavce jsou shrnuty v tabulce 2.

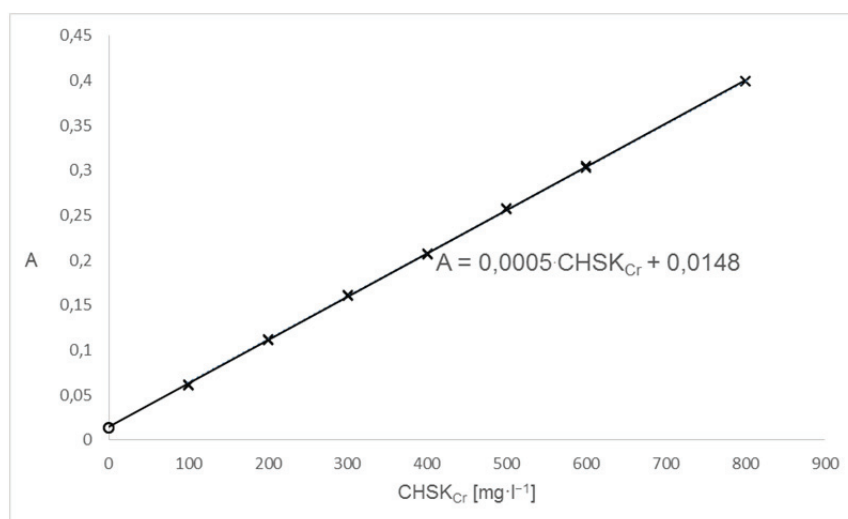
**Tab. 2: Složení reakční směsi (při 20 °C)**

Složka	c [mmol·l <sup>-1</sup> ]
Dichroman draselný (0,1 mol·l <sup>-1</sup> )	10,3
Dichroman draselný (0,015 mol·l <sup>-1</sup> )	1,54
Síran rtuťnatý (dle TNI 757521)	27,7
Síran stříbrný	19,8
Kyselina sírová	9600
V (roztoku)	4,9 ml

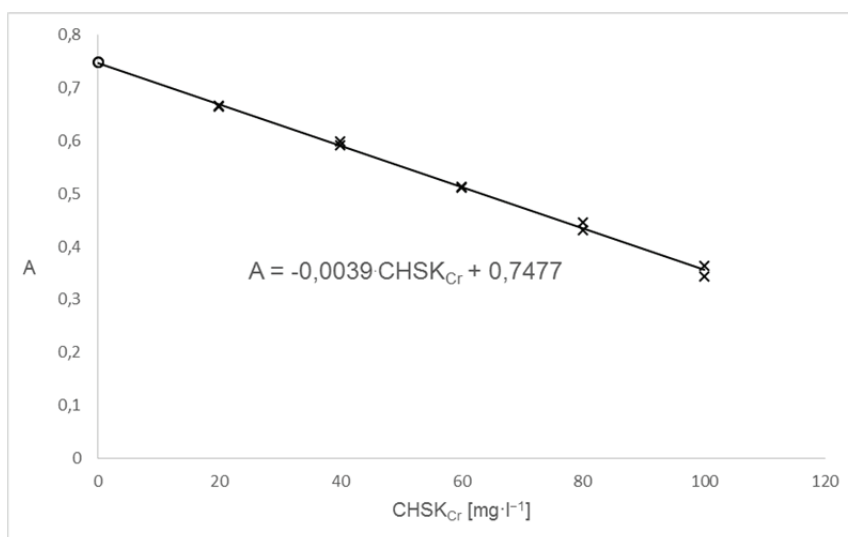
Stanovení TOC bylo prováděno podle normy ČSN EN 1484. Z každé látky byly připraveny 3 vzorky o různých koncentracích v rozsahu kalibrační závislosti. Každý vzorek byl měřen nezávisle 3krát. Termická oxidace při stanovení TC probíhala při teplotě 780 °C. K detekci oxidu uhličitého byla použita IČ spektrofotometrie.<sup>4</sup>

#### 4. VÝSLEDKY A DISKUSE

Na základě vyhodnocených kalibračních závislostí byly vypočteny hodnoty  $CHSK_{Cr}$  u jednotlivých vzorků. Kalibrační závislosti jsou zobrazeny na obrázcích 1 a 2. Směrnice lineární regrese a hodnota regresního slepého pokusu je shrnuta v tabulce 3.



**Obr. 1: Kalibrační závislost  $CHSK_{Cr}$  s koncentrací dichromanu draselného 0,1 mol·l<sup>-1</sup> při vlnové délce 605 nm**



Obr. 2: Kalibrační závislost  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  s koncentrací dichromanu draselného  $0,015 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  při vlnové délce 445 nm

Tab. 3: Směrnice regresní přímky kalibrace  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  a hodnoty regresního slepého pokusu

	$c(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7) [\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}]$	
	0,1	0,015
a	$4,82\cdot 10^{-4}$	$-3,91\cdot 10^{-3}$
K0	$1,48\cdot 10^{-2}$	$7,48\cdot 10^{-1}$

Spolu se stanovením  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  jednotlivých vzorků byla vždy ve stejný den provedena kontrola připravených zásobních roztoků stanovením TOC na analyzátoru organického uhlíku. Vzorek byl k měření nařazen do rozsahu kalibrace  $10\text{-}30\text{-}50 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$  TOC. Kontrola testovaných látek je shrnuta v tabulce 4.

Tab. 4: Kontrola testovaných roztoků pomocí parametru TOC

Název látky	Stupeň oxidace [%]
Hydrogenftalan draselný	99,7
Glukóza	97,0
Pyridin-2,3-dikarboxylová kyselina	99,4
1-methylpyridinium chlorid	100
1-propylpyridinium chlorid	99,2
1-hexylpyridinium chlorid	100
Anilin	99,7
Hexamethylenetraamin	99,5
Kyselina nikotinová	99,1
Hexyltrimethylammonium bromid	97,2
Tributylmethylammonium bromid	97,8
Kyselina močová	99,7
Sukralóza	99,0
Octan sodný trihydrát	100
Sodná sůl dioktyl esteru kyseliny sulfo-1,4-butandiové	94,1
Difenhydramin hydrochlorid	98,3

Ze stanovených hodnot  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  a teoretických hodnot byly spočteny stupně oxidace testovaných látek. Výsledky  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  pro roztok dichromanu draselného o koncentraci  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  a  $0,015 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  jsou shrnuty v tabulkách 5 a 6.

**Tab. 5:** Výsledky stanovení  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  s koncentrací dichromanu draselného  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ 

Název látky	$\text{CHSK}_{\text{Cr}}(\text{teor})$ [ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ]	$\text{CHSK}_{\text{Cr}}(\text{exp})$ [ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ]	Stupeň oxidace [%]
Hydrogenftalan draselný	600	600	100
Glukóza	600	595	99
Pyridin-2,3-dikarboxylová kyselina	600	570	95
1-methylpyridinium chlorid	600	< 25	< 4
1-propylpyridinium chlorid	602	257	43
1-hexylpyridinium chlorid	606	376	62
Anilin	599	593	99
Hexamethylentetraamin	600	593	99
Kyselina nikotinová	600	95	16
Hexyltrimethylammonium bromid	600	439	73
Tributylmethylammonium bromid	600	553	92
Kyselina močová	600	301	50
Sukralóza	600	576	96
Octan sodný trihydrát	600	581	97
Sodná sůl dioktyl esteru kyseliny sulfo-1,4-butandiové	594	574	97
Difenhydramin hydrochlorid	576	512	89

**Tab. 6:** Výsledky stanovení  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  s koncentrací dichromanu draselného  $0,015 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ 

Název látky	$\text{CHSK}_{\text{Cr}}(\text{teor})$ [ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ]	$\text{CHSK}_{\text{Cr}}(\text{exp})$ [ $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ ]	Stupeň oxidace [%]
Hydrogenftalan draselný	100	99,5	100
Glukóza	100	94,8	95
Pyridin-2,3-dikarboxylová kys.	100	61,3	61
1-methylpyridinium chlorid	100	< 10	< 10
1-propylpyridinium chlorid	100	44,0	44
1-hexylpyridinium chlorid	100	66,6	67
Anilin	100	100	100
Hexamethylentetraamin	100	99,9	100
Kyselina nikotinová	100	13,2	13
Hexyltrimethylammonium bromid	100	56,6	57
Tributylmethylammonium bromid	100	84,0	84
Kyselina močová	100	50,5	51
Sukralóza	100	91,1	91
Octan sodný trihydrát	100	90,8	91
Sodná sůl dioktyl esteru kyseliny sulfo-1,4-butandiové	99	93,1	94
Difenhydramin hydrochlorid	115	88,0	77

U vzorků 3-chlornitrobenzenu a 4-chlornitrobenzenu, které byly hůře rozpustné, byl připraven 1 zásobní roztok o teoretické TSK  $140 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ . Tento roztok byl použit pro měření  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  u obou koncentrací dichromanu draselného. U roztoku dichromanu draselného o koncentraci  $0,015 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$  bylo stanovení již mimo kalibraci, ale stále v rozsahu kapacity oxidačního činidla. Pro stanovení v nižším rozsahu roztok nebyl dále ředěn, jelikož byla snaha o minimalizaci operací se vzorkem vzhledem k jeho vysoké tenzi nasycených par nad kapalinou. Výsledky  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  a kontrolního stanovení TOC jsou shrnuty v tabulce 7.



**Tab. 7: Výsledky stanovení CHSK<sub>Cr</sub> a TOC u izomerů chlornitrobenzenu**

Název látky	c(K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ) [mol·l <sup>-1</sup> ]	TOC			CHSK <sub>Cr</sub>		
		teor [mg·l <sup>-1</sup> ]	exp [mg·l <sup>-1</sup> ]	St. ox. [%]	teor [mg·l <sup>-1</sup> ]	exp [mg·l <sup>-1</sup> ]	St. ox. [%]
3-chlornitrobenzen	0,1	45	41,4	92	140	128	91
4-chlornitrobenzen					140	126	90
3-chlornitrobenzen	0,015	45	41,5	92	140	136	97
4-chlornitrobenzen					140	127	91

Nižší stupeň oxidace vyhodnocený z TOC byl způsoben pravděpodobně těkavostí těchto látek. Vztáhneme-li naměřené hodnoty CHSK<sub>Cr</sub> k hodnotě CHSK vypočtené z experimentálně získaného TOC byl by stupeň oxidace pro izomery následující.

U stanovení CHSK<sub>Cr</sub> s koncentrací dichromanu draselného 0,1 mol·l<sup>-1</sup> by byl stupeň oxidace pro 3-chlornitrobenzen 99 % a pro 4-chlornitrobenzen 98 %. U stanovení CHSK<sub>Cr</sub> s koncentrací dichromanu draselného 0,015 mol·l<sup>-1</sup> by byl stupeň oxidace pro 3-chlornitrobenzen 105 % a pro 4-chlornitrobenzen 98,3 %.

Dále byl měřen okružní vzorek ze střediska pro posuzování způsobilosti laboratoří (CSLAB). Vzorek měl simulovat složitou matici, která se více blíží reálnému vzorku. Vzorek byl ředěn podle doporučení střediska 10krát pro stanovení CHSK<sub>Cr</sub> dichromanem draselným o koncentraci 0,1 mol·l<sup>-1</sup>. Zředěný vzorek byl dále ředěn 2krát a u takto zředěného vzorku byla změřena CHSK<sub>Cr</sub> dichromanem draselným o koncentraci 0,015 mol·l<sup>-1</sup>. Po vyhodnocení dat byl pokus opakován se standardním roztokem hydrogenftalanu draselného, který byl naředen na hodnotu TSK blízké hodnotě CHSK<sub>Cr</sub> stanovené pomocí dichromanu draselného o koncentraci 0,1 mol·l<sup>-1</sup>. Takto připravený roztok byl poté také ředěn 2krát. Stanovení se standardním roztokem bylo prováděno za stejných podmínek a stejným způsobem jako stanovení vzorku CSLAB. Výsledky stanovení přepočtené na hodnotu CHSK<sub>Cr</sub> původního neředěného vzorku spolu s relativní odchylkou stanovení CHSK<sub>Cr</sub> s dichromanem draselným o koncentraci 0,015 mol·l<sup>-1</sup> a stanovení CHSK<sub>Cr</sub> s dichromanem draselným o koncentraci 0,1 mol·l<sup>-1</sup> jsou shrnuty v tabulce 8.

**Tab. 8: Porovnání výsledků stanovení CHSK<sub>Cr</sub> vzorku CSLAB a standardního roztoku hydrogenftalanu draselného**

vzorek	CHSK <sub>Cr</sub> [mg·l <sup>-1</sup> ]		rel. chyba [%]
<b>CSLAB</b>	1650	1140	31
<b>HFK</b>	1590	1590	0
<b>c (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>)</b>	0,1	0,015	[mol·l <sup>-1</sup> ]

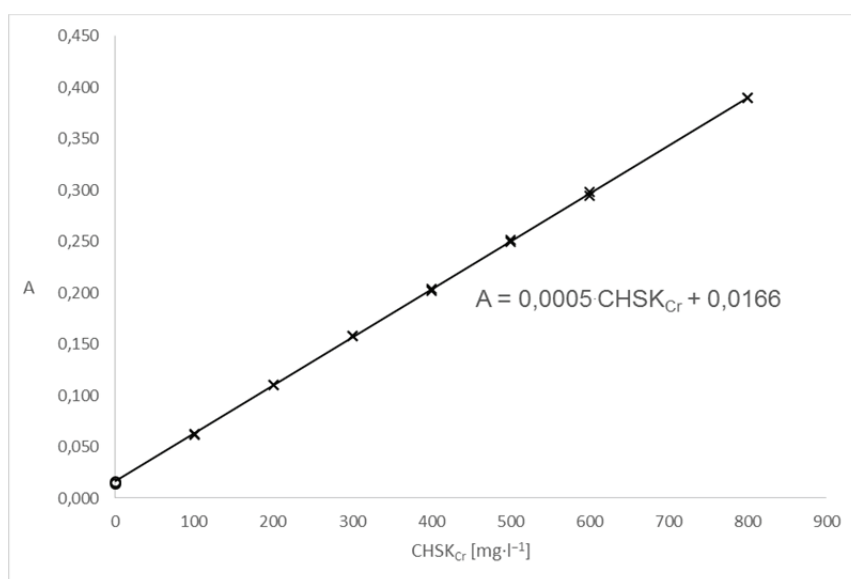
Pro okružní vzorek CSLAB bylo zároveň provedeno porovnání stanovení při různých teplotních režimech. Byly využity 2 ohřívací bloky a vysokoteplotní termostat HT 200S. Termostaty se lišily teplotním režimem. Teplotní režim byl měřen odečítáním teplot na teploměru v pravidelných intervalech během ohřívací periody. Teploty v 1. ohřívacím bloku se pohybovaly od 150 °C do 156 °C a maximální teplota překračovala normou povolenou odchylku od teploty 150 °C ± 5 °C. Teploty ve 2. ohřívacím bloku se pohybovaly od 149 °C do 154 °C. vysokoteplotní termostat HT 200S byl nastaven, aby udržoval stálou teplotu 148 °C ± 1 °C. V každém termostatu byla měřena CHSK<sub>Cr</sub> ve 4 zkumavkách se vzorkem CSLAB 10krát ředěným za působení oxidačního činidla dichromanu draselného o koncentraci 0,1 mol·l<sup>-1</sup> a ve 4 zkumavkách se vzorkem CSLAB 20krát ředěným za působení oxidačního činidla dichromanu draselného o koncentraci 0,015 mol·l<sup>-1</sup>. Měření ve všech blocích bylo prováděno paralelně. Poté byl stejným způsobem měřen paralelně ve všech blocích standardní roztok hydrogenftalanu draselného. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 9.

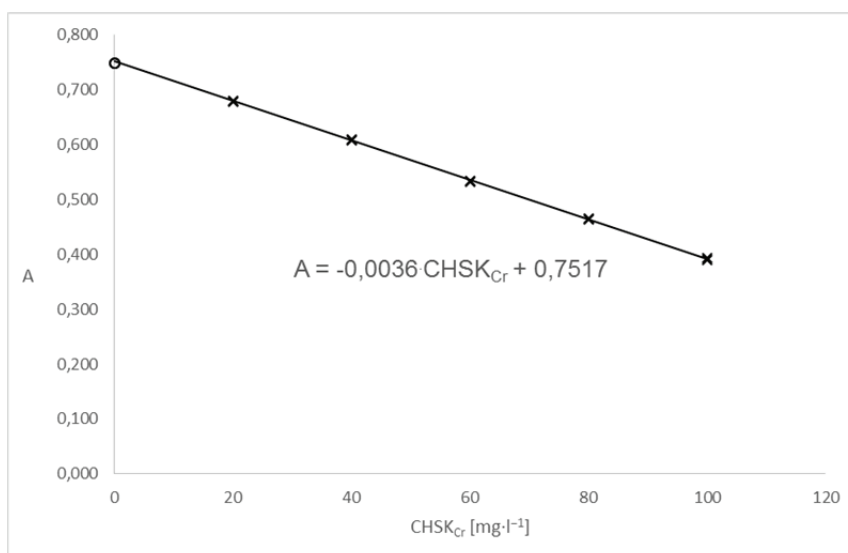
**Tab. 9: Porovnání stanovených hodnot  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  vzorku se složitou maticí CSLAB a standardu při různých teplotních režimech**

rozsah teplot [°C]	CSLAB $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$ [mg·l <sup>-1</sup> ]		HFK $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$ [mg·l <sup>-1</sup> ]	
	150 - 156	176	61	161
149 - 155	166	57	160	81
147 - 149	163	57	158	79
$c(\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7)$ [mol·l <sup>-1</sup> ]	0,1	0,015	0,1	0,015
Zředovací faktor	10	20	1	2

Z výsledků lze odhadovat, že na kinetiku oxidace má přednostně vliv maximální dosažená teplota a překročení 155 °C pak může mít zásadní vliv na výslednou hodnotu  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  u hůře oxidovatelných látek a složitějších matic oproti hodnotě, kterou bychom získali při dodržení uznaných podmínek. Výsledky nenasvědčují, že by se zde jednalo o rušivý vliv chloridů, jelikož relativní odchylka hodnot  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  u vzorku se složitou maticí je ve všech případech 33 %.

Pro octan sodný byla vyhotovena závislost absorbance roztoku na hodnotě  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  octanu sodného, stejným způsobem jako kalibrace na standardní roztok hydrogenftalanu draselného pro oxidační roztoky s koncentrací 0,1 mol·l<sup>-1</sup> i 0,015 mol·l<sup>-1</sup>. Byla odečtena směrnice získané lineární regrese a porovnána se směrnici lineární regrese kalibrace na standard hydrogenftalanu draselného. Závislosti absorbance roztoku na hodnotě  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  octanu sodného jsou znázorněny na obrázcích 3 a 4 a směrnice přímkou jsou porovnány v tabulce 10.

**Obr. 3: Závislost absorbance roztoku na hodnotě  $\text{CHSK}_{\text{Cr}}$  s oxidačním činidlem o koncentraci 0,1 mol·l<sup>-1</sup> pro octan sodný při vlnové délce 605 nm**



**Obr. 3:** Závislost absorbance roztoku na hodnotě CHSK<sub>Cr</sub> s oxidačním činidlem o koncentraci 0,015 mol·l<sup>-1</sup> pro octan sodný při vlnové délce 445 nm

**Tab. 10:** Porovnání směrnic závislosti absorbance roztoku na hodnotě CHSK<sub>Cr</sub> octanu sodného a hydrogenftalanu draselného

c(K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ) [mol·l <sup>-1</sup> ]	Látka	Směrnice
0,1	HFK	4,82·10 <sup>-4</sup>
	Octan sodný	4,67·10 <sup>-4</sup>
0,015	HFK	-3,91·10 <sup>-3</sup>
	Octan sodný	-3,60·10 <sup>-3</sup>

U octanu sodného byl vypočten stupeň oxidace: za prvé prostým zprůměrováním všech získaných hodnot CHSK<sub>Cr</sub> vyhodnocených na základě kalibrační závislosti proti hodnotě TSK odpovídajících roztoků. A za druhé z podílu směrnic lineárních regresí pro závislost absorbance na CHSK<sub>Cr</sub> octanu sodného a hydrogenftalanu draselného. Výsledky jsou porovnány v tabulce 11.

**Tab. 11:** Porovnání stupně oxidace octanu sodného vypočteného z podílu lineárních regresí a z průměrných hodnot

c(K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> ) [mol·l <sup>-1</sup> ]	Z regrese	Z průměru
	Stupeň oxidace [%]	Stupeň oxidace [%]
0,1	96,9	98,3
0,015	91,9	88,4

Za přesnější výsledek by měl být považován stupeň oxidace získaný z podílu lineární regrese, jelikož je zde v podstatě počítáno s průměrnými hodnotami s nejnižším rozptylem, jelikož lineární regrese je vyhodnocena metodou nejmenších čtverců.

## 5. ZÁVĚR

U většiny vybraných látek se významně neprojevil vliv koncentrace dichromanu draselného na stanovení  $CHSK_{Cr}$ .

U některých aminů byl stupeň oxidace více jak o 10 % nižší při použití méně koncentrovaného dichromanu draselného. Jednalo se o hexyltrimethylammonium bromid (17 %) a difenhydramin hydrochlorid (12 %).

Významný rozdíl stupně oxidace byl zaznamenán u pyridin-2,3-dikarboxylové kyseliny, u které byl stupeň oxidace u méně koncentrovaného dichromanu draselného o 33,7 % nižší oproti stanovení s více koncentrovaným dichromanem draselným. Dále pak u okružního vzorku se složitou maticí ze střediska pro posuzování způsobilosti laboratoří (CSLAB) se lišila hodnota  $CHSK_{Cr}$  mezi oběma stanoveními téměř o 33 %. Na základě měření při různých teplotních režimech lze předpokládat, že se v matici vyskytovala hůře oxidovatelná organická látka, anebo vzájemným působením látek byla snížena kinetika oxidace, což se projevilo na výsledcích stanovení.

Stupeň oxidace octanu sodného po pečlivém vyhodnocení se u obou stanovení lišil o 5 %, což nepovažují za významnou odchylku.

## 6. PODĚKOVÁNÍ

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č. 20/2015)

## 7. LITERATURA

1. Pitter, P., Hydrochemie, 4. vyd., Vydavatelství VŠCHT Praha, 2009.
2. ČSN ISO 15705 Jakost vod - Stanovení chemické spotřeby kyslíku ( $CHSK_{Cr}$ ) - Metoda ve zkumavkách, 2008.
3. TNI 757521 Kvalita vod - Stanovení chemické spotřeby kyslíku ( $CHSK_{Cr}$ ) - Metoda ve zkumavkách, 2013
4. ČSN EN 1484. Jakost vod - stanovení celkového organického uhlíku (TOC) a rozpuštěného organického uhlíku (DOC). 1998.

# VYUŽITÍ NORMOVANÉ OPTICKÉ METODY MĚŘENÍ KYSLÍKU PRO STANOVENÍ BSK5

Stanislav Škeřík

ČEVAK a.s. České Budějovice, pracoviště P5 Moravská Třebová  
stanislav.skerik@cevak.cz

## ÚVOD

Parametr BSK5 (biochemická spotřeba kyslíku) patří společně s parametrem CHSK-Cr (chemická spotřeba kyslíku) k nejdůležitějším ukazatelům při rozboru odpadních vod. Hodnota parametru BSK5 je zcela zásadní při řízení biologického čištění odpadních vod, protože slouží k odhadu biologicky rozložitelného organického znečištění. Parametr BSK5 je součástí každého základního rozboru odpadní vody jakékoliv kvality.

## NORMATIVNÍ ZÁKLAD

V platné normě pro stanovení BSK5 (ČSN EN 1899-1) jsou uvedeny dva postupy pro stanovení rozpuštěného kyslíku: jodometrická metoda (Winklerova odměrná metoda) – podle ČSN EN 25813 a elektrochemická metoda s membránovou sondou – podle ČSN EN ISO 5814 (ČSN EN 25814 citovaná v ČSN EN 1899-1 byla 1.6.2013 zrušena).

V minulém roce byla popsána další metoda pro stanovení rozpuštěného kyslíku (která se komerčně využívá už více jak 10 let) – optická metoda, kterou popisuje norma ISO 17289 Water quality – Determination of dissolved oxygen – Optical sensor method. Tato norma byla letos přeložena do českého jazyka a je od 1.7.2015 publikovaná jako ČSN ISO 17289 Kvalita vod – Stanovení rozpuštěného kyslíku – Metoda s optickým senzorem. Norma popisuje optickou metodu jako ekvivalentní k jodometrické a elektrochemické metodě a týká se analýzy všech druhů vod.

## TECHNICKÁ SPECIFIKACE

Elektrochemické membránové sondy jsou založeny na polarografických nebo galvanických měřicích celách obsahujících anodu a katodu ponořené ve společném elektrolytu a od měřeného prostředí oddělené selektivní membránou. Charakteristickým rysem této měřicí techniky je spotřeba elektrolytu a degradace anody v průběhu měření. Oba efekty nevyhnutelně vedou k driftu měřeného signálu, který může být usměrňován pouze pravidelnou kalibrací. Elektroda navíc k dosažení potřebného polarizačního napětí potřebuje čas v řádech minut až desítek minut pro ustálení polarizace membrány. Další rizikové faktory měření jsou „ucpávání“ membrány („otrávení“ membrány různými kovy) nebo rušivé vlivy ostatních plynů (CO<sub>2</sub>, Cl<sub>2</sub>, ...).

Uvedené nevýhody přispěly k vývoji a rozšíření další metody pro stanovení rozpuštěného kyslíku aplikovatelné také pro stanovení BSK5. Princip této metody je optický a využívá fyzikálního jevu luminiscence. Jak je uvedeno výše byla minulém roce byla tato metoda podpořena vydáním normy ISO 17289.

Optická sonda pracuje na principu měření doby trvání luminiscence nebo jejího fázového posunu. Senzorové víčko sondy obsahuje luminofor, tj. látku, která je schopná emitovat fluorescenční záření. Vrstva luminoforu má složení na bázi platiny a pro ochranu před světlem je potažena černým polymerem. Sonda dále obsahuje LED diodu vysílající modré světlo, které při dopadu na luminiscenční vrstvu způsobí excitaci elektronů v luminoforu a následně vyzáření červeného fluorescenčního záření při návratu elektronů na jejich původní hladinu. Toto emitované červené světlo je zpětně detekováno fotodetektorem, který převádí emitované záření na elektrický signál.

Měření koncentrace kyslíku pracuje na principu zhášení emitovaného červeného záření. V přítomnosti kyslíku v okolí luminoforu dochází k urychlení návratu elektronů na svou původní hladinu (tzv. zhášení luminiscence). Doba trvání luminiscenčního záření je úměrná koncentraci kyslíku.

Měření koncentrace kyslíku je tedy převedeno na měření času (nebo fázového posunu). Čas jako fyzikální veličina je velice jednoduše a přesně měřitelná veličina. Poškození luminiscenční vrstvy sice způsobuje snížení intenzity záření, ale časová odezva luminiscenčního záření zůstává stejná – měření tedy nepodléhá žádnému driftu. Navíc je uvnitř sondy umístěna druhá LED dioda – vysílající červené světlo, která před každým měřením emituje záření o dané intenzitě, nastaví všechny části senzoru na danou hodnotu a slouží jako referenční element. Pravidelná kalibrace sondy tudíž není nutná.

## ZKUŠENOSTI SE ZAVEDENÍM OPTICKÉ SONDY

Optickou sondu využíváme téměř od počátku uvedení na trh. Do roku 2005 jsme pro stanovení BSK5 používali k měření koncentrace kyslíku elektrochemickou sondu OXY 330 firmy WTW. Kromě dosti náročné údržby byly výsledky validačních parametrů a zkoušení způsobilosti uspokojivé. Velké problémy začaly při zpracovávání

odpadních vod vyšším obsahem kovů a brusných emulgátů z provozů obrábějících kovy (opracování nerezového plechu, přesné strojírenství, atp.). Po každém měření měření BSK5 těchto typů odpadních vod bylo nutné vyměnit elektrolyt a sondu i membránu regenerovat. Dosti často bylo nutné membránu úplně vyměnit, protože byla „otrávená“ a ani po regeneraci membrány sonda nefungovala. Tento provoz se stával stále více finančně náročný a téměř neudržitelný ve smyslu kvality výsledků stanovení BSK5. Proto jsme hledali nějaké řešení.

A kdo hledá najde. Na konci roku 2005 jsme si poříдили nový přístroj pro stanovení BSK5 HQ 10 od firmy HACH s tehdy „revoluční“ metodou měření koncentrace rozpuštěného kyslíku optickou sondou. Tato metoda ještě tehdy nebyla normována, proto byla nutná verifikace metody měření BSK5. (Výsledky verifikace jsou uvedeny v odstavci Validační parametry).

Pro používání optické sondy byla nastavena na doporučení výrobce následující metrologická konfirmace: 1x ročně kontrola optiky sondy, kterou zabezpečoval výrobce (po čtyřech letech používání byl tento interval prodloužen – 1x za dva roky), 3x ročně kontrola luminoforu na 100%-ní nasycení O<sub>2</sub> a 1x ročně kontrola teplotního čidla kalibrovaným teploměrem. Její údržba byla velice jednoduchá. Byly dvě možnosti uchování sondy suchá nebo mokrá varianta. Protože měříme BSK5 4x týdně, zvolili jsme variantu mokrou. Důvodem byla jediná nevýhoda optické sondy, kterou bylo nutno při suchém uchování nechat cca 15 – 20 minut v prvním měřeném vzorku, aby se ustálil signál měření. Výrobce doporučoval vyměňovat víčko sondy s luminoforem každý rok s možností prodloužit tento interval až na roky dva. V naší laboratoři jsme bez jakýchkoliv potíží s původním víčkem měřili sedm let.

Nejsem schopen odhadnout, jak dlouho bychom ještě na původní víčko s luminoforem měřili, protože ke konci roku 2012 zteřelo gumové těsnění, protože sonda byla uchovávána „namokro“. Vlhkost, která se dostala pod víčko, zkratovala celou sondu. Koupili jsme tedy nový přístroj – HQ 30d – pracující na stejném principu. Opět jsme provedli verifikaci metody podobným postupem, jak je popsáno v odstavci Validační parametry – opět s uspokojivými výsledky. Sonda HQ 30d má rychlejší ustálení měřené hodnoty rozpuštěného kyslíku a největší výhodou je uchování mezi měřeními „nasucho“ – pouze ve tmě (ochrana luminiscenční vrstvy před přímým světlem). Tímto přístrojem s původní sondou bez dalších investic měříme rozpuštěný kyslík pro stanovení BSK5 dodnes.

### VALIDAČNÍ PARAMETRY

Pro verifikaci měření jsme zvolili tři kritéria: přesnost (dříve správnost za podmínek opakovatelnosti) a preciznost (dříve přesnost za podmínek opakovatelnosti a reprodukovatelnosti) a účast v PT.

Pro přesnost jsme zvolili kontrolní vzorek pro BSK5 připravený podle ČSN EN 1899-1 a reálný vzorek, u kterého bylo paralelně stanoveno BSK5 v jiné akreditované laboratoři. V průběhu roku jsme se také účastnili zkoušení způsobilosti:

Referenční, duplicitní nebo vztažná hodnota BSK5	Průměrná stanovená hodnota BSK5	Diference	Odchylka v %
<b>KV 210 + 20</b>	188,7	- 21,3	- 10,14
<b>Reálný vzorek 68,59</b>	61,82	- 6,77	- 9,87
<b>PT/CHA/4/2006 4,2</b>	4,55	+ 0,35	+ 8,33
<b>PT/CHA/8/2006 20,0</b>	20,0	0	0

Pro preciznost jsme zvolili kontrolní vzorek pro BSK5 připravený podle ČSN EN 1899-1 a dva reálné vzorky a slepý pokus v počtu deseti opakovaných měření:

Vzorek	Průměr měření (mg/l)	Opakovatelnost (mg/l)	Relativní opakovatelnost (%)
<b>Umělý kontrolní vzorek</b>	188,7	8,726	4,62
<b>Reálný vzorek 1</b>	61,82	0,1462	4,81
<b>Reálný vzorek 2</b>	3,038	6,0843	9,84
<b>Slepý vzorek</b>	0,428	0,0941	22,0

Reprodukovatelnost v čase byla stanovena jako směrodatná odchylka z regulačního diagramu, kam byly zaznamenávány výsledky měření kontrolního vzorku o hodnotě BSK5 (210±20) mg/l. Z hodnot naměřených v roce 2006 byla relativní reprodukovatelnost 8,99 %, což koresponduje s opakovatelností (přibližně dvojnásobná).

Nejistota měření BSK5 byla stanovena jako rozšířená nejistota z relativní opakovatelnosti a reprodukovatelnosti s koeficientem rozšíření k=2. Její hodnota byla stanovena 19%. Každým rokem je ověřována výsledky se pohybují v rozmezí 14% – 19%.

### POROVNÁNÍ VÝSLEDKŮ ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI

Pro ilustraci zde uvádím porovnání výsledků zkoušení způsobilosti (dříve mezilaboratorní porovnávací zkoušky) naší laboratoře v parametru BSK5 od poloviny devadesátých let minulého století. Naše laboratoř je akreditovaná od roku 2001. Před tímto rokem laboratoř pracovala „pouze“ na principech GLP.

Umělé vzorky na koncentrační úrovni pitné a povrchové vody:

Rok	Sonda	Organizátor PT	Naměřená hodnota	Vztažná hodnota	Odchylka (%)
1995	OXY 330	ASLAB	2,17	4,5	- 51,78
1996	OXY 330	ASLAB	3,13	3,0	+ 4,33
1997	OXY 330	ASLAB	4,50	4,0	+ 12,50
1998	OXY 330	ASLAB	6,25	5,5	+ 13,64
1999	OXY 330	ASLAB	3,92	5,0	- 21,60
2000	OXY 330	ASLAB	4,53	4,0	+ 13,25
2001	OXY 330	ASLAB	6,01	6,0	+ 0,17
2002	OXY 330	ASLAB	5,46	5,2	+ 5,00
2003	OXY 330	ASLAB	6,00	5,8	+ 3,45
2004	OXY 330	ASLAB	4,65	5,1	- 8,82
2006	HQ 10	CSlab	4,55	4,2	+ 8,33
2007	HQ 10	CSlab	2,95	3,2	- 7,81
2008	HQ 10	CSlab	4,40	4,2	+ 4,76
2009	HQ 10	CSlab	3,95	3,8	+ 3,95
2010	HQ 10	CSlab	5,05	4,8	+ 5,21
2011	HQ 10	CSlab	3,55	3,5	+ 1,43
2012	HQ 10	CSlab	4,55	4,5	+ 1,11
2013	HQ 30d	CSlab	3,60	4,0	- 10,00
2014	HQ 30d	CSlab	3,70	3,2	+ 15,03
2015	HQ 30d	CSlab	4,50	4,6	- 2,17

Umělé vzorky na koncentrační úrovni odpadní vody:

Rok	Sonda	Organizátor PT	Naměřená hodnota	Vztažná hodnota	Odchylka (%)
1994	OXY 330	ASLAB	9,96	8,5	+ 17,18
1995	OXY 330	ASLAB	5,15	5,2	- 0,58
1996	OXY 330	ASLAB	8,39	7,1	+ 18,71
1997	OXY 330	ASLAB	6,04	5,2	+ 16,15
1998	OXY 330	ASLAB	8,83	7,0	+ 26,14
1999	OXY 330	ASLAB	33,58	30,0	+ 11,93
2000	OXY 330	ASLAB	17,34	15,0	+ 15,60
2001	OXY 330	ASLAB	24,80	23,0	+ 7,83
2002	OXY 330	ASLAB	18,95	18,0	+ 5,26
2003	OXY 330	ASLAB	31,95	30,0	+ 6,50
2004	OXY 330	CSlab	15,80	15,0	+ 5,33
2005	OXY 330	CSlab	25,00	23,0	+ 8,70
2006	HQ 10	CSlab	20,00	20,0	+ 0,00
2007	HQ 10	CSlab	30,95	30,0	+ 3,17
2008	HQ 10	CSlab	14,25	15,0	- 5,00
2010	HQ 10	CSlab	25,50	23,7	+ 7,59
2011	HQ 10	CSlab	21,25	20,0	+ 6,25
2012	HQ 10	CSlab	16,90	16,0	+ 5,62
2013	HQ 30d	CSlab	19,70	22,0	- 10,45
2014	HQ 30d	CSlab	26,10	26,7	- 2,25

Reálné vzorky odpadní vody analyzované při PT na odběr odpadní vody organizované firmou CSlab:

Rok	Sonda	Typ vzorku	Naměřená hodnota	Vztažná hodnota	Odchylka (%)
2007	HQ 10	Směsný A	327,5	316	+ 3,64
2007	HQ 10	Směsný B	194,0	221	- 12,22
2007	HQ 10	Směsný C	245,5	214	+ 14,72
2009	HQ 10	Směsný A	192,0	210	- 8,57
2009	HQ 10	Směsný B	151,0	171	- 11,70
2009	HQ 10	Směsný C	161,5	163	- 0,92
2012	HQ 10	Směsný B	3,10	3,0	+ 4,56
2012	HQ 10	Směsný C	2,45	2,3	+ 8,41
2013	HQ 30d	Směsný A	118	103	+ 14,56
2013	HQ 30d	Směsný B	115	134	- 14,18
2013	HQ 30d	Směsný C	114	123	- 7,32
2014	HQ 30d	Směsný A	2,17	2,1	+ 1,88
2014	HQ 30d	Směsný B	2,04	2,3	- 10,53
2014	HQ 30d	Směsný C	1,59	1,8	- 10,67

Z prvních dvou tabulek je zřetelné, že používáním optické sondy došlo k mírnému zpřesnění výsledků v programech zkoušení způsobilosti. Porovnání umělých a reálných vzorků vychází také dobře – odchylky od vztažných hodnot jsou u reálných vzorků o něco vyšší (což není překvapivé), ale všechny se „schovávají“ do nejistoty měření BSK5 19 %.

### ZÁVĚR

Měření koncentrace kyslíku pro stanovení BSK5 tradičními metodami (jodometrická Winklerova odměrná metoda a elektrochemická metoda s membránovou sondou) přináší pro laboratoř mnoho potíží. Použití jodometrické metody je omezeno na vody bez vyššího obsahu železa a látek, které vážou jod. Membránová elektroda vyžaduje důkladnou a pracnou údržbu (pravidelná údržba a výměna membrány a elektrolytu), což je v současné době také finančně náročné. Dále vyžaduje častou kalibrační kontrolu a při zpracování vzorků „špinavé“ odpadní vody (průmyslové vody, odpadní vody producentů znečištění...) také regenerace elektrody a výměnu elektrolytu a membrány mimo pravidelný interval.

Zavedení měření koncentrace kyslíku optickou sondou je spojeno se vstupními finančními náklady, které se vzhledem k prakticky bezúdržbovému provozu vrátí během několika let. Je třeba provést verifikaci metody měření BSK5, poté však optická sonda nevyžaduje pravidelné kalibrace a kontrolní mechanismy, které je nutné provádět pro průběžnou kontrolu, nevyžadují tolik času a práce jako u tradičních metod měření koncentrace kyslíku. Její provoz je zcela jednoduchý. Po měření stačí sondu opláchnout vlažnou pitnou vodou a zlehka osušit hadříkem do sucha tak, aby se neporušila černá ochranná teflonová vrstva na spodní straně víčka sondy (pod luminoforem). Potom uložit do „tmy“ a je opět připravena k dalšímu měření. Nespornou výhodou optické sondy je také fakt, že k měření koncentrace rozpuštěného kyslíku není nutná cirkulace vzorku kolem víčka sondy, jak tomu bylo v případě membránové elektrody. Jako bonus získáte s optickou sondou významný příspěvek ke zlepšování, které je cílem každé akreditované laboratoře.

### LITERATURA

- Hach Method 10360 – Luminescence Measurement of Dissolved Oxygen (LDO®) in Water and Wastewater. *Aplikační list Hach company*, Jan 16, 2006.
- Häck, M. – A new optical technology for the measurement of dissolved oxygen in water - Luminescence Dissolved Oxygen (LDO). Hach Lange GmbH, 2007.
- Horáková M., Lischke P., Grúnwald A. – Chemické a fyzikální metody analýz vod, SNTL Praha, 1986.
- Pitter P. – Hydrochemie, VŠCHT Praha, 1999.
- ČSN ISO 17289 Kvalita vod – Stanovení rozpuštěného kyslíku – Metoda s optickým senzorem, 07/2015
- ČSN EN 1899-1 Jakost vod - Stanovení biochemické spotřeby kyslíku po n dnech (BSKn) - Část 1: Zředovací a očkovací metoda s přidávkem allylthiomocoviny, 02/1999
- ČSN EN 25813 Jakost vod. Stanovení rozpuštěného kyslíku. Jodometrická metoda, 02/1995
- ČSN EN ISO 5814 Kvalita vod - Stanovení rozpuštěného kyslíku - Elektrochemická metoda s membránovou sondou, 05/2013



# STANOVENÍ DUSIČNANŮ ANEB KROCENÍ ZLÉ KYSELINY

Lukáš Fuka, Vladimír Sýkora, Marie Vojtíšková, Iva Prokešová, Ivan Karpíšek

*Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav technologie vody a prostředí  
(Lukas.Fuka@vscht.cz)*

## ABSTRAKT

Stanovení dusičnanů patří k jedné ze základních analýz rozboru povrchových, pitných či bazénových vod. Naše laboratoř se zabývá fotometrickým stanovením dusičnanů ve zkumavkách dle ČSN 75 7455. Toto stanovení má oproti ostatním spektrofotometrickým stanovením dusičnanů velkou výhodu v rychlosti analýzy, avšak skýtá drobná úskalí. Dle našeho zkoumání je nejvíce problematickou částí celého stanovení čistota použitých kyselin pro přípravu směsi kyselin. Naše laboratoř vyvinula značné úsilí ve shromažďování a analýze dat, která naši pozornost přesunula zejména na zkoumání příměsí kyseliny fosforečné, která je dle našich zkušeností složkou, vnášející rušivé vlivy do celého stanovení.

Díky dlouhodobému sledování a popisu problému jsme navrhli vhodný postup pro stanovování výběru vhodné kyseliny fosforečné a sírové, dále pak jsme se zaměřili na kvalitativní určení rušivého elementu, které však vzhledem k velmi nízké kvantitě příměsí nebylo z technicko-laboratorních možností proveditelné.

## ÚVOD DO PROBLEMATIKY

Dusičnany, jakožto sledovaný analyt, jsou z laboratorního hlediska běžně sledovanou složkou všech druhů vod (pitných, bazénových, technologických a dalších). Pro stanovení dusičnanů je možné využít různé metodiky, avšak velmi málo metodik nabízí takovou operativnost a vysokou rigiditu vůči rušivým vlivům jako stanovení dusičnanů s 2,6-dimethylfenolem, označované dle norem jako ČSN 75 7455. Velkou výhodou tohoto stanovení je, že analýza jednoho vzorku je minimálně časově náročná a pro vybarvení preparátu je zapotřebí pouhých 10 minut. Námí používaný postup je modifikován pro spektrofotometrické měření ve zkumavkách, které přináší úsporu zejména v podobě minimální náročnosti na množství používaných reagentů pro jedno měření. [1]

Během používání této metodiky jsme bohužel byli vystaveni velkému dilematu ve správnosti laboratorních postupů, kdy jsme se setkali s velkými problémy při přechodu na jinou nově připravenou směs kyselin. Zprvu jsme tento problém přikládali špatné laboratorní přípravě a elementárním chybám při práci s koncentrovanými kyselinami. Bohužel i při následných pokusech se stejnou šarží kyselin jsme získávali tytéž špatné výsledky, které se projevovaly vysokou hodnotou absorbance již u slepého stanovení. Následně jsme v rámci laboratoře provedli přípravu směsi kyselin z jiných šarží kyselin, které poskytované výsledky výrazně ovlivnily, a mohli jsme již považovat vzniklé směsi kyselin za použitelné pro stanovení dusičnanů. Nicméně tento jev nás natolik zaujal, že jsme jej v rámci naší laboratoře začali cíleně zkoumat a vyhledávat různé směsi kyselin od různých dodavatelů a doufali jsme v záchyt jak kyselin vhodných, tak nevhodných pro analýzu dusičnanů. Zároveň jsme se pokoušeli zkoumat rozdílnosti stejných šarží u jednotlivých výrobců, nicméně zde nebyl nalezen žádný rozdíl. Významné rozdíly byly nalezeny pouze u různých šarží různých dodavatelů, kdy jsme vytipovali od všech běžných dodavatelů laboratorních chemikálií kyseliny o různých čistotách, ať již kyseliny pocházející ze spektra drahých produktů či kyseliny „základní“ v p.a. kvalitě. Tato měření však neprokázala jasnou závislost mezi cenou kyseliny a získávanými výsledky, nicméně v dražších vzorcích nebyl proveden záchyt vyloženě nevhodné kyseliny pro stanovení dusičnanů.

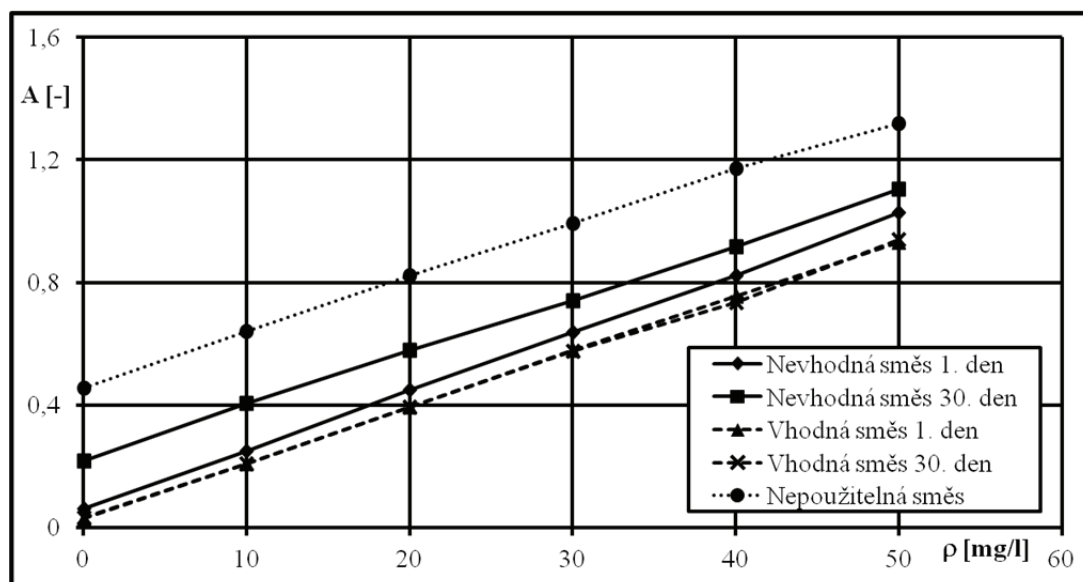
Další naší otázkou bylo, jestli rušivý vliv nepřináší do stanovení nějaký synergický efekt nečistot přítomných v kyselinách. Nicméně tato skutečnost nebyla potvrzena, neboť kyselina poskytující špatné výsledky vykazovala totožné chování i po smíchání s druhou vhodnou kyselinou a z hlediska tohoto stanovení se nám jeví mechanismus znečištění jako prostý součtový mechanismus.

