

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Doc. Dr. Ing. Pavel Kuráň



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



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Struktura

1. Definice a pojmy stopové analýzy organických polutantů (POPs)
2. Odběr vzorků půd, vod, vzduchu v ŽP
3. Prekoncentrační techniky - úprava vzorků
4. Detektory pro analýzu POPs – kombinace s chromatografickými technikami – GC-MS, LC-MS
5. Zpracování získaných dat – požadavky na software, vybrané aplikace pokročilého zpracování dat (integrace chromatogramů a operace s chromatografickými záznamy, fragmentogramy u GC-MS)
6. Vývoj a validace metodiky stanovení POPs
7. Nejběžnější POPs v ŽP a jejich analýza
8. Derivatizace v analytice ŽP

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Význam odběru vzorků (vzorkování)

- **Analytické techniky** - markantní zlepšení v posledních desetiletích - přesnost a správnost výsledků.
- **Vzorkování** - nejslabší článek při studiu nebo analýzy environmentálního projektu, daleko menší pozornost zlepšení a vývoji v oblasti vzorkování
- **Všeobecně** - odpověď na otázku:
„Jak dobře analyzované vzorky reprezentují zkoumanou oblast ?“

neznámá nebo přinejmenším nejistá.

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Základní úvahy správného environmentálního vzorkování

- Povaha vzorkovaného prostředí
- Komplexnost vzorkovacího procesu včetně rozsahu média, které se může vzorkovat.
- Příčiny variace v materiálu, který se vzorkuje a jak mohou být tyto variace zohledněny ve vzorkovacím návrhu
- Škála vzorkovacích metod aplikovatelných na vzorkování různých medií za proměnlivého rozsahu okolností
- Důležité úvahy o kvalitě správnosti (QA) a kvalitě kontroly (QC)

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Základní úvahy správného environmentálního vzorkování

Povaha vzorkovaného prostředí - problémy

- **ŽP** – komplexní, heterogenní, různorodé matrice (vzduch, voda, půda, sediment, biota)
- **Každá matrice v ŽP** - specifické problémy, jiné vzorkovací přístupy
- **Koncentrace polutantů** - obvykle nejsou uniformní v prostoru a čase.
- **Hranice vzorkovaného prostředí** - nemusí být ostře/dobře definované
- **Riziko** - vzorek málokdy uniformní, mnohdy sledovaná vlastnost (koncentrace polutantů) ztracena nebo pozměněna ve vzorkovacím procesu v důsledku reakcí s jinými komponentami nebo s materiálem použitým ke vzorkování a uskladnění vzorků.

- **Výsledek** - závěry založené na laboratorních výsledcích z pečlivé analýzy

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Základní úvahy správného environmentálního vzorkování

Komplexnost vzorkování a potřeba jasně stanovených cílů vzorkování

- **Podstata každého vzorkovacího plánu** - sada otázek na účel vzorkování:
 1. Jaký je účel a cíl vzorkovacího plánu nebo prováděné studie
 2. Jaké jsou hlubší souvislosti, na které se hledá odpověď
 3. Jaká informace je relevantní a v jaké prostorové a časové škále

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Základní úvahy správného environmentálního vzorkování

Komplexnost vzorkování a potřeba jasně stanovených cílů vzorkování

- **Podstata každého vzorkovacího plánu** - sada otázek na účel vzorkování:

Vedlejší otázky:

1. Kde a kdy se mají vzorky odebírat ?
2. Kolik vzorků je potřeba odebrat ?
3. Které matrice se mají vzorkovat a jakým zařízením ?
4. Jak budou vzorky konzervovány a jaké nádoby se budou používat ?
5. Jaké QC postupy a QA kritéria a meze se vyžadují pro vzorkovací proces (odvíjí se od laboratorní analýzy)

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Základní úvahy správného environmentálního vzorkování

Reprezentativnost v environmentálním vzorkování

- **Environmentální vzorek je reprezentativní**, když je odebrán a zpracován způsobem, který **uchovává jeho fyzikální formu a chemické složení**.
- **Z hlediska statistiky** - reprezentativní vzorky - nezávislá podskupina měřené populace.
- **Co z toho vyplývá ?**
Po odběru musí být vzorky zakonzervovány a zpracovány adekvátními metodami, které zaručí, že nedojde ke změnám koncentrací v analyzovaném materiálu či už ztrátou nebo vnější kontaminací.

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Základní úvahy správného environmentálního vzorkování

Význam času při environmentálním vzorkování

- Složení vzorkované matrice - v čase se mění.
- **Případ:** rychlost změn matrice významná vzhledem k času potřebným na odběr vzorku → smysluplná interpretace dat nemožná.
- Příklad: proudící voda nebo plyn.
- **Co dělat ?** Zvážit cíl projektu nebo studie.

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Základní úvahy správného environmentálního vzorkování

Význam času při environmentálním vzorkování

- Příklad: proudící voda nebo plyn.
- **Co dělat ?** **Zvážit cíl projektu nebo studie.**
 - * **Cíl 1:** Zmapovat **průměrnou kontaminaci** lokality polutantem - možno odebírat vzorky v delším časovém intervalu - jeden kompozitní (reprezentativní) vzorek před samotnou analýzou.
 - ***Cíl 2:** **Sledování pohybu polutantů** - kompozitní vzorek nemá smysl, **analýza vícero diskrétních vzorků**
nebo
kontinuální měření pomocí senzorů nebo speciálních detektorů.

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Vzorkování – typy odběrů vzorků

Typy odběrů vzorků

- Prosté – cílem je posoudit prostorovou distribuci analytu nebo časový vývoj jeho koncentrací
- Směsné – rutinní monitorování hodnoty sledované vlastnosti

○ **Způsoby vzorkování**

- Jednorázový odběr – prostý vzorek, obraz o jakosti vzorkovaného objektu v čase a místě odběru
- Opakované odběry - zjištění variability vzorků v čase (režimové odběry) nebo prostoru úřadové odběry)
- Zonální odběr – odběr z různých hloubek na vertikální ose vzorkovaného objektu
- Časový (režimový) odběr - odběr v jistých časových intervalech pro sledování změn v čase.

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Základní úvahy správného environmentálního vzorkování

Vzorkování zemin a půd, schémata vzorkování

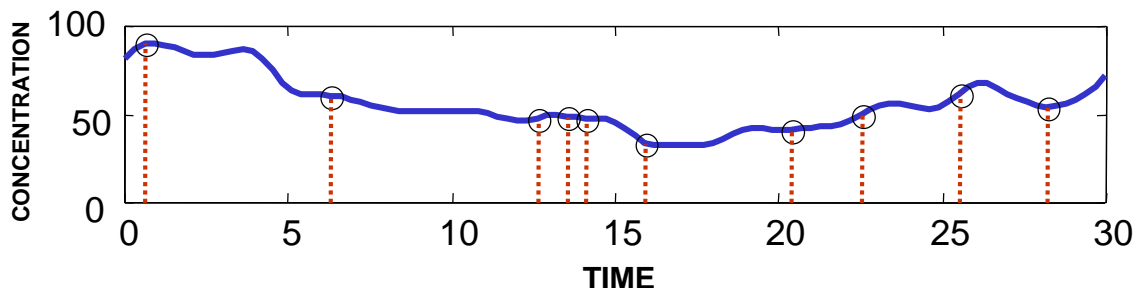
- **Náhodné vzorkování** (většinou rovnoměrné rozmístění na ploše)
- **Utríděné náhodné schéma** (stratified random) – rozdělení lokality na několik okrsků, uvnitř kterých se aplikuje náhodné vzorkování. Uvnitř okrsků nemusí být stejná hustota vzorkovacích míst.
- **Systematické vzorkování** – vytýčení pravidelné vzorkovací sítě (liniová, hvězdicová, trojúhelníková, čtvercová, hexagonální, „rybí kost“ ...)
- **Nesystematické** – vytýčení nepravidelného obrazce v ploše (cik-cak).

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

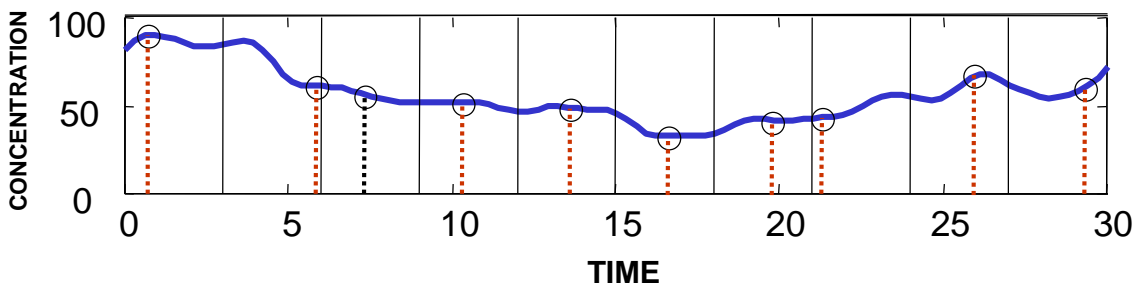
Odběr vzorků

Základní úvahy správného environmentálního vzorkování

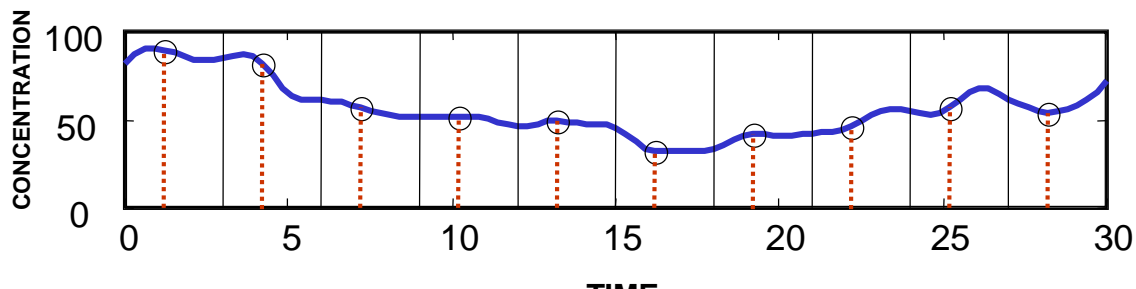
Vzorkování zemin a půd, schémata vzorkování



Náhodné



Utríděné náhodné



Systematické

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Základní úvahy správného environmentálního vzorkování

Vzorkování zemin a půd, schémata vzorkování

- **Hloubka odběru**

- zemědělské půdy: 25 – 30 cm (orniční vrstva)
- lesní půdy: podle horizontu

kontaminované zeminy: podle předpokládaného znečištění, podle geologických poměrů, podle účelu hodnocení, podle hladiny spodní vody apod. (pomocí vrtů)

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Vzorkování zemin a půd, schémata vzorkování

Technika vzorkování

- **manuální:** žlábkové sondy, lopatky, rýče, vrtáky
- **mechanické:** vrtné soupravy, bagry
- **Hmotnost vzorků:** řádově kg pro chemické analýzy

Úprava vzorků

- **Čerstvé vzorky:** Minimální úprava, zejména pro stanovení organických látek – homogenizace, odstranění heterogenních příměsí, drcení.
- **Suché vzorky:** Sušení na vzduchu v tenké vrstvě, odstranění heterogenních příměsí, drcení, prosévání.
- **Jemnozemi I:** sítování sítem 2 mm
- **Jemnozemi II:** rozetření a sítování sítem 0.25 mm

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Vzorkování zemin a půd, schémata vzorkování



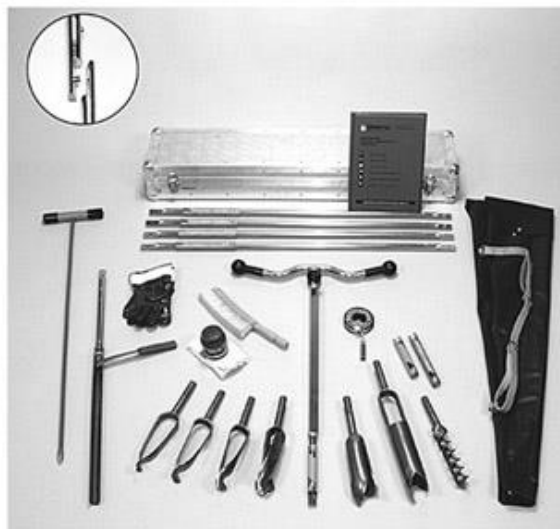
(a)



(b)



(a)



(b)



(c)



(d)

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Vzorkování ovzduší

- **Odběr do plynotěsných stříkaček, „odberových myší“, vaků, evakuovaných kanystrů**
- **Prosávání přes trubičku se sorbentem (několik m³)**
- **Prosávání přes kapalinu (několik m³)**
- **Pasivní vzorkovače se sorbentem**
- **Pasivní vzorkovače s kapalinou**

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Vzorkování ovzduší

- Odběr do plynotěsných stříkaček, „odberových myší“, vaků, evakuovaných kanystrů

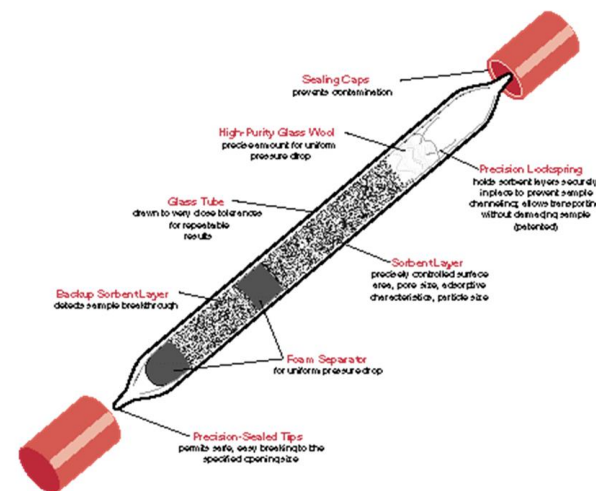


Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Vzorkování ovzduší

- Prosávání přes trubičku se sorbentem (několik m³) - čerpadlem

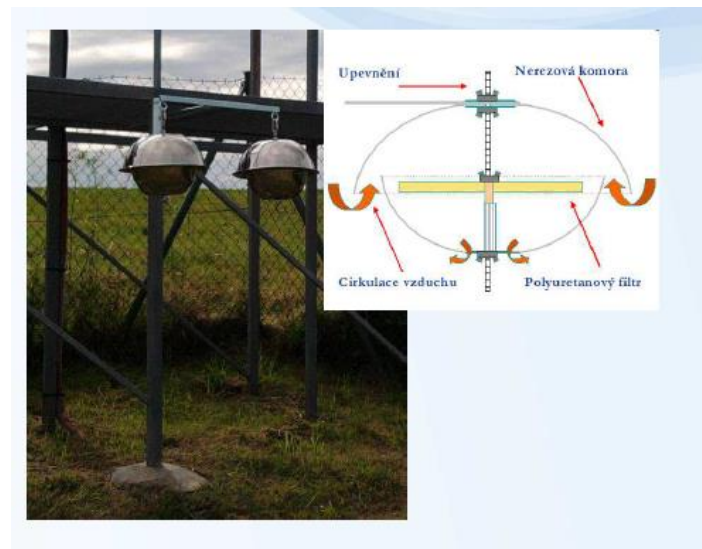


Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Vzorkování ovzduší

- Pasivní vzorkovače se sorbentem



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Vzorkování vod

- (organika – sklo, anorganika - PTFE)

- **Povrchový odběr**

Přelivný válec – podzemní vody, horší reprezentativnost

naběrákový vzorkovač –

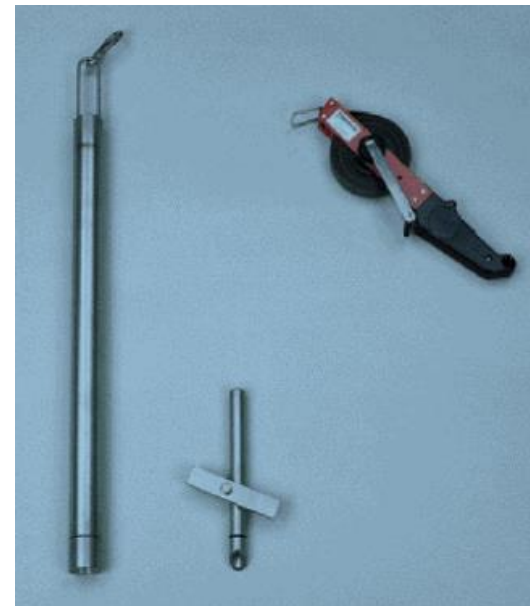
dosah 4 m, nelze vzorkovat rozvrstvené kapaliny



- **Zonální odběr**

hlubinné vzorkovače (spodem plněný

vzorkovač „kalovka-bailer“)



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Odběr vzorků

Vzorkování vod

- (organika – sklo, anorganika - PTFE)
- **Automatické vzorkovače (stacionární a přenosné)**
 - možnost odběru 24 denně, 365 dní v roce, 16-24 vzorkovnic
 - vákuový odběr nebo peristaltika
 - objem 20-350 ml
 - konzervace vzorků –pomocí termostaticizace
 - různé typy odběrů v závislosti na čase, množství, průtoku a jevech



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Prekoncentrační techniky - úprava vzorků

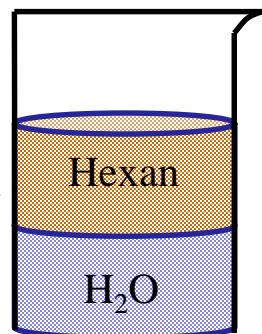
Extrakce do kapaliny

- **Oblast použití:** Analýza polutantů v půdách, vodách

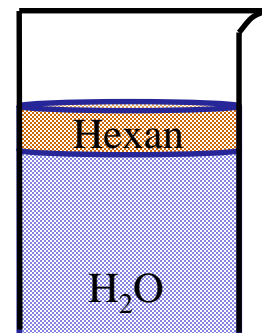
-

- **Techniky:**

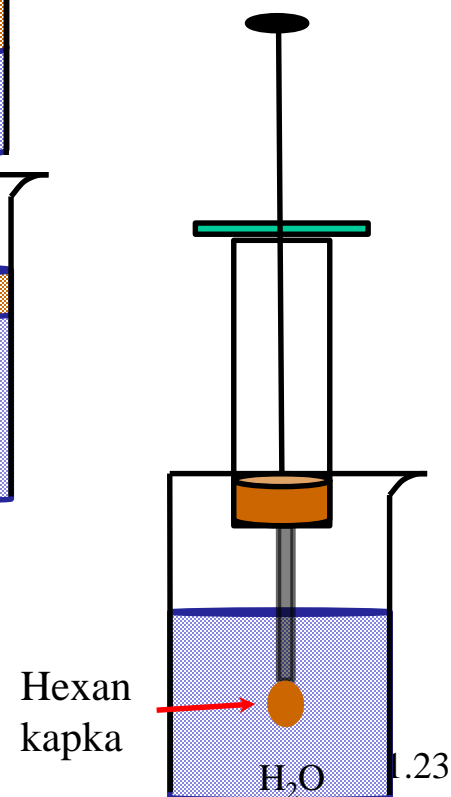
1. Klasická „*liquid-liquid*“ extrakce – 1 : 1



2. Mikroextrakce – 1 : 10, 1 : 100



3. „Single-drop“ extrakce



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Prekoncentrační techniky - úprava vzorků

„Headspace“ techniky

- **Oblast použití: Analýza těkavých látek v ovzduší, vodě, půdě.**

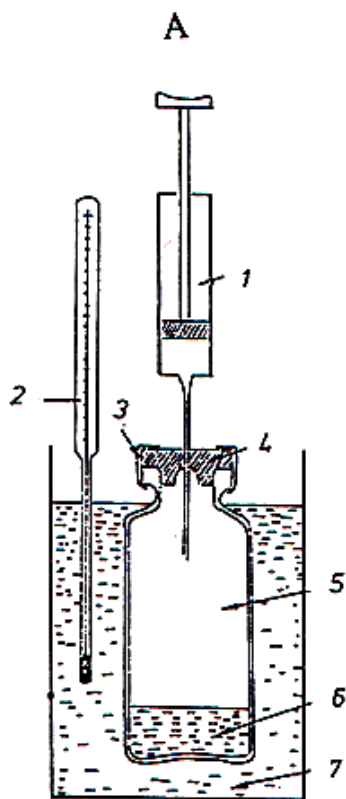
- **Techniky:**
 1. **Nástřik plynotěsnou stříkačkou**
 2. **Headspace – statická, dynamická, purge trap**
 3. **Plynová dávkovací smyčka**
 4. **SPME (Solid Phase Microextraction)**

