

# PRIMENA INSTRUMENTALNIH METODA NA ANALIZU UZORAKA VODE

## APPLICATION OF INSTRUMENTAL METHODS IN ANALYSIS OF WATER SAMPLES

Zoran SIMIĆ\*

Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu, Beograd, Srbija

*Zagađenje vode je veliki problem čovečanstva. Kako bi se sprečila kontaminacija vodenih sistema neophodno je kontrolisati količinu zagađujućih materija u njima i ispoštovati uredbe o graničnim vrednostima takvih polutanata za različite vrste voda. Primenom određenih instrumentalnih metoda, kao što su hromatografija, spektrofotometrija i druge, moguće je analizirati uzorke vode i odrediti tačnu koncentraciju zagađujućih materija u njima i na taj način sprečiti kontaminaciju vodenih tokova ili ispitati kvalitet i sastav vode. U ovom radu su navedeni analiti, prema pravilniku o graničnim vrednostima, kojima je potrebno odrediti koncentraciju u uzorcima vode i objašnjeno je kojim instrumentalnim tehnikama i na koji način se mogu analizirati specifični realni uzorci različitih tipova vode.*

**Ključne reči:** *Zagađenje vode; analiza vode; instrumentalne metod*

*Water pollution is a major problem for mankind. In order to prevent contamination of aquatic systems, it is necessary to control the amount of pollutants in them and to comply with the regulations on the limit values for such pollutants in the different types of water. By using certain instrumental methods, such as chromatography, spectrophotometry and others, it is possible to analyze water samples and determine the exact concentration of pollutants in them, thus preventing water contamination or checking the quality and composition of water. In this paper, analytics which need to determine the concentration in water samples are given, according to the regulations on limit values and is explained by which instrumental techniques and how the specific real samples of different types of water can be analyzed.*

**Key words:** *Water pollution; water analysis; instrumental method*

### 1 UVOD

Voda je najbitnija i najneophodnija prirodna materija koje je potrebna za život i opstanak svih živih bića na planeti Zemlji. Kao i svi resursi i voda je ograničena po količini, a vremenom zbog ljudskog faktora kvalitet vode postaje sve lošiji. S obzirom da se broj stanovnika stalno povećava i da se industrija i druge grane koje koriste vodu razvijaju, potrebe ovog resursa konstantno rastu: za piće, navodnjavanje, rekreaciju i ostale namene. Prvi Zakon o vodama donet je u Srbiji 26. decembra 1878. godine.

Da bi se voda koristila potrebno je da ne bude kontaminirana. Kontaminacija u najvećoj meri potiče upravo od čoveka odnosno ispuštanjem otpadnih voda u vodene tokove. Otpadne vode su vode sa izmenjenim prirodnim fizičkim, hemijskim i/ili biološkim osobinama kao rezultat ljudske aktivnosti, kao i atmosfere i druge vode.

Kako bi se sprečila ekološka katastrofa bilo je neophodno definisati granične vrednosti zagađujućih materija koje se ispuštaju u vodene tokove, odnosno maksimalno dozvoljene koncentracije polutanata koje otpadna voda može da sadrži. U Republici Srbiji ovo je definisano dokumentom "Uredba o graničnim vrednostima emisije zagađujućih materija u vode i rokovima za njihovo dostizanje". Ova uredba je stupila na snagu osmog dana od dana objavljivanja u "Službenom glasniku Republike Srbije", odnosno 25. avgusta 2011. godine u Beogradu. Ovom uredbom utvrđuju se granične vrednosti emisije za određene grupe ili kategorije zagađujućih supstanci (u daljem tekstu: zagađujuća

\* Author, e-mail: zoranvsimic@gmail.com

materija) za: tehnološke otpadne vode pre njihovog ispuštanja u javnu kanalizaciju; tehnološke i druge otpadne vode koje se neposredno ispuštaju u recipijent; vode koje se posle prečišćavanja ispuštaju iz sistema javne kanalizacije u recipijent i otpadne vode koje se iz septičke i sabirne jame ispuštaju u recipijent, kao i rokovi za njihovo dostizanje.

