



LEARNING TOXICOLOGY
THROUGH OPEN EDUCATIONAL
RESOURCES

ODBĚR VZORKŮ ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ A ANALYTICKÁ MĚŘENÍ

Camelia DRAGHICI, Ileana MANCIULEA

Transilvania University of Braşov

c.draghici@unitbv.ro, i.manciulea@unitbv.ro



Erasmus+

This work is licensed under a Creative
commons attribution – non commercial 4.0
international license



1. ÚVOD

Tato lekce naváže na postup monitorování životního prostředí a nastíní, jak realizovat realizační fázi (obrázek 1):

- principy odběru a přípravy vzorků pro analýzu životního prostředí (L 2.1);
- principy analytických metod, které lze použít k stanovení znečišťujících látek v životním prostředí, a kvalitativní požadavky na analýzu životního prostředí (L 2.2).



Obrázek 1. Postup monitorování životního prostředí, realizační a hodnotící fáze.

V závěru 2. lekce budou studenti schopni:

- popsat principy dostupných metod odběru a přípravy vzorků životního prostředí;
- vybrat metody odběru a přípravy vzorků, které jsou vhodné pro konkrétní vzorek životního prostředí;
- popsat principy dostupných analytických metod pro oblast analýzy životního prostředí;
- identifikovat a vybrat analytické metody vhodné pro měření znečišťujících látek ze vzorků životního prostředí;
- popsat základní pojmy a použití metrologie v chemii pro účely analýzy životního prostředí.

Existuje několik oblastí, které vyžadují odběr vzorků a analýzy životního prostředí:

1. **rutinní monitorování** – například za účelem měření koncentrace znečišťujících látek v životním prostředí a identifikace krátkodobých a dlouhodobých trendů;
2. **reakce na mimořádné události** – například za účelem zjištění neúmyslného úniku znečišťujících látek do životního prostředí a vyhodnocení rizika a toxicity pro člověka a biotu;

3. **vynucování a dodržování předpisů** – například měření množství znečišťujících látek uvolňovaných do životního prostředí (plynné emise, vypouštěné odpadní vody) za účelem dodržení zákonných požadavků;
4. **vědecký výzkum** – například za účelem studia přepravy a osudu kontaminujících látek a vyhodnocování účinnosti sanačních systémů.

Jak již bylo uvedeno v 1. lekci, vzorek je část systému (životního prostředí), která reprezentuje místo a časový okamžik odběru vzorků. Vzorky jsou komplexní homogenní systémy (roztoky) nebo heterogenní systémy. Jednosložkový vzorek analyzujeme jen zřídka – reálné vzorky ve většině případů představují vícesložkové systémy sestávající ze sloučenin, které jsou přítomné jako hlavní či stopová složka. Vzhledem k složitosti vzorku životního prostředí je zřejmé, proč je charakterizace těchto vzorků uceleným a důkladným procesem, který vyžaduje minimální počáteční znalost místa odběru vzorku a složení.

Je vhodné zmínit určité vymezení pojmů:

- *složka/sloučenina/látka* je část hmoty, která je vymezena určitým elementárním složením a je jí přiřazen chemický vzorec;
- *analyt* představuje sloučeninu, která je předmětem analýzy;
- *analyty* jsou předmětem *stanovení*;
- *vzorky* jsou předmětem *analýzy*.

V tabulce 1 jsou uvedeny některé typické potenciální znečišťující látky, které se liší při monitorování ovzduší, vody a půdy.

Tabulka 1. Typické sloučeniny přítomné v ovzduší, vodě a půdě.

Sloučeniny	Ovzduší	Voda	Půda
anorganické plyny	O ₂ , CO ₂ , CO, SO _x , NO _x , Cl ₂ , H ₂ S, HCl	rozpuštěný kyslík (DO)	
anionty	dusitan, dusičnan, sulfid, chlorid, mravenčan, octan...		
těžké kovy	velmi vzácné	Cu ²⁺ , Pb ²⁺ , Cd ²⁺ , Ni ²⁺ , Hg ²⁺ , Fe ²⁺	
VOC ⁽¹⁾	VOC	vzácné	velmi vzácné
POP ⁽²⁾	PAU ⁽³⁾ , PCB ⁽⁴⁾ , pesticidy, výbušniny		
jiné	pevné částice (PM)	čisticí prostředky	čisticí prostředky, huminové/fulvonové kyseliny

⁽¹⁾ těkavé organické sloučeniny; ⁽²⁾ perzistentní organické znečišťující látky; ⁽³⁾ polyaromatické uhlovodíky; ⁽⁴⁾ polychlorované bifenyly

Tabulka neuvádí regulované monitorovací parametry, ale některé z předpokládaných skupin sloučenin, a to podle kritérií rozmanitosti: skupenství,

charakteru vzorku a původu, složení a hydrofobicity sloučenin. Je vhodné si povšimnout, že možné sloučeniny, které lze nalézt ve vzorcích vody a půdy, jsou velmi podobné – toto je dáno tzv. půdním roztokem, který obsahuje většinu vodorozpuštěných látek rozptýlených v intersticiálních zónách půd.

2. ODBĚR VZORKŮ ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Odběr vzorků je obecný termín zahrnující dvě odlišné skupiny operací:

- *předlaboratorní operace* – spočívající v (i) získání vzorku na místě (tato činnost se obvykle rovněž nazývá „odběr vzorku“), (ii) konzervaci na místě, (iii) dopravě a uložení;
- *laboratorní operace* – spočívající v předúpravě a přípravě pro analýzu; tyto operace zahrnují separaci, čištění, koncentraci a další operace.

2.1. ODBĚR VZORKŮ

V případě sloučenin, které by mohly během dopravy do laboratoře projít významnou přeměnou, je vhodné vzorky analyzovat na místě. Pro tato měření jsou k dispozici odpovídající zařízení založená především na selektivních senzorech a sadách činidel. Ačkoli dostupné vybavení není dostatečně citlivé a přesné pro stopovou analýzu, údaje z měření na místě jsou velmi cenné a jejich cílem je doplnit finální charakterizaci vzorku.

Tabulka 2 představuje sedm kroků životnosti vzorku, od plánování odběru vzorků až po jejich likvidaci, pokud již vzorek není, použitelný, potřebný či relevantní. Tabulka také uvádí výčet některých souvisejících otázek, které je nutné zohlednit v průběhu sedmi fází životnosti vzorku.