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

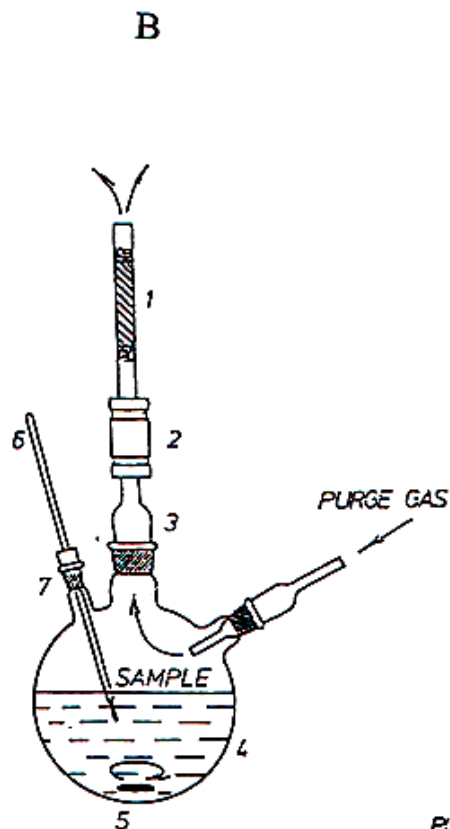
Prekoncentrační techniky - úprava vzorků

„Headspace“ techniky

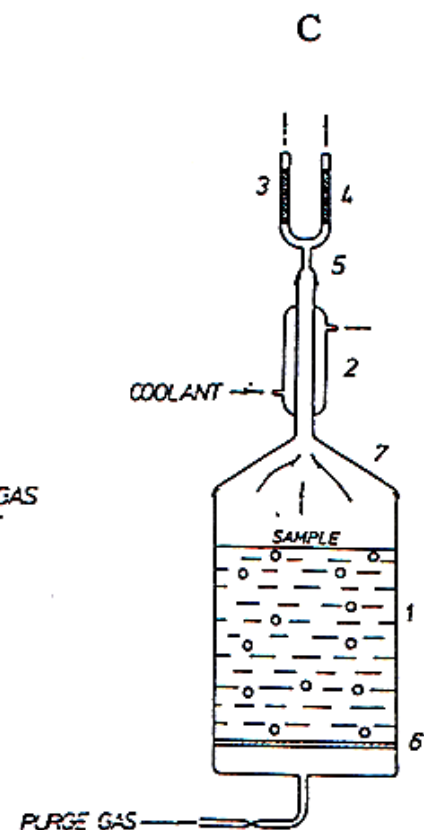
P. Kuráň, L. Soják / J. Chromatogr. A 733 (1996) 119–141



Statická „Headspace“



Dynamická
„Headspace“

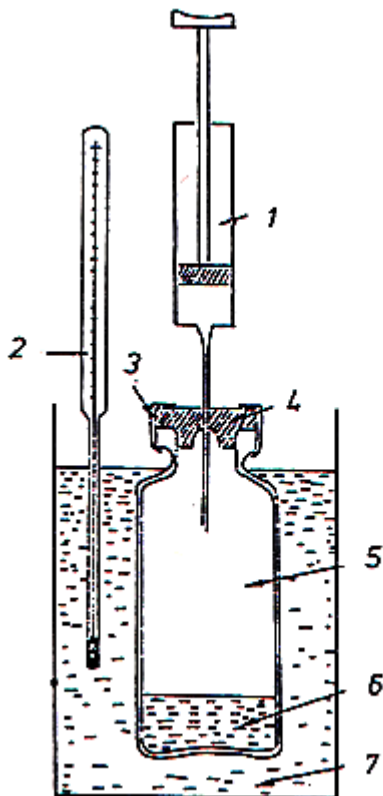


Purge and Trap
1.25

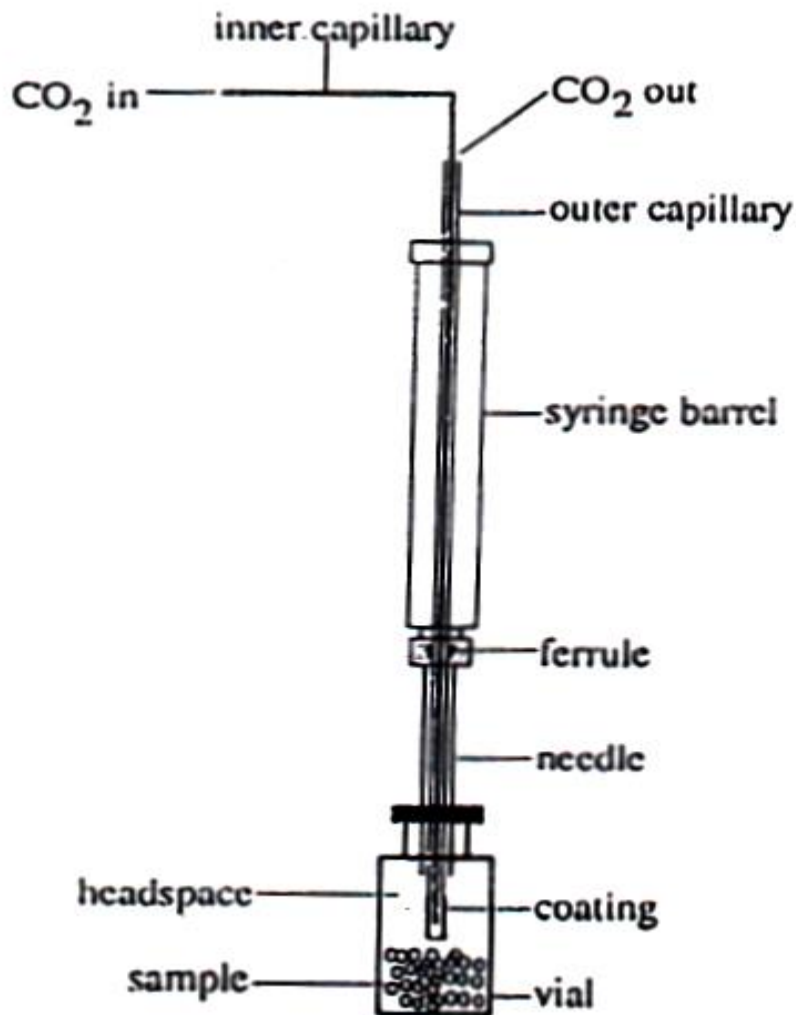
Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Prekoncentrační techniky - úprava vzorků

„Headspace“ techniky



Statická „Headspace“



SPME

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Prekoncentrační techniky - úprava vzorků

SPE – extrakce na tuhou fázi

- **Oblast použití: Analýza polutantů především ve vodách a ovzduší**

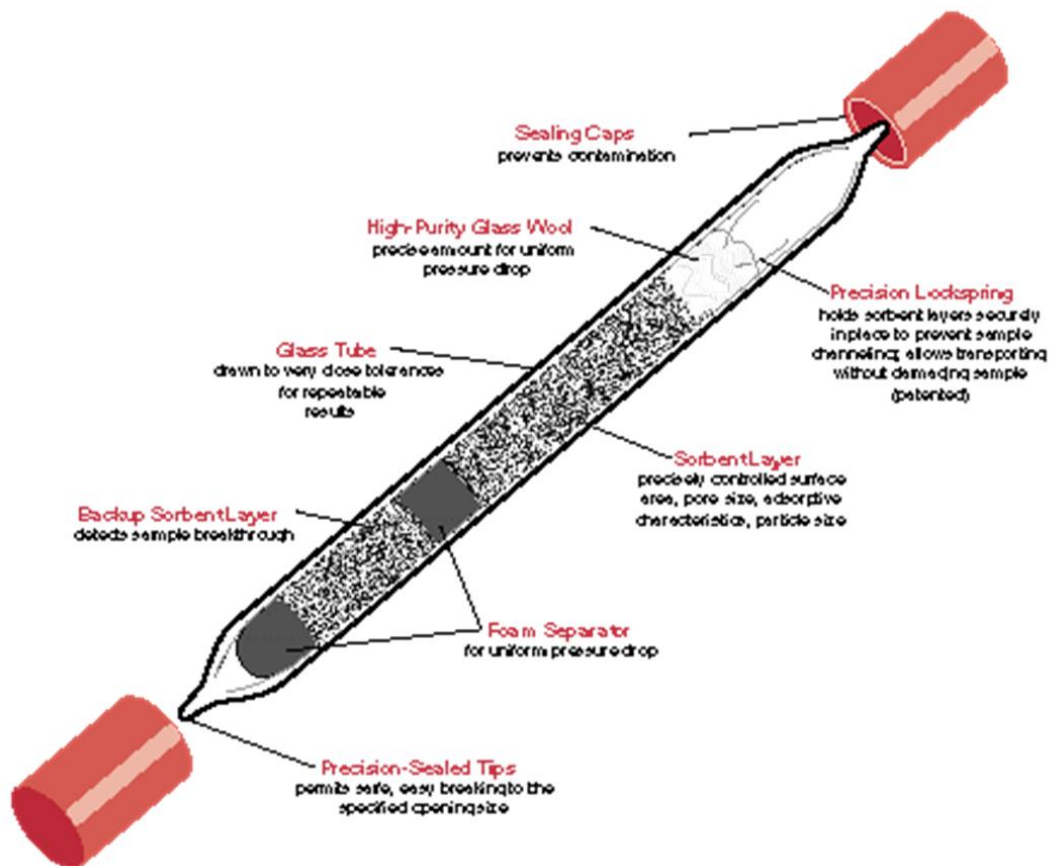
- **Techniky:**
 1. **Klasická SPE**
 2. **Extrakční disky**
 3. **Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)**

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Prekoncentrační techniky - úprava vzorků

SPE – extrakce na tuhou fázi

- Analýza ovzduší - Prosávání vzorku vzduchu pře trubičku se sorbentem



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Prekoncentrační techniky - úprava vzorků

SPE – stir bar sorptive extraction (SBSE)

- **Oblast použití: Analýza polutantů ve vodách**



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

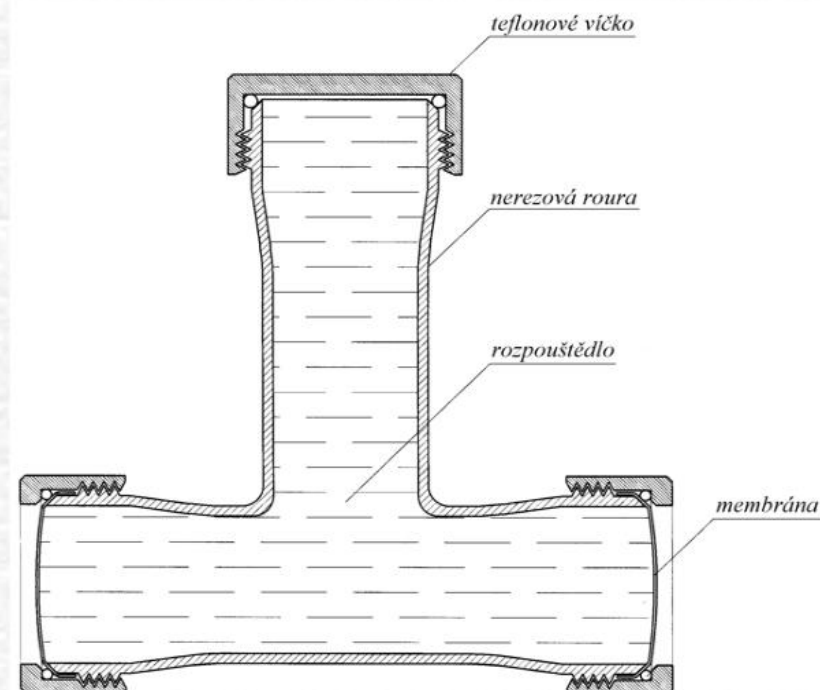
Prekoncentrační techniky - úprava vzorků

Pasivní vzorkovače s kapalinou

- **Oblast použití: Analýza polutantů ve vodách**

passive *in-situ*
concentration/extraction
sampler

- Nerezový T-kus
- n-hexan (200 ml)
- Membrána: LDPE
- Aplikace: vzorkování PCBs ve vodách

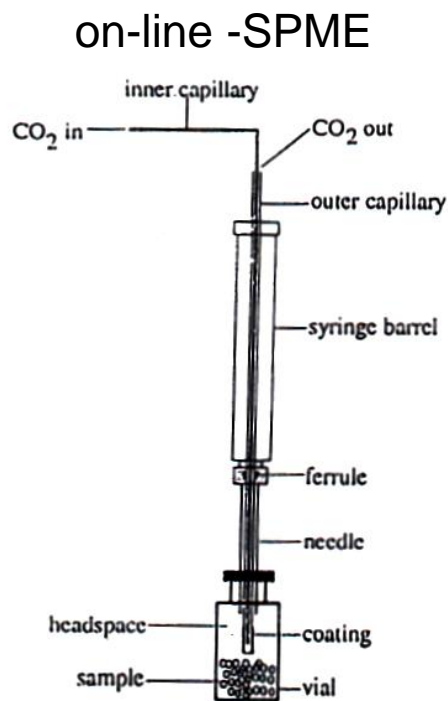


Stopová analýza organických polutantů v ŽP

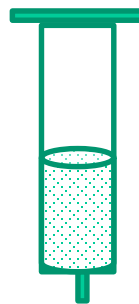
Prekoncentrační techniky - úprava vzorků

Klasická SPE vs. SPME

- Smysl – izolace a prekoncentrace analytů z matrice



on-line SPE



1 litr vody



Do 1 ml hexanu

**Prekoncentrace
POPs 1000x !!!**

Schéma: P. Kuráň, UJEP, 2015

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vlivy instrumentace

Dávkovací systém

Typy injektorů a dávkovacích technik

- „split/splitless injektor – dvě možnosti nástřiku:
 - „*split injection*“: pomocí děliče toku - na kolonu se přivádí jen část zplyněného nástřikovaného vzorku, používá se u kapilárních kolon, teplota injektoru konstantní – **nevhodný pro stopovou analýzu**
 - „*splitless injection*“: bez děliče toku - na kolonu po určitou dobu (6 až 90 s) přiváděn všechen nosný plyn se vzorkem, teplota injektoru konstantní, lepší pro stopovou analýzu, zakoncentrování vzorku v rozpouštědle tvořící film na hlavě kolony, zvýšením teploty v peci se pak složky vzorku postupně odpaří a putují kolonou.
- „on-column“ injektor - „*on-column injection*“ – nástřik injekční stříkačkou přímo do kapilární kolony – jako u náplňových
- LVI injektor – „Large Volume Injection“ – dávkovaný objem 10-250 μl , teplota injektoru konstantní
- „PTV“ injektor - „*PTV injection*“ (Programmed Temperature Vaporizing Injection) – nástřik vzorku do injektoru při nízké teplotě, programovaný ohřev injektoru, odstranění rozpouštědla – možnost dávkovat větší objemy vzorků – až 100 μl

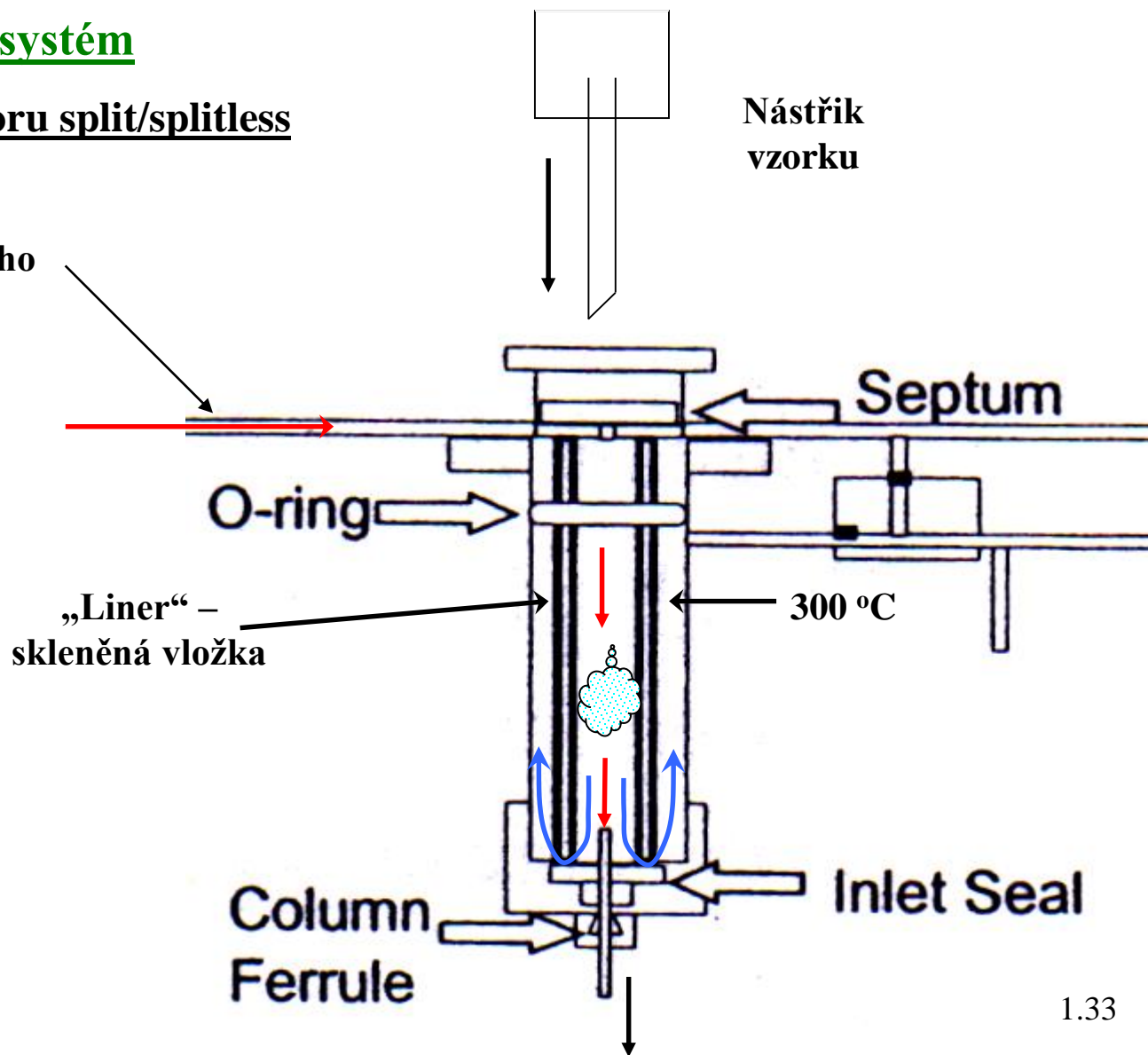
Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vlivy instrumentace

