

Bogdan Zygmunt



Jacek Namieśnik

Zapewnienie wysokiej jakości wyników analiz środowiskowych, chociaż trudne, jest niezbędne, gdyż skutki ekonomiczne, zdrowotne, społeczne i inne błędnych wyników mogą być ogromne. Coraz większą rolę w tym względzie odgrywają materiały odniesienia. Są one stosowane na etapie walidacji metodyk analitycznych, kontroli przebiegu procesów analitycznych i jakości otrzymywanych wyników.

Bogdan Zygmunt, Jacek Namieśnik

Niektóre aspekty stosowania i dostępność materiałów odniesienia

DO BADAŃ PRÓBEK ŚRODOWISKOWYCH NA ZAWARTOŚĆ ŚLADOWYCH SKŁADNIKÓW ORGANICZNYCH

Analityka organicznych zanieczyszczeń środowiska jest często kłopotliwa i trudna, a analitycy są narażeni na wiele pułapek, które mogą prowadzić do znacznych błędów pomiarowych, jeśli nie zastosuje się odpowiedniej kontroli procesów analitycznych. O ważności tego zagadnienia może świadczyć fakt, że Komisja Europejska (*European Commission* – EC) od ponad 20 lat wspiera programy badawcze ukierunkowane na poprawę jakości pomiarów fizycznych, biologicznych i chemicznych. Ważną rolę w sterowaniu jakością pomiarów odgrywają materiały odniesienia (*Reference Materials* – RM). EC w dalszym ciągu finansuje projekty, których celem jest uświadamianie analitykom potrzeby stosowania i rozpowszechnianie wiedzy w zakresie stosowania materiałów odniesienia w sterowaniu jakością analiz chemicznych.

Wspólnota Europejska aktualnie finansuje (w ramach V Programu Ramowego) trzy projekty dotyczące badań i szkolenia w zakresie materiałów odniesienia. Są to:

1. Training on Production and Use of Laboratory Reference Materials in Newly Associated States (TRAP-NAS);
2. Virtual Institute for Reference Materials (VI-RM);
3. Improving the Infrastructure for Metrology in Chemistry in the New Member States (QUA-NAS).

Zespół badawczy z Katedry Chemii Analitycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej jest zaangażowany (jako jeden z partnerów) w realizację zadań tych trzech projektów. W najbliższym czasie odbędą się szkolenia z zakresu wykorzystania materiałów odniesienia dla uczestników, głównie z krajów stowarzyszonych, między innymi w Gdańsku (adres koordynatora projektu: e-mail – kees.kramer@mermayde.nl).

Obowiązujące definicje materiałów odniesienia znajduje Czytelnik w przewodniku Międzynarodowej Organizacji Standaryzacji (*International Organization for Standardization* – ISO Guide 30, 1992. *Terms and definitions used in connection with reference materials*, ISO, Geneva) i w obszernej literaturze z tego zakresu. Materiały odniesienia to takie materiały, dla których znane są zawartości wybranych analitów. Odpowied-

nie wartości powinny być jak najbliższe prawdziwej zawartości analitu. W przypadku certyfikowanych materiałów odniesienia (*Certified Reference Materials* – CRM) musi być również podana niepewność na określonym poziomie ufności. Pierwotne materiały odniesienia (*Primary Reference Materials* – PRM) to CRM o najwyższej jakości metrologicznej – wartości certyfikowane w tym przypadku charakteryzują się spójnością pomiarową z jednostkami SI. Wartości stężeń analitów w laboratoryjnych materiałach odniesienia (*Laboratory Reference Materials* – LRM) nie są certyfikowane. LRM wytwarza się głównie w celu przeprowadzania badań międzylaboratoryjnych i w wewnętrznej kontroli jakości, czyli monitorowaniu sprawności metodyk analitycznych.

Certyfikowane materiały odniesienia można podzielić na materiały kalibracyjne (czyste substancje lub roztwory wzorcowe oraz materiały o znanym składzie matrycy stosowane w przypadku typowych technik porównawczych) i matrycowe materiały odniesienia, których skład zarówno ze względu na spektrum, jak i stężenie analitów oraz skład matrycy są możliwie podobne do badanych próbek rzeczywistych.

