

UNIVERZA V NOVI GORICI
FAKULTETA ZA ZNANOSTI O OKOLJU

**RAZVOJ SPEKTROFOTOMETRIČNE METODE ZA
DOLOČANJE KEMIJSKE POTREBE PO KISIKU (KPK)
ZA VZORCE Z VISOKO VSEBNOSTJO TRDNIH DELCEV**

DIPLOMSKO DELO

Tine ROJ

Mentor: prof. dr. Gregor D. Zupančič

Nova Gorica, 2014

IZJAVA

Izjavljam, da je diplomsko delo rezultat lastnega raziskovalnega dela. Rezultati, ki so nastali v okviru skupnega raziskovanja z drugimi raziskovalci, ali so jih prispevali drugi raziskovalci (strokovnjaki), so eksplicitno prikazani oziroma navedeni (citirani) v diplomskem delu.

Tine ROJ

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorju prof. dr. Gregorju D. Zupančiču in celotnemu kolektivu podjetja IOS, d. o. o., še posebej dr. Nini Novak, za pomoč in koristne nasvete pri delu v laboratoriju. Prav tako se zahvaljujem svoji družini, ki me je v času študija in nastajanja diplomskega dela podpirala.

Hvala vsem!

POVZETEK

Diplomsko delo obravnava razvoj SFM določevanja KPK za vzorce z visoko vsebnostjo trdnih delcev. Vzorci so bili analizirani po standardni titracijski metodi ISO 6060, prilagojeni po Zupančič in Roš (2012), in z na novo razvito metodo s pomočjo spektrofotometra. Reagenti so bili pripravljene v prilagojenih koncentracijskih območjih po DIN 38414, zato vzorcev ni bilo potrebno redčiti. Pri tem so nekateri reagenti in procesni koraki poenostavljeni ali opuščeni. Princip SFM je enak prilagojeni metodi, le da določanje vrednosti KPK poteka z merjenjem absorbance vzorca, namesto titriranja vzorca s FAS. To je tudi prednost SFM, saj uporaba FAS kot reagenta ni potrebna. Izbor valovnih dolžin kot tudi koncentracija oksidanta sta odvisna od koncentracijskega območja KPK v vzorcu. Meritve smo izvajali pri valovni dolžini 600 nm in pri tem uporabljali dolžino optične poti skozi vzorec med 10 in 24 mm. KHF (10.000 mg/L) in celuloza (1.185 mg/g) sta bila analizirana kot standardna vzorca, drugi vzorci so bili HSWW (134.991 ± 946 mg/kg), AB (17.650 ± 867 mg/kg), ZOO (48.624 ± 3.821 mg/kg) in pivske tropine (340.022 ± 13.530 mg/kg). Primerjava testov po obeh metodah je pokazala, da so rezultati za koncentracijska območja od 30 % do 170 % skladni pri meritvah z optično potjo skozi vzorec 10 mm. Pri 20 mm optične poti skozi vzorec se pri višjih koncentracijskih območjih pojavljajo manjši odkloni, ki so vseeno zanemarljivi. Skladnost med metodama pri 24 mm dolžine optične poti pa je opazna le do 100 % koncentracijskega območja. Odstopanja med posameznimi paralelkami vseh štirih realnih vzorcev nihajo od 0,1 % do 12,0 %, med tem ko so povprečna odstopanja posameznih vzorcev med 2,6 % in 5,4 %.

Ključne besede: KPK, ISO 6060, DIN 38414, titracija, spektrofotometrija

ABSTRACT

This thesis discusses development of spectrophotometric method for COD of samples with high suspended solids. Samples were analyzed by a standard titration method according to ISO6060 adjusted by Zupančič and Roš (2012) and the newly applied method using a spectrophotometer. Reagents were prepared in the customized concentration range according to DIN 38414; therefore it was no need to dilute samples. In this context some of the reagents and processing steps were simplified or abandoned. The principle of the spectrophotometric method is similar to adapted method, except that the determination of the COD value is carried out by measuring the absorbance of the sample, instead of titration with FAS reagent. This is huge advantage of spectrophotometric method, since the use of a FAS reagent is not required. The selection of wavelengths as well as the concentration of the oxidant depends on the concentration range of COD of the sample. Measurements were performed at a wavelength of 600 nm and optical path length between 10 and 24 mm were used. Potassium hydrogen phthalate (10,000 mg/L) and cellulose (1.185 mg/g) were analyzed as a standard sample, while the remaining samples were: high strength wastewater (134.991 ± 946 mg/kg), anaerobic sludge from the biogas plant (17.650 ± 867 mg/kg), grinded organic wastes (48.624 ± 3.821 mg/kg) and pomace from brewery industry (340.022 ± 13.530 mg/kg). Comparison of the tests using both methods showed that the results for the concentration ranges from 30 % to 170 % are consistent at optical path length 10 mm. For 20 mm optical path length at higher concentration ranges some smaller deviations appear, which are however negligible. Consistency between the two methods in 24 mm optical path length is noticeable only up to 100% concentration range. Deviations between individual parallel runs of all four samples vary from 0.1% to 12.0%, while the average discrepancies of individual sample vary between 2.6 % and 5.4 %

Keywords: COD, ISO 6060, DIN 38414, titration, spectrophotometry

SEZNAM SIMBOLOV IN OKRAJŠAV

AB	Anaerobno blato iz bioplinarne
BPK	Biološka potreba po kisiku
FAS	Železo-amonijev sulfat
HSWW	Močno onesnažena odpadna voda
KHF	Kalijev hidrogen ftalat
KPK	Kemijska potreba po kisiku
SFM	Spektrofotometrična metoda
TOC	Skupni organski ogljik
ZOO	Zmleti organski odpadki

KAZALO VSEBINE

1	UVOD	1
1.1	Predstavitev problema	1
1.2	Hipoteze diplomskega dela.....	2
2	TEORETIČNI DEL	3
2.1	Splošno o KPK	3
2.1.1	Metoda po standardu ISO 6060 (1989).....	4
2.1.2	Prilagoditev po DIN 38414 (1986).....	6
2.2	Spektrofotometrično določevanje KPK.....	8
3	MATERIALI IN METODE	10
3.1	Materiali	10
3.1.1	Substrati – vzorci za analizo	10
3.1.2	Laboratorijska oprema	13
3.1.3	Aparature.....	13
3.1.4	Reagenti.....	14
3.1.5	Priprava vzorcev	15
3.2	Prilagojena metoda – Zupančič in Roš (2012)	23
3.3	Spektrofotometrično določanje KPK	26
3.4	Primerljivost metod	27
4	REZULTATI	28
4.1	KHF– tekoči standard	28
4.1.1	Spektrofotometrično določanje – dolžina poti skozi vzorec: 10 mm.....	28
4.1.2	Spektrofotometrično določanje – dolžina poti skozi vzorec: 24 mm.....	30
4.1.3	Določanje po prilagojeni metodi (Zupančič in Roš, 2012)	32
4.1.4	Umeritvena krivulja	33
4.2	Celuloza – praškasti standard.....	35
4.2.1	Spektrofotometrično določanje – dolžina poti skozi vzorec: 10 mm.....	35
4.2.2	Spektrofotometrično določanje – dolžina poti skozi vzorec: 20 mm.....	37
4.2.3	Spektrofotometrično določanje – dolžina poti skozi vzorec: 24 mm.....	39
4.2.4	Določanje po prilagojeni metodi (Zupančič in Roš, 2012)	41
4.2.5	Umeritvene krivulje	43
4.3	Vzorec 1 – HSWW.....	46
4.3.1	Spektrofotometrično določanje	46

4.3.2	Določanje po prilagojeni metodi (Zupančič in Roš, 2012)	47
4.3.3	Primerjava SFM s prilagojeno metodo	48
4.4	Vzorec 2 – AB.....	49
4.4.1	Spektrofotometrično določanje	49
4.4.2	Določanje po prilagojeni metodi (Zupančič in Roš, 2012)	51
4.4.3	Primerjava SFM s prilagojeno metodo	51
4.5	Vzorec 3 – ZOO.....	53
4.5.1	Spektrofotometrično določanje	53
4.5.2	Določanje po prilagojeni metodi (Zupančič in Roš, 2012)	54
4.5.3	Primerjava SFM s prilagojeno metodo	55
4.6	Vzorec 4: Pivske tropine	56
4.6.1	Spektrofotometrično določanje	56
4.6.2	Določanje po prilagojeni metodi (Zupančič in Roš, 2012)	58
4.6.3	Primerjava SFM s prilagojeno metodo	59
4.7	Diskusija rezultatov.....	60
5	ZAKLJUČEK.....	62
6	VIRI	64

SEZNAM SLIK

Slika 1: Določanje koncentracije KPK po ISO 6060	5
Slika 2: Način zaznavanja koncentracije KPK po prilagojeni metodi.....	7
Slika 3: KHF.....	10
Slika 4: Celuloza – praškasti standard	11
Slika 5: Visoko obremenjena odpadna voda iz pivovarske industrije.....	11
Slika 6: Anaerobno blato iz bioplinarne	12
Slika 7: Zmleti organski odpadki (Mackie, 2012)	12
Slika 8: Sladne tropine	13
Slika 9: Razklopni grelec Hach Lange HT 200 s (Hach Lange, 2014)	23
Slika 10: Avtomatski titrator Mettler-Toledo T50.....	24
Slika 11: Spektrofotometer Hach Lange DR3900.....	26
Slika 12: Prikazovalnik meritev absorbance po spektru valovnih dolžin od 340 do 900 nm	27
Slika 13: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 30 % (kiveta: l = 10 mm)	28
Slika 14: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 64 % (kiveta: l = 10 mm)	28
Slika 15: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 100 % (kiveta: l = 10 mm)	29
Slika 16: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 136 % (kiveta: l = 10 mm)	29
Slika 17: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 170 % (kiveta: l = 10 mm)	29
Slika 18: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 30 % (kiveta: l = 24 mm)	30
Slika 19: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 64 % (kiveta: l = 24 mm)	30
Slika 20: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 100 % (kiveta: l = 24 mm)	31
Slika 21: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 136 % (kiveta: l = 24 mm)	31
Slika 22: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 170 % (kiveta: l = 24 mm)	31
Slika 23: Odvisnost absorbance od koncentracije KPK z umeritveno krivuljo za tekoči standard - KHF (kiveta: l = 10 mm)	34
Slika 24: Odvisnost absorbance od koncentracije KPK z umeritveno krivuljo do 100 % koncentracijskega območja za tekoči standard - KHF (kiveta: l = 24 mm)	34
Slika 25: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 30 % (kiveta: l = 10 mm)	35
Slika 26: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 64 % (kiveta: l = 10 mm)	35
Slika 27: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza	36

Slika 28: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza	36
Slika 29: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza	36
Slika 30: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 30 % (kiveta: l = 20 mm)	37
Slika 31: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 64 % (kiveta: l = 20 mm)	37
Slika 32: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza	38
Slika 33: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza	38
Slika 34: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza	38
Slika 35: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 30 % (kiveta: l = 24 mm)	39
Slika 36: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 64 % (kiveta: l = 24 mm)	39
Slika 37: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza	40
Slika 38: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza	40
Slika 39: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza	40
Slika 40: Odvisnost absorbance od koncentracije KPK z umeritveno krivuljo za praškasti standard - celuloza (kiveta: l = 10 mm)	43
Slika 41: Odvisnost absorbance od koncentracije KPK z umeritveno krivuljo do 100 % koncentracijskega območja za praškasti standard - celuloza (kiveta: l = 24 mm)	44
Slika 42: Odvisnost absorbance od koncentracije KPK z umeritveno krivuljo za praškasti standard - celuloza (kiveta: l = 20 mm)	45
Slika 43: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 1 – HSWW	46
Slika 44: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 1 – HSWW	46
Slika 45: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 1 – HSWW	47
Slika 46: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 2 – AB	49
Slika 47: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 2 – AB	50
Slika 48: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 2 – AB	50
Slika 49: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 3 – ZOO	53
Slika 50: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 3 – ZOO	53
Slika 51: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 3 – ZOO	54
Slika 52: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 4 – Pivske tropine	57
Slika 53: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 4 – Pivske tropine	57
Slika 54: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 4 – Pivske tropine	58

SEZNAM TABEL

Tabela 1: Konc. reagentov pri ISO 6060 in DIN 38414 (Zupančič in Roš, 2012)	6
Tabela 2: KHF – Faktor redčenja za posamezno koncentracijsko območje.....	15
Tabela 3: Celuloza – Konc. območja, dejanske mase in teoretična vrednost KPK	17
Tabela 4: HSWW – Dejansko izmerjena masa vzorca za posamezno paralelko	19
Tabela 5: AB – Dejansko izmerjena masa vzorca za posamezno paralelko	20
Tabela 6: ZOO – Dejansko izmerjena masa vzorca za posamezno paralelko	21
Tabela 7: Pivske tropine – Dejansko izmerjena masa vzorca za posamezno paralelko	22
Tabela 8: KHF – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 30 %.....	32
Tabela 9: KHF – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 64 %.....	32
Tabela 10: KHF – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 100 %.....	32
Tabela 11: KHF – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 136 %.....	33
Tabela 12: KHF – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 170 %.....	33
Tabela 13: Celuloza – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 30 %	41
Tabela 14: Celuloza – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 64 %	41
Tabela 15: Celuloza – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 100 %	42
Tabela 16: Celuloza – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 136 %	42
Tabela 17: Celuloza – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 170 %	42
Tabela 18: Izmerjene koncentracije KPK – HSWW	47
Tabela 19: Primerjava metod – HSWW (10 mm)	48
Tabela 20: Primerjava metod – HSWW (24 mm)	48
Tabela 21: Primerjava metod – HSWW (20 mm)	49
Tabela 22: Izmerjene koncentracije KPK – AB.....	51
Tabela 23: Primerjava metod – AB (10 mm)	51
Tabela 24: Primerjava metod – AB (24 mm)	52
Tabela 25: Primerjava metod – AB (20 mm)	52
Tabela 26: Izmerjene koncentracije KPK – ZOO.....	54
Tabela 27: Primerjava metod – ZOO (10 mm)	55
Tabela 28: Primerjava metod – ZOO (24 mm)	55
Tabela 29: Primerjava metod – ZOO (20 mm)	56
Tabela 30: Izmerjene koncentracije KPK – pivske tropine.....	58
Tabela 31: Primerjava metod – pivske tropine (10 mm)	59
Tabela 32: Primerjava metod – pivske tropine (24 mm)	59

1 UVOD

1.1 Predstavitev problema

Pomemben parameter za določitev onesnaževanja voda je količina organskega onesnaženja, ki je raztopljen in suspendiran v vodi. Uveljavili sta se predvsem dve celostni tehniki, ki temeljita na osnovi potrebe po kisiku – bodisi kemijske ali biološke. V obeh primerih se določa skupna koncentracija snovi, ki se lahko oksidira do končnih neorganskih produktov. Glavna naloga za preprečitev okoljskih katastrof so redne meritve koncentracij snovi v vodi, ki potencialno predstavljajo nevarnost za motnjo kisikovih razmer (Pisarevsky in sod., 2005).

Anaerobna obdelava in proizvodnja bioplina sta med razvojem ravnanja z odpadki postali zelo pogosti izbiri za obdelavo odpadkov in tudi odpadnih vod. Substrati z visoko vsebnostjo trdnih organskih snovi se večinoma uporabljajo v reaktorjih za proizvodnjo bioplina. Pri tem vhodne in izhodne snovi vsebujejo nekajkrat višje vrednosti trdnih organskih delcev, kot jih vsebujejo odpadne vode. Posledica je, da so vrednosti kemijske potrebe po kisiku (KPK) veliko večje (razpon med 50.000 in 400.000 mg/kg), kot so vrednosti KPK v sami odpadni vodi (razpon med 100 in 10.000 mg/L). V takšnih primerih je ob uporabi standardnih analiznih metod potrebno vzorce redčiti, kar vpliva na točnost rezultatov. Poleg tega so v vzorcih pogosto delci, veliki od 1 do 4 mm, ki vsebujejo celulozne in maščobne snovi ter druge nehomogene delce z deležem suhe snovi do 30 %. Pri večjem redčenju se zaradi tega trdni delci porazdelijo neenakomerno, kar povzroči precejšnje razlike med posameznimi vzorci v paralelnih analizah. Vse te slabosti so v zgodovini raziskovanja spodbudile k iskanju novih, primernejših načinov za določevanje KPK v močno onesnaženih odpadnih vodah in vzorcih z visoko vsebnostjo trdnih delcev (Zupančič in Roš, 2012).

Z razvojem novih tehnologij v industriji in povečanim obsegom onesnaževanja se je pokazala potreba po poenostavitvi standardne metode določevanja KPK (Abuzaid in sod., 1997). Ta ima nekatere slabosti, ki v kontekstu preskušanja močno onesnaženih odpadnih voda niso zanemarljive. Povratna titracija dikromata po obdelavi vzorca ima zelo nizko stopnjo občutljivosti zaznavanja (Jirka in Carter, 1975), poleg tega pa je časovno in stroškovno potratna (Abuzaid in sod., 1997). Z razvojem standardne metode se je pomanjkanje občutljivosti zaznavanja delno ublažilo z uporabo dveh različnih koncentracij dikromata in relativno veliko količino vzorca. To pa je pripeljalo do velike porabe dragih reagentov, kot so kalijev dikromat, srebrov sulfat – žveplova kislina in FAS, ki so obenem tudi izredno škodljivi za okolje. Težavnost odlaganja odpadnih raztopin z vsebnostjo teh reagentov predstavlja resen problem za večino industrijskih laboratorijev (Jirka in Carter, 1975).

Li in sod. (2009) so predstavili spektrofotometrični postopek merjenja KPK. Njihove raziskave so temeljile na nizkem koncentracijskem območju (od 20 do 600 mg/L), kar pri vzorcih z visoko vsebnostjo trdnih delcev ni mogoče. V tem primeru je barva vzorca temna in neprosojna, kar vizualno preprečuje kakršnokoli opažanje spremembe barve (Zupančič in Roš, 2012).

1.2 Hipoteze diplomskega dela

1. Kljub temnosti vzorca je pri SFM mogoče razločiti absorbance in vzorec primerno ovrednotiti.
2. Rezultati spektrofotometričnih meritev so pri različnih koncentracijskih območjih linearni in popolnoma primerljivi s klasično metodo, prilagojeno po Zupančič in Roš (2012).
3. Iz postopka je mogoče izločiti titrant FAS in zmanjšati porabo reagentov kalijevega dikromata in žveplove (VI) kisline.

2 TEORETIČNI DEL

2.1 Splošno o KPK

Skladno s povečanjem onesnaževanja voda se povečuje tudi število raziskav in študij s tega področja. Glavni pokazatelj za določitev onesnaževanja je koncentracija kisika, ki vzdržuje normalne ekološke pogoje v vodnih telesih, vendar je neprimerno, da se pri določanju opiramo zgolj na ta dejavnik. Glavna naloga za preprečitev okoljskih katastrof so redne meritve koncentracij snovi, ki potencialno predstavljajo nevarnost za motnjo kisikovih razmer v vodi. Ta problem je bil rešen z razvitjem dveh celostnih tehnik za določanje BPK in KPK (Pisarevsky in sod., 2005).

Vendar določanje BPK predstavlja dve težavnosti – vnos bakterijske mikroflore in biogenih elementov v vzorec ter dolgotrajen analizni postopek. V praksi se najpogosteje uporabljajo rezultati pridobljeni po inkubaciji 5 dni, vendar popolna biokemijska oksidacija lahko traja od 20 do 25 dni (Kim, 2003).

V obeh primerih se določa skupna koncentracija snovi, ki lahko oksidirajo (biološko ali kemijsko) do končnih neorganskih produktov. Ker ima standardni test KPK izredno širok spekter uporabe, omogoča odlično razmerje med vrednostjo dane informacije in hitrostjo analize. Če metodo primerjamo s testom BPK in poleg tega še s testom TOC, ta prednost pride še bolj do izraza (Pisarevsky in sod., 2005).

Standardni postopek vključuje vretje vzorca (2 h) v 8 M raztopini H_2SO_4 vključno z dodajanjem katalizatorjev $K_2Cr_2O_7$ (kalijev dikromat) in Ag_2SO_4 (srebrov sulfat) in živosrebrovih soli za vezavo kloridov. Nevezani $Cr_2O_7^{2-}$ se odstrani pri titraciji s FAS, pri čemer se kot indikator uporabi feroin $[Fe(o-phen)_3]SO_4$ (Pisarevsky in sod., 2005).

Pri analizah gospodinjskih odpadkov zato standardni postopek za določevanje KPK v večini primerov omogoča zahtevano oksidacijo (90–100 % glede na teoretično izračunane vrednosti), medtem ko je v nekaterih drugih primerih ta postopek neprimeren, kar se opredeli na podlagi sestave vode, ki jo preučujemo. Metoda KPK je na primer neprimerna za analize voda, ki po redčenju vsebujejo več kot 2 g/L kloridov (Pisarevsky in sod., 2005).

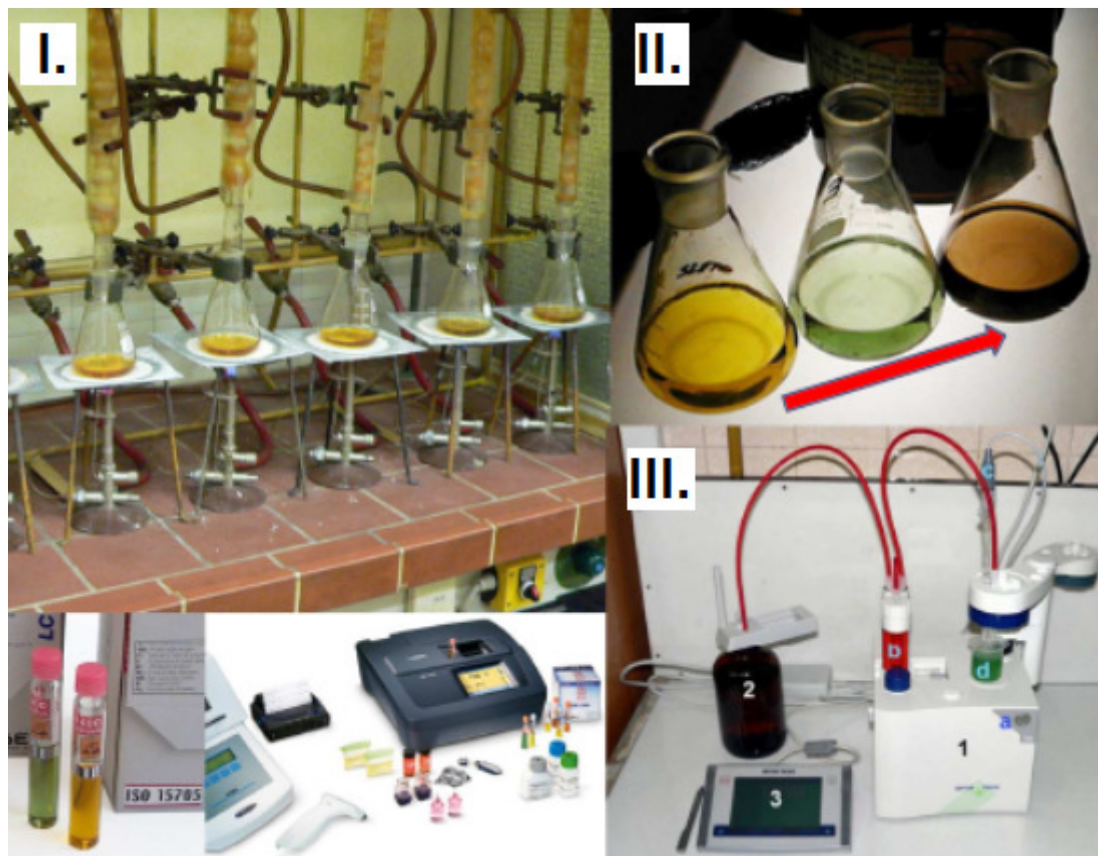
V nekaterih državah uporabljajo svoje načine določanja KPK. Na primer japonski znanstveniki so prepričani, da je za določanje kakovosti voda po pokazatelju KPK dovolj, če se opravi analiza le hitro oksidirajočih komponent. Te predstavljajo takojšnja grožnja obstoječemu stanju vodnega okolja (Leithe W., 1975, cit. po Pisarevsky A.M. in sod., 2005). V tem pristopu se kot oksidant uporablja $KMnO_4$, pogoji analize pa so precej milejši. Omeniti je potrebno, da je uporaba integriranih pokazateljev pogosto zelo težavna, saj ne le, da je potrebno standardizirati osnovne principe, ampak je potrebno standardizirati tudi druge podrobnosti analitičnega postopka (Pisarevsky in sod., 2005).

2.1.1 Metoda po standardu ISO 6060 (1989)

Ta mednarodni standard (ISO 6060, 1989) opredeljuje metodo za določanje KPK v vodi.

Metoda je primerna za vode, pri katerih se vrednost KPK giblje med 30 mg/L in 700 mg/L. Vsebnost kloridov ne sme presegati 1000 mg/L. Če vrednost KPK v vzorcu presega 700 mg/L, je takšen vzorec potrebno redčiti. Za večjo točnost je priporočljivo, da se koncentracija KPK v vzorcu giblje med 300 mg/L in 600 mg/L. V takšnih reakcijskih pogojih se organske komponente obsežno oksidirajo (izključene so nekatere spojine z določenimi strukturami – piridini, nukleusi in kvartarne dušikove spojine). Hlapne hidrofobne spojine lahko izhlapijo in tako uidejo oksidaciji. Anorganske spojine, oksidirane pod reakcijskimi pogoji, so bromidni in jodidni ioni, določene žveplove spojine, nitritni ioni in določene kovine. Na drugi strani lahko nekatere spojine pri določenih reakcijskih pogojih reagirajo kot oksidanti. To je odvisno od načina uporabe rezultatov tega testa in mora biti upoštevano med eksperimentom. Na sliki (**Slika 1**) Slika 1: Določanje koncentracije KPK po ISO 6060 je prikazan način zaznavanja KPK s titracijo:

- (I.) ročna titracija več paralelk
- (II.) vidne razlike v barvi raztopin pri različnih koncentracijskih območjih – višja kot je koncentracija, temnejša je barva raztopine. Zeleno obarvana raztopina je 100 % koncentracijsko območje
- (III.) primer avtomatske titracije, ki deluje na osnovi razlike v električni napetosti po vzpostavljenem ravnovesju
 - (1) avtomatski titrator
 - (a) vklop/izklop titratoja
 - (b) avtomatski dozirni sistem za FAS
 - (c) pH-meter
 - (d) vzorec, mešalo in detektor električne napetosti
 - (2) steklenica s FAS
 - (3) digitalni upravljalnik celotnega sistema avtomatske titracije

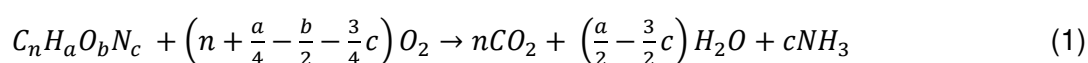


Slika 1: Določanje koncentracije KPK po ISO 6060

Reagenti in materiali, ki se uporabljajo pri tej metodi, so žveplova kislina, srebrov sulfat-žveplova kislina, kalijev dikromat, FAS in KHF. Slednji ima točno določeno koncentracijo KPK, ki je 500 mg/L in predstavlja 100 % koncentracijsko območje. Za primerljivost metode je potrebno vzorce analizirati v različnih, vendar veljavnih koncentracijskih območjih – to je med 30 % in 170 % oziroma od 150 mg/L do 850 mg/L.

Standardna referenčna raztopina kalijev dikromat vsebuje živosrebrne soli, da se izloči interferenca kloridov. FAS je standardna volumetrična raztopina, ki jo je vsak dan potrebno standardizirati – standardno referenčno raztopino kalijevega dikromata raztopimo v žveplovi kislini v razmerju 1:9 (100 mL) in titramo s FAS. KHF je standardna referenčna raztopina, obstojna 1 teden pri temperaturi prib. 4°C in temnem okolju.