Tabulka 2. Sedm kroků životnosti vzorku

7 kroků životnosti vzorku	Související aspekty
1. plánování odběru vzorků	<ul style="list-style-type: none">• kdy odebírat vzorky• jak často odebírat vzorky• jaké vzorky odebírat (ovzduší, voda, půda)• kdo odebere vzorky (opatrování vzorků)
2. identifikace míst odběru vzorků	<ul style="list-style-type: none">• kde odebírat vzorky

3. odběr (získání) vzorků	<ul style="list-style-type: none">• jak odebrat vzorky• kolik vzorků odebrat• jak velký vzorek je zapotřebí
4. doprava vzorků do laboratoře	<ul style="list-style-type: none">• jak konzervovat vzorky• jak dlouho bude vzorek stabilní
5. příprava a analýza vzorků	<ul style="list-style-type: none">• jaká vlastnost bude analyzována (fyzikální, chemická, biologická)
6. transformace vzorků do chemických dat	
7. konec životnosti a likvidace vzorků	

2.1.1. VÝZNAM ODBĚRU VZORKŮ

Odběr vzorků je velmi důležitá činnost – pokud nejsou vzorky řádně odebrány nebo nejsou reprezentativní pro místo a dobu odběru vzorku, potom analytická data získaná z těchto vzorků nebudou spolehlivá a budou odpovídat odlišné situaci.

Odběr vzorků závisí na složitosti a množství vzorků a analytů a dále na laboratorních požadavcích na kvalitu: dostupných standardech pro analytické metody, které se použijí ve fázi měření, vybavení, činidlech a referenčních materiálech nebo specializovaném personálu. Veškeré informace o **historii vzorku** budou užitečné pro optimální volbu analytické metody.

2.1.2. KONZERVACE A UKLÁDÁNÍ VZORKŮ ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

V případě sloučenin, které jsou buď stabilní, nebo je lze během období před úpravou konzervovat, se použije konzervační postup. Konzervované vzorky jsou z místa odběru vzorku dopraveny do laboratoře a uloženy. Tyto fáze a operace se provádějí podle norem (pokud jsou dostupné) a veškeré informace je nutné pečlivě zaznamenat na štítky vzorků a standardní formuláře, které se dále využijí pro formulování finálních výsledků.

Štítky vzorků obsahují tyto informace:

- Jméno osoby provádějící odběr vzorků

- Datum, hodina, lokalita a místo získání vzorku

Vzorky jsou doprovázeny standardním formulářem, který obsahuje tyto informace:

- Záměr a cíle odběru vzorků
- Typ další analýzy
- Typ a stav nádoby pro odběr vzorku
- Postřehy o rozsahu a zdrojích znečištění
- Meteorologické informace
- Podmínky konzervace vzorku

Konzervace a uložení vzorků životního prostředí jsou předlaboratorní fáze, jejichž cílem je předejít fyzikálním a chemickým procesům (tabulka 3), které mohou nastat při přepravě vzorků do laboratoře.

Tabulka 3. Konzervace a ukládání vzorků životního prostředí

Procesy, kterým je nutné zabránit		Konzervace/uložení vzorků
fyzikální	odpařování, difúze, adsorpce, absorpce	<ul style="list-style-type: none">• mražení/chlazení• výběr vhodné nádoby pro uložení
chemické/biochemické	mikrobiální degradace, chemické reakce, fotochemické reakce	<ul style="list-style-type: none">• mražení/chlazení• výběr vhodné nádoby pro uložení• přidání chemických činidel (konzervantů)

Fyzikálním procesům, jako je odpařování, difúze, absorpce či adsorpce, lze předejít chlazením a výběrem vhodných nádob pro odběr vzorků a uložení.

Chemickým a biochemickým procesům a dále mikrobiální degradaci, chemickým či fotochemickým reakcím lze rovněž předcházet chlazením a výběrem vhodných příjemců, a také přidáním chemických činidel (tzv. konzervantů). Činidla použitá jako konzervanty reagují s určitými sloučeninami, které se ve vzorku nacházejí – jedná se o obecně užívaný postup, pokud je chemická reakce úplná a je kvalitativně i kvantitativně kontrolována. Tyto chemické procesy budou zohledněny při výpočtech, které povedou k vyjádření konečného výsledku.

Na obrázku 2 je znázorněno několik vzorků odebraných k analýze životního prostředí, které jsou uloženy v různých nádobách, např. plastových lahvích a sáčcích.



Obrázek 2. Příklady vzorků odebraných k analýze životního prostředí.

Tabulka 4 uvádí příklady konzervace vzorků životního prostředí, použitá činidla a degradační procesy, jimž lze předcházet u určitých organických či anorganických zkoumaných sloučenin. Například:

- Srážení kovů ve formě jejich oxidů nebo hydroxidů se předchází přidáním kyseliny dusičné, která vytvoří rozpustné dusičnany kovů.
- Reakci kyanidu s chlorem se předchází přidáním kyseliny askorbové (vitaminu C).
- Odpařování těkavých organických sloučenin je nutné předcházet úplným naplněním nádoby pro odběr vzorku.
- Fotodegradaci ropných produktů se předchází odběrem vzorků do nádob, které nepropouštějí světlo.

Tabulka 4. Konzervace vzorků životního prostředí

Analyt	Procesy, kterým je nutné zabránit	Konzervace vzorku
kovy	srážení oxidů/hydroxidů	HNO ₃ (pH<2)
NH ₃	odpařování	H ₂ SO ₄ (pH<2)
H ₂ S a sulfidy	odpařování	Octan zinečnatý a NaOH (pH>9)
kyanid	odpařování	NaOH (pH>9)

	chemická reakce s Cl ₂	kyselina askorbová
rozpuštěné organické sloučeniny	chemická reakce s Cl ₂	thiosíran sodný
ftaláty	difuze skrz plasty	skleněné nádoby nebo teflon
VOC*	odpařování	úplné naplnění nádobek
rozpuštěný kyslík	vniknutí kyslíku z ovzduší	úplné naplnění nádobek
PAU**	fotochemická degradace	nádoby z tmavého skla
ropné produkty	adsorpce na plasty	skleněné nádoby

* VOC – těkavé organické sloučeniny; ** PAU – polycyklické aromatické uhlovodíky

2.2. PŘEDÚPRAVA/PŘÍPRAVA VZORKŮ

Předúprava/příprava vzorků je druhou skupinou operací (preanalytická fáze), které se na vzorcích provádějí v laboratoři. Účelem přípravy vzorků je převést vzorky do měřitelné formy.