Odredbe ove uredbe ne primenjuju se na emisije nastale iz procesa termičkog tretmana otpada [1].

U pravilniku su jasno definisani svi tipovi voda i parametri koji se u njima određuju. S obzirom da je ta podela jako opširna može se napraviti manja podela prema parametrima koji se određuju.

Tipovi voda kojima se određuje koncentracija zagađujućih materija:

1. voda za piće
2. prirodne flaširane vode za piće
3. izvorske, mineralne i stone vode
4. površinske vode
5. podzemne vode
6. bazenske i vode za rekreaciju
7. kotlovske vode, vode za napajanje kotlova
8. otpadne vode
9. vode nepoznatog porekla

U *Tabeli 1* dati su svi parametri koji se određuju u gore navedenim tipovima voda kao i analitičke metode za njihovo određivanje. Da bi se koristila određena analitička tehnika neophodno je da zadovoljava određene zahteve koji su takođe jasno definisani u "Uredbi o granicnim vrednostima emisije zagađujućih materija u vode i rokovima za njihovo dostizanje". Ti parametri su sledeći:

- **Korektnost** je sistematska greška i predstavlja razliku između srednjih vrednosti velikog broja ponovljenih merenja od prave vrednosti. Korektnost je vrednost izražena u procentima i u Uredbi se kreće u intervalu od 10% do 25 % u zavisnosti od parametra koji se ispituje.
- **Preciznost** je slučajna greška i izražava se kao standardna devijacija rezultata oko srednje vrednosti. Prihvatljiva je dvostruka standardna devijacija. Preciznost je vrednost izražena u procentima i u Uredbi se kreće u intervalu od 10 % do 25 % u zavisnosti od parametra koji se ispituje.
- **Limit detekcije** je ili: - tri puta relativna standardna devijacija prirodnog uzorka sa niskom koncentracijom parametra, ili - pet puta relativna standardna devijacija slepe probe. Limit detekcije je vrednost izražena u procentima i u Uredbi se kreće u intervalu od 10 % do 25 % u zavisnosti od parametra koji se ispituje.

*Tabela 1. Parametri iz Uredbe o graničnim vrednostima emisije zagađujućih materija u vode i rokovima za njihovo dostizanje i instrumentalne tehnike*

<i>Parametar</i>	<i>Tehnika</i>	<i>Parametar</i>	<i>Tehnika</i>
Elektroprovodljivost	Elektrohemija	Određivanje sadržaja metala	Atomska adsorpciona spektroskopija F-AAS, GF-AAS, HG-AAS, ICP-OES, ICP-MS
Merenje pH vrednosti	Elektrohemija	Određivanje sadržaja mineralnih ulja	Gasna hromatografija GC-FID
Sadržaj rastvorenog kiseonika	Elektrohemija	Određivanje sadržaja ukupnog organskog ugljenika	TOC analizator
Određivanje temperature	Fizički	Određivanje sadržaja poluisparljivih organskih supstanci	Gasna hromatografija GC MS
Mutnoća	Turbidimetrija	Suspendovane materije na 105°C	Gravimetrija
Sadržaj rezidualnog hlora	Spektrofotometrija	Taložnic materija po Imhoff-u	Fizička
Sadržaj hlora	Spektrofotometrija	Rastvornih soli na 180°C i 260°C	Gravimetrija