Po definiciji ISO 6060 (1989) je KPK masna koncentracija kisika enakovredna količini dikromata porabljenega zaradi raztopljenega in suspendirane snovi v primeru, ko je vodni vzorec obdelan s tem oksidantom pod nadzorovanimi pogoji kot sledi:



2.1.2 Prilagoditev po DIN 38414 (1986)

Substrati z visoko vsebnostjo trdnih organskih snovi se večinoma uporabljajo v reaktorjih za proizvodnjo bioplina. Pri tem vhodne in izhodne snovi vsebujejo nekajkrat višje vrednosti suhih organskih delcev, kot jih vsebujejo odpadne vode. Posledica je, da so koncentracije KPK veliko večje (razpon med 50.000 in 400.000 mg/kg), kot so te vrednosti v sami odpadni vodi (razpon med 400 in 800 mg/L). V takšnih primerih je pri uporabi standardnih metod APHA-AWWA-WEF (2005) in ISO 6060 (1989) vzorce potrebno redčiti, kar vpliva na natančnost rezultatov.

Poleg tega so v vzorcih pogosto delci veliki od 1 do 4 mm, ki vsebujejo celulozne in maščobne snovi ter druge nehomogene delce z deležem vode tudi do 80 %. Pri večjem redčenju se zaradi tega trdni delci porazdelijo neenakomerno, kar povzroči precejšnje razlike med posameznimi vzorci.

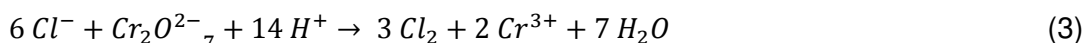
Zupančič in Roš (2012) sta pred kratkim predstavila prilagojeno metodo za določanje KPK v vzorcih z visoko vsebnostjo trdnih delcev in vrednostmi KPK do 400.000 mg/kg. Njuna metoda temelji na standardni metodi ISO 6060 (1989) s spremenjenimi koncentracijami reagentov.

Tabela 1: Konc. reagentov pri ISO 6060 in DIN 38414 (Zupančič in Roš, 2012)

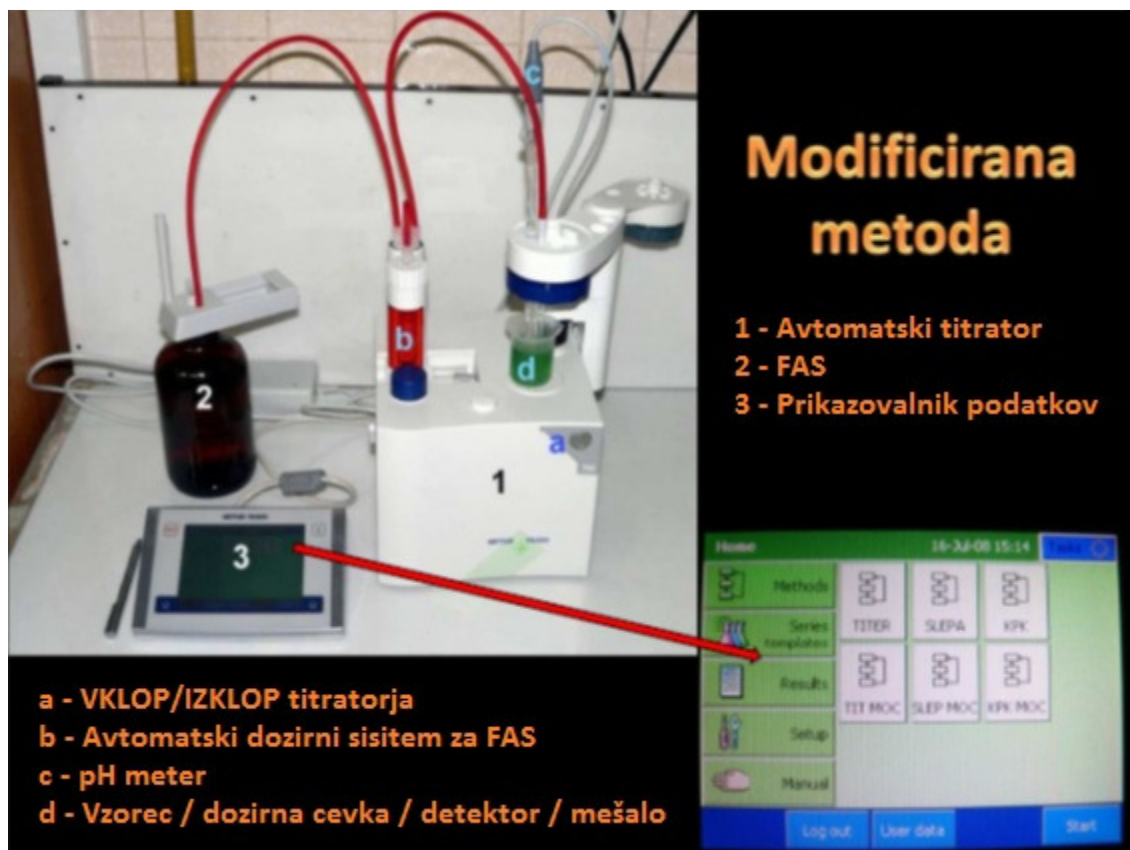
Kemikalija	ISO 6060	DIN 38414
Kalijev dikromat; mol/L	0,04	0,20
FAS; mol/L	0,12	0,5
Srebrov sulfat; g/L	10	70

V tabeli (**Tabela 1**) je prikaz razlik v koncentracijah reagentov. Posledica višjih koncentracij reagentov po prilagojeni metodi je temnejša barva alikvotov. Nadalje se to odraža v minimalnih razlikah obarvanosti posameznih koncentracijskih območij, kar privede do tega, da titracija s feroinskim indikatorjem ni mogoča. Razlog je v tem, da sprememba barve indikatorja ni vidna s prostim očesom, zato se tudi poraja vprašanje o občutljivosti spektrofotometričnega zaznavanja teh minimalno vidnih razlik.

Namesto klasične titracije se uporablja avtomatska titracija, ki deluje na principu razlike v električni napetosti po vzpostavljenem ravnovesju. Takšne meritve so se izkazale za zelo natančne. Za nevtralizacijo klorida do 3500 mg/L ob maksimalnem dodatku vzorca (3) se doda 7,5 mL srebrovega sulfata raztopljenega v žvepovi kislini; $c = 10$ g/L (Zupančič in Roš, 2012):



Na sliki (**Slika 2**) je prikazan postopek določanja KPK z metodo po Zupančič in Roš (2012).



Slika 2: Način zaznavanja koncentracije KPK po prilagojeni metodi

Uporabljene koncentracije so povzete po standardu DIN 38414 (1986), pri čemer so nekateri reagenti in procesni koraki poenostavljeni in/ali opuščeni. Podoben prilagojen pristop za določanje KPK trdnih substratov po standardu DIN 38414 je predlagal Raposo s sodelavci (2008) in ob tem uporabil odprti in zaprti refluks.

Po prilagojeni metodi po Zupančič in Roš (2012), se vzorec odmeri direktno v reakcijsko kiveto in se mu doda 20 mL raztopine kalijevega dikromata ($c = 0,2 \text{ mol/L}$). Ker so vzorci v naravi večinoma v trdnem ali poltrdnem stanju, je natančnost odmerjanja vzorcev izrednega pomena ($\pm 0,1 \text{ mg}$). Dodamo še 30 mL raztopine srebrovega sulfata – žveplove kisline in v 10 min segrejemo do vrelišča. Nato pustimo vreti še 110 min pri $148^\circ\text{C} \pm 3^\circ\text{C}$. Po 120 min vrenja kiveto ohladimo na cca. 60°C in razredčimo do skupnega volumna cca. 150 mL ter nadalje ohladimo na sobno temperaturo. Odvečni dikromat se titrira z raztopino FAS ($c = 0,5 \text{ mol/L}$) s pomočjo avtomatskega titratorja. Slep test se opravi z 10 mL deionizirane vode namesto vzorca.

2.2 Spektrofotometrično določevanje KPK

Z razvojem novih tehnologij v industriji in povečanim obsegom onesnaževanja se je pokazala potreba po poenostavitvi potratne standardne metode KPK. Eden od preskusov je uporaba postopka s krajšim časom razklopa vzorca pri višjih temperaturah. Na žalost se je izkazalo, da so rezultati teh postopkov enakovredni standardni metodi le, kadar jih uporabimo za vzorce z lahko oksidirajočim sestavom (Foulds J. M. in sod., 1968).

Molof in sod. (1964) ter Ickes in sod. (1968) opisujejo metodo KPK z uporabo spektrofotometrije in avtomatskega razklopa vzorca z uporabo kontinuiranega razklopa. Enako metodo, vendar z uporabo visokotemperaturne kopeli, je na konferenci v Pittsburghu predstavil še Adelman (1967). Tudi ta metoda se je pokazala za pomanjkljivo, saj rezultati za katerikoli vzorec niso ekvivalentni rezultatom izmerjenim po standardni metodi (Tiffet E.C. and Cain B.E., 1972, cit. po Jirka A.M. in sod., 1975). Neprimerljivost podatkov je posledica nepopolne oksidacije vzorca zaradi kratkega razklopnega časa. Poleg tega je problem tudi v tem, da se mora zaradi večjih količin žveplove kisline znižati koncentracija živosrebrovega sulfata. S tem se izognemo obarjanju živega srebra. Če je koncentracija živosrebrovega sulfata premajhna, lahko prisotni kloridi povzročajo interferenco (Jirka in sod., 1975).

Pri utečenem postopku analize po metodi z uporabo kalijevega dikromata se v prvi fazi vzorec refluksira s kalijevim dikromatom in žveplove kislino. Zraven se doda še HgSO_4 (živosrebrov sulfat), ki nevtralizira učinek kloridov, in srebrov sulfat, ki katalizira reakcijo. Nadalje se odvečni kalijev dikromat titrira s FAS. Porabljena količina kalijevega dikromata ustreza količini oksidirane organske snovi v vzorcu (Trivedi in sod., 1986).

Čeprav ima ta utečena metoda prednosti – točnost, ponovljivost, preprosti instrumenti; pa so zanjo znane tudi pomanjkljivosti. Prva pomanjkljivost je, da je točnost podatkov odvisna od sposobnosti izvajalca. Druga pomanjkljivost je dolžina procesa, saj izvedba oksidacije in titracije traja 3 ure. Pri tem se porabi veliko vode in električne energije, kar nakazuje na očitno neekonomičnost. Tretja pomanjkljivost je potreba po dragih reagentih – srebrov sulfat in strupeni živosrebrov sulfat, kar poveča stroške in doprinese k sekundarnemu onesnaževanju (Chan in sod., 2006).

Povratna titracija dikromata po obdelavi vzorca je metoda z zelo nizko stopnjo občutljivosti zaznavanja. Pomanjkanje občutljivosti metode se je z razvojem delno ublažilo z uporabo dveh različnih koncentracij dikromata in relativno veliko količino vzorca. To je pripeljalo do velike porabe dragih reagentov, ki so obenem izredno škodljivi za okolje. Težavnost odlaganja odpadnih raztopin z vsebnostjo teh reagentov predstavlja resen problem za večino industrijskih laboratorijev (Jirka in sod., 1975).

Glede na zgoraj navedene slabosti je bilo ogromno truda vloženega v racionalizacijo postopka in zmanjšanje porabe dragih in strupenih reagentov. Long L. in sod. (2005,

cit. po Li J. in sod., 2009) so predstavili SFM, ki izračunava koncentracijo KPK na podlagi pretvorbe Cr^{6+} v Cr^{3+} , kar se odraža v raznolikosti absorbance. Princip meritev temelji na dejstvu, da je Cr^{6+} intenzivno reduciran v Cr^{3+} , ker kalijev dikromat oksidira organsko snov. Zatorej zmanjšanje absorbance od Cr^{6+} do Cr^{3+} po določenem času inkubacije lahko korelira z vrednostjo vzorca KPK – ob upoštevanju umeritvene krivulje. Prednosti SFM so manjša poraba električne energije in reagentov, manjše sekundarno onesnaževanje in nižji stroški analize.

Li in sod. (2009) so predstavili spektrofotometrični postopek merjenja KPK v nizkem koncentracijskem območju (od 20 do 600 mg/L) z uporabo doma narejenih reagentov – kalijev dikromat in srebrov sulfat-žveplova kislina. Primerjali so rezultate meritev po standardni metodi, SFM s Hachovimi reagenti in SFM z doma narejenimi reagenti. Dokazali so, da je najboljša valovna dolžina za merjenja KPK pri 600 nm.

Enake ugotovitve beležijo pred njimi že Nakamura in sod. (2007) in tudi Yoshida in sod. (2002). Iz tega razloga so pri vseh nadaljnjih preskusih merili absorbanco pri 600 nm. Ugotovili so štiri prednosti spektrofotometrije proti standardni metodi titracije ali uporabi Hachovih reagentov. 1 – strošek doma narejenih reagentov je 10-krat nižji kot pri standardni metodi in celo 20-krat nižji, kot je pri uporabi Hachovih reagentov; 2 – manjša poraba kemičnih reagentov in posledično manjše sekundarno onesnaževanje okolja; 3 – krajši čas preskusa; 4 – visoka zanesljivost metode spektrofotometrije z uporabo doma narejenih reagentov (Li in sod., 2009).

3 MATERIALI IN METODE

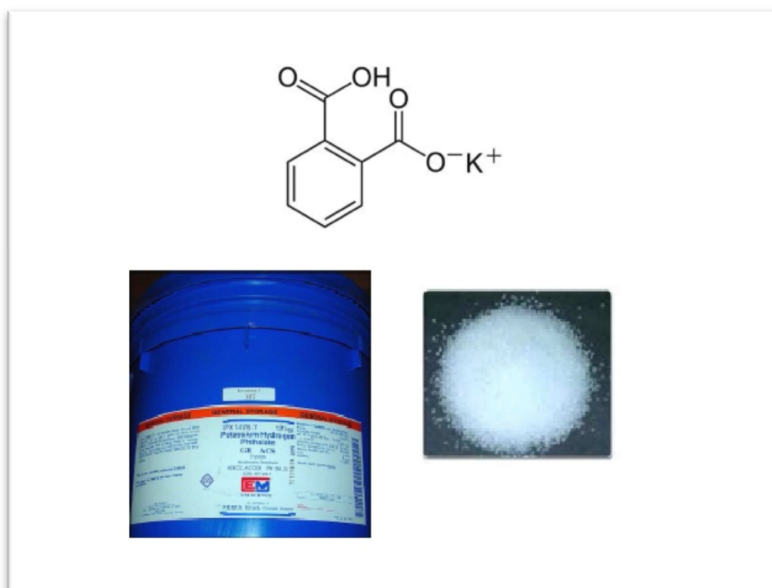
3.1 Materiali

3.1.1 Substrati – vzorci za analizo

Za ocenjevanje učinkovitosti predlagane metode določevanja KPK v primerjavi s preverjeno in potrjeno metodo sem uporabil raztopino KHF kot tekoči standard za ugotavljanje veljavnosti metode, celulozo kot praškasti standard in štiri substrate z visoko koncentracijo suspendiranih snovi.

3.1.1.1 KHF

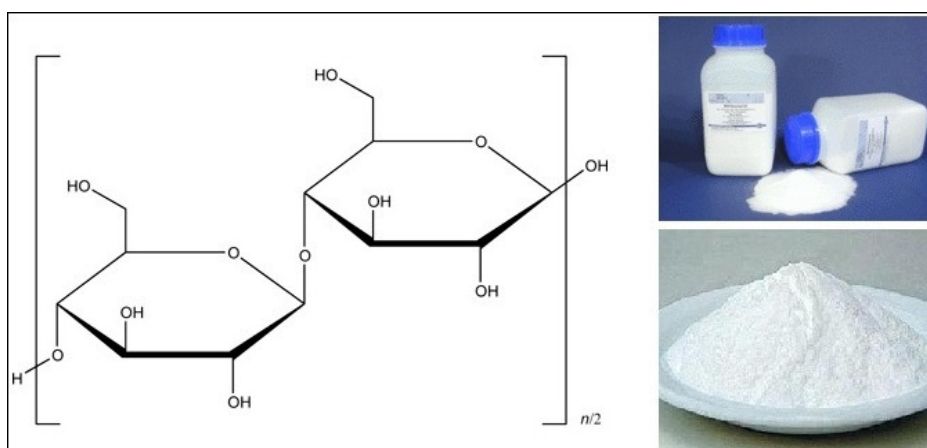
KHF je mednarodno sprejeta standardna referenčna raztopina, prikazana na sliki (**Slika 3**). Uporablja se za določanje KPK. Po ISO 6060 (1989) ima koncentracijo 2,082 mmol/L in teoretično vrednost KPK 500 mg/L. Z metodo po Zupančič in Roš (2012), se raztopino pripravi v 20-krat višji koncentraciji ($c = 41,64 \text{ mmol/L}$; $[t\text{KPK}] = 10.000 \text{ mg/L}$), ki v celotnem diplomskem delu predstavlja 100 % koncentracijsko območje. Pipetiranje substrata je zelo enostavno, vrednosti KPK so izražene v mg/L.



Slika 3: KHF

3.1.1.2 Celuloza

Uporabil sem jo kot trdni standard – (**Slika 4**). Vzorec sem odmerjal neposredno v reakcijsko posodo brez predhodne obdelave. Vrednosti KPK substrata so izražene v g/kg.



Slika 4: Celuloza – praškasti standard

3.1.1.3 Vzorec 1 – Visoko obremenjena odpadna voda (HSWW)

Uporabil sem frakcijo iz odpadne vode pivovarniške industrije z visoko vsebnostjo trde organske snovi (High strength wastewater – HSWW). Primer visoko obremenjene odpadne vode je prikazan na sliki (Slika 5). Vzorec se je odmerjal neposredno v reakcijsko posodo brez predhodne obdelave. Vrednosti KPK vzorca so izražene v mg/kg.



Slika 5: Visoko obremenjena odpadna voda iz pivovarske industrije

3.1.1.4 Vzorec 2 – AB

Uporabil sem anaerobno predelane odpadke z visoko vsebnostjo organske snovi. Vzorec se je odmerjal neposredno v reakcijsko posodo brez predhodne obdelave. Vrednosti KPK vzorca so izražene v mg/kg. Primer anaerobnega blata je na sliki (**Slika 6**).



Slika 6: Anaerobno blato iz bioplinarne

3.1.1.5 Vzorec 3 – ZOO

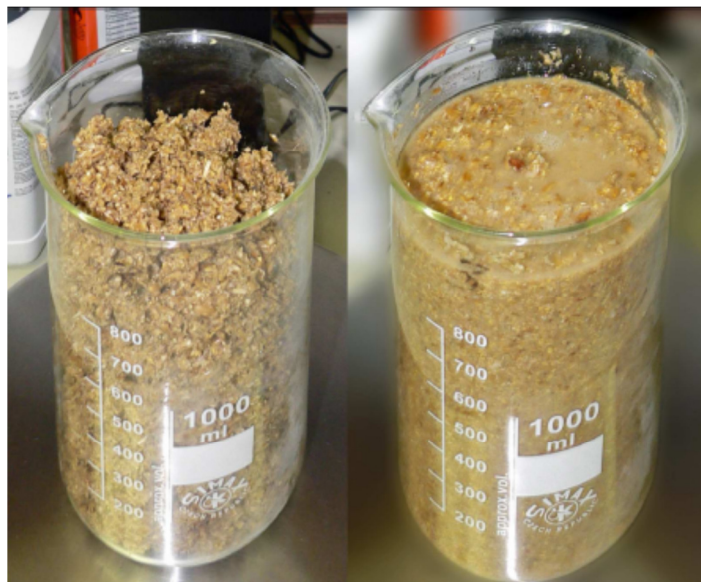
Sestava je bila pribl. 50 % ločeno zbranih organskih trdnih odpadkov, 30 % kuhinjskih odpadkov in 20 % živalskih maščobnih odpadkov. Vzorec je bil razredčen z vodo v razmerju 1:1 in odtehtan neposredno v reakcijsko posodo brez predhodne obdelave. Vrednosti KPK vzorca so izražene v mg/kg. Primer zmletih organskih odpadkov je prikazan na sliki (**Slika 7**).



Slika 7: Zmleti organski odpadki (Mackie, 2012)

3.1.1.6 Vzorec 4 – Pivske tropine z visoko vsebnostjo celuloze, hemi celuloze in lignina.

Tropine, ki so prikazane na sliki (**Slika 8**), so ostanek slada in so netopne sestavine slada. Vzorec je vseboval pribl. 25 % suhe snovi, vrednosti KPK vzorca so izražene v mg/kg.



Slika 8: Sladne tropine

3.1.2 Laboratorijska oprema

Za analizo KPK sem uporabil naslednjo opremo:

- Destilirana ali deionizirana voda
- Reakcijske kivete z ustreznim pokrovom – prostornina 15 mL
- Natančne birete
- Natančne pipete s prostorninami od 1 do 50 mL
- Običajna laboratorijska oprema vključno s steklovino za tehtanje, redčenje in shranjevanje
- Kivete za spektrofotometrijo različnih dolžinskih enot (premera 10, 20 in 24 mm)
- Hladilnik za shranjevanje standardnega vzorca s stalno temperaturo +4°C
- Digestorij za ravnanje z nevarnimi lahkihlapnimi snovmi.

3.1.3 Aparature

- Laboratorijska tehtnica z natančnostjo $\pm 0,01$ mg
- Laboratorijska tehtnica z natančnostjo ± 1 mg
- Razklopni grelec HACH LANGE HT 200 s
- Titracijska naprava (METLER TOLEDO T50) – prilagojena metoda
- Spektrofotometer (HACH LANGE DR 3900) – nova metoda

3.1.4 Reagenti

Način določanja KPK po prilagojeni metodi je enak standardnemu postopku po metodi ISO 6060 (1989), razlike so le v koncentracijah reagentov. Uporabljene so koncentracije, kot jih določa standard DIN 38414 (1986), pri čemer so nekateri reagenti in postopki poenostavljeni ali so opuščeni. V principu so bili glavni reagenti pripravljene v koncentracijskih območjih, ki omogočajo analizo 20-krat bolj koncentriranih vzorcev (100 mg KPK).

3.1.4.1 Kalijev dikromat; standardna referenčna raztopina

Reagent ($[K_2Cr_2O_7] = 0,20 \text{ mol/L}$) vsebuje živosrebrovo sol, da bi se izognili kloridni interferenci. Živosrebrov (II) sulfat ($HgSO_4$, 70 g) sem raztopil v deionizirani vodi (800 ml), dodal žveplovo kislino ($\rho = 1,84 \text{ g/ml}$, 100 ml) in posušen kalijev dikromat (58,84 g, 2h pri $105^\circ C$), nato pa raztopino razredčil do 1000 ml. Raztopina je bila vas čas hranjena v temnem prostoru.

Tako pripravljeno raztopino kalijevega dikromata sem pred vsako analizo dodal vzorcem (5 mL), kar je 4-krat manj kot pri metodi po Zupančič in Roš (2012).

3.1.4.2 Amonij-železov(II) sulfat(VI) heksahidrat – Ferrous ammonium sulphate (FAS),

FAS je standardna volumetrična raztopina ($[(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O] \approx 0,50 \text{ mol/L}$; 196,11 g). Titrant FAS in žveplovo kislino ($\rho = 1,84 \text{ g/ml}$, 20 ml) sem raztopil v deionizirani vodi do 1000 ml. Vsakodnevno sem za določitev dejanske koncentracije FAS-a, tega titiral s kalijevim dikromatom ($V = 10,0 \text{ ml}$), razredčenim z žveplovo kislino ($[H_2SO_4] = 4 \text{ mol/L}$) do približno 100 ml. S titracijo sem določil dejansko koncentracijo FAS-a, ki se računa po formuli (Zupančič G. D. in Roš M., 2012 cit. po APHA-AWWA-WEF, 2005):

$$c_{FAS} = \frac{V_{K_2Cr_2O_7} \times c_{K_2Cr_2O_7}}{V_{FAS}} = \frac{5,0 \times 0,20 \times 6}{V_{FAS}} = \frac{6}{V_{FAS}} \quad (4)$$

c_{FAS} ... koncentracija FAS, (mol/L)

V_{FAS} ... Volumen porabljenega titranta FAS (mL)

$V_{K_2Cr_2O_7}$... volumen kalijevega dikromata (mL)

$c_{K_2Cr_2O_7}$... koncentracija kalijevega dikromata (mol/L)

3.1.4.3 Srebrov sulfat – žveplova kislina, ($Ag_2SO_4 - H_2SO_4$),

V 35 mL deionizirane vode sem raztopil Ag_2SO_4 (10 g) in nato dodal še žveplovo kislino ($\rho = 1,84 \text{ g/ml}$, 965ml). Raztopino sem en dan mešal na magnetnem mešalu.

3.1.5 Priprava vzorcev

3.1.5.1 KHF – standardna raztopina

KHF [$\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$] = 41.64 mmol/L je standardna referenčna raztopina za določevanje vsebnosti KPK v vodnih vzorcih. Zaradi analiz v koncentracijskih območjih višjih od 100 % sem ga pripravil z višjo koncentracijo (83,28 mmol/L). Tako je vrednost KPK v raztopini 20.000 mg/L (200 % koncentracijsko območje). KHF (17 g) sušimo pri 105°C in raztopimo v deionizirani vodi (1000 ml). Raztopina je stabilna vsaj en teden, če je shranjena pri konstantni temperaturi 4°C. Običajno to standardno raztopino dodamo v reakcijsko bučko (5 ml) za oceno točnosti analize.

Tabela 2: KHF – Faktor redčenja za posamezno koncentracijsko območje

teoretično konc. območje	št. paralelk	V_{KHF} (mL)	V_{VZORCA} (mL)	f_{R} (mL/mL) *
30%	9	0,375	2	0,1875
64%	9	0,8	2	0,4
100%	9	1,25	2	0,625
136%	9	1,7	2	0,85
170%	9	2,125	2,5	0,85

* f_{R} – faktor redčenja standardne referenčne raztopine ($c=83,28$ mmol/L; $\text{KPK}=20.000$ mg/L)

Za pripravo ustreznih koncentracij alikvotov sem moral najprej izračunati maso KPK, ki je ustrezna za določeno koncentracijsko območje. Faktor 10^{-3} sem uporabil za pretvorbo volumenskih enot (mL \rightarrow L). Zapisani postopek vsebuje vrednosti za koncentracijsko območje 100%. Ob upoštevanju ustreznih teoretičnih koncentracij KPK (30 % = 3.000 mg/L, 64 % = 6.400 mg/L, 136 % = 13.600 mg/L, 170 % = 17.000 mg/L), sem ga uporabil tudi za druga koncentracijska območja.

$$V_{\text{ALIKVOTA}} = 2,5 \text{ mL}$$

Pri čemer je volumen zredčenega vzorca 2 mL, drugo je deionizirana voda (0,5 mL), razen v primeru koncentracijskega območja 170%, kjer je V_{VZORCA} enako V_{ALIKVOTA} (2,5 mL).

$$t\text{KPK} = 10.000 \text{ mg/L}$$

$$m\text{KPK} = \frac{V_{\text{ALIKVOTA}} \times t\text{KPK}}{10^3 \text{ mL/L}} = \frac{2,5 \text{ mL} \times 10.000 \text{ mg/L}}{10^3 \text{ mL/L}} = 25 \text{ mg} \quad (5)$$

Nato sem izračunal volumen začetne standardne raztopine KHF, ki ustreza posameznemu koncentracijskemu območju.

$$\text{KPK}_{\text{KHF}} = 20.000 \text{ mg/L}$$

$$m\text{KPK} = 25 \text{ mg}$$

$$V_{\text{KHF}} = \frac{m\text{KPK} \times 10^3 \text{ mL/L}}{\text{KPK}_{\text{KHF}}} = \frac{25 \text{ mg} \times 10^3 \text{ mL/L}}{20.000 \text{ mg/L}} = 1,25 \text{ mL} \quad (6)$$

Za izračun ustreznega faktorja redčenja začetne standardne raztopine KHF, sem uporabil naslednjo enačbo, vrednosti pa podal v tabeli (**Tabela 2**)

$$V_{VZORCA} = 2\text{mL}$$

$$f_R = \frac{V_{KHF}}{V_{VZORCA}} = \frac{1,25\text{ mL}}{2\text{ mL}} = 0,625\text{ mL/mL} \quad (7)$$

Izrazi v enačbah ... pomenijo

$V_{ALIKVOTA}$... volumen alikvota (mL)

t_{KPK} ... teoretična koncentracija KPK (mg/L)

KPK_{KHF} ... koncentracija KPK v začetni standardni raztopini KHF (mg/L)

m_{KPK} ... masa KPK (mg)

V_{KHF} ... volumen začetne standardne raztopine KHF, potreben za dosego določenega koncentracijskega območja (mL)

V_{VZORCA} ... volumen zredčenega vzorca v alikvotu (mL)

f_R ... faktor redčenja (mL/mL)

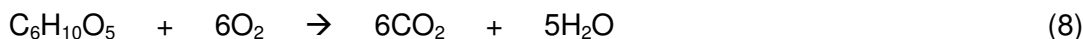
3.1.5.2 Celuloza – praškasti standard

Vzorec (Sigma Aldrich, mikro-kristalni v prahu, 20 μm) sem odmerjal neposredno v reakcijsko bučko brez predhodne obdelave. Vrednosti KPK substrata so izražene v mg/g.

