

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Katedra analytické chemie

Stanovení aniontů v odpadních vodách z výroby buničiny

Vedoucí bakalářské práce: prof. Ing. Karel Ventura, CSc.

Konzultant: Ing. Martin Bartoš, CSc.

The University of Pardubice
Faculty of Chemical Technology
Department of Analytical Chemistry

Determination of anions in wastewater from pulp production

Bachelor thesis supervisor: prof. Ing. Karel Ventura, CSc.

Consultant: Ing. Martin Bartoš, CSc

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Tereza Wasniowska**
Osobní číslo: **C20139**
Studijní program: **B0531A130025 Chemie**
Téma práce: **Stanovení aniontů v odpadních vodách z výroby buničiny**
Téma práce anglicky: **Determination of anions in wastewater from pulp production**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Z dostupné literatury zpracujte rešerši o výrobě buničiny ze dřevní štěpky, zaměřte se na charakter odpadních vod a jejich analýzu (především stanovení aniontů), jak klasickými, tak instrumentálními technikami.
2. Navrhněte a vypracujte postupy stanovení síranů a chloridů v modelových vzorcích odpadních vod. Postupy (klasické i instrumentální) validujte a zpracujte jako standardní operační postupy. Zaměřte se na možnost izotachoforetického stanovení.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:
Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí bakalářské práce: **prof. Ing. Karel Ventura, CSc.**
Katedra analytické chemie
Konzultant bakalářské práce: **Ing. Martin Bartoš, CSc.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání bakalářské práce: **7. února 2023**
Termín odevzdání bakalářské práce: **30. června 2023**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

LS.

doc. Ing. Petr Česla, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2023

Prohlašuji:

Práci s názvem *Stanovení aniontů v odpadních vodách z výroby buničiny* jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne: 23. 6. 2023

Wasniowska Tereza

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla poděkovat prof. Ing. Karlu Venturovi, CSc. za odborné vedení práce, za jeho čas, cenné poznámky a možnost častých osobních konzultací. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Lucii Řehové, za poskytnutí příležitosti se věnovat tomuto tématu v nejmenovaném podniku, jež vyrábí buničinu. Veliké poděkování míří k laborantky z laboratoří vodního hospodářství, kde jsem měla možnost vykonat praktickou část své bakalářské práce a bez nich bych nebyla schopná tuto práci dokončit. Děkuji jim za veškerou pomoc, rady a toleranci při měřeních. Déle prof. Ing. Miloslavu Milichovkému, DrSc. za poskytnutí potřebných informací o výrobě celulózy. Také Ing. Martinu Bartošovi, CSc. za cenné informace týkající se izotachforetického měření. V neposlední řadě mé rodině a partnerovi, kteří mi byli oporou.

ANOTACE

Bakalářská práce na téma *Stanovení aniontů v odpadních vodách z výroby buničiny*, pojednává o problematice stanovení síranů a chloridů pomocí izotachofózy (ITP). Metoda ITP se řadí do skupiny elektromigračních separačních metoda. Pro ověření správnosti výsledků získaných metodou ITP, byly použity analytické metody založeny na jiném principu stanovení, konkrétně gravimetrie a titrace. Pro stanovení obsahu síranu byla použita i metoda kyvetového testu (KIT) od firmy HACH. V bakalářské práci je také ve stručnosti popsán technologický proces výroby celulózy, specifikace odpadní vody a proces čištění.

KLÍČOVÁ SLOVA

Buničina, sírany, chloridy, odpadní vody, izotachofóza, gravimetrie, kyvetové testy, standardní operační postup, titrace.

TITLE

Determination of anions in wastewater from pulp production

ANNNOTATION

Bachelor's thesis on the topic *Determination of anions in wastewater from pulp production*, discusses the problem of determination of sulfates and chlorides using isotachopheresis (ITP). The ITP method belongs to group of electromigration separation methods. To verify correctness of results obtained by the ITP method, analytical methods based on a different determination principle, namely gravimetry and titration, were used. The cuvette test (KIT) method from the HACH company was used to determine the sulfate content as well. The bachelor's thesis also briefly describes the technological process of cellulose production, wastewater specifications and the cleaning process.

KEYWORDS

Pulp, sulphates, chlorides, wastewater, isotachopheresis, gravimetry, cuvette tests, standard operating procedure., titration

OBSAH

1	ÚVOD	9
2	TEORETICKÁ ČÁST	10
2.1	Odpadní voda	10
2.2	Kvalita odpadních vod	10
2.2.1	BSK.....	10
2.2.2	CHSK.....	10
2.2.3	NL.....	11
2.2.4	RL – 105 °C.....	11
2.2.5	RL – 550 °C.....	11
2.2.6	RAS.....	11
2.2.7	KNK, ZNK – neutralizační kapacita (NK)	11
2.2.8	Obsah dusíku	12
2.2.9	Obsah fosforu	12
2.3	Vypouštění odpadních vod do řek	12
2.4	Výroba buničiny sulfitovým způsobem	12
2.4.1	Dřevosklad	13
2.4.2	Doprovodné procesy	13
2.4.3	Varna	14
2.4.4	Bělení.....	15
2.5	Čistírna odpadních vod (ČOV)	15
2.5.1	Mechanická část	15
2.5.2	Biologická část	16
2.6	Izotachoforéza	16
2.6.1	Princip ITP	16
2.6.2	Základní vztahy pro vedení proudu v elektrolytu	18
2.6.3	Vlastnosti izotachforetických zón	19
2.6.4	Vlastnosti zón vhodné k detekci	19
2.6.5	Kvalitativní analýza	19
2.6.5.1	Identifikace vln v izotachforegramu.....	20
	<i>Porovnávání fyzikálních veličin modelového a neznámého vzorku</i>	20
2.6.6	Kvantitativní analýza.....	20
2.6.6.1	Pracovní techniky stanovení obsahu látky ve vzorku	21

2.6.6.1.1	Metoda přímého srovnání.....	21
2.6.6.1.2	Metoda kalibrační křivky	21
2.6.6.1.3	Metoda standardního přídávku.....	21
2.7	Gravimetrické stanovení	22
2.7.1	Stanovení síranů	22
2.7.2	Stanovení chloridů.....	22
2.8	Titrace.....	22
2.8.1	Argentometrické stanovení chloridů podle Mohra	22
2.8.2	Stanovení síranů titrací dusičnanem olovnatým	23
2.9	Stanovení pomocí kyvetového testu (KIT)	23
2.9.1	Stanovení síranů kyvetovým testem firmy HACH.....	25
2.9.2	Stanovení chloridů kyvetovým testem firmy HACH.....	25
2.10	Validace	26
2.10.1	Validace metod	26
2.10.2	Nejistoty.....	26
2.10.3	Parametry kvantitativního měření.....	26
2.10.4	Kalibrace	28
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	30
3.1	Přístroje a zařízení a laboratorní sklo.....	30
3.2	Chemikálie	31
3.3	Stanovení síranů	31
3.3.1	Analytický postup gravimetrického stanovení.....	31
3.3.2	Kyvetové testy	32
3.3.3	Izotachofórze	33
3.3.4	Analýza modelových vzorků	35
3.3.5	Analýza reálných vzorků	39
3.3.5.1	Ověření základních předpokladů o výběru dat	39
3.3.5.2	Základní statistické charakteristiky výběrů analyzovaných vzorků	42
3.3.5.3	Ověření pravdivosti stanovení	43
3.4	Stanovení chloridů	44
3.4.1	Analytický postup titračního stanovení	44
3.4.2	Izotachofórze	46
3.4.3	Analýza modelových vzorků	48
3.4.4	Analýza reálných vzorků	49

3.4.4.1	Ověření základní předpokladů o výběru dat	50
3.4.4.2	Základní statistické charakteristiky výběrů analyzovaných vzorků	52
3.4.4.3	Ověření pravdivosti stanovení	52
3.5	Mez detekce a stanovitelnosti.....	53
4	ZÁVĚR.....	55
5	POUŽITÁ LITERATURA	57
6	PŘÍLOHY.....	60

SEZNAM TABULEK, GRAFŮ A ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Schéma výroby viskóзовé buničiny sulfitovým způsobem	13
Obrázek 2: Schématické znázornění mechanismu rozpadu ligninu	14
Obrázek 3: Kyselé sulfitové vaření.....	14
Obrázek 4: Schématické znázornění varného procesu	15
Obrázek 5: Schématické znázornění procesu bělení.....	15
Obrázek 6: Schématické znázornění ČOV	16
Obrázek 7: Schéma separace iontů v koloně vedená jedním směrem.	17
Obrázek 8: Znázornění důvodu vzniku ustáleného stavu	19
Obrázek 9: Izotachoforetický záznam.	20
Obrázek 10: (vlevo) – Analýza modelových roztoků. (vpravo) – Záznam neznámého vzorku. Následná identifikace podle výšek zón.....	20
Obrázek 11: Měření a vyhodnocení obsahu látky ve spektrofotometricky	23
Obrázek 12: Kyvetový test, popis krabice od dodavatele.....	24
Obrázek 13: Postup práce při stanovení chloridů popsán pomocí diagramu.....	25
Obrázek 14: Interpretace rozdílu mezi chybou a nejistotou	26
Obrázek 15: Grafický záznam závislosti odezvy na koncentraci se zaznačením pracovního rozsahu, linearity, meze stanovitelnosti (LOQ) a meze detekce (LOD). 27	
Obrázek 16: Interpretace pravdivosti výsledku	27
Obrázek 17: (vlevo) Indikace signálu s hodnotou veličiny dostaneme kalibrační závislost. Šipky definují hodnoty nejistot. (vpravo) Využití kalibrace při identifikaci signálu vzorku, který odpovídá dané hodnotě vlastnosti.....	29
Obrázek 18: ITP (VILLA Labeco)	30
Obrázek 19: Určení polohy síranové aniontu.	33
Obrázek 20: Určení polohy chloridů a síranů v reálném vzorku. Červená – záznam vzorku. Modrá – poloha síranu, růžová – poloha chloridu.....	33
Obrázek 21: Izotachoforegramy zaznamenané při tvorbě kalibrační řady síranů. Zelená (5 mg·L ⁻¹), růžová (10 mg·L ⁻¹), modrá (20 mg· L ⁻¹), červená (40 mg· L ⁻¹), tyrkysová (50 mg·L ⁻¹) fialová (60 mg·L ⁻¹).	34
Obrázek 22: Kalibrační křivka pro stanovení síranů metodou ITP.	34
Obrázek 23: Krabicový graf analytických návratností stanovení síranů v modelových vzorcích o koncentraci 500 a 1000 ppm pomocí vybraných metod.	38

Obrázek 24: Srovnání experimentálního a normálního (Gaussova) rozdělení výsledků stanovení síranů metodami GRAV, IT, KIT, resp. KIT KOR.....	40
Obrázek 25: Střední hodnoty, resp. dolní a horní meze IS pro stanovení síranů vybranými metodami.	41
Obrázek 26: Krabicový graf pro stanovení síranů metodou GRAV a IT.	42
Obrázek 27: Lineární regresní model srovnání metod GRAV a TIT pro stanovení SO_4^{2-} v reálných vzorcích odpadních vod.	44
Obrázek 28: Poloha chloridového aniontu.....	46
Obrázek 29: Kalibrační křivka pro stanovení chloridů metodu ITP.....	47
Obrázek 30: Krabicový graf analytických návratností stanovení chloridů o koncentraci 100 ppm v modelovém roztoku metodami ITP a TIT	49
Obrázek 31: Srovnání experimentálního a normálního (Gaussova) rozdělení výsledků stanovení chloridů metodami TIT a IT	50
Obrázek 32: Střední hodnoty, resp. dolní a horní meze IS pro stanovení chloridů metodami TIT a IT.....	51
Obrázek 33: Krabicový graf koncentrace chloridů v reálných vzorcích stanovených metodami TIT a IT.....	51
Obrázek 34: Lineární regresní model srovnání metod IT a TIT pro stanovení Cl^- v reálných vzorcích odpadních vod.	53
Tabulka 1: Přípustné hodnoty pro kvalitu odpadních vod.....	10
Tabulka 2: Určení způsobu neutralizační kapacity.....	11
Tabulka 3: Ionty ovlivňují stanovení síranů pomocí KIT.....	25
Tabulka 4: Ionty ovlivňující stanovení chloridů pomocí KIT	25
Tabulka 5: Hodnoty pro tvorbu kalibrační křivky síranů.	35
Tabulka 6: Parametry kalibračního modelu stanovení síranů metodou ITP.....	35
Tabulka 7: Výsledky stanovení standardu o koncentraci 1000 ppm SO_4^{2-} metodou GRAV a ITP	36
Tabulka 8: Výsledky stanovení standardu síranů o koncentraci 500 ppm SO_4^{2-} metodou KIT, KIT KOR a ITP.....	36
Tabulka 9: Srovnání výsledků stanovení síranů (mg L^{-1}) metodou vázkové analýzy, ITP a KIT, resp. korig. KIT pro reálné vzorky odpadních vod ($n = 23$)	39

Tabulka 10: Statistické vyhodnocení výsledků gravimetrie, KIT, ITP, KIT s korekčním faktorem pro reálné vzorky odpadní vody.	42
Tabulka 11: Parametry regresního modelu srovnání výsledků stanovení síranů referenční metodou GRAV a navrženou ITP	44
Tabulka 12: Hodnoty pro kalibrační křivky chloridů.	47
Tabulka 13: Parametry kalibračního modelu stanovení chloridů metodou ITP.	48
Tabulka 14: Výsledky stanovení standardu o koncentraci 100 ppm Cl ⁻¹ metodou TIT a ITP	48
Tabulka 15: Srovnání výsledků stanovení chloridů (mg L ⁻¹) ITP a titrační metodu pro reálné vzorky odpadních vod (n = 13).	49
Tabulka 16: Základní statistické parametry n=11	52
Tabulka 17: Parametry modelu lineární regrese srovnání metod ITP a TIT pro stanovení chloridů.	53
Tabulka 18: Data pro výpočet limitních koncentrací (LOD, LOQ), pro n=8.	54

SEZNAM ZKRATEK

BSK ₅	biologická spotřeba kyslíku stanovení za dobu 5 dní
CRM	certifikovaný referenční materiál
ČOV	čistírna odpadních vod
GRAV	gravimetrie
CHSK _{Cr}	chemické spotřeba kyslíku stanovená pomocí K ₂ Cr ₂ O ₇
CHSK _{Mn}	chemická spotřeba kyslíku stanovená pomocí KMnO ₄
ITP	izotachoforéza
KNK	kyselinová neutralizační kapacita
KIT	kyvetový test
NL	nerozpuštěné látky sušené
R	návratnost
RAS	rozpuštěné anorganické soli
RL	rozpuštěné látky sušené
RSD	relativní směrodatná odchylka
TIT	titrace
ZNK	zásadová neutralizační kapacit.

1 ÚVOD

Bakalářská práce na téma *Stanovení aniontů ve vodách z výroby buničiny* pojednává o možnostech stanovení aniontů (síranů a chloridů) metodami klasické analytické chemie ve srovnání s instrumentální elektromigrační metodou. Cílem práce je ověření a validace instrumentální metody ITP.

Problematika vodního hospodářství mě zaujala při mé dlouhodobé brigádě v podniku vyrábějící viskózovou buničinu. Tato výroba je spojená s produkcí velkého množství odpadní vody, které je potřeba před vypuštěním do vodního toku vyčistit na čistírně odpadních vod. Nutnost sledovat charakter odpadní vody vyplývá, ze zákonných maximálních limitních koncentrací látek, které může podnik za 1 rok vypustit do řeky a jejich překročení je pokutováno.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Odpadní voda

Odpadní vody se podle charakteru dále dělí na vody splaškové, průmyslové, zemědělské a srážkové. *Splaškové vody* vznikají v domácnostech, školách a dalších zařízeních. Komunální odpadní vody jsou směsí splaškových a průmyslových vod [1]. Složení *průmyslové vody* je závislé na typu výroby, především obsahují určitý podíl škodlivých látek. Složení ovzduší silně ovlivňuje složení *srážkové neboli dešťové vody*.

2.2 Kvalita odpadních vod

Kvalita vod je charakterizována pomocí BSK₅, CHSK_{Cr}, CHSK_{Mn}, NL, RL, RAS, sírany, pH a KNK, ZNK, obsah dusíku a fosforu.

Tabulka 1: Přípustné hodnoty pro kvalitu odpadních vod.

Parametr	Jednotka	Limity [2,3]
CHSK _{Cr}	mg · L ⁻¹	400 – 550
BSK	mg · L ⁻¹	40 – 125
NL	mg · L ⁻¹	60 – 130
RL	mg · L ⁻¹	4200 – 4700
RAS	mg · L ⁻¹	3500 – 4000
pH	–	6 – 8,5
N _{celkový}	kg · t ⁻¹	0,3
P _{celkový}	mg · L ⁻¹	2,5 – 3
SO ₄ ²⁻	mg · L ⁻¹	2500 – 300

2.2.1 BSK

Zkratka BSK vyjadřuje hmotnostní koncentraci kyslíku spotřebovaného na biochemickou oxidaci rozpuštěných látek za přesně definovaných podmínek. BSK jako ukazatel účinnosti ČOV. Odpovídá koncentraci biologicky rozložitelných organických látek ve sledovaném vzorku.

2.2.2 CHSK

Zkratka CHSK vyjadřuje hmotnostní koncentraci kyslíku odpovídající hmotnosti silného oxidačního činidla spotřebovaného na oxidaci látek ve vzorku. Hodnota CHSK je ukazatelem organického znečištění vod. Pro odpadní vody je hodnota CHSK jedním z ukazatelů pro zpoplatnění vypouštění vody do řeky.

CHSK_{Cr}

Přímý ukazatel koncentrace organických látek ve vzorku. Principem metody je oxidace organických látek pomocí K₂Cr₂O₇ při teplotě 148 ± 3 °C a katalýzy ionty

Ag^+ . Přebytek $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ je titrován odměrným roztokem $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2$ na indikátor ferroin za vzniku červené komplexní sloučeniny.

CHSK_{Mn}

Slouží pouze k posouzení míry znečištění sledované vody. Dochází k oxidaci látek, při teplotě 96 – 98 °C v prostředí H_2SO_4 , roztokem KMnO_4 . Metoda je založená na principu manganometrie, kdy je přebytek kyseliny šťavelové titrován KMnO_4 do růžového zbarvení.

2.2.3 NL

Tuhé částice odstranitelné filtrací. Důkladně homogenizovaný vzorek je veden přes předem vysušený a vyvážený filtrační papír. Následuje sušení při 105 °C do konstantní hmotnosti.

2.2.4 RL – 105 °C

Jedná se o obsah látek, které zůstaly na žíhací misce po úpravě vzorku filtrací, odpařením a vysušením při 105 °C. Hmotnost sušiny odpovídá sumě všech chemických individuů vznikajících při uvedené teplotě.

2.2.5 RL – 550 °C

Jedná se o obsah látek, které zůstaly na misce i po jejím vyžhání při 550 °C. Při uvedené teplotě dochází k dalším chemickým změnám anorganických individuů, jedná se především o termické rozpady

2.2.6 RAS

Hodnota RAS odpovídá pouze koncentraci anorganický látek. Její hodnotu lze určit z celkové mineralizace vody, tedy ze součtu koncentrací všech rozpuštěných látek.

2.2.7 KNK, ZNK – neutralizační kapacita (NK)

Lze definovat jako obsah silné jednosytné kyseliny (KNK) nebo zásady (ZNK) uváděné v $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, potřebného k dosažení definovaného pH. Rozdíl mezi KNK a ZNK je v principu dosažení hodnoty pH.

Tabulka 2: Určení způsobu neutralizační kapacity

pH	ZNK	KNK
pH < 4,5	ZNK _{4,5} , ZNK _{8,3}	–
4,5 < pH < 8,3	ZNK _{8,3}	KNK _{4,5}
pH > 8,3	–	KNK _{4,5} , KNK _{8,3}

2.2.8 Obsah dusíku

Dusík se ve vodách vyskytuje v typických oxidačních stavech: NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ nebo NH_3 a sloučeniny organického původu přirozeně obsahující dusík (např.: bílkoviny, peptidy a další).

NH_4^+ nebo NH_3 se vyskytuje ve všech typech vod od povrchových po průmyslové odpadní vody. Přítomnost NH_4^+ nebo NH_3 je závislá na hodnotě pH a teplotě. Mezi nejběžnější metodu stanovení amoniakálního dusíku indofenolovou metodou.

NO_3^- se vyskytují téměř ve všech typech vod. Dusík ve formě NO_3^- je typem dusíku, který patří mezi významná kritéria k rozhodnutí o následném nakládání s odpadními vodami, včetně jejich vypouštění odpadních vod do řek. Nejběžnější metodou stanovení NO_3^- je spektrofotometrická metoda nitrace kyseliny salicylové v prostředí H_2SO_4 a následnou reakcí se zásadou vzniklá intenzivně žluté zbarvení, jehož intenzita se měří.

2.2.9 Obsah fosforu

Fosforečnany se ve vodách vyskytují nejčastěji v anorganické podobě. V odpadních vodách se sleduje zastoupení fosforu celkového P_{celk} . Obsah fosforečnanů se stanoví spektrofotometricky, reakcí s molybdenanem amonným $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$.

