

# Proovide võtmine ja eeltöötlemine

Analüüsi kõige vastutusrikkam etapp

12.12.2019

1

## Analüüsiülesanne

- Analüüsil võib proovivõtu seisukohast ülesanne olla suures plaanis kaheksugune:
- Määrata analüüdi keskmine sisaldus uuritavas objektis
  - **Mittelokaalne analüüs**
  - Tavalisem
  - Vaatleme eeskätt seda
- Määrata analüüdi sisaldus uuritava objekti mingis piiritletud osas
  - **Lokaalne analüüs**

12.12.2019

2

## Proovi võtmine

Proovide võtmine

- Vaatleme mittelokaalset analüüsi
- Proovi võtmine koosneb kolmest etapist:
  1. Tehakse kindlaks partii või materjali hulk, millest proov võetakse
  2. Summaarse (keskmise) proovi kogumine, mis peab esindama kogu analüüsivat materjali (partiit)
  3. Summaarse proovi vähendamine peenestatud homogeenseks laboratoorseks prooviks (mõnisada grammi)

12.12.2019

3

## Proov, esinduslikkus

Proovide võtmine

- Üldiselt keemiline analüüs teostatakse uuritava materjali väikesest osast – **proovist**
- Samas aga tehakse analüüsi tulemuse põhjal järeldus kogu uuritava materjali kohta
- Seega peab proov olema **esinduslik**
- Laboratoorse proovi suurus on mõnest kuni mõnesaja grammini, olles sageli väga väike osa analüüsivast materjalist
- Proovi esinduslikkuse tagab õige proovi võtmine

12.12.2019

4

## Esinduslik proovivõtt

Proovide võtmine

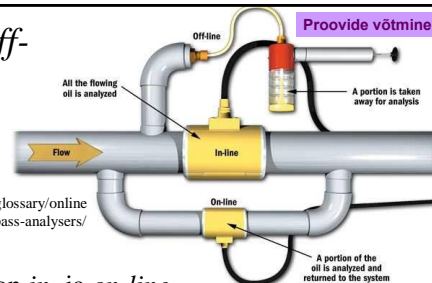
- Üldiselt:
  - Esinduslikkus on esmatähtis, muu (nt proovi suurus) pärast muretseda hiljem.
- Milleks on vaja proovi võtta?
  - Protsessi juhtimine või kvaliteet või legaalne ... (protseduurid võivad olla erinevad).
- Kuidas proovi võtta?
  - Millise sagedusega?
  - Juhuslik, süstemaatiline, stratifitseeritud?
  - Instrument: *in/on/at/off-line*?
- Kas proov on esinduslik?
  - Seda saab (ja tuleb) hinnata.

12.12.2019

Slide composed by Peter Paasch Mortensen (Arla Foods).

5

## In/on/at/off-line



- Eelistatud on *in-* ja *on-line*.
- *At-* ja *off-line* - proov võetakse süsteemist välja.
  - *At-line* - analüüs viiakse läbi tootmisliini juures.
  - *Off-line* - analüüs välises laboris.

12.12.2019

6

## Üldised põhimõtted

Proovide võtmine

1. Kõigil analüüsiobjekti komponentidel peab olema võrdne tõenäosus sattuda proovi koosseisu
2. Kõigil komponentidel, mis ei ole analüüsiobjekti osad, peab proovi hulka sattumise tõenäosus olema **null**
3. Proovi koostis ei tohi peale proovivõttu muutuda

12/12/2019

Slide composed by Peter Paasch Mortensen (Arla Foods).