Tabela 3: Celuloza – Konc. območja, dejanske mase in teoretična vrednost KPK

teoretično konc. območje	št. vzorca	m _{VZORCA} (mg)	tKPK (mg/L)
30%	1	6,43	3.048
	2	6,21	2.944
	3	5,7	2.702
	4	6,01	2.849
	5	6,17	2.925
	6	6,24	2.958
	7	6,12	2.901
64%	1	14,13	6.698
	2	14,05	6.660
	3	14,3	6.778
	4	13,89	6.584
	5	14,02	6.645
	6	14,23	6.745
	7	13,76	6.522
100%	1	20,58	9.755
	2	20,93	9.921
	3	21,07	9.987
	4	20,76	9.840
	5	21,25	10.073
	6	21,48	10.182
	7	21,3	10.096
136%	1	28,87	13.684
	2	28,85	13.675
	3	28,73	13.618
	4	29	13.746
	5	28,63	13.571
	6	29,04	13.765
	7	29,32	13.898
170%	1	36,26	17.187
	2	35,97	17.050
	3	36,2	17.159
	4	36,25	17.183
	5	36,34	17.225
	6	36,34	17.225
	7	35,68	16.912

Za določitev koncentracije KPK v celulozi sem si pomagal z redoks enačbo in navzkrižnim računom, faktor 10^3 sem uporabil za pretvorbo masnih enot (g → mg):



1 mol.....6 mol.....6 mol.....5 mol
162 g.....192 g

162 g C₆H₁₀O₅.....192 g O₂
1 g C₆H₁₀O₅.....KPK_{CEL}

$$KPK_{CEL} = \frac{192 \text{ g } O_2 \times 1 \text{ g } C_6H_{10}O_5 \times 10^3 \text{ mg/g}}{162 \text{ g } C_6H_{10}O_5} = 1.185 \text{ mg/g} \quad (9)$$

Nato sem določil maso celuloze, ki je ustrezna za določeno koncentracijsko območje. Enako kot pri tekočem standardu se vrednost v tej enačbi nanaša na koncentracijsko območje 100%. Ob upoštevanju ustreznih teoretičnih koncentracij KPK alikvota (30 % = 3.000 mg/L, 64 % = 6.400 mg/L, 136 % = 13.600 mg/L, 170 % = 17.000 mg/L), sem ga uporabil tudi za druga koncentracijska območja.

V_{ALIKVOTA} = 2,5 mL
tKPK = 10.000 mg/L

$$m_{CEL} = \frac{V_{ALIKVOTA} \times tKPK}{KPK_{CEL}} = \frac{2,5 \text{ mL} \times 10.000 \text{ mg/L}}{1.185 \text{ mg/g}} \cong 21 \text{ mg} \quad (10)$$

Po tehtanju sem na podlagi dejanskih izmerjenih mas izračunal teoretične vrednosti KPK za vsako posamezno paralelko in jih podal v tabeli (**Tabela 3**); faktor 10⁻³ sem uporabil za pretvorbo masnih in volumenskih enot [kg → mg (10⁻⁶) in ml → L (10⁻³):

$$tKPK = \frac{KPK_{CEL} \times m_{VZORCA}}{V_{ALIKVOTA} \times 10^3} \quad (11)$$

Ker je vzorec celuloze vseboval nezanemarljiv delež vlage, sem s sušenjem (24 h pri 105 °C) določil delež suhe snovi in ga kasneje upošteval pri rezultatu:

m_{PRED} = 2,72584 mg
m_{PO} = 2,62110 mg

$$SS = \frac{m_{PO}}{m_{PRED}} = \frac{2,62110 \text{ mg}}{2,72584 \text{ mg}} = 0,9616 \text{ mg/mg} \quad (12)$$

Izrazi v enačbah ... pomenijo

KPK_{CEL} ... koncentracija KPK v celulozi, (mg/g)

V_{ALIKVOTA} ... volumen alikvota (mL)

tKPK ... teoretična koncentracija KPK alikvota (mg/L)

m_{CEL} ... teoretična masa celuloze potrebna za doseg določenega koncentracijskega območja (mg)

m_{VZORCA} ... dejanska masa vzorca celuloze (mg)

tKPK ... teoretična vrednost KPK alikvota na podlagi dejanske izmerjene mase za posamezno paralelko

m_{PRED} ... masa celuloze pred sušenjem (mg)

m_{PO} ... masa celuloze po sušenju (mg)

SS ... delež suhe celuloze v praškastem standardu (mg/mg)

3.1.5.3 Vzorec 1 – Močno obremenjena odpadna voda (HSWW)

Uporabljena je bila frakcija iz odpadne vode pivovarske industrije z visoko vsebnostjo suspendirane organske snovi (High strength wastewater – HSWW). Vzorec sem odmerjal neposredno v reakcijske bučke brez predhodne obdelave. Vrednosti KPK vzorca so izmerjene s titracijo po Zupančič in Roš (2012), in z novo SFM in so izražene v mg/kg.

Tabela 4: HSWW – Dejansko izmerjena masa vzorca za posamezno paralelko

št. vzorca	m_{VZORCA} (mg)
1	291,55
2	267,75
3	235,69
4	198,68
5	170,88
6	155,68
7	117,61

Ocenjena koncentracija KPK v močno obremenjeni odpadni vodi je bila 120.000 mg/kg.

Najprej sem določil teoretično maso HSWW, ki je ustrezna za določeno koncentracijsko območje. Enako kot pri praškastem standardu – celulozi se vrednost v tej enačbi nanaša na koncentracijsko območje 100%. Ob upoštevanju ustreznih teoretičnih koncentracij KPK alikvota (30 % = 3.000 mg/L, 64 % = 6.400 mg/L, 136 % = 13.600 mg/L, 170 % = 17.000 mg/L), sem ga uporabil tudi za druga koncentracijska območja. Dejansko izmerjene mase posameznih paralelk vzorca HSWW so prikazane v tabeli (**Tabela 4**).

$$KPK_{\text{HSWW}} = 120.000 \text{ mg/kg}$$

$$tKPK = 10.000 \text{ mg/L}$$

$$V_{\text{ALIKVOTA}} = 2,5 \text{ mL}$$

$$m_{\text{HSWW}} = \frac{V_{\text{ALIKVOTA}} \times tKPK}{KPK_{\text{HSWW}}} = \frac{2,5 \text{ mL} \times 10.000 \text{ mg/L}}{120.000 \text{ mg/kg}} \cong 210 \text{ mg} \quad (13)$$

Izrazi v enačbi ... pomenijo

KPK_{HSWW} ... ocenjena koncentracija KPK v vzorcu HSWW (mg/kg)

V_{ALIKVOTA} ... volumen alikvota (mL)

$tKPK$... teoretična koncentracija KPK alikvota (mg/L)

m_{HSWW} ... teoretična masa HSWW potrebna za doseg določenega koncentracijskega območja (mg)

m_{VZORCA} ... dejanska masa vzorca HSWW (mg)

3.1.5.4 Vzorec 2 – AB

Analiziral sem anaerobno predelane odpadke z visoko vsebnostjo organske snovi. Vzorec je bil tehtan neposredno v reakcijske bučke brez predhodne obdelave. Vrednosti KPK vzorca so izmerjene s titracijo po Zupančič in Roš (2012), in z novo SFM in so izražene v mg/kg.

Tabela 5: AB – Dejansko izmerjena masa vzorca za posamezno paralelko

št. vzorca	m_{VZORCA} (mg)
1	1.511
2	1.225
3	1.100
4	872
5	617
6	416
7	281

Ocenjena koncentracija KPK v anaerobnem blatu iz bioplinarne je bila 30.000 mg/kg.

Najprej sem določil teoretično maso AB, ki je ustrezna za določeno koncentracijsko območje. Enako kot pri praškastem standardu – celulozi se vrednost v tej enačbi nanaša na koncentracijsko območje 100%. Ob upoštevanju ustreznih teoretičnih koncentracij KPK alikvota (30 % = 3.000 mg/L, 64 % = 6.400 mg/L, 136 % = 13.600 mg/L, 170 % = 17.000 mg/L), sem ga uporabil tudi za druga koncentracijska območja. Dejansko izmerjene mase posameznih paralelk vzorca AB so prikazane v tabeli (**Tabela 5**).

$$KPK_{\text{AB}} = 30.000 \text{ mg/kg}$$

$$tKPK = 10.000 \text{ mg/L}$$

$$V_{\text{ALIKVOTA}} = 2,5 \text{ mL}$$

$$m_{\text{AB}} = \frac{V_{\text{ALIKVOTA}} \times tKPK}{KPK_{\text{AB}}} = \frac{2,5 \text{ mL} \times 10.000 \text{ mg/L}}{30.000 \text{ mg/kg}} \cong 830 \text{ mg} \quad (14)$$

Izrazi v enačbi ... pomenijo

KPK_{AB} ... ocenjena koncentracija KPK v vzorcu AB (mg/kg)

V_{ALIKVOTA} ... volumen alikvota (mL)

$tKPK$... teoretična koncentracija KPK alikvota (mg/L)

m_{AB} ... teoretična masa AB potrebna za doseg določenega koncentracijskega območja (mg)

m_{VZORCA} ... dejanska masa vzorca AB (mg)

3.1.5.5 Vzorec 3 – ZOO

Uporabil sem odpadke z nizko vsebnostjo organske snovi (Low strength organic waste LSOW). Sestava je bila pribl. 50 % ločeno zbranih organskih trdih odpadkov, 30 % kuhinjskih odpadkov in 20 % maščobnih odpadkov (zeleni ostanki). Vzorec je bil razredčen z vodo v razmerju 1:1 in odtehtan neposredno v reakcijsko posodo brez predhodne obdelave. Vrednosti KPK vzorca so izražene v mg/kg.

Tabela 6: ZOO – Dejansko izmerjena masa vzorca za posamezno paralelko

št. vzorca	m_{VZORCA} (mg)
1	497
2	448
3	392
4	352
5	301
6	247
7	199

Ocenjena koncentracija KPK v zmletih organskih odpadkih je bila 75.000 mg/kg.

Najprej sem določil teoretično maso ZOO, ki je ustrezna za določeno koncentracijsko območje. Enako kot pri praškastem standardu – celulozi se vrednost v tej enačbi nanaša na koncentracijsko območje 100%. Ob upoštevanju ustreznih teoretičnih koncentracij KPK alikvota (30 % = 3.000 mg/L, 64 % = 6.400 mg/L, 136 % = 13.600 mg/L, 170 % = 17.000 mg/L), sem ga uporabil tudi za druga koncentracijska območja. Dejansko izmerjene mase posameznih paralelk vzorca ZOO so prikazane v tabeli (**Tabela 6**).

$$\text{KPK}_{\text{ZOO}} = 75.000 \text{ mg/kg}$$

$$t\text{KPK} = 10.000 \text{ mg/L}$$

$$V_{\text{ALIKVOTA}} = 2,5 \text{ mL}$$

$$m_{\text{ZOO}} = \frac{V_{\text{ALIKVOTA}} \times t\text{KPK}}{\text{KPK}_{\text{ZOO}}} = \frac{2,5 \text{ mL} \times 10.000 \text{ mg/L}}{75.000 \text{ mg/kg}} \cong 330 \text{ mg} \quad (15)$$

Izrazi v enačbi ... pomenijo

KPK_{ZOO} ... ocenjena koncentracija KPK v vzorcu ZOO (mg/kg)

V_{ALIKVOTA} ... volumen alikvota (mL)

$t\text{KPK}$... teoretična koncentracija KPK alikvota (mg/L)

m_{ZOO} ... teoretična masa ZOO potrebna za doseg določenega koncentracijskega območja (mg)

m_{VZORCA} ... dejanska masa vzorca ZOO (mg)

3.1.5.6 Vzorec 4 – Pivske tropine

Analiziral sem izrabljene tropine iz pivovarne z visoko vsebnostjo celuloze, hemiceluloze in lignina. Vzorec je vseboval približno 25 % suhe snovi. Vrednosti KPK vzorca so izmerjene s titracijo po Zupančič in Roš (2012), in z novo SFM in so izražene v mg/kg.

Tabela 7: Pivske tropine – Dejansko izmerjena masa vzorca za posamezno paralelko

št. vzorca	m_{VZORCA} (mg)
1	106,46
2	92,86
3	77,70
4	69,48
5	54,18
6	38,34
7	23,34

Ocenjena koncentracija KPK v pivskih tropinah je bila 400.000 mg/kg.

Najprej sem določil teoretično maso Pivskih tropin, ki je ustrezna za določeno koncentracijsko območje. Enako kot pri praškastem standardu – celulozi se vrednost v tej enačbi nanaša na koncentracijsko območje 100%. Ob upoštevanju ustreznih teoretičnih koncentracij KPK alikvota (30 % = 3.000 mg/L, 64 % = 6.400 mg/L, 136 % = 13.600 mg/L, 170 % = 17.000 mg/L), sem ga uporabil tudi za druga koncentracijska območja. Dejansko izmerjene mase posameznih paralelek vzorca Pivske tropine so prikazane v tabeli (**Tabela 7**).

$$KPK_T = 400.000 \text{ mg/kg}$$

$$tKPK = 10.000 \text{ mg/L}$$

$$V_{\text{ALIKVOTA}} = 2,5 \text{ mL}$$

$$m_T = \frac{V_{\text{ALIKVOTA}} \times tKPK}{KPK_T} = \frac{2,5 \text{ mL} \times 10.000 \text{ mg/L}}{400.000 \text{ mg/kg}} \cong 65 \text{ mg} \quad (16)$$

Izrazi v enačbi ... pomenijo

KPK_T ... ocenjena koncentracija KPK v vzorcu Pivske tropine (mg/kg)

V_{ALIKVOTA} ... volumen alikvota (mL)

$tKPK$... teoretična koncentracija KPK alikvota (mg/L)

m_T ... teoretična masa Pivske tropine potrebna za doseg določenega koncentracijskega območja (mg)

m_{VZORCA} ... dejanska masa vzorca Pivske tropine (mg)

3.2 Prilagojena metoda – Zupančič in Roš (2012)

Princip prilagojene metode je enak kot pri standardni metodi po ISO 6060, le da so koncentracije reagentov prilagojene. Uporabil sem koncentracije, ki so predlagane v skladu s standardom DIN 38414. Pri tem so reagenti in koraki v postopku poenostavljeni in nekateri tudi izpuščeni.

Glavni reagenti so bili pripravljani v koncentracijskih območjih, ki omogočajo 20-krat višje koncentracije vzorcev; to je 10.000 mg KPK. Pri tem je uporaba standardnega referenčnega materiala KHF zagotovila točnost rezultatov. Meritve KPK sem opravil na podlagi titracije in pri tem uporabil oksidativno spojino kalijevega dikromata.

Najprej sem primerno količino vzorca prenesel neposredno v reakcijske kivete in dodal 5 mL kalijevega dikromata (0,2 mol/L). Količine in koncentracijska območja so bila skrbno izbrana na podlagi teoretičnih oziroma ocenjenih vrednostih koncentracije KPK posameznega vzorca in volumna standardnih kivet za razklop z zaprtim refluxom. Tako so količine kalijevega dikromata in alikvotov vzorcev bile štirikrat nižje kot pri metodi po Zupančič in Roš (2012).

Večina substratov je v naravi v trdnem ali poltrdnem stanju, zato sem vsak vzorec posebej stehal z natančnostjo $\pm 0,1$ mg. Količina vzorca je morala ustrezati območju skupnega KPK med 0 in 50 mg. 5 mL standardne raztopine vsebuje 25 mg KPK, kar je optimalno in se v tej nalogi sklada s koncentracijskim območjem 100 %.

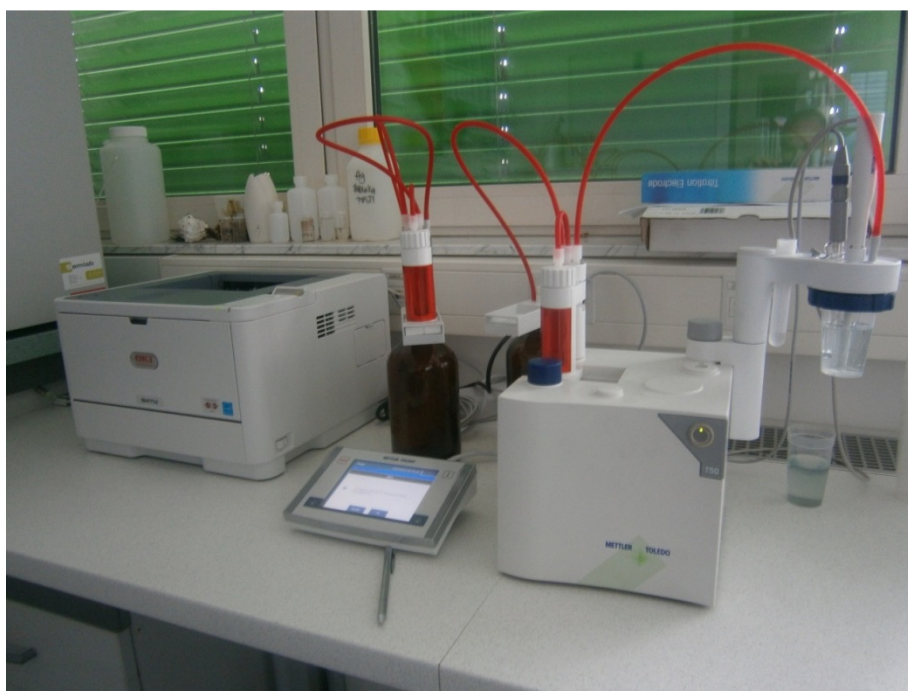
Reagent srebrov sulfat – žveplova kislina (7,5 mL) sem dodal, tik preden sem reakcijsko kiveto vstavil v termostatski oja HT 200 s, ki je prikazan na sliki (**Slika 9**). Reakcijska mešanica je morala zavreti v roku 10 minut in nadaljevati vretje še nadaljnjih 110 min. Temperatura reakcijske mešanice med vretjem je bila nastavljena na $148 \pm 3^\circ\text{C}$. Po 120 minutah vretja sem reakcijske kivete ohladil na približno 60°C . Nato sem mešanice razredčil do 80 mL in ohladil na sobno temperaturo.



Slika 9: Razklopni grelec Hach Lange HT 200 s (Hach Lange, 2014)

Vsaka serija je vsebovala 12 paralelk, od katerih sem v treh pripravil slepi vzorec. Slepi vzorec sem pripravil po enakem postopku kot vse vzorce, le da sem namesto vzorca (2,5 mL) v reakcijsko kiveto odpipetiral deionizirano vodo.

Pri analizi KHF sem za eno serijo pripravil 9 paralelk standarda in 3 slepe vzorce, medtem ko sem za vse druge analize pripravil 7 paralelk vzorca, 3 slepe vzorce in 2 paralelki standarda KHF s koncentracijo 10.000 mg/L. Analiza tekočega standarda znotraj vsake serije je bila namenjena kontroli titracije.



Slika 10: Avtomatski titrator Mettler-Toledo T50

Na sliki (**Slika 10**) je avtomatski titrator Mettler-Toledo T50 z resolucijo birete 0,5 μ L, ki sem ga uporabljal za titracijo odvečnega kalijevega dikromata. Njegov princip delovanja je v elektrokemijski titraciji z merjenjem napetosti (mV). Koncentracije KPK v vzorcih sem računal na podlagi enačbe (17) za tekoče vzorce in enačbe (18) za trdne vzorce. Da bi se izognil morebitnim nepravilnostim, sem vzorce titriral po vrstnem redu od najvišje do najnižje koncentracije KPK. Prav tako sem po vsaki titraciji pH meter in tipalo spral z deionizirano vodo.

$$\text{KPK [mg/L]} = \frac{8.000 \times c_{FAS} \times (V_{\text{slepi}} - V_{FAS})}{V_0} \quad (17)$$

$$\text{KPK [mg/kg]} = \frac{8.000 \times c_{FAS} \times (V_{\text{slepi}} - V_{FAS})}{m_0} \quad (18)$$

Po titraciji sem izračunal koncentracijo KPK v alikvotu, kjer je volumen vzorca V_0 enako volumnu alikvota, ki je bil 2,5 mL. Uporabil sem podatke meritev porabljenih volumnov FAS, slepega vzorca in vsakega posameznega vzorca ter koncentracijske konstante za $\frac{1}{2}$ kisika. Poleg teh je v enačbo vključena še koncentracija FAS, ki se sčasoma znižuje, zato je bilo poznavanje le-te ključnega pomena za doseganje realnih rezultatov.

Kalibracijo FAS-a sem enkrat dnevno opravil s kalijevim dikromatom (5 mL), ki sem ga razredčil z žveplovo kislino ($\rho = 1.84 \text{ g/mL}$) do 80 mL. Trenutno koncentracijo FAS sem izračunal kot sledi:

$$c_{FAS} = \frac{V_{K_2Cr_2O_7} \times c_{K_2Cr_2O_7}}{V_{FAS}} = \frac{5,0 \times 0,20 \times 6}{V_{FAS}} = \frac{6}{V_{FAS}} \quad (19)$$

Koncentracijo KPK v trdnih vzorcih sem izračunal podobno kot za tekoče vzorce, le da sem volumen zamenjal z maso vzorca

Ker so bili vzorci za posamezna koncentracijska območja redčeni, je bilo potrebno upoštevati faktorje redčenja. Originalno koncentracijo KPK v tekočem standardu sem izračunal:

$$KPK = \frac{KPK_{ALIKVOT} \times F_A}{F_B} \quad (20)$$

Na enak način kot pri tekočih vzorcih je bilo potrebno tudi pri trdnih vzorcih izračunane koncentracije alikvota pretvoriti v originalne koncentracije KPK. Uporabil sem naslednjo enačbo, kjer sta faktorje redčenja zamenjala volumen alikvota in masa vzorca:

$$KPK = \frac{KPK_{ALIKVOT} \times V_A}{m_0} \quad (21)$$

Po izračunu KPK v vzorcu sem na podlagi povprečnih vrednosti KPK izračunal obnovljivost svojih meritev:

$$R = \frac{\overline{KPK}}{KPK_{CEL}} \quad (22)$$

Izrazi v enačbah ... pomenijo

KPK ... koncentracija KPK v vzorcu (mg/L); (mg/kg)

8000 ... konstanta za koncentracijo $\frac{1}{2} O_2$ (mg/mol)

c_{FAS} ... koncentracija titra FAS (mol/L)

V_{slepi} ... povprečje volumnov slepih vzorcev (mL)

V_{FAS} ...volumen titra FAS porabljen do točke preskoka (mL)

V_0 ... volumen vzorca (mL)

m_0 ... masa vzorca (mL)

$V_{K_2Cr_2O_7}$... volumen kalijevega dikromata (mL)

$c_{K_2Cr_2O_7}$... koncentracija kalijevega dikromata (mol/L)

$KPK_{ALIKVOT}$... koncentracija KPK v 2,5 mL alikvotu (mg/L)

V_A ... volumen alikvota (mL)

F_A ... faktor prvega redčenja (mL/mL)

F_B ... faktor drugega redčenja (mL/mL)

R ... obnovljivost rezultatov (recovery)

\overline{KPK} ... povprečna vrednost KPK v paralelkah posameznega vzorca (mg/kg)

KPK_{CEL} ... koncentracija KPK v celulozi, izračunana z enačbo (9) (1.185 mg/g)

3.3 Spektrofotometrično določanje KPK

Postopek priprave vzorcev v reakcijskih kivetah je enak kot pri metodi po Zupančič in Roš (2012). Absorbanca KHF je bila merjena pri valovni dolžini $\lambda = 600$ nm, ki so jo kot najboljšo določili že Yoshida in sodelavci (2002), Nakamura in sodelavci (2007) in Li in sodelavci (2009). Določena je bila iz spektra absorbance od 300 do 900 nm. Enak postopek smo uporabili za celulozo, kjer je jasno vidno, da je maksimalna absorbanca pri valovni dolžini 600 nm za vsa koncentracijska območja.

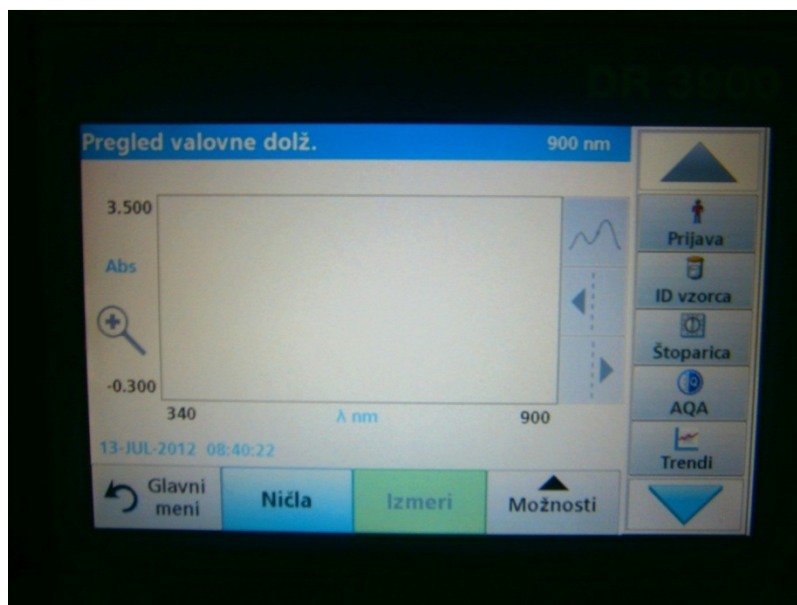
Za karakterizacijo spektrofotometra, ki je prikazan na sliki (**Slika 11**), smo pripravili kalibracijske krivulje za KHF pri dveh dolžinah optičnih poti (10 mm in 24 mm) in za celulozo pri treh dolžinah optičnih poti (10 mm, 20 mm in 24 mm). Vse vrednosti absorbance in KPK so bile analizirane z linearno regresijo.



Slika 11: Spektrofotometer Hach Lange DR3900

Za potrditev primernosti celuloze kot ustreznega praškastega standarda smo kalibracijsko krivuljo primerjali s kalibracijsko krivuljo KHF. Na podlagi te primerjave smo nato za določevanje KPK v drugih vzorcih uporabljali kalibracijsko krivuljo celuloze, kjer so vrednosti podane v mg/kg, kar je za trdne vzorce bolj primerno. Vse rezultate smo statistično obdelali s programom Microsoft Excel.

