

Analytická chemie životního prostředí
podzimní semestr, 2016/2017



Anton Kočan



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí



Národní centrum
pro perzistentní
organické polutanty



MU
BRNO



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY

Učební osnova

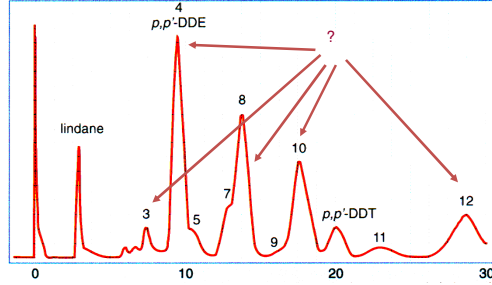
- 1. Úvod**
Význam analytické chemie při kontrole znečištění životního prostředí. Zdroje a transport polutantů v prostředí. Rozptyl, degradace a akumulace polutantů v prostředí, perzistence a biokonzentrace. Specifické problémy environmentální analýzy, obecné schéma analytického postupu.
- 2. Vzorování**
Kvalita vzorku, jeho velikost a počet, strategie odběru, vzorkovací plán, odběrový protokol, konzervace, transport a skladování vzorků. Techniky odběru vzorků ovzduší, aktivní a pasivní vzorkovače, atmosférická depozice, odběr srážkových, povrchových, podzemních vod, odběry tuhých vzorků, půd, odpadů, sedimentů, bioty, krmiv, potravin, biologických materiálů.
- 3. Zpracování vzorků**
Úprava vzorku před analýzou, extrakce tuhých vzorků pomocí rozpouštědel, extrakce vodných vzorků (kapalinou, plynem, na tuhou fázi), analýza rovnovážné plynné fáze.
Čištění a frakcionace vzorku (kolonová kapalinová chromatografie, gelová permeační chromatografie)
- 4. Techniky analytického stanovení**
Chromatografické techniky, jejich princip, instrumentace, využití, interpretace dat.
HPLC, GC, výběr kolon, fází, detektorů, GC-MS
- 5. Postupy stanovení významných polutantů ve složkách životního prostředí**
Prioritní polutanty, nové typy sledovaných polutantů, vlastnosti PCBs, PCDDs/Fs, PAHs, pesticidů, fenolů a chlorfenolů a jejich stanovení ve vzorcích ovzduší, vody, půd, sedimentů, bioty (homogenizace, extrakce, rozklad kyselinou, odstranění lipidů a interferentů, frakcionace, zakoncentrování, GC-ECD, GC-MS, HPLC).
- 6. Kvalita dat, základy QA/QC a GLP**
Kalibrace, její rozsah a linearita. Citlivost metody, mez detekce a mez stanovitelnosti. Přesnost, správnost, shodnost analytických dat, reprodukovatelnost a opakovatelnost. Výťažnost metody, referenční a certifikované materiály, obohacené a slepé vzorky, regulační diagramy. Mezilaboratorní srovnávací testy. Základy GLP, validace a verifikace metod, dokumentace, plány, standardní operační postupy, protokoly, uchování dat, akreditace.

Doporučená literatura:

- Reeve R.: Introduction to environmental analysis
- Fifield F.W., Haines P.J.: Environmental analytical chemistry
- Skoog D.A., Leary J.J.: Principles of instrumental analysis
- Hewitt C.N.: Instrumental analysis of pollutants
- Keith L.H.: Environmental sampling and analysis
- Popl M, Fahrnich J.: Analytická chemie životního prostředí
- Janko J., Chýlková J., Rusek V., Vlček J.: Analýza znečištění a technika jejich odběrů

História detekcie PCB v životnom prostredí (1)

- Začiatkom 60. rokov minulého storočia sa švédsky výskumník, Dr. Jensen pokúšal študovať hladiny DDT v ľudskej krvi a pri prezeraní plynovochromatografických záznamov pozoroval záhadnú skupinu chemických látok.



História detekcie PCB v životnom prostredí (2)

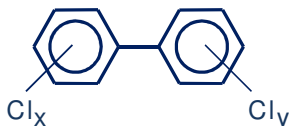
- Tieto zlúčeniny boli vo všetkých vzorkách, takže si nebol istý, či ide o prírodné alebo syntetické látky.
- Po 2 rokoch skúmania zistil, že tieto látky obsahujú chlór a chemicky sa podobajú DDT.
- Jensen zistil, že to nie sú pesticídy, pretože ich pozoroval aj v múzejných vzorkách pochádzajúcich z r. 1935, kedy sa ešte organochlórové pesticídy nepoužívali.

História detekcie PCB v životnom prostredí (3)

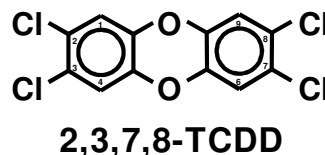
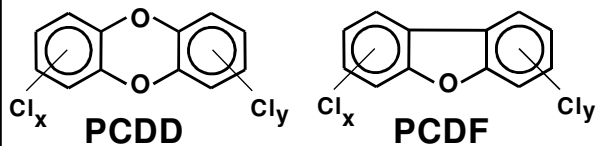
- Zistil, že vzorky pochádzajúce zo Švédska a okolitých morí obsahovali tieto látky. Dokonca vzorky vlasov jeho ženy a 3 detí obsahovali stopové množstvá. Najvyššie hladiny však pozoroval u svojej dcéry, ktorá bola ešte dojčena.
- V tomto momente Jensen nebol schopný sa pohnúť ďalej. Bez použitia referenčných štandardov, neumožňovala plynová chromatografia s klasickými detektormi identifikovať „nové“ zlúčeniny.

História detekcie PCB v životnom prostredí (4)

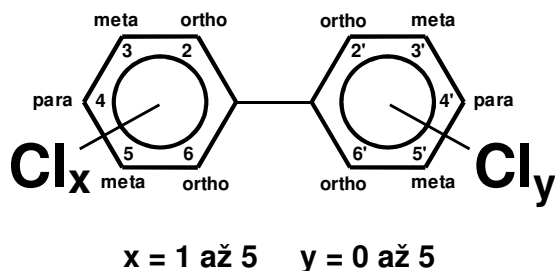
- Pretože obsah DDT a neznámych zlúčenín prítomných vo vzorke tuku z orla bol veľmi vysoký, Jensen využil hmotnostnú spektrometriu na identifikáciu, hoci v tom čase to nebol veľmi citlivý detektor v plynovej chromatografii. Získané hmotnostné spektrá ukázali, že ide o polychlóvané bifenyly (PCB).



Polychlóvané dibenzo-*p*-dioxíny a dibenzofurány

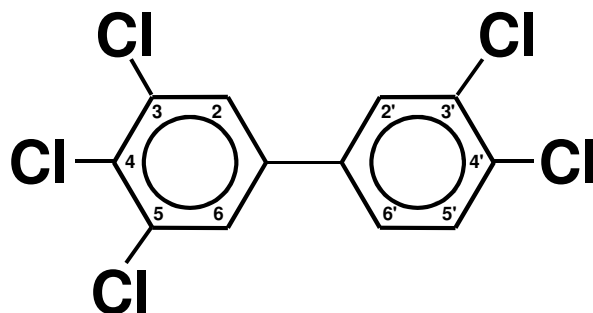


Zovšeobecnený vzorec PCB



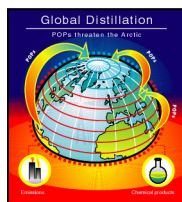
3,3',4,4',5-pentachlórbifenyl (PCB-126)

(kongenér s najvyššou dioxínovou toxicitou)



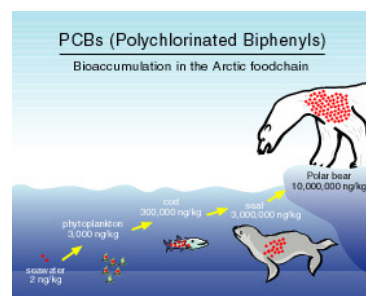
Čo sú to perzistentné organické polutanty (POPs-y)?

- Organické látky kontaminujúce životné prostredie, krmivá, potraviny a živé organizmy; Prenášajú sa vzduchom a vodnými tokmi aj do veľmi vzdialených oblastí zemegule, napr. Arktídy.



Čo sú to perzistentné organické polutanty (POPs-y)?

- OL, ktoré sa len pomaly odbúravajú v ŽP a živých organizmoch (perzistencia).
- OL, ktoré sa kumulujú v tkanivách a orgánoch živých organizmov, vr. človeka.



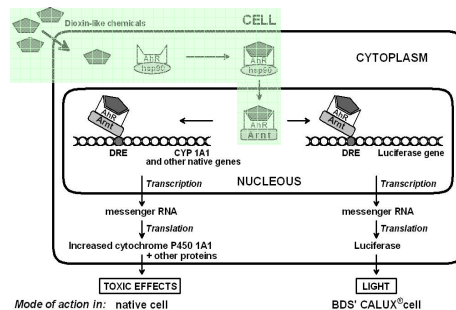
Čo sú to perzistentné organické polutanty (POPs-y)?

- OL, ktoré sú toxické pre živé organizmy, vr. človeka aj pri veľmi nízkych dávkach.



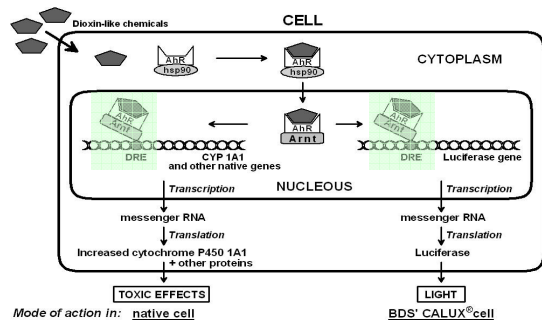
Čo je dioxínová toxicita (1)?

- Látky s dioxínovou toxicitou majú spoločnú vlastnosť, že sa viažu na vnútrobunkový aryl-hydrokarbónový receptor (AhR) a aktivujú ho.



Čo je dioxínová toxicita (2)?

- Tento komplex sa pohybuje smerom k bunkovému jadrú a viaže sa na špecifickú sekvenciu DNA, tzv. dioxínový odozvnový element (DRE).



Čo je dioxínová toxicita (3)?