Dávkovací systém

Typy injektoru split/splitless

Přívod nosného plynu

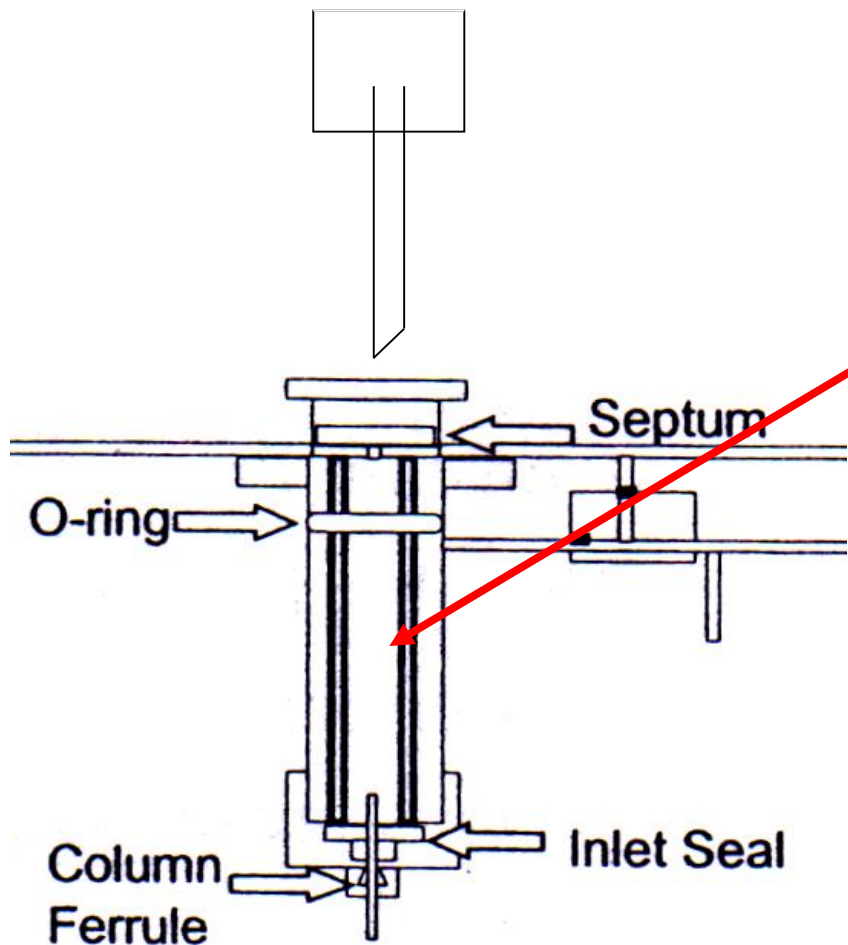


Stopová analýza organických polutantů v ŽP

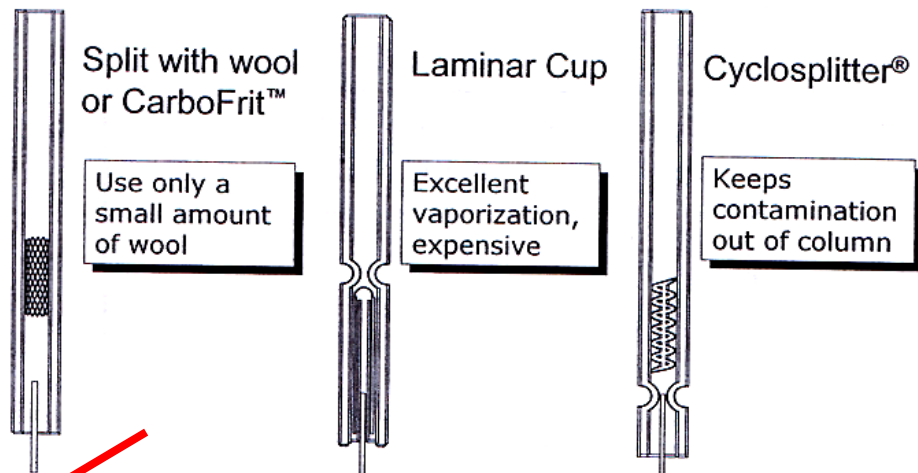
Vlvy instrumentace

Dávkovací systém

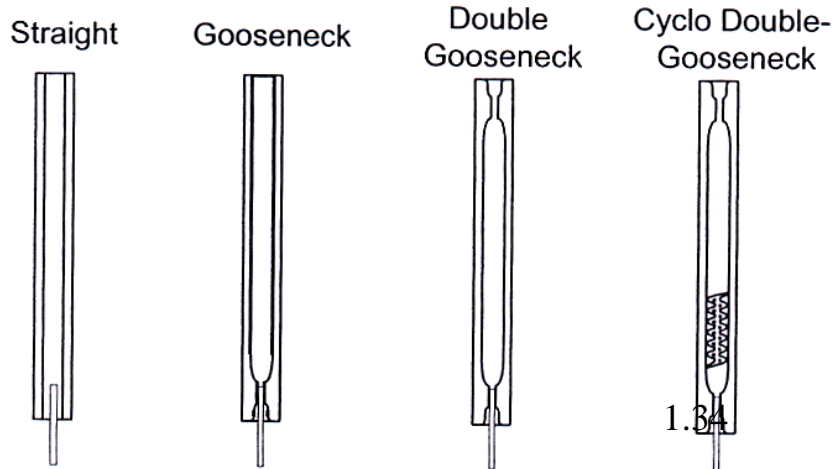
Typy injektoru split/splitless



Split Injection Liner Designs



Splitless Liner Designs



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

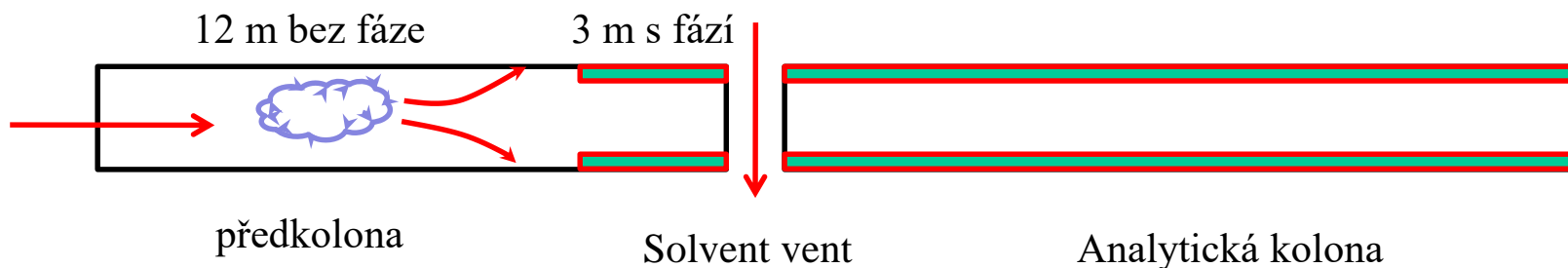
Vlivy instrumentace –prekoncentrace v injektoru

Typy injektoru LVI (Large Volume Injection)

- podobný injektoru split/splitless
- rozpouštědlo a analyty – zachyceny v lineru na nosiči nebo v předkoloně
- rozpouštědlo nesmí zahltit předkolonu
- odstranění rozpouštědla před analytickou kolonou
- Postup injektáže:

vzorek injektován do **vyhřátého** lineru injektoru se sorbentem v split režimu
odfoukání rozpouštědla z předkolony nebo nosiče,
přepnutí do splitless režimu,

funguje dobře pro semi-těkavé a netěkavé látky v těkavém rozpouštědlu

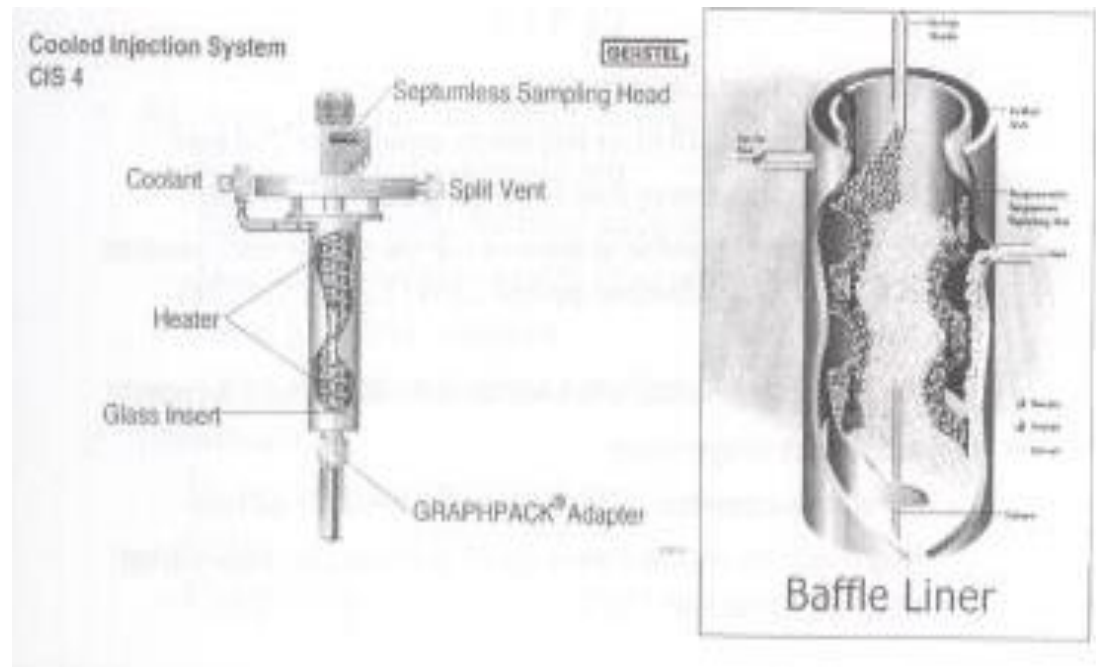


Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vlivy instrumentace – prekoncentrace v injektoru

Typy injektoru PTV (Programmed-temperature vaporization injektor)

- podobný injektoru split/splitless
- menší vnitřní objem + méně masivní → rychlé vyhřátí možné
- Postup injektáže:
vzorek injektován do **studeného** lineru injektora se sorbentem v split režimu
odfoukání rozpouštědla,
přepnutí do splitless,
rychlé vyhřátí injektoru
- funguje pro semi-těkavé
a netěkavé látky
v těkavém rozpouštědlu



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vlivy instrumentace – vliv kolony

Kolony

Zabezpečují separaci sledovaných látek

Důležitá **inertnost a stabilita** – „bleeding“ – horší LOD, LOQ

Náplňové kolony:

- o skleněné nebo z nerezové oceli
- o délka 1-6 m, ID (vnitřní průměr) 1-4 mm
- o s adsorbentem (GSC)
- o se stacionární fází na inertním nosiči (GLC)

Kapilární kolony

- o dnes křemenné s polyimidem, dříve ze skla, nerezi
- o délka 10-100 m, ID (vnitřní průměr) 0,1-0,75 mm

**Dominantní
dnes**



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vlivy instrumentace – vliv kolony

Kolony

Stacionární fáze:

Adsorbenty (s):

- o grafitizované saze,
- o silikagel,
- o teflon,
- o aluminosilikáty
- o zeolity

Zakotvené kapalně fáze:

- o polyethylenglykoly (Carbowax),
- o polypropylenglykoly (Ucon),
- o polyestery,
- o silikony,
- o polysiloxany – dominantní postavení dneska !!!

Kapalně fáze je zakotvena buď na nosiči (u náplňových kolon), nebo na vnitřním povrchu kapiláry (u kapilárních kolon).

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vlivy instrumentace – vliv kolony

Kolony

Sedm hlavních faktorů ovlivňujících separaci látek:

- Typ stacionární fáze v koloně
- Tloušťka filmu stacionární fáze v koloně
- Délka kolony
- Vnitřní průměr kolony
- Typ nosného plynu
- Rychlost nosného plynu
- Teplota (teplotní program) pece

Určeno kolonou



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Volba separačního systému

Analýza těkavých látek

VÝBĚR STACIONÁRNÍ FÁZE

- Polárnější polutanty - metanol, aceton, acetaldehyd, fenol
- výběr **polární** stacionární fáze na bázi polyetylenglykolu – Carbowax, Stabilwax
- rozpouštědlo – polární – aceton, isopropanol, voda
- větší tloušťka filmu – 0,5 – 3 μm

- Nepochární polutanty – BTEX, VOX
- výběr **nepochární** stacionární fáze na bázi polymetylsiloxanů
- rozpouštědlo – nepochární – CS_2 , dichlormethan
- větší tloušťka filmu - 0,5 – 3 μm

- Plyny – metan, H_2 , O_2 , CO, etan
- výběr fáze s **tuhým sorbentem** (Al_2O_3)

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Volba separačního systému

Analýza netěkavých látek

VÝBĚR STACIONÁRNÍ FÁZE

- Polárnější polutanty – vyšší aldehydy, ketony
- výběr **polární** stacionární fáze na bázi polyetylenglykolu – Carbowax, Stabilwax
- rozpouštědlo – polární – aceton, isopropanol, voda
- TENČÍ film stacionární fáze

- Nepochární polutanty – PAU, PCB, dioxiny, retardéry hoření
- výběr **nepochární** stacionární fáze na bázi polymetylsiloxanů
- rozpouštědlo – nepochární – hexan, toluen
- TENČÍ film stacionární fáze

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Volba separačního systému

Analýza těkavých látek

VÝBĚR KOLONY

- Pro většinu aplikací – křemenná kapilára potažená zvenčí polyamidem
– výjimka při analýze plynů – náplňové kolony
- Délka: 30 - 60 m,
- Vnitřní průměr: 0,25 mm – 0,53 mm,
- Tloušťka filmu: 0,52 – 3 μm
- Čím větší tloušťka filmu → delší retenční časy
→ větší separační účinnost!

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Volba separačního systému

Analýza netěkavých látek

VÝBĚR KOLONY

- Pro většinu aplikací – křemenná kapilára potažená zvenčí polyamidem pro biodiesel a ropu - metalické kolony
- Délka: 10 - 30 m,
- Vnitřní průměr: 0,18 mm – 0,32 mm,
- Tloušťka filmu: 0,05 – 1,5 μm
- Čím větší tloušťka filmu → delší retenční časy
→ větší separační účinnost!

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Volba separačního systému

Analýza těkavých látek

VÝBĚR INJEKTORU A DÁVKOVACÍ TECHNIKY

Koncentrace polutantů

- velká - split
- malá – splitless
- stopová – splitless, zřídka PTV (LVI)

VÝBĚR DÁVKOVACÍHO ZAŘÍZENÍ

Koncentrace polutantů

- velká – manuálně, autosampler
- malá – autosampler
- stopová – autosampler s headspace a SPME moduly
dynamická headspace
purge&trap

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Volba separačního systému

Analýza netěkavých látek

VÝBĚR INJEKTORU A DÁVKOVACÍ TECHNIKY

Koncentrace polutantů

- velká – split, splitless
- malá – splitless
- stopová - PTV (LVI)

VÝBĚR DÁVKOVACÍHO ZAŘÍZENÍ

Koncentrace polutantů

- velká – manuálně, autosampler
- malá – autosampler
- stopová – autosampler s SPME moduly – vlákno přímo do kapalného vzorku

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Detektory

Detektory v GC

- **tepelně vodivostní (TCD)**
- **plamenově – ionizační (FID)**
- **plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem (AFID nebo i NPD)**
- **detektor elektronového záchytu (ECD)**
citlivý, vhodný pro detekci halogenů
- **heliový ionizační detektor (HeD)**
- **plamenový fotometrický detektor (FPD)**
- **fotoionizační detektor (PID)**
- **detektor elektrolytické vodivosti (ELCD)**
- **specifické detektory a kombinované techniky:, GC-MS, GC-AED, GC-FTIR aj.**

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Detektory v GC

Detektory - GC

Tepelně vodivostní detektor (TCD, katarometr)

- Často používaný, oblíbený detektor - univerzálnost
- Oblast linearity odezvy - vysoká
- Nosný plyn - co nejodlišnější hodnotu tepelné vodivosti ve srovnání s tepelnou vodivostí analyzovaných látek - helium nebo vodík
- V praxi se vedle sebe zapojují dva TCD detektory, do jedné z měrných cel se přivádí čistý nosný plyn, do druhé plyn vycházející z kolony
- Přítomností eluované složky v nosném plynu se vlákno v měrné cele ochlazuje méně než vlákno v cele srovnávací

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

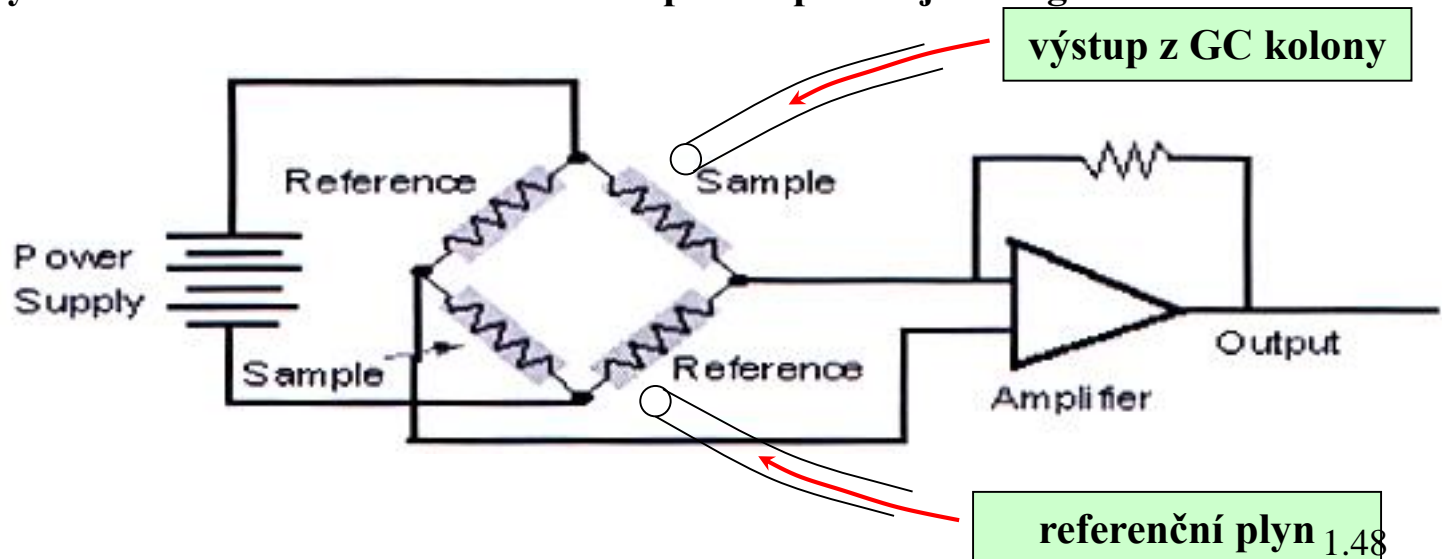
Detektory v GC

Tepelně vodivostní detektor (TCD, katarometr)

Princip měření - zahřáté těleso se ochlazuje rychlostí závislou na složení okolního prostředí, které teplo odvádí

Detektor obsahuje zahříváné **odporové vlákno**, které se **ochlazuje protékajícím plynem**, změna jeho elektrického odporu,

Když detektorem prochází pouze nosný plyn - vlákno se ochlazuje rovnoměrně, jeho teplota i odpor jsou konstantní, obsahuje-li nosný plyn eluovanou látku, dojde ke změně teploty vlákna a ke změně elektrického odporu – pozorujeme signál

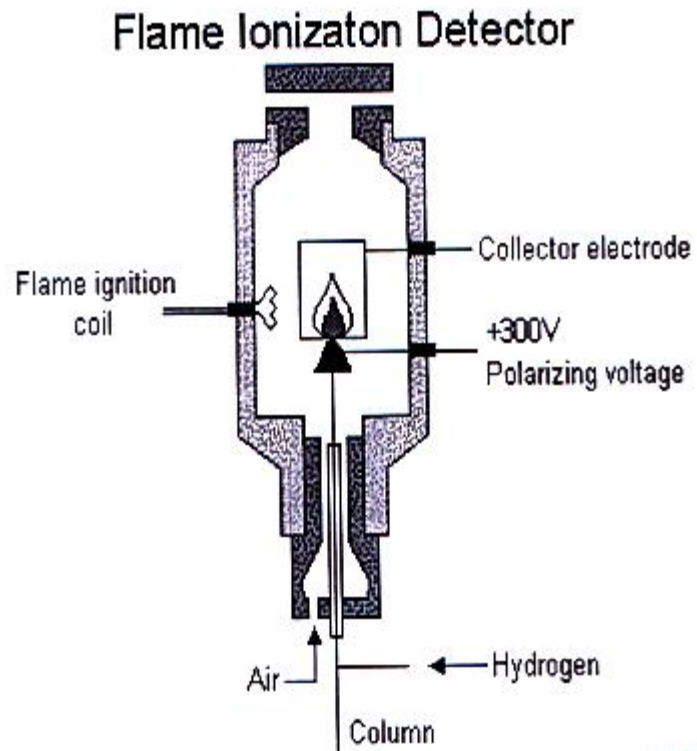


Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Detektory v GC

Plamenově-ionizační detektor (FID)

- **FID** - odezva téměř na všechny organické látky obsahujících C-H vazby
- **Pro uhlovodíky** - odezva úměrná počtu C atomů v molekule
- **Odezvu nedává většina anorganických plynů a par a některé organické látky (formaldehyd, CCl₄)**
- **Zanedbatelná odezva pro vzduch a vodu** - výhoda - k analýzám nečistot v ovzduší a vodných roztoků

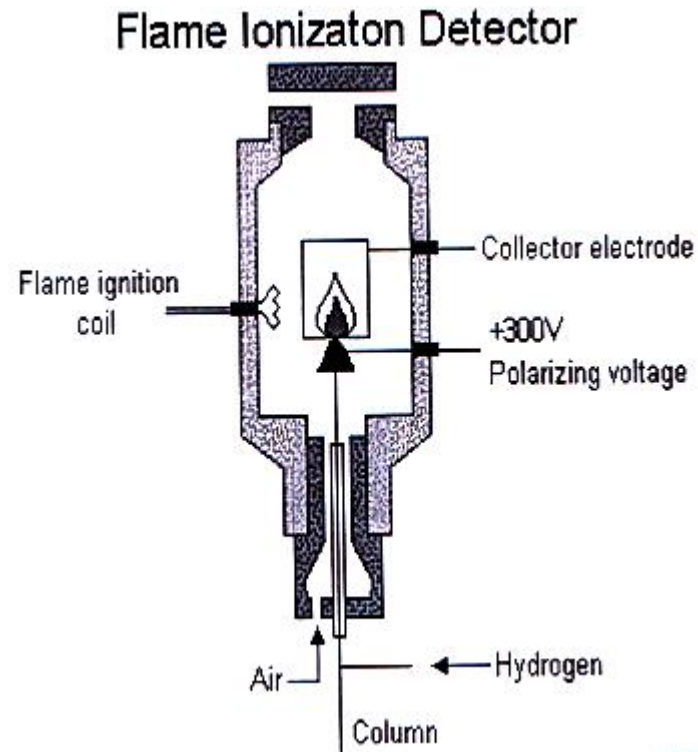


Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Detektory v GC

Plamenově-ionizační detektor (FID)

- Plyn z kolony - zaváděn do kyslíko-vodíkového **plamene** - probíhají **chemionizační reakce** vedoucí ke vzniku nabitých částic (**iontů**) – čistý $O_2 - H_2$ plamen obsahuje jenom radikály (nenabité částice) $OH\cdot$, $H\cdot$, $O\cdot$,
- V elektrickém poli dochází ke vzniku elektrického proudu
- Cíl - dosáhnout co nejdokonalejšího sběru iontů
- Měříme zde ionizační účinnost hoření