## PRINCIP STANOVENÍ DUSIČNANŮ S 2,6-DIMETHYLFENOLEM

Základem stanovení dusičnanů s 2,6-dimethylfenolem je nitrační reakce 2,6-dimethylfenolu v kyselině sírové a kyselině fosforečné za vzniku cihlově červeného nitračního produktu 4-nitro-2,6-dimethylfenolu. Intenzita zbarvení je přímo úměrná obsahu dusičnanů ve vzorku a měření probíhá při vlnové délce  $324 \pm 20$  nm. [2]

## TESTOVÁNÍ KVALITY VYBRANÝCH SMĚSÍ KYSELIN

Jak je již uvedeno výše, provedli jsme testy různých směsí kyselin, připravených z širokého dodavatelského spektra. Celkem bylo vytvořeno deset směsí kyselin, které byly podrobeny zkoumání kalibrační závislosti vždy první den po přípravě a po 30 dnech zrání, aby bylo možné diskutovat stabilitu chování, resp. reprodukovatelnost získávaných dat. Pro ukázkou chování dvou základních modelů zde uvádíme grafickou závislost absorbance na koncentraci u jednotlivých kyselin (viz. obrázek 1). Jedná se pouze o výběr jednotlivých modelů chování, s nimiž jsme se v průběhu práce setkali.



Obr. 1.: Graf závislosti absorpance na koncentraci kalibračních roztoků dusičnanů

#### Popis jednotlivých kalibračních křivek:

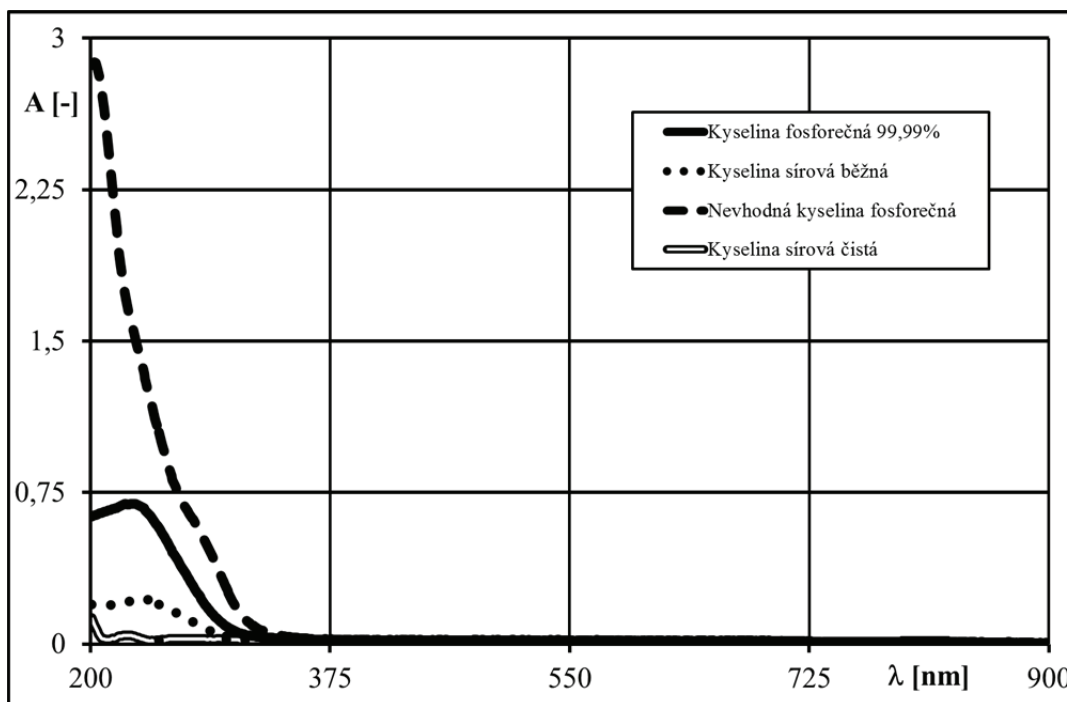
**Nevhodná směs:** U nevhodné směsi kyselin je významný rozdíl mezi 1. a 30. dnem od vzniku směsi, kdy došlo k významnému driftu celé kalibrační závislosti s nepatrnou změnou směrnice, avšak již samo posunutí je natolik významné, že znemožňuje její použití. Z hlediska námi provedených měření, které již nebyly takového rozsahu, tato směs kyselin poskytovala dále významný drift celé kalibrace, a proto ani po 30. dnu není možné tuto směs kyselin použít. Z hlediska dlouhodobých zkušeností s podobně nevhodnými směsmi kyselin je zcela běžné, že nedochází k jejich dlouhodobé stabilizaci, a proto tyto kyseliny nelze v žádném případě doporučit v tomto uspořádání pro běžné analytické měření.

**Vhodná směs:** Zde se kalibrační závislosti zcela překrývají v některých částech a z hlediska statistického vyhodnocení můžeme říci, že se jedná o totožné závislosti, které se vzájemně neliší na hladině významnosti 95 %. Zároveň bychom zde chtěli zdůraznit míru absorpance slepého stanovení, které se limitně blíží nule a z hlediska hodnocení kvality této směsi kyselin je možné ji označit jako velmi vhodnou pro analýzu dusičnanů.

**Nepoužitelná směs:** Tato směs kyselin vykazuje významné odchylky od vhodné směsi, kde se ve všech bodech liší přibližně o stejné hodnoty absorpance, které se pohybují v absolutní hodnotě 0,43 (s optickou dráhou 16 mm). Tento rozdíl je poměrně stálý a víceméně umožňuje její použití a nasazení pro měření, avšak z hlediska významného posunu již tuto směs z analyticky čistého přístupu není možné použít pro stanovení, neboť absorpance nejvyššího kalibračního bodu přesahuje hodnotu 1, což v tomto případě vylučuje použití této směsi pro správné analytické měření. Bohužel jsme se setkali i s názory, které jasně prohlašují, že tato směs je použitelná, protože vyhodnocení regrese jasně deklaruje, že se jedná o lineární závislost, pouze je posunutá, což je samozřejmě pravdou, nicméně možné zkreslení výsledků tímto nesprávným přístupem je více než pravděpodobné. S tímto vysvětlením jsme se setkali zejména v případech, kdy analytik je zvyklý používat spektrofotometr, který provádí rovnou samotnou regresi, a tudíž není zcela zřejmé, jaké hodnoty spektrofotometr měří, tedy přesněji analytik, který provádí měření, již zcela jasně nepozoruje, jaké hodnoty absorpance nabývá.

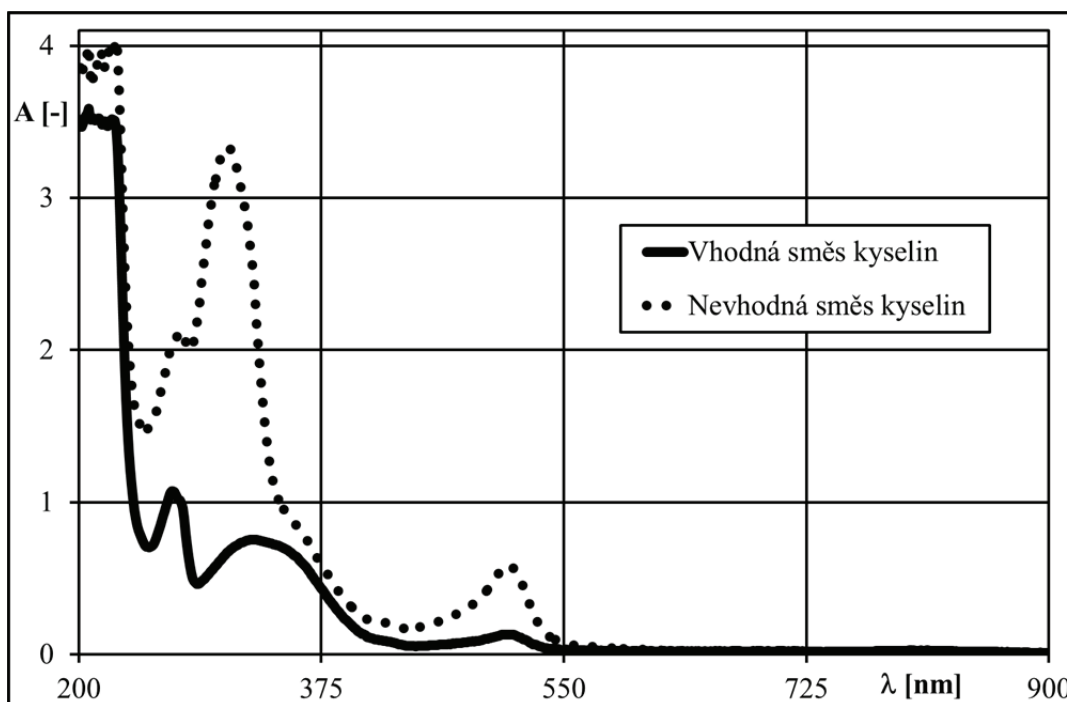
#### NAMĚŘENÁ SPEKTRA VYBRANÝCH KYSELIN A PREPARÁTŮ

Vzhledem k nutnosti rozšíření měření v různých vlnových délkách jsme provedli měření spekter používaných kyselin a připravených směsí tak, abychom zjistili, jaké rozdíly mezi jednotlivými směsmi jsou. Dále jsme provedli spektrofotometrickou analýzu již vybarvených preparátů tak, aby bylo možné posoudit jednotlivé spektrofotometrické vlastnosti a vzájemně je srovnat. Na obrázku 2 je vidět závislost absorpance na vlnové délce kyselin vysoce čistých, srovnaných s kyselinami o nižší čistotě, tedy v běžné p.a. kvalitě. Zdůrazňuji, že popis u kyseliny fosforečné 99,99 % se vztahuje k její čistotě, nikoliv koncentraci.



Obr. 2.: Závislost absorbance vybraných kyselin na vlnové délce

Křivky spektrofotometrických závislostí jasně ukazují, že kyselina sírová je z hlediska závažnosti znečištění, a tedy vnášení chyby do stanovení dusičnanů minoritní a není nutné ji brát přílišně v potaz. Oproti tomu kyselina fosforečná vykázala velmi významný rozdíl mezi čistou kyselinou a nevhodnou kyselinou fosforečnou, který je z hlediska měření zcela zásadní. Důležitost tohoto rozdílu nám vyplývá až z obrázku 3, kde jsou zachycena spektra již vybarvených preparátů, neboť z obrázku 2 není jasně vidět, že by při vlnové délce  $324 \pm 20$  nm docházelo ke zkreslování měření.



Obr. 3.: Závislost absorbance vybarvených vzorků na vlnové délce

Na obrázku 3 jsou znázorněna spektra vybarvených preparátů s kalibračním roztokem o koncentraci 50 mg/l dusičnanů v květách s optickou dráhou 10 mm. Z uvedených závislostí je vidět, že dochází k posunu

a rozložení píků zachycených u čistých kyselin mezi vlnovými délkami 200 – 300 nm. Ty jsou následně posunuty v rámci postupu přípravy preparátu tak, že významným způsobem cloní vlnovou délku 340 nm. Za další je možné si povšimnout poměrně významného píku u vlnové délky 500 nm, kdy u preparátu s nevhodnou kyselinou vzniká velmi významný pík, který se na vybarveném preparátu projevuje červeno-oranžovým zbarvením. Toto zbarvení se objevuje i u preparátů, které byly vybarveny s použitím vhodné směsi kyselin, avšak míra zbarvení těchto preparátů je významně odlišná.

### STANOVENÍ ZNEČIŠŤUJÍCÍCH ELEMENTŮ

Vzhledem k poměrně významným odezvám v rámci získaných spekter jsme přistoupili k analýze kyseliny fosforečné, která se zdála jako vhodná pro alespoň kvalitativní stanovení znečišťujících látek v ní. Zde jsme však narazili na velmi problematickou matici, neboť analýza samotné kyseliny fosforečné je poměrně značně složitá a vzhledem k technologicko-technickým možnostem analytických zařízení je nezbytná významná úprava vzorku. Tato část analýz byla provedena v rámci externí laboratoře, neboť vybavení našeho pracoviště neodpovídá potřebám pro takto složitou analýzu.

Po analýze a konzultaci jsme dospěli ke skutečnosti, že bude nezbytné provést nejprve extrakci ze vzorku s následným odpařením extrakčního činidla a analýzou zachyceného zbytku pomocí chromatografu s hmotnostní detekcí. Bohužel v rámci popsaného postupu bylo zjištěno, že 100 ml kyseliny vstupující do extrakce poskytlo pouhé 3 až 6 mg vyextrahovaných znečišťujících látek, což značně snížilo výpovědní hodnotu celého procesu. Extrakce byla provedena jak v samotné matici, tak i v alkalizovaném vzorku. Ani tento přístup však nepřinesl významnější záchyt znečišťujících látek. Nicméně i toto malé množství bylo analyzováno a bylo zjištěno, že se jedná s největší pravděpodobností o ftaláty a stabilizátory vyskytující se v plastech. Dále pak byla zjištěna látka o neznámém složení, patrně aromatického charakteru, která by odpovídala i poměrně vysoké absorpenci při nízkých vlnových délkách. Z hlediska odhadu se patrně jedná o znečištění, které v rámci stárnutí kyseliny dále reaguje na ne zcela běžné chemické struktury, patrně zde dochází ke slučování jader do složitějších struktur, které nejspíše lépe odolávají v koncentrované kyselině fosforečné. Ftaláty a stabilizátory byly rovněž zjištěny i u kyseliny sírové, které zřejmě nezpůsobují onu fatální chybu při stanovení dusičnanů s 2,6-dimethylfenolem. Nicméně všechny závěry této poměrně náročné analýzy je nutné brát s výraznou rezervou, neboť extrahované množství je natolik malé, že neumožňuje více než jednu analýzu, které je samozřejmě takto malým množstvím rovněž ovlivněna.

### ZÁVĚR

Přes vynaložení veškerého možného úsilí i širokého spektra použitých metod jsme bohužel neidentifikovali znečišťující element kyseliny fosforečné, avšak jsme navrhli metodiku pro zjišťování vhodnosti kyseliny sírové a kyseliny fosforečné bez nutnosti jejich vzájemného směšování, a to takovým způsobem, že je možné po získání spektra nově získaných kyselin rozhodnout o jejich použití v rámci konkrétní laboratoře, kdy se nesmí objevovat zvýšená míra absorpance v intervalu 200 – 400 nm. Pro laboratoře, které nemají možnost proměřit spektrum kyselin, doporučujeme provedení pilotního testu kyselin s tím, že použijí směs vzniklou smícháním 50 ml a 50 ml kyselin, se kterou můžou dále pracovat a použít ji pro pilotní testy tak, aby se vyhnuli možnému zklamání z přípravy velkého množství nepoužitelné směsi kyselin. Tímto postupem zároveň eliminují neblahé ekologické a ekonomické dopady používání analýzy dusičnanů s 2,6-dimethylfenolem ve své laboratoři.

V rámci našich zkušeností doporučujeme jako limit vhodnosti směsi kyselin na úrovni absorpance slepého stanovení 0,05 při kyvetové dráze 16 mm. Tento limit je poměrně benevolentní a umožňuje velkou volnost u vhodných směsi kyselin, avšak jasně odděluje nevhodné či zcela špatné směsi kyselin.

### PODĚKOVÁNÍ

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.20/2015)

### POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Pitter, P., *Hydrochemie*. Vydavatelství VŠCHT Praha: Praha, 2009.
- [2] ČSN 757455 (2009): Jakost vod - Stanovení dusičnanů - Fotometrická metoda s 2,6-dimethylfenolem - Metoda ve zkumavkách.

# NEJISTOTA MĚŘENÍ

David Milde

*Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci,  
17. listopadu 12, 771 46 Olomouc, e-mail: david.milde@upol.cz*

Nejistota měření patří spolu s metrologickou návazností a validací metody mezi základní pilíře zabezpečení kvality výsledků zkoušek. Její vyhodnocení není rutinní prací ani čistě matematickou záležitostí, ale závisí na detailní znalosti podstaty měřené veličiny, metody měření a použitého postupu. Kvalita a užitečnost nejistoty uváděné s výsledkem měření tedy zásadně závisí na pochopení, kritické analýze a souladu všech těch, kteří se podílejí na určení její hodnoty. Tento příspěvek se stručně zabývá vyhodnocením nejistoty měření kvantitativních zkoušek.

Nejistota měření poskytuje kvantitativní údaj o kvalitě výsledku měření. Její definice podle VIM 3 zní „nezáporný parametr charakterizující rozptýlení hodnot veličiny přiřazených k měřené veličině na základě použité informace“. Definice vyjadřuje skutečnost, že parametry používané k popisu rozptýlení jednotlivých rozdělení, např. směrodatné odchylky, jsou obvykle pozitivní. Výrok „na základě použité informace“ vysvětluje, proč je nezbytné uvést, co bylo použito při odhadu nejistoty měření. To neznamená, že můžeme vybrat, co zahrneme a co ne. Existuje mnoho přístupů k odhadu nejistoty měření, které jsou popsány v literatuře [1-5]. Výsledek měření se skládá ze dvou kvantitativních částí: 1. naměřené hodnoty veličiny, často v podobě průměru nebo mediánu z jednotlivých měření; a 2. nejistoty měření. Pokud je uváděn výsledek zahrnující i nejistotu, může být udán ve formátu (hodnota  $\pm$  nejistota) s jednotkami. Např. (5,5  $\pm$  0,5) ml odpovídá intervalu 5,0-6,0 ml. Nejistotu lze interpretovat jako interval, ve kterém předpokládáme, že leží hodnota měřené veličiny.

Odhad nejistoty měření lze vyjádřit mnoha způsoby, např. jako směrodatnou odchylku nebo interval spolehlivosti. Nicméně abychom mohli odhady nejistot slučovat, musí být jejich odhady vyjádřeny ve stejné formě, tedy může být zapotřebí nějakých přepočtů. Podle dokumentů ISO se mají odhady nejistot před jejich sloučením vyjádřit ve formě standardních nejistot měření [4]. V certifikátech analýz, zprávách o zkouškách apod. označuje písmeno  $u$  nejistotu. Avšak existují různé způsoby vyjádření nejistoty:

- $u(x_i)$  – standardní nejistota měření pro veličinu  $x_i$  vyjádřena jako směrodatná odchylka;
- $u_c(y)$  – kombinovaná standardní nejistota měřené veličiny  $y$  je matematickou kombinací několika standardních nejistot měření veličin  $x_i$ ;
- $U$  – rozšířená nejistota měření, tu obvykle laboratoř uvádí ve zprávě zákazníkovi. Rozšířená nejistota poskytuje interval, ve kterém s vysokou mírou spolehlivosti leží hodnota měřené veličiny. Hodnotu  $U$  získáme vynásobením kombinované standardní nejistoty měření  $u_c(y)$  koeficientem rozšíření  $k$ , tedy  $U = k u_c$ . Volba koeficientu  $k$  vychází z požadované úrovně spolehlivosti, pro 95% spolehlivost  $k = 2$ .

Základní kroky při vyhodnocení nejistoty měření lze popsat následovně:

1. Specifikace měřené veličiny
2. Specifikace postupu měření a funkce měření
3. Identifikace zdrojů nejistoty
4. Kvantifikace jednotlivých složek
5. Výpočet kombinované standardní nejistoty  $u_c(y)$
6. Výpočet rozšířené nejistoty  $U$
7. Přezkum bilance nejistoty

Všechny známé zdroje nejistoty měření se musí vyhodnotit a informace o nich musí být shrnuta v bilanci nejistoty (aj. uncertainty budget). Bilance má zahrnovat také model (rovnici) měření a způsob vyhodnocení nejistoty, např. ukázat, jestli je příspěvek nejistoty založen na statistické analýze hodnoty veličiny za definovaných podmínek, tedy *vyhodnocení typu A*, nebo jinými prostředky, tedy *vyhodnocení typu B*. Příkladem vyhodnocení typu A je směrodatná odchylka průměru z výsledků deseti opakování měření uskutečněných za podmínek opakovatelnosti. Hodnota nejistoty získaná z certifikátu referenčního materiálu je příkladem vyhodnocení typu B. Bilance nejistoty má také obsahovat použitou hustotu pravděpodobnosti a stupně volnosti pro každý příspěvek nejistoty a koeficient rozšíření použitý k výpočtu rozšířené nejistoty měření.

Kombinovanou standardní nejistotu lze obecně vypočítat pomocí zákona propagace nejistot, který lze v obecné podobě nalézt například v Pokynu Eurachem [1]. V některých případech se obecné výrazy pro slučování nejistot redukuje do mnohem jednodušší formy. Uvádíme dvě jednoduchá pravidla pro slučování nejistot.

Pravidlo 1 pro modely, které zahrnují pouze sčítání nebo rozdíl veličin, na příklad  $y = (p + q - r + \dots)$ , je kombinovaná nejistota  $u_c(y)$  dána

$$u_c(y) = \sqrt{u(p)^2 + u(q)^2 + u(r)^2 + \dots} \quad (\text{pravidlo 1})$$

Pravidlo 2 pro modely, které zahrnují pouze součin či podíl, např.  $y = (p \cdot q \cdot r \dots)$  nebo  $y = p / (q \cdot r \dots)$ , je kombinovaná standardní nejistota dána  $u_c(y)$

$$u_c(y) = y \sqrt{\left(\frac{u(p)}{p}\right)^2 + \left(\frac{u(q)}{q}\right)^2 + \left(\frac{u(r)}{r}\right)^2 + \dots} \quad (\text{pravidlo 2}),$$

kde  $(u(p)/p)$  atd. jsou nejistoty parametrů vyjádřené jako relativní směrodatné odchylky. Pro výpočet kombinované nejistoty složitých modelů měření lze provést výpočet popsany Kragtenem s využitím běžně dostupného software Microsoft Excel nebo pomocí simulační metody Monte-Carlo.

Příklad bilance nejistoty pro hmotnostní koncentraci kalibračního standardu kadmia je uveden v tabulce 1 a vychází z příkladu uvedeného v Pokynu Eurachem/CITAC [1]. Hmotnostní koncentrace kadmia  $\rho_{Cd}$  ( $\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ) je dána

$$\rho_{Cd} = (1000mP)/V,$$

kde  $m$  je hmotnost v mg kadmia,  $P$  jeho čistota a  $V$  je objem baňky v ml. Každý člen vnáší nejistotu do počítané koncentrace roztoku, jak je uvedeno v bilanci nejistoty v tabulce 1. Nejistota hmotnosti se získá z kalibračního certifikátu poskytnutého výrobcem vah a doporučeními pro odhad nejistoty. Údaj o čistotě kovu se získá z certifikátu certifikovaného referenčního materiálu a převede se na standardní nejistotu měření za předpokladu rovnoměrného rozdělení. Nejistota objemu baňky se skládá ze tří složek – kalibrace ( $u_{kal}$ ), opakovatelnosti plnění baňky ( $u_{op}$ ) a rozdílu mezi teplotou, při níž byla baňka kalibrována a teplotou, při které je baňka používána ( $u_{tep}$ ).

**Tabulka 1. Bilance nejistoty hmotnostní koncentrace kalibračního standardu kadmia; hodnoty pochází z Pokynu Eurachem/CITAC [1]. Standardní nejistota  $\rho_{Cd}$  byla vypočtena kombinováním relativních standardních nejistot a pak vynásobením hodnotou  $\rho_{Cd}$**

Veličina	Hodnota	Standardní nejistota	Jednotky	Relativní standardní nejistota $u(x)/x$	Stupně volnosti	Typ vyhodnocení	Rozdělení
$m$	100,28	0,050	mg	0,00050	50	B	normální
$P$	0,9999	$5,8 \cdot 10^{-5}$	hmotnostní zlomek	$5,8 \cdot 10^{-5}$	$\infty$	B	rovnoměrné
$V$	100,00	0,066	ml	0,00066	1100	Príspevky viz níže*	
$\rho_{Cd}$	<b>1002,70</b>	<b>0,84</b>	<b><math>\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}</math></b>	0,00083	340		
<b>Rozšířená <math>k = 2</math></b>	<b>nejistota</b>	<b>1,7</b>	<b><math>\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}</math></b>				

*Objemové příspěvky	Standardní nejistota	Jednotky	Stupně volnosti	Typ vyhodnocení	Rozdělení
$u_{kal}$	0,041	ml	$\infty$	B	trojúhelníkové
$u_{tep}$	0,049	ml	$\infty$	B	rovnoměrné
$u_{lop}$	0,020	ml	9	A	normální
Objem, kombinovaná standardní nejistota	0,066	ml	1100		

Závěrečným krokem vyhodnocení nejistoty je výpočet rozšířené nejistoty  $U$ , která se pak obvykle uvádí spolu s výsledkem. Obecně pro veličinu  $Y$  se výsledek uvádí  $Y = y \pm U$ . Například látkovou koncentraci HCl můžeme udat  $0,102 \pm 0,002 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ , přičemž údaj za  $\pm$  je právě rozšířená nejistota.

Neměli bychom opomenout provedení přezkumu bilance nejistoty měření a posouzení, které složky do celkové nejistoty přispívají nejvíce či naopak nejméně. Obecně doporučení uvádí, že složky menší než jedna pětina největší složky lze ve výpočtu zanedbat a jejich případná optimalizace se na celkové nejistotě měření projeví pouze minimálně.

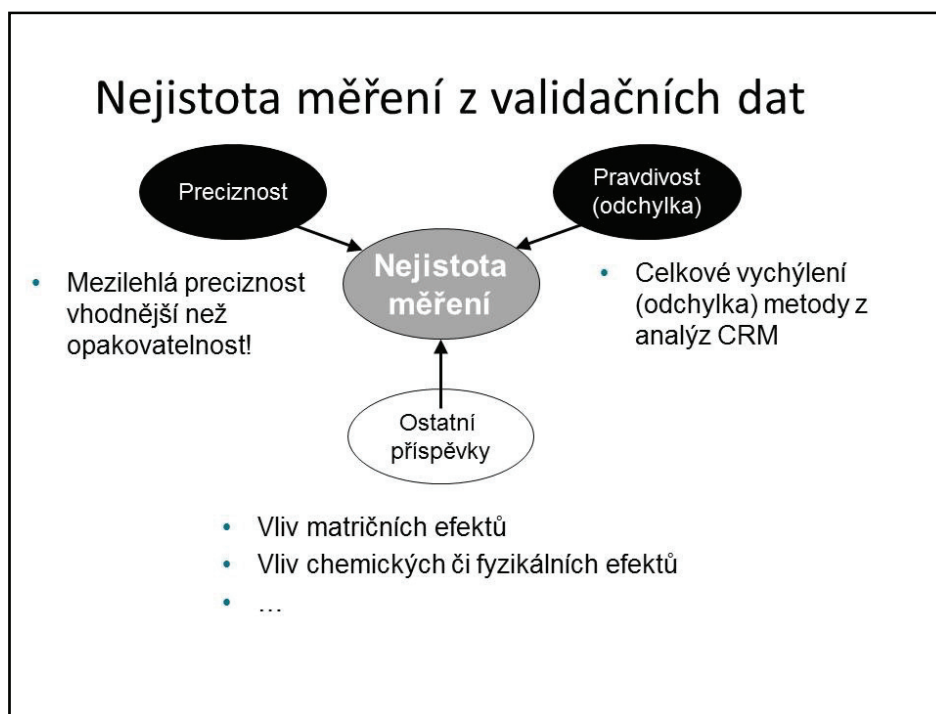
Doposud popisovaný způsob vyhodnocení nejistoty měření označovaný „zdola nahoru“ nebo přístup modelováním je časově a také finančně náročný, což přivedlo odborné společnosti k hledání jiných přístupů k vyhodnocování nejistoty. Všeobecně přijímaným dokumentem popisujícím praktické vyhodnocení nejistoty přístupem, který je označován „shora dolů“ je pokyn Eurachem/CITAC Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement vydaný v češtině jako Kvalimetrie 19 [1]. Tento dokument představuje odhad nejistoty s využitím údajů:

- z vnitrolaboratorní validační studie,
- z vnitrolaboratorní validační studie a z dat řízení kvality a

- provedení odhadu nejistoty na základě údajů z mezilaboratorní studie používané metody.

Základem přístupu vyhodnocení nejistoty měření z validačních údajů je sloučení nejistot z odhadů preciznosti a z odhadů vychýlení (obr. 1), přičemž:

nejistota měření = mezilehlá preciznost + nejistota vychýlení + případné ostatní příspěvky



**Obr. 1. Schématické znázornění vyhodnocení nejistoty měření s využitím validačních dat**

Nejistota měření se odhadne jako odmocnina ze součtu čtverců směrodatné odchylky  $s_{RW}$ , charakterizující (ne)preciznost měření, a odhadu nejistoty vychýlení  $u_{bias}$ , který charakterizuje vychýlení měření. Kombinovaná standardní nejistota  $u_c$  je pak vyjádřena rovnicí 1

$$u_c = \sqrt{s_{RW}^2 + u_{bias}^2} \quad (1)$$

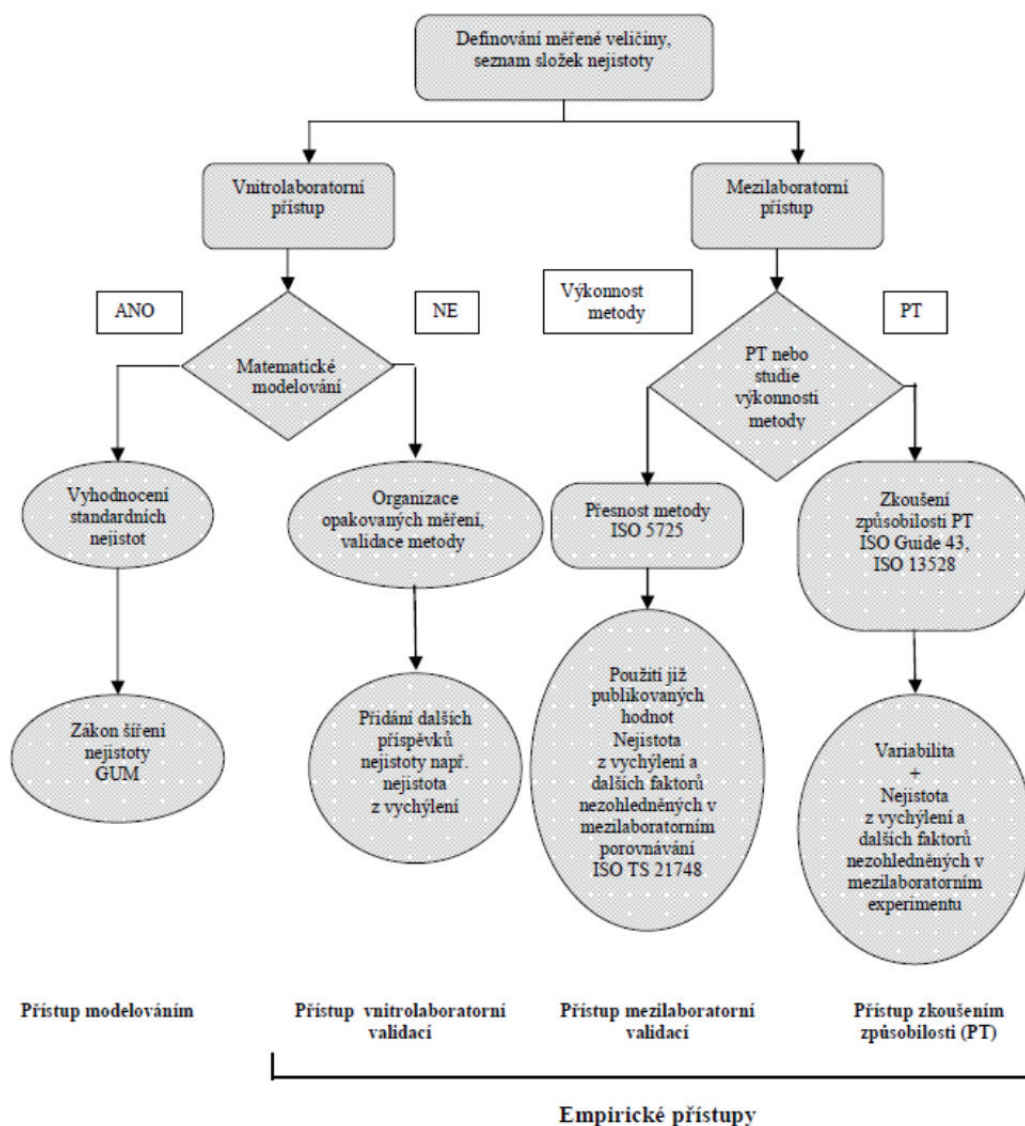
Předpokládá se, že při zjišťování vychýlení měření jsou přijata nápravná opatření, aby se odstranilo anebo alespoň redukovalo vychýlení v co největším možném rozsahu. Odhad nejistoty zahrnuje možné vychýlení, které zbývá po provedené korekci. K jeho odhadu lze použít údaje z opakovaných měření CRM (rovnice 2):

$$u_{bias} = \sqrt{\Delta^2 + u_{ref}^2 + \frac{s^2}{n}}, \text{ kde } (2)$$

$\Delta$  je rozdíl průměru z opakovaných měření CRM a certifikované hodnoty;  $u_{ref}$  představuje standardní nejistotu certifikované hodnoty CRM; a  $s$  je směrodatná odchylka z  $n$  opakovaných měření CRM.

Využití přístupu „shora dolů“ laboratořím značně usnadňuje práci. Není zapotřebí provádět časově náročnou sérii dalších experimentů, ale lze využít již jednou v laboratoři naměřená data. Alternativní přístupy k vyhodnocování nejistot jsou pro chemiky přijatelným způsobem zpracovány v Technické zprávě Eurolab 1/2007 [5]. Obrázek 2 schématicky znázorňuje v současné době používané přístupy používané k vyhodnocování nejistoty měření.





Obr. 2. Schématické znázornění volby přístupu k vyhodnocení nejistoty podle TZ EUROLAB 1/2007 [3]

Závěrem pouze stručně uvedeme dvě oblasti, ve kterých lze aplikovat nejistotu měření a je to bezesporu přínosné. Není to však doposud vyžadováno legislativou. Jedná se o nejistotu měření související se vzorkováním. Otázka odběru vzorků je snad i komplikovanější než otázka samotné chemické analýzy, protože existuje celá řada odběrových technik, strategií na nepřeborné množství vzorků. Přesto se v roce 2007 podařilo publikovat první podrobnější příručku v této oblasti, jejíž český překlad publikoval Eurachem-ČR jako součást své řady příruček Kvalimetrie 15 [6]. Dokument zevrubně popisuje empirický a modelový přístup odběru vzorků a odhadu nejistoty v těchto případech. Druhou oblastí je použití nejistoty k posuzování shody s limitními hodnotami. Jak postupovat v případě, že povolenou limitní hodnotu nepřekročil výsledek, ale jeho nejistota ano či naopak výsledek překročil limitní mez, ale jeho nejistota ještě spadá pod tuto mez? Možné způsoby vyhodnocení uvádí dokument Eurachem/CITAC, v českém překladu opět součástí Kvalimetrie 15 [6].

#### POUŽITÁ A DOPORUČENÁ LITERATURA:

1. Suchánek M., Milde D. (Eds.): Kvalimetrie 19: Stanovení nejistoty analytického měření. Eurachem-ČR, čtvrté vydání, Praha 2014.
2. Doškářová Š., Janoš P., Plzák Z., Suchánek M., Šubrt P.: Kvalimetrie 13: Odhad nejistot chemických a mikrobiologických měření. Metodická příručka. Eurachem-ČR, Praha 2003.
3. EUROLAB Technická zpráva 1/2007: Revize nejistot měření: alternativní přístupy k vyhodnocení nejistot. EUROLAB-CZ, Praha 2008.
4. TNI 014109-3.1: Nejistota měření – část 3: Pokyn k vyjádření nejistoty měření (GUM:1995), doplněk 1: šíření rozdělení užitím metod Monte Carlo (Pokyn ISO/IEC 98-3/Doplněk 1). ČNI, Praha 2011.



5. Magnusson B., Näykki T., Hovind H., Krysell M.: Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories. Nordtest Report TR 537, Espoo 2004.
6. Suchánek M. (Ed.): Kvalimetrie 15: Použití informací o nejistotě k posuzování shody. Nejistota měření vyplývající z odběru vzorků. Eurachem-ČR, Praha 2008.

#### **PODĚKOVÁNÍ**

Autor děkuje za finanční podporu MŠMT ČR v rámci projektu INGO (LG 14029).



# VYHODNOCENÍ NEJISTOT MĚŘENÍ VE ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI A ZPŮSOB JEJICH STANOVENÍ

Alena Nižnanská<sup>a)</sup>, Alena Čapková<sup>b)</sup>, Jana Kabátová<sup>c)</sup>, Richard Burda<sup>c)</sup>

<sup>a)</sup>CSlab spol. s r.o., Bavorská 856, 155 00 Praha 5,  
e-mail: cslab@cslab.cz

<sup>b)</sup>HYDRAC, alena.capkova@post.cz

<sup>c)</sup>Pražské vodovody a kanalizace, a.s., Ke Kablu 971, 102 00 Praha 10,  
e-mail: jana.kabatova@pvk.cz, richard.burda@pvk.cz

## ÚVOD

Společnost CSlab spol s r.o. (dále CSlab) se zabývá vzděláváním pracovníků v oblasti životního prostředí a pořádáním programů zkoušení způsobilosti (PT - proficiency testing). Je držitelem Osvědčení o akreditaci č. 479/2013 pro poskytovatele zkoušení způsobilosti č. 7003 vydaného Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. dle normy ČSN EN ISO/IEC 17043 [1] a má akreditováno 17 programů PT v oblasti fyzikálně - chemických a chemických zkoušek vod, ovzduší, zemin, sedimentů, kalů, odpadů, mikrobiologických a biologických zkoušek vod, ekotoxických testů, vzorkování vod, kalů, sedimentů, odpadů a senzorické analýzy vod.

CSlab vychází při organizování programů zkoušení způsobilosti z legislativních předpisů a technických norem.

Co je zkoušení způsobilosti? Zkoušení způsobilosti (PT) je vyhodnocení výkonnosti účastníka vůči předem stanoveným kritériím pomocí mezilaboratorního porovnávání [1]. Jedná se tedy o externí kontrolu účastníka (laboratoře).

Cílem PT je vyhodnocení výkonnosti účastníka u specifických zkoušek nebo měření, identifikace problémů účastníka, stanovení efektivnosti a srovnatelnosti zkušebních nebo měřících metod, poskytnutí další důvěryhodnosti účastníka pro jeho zákazníky, identifikace rozdílů mezi účastníky, další vzdělávání či validace deklarovaného odhadu nejistoty.

Nejistota je definovaná jako nezáporný parametr charakterizující rozptýlení hodnot veličiny přiřazených k měřené veličině na základě použité informace [1].

## PROGRAM ZKOUŠENÍ ZPŮSOBILOSTI PT/CHA/4/2015 (PT31)

Tento příspěvek se zabývá právě nejistotou měření, způsoby jejího stanovení a reálnými hodnotami, které účastníci (laboratoře) uváděli v protokolech ve zkoušení způsobilosti, a to v programu PT/CHA/4/2015 (PT31) Vybrané ukazatele jakosti pitné a povrchové vody – základní chemický rozbor.

Všechny vzorky pro toto PT připravily Pražské vodovody a kanalizace, a.s., Útvar kontroly kvality vody – Oddělení laboratorní kontroly Praha (manažer Ing. Lenka Vavrušková, za přípravu odpovídali Ing. Richard Burda, Ph.D., Ing. Jaroslava Palasová, Ing. Hana Tomešová). Útvar kontroly kvality vody, zkušební laboratoř č. 1247, je držitelem Osvědčení o akreditaci podle ČSN EN ISO/IEC 17025:2005 vydaném Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. a je subdodavatelem CSlab pro přípravu zkušebních položek.

Laboratoře obdržely jednu vzorkovnici o objemu 2 l, ve které bylo možné stanovit podle objednaných ukazatelů: konduktivitu, KNK-4,5, dusičnany, chloridy, sirany, draslík, hořčík, sodík, vápník nebo uměle připravené vzorky pro ukazatele pH, BSK-5, CHSK-Mn, CHSK-Cr, amonné ionty, dusitany, fosforečnany, celkový dusík, organický dusík, celkový fosfor, fluoridy, mangan, železo, bor, hliník, celkové kyanidy, fenoly, absorbance při 254 nm, huminové látky, aniontové tenzidy, celkový organický uhlík, rozpuštěné látky sušené a rozpuštěné látky žíhané, nerozpuštěné látky sušené a žíhané, barva, zákal, bromičnany, chlorečnany, chloritany, ZNK-8,3, absorbance při 435 nm, 510 nm, 585 nm, 655 nm [2]. U dvoulitrové vzorkovnice se jednalo o vzorek technologické (mezioperační) vody z odběrového místa Infiltrovaná voda v ÚV Sojovice.

Vzorky byly laboratořím předány 14. 4. 2015 v Praze, Brně a Ostravě na obvyklých distribučních místech (CSlab spol. s r.o., Bavorská 856/14, Praha 5, GEOtest, a. s., Šmahova 112, 659 01 Brno a Aqualia infraestructuras inženýring s.r.o., Slavníkovců 21/571, Ostrava).

Laboratoř analyzovala vzorek jednou a dodala jeden výsledek (údaj povinný) ke každému objednanému ukazateli a rozšířenou nejistotu včetně způsobu jejího stanovení (údaje nepovinné) do protokolu. Rozšířenou nejistotu mohli účastníci uvést buď v rozměrech výsledku nebo v %. Nejistota výsledku uvedená v protokolu v % byla automaticky přepočítána.

Účastníci při volbě způsobu stanovení svých nejistot si mohli vybrat mezi jednotlivými postupy [3]:

- A. Vyhodnocení nejistoty kvantifikováním jednotlivých složek (vyhodnocení standardních nejistot – Zákon šíření nejistoty GUM)
- B. Odhad nejistoty s využitím údajů z validace (organizace opakovaných měření, validace metody, přidání dalších příspěvků nejistoty např. nejistota vychýlení, matriční vlivy, údaje z řízení kvality (z regulačních diagramů))
- C. Používání údajů ze zkoušení způsobilosti
- D. Odborný odhad
- E. Jiný.

Dodané výsledky byly vyhodnoceny podle norem ČSN ISO 5725 [4] a ISO 13528 [5] a výkonnost účastníka pomocí Z-skóre. Pro informaci bylo vypočítáno také  $E_n$  číslo, které v sobě zahrnuje i údaje o nejistotách. Uvedené rozšířené nejistoty byly vyhodnoceny v tabulkách a v grafech v závěrečné zprávě k tomuto PT [2].

Pro informaci uvádíme:

- Z-skóre

$$Z = \frac{x - X}{\sigma}$$

$x$  je výsledek účastníka,  $X$  je vztažná hodnota,  $\sigma$  je směrodatná odchylka pro posuzování způsobilosti (míra rozptýlení používaná při vyhodnocení výsledků zkoušení způsobilosti).

-  $E_n$  číslo

$$E_n = \frac{x - X}{\sqrt{U_{lab.}^2 + U_{ref.}^2}}$$

$x$  je výsledek účastníka,  $X$  je vztažná hodnota,  $U_{lab.}$  je rozšířená nejistota výsledku účastníka,  $U_{ref.}$  je rozšířená nejistota vztažné hodnoty.

## VYHODNOCENÍ

Tohoto programu se zúčastnilo 144 účastníků a celkem bylo stanoveno 45 ukazatelů.

Průměrná úspěšnost laboratoří podle Z-skóre byla 95 % a podle  $E_n$  čísla 86 %. Výsledky jsou podobné jako v minulých PT.

Průměrná rozšířená nejistota všech výsledků byla 12,7 %, v roce 2014 12,1 %, v roce 2013 12,4 % stejně jako v roce 2012, v roce 2011 12,7 %, v roce 2010 12,2 %, v roce 2009 12,1 %, v roce 2008 11,8 %, v roce 2007 11,5 %.

V tabulkách č. 1, 2, 3 jsou uvedeny informace o ukazatelích, jejich nejistotách a způsobu stanovení podle informací z protokolů, které nám vyplnily laboratoře.