Zróżnicowanie próbek środowiskowych jest bardzo duże pod względem analitów i matryc, a także w zakresie tego samego typu matrycy (np. gleby gliniaste, piaszczyste wapienne, gleby bogate w materię organiczną itp.). Wywołuje to wzrost zapotrzebowania na szerokie spektrum RM. Dla zadań analitycznych typu oznaczenia analitów organicznych w próbkach środowiskowych na ogół nie ma metod definitywnych i głównie opieramy się na tak zwanych wartościach umownych. Zgodność wartości certyfikowanej z prawdziwą zawartością analitu zależy zatem od poziomu rozwoju analityki. Nawet jeśli wyniki uzyskane w różnych laboratoriach są zgodne, nie ma pełnej gwarancji, że są dokładne. Dlatego prowadzenie prac nad produkcją i certyfikacją odpowiednich RM jest ciągle aktualne.

Wszystkie rodzaje materiałów odniesienia (PRM, CRM, LRM) powinny spełniać podstawowe wymagania reprezentatywności, jednorodności i trwałości. Dla wielu matrycowych CRM typu analit organiczny w matrycy

środowiskowej spełnienie powyższych wymagań może być stosunkowo trudne. Dlatego też dla wielu zadań z zakresu śladowej analizy zanieczyszczeń organicznych matrycowe materiały odniesienia są niedostępne lub charakteryzują się składem matrycy znacznie odbiegającym od składu matrycy próbek rzeczywistych. W wielu przypadkach trzeba stosować specjalne rozwiązania, aby uzyskać spójność pomiarową akceptowalną dla danego zadania analitycznego.

Ze względu na różne problemy napotymane w przypadku badań próbek powietrza, wody oraz próbek stałych (osady denne, gleby, materiał biologiczny) dostępne materiały odniesienia zostaną omówione oddzielnie.

MATRYCE GAZOWE

Badania prowadzone w Europie wskazały na potrzebę poprawy jakości pomiarów zanieczyszczeń powietrza. W ramach programu BCR (*Community Bureau of Reference*) podjęto kilka projektów badawczych mających na celu identyfikację źródeł błędów w procesie pobierania próbek i analizy, standaryzację metod, dostarczanie kalibrantów i przede wszystkim wprowadzenie odpowiednich certyfikowanych materiałów odniesienia.

Amerykański Instytut Wzorców i Technologii (*National Institute of Standards and Technology – NIST*) oferuje od dłuższego czasu certyfikowane mieszaniny gazowe wybranych związków organicznych w bardzo czystym azocie. Materiały SRM 1811 i 1812 zawierają benzen, toluen, chlorobenzen i bromobenzen (stężenia odpowiednio 0,25 $\mu\text{mol/mol}$ i 10 $\mu\text{mol/mol}$ każdego z analitów). Są również oferowane mieszaniny gazowe zawierające po kilkanaście typowych organicznych zanieczyszczeń powietrza atmosferycznego na bardzo niskim poziomie stężeń, na przykład 5 nmol/mol (SRM 1800 i 1800a).

Przypadek bardzo niskich stężeń jest szczególnie, gdyż na ogół konieczne jest przeprowadzanie operacji wzbogacenia analitów z próbek o dużej objętości. Wytwarzanie i stosowanie dużych ilości certyfikowanych mieszanin gazowych to duże koszty i niedogodności na etapie przechowywania i transportu materiału. Rozwiązaniem wydają się rurki permeacyjne zapewniające wytwarzanie strumienia analitów o stałym stężeniu. Takie podejście jest szeroko stosowane w przygotowywaniu gazowych mieszanin wzorcowych w macierzystej Katedrze autorów. Kluczową sprawą jest zachowanie warunków odtwarzalnej permeacji danej substancji.

Przykładem może być materiał CRM 562 w postaci zestawu rurek wypełnionych węglem aktywnym z certyfikowaną ilością benzenu (15,0 μg), toluenu (47,3 μg), m-ksylenu (96,4 μg) i o-ksylenu (93,0 μg).

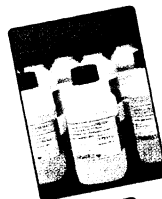
Ważną grupą zanieczyszczeń powietrza są lotne aldehydy, szczególnie formaldehyd. Często stosowana procedura analityczna polega na przepuszczaniu próbki powietrza przez roztwór zawierający 2,4-dinitrohydrozyny (DNPH) lub filtr impregnowany za



Chemman®

Ciech
Grupa Kapitałowa

Oferujemy odczynniki krajowe i importowane,
sprzęt laboratoryjny
oraz chemikalia i surowce chemiczne.