Příprava vzorku zahrnuje operace zaměřené jak na vzorek, tak na analyt:

- Operace mající vliv na vzorek:
 - Vážení, sušení, prosévání – slouží k homogenizaci vzorku nebo odvádění vlhkosti
 - Změna skupenství vzorku (kapalné) – vhodné pro analytické nástroje
- Operace mající vliv na analyt:
 - Zvýšení/snížení koncentrace analytu (koncentrace/ředění) – závisí na koncentraci analytu ve vzorku
 - Rozpouštění – je založeno z rozpustnosti analytu; rozpouštění je také někdy založeno na chemických reakcích (chemické rozpouštění);
 - Odstranění rušivých sloučenin – separace/čištění analytu z matrice vzorku; provádí se za účelem odlišení analytu od ostatních sloučenin, které se také vyskytují ve vzorku; tyto „nečistoty“ mohou být zdrojem rušivých údajů podobných zkoumanému analytu, a zatížit tak konečný výsledek chybami a nejistotou

- Uvolnění analytu z matrice vzorku – zvýšení odezvy detektoru
- Úprava chemické struktury analytu – chemickou derivatizací, která spočívá v chemické přeměně analytů na novou chemickou sloučeninu, která je vhodná pro měřicí a/nebo detekční systémy

Tabulka 5 uvádí příklady operací přípravy vzorků, které dělí na fyzikální a chemické úpravy a dále na jednoduché a složitější operace.

Tabulka 5. Operace přípravy vzorků.

Fyzikální operace		Chemické operace	
Jednoduchý	Složitý		
<ul style="list-style-type: none">• vážení• sušení• koncentrace• ředění	<ul style="list-style-type: none">• rozpouštění• destilace• filtrace• ad/absorpce• extrakce	<ul style="list-style-type: none">• chemické rozpouštění• srážení• iontová výměna• chelatace• chemická derivatizace	

Separáční metoda použitá při předúpravě vzorku

Většina operací používaných při předúpravě vzorku je založena na separačních procesech a existuje několik způsobů jejich dělení či klasifikace. Námí navrhovaná klasifikace je založena na rovnováze různých skupenství:

- *Rovnováha plyn-kapalina*: absorpce, extrakce, destilace
- *Rovnováha plyn-pevná látka*: adsorpce, extrakce
- *Rovnováha kapalina-kapalina*: techniky extrakce kapalina-kapalina
- *Rovnováha kapalina-pevná látka*: filtrace, odstředování, ad/absorpce, extrakce na pevnou fázi (mikroextrakce na pevnou fázi, extrakce rozpouštědlem, Soxhletova extrakce, extrakce sonikací, extrakce mikrovlnami)

Všechny tyto procesy přispívají k separaci určitých konkrétních analytů od zbytku matrice. Separáční operace se v současné době vyvíjejí, pokud jde o metodu (princip) a techniku (zařízení), protože si analytici uvědomují důležitost odběru vzorků (včetně fáze předúpravy) pro měření a zpracování dat. Pouze vyhovující předupravený vzorek může zajistit omezenou nejistotu konečného výsledku.

Ze všech možných znečišťujících látek uvedených v tabulce 1 se budeme dále věnovat dvěma hlavním třídám znečišťujících látek, které se považují za zajímavé z hlediska monitorování životního prostředí, a uvedeme příklady typických postupů předúpravy:

1. Kationty těžkých kovů, z třídy anorganických znečišťujících látek
2. Organické sloučeniny, rozdělené podle konkrétních vlastností (VOC, POP), konkrétního složení (PAU, PCB) nebo konkrétního použití (pesticidy, čisticí prostředky)

2.2.1. PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO ANALÝZU TĚŽKÝCH KOVŮ

Odběr vzorků pro analýzu těžkých kovů vychází z velmi jednoduchého principu: převést kationty do *rozpustné, stabilní a měřitelné formy*:

- a. buď jako jednoatomové kationty (Cu^{2+} , Fe^{2+} atd.);
- b. nebo jako (anorganické nebo organické) sloučeniny kovů, kde jsou atomy kovů vázány na jinou skupinu atomů a tvoří odlišnou měřitelnou chemickou látku – ionty nebo neutrální molekuly.

Techniky předúpravy používané u kapalných vzorků

K solubilizaci těžkých kovů se používá *iontová výměna, srážení nebo chelatace*, které přemění zkoumanou sloučeninu do extrahovatelné formy, a poté následuje její extrakce. Jakmile se získá rozpustná a extrahovatelná forma těžkých kovů, jejich roztoky jsou připraveny pro chemickou analýzu.

Extrakční techniky, které se používají k přípravě těžkých kovů pro analýzu z kapalných vzorků, zahrnují například:

- **Extrakce kapalina-kapalina (LLE)** – rozpouštědly různé polarity
- **Extrakce na pevnou fázi (SPE)** – spočívá v retenci/adsorpci na vhodném sorbentu, po níž následuje desorpce vhodným organickým rozpouštědlem nebo anorganickým rozpouštědlem, jako je například voda.

Techniky předúpravy používané u pevných vzorků

Předúprava vzorků pro analýzu těžkých kovů z pevných vzorků se provádí jednoduchým rozpuštěním ve vodě (studené nebo teplé), mineralizací nebo digescí. **Mineralizace** spočívá v přeměně anorganických a organických látek na jednoduché anorganické (minerální) sloučeniny.

Pro přípravu vzorků k analýze těžkých kovů jsou dostupné následující metody **digesce**:

- Digesce kyselinami – silnými kyselinami nebo silnými směsmi kyselin se silným oxidantem (HCl, HF, HNO_3 , lučavka královská, H_2SO_4 s H_2O_2);

- Digesce zásadami – NaOH nebo KOH, zejména mají-li zkoumané těžké kovy amfoterní charakter (Cr, Mn)
- Dezagregace tavením s fondány (NaOH nebo $K_2S_2O_8$) a následným rozpuštěním získaných sloučenin
- Kalcinace při vysoké teplotě – následuje rozpuštění sloučenin vzniklých v kalcinačním popelu, za výše uvedených kyselých nebo zásaditých podmínek
- Digesce při vysokém tlaku – v digesčních nádobách
- Mikrovlnná digesce – spojuje působení tlaku a teploty

2.2.2. PŘÍPRAVA VZORKŮ PRO ANALÝZU ORGANICKÝCH ZNEČIŠŤUJÍCÍCH LÁTEK

Předúprava vzorků pro analýzu organických sloučenin je založena na podobném principu jako v případě analýzy těžkých kovů: extrahovat organickou sloučeninu z matrice vzorku v rozpustné a stabilní formě. Tato přípravná fáze závisí na skupenství matrice vzorku: pevné nebo kapalné.