**Tabulka 1: Počet dodaných výsledků a nejistot v PT/CHA/4/2015 (PT31)**

Počet všech výsledků	2903	%
Počet výsledků dodaných s rozšířenou nejistotou (bez i se způsobem její stanovení)	2663	91,7
Počet výsledků dodaných s rozšířenou nejistotou a způsobem jejího stanovení	1722	59,3
A. Vyhodnocení nejistoty kvantifikováním jednotlivých složek	128	7,4
B. Odhad nejistoty s využitím údajů z validace	1448	84,1
C. Používání údajů ze zkoušení způsobilosti	27	1,6
D. Odborný odhad	119	6,9
E. Jiný	0	0

Tabulka 2: Hodnoty a rozšířené nejistoty v PT/CHA/4/2015

Ukazatel/jednotka		Laboratoře celkem	Laboratoře nejistota	Průměr	Vztažná hodnota	Průměr $U_{lab}$	Průměr $U_{lab}$ v %	Minim. $U_{lab}$	Minim. $U_{lab}$ v %	Maxim. $U_{lab}$	Maxim. $U_{lab}$ v %
Konduktivita	[mS/m]	115	104	43,5	43,6	2,4	5,5	0,4	0,9	10,9	25,1
KNK-4,5	[mmol/l]	111	101	2,64	2,64	0,21	8,0	0,05	1,9	0,54	20,5
Dusičnany	[mg/l]	117	109	12,4	12,4	1,3	10,5	0,2	1,6	2,8	22,6
Chloridy	[mg/l]	113	107	22,9	22,9	2	8,7	0,5	2,2	5,5	24,0
Sírany	[mg/l]	111	103	46,3	46,2	5	10,8	0,9	1,9	13,8	29,8
Draslík	[mg/l]	51	49	2,8	2,8	0,4	14,3	0,1	3,6	0,7	25,0
Hořčík	[mg/l]	94	86	5,9	5,9	0,6	10,2	0,2	3,4	1,4	23,7
Sodík	[mg/l]	53	50	11,9	11,9	1,4	11,8	0,4	3,4	2,5	21,0
Vápník	[mg/l]	95	88	66,8	66,6	6,2	9,3	1,3	1,9	13,7	20,5
pH	[-]	120	107	6,8	6,8	0,2	2,9	0,006	0,1	0,7	10,3
BSK-5	[mg/l]	73	69	4,5	4,6	0,8	17,8	0,4	8,9	1,5	33,3
CHSK-Mn	[mg/l]	102	93	2,48	2,40	0,36	14,5	0,08	3,2	0,84	33,9
CHSK-Cr	[mg/l]	78	73	27,6	26,0	4,1	14,9	0,8	2,9	9,5	34,4
Amonné ionty	[mg/l]	122	113	0,307	0,320	0,037	12,1	0,009	2,9	0,08	26,1
Dusitany	[mg/l]	116	109	0,229	0,230	0,026	11,4	0,007	3,1	0,061	26,6
Fosforečnany	[mg/l]	101	95	0,181	0,180	0,024	13,3	0,007	3,9	0,08	44,2
Celkový dusík	[mg/l]	51	49	6,76	6,50	0,98	14,5	0,32	4,7	2,02	29,9
Organický dusík	[mg/l]	15	12	4,21	4,20	0,68	16,2	0,38	9,0	1,81	43,0
Celkový fosfor	[mg/l]	69	64	0,197	0,190	0,027	13,7	0,007	3,6	0,068	34,5
Fluoridy	[mg/l]	68	65	0,45	0,45	0,07	15,6	0,02	4,4	0,12	26,7
Mangan	[mg/l]	82	75	0,207	0,210	0,027	13,0	0,01	4,8	0,047	22,7
Železo	[mg/l]	83	76	0,20	0,20	0,03	15,0	0	0,0	0,05	25,0
Bor	[mg/l]	36	34	0,45	0,45	0,06	13,3	0,03	6,7	0,09	20,0
Hliník	[mg/l]	66	57	0,210	0,210	0,03	14,3	0,01	4,8	0,07	33,3
Celkové kyanidy	[mg/l]	42	39	0,055	0,055	0,009	16,4	0,003	5,5	0,018	32,7
Fenoly	[mg/l]	27	26	0,048	0,048	0,007	14,6	0,003	6,3	0,012	25,0
Absorbance 254 nm	[-]	69	64	0,065	0,065	0,007	10,8	0,003	4,6	0,018	27,7
Huminové látky	[mg/l]	45	40	2,8	2,8	0,5	17,9	0,2	7,1	0,7	25,0
Aniontové tenzidy	[mg/l]	39	37	0,42	0,45	0,06	14,3	0,04	9,5	0,11	26,2
TOC	[mg/l]	42	41	5,1	5,1	0,8	15,7	0,3	5,9	1,5	29,4
RL sušené	[mg/l]	72	70	393	420	43	10,9	5	1,3	100	25,4
RL žíhané	[mg/l]	64	62	192	190	22	11,5	8	4,2	51	26,6
Nerozp. látky sušené	[mg/l]	72	67	46	48	6	13,0	2	4,3	12	26,1
Nerozp. látky žíhané	[mg/l]	36	35	28	32	5	17,9	2	7,1	9	32,1
Barva	[mg/l Pt]	86	75	21	21	3	14,3	1	4,8	7	33,3
Zákal	[ZFn]	47	45	4,6	4,6	0,7	15,2	0,2	4,3	1,4	30,4
Zákal	[ZFt]	41	34	4,6	4,6	0,7	15,2	0,3	6,5	1,4	30,4
Bromičnany	[μg/l]	19	19	16,9	17,0	2,5	14,8	0,8	4,7	4	23,7
Chlorečnany	[μg/l]	12	12	95,7	95,0	12,4	13,0	4,7	4,9	19,6	20,5
Chloritany	[μg/l]	20	20	100,8	110,0	13,5	13,4	5	5,0	21,8	21,6
ZNK-8,3	[mmol/l]	67	61	0,20	0,18	0,03	15,0	0,005	0,3	0,1	50,0
Absorbance 435 nm	[-]	19	11	0,126	0,126	0,011	8,7	0,005	4,0	0,02	15,9
Absorbance 510 nm	[-]	19	11	0,290	0,290	0,026	9,0	0,005	1,7	0,047	16,2
Absorbance 585 nm	[-]	19	11	0,057	0,057	0,005	8,8	0,003	5,3	0,009	15,8
Absorbance 655 nm	[-]	19	11	0,144	0,144	0,013	9,0	0,005	3,5	0,023	16,0

Laboratoře celkem – počet laboratoří, které dodaly výsledky, Laboratoře nejistota – počet laboratoří, které uvedly do protokolu spolu s výsledkem daného ukazatele i rozšířenou nejistotu, Průměr – průměr výsledků ukazatele vypočítaný ze všech dodaných hodnot po vyloučení odlehlých výsledků, Vztažná hodnota - hodnota přiřazená konkrétní vlastnosti položky zkoušky způsobilosti [1], Průměr  $U_{lab}$  – průměr rozšířené nejistoty, který byl vypočítaný z hodnot, které uvedly laboratoře, Minim.  $U_{lab}$  – minimální rozšířená nejistota daného ukazatele, minimální hodnota, kterou uvedla jedna z laboratoří, Maxim.  $U_{lab}$  – maximální rozšířená nejistota daného ukazatele, maximální hodnota, kterou uvedla jedna z laboratoří

91,7 % účastníků uvedlo hodnoty výsledků i s nejistotou. Je to pozitivní vývoj oproti minulým PT, kdy jen asi 2/3 účastníků uváděla výsledky s nejistotami. Tento trend souvisí s vývojem v laboratořích, protože většina laboratoří, které se účastnily PT, jsou akreditované podle normy ČSN EN ISO/IEC 17025 [6]. Ta vyžaduje uvádění nejistot spolu s výsledkem zkoušky. 59,3 % účastníků uvedlo nejistotu i se způsobem jejího stanovení. 84,1 % účastníků, které poskytli údaje o způsobu výpočtu nejistot, uvedlo postup B, a to odhad nejistoty s využitím údajů z validace (organizace opakovaných měření, validace metody, přidání dalších příspěvků nejistoty např. nejistota vychýlení, matriční vlivy, údaje z řízení kvality (z regulačních diagramů)).

7,4 % účastníků uvedlo vyhodnocení nejistoty kvantifikováním jednotlivých složek (vyhodnocení standardních nejistot – Zákon šíření nejistoty GUM). 6,9 % účastníků uvádělo odborný odhad a jen 1,6 % použilo údaje ze zkoušení způsobilosti.

V tabulce 2 jsou uvedeny nejistoty minimální, maximální a průměrné hodnoty rozšířených nejistot. Z těchto údajů vyplývá, že existují velké rozdíly v hodnotách uvedených rozšířených nejistot pro jednotlivé ukazatele. Podobné výsledky nejistot jsou i u ostatních PT pořádaných CSLab (kovy, organické ukazatele ve vodách a pevných maticích). Laboratoře by měly své nejistoty porovnat s uvedenými hodnotami a přehodnotit je.

V tabulce č. 3 jsou pro některé ukazatele uvedeny rozšířené nejistoty podle jednotlivých norem a podle způsobu určení nejistot. Pro rozsáhlost údajů jsou všechny hodnoty uvedeny na webu [www.cslab.cz](http://www.cslab.cz).

Z uvedených výsledků vyplývá, že u stejných norem, u stejného způsobu výpočtu nejistot a stejné koncentrace ukazatele existují velké rozdíly v hodnotách uváděných nejistot (např. vápník podle ČSN ISO 6058, CHSK-Mn podle ČSN EN ISO 8467).

**Tabulka 3: Vyhodnocení nejistot PT/CHA/4/2015 podle způsobu zjištění a podle analytických postupů**

Ukazatel	Metoda	A			B			C			D		
		Počet	N %	Min - max	Počet	N %	Min - max	Počet	N %	Min - max	Počet	N %	Min - max
<b>Vápník</b>													
ČSN 83 0520/5, ČSN 83 0530/16	Titrace Chelatonem III	-	-	-	-	-	-	2	12,5	10,0 - 15,0	-	-	-
ČSN ISO 6058	Odměrná analýza s EDTA	1	5,0	-	30	8,2	2,0 - 20,0	-	-	-	4	9,3	5,0 - 12,0
ČSN ISO 7980	Stanovení Ca a Mg – AAS	1	15,0	-	7	10,2	5,0 - 15,0	-	-	-	-	-	-
ČSN EN ISO 14 911	Chromatografie iontů	-	-	-	1	5,0	-	-	-	-	-	-	-
ČSN ISO 11 885	ICP AES	2	8,1	6,0 - 10,3	5	7,8	5,0 - 10,0	-	-	-	-	-	-
ČSN EN ISO 17294-2	ICP-MS	-	-	-	4	15,5	10,0 - 20,0	-	-	-	-	-	-
<b>pH</b>													
ČSN 83 0520/9, ČSN 83 0530/4	Potenciometrie	-	-	-	2	0,2	0,1 - 0,2	-	-	-	-	-	-
ČSN ISO 10 523	Stanovení pH	5	0,14	0,006 - 0,2	56	0,05 - 0,5	-	1	1,1	-	8	0,19	0,1 - 0,5
<b>BSK<sub>5</sub></b>													
ČSN EN 1899	Kyslíková elektroda	1	30,0	-	32	18,8	11,4 - 30,0	-	-	-	2	15,5	14,0 - 15,0
ČSN EN 1899	Jodometrie	1	20,0	-	8	13,9	10,0 - 17,0	-	-	-	-	-	-
Jiná		1	11,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ukazatel	Metoda	A			B			C			D		
		Počet	N %	Min - max	Počet	N %	Min - max	Počet	N %	Min - max	Počet	N %	Min - max
<b>CHSK-Mn</b>													
ČSN 83 0520/14, ČSN 83 0530/19	Ohřev elektricky	-	-	-	-	-	-	1	13,4	-	1	15,0	-
ČSN EN ISO 8467	Vodní lázeň	4	15,1	9,9 - 20,0	36	14,9	3,0 - 30,7	1	6,4	-	4	12,9	7,0 - 15,0
ČSN EN ISO 8467	Blokový termostat	1	10,0	-	14	14,0	7,0 - 20,0	-	-	-	1	16,0	-
Jiná		-	-	-	1	22,0	-	-	-	-	-	-	-
<b>CHSK-Cr</b>													
ČSN ISO 15705	Metoda ve zkumavkách	2	15,0	10,0 - 20,0	25	15,1	3,0 - 22,3	-	-	-	2	15,0	13,1 - 17,0
ČSN ISO 6060 včetně změny Z1	Titrační metoda	-	-	-	8	14,4	5,0 - 20,0	-	-	-	-	-	-
TNI 75 7521	Metoda ve zkumavkách	-	-	-	1	12,5		-	-	-	-	-	-
ČSN ISO 17381	Komerční analytické soupravy	1	10,2	-	5	20,8	14,5 - 30,3	-	-	-	-	-	-
Amonné ionty													
ČSN 83 0520/19, ČSN 83 0530/26	Nesslerovo činidlo	1	10,0	-	1	15,0	-	1	15,0	-	-	-	
ČSN ISO 7150-1	Manuální spektrometrická metody	5	9,8	7,0 - 15,0	46	11,2	3,6 - 21,9	-	-	-	6	13,8	11,6 - 15,0
ČSN EN ISO 11 732	CFA a FIA	-	-	-	5	14,0	10,0 - 20,0	-	-	-	-	-	-
ČSN ISO 17381	Komerční analytické soupravy	-	-	-	5	16,1	11,6 - 24,0	-	-	-	-	-	-
Diskrétní analyzátor		-	-	-	4	12,6	10,0 - 15,0	-	-	-	-	-	-
Jiná		-	-	-	1	20,0		-	-	-	-	-	-
<b>Fosforečnany</b>													
ČSN 83 0520/10, ČSN 83 0530/22		-	-	-	-	-	-	1	15,0	-	-	-	
	Spektrofotometrie s molybdenanem amonným a SnCl <sub>2</sub>	-	-	-	1	17,0	-	-	-	-	-	-	
ČSN EN ISO 6878	s molybdenanem amonným	5	13,7	5,0 - 24	29	11,0	4,0 - 20,00	1	12,8	-	3	15,0	10,0 - 20,0
ČSN EN ISO 10 304 - 1	Metoda kapalinové chromatografie iontů	-	-	-	5	19,5	6,0 - 41,5	-	-	-	-	-	-
ČSN EN ISO 15681-1	Metoda průtokové injekční analýzy (FIA)	-	-	-	1	10,0		-	-	-	-	-	-
ČSN EN ISO 15681-2	Stanovení Metoda kontinuální průtokové analýzy (CFA)	-	-	-	4	12,5	10 - 15,0	-	-	-	-	-	-
ČSN ISO 17381	Komerční analytické soupravy	-	-	-	4	15,0	10,0 - 25,0	-	-	-	-	-	-
Diskrétní analyzátor		-	-	-	4	17,5	10,0 - 20,0	-	-	-	-	-	-
Jiná		-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-

Ukazatel	Metoda	A			B			C			D		
		Počet	N %	Min - max	Počet	N %	Min-max	Počet	N %	Min-max	Počet	N %	Min - max
<b>Celkový fosfor</b>													
ČSN EN ISO 6878	s molybdenanem amonným	1	25,0	-	18	10,5	4,0 - 20,0	-	-	-	2	14,3	11,1 - 17,4
ČSN EN ISO 11885	ICP AES	1	20,0	-	5	12,0	10,0 - 15,0	-	-	-	-	-	-
ČSN EN ISO 15681-1	Metoda průtokové injekční analýzy (FIA)	-	-	-	1	10,0		-	-	-	-	-	-
ČSN EN ISO 15681-2	Metoda kontinuální průtokové analýzy (CFA)	-	-	-	3	12,3	7,0 - 15,0	-	-	-	-	-	-
ČSN EN 17294-2	s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)	-	-	-	4	16,2	10,0 - 20,0	-	-	-	-	-	-
ČSN ISO 17381	Komerční analytické soupravy	-	-	-	3	22,8	9,8 - 32,3	-	-	-	1	10,0	
Diskrétní analyzátor		-	-	-	1	19,8	-	-	-	-	-	-	-
<b>Železo</b>													
ČSN ISO 6332	Spektrofotometrická metoda s 1,10-fenanthrolinem	2	12,5	6,0 - 19,0	23	10,6	2,0 - 17,6	1	10,0	-	4	17,5	15,0 - 20,0
ČSN 75 7385	Plamenová atomová absorpční spektrometrie	1	20,0	-	6	17,8	14,7 - 21,8	-	-	-	-	-	-
ČSN ISO 11 885	ICP AES	-	-	-	8	11,6	10,0 - 20,0	-	-	-	-	-	-
ČSN EN ISO 17294-2	ICP-MS	-	-	-	3	18,3	15,0 - 20,0	-	-	-	-	-	-
ČSN ISO 17381	Komerční analytické soupravy	-	-	-	4	19,7	15,0 - 25,5	-	-	-	-	-	-
Jiná		-	-	-	1	9,5		-	-	-	-	-	-
<b>Hliník</b>													
ČSN 83 0520/22, ČSN 83 0530/38	Spektrofotometrie -- eriochromcyanin R	-	-	-	1	15,0		-	-	-	-	-	-
ČSN ISO 10 566	S pyrokatecholovou violetí	2	12,5	10,0 - 15,0	16	14,0	10,0 - 20,0	-	-	-	4	15,0	15,0 - 15,0
ČSN ISO 11 885	ICP AES	-	-	-	6	12,6	10,0 - 15,0	-	-	-	-	-	-
ČSN EN ISO 12 020	AAS	-	-	-	3	16,0	10,0 - 19,0	-	-	-	-	-	-
ČSN EN ISO 17294-2	ICP-MS	-	-	-	3	18,9	15,0 - 21,8	-	-	-	-	-	-
ČSN ISO 17381	Komerční analytické soupravy	-	-	-	3	14,3	9,0 - 19,0	-	-	-	-	-	-
<b>Fenoly</b>													
ČSN ISO 6439	s 4-aminoantipyrinem po destilaci	2	13,9	12,8 - 15,0	10	17,3	5,0 - 30,0	-	-	-	-	-	-
Jiná		-	-	-	1	10,0	-	-	-	-	-	-	-
<b>Humínové látky</b>													
ČSN 83 0520/29		2	12,4	10,0 - 14,5	2	12,4	10,0 - 14,7				1	10,0	
ČSN 75 7536		-	-	-	22	16,8	10,0 - 26,0				2	15,0	10,0 - 20,0



Ukazatel	Metoda	A			B			C			D		
		Počet	N %	Min - max	Počet	N %	Min - max	Počet	N %	Min - max	Počet	N %	Min - max
<b>Aniontové tenzidy</b>											-		
ČSN 83 0530/34	S methylenovou modří	-	-	-	1	15,0	-	-	-	-	-	-	-
ČSN EN 903	Methylenovou modří (MBAS)	1	20,0	-	14	15,7	12,0 - 23,1	-	-	-	-	-	-
ČSN ISO 16265	Metoda kontinuální průtokové analýzy (CFA)	1	14,3	-	1	11,0	-	-	-	-	-	-	-
ČSN ISO 17381	Komerční analytické soupravy	-	-	-	2	19,5	15,0 - 24,0	-	-	-	-	-	-
Jiná		-	-	-	1	20,0		-	-	-	-	-	-
<b>TOC</b>											1		
ČSN EN 1484	Stanovení TOC a DOC	1	25,0		16	14,2	5,0 - 25,0	1	15,0		-		
ČSN ISO 17381	Komerční analytické soupravy	-	-	-	1	13,2		-	-	-	-	-	-
Jiná		-	-	-	1	20		-	-	-	-	-	-
<b>Rozpuštěné látky sušené</b>													
ČSN 75 7346	Stanovení rozpuštěných látek	3	10,6	7,5 - 14,2	37	10,6	4,1 - 21,1				2	15,5	15,0 - 16,0
ČSN 75 7347	Stanovení RAS	-	-	-	1	11,0							
Jiná		-	-	-	2	5,6	1,2 - 10,0	-	-	-	-	-	-

Počet – počet laboratoří, které uvedly danou normu a způsob výpočtu stanovení rozšířené nejistoty, N % - rozšířená nejistota v %, Min – max – minimální a maximální hodnoty rozšířené nejistoty v %, u pH – rozšířené nejistoty jsou uvedeny v jednotkách

## ZÁVĚR

Tento příspěvek byl věnován stanovením rozšířených nejistot podle norem a způsobu jejich stanovení v programu zkoušení způsobilosti PT 31 Ukazatele základního chemického rozboru.

Ze všech dodaných výsledků (2903) účastníky 59,3 % uvedlo hodnoty výsledků s nejistotou a se způsobem jejího stanovení. 84,1 % účastníků uvedlo postup B, a to odhad nejistoty s využitím údajů z validace.

V literatuře se uvádí, že odhady nejistoty vycházející z údajů vnitrolaboratorní validace jsou příliš malé ve srovnání s údaji z mezilaboratorních porovnávacích zkoušek jakými jsou zkoušení způsobilosti. Za těchto okolností je zpravidla nezbytné zvýšit odhad nejistoty laboratoře. Naopak, nové měřicí zařízení, zvýšená kvalita měření nebo zlepšené údaje z validace, mohou ospravedlnit snížení odhadu nejistoty.

Toto tvrzení se nám tak úplně nepotvrdilo.

Pro rozsáhlost údajů jsou všechny hodnoty podle jednotlivých norem a způsobu stanovení uvedeny na webu [www.cslab.cz](http://www.cslab.cz) v oddílu zkoušení způsobilosti pod programem PT/CHA/4/2015 (PT31) – Vyhodnocení nejistot PT/CHA/4/2015 (PT31).

## LITERATURA

- [1] ČSN EN ISO/IEC 17043 Posuzování shody – Všeobecné požadavky na zkoušení způsobilosti, ÚNMZ, 2010.
- [2] Nižnanská, A., Kořínek, P., Kabátová J.: Zpráva ze zkoušení způsobilosti PT/CHA/4//2015, CSLab s r.o., Praha.
- [3] Suchánek M., Milde D. (Eds.): Kvalimetrie 19: Stanovení nejistoty analytického měření. Eurachem-ČR, čtvrté vydání, Praha 2014.
- [4] ČSN ISO/IEC 5725-2: Přesnost (správnost a shodnost) metod a výsledků měření. Český normalizační institut 2007.
- [5] ISO 13528 Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons, Ženeva 2005.
- [6] ČSN EN ISO/IEC 17025:2005 Posuzování shody - Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří. Český normalizační institut 2005.



# VYUŽITÍ EPIDEMIOLOGIE ODPADNÍCH VOD PŘI SLEDOVÁNÍ DROG V ODPADNÍCH VODÁCH V ČESKÉ REPUBLICE

Věra Očenášková, Petr Tušil, Danica Pospíchalová, Alena Svobodová, Petra Kolářová, Ivana Truxová, David Chrastina

*Výzkumný ústav vodohospodářský T. G. Masaryka, veřejná výzkumná instituce,  
Podbabská 2582/30, 160 00 Praha 6*

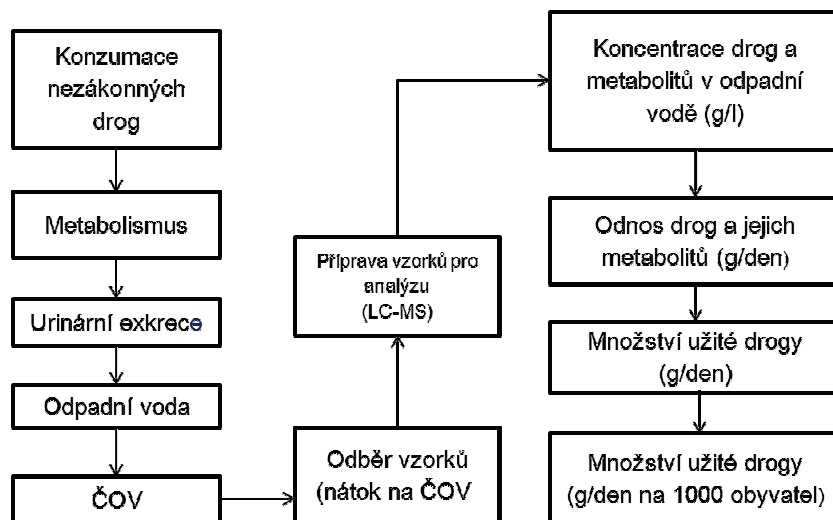
## ÚVOD

Ve zvláštní zprávě Evropského monitorovacího centra pro drogy a drogové závislosti (EMCDDA) z roku 2008 (Frost 2008) byl popsán obecný princip nového přístupu k monitorování a zpřesňování odhadu prevalence a užívání drog v populaci metodou epidemiologie odpadních vod – sewage epidemiology. Tento přístup se začal rozvíjet na přelomu tisíciletí poté, co Daughton a Termes (1999 a 2001) vyslovili hypotézu, že kromě jiných látek lze ve vodě sledovat i koncentraci nezákonné drogy, a v případě odpadních vod pomocí vhodného předpočtu zjistit spotřebu drog v populaci. V praxi tento přístup poprvé použil Zuccato et al. (2005) ke sledování konzumace nezákonných drog (především kokainu) v populaci pomocí analýzy komunálních odpadních vod a následného zpětného přepočtu v povodí řeky Pád. Využití epidemiologie odpadních vod ke sledování spotřeby drog v populaci bylo v dalších letech velmi diskutováno, např. v publikacích Zuccato et al. (2006, 2008), Castiglioni et al. (2006) a nastal rychlý rozvoj nových postupů a výzkumu v této oblasti. Epidemiologie odpadních vod byla použita např. ve Španělsku (Huerta- Fontela 2007), v Paříži a na území Francie (Nefau et al. 2013), ve Švédsku (Östman et al. 2014), v Chorvatsku v Záhřebu (Terzic et al. 2010), v Katalánii ve Španělsku (Boleda 2009), v USA ve státě New York (Subedi 2014), v Austrálii (Irvine et al. 2011) či ve Finsku Kankaanpää (2014). Velmi zajímavá srovnávací studie proběhla v roce 2011 v 19 evropských městech (Kevin et al. 2012), její pokračování následovalo v letech 2012 a 2013 (Ort et al. 2014). Celkem bylo do studie zapojeno 42 evropských měst z 21 zemí, včetně České republiky.

V České republice je tento přístup aplikován v projektu **Stanovení množství nelegálních drog a jejich metabolitů v komunálních odpadních vodách – nový nástroj pro doplnění údajů o spotřebě drog v České republice** (identifikační číslo projektu VG 20122015101) se zkráceným názvem DRAGON. Tento projekt je řešen v rámci Programu bezpečnostního výzkumu České republiky v letech 2010 -2015 (BII/2 – VS) a je financovaný formou dotace z rozpočtové kapitoly Ministerstva vnitra České republiky.

## POSTUPY A METODY

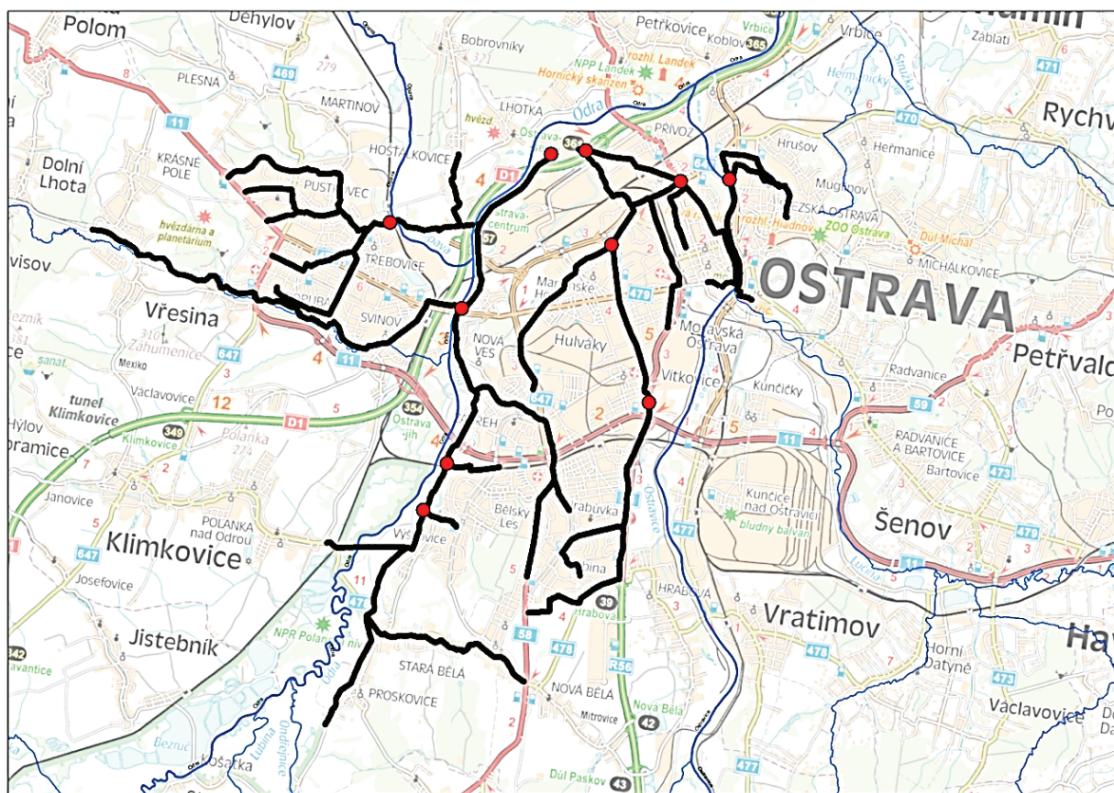
Schematický přehled epidemiologického přístupu je na obr. 1



Obrázek 1. Schematický přehled epidemiologického přístupu k odhadu celkové spotřeby drog ve sledované lokalitě

Sledování probíhalo v lokalitách, které byly vybrány po konzultaci s Národním monitorovacím střediskem pro drogy a drogové závislosti a s Národní monitorovací centrálou. V roce 2013 to byly Praha, Brno, Ostrava, Plzeň, Ústí nad Labem, Karviná, Havířov, Frýdek-Místek, Český Těšín, Orlová, v roce 2014 dále Karlovy Vary, Cheb,

Aš, Františkovy Lázně, Mariánské Lázně, Liberec, Jablonec nad Nisou, Pardubice, Hradec Králové, Jihlava, Opava, Olomouc, Zlín, Nový Jičín a Bruntál. 24-hodinové slévané vzorky byly odebrány především na přítoku na ČOV po hrubém předčištění. Tam, kde to podmínky na stokové síti dovolovaly (Praha, Brno, Ústí nad Labem, Ostrava) byly odběry prováděny i v uzlových bodech kanalizační sítě. Příklad z Ostravy je uveden na obr. 2.



Obrázek 2. Uzlové body na kanalizační síti v Ostravě

Odebrané vzorky byly uchovávány v chladu a bezprostředně po odběru zpracovávány, případně zamrazeny. Zmrazené vzorky byly uloženy při  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Před vlastní analýzou byly vzorky přefiltrovány přes nylonový membránový filtr o porozitě  $0,45\text{ }\mu\text{m}$  a po přidavku směšného roztoku deuterovaných interních standardů analyzovány kapalinovou chromatografií ve spojení hmotnostní spektrometrií s on-line SPE prekoncentrací na kolonce Hypersil Gold. Chromatografická separace byla prováděna na koloně Synergi Hydro – RP80A s předkolonou Security Guard cartridge AQC. Použitá metoda byla publikována ve sborníku Hydroanalytika 2013. Ze získaných výsledků koncentrací jednotlivých drog byl proveden odhad celkové spotřeby drogy v daném odběrovém profilu dle vztahu

$$\text{Spotřeba (g/den)} = c \text{ (g/l)} \times Q \text{ (l/den)} \times PF$$

kde:

*spotřeba* = denní spotřeba zvolené drogy;

*c* = koncentrace látky (metabolitu dané drogy, případně drogy nezměněné), ze které výpočet vychází; stanovené na nátoku na ČOV,

*Q* = průtok odpadní vody ČOV za den;

*PF* = přepočítávací faktor, který se stanoví jako poměr molekulárních hmotností zvolené drogy a specifické látky (metabolitu nebo nezměněné drogy) násobený průměrnou procentuální metabolizací drogy na zvolený metabolit, příp. nemetabolizaci - prochází-li droga tělem částečně nezměněna.

Tyto výpočty mohou být ovlivněny řadou faktorů, způsob metabolizace se u jednotlivých osob může lišit např. v závislosti na věku a pH moči, některé látky jsou metabolizovány na stejné metabolity jako předepisované farmakologické přípravky. Významnou roli zde hraje např. způsob podání drogy – intravenózně, perorálně, nasálně (šňupání) či bukálně (žvýkání, potírání sliznic), kouření hašiše nebo marihuany a další. Pokud se k přepočtu používá původní mateřská droga, nelze jednoznačně určit, zda droga byla požitá či přímo zlikvidována. Všechny tyto faktory pak mohou vést k nadhodnocení či podhodnocení výsledků.

Přepočítávací faktor je velmi diskutovaným „bodem“. Má-li být provedeno srovnání mezi různými studii, je nutné, aby byl ve všech studiích použit faktor stejný. Zvláště pro kokain (výpočet pomocí hlavního metabolitu benzoyllecgoninu) jsou v literatuře používány faktory různé. Např. Zuccato et al. 2008 používají k přepočtu PF

2,33, Kevin et al. 2012 ve srovnávací studii faktor 2,77 a Ort et. al 2014 faktor 3,59. Podobná je situace i v případě THC.

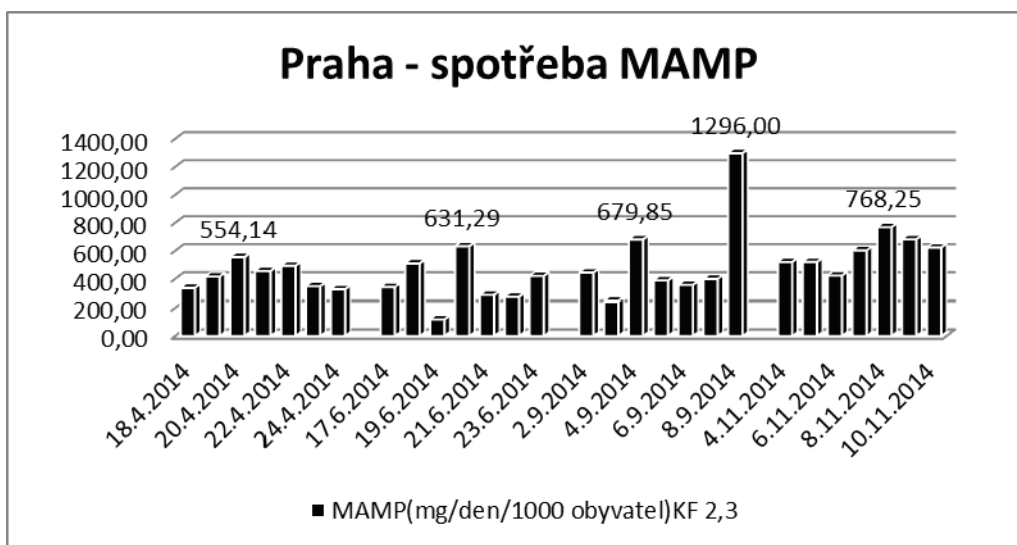
V projektu jsme se zaměřili tyto nezákonné drogy a jejich metabolity

- 3,4-methylendioxyamfetamin (MDMA - extáze)
- Amfetamin (AM) a Metamfetamin (MAMF - pervitin)
- Kokain (CO) a jeho metabolity benzoylecgonine (BE) a Cocaethylen (CE)
- Heroin (HER) a jeho metabolit Morfin (MOR) a 6-acetylmorfin (ACE)
- 11-nor-9-karboxy-delta-9-THC (Cannabis, marihuana)
- LSD
- Metadon a jeho metabolit 2-ethylidene-1,5-dimethyl-3,3- diphenylpyrrolidine (EDDP)
- Buprenorfin
- Cis-tramadol

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Do projektu bylo zapojeno celkem 25 českých měst, odebráno bylo více než 2500 slévaných vzorků komunálních odpadních vod. Odběrové kampaně byly sedmidenní, v případě Ostravy čtrnáctidenní. Ve všech analyzovaných vzorcích komunálních odpadních vod byly nezákonné drogy nalezeny. Podle předběžných výsledků projektu můžeme konstatovat, že nejužívanějšími nelegálními drogami v České republice jsou **THC** (cannabis, marihuana) a **metamfetamin** (MAMP, pervitin), méně užívanými nelegálními drogami, jsou **amfetamin** (AMP), **kokain** (CO) a **extáze** (MDMA). Výsledky jsou vyjádřeny v mg na 1000 „odkanalizovaných“ obyvatel. Pro porovnání v projektu zjištěných výsledků vybraných druhů nelegálních drog v evropském kontextu jsme využili výstupy srovnávací studie (Thomas et al., 2012) 19 evropských měst a aglomerací, která se v roce 2011 zaměřila na odhad spotřeby kokainu, amfetaminu, pervitinu a extáze ve vybraných městech v Nizozemí, Francii, Španělsku, Švédsku, Finsku, Norsku, ČR (Praha a České Budějovice), Anglii, Belgii, Itálii a Chorvatsku.

V porovnání s ostatními evropskými městy můžeme zaznamenat extrémní průměrné hodnoty koncentrací **metamfetaminu** (MAMP, pervitin) v Havířově, Karviné, Frýdku-Místku a Ústí nad Labem (503 až 2397 mg/den/1000 obyv.). Tyto hodnoty jsou několikanásobně vyšší než nejvyšší zjištěné hodnoty v rámci výše uvedené srovnávací studie evropských měst - Helsinky, Turku a Oslo (245 – 376 mg/den/1000 obyv.). Vysoké hodnoty lze zaznamenat u všech sledovaných českých měst. Průměrná spotřeba pervitinu v Praze v roce 2014 byla 480 mg/den/1000 obyvatel, což také přesahuje nejvyšší průměrné hodnoty ve srovnání s evropskou studií. Denní spotřeba pervitinu (MAMP) v Praze zaznamenaná v roce 2014 je na obrázku 3.

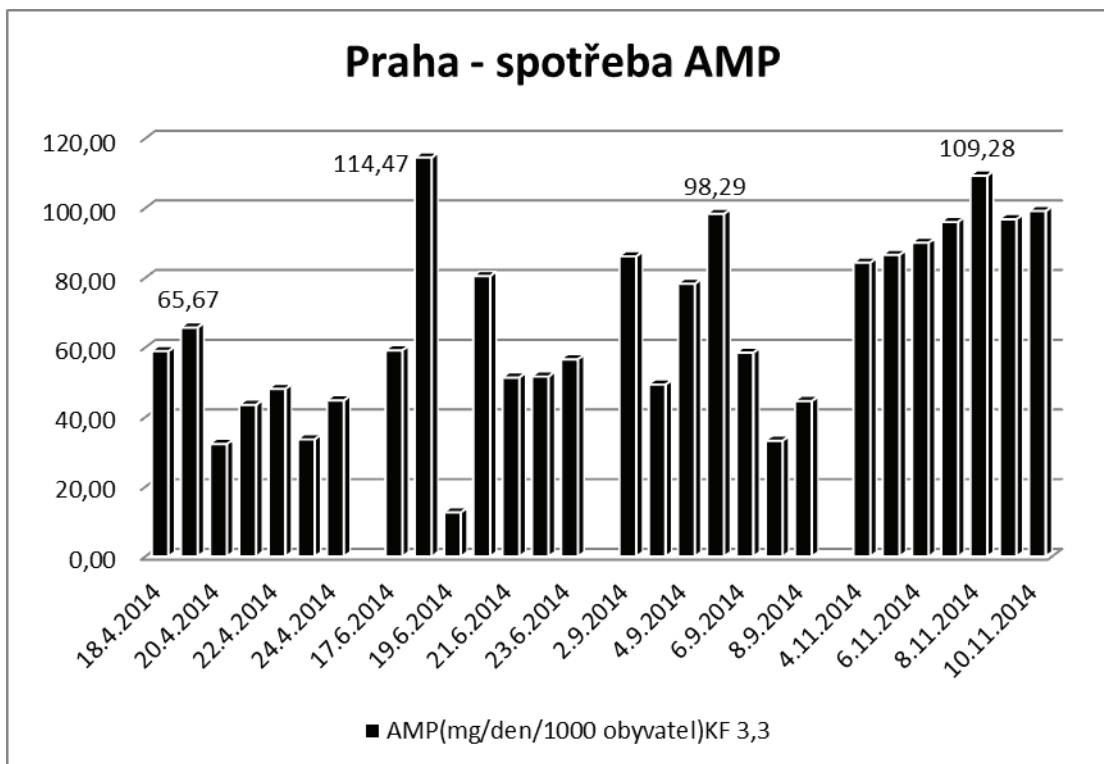


Obrázek 3. Spotřeba pervitinu v Praze v roce 2014

Některé nálezy pervitinu zaznamenané v Ostravě jsou extrémně vysoké. Nelze je však jednoduše vyloučit, neboť v dané lokalitě můžeme předpokládat i kontaminaci odpadních vod z nezákonných varen této drogy. Ještě vyšší extrémní hodnoty (106 000 ng/l) byly v roce 2014 zaznamenaný na Chebsku. I zde lze předpokládat, že se jednalo o kontaminaci z nezákonné varny. Tuto domněnku podporují i extrémní nálezy efedrinu, který se k výrobě pervitinu používá.

U **amfetaminu** (AMP) byla v rámci sledovaných měst a aglomerací nejvyšší průměrná denní spotřeba v Havířově 283 mg/den/1000 obyv., což odpovídá intervalu zjištěných hodnot v u sledovaných měst v Evropě,

kde se hodnoty pohybovaly v intervalu mezi 33 – 3040 mg/den/1000 obyv. V Praze byla v roce průměrná spotřeba amfetaminu 67 mg/den/1000 obyvatel (obrázek 4).



**Obrázek 4. Spotřeba amfetaminu (AMP) v Praze v roce 2014. K výpočtu byl použit KF 3,3**

Spotřeba amfetaminu může být mírně nadhodnocena, neboť amfetamin je také metabolitem pervitinu a některých předepisovaných léčiv, např. Selegillinu používaného k léčbě Parkinsonovy choroby.

Vikendový charakter užívání další drogy, extáze, potvrzuje i obrázek 5, na kterém jsou znázorněny hodnoty zjištěné v roce 2014 v Praze. Nejvyšší průměrná denní spotřeba u „taneční drogy“ **extáze** (MDMA) byla zaznamenána v Praze (60 mg/den/1000 obyv.), což je mezi hodnotami zjištěnými v Amsterdamu, Utrechtu a Eindhovenu (67 – 615 mg/den/1000 obyv.) a hodnotami naměřenými v Antverpách a Londýně (32-52 mg/den/1000 obyv.).

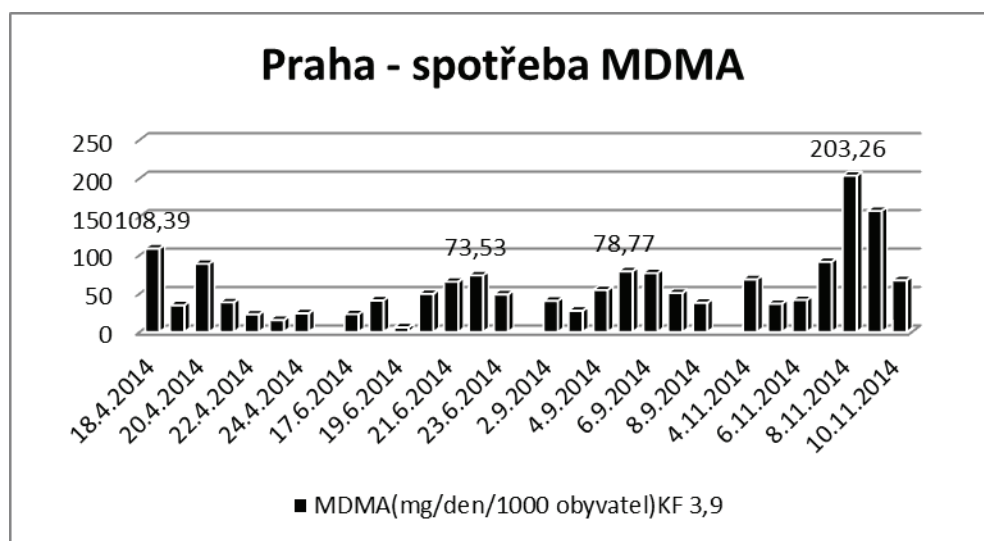
U **kokainu** (CO), jehož spotřeba byla zpětně kalkulována z jeho hlavního metabolitu **benzoylecgoninu** (BE) za použití korekčního (přepočítávacího) faktoru 2,77, byla prokázána nejvyšší spotřeba v Praze 206 mg/den/1000 obyv., nižších hodnot pak bylo dosaženo v Plzni, Ústí nad Labem, Havířově a Ostravě (53-57 mg/den/1000 obyv.). Výsledky spotřeby kokainu ve srovnávací studii (Thomas et al., 2012) byly v řadě evropských měst několikanásobně vyšší než v ČR a pohybovaly se v rozmezí hodnot 987-1998 mg/den/1000 obyv. (Amsterdam, Valencie, Eindhoven, Barcelona, Londýn, Castellón a Utrecht). Vypočtená spotřeba kokainu v Praze a ostatních sledovaných aglomeracích spíše odpovídá nižšímu průměru podobně jako v Záhřebu, Helsinkách, Turku, Oslu, Stockholmu (2-146 mg/den/1000 obyv.). Spotřebu kokainu v Praze v roce 2014 znázorňuje obrázek 6.

V roce 2014 proběhla v rámci projektu i týdenní srovnávací studie mezi vybranými moravskoslezskými městy. Tabulka 1 umožňuje srovnat spotřebu sledovaných drog v této oblasti, uvedené hodnoty jsou v g/týden/1000 obyvatel. V této studii byl pro kokain použit přepočítávací faktor 2.33. Nejvyšší spotřeba pervitinu byla zjištěna v Ostravě, Havířově a Frýdku-Místku, spotřeba amfetaminu byla rovněž nejvyšší v Ostravě, následovala Opava a Frýdek-Místek. Nejvyšší spotřeba extáze byla v Novém Jičíně a spotřeba kokainu v Ostravě a Havířově.

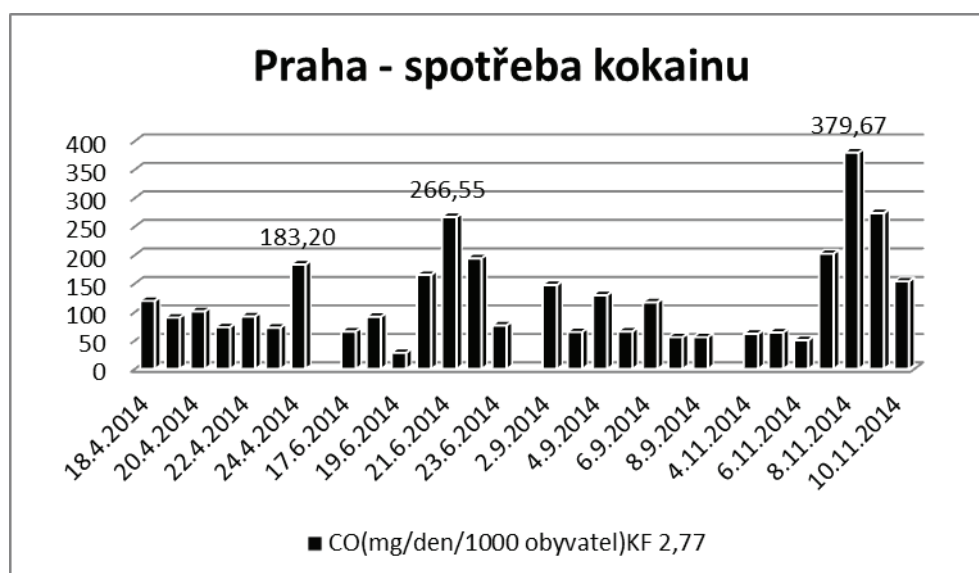


Tabulka 1. Týdenní srovnávací studie spotřeby vybraných drog v moravskoslezských městech.