Ultranal®
Ultraczyste kwasy do analizy
śladów metali
Jedyny producent w Polsce



Odczynniki korporacji **Sigma-Aldrich:**
Riedel-de Haën, Fluka, Supelco



Polskie Odczynniki Chemiczne S.A.
Pełna oferta



Hydranal®
Odczynniki do oznaczania wody metodą
Karla Fischera
Aquanal®
Testy i odczynniki do analizy wody



Fisher Scientific UK
Odczynniki z gwarancją do 5 lat
od momentu otwarcia butelki



Fisher Scientific UK
Sprzęt laboratoryjny

Nasze atuty:

- Sieć magazynów
- Kompleksowe zaopatrzenie w odczynniki i surowce chemiczne
- Doradztwo techniczne
- System Jakości ISO 9002

Chemman®

Chemman S.A.
ul. Rydygiera 8
01-793 Warszawa

www.cheman.pl
odczynniki@cheman.pl

Tel. : (+4822) 633 96 06
Fax. : (+4822) 633 83 43

pomocą DNPH i oznaczeniu powstałych hydrazonów z wykorzystaniem technik chromatografii cieczowej. W ramach programu BCR opracowano materiały odniesienia, które są albo stałymi hydrazonami poszczególnych aldehydów, albo roztworem miesza-

Potrzeba odwzorowania matrycy i stężenia analitów prowadzi do zapotrzebowania na szerokie spektrum materiałów odniesienia. Niestety, pomijając kilka przypadków związków metaloorganicznych, matrycowe certyfikowane materiały odniesienia dla śladowych

TABELA

Przykładowe materiały referencyjne stosowane w oznaczaniu związków organicznych w próbkach wodnych		
Materiał (producent)	Opis	Uwagi
BCR-606 (EC-IRMM)	Pestycydy polarne po usunięciu wody (liofilizacja) z dodatkiem chlorku sodu	„Zrekonstruowana” próbka nie odpowiada składem odpowiedniej próbce „rzeczywistej”
BCR-365 (EC-IRMM)	Polichlorowane bifenyle w izooktanie	Tylko roztwór kalibracyjny
SRM-1491 (NIST)	Węglowodory aromatyczne w mieszaninie toluen-heksan	Tylko roztwór kalibracyjny
SRM-1597 (NIST)	Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w toluenie	Tylko roztwór kalibracyjny
SRM-1647d (NIST)	Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w acetonitrylu	Stosowany w metodzie dodatku wzorca; brak składników matrycy
SRM-2260 (NIST)	Węglowodory aromatyczne w toluenie	Tylko roztwór kalibracyjny
SRM-2262 (NIST)	Chlorowane bifenyle w 2,2,4-trimetylopentanie	Tylko roztwór kalibracyjny
SRM-1584 (NIST)	Fenole w metanolu	Stosowany w metodzie dodatku wzorca; brak składników matrycy
SRM-163 (NIST)	Haloformy w metanolu	Stosowany w metodzie dodatku wzorca; brak składników matrycy
9SRM-1492 (NIST)	Chlorowane pestycydy w heksanie	Tylko roztwór kalibracyjny
LGC-1007 (LGC)	Pestycydy chloroorganiczne na złożu fazy stacjonarnej (C18) w kolumnie ekstrakcyjnej	Właściwy do analizy wody z wykorzystaniem SPE

niny hydrazonów z nadmiarem DNPH w acetonitrylu, albo też hydrazonem (przypadek formaldehydu) na filtrze z włókna szklanego. Dostępne są także roztwory DNPH w acetonitrylu oraz filtr impregnowany za pomocą DNPH do wykonania ślepych prób.

Określenie jakości powietrza to również analiza pyłów. Różne materiały odniesienia tego typu (np. wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne – WWA i polichlorowane bifenyle – PCB w pyłe miejskim, dioksyny w popiele lotnym) są oferowane zarówno przez NIST, jak i *Institute of Reference Materials and Measurements* (IRMM). Oferowane są także ekstrakty z lotnego popiołu z certyfikowanymi zawartościami dioksyn.

