ZAJIŠTĚNÍ KONTROLY KVALITY PŘI STANOVENÍ PCB V PIVU POMOCÍ STATISTICKÉ REGULACE SURROGATE STANDARDU

Mgr. TOMÁŠ HORÁK, Ing. JIŘÍ ČULÍK, CSc., Ing. PAVEL ČEJKA, CSc., Ing. VLADIMÍR KELLNER, CSc.,
Pivovarský ústav Praha, VÚPS, a.s.

Klíčová slova: *pivo, statistická regulace, Shewhartovy regulační diagramy, surrogate standard, PCB*

1 ÚVOD

Správná laboratorní praxe klade velký důraz na systém zajišťující kontrolu kvality produkováných výsledků. Analytické metody totiž nepracují vždy tak, aby poskytovaly akceptovatelné výsledky měření. Úkolem zajištění kvality je udržování produkováných

výsledků uvnitř stálých a definovaných mezí, o nichž se domníváme, že jsou i správné. V ideálním případě se výsledky analýz kontrolních vzorků pohybují kolem stálé průměrné hodnoty. Velikost kolísání však bývá časově závislá. Přesnost výsledků stanovení se pak může dostat i mimo žádoucí toleranci

a může se zhoršovat následkem nekontrolovaných zdrojů odchylek. Analytik potřebuje mít k dispozici prostředek, který jej včas upozorní, že se analytický systém dostává mimo žádoucí oblast stability. Takovéto včasné varování je schopno poskytovat statistické řízení kvality [1].

Za otce moderního statistického řízení je považován Walter A. Shewhart, který již v roce 1931 publikoval na toto téma ucelenou práci a první regulační diagramy, určené tehdy pro kontrolu kvality výroby, navrhl již v roce 1924, když pracoval v Bellových laboratořích firmy Western Electric [2].

Statistické řízení kvality našlo hlavní uplatnění především ve výrobních procesech jako významná pomůcka pro řízení výroby. Nicméně ve své podstatě je i měřicí proces, včetně chemické analýzy, jistým druhem produkce. V tomto případě produkce dat, na která jsou kladeny obdobné kvalitativní požadavky jako na výrobek. Nesmírně užitečnou pomůckou ve statistickém řízení kvality jsou regulační diagramy, které umožňují rychlou vizuální kontrolu stavu sledovaného systému.

Obecně jsou regulační diagramy používány pro studium variability opakujících se procesů, v našem případě analytických měření. Jsou to ve své podstatě průběžné diagramy s vloženými kontrolními prvky, které jsou statisticky definovány.

První z kontrolních prvků je *centrální linie*. Za ni je považována střední hodnota výsledků měření, které jsou kolem ní pravidelně rozptýleny. Optimální by bylo, aby tato linie, resp. její číselné vyjádření, byla totožná se skutečným obsahem kontrolního materiálu. Ve skutečnosti tomu tak nikdy není, a proto je hodnota centrální linie odvozována od střední hodnoty řady měření stabilizovaným systémem, o němž se říká, že je ve stavu statistické kontroly. Pro stanovení této hodnoty se obvykle doporučuje provést alespoň 20 opakovaných měření v dostatečně dlouhém časovém období, které je nutné pro postihnutí časové závislosti systému.

Druhým kontrolním prvkem jsou *kontrolní meze*. Ty jsou označovány jako regulační meze a jsou definovány jako $\pm k$ -násobek směrodatné odchylky stanovení. Protože odchylky od centrální linie mohou být jak kladné, tak záporné, jsou i tyto meze nazývány horní a dolní [1,3].

V chemických analytických laboratořích jsou nejrozšířenějším typem regulačních diagramů, určených pro kontrolu správnosti analytické metody, Shewhartovy diagramy. Regulovaným parametrem je hodnota koncentrace příslušného analytu, která je vynášena proti časové ose představující jednotlivá měření. Typ grafu sestavený z jednotlivých výsledků se nazývá regulační diagram pro individuální hodnoty. Druhou variantou je měření kontrolního vzorku v každé sérii opakovaně, nejčastěji ve dvojici. V tomto případě se do grafu vynášejí průměrné hodnoty opakování. Diagram sestavený z průměrů představuje dokonalejší, ale zároveň i náročnější a dražší variantu. Jeho předností je, že použitím průměrů opakování měření stejného kontrolního vzorku se snižuje vliv náhodné chyby a zvyšuje se pravděpodobnost detekce chyb systematických, které zásadním způsobem určují správnost analytického postupu.

Tyto diagramy se často používají ve spojení s diagramy pro klouzavé rozpětí, které jsou určené pro kontrolu přítomnosti náhodných chyb a nejsou ovlivňovány případnou systematickou chybou. Klouzavé rozpětí je absolutní hodnota rozdílu dvojice měření, která jdou po sobě v řadě měření, tj. rozdílu mezi prvním a druhým měřením, potom mezi druhým a třetím měřením atd. [1,3].

