

UPLATNĚNÍ ELEKTROCHEMICKÝCH METOD V CERTIFIKAČNÍCH ANALÝZÁCH REFERENČNÍCH MATERIÁLŮ

PETRA ČÍŽKOVÁ a PAVEL MADER†

*Katedra chemie, Agronomická fakulta, Česká zemědělská univerzita v Praze, Kamýčká 957, 165 21, Praha 6 – Suchbátka
cizkova@af.czu.cz*

Došlo 20.11.03, přepracováno 16.9.04, přijato 30.9.04.

Klíčová slova: elektrochemické metody, referenční materiál, certifikační analýzy

Obsah

1. Úvod
2. Role referenčních a certifikovaných referenčních materiálů
3. Certifikační analýzy biologického materiálu
4. Certifikační analýzy vod
5. Závěr

1. Úvod

V oblasti stopové analýzy se vyvíjejí stále nové a dokonalejší instrumentální techniky, založené na různých fyzikálně-chemických principech, pro monitorování stavu životního prostředí. A tak elektrochemickým metodám, které patřily mezi jedny z prvních technik používaných pro analýzy stopových množství rizikových prvků, dnes významně konkurují další, především různé spektrometrické techniky.

Mezi hlavní požadavky na metody používané ve stopové analýze patří vysoká citlivost, selektivita, přesnost a správnost. Dále rychlost, automatizovatelnost a v neposlední řadě i využitelnost pro širokou paletu látek, čemuž elektrochemické metody často dobře vyhovují. Údaj o celkové koncentraci daného kovu ve vzorku sice poskytuje určitý obraz, ale nepodává dostatečnou informaci týkající se jeho toxicity nebo míry, v níž vstupuje do živého systému. Proto jsou pro pochopení biochemického koloběhu prvků a jejich toxicity potřebná tzv. speciální měření, při kterých se bere do úvahy nejen celková koncentrace, ale i podíl jednotlivých oxidačních či obecně chemických forem daného prvku. Moderní polarografické/voltametrické techniky, především pak elektrochemická rozpouštěcí analýza, patří mezi vhodné metody pro speciaci stopových kovů v různých matricích.

Výhody a nevýhody používání elektroanalytických metod v rutinních laboratořích pro stopovou prvkovou analýzu jsou často předmětem diskusí. Jejich specifický

fyzikální princip jim však bezesporu zaručuje ideální uplatnění při certifikačních analýzách referenčních materiálů, zejména pak matricových referenčních materiálů, kde je žádoucí využít více analytických technik s odlišnými principy.

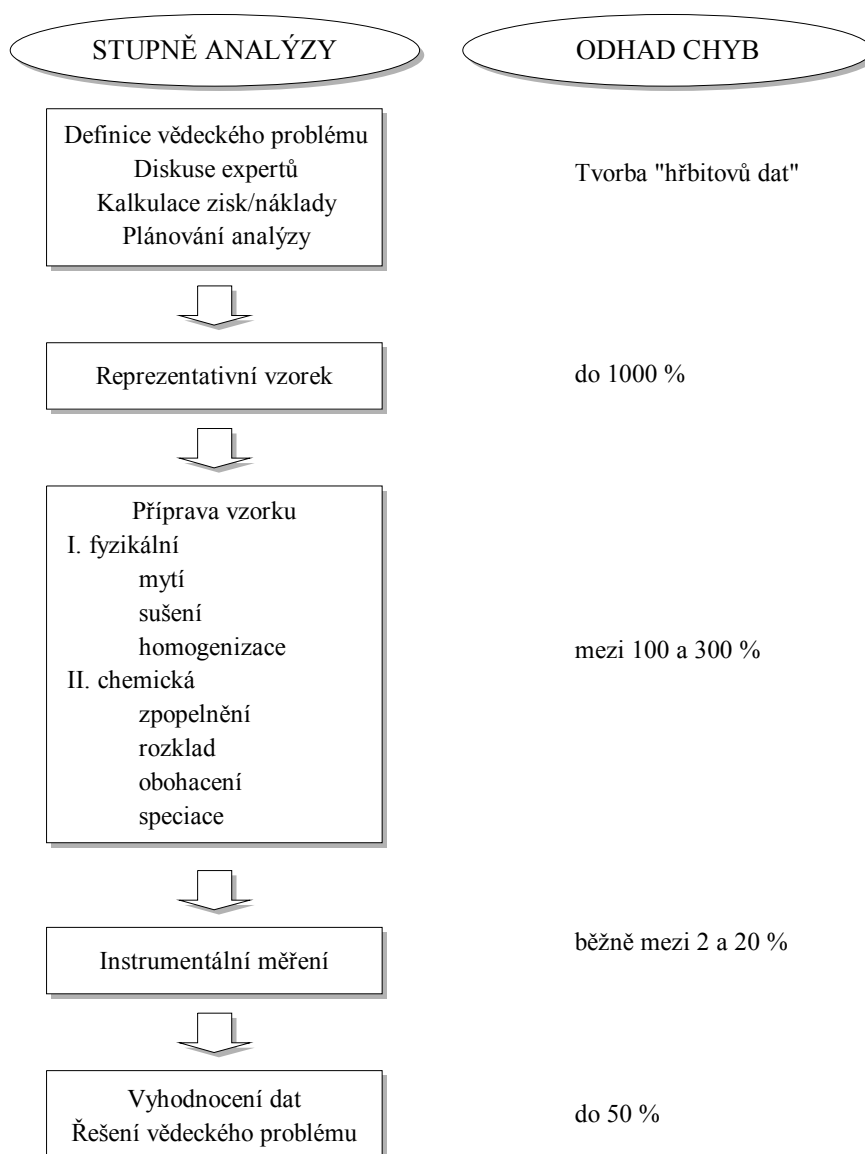
2. Role referenčních a certifikovaných referenčních materiálů