- To spôsobí expresiu asociovaných génov, čo môže byť spúšťačom toxických prejavov.
- Takto pôsobia najmä 2,3,7,8-chlórsťsubstituované dioxíny a tzv. kopolanárne PCB. Ich dioxínová toxicita sa však líši medzi kongenérmi. Vyjadruje sa to k toxickej potencii 2,3,7,8-TCDD tzv. faktorom ekvivalentnej toxicity (TEF).
- Celková dioxínová toxicita vyjadrená ako tzv. toxický ekvivalent (TEQ) sa vypočíta:

$$TEQ = \sum_{i=1}^7 [PCDD_i] \times TEF_i + \sum_{i=1}^{10} [PCDF_i] \times TEF_i + \sum_{i=1}^{12} [PCB_i] \times TEF_i$$

Štokholmský dohovor o POPs

(do konca r. 2016 k dohovoru pristúpilo 180 štátov a ratifikovalo 152 štátov)

- Cieľom dohovoru je chrániť ľudské zdravie a životné prostredie pred perzistentnými organickými polutantmi s konečným cieľom ich úplnej eliminácie.
- Obvyklým spôsobom ako hodnotiť účinnosť dohovoru je sledovať (monitorovať) koncentrácie POPs uvedených v dohovore vo vybraných maticiach.

Pôvodných 12 POPs zahrnutých v ŠD:

1. Aldrin
2. Chlórdan
3. Dieldrin
4. Endrin
5. Heptachlór
6. Mirex
7. Toxafén
8. DDT
9. HCB
10. PCBs
11. Dioxíny
12. Furány

Ďalšie POPs doplnené do Štokholmského dohovoru:

13. α -Hexachlórcyklohexán (HCH)
14. β -HCH
15. Chlórdakon
16. Hexabrómbifenyľ
17. Hexabrómcykloodekán (HBCD)
18. Hexabrómdifenyľéter a heptaBDE (komerčný oktaBDE)
19. Hexabrómbutadién
20. Lindan (γ -HCH)
21. Pentachlórbenzén
22. Pentachlórfenol, jeho soli a estery
23. Perfluóroktánsulfónová kyselina (PFOA), jej soli a perfluóroktánsulfonylfuorid (PFOS-F)
24. Polychlórované naftalény
25. Technický endosulfan a príbuzné izoméry
26. Tetrabrómdifenyľéter a pentaBDE (komerčný pentaBDE)

Transport polutantov v prostredí

Zdroje znečistenia - bodové
- rozptýlené

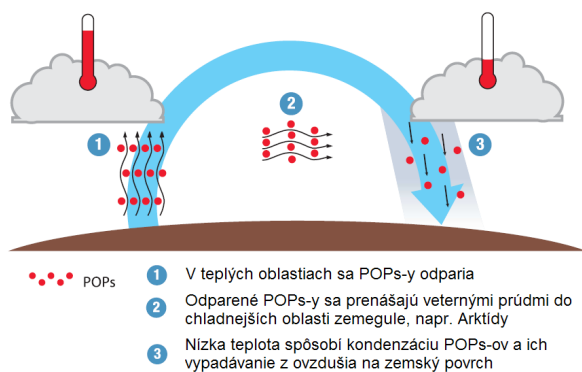
Polutanty sú často veľmi toxické a nepodliehajú rýchlej degradácii (sú perzistentné)

Dochádza k ich transportu a v závislosti na rozdeľovacom koeficiente n-oktanol/voda (K_{ow}) k:

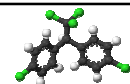
- Biokoncentrácia – príjem a zadržanie látky v organizme výlučne pobytom vodného živočícha vo vode (dýchanie, príp. prestup cez kožu) a suchozemského živočícha dýchaním vzduchu
- Bioobohacovanie – zvyšovanie koncentrácie látky cez príjem potravy (predátory majú vyšší obsah polutantov než ich obeť)
- Bioakumulácia – príjem látky všetkými možnými spôsobmi, t.j. dýchaním, prestupom cez pokožku a konzumáciou potravy

20

Prenos POPs-ov ovzduším



138 rokov DDT



1,1,1-trichlór-2,2-bis(4-chlórfenyľ)etán

- 1874 Otmar Zeidler publikuje metódu chemickej syntézy DDT.
- 1939 Paul Herman Müller objavuje insekticídne vlastnosti DDT.

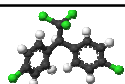


- 1943-45 DDT sa využíva počas 2. svet. vojny na ochranu vojakov a civilistov proti malárii, týfusu a ďalším chorobám prenášaným hmyzom.



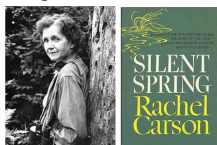
- 1948 Müller získava Nobelovu cenu za medicínu.

138 rokov DDT



1,1,1-trichlór-2,2-bis(4-chlórfenyľ)etán

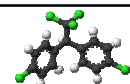
- 1962 Kniha *Silent Spring* od Rachel Carsonovej varuje pred negatívnym pôsobením DDT a ďalších pesticídov na ŽP.



- 1967 Orol bielochvostý je vo Švédsku ohrozený vyhynutím v dôsledku otravy s DDT.



138 rokov DDT

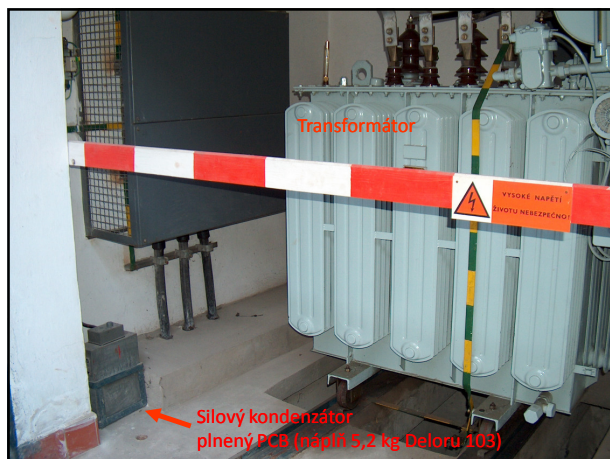


1,1,1-trichlór-2,2-bis(4-chlórfenyľ)etán

1970. roky Zákaz používania DDT v mnohých štátoch, vrátane Československa.

- 2004 Štokholmský dohovor o POPs zakazuje výrobu a použitie DDT, okrem prípadov, keď je nevyhnutné chrániť zdravie ľudí pred chorobami prenášanými hmyzom (napr. malária komármi).





Kroky kontroly chemického znečištění životního prostředí

- definice problému
- monitorování s cílem určit rozsah problému
- nalezení optimálního postupu pro kontrolu znečištění
- vyhodnocení stavu a prognóza vývoje kontaminace
- odhad expozice a posouzení rizik pro člověka
- návrh opatření
- vytvoření legislativy pro účinnou kontrolu
- monitorování pro zjištění účinnosti opatření

Specifické problémy environmentální analýzy

- široký rozsah koncentrací a vlastností analytů
- monitorování na hladinách blízkých mezi detekce (stopové a ultrastopové koncentrace analytů, riziko chyb)
- riziko sekundární kontaminace
- nehomogenita vzorků
- nutnost aplikace složitých metod pro izolaci analytů z matrice
- omezená stabilita analytů a matic
- cena instrumentace, čistých chemikálií, standardů

Obecné schéma analytického postupu

- odběr vzorku
 - konzervace
 - transport
 - skladování
- příprava vzorku
 - extrakce
 - přečištění, odstranění interferentů
 - frakcionace
 - zakoncentrování
 - derivatizace
- analytické stanovení
- interpretace dat

Monitoring

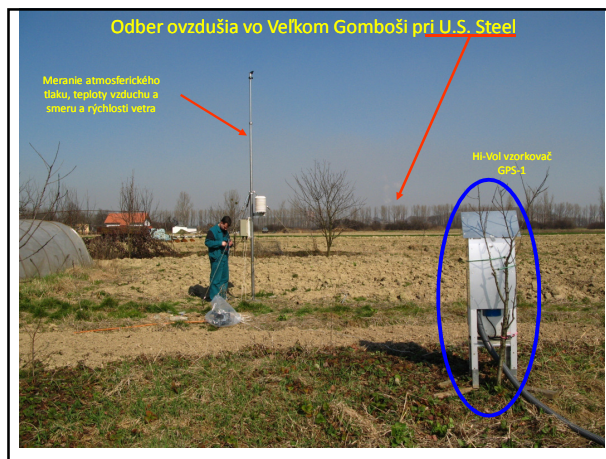
- Dlouhodobé pravidelné sledování přesně určených ukazatelů, důsledně definovaných v prostoru a čase, v bodech, tvořících síť reprezentující daný region.
- Jeho cílem je sledování určitého jevu či parametru v přesně definovaných časových a prostorových podmínkách.
- Skládá se z pozorování a měření, z hodnocení existujícího stavu a prognózy do budoucnosti.

Odběr vzorků

- předchází výběr
 - sledovaných látek
 - lokalit
 - frekvence, počtu vzorků
 - metod
- důraz na kvalitu
 - reprezentativnost
 - velikost
 - stabilitu
- optimální poměr mezi cenou a hodnotou dat

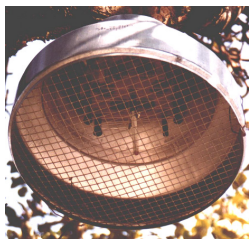
Zásady odběru vzorků

- Kvalitní dokumentace (číslo, jméno vzorku, lokalita, datum, osoba, místní pozorování a měření, metody).
- Zachování požadované kvality (inertní kontejner, rychlý transport a analýza, zmrazení vzorků).



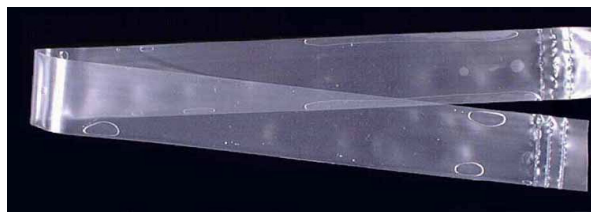
Techniky odběru ovzduší

- pasivní vzorkovače (náplň PUF, XAD živice, semipermeabilní membrána, extrakční disk EMPORE)

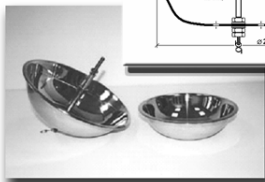
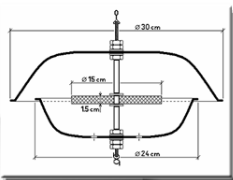


Semipermeabilná membrána

(vyrobená z polyetylénu o nízkej hustote, hrúbky 75 – 90 μm obvykle tvar vrecúška o dĺžke 91 cm a šírke 2,5 cm plneného 1 ml trioleínu)



Pasívne vzorkovače s PUF pre POPS-y



Atmosférická depozice

- mokrá (přenášena na zem srážkami, převládá v čistých oblastech)
- suchá (sedimentací velkých částic atmosférického prachu a vlivem znečišťujících plynů, převládá ve městech)

Odběr atmosférické depozice

- mokrá (odběr pouze srážek do automatických jímačů)
- suchá (funkce koncentrace složky v ovzduší a rychlosti depozice, sběrné nádoby)
- součet mokré a suché atmosférické depozice (sběrné nádoby, nálevky)

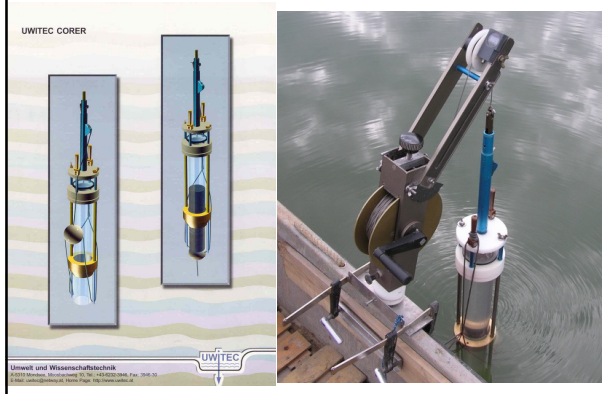
Vzorkování vod

- srážkové – sběrné nádoby, nálevky
– pasivní jímače vody z ovzduší
- povrchové – skleněné vzorkovnice
- podpovrchové – skleněné vzorkovnice plněné čerpadlem

Vzorky vod jsou nestabilní, vytěkávají, precipitují, fotochemicky se rozkládají, mikrobiálně degradují, snadno se kontaminují.