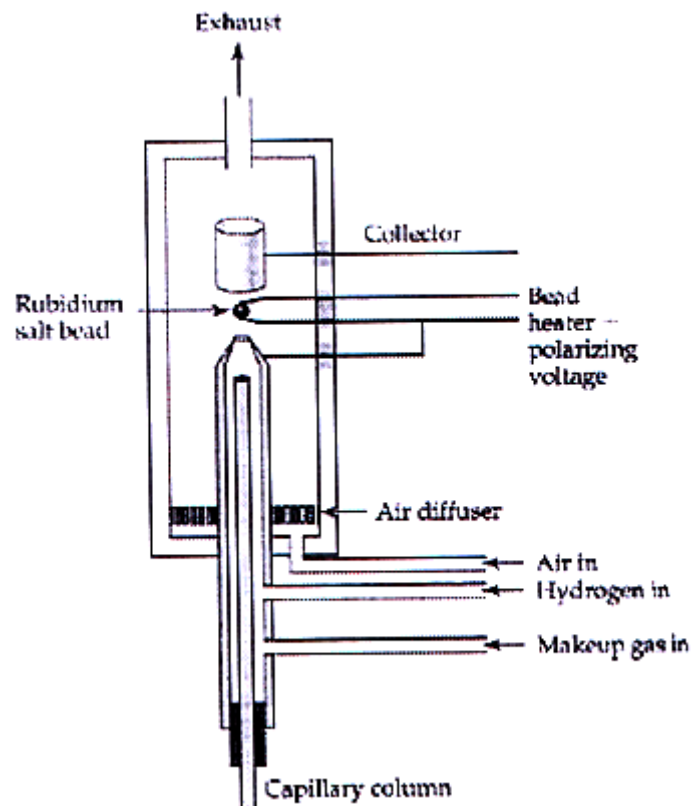


Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Detektory v GC

Plamenový ionizační detektor s alkalickým kovem (AFID nebo i NPD)

- o Modifikace FID - k ústí trysky je umístěna peleta soli alkalického kovu (CsBr, KCl)
- o AFID je vhodný zejména ke stanovení fosforu, dusíku a síry v organických sloučeninách
- o Odezva na tyto heteroatomy je mnohonásobně vyšší než pro ostatní organické látky
- o AFID je typickým příkladem selektivního detektoru, někdy se označuje jako „dusík-fosfor detektor“

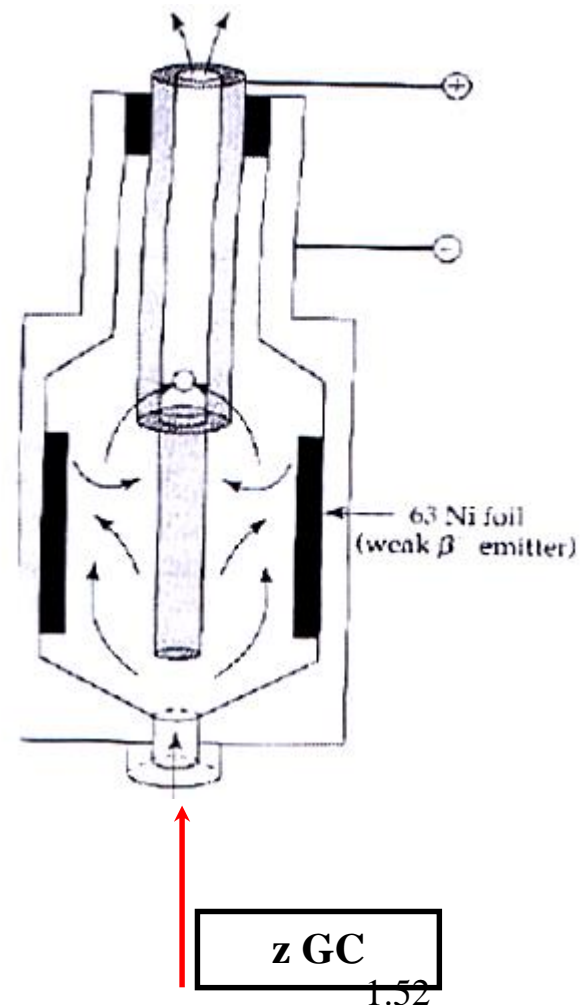


Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Detektory v GC

Detektor elektronového záchytu (ECD)

- Selektivní ionizační detektor citlivý na elektronegativní atomy, zejména na halogeny
- Zdroj ionizace - ^3H nebo ^{63}Ni , emitující částice β
- Nosný plyn (dusík) - vlivem β záření ionizován - vznik konstantního proudu pomalých elektronů
- Atomy halogenů (elektronegativní atomy) zachytávají pomalé elektrony - snížení ionizačního proudu
- Snížení proudu - měřítkem koncentrace daných elektronegativních atomů
- Nejmenší detegované množství - o několik řádů nižší než u FID
- Detektor - pro stopovou analýzu pesticidů, PCB, VOX v životním prostředí



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Detektory v GC

Heliový ionizační detektor (HeD)

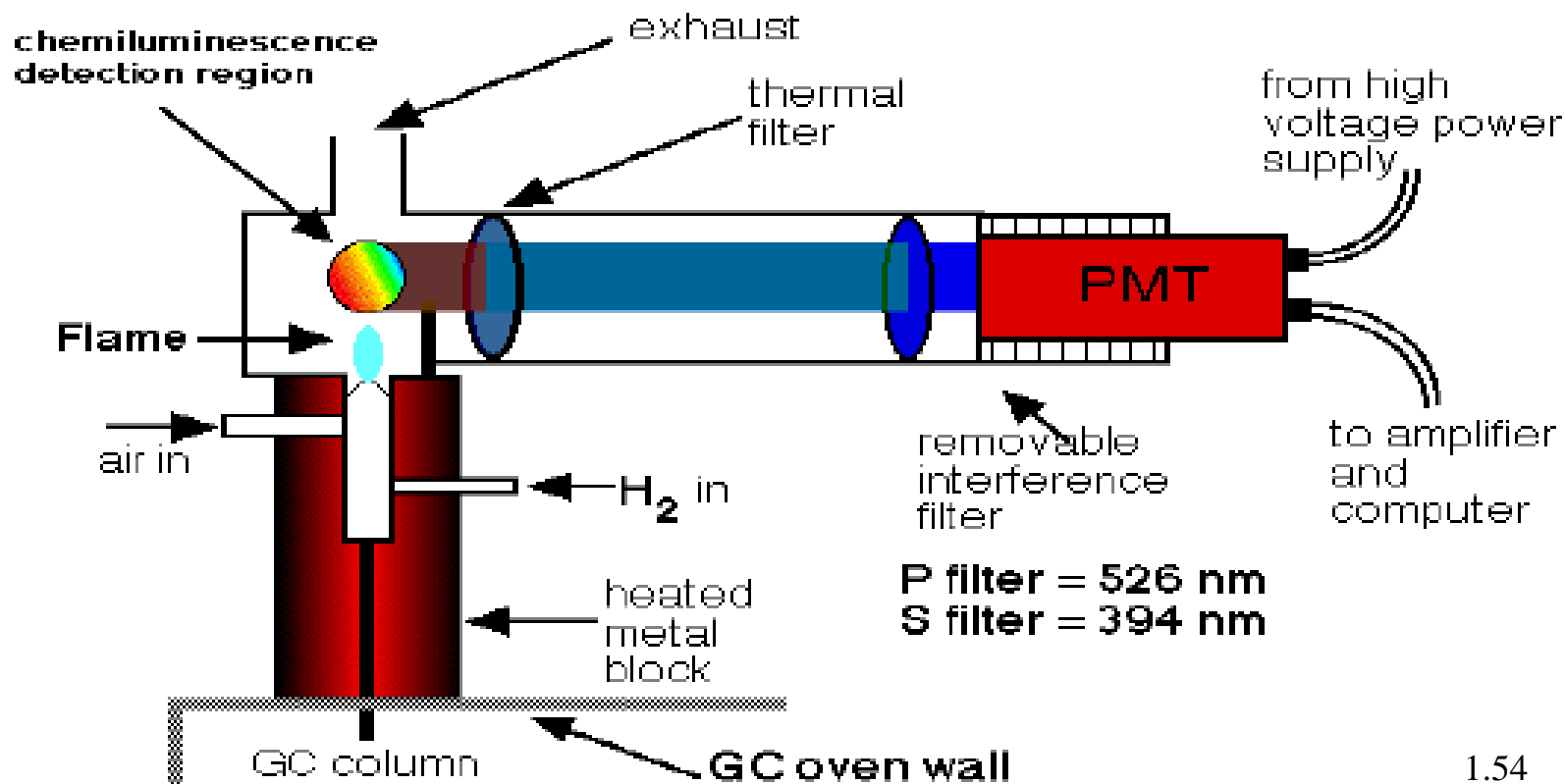
- Detektor pracuje na principu ionizace heliovými atomy vzbuzenými do metastabilního stavu s vysokým ionizačním potenciálem
- Nestabilního stavu heliových atomů je dosahováno absorpcí elektronů emitovaných z radioaktivního zdroje při současném působení elektrického pole o velké intenzitě
- Patří k univerzálním detektorům, citlivý na organické i anorganické sloučeniny, včetně permanentních plynů
- Všechny sloučeniny s nižším ionizačním potenciálem jsou ionizovány a poskytují signál úměrný jejich množství
- Nosný plyn - potřeba používat helium

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Detektory v GC

Plamenový fotometrický detektor (FPD)

- o Měří emitované záření při spalování v H_2 plameni
- o Vysoce selektivní pro S a P

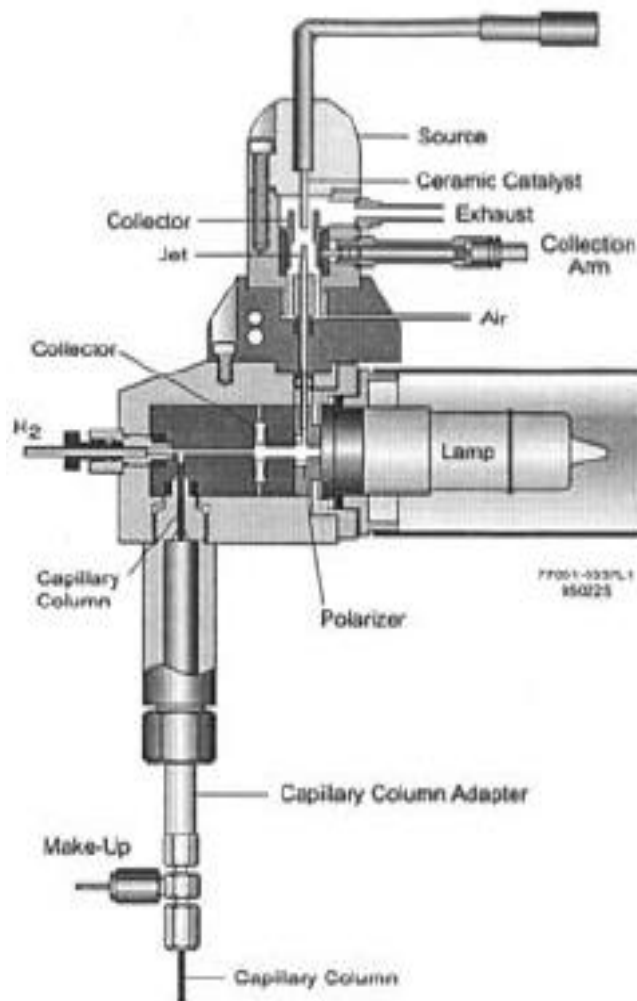


Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Detektory v GC

Fotoionizační detektor (PID)

- o **Použitelnost: Ionizace sloučenin s IP < 10,6 eV, především pro aromáty**
- o **Nedetekuje MeOH a vodu**
- o **Nedestruktivní – možná kombinace s jinými detektory v sérii**
- o **velký lineární rozsah (10^7)**

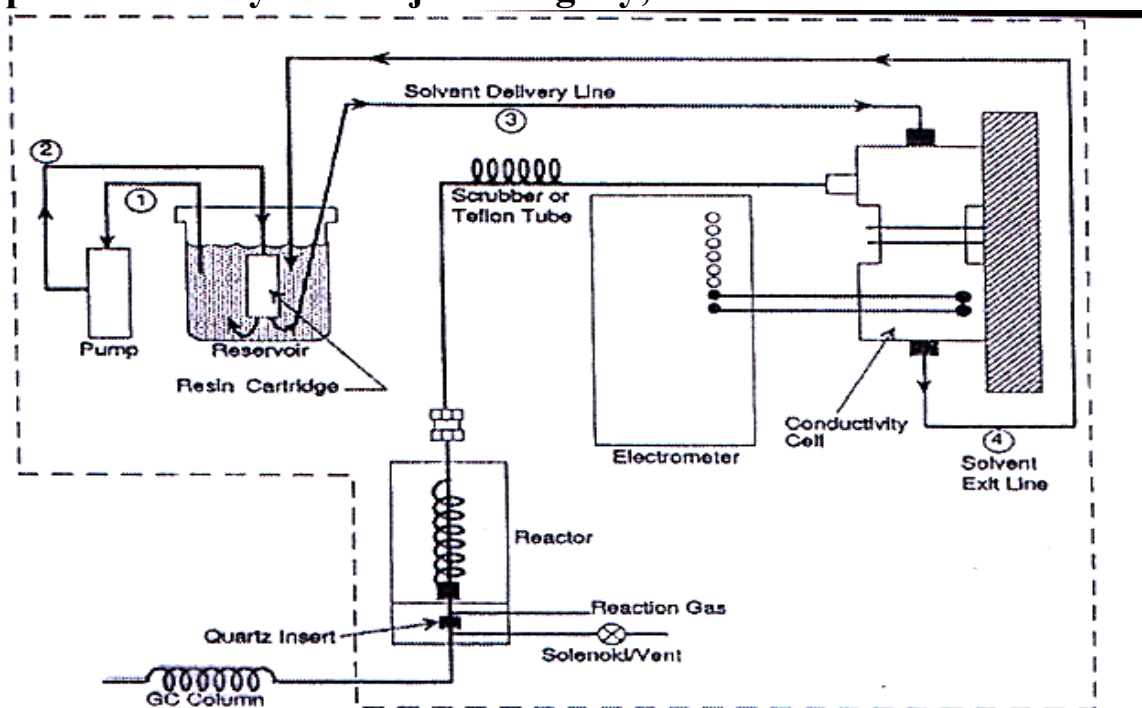


Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Detektory v GC

Detektor elektrolytické vodivosti (ELCD)

- Separované složky jsou na výstupu z kolony oxidované nebo redukovány (závisí od jejich charakteru) proudem plynu (H_2 nebo O_2) v malé peci, zplodiny postupují do vodivostní cely s rozpouštědlem
- Měří se změny elektrolytické vodivosti po smíchání zplodin s rozpouštědlem
- selektivní pro sloučeniny obsahující halogeny, N a S



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Detektory v LC

Detektory v LC

- **optické,**
- **spektrální,**
- **elektrochemické,**
- **specifické detektory v kombinaci s LC:, LC-MS, LC-IR**

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Detektory v LC

UV Detektor

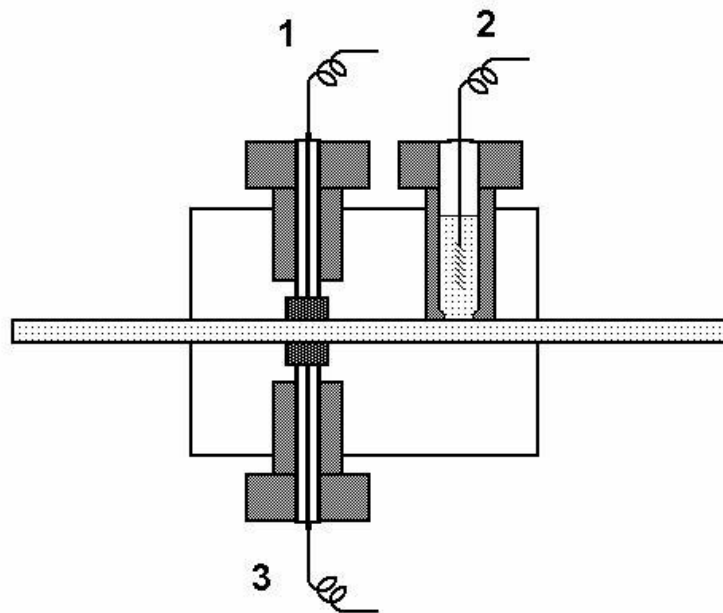
- o Monitorování při zvolené vlnové délce (254 nm, 366 nm) v rozsahu 200-800 nm
- o Není možnost získat UV-VIS spektrum separovaných složek
- o Detekce aromátů a barevných sloučenin

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Detektory v LC

Elektrochemické detektory v LC

- měří určitou elektrickou veličinu (**elektrodový potenciál, proud, kapacita**) **vyvolanou průchodem látky průtokovou celou detektorem**, ve které jsou umístěny elektrody s vloženým pracovním napětím nezbytným k průběhu elektrochemické reakce
- Systém 2 nebo 3 elektrod
- Další proměnná veličina - záznam času
- Měřený elektrický signál - úměrný **n** (mol) detekované složky - sledování závislosti mezi elektrickou veličinou a **c** analytu



1. pracovní elektroda, 2. pomocná elektroda,
3. referenční elektroda

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Detektory v LC

Elektrochemické detektory v LC

Typy elektrochemických detektorů

- o Amperometrické (polarografické) detektory

- * **měří proud** vyvolaný průchodem redukované nebo oxidované látky průtokovou celou detektorem

- * **Měrná elektroda - tuhá**

- zhotovena ze skelného uhlíku, grafitových vláken, zlata, platiny, mědi či jiného kovu.

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Detektory v LC

Elektrochemické detektory v LC

Typy elektrochemických detektorů

- o **Coulometrické detektory**

měří **náboj** potřebný k oxidaci či redukci celkového množství látky při jejím průtoku měrnou celou detektoru

vyšší citlivosti detekce než u amperometrických detektorů.

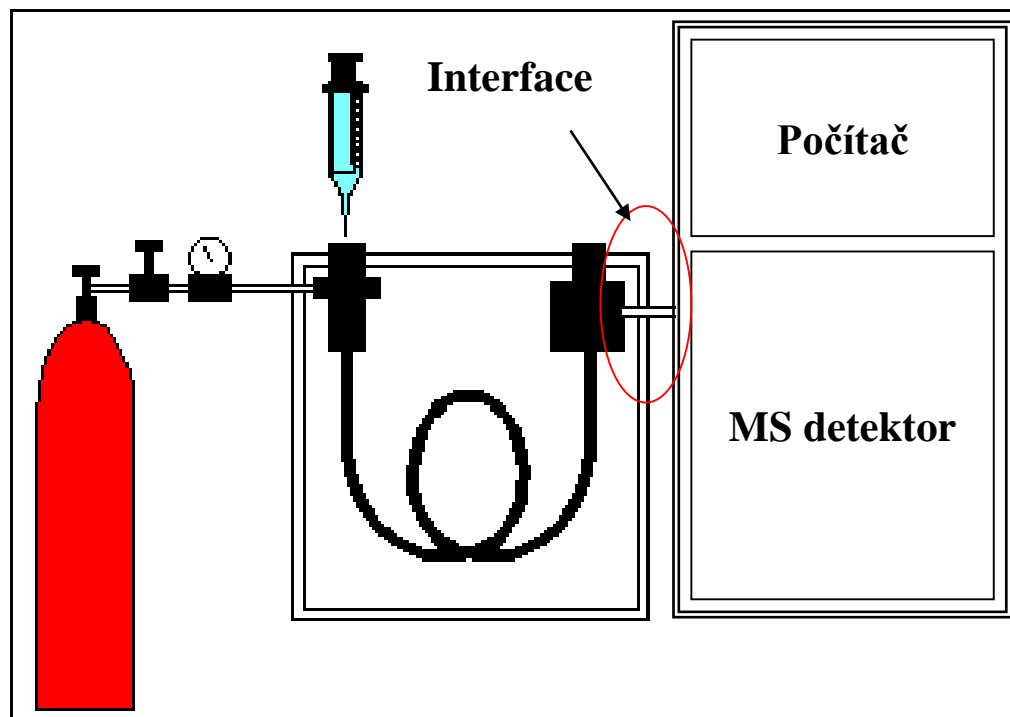
- o Účinnost elektrochemické reakce - zvýšit použitím tzv. elektrody fritového typu (mobilní fáze protéká porézní grafitovou pracovní elektrodou)
- o Výhoda - vysoká účinnost, stabilita (snižuje se poměr signálu k šumu), selektivita, větší povrch proti klasické elektrodě, oxidačně-redukční reakci na povrchu elektrody podléhá více jak 90 % přítomného analytu.