Lokalita	Období	Počet obyvatel	MDMA	AMF	MAMF	Kokain
Ostrava	2. - 9. 9. 2014	296200	0,0667	0,4316	3,6663	0,0772
Ostrava	8. - 15. 9. 2014	296200	0,0769	0,4137	4,4140	0,1212
Havířov	2. - 9. 9. 2014	85768	0,0397	0,3356	3,6856	0,0504
Frydek-Mistek	2. - 9. 9. 2014	62635	0,0423	0,3921	3,1055	0,0102
Karviná	2. - 9. 9. 2014	58737	0,0255	0,3770	2,6656	0,0247
Opava	2. - 9. 9. 2014	53000	0,0420	0,4133	1,7696	0,0168
Nový Jičín	2. - 9. 9. 2014	24000	0,0860	0,3834	2,1171	0,0006
Bruntál	16. - 23. 9. 2014	17203	0,0162	0,1661	0,9101	0,0045



Obrázek 5. Spotřeba extáze (MDMA) v Praze v roce 2014. K výpočtu byl použit KF 3,9.



Obrázek 6. Spotřeba kokainu v Praze v roce 2014. K výpočtu byl použit hlavní metabolit kokainu benzoylkonin a korekční faktor 2,77.

## ZÁVĚR

Výsledky získané v projektu se ještě stále zpracovávají, ověřují se vybočující hodnoty. Již dnes však ze zaznamenaných hodnot v rámci projektu i ze zkušeností z ostatních evropských i mimoevropských lokalit vyplývá, že epidemiologie odpadních vod je jednoznačně vhodným nástrojem ke sledování spotřeby drog v monitorované lokalitě. Prostřednictvím této metody lze sledovat trendy ve spotřebě jednotlivých drog – meziroční, roční nebo týdenní a dobře identifikovat místa s jejich zvýšenou spotřebou. Lze tedy konstatovat, že hlavní cíl projektu, tj. získat komplexní přehled o spotřebě drog v České republice a tím zpřesnit oficiální statistiky o spotřebě nezákonných drog, bude splněn. Při vhodném zpracování výsledků lze mezi sebou dobře porovnávat jednotlivé monitorované lokality.

## PODĚKOVÁNÍ

Projekt by nebylo možno realizovat bez úzké spolupráce s následujícími klíčovými institucemi a subjekty v oblasti vodovodů a kanalizací: Pražské vodovody a kanalizace, a.s., Vodárna Plzeň, Ostravské vodárny a kanalizace, a.s., Severočeské vodovody a kanalizace, a.s., Brněnské vodárny a kanalizace, a.s., VEOLIA Voda Česká republika, a.s., Severomoravské vodovody a kanalizace, a.s., CHEVAK Cheb, a.s., Moravská vodárenská, a.s., Severočeská vodárenská společnost, a.s., Vodárny a kanalizace Karlovy Vary, a.s., ČEVAK, a.s.

## LITERATURA

- BOLEDA, M Rosa, Teresa GALCERAN a Francesco VENTURA. 2009. Monitoring of opiates, cannabinoids and their metabolites in wastewater, surface water and finished water in Catalonia, Spain. *Water Research*. **43**(4): 1126-1136. DOI: 10.1016/j.watres.2008.11.056. ISSN 00431354.
- CASTIGLIONI, Sara, Ettore ZUCCATO, Elisabetta CRISCI, Chiara CHIABRANDO, Roberto FANELLI a Renzo BAGNATI. 2006. Identification and Measurement of Illicit Drugs and Their Metabolites in Urban Wastewater by Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*. **78**(24): 8421-8429. DOI: 10.1021/ac061095b. ISSN 0003-2700. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac061095b>
- DAUGHTON, C. D., T. A. TERNES. 1999. Pharmaceutical and personal care products in the environment: Agent of subtle Change? *Environ. Health perspect.* (107): 907-938.
- DAUGHTON, C. D. 2001. Illicit drugs: contaminants in the environment and utility in forensic epidemiology. *Rev. Environ. contam. toxicology.* (210): 59 -110.
- DAUGHTON, Christian G. 2002. Cradle-to-Cradle Stewardship of Drugs for Minimizing Their Environmental Disposition While Promoting Human Health. I. Rationale for and Avenues toward a Green Pharmacy. *Environmental Health Perspectives*. **111**(5): 757-774. DOI: 10.1289/ehp.5947. ISSN 0091-6765. Dostupné také z: <http://www.ehponline.org/ambra-doi-resolver/10.1289/ehp.5947>
- FROST, Norbert. *Assessing illicit drugs in wastewater: potential and limitations of a new monitoring approach*. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Communities, 2008, 100 p. EMCDDA insights series, 9. ISBN 92-916-8317-5.
- HUERTA-FONTELA, Maria, Maria Teresa GALCERAN, Jordi MARTIN-ALONSO a Francesco VENTURA. 2008. Occurrence of psychoactive stimulatory drugs in wastewaters in north-eastern Spain. *Science of The Total Environment*. **397**(1-3): 31-40. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2008.02.057. ISSN 00489697. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969708002428>
- HUMMEL, D., D. LOEFFLER, G. FINK, T. A. TERNES. 2006. Simultaneous determination of psychoactive drugs and their metabolites in aqueous matrices by liquid chromatography mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* **40**: 7321-7328.
- IRVINE, Rodney J., Chris KOSTAKIS, Peter D. FELGATE, Emily J. JAEHNE, Chang CHEN a Jason M. WHITE. 2011. Population drug use in Australia: A wastewater analysis. *Forensic Science International*. **210**(1-3): 69-73. DOI: 10.1016/j.forsciint.2011.01.037. ISSN 03790738. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0379073811000521>
- KANKAANPÄÄ, Aino, Kari ARINIEMI, Mari HEINONEN, Kimmo KUOPPASALMI a Teemu GUNNAR. 2014. Use of illicit stimulant drugs in Finland: A wastewater study in ten major cities. *Science of The Total Environment*. **487**: 696-702. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.11.095. ISSN 00489697. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969713013788>
- KHAN, Usman, Alexander L.N. VAN NUIJS, Jing LI, Walid MAHO, Peng DU, Kaiyang LI, Linlin HOU, Jiying ZHANG, Xiangzhou MENG, et al. 2014. Application of a sewage-based approach to assess the use of ten illicit drugs in four Chinese megacities. *Science of The Total Environment*. **487**: 710-721. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2014.01.043. ISSN 00489697. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969714000527>



- NEFAU, Thomas, Sara KAROLAK, Luis CASTILLO, Véronique BOIREAU a Yves LEVI. 2013. Presence of illicit drugs and metabolites in influents and effluents of 25 sewage water treatment plants and map of drug consumption in France. *Science of The Total Environment*. **461-462**: 712-722. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.05.038. ISSN 00489697. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969713005810>
- ORT, Christoph, Alexander L. N. VAN NUIJS, Jean-Daniel BERSET, Lubertus BIJLSMA, Sara CASTIGLIONI, Adrian COVACI, Pim DE VOOGT, Erik EMKE, Despo FATTA-KASSINOS, et al. 2014. Spatial differences and temporal changes in illicit drug use in Europe quantified by wastewater analysis. *Addiction*. **109**(8): 1338-1352. DOI: 10.1111/add.12570. ISSN 09652140. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1111/add.12570>
- ÖSTMAN, Marcus, Jerker FICK, Elin NÄSSTRÖM a Richard H. LINDBERG. 2014. A snapshot of illicit drug use in Sweden acquired through sewage water analysis. *Science of The Total Environment*. **472**: 862-871. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2013.11.081. ISSN 00489697. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969713013648>
- SUBEDI, Bikram a Kurunthachalam KANNAN. 2014. Mass Loading and Removal of Select Illicit Drugs in Two Wastewater Treatment Plants in New York State and Estimation of Illicit Drug Usage in Communities through Wastewater Analysis. *Environmental Science*. **48**(12): 6661-6670. DOI: 10.1021/es501709a. ISSN 0013-936x. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es501709a>
- TERZIC, Senka, Ivan SENTA a Marijan AHEL. 2010. Illicit drugs in wastewater of the city of Zagreb (Croatia) – Estimation of drug abuse in a transition country. *Environmental Pollution*. **158**(8): 2686-2693. DOI: 10.1016/j.envpol.2010.04.020. ISSN 02697491. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749110001727>
- THOMAS, Kevin V., Lubertus BIJLSMA, Sara CASTIGLIONI, Adrian COVACI, Erik EMKE, Roman GRABIC, Félix HERNÁNDEZ, Sara KAROLAK, Barbara KASPRZYK-HORDERN, et al. Comparing illicit drug use in 19 European cities through sewage analysis. *Science of The Total Environment*. 2012, **432**: 432-439. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2012.06.069. ISSN 00489697. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969712008959>
- ZUCCATO, Ettore, Sara CASTIGLIONI, Roberto FANELLI, Giuseppe REITANO, Renzo BAGNATI, Chiara CHIABRANDO, Francesco POMATI, Carlo ROSSETTI a Davide CALAMARI. 2006. Pharmaceuticals in the Environment in Italy: Causes, Occurrence, Effects and Control. *Environmental Science and Pollution Research - International*. **13**(1): 15-21. DOI: 10.1065/espr2006.01.004. ISSN 0944-1344. Dostupné také z: <http://www.springerlink.com/index/10.1065/espr2006.01.004>
- ZUCCATO, Ettore, Chiara CHIABRANDO, Sara CASTIGLIONI, Davide CALAMARI, Renzo BAGNATI, Silvia SCHIAREA a Roberto FANELLI. 2005. Cocaine in surface waters: a new evidence-based tool to monitor. *Environmental Health: A Global Access Science Source*. **4**(1): 14-. DOI: 10.1186/1476-069X-4-14. ISSN 1476069x. Dostupné také z: <http://www.ehjournal.net/content/4/1/14>
- ZUCCATO, Ettore, Chiara CHIABRANDO, Sara CASTIGLIONI, Renzo BAGNATI a Roberto FANELLI. 2008-5-1. Estimating Community Drug Abuse by Wastewater Analysis. *Environmental Health Perspectives*. **116**(8): 1027-1032. DOI: 10.1289/ehp.11022. ISSN 0091-6765. Dostupné také z: <http://ehp.niehs.nih.gov/11022>



# STANOVENÍ STŘEDNĚ TĚKAVÝCH LÁTEK VE VODÁCH – RŮZNÉ PŘÍSTUPY (GC/MS, LC/MS/MS) A JEJICH KRITICKÉ ZHODNOCENÍ

Martin Ferenčík

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

## 1. ÚVOD

Středně těkavé organické látky (SVOC) představují širokou skupinu látek. Patří mezi ně látky lišící se svou těkavostí, od poměrně těkavých (pyridin (teplota varu, t.v. 116 °C), pikolin (t.v. 128 °C), fenol (t.v. 175 °C), anilín (t.v. 184 °C), 1,3-dichlorbenzen (t.v. 173 °C) až po benzo[ghi]perylen (t.v. 500 °C), polaritou (nepolární, zásadité, kyselé) a přítomností funkčních skupin (uhlovodíky, amino-, nitro-, heteroatomy). Společnou vlastností je, že jsou dostatečně teplotně stabilní, aby byly analyzovatelné pomocí plynové chromatografie (GC) ve spojení s různými detektory: plamenově ionizační (FID), detektor elektronového záchytu (ECD), ale v posledních dvaceti letech v analýze vzorků životního prostředí stále více používané spojení s hmotnostním detektorem (GC-MS), případně tandemovým hmotnostním detektorem (GC-MS/MS).

Kromě plynové chromatografie se pro analýzu polárních organických polutantů používá čím dál častěji technika kapalinové chromatografie ve spojení s elektrospejovým iontovým zdrojem a tandemovým hmotnostním detektorem (LC/ESI-MS/MS), případně vysoko rozlišujícím hmotnostním detektorem (LC/ESI-HRMS). Její velkou výhodou je možnost přímého měření vodných vzorků bez nutnosti zakoncentrování a jiných úprav při zachování citlivosti měření.

Mezi SVOC se řadí alifatické uhlovodíky (n-C<sub>10</sub> až n-C<sub>30</sub>), alifatické chlorované uhlovodíky (např. hexachlorethan), aromatické chlorované uhlovodíky (dichlorbenzeny až hexachlorbenzen), polycyklické aromatické uhlovodíky (PAH), polychlorované bifenyls (PCB), chlorované pesticidy (OCP), triazinové, fosfátové (OPP), chloracetanilidové pesticidy (NPP), nitroaromáty (nitrobenzen, dinitrobenzeny, dinitrotolueny, atp.), alkyl-, chlor- a nitro- substituované anilíny (např. chloranilíny, 4-chlor-2-nitroanilín, atp.), ftaláty (bis-(2-ethylhexyl)ftalát (DEHP), di-n-butylftalát), a z kyselých látek fenol, kresoly, chlorfenoly (mono-, di-, tri-, tetra- až pentachlorfenol), nitrofenoly, atp. Stanovením těchto látek se zabývá několik norem Agentury životního prostředí Spojených států amerických (US EPA), například pro pitnou vodu US EPA 525.2, pro odpadní vody US EPA 1625C, pro pevné matrice US EPA 8270D. Metodou 1625C se stanovuje 160 neutrálních a bazických polutantů (z toho 72 za použití vlastního izotopově značeného standardu), 17 kyselých polutantů (11 izotopově značených standardů). Naproti tomu metoda 8270D používá pouze šest izotopově značených vnitřních standardů. Extrakce vodných vzorků je založena na extrakci dichlormethanem při pH > 11 pro neutrální a bazické látky a po okyselení na pH < 2 pro kyselé látky. Vzorky obsahující více než 30 % nerozpuštěných látek jsou extrahovány v ultrazvukové lázni směsí aceton:dichlormethan, 1:1. Vedle těchto multireziduálních metod existují ještě US EPA metody specifické pro jednotlivé skupiny, ale to je nad rámec tohoto příspěvku [1]. Analýzou vodných vzorků pomocí LC-MS/MS se zabývá několik metod US EPA, DIN a dalších agentur.

V české legislativě jsou tyto skupiny látek řešeny po jednotlivých skupinách specifickými metodami [2]. Stručný popis českých a zahraničních metod, společně s analyzovanými látkami, způsoby extrakce: kapalina – kapalina (LLE), extrakce na pevné fázi (SPE), mikroextrakce na pevné fázi (SPME), stripování a záchyt na termodesorpční kolonce (Purge & Trap), přímý nástřik vodných vzorků (Direct Aqueous Injection, DAI), použitá přístrojová technika, druh matrice a dosažená mez stanovitelnosti (LOQ) je uvedena v tabulce č.1. Uvedený seznam není úplný, ale pouze ilustrativní pro srovnání.

Na první pohled je zřejmé, že metody US EPA 625 a 8270D mají spíše skriningový charakter, velký počet analytů, ale také vysoké LOQ i nejistoty výsledků. Metoda 625 vznikla v 80. letech a byla určena pro monitoring toxických látek v komunálních a průmyslových odpadních vodách. Tomu byla podřízena robustní extrakce dichlormethanem, která umožňuje široký záběr polarit látek i v značně znečištěných vodách s komplexní maticí. Posléze vznikla metoda 8270, která sloužila pro analýzu podzemních vod a především nebezpečných odpadů. V této metodě bylo značně rozšířeno množství a druh analyzovaných látek. Opět vysoké meze stanovitelnosti a velké nejistoty výsledků (u některých analytů i 90%). Metoda 525.2 byla vyvinuta v 90. letech za účelem monitoringu pitných vod. Z důvodu snížení spotřeby škodlivého rozpouštědla (dichlormethanu) byla zavedena extrakce na pevné fázi (SPE) v provedení diskovém nebo kolonkovém. Tato metoda má již nižší LOQ a vyšší přesnost a správnost, ale má menší schopnost retence pro látky s velkou polaritou [3].

Tabulka 1 Seznam vybraných norem používaných pro stanovení středně těžkých látek

Název metody	Sledované látky	Extrakce	Analytická technika	Matrice	LOQ [µg/l]
US EPA 625	77 látek	LLE CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	GC/MS	odpadní vody	3-90
US EPA 1625C	177 látek	CLLE CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	GC/MS	pevné i kapalné	3-90
US EPA 8270D	233 látek	LLE CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	GC/MS	pevné i kapalné	10-100
US EPA 525.2	115 látek	SPE	GC/MS	pitné	0,1-8
US EPA 536	7 látek triazinových pesticidů a metabolitů	Přímý nástřik	LC/ESI-MS/MS	Surové, upravené pitné vody	0,02-0,14
US EPA 538	11 látek pesticidů	Přímý nástřik	LC/ESI-MS/MS	Pitné vody	0,01-1,5
DIN 38407-36	28 a více pesticidů a metabolitů	Přímý nástřik	LC/ESI-MS/MS, LC/ESI-HRMS	Pitné vody	0,01-0,1
EN ISO 15680	Těkavé nepolární až po TCB	P&T	GC/MS	pitné, povrchové, odpadní	0,03-0,1
ČSN ISO 11423-1	těkavé	Headspace	GC/MS	pitné, povrchové, odpadní	> 2
ČSN ISO 11423-2	těkavé	LLE, pentan	GC/MS	pitné, povrchové, odpadní	> 5
ČSN EN 12918	OPP	LLE CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	GC/NPD	pitné, povrchové, odpadní	> 10
ČSN EN ISO 10695	NPP	LLE CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	GC-NPD	pitné, povrchové, odpadní	> 0,02
ČSN EN 27108	NPP	SPME	GC/MS	pitné, povrchové, podzemní	> 0,05
ČSN 757554	15/16 PAU	LLE hexan, cyklohexan	HPLC-FLD, GC/MS	pitné, povrchové, odpadní	> 0,003
ČSN EN ISO 17993	15 PAU	LLE hexan	HPLC-FLD	pitné, povrchové, odpadní	> 0,005
ČSN ISO 28540	16 PAU	LLE hexan, isooktan	GC/MS	pitné, povrchové, odpadní	> 0.005
ČSN EN ISO 6468	PCB, OCP, TCB-HCB	LLE hexan heptan	GC-ECD	pitné, povrchové, odpadní	> 0.003-0.150
ČSN ISO 17858	Dioxinům podobné PCB	LLE CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	HRGC/ HRMS	vody, sedimenty, biota	pg/l
ČSN EN 12673	Chlorfenoly	In-situ acetylace, LLE hexan	GC-ECD, GC/MS	pitné, povrchové, odpadní	0,1
ČSN EN ISO 18856	Ftaláty	SPE	GC/MS	pitné, povrchové, odpadní	>0,02

Uvedené metody se výrazně liší počtem látek a jejich různorodostí, pro které může být daná metoda aplikována. Obecně platí, že čím je metoda zaměřena na užší spektrum látek o podobných vlastnostech, tím je selektivnější, dosahuje nižších mezí stanovitelnosti a lepší přesnosti a správnosti. Selektivita je určena použitím vhodného rozpouštědla, čistícího kroku (SPE, GPC) a selektivního detektoru. Použití izotopově značeného standardu (isotope labelled internal standard, ILIS) pro každou z látek poskytuje nejspolehlivější výsledky, ale je také velice finančně náročné. Zatímco v GC/MS se často používá jeden ILIS pro skupinu příbuzných látek bez ztráty spolehlivosti výsledků, v LC/MS/MS je tento přístup často nepoužitelný, jelikož ionizace látek v elektrospreji je silně matričně závislá na složení mobilní fáze a eluátu obsahující různé interference ze vzorku, a je časově velice proměnlivá. Proto se rutinně používá kvantitativní metoda standardního přídatku, kdy se měří vzorek a posléze vzorek dotovaný vnějším standardem na předpokládané koncentrační hladině.

## 2. POUŽITÁ METODA

Použitá metoda vychází z ČSN EN ISO 10695 (Stanovení vybraných sloučenin s organicky vázaným dusíkem a fosforem) s několika odchylkami (pH vzorku se upravuje tetraboritanovým pufrům na pH 8,5-9 pro zvýšení výtěžku bazických analytů a použití GC/MS místo GC/NPD pro zvýšení citlivosti a selektivity) [4]. Touto metodou jsou stanovovány pesticidy obsahující dusík a fosfor. Triazinové (např. atrazin, terbuthylazin, terbutryn), fosfátové (např. malathion, parathion-methyl, parathion-ethyl, chlorfenvinfos), chloracetanilidové (acetochlor, alachlor, metolachlor, metazachlor, ...) a další, a také nitroaromáty (nitrobenzen, nitrotolueny, dinitrotolueny,...), substituované anilíny (anilín, chloranilíny, dichloranilíny, 4-chlor-2-nitroanilín, ...) a alkyfosfáty a chloralkylfosfáty (triethylfosfát (TEP), tributylfosfát (TBP), trifenylfosfát (TPP), tris-(2-chlorethyl)fosfát (TCEP), tris-(1-chlor-2-propyl)fosfát (TCPP)). Celkem více než 40 pesticidů a 39 středně těžkých látek. Většina pesticidů z této metody a další, které se nedají analyzovat plynovou chromatografií (močovinnové, fenoxalkánové, karbamátové, atp.) jsou analyzovány metodou DAI-LC/ESI-MS/MS [5, 6].

Pro stanovení nepolárních látek z US EPA 625 používáme z důvodu dosažení nízkých mezí stanovitelnosti specifické metody: pro stanovení těžkých organických látek (TOL, EN ISO 15680), pro PAU (ČSN EN ISO 17993), pro organochlorové pesticidy (OCP), polychlorované bifenyly (PCB) a chlorbenzeny (ČSN EN ISO 6468), pro ftaláty (ČSN EN ISO 18856), pro chlorfenoly (ČSN EN 12673).

### 2.1 Odběr a příprava vzorků povrchových vod

Odběr vzorků se provádí do skleněných zábrusových vzorkovnic z tmavého skla o objemu 50-1000 ml, které se před použitím umyjí horkou vodou s detergentem, opakovaně vypláchnou destilovanou vodou a vysuší při 150 °C. Vzorky se uchovávají v chladu a temnu při teplotě menší než 6 °C a analyzují se do dvou dnů od data odběru. V případě volného chloru se přidá do vzorkovnice před odběrem 80 mg thiosíranu sodného na 1 litr vzorku.

### 2.2 Chemikálie

Dichlormethan, p.a. prostý sledovaných analytů

Tetraboritan sodný, p.a. (roztok 52 g Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub> · 10 H<sub>2</sub>O/ 1 l vody)

Síran sodný bezvodý, p.a. granulovaný

NaCl, p.a.

n-Heptan, p.a. pro stopovou organickou analýzu

Thiosíran sodný pentahydrát, p.a.

Kalibrační a kontrolní standardy (Dr. Ehrenstorfer, Absolute Stanadrds, Fluka)

Značené standardy (Supelco, Dr. Ehrenstorfer)

### 2.3 Přístroje a pomůcky

Plynový chromatograf Agilent 6890N spojený s kvadrupolovým hmotnostním detektorem Agilent 5973 a ovládané softwarem Chemstation.

Laboratorní třepačka Gerhardt, 170 kmitů/s horizontálně.

Rotací vakuová odparky Büchi s kontrolou tlaku a membránovým vakuovým čerpadlem.

Laboratorní sklo, mikrostřikačky 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000 µl a plastové stříkačky.

### 2.4 Příprava vzorků, GC/MS metoda

Ke vzorku 0,8 l povrchové vody se přidá 10 µl roztoku vnitřního standardu (azobenzen 1000 ng, sebutylazin-*d*<sub>5</sub> 100ng, anilín- *d*<sub>5</sub> 1000ng, naftalen- *d*<sub>8</sub> 100ng, acenaften- *d*<sub>10</sub> 100ng, anthracen- *d*<sub>10</sub> 100ng, chrysen- *d*<sub>12</sub> 100ng, perylen- *d*<sub>12</sub> 100ng). Přidáním 10 ml tetraboritanového pufru se upraví pH na hodnotu 8,5-9. Ke vzorku se přidá 60 ml dichlormethanu a třepe se 30 minut při 170 kmitů/s. V děliči se oddělí spodní organická vrstva do zábrusové lahvičky i s emulzí a uchová v lednici při cca 6 °C. Před odpařením se extrakt vysuší přídatkem bezvodého síranu sodného a přidá se 250 µl heptanu jako stabilizátoru. Na RVO se odpaří právě na 700 µl. Analyzuje se 1 µl pomocí GC/MS metody.

Používá se kapilární kolona s 5% difenyl dimethylpolysiloxanovou stacionární fází Rtx-5 (30m x 0,25 mm I.D. x 0,25 µm tloušťkou filmu a 5 m integrovanou předkolonou). Teplotní program pece je: 40 °C (2 min), 40 – 150 °C (40 °C/min), 150 °C – 260 °C (4 °C/min), 260 – 280 °C (20 °C/min), 280 °C (10 min). Nosný plyn helium (5.5), režim tlakového pulzního splitless nástřiku při 270 °C, poté konstantní průtok 0,9 ml/min.

### 2.5 Způsob vyhodnocení

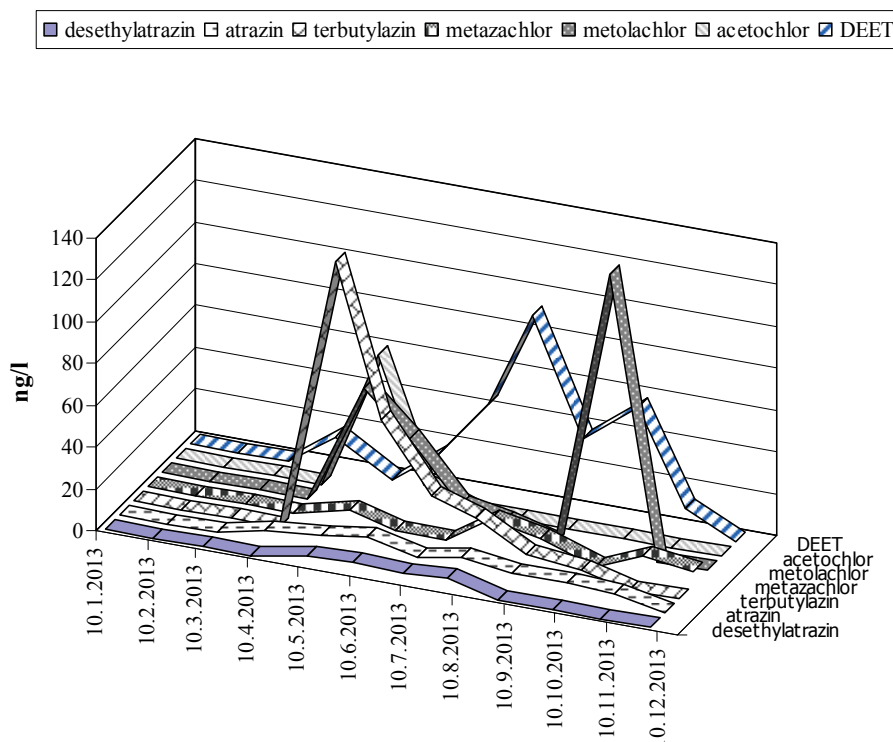
Měření na MS v režimu vybraných iontů (SIM) podle normy US EPA 8027, případně z naměřeného plného skenu charakteristické nejintenzivnější ionty. Metoda vyhodnocení externí kalibrace s korekcí na vnitřní standard, případně izotopového zředování. Kalibrační křivky lineární nebo kvadratické. Kalibrace připravovány celým postupem a měřeny v každé sekvenci vzorků. Před každou sekvencí nejdříve zkontrolována inertnost a velikost odezev pomocí kalibračního standardu na nejnižší hladině.

### 2.6 Dosažené parametry metody

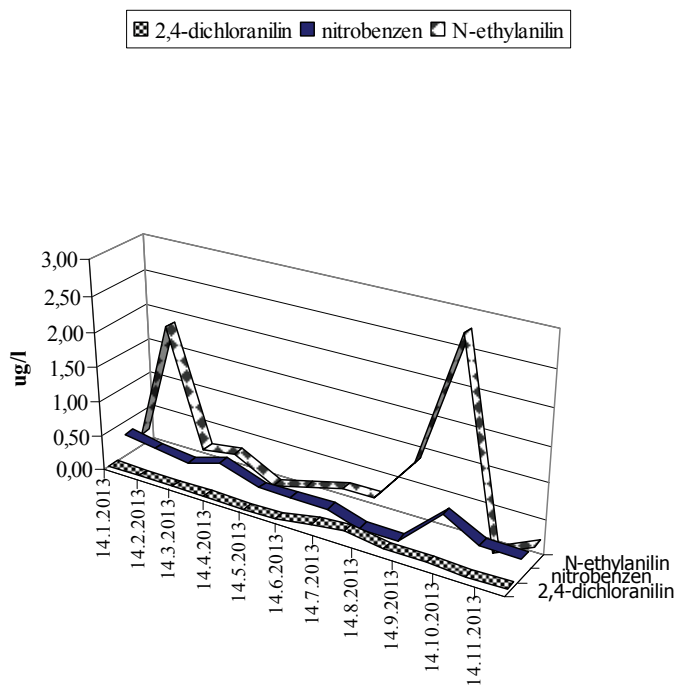
LOQ pro pesticidy v rozmezí 5-50 ng/l, pro ostatní látky 5 – 200 ng/l. U nitroaromátů a anilínů LOQ v rozmezí 50 – 200 ng/l. Nejistoty 20 – 25 %.

## 3. VÝSLEDKY

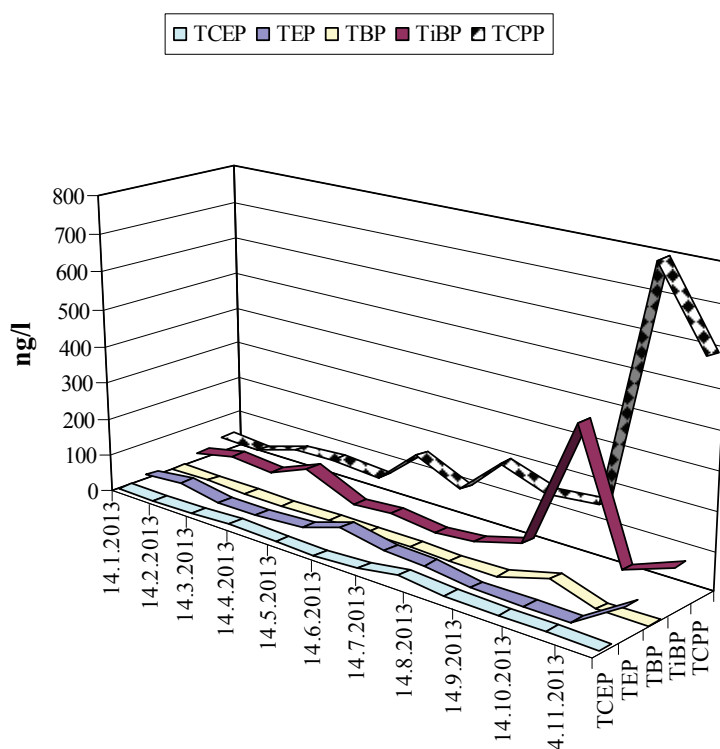
Obr 1 ilustruje nálezy pesticidů, a alkylfosfátů v odběrovém profilu Labe Valy v roce 2013. Pesticidy mají typický sezónní průběh, maxima po aplikaci a poté odeznění, jehož rychlost vyjadřuje stabilitu a sorpci daného pesticidu v půdě. Repelentní přípravek DEET se nalézá v době používání od dubna do října. Na Obr 2 je patrné, že nálezy nitrobenzenu zůstaly na podobné úrovni jako v roce 1999 [7], ale zmizeli nitrotolueny, dinitrotolueny a anilín, a N-ethylanilin je proti minulosti více než 10x nižší. Obr 3 ukazuje zajímavé nálezy triisobutylfosfátu a tris(1-chlor-2-propyl)fosfátu ve stovkách ng/l, které patří k široce rozšířeným polutantům ze skupiny fosfátových zpomalovačů hoření. Jejich výskyt je nárazový, závislý na jejich vypouštění z bodových zdrojů průmyslového znečištění.



Obrázek 1: Výskyt pesticidů v [ng/l] v profilu Labe Valy v roce 2013



Obrázek 2: Výskyt nitrobenzenu a anilínů v [µg/l] v profilu Labe Valy



Obrázek 3: Výskyt alkylfosfátů v [ng/l] v profilu Labe Valy v roce 2013

#### 4. ZÁVĚR

V příspěvku jsou prezentovány různé přístupy ke stanovení SVOC ve vodách. Zatímco US EPA 625, 1625C a 8270D mají široký záběr polarit analytů za cenu vyšších LOQ a větších nejistot měření, dedikované metody uzpůsobené vlastnostem jednotlivých skupin látek jsou schopny dosáhnout mnohem nižších LOQ i nejistot měření. Přesto metoda založená na extrakci dichlormethanem představuje univerzální a robustní metodu pro široké spektrum látek v matricích s přítomnými nerozpuštěnými látkami, na kterých jsou sledované analýzy často nasorbovány. Nevýhodou použití dichlormethanu (DCM) jsou špinavé extrakty, které rychle kontaminují nástřik, kolonu i iontový zdroj, a také možná kontaminace prostředí laboratoře, v které se často stanovují stopové koncentrace DCM. Pomocí této metody budeme v budoucnosti sledovat nově požadované a relevantní polutanty v povrchových a odpadních vodách.

Metoda přímého nástřiku vody LC/ESI-MS/MS umožňuje stanovení velkého spektra pesticidů, léčiv a jiných polárních látek schopných ionizace v elektrospreji bez nutnosti extrakce, zakoncentrování a čištění extraktů. Složitě matrice je nutno ředit nebo provádět extrakci a čištění. Bohužel touto metodou nelze stanovovat méně polární látky neobsahující skupinu s aktivním vodíkem (NH, OH, atp.), které neionizují v elektrospreji. Pro takové látky je možné použít jiné ionizační techniky (chemickou ionizaci za atmosférického tlaku (APCI) nebo fotoionizaci (APPI), které obecně mají menší citlivost než ESI.

#### 5. LITERATURA

- [1] Internetový odkaz s možností stažení norem: <http://www.caslab.com/EPA-Methods/web/file/>, cit. 31.3.2014 .
- [2] Internetový odkaz s možností náhledu a objednání: <http://seznamcsn.unmz.cz/vyhledavani.aspx/>, cit. 31.3.2014 .
- [3] Internetový odkaz:  
[http://standards.nsf.org/apps/group\\_public/download.php/6532/Comparing%20Method%20625%20to%20Methods%20525.pdf](http://standards.nsf.org/apps/group_public/download.php/6532/Comparing%20Method%20625%20to%20Methods%20525.pdf), cit. 31.3.2014
- [4] Ferenčík M., Dolének P., Jirásková I.: Sledování haloetherů v povrchových vodách, Sborník konference Pokroky v chromatografii a elektroforéze 2000, Univerzita Pardubice, 5.–6.9.2000, s. 108-109, ISBN 80-7194-278-2.
- [5] Ferenčík M., Schováňková J., Zubrová, K.: Sledování pesticidů a farmaceutických látek v povrchových vodách pomocí LC/MS/MS., Sborník přednášek z 39. Konference Hydrochémia 2010, Bratislava, Slovenská republika, 12. – 13.5. 2010, s. 45-54, ISBN 978-80-89062-68-3.
- [6] Ferenčík M., Schováňková J.: Stanovení pesticidů, jejich metabolitů a farmaceutických látek ve vodách a sedimentech pomocí LC/MS/MS, Sborník přednášek z 40. Konference Hydrochémia 2012, Bratislava, Slovenská republika, 16.–17.5.2012, s. 55-64, ISBN 978-80-89062-86-7.
- [7] Ferenčík, M., Dolének, P.: Problematika výskytu a sledování vybraných organických látek ve vodách (triaziny, haloethery, nitroaromáty a aromatické aminy), Sborník XXXIV. ročníku konference Hydrochémia 2000, Bratislava, 126-134, ISBN 80-968282-4-X.



# RÝCHLA METÓDA STANOVENIA CELKOVÝCH LIPIDOV V RYBÁCH POMOCOU EXTRAKCIE ZMESOU ACETÓNU A ETYLACETÁTU A NÁSLEDNEJ GRAVIMETRICKEJ KVANTIFIKÁCIE

Zuzana Miháliková, Peter Tölgyessy

Národné referenčné laboratórium pre oblasť vôd na Slovensku, Výskumný ústav vodného hospodárstva,  
Nábr. arm. gen. L. Svobodu 5, 81249 Bratislava

## ÚVOD

Poznať obsah celkového množstva lipidov v rybách tkanivách je potrebné k tomu, aby sme mohli normalizovať koncentráciu organických polutantov, odhadnúť ich bioakumulačný potenciál alebo porovnávať údaje o toxických účinkoch organických látok na skúmané organizmy [1, 2]. Dodnes bolo vyvinutých mnoho metód na stanovenie obsahu lipidov vo vodných organizmoch [3]. Mnohé z nich sú pracné, časovo náročné, používajúce veľké množstvá toxických rozpúšťadiel, zatiaľ čo iné vyžadujú špeciálne, často nákladné vybavenie.

V poslednom desaťročí bol navrhnutý koncept novej, tzv. QuEChERS (z anglického Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe, čo v preklade znamená rýchlej, ľahkej, lacnej, účinnej, robustnej a bezpečnej) metódy [4], ktorá otvára ďalšie možnosti v rozvoji extrakčných techník používaných na extrakciu organických zlúčenín z rôznych matric [5, 6]. Metóda pozostáva z dvoch krokov. V prvom kroku sa homogenizát vzorky (1 - 10 g) extrahuje organickým rozpúšťadlom (najčastejšie acetonitrilom) trepaním (0,5 - 1 min) v centrifugačnej skúmavke. Následne prídavkom solí (bezvodý  $MgSO_4$ , NaCl a ďalších) a ďalším trepaním (1 min) sa dosahuje vysušovací a vysoľovací efekt, pri ktorom sa sledované analyty ďalej koncentrujú v organickej fáze. V druhom kroku sa alikvotná časť supernatantu získaného po odstredení čistí použitím disperznej extrakcie tuhou fázou.

Ak je pomocou QuEChERS metódy spracovávaný biologický materiál s obsahom lipidov, tak sa tieto v extrakčnom kroku dostávajú do organickej fázy. Účinnosť extrakcie lipidov pritom závisí od druhu použitého rozpúšťadla. V našich experimentoch sme pozorovali vysokú účinnosť extrahovania lipidov z homogenizátu rýb pomocou etylacetátu (EtOAc) za prídavku anorganických solí. Táto skutočnosť nás viedla k myšlienke využitia prvého kroku QuEChERS metódy s vhodným rozpúšťadlom alebo rozpúšťadlovej zmesi na stanovenie lipidov v biologickom materiáli.

Cieľom práce bol vývoj a vyhodnotenie novej, jednoduchej, rýchlej, lacnej a k životnému prostrediu priateľskej metódy na stanovenie celkového obsahu lipidov vo vzorkách rýb s použitím optimalizovaného extrakčného média a gravimetrickej kvantifikácie. Navrhovaná metóda bola porovnávaná s už zavedenou metódou stanovenia celkového množstva lipidov pomocou nechlórovaných rozpúšťadiel, ktorú vyvinul Smedes [7, 8].

## EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

### Chemikálie

Síran horečnatý bezvodný (ReagentPlus), chlorid sodný (ReagentPlus), cyklohexán (p.a.) a propán-2-ol (p.a.) boli zakúpené od spoločnosti Sigma-Aldrich (Steinheim, Nemecko). Acetón (Emsure), etylacetát (SupraSolv) a dichlórmetán (UniSolv) dodal Merck (Darmstadt, Nemecko).

Olej z trešče peče - jecoris aselli oleum B (Ph. Eur. 8.0.) bol získaný od Dr. Kulich Pharma (Hradec Králové, Česká republika).

Deionizovaná voda bola produkovaná pomocou Direct-Q 3 systému na čistenie vody (Millipore, Molsheim, Francúzsko).

### Vzorky rýb

K tomu, aby sme zislali vzorky so širokou škálou obsahu lipidov boli zvolené tri modelové druhy rýb. Jalec hlavatý (*Leuciscus cephalus*) bol získaný počas prieskumu rýb v slovenských vodách z roku 2011 v rámci projektu: Monitorovanie a hodnotenie stavu vôd (Kohézny fond EÚ č.: NFP24110110001, 2008-2012). Na vopred určených odberných miestach bol výlov rýb uskutočnený za pomoci elektrického prúdu. Odobraté vzorky boli uchované v mrazničke pri  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Ďalšími dvomi druhmi rýb boli losos obyčajný (*Salmo salar*) a aljašská treska (*Theragra chalcogramma*), ktoré boli vo forme mrazeného filé zakúpené v miestnom supermarkete. Deklarovaný obsah lipidov v týchto produktoch bol podľa údajov výrobcu: 15,1 % (w/w) pre lososa, resp. 1 % (w/w) pre tresku.

K validácii vyvinutej metódy bol zakúpený certifikovaný referenčný materiál CRM 1946 (Lake Superior Fish Tissue), ktorý bol zakúpený u Národného inštitútu pre štandardy a technológie (National Institute of Standards

and Technology, NIST, Gaithersburg, MD, USA). Tento CRM pozostával z homogenizovaného rybieho tkaniva, ktoré bolo pripravené zo pstruha jazerného (*Salvelinus namaycush*). Deklarovaný obsah vlhkosti bol  $71,4 \pm 0,1$  % a certifikovaná hmotnostná frakcia (z mokrej hmotnosti) extrahovateľného tuku bola  $10,17 \pm 0,48$  %.

Z jalca hlavatého sa z celých rýb – z 2 až 23 jedincov (hmotnostný rozsah 1 – 634 g) – po rozmrazení pripravili kompozitné vzorky väčšinou s hmotnosťou 500 – 600 g. Filé z lososa (po 125 g) a filé z tresky (po 100 g) sa homogenizovali samostatne, pričom sa získali jednotlivé vzorky. Všetky vzorky rýb boli homogenizované pomocou kuchynského sekáča potravín Eta 6078 (ETA, Hlinsko, Česká republika) a následne tkanivovým homogenizátorom SilentCrusher M (Heidolph Instruments, Schwabach, Nemecko). Takto pripravené homogenizáty rýb boli uskladnené v mrazničke pri teplote  $-20$  °C pokiaľ neboli podrobené extrakcii a analýze.

Zo zoriek tresky bola taktiež pripravená suchá prášková vzorka, ktorá bola použitá v pokusoch k hodnoteniu pracovných charakteristík metódy. V tomto prípade boli filety z tresky najskôr ručne rozkúskované a umiestnené na Petriho miskách do sušiarne nastavenej na  $60$  °C počas 24 hod. Následne sa vyušené kúsky tresky rozdrobili pomocou kuchynského mixéra za vzniku prášku. Takto vytvorený surový prášok sa čistil pomocou Soxhletovej extrakcie, po dobu 24 hod za použitia dichlórmetánu ako extrakčného rozpúšťadla, a následného vytrepiania so zmesou acetón/etylacetát (6/4, v/v). Toto vytrepávanie bolo opakované sedemkrát vždy s novou zmesou rozpúšťadiel po dobu 30 min za účelom úplného odstránenia lipidickej frakcie.

#### Stanovenie obsahu vody

Na predvážené Petriho misky sa preniesli 2 – 3 g množstvá rybieho homogenizátu a presne zvážili na analytických váhach BP211D Sartorius (Göttingen, Nemecko). Petriho misky sa umiestnili na 20 – 24 hod do sušiarne nastavenej na  $60$  °C. Obsah vody sa vypočítal z rozdielu hmotností východzej mokrej navážky a zvyšku po vysušení.

#### Stanovenie obsahu lipidov podľa Smedesa

Do 250-ml kadičky obsahujúcej 10 g rybieho homogenizátu sa pridalo 16 ml propán-2-olu a 20 ml cyclohexánu a zmes sa homogenizovala pomocou homogenizátora SilentCrusher počas 2 min. Podľa obsahu vody vo vzorke sa pridala voda tak, aby celkový obsah vody bol 22 g a zmes sa miešala ďalšiu 1 min. Následnou centrifugáciou pri 4000 ot/min (3113 ref) počas 3 min (centrifúga Rotina 380, Hettich, Tuttlingen, Nemecko) sa oddelila cyklohexánová fáza, ktorá sa pomocou Pasteurovej pipety kvantitatívne preniesla do predváženej srdcovky. K zostávajúcej vodnej fáze sa pridalo 20 ml zmesi cyklohexánu a propán-2-olu (87:13, v/v) a homogenizáciou počas 1 min sa uskutočnila druhá extrakcia. Cyklohexánová fáza sa oddelila centrifugáciou a spojila s prvým extraktom. Rozpúšťadlo sa zo srdcovky odparilo na rotačnej odparke a zvyšok sa vysušil v sušiarňi pri  $103$  °C počas 2 hod. Z východzej hmotnosti homogenizátu a hmotnosti zvyšku po vysušení sa vypočítal obsah lipidov.