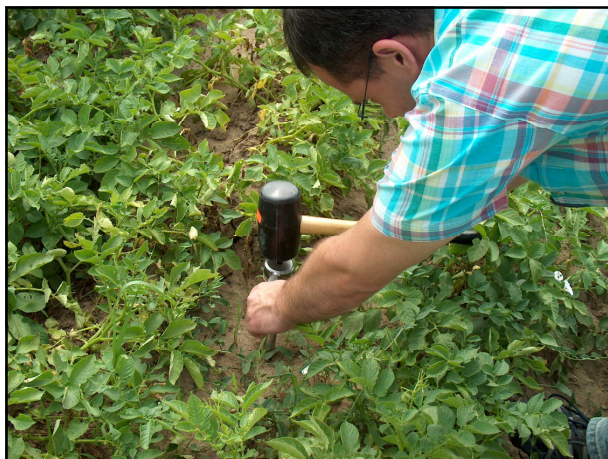
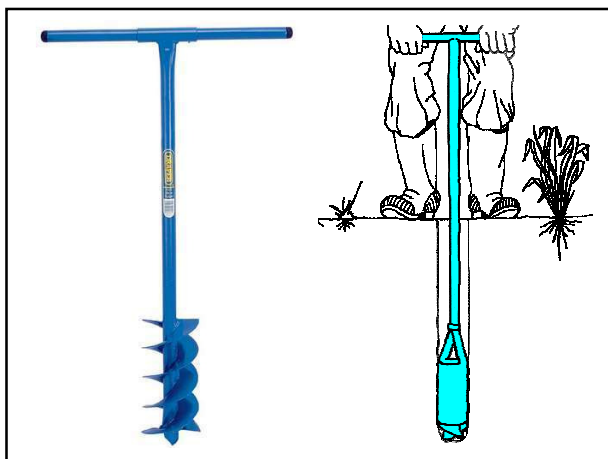
Je třeba analyzovat co nejrychleji, konzervovat nebo sorbovat (přenos analytů na tuhý sorbent).

Vzorkovanie sedimentu



Odběry vzorků půdy a tuhých odpadů

- nejtěžší matrice na vzorkování
- heterogenní materiál, omezená migrace látek
- vliv biologické aktivity, srážek, hnojení
- používají se rýče, vrtáky, trubkové vzorkovače
- nejprve orientační vzorkování, údaje o heterogenitě
- pak odebíráme několik vzorků, které promícháme
- obvykle vzorkujeme do hloubky 15 – 20 cm (pokud se nezabýváme profilem)





Čo je ľudský biomonitoring (HBM) ? (1)

- HBM je hodnotenie ľudskej expozície chemikáliám prítomným v ovzduší, vode, pôde, prachu, potravinách a/alebo ďalším environmentálnym médiám cestou merania týchto chemikálií a ich metabolitov prítomných v ľudských vzorkách ako sú krv, mlieko, moč, vlasy, sliny, stolica, tkanivá. Výsledok týchto meraní sa obvykle nazýva „zaťaženie organizmu“.
- HBM je nástroj, ktorý pomáha k lepšiemu pochopeniu ľudskej expozície k environmentálnym chemikáliám, tak prírodným ako aj vyrobeným človekom.
- Ak sa HBM vykonáva na reprezentatívnej vzorke populácie, napr. detí alebo dospelých v určitej oblasti, HBM sa môže použiť na dokumentovanie či takáto podskupina bola exponovaná niektorým chemikáliám a v akom rozsahu.

Čo je ľudský biomonitoring (HBM) ? (2)

- HBM je vedecká technika na hodnotenie ľudskej expozície environmentálnym polutantom a ich účinkov založená na vzorkovaní a analýze jednotlivých tkanív a tekutín. Kým krv, moč, materské mlieko a vydýchnutý vzduch sa analyzujú najčastejšie, je možné sledovať aj vlasy, nechty, tuk, kosti a ďalšie tkanivá.
- HBM umožňuje zistiť, či environmentálne polutanty, ktoré prenikli do ľudského organizmu zanechali markery odzrkadľujúce túto expozíciu. Takýto marker môže byť samotný polutant alebo jeho rozkladný/metabolický produkt ale môže to tiež byť nejaká zmena v organizme spôsobená interakciou polutantu alebo jeho degradačných produktov, ako sú zmeny v hladinách určitých enzýmov alebo ďalších proteínov, čo môže viesť k zmenám normálnych telesných procesov.

HBM je využiteľný na:

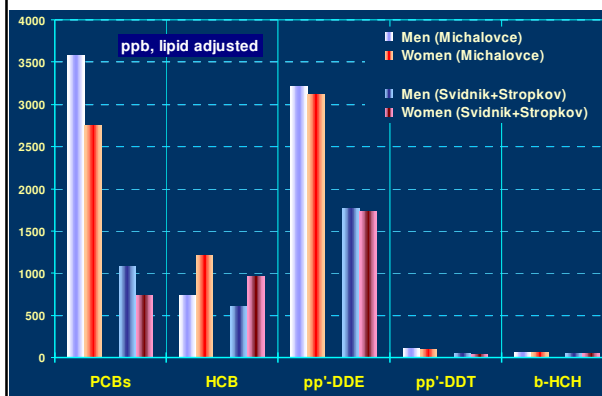
- posilnenie regulačných opatrení poskytnutím aktuálnych údajov o chemikáliách dostávajúcich sa do ľudskej populácie a v akej miere.
- zdokonalenie hodnotenia expozície.
- určenie východiskových hladín alebo referenčných rozsahov.
- napomáhanie právu ľudí vedieť aké chemikálie sa nachádzajú v ich telách.
- určenie priorit na riešenie environmentálnych problémov.

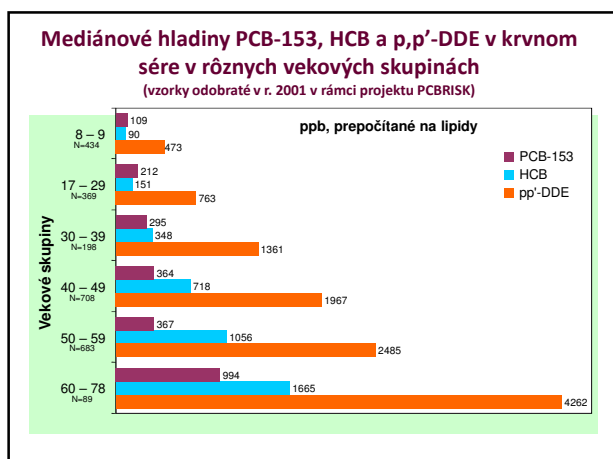
Niektoré faktory ovplyvňujúce HBM (1)

- Tukovosť a zloženie materského mlieka sa dramaticky mení počas prvých týždňov po pôrode, čo tiež vedie ku kolísaniu hladín POPs. Aby sa potlačili tieto kolísania, odber vzoriek by sa mal realizovať v určitom čase, napr. 3 – 8 týždňov po pôrode a po dojčení, pretože obsah tuku je iný na začiatku dojčenia a iný na jeho konci.
- Ak sa odoberie iba málo vzoriek s úzkej skupiny populácie, môže to viesť k falošným predpokladom, že výsledky sú platné pre celú populáciu, napr. tak pre mužov ako aj ženy alebo pre rôzne vekové skupiny.

Porovnanie hladín niektorých POPs v ženách a mužoch

- Projekt PCBRIK (r. 2001) -



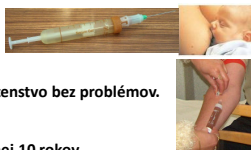


Niektoré faktory ovplyvňujúce HBM (2)

- Verí sa, že presnosť chemických analýz vplyva iba málo na celkový rozptyl výsledkov v nejakom monitorovacom programe, keďže sa predpokladá, že rozptyl vo vzorkách je oveľa väčší než laboratórna presnosť.
- To je pravda, ak tieto vzorky analyzuje to isté akreditované laboratórium. Avšak, ak vzorky analyzujú rôzne laboratória, najmä z rôznou analytickou kvalitou, môže to potlačiť alebo dokonca znemožniť hodnotenie zmeny hladín, napr. POPs v počas rokov kedy sa monitoring vykonáva.
- To isté môže platiť, ak laboratórium zmenilo metodológiu. Napr. ak vyriešilo separáciu analytu od rušiaceho kongenérú, čo spôsobilo pokles stanovených hladín tohto kongenérú.
- Rovnako, ak sa vylepší (zniži) medza stanovenia, čo spôsobí, že sa stanovia analyty, ktoré sa predtým udávali ako nedetegované, môže to viesť k podobným problémom v závislosti ako sa pracovalo s výsledkami < LOD.

Odber vzoriek materského mlieka a krvi

- Materské mlieko sa odoberá podľa WHO protokolu.
- Krv od matky sa odoberá podľa AMAP protokolu.
- V každom štáte sa musí odobrať najmenej 50 vzoriek. Štáty, ktoré majú > 50 mil. obyvateľov by mali na každý milión nad 50 mil. odobrať najmenej 1 vzorku navyše.
- Výberové kritériá pre matky:
 - ✓ Matka je prvoroďička
 - ✓ Vek matky pod 30 rokov
 - ✓ Tak matka aj dieťa musia byť zdraví; tehotenstvo bez problémov.
 - ✓ Matka dojčí iba jedno dieťa (nie dvojčičky).
 - ✓ Matka býva oblasti bez prerušenia najmenej 10 rokov.
 - ✓ Matky, ktoré mohli byť vystavené vysokej expozícii POPs-om (žijúce v okolí spaľovni odpadu, celulózok, metalurgických závodov alebo kde sa vyrábali organochlórové chemikálie sú vylúčené z monitoringu, pretože by mohli skresľovať výsledky.