2.3 Vypouštění odpadních vod do řek

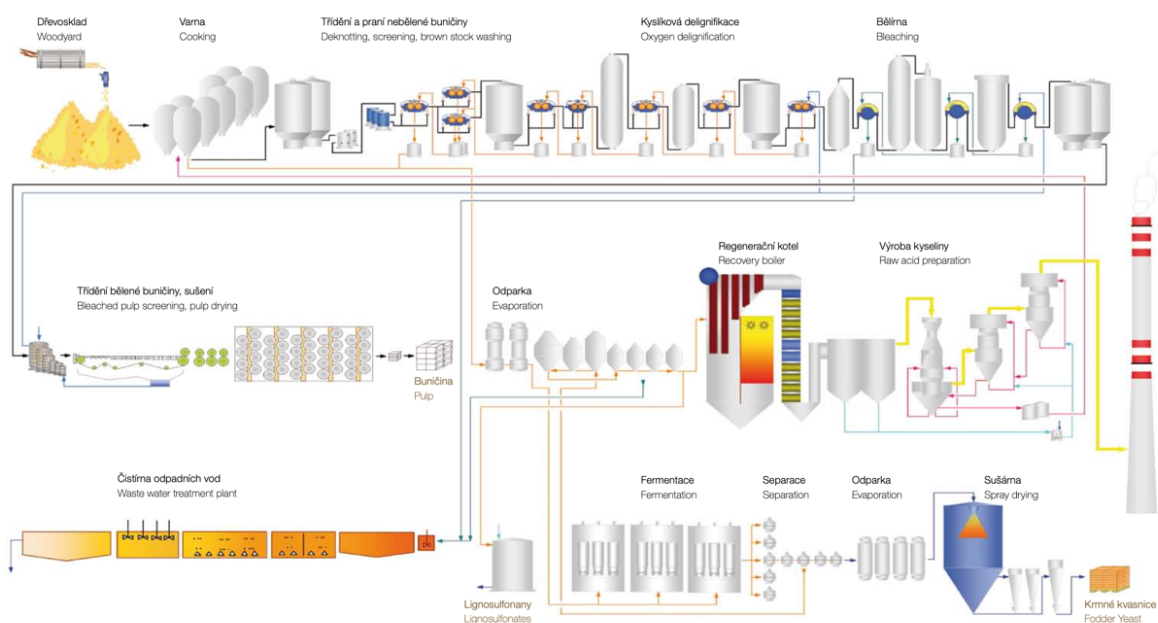
Přípustná hodnota množství síranů, které ještě lze vypustit do řeky, odpovídá rozmezí 2500 – 3000 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ [3]. Síraný ve vodách způsobí biogenní korozi betonu, tedy rozpínání, praskání a celkový rozpad kanalizačních potrubí [4].

Množství chloridů ve vodách může způsobit slanost vody, dále také korozi kovových materiálů, ze kterého může být například vyrobeno potrubí, kterými voda může téct. Takto zkorodované potrubí může způsobit uvolňování toxických látek do vodního prostředí. Limitní obsah chloridů v povrchových vodách je 250 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ [5]. Chloridy mají i kladný dopad pro životní organismy ve vodním prostředí, jelikož jsou považovány za esenciální prvek. Avšak vysoká obsah má negativní účinek při zavlažování rostlin [6].

2.4 Výroba buničiny sulfitovým způsobem

Pro výrobu buničiny je potřeba smrkové dřevo. Dřevo je tvořeno buněčnou stěnou, kterou tvoří vlákna skládající se z celulózy (polysacharid, jehož základní stavební

jednotkou je D-glukóza, jednotlivé D-glukózy jsou spojeny glykosidickou vazbou). Tyto vlákna jsou k sobě pevně poutaná pomocí tzv. ligninu. Lignin je základní a nejdůležitější složkou dřeva. Způsobuje pevnost a odolnost vůči tlaku. Ve struktuře ligninu jsou pravidelně opakující se deriváty *fenylpropanu* (tzv. prekurzory) [7]. Dalšími složkami dřeva jsou hemicelulóza, pentazon, hexazon, látky na bázi mastných a pryskyřičných kyselin, terpeny. Z těchto složek vznikají meziprodukty zpracovávané dále v chemickém průmyslu [8].



Obrázek 1: Schéma výroby viskózní buničiny sulfitovým způsobem

2.4.1 Dřevosklad

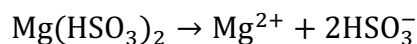
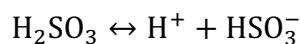
Připravená dřevní štěpka je uchovávána na dřevoskladech, odkud se odebírá k třídění dle požadovaných rozměrů. Následně je distribuována do výroby [9].

2.4.2 Doprovodné procesy

V procesu *sekundární regenerace* je vyrobena varná kyselina používaná k vaření buničiny. Varná kyselina je směs MgO, celkového SO₂ a volného SO₂. V *regeneračním kotli* je spalován lignin za tvorby vysokoenergetické páry. Dalším probíhajícím procesem je regenerace magnezito-bisulfitového výluhu vzniklého reakcí varné kyseliny se štěpkou. Důsledkem zahuštění roztoku v *odparce* se odbouráváním organických látek, docílí vzniku krmných kvasnic. Zahuštěný roztok převedený na sušinu se dále spaluje v regeneračním kotli za vzniku MgO zachycovaného elektrostatickými odlučovači. Vodná suspenze MgO je využívána na vypírání SO₂ [10].

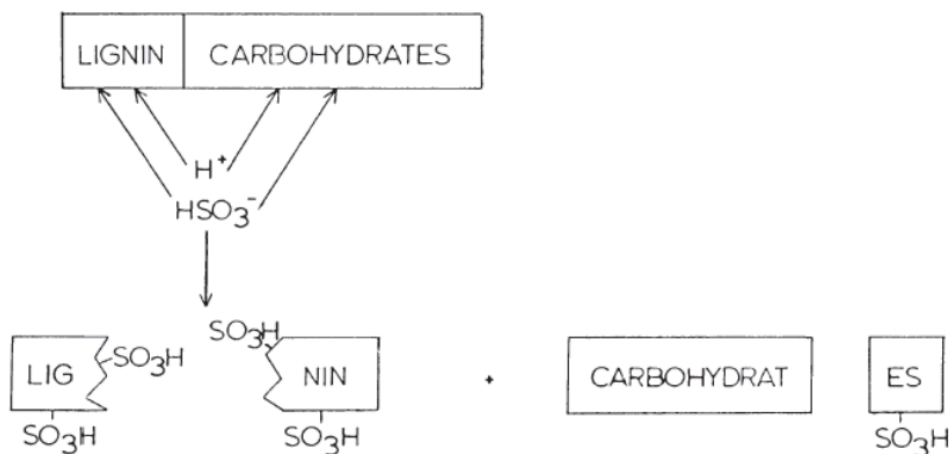
2.4.3 Varna

Proces sulfitové výroby buničiny je založen na rozpadu H_2SO_3 podle reakce:



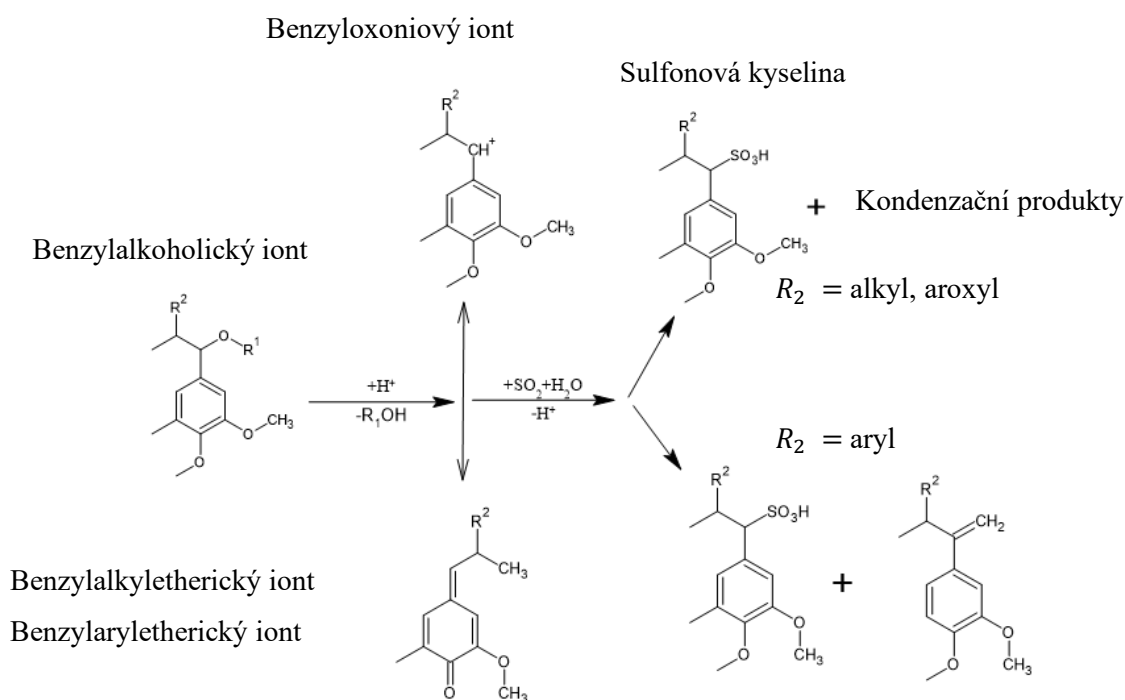
Vznikající HSO_3^- reaguje s molekulou ligninu za vzniku rozpustné sloučeniny.

H^+ napadá molekulu ligninu, přeruší etherové vazby a zmenší molekulu [9].



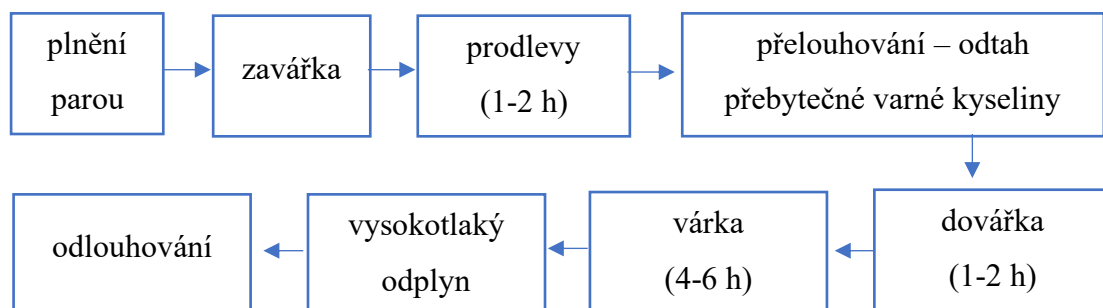
Obrázek 2: Schématické znázornění mechanismu rozpadu ligninu

Podrobněji popsány proces sulfitového vaření v probíhajících reakcích:



Obrázek 3: Kyselé sulfitové vaření

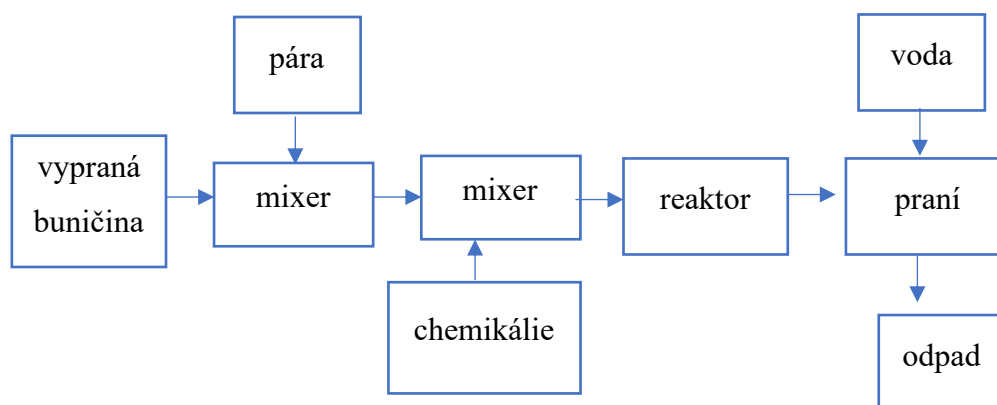
Kyselá hydrolyza je založená na principu přerušení glykosidických vazeb v celulóze za vzniku glukózy. Komponenty spolu reagují snadno z důvodu vysoce elektrofilních částic. Maximální teplota při vaření nesmí přesáhnout 140 °C, kdy začíná dřevo hnědnout. [9].



Obrázek 4: Schématické znázornění varného procesu

2.4.4 Bělení

Delignifikace je druhý stupeň při zpracování dřeva. Při bělení dochází k destrukci žlutě zbarvených p-benzochinonových sloučenin pomocí H_2O_2 . Další sloučeniny způsobující barevnost dřeva jsou p-karbonyl fenol a p-hydrochinon [9].



Obrázek 5: Schématické znázornění procesu bělení

2.5 Čistírna odpadních vod (ČOV)

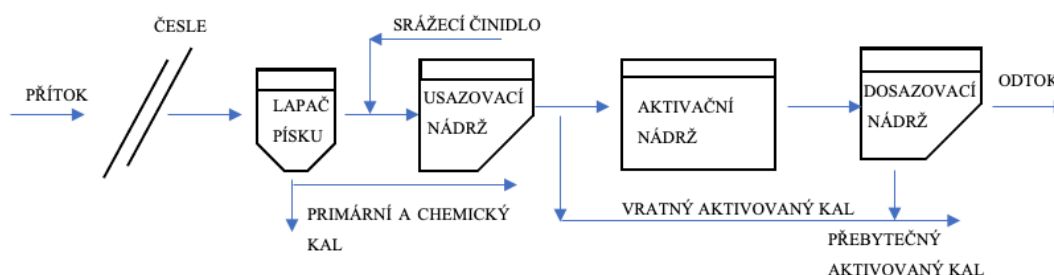
2.5.1 Mechanická část

V mechanické části ČOV se odstraňují látky nerozpustné ve vodě. Za procesy mechanického čištění je považováno cezení (česle), kde dochází k odstranění nečistot. Proces usazování probíhá ve dvou fázích, kdy lapače písku nejdříve zachytí minerální látky ve formě písku a usazovací nádrž poté zachytí malé nerozpuštěné látky. V procesu vzplývání, který probíhá v lapači tuku, dojde k odstranění olejovin,

keré by zanášeny filtry v aktivační nádrži. Další procesy, které mohou být zařazeny do procesu mechanického čištění jsou filtrace (pískové lóže), flotace (flotační vany) a odstředování (odstředivky).

2.5.2 Biologická část

Principem biologického čištění jsou oxidačně redukční reakce. Při aerobních biologických procesech se rozmnožují bakterie. V aktivační nádrži se rozkládají organické látky za vzniku biomasy následně oddělované v dosazovací nádrži. Biologické čištění probíhá aerobním nebo anaerobním způsobem. Anaerobní čištění neboli mikrobiální dekompozice organických látek, je proces samovolně probíhající v přírodě. Produktem biologického čištění je biomasa a bioplyn, které lze dále využívat [11].



Obrázek 6: Schématické znázornění ČOV

2.6 Izotachoforéza

Izotachoforézu (ITP) řadíme do skupiny elektroforetických metod, užívaných k analýze a izolaci iontových sloučenin. Separace složek je založená na rozdílné elektroforetické mobilitě složek [12]. Migrační chování částic v elektrickém poli způsobí rozdělení iontů na ostře definované frakce, které jsou postupně detekovány [13]. ITP se od ostatních elektromigračních technik odlišuje např. využitím vedoucího a koncového elektrolytu pro separaci.

2.6.1 Princip ITP

Průchodem elektrického proudu dochází k rozdělení látek na základě rozdílné pohyblivosti na jednotlivé zóny.

$$\mu_L > \mu_A > \mu_B > \mu_T$$

μ_L	iontová síla vedoucího elektrolytu [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]
μ_A	iontová síla látky A [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]
μ_B	iontová síla látky B [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]
μ_T	iontová síla koncového elektrolytu [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]

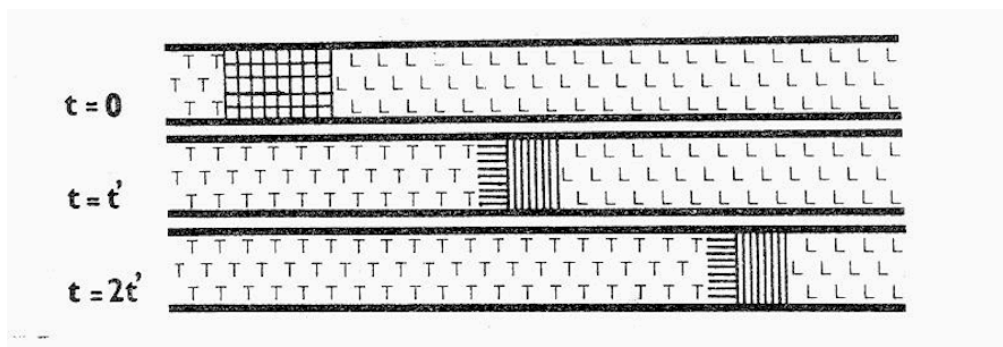
V separační koloně jsou dva elektrolyty (vedoucí a koncový) na jejichž rozhraní se dává vzorek [12]. Vedoucí elektrolyt má nejvyšší pohyblivost, je pH pufrovaný a obsahuje ionty, které mají shodnou polaritu s ionty vzorku. Koncový elektrolyt má nejnižší pohyblivost, obsahuje ukončovací ionty a protiionty [13].

Podmínkou separace je přítomnost hnací síly, v podobě gradientu elektrického pole, a rozdílné mobility separovaných iontů. Součin gradientu elektrického pole a efektivní mobility udává rychlost migrace. Po dosažení ustáleném stavu je rychlost zón i jejich složení konstantní [12].

$$v = u \cdot E$$

v	rychlost [$\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$]
u	elektroforetická pohyblivost [$\text{m}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$]
E	intenzita elektrického pole [$\text{V} \cdot \text{m}^{-1}$]

Elektroforetickou (efektivní) pohyblivost neboli mobilitu, ovlivňuje absolutní mobilita iontů ve vodném roztoku, disociační konstanta, pH, teplota, viskozita rozpouštědla, iontová síla a další faktory [14].



Obrázek 7: Schéma separace iontů v koloně vedená jedním směrem.

T	terminátor neboli koncový elektrolyt
L	leading neboli vedoucí elektrolyt
$t = 0$	nerozdělená směs látek
$t = t'$, $t = 2t'$	rozdělená směs látek putující kolonou stejnou rychlostí

Separační kapilára v koloně má průměr do 1 mm. Nastavňovaný pracovní proud je konstantní v rozmezí od 5 – 500 μA . Detektory se volí v závislosti na společné vlastnosti separovaných iontů.

2.6.2 Základní vztahy pro vedení proudu v elektrolytu

Měrná vodivost v elektrolytu

Suma všech iontů obsažených v separovaném roztoku:

$$\kappa = F \cdot \sum_i z_i \cdot u_i \cdot c_i$$

κ	měrná vodivost [$\Omega^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$]
c_i	koncentrace iontu [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]
z_i	náboj
F	Faradayova konstanta [$96\,485 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$]
u_i	efektivní pohyblivost látky [$\text{m}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$]

Za předpokladu elektroneutality je suma součinu náboje a koncentrace všech přítomných iontů je rovna nule.

$$\sum_i z_i \cdot c_i = 0$$

Podmínkou separace je průchod elektrického proudu, jejímž průchodem dojde ke vzniku elektrického pole.

$$E = \frac{I}{\kappa \cdot S}$$

E	intenzita elektrického pole [$\text{V} \cdot \text{m}^{-1}$]
$\frac{I}{S}$	proudová hustota [$\text{A} \cdot \text{m}^{-2}$]
S	průřez [m^2]
I	proud [A]
κ	měrná vodivost [$\Omega^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$]

Vzájemný vztah mezi přenosem hmoty v roztoku a přenosem náboje popisuje transportní rovnice:

$$\frac{I}{S} = F \cdot E \cdot \sum_i z_i \cdot u_i \cdot c_i$$

Do rovnice lze zapracovat vyjádření toku každého iontu kapilárou, podle rovnice:

$$\frac{J_i}{S} = E \cdot u_i \cdot c_i$$

J_i	látkový tok [$\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$]
-------	--

Využitím vztahu pro výpočet rychlosti migrace, lze uvedený vztah zjednodušit:

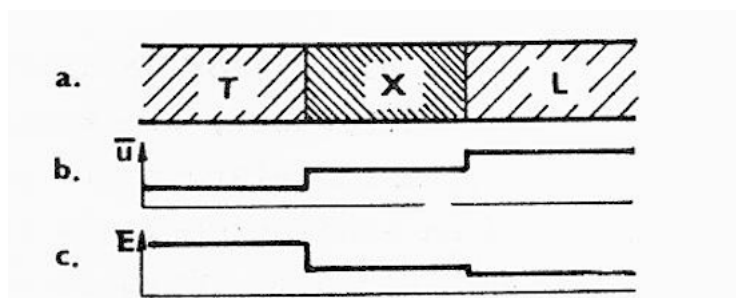
$$E \cdot u_i = v_i$$

$$\frac{J_i}{S} = v_i \cdot c_i$$

2.6.3 Vlastnosti izotachoforetických zón

Zóny se pohybují v ustáleném stavu stejnou rychlostí pouze za předpokladu splnění podmínky:

$$v_{iZO} = E_L \cdot \bar{u}_{L,L} = E_X \cdot \bar{u}_{X,X} = E_T \cdot \bar{u}_{T,T}$$



Obrázek 8: Znázornění důvodu vzniku ustáleného stavu

Hodnota intenzity není konstantní, ale je závislá na pohyblivosti iontů. Lze předpokládat vyšší hodnoty intenzity pole u pomalých iontů, a naopak nižší hodnoty intenzity u iontů rychlých.