#### Stanovenie obsahu lipidov – acetón/EtOAc metóda

Do 50-ml polypropylénovej centrifugačnej skúmavky (Corning CentriStar, Sigma Aldrich) sa navážilo 5 g rybieho homogenizátu a pridalo sa 5 ml zmesi acetónu a EtOAc (6:4, v/v). Skúmavka sa nechala silno trepať na vortex mixéri (Stuart SA8, Spojené kráľovstvo) pri 1200 ot/min počas 3 min. Následne sa pridali 2 g bezvodého  $MgSO_4$  a 0,5 g NaCl a zmes sa trepala ďalšie 3 min. Takto premiešaná zmes sa centrifugovala pri 5000 ot/min (4863 ref) počas 5 min. Dva 1-ml alikvotné diely vrchnej organickej fázy sa preniesli do dvoch vopred zvážených sklenených skúmaviek. Extrakty sa odľúkali prúdom vzduchu do sucha a lipidický zvyšok sa dosušil v sušiarňi vyhriatej na  $103$  °C po dobu 1 hod alebo do konštantnej hmotnosti. Výsledná hmotnosť lipidov v skúmavke sa zvážila s presnosťou na 0,1 mg a následne sa vypočítal priemerný percentuálny obsah lipidov v mokrej vzorke.

### VÝSLEDKY A DISKUSIA

V našej predbežnej štúdií sme zistili, že pri extrakcii rybieho homogenizátu QuEChERS metódou sa v prvom extrakčnom kroku použitím EtOAc dosiahla viac ako dvojnásobne vyššia výťažnosť lipidickej frakcie ako v prípade použitia acetonitrilu. Toto je v súlade so známou schopnosťou EtOAc koextrahovať lipidy z biologického materiálu spolu s ďalšími chemickými látkami, ako napríklad pesticídmi [5, 9-11]. Okrem toho EtOAc má výhodu, že minimálne extrahuje nelipidické zložky, ako sú cukry, aminokyseliny a pod. [9]. Ďalšou výhodou je jeho čiastočná miešateľnosť s vodou, ktorá umožňuje jeho prenikanie do matrice s vysokým obsahom vody, akou je aj rybie tkanivo. Následný prídavok solí zlepšuje separáciu fáz a zvyšuje výťažnosť lipidického materiálu z mokrého homogenizátu. Tieto skutočnosti naznačili možnosti využitia EtOAc ako extrakčného činidla a boli impulzom pre vývoj novej metódy stanovenia celkového obsahu lipidov v biologických vzorkách.

#### Optimalizácia času trepania

V prvej časti práce sa na extrakciu lipidov použil prvý krok klasickej QuEChERS metódy, v ktorom bol acetonitril nahradený EtOAc. K 10 g rybieho homogenizátu v 50-ml centrifugačnej skúmavke sa pridalo 10 ml EtOAc, skúmavka sa zazátkovala a nechala trepať na vortex mixéri (prvé trepanie). Po prvom trepaní sa do skúmavky pridali 4 g bezvodého  $MgSO_4$  a 1 g NaCl a skúmavka sa podrobila druhému trepaniu. Potom sa

skúmavka scentrifúgovala a 1-ml alikvotné časti hornej organickej fázy sa odparili a vysušili do konštantnej hmotnosti. Hmotnosť vysušených zvyškov sa zväžila a vypočítal sa obsah lipidov v mokrej vzorke. Podmienky tohto extrakčného postupu sa optimalizovali vzhľadom na časy prvého a druhého trepania. Na experiment bola použitá kompozitná vzorka jalca hlavateho, v ktorej bol Smedesovou metódou stanovený obsah lipidov 3,2 %. Výsledky experimentu sú uvedené v tabuľke 1, v ktorej možno vidieť efekt časov prvého a druhého trepania na výťažnosť lipidov. Na základe výsledkov uvedených v tabuľke 1 sa pre extrakčný postup zvolilo 3min prvé a 3min druhé trepanie, pri ktorom sa dosiahla 100%-ná výťažnosť lipidov.

**Tabuľka 1: Efekt časov trepania na výťažnosť lipidov.**

Číslo	Prvé trepanie <sup>a</sup> (min)	Druhé trepanie <sup>b</sup> (min)	Výťažnosť lipidov <sup>c</sup> (%)
1	0,5	1	39
2	1	1	47
3	3	1	91
4	1	3	56
5	3	3	100
6	5	5	100

<sup>a</sup> Čas trepania rybieho homogenizátu s EtOAc.

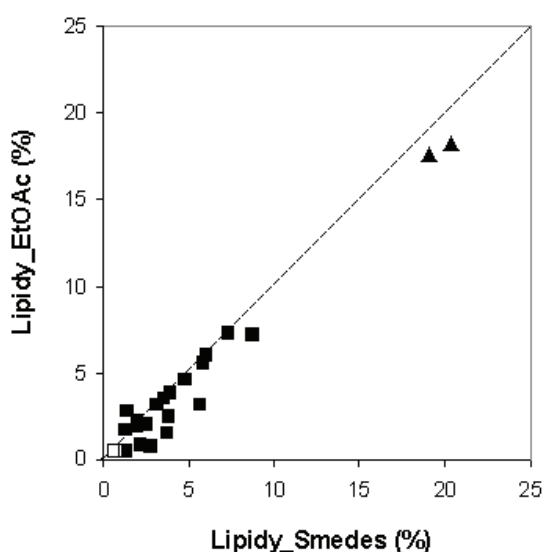
<sup>b</sup> Čas trepania po pridaní anorganických solí.

<sup>c</sup> n = 3.

#### Porovnanie EtOAc metódy a metódy podľa Smedesa

Prvotne navrhnutá metóda s použitím EtOAc ako extrakčného činidla sa porovnávala so zavedenou metódou podľa Smedesa. Pre porovnanie sa oboma metódami analyzovalo 19 kompozitných vzoriek jalca hlavateho (s rôznym obsahom lipidov), 2 vzorky filé z aljašskej tresky a dve vzorky filé z lososa obyčajného. Vo vzorkách sa stanovil obsah vody a dvoma metódami celkový obsah lipidov. Výsledky stanovenia lipidov sa vynesli do Youdenovho grafu (obrázok 1), v ktorom sú na ose x vynesené priemerné hodnoty stanovenia (n = 3) získané Smedesovou metódou a na ose y priemerné hodnoty (n = 2 až 3) získané pomocou vyvíjanej metódy s použitím EtOAc.

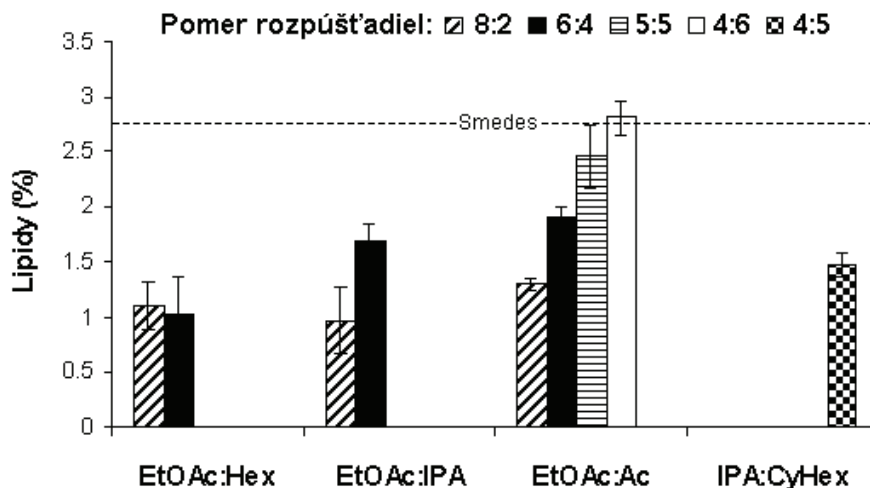
Z grafu na obrázku 1 možno vidieť, že približne polovica bodov leží na teoretickej (čiarkovanej) línii absolútnej korelácie, zatiaľ čo druhá polovica bodov leží mimo nej. V prípade bodov mimo teoretickej línie vo všetkých prípadoch okrem jedného boli výsledky dosiahnuté Smedesovou metódou vyššie ako výsledky získané EtOAc metódou. V niektorých prípadoch boli výsledky Smedesovej metódy viac ako 2 až 3krát vyššie ako výsledky vyvíjanej metódy s použitím EtOAc.



**Obrázok 1. Porovnanie výsledkov stanovenia lipidov získaných metódou podľa Smedesa a EtOAc metódou (□ – aljašská treska, ▲ – losos obyčajný, ■ – kompozitné vzorky z jalca hlavateho).**

### Optimalizácia extrakčného činidla

Z dôvodu rozdielov vo výsledkoch dosiahnutých s použitím EtOAc ako extrakčného činidla a metódou podľa Smedesa sa pokračovalo optimalizáciou extrakčného média. Na optimalizáciu sa použila kompozitná vzorka jalca hlavateho, v ktorej bol obsah lipidov stanovený Smedesovou metódou 2,77 % a vyvíjanou metódou s EtOAc 0,74 % (obsah vody bol 75 %). Na extrakciu sa brali oproti predošlému polovičné – 5gramové – alikvotné časti vzorky a na dosiahnutie vysušovacieho a vysol'ovacieho efektu sa použili polovičné množstvá anorganických solí (2 g  $MgSO_4$  a 0,5 g NaCl). Ako extrahovadlá sa v celkovom objeme 5 ml na vzorku testovali zmesi EtOAc s organickými rozpúšťadlami s rôznou polaritou (s hexánom, propán-2-olom a acetónom) a tiež sa odskúšala zmes propán-2-ol/cyklohexán použitá v Smedesovej metóde (pozri obrázok 2).



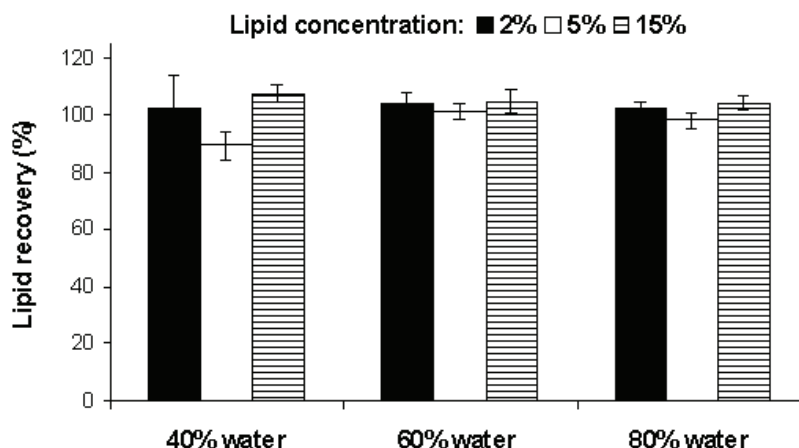
**Obrázok 2.** Extrakcia lipidov z kompozitnej vzorky jalca hlavateho s rôznymi zmesami organických rozpúšťadiel (EtOAc – etylacetát, Hex – hexán, IPA – propán-2-ol, CyHex – cyklohexán). Chybové úsečky predstavujú štandardné odchýlky zo štyroch opakovaných stanovení (SD: 0,06 – 0,34 %).

Najprv sa testovali zmesi EtOAc s hexánom, propán-2-olom a acetónom v pomere 8:2 a 6:4 (v/v), pričom najvyššie výťažnosti lipidov sa dosiahli s použitím zmesi EtOAc/acetón. Následne sa pokračovalo testovaním zmesi EtOAc/acetón v pomere 5:5 a 4:6. Ako možno vidieť na stĺpcovom grafe na obrázku 2 s použitím zmesi EtOAc/acetón v pomere 4:6 sa dosiahla výťažnosť lipidov na úrovni stanovenej Smedesovou metódou s hodnotou obsahu lipidov 2,81 %. Pri použití Smedesovej zmesi rozpúšťadiel propán-2-olu a cyklohexánu v pomere 4:5 sa stanovil obsah lipidov 1,47 %.

Výsledky ukázali, že najvhodnejším rozpúšťadlom k stanoveniu obsahu lipidov je zmes EtOAc/acetón v pomere 4:6, kedy boli získané výsledky porovnateľné s výsledkami, ktoré sme získali s použitím Smedesovej metódy.

### Vplyv obsahu vody vo vzorke na analýzu

Vzhľadom k tomu, že hmotnosť vody v extrahovaných vzorkách je dôležitým parametrom, ktorý bol upravovaný aj v postupe extrakcie podľa Smedesa a tiež v iných metódach stanovenia obsahu lipidov [3], vplyv obsahu vody na extrakciu lipidov zo vzorky sme testovali aj v našej metóde. Do 50-ml centrifugačných skúmaviek bolo navážené rôzne množstvo tresky v prášku (2.2.) a bola k nemu pridaná voda tak, aby sme získali homogenizát s obsahom vody 40, 60 a 80 % (w/w). Pred pridaním vody bol ku vzorkám tresky pridaný olej z treščekej pečene tak, aby výsledná koncentrácia lipidov vo vzorkách bola 2, 5 a 15 % (w/w) na 5 g homogenizátu. Takto pripravené vzorky boli analyzované nami vyvinutou metódou. Experiment bol vykonaný s tromi paralelne pripravenými vzorkami ako pre rôzny obsah lipidov, tak pre rôzny obsah vody vo vzorkách. Získané výsledky sú zhrnuté v obrázku 3.



Obrázok 3. Vplyv obsahu vody na extrakciu lipidov. Chybové úsečky reprezentujú smerodajnú odchýlku z troch paralelných stanovení (SD: 2,5 – 11,1 %).

Ako ukazuje zobrazený stĺpcový graf, je zrejme, že nebol pozorovaný žiadny špecifický účinok obsahu vody v rybom homogenizáte na extrakciu lipidov, pričom bola dosiahnutá výťažnosť s priemernou hodnotou 101,6 %.

#### Porovnanie konečnej acetón/EtOAc metódy a metódy podľa Smedesa

Pre porovnanie účinnosti konečnej acetón/EtOAc metódy a metódy podľa Smedesa bol analyzovaný väčší počet vzoriek rýb. 48 kompozitných vzoriek jalca hlavatého, 10 lososových a 8 trečších filiet bolo podrobených stanoveniu obsahu vody a celkového obsahu lipidov. Obsah vody bol u každej zo vzoriek stanovený duplicitne a to pred samotnou analýzou obsahu lipidov. Celkový obsah lipidov bol stanovený v troch paralelných meraniach podľa Smedesa a tak isto s použitím navrhovanej acetón/EtOAc metódy. Sumarizácia charakteristík testovaných vzoriek, výsledkov stanovenia vody a lipidov, ako aj štatistické vyhodnotenie výsledkov získaných oboma metódami sú uvedené v tabuľke 2. V tabuľke môžeme vidieť, že precíznosť (opakovateľnosť) oboch metód stanovenia lipidov, vyjadrená v percentách relatívnej smerodajnej odchýlky (RSD%), je veľmi podobná. RSD pre Smedesovu metódu sa pohybuje v rozmedzí od 0,06 do 12,69 % a pre acetón/EtOAc metódu je to do 0,53 až 12,51%. Ďalšie porovnanie výsledkov bolo uskutočnené výpočtom percentuálneho rozdielu (PD) a taktiež za použitia Studentovho *t*-testu.

Tabuľka 2: Sumarizácia charakteristík testovaných vzoriek, výsledkov stanovenia vody a lipidov, ako aj štatistické vyhodnotenie výsledkov získaných metódou podľa Smedesa a acetón/EtOAc metódou.

Parameter	Druh ryby		
	jalec	losos	treska
Počet vzoriek	48	10	8
Počet rýb vo vzorke	2–23	1	1
Rozsah hmotností rýb (g)	1–634	125 <sup>d</sup>	100 <sup>d</sup>
Obsah vody (% / RSD%) <sup>a</sup>	70.0–80.5 / 0.0–6.8	57.9–68.3 / 0.3–2.4	81.3–83.6 / 0.1–1.7
Lipidy_Smedes (% / SD% / RSD%) <sup>b</sup>	1.37–9.98 / 0.02–0.66 / 0.06–12.69	8.58–19.01 / 0.06–0.59 / 0.48–3.98	0.62–0.79 / 0.01–0.08 / 1.66–11.27
Lipidy_Ac/EtOAc (% / SD% / RSD%) <sup>b</sup>	1.46–10.15 / 0.02–0.47 / 0.53–12.51	8.19–18.85 / 0.11–1.29 / 0.66–6.85	0.63–0.82 / 0.01–0.03 / 1.11–3.31
Percentuálny rozdiel – PD (%) <sup>c</sup>	0.00–12.33	0.85–5.89	0.00–6.15
Výsledky <i>t</i> -testu	0.000–1.988	0.159–2.346	0.000–1.105

<sup>a</sup> n = 2.

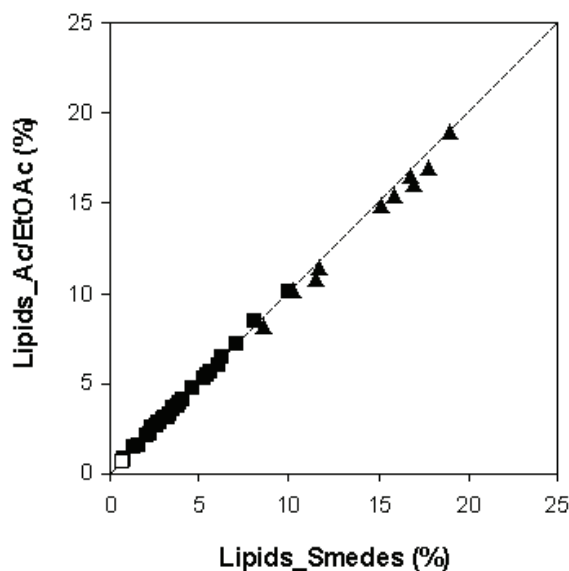
<sup>b</sup> n = 3.

<sup>c</sup> PD – Percentuálny rozdiel sa vypočítal vydelením rozdielu medzi výsledkami stanovenia lipidov s priemerom týchto výsledkov a vynásobením so 100.

<sup>d</sup> Váha rybieho filé.

Hodnoty PD uvedené v tabuľke 2 vykazujú veľmi dobrú zhodu medzi výsledkami u všetkých analyzovaných vzoriek, pričom priemerná hodnota PD je 2,99 %. Pokiaľ ide o vyhodnotenie Studentovho  $t$ -testu, kritická hodnota  $t$  pre štyri stupne voľnosti bola 2,776 na hladine významnosti  $\alpha = 0,05$  a 4,604 na  $\alpha = 0,01$ [12]. Ako ukazuje tabuľka, pre žiadnu z analyzovaných vzoriek rýb  $t$ -hodnoty neprekračujú kritickú hodnotu. Získané údaje ukazujú, že výsledky acetón/EtOAc metódy pre vzorky jalca, lososa a tresky nie sú štatisticky významne odlišné (pri  $\alpha = 0,05$  a  $\alpha = 0,01$ ) od tých, ktoré boli získané pri použití metódy podľa Smedesa. U vzoriek lososa bol celkový obsah lipidov stanovený Smedesovou metódou vyšší ako v prípade acetón/EtOAc metódy a to s priemernou hodnotou PD 3,47%.

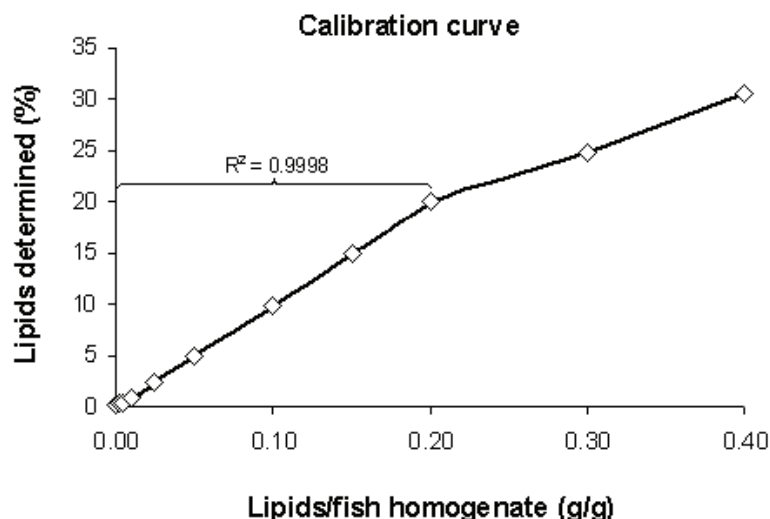
Grafické porovnanie výsledkov stanovenia bolo uskutočnené pomocou Youdenovho grafu, ktorý je znázornený na obrázku 4. Je vidieť, že takmer všetky body na grafe ležia na priamke absolútnej korelácie. Porovnaním obrázku 4 s obrázkom 1 môžeme vidieť efekt optimalizácie extrakčného rozpúšťadla.



**Obrázok 4. Porovnanie výsledkov získaných pomocou acetón/EtOAc metódy a metódy podľa Smedesa (□ – treska, ▲ – losos, a ■ –jalec hlavaty).**

#### Ďalšie doplňujúce charakteristiky metódy

Linearita vyvinutej metódy bola študovaná na jedenástich vzorkách s rôznou koncentráciou lipidov, pričom prvá vzorka neobsahovala žiadne množstvo lipidov a vzorka s najvyššou koncentráciou obsahovala 0,4 g lipidov na 1 g homogenizátu. Vzorky použité na túto analýzu boli pripravené z práškového homogenizátu tresky a ako lipid bol ku vzorkám pridaný olej z treščekej pečene. V takto pripravených vzorkách bol upravený pomer prášku a vody na hodnotu 1:4 (w/w). Na obrázku 5 sú vynesené stanovené hodnoty lipidov (%) oproti príslušným nadávkovaným koncentráciám. Z kalibračnej krivky možno vidieť, že lineárny rozsah s koeficientom korelácie 0,9998 sa nachádza medzi 0,25 až 20 % obsahom lipidov v rybom homegenizáte.



Obrázok 5. Kalibračná krivka

Limity metódy boli stanovené v súlade s odporúčaniami ICH (Medzinárodná konferencia o harmonizácii, 2005), ktorá uplatňuje prístup založený na štandardnej odchýlke (SD) odozvy a na smernici kalibračnej krivky (S). Smerodajná odchýlka bola stanovená z výsledkov analýz 10 neobohatených vzoriek rybieho homogenizátu, ktoré boli pripravené z 1 g vyčisteného rybieho prášku a 4 ml deionizovanej vody. Limit detekcie (LOD) bol vypočítaný pomocou rovnice  $3,3(SD/S)$ , zatiaľ čo v prípade limitu kvantifikácie (LOQ) bola použitá rovnica  $10(SD/S)$ . Pre celkový obsah lipidov v homogenizáte rýb boli stanovené hodnoty LOD 0,11 % a LOQ 0,34 %.

#### Analýza CRM

Presnosť metódy bola preukázaná na základe analýzy certifikovaného referenčného materiálu NIST CRM 1946 – rybieho tkaniva pripraveného zo pstruha jazerného. Tri 5g alikvoty rybieho homogenizátu boli analyzované vyvinutou metódou na stanovenie celkového obsahu lipidov. Certifikovaná hodnota a získané výsledky sú uvedené v tabuľke 3.

**Tabuľka 3: Výsledky stanovenia celkových lipidov (% mokrej hmotnosti) v štandardnom referenčnom materiáli NIST SRM 1946 (Lake Superior Fish Tissue).**

Certifikovaná hodnota (%)	Stanovená hodnota <sup>a</sup> (%)	Výťažnosť <sup>b</sup> (%)	z-skóre <sup>c</sup>
10.17 ± 0.48	10.10 ± 0.05	99.3 ± 0.5	-0.15

<sup>a</sup> Priemer ± SD,  $n = 3$ .

<sup>b</sup> Priemer ± RSD.

<sup>c</sup> z-skóre = 
$$\frac{\text{stanovená hodnota} - \text{certifikovaná hodnota}}{\text{neistota certifikovanej hodnoty}}$$

Certifikovaná hodnota extrahovateľného tuku bola získaná z kombinácie výsledkov analýz uskutočnených v NIST (Soxhletová extrakcia a zrýchlená extrakcia rozpúšťadlom – dichlormetánom), a výsledkov z GMA medzilaboratórných porovnávacích skúšok (väčšinou použitý kyselinový rozklad a extrakcia éterom). Ako je možné vidieť v tabuľke 3, bola dosiahnutá výborná zhoda medzi stanovenou priemernou hodnotou a certifikovanou hodnotou. Priemerná výťažnosť bola takmer 100% a opakovateľnosť stanovení ( $n = 3$ ) vyjadrená ako RSD bola tiež veľmi dobrá (0,5%). Veľmi dobrá presnosť stanovenia celkového obsahu lipidov bola potvrdená aj výpočtom z-skóre, ktorého hodnota bola -0,15.

#### ZÁVER

Navrhovaná metóda využívajúca extrakciu so zmesou rozpúšťadiel acetón/EtOAc a následnú gravimetrickú kvantifikáciu môže byť rýchlou a lacnou alternatívou k bežným metódam na stanovenie celkového obsahu lipidov v rybách a rybích produktoch. Prístup QuEChERS zjednodušuje postup extrakcie, znižuje spotrebu rozpúšťadiel a chemikálií a je časovo nenáročný. Použitie rozpúšťadiel acetónu a EtOAc, ktorých výhodami sú

nízka cena, nízka toxicita a prijateľný zápach, znižuje finančné náklady a zvyšuje šetornosť metódy k životnému prostrediu.

V porovnaní s metódou podľa Smedesa bola dosiahnutá podobná opakovateľnosť a dobrá zhoda medzi výsledkami z oboch metód. Nami navrhovaná metóda je menej pracná, pričom celkový čas analýzy 10 vzoriek sa skrátil na polovicu. V prospech novej metódy tiež svedčí znížená spotreba organických rozpúšťadiel z 56 ml na 5 ml na vzorku. Presnosť acetón/EtOAc metódy bola potvrdená analýzou certifikovaného referenčného materiálu rybieho tkaniva.

### LITERATÚRA

- [1] Randall, R. C., Lee II, H., Ozretich, R. J., Lake, J. L., Pruell, R. J. (1991) Evaluation of selected lipid methods for normalizing pollutant bioaccumulation. *Environ. Toxicol. Chem.* 10, 1431–1436.
- [2] Geyer, H. J., Scheunert, I., Brüggemann, R., Matthies, M., Steinberg, C. E. W., Zitko, V., Kettrup, A., Garrison, W. (1994) The relevance of aquatic organisms' lipid content to the toxicity of lipophilic chemicals: toxicity of lindane to different fish species. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 28, 53–70.
- [3] Schlechtriem, C., Fliedner, A., Schäfers, C. (2012) Determination of lipid content in fish samples from bioaccumulation studies: contributions to the revision of guideline OECD 305. *Environ. Sci. Eur.* 24, 19–30.
- [4] Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Stajnbaher, D., Schenck, F. J. (2003) Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. *J. AOAC Int.* 86, 412–431.
- [5] Lucci, P., Pacetti, D., Núñez, O., Frega, N. G. (2012) Current trends in sample treatment techniques for environmental and food analysis. In: L. de Azevedo Calderon (ed.), *Chromatography – the most versatile method in chemical analysis*, InTech, Rijeka, Croatia.
- [6] Ribeiro, C., Ribeiro, A. R., Maia, A. S., Gonçalves, V. M. F., Tiritan, M. E. (2014) New trends in sample preparation techniques for environmental analysis. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 44, 142–185.
- [7] Smedes, F. (1999) Determination of total lipid using non-chlorinated solvents. *Analyst* 124, 1711–1718.
- [8] Karl, H., Oehlenschläger, J., Bekaert, K., Bergé, J. P., Cadun, A., Duflos, G., Poli, B. M., Tejada, M., Testi, S., Timm-Heinrich, M. (2012) WEFTA interlaboratory comparison on total lipid determination in fishery products using the Smedes method. *J. AOAC Int.* 95, 489–493.
- [9] Banerjee, K., Oulkar, D. P., Dasgupta, S., Patil, S. B., Patil, S. H., Savant, R., Adsule, P. G. (2007) Validation and uncertainty analysis of a multi-residue method for pesticides in grapes using ethyl acetate extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1173, 98–109.
- [10] Pihlström, T., Blomkvist, G., Friman, P., Pagard, U., Österdahl, B. G. (2007) Analysis of pesticide residues in fruit and vegetables with ethyl acetate extraction using gas and liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. *Anal. Bioanal. Chem.* 389, 1773–1789.
- [11] Kalachova, K., Pulkrabova, J., Drabova, L., Cajka, T., Kocourek, V., Hajslova, J. (2011) Simplified and rapid determination of polychlorinated biphenyls, polybrominated diphenyl ethers, and polycyclic aromatic hydrocarbons in fish and shrimps integrated into a single method. *Anal. Chim. Acta* 707, 84–91.
- [12] Eckschlager, K., Horsák, I., Kodejš, Z. (1980) Vyhodnocování analytických výsledků a metod. SNTL, Praha.



# VÝVOJ A TESTOVANIE KONCEPTU MOBILNÉHO PASÍVNEHO ODBERU VZORIEK PRE SKRÍNING ORGANICKÝCH ZNEČISŤUJÚCÍCH LÁTOK VO VODE

Branislav Vrana<sup>1</sup>, Foppe Smedes<sup>1</sup>, Tatsiana Rusina<sup>1</sup>, Krzysztof Okonski<sup>1</sup>, Ian Allan<sup>2</sup>, Merete Grung<sup>2</sup>,  
Klára Hilscherova<sup>1</sup>, Jiří Novák<sup>1</sup>, Peter Tarábek<sup>3</sup>, Roman Grabic<sup>4</sup>, Jaroslav Slobodník<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Masarykova Univerzita, Přírodovědecká fakulta,

Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí (RECETOX), Brno

<sup>2</sup> Norwegian Institute for Water Research (NIVA), Oslo, Norway

<sup>3</sup> Výskumný ústav vodného hospodárstva, Bratislava, Slovensko

<sup>4</sup> Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Fakulta rybářství a ochrany vod, České Budějovice

<sup>5</sup> Environmentálny Inštitút, Slovensko

## ÚVOD

Organické znečisťujúce látky sú často prítomné vo vodnom stĺpci v stopových koncentráciách, ktoré je ťažké stanoviť, keď je aplikovaný konvenčný bodový odber vzoriek vody. Predstavujeme nový reprezentatívny prístup k odberu vzoriek pre skríning stopových organických znečisťujúcich látok a ich toxického potenciálu pozdĺž veľkej európskej rieky. Koncept bol úspešne aplikovaný v lete 2013 v rámci dunajskej expedície Joint Danube Survey 3 [1]. Použitie časovo a priestorovo integračného pasívneho prístupu vzorkovania umožnilo získať vzorky, ktoré poskytujú reprezentatívny obraz o situácii znečistenia pre osem vymedzených úsekov Dunaja.

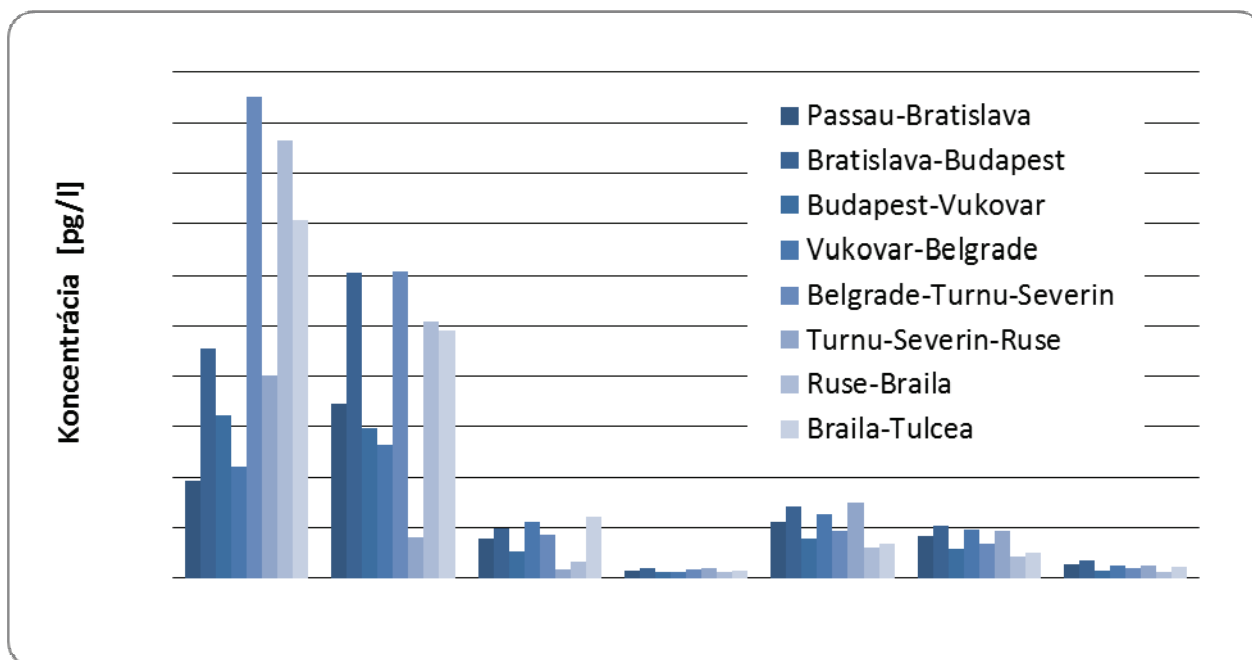
## MATERIÁL A METÓDY

Pre časovo a priestorovo integratívne vzorkovania stopových koncentrácií organických polutantov sme použili „aktívny“ pasívny systém odberu vzoriek (APS). Princíp vzorkovania v APS je rovnaký ako v klasickom statickom pasívnom vzorkovaní a na hodnotenie výsledkov monitorovania je možné použiť tie isté kalibračné parametre. Systém APS bol v lete roku 2013 inštalovaný na palube expedičnej lode Argus, aby bolo možné dosiahnuť vysoké hodnoty vzorkovacích rýchlostí látok kvôli dosiahnutiu potrebnej citlivosti merania, napriek krátkej dobe vzorkovania, ktorá bola k dispozícii. Počas typickej doby vzorkovania 5 dní sa loď pohybovala po prúde rieky na zvolenom úseku. Získané vzorky obsahovali znečisťujúce látky z vody integrované v čase a priestore pozdĺž vzorkovaného úseku. Vzorkovače boli vymenené každých 5 dní, a týmto postupom bolo získaných celkovo osem vzoriek reprezentujúcich osem úsekov Dunaja od Regensburgu až po ústie rieky do Čierneho mora.

Boli použité tri typy pasívnych vzorkovačov: dva rozdeľovacie pasívne vzorkovače pre hydrofóbne zlúčeniny, plátky zo silikónovej gúmy (SR) a polyetylénu s nízkou hustotou (LDPE), a adsorpčný vzorkovač polárnych zlúčenín na báze diskov so sorbentom zo styrén-divinylbenzénovej živice (SDB - RPS Empore disky (ED)). Extrakty z pasívnych vzorkovačov boli podrobené analýze niekoľkých skupín organických polutantov, ďalej skrínungu rôznymi metódami hmotnostnej spektrometrie s vysokým rozlíšením, a tiež toxikologickému profilovaniu pomocou batérie biotestov.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pasívne vzorkovače vo väčšine prípadov potvrdili podobnú priestorovú distribúciu rozpustených znečisťujúcich látok pozdĺž toku rieky, ako bolo pozorované už počas predchádzajúceho prieskumu Dunaja JDS2 v roku 2007. Najvyššie koncentrácie polycyklických aromatických uhlíkov, alkylfenolov a kofeínu boli pozorované v Dunaji na úseku medzi Budapešťou a Belehradom (obr. 1). Podobne ako počas JDS2, koncentračný profil polychlórovaných bifenylov a hexachlórbenzénu pozdĺž rieky vykazoval nízku variabilitu a bez náznaku výrazných emisných maxím [2]. V súlade so zisteniami expedícií JDS1 a JDS2, koncentračný profil  $\beta$ -hexachlórcyklohexánu, DDT a jeho metabolitov vo vodnom stĺpci vykazoval prudký nárast hladín týchto látok v oblasti delty pri ústí rieky do Čierneho mora [2,3]. Nízky podiel *p,p'*-DDT na celkovej koncentrácii DDT ale naznačuje, že aktuálne sa DDT v tejto oblasti nepoužíva. Hladiny polárnych pesticídov alachlóru, atrazínu, diurónu, izoproturonu a simazínu, uvedených ako prioritné znečisťujúce látky podľa Rámcovej smernice o vode 2000/60/ES boli porovnateľné s úrovňou zmeranou vo vzorkách vody počas predchádzajúcej dunajskej expedície JDS2. Ich koncentrácie boli hlboko pod hodnotami príslušných environmentálnych noriem kvality [3].



**Obrázok 1: Koncentrácia polychlórovaných bifenylov rozpustených vo vode, stanovená pasívnym vzorkovaním pomocou silikónovej gummy na ôsmich úsekoch Dunaja.**

### ZÁVER

Napriek nízkym koncentráciám (ng l<sup>-1</sup>) väčšiny organických znečisťujúcich látok, prítomných vo voľne rozpustenej forme, pasívne vzorkovanie umožnilo jasne identifikovať priestorové trendy širokého spektra organických znečisťujúcich látok vo vodnom stĺpci v Dunaji, vrátane polychlórovaných bifenylov, chlórovaných organických zlúčenín, polycyklických aromatických uhlíkov, alkylfenolov, vybraných polárnych pesticídov a liečiv. V mnohých prípadoch integračná povaha pasívneho vzorkovania umožňuje merania zlúčenín až na úrovni koncentračných hladín v pg l<sup>-1</sup>. Metódy analýzy, založené na odberoch malých objemov vody, ktoré boli použité v predchádzajúcich prieskumoch Dunaja, neumožnili takéto nízke koncentrácie detegovať. Kombinácia pasívneho vzorkovania s biotestmi predstavuje veľmi sľubný prístup k detekcii rôznych potenciálne toxických látok pozdĺž rieky i pre identifikáciu oblastí so zvýšeným toxickým potenciálom, kde je potrebné sústrediť ďalšie úsilie, zamerané na odhalenie povahy znečistenia a súvisiacich rizík.

### POĎAKOVANIE

Autori ďakujú asociácii NORMAN [www.norman-network.net](http://www.norman-network.net) a FP7 EÚ projektu SOLUTIONS (FP7-ENV-2013-two-stage Collaborative project 603437) za finančnú podporu.

### LITERATÚRA

- [1] B. Vrana, F. Smedes, T. Rusina, K. Okonski, I. Allan, M. Grung, et al., Passive sampling: chemical analysis and toxicological profiling, in: I. Liška, F. Wagner, M. Sengl, K. Deutsch, J. Slobodník (Eds.), *Jt. Danube Surv. 3, ICPDR – International Commission for the Protection of the Danube River, Vienna, 2015*: pp. 304–315.
- [2] Umlauf G, Christoph E, Huber T, Mariani G., Mueller A., Skejo H., Wollgast J., 2008. Cross matrix inter-comparison of semi-volatile organic compounds in water, suspended particulate matter, sediments and biota, in: Liska, I., Wagner, F., Slobodnik, J. (Eds.), *Joint Danube Survey 2 - Final Scientific Report. ICPDR-International Commission for the Protection of the Danube River, Vienna, pp. 174–191.*
- [3] Loos R., Locoro G., Contini S., 2008. Polar water-soluble contaminants in the liquid water phase by SPE-LC-MS2, in: Liska, I., Wagner, F., Slobodnik, J. (Eds.), *Joint Danube Survey 2 - Final Scientific Report. - International Commission for the Protection of the Danube River, Vienna, pp. 170–173.*

# POUŽITÍ METODY PASIVNÍHO VZORKOVÁNÍ PRO SLEDOVÁNÍ EMERGENTNÍCH POLUTANTŮ VE VODĚ – MEZILABORATORNÍ STUDIE

Branislav Vrana<sup>1,2</sup>, Foppe Smedes<sup>1,3</sup>, Roman Prokeš<sup>1</sup>, Robert Loos<sup>4</sup>, Nicolas Mazzella<sup>5</sup>, Cecile Miegé<sup>5</sup>, Hélène Budzinski<sup>6</sup>, Etienne Vermeirssen<sup>7</sup>, Tomáš Ocelka<sup>8</sup>, Anthony Gravell<sup>9</sup> and Sarit Kaserzon<sup>10</sup>

<sup>1</sup> Masarykova univerzita, Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí (RECETOX), Česká Republika

<sup>2</sup> Výzkumný ústav vodního hospodářství, Slovensko

<sup>3</sup> Deltares, Nizozemsko

<sup>4</sup> European Commission - DG Joint Research Centre (JRC), Institute for Environment and Sustainability (IES), Ispra, Itálie

<sup>5</sup> IRSTEA, Francie

<sup>6</sup> Université de Bordeaux, Francie

<sup>7</sup> Ecotox Centre, Švýcarsko

<sup>8</sup> Zdravotní ústav se sídlem v Ostravě, Česká Republika

<sup>9</sup> Natural Resources Wales, Velká Británie

<sup>10</sup> The University of Queensland, The National Research Centre for Environmental Toxicology (Entox), Austrálie

## ABSTRAKT

Konvenční vzorkovací metody často selhávají při stanovení koncentrace emergentních polutantů ve vodním prostředí, a proto se jako vhodná alternativa nabízí použití techniky pasivního vzorkování. Tato metoda představuje inovativní nástroj pro časově-integrované měření znečišťujících látek ve vodním prostředí a ukazuje se jako spolehlivý, robustní a finančně efektivní nástroj. Pasivní vzorkovače mohou být využity při sledování kvality vodního prostředí podle Rámcové směrnice o vodní politice (WFD).

V roce 2011 zorganizovala asociace referenčních laboratoří, výzkumných středisek a souvisejících organizací pro sledování nových znečišťujících látek v životním prostředí NORMAN ve spolupráci s Evropskou komisí mezilaboratorní studii zaměřenou na praktické ověření metody pasivního vzorkování. Tohoto srovnání se zúčastnilo více jak 30 institucí z akademické, komerční a veřejné sféry, kde každá laboratoř poskytla svůj vlastní vzorkovací systém, který byl porovnán na jednom referenčním místě.

Toto srovnání charakterizuje rozdíly v jednotlivých metodách pasivního vzorkování emergentních polutantů, jako jsou farmaka, polární pesticidy, steroidní hormony, fluorované povrchově aktivní látky a bromované zpomalovače hoření, ve vodním prostředí. Cílem studie bylo demonstrovat spolehlivost pasivního vzorkování a usnadnit budoucí přijetí této metody k rutinnímu sledování kvality životního prostředí.

## KLÍČOVÁ SLOVA

Pasivní vzorkování, emergentní polutanty, bisfenol A, farmaka, polární pesticidy, steroidní hormony, fluorované povrchově aktivní látky, bromované zpomalovače hoření, analýza vody.

## ÚVOD

Metoda pasivní vzorkování se v současné době stále více uplatňuje při sledování kvality vodního prostředí i v rámci evropské legislativy podle Rámcové směrnice o vodní politice (WFD). Nařízení Evropské unie 2013/39/EU přímo doporučuje vývoj těchto metod pasivního vzorkování jako velice slibný nástroj pro sledování znečišťujících látek ve vodním prostředí [1].

Cílem mezilaboratorní studie, pořádané v roce 2011 asociací NORMAN ve spolupráci s dalšími organizacemi, bylo zhodnocení současné variability pasivního vzorkování vody pro skupinu emergentních polutantů. Ambicí této studie nebyla validace této metody nebo demonstrace možného použití v rámci evropských norem, ale identifikace možných nedostatků pasivní vzorkování pro budoucí vývoj této metody. Dalším záměrem studie byla také možnost ověření, doposud ne zcela prozkoumaných, postupů pasivního vzorkování a analytického zpracování vzorků této skupiny emergentních polutantů, které nejsou v současné době regulovány, ale jejich osud je v životním prostředí problematický.

## DESIGN STUDIE

Mezilaboratorní studie popisuje srovnání různých technik pasivního vzorkování vody včetně analytického zpracování vzorku spolu s odběrem vzorků pomocí konvenční techniky automatického odběru. Této studii se zúčastnilo více jak 30 výzkumných institucí, univerzit a organizací, kde každý účastník poslal svůj vlastní pasivní vzorkovač pro danou skupinu látek. Tento vzorkovač byl pak exponován na jednom vzorkovacím místě

po stanovenou dobu. Po této době byl každému účastníkovi zaslán jeho vzorkovací systém zpět spolu s referenčním pasivním vzorkovačem a kontrolním roztokem standardů. Referenční pasivní vzorkovač byl exponován po stejnou dobu na stejné lokalitě jako ostatní vzorkovače, poté byl organizátorem studie analyticky zpracován. Tento vzorkovač sloužil pro srovnání analytického zpracování vzorku danou laboratoří. Kompozitní vzorky, resp. koncentrace daných polutantů, získaná pomocí automatického vzorkovače byla též srovnána s koncentrací látek zjištěnou pomocí pasivního vzorkování.

Vzorkovače byly exponovány na výtoku z Čistírny odpadní vod v Brně-Modřicích [2]. Vzorkování proběhlo v létě 2011 a bylo rozděleno do třech následných kampaní podle jednotlivých skupin polutantů. Doba expozice pro všechny skupiny látek, kromě bromovaných zpomalovačů hoření (BDEs – bromované difenylétery), byla 14 dní. Skupina BDEs byla exponována po dobu 42 dnů. Fyzikálně-chemické parametry vody, jako jsou pH, teplota, konduktivita, TOC, suspendované částice a průtok, byly též měřeny ČOV.

### SLEDOVANÉ POLUTANTY

Polutanty by vybrány na základě dotazníku zasláného, během přípravy studie, laboratořím, které měly zkušenost s aplikací a analytickým zpracování pasivních vzorkovačů. Tyto sloučeniny byly též vybrány ze seznamu nejvíce diskutovaných emergentních polutantů asociace Norman [3]. Další kritériem byla také existence experimentálně zjištěných kalibračních dat. Konečný seznam zahrnuje celkem 29 sloučenin:

- 7 polárních pesticidů (atrazin, karbendazim, desethylatrazin, desethylterbutylazin, diuron, S-metalochlor, terbutylazin)
- 7 léčiv (alprazolam, atenolol, karbamazepin, diazepam, diklofenak, ibuprofen, naproxen)
- 5 steroidních hormonů (17-alfa-estradiol, 17-alfa-ethinylestradiol, 17-beta-estradiol, estriol, estron)
- 6 bromovaných difenyléterů (BDE 28, BDE 47, BDE 99, BDE 100, BDE 153, BDE 154)
- 2 fluorované povrchové aktivní látky (PFOA, PFOS)
- Bisfenol A
- Triclosan

### PASIVNÍ VZORKOVAČ OD ÚČASTNÍKŮ STUDIE

Každý účastník studie zaslal pro vybranou vzorkovací etapu resp. skupinu polutantů svůj vlastní vzorkovací systém, který se skládal ze tří vzorkovačů a jednoho terénního blanku. Tyto vzorkovače byly pak dle doporučeného postupu umístěny na vzorkovaném místě. Každý účastník si mohl zvolit pro danou skupinu látek jakýkoliv vzorkovací systém. V tabulce 1 jsou uvedeny nejvíce zastoupené vzorkovací systémy. Každý účastník studie vkládal svoje výsledky prostřednictvím autorizované webové aplikace. Pro jednotlivé látky se výsledky vkládaly ve formě koncentrace vztahené na vzorkovač a koncentrace přepočítané, jejich vlastní metodou, na objem vody.