Po enakem postopku kot standardne vzorce smo analizirali še realne vzorce; težko onesnaženo odpadno vodo, AB, zmlate organske odpadke in tropine. Vse realne vzorce smo testirali v več paralelkah različnih koncentracijskih območij. Obenem smo analizirali še 2 paralelki tekočega standarda v koncentracijskem območju 100 % (10.000 mg/L) in 3 slepe vzorce.



Slika 12: Prikazovalnik meritev absorbance po spektru valovnih dolžin od 340 do 900 nm

Na sliki (**Slika 12**) je prikazan spekter valovnih dolžin od 300 do 900 nm. Vrednosti KPK smo določili na podlagi kalibracijskih krivulj za praškasti standard (celuloza) za vsako dolžino optične poti.

3.4 Primerljivost metod

Za ustrezno primerjavo obeh metod smo vsak vzorec najprej analizirali po SFM in ga nato kvantitativno prenesli v titracijske posode, kjer smo ga nato analizirali še po metodi Zupančič in Roš (2012). Pomembno je bilo, da smo obe metodi vedno izvajali na istih vzorcih.

Z analizo standardnih vzorcev želimo dokazati, da je SFM primerna tudi za realne vzorce. Na podlagi rezultatov dobljenih pri meritvah praškastega standarda – celuloze bomo pripravili umeritveno krivuljo. Linearna enačba dobljene umeritvene krivulje bo nato temelj za izračun vrednosti KPK v alikvotu na podlagi izmerjene absorbance, kar je razvidno iz naslednje enačbe. KPK v vzorcu bomo nato izračunali po enačbi (21).

$$KPK_{ALIKVOT} = \frac{A-n}{k} \quad (23)$$

$KPK_{ALIKVOT}$... koncentracija KPK v 2,5 mL alikvotu (mg/L)

A ... absorbanca pri 600 nm (/)

n ... vrednost, pri kateri umeritvena krivulja seka y-os (/)

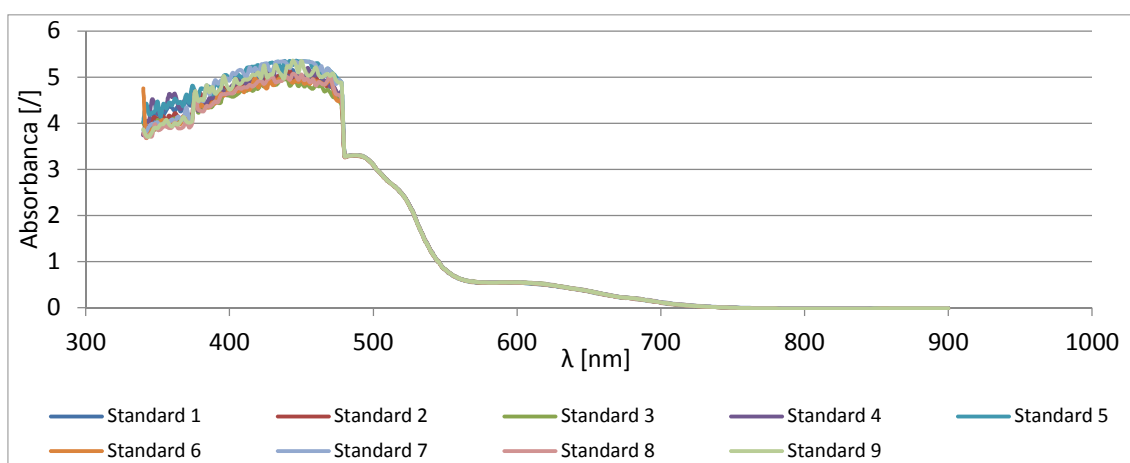
k ... količnik, ki določa naklon umeritvene krivulje (L/mg)

4 REZULTATI

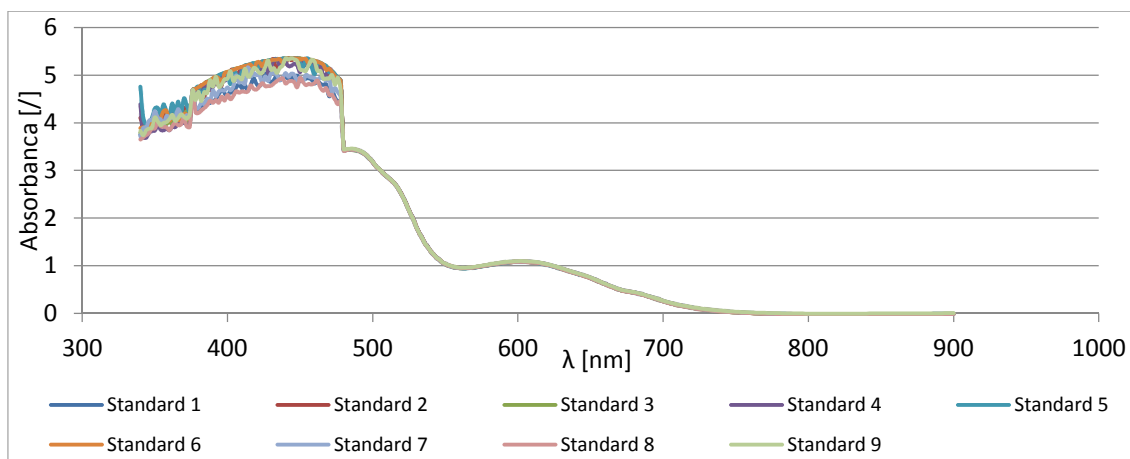
4.1 KHF– tekoči standard

4.1.1 Spektrofotometrično določanje – dolžina poti skozi vzorec: 10 mm

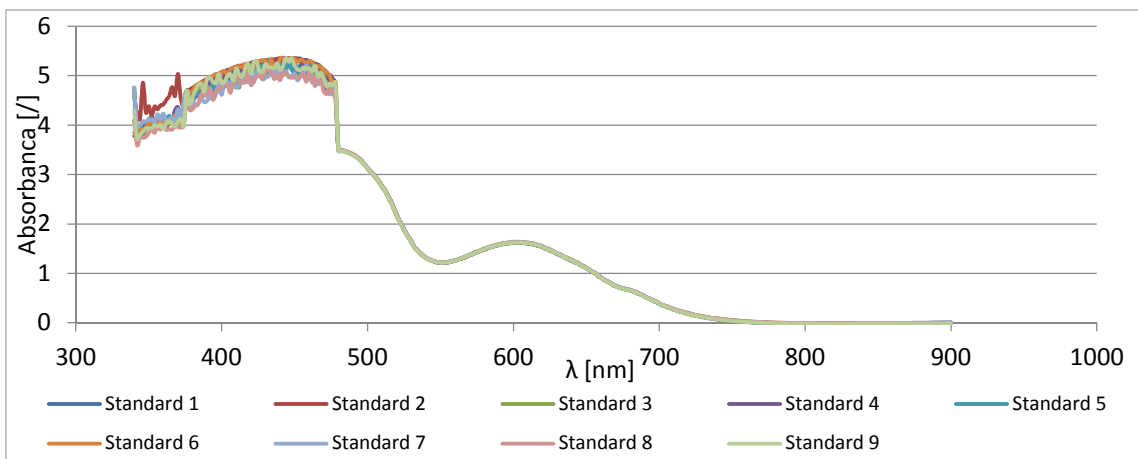
Povprečne izmerjene vrednosti absorbanca pri 600 nm so bile 0,542 za 30 % območje, 1,087 za 64 % območje, 1,625 za 100 % območje, 2,162 za 136 % območje in 2,675 za 170 % območje. Rezultati meritev so razvidni s slik (Slika 13, Slika 14, Slika 15, Slika 16 in Slika 17).



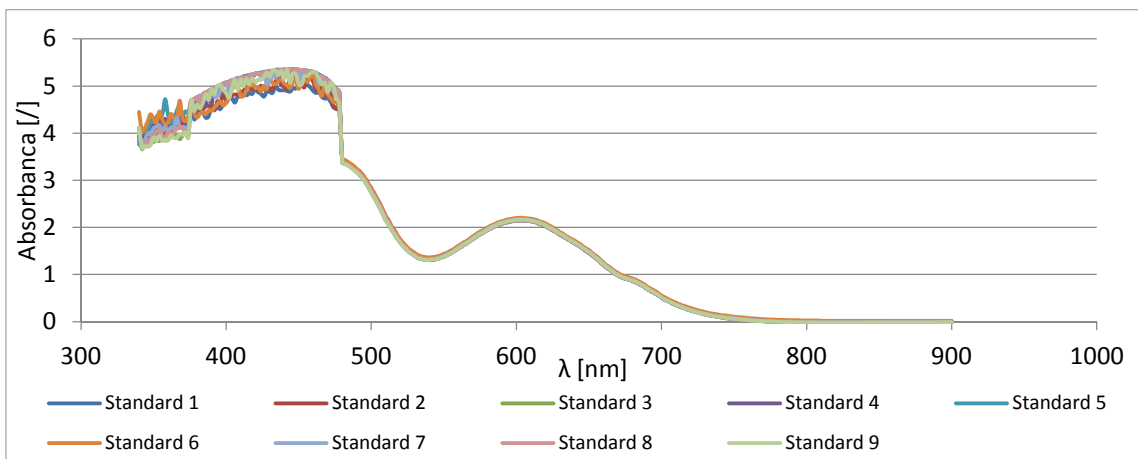
Slika 13: Odvisnost absorbanca od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 30 % (kiveta: l = 10 mm)



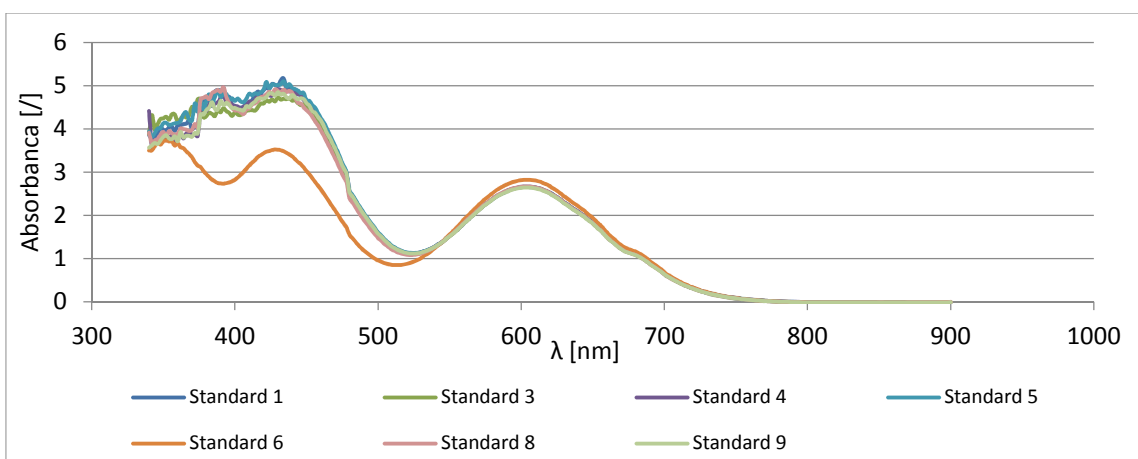
Slika 14: Odvisnost absorbanca od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 64 % (kiveta: l = 10 mm)



Slika 15: Odvisnost absorbanca od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 100 % (kiveta: l = 10 mm)



Slika 16: Odvisnost absorbanca od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 136 % (kiveta: l = 10 mm)

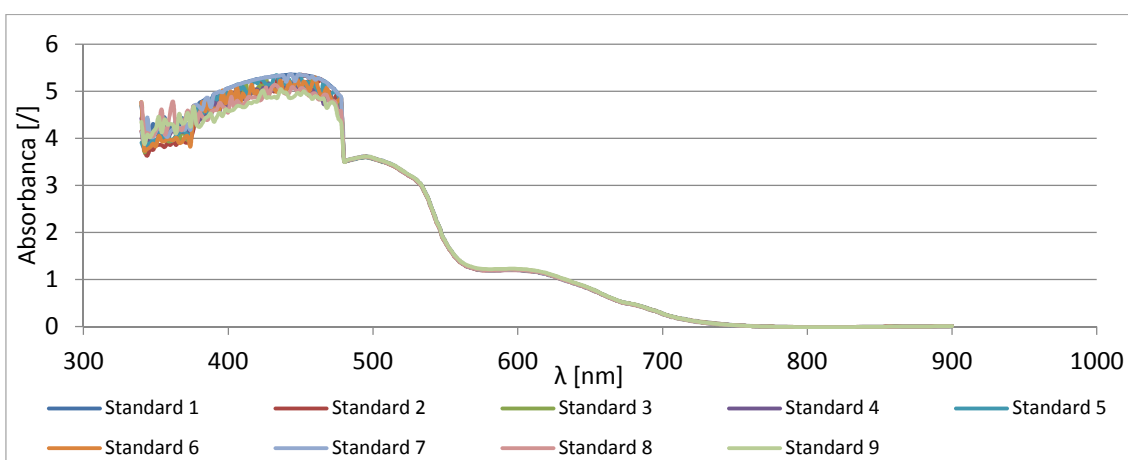


Slika 17: Odvisnost absorbanca od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 170 % (kiveta: l = 10 mm)

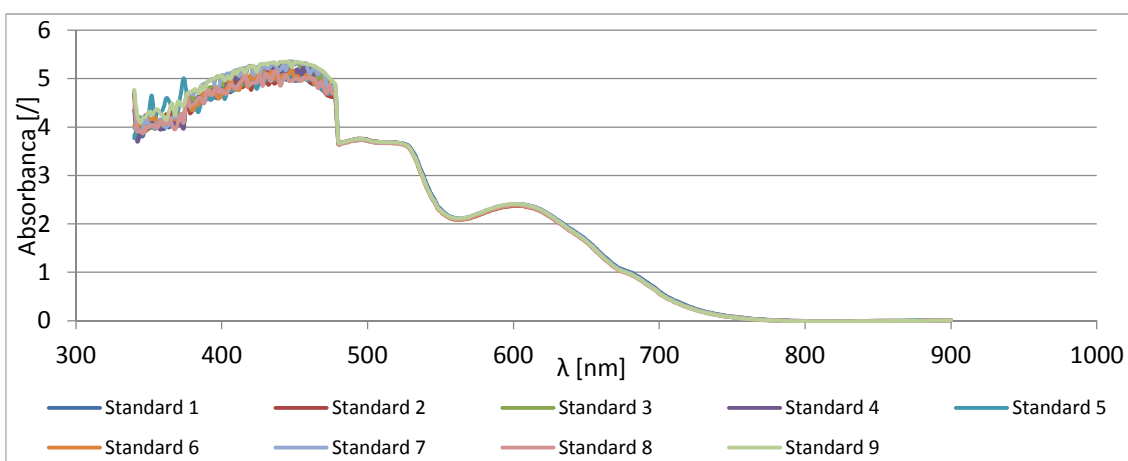
Večja odstopanja so se pojavila le pri vzorcih 2 in 7 v koncentracijskem območju 170 %. Rezultate teh dveh meritev sem izločil. Drugi rezultati so v skladu s pričakovanji in vse krivulje se pri 600 nm skoraj do popolnosti prekrivajo.

4.1.2 Spektrofotometrično določanje – dolžina poti skozi vzorec: 24 mm

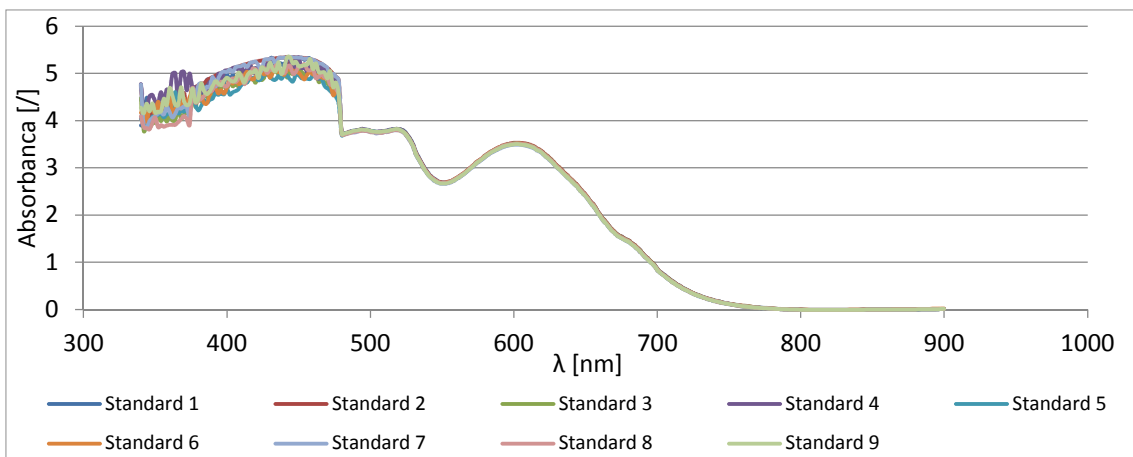
Povprečne izmerjene vrednosti absorbanca pri 600 nm so bile 1,206 za 30 % območje, 2,394 za 64 % območje, 3,509 za 100 % območje, 4,235 za 136 % območje in 4,422 za 170 % območje. Rezultati meritev so razvidni s slik (Slika 18, Slika 19, Slika 20, Slika 21 in Slika 22).



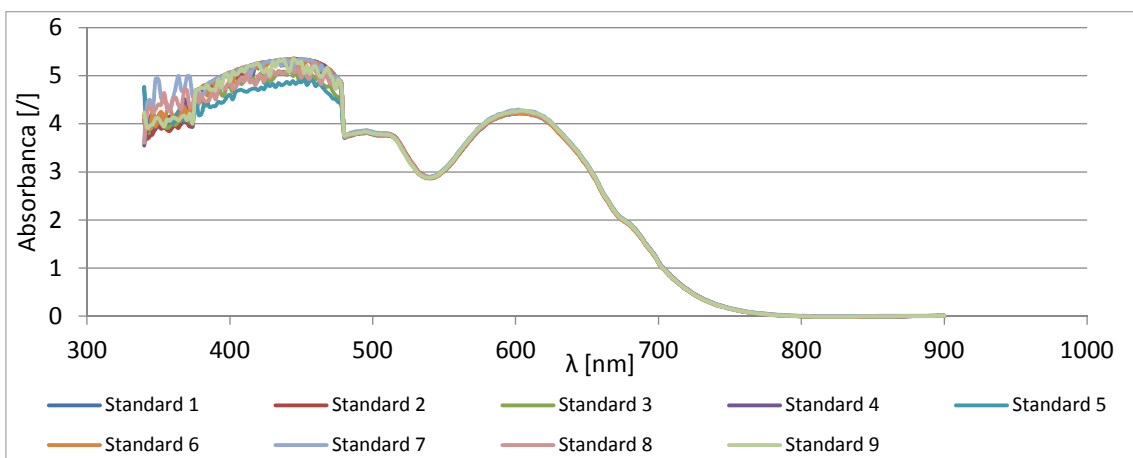
Slika 18: Odvisnost absorbanca od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 30 % (kiveta: $l = 24$ mm)



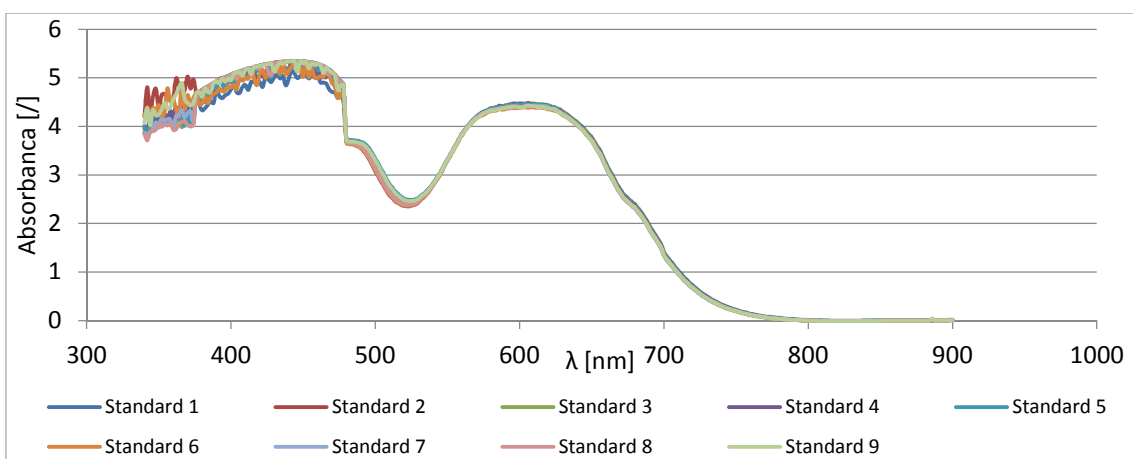
Slika 19: Odvisnost absorbanca od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 64 % (kiveta: $l = 24$ mm)



Slika 20: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 100 % (kiveta: l = 24 mm)



Slika 21: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 136 % (kiveta: l = 24 mm)



Slika 22: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za tekoči standard – KHF 170 % (kiveta: l = 24 mm)

Vse krivulje se pri 600 nm skoraj do popolnosti prekrivajo, kar pomeni, da so vsi rezultati v skladu s pričakovanji.

4.1.3 Določanje po prilagojeni metodi (Zupančič in Roš, 2012)

Iz tabel (Tabela 8, Tabela 9, Tabela 10, Tabela 11 in Tabela 12) so razvidni pridobljeni rezultati meritev KPK po prilagojeni metodi.

Tabela 8: KHF – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 30 %

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	VZ 8	VZ 9	povp.
V_{FAS} [mL]	9,937	10,057	9,955	9,983	10,042	9,974	10,005	9,922	9,922	9,977
KPK (aliquot) [mg/L]	3.113	2.922	3.084	3.040	2.946	3.054	3.005	3.137	3.137	3.049
KPK (vzorec) [mg/L]	10.376	9.740	10.281	10.132	9.820	10.180	10.016	10.456	10.456	10.162

Vsi rezultati za 30 % območje so v skladu s pričakovanji. V_{FAS} je bil 12,077 mL, zatorej je vrednost c_{FAS} 0,4968 mol/L. V_{slepi} je bil 11,895 mL, medtem ko je bil faktor pretvorbe 0,3.

Povprečna vrednost KPK v vzorcih je bila 10.162 mg/L. Obnovljivost pri meritvah za 30 % koncentracijsko območje je tako 101,6 %.

Tabela 9: KHF – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 64 %

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	VZ 8	VZ 9	povp.
V_{FAS} [mL]	7,736	7,782	7,772	7,753	7,773	7,767	7,738	7,765	7,65	7,748
KPK (aliquot) [mg/L]	6.477	6.404	6.420	6.450	6.419	6.428	6.474	6.431	6.614	6.458
KPK (vzorec) [mg/L]	10.121	10.007	10.031	10.079	10.029	10.044	10.116	10.049	10.335	10.090

Vsi rezultati za 64 % območje so v skladu s pričakovanji. V_{FAS} je bil 12,077 mL, zatorej je vrednost c_{FAS} 0,4968 mol/L. V_{slepi} je bil 11,810 mL, medtem ko je bil faktor pretvorbe 0,64.

Povprečna vrednost KPK v vzorcih je bila 10.090 mg/L. Obnovljivost pri meritvah za 64 % koncentracijsko območje je tako 100,9 %.

Tabela 10: KHF – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 100 %

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	VZ 8	VZ 9	povp.
V_{FAS} [mL]	5,55	5,663	5,463	5,683	5,67	5,61	5,639	5,677	5,502	5,606
KPK (aliquot) [mg/L]	9.898	9.718	10.037	9.686	9.707	9.802	9.756	9.696	9.975	9.808
KPK (vzorec) [mg/L]	9.898	9.718	10.037	9.686	9.707	9.802	9.756	9.696	9.975	9.808

Vsi rezultati za 100 % območje so v skladu s pričakovanji. V_{FAS} je bil 12,046 mL, zatorej je vrednost c_{FAS} 0,4981 mol/L. V_{slepi} je bil 11,760 mL, medtem ko faktorja pretvorbe v tem primeru ni bilo potrebno upoštevati.

Povprečna vrednost KPK v vzorcih je bila 9.808 mg/L. Obnovljivost pri meritvah za 100 % koncentracijsko območje je tako 98,1 %.

Tabela 11: KHF – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 136 %

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	VZ 8	VZ 9	povp.
V_{FAS} [mL]	3,36	3,386	3,334	3,373	3,384	3,386	3,29	3,449	3,327	3,365
KPK (aliquot) [mg/L]	13.596	13.555	13.638	13.576	13.558	13.555	13.707	13.455	13.649	13.588
KPK (vzorec) [mg/L]	9.997	9.967	10.028	9.982	9.969	9.967	10.079	9.893	10.036	9.991

Vsi rezultati za 136 % območje so v skladu s pričakovanji. V_{FAS} je bil 12,088 mL, zatorej je vrednost c_{FAS} 0,4964 mol/L. V_{slepi} je bil 11,920 mL, medtem ko je bil faktor pretvorbe 1,36.

Povprečna vrednost KPK v vzorcih je bila 9.991 mg/L. Obnovljivost pri meritvah za 136 % koncentracijsko območje je tako 99,9 %.

Tabela 12: KHF – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 170 %

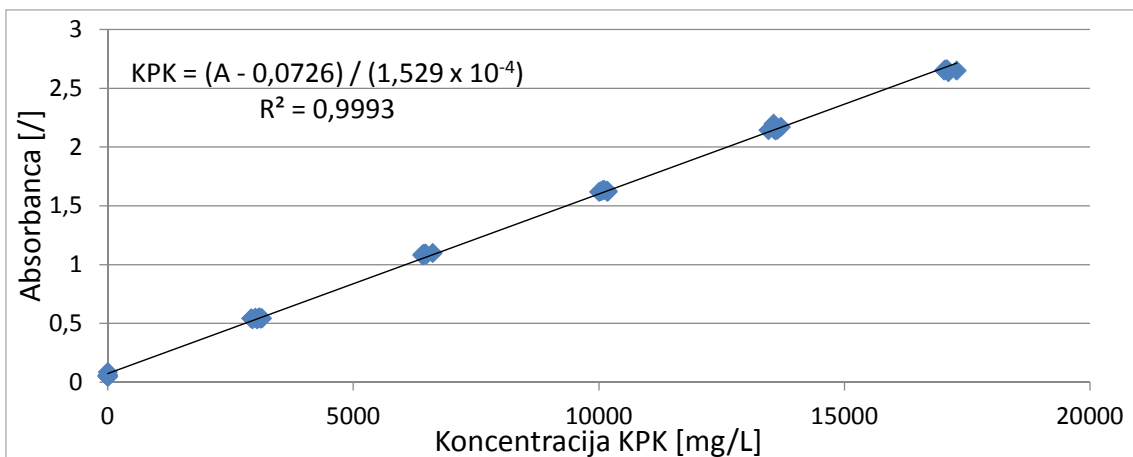
	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	VZ 8	VZ 9	povp.
V_{FAS} [mL]	1,151	/	1,034	1,185	1,196	1,326	0,976	1,163	1,139	1,146
KPK (aliquot) [mg/L]	17.099	/	17.284	17.045	17.027	16.821	17.377	17.080	17.118	17.106
KPK (vzorec) [mg/L]	10.058	/	10.167	10.026	10.016	9.894	10.222	10.047	10.069	10.062

Razen vzorca 2, ki se je med analiznim postopkom uničil, so vsi drugi rezultati v skladu s pričakovanji. V_{FAS} je bil 12,088 mL, zatorej je vrednost c_{FAS} 0,4964 mol/L. V_{slepi} je bil 11,916 mL, medtem ko je bil faktor pretvorbe 1,7.