2.6.4 Vlastnosti zón vhodné k detekci

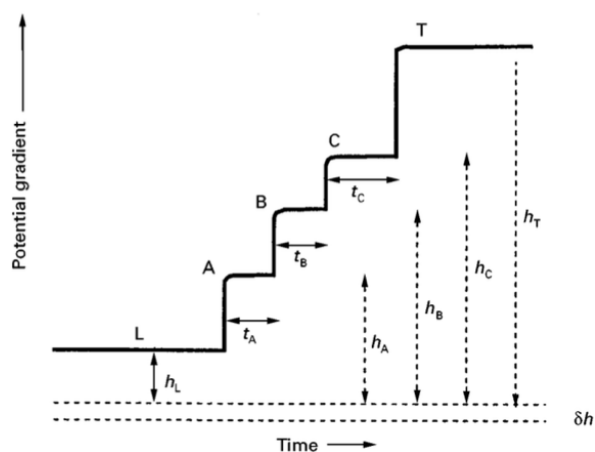
Při separaci vznikají ostrá rozhraní vlivem skokových změn sledovaných vlastností. Mezi nejčastější signál detektoru řadíme *gradient elektrického potenciálu*, který je definován změnou elektrického napětí dvěma elektrodami, má rostoucím charakterem od vedoucího ke koncovému elektrolytu. *Měrná vodivost*, která je přímo úměrná efektivní pohyblivosti látky. Změna *Teploty* v důsledku vzniku Joulova tepla při průchodu elektrického proudu. Hodnotu *pH* je možné sledovat při použití protiiontu v podobě slabé báze nebo kyseliny. Při stanovení aniontů má pH stoupající charakter, u kationtů naopak [14].

2.6.5 Kvalitativní analýza

Efektivní mobilita vzorku umožní kvalitativní rozbor sledovaného vzorku. V praxi se využívá poměru mezi gradienty elektrického potenciálu nebo vodivosti separovaných složek.

$$R_E = \frac{E_A}{E_L} = \frac{\mu_L}{\mu_A}$$

Experimentální zjištění hodnoty indexu R_E je založeno na sledování výšky jednotlivých zón [12].

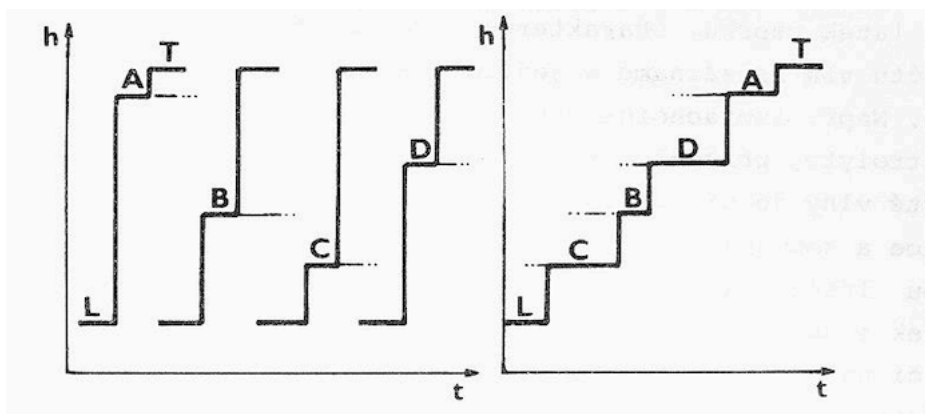


Obrázek 9: Izotachoforetický záznam.

2.6.5.1 Identifikace vln v izotachoforegramu

Porovnávání fyzikálních veličin modelového a neznámého vzorku

Znamenáním výšky zóny modelového vzorku a následným porovnáním s reálným vzorku, lze určit typ iontu. Výška zóny je pro daný iont v daném systému charakteristika. Tento typ určení polohy zóny je vhodný pro všechny metody detekce [14].



Obrázek 10: (vlevo) – Analýza modelových roztoků. (vpravo) – Záznam neznámého vzorku. Následná identifikace podle výšek zón.

2.6.6 Kvantitativní analýza

Kvantitativní paramet, délka zóny, je zaznamenán v podobě času, za který sledovaný iont projde detektorem. Koncentrace iontů v ustáleném stavu je určena efektivní pohyblivostí a koncentrací vedoucího iontu.

Absolutní délku zóny lze definovat vztahem [12]:

$$l_A = \frac{1000 \cdot n}{C_A^t \cdot \pi \cdot r^2}$$

l_A	absolutní délka zóny [cm]
n	množství aplikovaného vzorku v [mol]
r	poloměr separační trubice u detektoru v [cm]
t	doba průchodu zóny detektorem v [s]
C_A^t	ekvivalentní koncentrace vzorku

2.6.6.1 Pracovní techniky stanovení obsahu látky ve vzorku

2.6.6.1.1 Metoda přímého srovnání

Ze znalosti koncentrace iontu v modelovém vzorku, odpovídající určité délce zóny, se dopočítá koncentrace iontu ve vzorku:

$$c_x = c_s \cdot \frac{l_x}{l_s}$$

c_x	koncentrace sledovaného iontu [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]
c_s	koncentrace standardu [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]
l_x	délka zóny vzorku [s]
l_s	délka zóny standardu [s]

2.6.6.1.2 Metoda kalibrační křivky

Vyhodnocení je založeno na sestavení lineární kalibrační závislosti z několika modelových vzorků o definovaném složení.

$$N_x = K_{X,E} Q_x$$

$K_{X,E}$	kalibrační konstanta pro danou látku, pro kterou platí $K_{X,E} = \frac{u_x c_x}{x_x}$ [$\text{mol} \cdot \text{C}^{-1}$]
x_x	efektivní pohyblivost v zóně X [$\text{m}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$]
u_x	efektivní pohyblivost [$\text{m}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$]
c_x	koncentrace látky X [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]
Q_x	náboj, který lze vypočítat podle vzorce $Q_x = I t_x$ [C]
t_x	čas průchodu zóny detektorem [s]
I	hodnota nastaveného proudu [A]

2.6.6.1.3 Metoda standardního přídávku

Dávkování standardního vzorku o definovaném složení a objemu k měřenému vzorku. Nástřik se provádí ve dvou měřeních. První nástřik je pouze sledovaný vzorek, druhým nástřik je vzorek se standardním přídávkem [13].

$$c_x = c_s \cdot \frac{\frac{V'_s}{V_x}}{\frac{l_{xs}}{l_x} \cdot \frac{V_x}{V_{xs}} + \left(1 + \frac{V'_s}{V_x}\right) - 1}$$

c_x	koncentrace sledovaného iontu [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]
c_s	koncentrace standardu [$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$]
V'_s	dávkový objem standardu do vzorku [mL]
V_x	dávkový objem vzorku [mL]
V_{xs}	dávkový objem směsi vzorek se standardem [mL]
l_x	délka vlny vzorku [s]
l_{xs}	délka vlny směsi vzorku se standardem [s]

2.7 Gravimetrické stanovení

Vážková analýza (gravimetrie) je jedna s nejstarších analytických metod. Gravimetrické stanovení je přesné, ale časově náročné. Principem je vyloučení sledované složky ve formě nerozpustné sraženiny, která se dále upravuje a na závěr váží. Vzniklá sraženiny musí být filtrovatelná [15].

2.7.1 Stanovení síranů

Ve slabě kyselém prostředí se roztok sráží BaCl_2 za vzniku velmi málo rozpustné sraženiny BaSO_4 . Sraženina se zachytí na filtračním papíru. Sraženina se promývá horkou vodou. V průběhu promývání je nutné provést zkoušku na výskyt chloridů pomocí AgNO_3 , pokud nedochází ke vzniku bílé sraženiny AgCl , sraženina je dostatečně promytá. Produkt se žihá při $800\text{ }^\circ\text{C}$ do konstantní hmotnosti [16,17].

2.7.2 Stanovení chloridů

Okyselený roztok se sráží za studena roztokem AgNO_3 až do vzniku bílé sraženiny. Vzniklá sraženina se přivede k varu z důvodu lepší filtrovatelnosti. Následně dojde k filtraci filtračním kelímkem, promývání a sušení při $130\text{ }^\circ\text{C}$ [16].

2.8 Titrace

Titrace je definovaná jako reakce mezi analytem (sledovanou látkou) a reagentem (titračním činidlem), který má přesně známou koncentraci [18].

2.8.1 Argentometrické stanovení chloridů podle Mohra

Odměrným roztokem pro stanovení chloridů argentometricky je AgNO_3 . Stanovení je možné povést při pH v rozmezí $\text{pH} = 5 - 9,5$. Konec titrace je indikován pomocí K_2CrO_4 vznikem červenohnědé sraženiny Ag_2CrO_4 . Touto metodou lze stanovit koncentrace Cl^- v předloženém vzorku v rozsahu $4 - 400\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

Alternativou při stanovení chloridů je merkurimetrické stanovení pomocí $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$. Možným způsobem stanovení chloridů je potenciometrie s využitím stříbrné měrné elektrody [19,20].

2.8.2 Stanovení síranů titrací dusičnanem olovnatým

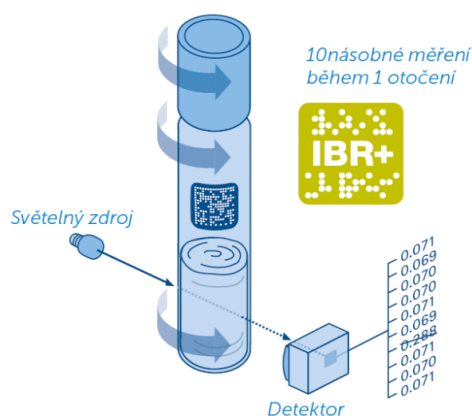
Stanovení je založeno na reakce SO_4^{2-} s $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Použitý indikátor je dithizon, s barevným přechodem v bodě ekvivalence z tmavě zelené do fialové. Metoda je vhodná pro stanovení obsahu iontů v koncentracích vyšších než $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Před stanovením je nutné odstranit přítomné kationty pomocí katexu.

Alternativou je nefelometrické stanovení pomocí srážecí reakce BaCl_2 [20].

2.9 Stanovení pomocí kyvetového testu (KIT)

Kyvetové testy jsou založeny na principu předem nadávkovaného reagentu a minimální časové náročnosti testu. Při měření se načte čárový kód, který je umístěn na kyvetě. Po vložení do spektrometru dojde k automatické identifikaci kyvety, rozsahu měření, čísla šarže a data expirace. Výsledek měření je k dispozici téměř ihned. Kyvetové testy mají široké uplatnění v analýzách vod. Lze testovat vody znečištěné z podniků průmyslové výroby, ale také vody čisté, až pitné. Společnost cílí na snižování množství chemikálií a tím snížení negativního dopadu na životní prostředí. Využité testy se nevyhazují do odpadu, ale společnost jednou za rok navštíví podniky využívající jejich produkty a testy si odváží.

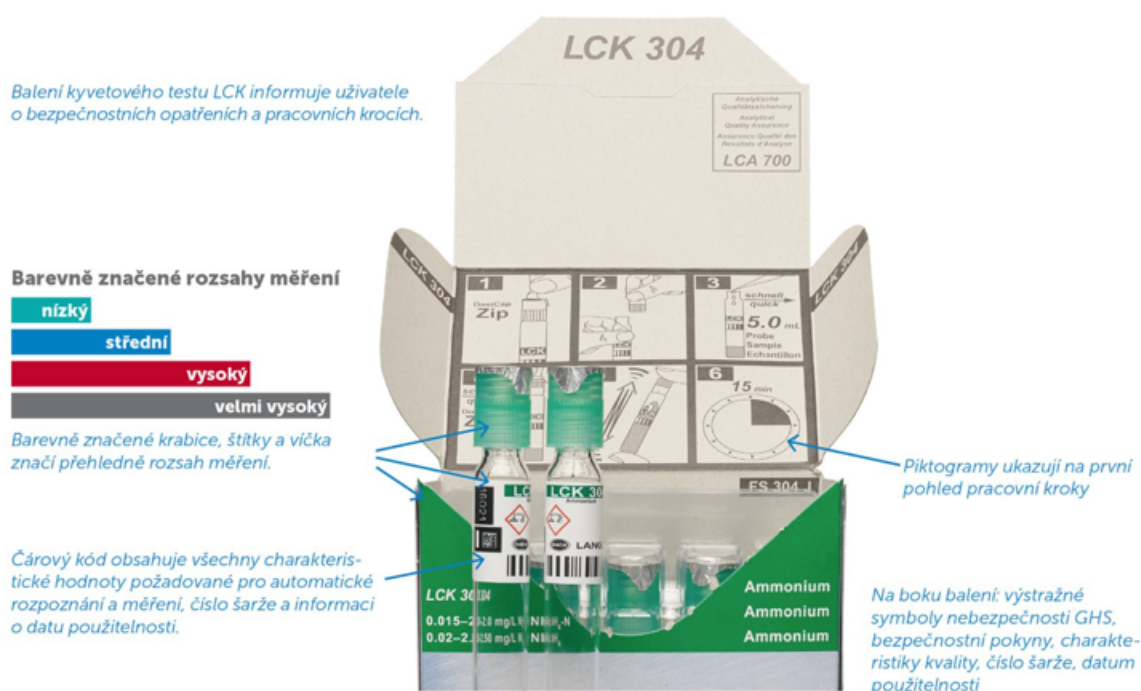
Princip měření je prosté vložení kyvety do fotometru, který následně přečte čárová kód, provede desetinásobné měření při jednom otočení kyvety, z těchto měření vyloučí nevhodné výsledky a následně vypočítá obsah sledované látky v $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ [21].



Obrázek 11: Měření a vyhodnocení obsahu látky ve spektrofotometricky

Chyby při použití kyvetového testu mohou vzniknout při:

- Pipetování objemu, pokud je objem odpipetován špatně,
- zakalení vzorku (nutná filtrace),
- vlivu rušivých iontů,
- pokud je vzorek viditelně zbarven, je nutné udělat měření slepého pokusu. Pokud je výsledek slepého pokusu nižší, než je dolní mez měřeného rozsahu ($150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), dle teorie není nutné hodnotu zahrnovat do výpočtu. Pokud je výsledek v měřeném rozsahu ($150 - 900 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), je nutné hodnotu slepého pokusu odečíst od výsledku měření vzorku.
- Pokud je koncentrace nad rozsahem měření, je nutné vzorek naředit, a měření opakovat. Výsledky nad rozsahem nelze považovat za pravdivé [22].



Obrázek 12: Kyvetový test, popis krabice od dodavatele.

2.9.1 Stanovení síranů kyvetovým testem firmy HACH

V tabulce 3 jsou uvedeny ionty a jejich limitní koncentrace, které mohou negativně ovlivnit stanovení síranů pomocí kyvetového testu.

Tabulka 3: Ionty ovlivňují stanovení síranů pomocí KIT

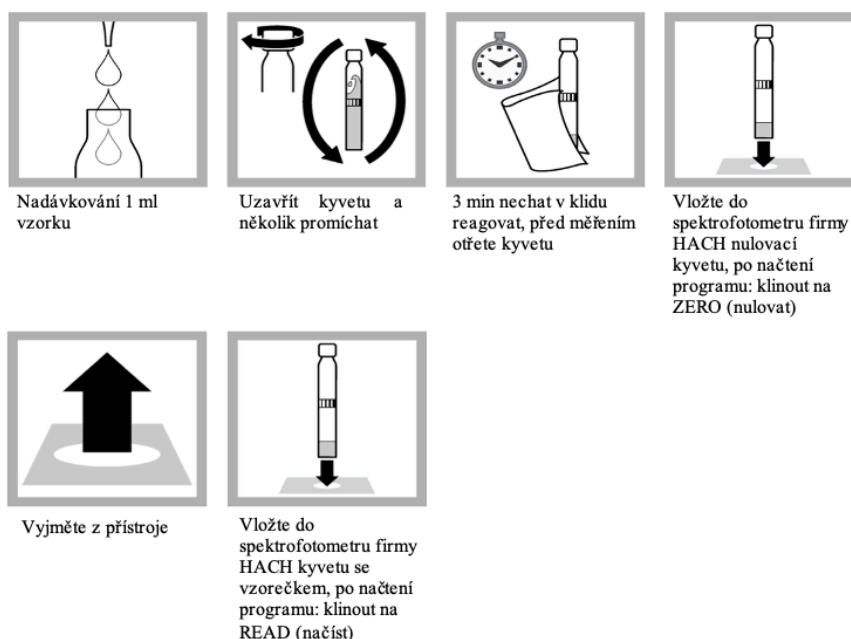
Koncentrace [$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$]	Ion[23]
2000	Na^+, K^+
1000	$\text{Ca}^{2+}, \text{NO}_3^-, \text{Cl}^-$
500	$\text{Cd}^{2+}, \text{Cr}^{3+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Fe}^{2+}, \text{Mg}^{2+}, \text{Mn}^{2+}, \text{NH}_4^+, \text{Ni}^{2+}, \text{Si}^{2+}, \text{Sn}^{2+}, \text{Zn}^{2+}$
50	$\text{Al}^{3+}, \text{Pb}^{2+}, \text{Hg}^{2+}, \text{PO}_4^{3-}, \text{CO}_3^{2-}, \text{I}^-, \text{CN}^-, \text{NO}_2^-$
20	Cr^{6+}
2,5	Ag^+

2.9.2 Stanovení chloridů kyvetovým testem firmy HACH

V tabulce 4 jsou uvedeny ionty a jejich limitní koncentrace, které mohou negativně ovlivnit stanovení chloridů pomocí kyvetového testu. Při koncentracích nižších, než jsou stanovené limity by k ovlivnění nemělo docházet.

Tabulka 4: Ionty ovlivňující stanovení chloridů pomocí KIT

Koncentrace [$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$]	Ion[24]
1000	$\text{SO}_4^{2-}, \text{NO}_3^-$
50	$\text{Zn}^{2+}, \text{Pb}^{2+}, \text{Ni}^{2+}, \text{Cu}^{2+}, \text{Cr}^{3+}, \text{Cr}^{6+}$
10	Cd^{2+}
0,4	$\text{CN}^-, \text{S}^{2-}$



Obrázek 13: Postup práce při stanovení chloridů popsán pomocí diagramu

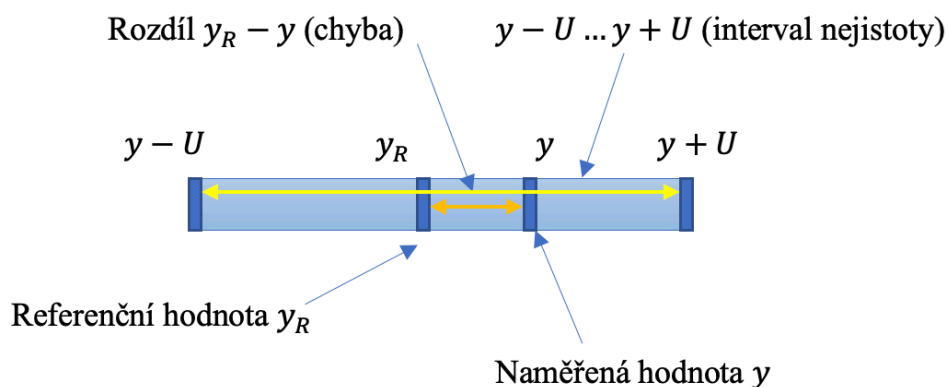
2.10 Validace

2.10.1 Validace metod

Musí být stanovena specifická kritéria, která musí být splněna při následujících rutinních měřeních. Výkonnostní charakteristika metody musí obsahovat pojednání o selektivitě, pracovním rozsahu a linearitě, mezi detekce, opakovatelnosti, robustnosti a nejistotě měření. Zmíněné charakteristiky jsou vzájemně propojeny a většina z nich je součástí určení hodnoty nejistoty měření. Cílem je identifikace všech faktorů, které by mohli rutinní měření ovlivňovat [25].

2.10.2 Nejistoty

Základem pro použití nejistoty je kvantitativní odhad velikosti nejistoty podle platné metody pro všechna měření a detailní pochopení sledované veličiny. Nejistota může být interpretována jako rozptyl měření, jejímž parametrem je směrodatná odchylka nebo interval spolehlivosti. Je důležité dbát na rozdíl mezi chybou a nejistotou, protože se nejedná o synonyma. Definice chyby je založená na rozdílu mezi výsledkem měření, a předpokládaným výsledkem měření. Chyba je diskrétní hodnota vztahující se pouze k jednomu danému měření. Oproti tomu nejistota je interval, který se vztahuje ke všem měřením dané metody a daného vzorku. Nejistotu je možné použít jako korekci výsledku měření [25,26].



Obrázek 14: Interpretace rozdílu mezi chybou a nejistotou

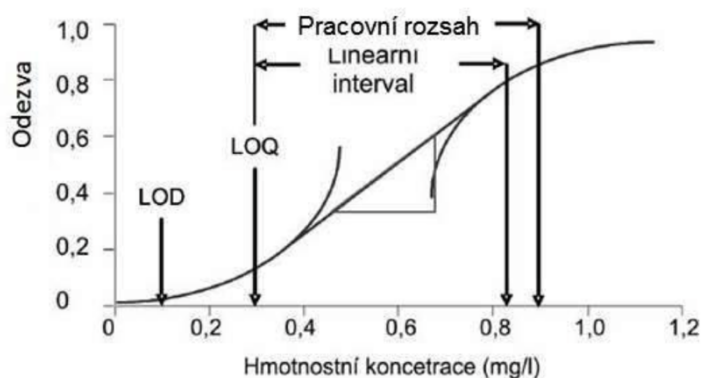
2.10.3 Parametry kvantitativního měření

Selektivita udává aplikovatelnost metody na různé typy vzorků, v nichž je nutné danou látku stanovit, bez ovlivnění jinými faktory. Selektivita se stanovuje v rozmezí od standardních vzorků po směsné matrice vzorku. Možné ovlivnění jinými látkami musí být uvedeno v dokumentu o metodě.

Rozsah metody je určen v koncentračním rozmezí, kdy lze dosáhnout přijatelné nejistoty měření. Vždy je nutné určit kalibrační funkci. Rozlišujeme dva rozsahy měření; rozsah metody a rozsah přístroje. Pracovní rozsah přístroje pro danou metodu nemusí být lineární, aby byla metoda účinná. Rozsah se musí stanovit pro každou látku ve vzorku [27].