**Tabulka 1. Seznam nejvíce zastoupených pasivních vzorkovačů, které byly dodány jednotlivými účastníky studie.**

Pasivní vzorkovač	Zkratka
POCIS, verze pro léčiva	POCIS
Empore Disk	ED
POCIS, verze pro pesticidy	POCIP
Chemcatcher, verze pro vzorkování polární látek	CCPOL
Silikonová guma	SR
Empore SDB-RPS s PES membránou (0.1 μm)	EDPES
CFIS (kontinuální vzorkovač)	CFIS
BAKERBOND® Speedisk	SPEED
Polyoxymethylénový plátek	POM
Modifikovaný vzorkovač POCIS	POCIM
Semipermeabilní membrána	SPMD
Proužek nízkohustotního polyetylénu	LDPE
MESCO	MESCO
Chemcatcher, verze pro vzorkování nepolární látek	CCNP

## PASIVNÍ VZORKOVAČ POSKYTNUTÝ ORGANIZÁTOREM (REFERENČNÍ)

Každému účastníkovi studie byly zaslány tři exponované vzorkovače a jeden terénní blank v závislosti na jednotlivých etapách studie.

### VZORKOVÁNÍ POLÁRNÍCH LÁTEK

Pro vzorkování pesticidů, léčiv, steroidních hormonů, fluorovaných povrchově aktivních látek, bisfenolu A a triclosanu byl použit pasivní vzorkovač POCIS. Vzorkovač se standardně skládal z polyétersulfonové membrány (poróznost 0,1 μm, plocha povrchu 45,8 cm<sup>2</sup>) naplněné OASIS HLB sorbentem (200 mg). POCIS byl v případě vzorkování polární pesticidů obohacen D<sub>5</sub>-desisopropylatrazinem (D<sub>5</sub>-DIA, 4 μg/g).

Sorbent z každého vzorkovače byl převeden do prázdných SPE patron, přesušen a jeho hmotnost byla zaznamenána. Každý účastník obdržel náhodně vybraný sorbent ze tří exponovaných vzorkovačů a jednoho terénního blanku. Výsledky byly, prostřednictvím autorizované aplikace, vloženy v ng/g sorbentu a v případě analýzy pesticidů byl vykazován i poměr D<sub>5</sub>-DIA mezi exponovanou a neexponovanou membránou resp. mezi vzorkovačem a terénním blankem. Účastníci studie rovněž vkládaly koncentrace látek ve vodě v ng/l (C<sub>w</sub>), která byla vypočítána jejich vlastní metodou. Tuto metodu výpočtu koncentrace látek ve vodě musel každý účastník studie poskytnout organizátorům.

### VZORKOVÁNÍ BROMOVANÝCH DIFENYLÉTERŮ

Bromované zpomalovače hoření byly vzorkovány pomocí silikonové gumy Altesil. Každý vzorkovač se skládal z proužku silikonové gumy o velikosti 90 x 55 x 0,5 mm. Vzorkovače byly před expozicí obohaceny 15 referenčními látkami (PRCs), jednalo se převážně o deuterované nebo C<sub>13</sub> značené látky běžně se v prostředí nevyskytující. Tyto gumy, stejně jako vzorkovače od účastníků studie, byly exponovány na výtoku z ČOV po dobu 42 dnů. Každý účastník obdržel tři náhodně vybrané gumy, terénní blank a terénní blank obohacený o uniformní koncentraci BDEs.

Výsledky byly, obdobně jako u polárních látek, vloženy v podobě absolutní koncentrace látek na vzorkovač (ng/vzorkovač) a pro PRCs látky to byl poměr mezi množstvím PRC látek v exponovaném a neexponovaném vzorkovači tzn. mezi vzorkovačem a blankem. Odhad koncentrace látek ve vodě v pg/l byl rovněž od jednotlivých účastníků vyžadován, stejně jako použitá metoda výpočtu.

### SMĚSNÝ VZOREK VODY (AUTOMATICKÉ VZORKOVÁNÍ)

Odběr směšného vzorku byl proveden pomocí automatického vzorkovače (Bühler 1029, Hach Lange). Směsný 24-hod. vzorek byl následně transportován do laboratoře, homogenizován a přefiltrován přes skleněný filtr Whatman GF/F. Jednotlivé alikvoty byly převedeny do zásobních lahví a uskladněny při 4°C (pesticidy, triclosan, bisfenol A, PFOA, PFOS) nebo zamrazeny při -20°C (léčiva, steroidní hormony). Každý den byl takto zpracován a přidán do zásobních lahví nový vzorek. Tímto postupem byly získány sedmi denní směšné vzorky, které byly následně během 24 hod. transportovány do vybrané expertní laboratoře k analýze.

Tímto způsobem byla zjištěna průměrná koncentrace sledovaných látek ve vodě, kromě BDEs, na vzorkovaném místě. Tato koncentrace, získaná konvenční metodou odběru a zpracování vzorku, byla následně porovnána s koncentrací nalezenou v pasivních vzorkovačích.

### EVALUACE ZÍSKANÝCH DAT

Získaná data, za předpokladu log-normálního rozdělení, byla log<sub>2</sub> statisticky zpracována. Pro prezentaci výsledků v grafech byla data zpětně transformována na původní hodnoty. K zobrazení jednotlivých výsledků byly užity krabicové (box-and-whisker), sloupcové a dvojné (biplot) grafy.

Variabilita získaných dat, pocházejících od účastníků studie, byla vyjádřena pomocí variačního koeficientu (CV). Tento koeficient byl vypočítán ze směrodatné odchylky log<sub>2</sub> transformovaných dat podle rovnice 1[4]:

$$CV = \ln 2 s_{\log}^2 \quad (\text{rovnice 1})$$

kde  $s_{\log}^2$  je směrodatná odchylka.

Většina účastníků studie vypočítala koncentraci látek ve vodě podle lineárního modelu absorpce, viz rovnice 2. Tento model vychází z předpokladu integrativního vzorkování během celého odběrového intervalu.

$$C_w = N_{PS} / R_s t \quad (\text{rovnice 2})$$

kde  $N_{PS}$  je množství (koncentrace látek) v referenčním pasivním vzorkovači,  $R_s$  je vzorkovací rychlost a  $t$  je čas.

Pro tento model může být variační koeficient vyjádřen pomocí rovnice 3:

$$CV_{R_s} = \sqrt{CV_{C_w}^2 - CV_{N_{PS}}^2} \quad (\text{rovnice 3})$$

kde  $CV_{C_w}$  je variační koeficient koncentrace látek ve vodě,  $CV_{N_{PS}}$  je množství analytu v referenčním vzorkovači a  $CV_{R_s}$  je koeficient vzorkovací rychlosti.

## VÝSLEDKY A DISKUZE

Výsledky celé mezilaboratorní studie jsou pro jednotlivé sloučeniny podrobně popsány v publikovaném reportu [2]. V bodech uvedených níže jsou shrnuty nejvýznamnější výstupy mezilaboratorní studie.

- Kontrolní roztok standardů byl, až na výjimky, analyzován každou laboratoří s minimální variabilitou. Pro většinu sloučenin byla referenční koncentrace analytů v rámci intervalu zahrnující výsledky jednotlivých účastníků studie.
- Pasivní vzorkování většiny polární látek pomocí vzorkovače POCIS (poskytnuté organizátorem) bylo homogenní, což bylo potvrzeno malou variabilitou dat v rámci zúčastněných laboratoří (viz obrázek 4). Tento fakt vypovídá o tom, že absorpce sloučenin není závislá na umístění jednotlivých vzorkovačů v systému. Přesnost naměřených dat je u skupiny steroidních hormonů v porovnání s ostatními polárními látkami nižší, jelikož byly tyto látky ve vzorkovaném prostředí přítomny ve velmi nízkých koncentracích na úrovni limitu detekce.
- Koncentrace analytů nalezené v obou typech terénních blanků byly velmi nízké, ve většině případů méně než 10% celkové koncentrace ve vodě exponovaných vzorkovačů.
- V případě shodného absorpčního mechanismu mezi referenčním a účastníkem dodaným vzorkovačem byly získané mezilaboratorní výsledky ( $\text{ng}/\text{cm}^2$ ) dobře srovnatelné i pro odlišné vzorkovací systémy, viz obrázek 2 a 3. Z výsledků vyplývá, že variabilita pasivního vzorkování je nižší než variabilita laboratorního zpracování a následného přepočtu na koncentraci ve vodě.
- Variabilita výsledků pasivního vzorkování mezi jednotlivými laboratořemi je přibližně 5x vyšší než variabilita v rámci laboratoře (viz obrázek 4).
- Odhad koncentrace látek ve vodě je zatížen vyšší mezilaboratorní variabilitou, což bylo způsobeno použitím nejednotné metodiky tohoto výpočtu.
- Hlavním důvodem zvýšené mezilaboratorní variability při vzorkování BDEs pomocí silikonové gumy je použitá metoda přepočtu koncentrace analytů ve vodní fázi, viz příklad pro BDE 47 na obrázku 4.
- Ve většině případů nebyly nalezeny rozdíly mezi koncentrací látek ve vodě, která byla odebrána pomocí automatické vzorkovače nebo systémem pasivního vzorkování (viz obrázek 2). Nicméně přesnost metody pasivního vzorkování může být i nadále významně zdokonalována. Na druhou stranu jsou pasivní vzorkovače schopny detekovat koncentrace látek (S-metalochlor, triclosan), které jsou běžnými konvenčními metodami neměřitelné resp. jsou pod limitem detekce této metody.

## ZÁVĚR

Metoda pasivního vzorkování se prokázala jako slibný nástroj pro opakovatelné měření koncentrace látek ve vodním prostředí. Správnost a přesnost stanovení množství látek sorbovaných vzorkovačem, stejně jako výpočet koncentrace látek ve vodní fázi, činily mnohým účastníkům studie velké potíže.

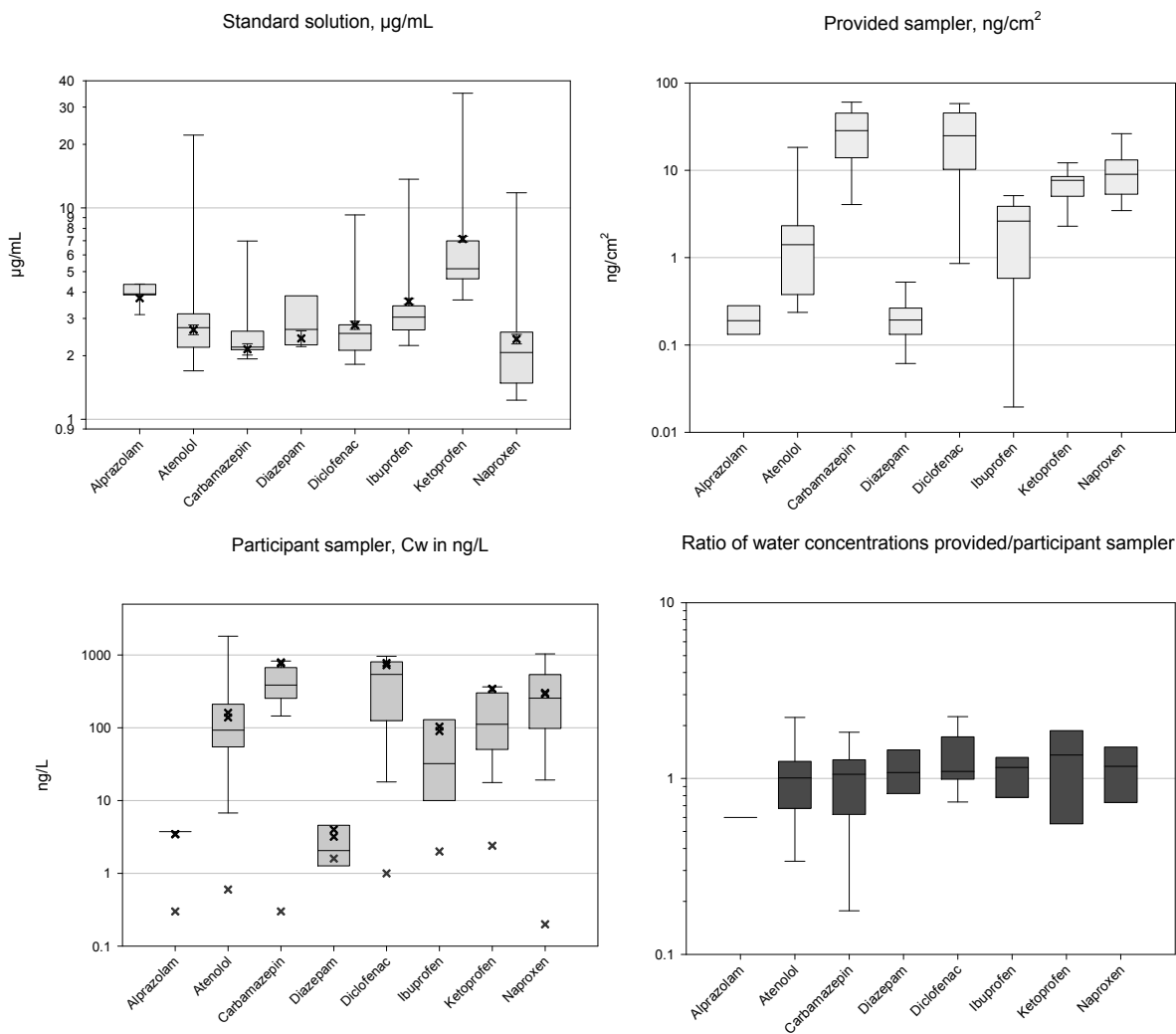
## PODĚKOVÁNÍ

Tato studie byla organizována asociací Norman a DG JRC pro podporu implementační strategie WFD. Tento projekt byl také podpořen MŠMT (LO1214) a výzkumnou infrastrukturou RECETOX (LM2011028). Poděkování také patří všem účastníkům studie, zaměstnancům centra RECETOX a Výzkumného ústavu vodního hospodářství v Bratislavě a ČOV v Brně-Modřicích.

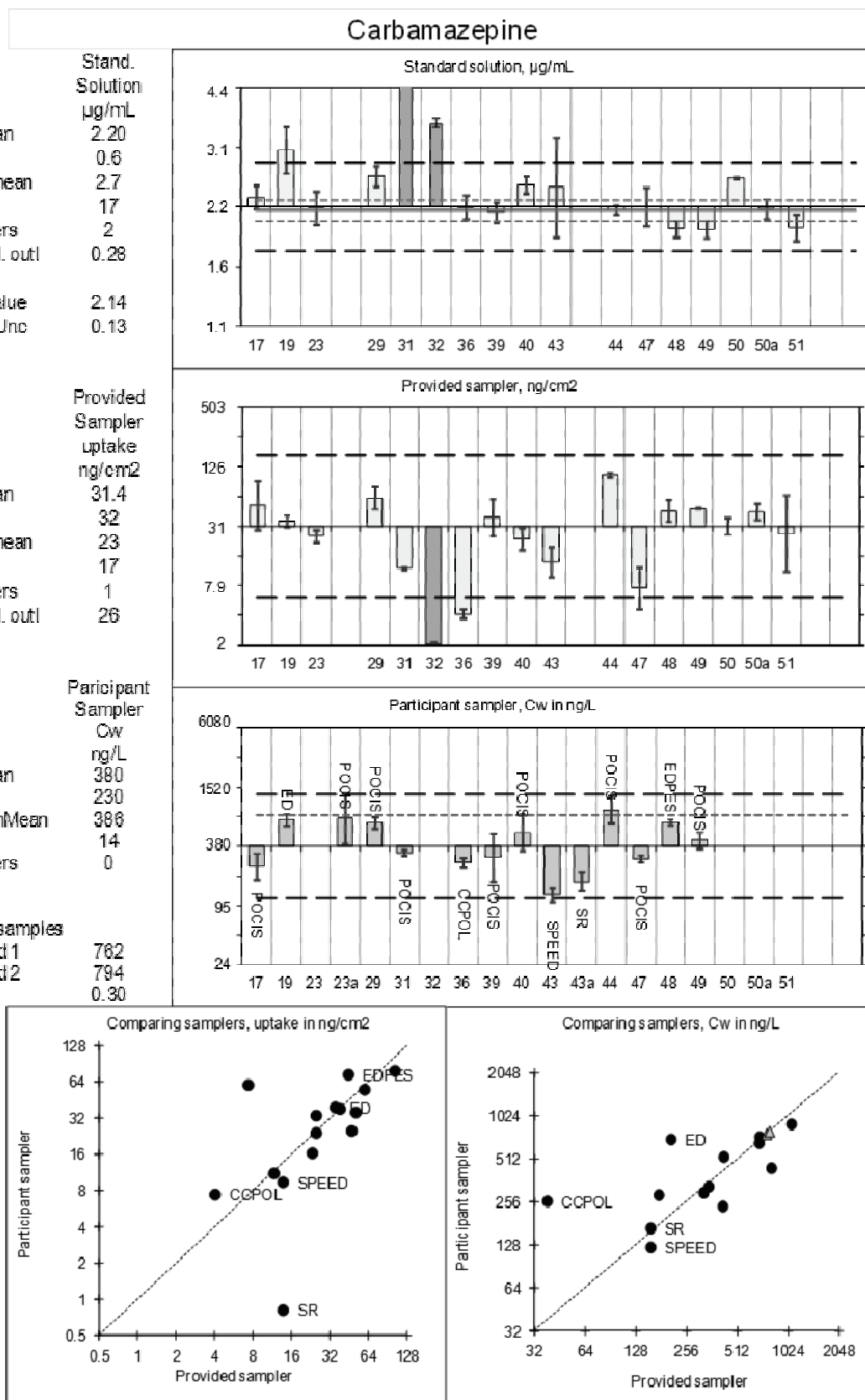
## LITERATURA

- [1] EU, Directive 2013/39/EU of the European Parliament and of the Council of 12 August 2013 amending Directives 2000/60/EC and 2008/105/EC as regards priority substances in the field of water policy, Off. J. Eur. Union. L226 (2013) 1–17.
- [2] B. Vrana, F. Smedes, R. Prokeš, R. Loos, N. Mazzella, C. Miege, et al., NORMAN Interlaboratory study (ILS) on passive sampling of emerging pollutants: A Chemical Monitoring On Site (CM Onsite) organised by NORMAN Association and JRC in support to the Water Framework Directive implementation, n.d.
- [3] NORMAN Network of reference laboratories, research centres and related organisations for monitoring of emerging environmental substances. Emerging substances, (n.d.). <http://www.norman-network.net/?q=node/19> (accessed June 9, 2015).
- [4] L.H. Koopmans, D.B. Owen, J.I. Rosenblatt, Confidence intervals for the coefficient of variation for the normal and log normal distributions, *Biometrika*. 51 (1964) 25–32. doi:doi:10.1093/biomet/51.1-2.25.

**Obrázek 1: Celková variabilita léčiv pro různé matrice: roztok standardu (nahore vlevo), vzorkovač poskytnutý organizátorem (nahore vpravo), odhad koncentrace léčiv ve vodě pomocí vzorkovače účastníků studie (dole vlevo), poměr koncentrací léčiv ve vodě ve vzorkovači účastníku a vzorkovači od organizátora studie (dole vpravo).**

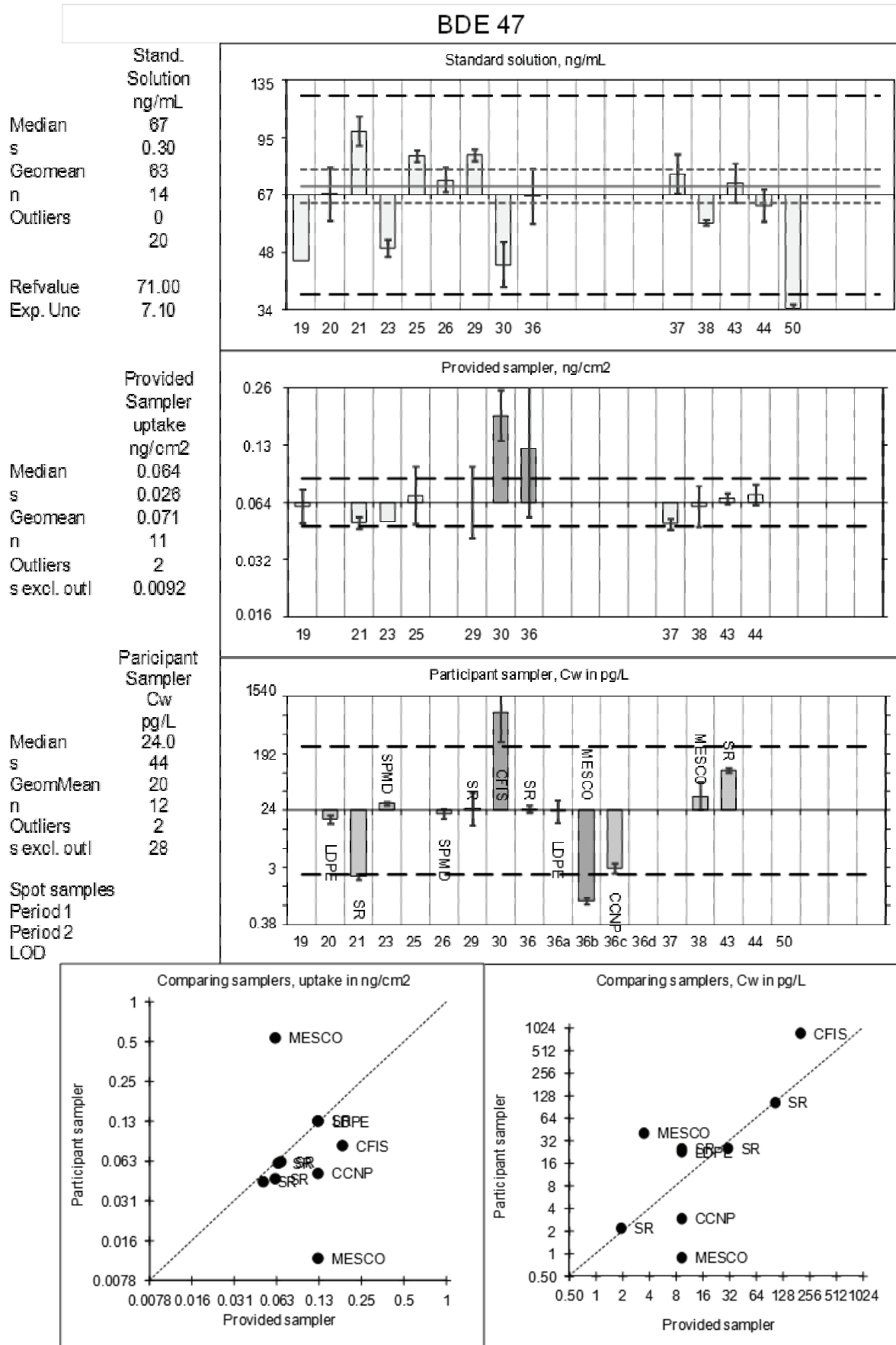


Obrázek 2: Detailní analýza karbamazepinu v různých maticích.

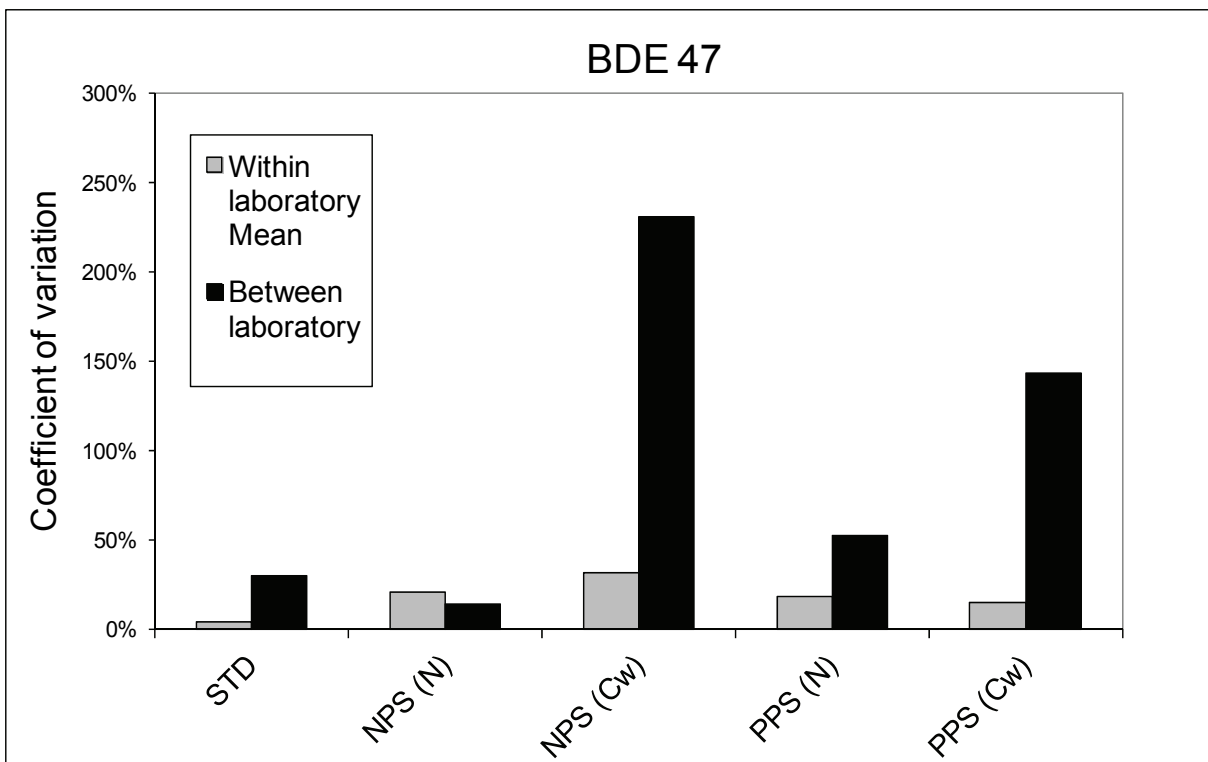
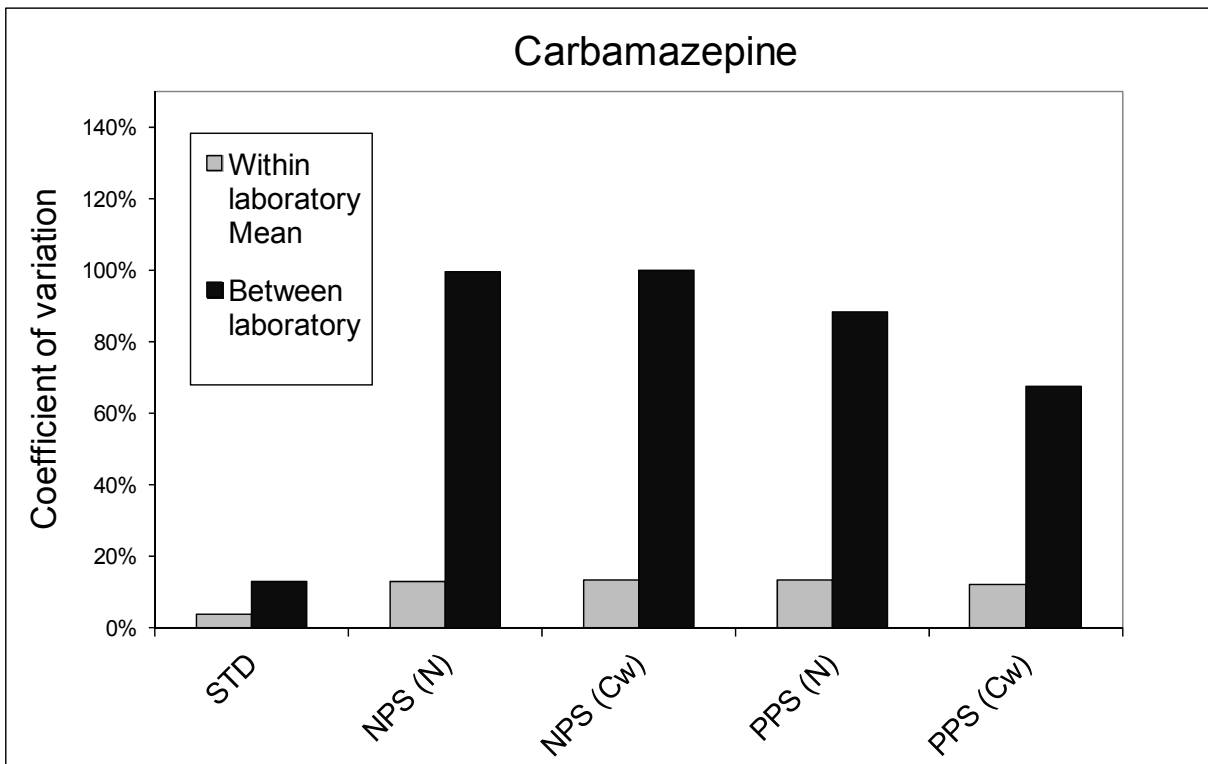




Obrázek 3: Detailní analýza BDE47 v různých maticích.



**Obrázek 4: Variabilita výsledků karbamazepinu a BDE47 pro jednotlivé matrice. Variční koeficient je uveden pro jednotlivé sloučeniny: STD - směs standardního roztoku, NPS - vzorkovač od organizátorů studie, PPS - vzorkovač od účastníků studie, N - množství (koncentrace) získané pasivním vzorkovačem, CW - koncentrace látek ve vodě. Světlý sloupec označuje variabilitu stanovení v rámci expertní laboratoře a tmavý sloupec mezilaboratorní variabilitu účastníků studie.**



# SEKCE POSTEROVÁ



# VÝZNAMNÝ RUŠIVÝ VLIV STRONCIA NA STANOVENÍ VÁPNIKU TECHNIKOU ICP-MS

Jan Válek, Alena Kočová, Barbora Valterová

*Povodí Vltavy, státní podnik - vodohospodářská laboratoř Praha*

## ÚVOD

V rámci zkoušení způsobilosti PT, organizovaného CSLab, analyzovala v loňském roce naše laboratoř vzorek odpadní vody. Kromě dalších ukazatelů jsme v tomto vzorku stanovovali také obsah vápníku. Spolu s dalšími kovy byl vápník měřen metodou ICP/MS/MS, novým přístrojem Agilent ICP-QQQ 8800. Tento přístroj má navíc druhý kvadrupól, předřazeným před kolizní cely, který slouží pro selekci iontů pouze zvolené hmotnosti, ještě před jejich vstupem do kolizní cely, To výrazně vylepšuje možnost odstranění polyatomických rušivých vlivů rozdílné matrice vzorků.

## STANOVENÍ VÁPNIKU VE VZORKU PT

Stanovení vápníku bylo provedeno na hmotnosti 44, za použití helia, jako kolizního plynu. Kalibrace pro vápník byla ověřena současně naměřenými kontrolními vzorky s vyhovujícími výsledky.

Duplicitně prováděnou analýzou vzorku PT - odlitím vzorku do dvou samostatných vialok autosampleru přístroje, byla stanovena průměrná hodnota vápníku 203 mg/l. Vztažná hodnota obsahu vápníku ve vzorku PT ale byla 105 mg/l.

Stanovení vápníku bylo prováděno v jedné analýze, se stanovením hořčičku, které vyšlo ve výborné shodě se vztažnou hodnotou.

## ANALÝZA PŘÍČINY ROZDÍLU NAMĚŘENÉ HODNOTY VÁPNIKU A VZTAŽNÉ HODNOTY PT

Z logiky simultánního stanovení prvků na ICP-MS byla vyloučena chyba ředění vzorku v naší laboratoři i chyba nějaké součásti předúpravy vzorku PT, vzhledem ke správně stanovené hodnotě hořčičku.

Možnou kontaminaci vzorku při odlévání do vialok autosampleru vylučuje shoda duplicitního stanovení vápníku. V úvahu přicházela možná kontaminace vápníkem přímo v dodaném vzorku, např. možná chyba ředění již při přípravě vzorku PT (stanovená hodnota byla cca dvojnásobná, oproti vztažné hodnotě). Podle informace laboratoře připravující tento vzorek PT však chyba ředění vzorku byla vyloučena, protože se jednalo o neředěný přírodní vzorek silněji mineralizované podzemní vody z přírodního zdroje.

Současně jsme ale také obdrželi informaci, že tato laboratoř při kontrolních analýzách vápníku v tomto vzorku naměřila správné hodnoty vápníku metodou ICP-MS na hmotě 44, ovšem pouze bez použití kolizního modu (He). Stejný výsledek jim poskytla i odměrná analýza. Při použití stejné metody, kterou použila naše laboratoř (metody ICP-MS v kolizním modu (He) na hmotnosti 44) získali také dvojnásobné hodnoty obsahu vápníku ve vzorku, ve shodě s námi naměřenými hodnotami. Důvod této odchylky nebyl znám.

To znamenalo, že se jedná o nějaký konkrétní problém při stanovení vápníku metodou ICP-MS, nejspíš nějaký velmi významný rušivý vliv matrice vzorku, který se běžným postupem, tj. využitím kolizní cely v He modu, nepodařilo odstranit. Firma HPST, která zajišťuje servis a zákaznickou podporu pro uživatele přístrojů ICP-MS Agilent nás, po prostudování záznamu z analýz, upozornila na možný vliv dvojnásobně nabitých iontů stroncia Sr 86 a Sr 88 na hodnoty vápníku Ca 43 a Ca 44.

Otázkou bylo, jak je možné, že koncentrace stroncia jen okolo 10 mg/l může mít tak výrazný vliv a způsobovat zvýšení měřené hodnoty vápníku o 100 - 200 mg/l.

## ZDŮVODNĚNÍ RUŠIVÉHO VLIVU STRONCIA NA STANOVENÍ VÁPNIKU

Ovlivnění vápníku stronciem je v poměru koncentrací Sr : Ca cca 10 : 1 až 20 : 1. Skutečností, které přispívají k takto výraznému vlivu stroncia, je několik:

1. Poměr výtěžnosti ionizace prvků v plazmě – poměr signálu cps (dopadajících iontů na detektor) Ca : Sr, který je při shodné koncentraci obou kovů cca 1 : 10.
2. V plazmatu vznikají dvojnásobně nabití ionty většinou s pravděpodobností tvorby cca kolem 2%, to znamená poměr cps Ca : Sr cca 1 : 0,2.
3. Důležitý je významný rozdíl v procentuálním zastoupení izotopů vápníku a stroncia na hmotnostech 44 - 88 a 43 - 86.

44	a	2,1 %	-	88 Sr	82,6 %
43	a	0,135%	-	86 Sr	9,86 %
42	a	0,65 %	-	84 Sr	0,56 %

4. Na výsledném ovlivnění se pak nejvýznamněji podílejí děje v kolizní cele, kde jsou dvojnásobně nabití ionty stroncia potenciálem napětí na kolizní cele více urychlovány a přes kolize s atomy He jich proto kolizní celou prochází procentuálně výrazně více než iontů vápníku. To potvrzuje ještě vyšší rušivý vliv stroncia ve vysokoenergetickém módu kolizní cely (HeHe), kde se pracuje s větším množstvím helia, ale současně také s vyšší urychlovací energií, což vliv dvojnásobně nabitých iontů dále zvyšuje.

Výsledné ovlivnění hodnoty vápníku na hmotnostech 43 a 44, při použití kolizního heliového modu kolizní cely, tak pro koncentraci stroncia = 10mg/l znamená navýšení měřené hodnoty obsahu vápníku o cca 50 – 200 mg/l.

Bez použití kolizní cely a v reakčním vodíkovém módu, kde není využíván významný urychlovací potenciál napětí na kolizní cele, je interference stroncia na hmotnostech 43 a 44 relativně zanedbatelná.

Na hmotnosti 42 je interference stroncia zanedbatelná ve všech měřicích modech, což dobře potvrzuje provedené kontrolní měření.

V následující tabulce jsou shrnuté výsledky kontrolního měření:

		blank	K 10 ppm	K 63 ppm	vzorek PT-1	vzorek PT-2	A	A + Sr	B	B + Sr
<b>42Ca NoGas</b>	ppm	0,5	10,3	65	<b>91</b>	<b>92</b>	<b>201</b>	<b>204</b>	<b>76</b>	<b>74</b>
<b>42Ca H2</b>	ppm	0,1	9,8	66	<b>95</b>	<b>96</b>	<b>201</b>	<b>204</b>	<b>69</b>	<b>76</b>
<b>42Ca He</b>	ppm	0,2	9,6	58	<b>85</b>	<b>86</b>	<b>175</b>	<b>177</b>	<b>67</b>	<b>68</b>
<b>42Ca HeHe</b>	ppm	0,1	9,9	63	<b>92</b>	<b>92</b>	<b>195</b>	<b>200</b>	<b>74</b>	<b>76</b>
<b>43Ca NoGas</b>	ppm	0,1	10,4	65	<b>96</b>	<b>97</b>	<b>197</b>	<b>204</b>	<b>74</b>	<b>77</b>
<b>43Ca H2</b>	ppm	0,1	10	64	<b>99</b>	<b>102</b>	<b>206</b>	<b>211</b>	<b>68</b>	<b>75</b>
<b>43Ca He</b>	ppm	0,2	9,8	62	<b>208</b>	<b>199</b>	<b>200</b>	<b>294</b>	<b>74</b>	<b>163</b>
<b>43Ca HeHe</b>	ppm	0,2	9,9	61	<b>304</b>	<b>304</b>	<b>185</b>	<b>361</b>	<b>67</b>	<b>231</b>
<b>44Ca NoGas</b>	ppm	0,1	9,1	58	<b>91</b>	<b>92</b>	<b>198</b>	<b>231</b>	<b>85</b>	<b>94</b>
<b>44Ca H2</b>	ppm	0,1	10,2	64	<b>93</b>	<b>95</b>	<b>202</b>	<b>206</b>	<b>68</b>	<b>75</b>
<b>44Ca He</b>	ppm	0,2	9,6	63	<b>156</b>	<b>152</b>	<b>199</b>	<b>291</b>	<b>75</b>	<b>128</b>
<b>44Ca HeHe</b>	ppm	0,1	9,9	61	<b>246</b>	<b>247</b>	<b>192</b>	<b>323</b>	<b>70</b>	<b>191</b>
<b>86Sr NoGas</b>	ppm	0	0,1	0,49	<b>11,6</b>	<b>11,8</b>	1,4	<b>11,9</b>	0,3	<b>10,4</b>
<b>86Sr HeHe</b>	ppm	0	0,1	0,5	<b>11,5</b>	<b>11,4</b>	1,4	<b>10,3</b>	0,3	<b>9</b>
<b>88Sr NoGas</b>	ppm	0	0,1	0,49	<b>11,7</b>	<b>11,8</b>	1,4	<b>12</b>	0,3	<b>10,5</b>
<b>88Sr HeHe</b>	ppm	0	0,1	0,52	<b>11,4</b>	<b>11,3</b>	1,4	<b>10,2</b>	0,3	<b>8,9</b>

*Měření:*

- vápník na hmotách 42, 43, 44 ve čtyřech různých měřicích modech

- stroncium na hmotách 86 a 88

*Měřené vzorky:*

- kontrolní vzorky s minimálním obsahem stroncia (K 10 ppm a K 63 ppm)

- duplicitní stanovení vzorku PT

- A, B - reálné vzorky vody s nízkým obsahem stroncia a po přidavku 10 mg/l stroncia

**ZÁVĚR:**

Zvýšený obsah stroncia ve vzorku vody - v poměru k obsahu vápníku vyšším než cca 1 : 30 významně rušivě navyšuje hodnotu vápníku, měřenou metodou ICP-MS na hmotnostech 43 a 44, za použití kolizní cely v He modu.

Zejména pro analýzy silněji mineralizovaných vod by proto mělo být využíváno měření vápníku na hmotnosti 42 nebo bez He modu kolizní cely. Zároveň by měl být kontrolně měřen obsah stroncia ve vzorku.

Žádná, ani sebedokonalejší technika a metoda není v oblasti chemické analýzy všemocná, naopak je o to záludnější na pozornost analytika, který musí být neustále ve střehu a být si vědomý všech možných rušivých vlivů dané metody, včetně mimořádně netypického složení matrice měřeného vzorku.

**PODĚKOVÁNÍ:**

Ing Tomáš Fojtík, servisní technik firmy HPST, s.r.o., za upozornění na možný rušivý vliv dvojnásobně nabitých iontů stroncia

Laboratoř PVK, a.s., za poskytnutí informací o kontrolních analýzách vzorku PT a za poskytnutí náhradního vzorku PT na kontrolní měření





# POSTŘEHY KE STANOVENÍ VOLNÉHO A CELKOVÉHO CHLORU DLE ČSN ISO 7393-2

Iva Prokešová, Vladimír Sýkora, Lukáš Fuka, Ivan Karpíšek, Hana Kujalová

*Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, Ústav technologie vody a prostředí  
(Iva.Prokesova@vscht.cz)*

## ABSTRAKT

Naše laboratoř provádí stanovení volného a celkového chloru ve fotometrických zkumavkách, které je velmi rychlé a snadno aplikovatelné pro stanovení v terénu. Tato metoda je však dle normy ČSN ISO 7393-2 použitelná pouze pro koncentrace celkového chloru od 0,03 mg/l do 5 mg/l. Po provedení několika analýz bylo zjištěno, že po překročení tohoto rozsahu dochází u vybarveného preparátu opět ke snižování absorbance do obsahu celkového chloru kolem 30 mg/l, a proto se může zdát, že koncentrace vzorku spadá do rozsahu kalibrace.

V této práci je znázorněn graf závislosti absorbance na koncentraci celkového chloru, v rozmezí koncentrací od 0 mg/l do 30 mg/l a rovněž poskytuje doporučení, jak ověřit, že vybarvený preparát je skutečně v rozsahu kalibrace a není ho třeba již dále ředit.

## ÚVOD

Elementární chlor sice nepatří mezi běžné složky vod, avšak jeho stanovení je velmi důležitou součástí rozboru zejména těch vod, u kterých byla k jejich hygienickému zabezpečení nebo k jejich úpravě či k čištění použita chlorace (např. u vod bazénových). Analytické rozlišení jednotlivých forem tzv. „aktivního chloru“ patří k historicky základnímu analytickému problému. [1]

Aktivním chlorem se v hydrochemii a technologii vody rozumí všechny formy chloru, které oxidují jodidy v kyselém prostředí na jod (molekulární chlor, chlornany, chloraminy, oxid chloričitý). Dále se rozlišuje volný (aktivní) chlor (molekulární chlor, chlornany, ClO<sub>2</sub>) a vázaný (aktivní) chlor (chloraminy). [2]

Pro stanovení volného a celkového chloru existuje norma ČSN ISO 7393, která je rozdělena na tři části. Část 1 obsahuje odměrnou metodu [3], část 2 kolorimetrickou metodu [4] a v části 3 je popsána jodometrická titrační metoda [5]. Tyto normy rozlišují pojmy volný chlor (chlor přítomný jako kyselina chlorná, chlornanový iont nebo rozpuštěný elementární chlor), vázaný chlor (podíl celkového chloru přítomného jako chloraminy a organické chloraminy) a celkový chlor (chlor přítomný jako volný chlor nebo vázaný chlor, nebo v jejich směsi).