Odber vzoriek

- Vzorkovanie sa vykonáva medzi 3. až 8. týždňom po pôrode.
- Odoberie sa najmenej 50 ml mlieka ručným vytlačaním po dojčení alebo, kým dieťa pije z druhého prsníka, a tak využiť „let-down“ reflex. Môže sa tiež použiť vyčistená odsávačka mlieka. Matka môže odoberať mlieko doma. Dostane podrobné inštrukcie na odber, uskladnenie a transport vzorky a čistú sklenenú nádobu na vzorku s uzáverom.
- Vzorka by sa mala odobrať priamo do dodanej sklenenej nádoby. Ak ju matka odoberá doma, uskladní sa v mrazničke až do odoslania do laboratória. V chladničke pri 4 °C sa môže uskladiňovať max. 3 dni. Ak nie je k dispozícii chladnička pridá sa tabletka K₂Cr₂O₇ na chemickú sterilizáciu mlieka.



Method 1613
Tetra- through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS

October 1994

U.S. Environmental Protection Agency
Office of Water
Engineering and Analysis Division (5303)
401 M Street S.W.
Washington, D.C. 20460

Method 1668, Revision A: Chlorinated Biphenyl Congeners in Water, Soil, Sediment, and Tissue by HRGC/HRMS

Úprava vzorků půdy před extrakcí

- sušení volně na vzduchu nebo lyofilizací
- přesítí přes síto s oky 2 mm (odstranění hrubého písku); (jíl je < 2 μm)
- mletí nebo rozetření v misce
- subvzorkování pro zachování homogenity
- uchovávaní v uzavřených prachovnicích
- chránit před světlem a teplem



Odběry sedimentů a odpadních kalů

- vzorky s vysokým obsahem vody, nehomogenní, vyžadují zvláštní úpravu
- odebírá se několik vzorků a promíchá se
- podle hloubky odběru se dá usuzovat na stáří kontaminace
- používají se drapákové vzorkovače a bagry pro vzorkování bez vertikální struktury
- tyčové vzorkovače pro vzorkování profilu

Úprava vzorků sedimentů před extrakcí

- odstranění kamenů a vody (dekantací)
- sušení volně na vzduchu nebo lyofilizací
- rozemletí a separace frakce vhodné zrnitosti (< 63 um)
- subvzorkování pro zachování homogenity
- uchovávání v uzavřených prachovnicích
- chránit před světlem a teplem
- pro odstranění síry se přidává prášková měď

Odběr biotických vzorků

- Flóra - sběr, trhání nadzemních částí aspoň 3 cm nad zemí
- Fauna - pasti, sítě, lov, vyhrabávání

Vzorky jsou nestabilní, biologicky aktivní, s časem mění své složení. Chráníme je před vyšší teplotou a světlem, skladujeme ve vzduchotěsně uzavřených kontejnerech, zpracujeme co nejdříve.

Úprava biotických vzorků před extrakcí

- Rostlinné vzorky - usušíme (nejlépe lyofilizací)
- rozetřeme v třecí misce, rozmixujeme
- Živočišné vzorky - lyofilizujeme
- rozmixujeme, homogenizujeme
- vysušíme, např. s Na₂SO₄

Příprava vzorků ovzduší

- filtry z odběrových zařízení jsou extrahovány horkým organickým rozpouštědlem (Soxhlet, Randall, Twisselman), pomocí ultrazvukové, mikrovlnné, superkritické, zrychlené tlakové extrakce
- čištění vzorků zahrnuje odstranění interferujících látek, které se extrahují spolu s analyty (např. působením H₂SO₄, alkalického hydroxidu, pomocí gelové permeační chromatografie)
- frakcionace jednotlivých analytů sloupcovou kapalinovou chromatografií (silikagel, modifikovaný silikagel, florisil, aktivní uhlí)
- zakoncentrování

Příprava vzorků vod

- Při vysoké koncentraci a čistotě je možná přímá analýza
- Extrakce
 - plynem (statický head space)
 - plynem se zkoncentrováním na sorbent (dynamický head space, purge and trap)
 - nemísitelnou kapalinou (LLE) v dělicí nálevce, např. hexanem
 - extrakcí na tuhou fázi (SPE, SPME) – klíčový je výběr extrakčního sorbentu a elučního rozpouštědla
- Čištění a frakcionace
 - jeli potřeba tak podobně jak při zpracování půd nebo sedimentů

Příprava vzorků půd a sedimentů

- extrakce horkým organickým rozpouštědlem (Soxhlet, Randall, Twisselman), pomocí zrychlené tlakové, ultrazvukové, mikrovlnné, nebo superkritické extrakce
- u sedimentů je nezbytné odstranění síry, např. aktivovanou práškovou mědí
- čištění vzorků od interferujících látek (např. na koloně plněné silikagelem modifikovaným kyselinou sírovou, alkalickým hydroxidem, AgNO₃)
- frakcionace analytů sloupcovou kapalinovou chromatografií (oxid hlinitý, florisil, aktivní uhlí)
- zakoncentrování

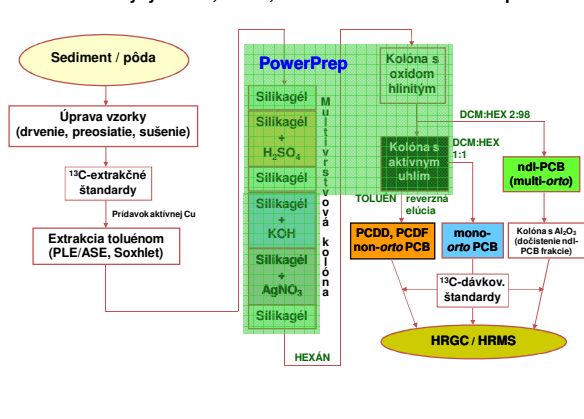
Příprava biotických vzorků

- extrakce horkým organickým rozpouštědlem (Soxhlet, Randall, Twisselman), pomocí zrychlené tlakové, ultrazvukové, mikrovlnné, superkritické extrakce, SPE
- odstranění vysokomolekulárních látek (lipidů) pomocí gelové permeační chromatografie nebo kyselinou sírovou
- čištění vzorků (např. na koloně plněné silikagelem modifikovaným kyselinou sírovou, alkalickým hydroxidem)
- frakcionace analytů sloupcovou kapalinovou chromatografií (oxid hlinitý, florisil, aktivní uhlí)
- zakoncentrování

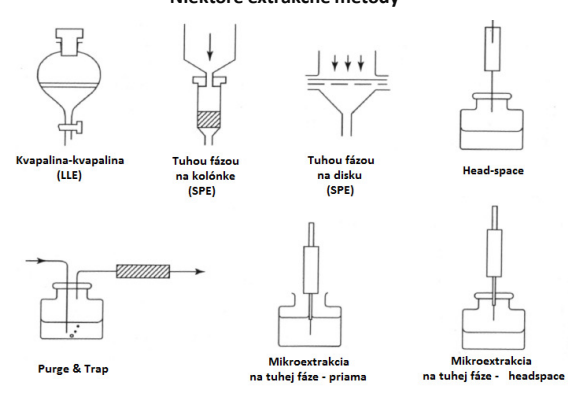
Příprava biotických vzorků

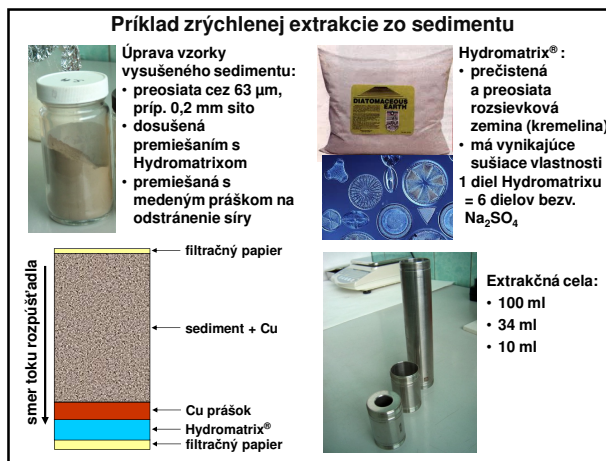
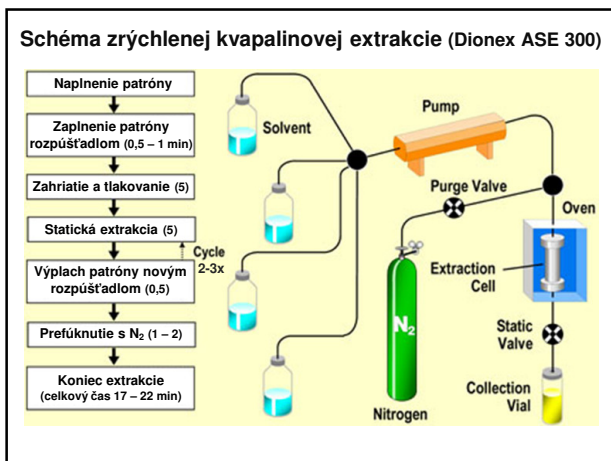
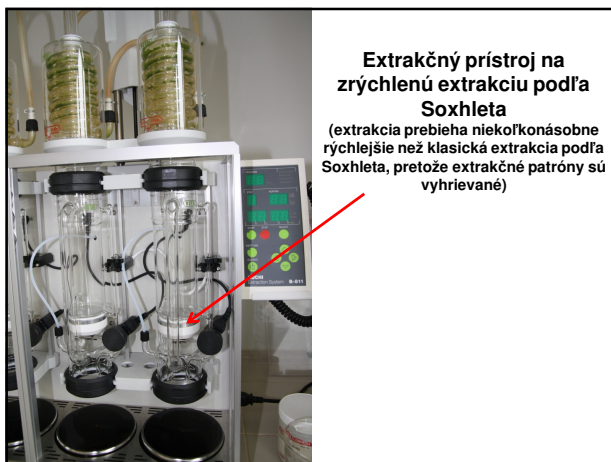
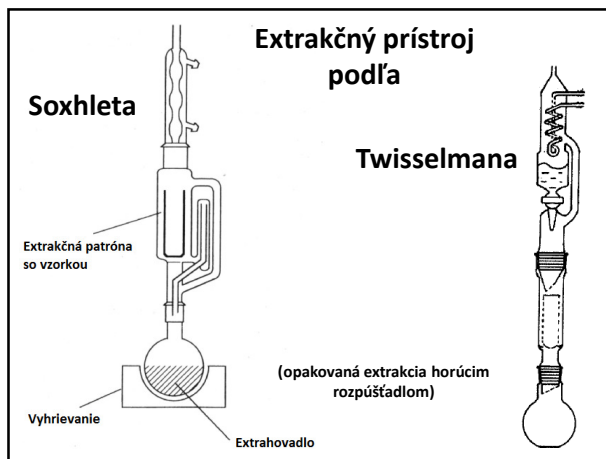
- extrakce horkým organickým rozpouštědlem (Soxhlet, Randall, Twisselman), pomocí zrychlené tlakové, ultrazvukové, mikrovlnné, superkritické extrakce, SPE
- odstranění vysokomolekulárních látek (lipidů) pomocí gelové permeační chromatografie nebo kyselinou sírovou
- čištění vzorků (např. na koloně plněné silikagelem modifikovaným kyselinou sírovou, alkalickým hydroxidem)
- frakcionace analytů sloupcovou kapalinovou chromatografií (oxid hlinitý, florisil, aktivní uhlí)
- zakoncentrování