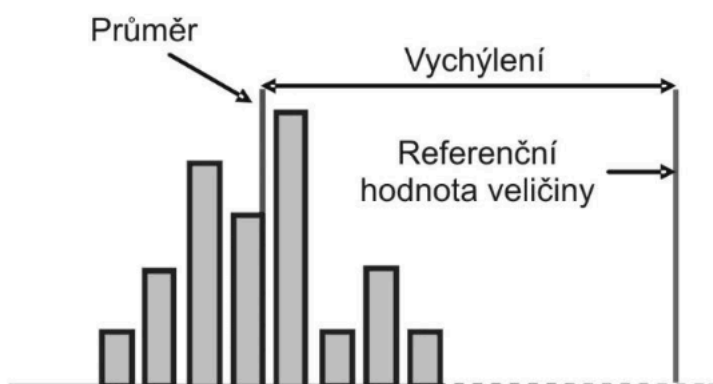
Mez detekce je parametr udávající nejmenší možnou koncentraci látky ve vzorku, kterou lze ještě spolehlivě určit.

Mez stanovitelnosti je parametr udávající nejmenší možnou koncentraci látky ve vzorku, kterou lze ještě určit s přijatelnou úrovní nejistoty. [28]



Obrázek 15: Grafický záznam závislosti odezvy na koncentraci se značením pracovního rozsahu, linearity, meze stanovitelnosti (LOQ) a meze detekce (LOD).

Pravdivost vyjadřuje schopnost měření dosáhnout výsledků blízko očekávané hodnoty. Pravdivost není veličina, není tedy možné je stanovit číselně. [26]



Obrázek 16: Interpretace pravdivosti výsledku

2.10.4 Kalibrace

Obvyklým pracovním postupem při stanovení kalibrace je sledování odezvy přístroje u standardního vzorku s přesně známou koncentrací v rozsahu měření. Za standardní roztok se považuje roztok chemikálie o definované čistotě a složení. Kalibrační programy se stanovují na základě požadavků dané analytické metody. Četnost užívání kalibrace závisí na stabilitě měřicího přístroje a míře nejistoty. Postup kalibrace musí být zdokumentován a součástí dokumentu týkajícího se dané metody. Účelem pravidelné kalibrace je hlídání hodnoty odchylky mezi referenční a stanovenou hodnotou, zamezení vzniku nepravdivých výsledků [29].

Mezi kalibrační metody řadíme jednobodovou kalibraci, kalibraci ohraničením a vícebodovou kalibraci.

Jednobodová kalibrace se provádí pomocí certifikovaného referenčního materiálu (CRM), kdy dochází ke změření odezvy CRM a odezvy vzorku, následně z vlastností CRM se vypočítá hodnota vlastností pro vzorek:

$$x_{vv} = x_{CRM} \cdot \frac{y_{vz}}{y_{CRM}}$$

x_{vz}, x_{CRM} hodnota vlastnosti vzorku a CRM

y_{vz}, y_{CRM} odezva vzorku a CRM

Tento typ kalibrace by měl být použit v situace, pokud vztah mezi hodnotou vlastnosti a odezvou je lineární a dán závislostí:

$$y = b_i \cdot x$$

b_i směrnice

y odezva

x hodnota vlastnosti

Ohraničení kalibrace je specifická použitím dvou CRM, kdy jeden má vyšší hodnotu vlastnosti a druhý nižší, než je hodnota stanovovaného vzorku. Určení hodnoty vlastnosti vzorku je založeno na aplikaci lineární interpolace:

$$x_{zv} = \frac{x_2 - x_1}{y_2 - y_1} \cdot (y_{vz} - y_1) + y_1$$

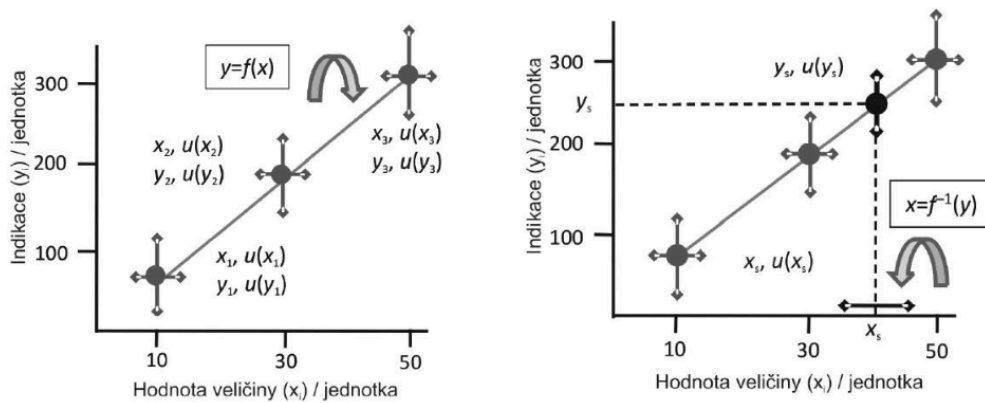
x_2, x_1 hodnoty vlastnosti CRM

y_2, y_1 odezvy CRM

x_{vz} hodnota vlastnosti vzorku

y_{vz} odezva vzorku

Vícebodová kalibrace je nepoužívanějším kalibračním typem. Prvním krokem při tvorbě kalibrace je pomocí několika naměřených hodnot odezvy CRM stanovit kalibrační závislost mezi odezvou a hodnotou vlastnosti. Tato závislost se proloží příslušnou regresí. Druhým krokem je aplikace kalibrace na reálný vzorek [28]. Pokud je jedna matrice použita ke stanovení kalibrační závislosti musí se pro validaci použít jiná matrice [29].

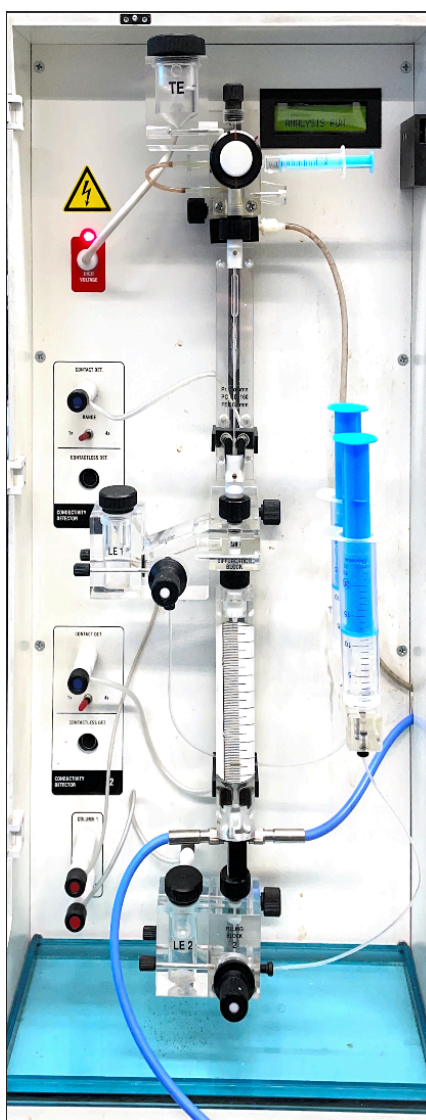


Obrázek 17: (vlevo) Indikace signálu s hodnotou veličiny dostaneme kalibrační závislost. Šipky definují hodnoty nejistot. (vpravo) Využití kalibrace při identifikaci signálu vzorku, který odpovídá dané hodnotě vlastnosti.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Přístroje a zařízení a laboratorní sklo

Navážky látek na přípravu použitých chemikálií byly váženy na analytických vahách. Reálné vzorky byly po odebrání uchovány v lednici. Obsah iontů byl stanoven pomocí ITP, koncentrace byly vyhodnoceny mocí kalibrační křivky, která byla sestavená řadou standardů s ohledem na obsah iontů ve vzorku a kapacitu separace kolony. Z důvodu kapacity kolony byly vzorky 20x ředěny. Následně byla koncentrace iontů ve vzorku ověřená pomocí alternativních metod analýzy, kterými by titrace, a gravimetrické stanovení. K titraci byly použity titrační baňky a poloautomatická byreta. Na gravimetrické stanovení bylo použito odměrné nádobí. Následně se vzorky sušily v sušárně při 105 °C a 130 °C a následně žíhaly v muflové peci při 800 °C.



Obrázek 18: ITP (VILLA Labeco)

3.2 Chemikálie

- AgNO_3 $0,05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$
 - $M = 169,87 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$; $V = 0,5 \text{ L}$; $m = 4,2467 \text{ g}$
- BaCl_2
 - $M = 208,23 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
- CRM – SO_4^{2-}
 - $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ – Na_2SO_4 ve vodě od firmy Merck
- CRM – Cl^-
 - $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ – NaCl od firmy HACH
- HCl $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$
 - $M = 36,458 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$; $\rho = 1,19 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ (36%); $V_1 = 51,0616 \text{ mL}$
- HNO_3 68 %
 - $M = 63,01 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$; $\rho = 1,15 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$
- Koncový elektrolyt: Vinan sodný
- K_2SO_4 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ – standard
 - $M = 174,259 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$; $M_{\text{SO}_4^{2-}} = 96,06 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$;
 $m_{\text{K}_2\text{SO}_4} = 1,8140 \text{ g}$; $V = 1 \text{ L}$
- $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$
 - $M = 294,185 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
- NaCl $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ – standard
 - $M = 58,44 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$; $M_{\text{SO}_4^{2-}} = 35,453 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$; $m_{\text{NaCl}} = 0,1644 \text{ g}$;
 $V = 1 \text{ L}$
- Vedoucí elektrolyt: β – alanin, $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2$

3.3 Stanovení síranů

3.3.1 Analytický postup gravimetrického stanovení

Pro stanovení obsahu síranu ve vzorku byla jako referenční metoda použita vážková analýza. Za tímto účelem byl objem 100 mL předloženého vzorku okyselen 2 mL HCl o koncentraci $c = 6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Přidána methylořanž jako indikátor, roztok přiveden k varu a ponechán 10 min probublávat. Po uplynutí uvedeného času byl roztok srážen 20 mL horkého BaCl_2 . Takto upravený roztok byl po dobu 2 h uchován při teplotě $50 \pm 10 \text{ }^\circ\text{C}$. Po uplynutí doby 2 h byl roztok převeden na filtrační papír a sraženina promývána velkým množstvím horké destilované vody, dokud zkouška na Cl^-

nevykazovala negativní výsledek. Dále byl vzorek na filtračním papíru převeden do předem vyžihaného a zváženého žihacího kelímku. Takto připravený vzorek byl sušen při teplotě 105 °C po dobu 30 min a následně žihán při 800 °C do konstantní hmotnosti (minimálně však 2 h).

Obsah síranů ve vzorku byl vypočten pomocí následujících vztahů, kde:

$$c_{\text{SO}_4^{2-}} = \frac{m_{\text{BaSO}_4} \cdot f_g \cdot 1000}{V_{\text{vz}}} \cdot 1000$$

$$f_g = \frac{M_{\text{SO}_4^{2-}}}{M_{\text{BaSO}_4}} \quad \text{gravimetrický faktor (bezrozměrná veličina); } f_g = \frac{96,06}{233,39} \doteq 0,4116$$

$c_{\text{SO}_4^{2-}}$ hmotnostní koncentrace v c [$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$]

V_{vz} objem vzorku použitého k analýze v ml

$M_{\text{SO}_4^{2-}}$ molární hmotnost SO_4^{2-} 96,06 $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$

M_{BaSO_4} molární hmotnost BaSO_4 233,39 $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$

1000 přepočít na 1 L vzorku

1000 přepočít z $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ na $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

Výpočet obsahu síranů ve vzorku:

$$c_{\text{SO}_4^{2-}} = \frac{m_{\text{BaSO}_4} \cdot f_g \cdot 1000}{V_{\text{vz}}} \cdot 1000$$

$$c_{\text{SO}_4^{2-}} = \frac{0,2518 \cdot 0,4116 \cdot 1000}{100} \cdot 1000$$

$$c_{\text{SO}_4^{2-}} = 1036 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$

3.3.2 Kvetové testy

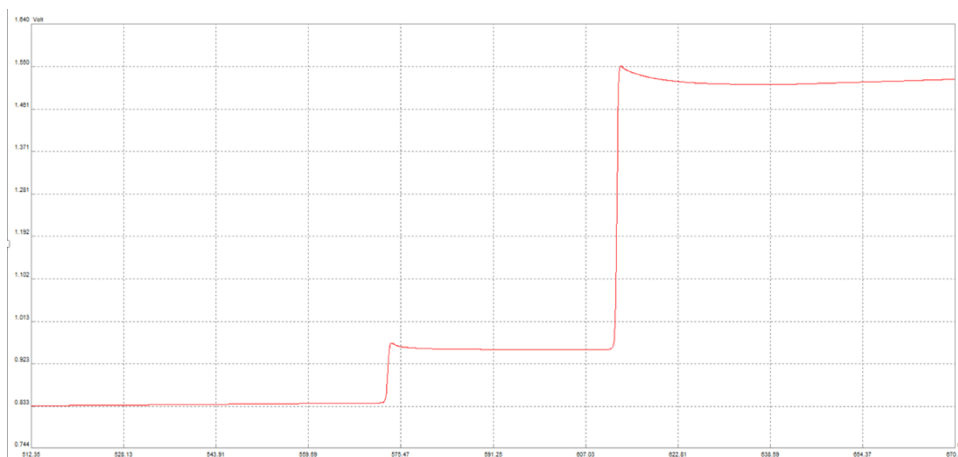
Před prvním měřením musí být stanovená hodnota slepého pokusu. Do ampulky bylo nadávkováno 2 ml vzorku, který je nutné z důvodu vysokého obsahu iontů 2x ředit. Pokud se hodnota slepého pokusu nachází pod hodnotou 150 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, není nutné jeho obsah odečítat od výsledné hodnoty měření. Do ampule bylo nadávkováno 2 ml vzorku, přidána jedna lopatka činidla, víčko bylo uzavřeno a po dobu 30 sekund byla ampule promíchávána. Po dalších 30 sekund bylo nutné nechat ampule reagovat. Po dosažení stanoveného času došlo k otření ampule, vložení do spektrofotometru, který na základě QR kódu načtl potřebnou metodu. Byla změřena absorbance a na základě předem stanovené kalibrace od dodavatele, vyhodnocení obsah látky.

3.3.3 Izotachoforéza

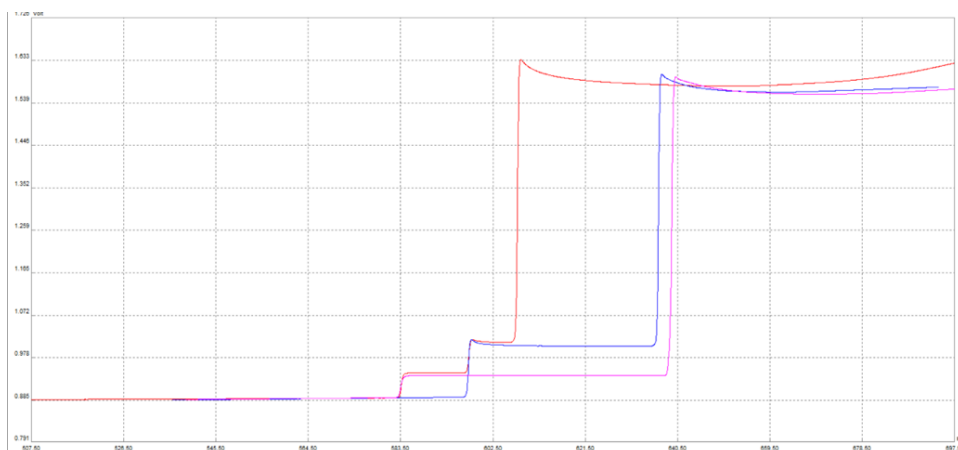
Po zapnutí ITP byly vytemperovanými elektrolyty naplněny elektrodové nádoby a proštěna kolona. Při prvním měření byl do kolony pomocí dávkovacího kohoutu nadávkován koncový elektrolyt a změřeno rozhraní. Po měření byla kolona opět propláchnuta. Při měření vzorku bylo postupováno stejně jako při měření rozhraní. Koncentrace iontů byly stanoveny na základě kalibrační závislosti.

- Určení polohy síranů

Při izotachoforetické detekci je nutné kvalitativní určení polohy neboli výšky zóny sledovaného iontu, která je pro iont v daném systému typická. Byl připraven modelový vzorek s obsahem síranového iontu, tento vzorek byl proměřen a zaznamenán izotachoforegram (viz obrázek 19). Záznam obsahoval pouze zónu síranů, neobsahoval žádnou směšnou zónu, či nečistoty. Tento modelový záznam byl následně použit pro zjištění polohy síranů v modelovém směsném i reálném vzorku postupem zaznamenaným na obrázku 20.



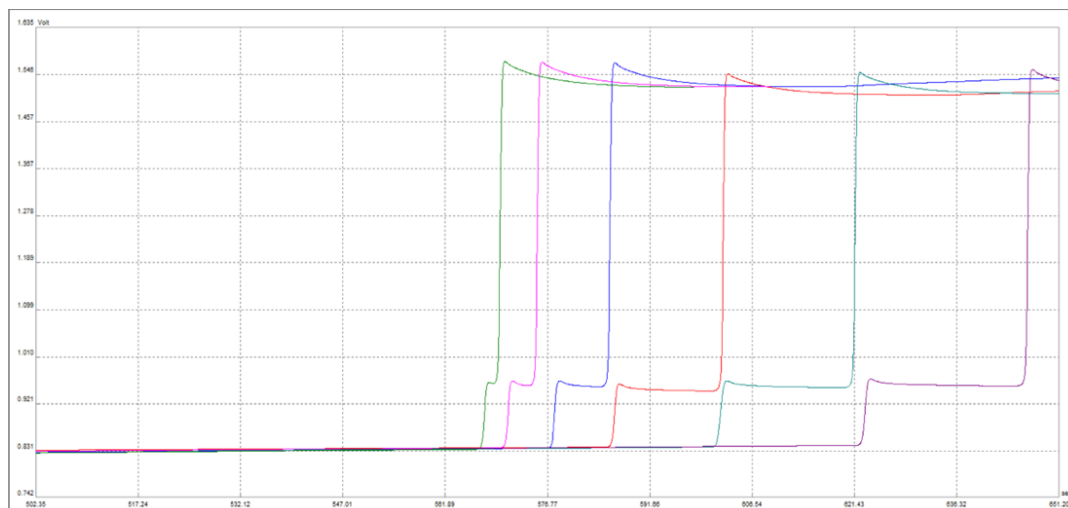
Obrázek 19: Určení polohy síranové aniontu.



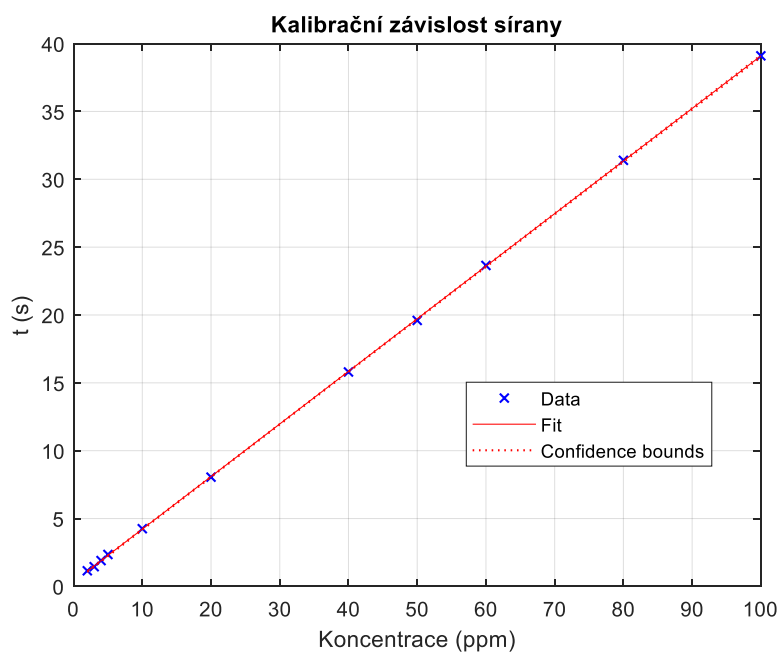
Obrázek 20: Určení polohy chloridů a síranů v reálném vzorku. Červená – záznam vzorku. Modrá – poloha síranu, růžová – poloha chloridu.

- Kalibrační závislost síranů

Obrázek 21 představuje izotachoforegramy koncentrací modelových vzorků. Naměřená data koncentrací zaznamenaná v tabulce 5 byla použita pro sestavení kalibrace uvedené na obrázku 22. Délka zóny odpovídá kvantitativnímu zastoupení iontu ve vzorku. Ze záznamu je patrné prodlužování délky zóny v závislosti na zvyšujícím se koncentraci sledovaného iontu.



Obrázek 21: Izotachoforegramy zaznamenané při tvorbě kalibrační řady síranů. Zelená ($5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), růžová ($10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), modrá ($20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), červená ($40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), tyrkysová ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) fialová ($60 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).



Obrázek 22: Kalibrační křivka pro stanovení síranů metodou ITP.