Analytické laboratoře musí vedle produkce analytických výsledků deklarovat i jejich spolehlivost a věrohodnost. Důležitou roli zde hraje zavádění systémů zabezpečení a řízení jakosti (quality assurance/quality control), které mj. vyžadují validaci celého analytického procesu, prezentovaného v podobě standardního operačního postupu (SOP), a zajištění návaznosti výsledků analýz včetně odhadu nejistoty výsledku. K tomu je používání certifikovaných referenčních materiálů nepostradatelným nástrojem.

Podle definic mezinárodního metrologického slovníku^{1,2}: „Referenční materiál (RM) je materiál nebo látka, jejíž jedna nebo více hodnot vlastností je dostatečně homogenní a dobře stanovená, aby mohl(a) být použit(a) ke kalibraci přístroje, posouzení měřicí metody nebo k přiřazení hodnot materiálům. Certifikovaný referenční materiál (CRM) je referenční materiál doprovázený certifikátem, jehož jedna nebo více hodnot vlastností je certifikována postupem, který vytváří návaznost na správnou realizaci jednotky, v níž jsou hodnoty vlastností vyjádřeny, a jehož každá certifikovaná hodnota je doprovázena nejistotou při uvedené úrovni spolehlivosti.“

Dostatečně citlivá měřicí technika je bezesporu klíčovou složkou analytického procesu. Ale je třeba si uvědomit, že stupeň instrumentálního měření je součástí více-složkového systému (obr. 1). Velmi důležitá je i příprava vzorku před samotným měřením a následně zpracování naměřených dat. Jak je ukázáno na obr. 1, tyto dva stupně mohou způsobit mnohem větší chybu než samotný stupeň měření, tudíž by jim měla být věnována přinejmenším srovnatelná pozornost jako instrumentálnímu měření. Proto se RM popř. CRM používají při validaci celého analytického procesu popsaného v SOP. Shodným či podobným složením matrice jako má reálný vzorek může RM napomoci k odhalení slabiny metody, což má za následek zdokonalení metody a tím i větší spolehlivost výsledků. Pravidelné používání RM umožňuje vytvářet regulační diagramy, které slouží ke zjištění momentu, kdy analytický systém přestává být v mezích statistické regulace. Lze nalézt i další oblasti, kde může být využívána matrice RM pro zkvalitnění analýzy (např. kalibrace).