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Spektrální detektory v kombinaci s GC

GC-MS - Hmotnostně spektrometrický detektor

- o Velice citlivý detektor vhodný pro identifikaci analyzovaných složek směsi
- o Organické molekuly se v MS fragmentují
- o MS detektor - univerzální
- o Vyhodnocení záznamu z MS databanka (identifikace složek)
- o Problematická část GC/MS interface spojující GC a MS – MS vyžaduje hluboké vákuum GC – z kolony příliš plynu



- o Lépe se s MS detektorem spojují kapilární kolony než kolony náplňové
- o Kombinace GC-MS patří dnes k nejprogressivnějším analytickým technikám ^{1.62}

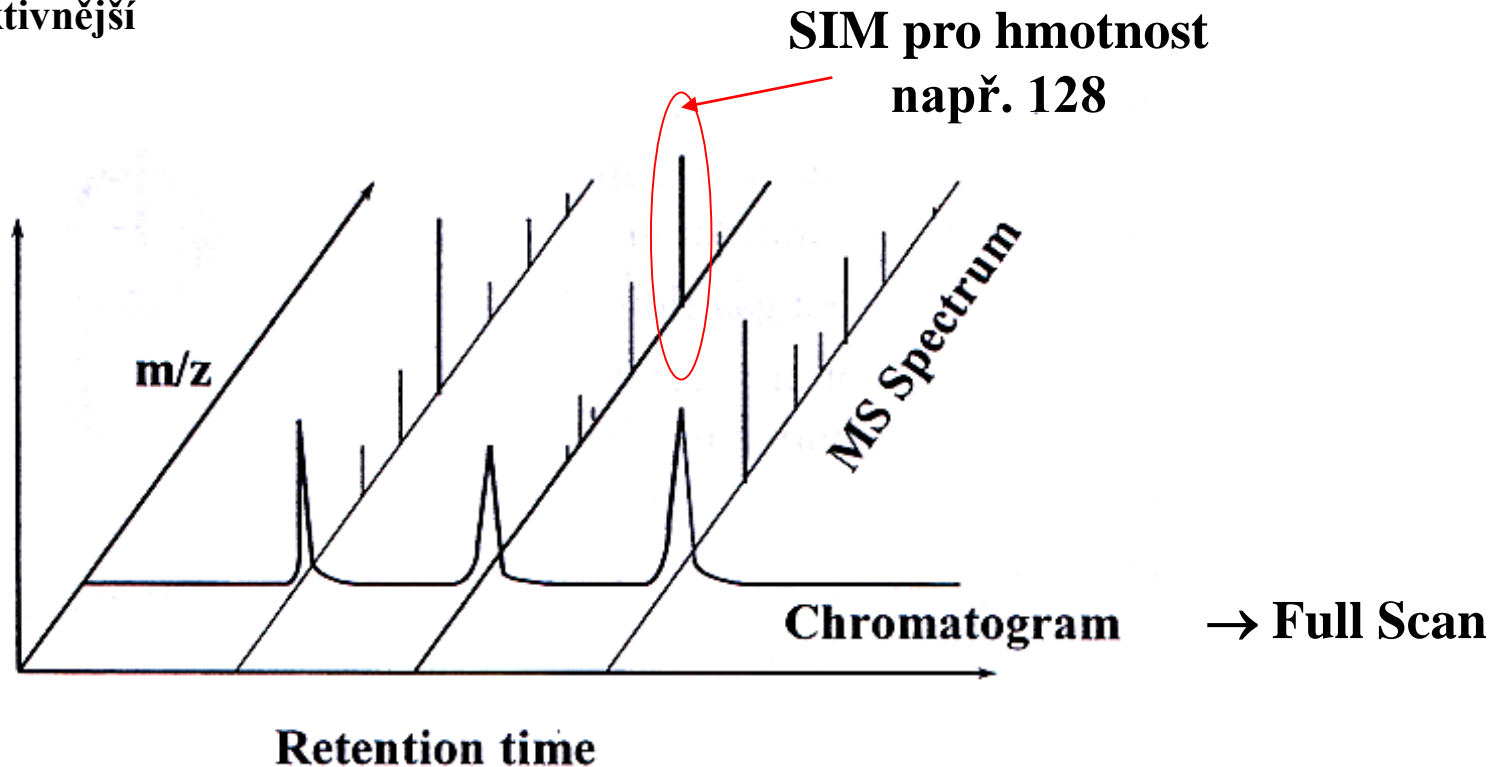
Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Spektrální detektory v kombinaci s GC

GC-MS - Hmotnostně spektrometrický detektor

Dva pracovní režimy :

- 1: Full Scan – výsledek – Total Ion Chromatogram („TIC“) + MS spektrum
2. SIM – monitorování zvoleného iontu reaps.hmotnosti – pro stopovou analýzu, selektivnější



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

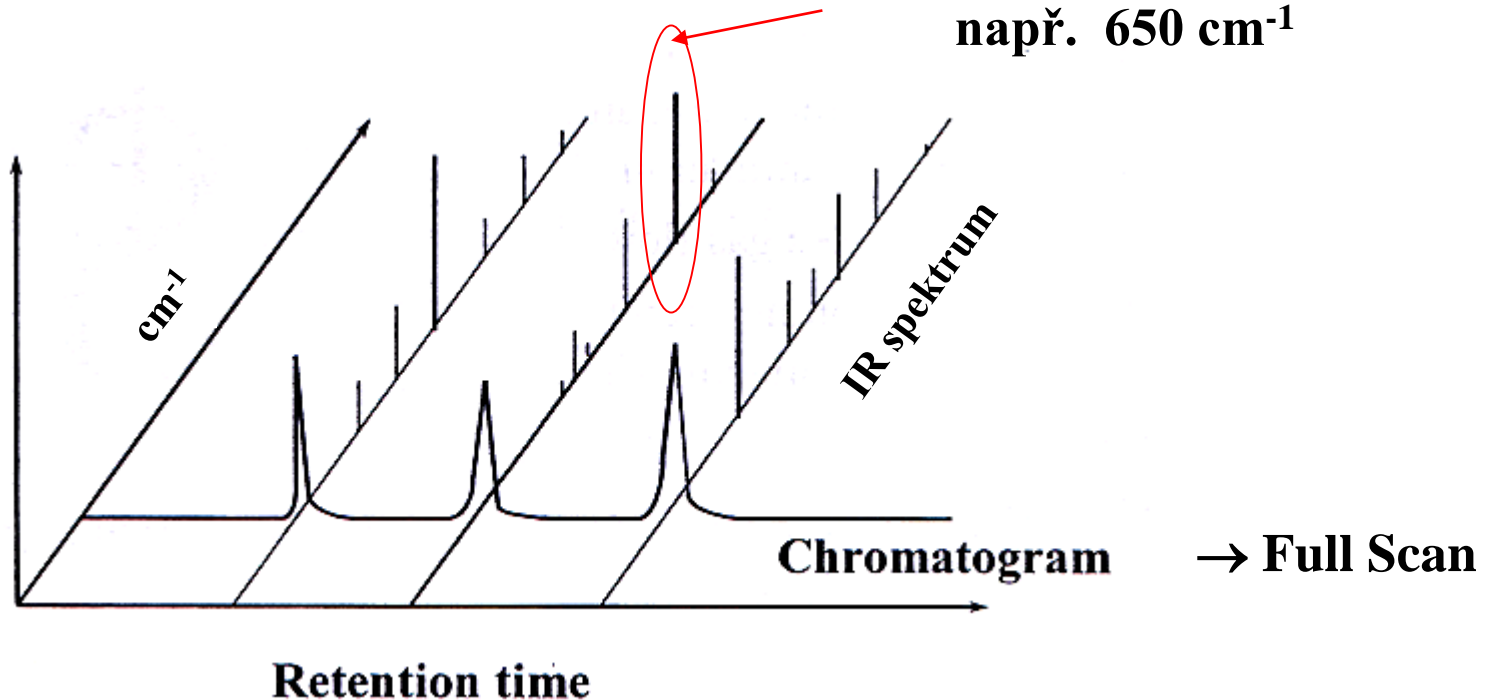
Spektrální detektory v kombinaci s GC

GC-FTIR – Infračervený detektor s fourierovou transformací

Dva pracovní režimy :

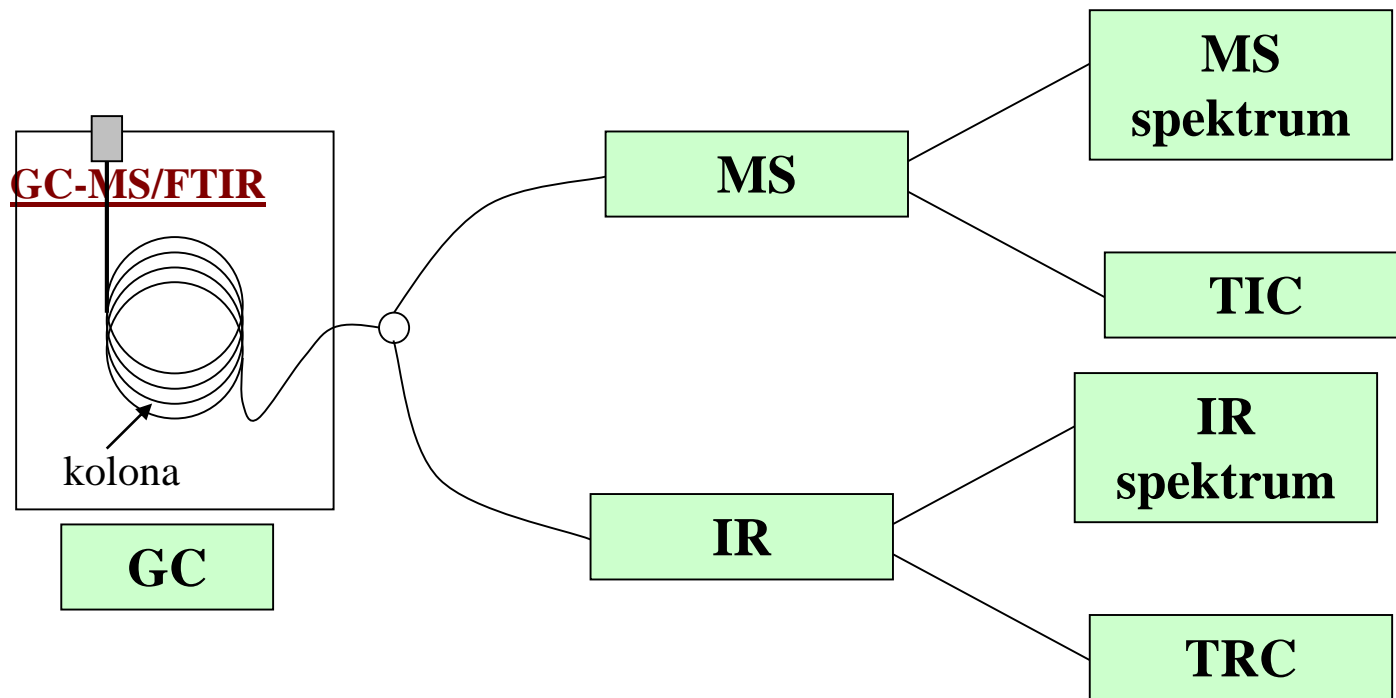
- 1: Full Scan – výsledek – Total Response Chromatogram („TRC“) + IR spektrum
2. SWM – monitorování zvoleného rozsahu vlnových délek resp. vlnočtů – pro stopovou analýzu, selektivnější

SWM pro vlnočet
např. 650 cm^{-1}



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Spektrální detektory v kombinaci s GC



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Spektrální detektory v kombinaci s GC

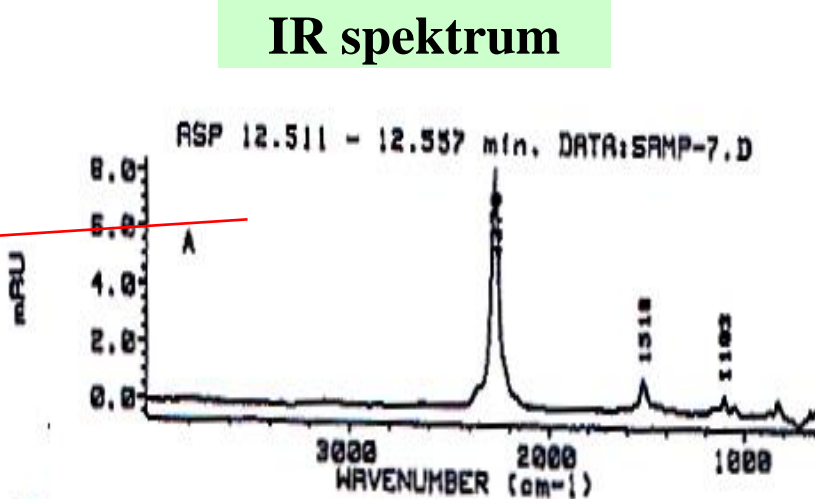
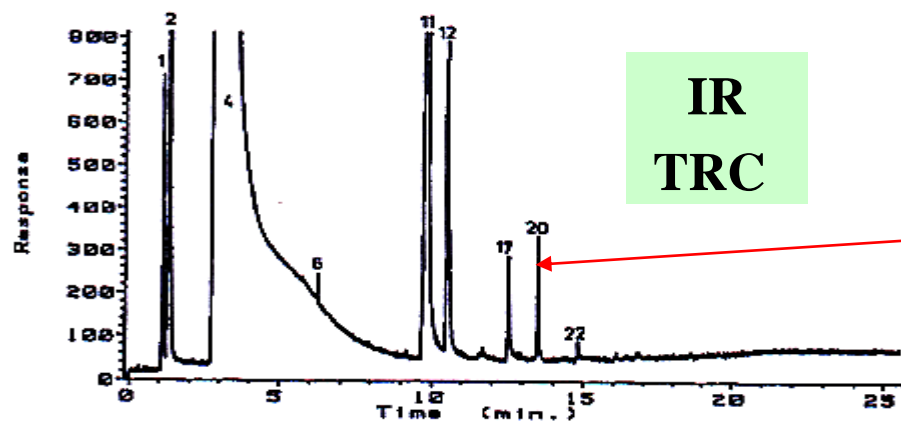
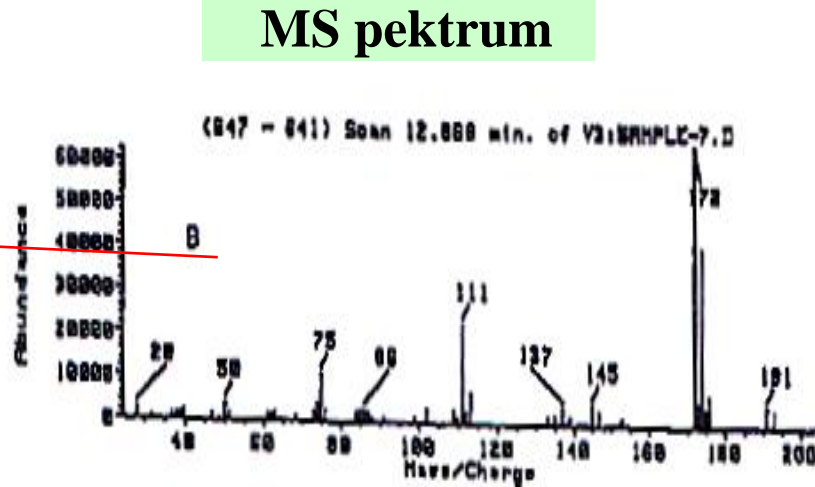
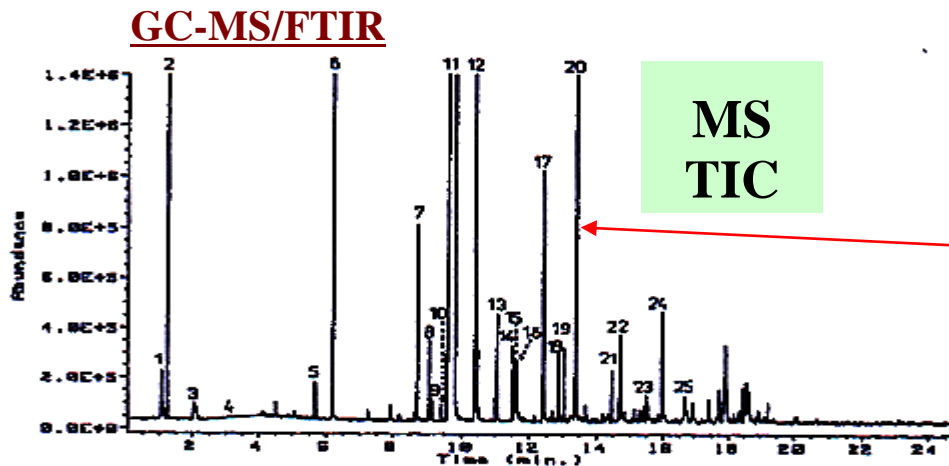


Figure 1
Total Ion Chromatogram (top) and Total Response Chromatogram (bottom) after irradiation of NB-CCl₄ solution.

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Spektrální detektory v kombinaci s LC

Detektor s diodovým polem (HPLC-DAD)

- o V podstatě UV-VIS detektor – 200-800 nm
- o Možnost získat UV-VIS spektrum separovaných složek
- o Detekce aromátů a barevných sloučnin

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Spektrální detektory v kombinaci s LC

LC-MS

- **Komplementární k GC-MS**
- **Vhodná pro analýzu polárních látek**
- **Koncovka stejná jako u GC-MS**
- **Rozdíly – mobilní fáze kapalina, ionizace – elektrosprej**
- **Dva režimy měření - jako u GC-MS**

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Spektrální detektory v kombinaci s LC

LC-IR

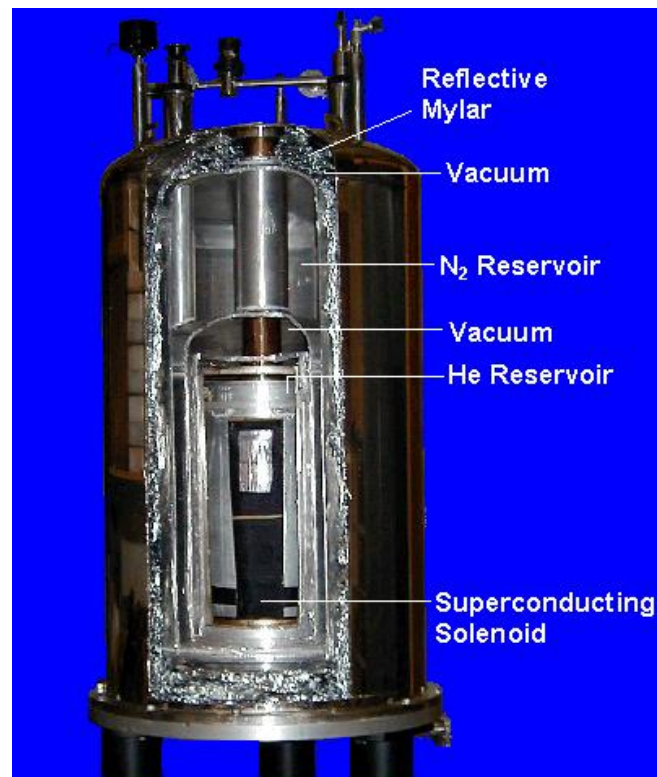
- o Komplementární k GC-IR
- o Vhodná pro analýzu polárních látek
- o Koncovka stejná jako u GC-IR
- o Rozdíly s GC-MS– mobilní fáze kapalina
- o Dva režimy měření - jako u GC-IR

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Spektrální detektory v kombinaci s LC

LC-NMR

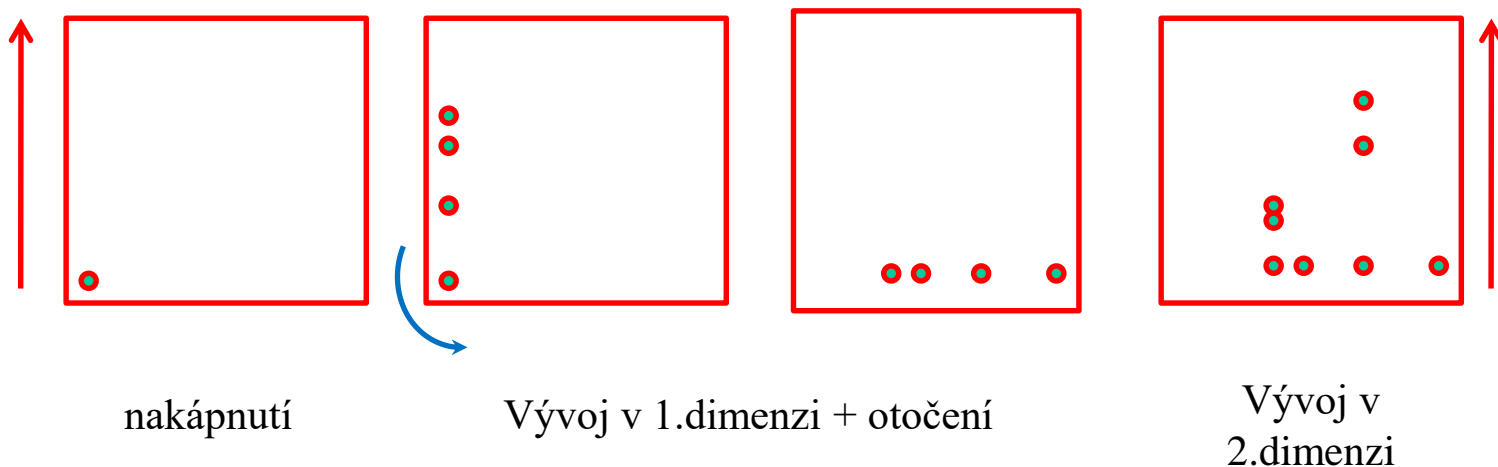
- Co je spektroskopie nukleární magnetické resonance ?
fyzikálně-chemická metoda využívající interakce atomových jader (s nenulovým jaderným spinem - ^1H , ^{13}C) s magnetickým polem (MP)
- NMR spektrum separovaných analytů
- Nutnost odstranit mobilní fázi a převést do deuterovaného rozpouštědla
- Vhodná pro analýzu polárních látek



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vícerozměrné techniky – detailněji v jiném předmětu

- ŽP - Komplexní směsi 20-100 látek – nemožné separovat všechny složky jedinou chromatografickou metodou
- Důvody limitace – konečné rozlišení, píková kapacita, náhodná distribuce píků
- Teoretické řešení – kolony dlouhé několik km
- Praktické řešení – využití více separačních dimenzí
- **Dimensionalita separační metody** – počet různých separačních mechanismů, kterým je vzorek podroben, dobře funguje v TLC



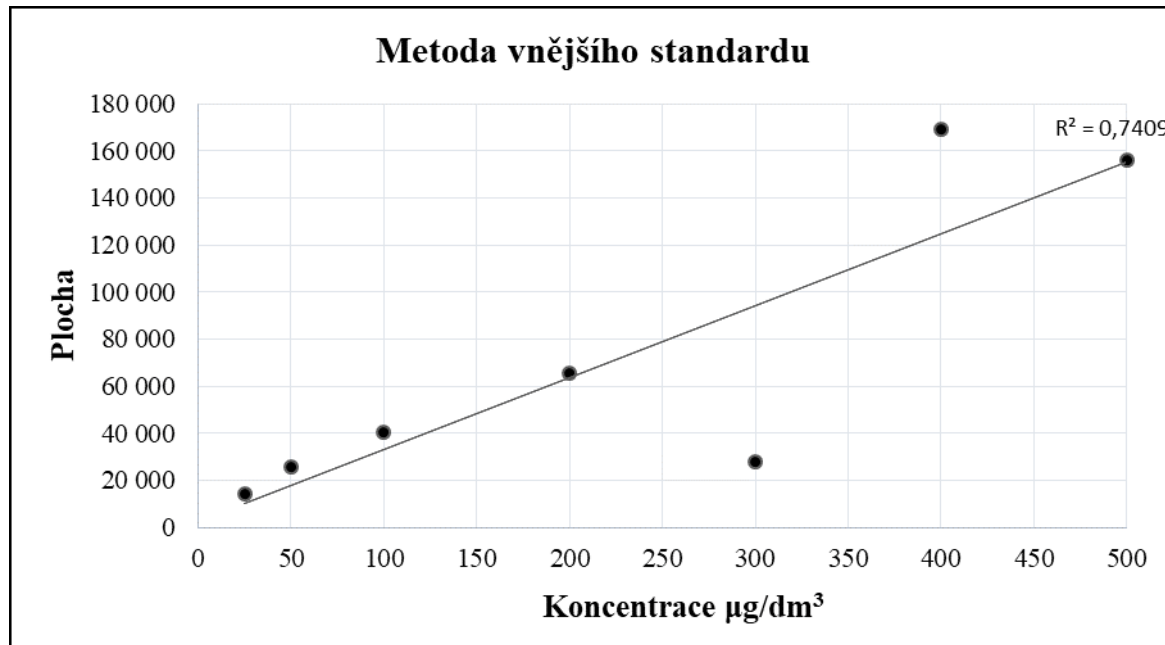
Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Metody kvantitativní analýzy

Měří se plocha piků separovaných látek.