Povprečna vrednost KPK v vzorcih je bila 10.062 mg/L. Obnovljivost pri meritvah za 170 % koncentracijsko območje je tako 100,6 %.

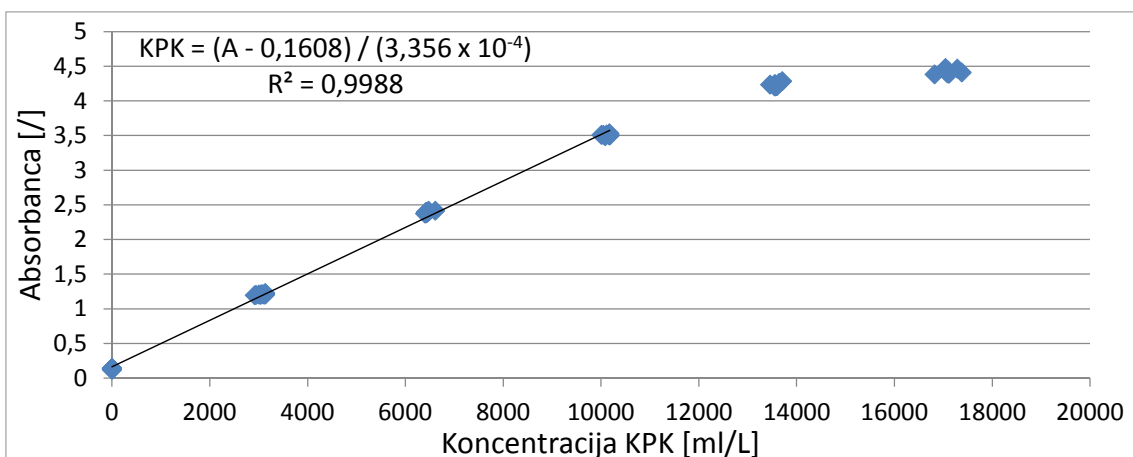
4.1.4 Umeritvena krivulja

Za potrditev domneve o primernosti SFM sem pridobljene rezultate po obeh metodah primerjal na sliki (**Slika 23**) za 10 mm dolžine poti in na sliki (**Slika 24**) za 24 mm dolžine poti. Vodoravna os vsebuje absolutne vrednosti koncentracij KPK po prilagojeni metodi, kjer 10.000 mg/L predstavlja 100 % koncentracijsko območje. Navpična os prikazuje vrednosti absorbance po SFM.



Slika 23: Odvisnost absorbanca od koncentracije KPK z umeritveno krivuljo za tekoči standard - KHF (kiveta: l = 10 mm)

Pokazatelj točnosti meritev je linearna regresija oziroma vsota najmanjših kvadratov izražena z R^2 . Ta je pri 10 mm 0,9993, pri 24 mm pa nekoliko slabša.



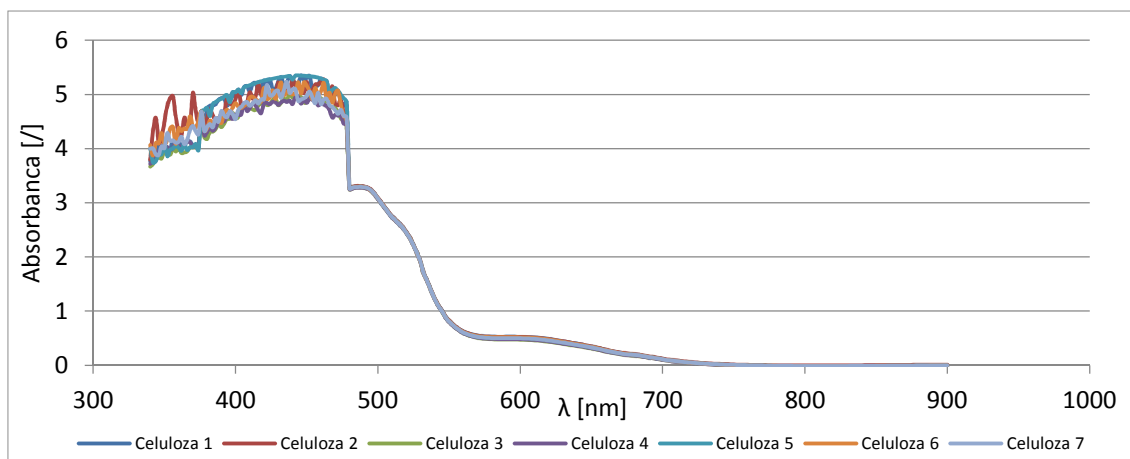
Slika 24: Odvisnost absorbanca od koncentracije KPK z umeritveno krivuljo do 100 % koncentracijskega območja za tekoči standard - KHF (kiveta: l = 24 mm)

Opazno je, da se pri koncentracijskih območjih nad 100 % stopnja absorbanca zmanjšuje glede na izmerjene vrednosti KPK po prilagojeni metodi. Zato je pri SFM, kjer je l=24 mm, možno uporabljati le del krivulje do 100% koncentracijskega območja, ki je linearen. R^2 je v tem primeru 0,9988. Ob upoštevanju tega dejstva, ugotavljam, da so vsi rezultati primerjalnih meritev zadostili našim pričakovanjem.

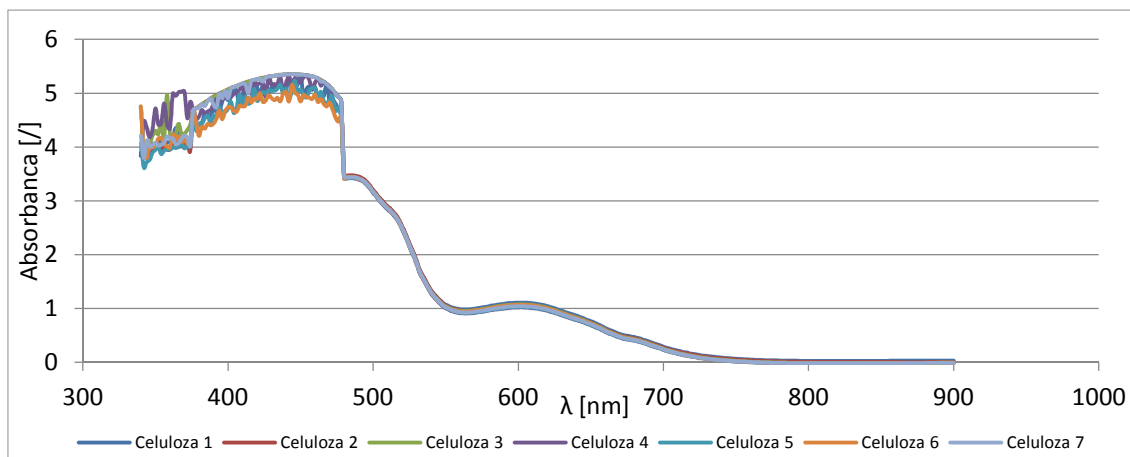
4.2 Celuloza – praškasti standard

4.2.1 Spektrofotometrično določanje – dolžina poti skozi vzorec: 10 mm

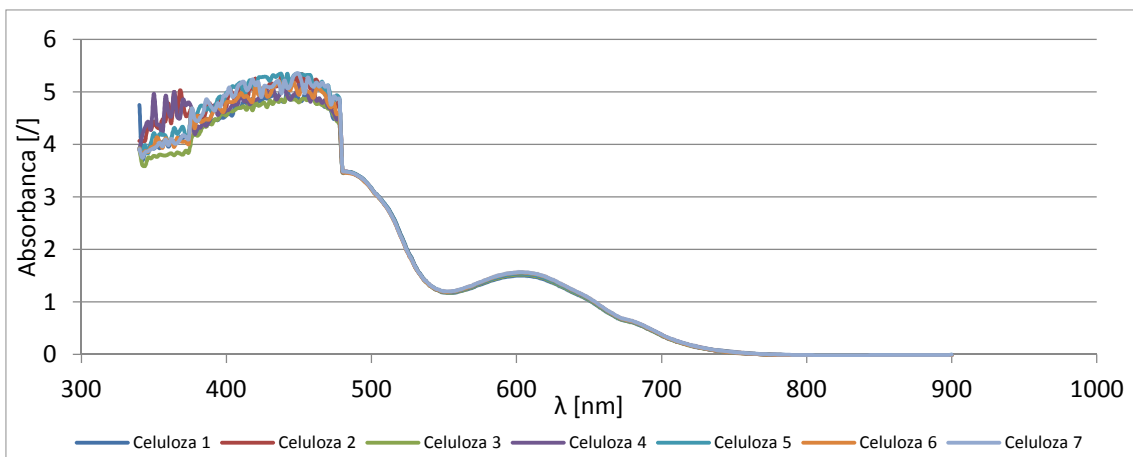
Vrednosti absorbance, ki so prikazane na slikah (**Slika 25**, **Slika 26**, **Slika 27**, **Slika 28** in **Slika 29**), so izmerjene na podlagi dejanskih mas vzorca, ki so podane v tabeli (**Tabela 3**). Povprečje upoštevanih vrednosti absorbance pri 600 nm je bilo 0,503 za 30 % območje, 1,059 za 64 % območje, 1,539 za 100 % območje, 2,070 za 136 % območje in 2,542 za 170 % območje.



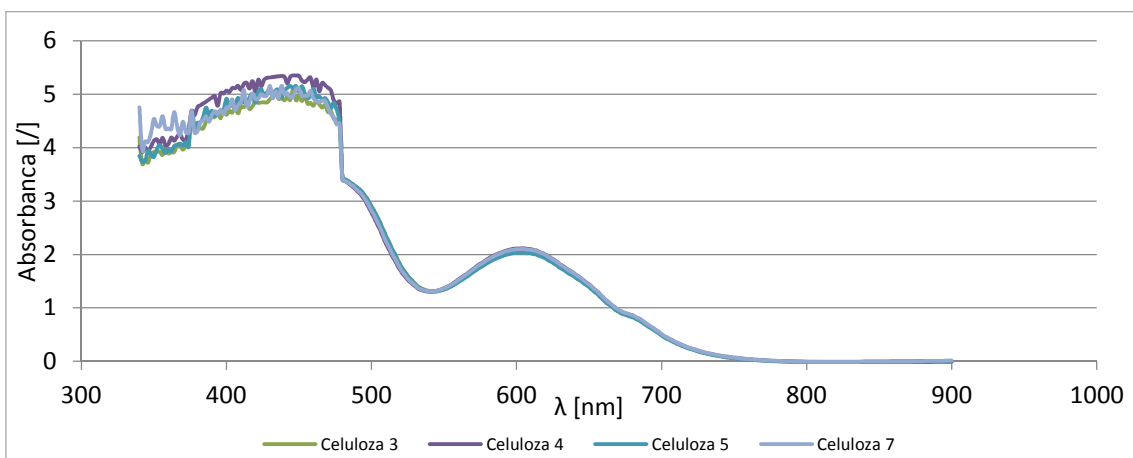
Slika 25: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 30 % (kiveta: $l = 10$ mm)



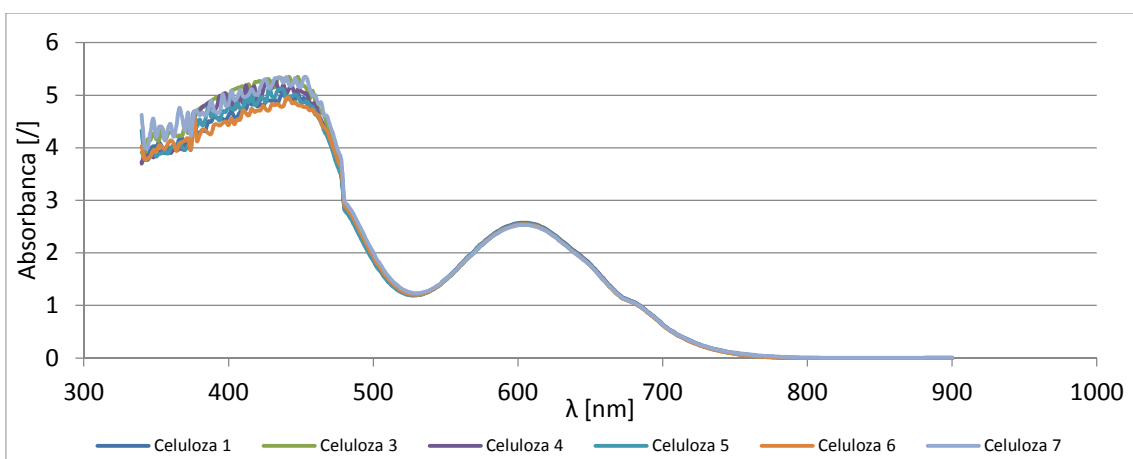
Slika 26: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 64 % (kiveta: $l = 10$ mm)



Slika 27: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 100 % (kiveta: $l = 10$ mm)



Slika 28: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 136 % (kiveta: $l = 10$ mm)

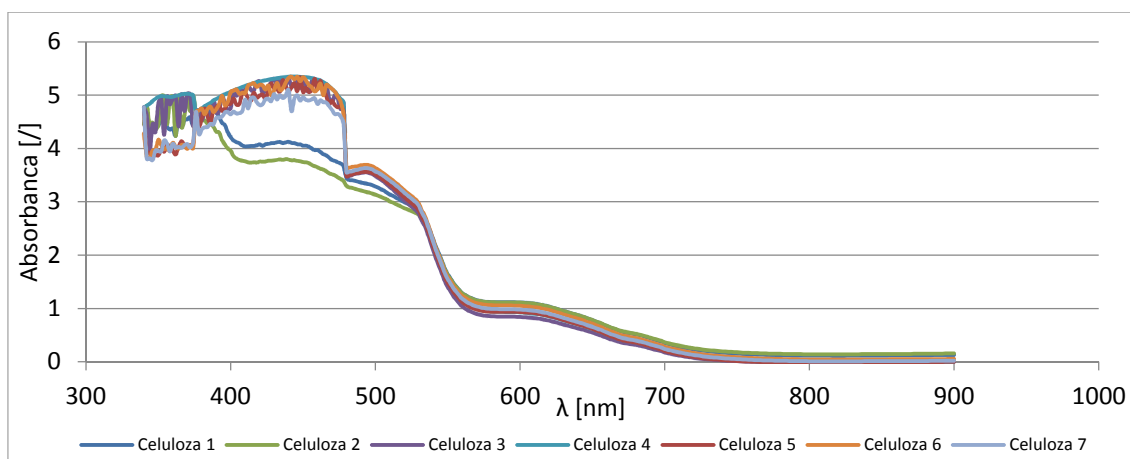


Slika 29: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 170 % (kiveta: $l = 10$ mm)

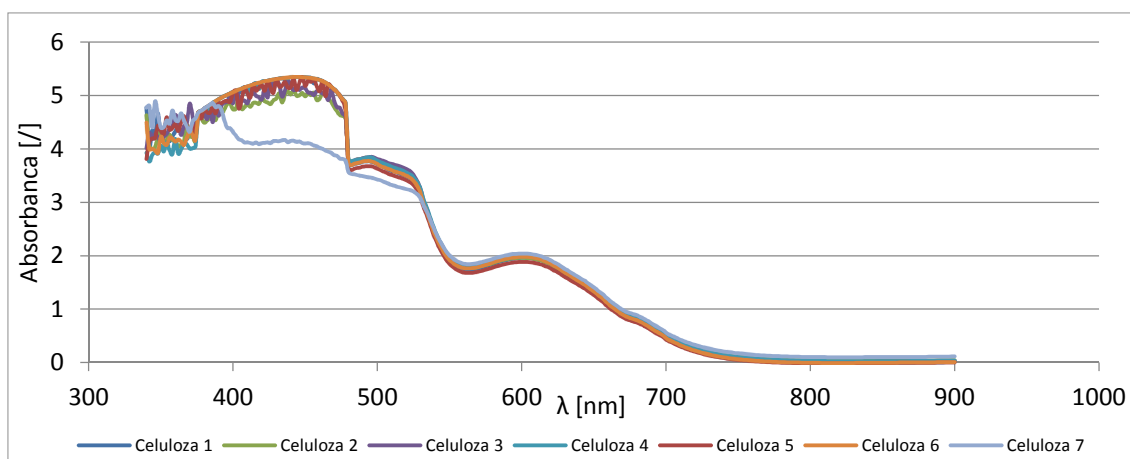
Večja odstopanja so se pojavila pri vzorcih 1, 2 in 6 v območju 136 % in pri vzorcu 2 v območju 170 %. Rezultate vseh teh meritev sem izločil. Drugi rezultati so v skladu s pričakovanji in vse krivulje se pri 600 nm skoraj do popolnosti prekrivajo.

4.2.2 Spektrofotometrično določanje – dolžina poti skozi vzorec: 20 mm

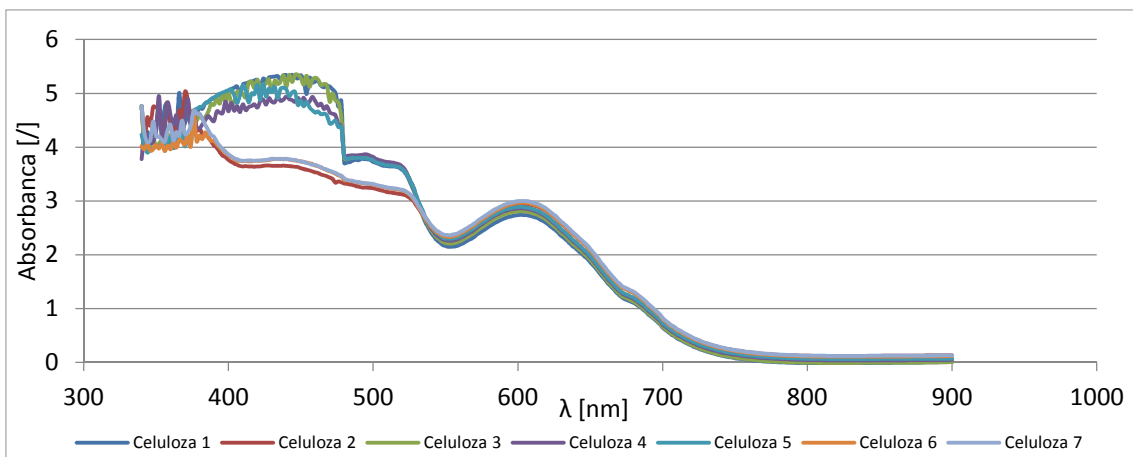
Vrednosti absorbance, ki so prikazane na slikah (**Slika 30, Slika 31, Slika 32, Slika 33 in Slika 34**), so izmerjene na podlagi dejanskih mas vzorca, ki so prikazane v tabeli (**Tabela 3**). Povprečje upoštevanih vrednosti absorbance pri 600 nm je bilo 0,994 za 30 % območje, 1,975 za 64 % območje, 2,886 za 100 % območje, 3,765 za 136 % območje in 4,207 za 170 % območje.



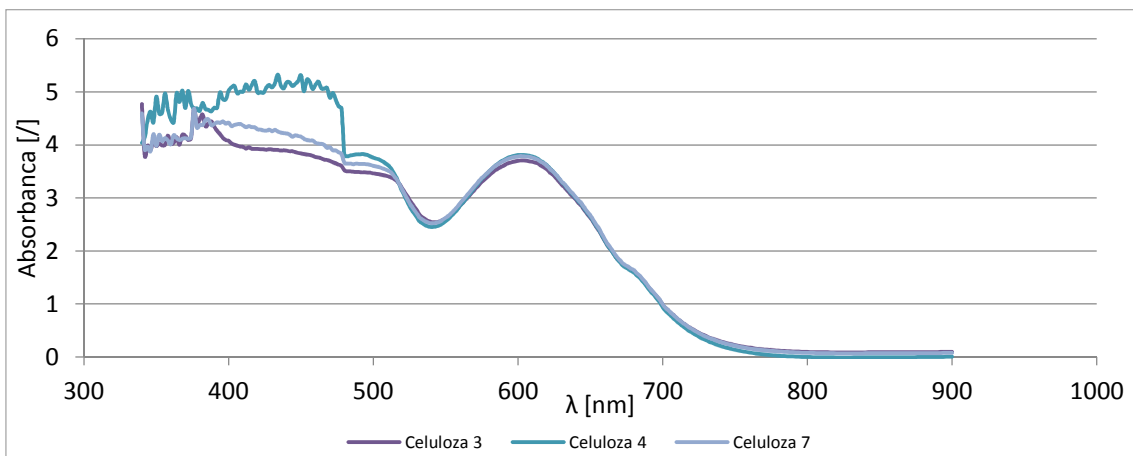
Slika 30: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 30 % (kiveta: $l = 20$ mm)



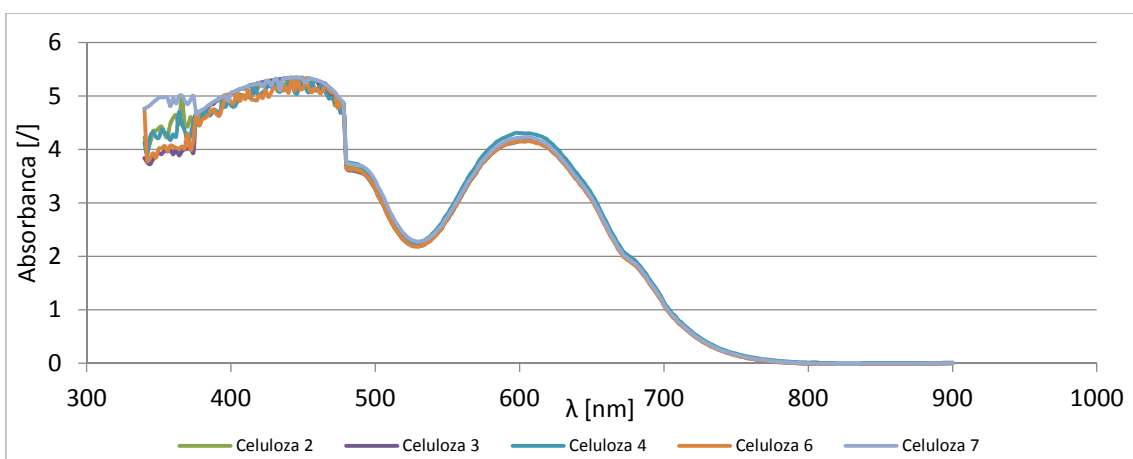
Slika 31: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 64 % (kiveta: $l = 20$ mm)



Slika 32: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 100 % (kiveta: l = 20 mm)



Slika 33: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 136 % (kiveta: l = 20 mm)



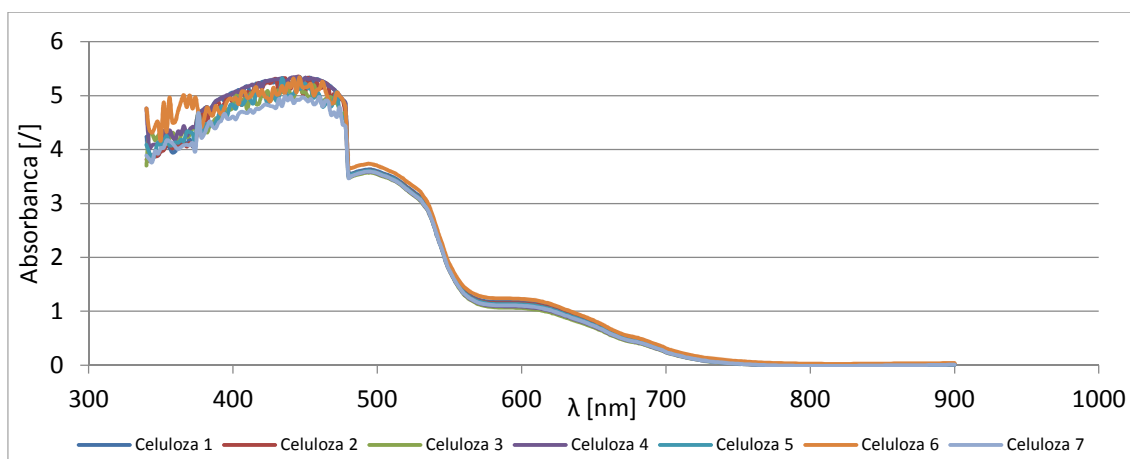
Slika 34: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 170 % (kiveta: l = 20 mm)

Do nesprejemljivih odstopanj je prišlo pri vzorcih 1, 2, 5 in 6 v območju 136 % in pri vzorcih 1 in 5 v območju 170 %. Odstopanja so najverjetnejša posledica prisotnosti

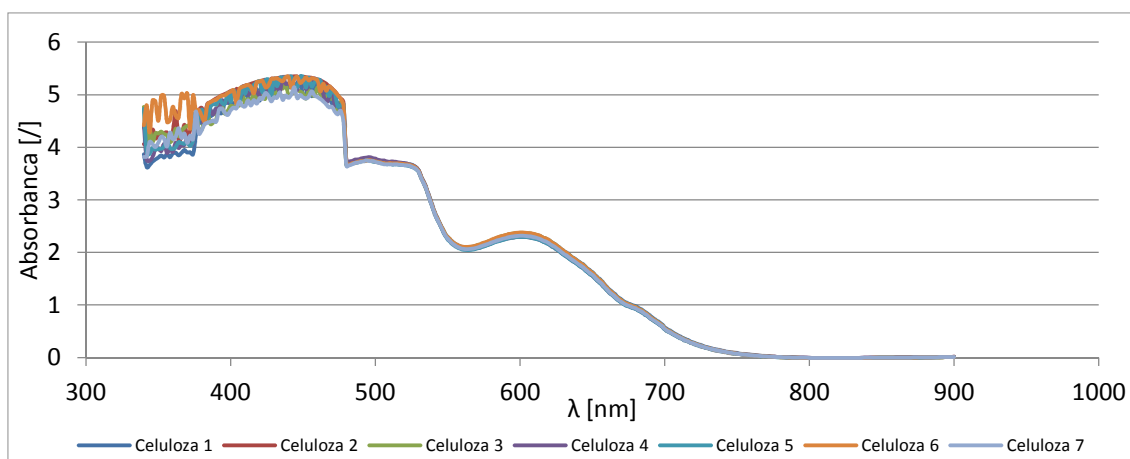
kristalnih soli zaradi prisotnosti kloridov in mineralnih snovi. Rezultate vseh teh meritev sem izločil. Drugi rezultati so v skladu s pričakovanji in vse krivulje se pri 600 nm skoraj do popolnosti prekrivajo.

4.2.3 Spektrofotometrično določanje – dolžina poti skozi vzorec: 24 mm

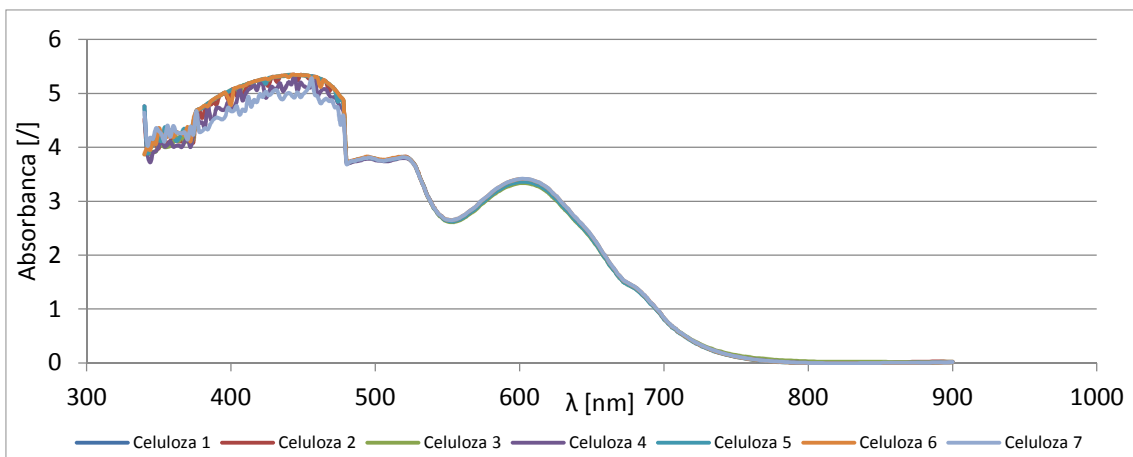
Vrednosti absorbanca, ki so prikazane na slikah (**Slika 35, Slika 36, Slika 37, Slika 38 in Slika 39**), so izmerjene na podlagi dejanskih mas vzorca, ki so podane v tabeli (**Tabela 3**). Povprečje upoštevanih vrednosti absorbanca pri 600 nm je bilo 1,131 za 30 % območje, 2,332 za 64 % območje, 3,380 za 100 % območje, 4,180 za 136 % območje in 4,417 za 170 % območje.