Volba vhodného CRM či RM vyžaduje přístup k informacím o dostupnosti a vlastnostech těchto materiálů. Problematikou referenčních materiálů se již více než 25



Obr. 1. Základní postup anorganické analýzy vzorků životního prostředí, včetně hrubého odhadu chyb pro jednotlivé analytické stupně³

let zabývá výbor pro referenční materiály – Mezinárodní organizace pro standardizaci a měření ISO-REMCO (The Reference Materials Committee of International Organization for Standardization and Measurement), sídlící ve švýcarské Ženevě. Tento výbor vytvořil mj. databázi COMAR, která eviduje v současné době přes 10 000 referenčních materiálů. Až do začátku roku 2003 byla databáze COMAR dostupná pouze formou licence, správcem této databáze v ČR byla organizace EURACHEM-ČR. Od března letošního roku je databáze na internetu volně přístupná všem zájemcům na adrese www.comar.bam.de. Bližší údaje o struktuře databáze COMAR lze nalézt v článku⁴. Dalším zdrojem informací je nově připravovaná databáze VIRM (Virtual Institute for Reference Materials)

na webové stránce www.virm.net.

3. Certifikační analýzy biologického materiálu

Na certifikační analýzy RM jsou kladeny speciální požadavky⁵. Především může zúčastněná laboratoř používat pouze validovaných metod. Je žádoucí, aby se certifikačního procesu zúčastnilo více pracovišť a použilo více analytických metod využívajících rozdílných fyzikálních principů. Z tohoto hlediska vytvářejí elektrochemické metody skupinu, která poskytuje zcela nezávislé výsledky vůči všem ostatním metodám, což lze považovat za významnou přednost těchto metod a jeden z hlavních důvo-

Tabulka I

Zastoupení elektroanalytických metod použitých při certifikaci vybraných biologických CRM různého původu (zdroj: certifikační zprávy)

Kód	Referenční materiál	Rok	Prvky s certifikovanou hodnotou ^c					
			Cd	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn
BCR 679 ^a	bílé zelí	2001	1/16	1/15	0/8	1/23	–	1/20
BCR 278R ^a	tkáň škeble	1998	1/9	1/9	0/4	–	2/10	1/11
BCR 185R ^a	hovězí játra	1998	1/7	1/11	0/3	–	2/9	1/12
BCR 482 ^a	lišejník	1996	1/8	1/10	0/8	1/8	1/10	1/13
BCR 422 ^a	tresčí svalovina	1993	2/13	1/13	0/7	–	0/6	1/17
BCR 414 ^a	plankton	1993	3/9	3/17	0/6	4/9	3/10	2/15
BCR 397 ^a	lidské vlasy	1991	4/15	–	0/14	–	4/16	1/14
BCR 281 ^a	jílek	1988	3/9	3/14	0/11	2/14	4/17	1/14
BCR 278 ^a	tkáň škeble	1988	5/15	5/23	0/11	–	6/14	2/18
BCR 279 ^a	mořský salát	1987	6/11	4/14	–	–	5/11	2/13
BCR 186 ^a	vepřové ledviny	1986	6/16	0/15	0/9	–	5/16	0/19
BCR 185 ^a	hovězí játra	1986	6/16	0/16	0/8	–	5/15	0/20
BCR 184 ^a	hovězí svalovina	1986	6/14	2/17	0/7	–	6/13	0/20
BCR 62 ^a	listy olivy	1982	1/12	0/11	0/10	–	0/10	0/11
BCR 61 ^a	rostlinný materiál	1982	1/13	0/11	0/10	–	0/10	0/12
BCR 60 ^a	rostlinný materiál	1982	1/13	0/11	0/10	–	0/10	0/11
12-3-12 ^b	kal z čističky odpadních vod	1996	3/30	1/36	0/20	1/30	3/33	1/37
12-2-05 ^b	žitná mouka	1991	11/40	4/45	0/20	3/22	11/39	4/48
12-2-04 ^b	pšeničná mouka	1991	12/44	4/45	0/16	3/22	11/38	4/46
12-2-03 ^b	vojtěška	1989	7/24	6/35	0/12	2/14	7/25	5/31
12-2-02 ^b	zelená řasa	1989	5/21	4/32	–	1/15	5/21	3/22
12-2-01 ^b	hovězí játra	1989	7/25	2/23	0/22	–	7/22	1/22

^a CRH připravený Komisí evropského společenství (BCR/IRMM – Bureau Communautaire de Référence/Institute for Reference Materials and Measurements), ^b Československý referenční materiál, ^c uvedený zlomek představuje poměr přijatých průměrů elektrochemických stanovení / celkový počet přijatých průměrů jednotlivých analýz při certifikačním procesu

dů, proč mohou elektrochemické metody s výhodou sloužit právě k certifikaci RM.