Vzhledem k složitější struktuře organických sloučenin (ve srovnání s anorganickými) jsou extrakční techniky, které se používají ve fázi předúpravy, založeny na různých fyzikálních vlastnostech analytů: fázových přechodech; absorpčních vlastnostech; rozpustnosti v polárních nebo nepolárních rozpouštědlech.

Extrakce organických znečišťujících látek z kapalných vzorků

Těkavé organické sloučeniny (VOC) se separují statickou headspace extrakcí (extrakce v nasycených parách) nebo Purge and Trap extrakcí (odpařování a následná kondenzace). Částečně těkavé organické sloučeniny (SVOC) a netěkavé organické sloučeniny (NVOC) jsou rozděleny do dvou fází: cílem první fáze je získání homogenní kapaliny, po němž následuje extrakce.

K separaci znečišťujících látek SVOC a NVOC z kapalných vzorků se používá:

1. Extrakce kapalina-kapalina (LLE)
2. Extrakce na pevnou fázi (SPE) a mikroextrakce na pevnou fázi (SPME)

Extrakce organických znečišťujících látek z pevných vzorků

K extrakci částečně těkavých a netěkavých organických sloučenin z pevných vzorků jsou častěji použitelné tyto techniky:

- Soxhletova (automatická) extrakce
- Zrychlená extrakce rozpouštědlem (ASE)
- Ultrazvuková extrakce rozpouštědlem (USE)
- Vysokotlaká extrakce rozpouštědlem (PSE)
- Extrakce podporovaná mikrovlnným ohřevem (MAE)

Jako konkrétní použití jsme uvedli příklady technik pro extrakci pesticidů z kapalných nebo pevných vzorků. V tabulce 6 jsou uvedeny extrakční techniky s odpovídajícím použitím v závislosti na skupenství sloučenin, respektive vzorku. Zajímavé mohou být také určité informace týkající se nákladů nebo technické informace (například doba extrakce).

Tabulka 6. Příklady extrakce pesticidů z kapalných a pevných vzorků životního prostředí.

Technika extrakce	Aplikace	Náklady	Doba extrakce
LLE	Sloučeniny VOC, SVOC, NVOC v kapalných vzorcích	nízké	1 h
SPE		střední	30 min
SPME		nízké	30 min
Soxhlet	Sloučeniny SVOC, NVOC v pevných vzorcích	nízké	12–48 h
USE		střední	15–30 min
MAE		střední	15 min
ASE (PSE)		vysoké	20–30 min

Analytik zvolí nejvhodnější operace předúpravy na základě složitosti vzorku – pokud nejsou předmětem standardizace – s ohledem na různá výběrová kritéria vycházející z výkonových charakteristik: selektivita; specifičnost; preciznost a přesnost; reprodukovatelnost; výtěžnost.

Konkrétní informace týkající se odběru a předúpravy vzorků ovzduší, vody a půdy budou prezentovány v tématu 6.4.

3. ANALÝZA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Většina analýz životního prostředí je upravena normami, které podléhají průběžným revizím, a to v závislosti na aktuálním vývoji analytických metod

a zařízení. Vzorek navíc někdy může být složitější než dostupná norma. Následující odstavce se proto snaží představit *základní principy analytických metod, a nikoli evropské či jiné mezinárodní normy v oblasti životního prostředí*. Domníváme se, že pochopení principů analytických metod a technik přispěje k jejich správnému využívání, k propojení všech dostupných informací.

Analytická chemie je věda, která studuje a využívá metody a nástroje vyvinuté k separaci, identifikaci a kvantifikaci složení hmoty/vzorku.

Chemická analýza představuje souhrn operací prováděných na místě a v laboratoři s cílem poskytnout kvalitativní a kvantitativní informace o složení komplexního vzorku. Chemická analýza vzorku spočívá v jeho charakterizaci z hlediska chemického složení, a v zásadě vychází z měřitelné vlastnosti rozpuštěné látky (analytu), někdy roztoku (vzorku).

3.1. PRINCIPY ANALYTICKÝCH METOD

Principy analytických metod jsou založeny na měřitelné vlastnosti (P) analytu (A): hmotnostní, objemové, tepelné, elektrické nebo optické vlastnosti.

Vývoj **analytických metod** z hlediska mechanismů či zařízení umožnil vytvoření nových **analytických technik** téže metody, což znamená, že daná analytická technika je definována stejnou měřitelnou vlastností. Analytické techniky patří do stejné metody a mají stejný princip, ale byly vytvořeny na základě různých měřicích mechanismů.

Stanovení chemického složení vzorku vyžaduje získání dvou druhů údajů: *kvalitativní údaje* (kvalitativní analýza či identifikace); *kvantitativní údaje* (kvantitativní analýza či kvantifikace). Kvantitativní analýza znamená najít *měřitelnou vlastnost (P)*, kterou lze vztáhnout jako funkci *koncentrace analytu (C_A)*, na základě fyzikálně-chemických zákonů: $P=f(C_A)$. Bez správné a úplné kvalitativní charakterizace vzorku nelze stanovit žádné spolehlivé kvantitativní údaje.

3.2. KLASIFIKACE ANALYTICKÝCH METOD V OBLASTI ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Analytické metody lze rozdělit do dvou kategorií:

- **Klasické analytické metody** – rovněž nazývané jako mokré chemické metody
- **Moderní či instrumentální analytické metody**; analyty jsou v průběhu měření předmětem fyzikální přeměny, jedná se tudíž o nedestruktivní metody; tyto metody využívají kalibrační křivky kvantitativních stanovení získané u standardních roztoků $P = f(CA)$.

Chemické metody (klasické) byly vyvinuty jako první, jsou závislé na vývoji technologií v čase a jsou založeny na chemických reakcích, k nimž dochází mezi analytem a konkrétními činidly, a jedná se proto o destruktivní metody. Instrumentální analytické metody byly vyvinuty později, na základě fyzikální transformace analytu, a jsou proto nedestruktivní.

Někdy je nezbytná kombinace fyzikální i chemické přeměny, a tyto metody se tedy nazývají fyzikálně-chemické metody. Obvykle nejprve proběhne chemická předúprava analytu (např. derivatizace) a následuje přeměna fyzikální vlastnosti.