Schéma analýzy PCDD, PCDF, dl- a ndl-PCB v sedimente/půde



Niektoré extrakčné metódy

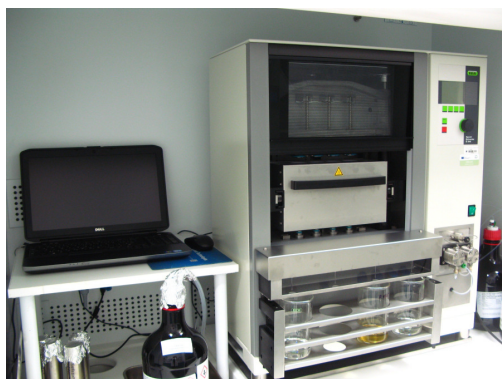




Extraktor na tlakovú kvapalinovú extrakciu (PLE) od fy FMS



Extraktor na tlakovú rozpúšťadlovú extrakciu (PSE) od fy Büchi (SpeedExtractor E-914)



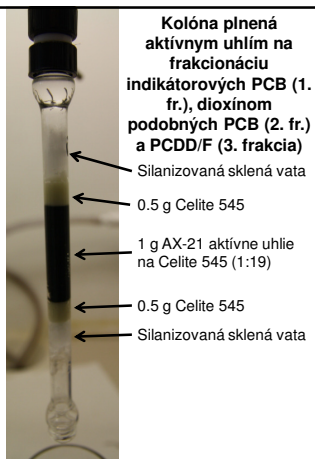
Izolácia PCB a ďalších POPs z krvného séra na tuhej fáze (C₁₈-SPE)



H₂SO₄/silikagelová kolóna používaná na počiatočné čistenie extraktov



Kolóna plnená aktívnym uhlím na frakcionáciu indikátorových PCB (1. fr.), dioxínom podobných PCB (2. fr.) a PCDD/F (3. frakcia)

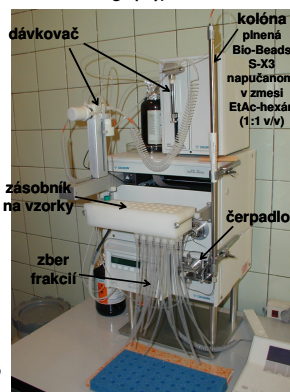
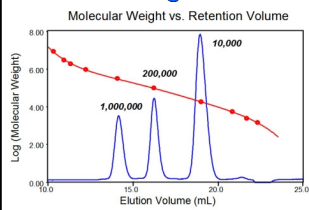


- Silanizovaná sklená vata
- 0.5 g Celite 545
- 1 g AX-21 aktívne uhlie na Celite 545 (1:19)
- 0.5 g Celite 545
- Silanizovaná sklená vata

Gélová permeačná chromatografia (GLC)

(patrí do skupiny size exclusion chromatography)

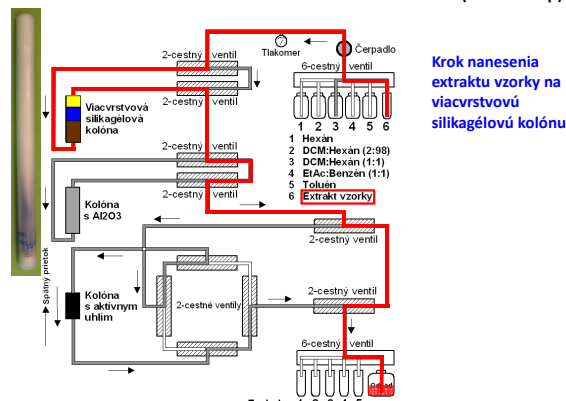
Polystyrénový polymér kroslinkovaný prídavkom divinylbenzénu – množstvo DVB určuje veľkosť pórov



Automatizovaný systém spracovania vzoriek Power-Prep™
(konfigurácia pre 2 vzorky)

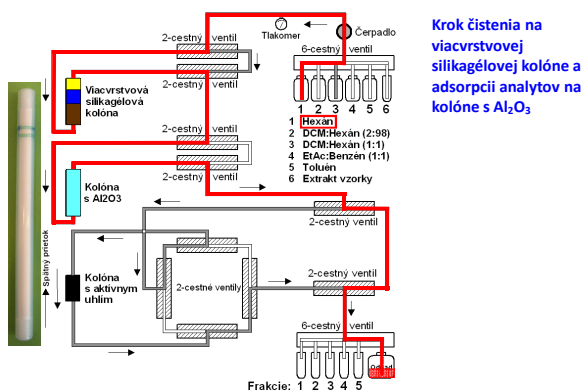


Schéma automatizovaného zariadenia na čistenie vzoriek (Power-Prep)



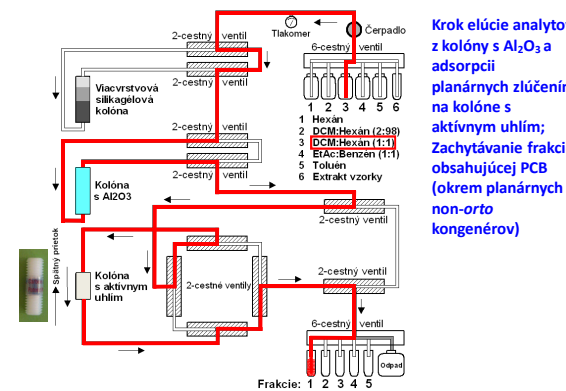
Krok nanesenia extraktu vzorky na viacvrstvovú silikagelovú kolónu

Schéma automatizovaného zariadenia na čistenie vzoriek (Power-Prep)



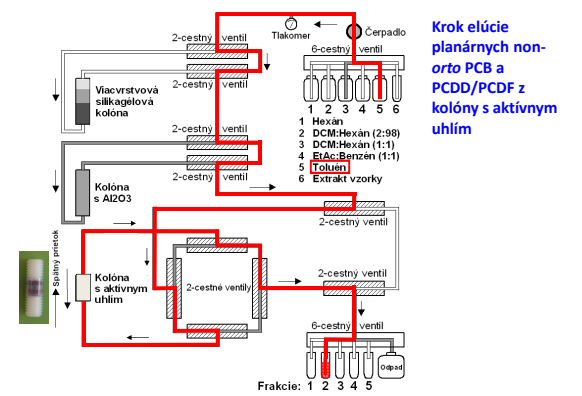
Krok čistenia na viacvrstvovej silikagelovej kolóne a adsorpcii analytov na kolóne s Al₂O₃

Schéma automatizovaného zariadenia na čistenie vzoriek (Power-Prep)



Krok elúcie analytov z kolóny s Al₂O₃ a adsorpcii planárnych zlúčenín na kolóne s aktivným uhlím; Zachytávanie frakcie obsahujúcej PCB (okrem planárnych non-orto kongenénov)

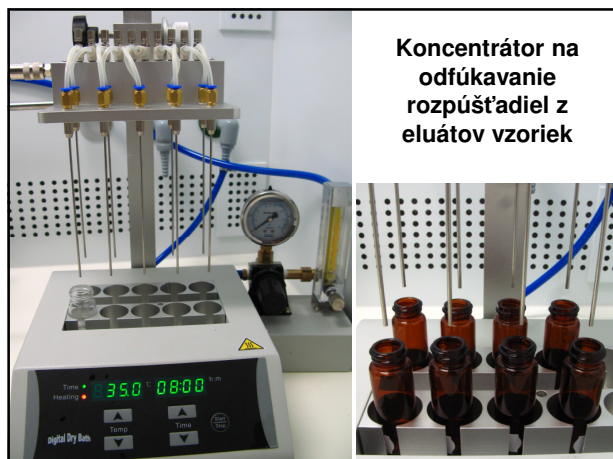
Schéma automatizovaného zariadenia na čistenie vzoriek (Power-Prep)



Krok elúcie planárnych non-orto PCB a PCDD/PCDF z kolóny s aktivným uhlím

Konzentrátor TurboVap LV na odčúvanie rozpúšťadla z extraktov





Koncentrátor na odfúkavanie rozpúšťadiel z eluátov vzoriek

Derivatizácia analytov

Je to proces, ktorým sa pôvodná zlúčenina mení na zlúčeninu s vlastnosťami vhodnejšími na stanovenie.

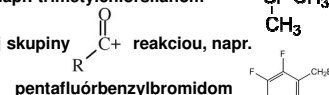
V prípade, že sa na analýzu používa plynová chromatografia tak dôvodom na derivatizáciu je nízka prchavosť analytu, tepelná nestabilita, sorpcia v injektore, nekvalitná separácia v kolóne, nízka odozva v detektore.

Ak sa používa GC, základné typy derivatizácie sú:

- Silanizácia – reakcia aktívneho vodíka so zlúčeninami s tri- alebo dimetylsilyl skupinou, napr. trimetylchlórsilánom



- Acylácia – zavedenie acylovej skupiny $\text{R}-\text{C}(=\text{O})^+$ reakciou, napr.



- Alkylácia – nahradenie kyslého vodíka s alkylovou (metylovou) skupinou, napr. reakciou s diazometánom ($\text{CH}_2=\text{N}^+=\text{N}^-$)

Kvalitatívna a kvantitatívna analýza organických polutantov vo vzorkách zo životného prostredia

Rozdelenie podľa princípu merania:

- Bioanalytické metódy (CALUX, ELISA, RIA)
- Fyzikálnochemické metódy (GC/MS, GC/ECD, TLC)

Rozdelenie podľa kvality merania:

- Skriningové metódy (všetky bioanalytické metódy, TLC, GC/ECD, GC/LRMS)
- Konfirmačné metódy (GC/HRMS, GC/MS-MS)

Kvalitatívna a kvantitatívna analýza organických polutantov vo vzorkách zo životného prostredia (1)

- Skriningové bioanalytické metódy

- Imunotesty – sú založené na vysoko špecifickom väzbaní určitých organických zlúčenín (antigénov) na protilátky (antibodies) – princíp „zámok-kľúč“.