V první části této studie jsme se vzhledem k zaměření našeho pracoviště věnovali maticovým RM biologického původu. Naše pracoviště mělo možnost se v posledních 15 letech aktivně účastnit několika certifikačních analýz RM biologického původu i jejich samotné přípravy (několik příkladů viz^{6,7}). Z této vlastní zkušenosti jsme získali dojem, že zastoupení elektroanalytických metod ve zmíněných analýzách biologických RM pozvolna ubývá

a v současné době je velice nízké. Tento náš názor jsme se pokusili potvrdit bližším studiem dané problematiky, k čemuž nám posloužily především certifikáty a certifikační zprávy jednotlivých RM. Omezili jsme se přitom na stanovení chemických prvků, obdobný přehled by však bylo možno připravit i pro řadu jiných analytů, které lze stanovit elektrochemicky (jejich přehled viz např.⁸).

Byly sledovány jak CRM připravené v západní Evropě (<http://www.irmm.jrc.be/>) a USA (<http://www.nist.gov/>), tak i domácí CRM vzniklé ve spolupráci

Tabulka II

Zastoupení elektroanalytických metod použitých při certifikaci vybraných biologických CRM různého původu (zdroj: certifikáty)

Kód	Referenční materiál	Rok	Prvky s certifikovanou hodnotou						E / M
			Cd	Cu	Hg	Ni	Pb	Zn	
SRM 1568a ^a	rýžová mouka	1995	N	N	N	–	–	N	0/12
SRM 1573a ^a	listy rajčete	1995	N	N	N	N	–	N	0/12
SRM 1570a ^a	listy špenátu	1994	N	N	N	N	–	N	0/10
SRM 1547 ^a	listy broskve	1993	N	A	N	N	N	A	1/15
SRM 1515 ^a	listy jabloně	1991	–	A	N	N	N	A	1/15
SRM 1577b ^a	hovězí játra	1991	N	N	–	–	N	N	1/15
SRM 1566a ^a	tkáň ústřice	1989	A	A	N	N	N	A	1/15
SRM 1567a ^a	pšeničná mouka	1987	N	N	–	–	–	N	0/11
SRM 1549 ^a	sušené mléko, odstředěné	1985	N	N	N	–	N	N	0/14
SRM 1566 ^a	tkáň ústřice	1983	A	N	N	A	A	A	1/8
IAEA/RL/123 ^b	seno	1985	A	A	N	N	A	N	1/16
IAEA/RL/69 ^b	zvířecí svalovina	1980	A	A	N	N	A	N	1/9
BCR 191 ^c	tmavý chléb	1987	A	A	–	–	A	N	1/13
BCR 189 ^c	hrubá mouka	1987	A	A	–	–	A	N	1/13
BCR 151 ^c	obohacené sušené mléko, odstředěné	1984	A	A	N	–	A	–	1/12
BCR 150 ^c	obohacené sušené mléko, odstředěné	1984	A	A	N	–	A	–	1/12
BCR 63 ^c	sušené mléko, odstředěné	1984	A	A	N	–	A	–	1/12

^a CRM připravený Národním ústavem pro normalizaci a techniku, (NBS/NIST – National Bureau of Standards / National Institute of Standards and Technology, USA), ^b CRM připravený Mezinárodní agenturou pro atomovou energii (IAEA – International Atomic Energy Agency), ^c CRM připravený Komisí evropského společenství, [A] při certifikační analýze prvku použita elektrochemická metoda, [N] při certifikační analýze prvku nebyla použita elektrochemická metoda, [–] prvek nebyl součástí certifikační analýzy, [E] zastoupení elektrochemických metod při certifikační analýze, [M] celkový počet použitých metod při certifikační analýze

českých a slovenských analytických laboratoří. Výše zmíněný názor o ústupu elektrochemických metod z této oblasti dokládají tabulky I a II, které znázorňují zastoupení elektrochemických stanovení. Za nejčastěji využívanou metodu ze skupiny metod elektrochemických v této oblasti lze považovat diferenční pulzní anodickou rozpouštěcí voltometrii. Je třeba přihlídnout ke skutečnosti, že hloubka informací poskytnutých jednotlivými certifikačními zprávami se výrazně lišila, tudíž nelze vyloučit, že jedna a táž metoda je v různých pramenech označena různými názvy. Problém s poskytováním dostatečného množství informací jednotlivými laboratořemi není však zdaleka specifický pouze pro elektrochemickou obec, jak je zřejmé např. z publikace Nordberga a spolupracovníků⁹.