Tabulka 5: Hodnoty pro tvorbu kalibrační křivky síranů.

c [mg · L ⁻¹]	l [s] Délka zóny
100	39.1
80	31.4
60	23.65
50	19.6
40	15.8
20	8.05
10	4.25
5	2.35
4	1.9
3	1.45
2	1.15

Tabulka 6: Parametry kalibračního modelu stanovení síranů metodou ITP

Parametr	Odhad	95% ISD	95% ISH	p
Úsek	0.3411	0.2808	0.4015	$4.4837 \cdot 10^{-7}$
Směrnice	0.3876	0.3863	0.3888	$1.4816 \cdot 10^{-22}$

Koeficient determinace $R^2 = 1.00$; ISD, ISH dolní, resp. horní interval spolehlivosti odhadu parametru, p vypočtená hodnota pravděpodobnosti

Vzorový výpočet koncentrace iontů pomocí kalibrační křivky:

$$l = 11,95 \text{ s}$$

$$y = 0,3876 \cdot x + 0,3411$$

$$x = \frac{11,95 - 0,3411}{0,3876}$$

$$y = 29,95 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$

l, y délka zóny v [s]

x koncentrace [mg · L⁻¹]

3.3.4 Analýza modelových vzorků

Každá z analytických metod byla použita pro analýzu modelových vzorků. Pro metodu ITP a gravimetrickou metodu byl analyzován standard o koncentraci 1000 mg · L⁻¹. Výsledky této analýzy jsou uvedeny v tabulce 7, hodnoty průměrů a intervalu spolehlivosti byly vyčísleny s využitím Hornova postupu pro analýzu malých výběrů [30] a jsou pro obě metody shrnuty v tabulce 7.

V případě KIT, ITP byl analyzován roztok síranů o koncentraci 500 mg · L⁻¹ ve 3 opakováních. Výsledky stanovení síranů v modelovém roztoku uvedeno

metodou a vybrané charakteristiky těchto dat shrnuje tabulka 8. Z výsledků je jasné patrné, že metoda ITP poskytla lepší hodnoty opakovatelnosti a zároveň její výsledky byly v lepší shodě s předpokládanými koncentracemi odpovídajícího modelového vzorku.

Tabulka 7: Výsledky stanovení standardu o koncentraci 1000 ppm SO₄²⁻ metodou GRAV a ITP

	GRAV	ITP
	962	1040
	1052	1015
	1024	1029
	997	1038
	1035	1026
Průměr	1014	1030
SD	35	10
Nejistota	1007 ± 90	1027 ± 25
IS	818–1196	975–1079
Medián	1024	1029
X_{0.25}	1011	1028
X_{0.75}	1044	1039
RSD (%)	3.48	0.98
R (%)	101	103

R návratnost vyjadřující těsnost shody mezi nalezenou a předpokládanou hodnotou, RSD, relativní směrodatná odchylka v %.

Tabulka 8: Výsledky stanovení standardu síranů o koncentraci 500 ppm SO₄²⁻ metodou KIT, KIT KOR a ITP

	KIT	ITP
	416	493
	403	494
	383	489
Průměr	401	492
SD	17	3
Nejistota	400 ± 33	491 ± 5
IS	382–419	489–495
Medián	403	493
RSD (%)	4.15	0.59
R (%)	80.1	98.4

R návratnost vyjadřující těsnost shody mezi nalezenou a předpokládanou hodnotou, RSD, relativní směrodatná odchylka v %.

Postup výpočtu pro Hornův postup a metodu gravimetrie je následující:

Vyčíslení hloubky pivotu:

$$H = \text{int} \frac{(5 + 1)}{2}$$

$$H = 1,5 \sim 1$$

Určení horního a dolního pivotu:

$$x_D = x_{(H)}$$

$$x_D = 962$$

$$x_H = x_{n+1-H}$$

$$x_H = x_5$$

$$x_H = 1052$$

Výpočet pivotové polosumy:

$$P_L = \frac{x_D + x_H}{2}$$

$$P_L = \frac{962 + 1052}{2}$$

$$P_L = 1007$$

Výpočet pivotového rozpětí:

$$R_L = x_H - x_D$$

$$R_L = 1052 - 962$$

$$R_L = 90$$

Výpočet oboustranného 95 % intervalu spolehlivosti:

$$1007 - 90 \cdot 2,094 \leq \mu \leq 1007 + 90 \cdot 2,094$$

$$\mathbf{819 \leq \mu \leq 1196}$$

Pivotová polosuma charakterizuje střední hodnotu výběrů, pivotové rozpětí míru rozptýlení. Tyto parametry společně s hodnotami dolní a horní meze intervalu spolehlivosti jsou uvedeny v tabulce x.

Návratnost:

$$R = \frac{1007}{1000} \cdot 100$$

$$R = 101 \%$$

Relativní směrodatná odchylka:

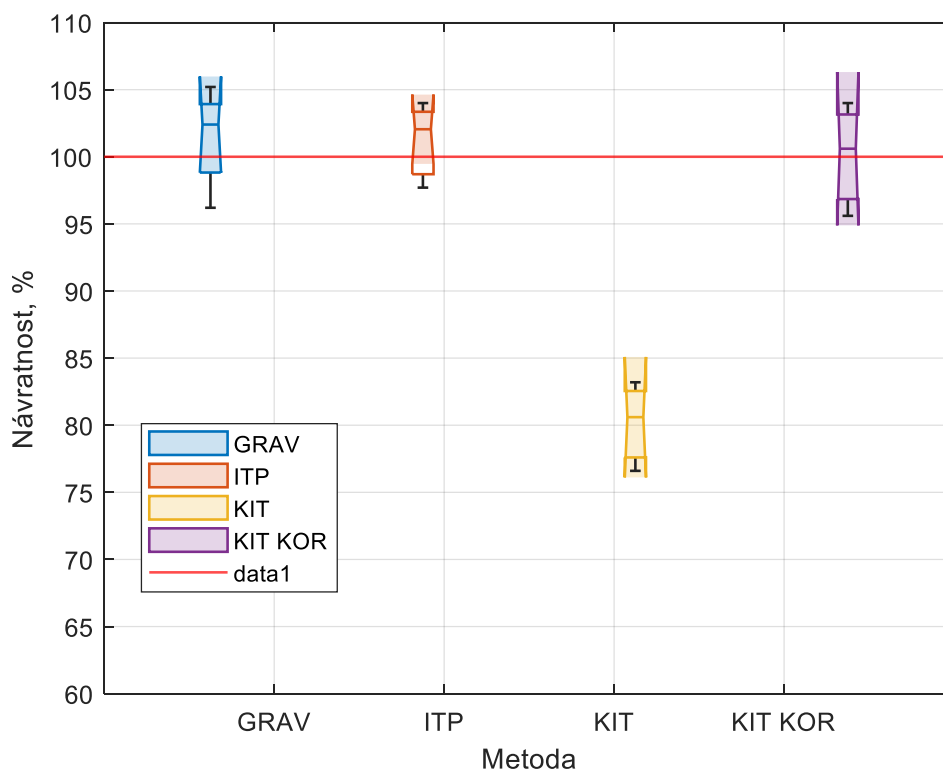
$$\text{RSD} = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100$$
$$\text{RSD} = \frac{35,27}{1014} \cdot 100$$
$$\text{RSD} = 3,48 \%$$

Nejistota:

$$P_L \pm R_L$$
$$1007 \pm 90 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$

Z uvedené tabulky je patrné, že obě metody poskytují pro stanovení síranu v dané koncentraci (1000 ppm) správné výsledky, jelikož předpokládaná hodnota se v obou případech nalézá v intervalu spolehlivosti vyčísleném pro každou z metod. Obě z metod dosáhly srovnatelných výsledků, nicméně pro metodu ITP bylo dosaženo výrazně lepší opakovatelnosti výsledků.

Míru shody mezi nalezenými a očekávanými koncentracemi stanovení síranů v modelových vzorcích, vyjádřené ve formě analytických návratností (R, %) shrnuje pro jednotlivé metody obrázek 23.



Obrázek 23: Krabicový graf analytických návratností stanovení síranů v modelových vzorcích o koncentraci 500 a 1000 ppm pomocí vybraných metod.

3.3.5 Analýza reálných vzorků

Každá z výše uvedených metod byla aplikována pro stanovení síranů v celkovém počtu 23 reálných vzorků odpadních vod. Výsledky stanovení metodou vážkové analýzy, ITP, pomocí KIT a výsledek KIT s korekčním faktorem jsou uvedeny v tabulce 9.

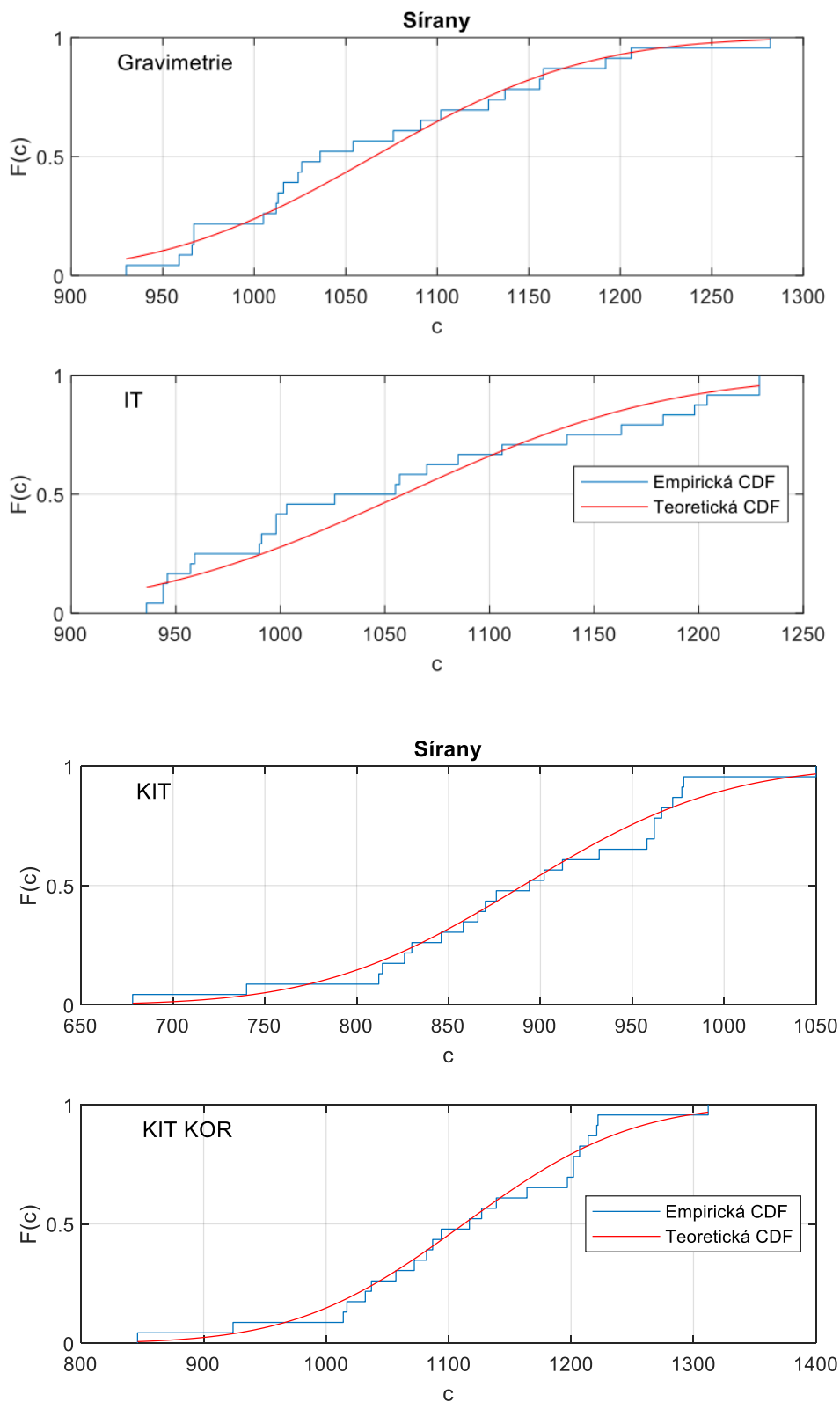
Tabulka 9: Srovnání výsledků stanovení síranů (mg L^{-1}) metodou vážkové analýzy, ITP a KIT, resp. korig. KIT pro reálné vzorky odpadních vod ($n = 23$)

Pořadí	KIT	KIT korekce	Gravimetrie	ITP
1	978	1222	1282	1229
2	740	924	1036	998
3	678	846	966	936
4	812	1014	1016	1026
5	894	1117	1054	1055
6	977	1221	1206	1183
7	962	1202	1137	1085
8	966	1207	1156	1163
9	876	1094	1192	1198
10	932	1164	1158	1137
11	972	1214	1128	1204
12	902	1127	959	944
13	912	1139	1013	990
14	846	1057	930	944
15	858	1072	1091	1057
16	826	1032	1026	1003
17	830	1037	1024	957
18	1050	1312	1076	1106
19	814	1017	1012	959
20	870	1087	967	946
21	866	1082	1005	991
22	958	1197	1102	1070
23	962	1202	967	998

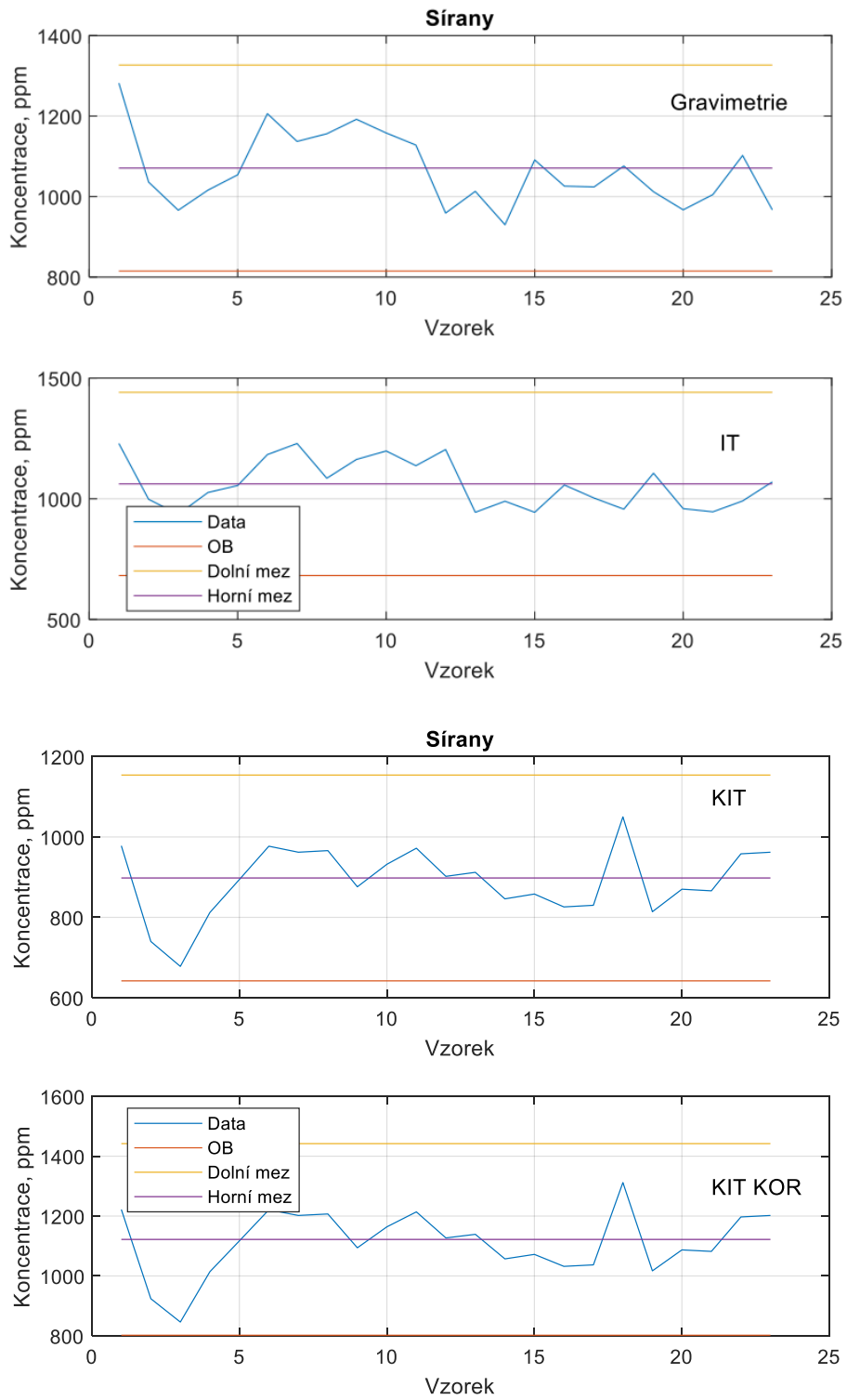
Slepá stanovení u KIT: $56,7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; Korekční faktor pro KIT: **1,25**

3.3.5.1 Ověření základních předpokladů o výběru dat

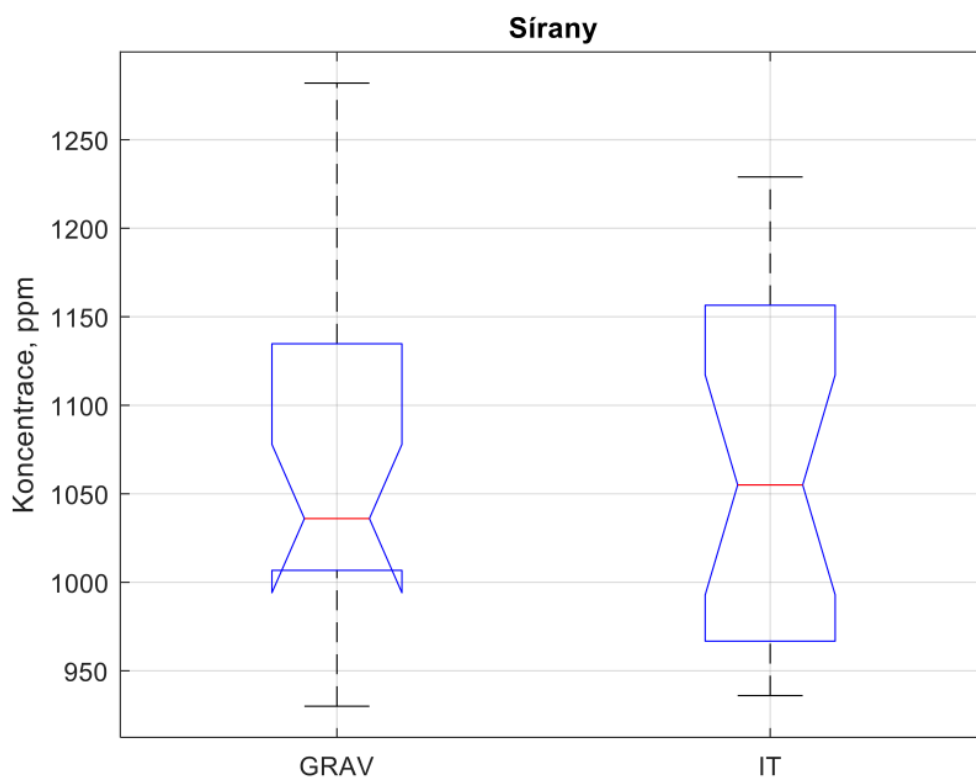
Aby bylo možné určit jaké parametry míry polohy a rozptýlení je vhodné použít pro charakterizaci jednotlivých výběrů, bylo zapotřebí ověřit základní předpoklady o datech. V daném případě se jedná o ověření splnění předpokladu normality a homogenity. Za tímto účelem byly použity vybrané grafické diagnostiky. Z obrázku 24 je patrné, že experimentální data (modrá křivka) získaná s využitím jednotlivých metod vyhovují teoretickému rozdělení (červená), tj. v daném případě normálnímu rozdělení.



Obrázek 24: Srovnání experimentálního a normálního (Gaussova) rozdělení výsledků stanovení síranů metodami GRAV, IT, KIT, resp. KIT KOR



Obrázek 25: Střední hodnoty, resp. dolní a horní meze IS pro stanovení síranů vybranými metodami.



Obrázek 26: Krabicový graf pro stanovení síranů metodou GRAV a IT.

Z obrázku 25 je patrné, že data neobsahují tzv. odlehlé body. Z krabicových diagramu je zřejmé, že výsledky stanovení gravimetrickou metodou dosahují významně větší variability oproti ITP.

3.3.5.2 Základní statistické charakteristiky výběrů analyzovaných vzorků

Výsledky koncentrace stanovení síranů v reálných vzorcích odpadních vod shrnuje tabulka 10. Uvedeny jsou zde průměrné hodnoty, nejistoty výsledků, interval spolehlivosti i vybrané kvantilové míry, jako medián, dolní a horní kvartil. Je zřejmé, že výsledky stanovené metodami KIT KOR, ITP a GRAV poskytly podobné výsledky, hodnoty získané metodou KIT bez korekce byly významně nižší.

Tabulka 10: Statistické vyhodnocení výsledků gravimetrie, KIT, ITP, KIT s korekčním faktorem pro reálné vzorky odpadní vody.

Metoda	Průměr	SD	IS	$x_{0.25}$	$x_{0.5}$	$x_{0.75}$	RSD (%)
GRAV	1065	92	1028–1103	1007	1036	1135	8.62
KIT	891	86	855–926	834	894	962	9.63
KIT KOR	1112	107	1069–1156	1042	1117	1202	9.65
ITP	1051	95	1012–1090	967	1026	1129	9.05

3.3.5.3 Ověření pravdivosti stanovení

Pro ověření správnosti navržené ITP metody byly zvoleny 2 přístupy. Prvním bylo použití Studentova t-testu pro data získaná z výsledků navržené a referenční, tj. gravimetrické metody. Jelikož data splňovala základní předpoklady, jsme oprávněni tento přístup použít. Studentův t-test byl tedy realizován pro data uvedená v tabulce 9, jedná se o výsledky stanovení síranů ve 23 vzorcích reálných odpadních vod.

Výpočet uvedeného testu byl proveden následujícím způsobem. Ve stručnosti jeho princip zahrnuje definici nulové a alternativní hypotézy o shodě či rozdílu středních hodnot, výpočtu testového kritéria a kritické hodnoty a jejich srovnání.