Príklady imunotestov:

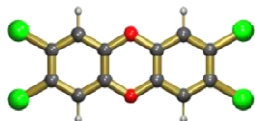
- **Rádiomunoassay (RIA)**, v ktorom do extraktu vzorky pridá špecifická protilátka s naviazaným rádioaktívnym ligandom. Analyt kompetuje s týmto ligandom. Po separácii, napr. na filtrí sa zmeria rádioaktivita filtra. Platí, čím nižšia aktivita, tým vyššia koncentrácia analytu, ktorý vytlačil ligand z protilátky.
- **ELISA** (enzyme-linked immunosorbent assay), v ktorom sa do extraktu vzorky pridá špecifická protilátka s už naviazaným značeným antigénom imobilizovaná napr. na stenách skúmavky. Analyt, t.j. antigén kompetuje so značeným antigénom. Po krátkej inkubácii sa vzorka s neviazaným analytom vypláchne. Pridá sa chromogénny substrát, ktorý vytvára farebný produkt s enzýmom na značenom antigéne. Intenzita zafarbenia sa meria fotometricky. Platí, čím nižšia intenzita zafarbenia tým vyššia koncentrácia analytu.

Kvalitatívna a kvantitatívna analýza organických polutantov vo vzorkách zo životného prostredia (2)

- Skriningové bioanalytické metódy

- Imunotesty

- **Ah-receptor immunoassay**, v ktorom sa do extraktu vzorky na špeciálnej platničke pridá reakčná zmes obsahujúca Ah-receptor a nechá sa inkubovať. Zlúčeniny s dioxínovou aktivitou sa naviažu na AhR a komplex sa zachytí na platničke. Zvyšok vzorky sa vypláchne. Pridá sa protilátka, ktorá zafarbí iba AhR s analytom. Platí, čím vyššia intenzita zafarbenia, tým vyššia koncentrácia analytu.



2,3,7,8-tetrachlórdibenzo-*p*-dioxín

škodlivina s doteraz najvyššie známou afinitou k arylhydrokarbónovému receptoru

Kvalitatívna a kvantitatívna analýza organických polutantov vo vzorkách zo životného prostredia (2)

- Skriningové bioanalytické metódy

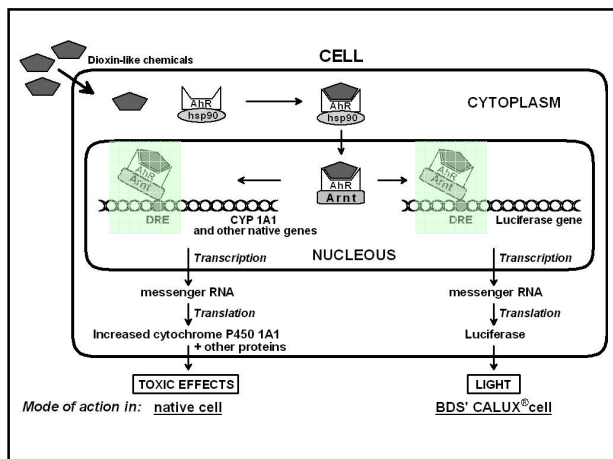
- Biotesty – sú založené na interakcii analytu so živou bunkou

Príklad biotestu pre zlúčeniny s dioxínovou toxicitou:

- DR CALUX (Chemical-Activated Luciferase gene eXpression)

Zlúčeniny s dioxínovou toxicitou prenikajú bunečnou membránou a viažu sa na Ah-receptor, ktorý je spojený s proteínom hsp90. Tento komplex sa uvoľní a migruje do bunečného jadra. Viaže sa na AhR jadrový translokátorový proteín (Arnt), ktorý interaguje so špecifickými sekvenciami DNA, tzv. dioxínovými odozvovými elementami (DRE). Tým sa indukuje transkripcia určitých génov. Následne sa produkuje niekoľko proteínov, vč. cytochromu P4501A1. Výsledkom sú viaceré toxické účinky.

Tento princíp sa využíva v komerčne dostupných biotestoch CALUX. Využívajú sa potkanie, myšie alebo ľudské rakovinové pečenevé bunky, ktoré sú geneticky modifikované luciferázovým reportérovým génom získaným zo svetlušky. Tieto bunky po expozícii dioxínovým zlúčeninám emitujú svetlo, ktorého intenzita závisí od koncentrácie týchto látok. Meria sa spektrofotometricky (luminometrom).



Kvalitatívna a kvantitatívna analýza organických polutantov vo vzorkách zo životného prostredia (3)

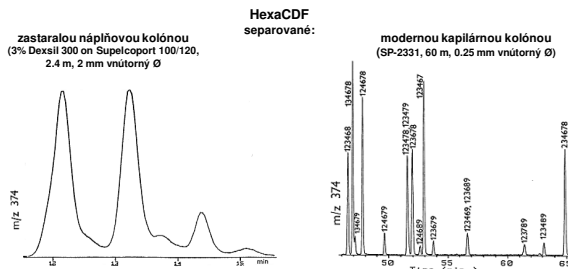
- Fyzikálno-chemické analytické metódy založené na chromatografickej separácii zmesí zlučienin v extrakte a následnej detekcii a kvantifikácii niektorým z detektorov, najčastejšie hmotnostnospektrometrickým detektorom.
- Na separáciu pri analýze organických látok v environmentálnych vzorkách sa v súčasnosti používajú takmer výhradne separačné metódy založené na vysokoučinnnej plynovej chromatografii (HRGC) alebo vysokoučinnnej (vysokotlakej) kvapalinovej chromatografii (HPLC, UHPLC)
- Tenkovrstvová a papierová chromatografia – používajú sa na skríningové stanovenie

Princíp chromatografie (1)

- Chromatografia je fyzikálna metóda separácie, pri ktorej sa využíva rozdielna afinita zložiek v zmesi k dvom navzájom nemiešateľným fázam.
- Aj je táto afinita daná rozdielnym adsorpčným (*adsorpčná chromatografia*) alebo rozdeľovacím koeficientom (*rozdeľovacia chromatografia*) separovaných látok medzi dvoma nemiešateľnými fázami, tj. stacionárnou fázou (adsorbent alebo viskózná kvapalina) a mobilnou fázou (plyn alebo kvapalina).
- Ak sa zlučiny separujú podľa veľkosti svojich molekúl – gélová chromatografia; ak sa na ionex vymieňajú kationy alebo anióny – ionexová chromatografia

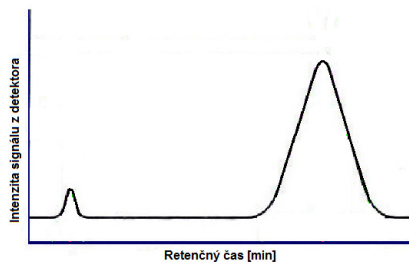
Princíp chromatografie (2)

- Separatívny proces v súčasných HRGC a UPLC/HPLC sa skladá s veľkého množstva (až niekoľko stotisíc) jednotlivých separatívnych rovnováh, čo znamená, že sú tieto typy chromatografie najúčinnnejšie, a preto najpoužívanejšie v separácii zložitých zmesí environmentálnych polutantov.



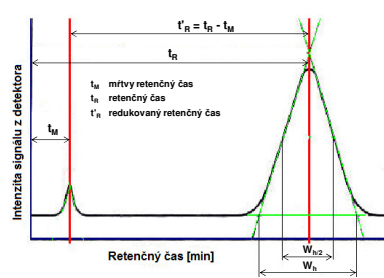
Chromatogram

- Je grafickým výstupom z chromatografu, konkrétne z jeho detektora.
- V prípade najčastejšie použíwanej plynovej chromatografie a vysokotlakej kvapalinovej chromatografie je to chromatogram skladajúci sa z elučných vln (píkov); Na osi x je retenčný čas a na osi y intenzita nameraná niektorým z detektorov (FID, ECD, MS, DAD, a i.).

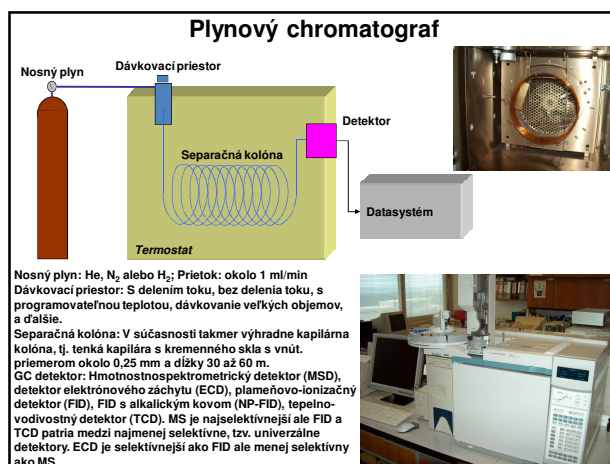
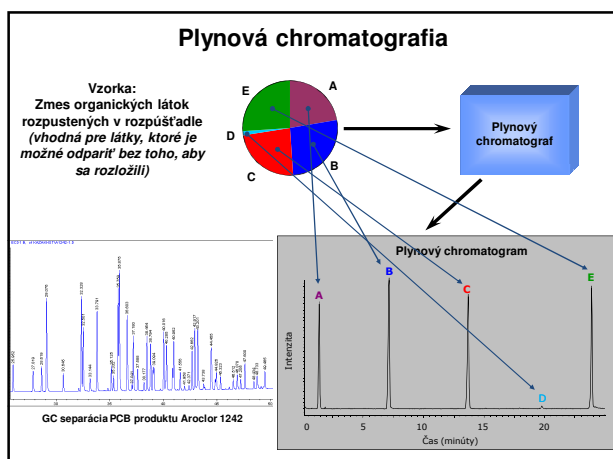


Chromatogram (2)