Merenje boje	Kolorimetrija	Određivanje ostatka žarenja i isparljivih materija na 550°C	Gravimetrija
Biohemijska potrošnja kiseonika BPK5	Elektrohemijska, Respirometrija	Određivanje aciditeta	Volumetrija
Hemijska potrošnja kiseonika, HPK	Spektrofotometrija, Volumetrija	Određivanje sadržaja sulfida	Spektrofotometrija, Volumetrija
Određivanje suvog ostatka	Gravimetrija	Određivanje sadržaja etilmerkaptana	Gasna hromatografija
Određivanje sadržaja ulja i masti	Gravimetrija	Određivanje sadržaja Fe <sup>2+</sup> jona	Spektrofotometrija
Merenje alkaliteta	Volumetrija	Određivanje organokalajnih jedinjenja	Gasna hromatografija
Određivanje sadržaja deterdženata	Spektrofotometrija	Određivanje sadržaja amonijaka	Spektrofotometrija
Određivanje indeksa fenola	Spektrofotometrija	Lakoisparljive aromatične i halogene organske supstance	Hromatografija
Određivanje sadržaja šestovalentnog hroma	Spektrofotometrija	Polihlorovani bifenili	Gasna hromatografija, GC ECD
Određivanje sadržaja azota Khjeldal	Spektrofotometrija	Određivanje sadržaja adsorbibilnih organskih halogena AOX	Kulometrijska titracija, Piroлиза ionska hromatografija IC
Određivanje sadržaja fosfora	Spektrofotometrija	Određivanje sadržaja trihalometana	Gasna hromatografija
Određivanje sadržaja cijanida	Spektrofotometrija	Pesticidi	Tečna hromatografija
Određivanje sadržaja anjona (fluoridi, hloridi, nitriti, nitrati, bromidi, ortofosfati, sulfati)	Jonska hromatografija IC	Određivanje sadržaja akrilamida	HPLC/UV
Određivanje sadržaja katjona (litijum, natrijum, amonijum, kalijum, magnezijum, kalcijum)	Jonska hromatografija IC		

Iz Tabele 1 može se zaključiti da su instrumentalne metode koje se najčešće koriste pri određivanju koncentracije polutanata u uzorcima vode: spektrofotometrija, hromatografija. U daljem tekstu biće prikazane ove metode i na konkretnim primerima opisani postupci određivanja nekih od analita koji se navode u ovoj Uredbi [1].

## 2 INSTRUMENTALNE METODE

### 2.1 Spektrofotometrija

Spektrofotometrija predstavlja kvalitativnu i kvantitativnu apsorpcionu metodu koja se zasniva na odnosu između apsorbanca i talasne dužine zračenja koje je prošlo kroz analizirani uzorak. Apsorpcija se može pratiti u UV, VIS, IC, mikrotalasnoj i radiofrekventnoj oblasti. U analitičkoj hemiji najčešće se radi u opsegu od 190 nm do 1100 nm. U organskoj hemiji koriste se IC, NMR oblast.

Kvalitativna analiza se zasniva na činjenici da od strukture i sastava supstance zavisi kakav ćemo apsorpcioni spektar dobiti. Dok se kvantitativna analiza zasniva na Lambert-Berovom (Lambert-Beer) zakonu koji kaže da je logaritam apsorpcije svetlosti koja prolazi kroz rastvor (jačina obojenja) proporcionalan debljini sloja rastvora i koncentraciji rastvorene supstance.

$$A = \log \frac{I_0}{I} = abc$$

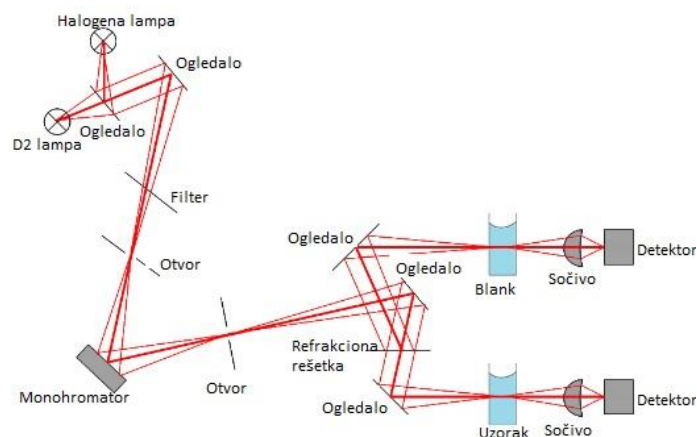
gde je:

A - apsorpcija (ekstinkcija)

$I_0$  - intenzitet upadne svetlosti  
 $I$  - intenzitet propuštene svetlosti  
 $a$  - konstanta za dati rastvor  
 $L$  - dužina sloja rastvora koji aporbuje svetlost  
 $C$  - koncentracija rastvora

Instrument koji se koristi kada se primenjuje ova tehnika naziva se spektrofotometar. Svi spektrofotometri se zasnivaju na manje-više sličnom principu i poseduju najčešće sledeće delove:

1. izvora energije koji obezbeđuje zrake željene talasne dužine,
2. separator energije, koji omogućava da se zračenje određene talasne dužine odvoje od ostalog dela zračenja
3. detektor energije, koji meri deo energije koja prolazi kroz uzorak.