Definice nulové a alternativní hypotézy:

$$H_0: \mu_x = \mu_y$$

$$H_1: \mu_x \neq \mu_y$$

Výpočet testačního kritéria:

$$t = \frac{|\bar{x} - \bar{y}|}{\sqrt{n_1 s_x^2 + n_2 s_y^2}} \sqrt{\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 - 2)}{n_1 + n_2}}$$

$$t = \frac{|1065 - 1051|}{\sqrt{23 \cdot 91,82^2 + 23 \cdot 95,10^2}} \sqrt{\frac{23 \cdot 23(23 + 23 - 2)}{23 + 23}}$$

$$t = 0,499$$

$$t \leq t_{0,975}(n_1 + n_2 - 2)$$

$$t \leq t_{0,975}(23 + 23 - 2)$$

$$t \leq t_{0,975}(44)$$

$$\mathbf{0,499 < 2,015}$$

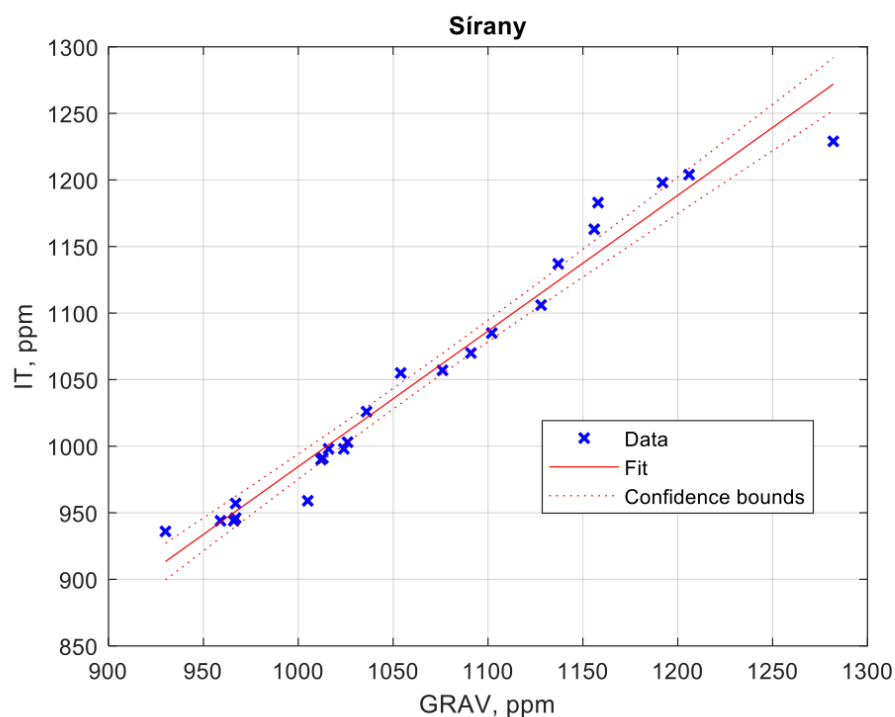
Jelikož byla hodnota testového kritéria menší než hodnota kritická, můžeme na hladině významnosti 0,05 přijmout nulovou hypotézu o shodě středních hodnot obou výběrů a tedy říci, že obě metody poskytují shodné výsledky. Výsledky navržené metody ITP se tedy významně neliší od výsledků referenční metody.

Druhým z přístupů použitým pro validaci navržené analytické metody byla aplikace lineární regrese pro data získaná referenční a navrženou metodou. Výsledky parametrů získaného regresního modelu shrnuje tabulka 11. Grafické znázornění pak reprezentuje obrázek 27. Z výsledků uvedených v tabulce 11 je patrné, že interval spolehlivosti úseku zahrnuje nulu a interval spolehlivosti směrnice číslo 1. Obě metody tedy poskytují na hladině významnosti 0,05 shodné výsledky.

Tabulka 11: Parametry regresního modelu srovnání výsledků stanovení síranů referenční metodou GRAV a navrženou ITP

	Odhad	95% ISD	95% ISH	p
Úsek	-34	-125	57	0.4434
Směrnice	1.019	0.934	1.1035	0

Koeficient determinace $R^2 = 0.966$; ISD, ISH dolní, resp. horní interval spolehlivosti odhadu parametru, p vypočtená hodnota pravděpodobnosti



Obrázek 27: Lineární regresní model srovnání metod GRAV a TIT pro stanovení SO_4^{2-} v reálných vzorcích odpadních vod.

3.4 Stanovení chloridů

3.4.1 Analytický postup titračního stanovení

Do titrační baňky bylo odměřeno 100 mL vzorku, byl přidán indikátor a za stálého míchání byl takto připravený vzorek titrován odměrným roztokem AgNO_3 až do vzniku červenohnědé sraženiny. Je nutné provádět slepé stanovení na destilovanou vodu, při kterém je stejný postup stanovení obsahu iontů jako v předloženém vzorku [20].

$$\rho_{\text{Cl}^-} = \frac{f_{\text{zř}} \cdot c_{\text{AgNO}_3} \cdot (V_{\text{t}} - V_{\text{sl.p.}}) \cdot 1000}{V_{\text{vz}}} \cdot M_{\text{Cl}^-}$$

$$\rho_{\text{Cl}^-} = c_{\text{Cl}^-} \cdot M_{\text{Cl}^-}$$

ρ_{Cl^-}	hmotnostní koncentrace v $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
c_{Cl^-}	molární koncentrace v $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$
$f_{\text{zř}}$	faktor zředění (bezrozměrná veličina)
c_{AgNO_3}	koncentrace odměrného roztoku v $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
V_{t}	spotřeba odměrného roztoku při titraci vzorku v mL
$V_{\text{sl.p.}}$	spotřeba odměrného roztoku pro titraci slepého pokusu v mL
V_{vz}	objem vzorku použitého k analýze v mL
M_{Cl^-}	molární hmotnost Cl^- $35,453 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$
1000	přepočet na 1 L

Vzorový výpočet koncentrace chloridů ve vzorku:

$$\rho_{\text{Cl}^-} = \frac{f_{\text{zř}} \cdot c_{\text{AgNO}_3} \cdot (V_{\text{t}} - V_{\text{sl.p.}}) \cdot 1000}{V_{\text{vz}}} \cdot M_{\text{Cl}^-}$$

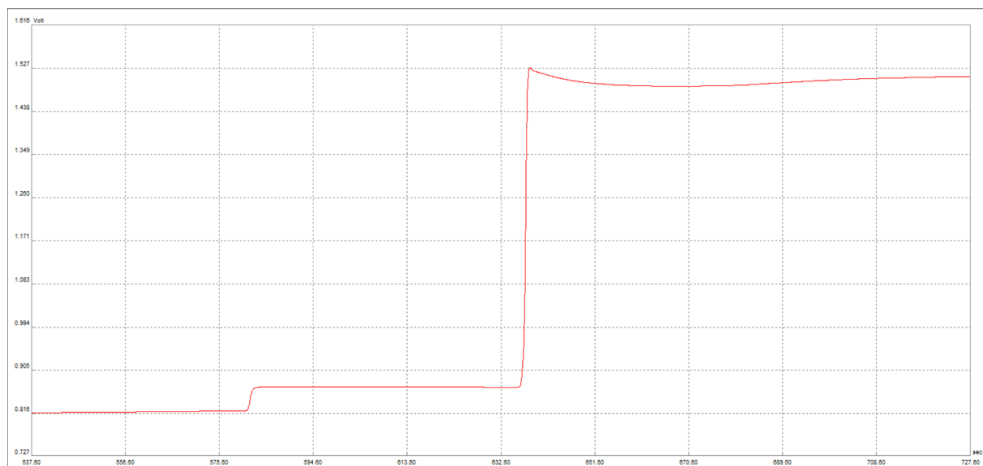
$$\rho_{\text{Cl}^-} = \frac{\frac{100}{50} \cdot 0,05 \cdot (4,2 - 0,2) \cdot 1000}{100} \cdot 35,453$$

$$\rho_{\text{Cl}^-} = 140 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$

3.4.2 Izotachoforéza

- Určení polohy chloridů

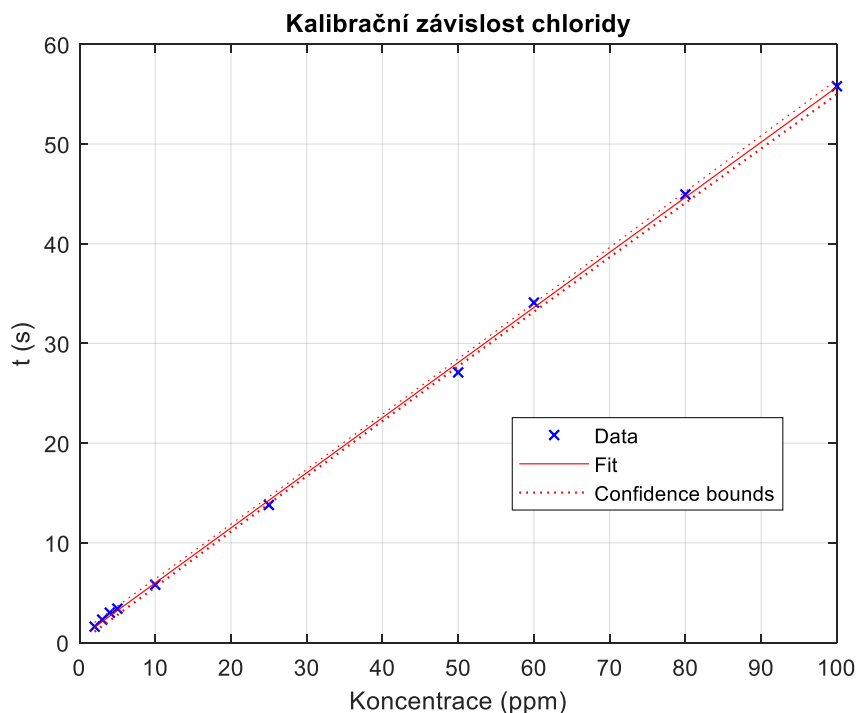
Z hlediska kvalitativního určení polohy zóny chloridů, byl připraven roztok s obsahem iontu následně proměřen a zaznamenán izotachoforegram. Na obrázku 28 je zaznamenána poloha zóny typická pro daný systém. Záznam byl dále využit pro určení polohy chloridu v směsném modelovém i reálném vzorku, který můžeme vidět na obrázku 20.



Obrázek 28: Poloha chloridového aniontu

- Kalibrační křivka chloridů

Na základě sady modelových vzorků, jejichž koncentrace jsou zaznamenány v tabulce 12, byla sestavena kalibrace. Interpretace kalibrační závislosti chloridů metodou ITP je uvedena na obrázku 29.



Obrázek 29: Kalibrační křivka pro stanovení chloridů metodou ITP.

Tabulka 12: Hodnoty pro kalibrační křivky chloridů.

c [$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$]	l [s] Délka zóny
100	55.8
80	44.95
60	34.1
50	27.1
25	13.8
10	5.8
5	3.4
4	3.0
3	2.3
2	1.6

Tabulka 13: Parametry kalibračního modelu stanovení chloridů metodou ITP.

Parametr	Odhad	95% ISD	95% ISH	p
Úsek	0.44627	-0.0308	0.9234	0.063085*
Směrnice	0.55276	0.5429	0.5627	$1.4665 \cdot 10^{-14}$

Koeficient determinace $R^2 = 0.999$; ISD, ISH dolní, resp. horní interval spolehlivosti odhadu parametru, p vypočtená hodnota pravděpodobnosti, * úsek byl na hladině významnosti 0.05 shledán jako statisticky nevýznamný

Vzorový výpočet koncentrace iontů pomocí kalibrační křivky

$$l = 14,45 \text{ s}$$

$$y = 0,5528 \cdot x + 4463$$

$$x = \frac{14,45 - 0,4463}{0,5528}$$

$$y = 25,34 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$$

l, y délka zóny [s]

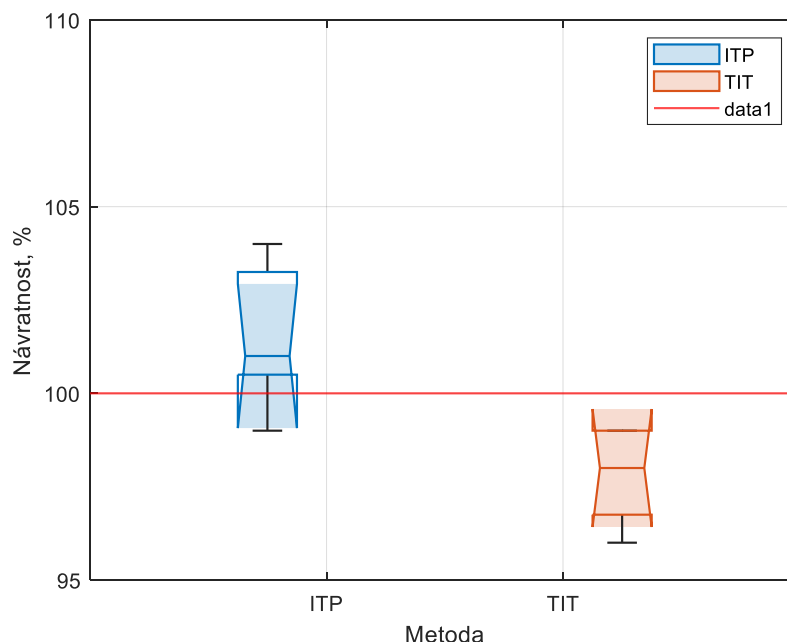
x výsledná koncentrace [$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$]

3.4.3 Analýza modelových vzorků

Oběma metodami (titrace a ITP) byla testována sada modelových vzorků o definované koncentraci $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Výsledky této analýzy jsou uvedeny v tabulce 14, spolu s výsledky průměrů a intervalů spolehlivosti s využitím Hornova postupu analýzy malých výběrů. Byla posuzována také směrodatná odchylka vyčíslená na základě opakovaného měření standardu, střední hodnota a hodnota horního a dolního kvartilu.

Tabulka 14: Výsledky stanovení standardu o koncentraci 100 ppm Cl^{-1} metodou TIT a ITP

	Titrace	ITP
	96	103
	97	101
	99	99
	99	104
	98	101
Průměr	97.8	101.6
SD	1.30	1.95
IS	96,6–98.9	99.9–103.3
Medián	98	101
RSD (%)	1.33	1.92
X_{0.25}	96.5	100
X_{0.75}	98.5	103.5
R (%)	97.8	101.6



Obrázek 30: Krabicový graf analytických návratností stanovení chloridů o koncentraci 100 ppm v modelovém roztoku metodami ITP a TIT

3.4.4 Analýza reálných vzorků

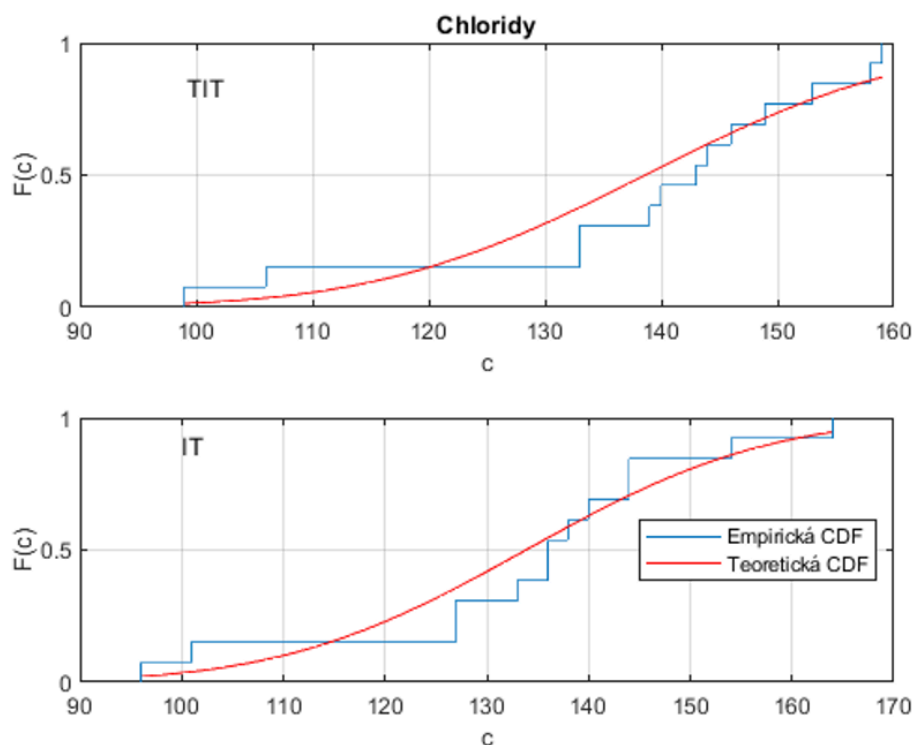
Obě metody byly aplikovány pro stanovení chloridů v celkovém počtu 13 reálných vzorků odpadních vod. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce 15. Na základě ověření základní předpokladů o výběru dat v kapitole 3.4.4.1, bylo pro další statistické vyhodnocování použito pouze 11 reálných vzorků, z důvodu výskytu odlehlých bodů*, které můžeme vidět na obrázku 32 a 33.

Tabulka 15: Srovnání výsledků stanovení chloridů (mg L^{-1}) ITP a titrační metodu pro reálné vzorky odpadních vod ($n = 13$).

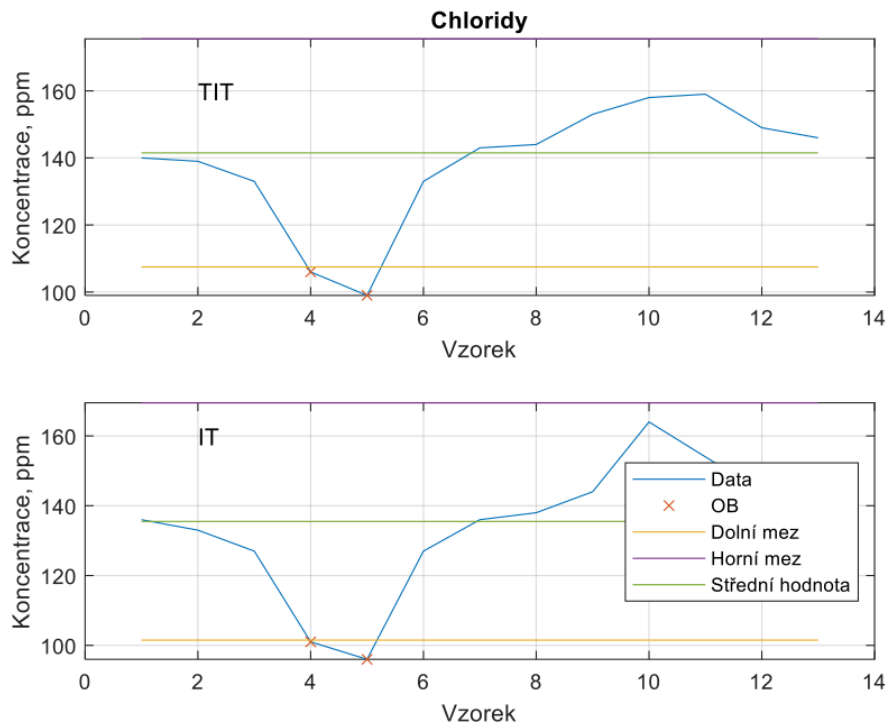
Titrace	ITP
140	136
139	133
133	127
106*	101*
99*	96*
133	127
143	136
144	138
153	144
158	164
159	154
149	144
146	140

3.4.4.1 Ověření základní předpokladů o výběru dat

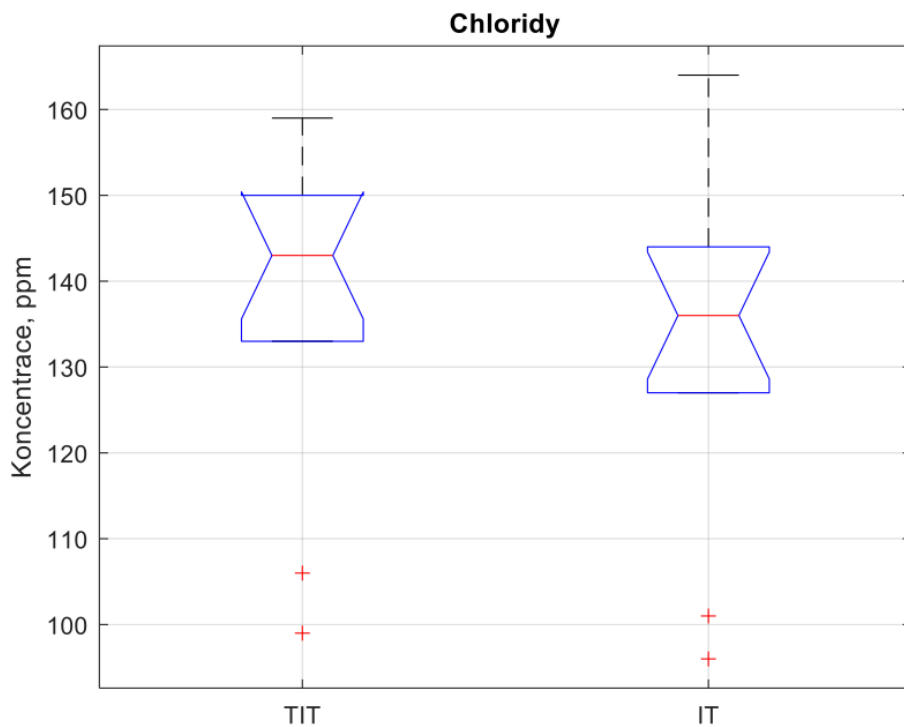
Před samotným bylo zapotřebí ověřit splnění předpokladu normality a homogenity pomocí vybrané grafické diagnostiky. Z obrázku 32 je patrné, že experimentální data (modrá křivka) vyhovují teoretickému rozdělení (červená křivka), jedná se tedy o normální rozdělení.



Obrázek 31: Srovnání experimentálního a normálního (Gaussova) rozdělení výsledků stanovení chloridů metodami TIT a IT



Obrázek 32: Střední hodnoty, resp. dolní a horní meze IS pro stanovení chloridů metodami TIT a IT.