Obdobná situace je i u dalších producentů, například v Japonsku (<http://www.rminfo.nite.go.jp/english/>), kde se

elektrochemické metody používají pouze při certifikaci čistých kalibračních roztoků, při certifikaci matričních RM se již vůbec neuplatňují. Naskytá se tedy otázka, co je příčinou této situace a zda potenciál elektroanalytických metod při certifikačních analýzách nemůže být lépe využíván. Naše vlastní zkušenost při stanovení rtuti v kandidátním rostlinném RM, kterou jsme učinili v roce 1990 a opakovaně v roce 2000, by mohla částečně odpovědět na výše položenou otázku.

V roce 1989 byl v naší laboratoři připraven první československý biologický CRM (cit.⁶). Během následujících příprav a certifikací několika dalších kandidátních CRM (cit.⁷) jsme získali v jednom případě rostlinné matrice velice dobrý soubor analytických výsledků při stanovení rtuti z cca 10 rozdílných laboratoří, který měl však jeden základní nedostatek: s jedinou výjimkou (NAA – neutro-

nová aktivační analýza) byla všechna ostatní data získána stejnou metodou (AAS – technika studených par). V té době (20. – 25.8.1990) se v Praze konal *Kongres o polarografii u příležitosti 100. narozenin J. Heyrovského společnosti s 41. setkáním Mezinárodní elektrochemické společnosti*. Využili jsme tedy příležitosti a oslovili účastníky obou elektrochemických konferencí, zda by se nepřidali k naší certifikační analýze pro stanovení rtuti. Obdrželi jsme 5 kladných odpovědí, všechny však byly podmíněny dodáním již zmineralizovaného biologického materiálu. Žádný účastník nebyl ochoten přijmout lahvičku s 20 g sušeného, mletého, homogenizovaného a γ -zářením stabilizovaného podílu kandidátního rostlinného materiálu. Obdobnou zkušenost jsme učinili i na *Symposiu na paměť J. Heyrovského* (Praha, 30.8. – 1.9.2000). Zde si od nás dva kolegové z různých zahraničních pracovišť lahvičku se zeleným práškem převzali, dosud jsme však od nich žádný analytický výsledek neobdrželi.

Je tedy zřejmé, že elektroanalytické metody vyžadují náročnější rozklad biologického materiálu než většina ostatních metod. Zůstává otázkou, zda je tato skutečnost (neplatí však ve všech případech, jak uvádí např. diskuse¹⁰) dostatečným důvodem k nepoužívání elektrochemických metod při certifikačních analýzách matričních RM.

4. Certifikační analýzy vod

Proto jsme se ve druhé části naší studie zaměřili na RM s jednodušší maticí – vodu. Lze předpokládat, že příprava vzorků vod k analýze vyžaduje méně náročný postup než u biologických materiálů¹¹, objevuje se však jiný problém, totiž omezená stabilita CRM. Využívání těchto CRM v běžných rutinních laboratořích se ukazuje jako poměrně finančně náročné, a proto méně rozšířené. Častěji se používá standardních kalibračních roztoků příslušných prvků rozpuštěných ve zředěné minerální kyselině. Nalézt potřebné materiály pro tuto část studie

bylo proto mnohem obtížnější.

Údaje o elektrochemických metodách v certifikátech stopových prvků ve vodách jsou velmi odlišné. Tak např. CRM 403 připravený Komisí evropského společenství, který deklaruje obsah Cd, Cu, Ni a Zn v mořské vodě, uvádí celkem 11 různých použitých metod při certifikační analýze; pět z nich patří do skupiny metod elektrochemických (viz tabulka III). U jiných CRM je většinou zastoupena pouze diferenční pulzní anodická rozpouštěcí voltametrie, případně elektrochemie ve výčtu použitých metod zcela chybí.

5. Závěr

Naskytá se otázka, co je tedy příčinou překvapivě malého využívání elektroanalytických metod při certifikačních analýzách a zda potenciál této významné skupiny metod nemůže být lépe využíván. Vývoj a zdokonalování, spolu se stále větším uplatněním výpočetní techniky v posledních letech, se samozřejmě úzce dotkl i elektrochemických metod. Že jsou jejich výsledky srovnatelné např. s výsledky AAS ukazuje článek¹³. Snaha o širší uplatnění těchto metod v rutinní praxi byla podpořena vydáním normy TNV 75 7389 *Jakost vod – stanovení rozpouštěné mědi, olova, kadmia, selenu, thallia, kobaltu, niklu, chromu a rtuti rozpouštěcí (stripping) voltametrií*. Lze jen doufat, že stejný průlom nastane i v certifikačních analýzách RM a elektroanalytické techniky jako zcela samostatné a principiálně odlišné metody se opět stanou plnohodnotným nástrojem v této oblasti.