MATRYCE WODNE

Zgodnie z dyrektywami Komisji Europejskiej w próbkach wodnych należy regularnie monitorować wiele klas substancji organicznych, między innymi związki chloroorganiczne (woda morska i słodka), fenole (ścieki, woda ujęć rzecznych), lotne związki chloroorganiczne (woda słodka), benzen, toluen i ksyleny (woda pitna, słodka i ujęć rzecznych), pestycydy fosforoorganiczne (woda pitna, słodka i ujęć rzecznych), WWA (woda pitna), związki cynoorganiczne (woda morska i ujęć rzecznych) itp.

zanieczyszczeń organicznych w wodzie nie są dostępne w handlu. Podstawowe przyczyny takiego stanu rzeczy są związane z: względnie małymi stężeniami zanieczyszczeń organicznych w wodach naturalnych (konieczność stosowania próbek o objętości rzędu 100 l wody pobranej z otwartego morza), tendencją do adsorpcji analitów na powierzchni materii zawieszanej i na cząstkach koloidalnych, nietrwałością wielu typowych zanieczyszczeń organicznych w wodzie wywołanych hydrolizą, oddziaływaniem światła i biodegradacją oraz biologiczną aktywnością próbki.

Te problemy praktycznie uniemożliwiają przygotowanie zwykłych matrycowych materiałów odniesienia i proponowane są specjalne rozwiązania. Na szczególną uwagę zasługuje przygotowanie RM przez: usuwanie wody techniką liofilizacji, wykorzystanie rzeczywistych próbek wody, unieruchomienie analitów (wzorców), dodawanie wzorców do ciekłych ekstraktów.

Liofilizację zastosowano w celu przygotowania materiałów odniesienia pestycydów, które wykazują bardzo małą trwałość w wodzie (np. CRM 606). Okazuje się, że po usunięciu wody pestycydy są stosunkowo trwałe, a próbka ma drastycznie mniejszą objętość. Jest to bardzo ważne dla przechowywania i transportu RM. Oryginalny materiał można „zrekonstruować”, doda-

jąc odpowiednią ilość czystej wody. Do próbki jeszcze przed liofilizacją dodaje się na przykład chlorku sodu jako nośnika analitu i składników matrycy. Aby zapobiec stratom lotnych analitów, stosowano dodawanie glicyny, co jednak może prowadzić do konieczności modyfikacji procedury analitycznej. Metodą liofilizacji otrzymywano trwale RM pestycydów fosforoorganicznych (paration, karbaryl) oraz triazyn (symazyna, atrazyna). Trzeba jednak pamiętać, że niektóre składniki matrycy mogą ulegać zmianom w trakcie liofilizacji (np. substancje humusowe) i odtworzenie oryginalnej matrycy może okazać się problematyczne.

Certyfikowane materiały odniesienia na bazie rzeczywistych próbek wody mają tę zaletę, że ich matryca jest identyczna z próbką. Próby rozwiązania problemów związanych z biodegradacją (dodatek Na_3N lub HgCl_2 , sterylizacja) i dużą objętością próbki (zateżnienie matrycy) mogą doprowadzić do nieakceptowanej zmiany matrycy i częściowej degradacji analitów oraz kłopotów technicznych.

Unieruchomienie analitów (wzorców) polega na ich nanoszeniu na stały sorbent (patrz próbki gazowe). Tego typu materiał odniesienia jest już dostępny (pestycydy chloroorganiczne na sorbencie C18), ale ma raczej ograniczone zastosowanie, gdyż taki RM nie może służyć do kontroli całego procesu analitycznego, a tylko niektórych etapów, i może być stosowany jedynie w przypadku metody opartych na ekstrakcji do fazy stałej.

Dodawanie wzorców do ekstraktów służyć może do kontroli procesu analitycznego, ale z pominięciem istotnego etapu ekstrakcji analitów z próbki wody, czyli najtrudniejszego etapu analizy. W przygotowaniu tego typu RM ważna jest dostępność próbek rzeczywistych, które nie zawierają oznaczanych składników. Przykładowe materiały odniesienia, które mogą być wykorzystane przy oznaczaniu analitów organicznych w próbkach wodnych, podane są w tabeli. Niestety, są to przede wszystkim roztwory analitów w rozpuszczalnikach organicznych. Można jednak tak zaprojektować eksperyment, że możliwa staje się kontrola procesu analitycznego i zapewnienie wymaganej jakości wyników z wykorzystaniem takich materiałów odniesienia.