V tabulce 7 jsou uvedeny hlavní analytické metody a související techniky, spolu s informacemi o měřené vlastnosti, přičemž nejčastěji používané z těchto metod budou představeny podrobněji: gravimetrické, titrimetrické, spektrometrické a chromatografické techniky.

Tabulka 7. Metody a techniky používané při analýze životního prostředí.

Metody	Techniky	Měřená vlastnost
Gravimetrické ⁽¹⁾ , ⁽²⁾	<ul style="list-style-type: none"> • elektrogravimetrie • termogravimetrie 	hmotnost čistého analytu nebo směsi
Titrimetrické ⁽¹⁾ , ⁽²⁾	<ul style="list-style-type: none"> • acidobazická • redoxní • srážecí • komplexotvorná 	objem roztoku standardního činidla, které reaguje s analytem
Elektrochemické metody ⁽³⁾ , ⁽⁴⁾	<ul style="list-style-type: none"> • voltametrie • potenciometrie • konduktometrie 	elektrické vlastnosti roztoků analytů: potenciál, elektromotorické napětí, vodivost
Spektrometrie ⁽³⁾ , ⁽⁴⁾	<ul style="list-style-type: none"> • atomová/molekulární spektrometrie • absorpční/emisní spektrometrie 	vlnová délka a intenzita elektromagnetického záření emitovaného nebo absorbovaného analytem

Chromatografie (3), (4)	<ul style="list-style-type: none">• plynová chromatografie• kapalinová chromatografie	rozdělování analytu mezi dvěma nemísitelnými fázemi (mobilní a stacionární fázi)
----------------------------	--	--

(1) – kvantitativní analýza; (2) – koncentrace znečišťujících látek na významné, méně významné, někdy stopové úrovni; (3) – kvalitativní a kvantitativní analýza; (4) – významné, méně významné nebo stopové úrovni.

3.2.1. MOKRÉ CHEMICKÉ METODY A POUŽITÍ PŘI ANALÝZE ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Gravimetrie je klasická chemická metoda, jejíž *princip* je založen na měření hmotnosti samotného analytu nebo, ve většině případů, hmotnosti produktu získaného v průběhu chemické reakce.

Tato metoda se používá v případě vzorků životního prostředí ke stanovení obsahu vlhkosti, pevných látek, olejů a tuků.

Další klasickou chemickou metodou je titrace, jejíž *princip* je založen na reakci mezi analytem a konkrétním činidlem (acidobazickým, redoxním, srážecím nebo komplexotvorným činidlem), měření objemu standardních roztoků sloučeniny podílející se na titrační reakci.

Titrační metody se používají k analýze životního prostředí, například:

- Acidobazická titrace ke stanovení kyselosti, zásaditosti
- Redoxní titrace ke stanovení reziduálního chloru a sulfidů
- Srážení titrace ke stanovení chloridů
- Komplexotvorná titrace ke stanovení kyanidu

3.2.2. SPEKTROMETRICKÉ TECHNIKY A POUŽITÍ PŘI ANALÝZE ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Tabulka 7 uvádí některé spektrometrické techniky s informacemi o principu dané metody a příklady použití při analýze životního prostředí. Spektrometrické techniky mohou být adsorpční nebo emisní a slouží k atomovému nebo molekulárnímu stanovení. Tato široká škála principů umožňuje použití spektrometrických technik ke stanovení velkého množství znečišťujících látek ve vzorcích životního prostředí. Například atomová absorpční spektrometrie se používá k určení těžkých kovů při stopové analýze, přičemž molekulární

adsorpční spektrometrie umožňuje stanovení anorganických a nenasycených organických sloučeniny (tabulka 8).

3.2.3. CHROMATOGRAFICKÉ TECHNIKY A POUŽITÍ PŘI ANALÝZE ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Další skupinou analytických metod používaných při analýze životního prostředí je chromatografie, která dokáže poskytovat komplexní informace: *separační, kvalitativní, kvantitativní a také strukturní*. Principem chromatografie je diferencované rozdělení analytů do dvou nemísitelných fází, mobilní fáze (plyn nebo kapalina) a stacionární fáze (kapalina nebo pevná látka).

Tabulka 8. Spektrometrické techniky a jejich použití při analýze životního prostředí

Technika	Zkratka	Princip	Aplikace
Atomová emisní spektrometrie	AES ICP-AES	atomová emise v oblouku, v plameni atomová emise v plazmě	kovy a nekovy (stopy)
Fluorescenční atomová spektrometrie		fluorescenční atomová emise	Hg, hydridy nekovů (stopy)
Fluorimetrie		molekulární emise	PAU
Atomová absorpční spektrometrie	AAS	atomová absorpce	kovy a nekovy (stopy)
Ultrafialovo-viditelná spektrometrie	UV-VIS	molekulární absorpce	anorganické látky a nenasycené organické sloučeniny
Infračervená spektrometrie	IR	molekulární absorpce	plyny, roztoky nebo pevné látky – anorganické nebo organické sloučeniny
Hmotnostní spektrometrie	MS	molekulární ionizace a fragmentace	identifikace a strukturní analýza organických sloučenin

Plynová chromatografie, kapalinová chromatografie a iontová chromatografie našly uplatnění při separaci a kvalitativním a kvantitativním stanovení znečišťujících látek ze vzorků životního prostředí (tabulka 9). Například plynová chromatografie se používá k analýze plyných znečišťujících látek, těkavých či částečně těkavých organických sloučenin.

Tabulka 9. Chromatografické techniky a jejich použití při analýze životního prostředí

Chromatografická technika	Aplikace
Plynová chromatografie (GC)	plyny, VOC, SVOC
Kapalinová chromatografie (LC)	SVOC, NVOC (pesticidy, PAU, PCB)
Iontová chromatografie (IC)	druhy iontů a polární molekuly

Chromatografické techniky jsou vhodné párové techniky ve spojení s hmotnostní spektrometrií (MS), která hraje důležitou roli při identifikaci (strukturních informací) organických sloučenin:

- GC-MS; GC-MS-MS;
- LC-MS; LC-MS-MS.