Tato studie vznikla s podporou grantu Českého ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy č. MSM 412100004 a grantu GA ČR 525/02/0301.

Tabulka III

Metody použité při certifikační analýze CRM 403¹²

Adsorpční diferenční pulzní katodická rozpouštěcí voltametrie (Cd, Cu)

Katodická rozpouštěcí voltametrie (Mo, Ni)

Diferenční pulzní anodická rozpouštěcí voltametrie (Cd, Cu, Pb)

Diferenční pulzní katodická rozpouštěcí voltametrie (Zn)

Elektrotermická atomová absorpční spektrometrie (Cd, Cu, Pb, Ni)

Elektrotermická atomová absorpční spektrometrie se Zeemanovou korekcí pozadí (Cd, Cu, Pb, Mo, Ni, Zn)

Plamenová atomová absorpční spektrometrie (Zn)

Průtoková potenciometrická rozpouštěcí analýza (Cd, Cu, Pb)

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (Mo)

Isotopová zředovací hmotnostní spektrometrie (Cd, Cu, Pb, Zn)

Rentgenová fluorescence s totálním odrazem (Cu, Pb, Ni, Zn)

LITERATURA

1. ČSN 01 0115: *Mezinárodní slovník základních a všeobecných termínů v metrologii*. Praha 1996.
2. Barek J., Jánoš P., Koruna I., Meloun M., Plzák Z., Skácel F., Suchánek M., Tichý J., Vilímeček J., Vláčil F., Zima T.: *Chem. Listy* 94, 439 (2000).
3. Markert B., v knize: *Trace Elements in Water, Air, Soils and Plants* (Adriano D.C., Page A. eds.). CRC Press, Boca Raton 1993.
4. Suchánek M., Plzák Z., Mestek O.: *Chem. Listy* 89, 89 (1995).
5. ISO Guide 35: *Certification of Reference Materials – General and Statistical Principles*. Brusel 1989.
6. Kučera J., Mader P., Miholová D., Cibulka J., Poláková M., Kordík D.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 338, 66 (1990).
7. Miholová D., Mader P., Száková J., Slámová A., Svatoš Z.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 345, 256 (1993).
8. Barek J., Fogg A. G., Muck A., Zima J.: *Crit. Rev. Anal. Chem.* 31, 291 (2001).
9. Nordberg G., Brune D., Gerhardsson L., Grandjean Ph., Vesterberg O., Wester P. O.: *Sci. Total Environ.* 120, 17 (1992).
10. Mader P., Száková J., Čurdová E.: *Talanta* 43, 521 (1996).
11. Mader P., Čurdová E.: *Chem. Listy* 91, 227 (1997).
12. BCR, *Certificate of Analysis CRM 403*. Brusel 1991.
13. Šestáková I., Miholová D., Slámová A., Mader P., Száková J.: *Electroanalysis* 6, 1057 (1994).

P. Čížková and P. Mader[†] (*Department of Chemistry, Faculty of Agronomy, Czech Agricultural University, Prague*): **Application of Electrochemical Methods in Certification Analyses of Reference Materials**

The study is based on the author's experience obtained recently in certification analyses and preparation of reference materials of biological origin. The main problem of inefficient application of electroanalytical methods in the field consists in their considerable requirements for decomposition of biological materials.

Odborná skupina Chemie a technologie sacharidů ČSCH
a Ústav chemie a technologie Vysoké školy chemicko-technologické v Praze

pořádají přednášky

Profesora Antonio S. Barrose (*Univerzita v Aveiru, Chemický ústav, Portugalsko*)

s názvem

„Chemometrics applied to food chemistry instrumental data“

Přednášky proběhnou ve dnech 21. až 22. března 2005 od 14,00 h do 18,00 h v místnosti č. 40 a 23. března dopoledne v místnosti č. 48 budovy B Vysoké školy chemicko-technologické, Technická 3, 166 28 Praha 6.