Slika 1. Princip rada UV/VIS spektrofotomera

U analizi uzoraka voda najčešće se koristi UV/VIS spektrofotometar jer se većina metoda zasniva na radu u UV i VIS oblasti.

U Tabeli 1 su dati parametri koji se mogu raditi ovom tehnikom a zadovoljavaju uslove iz Uredbe o граниčnim vrednostima emisije zagađujućih materija u vode i rokovima za njihovo dostizanje.

## 2.2 Određivanje amonijum jona manuelnom spektrometrijskom metodom

*Naziv metode:* SRPS ISO 7150-1:1992, Kvalitet vode - Određivanje amonijum-jona - Deo 1: Manuelna spektrofotometrijska metoda (identičan sa ISO 7150-1:1984).

*Tip uzorka* – Voda za piće i neobrađene vode i otpadne vode. Za izrazito obojene ili slane vode neophodno je prethodno uraditi destilaciju.

*Opseg*- koncentracija amonijum jona do 1 mg/l odnosno 1ppm pri čemu se koristi najviše 40 ml uzorka.

*Postupak rada:* Ukoliko je potrebno uzorak se destiliše ili filtrira u zavisnosti od prirode uzorka. Potom se 40 ml uzorka prenese u normalni sud od 50 ml. (ukoliko se očekuju veće koncentracije uzorak se može razblažiti vodom do konačne zapremine od 40 ml). Nakon toga se doda 4 ml reagensa za bojenje i dobro promeša. Zatim se doda 4 ml rastvora natrijum-dihlorizocijanurata i opet dobro promeša. Nakon ovog postupa pH bi trebalo biti bazno i to oko 12,6. Rastvor se razblaži do oznake u normalnom sudu, promeša i ostavi u vodenom kupatilu da odstoji minimum 60 min na temperaturi od 25 C. Nakon toga se rastvor prenese u odgovarajuću kivetu i meri apsorbancu na talasnoj dužini od 655 nm na spektrofotometru Slika 2.



Slika 2. UV/VIS spektrofotometar Lambda 365

Slepa proba- Ponavlja se isti postupak kao sa uzorkom s tim što se umesto uzorka uzima 40 ml vode za koju znamo da nema amonijum jona (dejonizovana voda).

Kako bismo mogli da preračunamo koncentraciju amonijum jona u uzorku neophodno je uraditi kalibraciju na spektrofotometru. To se radi tako što se dodaju različite zapremine standardnog rastvora u normalne sudove u koje se dodaje dejonizovana voda do ukupne zapremine od 40 ml i zatim se nastavlja prema postupku koji je opisan u odeljku Postupak rada. U Tabeli 2 su date zapremine standardnog rastvora koje se koriste za pripremu standardnih rastvora za upoređivanje.

Tabela 2. Podaci za izradu kalibracione krive

Zapremina standardnog rastvora ml	Masa azota iz amonijum jona mikrogrami	Dužina optičkog puta kivete, mm
0,00	0	10 i 40
2,00	2	40
4,00	4	40
6,00	6	40
8,00	8	40
10,0	10	10
20,0	20	10
30,0	30	10
40,0	40	10

#### Izrada kalibracione krive

Apsorbancija nultog člana se oduzme od apsorbancije dobijene za druge standardne rastvore za upoređivanje. Kriva apsorbancije se crta za masu azota iz amonijum jona za svaku dužinu optičkog puta kivete. Kriva je linearna i prolazi kroz koordinatni početak.