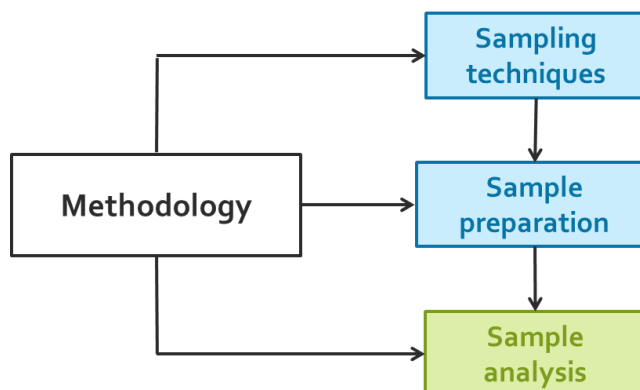
3.2.4. FÁZE PŘI MĚŘENÍ V OBLASTI ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ VYŽADUJÍCÍ METODOLOGII

Pro analýzu životního prostředí jsou obvykle k dispozici standardizované metody odběru, přípravy a analýzy vzorků, avšak někdy může být vzorek složitější nebo nevhodný pro jeden konkrétní standard. U všech těchto operací proto probíhá vývoj metod (obrázek 3).

Analytické metody prošly dlouhodobým vývojem, který byl realizován chemickými analytiky v rámci specializovaného výzkumu odborných laboratoří. Vzhledem k významu odběru a přípravy vzorků pro celkovou nejistotu konečného výsledku byly později rovněž vyvinuty nové metody a techniky vztahující se k těmto analytickým fázím.

Pokud není dostupný žádný standard nebo dostupný standard nelze v určité laboratoři použít, analytik zvolí nejvhodnější metody a techniky pro přípravu a analýzu vzorku. Volba těchto technik by měla zohledňovat různá hodnotící

kritéria: v závislosti na vzorku; v závislosti na výkonu a validaci metod;
v závislosti na analytické laboratoři.

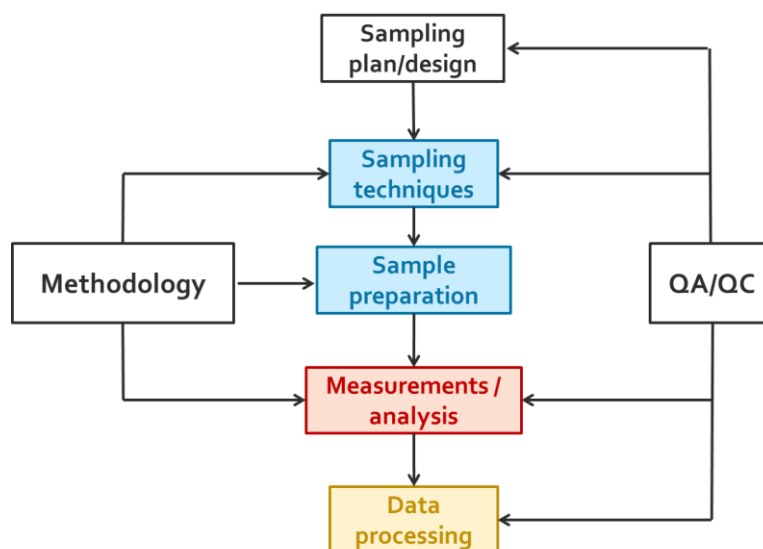


Obrázek 3. Fáze analytického procesu, které vyžadují vývoj metod.

3.3. KVALITATIVNÍ POŽADAVKY NA MĚŘENÍ V OBLASTI ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

Pokud jde o realizační fáze postupu monitorování, obrázek 4 znázorňuje celý analytický proces, který je předmětem zajištění kvality a kontroly kvality (QA/QC).

Moderní společnost je založena na měření. 40 % směrnic EU se odvolává na měření v oblasti technologií, obchodu, předpisů, což potvrzuje toto tvrzení. Moderní společnost vyžaduje kvalitu výsledků chemických měření, a to takovým způsobem, aby byly přístupné všude. Existují dva způsoby, jak zajistit kvalitu chemických měření: (1) používání akreditace a systémů řízení kvality (ISO/IEC 17025, 1999); (2) uplatňování zásad metrologie na chemická měření (metrologie v chemii – MiC). Obor MiC byl vytvořen na základě potřeby porovnávat a mít jednotný systém vykazování výsledků.



Obrázek 4. Analytický proces vyžadující zajištění kvality a kontrolu kvality.

Za účelem zajištění kvality výsledků chemických měření byla v roce 1999 uvedena akreditační norma ISO/IEC 17025 (poslední verze je z roku 2017), která je navržena jako vodítko pro všeobecné požadavky na způsobilost k provádění zkoušek a/nebo kalibrací, včetně odběru vzorků, se standardními metodami, nestandardními metodami, nebo dokonce metodami vyvinutými v laboratoři. Norma ISO/IEC 17025 vychází z těchto cílů:

- poskytnout základ pro použití akreditačními orgány při posuzování způsobilosti laboratoří;
- stanovit obecné požadavky na prokazování způsobilosti laboratoří k provádění konkrétních zkoušek a kalibrací;
- napomáhat při rozvoji a zavádění systému kvality laboratoře.

Akreditace umožňuje laboratoři prokázat, že výsledky jsou obhajitelné podle uznávané normy a nezmění se, pokud se změní laboratorní personál nebo okolnosti. Norma ISO/IEC 17025 se použije pro jakoukoli organizaci, která provádí zkoušky a/nebo kalibrace. Tuto normu používají: (i) akreditované laboratoře a laboratoře, u nichž probíhá proces akreditace; (ii) akreditační orgány; (iii) regulační orgány.

Laboratoř, která chce dosáhnout akreditace, musí poskytnout informace týkající se původu metod (standardní nebo nestandardní), srovnání se standardními metodami, které nahrazují (pokud existují), a dále validace postupu dat.

3.4. METROLOGIE V CHEMII

Metrologie v chemii předpokládá, že chemická analýza je založena na odběru vzorků a měření, přičemž obě tyto fáze přispívají k nejistotě měření. Metrologické principy jsou důležité pro všechny analytiku, kteří se zabývají chemickým měřením – nejvýznamnějším tématem z hlediska MiC se týkají *validace metod a odhadování nejistoty* a budou prezentována dále v této lekci:

- zajištění *zpětné vysledovatelnosti* výsledků měření,
- použití *validovaných metod* analýzy,
- odhad *nejistoty výsledků měření*,
- použití *certifikovaných referenčních materiálů* (CRM) a
- účast v programech *zkoušení způsobilosti* (PT) a *mezilaboratorním porovnávání* (ILC).

EURACHEM je síť organizací v Evropě, která si klade za cíl vytvořit systém pro mezinárodní zpětnou vysledovatelnost chemických měření a šíření osvědčených postupů. Síť EURACHEM publikovala řadu příruček týkajících se problematiky kvality a akreditace v analytickém měření, a to pro všechna výše uvedená témata (a–e). Všechny příručky jsou k dispozici na webových stránkách EURACHEM.