7

## Keskmise (summaarse) proovi võtmine

Proovide võtmine

- Ebahomogeenne materjal:
  - Keskmine proov peab koosnema **suurest arvust väikestest ainekogustest, mis on võetud uuritava partii erinevatest kohtadest**
- Homogeense materjali korral on keskmise proovi võtmine lihtsam
  - homogeensetest vedelikest proovide võtmisel segatakse need läbi ja seejärel võetakse proov
  - Suurte lahusehulkade puhul, kus segamine pole võimalik, võetakse mitu proovi lahuse eri sügavustel, mis hiljem segatakse kokku

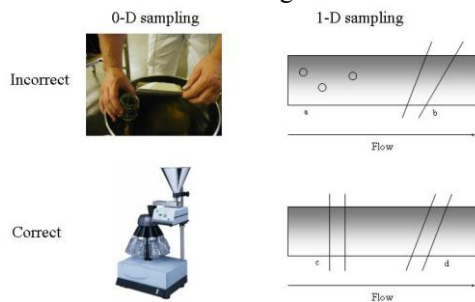
12.12.2019

8

## Korrektne proovivõtt

Proovide võtmine

- Analüüsiobjekti kõik osad peavad sattuma proovi koosseisu sama tõenäosusega



12/12/2019

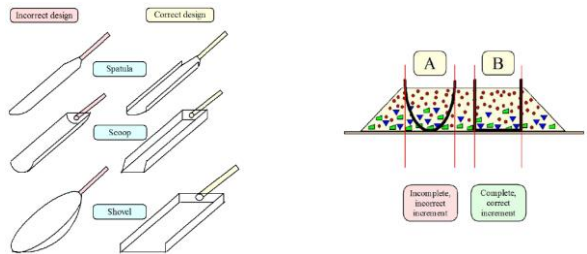
Slide composed by Peter Paasch Mortensen (Arla Foods).

9

## Miks proovid pole vahel esinduslikud?

Proovide võtmine

- Proovivõtuvahendid pole korrektse ehitusega:



12/12/2019

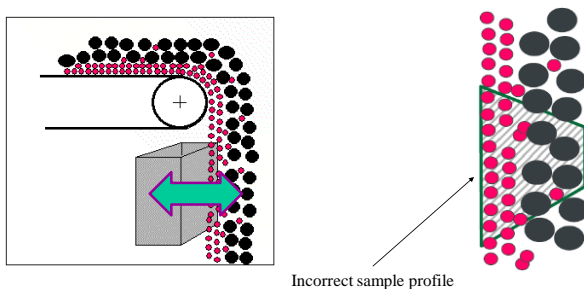
Slide composed by Peter Paasch Mortensen (Arla Foods).

10

## Miks proovid pole vahel esinduslikud?

Proovide võtmine

- Proovi võetakse valesti:



12/12/2019

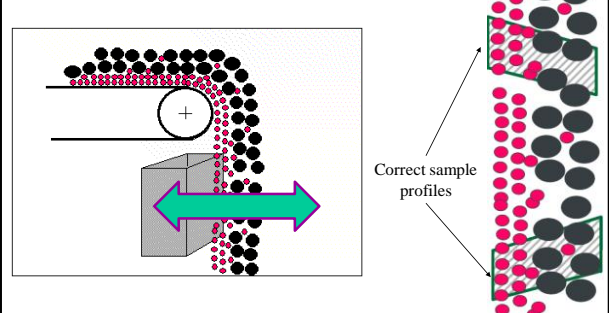
Slide composed by Peter Paasch Mortensen (Arla Foods).

11

## Kuidas õigesti teha?

Proovide võtmine

- Nii on õige:



12/12/2019

Slide composed by Peter Paasch Mortensen (Arla Foods).

12

## Theory of Sampling (TOS) Proovide võtmine

The global estimation error is made up of the total sampling error and the total analytical error

**Total sampling error prior to Laboratory**

- Incorrect sampling errors (ICI)**: ICI: Incorrect Delineation Error is related to the shape of the sampling tool.
- WE**: WE: Incorrect Weighing Error is related to the weighing errors.
- IE**: IE: Incorrect Extraction Error is related to the material extracted by the sampling tool.
- PE**: PE: Incorrect Preparation Error relates to all alterations of the sample after the sample has been taken.