#### Proračun:

Apsorbanca koja odgovara amonijum jonu u uzorku je jednaka

$$A_a = A_u - A_s$$

$A_u$ - apsorbanca uzorka

$A_s$ - apsorbanca slepe probe

Sadržaj azota iz amonijum jona izračunava se pomocu formule

$$R_o = mN/V \text{ (mg/l)}$$

mN- masa azota iz amonijum jona u mikrograma

V- zapremina dela uzorka u mililitrima

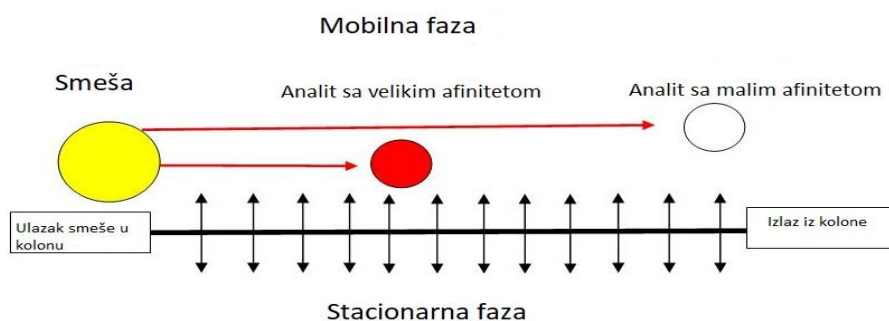
Nakon toga se preko molarnih masa kovertuje koncentracija azota u koncentraciju amonijaka i amonijum jona.

1mg/1 N ima 1,216 mg/1 NH<sub>3</sub> odnosno 1,288 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> mg/1

Koncentracija amonijum jona od 1mg/1 odgovara koncentraciji azota od 0,777mg/1 [2].

### 2.3 Hromatografija

Hromatografija je kvantitativna i kvalitativna analitička metoda koja se zasniva na razlaganju neke smeše na njene komponente i to na osnovu njihovog afiniteta vezivanja za određenu fizičku fazu. Separacija komponenata smeše se odigrava između dve faze: pokretne (mobilne) i stacionarne. Pokretna može biti gasovita ili tečna dok je stacionarna tečna ili čvrsta.



Slika 3. Mobilna i stacionarna faza

Hromatografija je dosta zastupljena u analizi uzoraka voda. Najčešće su to gasna i jonska hromatografija.

#### 2.3.1 Gasna hromatografija

GC je instrumentalna metoda koja se zasniva na razdvajanju komponenti smeše između tečne i gasovite faze na osnovu njihove isparljivosti i polarnosti. Isparljivost zavisi od napona pare komponente i aktivnosti. Gasna hromatografija ima široku primenu pri određivanju polutanata u uzorcima voda.

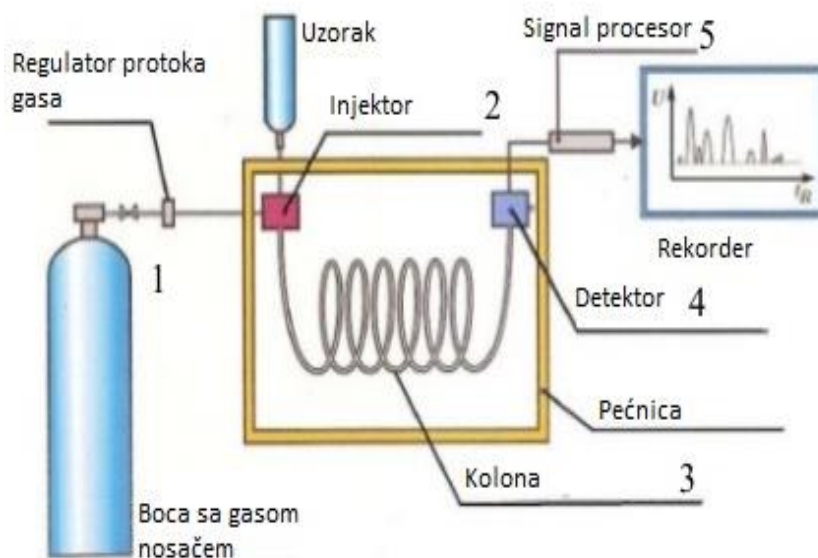
Instrument koji radi na principu gasne hromatografije naziva se gasni hromatograf (Slika 4).