3.4.1. VALIDACE METOD

Podle Příručky EURACHEM (2014) se validací metod rozumí proces definování analytického požadavku a dále potvrzení, že uvažovaná metoda je výkonnostně způsobilá v souladu s tím, co toto použití vyžaduje. Předpokládá se také, že validace poskytne – prostřednictvím zkoušení a poskytnutí objektivních důkazů – potvrzení, že jsou splněny konkrétní požadavky stanoveného zamýšleného použití neboli **vhodnosti pro účel**. Metodu je nutné validovat vždy, když dojde ke změně analytického procesu, přičemž laboratoř musí prokázat, že výkonové parametry jsou dostatečné pro její použití pro určitý analytický problém, což znamená:

- byla vyvinuta nová metoda;
- byla přepracována stávající metoda;
- metoda se mění v čase;
- metoda se používá v jiné laboratoři, s jinými analytiky nebo jinými přístroji;
- metoda je rovnocenná s jinou, například standardní metodou.

Při validaci metody je nutné povinně prokázat následující kritéria výkonnosti metody: specifická/selektivita, přesnost, pravdivost, linearita a rozsah linearity, mez detekce (LOD), mez stanovitelnosti (LOQ) a odolnost/robustnost. Jak je

uvedeno v tabulce 10, u jednotlivých validačních postupů nejsou vyžadovány všechny parametry výkonnosti metody. Jsou závislé na analytickém účelu: zkoušky identifikace; zkoušky nečistoty; chemické analytické zkoušky.

Tabulka 10. Kritéria výkonnosti metody v závislosti na analytickém účelu.

Parametr výkonnosti metody	Zkouška identifikace	Zkouška nečistoty		Chemická analytická zkouška
		Limitní zkouška nečistoty	Kvantitativní zkouška nečistoty	
selektivita a specifičnost	+	+	+	+
pravdivost	-	-*	+	+
přesnost	-*	-	+	+
linearita a lineární rozsah	-*	-	+	+
mez detekce (LOD)	-*	+	-	-
mez stanovitelnosti (LOQ)	-*	-	+	-
robustnost	+	+	+	+

* lze provést

Selektivita a specifičnost jsou měřítka, která posuzují spolehlivost měření za přítomnosti rušení. Metoda je selektivní, pokud poskytuje odpovědi pro určitou skupinu chemických látek či analytů, které lze navzájem rozlišit, přičemž tato metoda je specifická, pokud poskytuje odpověď pouze pro jediný analyt.

Přesnost udává míru rozložení dat a je studována jako dvě složky: *preciznost a pravdivost*.

Pravdivost metody je měřítkem toho, jak blízko je průměr množiny výsledků (generovaných danou metodou) ke skutečné hodnotě. Vzhledem k tomu, že skutečná hodnota vždy není známa, je nahrazena referenční hodnotou a odhadnuta podle průměrné hodnoty. Praktické posouzení pravdivosti se opírá o srovnání průměrných výsledků získaných určitou metodou a referenčních hodnot, většinou se používá test výtěžnosti (R) – prázdný vzorek je obohacen známým množstvím čisté a stabilní zkoumané sloučeniny (referenční hodnota) a vypočítá se podle rovnice 1.

Preciznost metody je měřítkem toho, jak moc se výsledky navzájem blíží. Preciznost lze hodnotit jako: preciznost opakovatelnosti v rámci laboratoře; preciznost reprodukovatelnosti v rámci laboratoře (nebo mezilehlá preciznost); preciznost reprodukovatelnosti mezi laboratořemi. Preciznost se obvykle

vyjadřuje měřítky, jako je standardní odchylka (s nebo SD), rozptyl (s^2), nebo relativní standardní odchylka (RSD%), podle rovnice 2-3:

$$R = \frac{C_F - C_I}{C_A} \cdot 100 \quad 1.$$

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{X} - X_i)^2}{n-1}} \quad 2.$$

$$RSD = \frac{s}{x} \cdot 100 \quad 3.$$

kde: C_F je konečná koncentrace obohaceného vzorku; C_I je počáteční koncentrace před obohacováním; C_A je koncentrace přidaného obohacujícího roztoku; X_i jsou diskrétní měřené hodnoty, \bar{X} je průměrná hodnota n opakovaných měření.

Linearita a rozsah linearity poskytují informace o schopnosti metody generovat signální odezvu (měřitelnou vlastnost) v lineárním vztahu ke koncentraci (či množství) analytu. Na dolním konci rozsahu koncentrace jsou omezujícími faktory hodnoty meze detekce a/nebo kvantifikace.

Mez detekce (LOD) představuje nejnižší obsah analytu, který lze měřit s rozumnou statistickou jistotou. Dává „kvalitativní“ informaci.

Mez kvantifikace (LOQ), neboli **mez stanovitelnosti**, představuje nejnižší obsah analytu, který lze stanovit s přijatelnou správností za uvedených podmínek zkoušky. Dává „kvantitativní“ informace.

Robustnost a odolnost je měřítkem schopnosti metody generovat výsledky neovlivněné rušivými změnami parametrů metody (robustnost) nebo provozních podmínek (odolnost).

3.4.2. ODHAD NEJISTOTY

Podle Příručky EURACHEM (2012) je nejistota (U) parametr spojený s výsledkem měření, který charakterizuje rozptyl hodnot, které lze rozumně přiřadit měřené veličině (výsledku). Nejistotu lze vyjádřit jako relativní standardní odchylku (RSD) a interval spolehlivosti.

Odhad nejistoty je **vyžadován** vždy, když:

- v laboratoři je zaveden nový postup/metoda;
- je změněn důležitý parametr procesu (zařízení, typ vzorku);
- je validována nová metoda;
- **není vyžadován** pro každodenní analýzu.

Tabulka 11 znázorňuje zdroje nejistoty, které vyplývají jak z odběru vzorků, tak z analytických měření.