V této práci byla pro stanovení aktivního chloru použita metoda dle ČSN ISO 7393-2, tedy kolorimetrická metoda s N,N-diethyl-1,4-fenylendiaminem (zkráceně DPD) [4]. V případě stanovení aktivního chloru s DPD se v analytice vody vyjadřuje pojem celkový chlor jako všechny formy chloru, které způsobí vybarvení při hodnotě pH = 6,5. Dále zde byl zaveden pojem celkový dostupný chlor, který značí všechny formy chloru, které po okyselení a následném zvýšení hodnoty pH na 6,5 způsobí vybarvení. Názvosloví forem aktivního chloru tedy není vždy jednotné, a proto je nutné u všech výsledků stanovení uvádět metodu, kterou byl celkový (aktivní) chlor stanoven nebo alespoň hodnotu pH, při které stanovení probíhalo. [1]

## PRINCIP METODY

Spektrofotometrické stanovení aktivního chloru s DPD je založeno na reakci chloru s N,N-diethyl-1,4-fenylendiaminem při hodnotě pH v rozmezí 6,2 až 6,5 za vzniku červené sloučeniny s absorpčním maximem okolo 510 nm. Intenzita zbarvení je v rozmezí hmotnostních koncentrací aktivního chloru od 0,03 mg/l do 5 mg/l přímo úměrná obsahu chloru ve vzorku. Vyhodnocením intenzity zbarvení ihned po reakci je možné stanovit volný aktivní chlor, v přítomnosti nadbytku jodidových iontů lze v časovém limitu 2 minuty stanovit celkový aktivní chlor. [1]

## RUŠIVÉ VLIVY

Pozitivní chybu stanovení aktivního chloru s DPD způsobují látky s podobnými oxidačními vlastnostmi jako např. jod, jodaminy, brom, bromaminy, ClO<sub>2</sub>, peroxid vodíku, ozón, chromany a formy oxidovaného manganu. Koncentrace vázaného aktivního chloru větší než 0,5 mg/l ruší stanovení volného aktivního chloru. [1]

## POSTUP STANOVENÍ

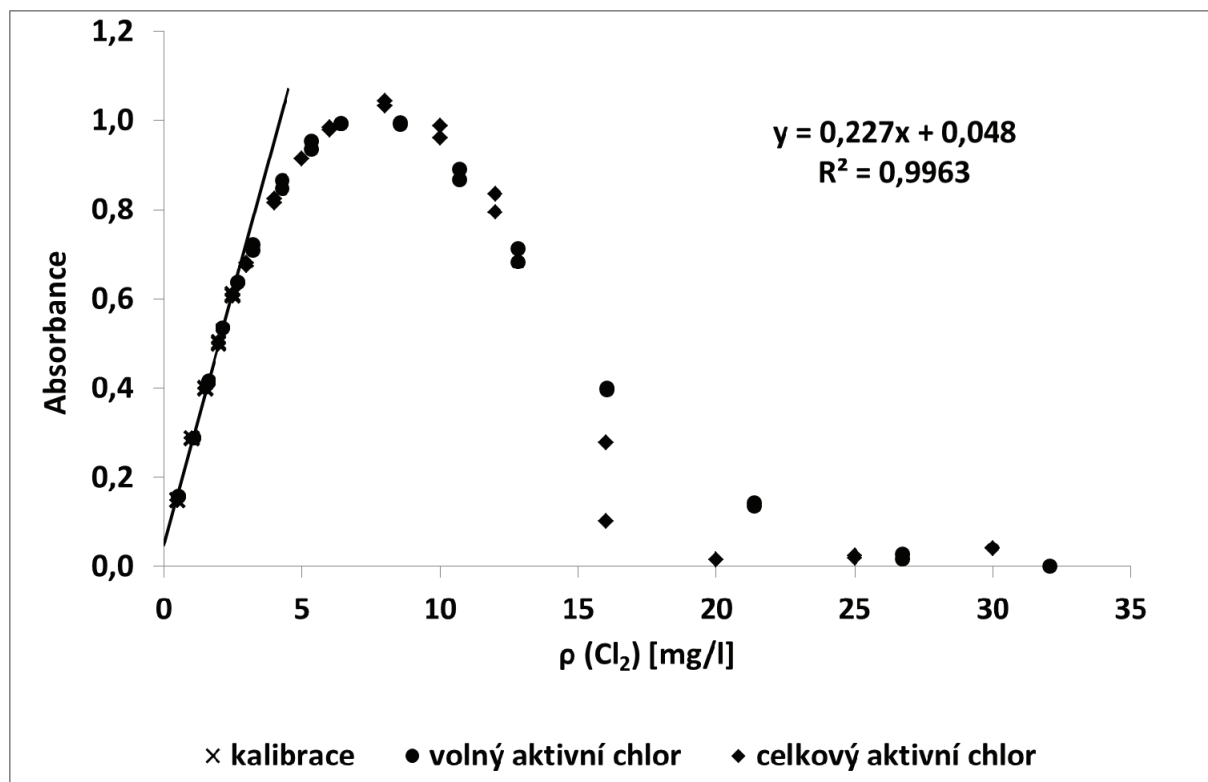
Stanovení aktivního chloru ve vzorku je nutné provést co nejdříve, nejlépe na místě odběru vzorku, protože časem dochází k úbytku aktivního chloru. Spektrofotometrická metoda stanovení aktivního chloru s DPD dle normy ČSN ISO 7393-2 je poměrně rychlá a snadno aplikovatelná pro stanovení v terénu [4]. Naše laboratoř pro tuto metodu používá fotometrické zkumavky s optickou dráhou 15 mm, do nichž je nejprve nadávkováno 250 µl

tlumivého roztoku o hodnotě  $\text{pH} = 6,5$  a 250  $\mu\text{l}$  roztoku DPD. Do takto připravené zkumavky se poté odpipetuje 5 ml vzorku, obsah se promíchá a změří se absorbance při vlnové délce 525 nm. Pro získání hodnoty volného aktivního chloru je potřeba měřit absorbanci ihned po přidání vzorku, pro stanovení celkového aktivního chloru se před měřením do vzorku přidá jodid draselný a absorbance je měřena po 2 minutách.

Kalibrace je prováděna ze zásobního roztoku standardu  $\text{KIO}_3$  o koncentraci 1,006 g/l, což po proběhnutí reakce odpovídá koncentraci  $\text{Cl}_2$  1 g/l. Do posledního pracovního roztoku se přidá asi 1 g pevného KI. Poté se do 100 ml odměrných baněk připraví řada kalibračních roztoků, v naší laboratoři připravujeme kalibraci v rozmezí koncentrací aktivního chloru 0,5 mg/l až 2,5 mg/l. Objem kalibračních roztoků se upraví destilovanou vodou přibližně na 50 ml a před doplněním na 100 ml se přidá 1 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $c = 1$  mol/l), aby se vyvinulo definované množství jodu, čímž roztok zežloutne. Po 1 minutě se reakce zastaví přidáním 1 ml roztoku NaOH ( $c = 2$  mol/l), roztok bude opět čirý, a doplní se po rysku. Je však nutné připravovat vždy každý kalibrační roztok zvlášť, aby nedocházelo k ovlivňování absorbance časovým prostojem. Absorbance je měřena přesně po 2 minutách od přidání kalibračního roztoku do zkumavky.

### VÝSLEDKY A DISKUSE

Během stanovování reálných vzorků došlo ke zjištění, že absorbance vybarveného vzorku není vždy přímo úměrná koncentraci aktivního chloru ve vzorku. Po překročení rozsahu kalibrace dokonce dochází k postupnému snižování intenzity růžového zbarvení ve zkumavce, což může vést k mylné domněnce, že koncentrace aktivního chloru ve vzorku spadá do rozsahu kalibrace. Dále bylo zjištěno, že příliš koncentrované vzorky jsou po reakci s činidly ve zkumavce také čiré, podobně jako u slepého stanovení, pouze mají mírně žlutý nádech, ale absorbance se blíží nule. Při pipetáži takto koncentrovaných vzorků do zkumavky vzorek po první kapce nejprve lehce zružoví, ale pak se okamžitě odbarví. Pro zjištění rozsahu koncentrací aktivního chloru, při kterých dochází k postupnému snižování intenzity růžového zbarvení až k úplnému odbarvení vzorku, byl proměřen následující graf závislosti absorbance na koncentraci volného a celkového aktivního chloru, který je znázorněn na obrázku 1.



Obr. 1.: Závislost absorbance na koncentraci volného a celkového aktivního chloru

Nejprve byla proměřena řada kalibračních roztoků z výše zmíněného standardu  $\text{KIO}_3$  v rozsahu koncentrací 0,5 mg/l až 30 mg/l celkového aktivního chloru. Intenzita růžového zbarvení vzorku se zvyšovala pouze do koncentrace 10 mg/l, poté již docházelo k postupnému snižování absorbance, a při koncentraci 20 mg/l již zůstala zkumavka žlutá. Toto žluté zbarvení bylo způsobené přítomností jódu ve vzorku, jelikož takto vysoce koncentrované vzorky byly i po zastavení reakce samy o sobě žluté a po reakci s činidlem DPD u nich nedocházelo k žádné barevné změně. V rozmezí koncentrací celkového aktivního chloru od 10 mg/l do 16 mg/l docházelo k výrazné rozkolísanosti absorbancí, což bylo zřejmě způsobeno časovým prostojem 30 vteřin mezi

pipetáží téhož vzorku do dvou různých zkumavek. U vzorků měřených s 30vteřinovým zpožděním byla zjištěna vždy o něco vyšší absorbance než u vzorků měřených ihned. Stejný prostož byl dodržován u všech kalibračních roztoků, ale s vyšší koncentrací celkového chloru, potažmo jodu ve vzorku se zvyšovala i rozkolísanost výsledků.

Pro stanovení volného aktivního chloru byl použit zásobní roztok dichlorisokyanuratanu sodného o koncentraci 2,0006 g/l, což odpovídá 1,069 g/l volného chloru. Rozsah koncentrací kalibračních roztoků byl volen stejným způsobem jako za použití standardu KIO<sub>3</sub>. Výsledky jsou velmi podobné, ke zvyšování absorbance docházelo do koncentrace chloru přibližně 8,55 mg/l a při koncentraci 26,7 mg/l byly již zkumavky čiré. V tomto případě ovšem nedocházelo k tak velké rozkolísanosti výsledků.

### ZÁVĚR A DOPORUČENÍ

Bylo zjištěno, že v rozsahu koncentrací aktivního chloru přibližně od 0,5 mg/l do 9 mg/l dochází ke zvyšování intenzity růžového zabarvení vzorku ve zkumavkách. Poté se v rozsahu koncentrací od 10 mg/l do 20 mg/l se zvyšující se koncentrací úměrně snižuje i absorbance, až do úplného odbarvení preparátu. Při stanovování vzorků, které mohou reálně obsahovat i velmi vysoké koncentrace aktivního chloru, je tedy dobré provést nejméně 3 různá ředění, která dle očekávání spadají do rozsahu kalibrace. Pokud bude ve vzorku s nejvyšší očekávanou koncentrací také nejvyšší absorbance, je vzorek naředěn správně a spadá do rozsahu kalibrace. Pokud však bude docházet k postupnému snižování absorbance u koncentrovanějších vzorků, je potřeba vzorek ještě více naředit. U vybarvených vzorků s nulovou absorbcí je možné, že obsahují aktivní chlor, ovšem o koncentraci vyšší než 25 mg/l. V takovém případě je dobré přítomnost chloru ověřit např. jodometrickou titrační metodou.

### PODĚKOVÁNÍ

Financováno z účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum (MŠMT č.20/2015)

### POUŽITÁ LITERATURA

1. Horáková, M., *Analytika vody*. 2003, Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze.
2. Pitter, P., *Hydrochemie*. 1999, Praha: Vydavatelství VŠCHT.
3. ČSN ISO 7393-1. (75 7419) *Stanovení volného a celkového chloru. Část 1: Odměrná metoda s N,N-diethyl-1,4-fenylendiaminem*. 1995, Český normalizační institut: Praha.
4. ČSN ISO 7393-2. (75 7419) *Stanovení volného a celkového chloru. Část 2: Kolorimetrická metoda s N,N-diethyl-1,4-fenylendiaminem pro běžnou kontrolu*. 1995, Český normalizační institut: Praha.
5. ČSN ISO 7393-3. (75 7419) *Stanovení volného a celkového chloru. Část 3: Jodometrická titrační metoda stanovení celkového chloru*. 1995, Český normalizační institut: Praha.



# MĚŘENÍ BIODOSTUPNÝCH KONCENTRACÍ POPs V SEDIMENTECH POMOCÍ ROVNOVÁŽNÉHO PASIVNÍHO VZORKOVÁNÍ

Michaela Belháčová

Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí, Kamenice 753/5, 625 00 Brno, Česká republika  
belhacova@recetox.muni.cz

## ÚVOD

Rizika vyplývající z kontaminace sedimentů persistentními organickými látkami (POPs) nelze dobře charakterizovat celkovou koncentrací těchto látek v sedimentu. POPs mohou být silně vázány na sediment nebo vůbec nejsou dostupné k uvolnění, v důsledku čeho je koncentrace kontaminantů v pórové vodě podstatně nižší, než se odhaduje z celkové koncentrace v sedimentu. Volně rozpuštěná koncentrace POPs v pórové vodě je však velice důležitá, protože je přímo úměrná chemické aktivitě látky, tj. hnací síle pro akumulaci POPs do vodních organismů a pro difúzní transport. (Burgess, Berry, Mount, Di Toro, 2013) Koncentraci v pórové vodě a dostupnou koncentraci POPs v sedimentu lze odhadnout pomocí rovnovážného pasivního vzorkování v sedimentu. Pasivní vzorkování může být použito pro stanovení volně rozpuštěné koncentrace v pórové vodě sedimentů, která odpovídá skutečnému riziku pro organismy žijící ve vodním prostředí, obzvláště pak pro bentické organismy. Pasivní vzorkovač je polymerní fáze na bázi silikonové gumy s vysokou absorpční kapacitou pro POPs, charakterizovanou rozdělovacím koeficientem v systému polymer - voda. (Smedes, F., Geertsma R., Booij, 2009) Metoda je založena na principu, že inkubace při nízkém fázovém poměru vzorkovač-voda umožňuje odhadnout koncentrace analytu v pórové vodě (zanedbatelné ovlivnění sorpční rovnováhy sediment-voda) a inkubace při vysokém poměru vzorkovač-sediment umožňuje odhadnout dostupnou koncentraci látky v sedimentu (maximální odčerpání reverzibilně vázaného analytu ze sedimentu). (Smedes, van Vliet, Booij, 2013)

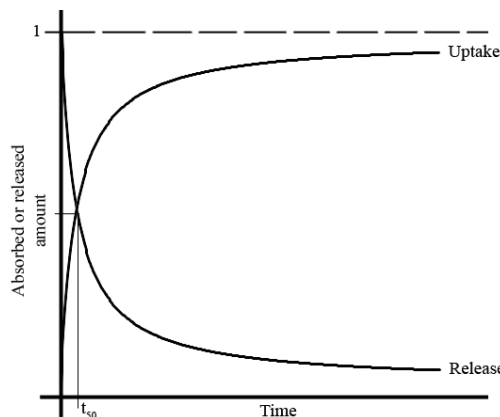
## EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 1. Metodika

Pro experimentální část byly použity předčištěné silikonové gumy o hmotnosti 1 g (Rusina, 2009), obohacené o performační referenční látky (PRCs) (Smedes & Booij, 2012) a sediment odebraný ze slepého ramene řeky Moravy (Čerták). Gumy byly vloženy do lahví naplněných přibližně 700 g sedimentu a třepány po individuální expoziční dobu pro danou lahev (1 – 64 dnů). Po ukončení expoziční doby byly gumy vyjmuty a extrahovány do metanolu po dobu 8 hodin. Získaný extrakt byl nejprve přečištěn nedestruktivním a poté destruktivním způsobem, před sloupcovým čištěním byla z extraktu odstraněna síra přidávkem aktivované mědi. Přečištěné a zakonzentrované vzorky byly analyzovány plynovou chromatografií s tandemovou hmotnostní detekcí.

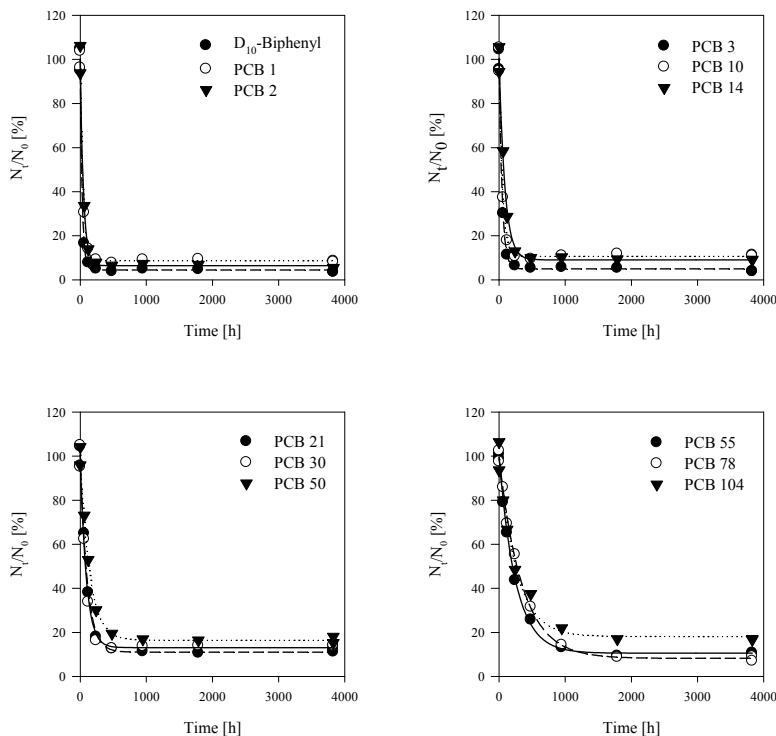
Cílem experimentů bylo sledování desorpce PRCs a akumulace POPs (PAHs, PCBs, PBDEs, OCPs) do silikonové gumy do ustálení rovnováhy v uzavřeném systému sediment – polymer (Obr. 1) a následně snaha o urychlení ustálení rovnováhy v systému díky různému přidávku metanolu, aniž by došlo k narušení rovnováhy v systému.

Kinetika sorpce a desorpce byla modelována za pomoci nelineární regrese podle kinetické rovnice 1. řádu. Eliminace PRCs a akumulace POPs je charakterizován eliminační a akumulační konstantou.



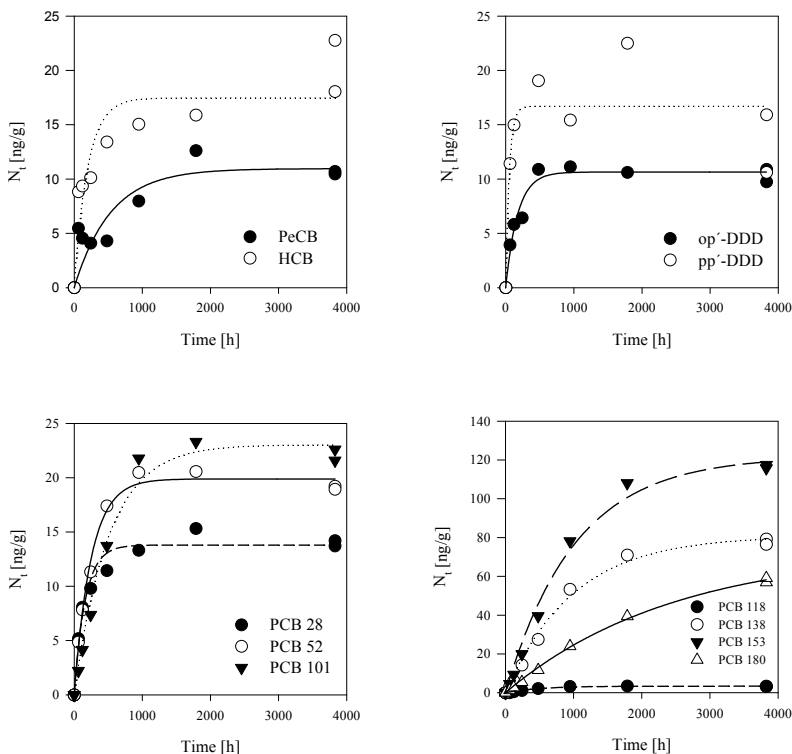
Obr. 1: Porovnání eliminační a akumulační kinetiky PRC a analytu se srovnatelnou hodnotou  $K_{ow}$  v uzavřeném systému sediment – polymer

2. Výsledky



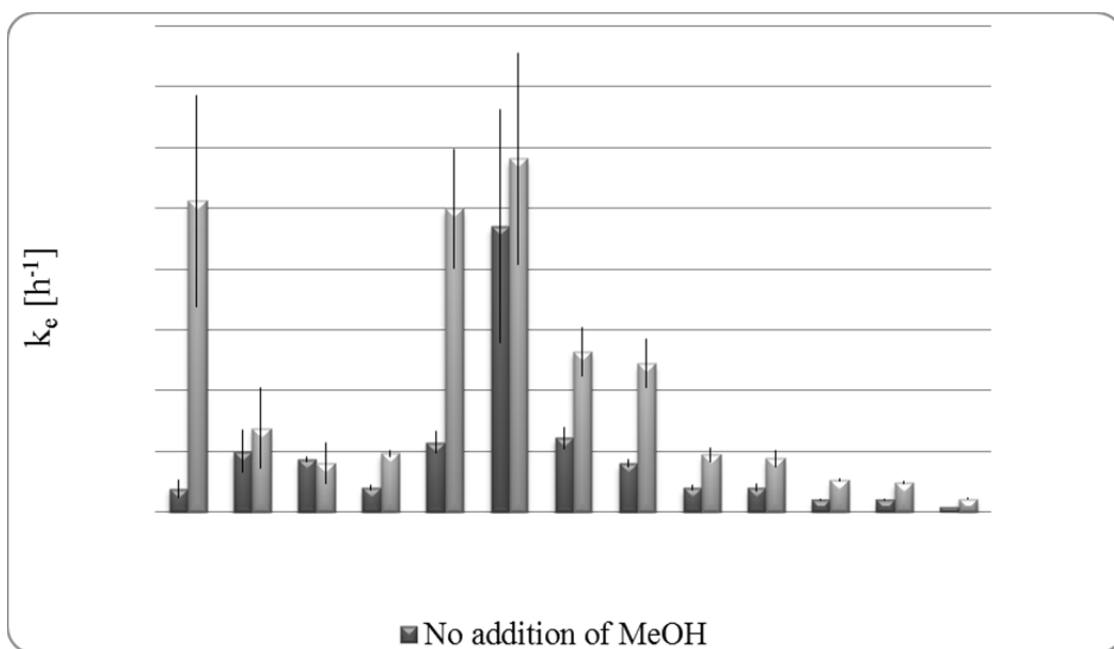
Obr. 2: Eliminační kinetika desorpce PRCs v uzavřeném systému sediment – silikonová guma

Sediment – silikonová guma představuje uzavřený systém, ve kterém se PRCs rozdělují mezi sediment a polymer a obě média mají konečný objem. Z tohoto důvodu zůstane určité množství PRCs v rovnováze ve vzorkovači. Silikonová guma má mnohem menší sorpční kapacitu v porovnání se sorpční kapacitou sedimentu. Sorpční kapacita média je ovlivněna jeho hmotností a rozdělovacími koeficienty polymer – voda a sediment – voda.



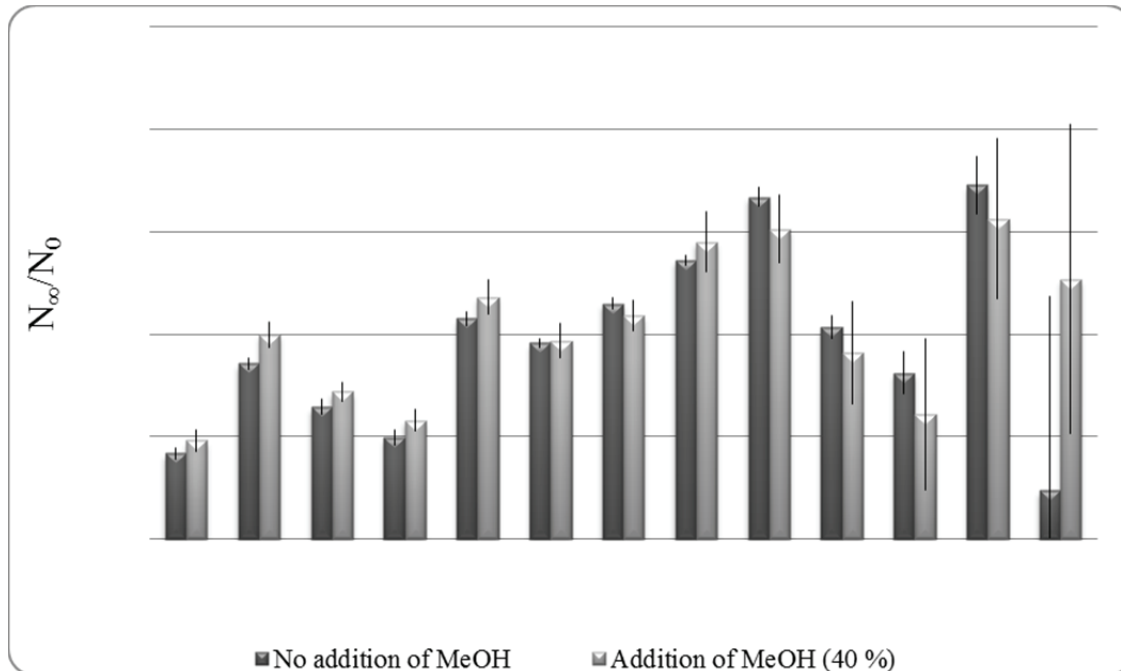
Obr. 3: Akumulační kinetika přestupu POPs v uzavřeném systému sediment – silikonová guma

S narůstajícím časem se zvyšuje i množství analytu v silikonové gumě. Ustálení rovnováhy v systému je časově náročnější pro více hydrofobní látky.



Obr. 4: Porovnání rychlostních konstant ( $k_e$ ) bez/s přidavkem MeOH (sorpce POPs do polymeru)

Graf zobrazuje porovnání kinetických konstant v experimentu s přidavkem a bez přidavku metanolu. Akumulace POPs ze sedimentu do silikonové gumy s přidavkem metanolu byla v některých případech několikanásobně vyšší. Ustálení rovnováhy v systému sediment – polymer proběhlo rychleji, díky zvýšení permeability látek ve vodné fázi, kterou ovlivnil přidavek metanolu.



Obr. 5: Porovnání zbytkového množství PRCs ( $N_\infty/N_0$ ) v PDMS bez/s přidavkem MeOH v rovnováze

Množství PRCs, které zůstane v silikonové gumě po ustálení rovnováhy v systému sediment – voda je zobrazeno na obrázku 5. Desorpce byla pozorována jak v experimentu bez, tak i s přidavkem metanolu. Procentuální zbytky PRCs v silikonové gumě jsou velmi podobné (při porovnání hodnot pomocí T-testu bylo zjištěno, že hodnoty nejsou signifikantně odlišné), což potvrdilo, že přidavkem metanolu (až do 40 % obsahu vody) nedošlo k narušení rovnovážného rozdělení v systému sediment – polymer.

Ze získaných koncentrací POPs v pórové vodě sedimentu ( $c_p$ ) a  $K_{pw}$ , rozdělovacího koeficientu polymer-voda (Smedes, F. Geertsma R., Booi, 2009), byly vypočítány volně rozpuštěné koncentrace POPs v pórové vodě sedimentu z řeky Moravy,  $c_w$  (Tab 1).

**Tabulka 1: Volně rozpuštěné koncentrace POPs v pórové vodě sedimentu**

PCBs, OCPs	(1) $c_w$ [pg/l]	(2) $c_w$ [pg/l]	(3) $c_w$ [pg/l]	(4) $c_w$ [pg/l]
PCB 28	41.0	42.3	47.1	48.3
PCB 52	31.2	33.2	30.1	30.2
PCB 101	12.2	13.2	11.9	12.4
PCB 118	1.3	1.3	1.2	1.3
PCB 138	13.9	14.2	13.1	12.5
PCB 153	23.3	23.7	22.2	20.7
PCB 180	7.6	7.7	7.9	7.0
<b>HCB</b>	<b>155.7</b>	<b>139.0</b>	<b>232.2</b>	<b>218.8</b>

Volně rozpuštěné koncentrace byly počítány v experimentu bez přidavku metanolu po ne/destruktivním čištění (sloupce 1 a 2) a stejným způsobem byly počítány i koncentrace po přidavku metanolu (40 %) do systému sediment-polymer.

### ZÁVĚR

Vhodné stanovení poměru PDMS (1 g) : sediment (700 g), nedošlo k ovlivnění distribučních rovnováh POPs v systému sediment – pórová voda. Při experimentu s přidavkem metanolu se prokázalo až trojnásobné urychlení dosažení rovnováhy v uzavřeném systému sediment – polymer. Stanovení volně rozpuštěné koncentrace HCB a PCBs v pórové vodě sedimentů [pg/l].

### LITERATURA

- Burgess, R. M., Berry, W. J., Mount, D. R., & Di Toro, D. M. (2013). Mechanistic sediment quality guidelines based on contaminant bioavailability: Equilibrium partitioning sediment benchmarks. *Environmental Toxicology and Chemistry*. doi:10.1002/etc.2025
- Rusina, T., (2009). Magnifying passive sampling aspects. *Is.muni.cz*. Retrieved from [http://is.muni.cz/th/133621/prif\\_d/Thesis-Rusina.pdf](http://is.muni.cz/th/133621/prif_d/Thesis-Rusina.pdf)
- Smedes, F., & Booi, K. (2012). ICES TECHNIQUES IN MARINE ENVIRONMENTAL SCIENCES NO. 52 JUNE 2012 Guidelines for passive sampling of hydrophobic contaminants in water using silicone rubber samplers.
- Smedes, F., van Vliet, L. A., & Booi, K. (2013). Multi-ratio equilibrium passive sampling method to estimate accessible and pore water concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in sediment. *Environmental Science & Technology*, 47(1), 510–7. doi:10.1021/es3040945
- Smedes, F. Geertsma R., Booi, K. (2009). Polymer - Water Partition Coefficients of Hydrophobic Compounds for Passive Sampling : Application of Cosolvent Models for Validation, 43(18), 7047–7054.



# OPTIMALIZÁCIA A KALIBRÁCIA PASÍVNEHO VZORKOVAČA NA BÁZE DIFÚZNEHO GRADIENTU V TENKEJ VRSTVE HYDROGÉLU (DGT) PRE POLÁRNE ORGANICKÉ LÁTKY

Jakub Urík

Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí; Kamenice 753/5; 625 00 Brno  
urik@recetox.muni.cz

## ÚVOD

Znečistenie povrchových vôd organickými látkami je v súčasnosti zásadným environmentálnym problémom. Okrem nepolárnych látok, ktoré sú perzistentné a zotrávajú v prostredí dlhú dobu i po odstránení zdroja kontaminácie, sa do pozornosti dostávajú bežne používané polárne látky, z ktorých síce mnohé majú nízky polčas života, ale ich neustálym prítokom vzniká v prostredí relatívne stabilná koncentrácia. Perfluórované látky (PFC), liečivá a látky osobnej hygieny (PPCP) sú skupinami polárnych látok, ktoré sú v európskych riekach bežne nachádzané<sup>1,2</sup>. Jedným z vhodných spôsobov vzorkovania týchto látok je použitie pasívnych vzorkovačov. Ich výhodou je jednoduchá aplikácia bez nutnosti zdroja energie, možnosť vzorkovania stopových polutantov v koncentráciách nemerateľných priamymi metódami alebo stanovenie časovo váženého priemeru koncentrácie látok počas celej doby expozície. Nevýhodou je nutnosť kalibrácie a používanie zložitejších modelov na zistenie skutočnej koncentrácie vo vode.

Keďže vzorkovacie parametre závisia na hydrodynamických podmienkach, zistené koncentrácie látok vo vode sú semikvantitatívne. Pre kompenzáciu týchto faktorov je možné použiť referenčné látky (PRC – performance reference compounds), avšak vo vzorkovačoch pre polárne látky sa často odlišuje kinetika sorpcie od kinetiky desorpcie. Existujú snahy nájsť vhodné polárne PRC napríklad pre vzorkovač POCIS<sup>3</sup>, avšak v súčasnosti neexistuje vhodná všeobecne aplikovateľná látka. Ďalší možný prístup je použitie hydrogélu ako imobilizovanej vrstvy vody na povrchu vzorkovacej plochy. Tento postup vychádza zo známej konfigurácie vzorkovačov skupiny DGT (diffusive gradient in thin film), ktoré sú bežne používané na vzorkovanie kovov vo vodách.<sup>4</sup> Bola však navrhnutá konfigurácia vhodná i na vzorkovanie polárnych organických látok a testovaná na vzorkovaní niektorých antibiotík.<sup>5,6</sup> Cieľom tejto práce je navrhnúť a otestovať konfiguráciu vhodnú na vzorkovanie širokého spektra látok, vrátane liečiv a perfluórovaných látok. Okrem samotnej kalibrácie navrhnutého vzorkovača je však nutné charakterizovať správanie látok v použítom hydrogéli, jednak aby bola posúdená vhodnosť materiálu pre vzorkovanie daných látok, ale aj kvôli porovnaniu experimentálne zistených vzorkovacích rýchlostí s predpovedanými, ktoré sú počítané z difúzných koeficientov podľa teórie pasívneho vzorkovania.<sup>7</sup>

## MATERIÁL A METÓDY

### Sledované látky

Perfluorované látky: PFBS (perfluórbutánsulfónová kys.); PFDA (perfluórdekánová kys.); PFDoDA (perfluórdodekánová kys.); PFHpA (perfluórheptánová kys.); PFHxA (perfluórhexánová kys.); PFPA (perfluórpropiónová kys.); PFHxS (perfluórhexánsulfonát); PFNA (perfluórnonánová kys.); PFOA (perfluóroktánová kys.); PFOS (perfluóroktánsulfonát); PFTrDA (perfluórtridekánová kys.); FOSA (perfluóroktánsulfónamid)

Liečivá a látky osobnej hygieny: Naproxén; Ibuprofén; Klofibrová kys.; Ketoprofén; Triklosan; Hydrochlórthiazid; Triklorakban

### Analytická inštrumentácia

Perfluorované látky: Infinity 1290 (Agilent Technologies, USA); QTRAP 5500 (ABSciex, USA); kolóna SYNERGI 4 $\mu$  Fusion RP 80Å; 50 mm x 2 mm (Phenomenex, USA); mobilná fáza voda:metanol (gradient).

Liečivá: UPLC ACQUITY (Waters, USA); Xevo TQ S (Waters, USA); kolóna Xterra C18 3.5  $\mu$ m 100 mm x 2.1 (Waters, USA); mobilná fáza voda:metanol (gradient).

### Príprava hydrogéllov

Plátky agarózových hydrogéllov o hrúbke 0,1 cm boli pripravené rozpustením 1,5 g agarózy v 100 ml demineralizovanej vody. Roztok bol miešaný a ohrievaný až na bod varu. V prípade hydrogéllov s rozptýleným sorbentom bolo pridaných 5 g metanolom zmáčaného sorbentu Oasis HLB. Následne bol roztok dávkaný medzi dve sklené doštičky s teflonovým medzerníkom o hrúbke 0,1 cm. Po ochladnutí boli takto vytvorené plátky gélu skladované v demineralizovanej vode v chladničke.

### Sorpcia v hydrogélloch

Potenciálna sorpcia látok v čistých hydrogélloch bola testovaná ponorením plátku hydrogélu do zmesného roztoku sledovaných látok, v ktorom bol ponechaný aspoň 3 dni. Následne bola stanovená koncentrácia vodného roztoku. Referenčnou hodnotou bola koncentrácia rovnakého roztoku, do ktorého však nebol ponorený hydrogél.

### Difúzia v hydrogélloch

Difúzne koeficienty jednotlivých látok v agarózovom hydrogéli boli experimentálne zistené metódou navrstvených plátok gélu<sup>8</sup>. Boli zhotovené plátky gélu o rozmeroch 6×6×0,1 cm. Niekoľko plátok bolo exponovaných zmesnému roztoku všetkých sledovaných látok o koncentrácii 2 µg/ml tak, aby pomer spoločného objemu gélov a vodného roztoku bol približne 1:1. Látkami obohatené plátky hydrogélu boli potom jednotlivito uložené na sklené doštičky, prevrstvené piatimi plátkami čistého hydrogélu a prikryté sklenou doštičkou. Takto vytvorené súbory plátok boli uložené do uzatvárateľných plastových nádob. Nádoby boli ďalej uskladnené pri teplote asi 23 °C. Po stanovenom čase boli jednotlivé súbory plátok rozoberané, jednotlivé plátky uložené do sklenených skúmaviek o objeme 40 ml a zaliate 35 ml demineralizovanej vody. Po minimálne 3 dňoch bola stanovená koncentrácia sledovaných látok vo vodnom roztoku a vychádzajúc z predpokladu rovnomerného rozdelenia látok medzi jednotkami objemu vody a hydrogélu vypočítaná koncentrácia v plátku hydrogélu. Z každého súboru bol zhotovený model prestupu látok medzi jednotlivými vrstvami súboru a následne vypočítaný difúzny koeficient s prislúchajúcou neistotou. Celkovo bolo stanovených 12 súborov, v triplikátoch po 1, 2, 4 a 24 hodinách.

### Kalibrácia vzorkovačov

Ako vzorkovače boli použité komerčne dostupné plastové telá vzorkovačov DGT so vzorkovacou plochou 3,14 cm<sup>2</sup> s vrstvou hydrogélu s rozptýleným sorbentom a prípadne ďalšou difúznou vrstvou čistého hydrogélu (obe o hrúbke 0,1 cm). Vzorkovacie rýchlosti boli merané v dvoch expozičných experimentoch v umelom prietokovom systéme. Do akvária o objeme 60 l s prepacom bola umiestnená otáčavá konštrukcia nesúca spolu 32 vzorkovačov, z toho 16 s difúznou vrstvou a 16 bez. Na počiatku bolo akvárium naplnené zmesným roztokom sledovaných látok o koncentrácii 1 µg/l a táto koncentrácia bola udržiavaná neustálym prítokom vody a metanolického roztoku látok pomocou dvoch samostatných čerpadiel (peristaltické a HPLC piestové čerpadlo). Teplota vody počas celého experimentu bola 22 °C. Každých 36 hodín boli odobrané dva vzorkovače s difúznou a dva bez difúznej vrstvy. Plátok hydrogélu so sorbentom bol uložený do 5 ml metanolu a ponechaný aspoň 3 dni, následne bola stanovená koncentrácia v metanole. Jednotlivé expozičné experimenty sa líšili rýchlosťou otáčania konštrukcie, simulujúcej tak rôzne rýchlosti vodného prúdu.

Pri každom odbere bola zároveň sledovaná koncentrácia látok vo vode. 3×100 ml odobratých priamo z akvária bolo okyselených na pH 2-3 a prevedených cez SPE kolónu Oasis HLB 60 mg. Extrakcia bola vykonaná pomocou 3 ml metanolu. Extrakt bol zahustený na objem 0,5 ml a následne bola stanovená jeho koncentrácia.

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

### Sorpcia

Pomer  $P$  vyjadrený rovnicou

$$P = \frac{c/c_R}{V_R/(V + V_G)}$$

kde  $c_R$  a  $V_R$  je koncentrácia a objem referenčného roztoku a  $V_G$  je objem gélu, by sa v ideálnom prípade mal rovnať jednej. Ak je pomer nižší ako jedna, môže to indikovať sorpciu danej látky hydrogélom.

Pre väčšinu perfluórovaných látok nadobúdal pomer hodnoty od 1,00 do 1,20. Vyššie hodnoty (nad 1,40) a zároveň vyššiu variabilitu nadobúda pomer pre PFDA, PFDoDA, PFTrDA, a FOSA. Okrem FOSA sa jedná o molekuly s relatívne dlhým hydrofóbnym reťazcom. Hodnoty pomeru vykazujú stredne silnú až silnú pozitívnu koreláciu s molekulovou hmotnosťou ( $r = 0,73$ ) a s hodnotami  $\log(K_{ow})$  ( $r = 0,62$ ), čo môže naznačovať buď sterické zábrany v štruktúre hydrogélu alebo odpudivé interakcie s molekulami agarózy. Hodnoty pomerov všetkých testovaných liečiv spadajú do intervalu od 0,95 do 1,15.

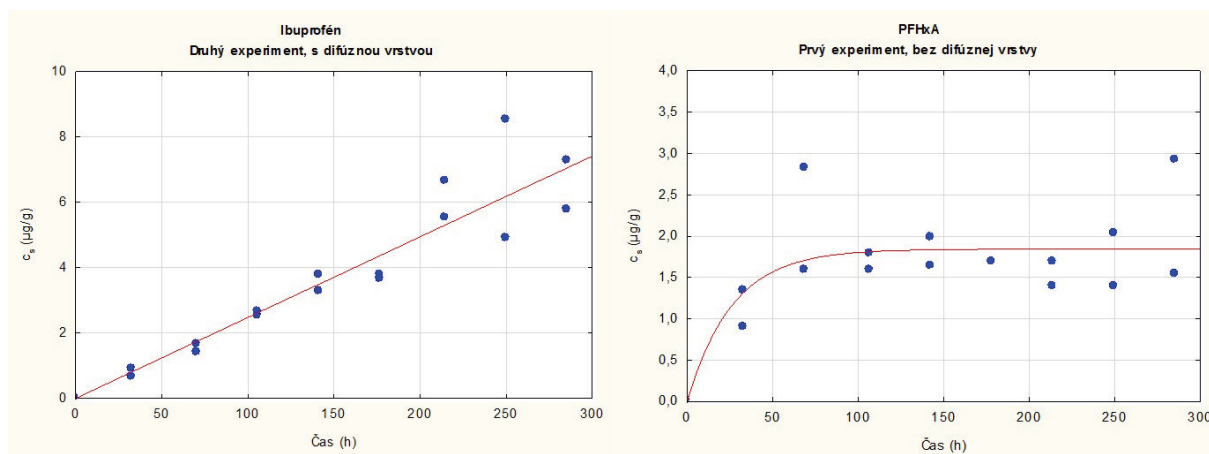
### Difúzia v hydrogélloch.

Hodnoty váženého priemeru difúzných koeficientov pre perfluórované látky nadobúdajú hodnoty od  $5,9 \cdot 10^{-11}$  po  $4,8 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ , pričom hodnoty podľa očakávania veľmi dobre negatívne korelujú s molekulovou hmotnosťou ( $r = -0,94$ ). Pre liečivá sa hodnoty vyskytujú v rozmedzí od  $4,9 \cdot 10^{-11}$  po  $3,6 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \text{ s}^{-1}$ , korelácia s molekulovou hmotnosťou je len stredne silná ( $r = -0,53$ ). Hodnoty sa zásadne nelíšia od hodnôt difúzných koeficientov antibiotík, ktoré uvádzajú Chen et al.<sup>5,6</sup>

### Kalibrácia vzorkovačov

Pre väčšinu látok bol celý priebeh príjmu látky vzorkovačom v lineárnej časti krivky (Obrázok 1). Výnimku tvoria z perfluórovaných látok v oboch experimentoch PFPA (vo vzorkovači s aj bez difúznej vrstvy), PFHxA

a PFBS (iba vo vzorkovačoch bez difúznej vrstvy) a v druhom experimente zdanlivo i FOSA (bez difúznej vrstvy). Z liečiv je to v oboch experimentoch kyselina klofibrová a hydrochlórthiazid (v oboch prípadoch iba bez difúznej vrstvy). Pre tieto látky nebola v danom zostavení vzorkovača počítaná vzorkovacia rýchlosť.



**Obrázok 1: Príklady závislosti koncentrácie látky vo vzorkovači na čase. Naľavo lineárna fáza príjmu látky (ibuprofén, vzorkovač s difúznou vrstvou), napravo fáza rovnováhy (PFHxA, vzorkovač bez difúznej vrstvy).**

Vzorkovacia rýchlosť ( $R_s$ ) je počítaná zo smernice závislosti koncentrácie látky vo vzorkovači na čase ( $a$ ), koncentrácie látky vo vode ( $c_w$ ) a hmotnosti sorbentu vo vzorkovači ( $m_s$ ) podľa vzťahu:

$$R_s = a \cdot \frac{m_s}{c_w}$$

Korelácia medzi vzorkovacími rýchlosťami zistenými pri jednotlivých experimentoch je silná v prípade vzorkovačov bez difúznej vrstvy ( $r = 0,80$ ) a stredne silná v prípade vzorkovačov s difúznou vrstvou ( $r = 0,60$ ).

Vzorkovacie rýchlosti boli výrazne nižšie pre vzorkovače s difúznou vrstvou (od 1,9 do 29,2; medián 19,1 ml/deň) ako pre vzorkovače bez difúznej vrstvy (od 12,9 do 287,8; medián 82,3 ml/deň). V experimente s rýchlejšou rotáciou konštrukcie (simulácia rýchlejšieho toku vody) boli vzorkovacie rýchlosti vzorkovačov bez difúznej vrstvy pre všetky perfluórované látky prekvapivo nižšie, a to v priemere o 31%. U vzorkovačov s difúznou vrstvou rýchlosť neklesla u PFHpA, pre ostatné látky klesla v priemere o 38%. Pri rôznych liečivách nastal so zrýchlením otáčok pokles alebo nárast vzorkovacích rýchlostí (najväčší pokles 55%, najväčší nárast 53%).

Teoretické vzorkovacie rýchlosti ( $R_p$ ) vypočítané zo získaných difúznych koeficientov ( $D$ ), vzorkovacej plochy ( $A$ ) a hrúbky difúznej vrstvy ( $\lambda$ ) podľa vzťahu

$$R_p = \frac{D \cdot A}{\lambda}$$

nadobúdajú hodnoty od 1,3 do 11,9 ml/deň a sú teda podobné vzorkovacím rýchlostiam vzorkovačov s difúznou vrstvou hydrogélu. Hodnoty difúzneho koeficientu, resp. predikované vzorkovacie rýchlosti vykazujú silnú pozitívnu koreláciu s nameranými hodnotami vzorkovacích rýchlostí pre perfluórované látky ( $r = 0,77$  pre prvý a  $r = 0,85$  pre druhý experiment), avšak pre liečivá len stredne silnú koreláciu s hodnotami z druhého experimentu ( $r = 0,58$ ) a zanedbateľnú koreláciu s hodnotami z prvého experimentu.

Vzhľadom k nízkym hodnotám rýchlosti vzorkovania a relatívne vysokej variabilite koncentrácií látok hlavne v neskorších odberových časoch nemusí byť stanovenie vzorkovacích rýchlostí celkom presné. Pred testovaním vzorkovačov priamo v prostredí je teda nutné overiť vplyv rýchlosti vodného toku na vzorkovacie rýchlosti vzorkovačov s väčšou sorpčnou plochou.

## ZÁVER

Agarózový hydrogél sa ukázal byť vhodným difúznym materiálom pre väčšinu testovaných látok, okrem perfluórovaných látok s dlhším reťazcom a FOSA. Navrhovaný vzorkovač v tradičnej konfigurácii DGT však nie je celkom vhodný na terénnu aplikáciu, a to najmä kvôli malej vzorkovacej ploche. Rovnaká konfigurácia vzorkovača s väčšou plochou môže byť použitá, avšak vyžaduje ďalšie laboratórne testovanie, aby bol bezpečne vylúčený vplyv rýchlosti toku na vzorkovaciu rýchlosť.

### LITERATÚRA

- (1) Loos, R.; Gawlik, B. M.; Locoro, G.; Rimaviciute, E.; Contini, S.; Bidoglio, G. *Environ. Pollut.* **2009**, *157*, 561–568.
- (2) Loos, R.; Locoro, G.; Contini, S. *Water Res.* **2010**, *44* (7), 2325–2335.
- (3) Belles, A.; Tapie, N.; Pardon, P.; Budzinski, H. *Anal. Bioanal. Chem.* **2014**, *406* (4), 1131–1140.
- (4) Zhang, H.; Davison, W. **1995**, *67* (19), 3391–3400.
- (5) Chen, C.-E.; Zhang, H.; Jones, K. C. *J. Environ. Monit.* **2012**, *14* (6), 1523–1530.
- (6) Chen, C.-E.; Zhang, H.; Ying, G.-G.; Jones, K. C. *Environ. Sci. Technol.* **2013**, *47* (23), 13587–13593.
- (7) Vrana, B.; Allan, I. J.; Greenwood, R.; Mills, G. A.; Dominiak, E.; Svensson, K.; Knutsson, J.; Morrison, G. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2005**, *24* (10), 845–868.
- (8) Rusina, T. P.; Smedes, F.; Klanova, J. *J. Appl. Polym. Sci.* **2010**, *116*, 1803–1810.