Obrázek 33: Krabicový graf koncentrace chloridů v reálných vzorcích stanovených metodami TIT a IT.

+ odlehlé body – může se jednat o chybná měření, ale i výjimečné vzorky.

3.4.4.2 Základní statistické charakteristiky výběrů analyzovaných vzorků

Pro výsledky analýzy reálných vzorků odpadní vody byly vyčísleny hodnoty průměrů, intervalu spolehlivosti (IS) s využitím předpokladu Studentova rozdělení. K dispozici jsou též údaje robustních parametrů, konkrétně mediánu a dolního, resp. horního kvartilu. Tato data jsou uvedena v tabulce 16.

Tabulka 16: Základní statistické parametry n=11

Metoda	Průměr	SD	IS	x _{0.25}	x _{0.5}	x _{0.75}	RSD (%)
TIT	145	8,94	140–150	139,5	144	155,5	6.15
ITP	140	11,07	134–147	134,5	138	149	7.89

3.4.4.3 Ověření pravdivosti stanovení

Při ověření správnosti metody ITP byly zvoleny 2 přístupy. Prvním přístupem byl Studentův t-test, který byl proveden pro 11 vzorků chloridů (bez OB) metodou ITP a referenční titrační metodou. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 15.

Hodnota testového kritéria byla provedena podle následujícího výpočtu a následně byla srovnána s hodnotou kritickou.

Definice nulové a alternativní hypotézy:

$$H_0: \mu_x = \mu_y$$

$$H_1: \mu_x \neq \mu_y$$

Výpočet testačního kritéria:

$$t = \frac{|\bar{x} - \bar{y}|}{\sqrt{n_1 s_x^2 + n_2 s_y^2}} \sqrt{\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 - 2)}{n_1 + n_2}}$$
$$t = \frac{|145 - 140|}{\sqrt{11 \cdot 8,94^2 + 11 \cdot 11,07^2}} \sqrt{\frac{11 \cdot 11 (11 + 11 - 2)}{11 + 11}}$$

$$t = 1,091$$

$$t \leq t_{0,975}(n_1 + n_2 - 2)$$

$$t \leq t_{0,975}(11 + 11 - 2)$$

$$t \leq t_{0,975}(20)$$

$$1,091 < 2,086$$

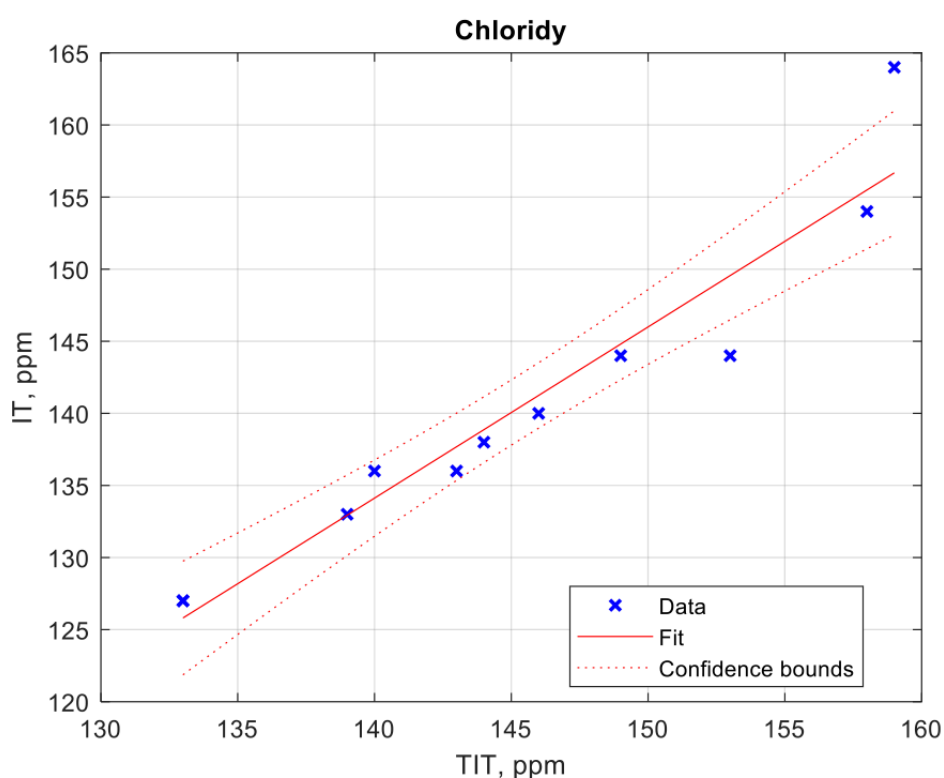
Na hladině významnosti 0,05 byla nulová hypotéza $H_0: \mu_x = \mu_y$ přijata. Obě metody poskytují shodné výsledky. Výsledky navržené metody ITP se tedy významně neliší od výsledků referenční metody.

Druhým přístupem pro ověření metody ITP byla aplikace lineární regrese pro data získaná referenční titrační metodou a ITP. V tabulce 17 jsou uvedeny parametry lineární regrese stanovení chloridů. Data potvrzují shodnost výsledků referenční i navržené metody. Grafické znázornění pak reprezentuje obrázek 34.

Tabulka 17: Parametry modelu lineární regrese srovnání metod ITP a TIT pro stanovení chloridů.

Parametr	Odhad	95% ISD	95% ISH	p
Úsek	-32.11	-71	6,4	0.0922
Směrnice	1.1874	0.9223	1.4525	$3.21 \cdot 10^{-6}$

Koeficient determinace $R^2 = 0.919$; ISD, ISH dolní, resp. horní interval spolehlivosti odhadu parametru, p vypočtená hodnota pravděpodobnosti



Obrázek 34: Lineární regresní model srovnání metod IT a TIT pro stanovení Cl^- v reálných vzorcích odpadních vod.

3.5 Mez detekce a stanovitelnosti

Reálné vzorky odpadní vody obsahují v průměru okolo $100\text{-}150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ chloridů a $800\text{-}1300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ síranů. Na obrázku 20 můžeme vidět stanovení iontů při jednom měření. Vzorky je nutné z důvodu kapacity kolony a délky měření ředit. Znat limitní hodnoty koncentrací, které je přístroj schopen s určitou přesností změřit, je důležité z důvodu případné úpravy ředění. Výsledky pro limitní koncentrace jsou uvedeny v tabulce 18.

$$x_L = x_{bi} + k \cdot s_{bi}$$

$$LOD = 3 \cdot x_L$$

$$LOQ = 10 \cdot x_L$$

x_{bi}	průměrná hodnota slepého stanovení
k	číselný faktor zvolený podle intervalu spolehlivosti
s_{bi}	směrodatná odchylka měření slepého pokusu
LOD	mez detekce
LOQ	mez stanovitelnosti

Tabulka 18: Data pro výpočet limitních koncentrací (LOD, LOQ), pro $n=8$

x_{bi}	k	s_{bi}	LOD [$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$]	LOQ [$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$]
0.2	0.996	0.15	1.0482	3.484

4 ZÁVĚR

Při výrobě buničiny sulfitovým způsobem, se do vody dostávají sírany, jejichž obsah je nutné sledovat při vypouštění odpadní vody do řeky, z důvodu dodržení stanovených limitů. Chloridy se do odpadní vody dostávají při procesu čištění odpadních vod v ČOV z chlornanu sodného. Cílem práce bylo se zaměřit na jejich stanovení pomocí instrumentální analytické metody – izotachoforézy (ITP), metodu validovat a ověřit výsledky použitím alternativních analytických metod. Pro stanovení síranů byly testovány kyvetové test (KIT) od firmy HACH, výsledky byly porovnány s ITP i gravimetrií.

Kontrola pravdivosti výsledků byla prováděna vždy pro stejný vzorek (modelový, reálný). Obsah síranů byl stanoven gravimetrickou metodou. Gravimetrická metoda je poměrně přesná, ale velice zdlouhavá metoda. Pracovní postup zabere cca 5-6 h, případně 2 dny. Pokud by bylo nutné měření opakovat, z důvodu nepříznivého výsledku, který není v korelaci s trendem výsledků nebo by se jednalo o překročení limitní koncentrace, práce by se protáhla na 4 dny. Což je pro použití v provozní laboratoři nevhodné, z důvodu potřeby relativně rychlého výsledku. Další alternativou při stanovení síranů, byla titrační metoda s využitím dusičnanu olovnatého. Ovšem použité této titrace bylo nevhodné, z důvodu podmínek pro titraci, na jejíž výsledkem má negativní vliv denní světlo.

Použití kyvetového testu pro stanovení síranů je vhodné pouze za předpokladu, že není možno použít ITP a počítáme, že sledovaný výsledek bude sice rychlý, ale orientační. Např. při opravách, haváriích a dalších procesech, je potřeba určit další postup práce, aby se předešlo zbytečnému znečištění životního prostředí. Kyvetové testy byly ovlivněny značným zabarvením testovaného vzorku a obsahem dalších iontů, které jsou uvedeny v tabulce 3. Návrhem zlepšení metody bylo použití korekčního faktoru. Po jeho aplikaci byly výsledky, podle statistického vyhodnocování, považovány za pravdivé.

Obsah chloridů byl stanovován argentometrickou titrací. Titrace je poměrně rychlá metoda, s relativně přesnými výsledky. V případě, že vzorek obsahuje oba ionty je využití titrace poměrně zbytečné.

Dále bylo pro stanovení chloridů testováno gravimetrické stanovení. Při postupu byly dodrženy všechny zadané podmínky, ale výsledky neměly dostatečnou návratnost. Byly považovány za nepravdivé, a tedy nevhodné pro sledovaný vzorek vzorku.

V provozní laboratoři je nutné používat takové metody, která jsou rychlé, spolehlivé a jednoduché. ITP je výhodné i z důvodu spotřeby chemikálií. Protože je nutné zabránit rozdílným (chybným, nepřesným) výsledku při změně elektrolytu je potřebné tyto roztoky připravovat akreditovanou laboratoří VILLA Labecco ve Spišské Nové Vsi, která zaručuje přesně definovanou kvalitu a neměnné složení.

Výsledné koncentrace při měření ITP byly automaticky počítány pomocí kalibrace zavedené v programu ITPPro32, modelová ukázka výpočtu koncentrace pomocí kalibrační závislosti byla provedená v Microsoft Excel.

Výsledky byly podrobeny statistickému vyhodnocení. Byly sledovány modelové i reálné vzorky. Výsledky analýzy modelových vzorků referenční a navrženou metodou ITP byly pro stanovení chloridů i síranů statisticky správné. Ovšem návratnost KIT byla špatná, z tohoto důvodu bylo nutné zavést korekční faktor, který systematickou chybu vzniklou při měření, odstranil. U reálných vzorků byly ověřeny základní předpoklady o výběru dat pomocí Gaussova rozložení, které bylo pro oba ionty posouzeno jako normální. U stanovení síranů nebyly nalezeny odlehlé body nevyhovující intervalu spolehlivosti. U stanovení chloridů byly nalezeny 2 odlehlé body pro metodu ITP a dva pro titrační metodu. Tyto body byly pro další statistické vyhodnocení vyřazeny. U reálných vzorků byly vypočítané statistické parametry: průměrná hodnota, nejistota výsledku, interval spolehlivosti, vybrané kvantilové míry (medián, dolní a horní kvartil), návratnost, která odpovídá shodě mezi nalezenou a předpokládanou hodnotou koncentrace a hodnota relativní směrodatné odchylky, který vyjadřovala opakovatelnost metody. Pravdivost výsledků byla ověřena pomocí Studentova t-testu a lineární regrese. Při aplikaci t-testu byla pro oba ionty splněná nulová hypotéza, tedy je možné považovat měření za správné. Lineární regrese také potvrdila pravdivost výsledků.

Výsledkem práce je aplikovatelnost metody ITP na odpadní vody se zaměřením na stanovení aniontů. Výsledné koncentrace iontů je možné vyhodnotit jednoduše pomocí vícebodové kalibrace. Na základě provedených testů, které potvrdily spolehlivost instrumentace, byl sestaven standardní operační postup metody ITP, které je v plném znění v příloze práce (Příloha 3: Standardní operační postup).

5 POUŽITÁ LITERATURA

1. DRABINOVÁ, Silvie a David KUNSSBERGER. Druhy odpadních vod. *Poradme.se: poradenství v životním prostředí trochu jinak*[online]. 25. 10. 2015 [cit. 2022-11-05]. Dostupné z: http://poradme.se/index.php?title=Druhy_odpadnich_vod
2. Nařízení vlády č. 401/2015 Sb.: 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. *Zakonyprolidi.cz* [online]. Zlín: AION CS, 2023, 30.12.2015 [cit. 2023-01-06]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2015-401#f5732562>
3. Výroba sulfitové buničiny: Integrované povolení čj. 8279/2005/ŽPZ/K1v/0015 ze dne 8.9.2005, ve znění pozdějších změn. *Msk.cz* [online]. Ostrava, 8.9.2005 [cit. 2022-12-10]. Dostupné z: https://www.msk.cz/assets/temata/zivotni_prostredi/lenzing-biocel-paskov---vyroba-sulfitove-buniciny.pdf
4. VYŠVAŘIL, Martin a Markéta ROVNANÍKOVÁ. Odolnost jemnozrnných betonů vůči síranové korozi v odpadních systémech. *Tzbinfo* [online]. VUT Brno, Fakulta stavební, Ústav chemie: Copyright Topinfo, 2023, 27.2.2017 [cit. 2023-02-11]. Dostupné z: <https://voda.tzb-info.cz/materialy-voda-kanalizace/15420-odolnost-jemnozrnnych-betonu-vuci-siranove-korozi-v-odpadnich-sytemech>
5. Chloridy ve vodě: Kdy může dojít ke korozním účinkům?: Chloridy ve vodě se vyskytují běžně. Jak se do vody dostanou a co způsobují? Dozvíte se v článku. *Laboratoř Monitoring Praha: Odběry a laboratorní rozbory vod či zemin* [online]. Praha [cit. 2023-03-14]. Dostupné z: <https://www.moni.cz/aktuality/chloridy-ve-vode>
6. Chloridy ve vodě: Odstranění chloridů z vody. *EuroClean: Úprava vody pro průmysl a domácnosti* [online]. Roztoky: EuroClean [cit. 2023-05-18]. Dostupné z: <https://euroclean.cz/problemy-vody/chloridy>
7. Lignin. *MeziStromy.cz: Všechno, co hledáte, najdete na MeziStromy.cz Vzdělávací portál o lese, dřevě, přírodě. Informace z důvěryhodných zdrojů, kterým můžete věřit. Zdroj: https://www.mezistromy.cz/* [online]. Praha: Nadace dřevo pro život [cit. 2023-03-26]. Dostupné z: <https://www.mezistromy.cz/slovník/lignin>
8. Kvalita hned od počátku. *Lenzing: Innovative by nature* [online]. 2023 LENZING [cit. 2022-12-11]. Dostupné z: <https://www.lenzing.com/cs/lenzing-group/locations/lenzing-biocel-paskov/produkty>

9. MILICHOVSKÝ, Miloslav. *Výroba a vlastnosti buničín*. Pardubice, 2022.
10. RUSŇÁK, TOMÁŠ a JIŘÍ WELSZAR WELSZAR. REGENERACE CHEMIKÁLIÍ. *AgroWeb* [online]. Praha: Profi Press, 2003 [cit. 2023-04-11]. Dostupné z: <https://odpady-online.cz/regenerace-chemikalii/>
11. SLAVÍK, František. Čistírna odpadních vod. *ČVUT* [online]. Praha: ČVUT, Fakulta stavební, Katedra zdravotního a ekologického inženýrství, 2007, 2018 [cit. 2023-05-30]. Dostupné z: <http://kzei.fsv.cvut.cz/pdf/2016-2017/pvh2/COV.pdf>
12. T. Hirokawa, ELECTROPHORESIS | Isotachopheresis, Editor(s): Ian D. Wilson, *Encyclopedia of Separation Science*, Academic Press, 2000, Pages 1272-1280, ISBN 9780122267703, <https://doi.org/10.1016/B0-12-226770-2/03611-5>.
13. KLEIN, Thomas; MORITZ, Ralf-Johann; GRAUPNER, René. Polyaspartates and polysuccinimide. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 2000.
14. BOČEK, Petr, Mirko DEML, Petr GEBAUER a Vladislav DOLNÍK. *Analytická kapilární izotachoforéza*. Praha: Československé akademie věd, 1987.
15. Vážková analýza (gravimetrie). *Zdravotnická škola* [online]. Hradec králové [cit. 2023-06-11]. Dostupné z: <https://anl.zshk.cz/vyuka/vazkova-analyza.aspx>
16. MORAVCOVÁ, Hana. *Analytická chemie*. Ostrava: Pavko, 2011. ISBN 978-80-86369-14-3.
17. ČSN ISO 9280 (757476). *Jakost vod. Stanovení síranů. Gravimetrická metoda a chloridem barnatým*. 2. Praha: Hydroprojekt, 1995.
18. Titrace: titrační odměrná analýza. *Laboratorní technika* [online]. Brno: Laboratorní technika – Pedagogická fakulta Masarykovy univerzity, katedra chemie, 2008 [cit. 2023-03-11]. Dostupné z: <https://www.ped.muni.cz/wchem/sm/hc/labtech/pages/titrace.html>
19. ČSN ISO 9297 (75 7420). *Jakost vod. Stanovení chloridů. Argentometrické stanovení s chromanovým indikátorem (metoda podle Mohra)*. 2. Praha: Hydroprojekt, 1996.
20. HORÁKOVÁ, Marta. *Analytika vody*. Vyd. 2., opr. a rozš. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2003. ISBN 80-7080-520-X.
21. Sběr použitých kyvetových testů Hach a jejich následná recyklace. *Ekotechnika: měřicí technika pro ekologii* [online]. Praha, 3. 3. 2019 [cit. 2023-04-12]. Dostupné z: <https://www.ekotechnika.com/clanky/hach-kyvetove-testy-sber-recyklace/>
22. Kyvetové testy: Vložit, Změřit, Hotovo. *Ekotechnika: měřicí technika pro ekologii* [online]. Praha [cit. 2023-04-12]. Dostupné z: <https://www.ekotechnika.com/produkt/kyvetove-testy-lck-hach/>

23. Sírany kyvetový test 150-900 mg/L SO₄: Working procedure: LCK353 Sulphate. *HACH: Be Right* [online]. Praha: HACH LANGE, 10-2019 [cit. 2022-11-06]. Dostupné z: <https://cz.hach.com/product.detail-downloads.jsa?id=25651599624>
24. Chloridy kyvetový test 1-70 mg/L / 70-1 000 mg/L Cl: Working procedure: LCK311 Chloride. *HACH: Be Right* [online]. Praha: HACH LANGE, 03-2022 [cit. 2022-11-06]. Dostupné z: <https://cz.hach.com/product.detail-downloads.jsa?id=25651599621>
25. ČERNÝ, Václav, Eva KLOKOČNÍKOVÁ, Sylvie KRÍŽENECKÁ, David MILDE, Alena NIŽNANSKÁ, Zbyněk PLZÁK, Miloslav SUCHÁNEK a Ing. Jan VILÍMEC, MILDE, David, ed. *Kvalimetrie: 23. Měření v chemii, Stručný přehled metrologie chemii*. Ústí nad Labem: EURACHEM, 2018. ISBN ISBN 978-80-86322-11-7.
26. *K aplikaci ČSN EN ISO/IEC 17025:2001 Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří v akreditačním systému České republiky*. Praha: Český normalizační institut, vydavatelský úsek, 2001. Metodické pokyny pro akreditaci Národního akreditačního orgánu České republiky. ISBN 80-7283-056-2.
27. SUCHÁNEK, Miloslav a David MILDE, , ed. *Kvalimetrie: Statistické metody v metrologii a v analytické chemii*. Praha: EURACHEM-ČR, 2009. ISBN ISBN 980-86322-04-1
28. MILDE, David a Zbyněk PLZÁK, SUCHÁNEK, Miroslav a David MILDE, ed. *Kvalimetrie: 22. Průvodce kvalitou v analytické chemii*. Třetí anglické vydání, druhé české vydání. UK, Praha: EURACHEM, 2016 (UK), 2017 Praha. ISBN ISBN 978-80-86322-10-0. Strana 17-18.
29. MILDE, David a Zbyněk PLZÁK, SUCHÁNEK, Miroslav a David MILDE, ed. *Kvalimetrie: Jak vyhovět požadavků ISO1705 na verifikaci metod*. 3. vydání. Praha: Eurachem, 2013. ISBN 80-86322-06-8
30. MELOUN, Milan. Analýza malých výběrů. *Milan Meloun: Profesor analytické chemie and chemometrie na Univerzitě Pardubice*. [online]. Pardubice [cit. 2023-06-14]. Dostupné z: <https://meloun.upce.cz/docs/lecture/chemometrics/slidy/35horn.pdf>

6 PŘÍLOHY

Příloha 1: Tabulka kvartilů pro Hornův test.	61
Příloha 2: Stupeň volnosti pro studentův t-test.	62
Příloha 3: Standardní operační postup pro metodu ITP.	63

Příloha 1: Tabulka kvartilů pro Hornův test.

$1 - \alpha$	0.9	0.95	0.975	0.99	0.995
n					
4	0.477	0.555	0.738	1.040	1.331
5	0.869	1.370	2.094	3.715	5.805
6	0.531	0.759	1.035	1.505	1.968
7	0.451	0.550	0.720	0.978	1.211
8	0.393	0.469	0.564	0.741	0.890
9	0.484	0.688	0.915	1.265	1.575
10	0.400	0.523	0.668	0.878	1.051
11	0.363	0.452	0.545	0.714	0.859
12	0.344	0.423	0.483	0.593	0.697
13	0.389	0.497	0.608	0.792	0.945
14	0.348	0.437	0.525	0.661	0.776
15	0.318	0.399	0.466	0.586	0.685
16	0.299	0.374	0.435	0.507	0.591
17	0.331	0.421	0.502	0.637	0.774
18	0.300	0.380	0.451	0.555	0.650
19	0.288	0.361	0.423	0.502	0.575
20	0.266	0.337	0.397	0.464	0.519

Příloha 2: Stupeň volnosti pro studentův t-test.