- **absolutní kalibrace - ESTD: Konstruuje se kalibrační závislost obvyklým způsobem – externí kalibrace**

$$A = k \cdot c + b \quad \Longrightarrow \quad c = (A - b) / k$$

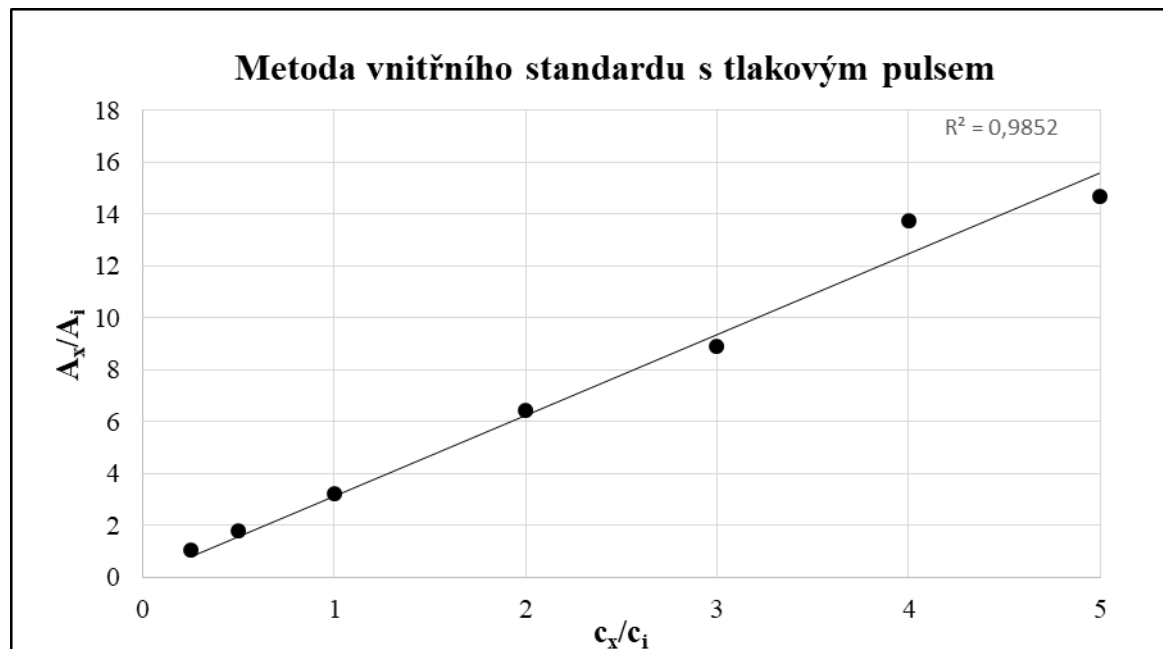


Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Metody kvantitativní analýzy

- **Metoda vnitřní standardizace - ISTD:** Ke vzorku se přidá známé množství standardní látky. Plochy píků stanovovaných látek se porovnají s plochou píku standardu.

$$A/A_i = k \cdot c/c_i + b \quad \Longrightarrow \quad c/c_i = (A/A_i - b)/k \quad \Longrightarrow \quad c = c_i \cdot (A/A_i - b)/k$$



Stopová analýza organických polutantů v ŽP Zpracování získaných dat – požadavky na software)

Požadavky na software

- **Kvalitní funkce pro integraci píků**

baseline hold, baseline back,

tangent skimming, solvent peak,

group peak, split peak

peak width

slope, threshold

- **Funkce pro operace s chromatografickými záznamy**

Odečítání chromatogramů – nutnost při stanovení C₁₀-C₄₀

„Alignment“ chromatogramů – korekce retenčních časů

- **Funkce pro anotaci a report**

Anotace obrázků, vlastní report

Stopová analýza organických polutantů v ŽP Zpracování získaných dat – požadavky na software)

Fragmentogramy v MS

- **Různé označení podle výrobce**

Fragmentogram, EIC (extracted ion current)

- **Software by měl umožňovat:**

- * extrahovat se záznamu celkového iontového toku (TIC) příslušnou hmotu (m/z) – fragmentogram vybrané hmoty m/z)

- * operace s fragmentogramy – integrace, odečítání, alignment

- * automatizaci zpracování naměřených dat – automatickou integraci, identifikaci sledovaných polutantů, kvantitativní analýzu a report se všemi informacemi (vzorek, metoda, výsledky stanovení...)

Stopová analýza organických polutantů v ŽP Zpracování získaných dat – požadavky na software)

Vybrané aplikace pokročilého zpracování dat

Stanovení C₁₀-C₄₀

- naměřit pozadí = nástrík rozpouštědla – získá **Chromatogram pozadí (CH_p)**

- naměřit vzorek – získáme

Chromatogram vzorku (CH_{vz})

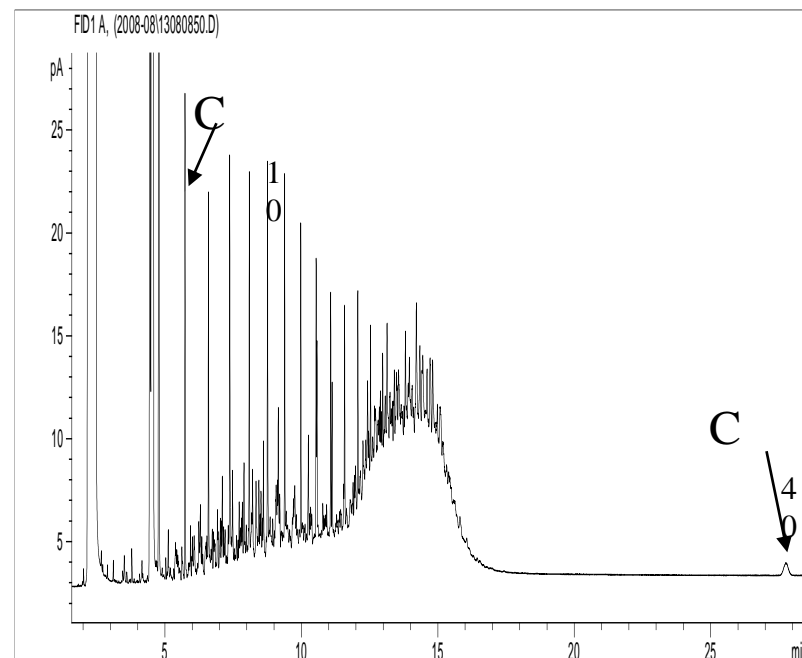
- **Matematická operace:**

$$\text{CH}_{\text{vz}} - \text{CH}_{\text{p}}$$

$$= \text{CH}_{\text{vz, kor}} \text{ (korigovaný na pozadí)}$$

- Integrovat **CH_{vz, kor}** – Plocha

- Z kalibrační křivky –
obsah, koncentracentegrovat
naměřit vzorek –



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vývoj a validace metod v ŽP

Smysl validace

- V dnešní době - výsledky analýz se významně podílejí na rozhodnutích s významnými ekonomickými náklady.
- Z toho vyplývá nutnost mít spolehlivá a věrohodná data.
- K získání takových dat je třeba vždy vybrat nejvhodnější analytickou metodu.
- provést její VALIDACI pro daný účel
- k získaným výsledkům přiřadit jejich NEJISTOTY

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vývoj a validace metod v ŽP

Pojem validace

- **Validate** - proces, při němž se určuje vhodnost dané analytické metody pro získání spolehlivých dat
- **Co se posuzuje při validaci ?** - zda jsou parametry analytické metody takové, aby bylo možno touto metodou získat výsledky požadované jakosti
- Laboratoře by měly prokázat, že pracují **v systému jakosti**, jsou odborně kompetentní a jsou schopny produkovat věrohodné výsledky.
- Mezi **základní 2 prvky systému jakosti** patří:
 - ? Validace měřicí metody
 - ? Nejistota výsledku měření

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vývoj a validace metod v ŽP

Pojem validace

- **Validace** - poskytuje informace o pracovních charakteristikách analytické metody
- validace zvyšuje spolehlivost výsledku:
 - pro uživatele metody (analytika v laboratoři)
 - pro uživatele výsledků (zákazníka)
- validace umožňuje lepší dialog mezi zákazníkem a analytikem !

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vývoj a validace metod v ŽP

Pojem validace

Které metody validovat ?

- nestandardní
- vyvinuté v laboratoři
- standardní, ale používané mimo rámec standardu
- standardní, ale upravené laboratoří

- Zdroje standardních metod:
 - - postupy uveřejněné v mezinárodních, regionálních, národních normách (ISO, EN, DIN, BS, ASTM, ...)
 - - postupy uveřejněné uznávanými organizacemi v jejich publikacích (AOAC pro potraviny a zemědělské produkty; ICH pro klinickou analýzu)

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vývoj a validace metod v ŽP

Postup při validaci

Jak postupovat při validaci ?

- stanovení pracovních charakteristik dané analytické metody
- stanovení rozsahu a omezení dané analytické metody
- identifikace ovlivňujících parametrů, které mohou měnit pracovní charakteristiky dané analytické metody
- jaký analyt můžeme stanovit, v jaké matici, za přítomnosti jakých interferentů?
- za jakých definovaných podmínek můžeme dosáhnout předem určenou nejistotu?

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vývoj a validace metod v ŽP

Postup při validaci

Typické pracovní charakteristiky při validaci

- selektivita, specifická
- výtěžnost
- linearita, pracovní rozsah, citlivost
- LOD, LOQ
- opakovatelnost
- robustnost
- rozšířená nejistota

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vývoj a validace metod v ŽP

Postup při validaci

Typické pracovní charakteristiky při validaci

- selektivita, Selektivita je schopnost rozlišovat mezi analytem, který má být stanoven, a ostatními složkami vzorku (matricí).
- Specifičnost je 100%-ní selektivita.
 - jen málo analytických metod je specifických

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vývoj a validace metod v ŽP

Postup při validaci

Výtěžnost, R

- Míra pravdivosti dané analytické metody

$$R = \frac{\text{naměřená hodnota}}{\text{referenční hodnota}}$$

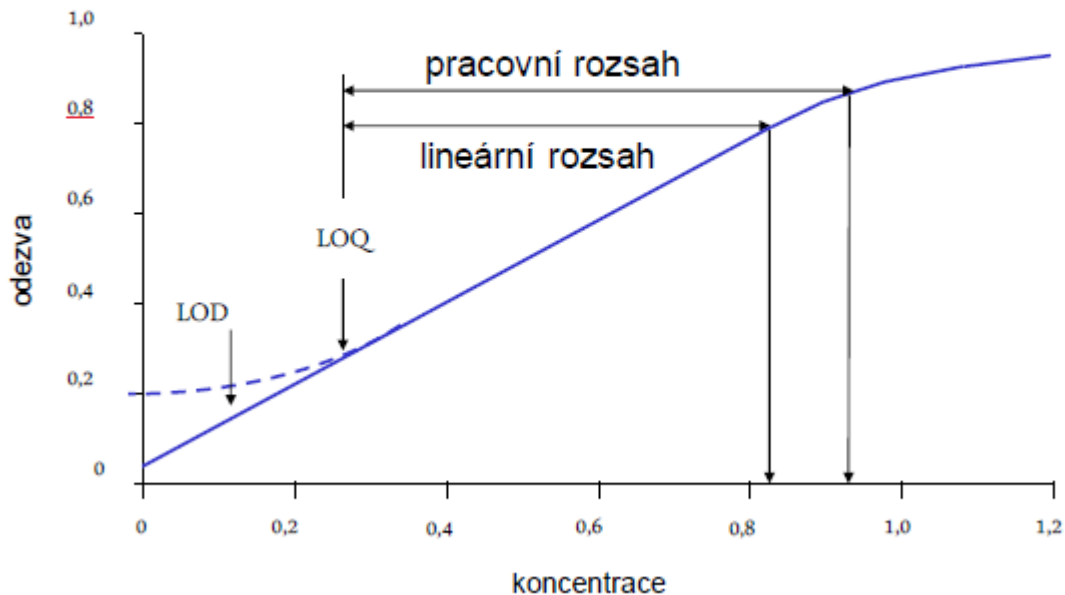
- referenční hodnotu obdržíme z:
 - CRM (certifikovaného materiálu)
 - spiku čisté látky
- Čím je R blíže k 1, tím je menší vychýlení metody a pravdivost metody je vyšší.

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vývoj a validace metod v ŽP

Postup při validaci

Lineární rozsah, pracovní rozsah



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vývoj a validace metod v ŽP

Postup při validaci

○ Mez stanovitelnosti (LOQ - limit of quantification)

Mez stanovitelnosti analytické metody je nejnižší množství analytu, které může být stanoveno s přijatelnou nejistotou.

- určuje se z hodnot analytického signálu, LOQ je tedy signálově orientovaná veličina
- je rovna hodnotě slepého pokusu $Y_{bl} + 10s$ (s je odhad směrodatné odchylky slepého pokusu, tzv. *blanku*)

$$Y_{LOQ} = Y_{bl} + 10 s_{bl}$$

Odpovídající koncentrace analytu se vypočte pomocí kalibrační rovnice:

$$\text{signál } Y = b_0 + b_1 * c$$

$$\rightarrow \text{LOQ} = (Y_{LOQ} - b_0) / b_1$$

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

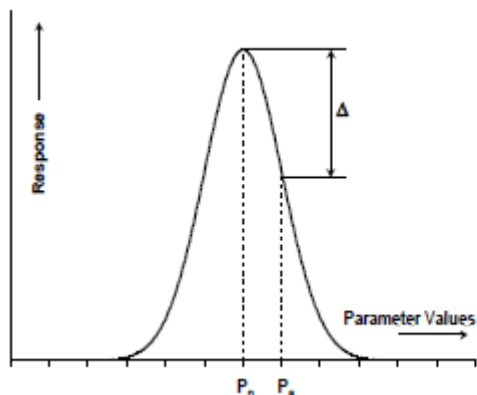
Vývoj a validace metod v ŽP

Postup při validaci

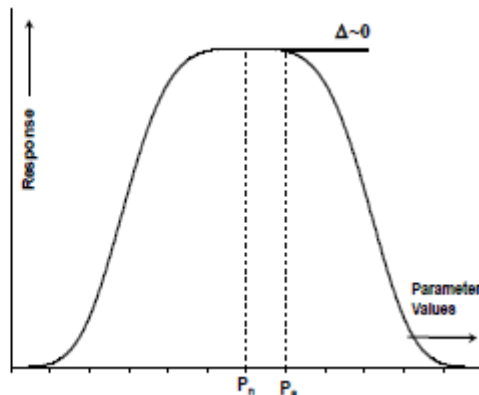
Robustnost

Robustnost analytické metody je charakterizována necitlivostí výsledku vůči malým změnám experimentálních podmínek, např. pH, teplotě, množství činidla....

Nerobustní parametr



Robustní parametr



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vývoj a validace metod v ŽP

Postup při validaci

Opakovatelnost vyvinuté metody- příklad ze stanovení EDTA

Připraveno a změřeno 12 vzorků o koncentraci $5 \mu\text{g}/\text{dm}^3$, koncentrace ISTD 1,2-PDTA byla $5 \mu\text{g}/\text{dm}^3$.

Výsledky měření opakovatelnosti analytického postupu stanovení EDTA na GC-MS

Č. vzorku	Plocha EDTA	Plocha ISTD	A_x/A_i	Koncentrace $\mu\text{g}/\text{dm}^3$
1	22 176	23 058	0,962	5,011
2	76 548	75 432	1,015	5,287
3	56 432	55 632	1,014	5,285
4	96 325	92 364	1,043	5,433
5	36 998	36 612	1,011	5,265
6	28 895	27 999	1,032	5,377
7	99 633	98 752	1,009	5,256
8	40 222	39 863	1,009	5,257
9	63 900	61 587	1,038	5,406
10	55 901	57 452	0,973	5,069
11	22 639	24 785	0,913	4,759
12	78 506	76 892	1,021	5,319

Dean-Dixonův test na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ - ověřeny odlehlé hodnoty. Žádná hodnota nebyla odlehlá.

- Průměr = $5,227 \mu\text{g}/\text{dm}^3$, Směrodatná odchylka = $0,192 \mu\text{g}/\text{dm}^3$, Relativní směrodatná odchylka = $3,67 \%$
1.88
- Analytický postup byl opakovatelný s relativní směrodatnou odchylkou $3,67 \%$.

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vývoj a validace metod v ŽP

Postup při validaci

Opakovatelnost vyvinuté metody- příklad ze stanovení EDTA

Rozšířená nejistota měření U_A na hladině významnosti $\alpha = 0,05$ byla vypočtena ze vztahu:

$$U_A = k * U_C$$

k koeficient rozšíření, $k = 2$ ($\alpha = 0,05$)

U_C kombinovaná nejistota

$$U_C = \sqrt{RSD_1^2 + RSD_2^2}$$

RSD_1 - relativní směrodatná odchylka opakovatelnosti analytického postupu GC-MS = 3,67 %

RSD_2 - relativní směrodatná odchylka opakovatelnosti GC-MS = 2,68 %

Rozšířená nejistota metody GC-MS $U_A = 9,09$ % nabývá hodnoty 9,09 %^{1.89}

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vývoj a validace metod v ŽP

Závěr validace - validační protokol

Příklad validačního protokolu

- Postup: Stanovení obsahu kadmia podle EN-1234 (GF-AAS)
- Měřená veličina: Obsah celkového kadmia v potravinářských výrobcích
- Matrice: Potraviny a krmiva
- Zdroj metody: Vlastní, vypracovaná laboratoří
- Předpokládané použití: Rychlé posuzování výrobků
- Analytický postup:
 - Rozklad v MW,
 - analýza GF-AAS
- Kalibrace:
 - Kalibrační roztoky
 - od výrobce ZZZ

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Vývoj a validace metod v ŽP

Závěr validace - validační protokol

Příklad validačního protokolu

- selektivita/interference - žádné interference do 1000 ng/g chloridů
- výtěžnost - např. $(95 \pm 2) \%$ CRM (mléko)
- linearita - lineární v rozmezí 3,5 - 20 ng/g
- pracovní rozsah - pracovní rozsah 3,5 - 27 ng/g
- LOD; LOQ - LOD = 1 ng/g; LOQ = 3,5 ng/g
- opakovatelnost - $sr = 3 \%$ při 10 ng/g
- robustnost - netestováno
- rozšířená nejistota - $U = 10 \%$ ($k = 2$)

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Derivatizace

Smysl derivatizace

- Převést analyty na produkty, které jsou kompatibilní s analytickým systémem z hlediska separace nebo detekce.
- Příklad z GC: analýzy EDTA, analýzy karboxylových kyselin, lipidů, steroidů, aminokyselin v tělních tekutinách po jejich převedení na nepolární sloučeniny.