Tabulka 11. Zdroje a odhad nejistoty

Příspěvky k nejistotě	Symbol	Zdroje nejistoty
Příspěvek odběru vzorků	U_S	odběr vzorků, přeprava, uložení
Příspěvek měření	U_M	zařízení, čistota činidel, podmínky měření
Celková nejistota	U	$U = U_S + U_M$

Při odhadu nejistoty je nutné dodržet dva kroky:

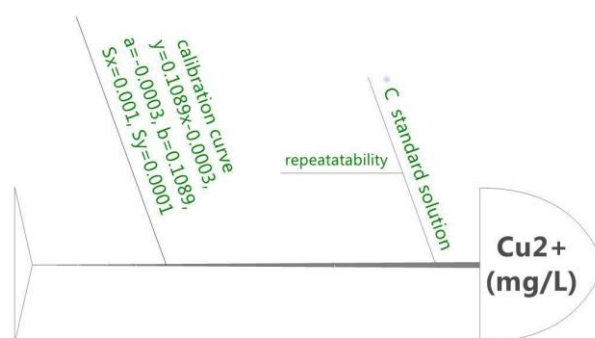
1. identifikace zdrojů nejistoty a sestavení Išikawova diagramu;
2. výpočet nejistoty, se zohledněním zdrojů, které nejvýznamněji přispívají k celkové nejistotě.

Išikawův diagram lze sestavit samostatně, se zohledněním zdrojů nejistoty z odběru vzorků, z měření na standardních roztocích (obrázek 5) nebo na reálných vzorcích (obrázek 6). Bylo prokázáno, že k celkové nejistotě poměrně značně přispívá odběr vzorků, někdy až 80 % hodnoty U .

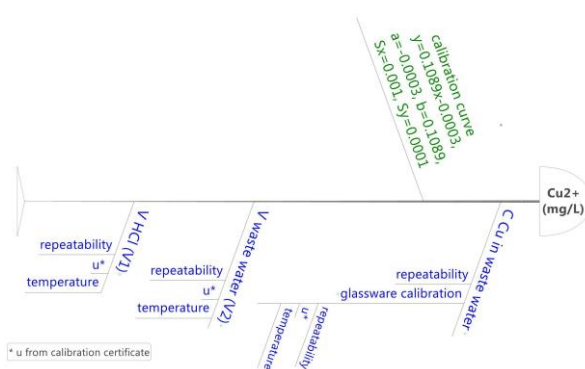
Z hlediska klienta odhad nejistoty znamená, že konečný výsledek (R) je oznámena jako součet průměrné koncentrace (C) a příspěvku k nejistotě (rovnice 4).

$$R = C \pm U \quad 4.$$

Z hlediska laboratoře odhad nejistoty udává stupeň důvěry spojený s analytickým postupem.



Obrázek 5. Ishikawův diagram pro zdroje nejistoty na standardních roztocích.



Obrázek 6. Ishikawův diagram pro zdroje nejistoty na vzorcích odpadních vod.

ODKAZY

1. Chirila, E., Draghici, C., Analytical Approaches for Sampling and Sample Preparation for Pesticides Analysis in Environmental, Food and Biological Samples, in Simeonov, L.I., Macaev, F.Z., Simeonova, B.G. (Eds.), Environmental Security Assessment and Management of Obsolete Pesticides in Southeast Europe, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2013, 37-54.
2. Chirila, E., Draghici, C., Analytical Approaches for Sampling and Sample Preparation for Heavy Metals Analysis in Biological Materials, in Simeonov, L.I., Kochubovski, M.V., Simeonova, B.G. (Eds.), Environmental Heavy Metal

- Pollution and Effects on Child Mental Development, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2011, 129-143.
3. Chunlong C.Z., Fundamentals of Environmental Sampling and Analysis, John Wiley & Sons, Hoboken NJ, USA, 2007.
 4. Colbeck, I., Draghici, C., Perniu, D., (Eds), Environmental Pollution and Monitoring, in EnvEdu series, ISSN 1584-0506, ISBN 973-27-1169-8, Romanian Academy Press, Bucharest, 2003.
 5. Draghici, C., Chirila, E., Complex Characterization of Polluted Samples, in L. Simeonov, M. Hassanien (Eds.), Exposure and Risk Assessment of Chemical Pollution – Contemporary Methodology, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2009, 165-180.
 6. Draghici, C., Galan, E., Stoian, M.G., Method Validation for Pesticides Identification, in Simeonov, L.I., Kochubovski, M.V., Simeonova, B. G. (Eds.), Environmental Security Assessment and Management of Obsolete Pesticides in Southeast Europe, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2013, 365-380.
 7. Draghici, C., Jelescu, C., Dima, C., Coman, Gh., Chirila, E., Heavy Metals Determination in Environmental and Biological Samples, in Simeonov, L.I., Kochubovski, M.V., Simeonova, B. G. (Eds.), Environmental Heavy Metal Pollution and Effects on Child Mental Development, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 2011, 145-158.
 8. Patnaik P., Handbook of Environmental Analysis, 2nd Edition, Chemical Pollutants in Air, Water, Soil, and Soil Wastes, CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton FL, USA, 2010.
 9. Taverniers, I., De Loose, M., Van Bockstaele, E., Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance, Trends in Analytical Chemistry, 23(8), 2004, 535- 552.
 10. ISO/IEC 17025:1999; ISO/IEC 17025:2005; ISO/IEC 17025:2017.
 11. Terminology in Analytical Measurement: Introduction to VIM 3.
 12. EURACHEM Guide to Quality in Analytical Chemistry - 3rd edition (2016).
 13. EURACHEM Guide, The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics: Second edition (2014).
 14. EURACHEM Guide, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 3rd Edition (2012).
 15. EURACHEM Guide, Measurement uncertainty arising from sampling (2007).
 16. EURACHEM Guide, Traceability in Chemical Measurement (2003).
 17. EURACHEM Guide, The Selection and use of Reference Materials (2002).
 18. EURACHEM Guide, Selection, Use and Interpretation of Proficiency Testing (PT) Schemes by Laboratories (2011).
 19. <https://www.eurachem.org/index.php/publications/guides>
 20. <https://www.eea.europa.eu/>

21. <https://ec.europa.eu/jrc/en/research-topic/environmental-monitoring>



This work is licensed under a Creative
commons attribution – non commercial 4.0
international license



**VNiVERSIDAD
DSALAMANCA**

CAMPUS OF INTERNATIONAL EXCELLENCE



ALMA MATER STUDIORUM
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA



South-Eastern Finland
University of Applied Sciences

U. PORTO



**Universitatea
TRANSILVANIA
din Braşov**



**UNIVERZITA
KARLOVA**



ИКИТ

<https://toxoeer.com>

Project coordinator: Ana I. Morales
Headquarters office in Salamanca.
Dept. Building, Campus Miguel de Unamuno, 37007.
Contact Phone: +34 663 056 665