Slika 4. Gasni hromatograf GC Clarus 690 MS SQ8C

Osnovne komponente gasnog hromatografa (Slika 5) su:

1. Gasni cilindar sa redukcionim ventilom i regulator konstantnog pritiska gasa,
2. Mesto za injektovanje uzorka,
3. Hromatografska kolona, koja se nalazi u pećnici,
4. Detektor,
5. Uređaj za obradu i zapisivanje rezultata.



Slika 5. Osnovne komponente gasnog hromatografa

Boca sa gasom nosačem 1. koji predstavlja mobilnu fazu, a to je najčešće  $H_2$ , He,  $N_2$ , ima regulator protoka kojim regulišemo pritisak/protok gasa koji ulazi u kolonu. Uzorak se ubacuje preko injektora 2, koji je zagrejan na visokoj temperaturi kako bi preveo smešu u gasovitu fazu. Nakon toga smeša koja se nalazi u gasovitoj fazi, nošena mobilnom fazom ulazi u kolonu 3, koja se nalazi u pećnici 4, gde se na osnovu isparljivosti i polariteta vrši razdvajanje faza. Vreme koje gas provede u koloni naziva se retenciono vreme. Nakon toga komponente stižu do detektora 4 u zavisnosti od fizičko-hemijskih karakteristika samih komponenti. Metoda je kvalitativna i kvantitativna tako da na osnovu površine pika ili visine pika koji izađe na grafiku vreme-signal možemo odrediti koncentraciju pojedinačnih komponenti uz pomoć signal procesora i kompjutera 5.

U daljem tekstu će biti opisana metoda određivanja polihlorovanih bifenila na gasnom hromatografu sa ECD (eng. *Electron capture detector*).

#### 2.3.1.1 Određivanje polihlorovanih bifenila u uzorcima vode metodom gasne hromatografije sa electron capture detektorom.

*Polihlorovani bifenili (PCB)* su aromatska, sintetska, hemijska jedinjenja koja se ne pojavljuju prirodno u okruženju. Oni se sastoje od bifenil strukture, dva povezana benzenova prstena, u kojima neki ili svi atomi vodonika zamenjeni atomima hlora.

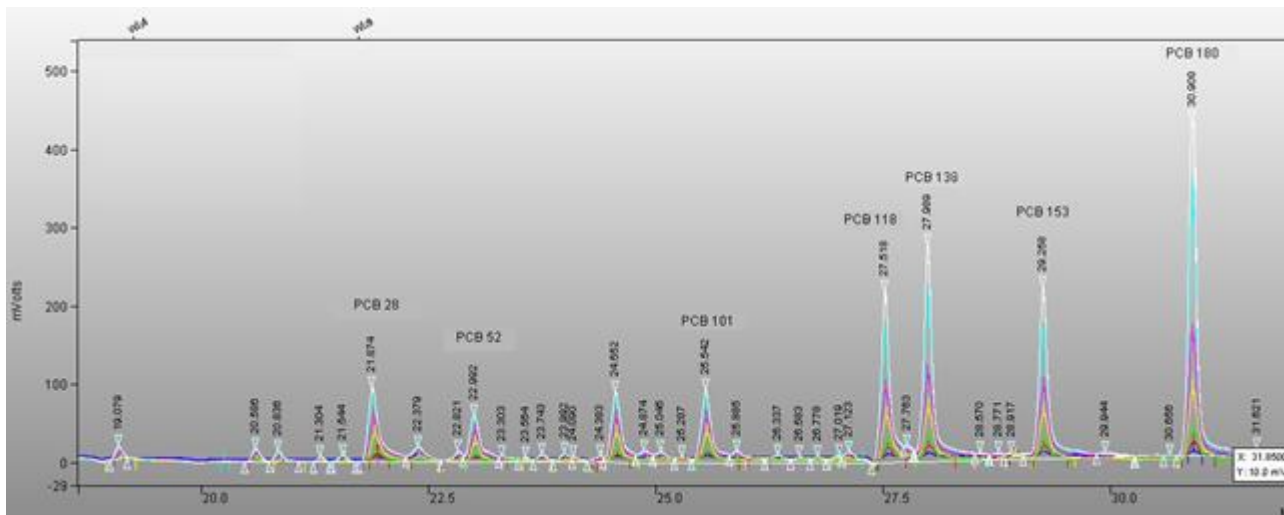
Karakteristični PCB koji se određuju: PCB-28, PCB-52, PCB-101, PCB-118, PCB-138, PCB-153 and PCB-180.