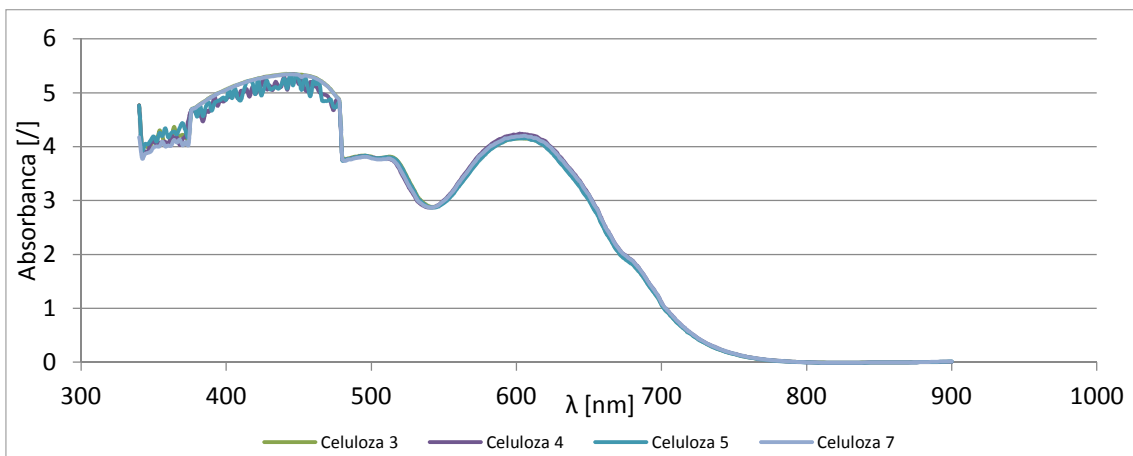
Slika 35: Odvisnost absorbanca od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 30 % (kiveta: l = 24 mm)



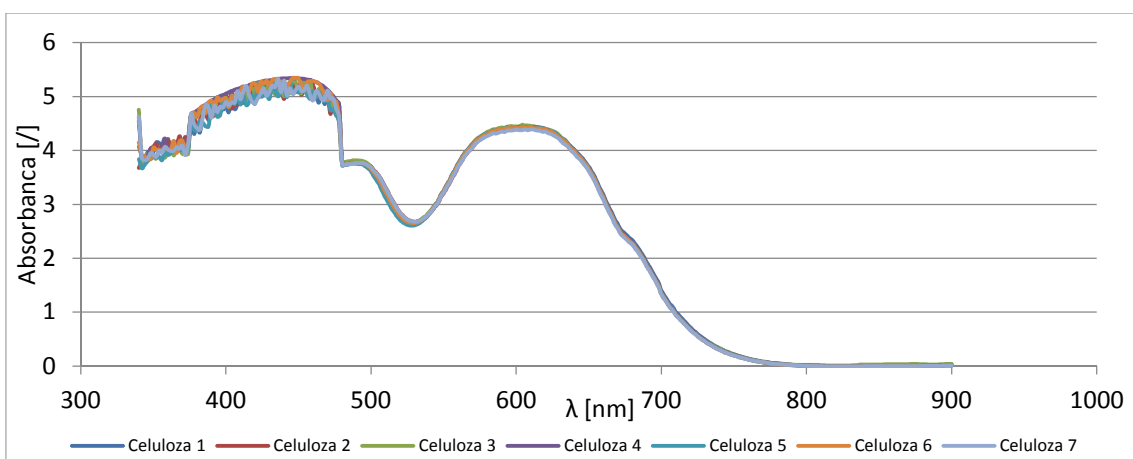
Slika 36: Odvisnost absorbanca od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 64 % (kiveta: l = 24 mm)



Slika 37: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 100% (kiveta: $l = 24$ mm)



Slika 38: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 136% (kiveta: $l = 24$ mm)



Slika 39: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za praškasti standard – celuloza 170 % (kiveta: $l = 24$ mm)

Večja odstopanja sem odkril le v območju 136 % pri vzorcih 1, 2 in 6. Rezultate teh treh meritev sem izločil. Drugi rezultati so v skladu s pričakovanji in vse krivulje se pri 600 nm skoraj do popolnosti prekrivajo.

4.2.4 Določanje po prilagojeni metodi (Zupančič in Roš, 2012)

Vrednosti KPK so izmerjene in podane na podlagi dejanskih mas vzorca iz tabele (Tabela 3). Iz tabel (Tabela 13, Tabela 14, Tabela 15, Tabela 16 in Tabela 17) so razvidni pridobljeni rezultati meritev KPK po prilagojeni metodi.

Tabela 13: Celuloza – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 30 %

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
masa [mg]	6,18	5,97	5,48	5,78	5,93	6,00	5,88	5,959
V _{FAS} [mL]	10,005	9,979	/	10,132	10,027	9,983	10,132	10,043
KPK (aliquot) [mg/L]	2.852	2.894	/	2.647	2.817	2.888	2.647	2.791
KPK (vzorec) [mg/L]	1.153	1.212	/	1.145	1.187	1.203	1.124	1.171

Razen vzorca 3, ki se je pri kvantitativnem prenašanju v titracijsko posodo uničil, so vsi rezultati za 30 % območje v skladu s pričakovanji. V_{FAS} je bil 11,871 mL, zato je vrednost c_{FAS} 0,5054 mol/L. V_{slepi} je bil 11,769 mL. Po izračunu KPK v vzorcu sem na podlagi povprečnih vrednosti KPK_{VZOREC} in s pomočjo enačbe (22) izračunal obnovljivost svojih meritev.

Povprečna vrednost KPK v vzorcih je bila 1.171 mg/L. Obnovljivost pri meritvah za 30 % koncentracijsko območje je tako 98,8 %.

Tabela 14: Celuloza – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 64 %

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
masa [mg]	13,59	13,51	13,75	13,36	13,48	13,68	13,23	13,51
V _{FAS} [mL]	7,877	8,011	7,944	8,03	8,08	7,945	8,03	7,988
KPK (aliquot) [mg/L]	6453	6237	6345	6206	6126	6344	6206	6.274
KPK (vzorec) [mg/L]	1.187	1.154	1.154	1.162	1.136	1.159	1.173	1.161

Vsi rezultati za 64 % območje so bili v skladu s pričakovanji. V_{FAS} je bil 11,901 mL, zato je vrednost c_{FAS} 0,5042 mol/L. V_{slepi} je bil 11,877 mL. Po izračunu KPK v vzorcu sem na podlagi povprečnih vrednosti KPK_{VZOREC} in s pomočjo enačbe (22) izračunal obnovljivost svojih meritev.

Povprečna vrednost KPK v vzorcih je bila 1.161 mg/g. Obnovljivost pri meritvah za 64 % koncentracijsko območje je tako 97,9 %.

Tabela 15: Celuloza – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 100 %

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
masa [mg]	19,79	20,13	20,26	19,96	20,43	20,66	20,48	20,24
V _{FAS} [mL]	6,177	5,898	6,079	6,041	5,986	5,927	5,927	6,005
KPK (aliquot) [mg/L]	9.248	9.690	9.403	9.463	9.550	9.644	9.644	9.520
KPK (vzorec) [mg/L]	1.168	1.204	1.160	1.185	1.168	1.167	1.177	1.176

Vsi rezultati za 100 % območje so bili v skladu s pričakovanji. V_{FAS} je bil 12,134 mL, zatorej je vrednost c_{FAS} 0,4945 mol/L. V_{slepi} je bil 12,022 mL. Po izračunu KPK v vzorcu sem na podlagi povprečnih vrednosti KPK_{VZOREC} in s pomočjo enačbe (22) izračunal obnovljivost svojih meritev.

Povprečna vrednost KPK v vzorcih je bila 1.176 mg/g. Obnovljivost pri meritvah za 100 % koncentracijsko območje je tako 99,2 %.

Tabela 16: Celuloza – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 136 %

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
masa [mg]	27,76	27,74	27,63	27,89	27,53	27,92	28,19	27,81
V _{FAS} [mL]	/	/	3,872	3,397	3,781	/	3,510	3,640
KPK (aliquot) [mg/L]	/	/	12.774	13.541	12.921	/	13.359	13.149
KPK (vzorec) [mg/L]	/	/	1.156	1.214	1.173	/	1.185	1.182

Vzorci 1, 2 in 6 so se pri kvantitativnem prenašanju v titracijsko posodo uničili. Drugi rezultati za 136 % območje so bili v skladu s pričakovanji. V_{FAS} je bil 11,878 mL, zatorej je vrednost c_{FAS} 0,5051 mol/L. V_{slepi} je bil 11,774 mL. Po izračunu KPK v vzorcu sem na podlagi povprečnih vrednosti KPK_{VZOREC} in s pomočjo enačbe (22) izračunal obnovljivost svojih meritev.

Povprečna vrednost KPK v vzorcih je bila 1.182 mg/g. Obnovljivost pri meritvah za 136 % koncentracijsko območje je tako 99,7 %.

Tabela 17: Celuloza – Izmerjene koncentracije KPK – konc. območje 170 %

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
masa [mg]	34,84	34,56	34,78	34,83	34,92	34,92	34,28	34,73
V _{FAS} [mL]	1,691	1,777	1,711	/	/	/	/	1,726
KPK (aliquot) [mg/L]	16.239	16.100	16.207	/	/	/	/	16.182
KPK (vzorec) [mg/L]	1.165	1.165	1.165	/	/	/	/	1.165

Vzorci 4 do 7 so se pri kvantitativnem prenašanju v titracijsko posodo uničili. Drugi rezultati za 170 % območje so bili v skladu s pričakovanji. V_{FAS} je bil 11,878 mL, zatorej je vrednost c_{FAS} 0,5051 mol/L. V_{slepi} je bil 11,737 mL.

Po izračunu KPK v vzorcu sem na podlagi povprečnih vrednosti KPK_{VZOREC} in s pomočjo enačbe (22) izračunal obnovljivost svojih meritev.

Povprečna vrednost KPK v vzorcih je bila 1.165 mg/g. Obnovljivost pri meritvah za 170 % koncentracijsko območje je tako 98,3 %.

4.2.5 Umeritvene krivulje

Za potrditev domneve o primernosti SFM sem pridobljene rezultate po obeh metodah primerjal na sliki (**Slika 40**) za 10 mm dolžine poti in na sliki (**Slika 41**) za 24 mm dolžine poti. Vodoravna os vsebuje vrednosti koncentracij KPK po prilagojeni metodi, medtem ko navpična os prikazuje vrednosti absorbance po SFM.

Pokazatelj točnosti meritev je linearna regresija oziroma vsota najmanjših kvadratov izražena z R^2 . Ta je pri 10 mm 0,9994, pri 24 mm pa podobno kot pri tekočem standardu nekoliko slabša.

Za potrditev primerljivosti med obema metodama sem za vsak realni vzorec na podlagi sledeče enačbe iz izmerjene absorbance ($l=10$ mm) izračunal vrednosti KPK alikvota in kasneje KPK vzorca s pomočjo enačbe (21)

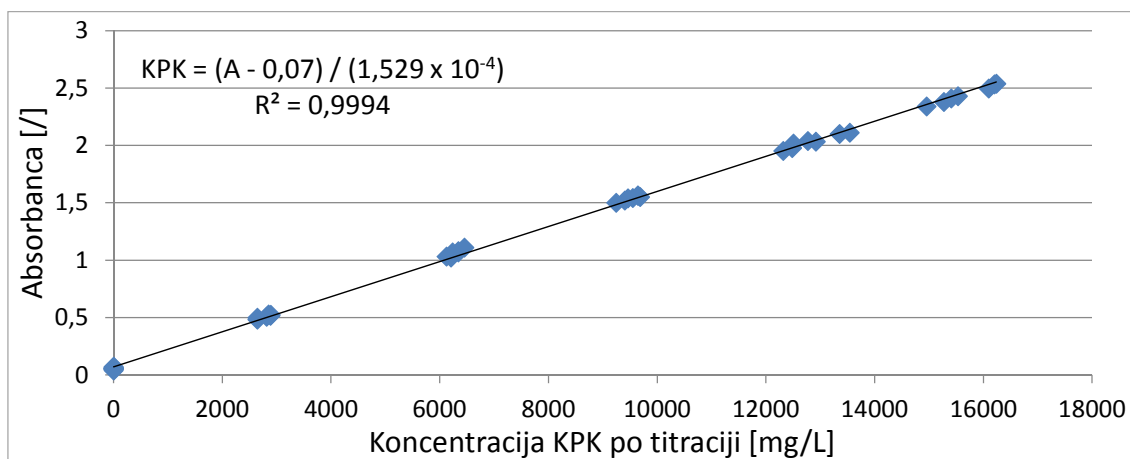
$$KPK_{ALIKVOT} = \frac{A_{10} - 0,07}{1,529 \cdot 10^{-4}} \quad (24)$$

$KPK_{ALIKVOT}$... koncentracija KPK v 2,5 mL alikvotu (mg/L)

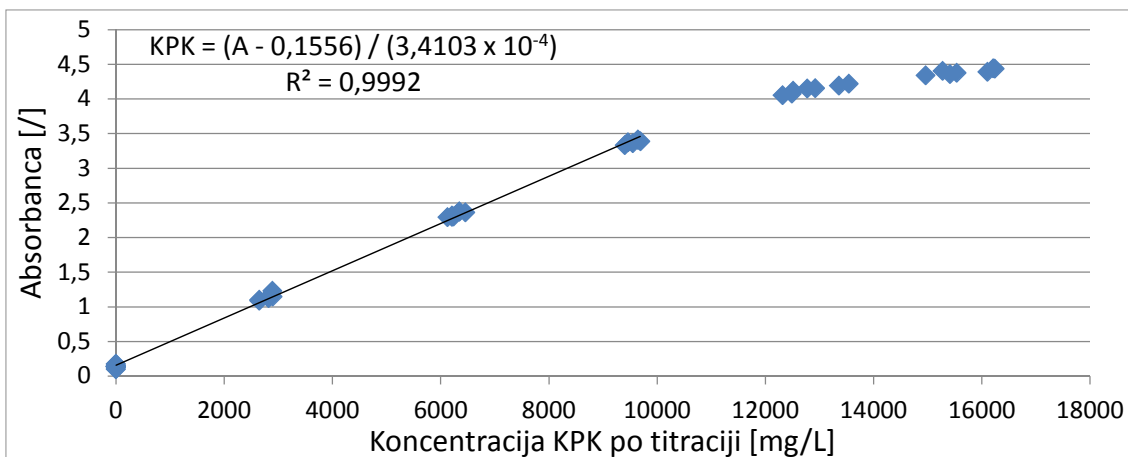
A_{10} ... absorbanca pri $l=20$ mm (/)

0,07 ... konstantni člen, kjer umeritvena krivulja seka y-os (/)

$1,529 \cdot 10^{-4}$... člen, ki določa naklon umeritvene krivulje (L/mg)



Slika 40: Odvisnost absorbance od koncentracije KPK z umeritveno krivuljo za praškasti standard - celuloza (kiveta: l = 10 mm)



Slika 41: Odvisnost absorbance od koncentracije KPK z umeritveno krivuljo do 100 % koncentracijskega območja za praškasti standard - celuloza (kiveta: l = 24 mm)

Na sliki (**Slika 41**) je opazno, da se enako kot pri tekočem standardu stopnja absorbance pri koncentracijskih območjih nad 100 % zmanjšuje glede na izmerjene vrednosti KPK po prilagojeni metodi. Zato je pri SFM, kjer je $l=24$ mm, možno uporabljati le del krivulje do 100% koncentracijskega območja, ki je linearen. R^2 je v tem primeru 0,9992. Ob upoštevanju tega dejstva, ugotavljam, da je SFM točna.

Za vse realne vzorce sem iz izmerjene absorbance ($l=24$ mm) izračunal vrednosti KPK alikvota in nato s pomočjo enačbe (21) še vrednosti KPK vzorca. S tem sem ugotovil primerljivost med metodama.

$$KPK_{ALIKVOT} = \frac{A_{24} - 0,1556}{3,4103 * 10^{-4}} \quad (25)$$

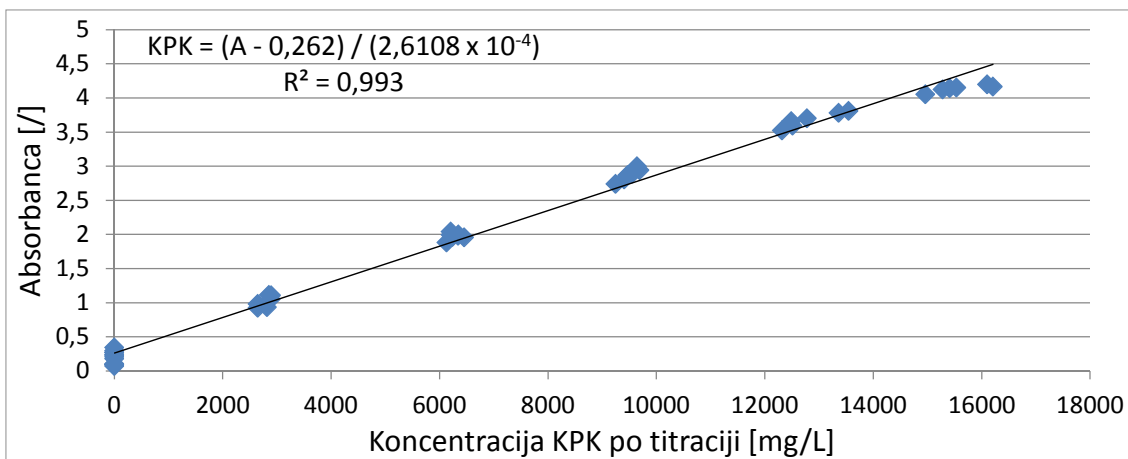
$KPK_{ALIKVOT}$... koncentracija KPK v 2,5 mL alikvotu (mg/L)

A_{24} ... absorbance pri $l=20$ mm (/)

0,1556 ... konstantni člen, kjer umeritvena krivulja seka y-os (/)

$3,4103 * 10^{-4}$... člen, ki določa naklon umeritvene krivulje (L/mg)

Vsota najmanjših kvadratov pri 20 mm dolžine poti je 0,9930, kar je razvidno s slike (**Slika 42**). Tudi tukaj se pri skrajnem robu koncentracijskega območja (170 %) že opažajo odstopanja, ki pa so še sprejemljiva, zato ugotavljam, da je tudi pri kiveti $l=20$ mm, SFM točna.



Slika 42: Odvisnost absorbanca od koncentracije KPK z umeritveno krivuljo za praškasti standard - celuloza (kiveta: l = 20 mm)

Za potrditev primerljivosti med obema metodama sem za vsak realni vzorec iz izmerjene absorbanca (l=20 mm) izračunal vrednosti KPK alikvota in kasneje KPK vzorca s pomočjo enačbe (21)

$$KPK_{ALIKVOT} = \frac{A_{20} - 0,262}{2,6108 \cdot 10^{-4}} \quad (26)$$

$KPK_{ALIKVOT}$... koncentracija KPK v 2,5 mL alikvotu (mg/L)

A_{20} ... absorbanca pri l=20 mm (/)

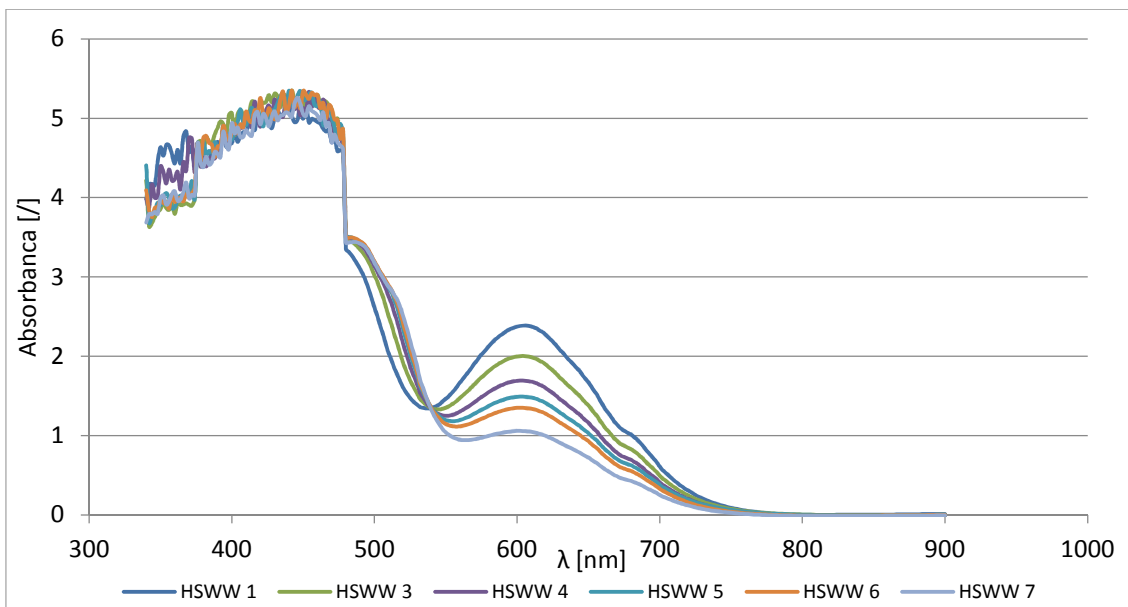
0,262 ... konstantni člen, kjer umeritvena krivulja seka y-os (/)

$2,6108 \cdot 10^{-4}$... člen, ki določa naklon umeritvene krivulje (L/mg)

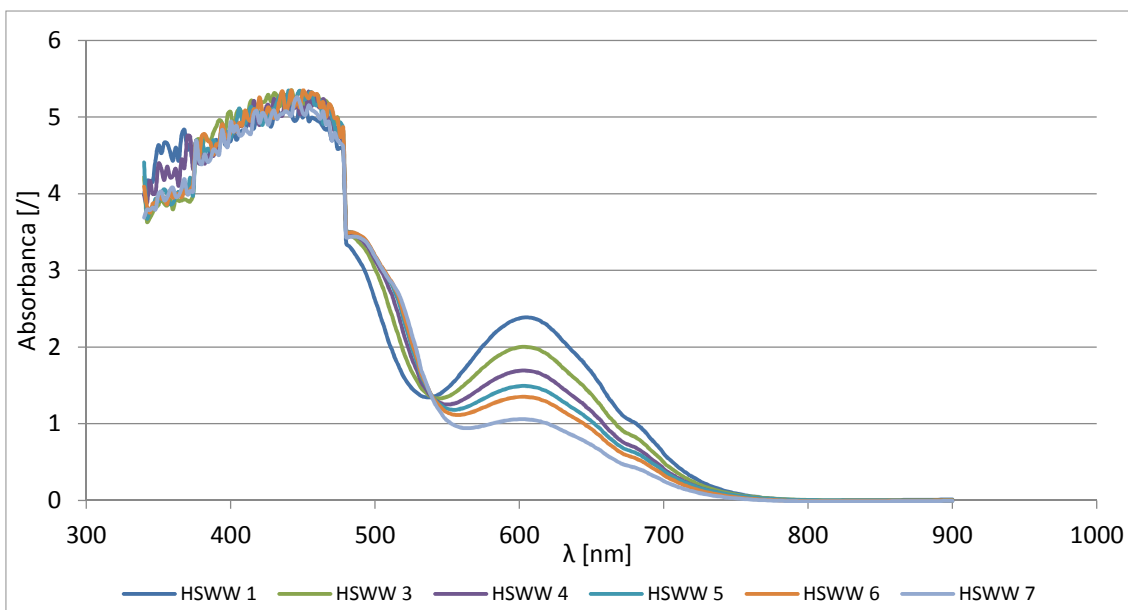
4.3 Vzorec 1 – HSWW

4.3.1 Spektrofotometrično določanje

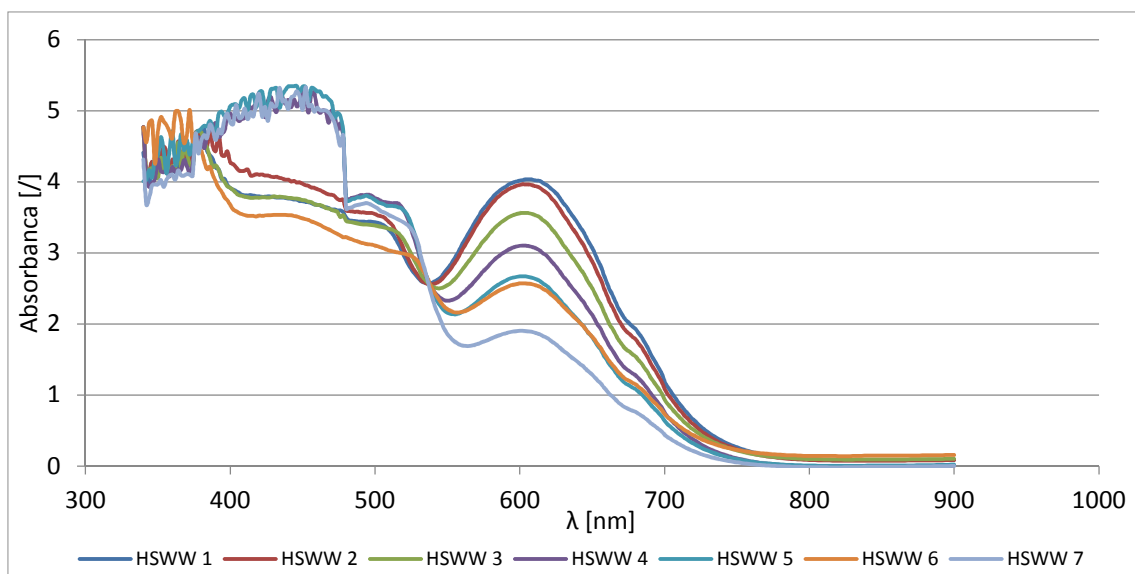
Vrednosti absorbanca, ki so prikazane na slikah (**Slika 43**, **Slika 44** in **Slika 45**), so izmerjene na podlagi dejanskih mas vzorca iz tabele (**Tabela 4**). Nepričakovana krivulja se je pojavila le pri vzorcu 2 pri dolžini poti 10 in 24 mm. Rezultate te meritve sem izločil.



Slika 43: Odvisnost absorbanca od valovne dolžine za vzorec 1 – HSWW (kiveta: $l = 10$ mm)



Slika 44: Odvisnost absorbanca od valovne dolžine za vzorec 1 – HSWW (kiveta: $l = 24$ mm)



Slika 45: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 1 – HSWW (kiveta: l = 20 mm)

Razen že omenjenega vzorca 2 so rezultati v skladu s pričakovanji. Vse krivulje med 300 in 900 nm potekajo v skladu s pričakovanji, prav tako so v skladu s pričakovanji izmerjene vrednosti pri 600 nm. S slik (Slika 43, Slika 44 in Slika 45) se vidijo različna koncentracijska območja za vsako posamezno paralelko.

4.3.2 Določanje po prilagojeni metodi (Zupančič in Roš, 2012)

Vrednosti KPK so izmerjene in podane na podlagi dejanskih mas vzorca, ki so prikazane v tabeli (Tabela 4).