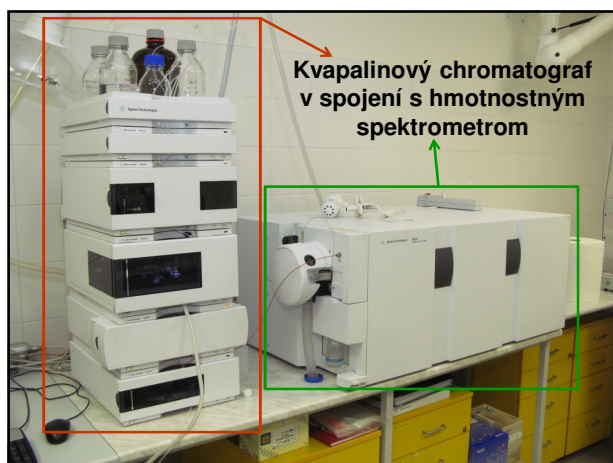
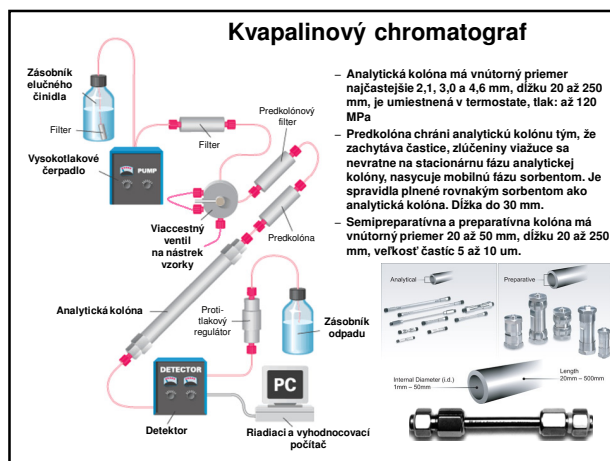
- Retenčný čas je kvalitatívnym údajom slúžiacim na výpočet retenčných indexov (napr. Kovatsovho RI) charakterizujúcim separovanú zlučninu. Spolu so šírkou píku sa používajú na výpočet rozlíšenia 2 píkov a počtu pater pre danú kolónu. Ak sa použije hmotnostná spektrometria ďalším údajom pre kvalitatívnu analýzu je hmotnostné spektrum alebo pomer intenzít monitorovaných vybraných iónov zo spektra.



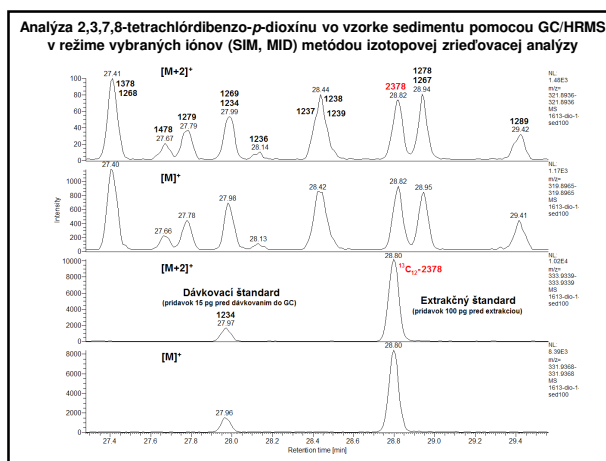
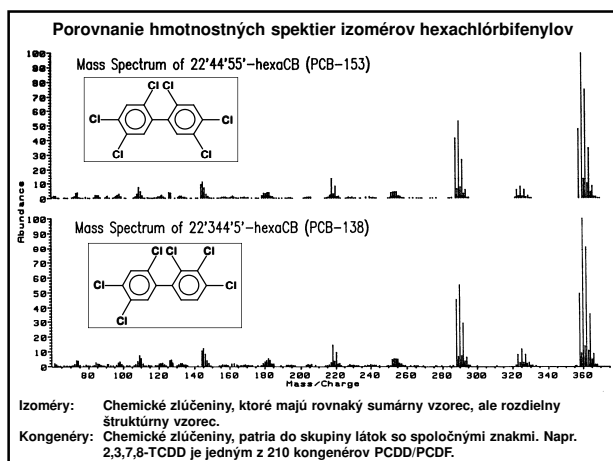
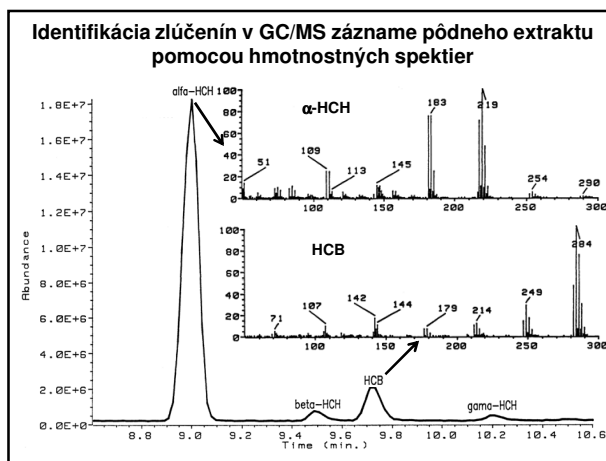
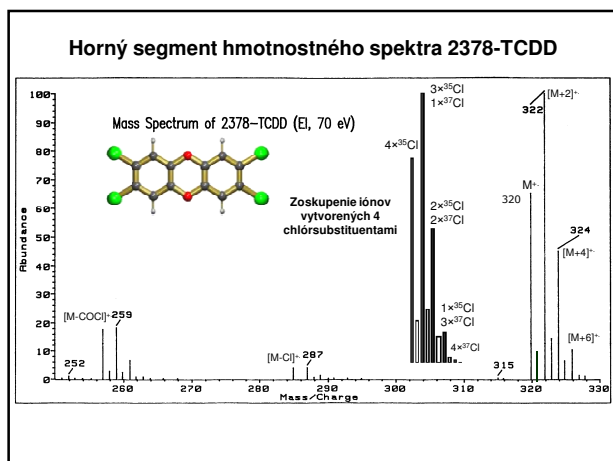
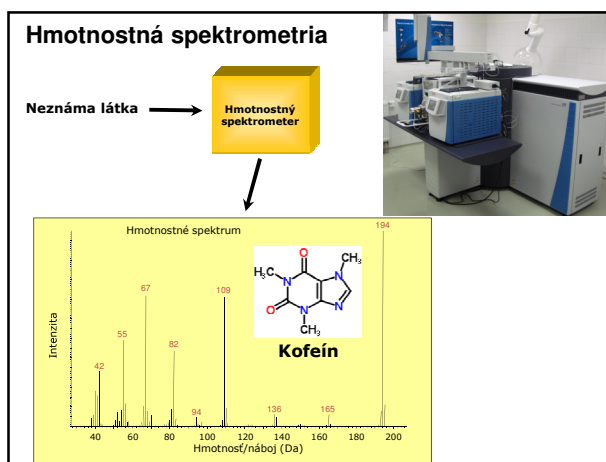
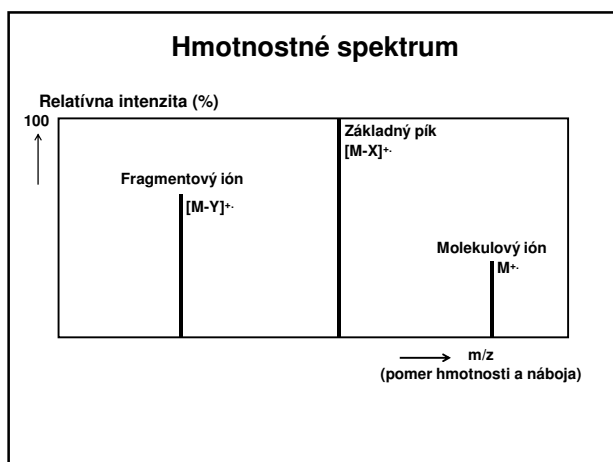
- Kvantitatívnym údajom je plocha píku. Kvantifikácia sa vykonáva porovnaním plochy s údajmi v kalibračnej krivke alebo interným štandardom pridaným do vzorky pred jej spracovaním.



- ### Vysokoučinná kvapalinová chromatografia (ultravysokoučinná, vysokotlaková)
- Vhodná pre separáciu organických látok, napr. biologicky aktívnych látok, liečiv, vitamínov, drog, bielkovín, metabolických produktov, stereoizomérov, zmesi polárnych látok. Nenahraditeľná na stanovenie tepelne labilných látok (nie je možné použiť GC).
 - Mobilnou fázou je kvapalina, často zmes kvapalín (napr. voda, metanol, acetonitril, rôzne pufré). Využíva sa gradientová elúcia, t.j. plynulá zmena koncentrácie zložiek v mobilnej fáze.
 - Stacionárnou fázou je sorbent, napr. chemicky modifikovaný silikagél, oxid hlinitý, rôzne polyméry, aktívne uhlie; Veľkosť častíc už od 1,7 μ m.
 - Detektory: Hmotnostnospektrometrické (LRMS, MS-MS, TOF), optické (absorpčný UV/visible, fotometrický, fluorescenčný, refraktometrický, odparovací detektor rozptylu svetla), elektrochemické (coulometrický, ampérometrický), vodivostný; MS detektor je najselektívnejší.



- ### Hmotnostná spektrometria (MS)
- Používa sa na identifikáciu tak jednoduchších ako aj zložitých organických zlúčenín počínajúc prchavými zlúčeninami a končiac peptidmi pomocou nameraných hmotnostných spektier.
 - V posledných 30 rokoch sa masovo využíva ako selektívny detektor v plynovej a kvapalinovej chromatografii v oblasti environmentálnej analýzy, analýzy liečiv, drog, dopingu, metabolických a degračných produktov, toxických a esenciálnych prvkov.
 - MS je deštruktívny detektor (ako FID), t.zn., zlúčeniny sa počas detekcie chemicky menia. Medzi nedeštruktívne detektory patria, napr. TCD, UV/VIS detektor, refraktometrický detektor. V praxi to znamená, že za nedeštruktívnym detektorom môže byť umiestnený iný detektor.
 - MS patrí medzi vysokocitlivé a selektívne detektory.
 - MS sa najčastejšie používa v režime nízkeho rozlíšenia (LRMS) využívajúc separáciu iónov napr. kvadrupolovým analyzátorom. Vyskej selektivity a citlivosti sa dosahuje ak sa odseparovaný vybraný ión z 1. stupňa spektrometra znova ionizuje a separuje – tento typ MS sa nazýva tandemová MS (MS-MS).
 - Medzi najselektívnejší MS detektor patrí vysokorozlišovací hmotnostný spektrometer využívajúci separáciu iónov magnetom a fokusáciu elektrickým poľom. Kvantifikovateľnú odozvu poskytuje už niekoľko fg (10⁻¹⁵ g) v GC pikú.
 - Najmä pri identifikačných analýzach nachádza uplatnenie preletový MS (Time-Of-Flight MS) a elektrostatické MS (Orbitrap, cyklotronový rezonančný MS)



Princíp hmotnostnej spektrometrie

- Na vzdialenej skale je váza, na ktorej je niečo namaľované, ale nedá za rozoznať, čo to je – paralela s neznámou zloženinou vo vzorke
- Pozorovateľ má iba pušku: Úlomky z vázy zasiahnutej projektilom sa rozsyjú po okolí – paralela s bombardovaním molekuly elektrónmi v iónovom zdroji hmotnostného spektrometra
- Úlomky sa poskladajú, a tak sa zistí, čo bolo na váze namaľované – paralela s hmotnostným spektrom a jeho vyhodnotením