Pro statistickou regulaci se využívá měření různých kontrolních vzorků, např.: slepý pokus metody (prověřuje, zda laboratorní prostředí, chemikálie nebo zařízení neobsahují kontaminované látky nebo jiné rušivé látky); fortifikovaná matrice (reálný vzorek se známým přídavkem stanovovaného analytu je analyzován stejným postupem jako reálný vzorek, slouží pro odhalení systematické chyby); laboratorní duplikát (dva podíly téhož vzorku se analyzují odděleně stejným postupem, monitoruje přesnost laboratorního měření, odhalí náhodnou chybu) [4,5].

I když se tyto kontrolní vzorky analyzují s předem definovanou četností, nemohou postihnout náhodnou chybu při přípravě určitého vzorku. Tento problém řeší použití surrogate standardu (český výraz pro tento druh standardu se zatím nepoužívá).

Surrogate standard je doplňkový kontrolní analyt. Jde o organickou sloučeninu, jejíž přítomnost ve vzorku je prakticky nepravděpodobná a která má podobné fyzikálně-chemické vlastnosti jako stanovované analyty. Známé množství této látky se přidává do všech slepých pokusů, kalibračních a kontrolních standardů, do každého vzorku (včetně duplikátů a referenčních vzorků) a to před vlastním analytickým postupem. Vzorky jsou pak analyzovány běžným způsobem. Cílem přídavku tohoto doplňkového analytu je monitorování účinnosti analytické metody u naprosto každého vzorku [6,7].

Stanovení PCB v pivě je poměrně komplikované, skládá se z několika kroků – separace, čištění, zakoncentrování [8]. Tyto operace představují kritická místa celé metody a mohou být zdrojem chyb. Kontrola celého analytického postupu pomocí vhodného surrogate standardu je tedy důležitým prvkem v zajištění jakosti produkovaných výsledků. Pro stanovení PCB v různých typech vod se ukázalo jako nejlepší použít pro surrogate standard tyto dvě sloučeniny: 2,4,5,6-tetrachlor-m-xylen a dekalchlorbifenyl [9].

Cílem práce bylo odzkoušet využití těchto dvou látek pro statistickou regulaci formou Shewhartových regulačních diagramů jako nástrojů kontroly kvality pro stanovení PCB v pivě.

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Použité chemikálie, standardy

n-hexan SupraSolv, diethylether p.a., Extrelut – Merck, SRN
Florisil PR 60 – 100 mesh, bezvodý síran sodný – Fluka, Švýcarsko
ultračistá voda – Milli-RO 5 plus – Millipore, USA

Dusík v kvalitě 4,6 a dusík v kvalitě ECD – MGO, ČR

PCB – Mix 3 obsahující kongenery PCB č. 28, 52, 101, 118, 138, 153, 180. Směs byla jak v isooktanovém, tak v acetonitrilovém roztoku, každý kongener o koncentraci 10 ng/μl – Dr. Ehrenstorfer, SRN
8080 Surrogate Spike Mix obsahující 2,4,5,6-tetrachlor-m-xylen a dekalchlorbifenyl, každá látka v acetonovém roztoku o koncentraci 1 ng/μl – Supelco, USA.

2.2 Podmínky stanovení

Plynový chromatograf: Chrompack CP 9001
Kolona: DB-5, délka 30 m, průměr 0,32 mm, tloušťka filmu 0,25 μm
Průtok nosného plynu (dusík): 1,8 ml/min
Detektor: ECD
Teplota detektoru: 310 °C
Teplota injektoru: 260 °C
Nástřik: splitless po dobu 36 s, pak dělicí poměr 1:20
Teplotní program: 70 °C (prodleva 2 min), 25 °C/min do 200 °C (prodleva 0 min), 2 °C/min do 250 °C (prodleva 0 min), 50 °C/min do 290 °C (prodleva 10 min)
Nástřik: 1 μl

2.3 Pracovní postup

Do přesně odměřeného množství asi 1 l důkladně odpěněného vzorku piva se přidá 20 μl surrogate standardu (2,4,5,6-tetrachlor-m-xylen a dekalchlorbifenyl, každý o koncentraci 1 ng/μl v acetonu) a vzorek se extrahuje 20 ml hexanu po dobu 15 min na laboratorní třepačce při amplitudě kyvu 40 mm a frekvenci 70 – 80 kyvů/min. K oddělení emulze extraktu od analyzovaného piva se použije Hrivňákův nástavec. Rozrušení vzniklé emulze se provede jejím prosátím přes kolonku naplněnou 6 g sorbentu Extrelut, který se předtím aktivuje smočením 9 ml ultračisté vody. Průtok extraktu kolonou s Extrelutem je urychlen připojením vodní vývěvy.