**Total Analytical Error**

- Sample weighing**: repeatability, sample dilution, sample filtration, sample separation (e.g. chromatography)
- Sample dilution**: sample dilution, sample dilution, sample dilution
- Sample filtration**: sample filtration, sample filtration, sample filtration
- Sample separation (e.g. chromatography)**: separation, separation, separation
- Integration**: integration, integration, integration
- Concentration of analyte in sample**: concentration of analyte in sample, concentration of analyte in sample, concentration of analyte in sample

12/12/2019 Slide composed by Peter Paasch Mortensen (Arla Foods). 13

## Dimensionaalsuse muutmine Proovide võtmine

- Kui võimalik, tuleb 0-D, 2-D ja 3-D proovivõtt muuta 1-D proovivõtuks

12/12/2019 Slide composed by Peter Paasch Mortensen (Arla Foods). 14

## Näide: Juustu tootmine Proovide võtmine

- Muudetakse 0-D proovivõtt 1-D proovivõtuks

12/12/2019 Slide composed by Peter Paasch Mortensen (Arla Foods). 15

## Keskmise (summaarse) proovi võtmine Proovide võtmine

- Nn. “primaarne keskmine proov” ei ole veel sobiv vahetuks analüüsiks:
  - Proov on ebaühtlane
  - Proovi kogus on suur
- See proov peenestatakse, et muuta ta ühtlasemaks ning jagatakse, et kogust vähendada.

12/12/2019 16

## Proovide peenestamine ja jagamine Peenestamine, jagamine, säilitamine

- Peenestamiseks** võib kasutada:
  - Veskeid
  - Uhmreid
- Jagamiseks** on parim selline jagaja:
- Tuleb vältida:
  - Proovide saastumist
    - Metallid purustite metalldetailidelt
    - Mineraalid uhmri pindadelt
    - Niiskus
  - Analüütide lendumist
    - Näiteks niiskus
  - Analüütide lagunemist

Pilt: [www.lavallab.com](http://www.lavallab.com)

12.12.2019 17

## Proovide säilitamine Peenestamine, jagamine, säilitamine

- Mida lühemat aega säilitada seda parem
- Peab olema tagatud:
  - Analüüt ei lagune, sadene ega lendu
  - Üldised soovitused:
    - Tihedalt kinni
    - Madal temperatuur
    - Öhu ligipääsu takistamine
    - Valguse juurdepääsu takistamine
    - Mürgitamine (mikroobide tegevuse takistamiseks)
    - Stabiliseerimine (näiteks antioksüdandi lisamine)
  - Proov ei tohi saastuda:
    - Sobiv anuma materjal
    - Tihedalt kinni

12.12.2019 18

## Proovide säilitamise üldisi printsiipe

- **Vedelad proovid**
  - Orgaaniliste proovide oksüdatsiooni, hüdrolyüsi, enstimaatilise ja bakteriaalse muutuse või fotolagunemise vältimiseks tuleb proove hoida kas 4°C juures või külmutada -20°C... -40°C.
  - Lisatakse kemikaale nagu askorbiinhape, EDTA, tsitraate jne.
  - Proove ka **lüofiliseeritakse** (külmutatakse ja eemaldatakse vesi).
- **Proovid vesilahustena**
  - Hoitakse 4°C juures plastikpudelites; lisatakse HCl, HNO<sub>3</sub> või H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> olenevalt, mida määratakse.
  - Tavaliselt soovitatakse teostada vee analüüsid 24 tunni jooksul.
  - Oksüdatsiooni vältimiseks võib lisada askorbiinhapet või Na-tiosulfaati

## Proovide säilitamise üldisi printsiipe

- **Gaasilised proovid**
  - Parim on:
    - otsene määramine kohapeal, kas kaasaskantava instrumendi või keemilise reaktsiooni abil
    - Analüütide adsorptsioon sobivale kandjale
    - Analüütide absorptsioon sobivasse lahusesse
  - Kui see pole võimalik:
    - Kogu õhuproov kogutakse klaas-, metall-, PTFE konteinerisse või plastikkotti ning viiakse laboratooriumi analüüsiks