Certyfikowane materiały odniesienia w postaci roztworu, na przykład w acetonitrylu, dodawać można do rzeczywistych próbek wody lub do sztucznie przygotowanej próbki, która ma imitować próbkę rzeczywistą. Matrycę próbki można rekonstruować, dodając odpowiedni koncentrat składników matrycy do wody o wysokim stopniu czystości. Szczególnie korzystne są sytuacje, jeśli dysponujemy próbkami rzeczywistymi, które nie zawierają substancji aktualnie oznaczanych. Stosując powyższe podejścia, uzyskuje się modelowe próbki, które pozwalają sprawdzać procedury analityczne.

MATRYCE STAŁE

Dostępne obecnie materiały odniesienia o stałej matrycy środowiskowej to głównie suche sproszkowane lub zamrożone próbki gleb i osadów, liofilizowane tkanki

biologiczne i tym podobne z certyfikowaną zawartością względnie trwałych zanieczyszczeń organicznych.

Duża liczba materiałów powyższego typu wytwarzanych przez *Community Bureau of Reference* (BCR) (obecnie *Standards, Measurements and Testing Programme – SMT*) została dokładnie opisana w książce Quevauvillera i Meiera (*Interlaboratory Studies and Certified Reference Materials for Environmental Analysis*, Elsevier, Amsterdam, 1999).

Są to między innymi: PCB w glebie przemysłowej (CRM 481), WWA w glebie przemysłowej (CRM 524) i w osadach (CRM 535); dioksyny, fenole i chlorobenzeny w zanieczyszczonej glebie (CRM 529 i 530); tributyllocyna w osadach przybrzeżnych (CRM 462) i portowych (RM 424), a także metylortęć w osadach (CRM 580). Przypadek matryc biologicznych obejmuje metylortęć w mięsie tuńczyka (CRM 463 i 464) oraz butyllocynę i metyllocynę w tkance małża (CRM 477).

Inne znane CRM typu śladowe związki organiczne w stałych matrycach środowiskowych wytwarzane przez NIST (symbol SRM) obejmują PCB w osadzie rzeczonym (SRM 1939) oraz WWA w osadzie morskim (SRM 1941a) i w tkance małża (SRM 1974 i SRM 1974a). Znany CRM produkowany przez NRCC (Kanada) to CARP1 z certyfikowaną zawartością dioksyn, furanów i PCB w tkance mięśniowej karpia.

Lista materiałów referencyjnych typu śladowych zanieczyszczeń organicznych w stałych próbkach środowiskowych i biologicznych jest szersza i stale wzrasta.

Materiały odniesienia (RM lub CRM) są niezbędne w każdym laboratorium analitycznym, w tym w laboratorium analiz środowiskowych. Podstawowe obszary ich zastosowań obejmują:

- sprawdzanie umiejętności nowego analityka lub nowego laboratorium;
- rutynową kontrolę dokładności i precyzji analiz;
- walidację metod analitycznych;
- akredytację laboratorium;
- kontrolę jakości pracy laboratorium;
- w szczególnych przypadkach kalibrację przyrządów i metod.

Generalnie przygotowanie materiałów odniesienia dla analityki środowiskowej jest pracochłonne i kosztowne. Trzeba więc dobrze rozróżniać materiały odniesienia i certyfikowane materiały odniesienia, aby dokonywać racjonalnych wyborów dla założonych celów. Dla niektórych układów analit-matryca przygotowanie trwałych RM jest trudne, a często wręcz niemożliwe. Można jednak zaplanować eksperyment w taki sposób, że możliwe jest sprawdzenie procedury analitycznej z użyciem odpowiednich certyfikowanych roztworów wzorcowych. Wprowadzane są także materiały odniesienia (np. anality na stałym sorbencie), które pozwalają kontrolować tylko pewne etapy procedur analitycznych. Prace są ciągle prowadzone i nowe materiały oraz rozwiązania proponowane. ■

VALOROUS Meble laboratoryjne

Promnice k/ Poznań, ul. Południowa 33, 62-005 Owieńska
tel./fax +61/ 811 44 45, 811 44 48, valorous@valorous.com.pl, www.valorous.com.pl