Stupne volnosti	$t_{0.75}$	$t_{0.90}$	$t_{0.95}$	$t_{0.975}$	$t_{0.99}$	$t_{0.995}$	$t_{0.9975}$	$t_{0.999}$	$t_{0.9995}$
1	1.000	3.078	6.314	12.706	31.821	63.657	127.320	318.309	636.619
2	0.816	1.886	2.920	4.303	6.965	9.925	14.089	22.327	31.599
3	0.765	1.638	2.353	3.182	4.541	5.841	7.453	10.214	12.924
4	0.741	1.533	2.132	2.776	3.747	4.604	5.598	7.173	8.610
5	0.727	1.476	2.015	2.571	3.365	4.032	4.773	5.893	6.869
6	0.718	1.440	1.943	2.447	3.143	3.707	4.317	5.208	5.959
7	0.711	1.415	1.895	2.365	2.998	3.499	4.029	4.785	5.408
8	0.706	1.397	1.860	2.306	2.896	3.355	3.832	4.501	5.041
9	0.703	1.383	1.833	2.262	2.821	3.250	3.690	4.297	4.781
10	0.700	1.372	1.812	2.228	2.764	3.169	3.581	4.144	4.587
11	0.697	1.363	1.796	2.201	2.718	3.106	3.497	4.025	4.437
12	0.695	1.356	1.782	2.179	2.681	3.055	3.428	3.930	4.318
13	0.694	1.350	1.771	2.160	2.650	3.012	3.372	3.852	4.221
14	0.692	1.345	1.761	2.145	2.624	2.977	3.326	3.787	4.140
15	0.691	1.341	1.753	2.131	2.602	2.947	3.286	3.732	4.072
16	0.690	1.337	1.746	2.120	2.583	2.921	3.252	3.686	4.015
17	0.689	1.333	1.740	2.110	2.567	2.898	3.222	3.646	3.965
18	0.688	1.330	1.734	2.101	2.552	2.878	3.197	3.610	3.922
19	0.688	1.328	1.729	2.093	2.539	2.861	3.174	3.579	3.883
20	0.687	1.325	1.725	2.086	2.528	2.845	3.153	3.552	3.850
21	0.686	1.323	1.721	2.080	2.518	2.831	3.135	3.527	3.819
22	0.686	1.321	1.717	2.074	2.508	2.819	3.119	3.505	3.792
23	0.685	1.319	1.714	2.069	2.500	2.807	3.104	3.485	3.768
24	0.685	1.318	1.711	2.064	2.492	2.797	3.090	3.467	3.745
25	0.684	1.316	1.708	2.060	2.485	2.787	3.078	3.451	3.725
26	0.684	1.315	1.706	2.056	2.479	2.779	3.070	3.435	3.707
27	0.684	1.314	1.703	2.052	2.473	2.771	3.056	3.421	3.690
28	0.683	1.313	1.701	2.048	2.467	2.763	3.047	3.408	3.674
29	0.683	1.311	1.699	2.045	2.462	2.756	3.038	3.396	3.659
30	0.683	1.310	1.697	2.042	2.457	2.750	3.030	3.385	3.650
40	0.681	1.303	1.684	2.021	2.423	2.704	2.971	3.307	3.551
60	0.679	1.296	1.671	2.000	2.390	2.660	2.915	3.232	3.460
120	0.676	1.289	1.658	1.980	2.358	2.617	2.860	3.160	3.373
∞	0.674	1.282	1.645	1.960	2.326	2.576	2.807	3.098	3.300

STANDARDNÍ OPERAČNÍ POSTUP

Návod na obsluhu izotachoforetického analyzátoru

Definice

Tento postup popisuje jednotlivé korky při stanovení koncentrace iontů (síranů a chloridů) ve vzorcích odpadní vody z výroby buničiny.

Princip

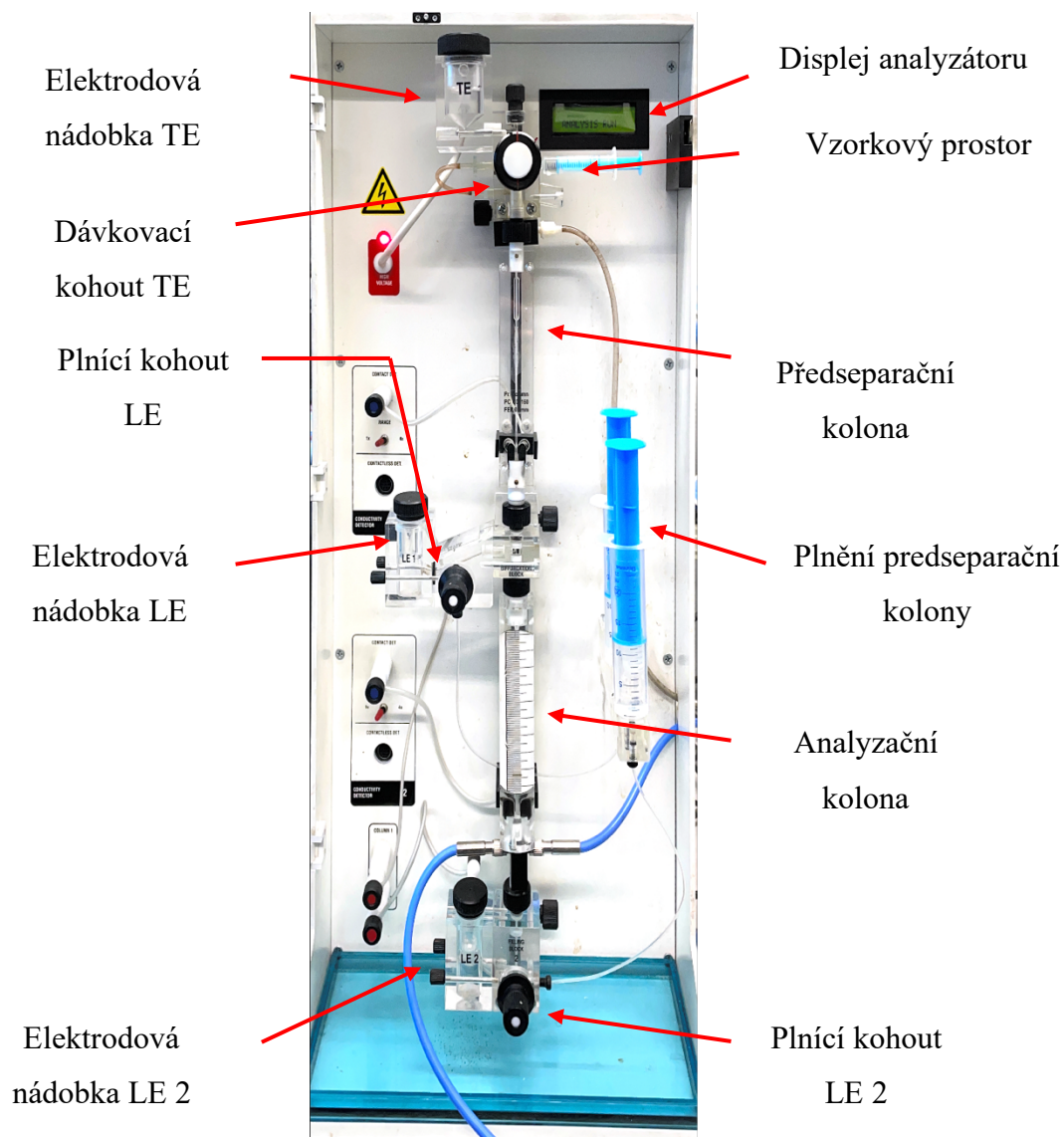
Izotachoforéza (ITP), patří do skupiny elektroforetických metod, užívaných k analýze a izolaci iontových sloučenin. Separace složek je způsobená rozdílnou elektroforetickou mobilitou složek dané látky. Migrační chování částic v elektrickém poli způsobí rozdělení iontů na ostře definované frakce, které jsou postupně detekovány. V koloně jsou dva druhy elektrolytů, vodící a koncový elektrolyt. Vzorek se do kolony zavádí pomocí injekční stříkačky přímo na rozhraní elektrolyt. Jednotlivé ionty jsou detekovány pomocí vodivostního detektoru a výsledné koncentrace jsou vypočteny na základě kalibračních závislostí.

Pomůcky a zařízení

- Izotachoforetický analyzátor EA 102, předseparační kolona PCE CD 160 FEP 0,8 mm.
- Stříkačky, odměrné nádobí.

Chemikálie

- Vedoucí elektrolyt – LEA13: 10mM NO_3^- + 4mM Cd^{2+} + β – alanin (pH = 3,7)
- Koncový elektrolyt – TEA7: 10mM vinan sodno-draselný
- Demineralizovaná voda
- Vedoucí elektrolyt k obnovení mHEC vrstvy na povrchu kapiláry
LEA13: 10mM NO_3^- + 4mM Cd^{2+} + β – alanin (pH = 3,7) + 0,1 % m – HEC. Používat po každých 10 analýzách, případně dle potřeby na obnovení vrstvy m – HEC.



Obr. 1: Podrobný popis ITP.

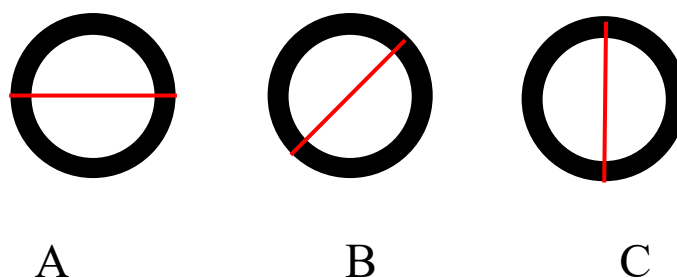
Postup práce

1. Příprava přístroje

Naplníme elektrodotové nádobky LE vodícím elektrolytem, tak aby byla elektroda ponořená do elektrolytu. Kanálek směrem k membráně musí být naplněn elektrolytem bez obsahu bublin. Nádobku zavíčkujeme.

Otevřením plnicího kohoutu se naplní předseparační kolona pomocí stříkačky vedoucí elektrolytem LE. Po naplnění uzavřeme plnicí kohout. Kolona nesmí obsahovat žádné bubliny (hlášení vysokého napětí).

Naplníme elektrodivý prostor TE ukončovacím elektrolytem, opět tak aby byla elektroda ponořena do roztoku.



Obr. 2: Popis dávkovacího kohout.

A – dávkovací kohout je uzavřen. B – dávkovací kohout otevřen, ale není propojen s předseparační kolonou, TE vytéká. C – dávkovací kohout otevřen a propojen s předseparační kolonou, probíhá analýza.

Před samotnou analýzou dojde k propláchnutí kohoutu TE v poloze A demineralizovanou vodou pomocí stříkačky (cca 3 mL). Stříkačku necháme umístěnou ve vzorkovém prostoru a propláchneme dávkovací kohout TE pomocí TE z nádoby, a to v poloze B dávkovacího kohoutu. Po propláchnutí malým množstvím vrátíme kohout do polohy A. Nádobku s TE zavíčujeme.

Do vzorkového prostoru si připravíme stříkačku s TE, přístroj zapneme a necháme 10 minut temperovat.

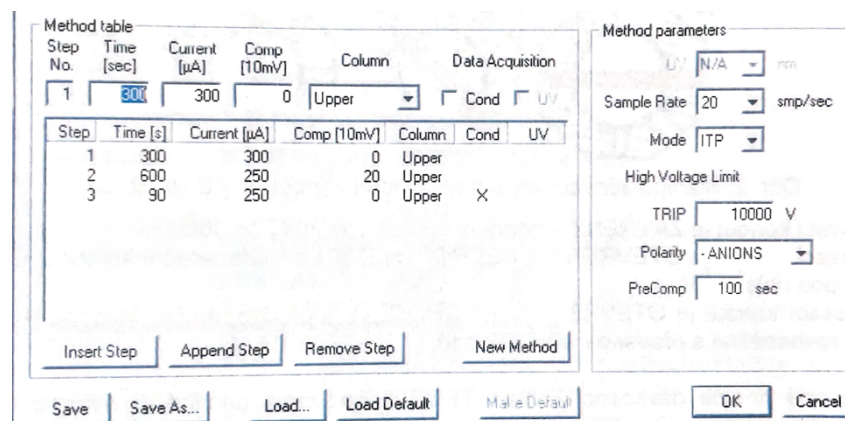
Na displeji analyzátoru nesmí být vyšší hodnota než 30 V, pokud se tak nestane, je nutné přístroj znovu pročistit.

	10
READY	100

Obr. 3: Displej analyzátoru před samotným měřením.

2. Na počítači spustíme program ITPPro32

Po spuštění programu klikneme na **RUN** – otevře se měřící mód **RUNTIME MODE**. Zkontrolujeme správnost měřící metody pro analýzu koncentrace aniontů. Stiskneme **FILE** → **METHOD** → otevře se okno s nastavenou metodou a následujícími parametry



Obr. 4: Parametry měření pro analýzu aniontů.

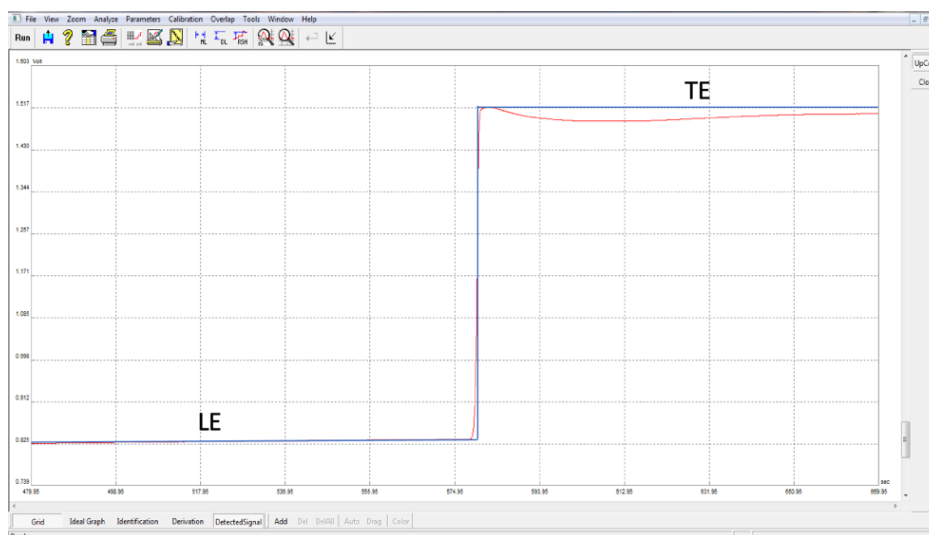
3. Měření rozhraní TE

Do vzorkovacího prostoru nastříkne cca 2mL TE v poloze A. Následně otočíme kohout do polohy B a po 1-2 sekundách otáčíme do polohy C. Následně v programu ITPPro32 spustíme měření tlačítkem **RUN – červené kolečko**.

Po dokončení analýzy (cca 15 min) otočíme kohout do polohy A kolonu propláchneme pomocí LE. Přístroj je připraven pro další měření.

Změřené rozhraní TE uložíme do souboru.

Zkontrolujeme správnost rozhraní. Otevřeme uložení rozhraní v programu ANALYTISIS → **OPEN** z místa uložení nahrajeme potřebný soubor. Změřený graf upravíme na ideální – **IDEAL GRAPH**. Graf považujeme za správný pouze v případě, kdy se přiřadí pouze LE a TE. Pokud se zobrazí jiná, neznámá zóna měření se musí opakovat.



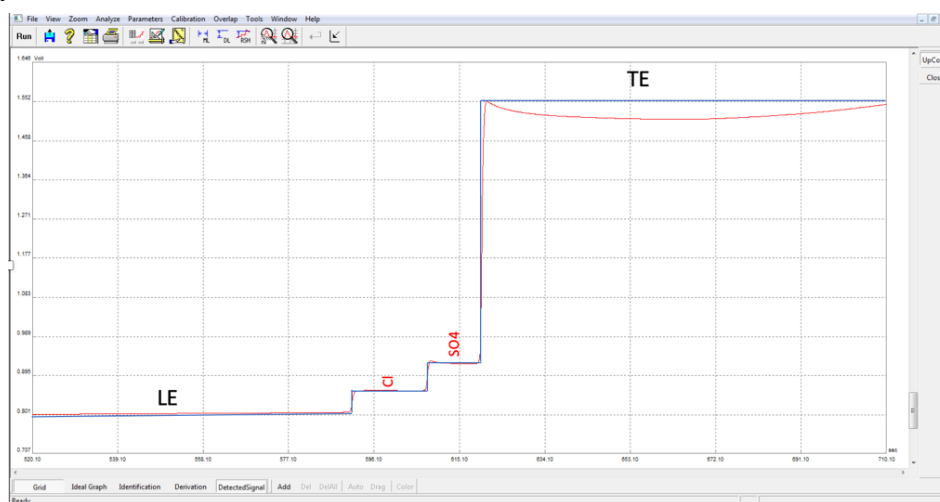
Obr. 5: Rozhraní TE. Červená – změřený záznam. Modrá – ideální graf

4. Měření vzorku

Do vzorkového prostoru se vstříkne cca 3 ml filtrovaného ředěného vzorku. Následně pokračujeme stejným postupem jako u měření rozhraní TE.

Změřený vzorek vykazuje jednotlivé zóny, které značí pomocí čísel při aplikaci funkce **IDENTIFICATION**. Pokud je v programu zadána kalibrace, dochází k identifikaci přímo určitého iontu.

Otevření kalibrace pomocí **CALIBRATION** → **OPEN CALIBRATION** → vybereme příslušnou kalibraci pro sledované ionty. Z **REPORTU** získáme příslušné hodnoty koncentrací. V okně **ANALYZE REPORT** zadáme příslušné ředění do kolony **DILUTED**.



Obr. 6: Graf vzorku s identifikací pomocí kalibrační křivky v systému. Červená – změřená záznam. Modrá – ideální graf.

5. Čištění přístroje

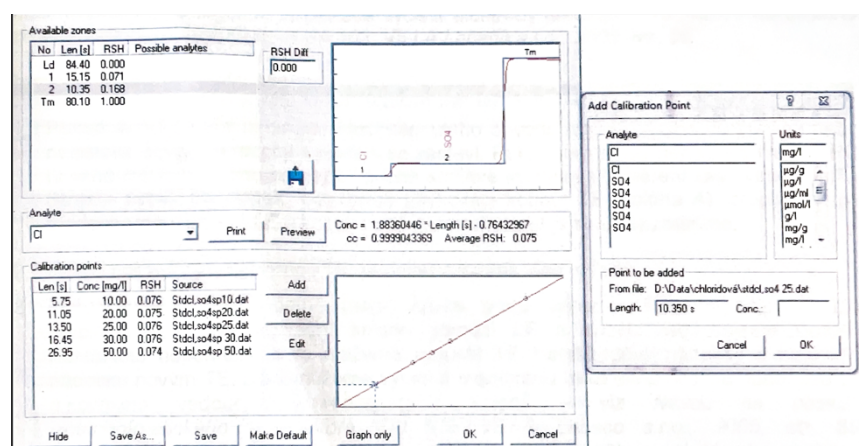
Po dokončení měření se přístroj vypne. Vypustí se zbytek TE z elektrodové nádoby TE v poloze dávkovacího kohoutu B. Zavřeme dávkovací kohout do polohy A. Propláchneme vzorkový prostor demineralizovanou vodou pomocí stříkačky (cca 5 ml). Elektrodový prostor TE naplníme demineralizovanou vodou a následně v poloze kohoutu B necháme vodu vytéct. Tento proces opakujeme 2x.

Předseparační kolonu propláchneme cca 40 mL demineralizované vody pomocí stříkačky. Vedoucí elektrolyt z elektrodové nádoby LE důkladně vysajeme stříkačkou a prostor propláchneme demineralizovanou vodou. Tento proces opakujeme 2x.

Po dokončení promývání se přístroj osuší, elektrodové nádoby se vysuší a přiklopí víčkem. Dávkovací kohout se ponechá v poloze B.

6. Kalibrační křivka

Jednotlivé roztoky pro kalibrační křivku proměříme stejným postupem jako vzorky. Předem musí být změřeno rozhraní. Otevření kalibrace pomocí kolonky **CALIBRATION** → **NEW CALIBRATION** → zapíšeme název kalibrace → otevře se kalibrační tabulka.



Obr. 7: (vlevo) Kalibrační tabulka

(vpravo) Okno pro přidávání kalibračních bodů.

Otevřením modré diskety vybereme jeden uložený kalibrační roztok o přesné koncentraci. V části **AVAILABLE ZONES** vybereme číslo zóny odpovídající danému iontu → **ADD** → otevře se okno pro přidání kalibračního bodu → **ADD CALIBRATION POINT** → napíšeme iont do kolonky **ANALYTE** → do kolonky **UNITS** napíšeme jednotku mg/l → do kolonky **CONC.** Napíšeme hodnotu koncentrace → potvrdíme **OK**. Tímto postupem přidáme všechny kalibrační body.

7. Literatura

1. T. Hirokawa, ELECTROPHORESIS | Isotachopheresis, Editor(s): Ian D. Wilson, Encyclopedia of Separation Science, Academic Press, 2000, Pages 1272-1280, ISBN 9780122267703, <https://doi.org/10.1016/B0-12-226770-2/03611-5>.
2. ANALYSIS of DRINKING and SURFACE WATER. 1. Spišská Nová Ves: VILLA LABECO.