*Naziv metode:* SRPS EN ISO 6468:2008; Kvalitet vode - Određivanje nekih organohlorinih insekticida, polihlorovanih bifenila i hlorbenzena - Metoda gasne hromatografije posle tečno-tečne ekstrakcije.

Priprema uzorka:

Prebaciti od 30 ml do 100 ml uzorka u ekstrakcioni sud i dodati 30 ml ekstrakcionog rastvora, npr. heksan. Ekstrakcija se vrši u ultrazvučnom kupatilu najmanje 10 min. Prebaciti u levak za odvajanje i sačekati da se slojevi razdvoje. Prebaciti donju, vodenu, fazu u ekstrakcioni sud i ponoviti ekstrakciju još dva puta sa po 30 ml heksana. Nakon toga propustiti organski deo kroz natrijum sulfat, koji je prethodno ispran rastvaračem. Na ovaj način se uklanja voda iz ove faze. Završna faza

predstavlja koncentrisanje, odnosno uparavanje organske faze u rotavaporu do zapremine ne manje od 0,6 ml. Temperatura u vodenom kupatilu ne sme da prelazi 50 °C. Nakon toga se eluat prenese u sud od 1ml i zidovi suda u kome se vršilo koncentrisanje se isperu sa malom količinom rastvarača koji se prenese u sud sa eluatom do konačne zapremine od 1 ml. Nakon toga se uzorak analizira na gasnom gromatografu sa ECD detektorom. Na slici 7 je prikazan klasičan hromatogram gasnog hromatografa sa ECD detektorom na kome je analiziran standardni rastvor PCB-a.



Slika 6. Hromatogram standardnog rastvora različitih koncentracija Polihlorovanih bifenila analiziran na GC ECD instrumentu

*Kalibracija*- na GC ECD uređaju analiziraju se površine pikova različitih koncentracije standardnih rastvora PCB-a u opsegu od 1 ug/l do 1000 ug/l i crta se kalibraciona kriva za svaki PCB gde je predstavljena je zavisnost koncentracija PCB-površina pika ako se zna na kom tačno retencionom vremenu izlazi koji PCB.

Konačno nakon analize uzorka dobija se koncentracija PCB u eluatu koju je potrebno prečunati na ukupnu zapreminu uzorka a to se dobija na sledeći način.

$$C_u = C_e \cdot V_e / V_u$$

$C_u$  – koncentracija PCB u uzorku [ug/l]

$C_e$  - koncentracija PCB u eluatu dobijena preko kalibracionog proračuna [ug/l]

$V_e$  – zapremina eluata [ml]

$V_u$  – zapremina uzorka [ml]

### 3 Zaključak

Instrumentalne metode koje se najčešće koriste pri određivanju koncentracija polutanata u uzorcima različitih tipova vode su u najvećoj meri spektrofotometrija a zatim i hromatografija. Spektrofotometrija zadovoljavaja kriterijume koji su definisani u dokumentu “Uredba o granicnim vrednostima emisije zagađujućih materija u vode i rokovima za njihovo dostizanje” i relativno je jednostavna za upotrebu.

### 4 Literatura

- [1] Uredba o granicnim vrednostima emisije zagađujućih materija u vode i rokovima za njihovo dostizanje, 2011.
- [2] SRPS ISO 7150-1:1992, Kvalitet vode - Određivanje amonijum-jona - Deo 1: Manuelna spektrofotometrijska metoda (identičan sa ISO 7150-1:1984).
- [3] SRPS EN ISO 6468:2008, Kvalitet vode - Određivanje nekih organohlorinih insekticida, polihlorovanih bifenila i hlorbenzena - Metoda gasne hromatografije posle tečno-tečne ekstrakcije.