V dalším kroku je nutné získaný hexanový eluát přečistit na kolonce naplněné přibližně 3 g sorbentu Florisil převrstveného asi 0,5 g bezvodého síranu sodného. Těsně před použitím se kolonka promyje asi 5 ml hexanu. Hexanový eluát získaný po průchodu kolonou se sorbentem Extrelut se zahustí při laboratorní teplotě odfoukáním pod dusíkem na objem okolo 1 ml a nanese se na připravenou kolonku se sorbentem Florisil. Eluce se provádí 25 ml roztoku 6 % diethyletheru v hexanu. Přečištěný extrakt se zakoncentruje nejprve na Kuderna-Danishově aparatuře a nakonec pod jemným proudem dusíku na konečný objem 200 μl. Pro analýzu na plynovém chromatografu se použije 1 μl takto přečištěného extraktu.

3 VÝSLEDKY A DISKUSE

U třiceti různých vzorků piv (8 světlých výčepních piv, 13 světlých ležáků, 3 tmavá výčepní piva, 4 tmavé ležáky, 2 nealkoholická piva) byla změřena koncentrace obou surrogate standardů. Z těchto výsledků byly

Obr. 1 Shewhartovy regulační diagramy pro individuální hodnoty koncentrace a klouzavé rozpětí 2,4,5,6-tetrachlor-m-xylynu

Obr. 2 Shewhartovy regulační diagramy pro individuální hodnoty koncentrace a klouzavé rozpětí dekachlorbifenyly

spočítány hodnoty centrální přímky a regulačních mezí pro Shewhartovy regulační diagramy pro individuální hodnoty a klouzavé rozpětí, a to podle těchto vztahů:

Diagram pro individuální hodnoty $\bar{X}$:

centrální přímka = $\bar{X}$

horní regulační mez = $\bar{X} + 3/1,128 \cdot \bar{R}$

dolní regulační mez = $\bar{X} - 3/1,128 \cdot \bar{R}$

Diagram pro klouzavé rozpětí R :

centrální přímka = R

horní regulační mez = $3,267 \cdot \bar{R}$

dolní regulační mez = 0

kde $\bar{X}$ je průměrná koncentrace surrogate standardu, R je průměrné klouzavé rozpětí [3].

Do takto sestavených diagramů byly postupně vynášeny koncentrace surrogate standardů ze vzorků analyzovaných pro účel běžné kontrolní činnosti. Regulační diagramy pro individuální hodnoty a klouzavé rozpětí obou surrogate standardů jsou uvedeny na obr. 1 a 2.

Z průběhu těchto diagramů vyplývá důležitá skutečnost - systém je stabilní a nachází se ve stavu statistické kontroly. Polohy měřených bodů v jejich časovém průběhu totiž splňují kritéria používaná při interpretaci tohoto typu regulačních diagramů: žádný bod se nenachází mimo regulační meze a dále osm po sobě následujících bodů neleží na stejné straně centrální přímky [1].

Chromatografický záznam reálného vzorku piva obohaceného použitými surrogate standardy dokumentuje obr. 3. Je z něj patrná dobrá separace sledovaných analytů nerušená interferujícími látkami.

4 ZÁVĚR

Bylo odzkoušeno úspěšné použití 2,4,5,6-tetrachlor-m-xylynu a dekachlorbifenyly jako surrogate standardů pro stanovení PCB v pivě. Pomocí statistické regulace hodnoty koncentrace těchto látek formou Shewhartových regulačních diagramů lze kontrolo-

vat udržení měřicího procesu ve statisticky zvládnutém stavu, detegovat a eliminovat systematické chyby a ve svém důsledku tak systematicky zajišťovat kvalitu produkovaných výsledků.

LITERATURA

- [1] SUCHÁNEK, M., et al.: Kvalimetrie, 7. Validace analytických metod, Eurachem – ČR, Praha, 1997
- [2] SHEWHART, W. A.: Economic Control of Quality of Manufactured Products, Nostrand, N.Y., 1931
- [3] ČSN ISO 8258, Shewhartovy regulační diagramy, 1994
- [4] SUCHÁNEK, M.: Jakost v analytické laboratoři, Ediční středisko VŠCHT Praha, 1993
- [5] LUŇÁK, J., BAUDYŠ, P.: Statistické výpočty v analytické laboratoři, ČZPI, Hradec Králové, 1995
- [6] Guidelines Establishing Test Procedures for the Analysis of Pollutants. Method 8000, U. S. Environmental Protection Agency, Washington DC, 1984
- [7] Guidelines Establishing Test Procedures for the Analysis of Pollutants. Method 8080, U. S. Environmental Protection Agency, Washington DC, 1986
- [8] HORÁK, T., et al.: Kvasný Prum. 45, 1999, s. 190
- [9] VÁCLAVÍKOVÁ, D.: Optimalizace stanovení PCB v odpadních vodách, Diplomová práce, VŠB, Ostrava, 1996

Obr. 3 Chromatogram reálného vzorku 12 % piva obohaceného směsí surrogate standardů o výsledné koncentraci 20 ng/l piva každé látky.

1 – 2,4,5,6-tetrachlor-m-xylen, 2 – dekachlorbifenylyl

Na základě posteru
na 18. Pivovarsko-sladařských dnech,
říjen 1999, Práhonice
Do redakce došlo 10. 12. 1999