## Proovi eeltöötlus

Meetod	Vajalik proovi kuju	Kommentaariid
Tiitrimine, potentsiomeetria	Lahus, suspensioon	Võib olla hägune
UV-Vis, AAS, ICP-MS, ICP-AES	Lahus	Ei tohi olla hägune
HPLC, LC-MS	Lahus	HPLC: ei tohi olla hägune (vajadusel filtreeritakse)
XRF	Tahke aine	
AES (elektrikaar, säde)	Tahke aine	
IR spektroskoopia	Lahus, tahke aine	Oleneb analüüsiülesandest

## Proovi eeltöötlus

- Enamasti on vaja proov lahustada
- Proovi eeltöötlemise juures on väga oluline, mis on analüüdiks
- Kaks põhilist olukorda:
  - **Elementide määramine**
    - Analüüdid ei saa laguneda
  - **Orgaaniliste ühendite määramine**
    - Analüüdid saavad laguneda

## Elementide määramine

- Elementid ei saa laguneda
- Seega võib kasutada agressiivseid reaktiive
- **Metallid ja sulamid** lahustatakse enamasti hapetes või nende segudes
- **Orgaaniliste** proovide maatriks lagundatakse:
  - Kuivtuhastamisel
  - Märgetuhastamisel
  - Mikrolainelagundamisel
- **Mineraalid** lahustatakse enamasti sulandamise teel

## Lagundamismeetodi valik

- Elementide analüüsiks peab lagundamismeetod täitma järgmise nõuded:
- Lagundaja peab olema piisavalt agressiivne
- Lagundamisel tekkivad soolad peavad lahustuma
- Määratavad elementid ei tohi lagundamisel lenduda

## Metallide ja sulamite lahusesse viimine

### • HCl

Eeltöötus elementide määramisel

- Lahustab Fe, Al, Zn, Mg jne sulameid
- Kasutatakse erineva kontsentratsiooniga, olenevalt sellest, kui aktiivse metalliga on tegemist
- Eralduv vesinik loob redutseeriva keskkonna, metallid lähevad lahusesse oma madalaimates oksüdatsiooniastmetes
- Eelised:
  - Kättesaadav ja odav
  - suhteliselt ohutu
- Puudused:
  - Paljud metallid ei lahustu
  - mõnede metallide kloriidid on lenduvad (Hg, As, Ge, Sn, ...) ja need metallid võivad lenduda
  - Mõnesid meetodeid (nt ICP-MS) segab suur kloriidide sisaldus

12.12.2019

25

## Metallide ja sulamite lahusesse viimine

### • H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

- Sarnane HCl-ga
- Lahjalt annab redutseeriva keskkonna
- Kontsenteeritult annab oksüdeeriva keskkonna
- Knts. väävelhape keeb kõrgel temperatuuril (340 °C), see aitab lahustumisele kaasa

12.12.2019

26

## Metallide ja sulamite lahusesse viimine

### • H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>

- Eelised:
  - Kättesaadav ja odav
  - suhteliselt ohutu
  - Sulfaatidena metallid enamasti ei lendu
- Puudused:
  - piiratud rakendusega
  - Mõned metallid passiveeruvad: Fe, Al
  - Nii mõnedki sulfaadid lahustuvad halvast: Ca, Sr, Pb

12.12.2019

27

## Metallide ja sulamite lahusesse viimine

### • HNO<sub>3</sub>

- Oksüdeeriv
- Lahustab paljusid metalle, peaaegu kõik nitraadid on lahustuvad
- Üsna odav ja mõõdukalt ohutu
- Mõned metallid annavad sadet (Sn, W, Sb, ...)
- Al ja Cr passiveeruvad

### • Paljude meetodite jaoks “lemmikhape”:

- odav, lahustab paljusid metalle, nitraat on väga hea vastasioon, saadav lahus ei sisalda kloriide

12.12.2019

28

## Metallide ja sulamite lahusesse viimine

### • Kuningvesi

- k. HCl : k. HNO<sub>3</sub> vahekorras 3:1
- Lahustab enamikku metalle ja sulameid
- Segus on oksüdeerija ja kompleksimoodustaja
- Kloriid segab paljusid meetodeid
- Ei lahusta: Pt, Ta, Zr, Hf, Re