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Derivatizace

Smysl derivatizace

Běžné postupy derivatizace:

- silylace skupin NH₂, OH (činitla TMCS, HMDS...)
- methylace skupin OH, COOH (diazomethan, CH₃OH+CH₃ONa...)
- acetylace (acetanhydrid), trifluoracetylace
- reakce s pentafluorbenzylbromidem
- alkylace Grignardovými sloučeninami

- Příklad z HPLC: analýza EDTA po jejím převedení do komplexu železa

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Derivatizace

Příklady derivatizace – Stanovení EDTA pomocí GC-MS

- **Úprava vzorků**
- Do 20ml vialky byl odpipetován vzorek (5 ml), deionizovaná voda (pro případné ředění 5-50 ml) a vnitřní standard 1,2-PDTA.
- Připravená směs odpařena do sucha na varné desce v atmosféře N_2 ($t = 90 \pm 3^\circ C$).
- Odparek okyselen HCl (1 M). Po okyselení vzorek znovu odpařen na varné desce v atmosféře N_2 ($t = 90 \pm 3^\circ C$).

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Derivatizace

Příklady derivatizace – Stanovení EDTA pomocí GC-MS

- **Esterifikace vzorku**
- K odparku přidány 2 ml esterifikačního činidla (Butan-1-ol:Acetylchlorid 9:1 v:v).
- Vialka uzavřena, přenesena do vodní lázně a zahřívána při teplotě $90 \pm 3^{\circ}\text{C}$ po dobu 1 hod.
- EDTA převedena na terc-butylester

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Derivatizace

Příklady derivatizace – Stanovení EDTA pomocí GC-MS

- **Extrakce butylesterů**
- 1 ml hexanu s kontrolním standardem PAHs o koncentraci 5 mg/l
- obsah vialky kvantitativně převeden do odměrné baňky o objemu 50 ml ,
přidán 1 ml NaOH (1 M).
- Odměrná baňka doplněna po rysku deionizovanou vodou, zazátkována a
důkladně protřepávána 5 min.
- Po rozdělení fází **organická nepolární fáze** převedena pipetou do vialky (4
ml) obsahující 0,5 g Na₂SO₄ pro vysušení zbytkové vody.
- Vialka 5 - 10 minut třepána a vysušený extrakt převeden do 2ml vialky
- **Vzorek připraven pro GC-MS analýzu.**

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza

Stanovení VOX

Sledování obsahu 10 vysoce těkavých chlorovaných uhlovodíků (VOX) v sanovaných vodách

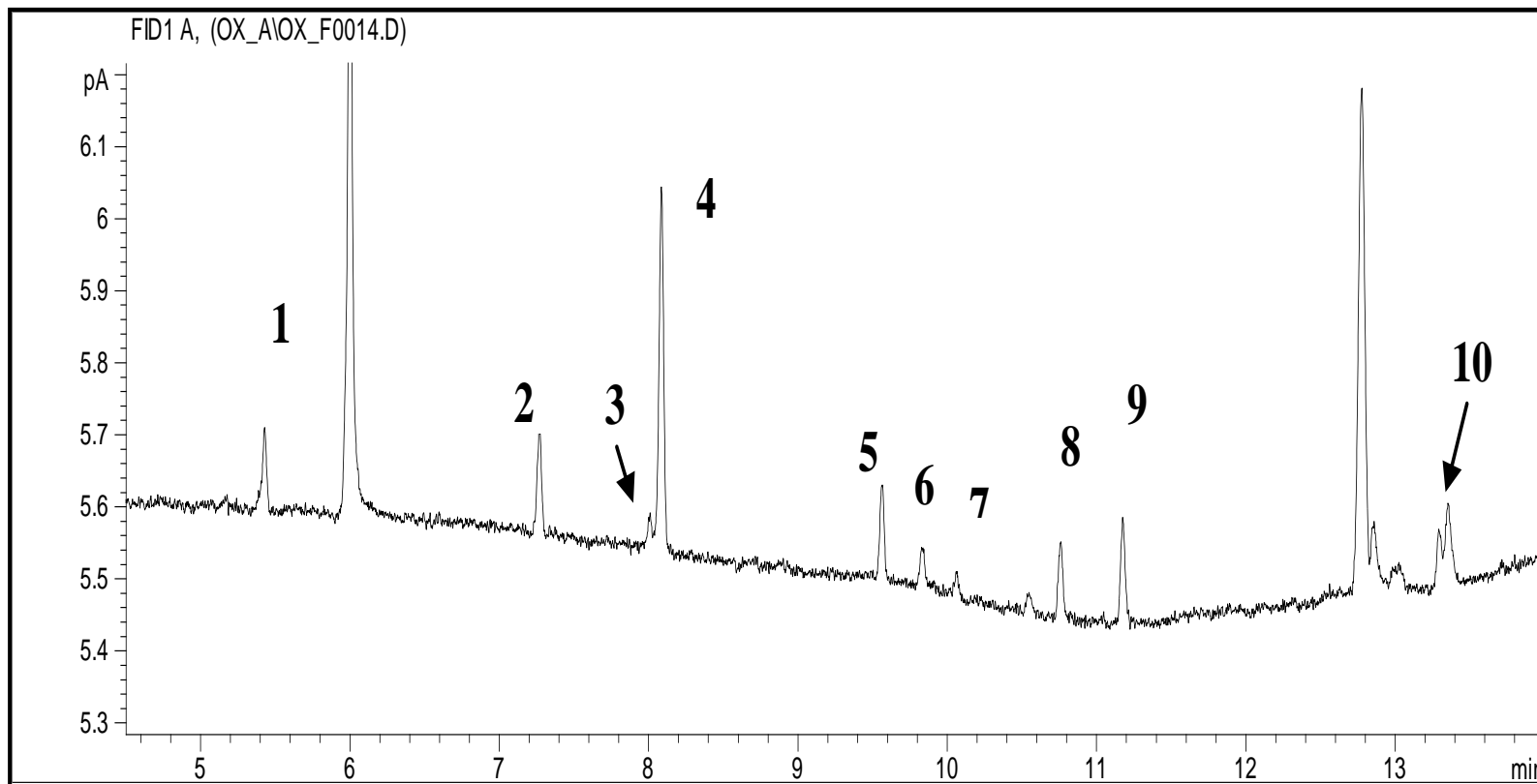
Metoda: mikroextrakce vzorku vody (60 ml) do xylenu (1ml)

Analýza: GC-FID, GC-ECD

vinylchlorid, 1,1-dichlorethen, CH_2Cl_2 , *trans*-1,2-dichlorethen, *cis*-1,2-dichlorethen, CHCl_3 , CCl_4 , 1,2-dichlorethan, TCE, tetrachlorethen

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

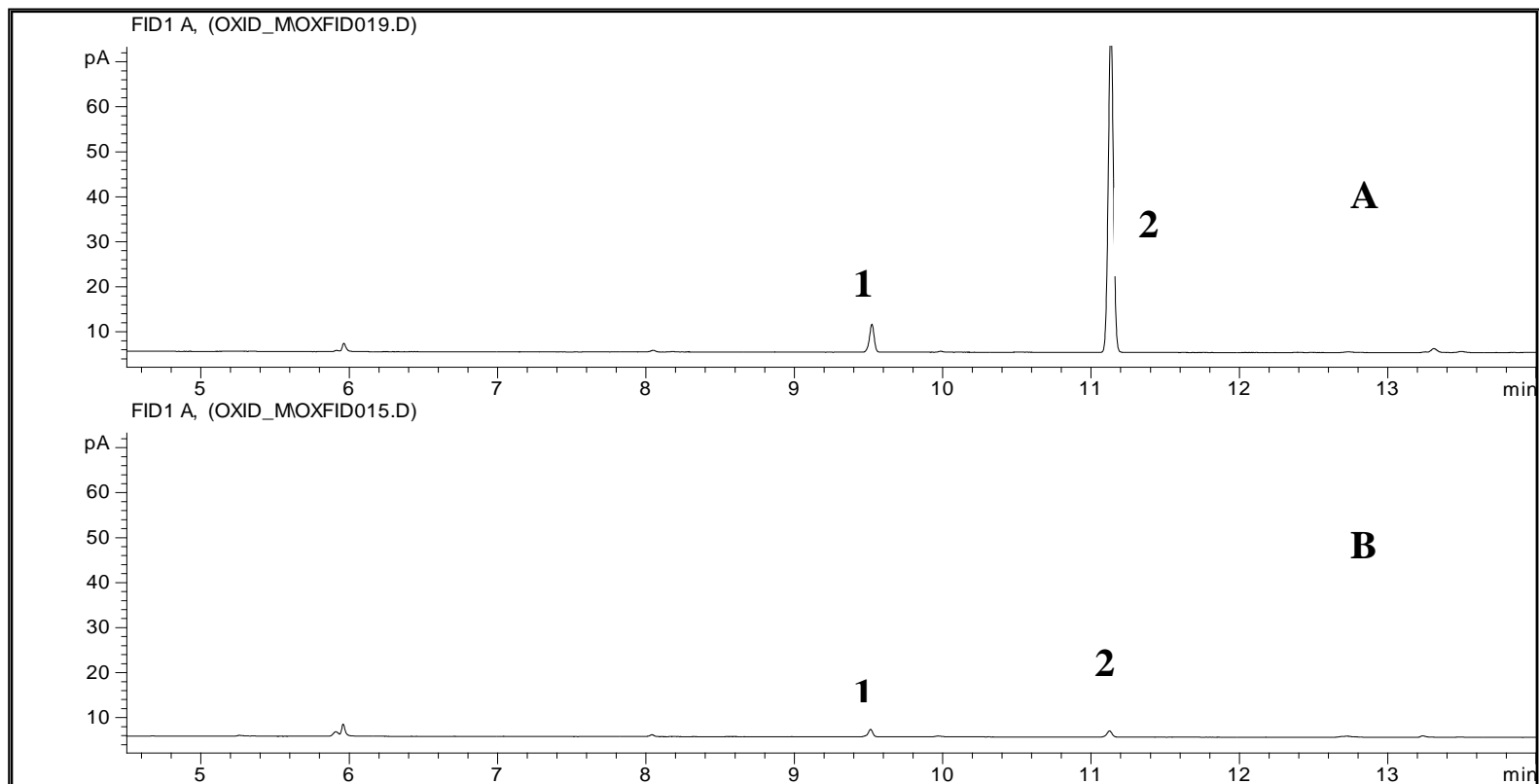
Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza



GC-FID chromatogram standardu VOX, kalibrace úplným postupem ($15 \mu\text{g l}^{-1}$), 1 vinylchlorid, 2 – 1,1-dichlorethen, 3 – CH_2Cl_2 , 4 – *trans*-1,2-dichlorethen, 5 – *cis*-1,2-dichlorethen, 6 – CHCl_3 , 7 – CCl_4 , 8 – 1,2-dichlorethan, 9 – TCE, 10 – tetrachlorethen

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza



Obr. 3. GC-FID chromatogramy analýzy průsakových vod před vstupem (A) a na výstupu (B) z čistícího zařízení. Identifikace píků: 1 – cis-1,2-dichlorethen, 2 – trichlorethen.

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza

Emise – BTEX, TOC

Sledování obsahu BTEX a dalších VOC v emisích

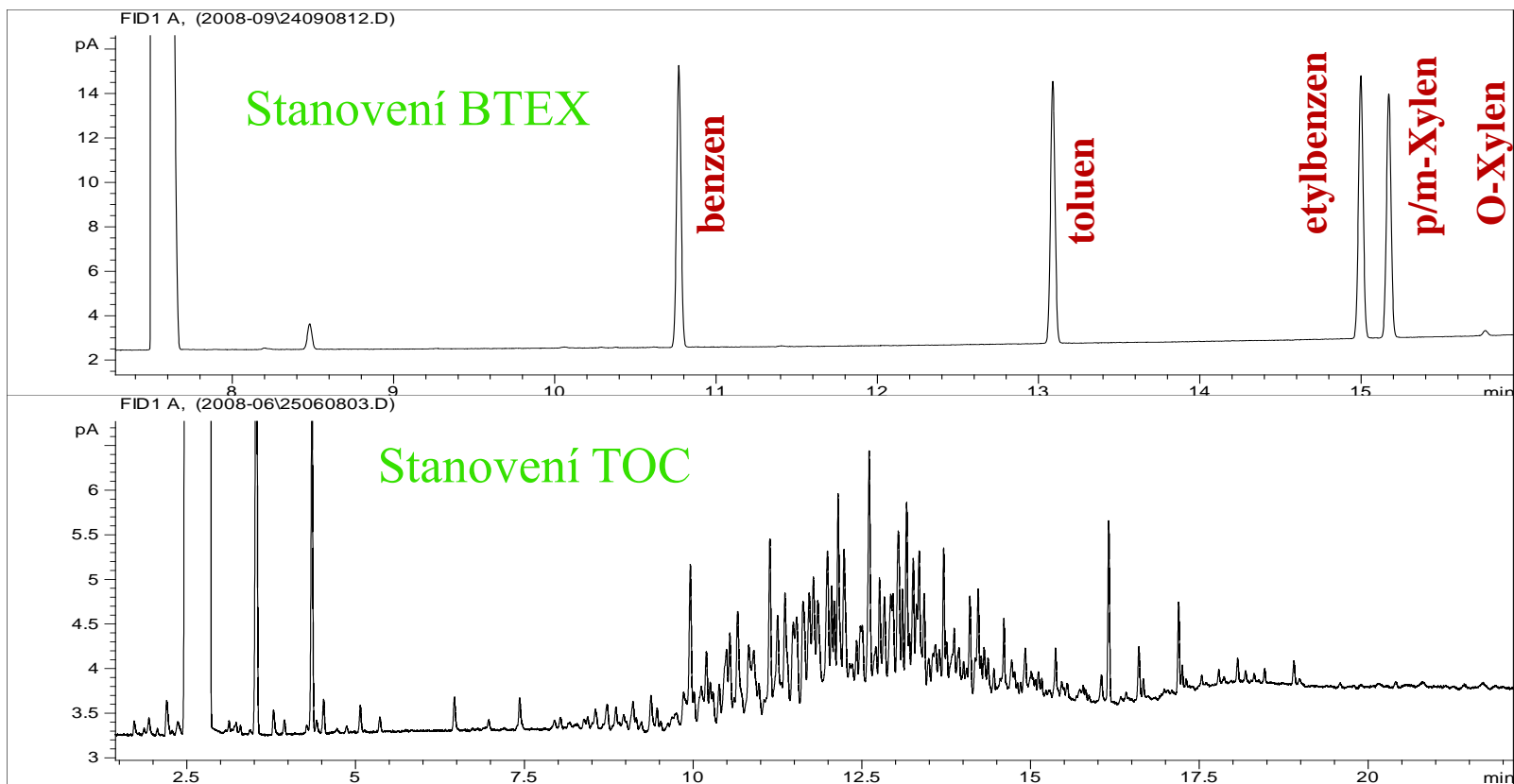
Metoda: záchyt BTEX a VOC na sorbentu, desorbce s CS_2

Analýza: GC-FID

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza

Emise – BTEX, TOC



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza

C₁₀ – C₄₀ ve vodě, půdě

Sledování obsahu nepolárních látek

Metoda:

Vody: extrakce vody hexanem s přidanými C₁₀ a C₄₀, sušení, čištění, zahuštění

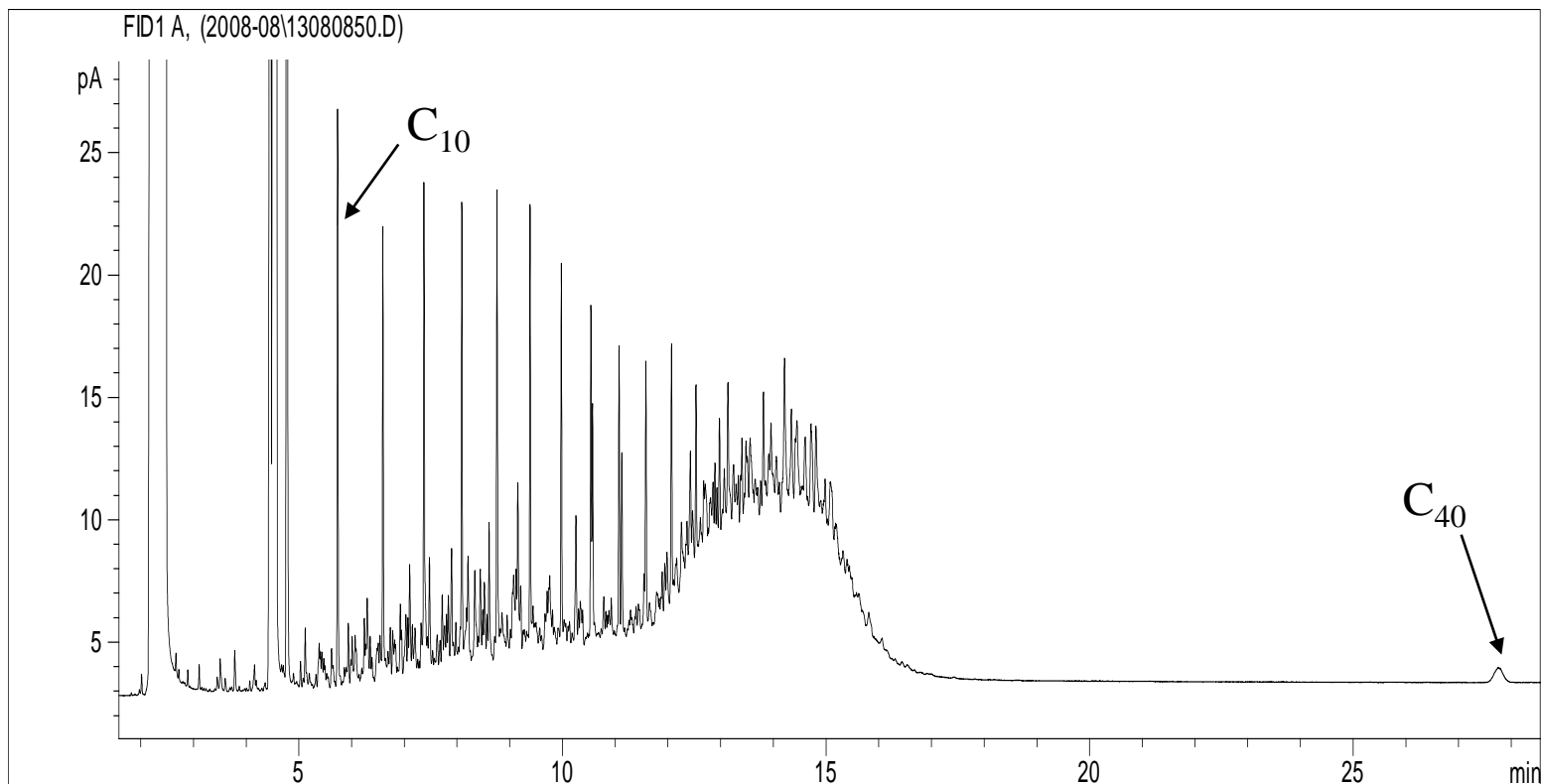
Půdy: extrakce půdy směsí hexan: aceton (1:1) s přidanými C₁₀ a C₄₀, sušení, čištění, zahuštění

Analýza: GC-FID

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza

$C_{10} - C_{40}$



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza

PAH ve vodě, půdě

Sledování obsahu 16 sledovaných PAH

Metoda:

Vody: extrakce vody hexanem, sušení, čištění, zahuštění

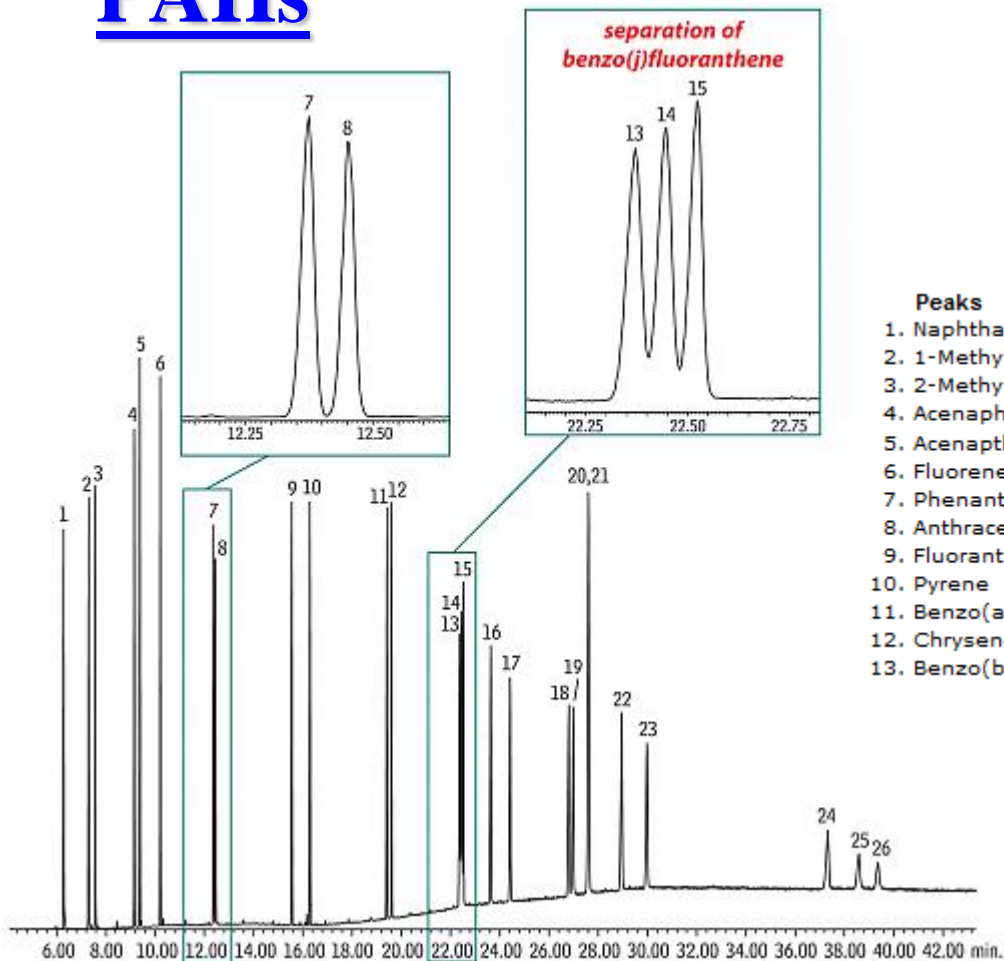
Půdy: extrakce půdy směsí hexan: aceton (1:1), sušení, čištění, zahuštění

Analýza: GC-MS

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza

PAHs



Peaks

1. Naphthalene
2. 1-Methylnaphthalene
3. 2-Methylnaphthalene
4. Acenaphthylene
5. Acenaphthene
6. Fluorene
7. Phenanthrene
8. Anthracene
9. Fluoranthene
10. Pyrene
11. Benzo(a)anthracene
12. Chrysene
13. Benzo(b)fluoranthene

Peaks

14. Benzo(k)fluoranthene
15. Benzo(j)fluoranthene
16. Benzo(a)pyrene
17. 3-Methylcholanthrene
18. Dibenzo(a,h)acridine
19. Dibenzo(a,j)acridine
20. Indeno(1,2,3-cd)pyrene
21. Dibenzo(a,h)anthracene
22. Benzo(ghi)perylene
23. 7H-Dibenzo(c,g)carbazole
24. Dibenzo(a,e)pyrene
25. Dibenzo(a,i)pyrene
26. Dibenzo(a,h)pyrene

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza

PCB, PCDD/F v emisích

- Sledování tvorby PCDD/F ve spalinách při spalování alternativních paliv na bázi odpadních (směsných) plastů
- Metoda: záchyt do 2-etoxyetanolu (pro požadované koncentrační úrovně 0,1 ng I-TEQ/m³ - potřebný vzorkovaný objem 10 m³ (suchého plynu)), extrakce hexanem, sušení, čištění, zahuštění
- Analýza: GC-MS

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza

PCB, PCDD/F

RT prvního a
posledního
standardu dioxinu

- hranice

retenčního okna

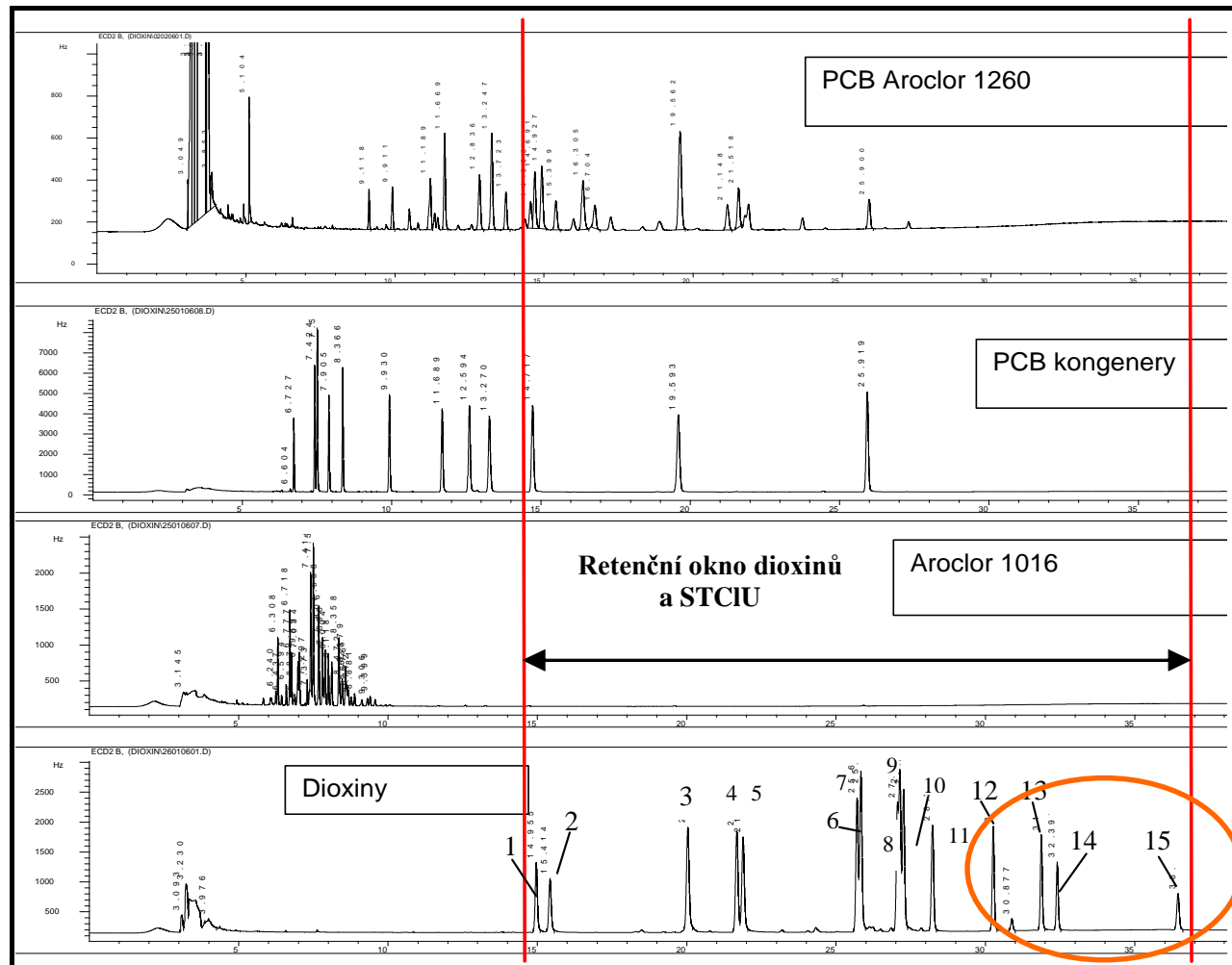
sledovaných látek

- dioxinů a
STCIU,

porovnáno

s některými

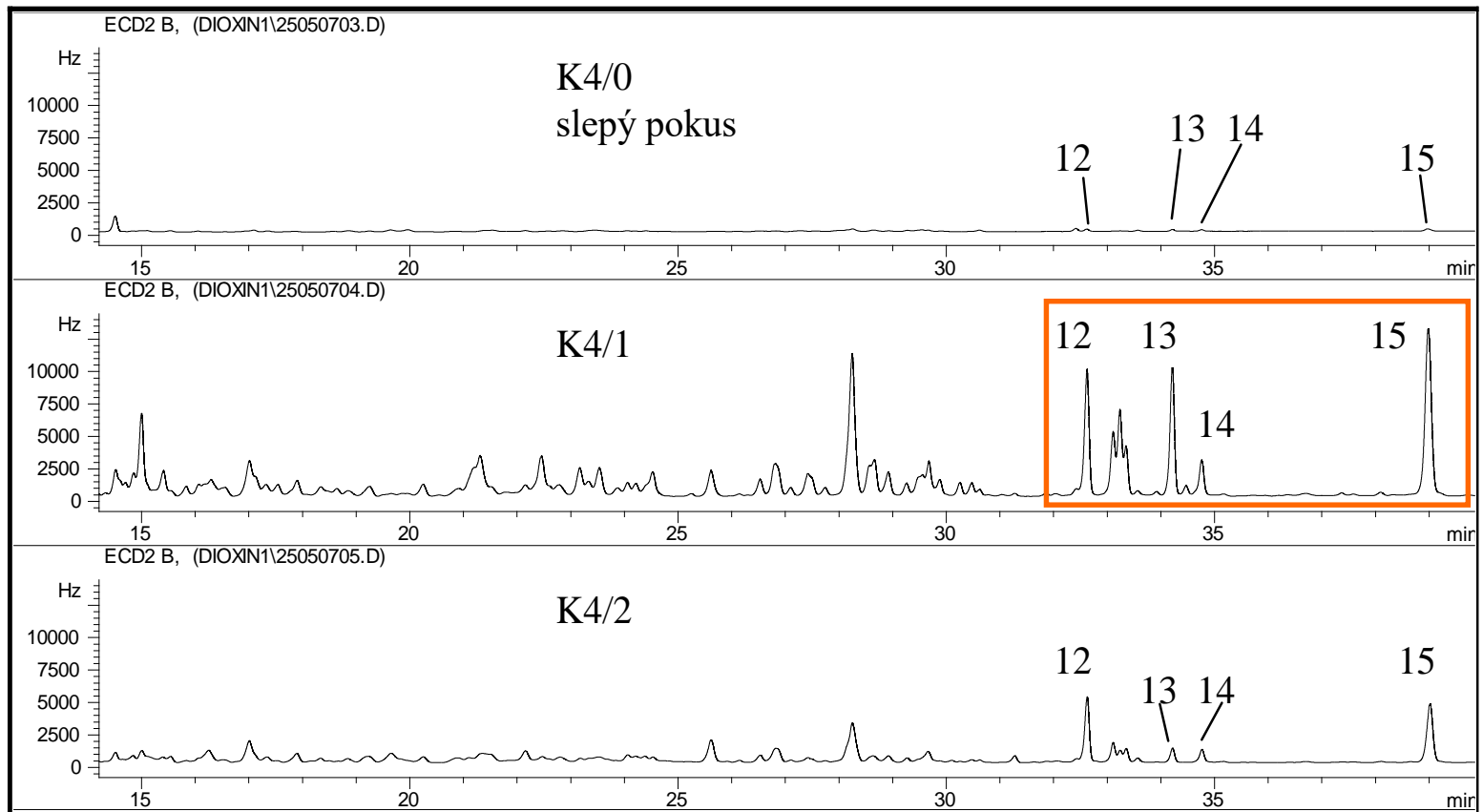
standardy PCB



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza

GC-ECD chromatogramy reálných vzorků a jejich srovnání se slepým pokusem.



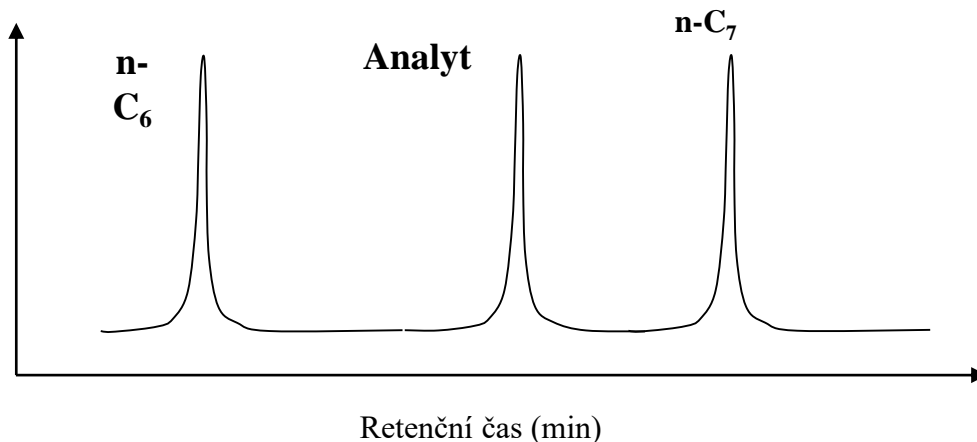
Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza VOC

Experimentální relativní retenční indexy (ERRT)

- zvýšení informační obsažnosti
- ERRT \Rightarrow charakteristika separované látky (podmínky - kolona, teplotní program a pod.).

$$ERRT_i = \frac{RT_i - RT_n}{RT_{n+1} - RT_n} \cdot 100 + C_n \cdot 100$$



RT_i - retenční čas analytu

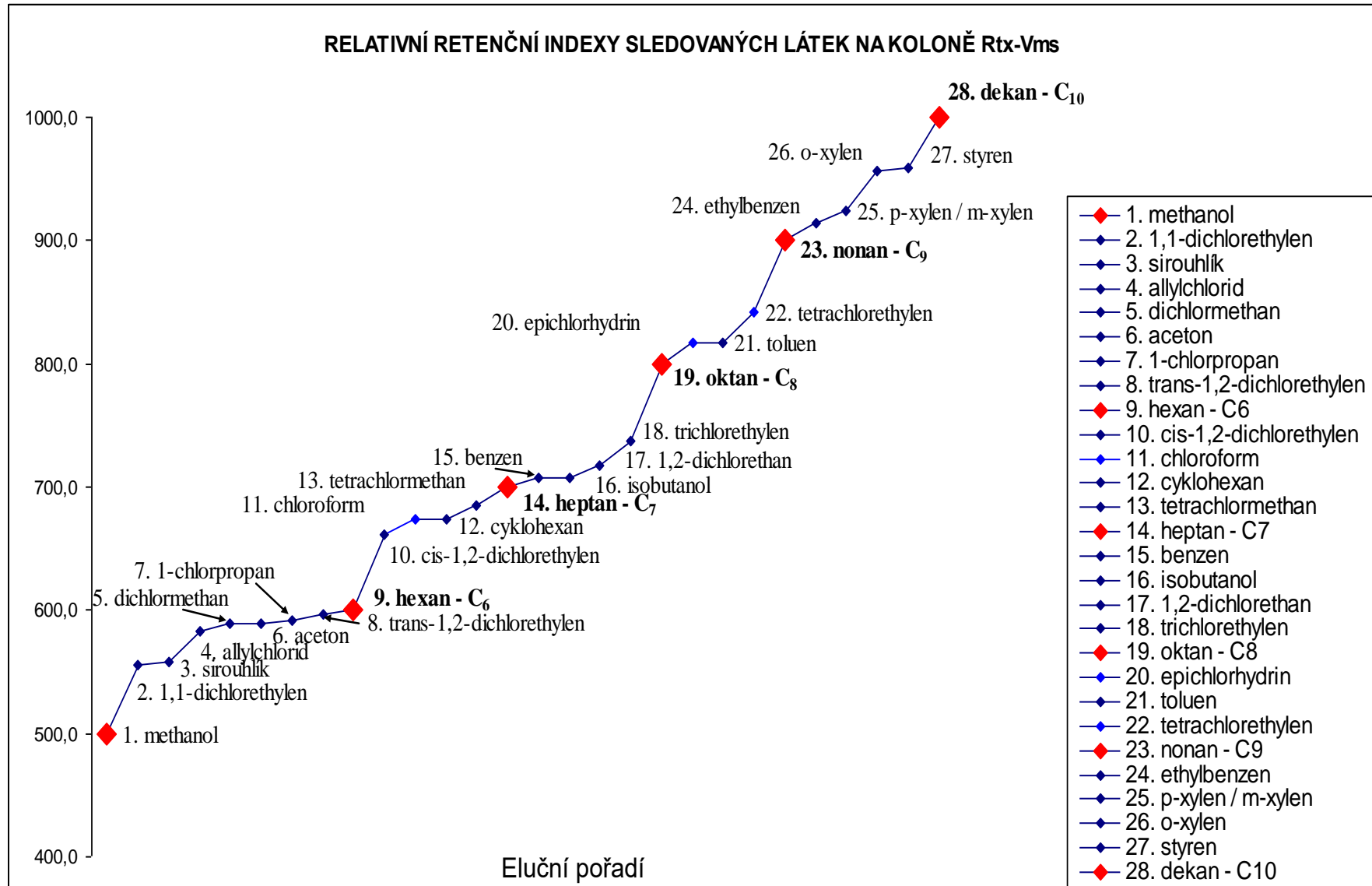
RT_n - retenční čas n-alkánu eluujícího před analytem

RT_{n+1} - retenční čas n-alkánu eluujícího za stanovovanou složkou

C_n - počet atomů C v n-alkánu

Stopová analýza organických polutantů v ŽP

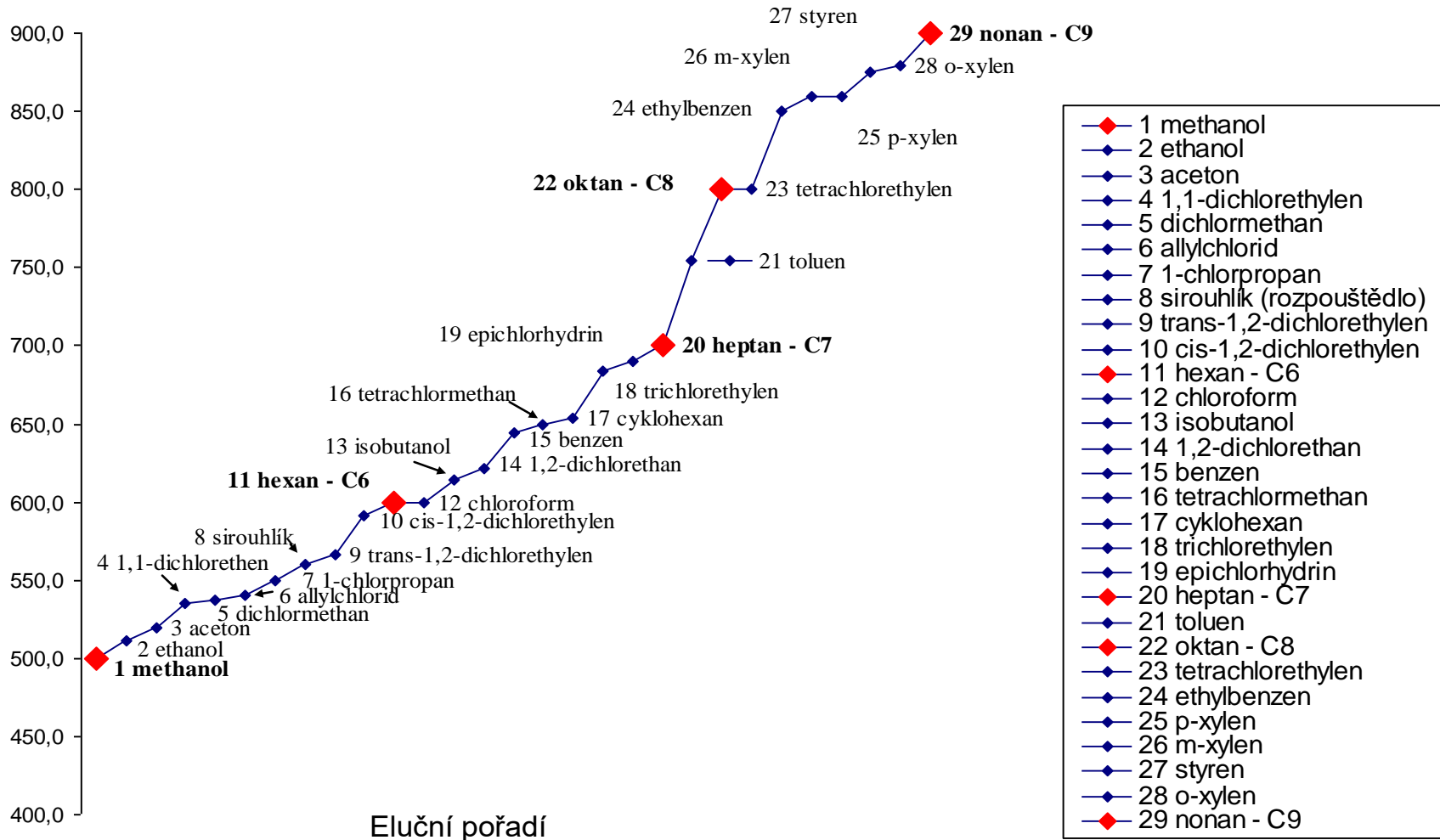
Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza VOC



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza VOC

RELATIVNÍ RETENČNÍ INDEXY SLEDOVANÝCH LÁTEK NA KOLONĚ ULTRA 1



Stopová analýza organických polutantů v ŽP

Nejběžnější organické polutanty v životním prostředí a jejich analýza

Další POPs

- EDTA,
- bromované retardanty hoření,
- organopesticidy,
- endokrinní disruptory
-