### POĎAKOVANIE

Projekt (TB030MZP001/EMERTOX) získal finančnú podporu od Technologickej agentúry Českej republiky (TAČR). Výskumná infraštruktúra RECETOX bola podporovaná projektmi Ministerstva školstva, mládeže a telovýchovy (LO1214) a (LM2011028).

# MOŽNOSTI CHARAKTERIZÁCIE ZNEČISTENIA VÔD ROPNÝMI LÁTKAMI

Peter Tölgyessy, Jana Tkáčová, Elena Rajczyková, Katarína Šimovičová

Národné referenčné laboratórium pre oblasť vôd na Slovensku, Výskumný ústav vodného hospodárstva,  
Nábr. arm. gen. L. Svobodu 5, 81249 Bratislava

## ÚVOD

Ropa a jej produkty spôsobujú znečistenie povrchových a podzemných vôd už pri nízkych koncentráciách na úrovni desiatok mikrogramov v litri. Ide o znečistenie spôsobené rôznymi produktami tvorenými zmesami ropných látok, ktoré zahŕňajú alifatické, aromatické, cyklické, nasýtené aj nenasýtené uhľovodíky. Stanovenie takýchto zmesí látok je zložité kvôli ich rôznorodosti, prečo bola v minulosti vyvinutá nešpecifická sumárna metóda stanovenia nepolárnych extrahovateľných látok (NEL) so spektrofotometrickou koncovkou. V stanovení NEL sa ako extrakčné činidlo používal freón (Ledon 113), ktorý bol v roku 2002 z rozhodnutia Montrealského protokolu (zákaz látok poškodzujúcich ozónovú vrstvu) pre laboratórne použitie zakázaný, a preto bol nahradený rozpúšťadlom S-316 (1,2,3,4-tetrachlór-1,1,2,3,4,4-hexafluórbután). Aj toto rozpúšťadlo je povolené dočasne, nakoľko má podobné vlastnosti ako freón. Preto sa hľadali nové metódy, ktoré by stanovenie NEL a tým aj použitie halogénovaných rozpúšťadiel nahradili. Jednou z nich je stanovenie ukazovateľa uhľovodíky  $C_{10} - C_{40}$  (uhľovodíkový index, alebo  $NEL_{GC}$ ) plynovou chromatografiou (GC) a s detekciou plameňovo-ionizačným detektorom (FID) [1]. Náš príspevok pojednáva o otázkach použitia ukazovateľov NEL a uhľovodíky  $C_{10} - C_{40}$  pri kontrole znečistenia vôd ropnými látkami.

## INDIKÁTORY MOŽNÉHO ZNEČISTENIA ROPNÝMI LÁTKAMI

Keďže ukazovateľ NEL je ukazovateľom skupinovým a nepokrýva len nepolárne extrahovateľné látky ropného pôvodu, jeho výpovedná hodnota ako ukazovateľa charakterizujúceho ropné znečistenie bola najmä v minulosti značne preceňovaná. Svedčia o tom aj názvy v minulosti zavedených technických analytických noriem na jeho stanovenie ako sú:

STN 830520-27: 1977 Fyzikálno-chemický rozbor pitnej vody. Stanovenie ropy a ropných látok, alebo  
STN 830540-4: 1982 Chemický a fyzikálny rozbor odpadových vôd. Stanovenie ropných látok.

Výrazný posun v pohľade na ukazovatele NEL a uhľovodíky  $C_{10} - C_{40}$  možno vidieť v metodickom pokyne uverejnenom vo Vestníku Ministerstva životného prostredia Českej republiky z roku 2008 [2], v ktorom sa ukazovatele NEL a uhľovodíky  $C_{10} - C_{40}$  hodnotia ako „indikátory možného znečistenia ropnými látkami“. S týmto prístupom sa stotožňujeme aj v NRL pre oblasť vôd na Slovensku.

Stanovenie NEL: extrakcia vzorky (vody, sedimentu a pod.) nepolárnym halogénovaným organickým rozpúšťadlom (bez C-H väzieb) s následným odstránením koextrahovaných slabo polárnych organických látok adsorpciou na silikagéli. Získaný extrakt sa podrobí spektrofotometrickému meraniu v IČ a UV oblasti spektra a stanovené hmotnostné koncentrácie organických látok predstavujú hodnoty  $NEL_{IČ}$  a  $NEL_{UV}$ .

Ukazovateľ uhľovodíkový index, ktorého vhodnejším názvom je uhľovodíky  $C_{10} - C_{40}$ , predstavuje sumárnu koncentráciu látok extrahovateľných uhľovodíkovým rozpúšťadlom, s teplotou varu medzi 36 °C a 69 °C (napr. hexán), nenaadsorovaných na Florisile, ktoré sú chromatograficky stanoviteľné s retenčnými časmi medzi *n*-dekánom ( $C_{10}H_{22}$ ) a *n*-tetrakontánom ( $C_{40}H_{82}$ ) [1].

V prípade oboch ukazovateľov sa stanovuje určitým spôsobom vymedzená sumárna koncentrácia nepolárnych extrahovateľných látok.

Zahrnuté látky môžu byť:

- z ropných produktov,
- biogénneho pôvodu (z rastlín, mikroorganizmov),
- iné znečisťujúce látky (napr. organické halogenderiváty, nitroderiváty, látky z drevospracujúceho priemyslu).

Ukazovatele NEL a uhľovodíky  $C_{10} - C_{40}$  možno pri prvotnom posudzovaní (iba na základe stanovených koncentrácií) považovať len za indikátory možného znečistenia ropnými látkami.

## POROVNANIE METÓD A VÝSLEDKOV STANOVENÍ NEL A C<sub>10</sub> – C<sub>40</sub>

Už pri porovnaní v predošlom uvedených definícií analytických metód možno vidieť rozdiely, ktoré v menšej alebo väčšej miere predurčujú rozdiely v nameraných výsledkoch. Kým pri metóde stanovenia NEL sú do stanovenia zahrnuté všetky nepolárne uhľovodíky, pri ukazovateli uhľovodíky C<sub>10</sub> – C<sub>40</sub> sú vyhodnocované len chromatografické píky nachádzajúce sa medzi píkami dekánu a tetrakontánu. Na výsledky majú ďalej vplyv rozdiely v použitých extrakčných činidlách, sorbentoch ako aj rozdiely v použitých inštrumentálnych zariadeniach. Rozdielne sú aj dosahované limity kvantifikácie (LOQ); zatiaľ čo pri spektrofotometrickej metóde sa pohybujú v rozmedzí 0,02 – 0,05 mg/l, pri plynovochromatografickej metóde na úrovni 0,1 mg/l [1].

Z rozdielov výsledkov získaných oboma metódami môžeme uviesť:

- Pri znečistení vôd automobilovým benzínom boli stanovené hodnoty uhľovodíkov C<sub>10</sub> – C<sub>40</sub> až o 75 % nižšie ako hodnoty NEL<sub>IC</sub> [3], čo bolo spôsobené skutočnosťou, že podstatná časť znečistenia sa na chromatograme nachádzala pred píkom C<sub>10</sub> a nebola zahrnutá do uhľovodíkov C<sub>10</sub> – C<sub>40</sub>.
- Vplyv typu použitého sorbentu na odstránenie polárnych látok:
  - v literatúre boli pre prípad vôd kontaminovaných dechtom uvedené aj o viac ako 200 % vyššie výsledky uhľovodíkov C<sub>10</sub> – C<sub>40</sub> ako NEL<sub>IC</sub> [4]. Bolo to spôsobené skutočnosťou, že pri použití silikagélu sa s omnoho vyššou účinnosťou odstránili PAU (prítomné vo vysokých koncentráciách) ako pri použití Florisilu. Táto skutočnosť spolu s faktom, že metóda NEL<sub>IC</sub> je menej citlivá pre aromatické uhľovodíky, tak môže spôsobiť veľký rozdiel vo výsledkoch analýz porovnávaných metód.
- Prednosťou stanovenia uhľovodíkov C<sub>10</sub> – C<sub>40</sub> v porovnaní so stanovením NEL je, že môže poskytnúť viacej informácií o vlastnostiach a možnom pôvode znečistenia:
  - doplnkové informácie o rozsahu bodov varu znečisťujúcich látok,
  - prítomnosť nízko vrúcich látok môže upozorniť na potrebu stanovenia prchavých aromatických uhľovodíkov (BTX),
  - „hrebeň“ uhľovodíkových píkov s charakteristickými retenčnými časmi môže svedčiť o znečistení motorovou naftou alebo vykurovacím olejom ľahkým,
  - prevládajúca prítomnosť uhľovodíkov C<sub>14</sub>, C<sub>16</sub> a C<sub>18</sub> a neprítomnosť súvislého homologického radu môže svedčiť o znečistení uhľovodíkmi prírodného pôvodu, ktoré je napríklad produkované sinicami.

## TERMINOLÓGIA

V norme a legislatívnych dokumentoch sú pre ukazovateľ uhľovodíky C<sub>10</sub> – C<sub>40</sub> nejednotne použité tiež termíny uhľovodíkový index a NEL<sub>GC</sub>. Prítom slovo index zvyčajne predstavuje číselný pomer, fyzikálny alebo iný ukazovateľ vzťahov medzi rôznymi hodnotami tej istej veličiny, ktorý je obvykle bezrozmernou veličinou (napr. index lomu). Ukazovateľ uhľovodíkový index je prítom ukazovateľom predstavujúcim za definovaných podmienok stanovenú koncentráciu organických látok obvykle vyjadrovanú v mg/l.

Pracovníci NRL dali návrh na zmenu názvu STN EN ISO 9377-2 „Stanovenie uhľovodíkového indexu. Časť 2: Metóda používajúca extrakciu rozpúšťadlom a plynovú chromatografiu.“ na „Stanovenie uhľovodíkov C<sub>10</sub> – C<sub>40</sub>. Časť 2: Metóda...“ [1], ktorá nadobudla platnosť od júna 2014. Termín „uhľovodíky C<sub>10</sub> – C<sub>40</sub>“ odporúčame jednotne zaviesť do našej legislatívy.

## PRIESKUM VÔD OD VYBRANÝCH PRODUCENTOV ZNEČISTENIA NEL

V NRL sa riešila výskumná úloha s názvom: „Charakterizácia uhľovodíkového znečistenia povrchových vôd kontaminovaných odpadovými vodami“. V úlohe sa skúmali spôsoby a možnosti náhrady stanovenia NEL stanovením uhľovodíkov C<sub>10</sub> – C<sub>40</sub>, prípadne stanovením iných chemických individuí vystihujúcich možné ropné znečistenie. Dôvodom bola aj škodlivosť rozpúšťadla S-316 pre životné prostredie a možnosť jeho zákazu. Cieľom úlohy bolo tiež posúdiť opodstatnenosť stanovovania ukazovateľa NEL (požadovaného pri kontrole rôznych typov odpadových vôd vypúšťaných do recipientov), resp. ukazovateľa uhľovodíky C<sub>10</sub> – C<sub>40</sub> a zistiť ich výpovednú hodnotu z hľadiska možného ropného znečistenia.

Pri riešení úlohy sa od významných producentov znečistenia NEL<sub>IC</sub> a NEL<sub>UV</sub> z rôznych priemyselných odvetví (vybraných na základe údajov o vypúšťaní znečistenia v rokoch 2008 – 2009 od Slovenského hydrometeorologického ústavu) odoberali vzorky vypúšťaných odpadových vôd, v ktorých sa stanovili ukazovatele NEL<sub>UV</sub>, NEL<sub>IC</sub>, uhľovodíky C<sub>10</sub> – C<sub>40</sub> a tiež sa podrobili kvalitatívnej organickej analýze pomocou plynovej chromatografie a hmotnostnej spektrometrie (GC-MS). Výsledky analýz vypúšťaných vôd od

Tabuľka 1: Výsledky analýz vypúšťaných odpadových vôd od vybraných producentov z roku 2013 a 2012

Producent	Číslo odberu	NEL <sub>UV</sub> [mg/l]	NEL <sub>IC</sub> [mg/l]	C <sub>10</sub> – C <sub>40</sub> [mg/l]	Počet id. zl./uhl. zl.*	Špecifické znečistenie
Volkswagen SK, Bratislava	1	0,02	<0,02	<0,1	12/0	hexa(metoxymetyl)melamín, monometyl monobutyl tetraetylén glykol
	2	<0,02	0,02	<0,1	14/0	
Slovnaft Bratislava, D0020PVA	1	0,02	0,03	<0,1	7/1	--- aromatické uhľovodíky
	2	0,03	0,08	<0,1	41/25	
Slovnaft Bratislava, W6040PVB	1	<0,02	0,04	<0,1	0/0	--- aromatické uhľovodíky
	2	<0,02	0,04	<0,1	44/33	
Duslo, OZ Istrochem, Bratislava	1	0,04	0,06	0,12	32/0	benzotiazolové zlúčeniny, pesticídy (triazíny)
	2	0,05	0,04	<0,1	37/1	
Continental Matador Púchov	1	0,03	0,12	<0,1	5/0	benzotiazolové zlúčeniny (benzotiazol, 2-metylbenzotiazol, 2-(metyltio)benzotiazol)
	2	0,10	0,03	<0,1	30/0	
Chemolak Smolenice	1	0,11	0,14	<0,1	24/1	fosfátové zlúčeniny (tributyl fosfát, 2-butoxyetanolfosfát (3:1)...) )
	2	0,02	0,03	<0,1	16/2	
Duslo Šaľa	1	0,02	0,11	<0,1	9/2	benzotiazolové zlúčeniny (2-metylbenzotiazol, 2-(metyltio)benzotiazol)
	2	0,13	0,09	<0,1	48/5	
NCHZ Nováky	1	1,04	0,18	0,24	12/1	N,N-dimetylcyklohexylamín, 2-etyl-1-hexanol, bis(2-chlóretoxy)metán
	2	0,26	0,11	<0,1	13/0	
ZSNP Žiar nad Hronom	1	0,08	0,55	<0,1	1/0	---
	2	<0,02	0,02	<0,1	6/2	
Petrochema Dubová	1	0,06	0,25	<0,1	1/0	--- aromatické uhľovodíky
	2	0,23	0,07	<0,1	15/11	
U.S. Steel Košice	1	0,03	0,09	<0,1	2/1	---
	2	0,07	0,05	<0,1	10/0	
Rudné bane, Spišská Nová Ves, H0380RSE	1	<0,02	0,03	<0,1	0/0	--- aromatické uhľovodíky
	2	0,02	0,71	<0,1	12/6	
Rudné bane, Spišská Nová Ves, H1080PSE	1	0,02	0,09	<0,1	2/0	--- aromatické a alifatické uhľovodíky
	2	0,02	0,02	<0,1	10/6	
Štrkopiesky Batizovce, P0075PSG	1	<0,02	<0,02	<0,1	3/1	---
	2	<0,02	0,04	<0,1	6/2	
Štrkopiesky Batizovce, P0075PSF	1	0,08	<0,02	<0,1	1/0	---
	2	<0,02	0,03	<0,1	3/0	
Kord Slovakia, Bánovce n/ Bebravou	1	0,05	0,11	<0,1	2/0	---
	2	0,02	0,08	<0,1	2/0	
ÚČOV Bratislava – Vrakuňa**	1	---	0,03	<0,1	3/0	---
	2	---	0,05	<0,1	8/0	
ČOV Košice**	1	---	<0,02	<0,1	4/0	---
	2	---	0,03	<0,1	3/0	
ČOV Prešov**	1	---	0,02	<0,1	2/0	---
	2	---	0,05	<0,1	6/0	
ČOV Námestovo**	1	---	0,02	<0,1	1/0	---
	2	---	<0,02	<0,1	2/0	
ČOV Zvolen**	1	---	0,06	<0,1	8/1	---
	2	---	0,04	<0,1	2/0	
ČOV Vranov nad Topľou**	1	---	0,03	<0,1	1/0	---
	2	---	<0,02	<0,1	4/1	

\* Počet všetkých identifikovaných zlúčenín/ z toho počet uhľovodíkových zlúčenín.

\*\* Vzorky boli odobraté a analyzované v roku 2012.

vybraných priemyselných producentov z roku 2013 sú zosumarizované v tabuľke 1. Do dolnej časti tabuľky sú zaradené aj výsledky analýz vzoriek vôd z vybraných mestských čistiarní odpadových vôd (ČOV), ktoré boli odobraté a analyzované v roku 2012. Ako vidno z tabuľky 1, z každého odberného profilu boli odobraté dve vzorky, pričom odbery boli uskutočnené v rozmedzí niekoľkých mesiacov až pol roka. Okrem stanovených hodnôt ukazovateľov  $NEL_{UV}$ ,  $NEL_{IC}$  a uhl'ovodíkov  $C_{10} - C_{40}$  je pri jednotlivých vzorkách uvedený počet GC-MS metódou identifikovaných organických zlúčenín, pričom je tiež uvedené, koľko z týchto zlúčenín tvoria uhl'ovodíkové zlúčeniny.

### ZÁVERY A NÁVRH OPATRENÍ

- Pri prieskume vôd sa zistilo, že vo viac ako 80 % analyzovaných vzoriek neboli prítomné uhl'ovodíky, ktoré by sa dali zaradiť medzi ropné látky. Toto potvrdzuje fakt, že ukazovatele NEL a uhl'ovodíky  $C_{10} - C_{40}$  sú indikátormi možného znečistenia ropnými látkami, ale na presnejšie určenie znečisťujúcich látok je potrebné použiť kvalitatívnu organickú analýzu.
- V analyzovaných vzorkách ani v jednom prípade neboli prekročené limitné hodnoty NEL určené pre priemyselné odpadové vody a osobitné vody vypúšťané do povrchových vôd. Z výsledkov je možné vidieť, že v prípade správne fungujúcich ČOV a správnej manipulácie s ropnými produktami nie je problém s kontamináciou vypúšťaných vôd ropnými látkami.
- Podľa informácií SIŽP sú na Slovensku zaregistrované desiatky až stovky prípadov mimoriadneho znečistenia kvality povrchových a podzemných vôd ročne. Z toho jednoznačne vyplýva potreba kontroly ropných látok vo vodách, na ktorú môžu slúžiť ukazovatele NEL alebo uhl'ovodíky  $C_{10} - C_{40}$ .
- V otázke zámeny ukazovateľa NEL za uhl'ovodíky  $C_{10} - C_{40}$  odporúčame najprv uskutočniť kvalitatívnu organickú analýzu na presnejšiu identifikáciu znečisťujúcich látok. Identifikácia látok môže pomôcť pri posúdení opodstatnenosti stanovovania NEL či uhl'ovodíkov  $C_{10} - C_{40}$  alebo zavedení sledovania doplnkových špecifických ukazovateľov.
- V otázke určenia limitných hodnôt pre ukazovateľ uhl'ovodíky  $C_{10} - C_{40}$  pre vypúšťané odpadové vody a osobitné vody, pre kvalitu povrchovej vody a imisného limitu pre povrchovú vodu navrhujeme prevziať limitné hodnoty pre NEL (UV, IC) stanovené nariadením vlády SR č. 269/2010 Z. z. [5].
- V prípadoch, keď sú pri kontrolných meraniach ukazovateľa NEL, resp. uhl'ovodíky  $C_{10} - C_{40}$ , vo vypúšťaných odpadových vodách opakovane stanovované koncentrácie prekračujúce legislatívne určené limitné hodnoty, taktiež odporúčame uskutočniť kvalitatívnu organickú analýzu na presnejšiu identifikáciu znečisťujúcich látok, ktorá môže pomôcť pri realizácii nápravných opatrení a pri prehodnotení výberu sledovaných ukazovateľov.

### LITERATÚRA

- [1] STN EN ISO 9377-2/O1 Kvalita vody. Stanovenie uhl'ovodíkov  $C_{10} - C_{40}$ . Časť 2: Metóda používajúca extrakciu rozpúšťadlom a plynovú chromatografiu. Oprava 1. Úrad pre normalizáciu, metrológiu a skúšobníctvo SR, Bratislava, jún 2014.
- [2] Metodický pokyn č. 3 odboru ekologických škod MŽP k řešení problematiky stanovení indikátoru možného znečistění ropnými látkami při sanacích kontaminovaných míst. Věstník MŽP ČR č.3/2008.
- [3] JANKOVSKÁ, M.: Porovnání výsledků stanovení NEL a  $C_{10}-C_{40}$  ve vodách. Zborník z konferencie „Hydroanalytika 2007“, CSlab s.r.o., Praha, 2007, 125-127.
- [4] JANKOVSKÁ, M.: Nově používané sumární ukazatele organického znečistění ve vodách. Zborník z konferencie „Hydroanalytika 2009“, CSlab s.r.o., Praha, 2009, 51-52.
- [5] Nariadenie vlády Slovenskej republiky č. 269/2010 Z. z. z 25. mája 2010, ktorým sa ustanovujú požiadavky na dosiahnutie dobrého stavu vôd.



# ODSTRAŇOVÁNÍ VYBRANÝCH CHEMICKÝCH LÁTEK Z VYČIŠTĚNÝCH KOMUNÁLNÍCH ODPADNÍCH VOD

Taťána Halešová<sup>1</sup>, Marcela Seifrtová<sup>1</sup>, Radka Pešoutová<sup>2</sup>, Luboš Strítěský<sup>2</sup>,  
Vladimír Habr<sup>3</sup>, Robert Hrich<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ALS Czech Republic, s.r.o., Na Harfě 336/9, 190 00 Praha 9 – Vysočany,

<sup>2</sup> AQUA PROCON s.r.o., Palackého tř. 12, 612 00 Brno,

<sup>3</sup> Brněnské vodárny a kanalizace, a.s., Hybešova 254/16, 657 33 Brno

## ABSTRAKT

Do životního prostředí se vlivem lidské činnosti dostává nezanedbatelné množství cizorodých látek, a proto stále narůstá zájem o kontrolu znečištění vod. V příspěvku jsou představeny výsledky rozsáhlého testovacího monitoringu ze vzorků vyčištěných odpadních vod odebraných na ČOV Brno-Modřice, na jehož základě byly vybrány látky monitorované v projektu LIFE2Water. Mezi prioritně sledované látky byly zahrnuty především potenciální kontaminanty vod, jako jsou pesticidní látky (triazinové pesticidy a jejich metabolity, fenoxalkanové pesticidy, močovinové pesticidy, karbamátové pesticidy), často používaná léčiva (např. diklofenak, karbamazepin, naproxen, ibuprofen) a steroidní látky (17 $\alpha$ -ethinylestradiol, 17 $\beta$ -estradiol a další). Tyto látky jsou sledovány v biologicky vyčištěné odpadní vodě z ČOV Brno-Modřice a následně na odtoku z pilotní jednotky po aplikaci vybraného terciárního stupně dočištění.

## 1. ÚVOD

Konvenční metody čištění komunálních odpadních vod se zaměřují na odstranění organických látek, snížení koncentrací dusíku a fosforu na míru přijatelnou pro ekosystém daného toku. Zatížení toků negativně působícími chemickými látkami jako například léčiva a pesticidy zůstává vysoké. Do životního prostředí se takto dostává nezanedbatelné množství cizorodých látek, které mohou působit i na jiné (necílové) činitele a iniciovat narušení terestrického či vodního ekosystému (1). Použitím moderních technologií pro terciární dočištění komunálních odpadních vod je možné dosáhnout koncentrací těchto látek v řádu jednotek nanogramů. Pro jejich detekci v odpadních vodách je však nezbytné použití moderních analytických metod. V příspěvku jsou uvedeny výsledky z testovacího monitoringu vyčištěných odpadních vod na ČOV Brno-Modřice a dále prvotní výsledky poloprovozního ověření technologie sonolýzy ozonu.

## 2. METODIKA

Výběr sledovaných látek byl proveden na základě analýzy rizik v daném prostředí a byl následně potvrzen opakovaným testovacím monitoringem vzorků biologicky vyčištěných odpadních vod z ČOV Brno-Modřice (Tab. 1,2,3). Nastavení limitů kvantifikace vychází z platných legislativních požadavků na kvalitu vody a ze zadání projektu (2). K vlastnímu testování pilotní jednotky je využívána biologicky vyčištěná odpadní voda z ČOV Brno-Modřice odebíraná ze zásobní nádrže pro přípravu technologické vody. 24 hodinové slévané vzorky jsou odebírány na vstupu do pilotní jednotky (biologicky vyčištěná odpadní voda) a na výstupu z pilotní jednotky pomocí automatických vzorkovačů. Vzorky odpadní vody jsou odebírány v kampaních, jednotlivé kampaně se odvíjí podle počasí, změn osídlení města během roku a změn nastavení pilotní jednotky. Pro stanovení prioritně sledovaných látek jsou využívány chromatografické metody s hmotnostní detekcí typu trojitého kvadrupolu (LC/MS/MS – pesticidní látky, steroidní hormony, léčiva; GC/MS/MS – alkylfenoly a bisfenol A). Tyto multireziduální analýzy umožňují nejen stanovení velkého množství analytů, ale díky citlivosti hmotnostního spektrometru lze dosáhnout požadovaných velmi nízkých limitů kvantifikace 0,01-0,001  $\mu\text{g/L}$  nezbytných k posouzení míry odstranění prioritně sledovaných látek (3).

## 3. VÝSLEDKY MĚŘENÍ A DISKUZE

V tabulkách 1 – 3 jsou uvedeny výsledky vstupního monitoringu látek, realizovaném v lednu a opakovaně v červnu 2013 během přípravy návrhu projektu. Na jeho základě byl připraven seznam sledovaných látek. Do seznamu byly rovněž zahrnuty vybrané metabolity, které jsou v životním prostředí často detekovány, na rozdíl od jejich mateřských sloučenin. Pro vstupní monitoring byly využity standardní metody ALS s limity kvantifikace 0,01 – 0,05  $\mu\text{g/L}$ .

Tabulka 1: Výsledky testovacího monitoringu – pesticidní látky

	01/2013	06/2013
Účinná látka/metabolit	µg/L	µg/L
2,4-D	<0,010	0,027
Acetochlor	<0,030	0,011
Atrazin	0,040	0,020
Atrazin-2-hydroxy	0,020	0,012
Atrazin-desethyl	0,082	0,034
Atrazin-desisopropyl	<0,010	<0,010
Azoxystrobin	0,014	<0,010
Diuron	0,023	0,025
Diuron desmethyl	<0,030	nebyl sledován
Chloridazon	<0,010	<0,010
Chloridazon-desfenyl	0,068	nebyl sledován
Chloridazon-methyl-desfenyl	nebyl sledován	nebyl sledován
Chlorpyrifos	<0,010	<0,010
Imidacloprid	0,036	0,027
Isoproturon	<0,010	0,018
Isoproturon-desmethyl	<0,010	<0,010
Isoproturon-monodesmethyl	<0,010	<0,010
Karbofuran	0,023	<0,010
Karbofuran-3-hydroxy	<0,010	<0,010
MCPA	<0,010	0,023
MCPB	<0,010	<0,010
MCPP	<0,010	0,043
Terbuthylazin	0,011	0,021
Terbuthylazin-desethyl	<0,010	0,017
Terbuthylazin-hydroxy	0,017	0,022
Terbutryn	0,010	0,014

Tabulka 2: Výsledky testovacího monitoringu – farmaceutické látky

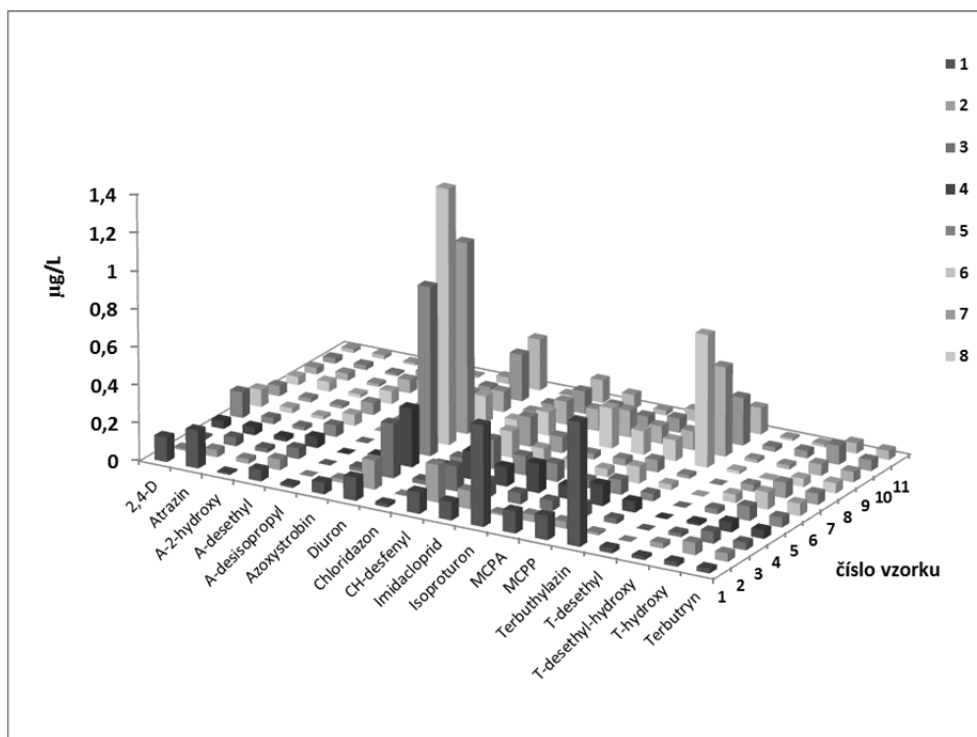
	01/2013	06/2013
Účinná látka	µg/L	µg/L
Diklofenak	1,92	0,573
Ibuprofen	<0,010	0,01
Iohexol	nebyl sledován	5,30
Iomeprol	nebyl sledován	30,00
Iopamidol	nebyl sledován	<0,50
Iopromid	nebyl sledován	3,30
Karbamazepin	1,02	0,261
Naproxen	nebyl sledován	0,033
Paracetamol	nebyl sledován	0,064
Sulfamethoxazol	<0,050	nebyl sledován
Warfarin	0,03	0,029

Tabulka 3: Výsledky testovacího monitoringu – steroidní látky

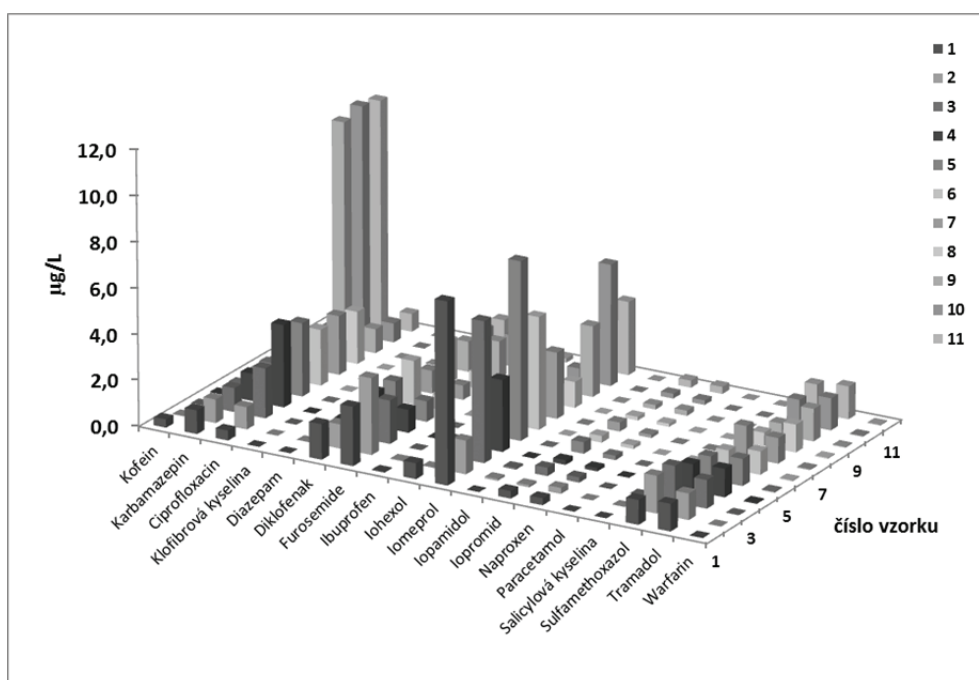
	01/2013	06/2013
Účinná látka/metabolit	µg/L	µg/L
17- $\alpha$ -ethinylestradiol	nebyl sledován	<0,100
17- $\beta$ -estradiol	nebyl sledován	0,041
Estriol	nebyl sledován	<0,050
Estron	nebyl sledován	<0,050
Mestranol	nebyl sledován	<0,050

Koncentrace některých prioritně sledovaných látek zejména pak u vzorků na výstupu z pilotní jednotky se pohybují v řádech jednotek mikrogramů. Z tohoto důvodu bylo nezbytné snížit pro potřeby projektu limity kvantifikace (LOQ) sledovaných látek. Tohoto snížení LOQ bylo dosaženo optimalizací nastavení MS detektoru. Byly sníženy limity kvantifikace pro pesticidní látky (z 0,01 na 0,001  $\mu\text{g/L}$ ) a pro vybraná léčiva (na hodnotu 0,01  $\mu\text{g/L}$ ).

Na obrázku 1 a 2 jsou uvedeny nalezené koncentrace pesticidních látek a léčiv z období duben – srpen 2015 v biologicky vyčištěné odpadní vodě na ČOV Brno-Modřice tj. vstupní vzorek pro pilotní jednotku. Jednotlivé odběry jsou označeny číslem vzorků 1 až 11. Naměřené hodnoty v průběhu roku kolísají, což může být způsobeno rozdílnou spotřebou těchto látek během testovaného období, ale i rozdílnou účinností čištění v předchozích krocích čištění.

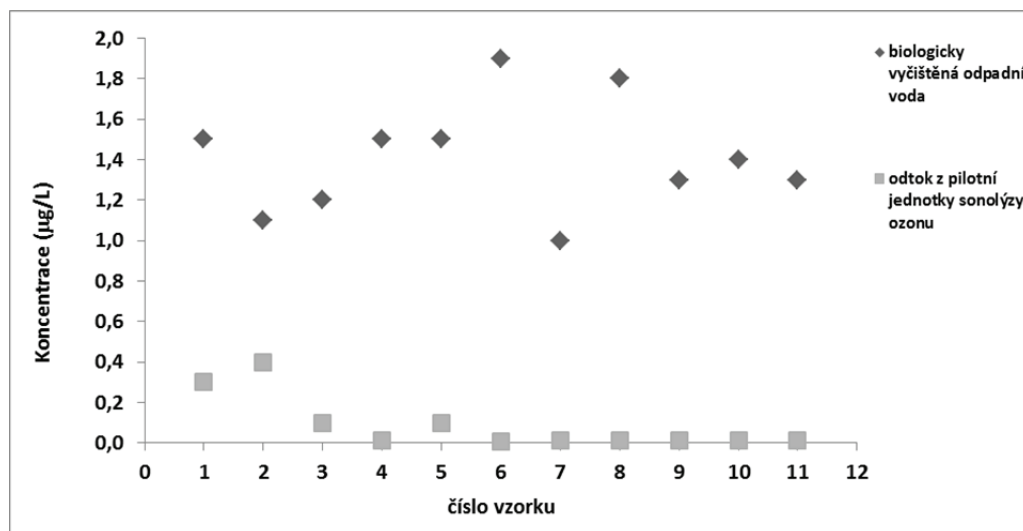


Obr. 1: Koncentrace pesticidních látek v biologicky vyčištěné odpadní vodě na ČOV Brno-Modřice



Obr. 2: Koncentrace léčiv v biologicky vyčištěné odpadní vodě na ČOV Brno-Modřicích

Na obr. 3 je uveden příklad optimalizace pilotní jednotky sonolýzy ozonu. Jde o srovnání koncentrací na odtoku z pilotní jednotky sonolýzy ozonu s hodnotami v biologicky vyčištěné odpadní vodě před vstupem do pilotní jednotky. Během testování byly aplikovány různé dávky ozonu v rozmezí 5-10 mg/l O<sub>3</sub> a ultrazvuku v rozmezí 0-1,25 kW. V rámci nastavení této pilotní jednotky bylo velmi zajímavé pozorovat úbytek léčivé látky diklofenak na výstupu z pilotní jednotky sonolýzy ozonu, neboť jde o látku nedostatečně odstranitelnou dosavadním způsobem čištění odpadních vod.



Obr. 3: Diklofenak v biologicky vyčištěné odpadní vodě a na odtoku z pilotní jednotky sonolýzy ozonu

#### 4. ZÁVĚR

Vzhledem k tomu, že se na trhu vyskytuje velké množství cizorodých látek, je velmi důležité jim věnovat pozornost, monitorovat přítomnost residuí nejen výchozích látek ale také rozkladných produktů. Při volbě analýzy spektra látek je důležité přistupovat k výběru sledovaných parametrů zodpovědně a o neznámém vzorku si zjistit co nejvíce informací, např. provést testovací monitoring na konkrétním vzorku. Je nutné zvolit vhodnou analytickou techniku, která zajistí prověření velkého rozsahu látek spolehlivě s požadovanými limity. Ukazuje se, že v životním prostředí se vyskytují nejen pesticidní látky, ale také léčiva, aby bylo možné chránit zdraví lidí, zvířat a životní prostředí, je zapotřebí najít způsob jak tyto látky z vody odstraňovat a zabránit tak jejich dalšímu šíření.

#### PODĚKOVÁNÍ

Projekt LIFE2Water (LIFE13 ENV/CZ/000475) je spolufinancován Evropskou unií v rámci programu LIFE+.

#### LITERATURA

1. <http://www.phytopsanitary.org>
2. nařízení vlády 61/2003 Sb. o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových vod a odpadních vod
3. <http://www.life2water.cz>
4. Zhang, Y., Geissen, S.U., Gal, C. (2008): Carbamazepine and diclofenac: removal in waste water treatment plants and occurrence in water bods. *Chemosphere*, 73: 1151–1161.

# REJSTŘÍK AUTORŮ



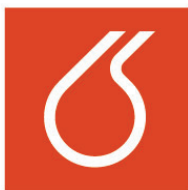
<b>A</b>		
Allan I.	87	
<b>B</b>		
Bajer T.	25	
Belháčová M.	107	
Budzinski H.	89	
Burda R.	57	
<b>Č</b>		
Čapková A.	57	
<b>F</b>		
Ferenčík M.	73	
Fremrová L.	13	
Fuka L.	33, 47, 103	
<b>G</b>		
Grabic R.	87	
Gravell A.	89	
Grung M.	87	
<b>H</b>		
Habr V.	119	
Halešová T.	119	
Hilscherova K.	87	
Hrich R.	119	
Hušková R.	3	
<b>Ch</b>		
Chrastina D.	65	
<b>K</b>		
Kabátová J.	21, 57	
Karpíšek I.	33, 47, 103	
Kaserzon S.	89	
Klokočnicková E.	19	
Kočová A.	99	
Kolářová P.	65	
Kujalová H.	33, 103	
<b>L</b>		
Loos R.	89	
<b>M</b>		
Mazzella N.	89	
Medek J.	9	
Miege C.	89	
Miháliková Z.	79	
Milde D.	51	
<b>N</b>		
Nižnanská A.	57	
Novák J.	87	
<b>O</b>		
Ocelka T.	89	
Očenášková V.	65	
Okonski K.	87	
<b>P</b>		
Pešoutová R.	119	
Pospíchalová D.	65	
Prokeš R.	89	
Prokešová I.	33, 47, 103	
<b>R</b>		
Rajczykova E.	115	
Rusina T.	87	
<b>S</b>		
Seifrtová M.	119	
Slobodník J.	87	
Smedes F.	87, 89	
Stříteský L.	119	
Svobodová A.	65	
Sýkora V.	33, 47, 103	
<b>Š</b>		
Šimovičová K.	115	
Škeřík S.	43	
<b>T</b>		
Tarábek P.	87	
Tkáčová J.	115	
Tölgyessy P.	79, 115	
Truxová I.	65	
Tušil P.	65	
<b>U</b>		
Urík J.	111	
<b>V</b>		
Válek J.	99	
Valterová B.	99	
Vavrušková L.	21	
Vermeirssen E.	89	
Vilímeč J.	27	
Vojtíšková M.	47	
Vrana B.	87, 89	
<b>Ž</b>		
Žáková M.	27	





# **INZERCE**





**VYSOKÁ ŠKOLA  
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ  
V PRAZE**



**ÚSTAV TECHNOLOGIE  
VODY A PROSTŘEDÍ**

Ústav technologie vody a prostředí na VŠCHT Praha patří k předním vysokoškolským pracovištím v oboru technologie vody, vodního hospodářství obcí i průmyslu a ochrany vod nejen v České republice, ale i v Evropské unii. Vědeckovýzkumná činnost ústavu je již od jeho založení zaměřena na problematiku:

- anaerobního čištění odpadních vod,
- aerobního čištění odpadních vod,
- průmyslových odpadních vod,
- hydrobiologie a mikrobiologie,
- úpravy vody,
- hydrochemie a analytiky vody.

Kromě výuky zajišťujeme poradenství a kursy v těchto oblastech:

- čištění městských i průmyslových odpadních vod,
- biologická rozložitelnost organických látek,
- zpracování kalů,
- mikrobiologické hodnocení vod a kalů,
- analytika vody,
- úprava pitných a užitkových vod.

**[www.vscht.cz/tvp](http://www.vscht.cz/tvp)**



**C S l a b s p o l . s r o .**



**Poskytovatel zkoušení způsobilosti č. 7003  
akreditovaný ČIA podle normy ČSN EN ISO/IEC 17043**

**CSlab spol. s r.o.  
Bavorská 856 / 14, Praha 5, PSČ: 155 00  
Telefon / fax: 224 453 124  
Mobil: 777 970 693**

**E-mail: [cslab@cslab.cz](mailto:cslab@cslab.cz)  
<http://www.cslab.cz>**





## **Česká asociace pro vodu CzWA (Czech Water Association)**

CzWA sdružuje odborníky, společnosti a instituce s hlavním cílem dosažení efektivního a udržitelného rozvoje v celé oblasti vodního hospodářství a ochrany vodního prostředí. Předmětem činnosti CzWA je zejména:

- výměna poznatků a zkušeností jak mezi členy, tak i s odborníky mimo členskou základnu;
- odborná výchova vlastních členů i odborníků nečlenů;
- přenos odborných poznatků ze zahraničí do ČR;
- vydávání odborných publikací a dalších materiálů v tištěné i el. podobě;
- organizace seminářů, kolokvií, školení, konferencí, výstav a odborných exkurzí;
- aktivní účast při normotvorné a metodické činnosti;
- reprezentace členů CzWA v českých a zahraničních sdruženích stejného či obdobného odborného zaměření a aktivní spolupráce s těmito sdruženími;
- spolupráce s orgány veřejné a státní správy;
- podpora požadavků svých členů, jenž jsou v souladu s etickým kodexem CzWA;
- poskytování expertních, poradenských a konzultačních služeb.







## Připravený do terénu

# Mobilní kolorimetr Spectroquant® Move Cl<sub>2</sub>/O<sub>3</sub>/ClO<sub>2</sub>/CyA/pH


### Jednoduchá kontrola dezinfekce – kdekoli!

- 5 důležitých parametrů pro kontrolu dezinfekce: chlor, ozon, oxid chloričitý, kyanurová kyselina a pH
- testy pro stanovení volného a celkového chloru a test s kapalnými činidly
- sada referenčních roztoků pro ověření kolorimetru
- Spectroquant® Data Transfer: rychlý přenos dat, uchovávání výsledků a jejich tisk



Snadno. Správně. Bezpečně. Úsporně. V terénu.

[www.merckmillipore.cz](http://www.merckmillipore.cz)  
[www.merckmillipore.sk](http://www.merckmillipore.sk)

Merck Millipore je divize společnosti  MERCK





Pražské vodovody  
a kanalizace



Chraňme si přírodu,  
ať můžeme pít zdravou vodu.

Do kanalizace nepatří



Olej  
z fritézy



Barvy, laky



Léky



Výrobky  
neohleduplné  
k ŽP



Pesticidy

Znečišťují životní prostředí a mohou ohrozit zdroje vody.

Pražské vodovody a kanalizace, a.s.  
Zákaznické centrum • Dykova 3 • Praha 3  
E-mail: [info@pvk.cz](mailto:info@pvk.cz) • [www.pvk.cz](http://www.pvk.cz)  
Zákaznická linka PVK: 840 111 112

by  VEOLIA





**Laboratoř MORAVA s.r.o.**  
**Oderská 456 - 742 13 - STUDÉNKA**

**ZL č. 1266 akreditovaná ČIA**

**Komplexní rozbory**  
**vod, odpadů, krmiv a potravin**

**Tel.: 556 400 333 - Fax: 556 413 092**  
**[www.laborator-morava.cz](http://www.laborator-morava.cz)**





V našich technických plynech je perla:  
touha po kvalitě.



**Acetylen**  
**Kyslík**  
**Dusík**  
**Argon**  
**Oxid uhličitý**  
**Vodík**  
**Speciální plyny**  
**Medicínální plyny**  
**Svařovací technologie,**  
**materiály a pomůcky**

*Sídlo společnosti*  
**SIAD Czech spol. s r.o.**  
K Hájům 2606/2b  
155 00 Praha 5 – Stodůlky

tel: 235 097 520  
fax: 235 097 525  
siad@siad.cz  
www.siad.cz

*Regionální kanceláře:*

**Rajhradice**  
tel: 516 102 011  
fax: 547 232 996

**Braňany u Mostu**  
tel: 476 765 030  
fax: 476 129 286

**Plzeň**  
tel: 377 460 187  
fax: 377 460 187

**Děčín**  
tel: 412 530 206  
fax: 412 530 206

**Jihlava**  
tel: 567 301 534  
fax: 567 301 534

**České Budějovice**  
tel: 383 321 121  
fax: 383 321 121

**Ústí nad Orlicí**  
tel: 465 557 185  
fax: 465 557 185

**Olomouc**  
tel: 587 433 224  
fax: 587 433 224

**Hradec Králové**  
tel: 495 716 141  
fax: 495 408 733

**Uherské Hradiště**  
tel: 572 545 037  
fax: 572 545 037