12.12.2019

29

## Metallide ja sulamite lahusesse viimine

### • HF ja HNO<sub>3</sub> (või HClO<sub>4</sub>) segu

- Segus on oksüdeerija ja kompleksimoodustaja
- Kõlbab ka enamiku nende metallide jaoks, mis kuningvees ei lahustu
- Sissetulev F võib põhjustada probleeme
- HF ja HClO<sub>4</sub> on ohtlikud

12.12.2019

30

## Orgaaniliste proovide tuhastamine

### • Kuivtuhastamine

- Ahjus 500-800 kraadi juures
- Tekivad soolad, orgaaniline osa “põleb” ära
- Eelised:
  - Lihtne ja ohutu
- Puudused:
  - Lagunemine pole alati täielik
  - Võib esineda mõnede elementide kadu lendumise tõttu (isegi sellised, nagu: Fe, Cu, V, ..., rääkimata sellistest nagu As, B, Ge, Hg, Sb, Sn)

## Orgaaniliste proovide tuhastamine

### • Märktuhastamine

- Happed ja segud:
  - $H_2SO_4$
  - $H_2SO_4$  ja  $HNO_3$
  - $HClO_4$  ja  $HNO_3$
- Tekivad soolad, orgaaniline osa “põleb” ära
- Eelised:
  - Lagunemine enamasti üsna täielik
- Puudused:
  - Mõnevõrra ohtlik
  - Nii mõnedki elemendid lenduvad: As, B, Ge, Hg, Sb, Sn, ...

## Orgaaniliste proovide tuhastamine

### • Mikrolaine-tuhastamine

- Tehakse hapetega suletud teflonnõudes rõhu all
- Väga efektiivne ja kiire
  - Ajakulu tundide asemel minutites
- Samad happed on kasutatavad
- Kahjuks küllalt kallis

## Mineraalide lagundamine

### • Sulandamine

- Mineraal sulandatakse kõrgel temperatuuril mõne ainega
- Sulas soolas toimuvate reaktsioonide tulemusel tekivad lahustuvad saadused
- Lahus, mis tekib, on kõrge soolasisaldusega
- Mõned sulandid:
  - $Na_2CO_3$  (Aluseline, sulab 851 °C, silikaadid, alumosilikaadid, fosfaadid)
  - KOH (Aluseline, sulab 340 °C, silikaadid)
  - $K_2S_2O_7$  (Happeline, sulab 300 °C, metallioksiidid)

## Mineraalide lagundamine

### • Lahustamine HF abil

- Kõlbab hästi silikaatide jaoks
- Väga **ohtlik** ja **mürgine**
- Annab paljude elementidega ülipüsivaid fluoriidkomplekse

## Orgaaniliste analüütide määramine

### • Põhilised meetodid:

- **Vedelik-vedelik ekstraktsioon**
- **Tahke-vedelik ekstraktsioon** (Soxhlet-ekstraktsioon)
- **Tahkefaasiekstraktsioon** (SPE)
- **Destillatsioon**

## Ekstraktsioon

- **Ekstraktsioon** on füüsikalis-keemiline meetod ainete eraldamiseks segudest või lahustest, mis baseerub ainete erineval lahustuvusel mittesegunevates faasides
  - Faas võib olla vedelik või tahke aine

Ekstraktsiooni eesmärgiks võib olla:

- aine viimine sobivasse keskkonda
  - Nt analüüdi kättesaamine proovist
- ainete kontsentreerimine
- segavate ainete kõrvaldamine

## Ekstraheerimise teooriast

Aine A jaotumist kahe faasi (näiteks vesi ja orgaaniline aine) vahel iseloomustatakse

jaotuskoefitsiendiga  $K_d$ :

vesi	A
org.	A

Aine A ekstraheerub veest seda paremini, mida suurem on  $K_d$

$$K_d = \frac{[A]_{org}}{[A]_{vesi}}$$

## Ekstraktsioon: moodused

- **Kust** → **kuhu**
- **Vedelik** → **vedelik**: jaotuslehtiga
- **Tahke** → **vedelik**: Soxhleti ekstraktor
- **Vedelik** → **tahke**: "Tahkefaasiekstraktsioon"