Tabela 18: Izmerjene koncentracije KPK – HSWW

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
masa [mg]	291,55	267,75	235,69	198,68	170,88	155,68	117,61	/
V _{FAS} [mL]	/	/	4,179	5,38	6,354	6,885	8,061	/
KPK (aliquot) [mg/L]	/	/	12.459	10.528	8.961	8.107	6.216	/
KPK (vzorec) [mg/kg]	/	/	132.155	132.470	131.105	130.192	132.134	131.611

Zaradi težav pri kvantitativnem prenosu raztopine v titracijsko posodo so rezultati meritev za vzorec 1 in 2 neuporabni, drugi so v skladu s pričakovanji. V_{FAS} je bil 11,939 mL, zato je vrednost c_{FAS} 0,5026 mol/L. V_{stepi} je bil 11,926 mL. Vrednosti KPK so podane v tabeli (Tabela 18).

Po izračunu KPK v vzorcih sem na podlagi povprečnih vrednosti KPK_{VZOREC} ugotovil, da se je maksimalno odstopanje pojavilo pri vzorcu 6, in sicer za 1,1 %.

4.3.3 Primerjava SFM s prilagojeno metodo

Za primerjavo obeh metod sem ovrednotil odstopanje koncentracije KPK v vzorcu po prilagojeni metodi od koncentracije KPK v vzorcu po SFM z uporabo umeritvene krivulje celuloze. Rezultati so razvidni iz tabel (**Tabela 19**, **Tabela 20** in **Tabela 21**).

Tabela 19: Primerjava metod – HSWW (10 mm)

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
A 600 nm [/]	/	/	1,998	1,691	1,49	1,35	1,059	/
KPK (aliquot) [mg/L]	/	/	12.610	10.602	9.287	8.371	6.468	/
KPK (SFM) [mg/kg]	/	/	133.751	133.402	135.872	134.434	137.494	134.991
KPK (PM) [mg/kg]	/	/	132.155	132.470	131.105	130.192	132.134	131.611
razlika [mg/kg]	/	/	1.596	932	4.767	4.242	5.360	3.379
Odstopanje [%]	/	/	1,2%	0,7%	3,6%	3,3%	4,1%	2,6

* PM - prilagojena metoda

Povprečna vrednost KPK izmerjena na podlagi absorbance je bila 134.991 mg/kg. Odstopanje je bilo najnižje pri vzorcu 4, in sicer za 932 mg/kg, kar predstavlja 0,7 %. Najvišje odstopanje je bilo pri vzorcu 7, in sicer 5.360 mg/kg, kar predstavlja 4,1 %. Povprečna razlika med metodama je bila 3.379 mg/kg in povprečno odstopanje 2,6 %, med tem ko je bil standardni odklon 1.689 mg/kg.

Tabela 20: Primerjava metod – HSWW (24 mm)

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
A 600 nm [/]	/	/	4,072	3,644	3,219	2,952	2,349	/
KPK (aliquot) [mg/L]	/	/	11.484	10.229	8.983	8.200	6.432	/
KPK (SFM) [mg/kg]	/	/	121.813	128.712	131.420	131.678	136.717	130.068
KPK (PM) [mg/kg]	/	/	132.155	132.470	131.105	130.192	132.134	131.611
razlika [mg/kg]	/	/	-10.342	-3.758	315	1.486	4.582	-1.544
Odstopanje [%]	/	/	7,8%	2,8%	0,2%	1,1%	3,5%	3,1%

* PM - prilagojena metoda

Povprečna vrednost KPK izmerjena na podlagi absorbance je bila 130.068 mg/kg. Odstopanje je bilo najnižje pri vzorcu 5, in sicer za 315 mg/kg, kar predstavlja 0,2 %. Najvišje odstopanje je bilo pri vzorcu 3, in sicer -10.342 mg/kg, kar predstavlja 7,8 %. Povprečna razlika med metodama je bila -1.544 mg/kg in povprečno odstopanje 3,1 %, med tem ko je bil standardni odklon 5.445 mg/kg.

Tabela 21: Primerjava metod – HSWW (20 mm)

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
A 600 nm [°]	/	/	3,558	3,1	2,67	2,57	1,903	/
KPK (aliquot) [mg/L]	/	/	12.624	10.870	9.223	8.840	6.285	/
KPK (SFM) [mg/kg]	/	/	133.910	136.781	134.937	141.961	133.607	136.239
KPK (PM) [mg/kg]	/	/	132.155	132.470	131.105	130.192	132.134	131.611
razlika [mg/kg]	/	/	1.755	4.311	3.832	11.769	1.473	4.628
Odstopanje [%]	/	/	1,3%	3,3%	2,9%	9,0%	1,1%	3,5%

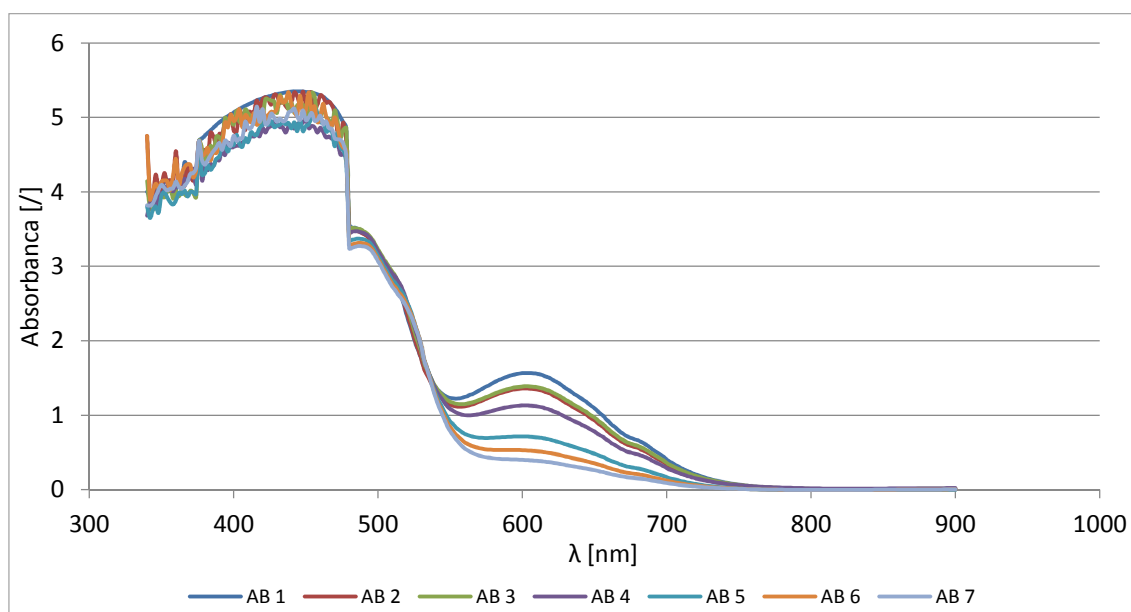
* PM - prilagojena metoda

Povprečna vrednost KPK izmerjena na podlagi absorbance je bila 136.239 mg/kg. Odstopanje je bilo najnižje pri vzorcu 7, in sicer za 1.473 mg/kg, kar predstavlja 1,1 %. Najvišje odstopanje je bilo pri vzorcu 6, in sicer 11.769 mg/kg, kar predstavlja 9,0 %. Povprečna razlika med metodama je bila 4.628 mg/kg in povprečno odstopanje 3,5 %, med tem ko je bil standardni odklon 3.431 mg/kg.

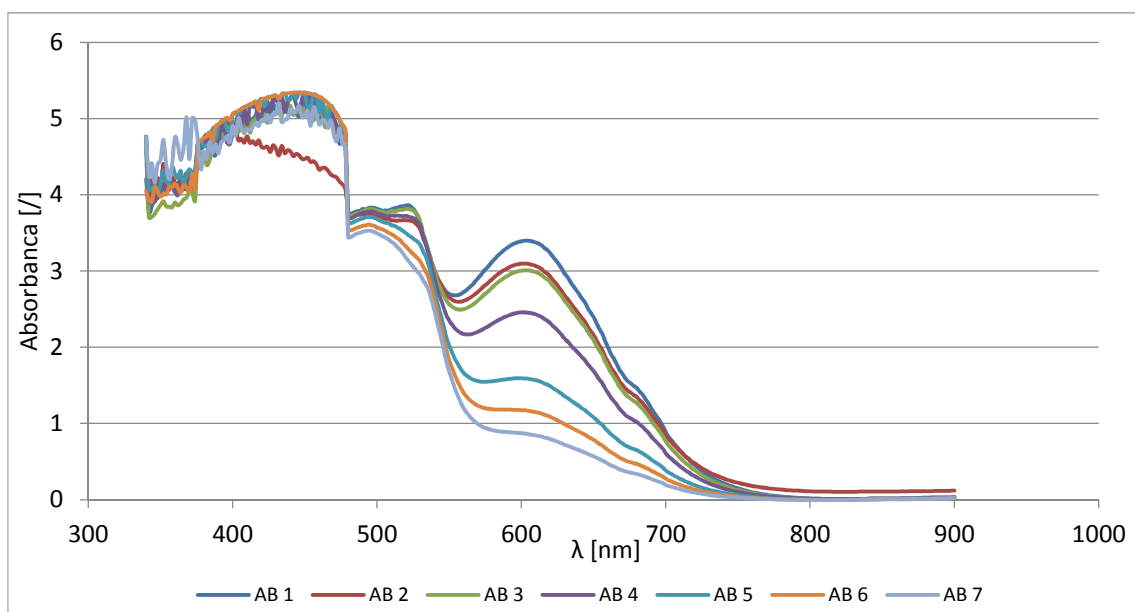
4.4 Vzorec 2 – AB

4.4.1 Spektrofotometrično določanje

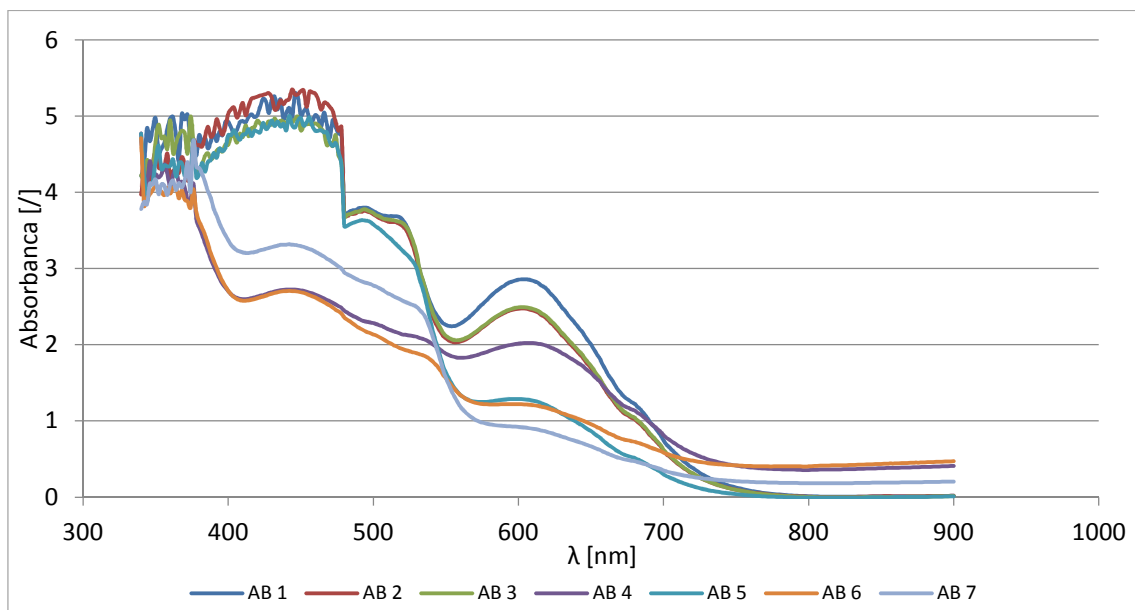
Vrednosti absorbance, ki so prikazane na slikah (**Slika 46**, **Slika 47** in **Slika 48**), so izmerjene na podlagi dejanskih mas vzorca iz tabele (**Tabela 5**). Nepričakovanih rezultatov ni bilo.



Slika 46: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 2 – AB (kiveta: l = 10 mm)



Slika 47: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 2 – AB (kiveta: l = 24 mm)



Slika 48: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 2 – AB (kiveta: l = 20 mm)

Vsi rezultati so v skladu s pričakovanji. Vse krivulje med 300 in 900 nm potekajo skladno s predvidevanjem, prav tako so v skladu s pričakovanji izmerjene vrednosti pri 600 nm. S slik (Slika 46, Slika 47 in Slika 48) se vidijo različna koncentracijska območja za vsako posamezno paralelko.

4.4.2 Določanje po prilagojeni metodi (Zupančič in Roš, 2012)

Vrednosti KPK so izmerjene in podane na podlagi dejanskih mas vzorca, ki jih prikazuje tabela (**Tabela 5**).

Tabela 22: Izmerjene koncentracije KPK – AB

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
masa [mg]	1.511	1.225	1.100	872	617	416	281	/
V _{FAS} [mL]	/	6,869	7,018	8,006	9,576	10,345	10,903	/
KPK (aliquot) [mg/L]	/	8.366	8.130	6.569	4.087	2.871	1.989	/
KPK (vzorec) [mg/kg]	/	17.073	18.478	18.832	16.560	17.257	17.700	17.650

Vsi rezultati so v skladu s pričakovanji, razen vzorca 1, ki se je med titracijo uničil. V_{FAS} je bil 12,147 mL, zato je vrednost c_{FAS} 0,4939 mol/L. V_{slepi} je bil 12,162 mL. Vrednosti KPK so podane v tabeli (**Tabela 22**). Po izračunu KPK v vzorcih sem na podlagi povprečnih vrednosti KPK_{VZOREC} ugotovil, da se je maksimalno odstopanje pojavilo pri vzorcu 5, in sicer za 6,6 %.

4.4.3 Primerjava SFM s prilagojeno metodo

Za primerjavo obeh metod sem ovrednotil odstopanje koncentracije KPK v vzorcu po prilagojeni metodi od koncentracije KPK v vzorcu po SFM z uporabo umeritvene krivulje celuloze. Rezultati so razvidni iz tabel (**Tabela 23**, **Tabela 24** in **Tabela 25**).

Tabela 23: Primerjava metod – AB (10 mm)

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
A 600 nm [/]	/	1,359	1,386	1,13	0,715	0,53	0,4	/
KPK (aliquot) [mg/L]	/	8.430	8.607	6.933	4.218	3.009	2.158	/
KPK (SFM) [mg/kg]	/	17.205	19.561	19.876	17.093	18.080	19.202	18.503
KPK (PM) [mg/kg]	/	17.073	18.478	18.832	16.560	17.257	17.700	17.650
razlika [mg/kg]	/	132	1.083	1.044	533	823	1.502	853
Odstopanje [%]	/	0,8%	5,9%	5,5%	3,2%	4,8%	8,5%	4,8%

* PM - prilagojena metoda

Povprečna vrednost KPK izmerjena na podlagi absorbance je bila 18.503 mg/kg. Odstopanje je bilo najnižje pri vzorcu 2, in sicer za 132 mg/kg, kar predstavlja 0,8 %. Najvišje odstopanje je bilo pri vzorcu 7, in sicer 1.502 mg/kg, kar predstavlja 8,5 %.

Povprečna razlika med metodama je bila 853 mg/kg in povprečno odstopanje 4,8 %, med tem ko je bil standardni odklon 1.212 mg/kg.

Tabela 24: Primerjava metod – AB (24 mm)

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
A 600 nm [/]	/	3,097	3,006	2,457	1,593	1,175	0,87	/
KPK (aliquot) [mg/L]	/	8.625	8.358	6.748	4.215	2.989	2.095	/
KPK (SFM) [mg/kg]	/	17.602	18.996	19.347	17.078	17.964	18.637	18.271
KPK (PM) [mg/kg]	/	17.073	18.478	18.832	16.560	17.257	17.700	17.650
razlika [mg/kg]	/	529	518	515	518	707	937	621
Odstopanje [%]	/	3,1%	2,8%	2,7%	3,1%	4,1%	5,3%	3,5%

* PM - prilagojena metoda

Povprečna vrednost KPK izmerjena na podlagi absorbance je bila 18.271 mg/kg. Odstopanje je bilo najnižje pri vzorcu 4, in sicer za 515 mg/kg, kar predstavlja 2,7 %. Najvišje odstopanje je bilo pri vzorcu 7, in sicer 937 mg/kg, kar predstavlja 5,3 %. Povprečna razlika med metodama je bila 621 mg/kg in povprečno odstopanje 3,5 %, med tem ko je bil standardni odklon 870 mg/kg.

Tabela 25: Primerjava metod – AB (20 mm)

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
A 600 nm [/]	/	2,473	2,49	2,014	1,289	/	/	/
KPK (aliquot) [mg/L]	/	8.469	8.534	6.711	3.934	/	/	/
KPK (SFM) [mg/kg]	/	17.283	19.395	19.239	15.939	/	/	17.964
KPK (PM) [mg/kg]	/	17.073	18.478	18.832	16.560	17.257	17.700	17.650
razlika [mg/kg]	/	210	917	407	-621	/	/	228
Odstopanje [%]	/	1,2%	5,0%	2,2%	3,8%	/	/	3,0%

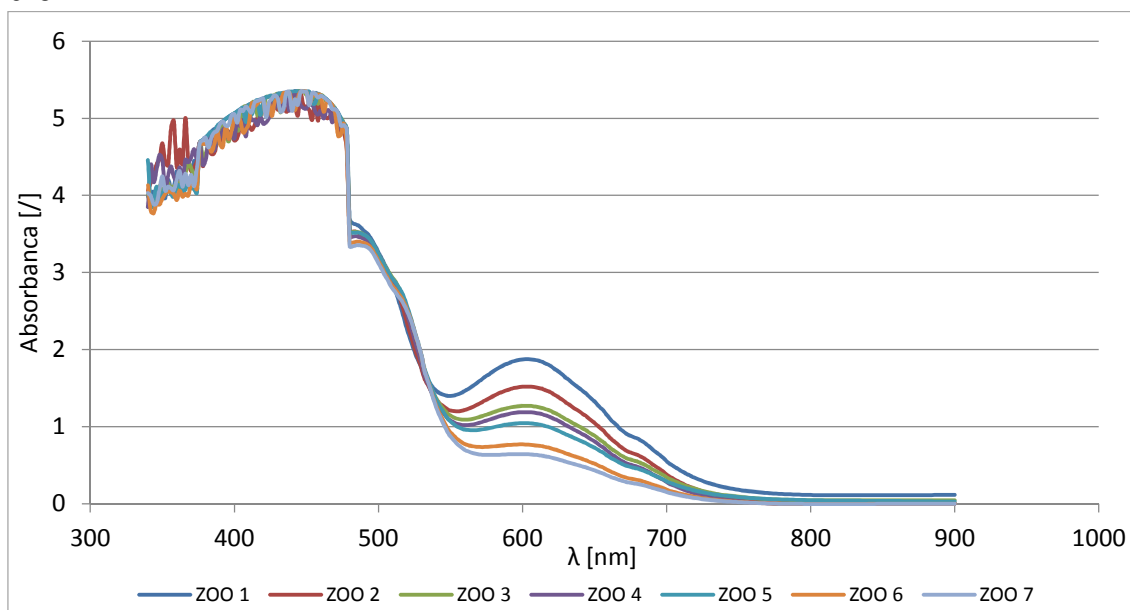
* PM - prilagojena metoda

Zaradi večjega odstopanja sem iz primerjave izločil rezultate vzorcev 6 in 7. Napako pripisujem težavam z tvorjenjem kristalnih snovi zaradi prisotnosti kloridov in mineralnih snovi. Povprečna vrednost KPK izmerjena na podlagi absorbance je bila 17.964 mg/kg. Odstopanje je bilo najnižje pri vzorcu 2, in sicer za 210 mg/kg, kar predstavlja 1,2 %. Najvišje odstopanje je bilo pri vzorcu 3, in sicer 917 mg/kg, kar predstavlja 5,0 %. Povprečna razlika med metodama je bila 228 mg/kg in povprečno odstopanje 3,0 %, med tem ko je bil standardni odklon 1.657 mg/kg.

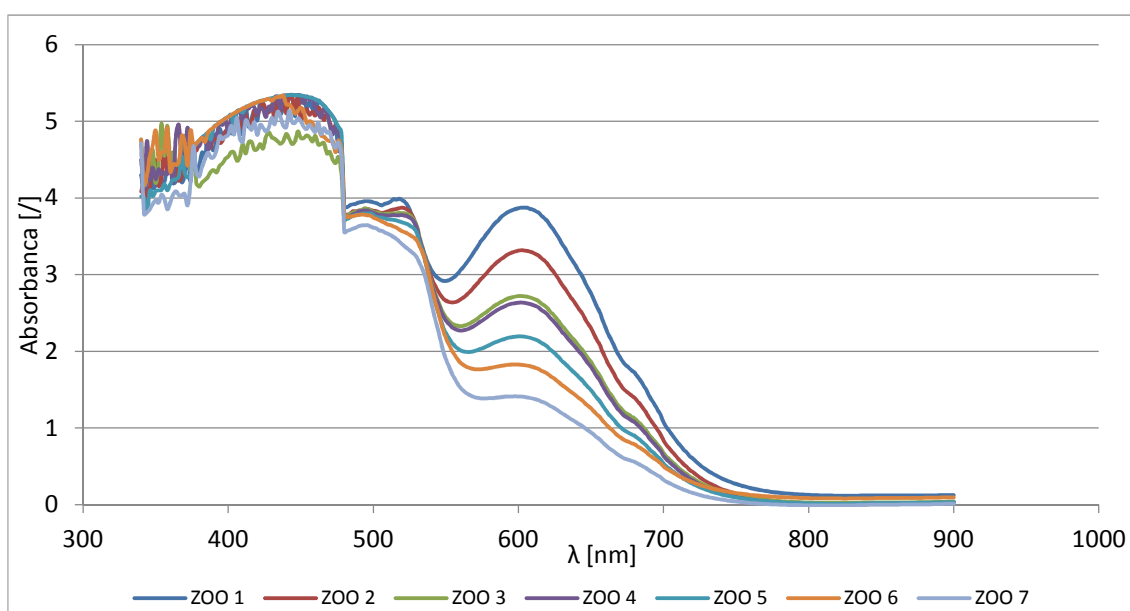
4.5 Vzorec 3 – ZOO

4.5.1 Spektrofotometrično določanje

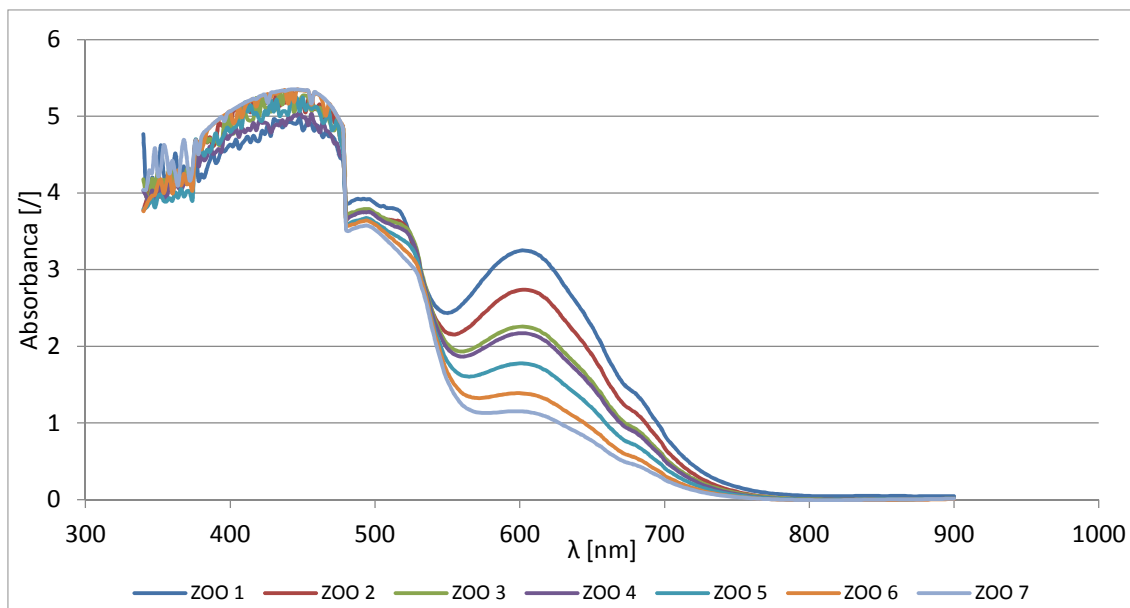
Vrednosti absorbance, ki so prikazane na slikah (**Slika 49**, **Slika 50** in **Slika 51**), so izmerjene na podlagi dejanskih mas vzorca iz (**Tabela 6**). Nepričakovanih rezultatov ni bilo.



Slika 49: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 3 – ZOO (kiveta: $l = 10$ mm)



Slika 50: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 3 – ZOO (kiveta: $l = 24$ mm)



Slika 51: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 3 – ZOO (kiveta: l = 20 mm)

Vsi rezultati so v skladu s pričakovanji. Vse krivulje med 300 in 900 nm potekajo skladno s predvidevanjem, prav tako so v skladu s pričakovanji izmerjene vrednosti pri 600 nm. S slik (Slika 49, Slika 50 in Slika 51) se vidijo različna koncentracijska območja za vsako posamezno paralelko.

4.5.2 Določanje po prilagojeni metodi (Zupančič in Roš, 2012)

Vrednosti KPK so izmerjene in podane na podlagi dejanskih mas vzorca, ki jih prikazuje tabela (Tabela 6).

Tabela 26: Izmerjene koncentracije KPK – ZOO

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
masa [mg]	497	448	392	352	301	247	199	
V _{FAS} [mL]	5,231	6,256	7,465	7,673	8,460	9,352	9,875	
KPK (aliquot) [mg/L]	10.893	9.272	7.360	7.031	5.787	4.377	3.550	
KPK (vzorec) [mg/kg]	54.792	51.741	46.941	49.939	48.065	44.298	44.594	48.624

Vsi rezultati so v skladu s pričakovanji. V_{FAS} je bil 12,143 mL, zato je vrednost c_{FAS} 0,4941 mol/L. V_{slepi} je bil 12,120 mL. Vrednosti KPK so podane v tabeli (Tabela 26).

Po izračunu KPK v vzorcih sem na podlagi povprečnih vrednosti KPK_{VZOREC} ugotovil, da se je maksimalno odstopanje pojavilo pri vzorcu 1, in sicer za 11,3 %. Rezultati precej nihajo, kar je pri organskih odpadkih zaradi homogenosti običajno.

4.5.3 Primerjava SFM s prilagojeno metodo

Za primerjavo obeh metod sem ovrednotil odstopanje koncentracije KPK v vzorcu po prilagojeni metodi od koncentracije KPK v vzorcu po SFM z uporabo umeritvene krivulje celuloze. Rezultati so razvidni iz tabel (**Tabela 27, Tabela 28 in Tabela 29**).

Tabela 27: Primerjava metod – ZOO (10 mm)

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
A 600 nm [/]	1,874	1,52	1,271	1,19	/	0,771	0,646	/
KPK (aliquot) [mg/L]	11.799	9.483	7.855	7.325	/	4.585	3.767	/
KPK (SFM) [mg/kg]	59.349	52.920	50.094	52.024	/	46.404	47.326	51.353
KPK (PM) [mg/kg]	54.792	51.741	46.941	49.939	48.065	44.298	44.594	48.624
razlika [mg/kg]	4.557	1.180	3.154	2.086	/	2.106	2.732	2.636
Odstopanje [%]	8,3%	2,3%	6,7%	4,2%	/	4,8%	6,1%	5,4%

* PM - prilagojena metoda

Zaradi večjega odstopanja sem iz primerjave izločil rezultat vzorca 5. Povprečna vrednost KPK izmerjena na podlagi absorbance je bila 51.353 mg/kg. Odstopanje je bilo najnižje pri vzorcu 2, in sicer za 1.180 mg/kg, kar predstavlja 2,3 %. Najvišje odstopanje je bilo pri vzorcu 1, in sicer 4.557 mg/kg, kar predstavlja 8,3 %. Povprečna razlika med metodama je bila 2.636 mg/kg in povprečno odstopanje 5,4 %, med tem ko je bil standardni odklon 4.672 mg/kg.