## Jaotuslehtiga ekstraheerimine

- Perioodiline
- Odav
- Jaotuslehtrit ei täideta üle 2/3 ruumalast.
- Loksutamisel hoitakse ühe käega korgi, teisega kraani juurest.
- Iga loksutamise järel lasta kraani kaudu ülerõhk välja (eriti oluline eetri korral).



## Üks või mitu korda?

- Korduv ekstraheerimine väikese kogusega on efektiivsem, kui ühekordne ekstraheerimine suurema kogusega.

Nt. Aine A hulk 100 ml lahuses on 1 ühik ja jaotuskoefitsient on 5, siis ekstraheerimine ...

1 x 100 ml jätab veefaasi 17% ainest

2 x 50 ml – 8%

4 x 25 ml – 4%

## Ekstraheeriva lahusti valik

- Lahusti peab võimalikult hästi lahustama meid huvitavat komponenti (teisi halvasti).
- Lahustite omavaheline lahustuvus olgu võimalikult väike (alla 10%).
- Tihedus võimalikult erinev (soovitavalt suurem) põhilahustist.
- Inertne.
- Ohutu ja odav.



## Kihtide eraldumine

Kihid eralduvad kiiremini, kui

- vedelike tihedused on erinevad.
- jaotuslehtri kork on avatud.
- kopsida sõrmega jaotuslehtri alaosa.
- keerata jaotuslehter horisontaali ja keerutada ("veeretada") aeglaselt ümber telje.
- tsentrifuugida.

12.12.2019

43

## Emulsiooni teke

**Emulsioon** kipub tekkima, kui

- vedelike tihedused on lähedased.
- veekeskond on aluseline.

Emulsiooni lõhkumiseks võib proovida lisada mõnda inertset anorgaanilist soola, nt.  $\text{Na}_2\text{SO}_4$

12.12.2019

44

## Jaotuslehtri tilkumine

Jaotuslehtri tilkumine võib põhjustada olulise analüüsivea, kuna uuritav aine on orgaanilises faasis üsna kontsenteeritud.

Tilkumise vältimiseks:

- lasta välja ülerõhk.
- määrada kraan (NB! määre võib lahustuda ja analüüsi segada!)
- kasutada plastikust jaotuslehtrit.

12.12.2019

45

## Soxhleti ekstraktor

- **Poolpidev ekstraheerimine**

Jahuti

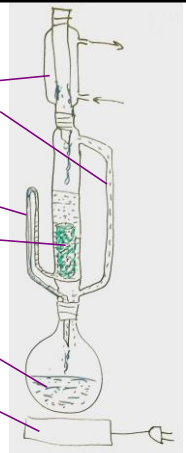
Auru haru

Ülejooksu haru

Proov, paberhülsis

Kolb ekstraktiga

Küttekeha



## Tahkefaasiekstraktsioon - SPE

**SPE** (ingl.: *SPE, solid-phase extraction*) on ekstraktsiooni liik, mis kasutab tahket ja vedelat faasi, et eraldada lahusest mõni komponent (või aineklass).

Protseduur:

1. SPE padrun konditsioneeritakse
2. Uuritav lastakse läbi SPE padruni, analüüt jääb kinni
3. Ebasoovitavad komponendid pestakse padrunist välja lahustiga, mis analüüti välja ei pese
4. Analüüt pestakse välja teise lahustiga, mis peseb ka analüüdi välja

12.12.2019

47

## Destillatsioon

- Eraldamine aurustamise ja järgneva kondenseerimise teel
- Eelised:
  - Võib olla väga selektiivne ja efektiivne
- Puudused:
  - Piiratud rakendusala
  - Võib esineda analüüdi kadu
  - Nõuab osavust
- Näide: KF tiitrimine tahkiste korral:



12.12.2019