Tabela 28: Primerjava metod – ZOO (24 mm)

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
A 600 nm [/]	3,866	3,314	2,72	2,635	2,195	1,828	1,411	/
KPK (aliquot) [mg/L]	10.880	9.261	7.520	7.270	5.980	4.904	3.681	/
KPK (SFM) [mg/kg]	54.728	51.682	47.956	51.636	49.669	49.635	46.246	50.222
KPK (PM) [mg/kg]	54.792	51.741	46.941	49.939	48.065	44.298	44.594	48.624
razlika [mg/kg]	-63	-59	1.016	1.697	1.604	5.337	1.652	1.598
Odstopanje [%]	0,1%	0,1%	2,2%	3,4%	3,3%	12,0%	3,7%	3,6%

* PM - prilagojena metoda

Povprečna vrednost KPK izmerjena na podlagi absorbance je bila 50.222 mg/kg. Odstopanje je bilo najnižje pri vzorcu 2, in sicer za -59 mg/kg, kar predstavlja 0,1 %. Najvišje odstopanje je bilo pri vzorcu 6, in sicer 5.337 mg/kg, kar predstavlja 12,0 %. Povprečna razlika med metodama je bila 1.598 mg/kg in povprečno odstopanje 3,6 %, med tem ko je bil standardni odklon 2.770 mg/kg.

Tabela 29: Primerjava metod – ZOO (20 mm)

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
A 600 nm [/]	3,246	2,734	2,256	2,171	1,776	1,388	1,152	/
KPK (aliquot) [mg/L]	11.429	9.468	7.638	7.312	5.799	4.313	3.409	/
KPK (SFM) [mg/kg]	57.492	52.837	48.709	51.931	48.164	43.652	42.826	49.373
KPK (PM) [mg/kg]	54.792	51.741	46.941	49.939	48.065	44.298	44.594	48.624
razlika [mg/kg]	2.700	1.096	1.768	1.992	99	-646	-1.769	749
Odstopanje [%]	4,9%	2,1%	3,8%	4,0%	0,2%	1,5%	4,0%	2,9%

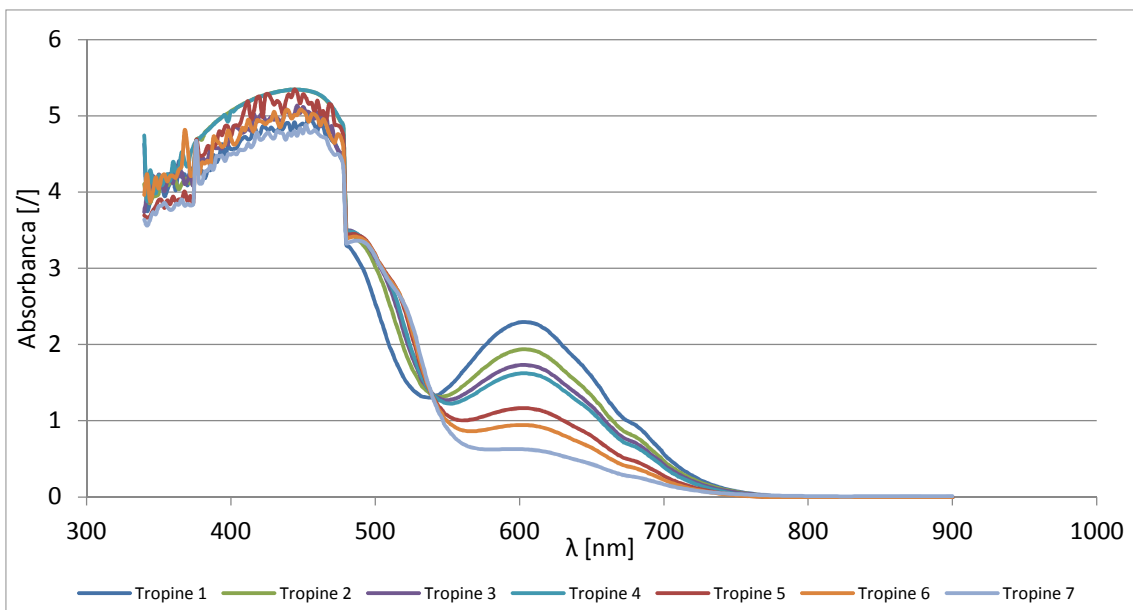
* PM - prilagojena metoda

Povprečna vrednost KPK izmerjena na podlagi absorbance je bila 49.373 mg/kg. Odstopanje je bilo najnižje pri vzorcu 5, in sicer za 99 mg/kg, kar predstavlja 0,2 %. Najvišje odstopanje je bilo pri vzorcu 1, in sicer 2.700 mg/kg, kar predstavlja 4,9 %. Povprečna razlika med metodama je bila 749 mg/kg in povprečno odstopanje 2,9 %, med tem ko je bil standardni odklon 5.196 mg/kg.

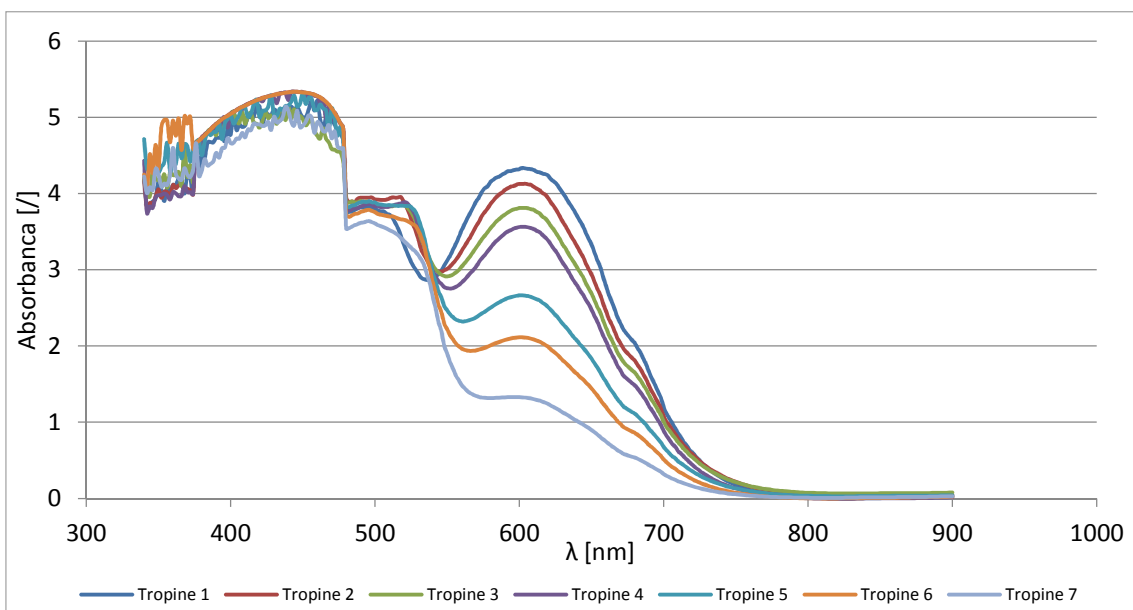
4.6 Vzorec 4: Pivske tropine

4.6.1 Spektrofotometrično določanje

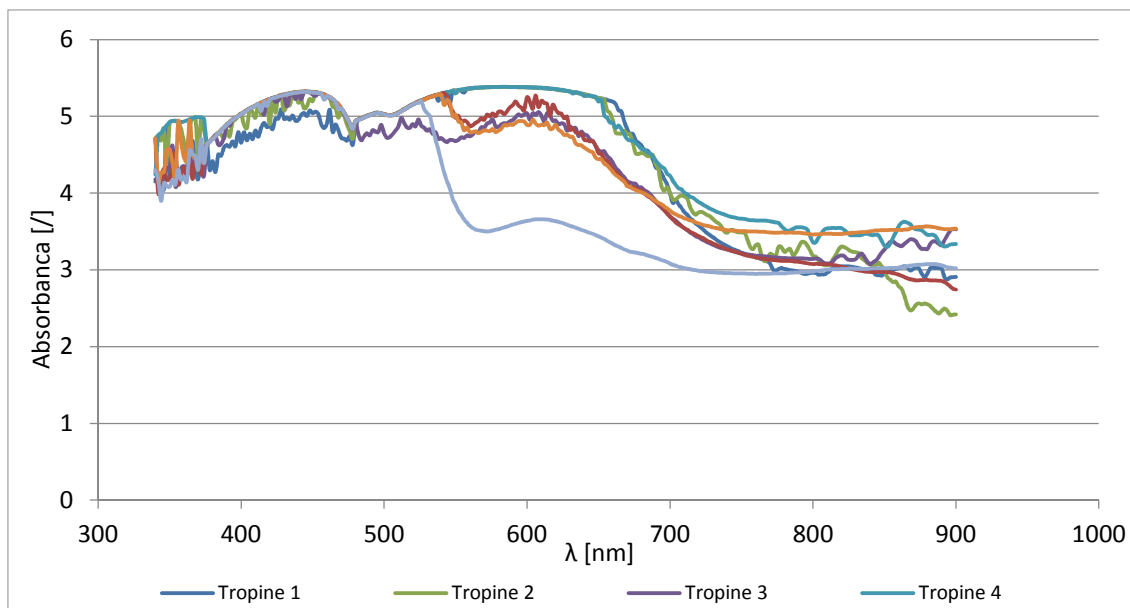
Vrednosti absorbance, ki so prikazane na slikah (**Slika 52, Slika 53 in Slika 54**), so izmerjene na podlagi dejanskih mas vzorca iz tabele (**Tabela 7**). Nepričakovani rezultati so se pojavili pri vzorcih pri dolžini poti 20 mm (**Slika 54**), kar pripisujem težavam z tvorbo kristalnih soli zaradi prisotnosti kloridov in mineralnih snovi. Primerjavo rezultatov teh meritev sem izločil.



Slika 52: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 4 – Pivske tropine (kiveta: l = 10 mm)



Slika 53: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 4 – Pivske tropine (kiveta: l = 24mm)



Slika 54: Odvisnost absorbance od valovne dolžine za vzorec 4 – Pivske tropine (kiveta: l = 20 mm)

Razen že omenjenih vzorcev pri dolžini poti 20 mm (**Slika 54**), so vsi rezultati za drugi dve dolžini poti v skladu s pričakovanji. Vse krivulje med 300 in 900 nm potekajo v skladu s predvidevanjem, prav tako so v skladu s pričakovanji izmerjene vrednosti pri 600 nm. S slik (**Slika 52 in Slika 53**) se vidijo različna koncentracijska območja za vsako posamezno paralelko.

4.6.2 Določanje po prilagojeni metodi (Zupančič in Roš, 2012)

Vrednosti KPK so izmerjene in podane na podlagi dejanskih mas vzorca, ki jih prikazuje tabela (**Tabela 7**).

Tabela 30: Izmerjene koncentracije KPK – pivske tropine

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
masa [mg]	106,46	92,86	77,70	69,48	54,18	38,34	23,34	
V_{FAS} [mL]	2,984	4,538	5,501	5,948	7,803	8,782	10,218	
KPK (aliquot) [mg/L]	14.430	12.025	10.535	9.844	6.973	5.459	3.237	
KPK (vzorec) [mg/kg]	338.861	323.753	338.976	354.192	321.769	355.929	346.673	340.022

Vsi rezultati so v skladu s pričakovanji. V_{FAS} je bil 12,408 mL, zatorej je vrednost c_{FAS} 0,4835 mol/L. V_{slepi} je bil 12,310 mL. Vrednosti KPK so podane v tabeli (**Tabela 30**).

Po izračunu KPK v vzorcih sem na podlagi povprečnih vrednosti KPK_{VZOREC} ugotovil, da se je maksimalno odstopanje pojavilo pri vzorcu 5, in sicer za 5,7 %. Kljub heterogenosti vzorcev in velikim delcem (do 4 mm) rezultati niso pokazali večjih sipanj.

4.6.3 Primerjava SFM s prilagojeno metodo

Za primerjavo obeh metod sem ovrednotil odstopanje koncentracije KPK v vzorcu po prilagojeni metodi od koncentracije KPK v vzorcu po SFM z uporabo umeritvene krivulje celuloze. Rezultati so razvidni iz tabel (Tabela 31 in Tabela 32).

Tabela 31: Primerjava metod – pivske tropine (10 mm)

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
A 600 nm [/]	2,29	1,933	1,73	1,62	1,165	0,945	/	/
KPK (aliquot) [mg/L]	14.519	12.184	10.857	10.137	7.162	5.723	/	/
KPK (SFM) [mg/kg]	340.957	328.032	349.317	364.758	330.451	373.154	/	347.778
KPK (PM) [mg/kg]	338.861	323.753	338.976	354.192	321.769	355.929	346.673	340.022
razlika [mg/kg]	2.096	4.280	10.341	10.566	8.682	17.225	/	8.865
Odstopanje [%]	0,6%	1,3%	3,1%	3,0%	2,7%	4,8%	/	2,6%

* PM - prilagojena metoda

Zaradi večjega odstopanja sem iz primerjave izločil rezultat vzorca 7. Povprečna vrednost KPK izmerjena na podlagi absorbance je bila 347.778 mg/kg. Odstopanje je bilo najnižje pri vzorcu 1, in sicer za 2.096 mg/kg, kar predstavlja 0,6 %. Najvišje odstopanje je bilo pri vzorcu 6, in sicer 17.225 mg/kg, kar predstavlja 4,8 %. Povprečna razlika med metodama je bila 8.865 mg/kg in povprečno odstopanje 2,6 %, med tem ko je bil standardni odklon 18.283 mg/kg.

Tabela 32: Primerjava metod – pivske tropine (24 mm)

	VZ 1	VZ 2	VZ 3	VZ 4	VZ 5	VZ 6	VZ 7	povp.
A 600 nm [/]	/	4,127	3,811	3,561	2,663	2,113	1,329	/
KPK (aliquot) [mg/L]	/	11.645	10.719	9.986	7.352	5.740	3.441	/
KPK (SFM) [mg/kg]	/	313.518	344.875	359.299	339.260	374.261	368.547	349.960
KPK (PM) [mg/kg]	338.861	323.753	338.976	354.192	321.769	355.929	346.673	340.022
razlika [mg/kg]	/	-10.235	5.899	5.107	17.491	18.332	21.874	9.745
Odstopanje [%]	/	3,2%	1,7%	1,4%	5,4%	5,2%	6,3%	3,9%

* PM - prilagojena metoda

Zaradi večjega odstopanja sem iz primerjave izločil rezultat vzorca 1. Napaka je posledica previsokega koncentracijskega območja alikvota (>100 %). Povprečna vrednost KPK izmerjena na podlagi absorbance je bila 349.960 mg/kg. Odstopanje je bilo najnižje pri vzorcu 4, in sicer za 5.107 mg/kg, kar predstavlja 1,4 %. Najvišje odstopanje je bilo pri vzorcu 7, in sicer 21.874 mg/kg, kar predstavlja 6,3 %. Povprečna razlika med metodama je bila 9.745 mg/kg in povprečno odstopanje 3,9 %, med tem ko je bil standardni odklon 22.323 mg/kg.

4.7 Diskusija rezultatov

Ključnega pomena za ustrezno ovrednotenje SFM je, da se analizo po tej metodi izvedaja na istem vzorcu, kot je izvedena analiza po primerjalni metodi po Zupančič in Roš (2012). To je edini način, ki omogoča realno primerjavo med obema metodama in s tem potrdi ali ovreže primernost predlagane SFM za določanje KPK za vzorce z visoko vsebnostjo trdnih delcev.

Pri vzorcu 1 – HSWW so povprečne izmerjene vrednosti KPK po SFM 134.991 ± 1.689 mg/kg ($l=10$ mm), 130.068 ± 5.445 mg/kg ($l=24$ mm) in 136.239 ± 3.431 mg/kg ($l=20$ mm). V primerjavi s primerjalno metodo (134.991 ± 946 mg/kg) odstopanja med posameznimi paralelkami nihajo med 0,7 % in 9,0 %. Povprečna odstopanja pri različnih dolžinah kivet so izredno nizka in sicer 2,6 % ($l=10$ mm), 3,1 % ($l=24$ mm) in 3,5 % ($l=20$ mm). Opazno je, da standardni odklon narašča z daljšanjem optične poti skozi vzorec. Odstopanje je najmanjše pri 10 mm kiveti in največje pri 20 mm kiveti.

Pri vzorcu 2 – AB so povprečne izmerjene vrednosti KPK po SFM 18.503 ± 1.212 mg/kg ($l=10$ mm), 18.271 ± 870 mg/kg ($l=24$ mm) in 17.964 ± 1.657 mg/kg ($l=20$ mm). V primerjavi s primerjalno metodo (17.650 ± 867 mg/kg) odstopanja med posameznimi paralelkami nihajo med 0,8 % in 8,5 %. Povprečna odstopanja pri različnih dolžinah kivet so izredno nizka in sicer 4,8 % ($l=10$ mm), 3,5 % ($l=24$ mm) in 3,0 % ($l=20$ mm). Standardni odklon je najmanjši pri 24 mm kiveti, vendar le do 100 % koncentracijskega območja. Odstopanje je najmanjše pri 20 mm kiveti in največje pri 10 mm kiveti.

Pri vzorcu 3 – ZOO so povprečne izmerjene vrednosti KPK po SFM 51.353 ± 4.672 mg/kg ($l=10$ mm), 50.222 ± 2.770 mg/kg ($l=24$ mm) in 49.373 ± 5.196 mg/kg ($l=20$ mm). V primerjavi s primerjalno metodo (48.624 ± 3.821 mg/kg) odstopanja med posameznimi paralelkami nihajo med 0,1 % in 12,0 %. Povprečna odstopanja pri različnih dolžinah kivet so izredno nizka in sicer 5,4 % ($l=10$ mm), 3,6 % ($l=24$ mm) in 2,9 % ($l=20$ mm). Standardni odklon je najmanjši pri 24 mm kiveti, vendar le do 100 % koncentracijskega območja. Odstopanje je najmanjše pri 20 mm kiveti in največje pri 10 mm kiveti.

Pri vzorcu 4 – Pivske tropine so povprečne izmerjene vrednosti KPK po SFM 347.778 ± 18.283 mg/kg ($l=10$ mm) in 349.960 ± 22.323 mg/kg ($l=24$ mm). V primerjavi s primerjalno metodo (340.022 ± 13.530 mg/kg) odstopanja med posameznimi paralelkami nihajo med 0,6 % in 6,3 %. Povprečna odstopanja pri različnih dolžinah kivet so izredno nizka in sicer 2,6 % ($l=10$ mm) in 3,9 % ($l=24$ mm). Opazno je, da standardni odklon narašča z daljšanjem optične poti skozi vzorec. Prav tako kot standardni odklon z večanjem premera kivete narašča odstopanje.

Opazno je, da so, razen v redkih primerih, odstopanja in standardni odkloni izmerjenih vrednosti KPK nižja pri manjših dolžinah merilne kivete in višja pri večjih dolžinah. Kljub temu ugotavljam, da je ustreznost SFM neodvisna od vrednosti KPK v vzorcu, če se upošteva sledeče:

- koncentracijsko območje alikvota je med 30 % in 170 %
- merilne kivete z večjim premerom ($l > 20$ mm) so neuporabne pri koncentracijskih območjih nad 100%

To pomeni, da je s predlagano metodo možno analizirati tudi najbolj onesnažene odpadne vode in blata.

5 ZAKLJUČEK

V nalogi sem preučil SFM za določanje KPK v močno onesnaženih odpadnih vodah. Testirano metodo sem primerjal s titracijsko metodo po standardu ISO 6060 in prilagojeno po Zupančič in Roš (2012).. Eksperimentalni del, ki je bil v celoti opravljen v laboratoriju, sem podkrepil s teorijo v prvem delu naloge. Metode dela s podrobnim opisom prilagojenih reagentov sem predstavil v drugem delu, medtem ko sem v tretjem delu analiziral pridobljene rezultate. Osredotočil sem se na potrditev treh tez.

1. hipoteza je bila, da je s SFM kljub temnosti vzorca mogoče razločiti absorbance in vzorec primerno ovrednotiti. Na podlagi pridobljenih rezultatov spektrofotometričnih meritev, ki so pokazali jasno razločevanje med posameznimi koncentracijskimi območji, ugotavljam, da je teza v celoti potrjena.

2. hipoteza je bila, da so rezultati pri različnih koncentracijskih območjih linearni in primerljivi s klasično metodo prilagojeno po Zupančič in Roš (2012). Rezultati so pokazali, da večjih odstopanj med primerjanima metodama v koncentracijskih območjih do 100 % ni zaznati. Večje razlike se pojavljajo pri daljših dolžinah optične poti skozi vzorec (20 mm ali več) v koncentracijskih območjih nad 100 %. Umeritvene krivulje za vse tri dolžine so zelo natančne, kar dokazujejo vrednosti R^2 , ki so 0,9994 za 10 mm, 0,993 za 20 mm in 0,9992 za 24 mm (do 100 % koncentracijskega območja). Odstopanje pri 10 mm kiveti niha med 2,6 % do 5,4 %. Pri 24 mm kiveti so odstopanja od 3,1 % do 3,9 % za koncentracijska območja do 100 %, medtem ko so odstopanja pri 20 mm od 2,9 % do 3,5 %. Na podlagi teh rezultatov lahko zaključim, da so rezultati linearni pri različnih koncentracijskih območjih in tako primerljivi z metodo Zupančič in Roš (2012).

3. hipoteza je bila, da je iz postopka mogoče izločiti titrant FAS ter zmanjšati porabo reagentov kalijevega dikromata in žveplove kisline. Z eksperimentom sem ugotovil, da raztopine FAS za določitev vrednosti KPK ne potrebujemo. Prav tako je za štirikrat zmanjšana poraba kalijevega dikromata in žveplove kisline, ki se pri standardni metodi vsakodnevno uporabljata za določevanje koncentracije titranta.

Ob potrditvi vseh treh tez iz ciljev diplomske naloge sem med izvajanjem eksperimentalnega dela ugotovil še druge prednosti SFM, ki prav tako niso zanemarljive:

1. Poleg finančnih prihrankov pri pripravi dragih reagentov je z ekonomskega vidika pomemben prihranek časa. SFM je ob uporabi prenosnega spektrofotometra in ob nadaljnjih raziskavah zelo verjetno aplikativna tudi na terenu, kar bo nedvomno skrajšalo čas med odvzemom vzorca in ovrednotenjem koncentracije KPK v njem.
2. Težavnost v fazi priprave reagentov (razen za FAS) se med obema metodama ne razlikuje. Razlika nastane po termični obdelavi alikvotov, kjer je kvantitativni

prenos v titracijsko posodo pri klasični metodi, prilagojeni po Zupančič in Roš (2012), ključnega pomena. Ker se pri SFM vrednosti KPK določajo na podlagi absorbance, kvantitativni prenos ni potreben za primerno ovrednotenje, zaradi česar je težavnost ovrednotenja manjša.

3. Pri metodah za določevanje KPK so uporabljeni reagenti po analizah neuporabni in se jih zavrže. Zmanjšanje porabe reagentov pri SFM pomeni, da je obremenjevanje okolja manjše.

6 VIRI

Abuzaid N.S., Al-Malack M.H., and El-Mubarak A.H., 1997. Alternative method for determination of the chemical oxygen demand for colloidal polymeric wastewater. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 59: 626-630

Adelman M.H., 1967. Pittsburgh conference on analytical chemistry and applied spectroscopy. Pittsburgh, Pennsylvania

APHA-AWWA-WEF, Standard methods for the examination of water and wastewater. 2005. 21. izdaja. American public health association. Washington DC

Chan Y., Ding H., Zhang Z., Xian Y., Pan Z., and Jin L., 2006. Study on photocatalytic oxidation for determination of the low chemical oxygen demand using a nano-TiO₂-Ce(SO₄)₂ coexisted system. *Talanta*, 68, 3: 610–615

DIN 38414. Schlamm und sedimente (Gruppe S) – Bestimmung des chemischen sauerstoffbedarfs. 1986

Foulds J.M., in Lunsford J.V., 1968. An analysis of the COD method. *Water sewage works*, 115: 112

Hach Lange, Angebote, HT 200S Hochtemperatur-Thermostat.
<http://www.hach-lange.de/view/product/EU-LTV077/HT%20200S?productCode=EU-LTV077> (pregledano 13. novembra 2014)

Ickes J.H., Gray E.A., Zaleiko N.S., in Adelman M.H., 1968. Automotion in analytical chemistry, Technicon symposia, Tarrytown, New York

ISO 6060. Water quality – Determination of the chemical oxygen demand. 1989: str. 3–5

Jirka A.M., in Carter M.J., 1975. Micro semi-automated analysis of surface and wastewaters for chemical oxygen demand. *Analytical Chemistry*, 47, 8: 1397–1402

Kim B.H., Chang I.S., Gil G.C., Park H.S., in Kim H.J., 2003. Novel BOD (biological oxygen demand) sensor using mediator-less microbial fuel cell. *Biotechnology Letters*, 25: 541–545

Li J., Tao T., Li X., Zuo J., Li T., Lu J., Li S., Chen L., Xia C., Liu Y., in Wang Y., 2009. A spectrophotometric method for determination of chemical oxygen demand using home-made reagents. *Desalination*, 239: 139–145

Mackie A. 2012. Case study: Food producer reduces waste costs with muffin monster. *Application Stories, JWCE News, Muffin Monster Grinders*
<http://www.jwce.com/muni/application-stories/case-studyhawaii-food-producer-takes-big-bite-out-of-waste-costs-with-muffin-monster-grinder/> (25. junij 2012)

Molof A.H., and Zaleiko N.S., 1964. Purdue industrial waste conference. Latayette, Indiana

Nakamura H., Kobayashi S., Hirata Y., Suzuki K., Mogi Y. in Karube I., 2007. A spectroscopic biochemical oxygen demand determination method using 2,6-dichlorophenolindophenol as the redox color indicator and the eukaryote *Saccharomyces cerevisiae*. *Analytical Biochemistry*, 369: 168–174

Pisarevsky A.M., Polozova I.P., in Hockridge P.M., 2005. Chemical oxygen demand. *Russian Journal of Applied Chemistry*, 78, 1: 101–107

Raposo F., de la Rubia M.A., Borja R., in Alaiz M., 2008. Assessment of a modified and optimised method for determining chemical oxygen demand of solid substances and solutions with high suspended solid content. *Talanta*, 76: 448–453

Raposo F., de la Rubia M.A., Borja R., Alaiz M., Beltran J., Cavinto C., Clinckspoor M., Demirer G., Diamadopoulos E., Helmreich B., Janicek P., Marti N., Mendez R., Noguero J., Pereira F., Picard S., in Torrijos M., 2009. An interlaboratory study as useful tool for proficiency testing of chemical oxygen demand measurements using solid substrates and liquid samples with high suspended solid content. *Talanta*, 80: 329–337

Trivedi R.K., in Goel P.K., 1984. Chemical and biological methods for water pollution studies. Karad, Environmental Publication: str. 55–57

Yoshida N., McNiven S.J., Morita T., Nakamura H. and Karube I., 2002. A simple, multiple simultaneous spectrophotometric method for BOD determination using DCIP as the redox color indicator. *Analytical Letters*, 35, 9: 1541–1549

Zupančič G.D., in Roš M., 2012. Determination of chemical oxygen demand in substrates from anaerobic treatment of solid organic waste. *Waste Biomass Valor*, 3: 89–98