Hmotnostný spektrometer

• Všetky MS systémy sa skladajú z týchto častí:

- Vstup vzorky:** •GC •LC •Priamy vstup
- Iónový zdroj:** •Elektrónová ionizácia (EI) •Chemická ionizácia (CI) •Elektrosprej (ESI) •Bombardovanie rýchlymi atómami (FAB) •Laserová ionizácia (LIMS) •Rezonančná ionizácia (RIMS) •Termická ionizácia (TIMS) •Ionizácia plazmovou desorpciou (PD) •Matrix-assisted laser desorption ionization (MALDI)
- Hmotnostný analyzátor:** •Magnetický sektor •Kvadrupól •Iónová pasca •Prelatovy •Ión-cyklotrónová rezonancia
- Detektor iónov:** •Elektrónový násobič •Fotonásobič
- Výstup dát:** Datasystém
- Väkuové čerpadlá (rotačné výševy + turbopumpy):** Ionizácia, separácia iónov a ich detekcia. Prebiehajú vo vákuu ($\sim 10^{-4} - 10^{-6}$ Pa)

Schéma elektrónovej ionizácie

GC kolóna, Iónový zdroj, Hmotnostný analyzátor, Detektor iónov

elektróny, záporné napätie, anóda +70 V, Molekuly napr. vody, Hmotnosť, m/z

Magnetický sektorový hmotnostný analyzátor

Iónový zdroj, Elektromagnety, Detektor iónov

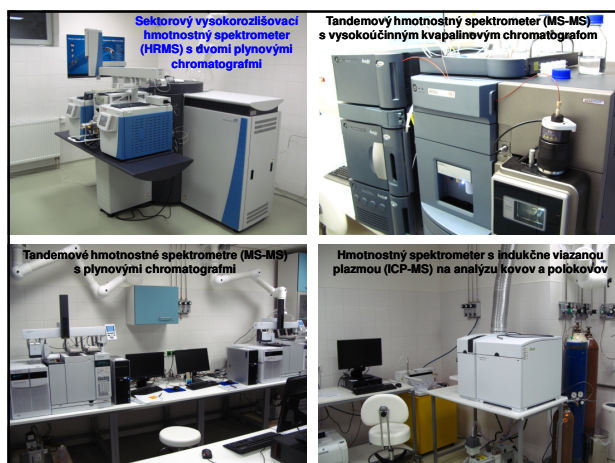
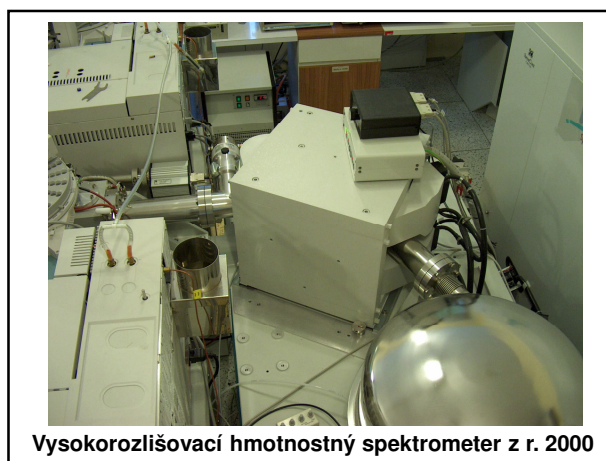
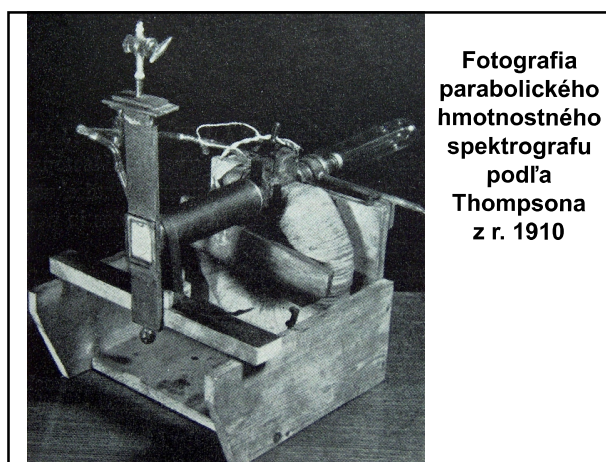
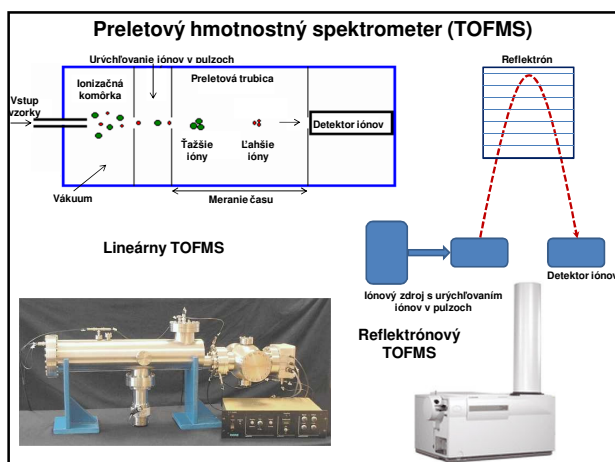
Dráha nedetegovaných iónov s nižšou hmotnosťou (m/z), Dráha detegovaných iónov, Dráha nedetegovaných iónov s vyššou hmotnosťou (m/z)

Kvadrupólový hmotnostný analyzátor

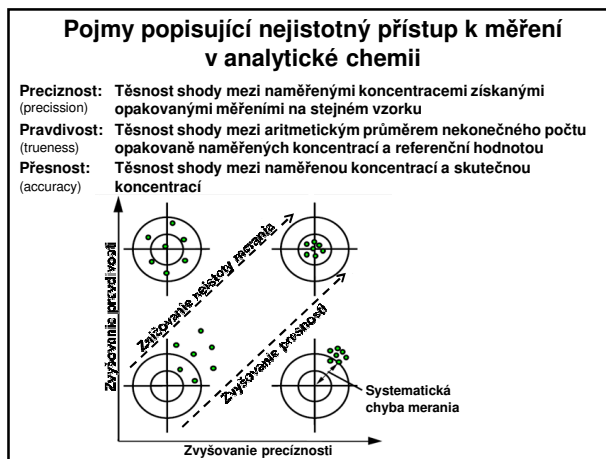
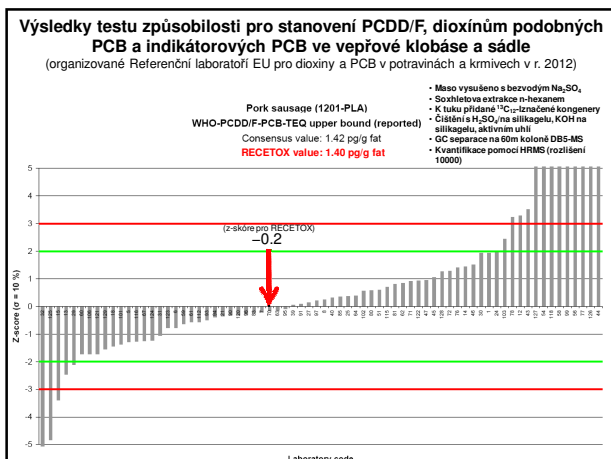
Iónový zdroj, Detektor iónov, Privody jednosmerného a rádiovýkvenčného napätia

Hmotnostný spektrometer s iónovou pascou

Ion Source, Ions in, Ions out, Detector, Endcap, Ring, Endcap

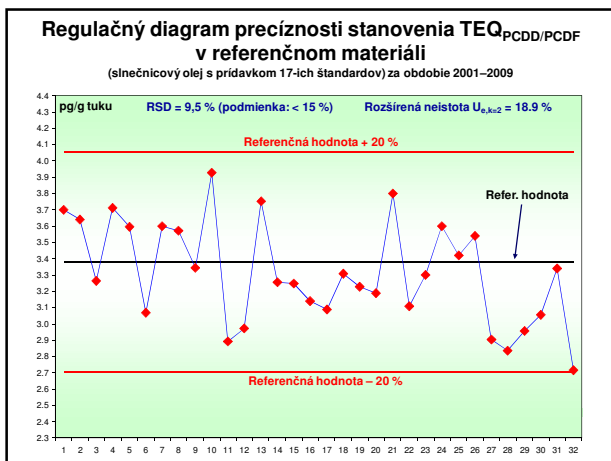


- Základy správnej laboratórnej praxe (GLP, QA/QC)**
- Výsledky analýz môžu mať značné spoločenské a ekonomické dôsledky, môžu ovplyvňovať závažné rozhodnutia.
 - Môžu vzniknúť pochybnosti o vierohodnosti údajov.
 - Laboratórium musí vedieť spätne preukázať, ako bola vzorka analyzovaná, prípadne odobratá.
 - Laboratórium musí v pravidelných intervaloch overovať kvalitu vykonávaných analýz, a to analýzou vzoriek na slepý pokus (blanks), certifikovaných referenčných materiálov (CRM) alebo aspoň referenčných materiálov (RM), zúčastňovaním sa v testoch spôsobilosti (proficiency tests, interlaboratory studies, round robin tests).
 - Analytické laboratórium by malo byť akreditované ako skúšobné laboratórium podľa normy ISO/IEC 17025. To ho bude zaväzovať na vedenie potrebnej laboratórnej dokumentácie, validovanie analytických metód, overovanie kvality svojich výsledkov, správnu manipuláciu zo vzorkami a odpadom z analýz, zvyšovanie kvalifikácie personálu, atď. Akreditované laboratórium sa musí v pravidelných intervaloch podrobiť interným a externým auditom.



- Príklad realizácie systému kvality v analytickom laboratóriu využívajúcom plynovú chromatografiu**
- Údržba meracích zariadení sa vykonáva podľa plánu údržby.
 - Dokumentácia týkajúca sa analýzy sa archívuje (napr. 5 rokov) – protokoly z odberov a spracovania vzoriek, GC/MS chromatogramy kalibračných roztokov, SP, RM a vzoriek, parametre GC/MS meraní
 - Kalibračné krivky sa tvoria najmenej z 5 koncentračných úrovní v lineárnej oblasti detektora.
 - Stabilita kalibračnej krivky sa kontroluje denne kalibračným štandardom so strednou koncentráciou.
 - V sade nie viac než 10 vzoriek sa analyzuje aj vzorka na slepý pokus (SP) a vzorka referenčného materiálu.
 - Koncentrácia analytu v slepom pokuse nesmie prekročiť hodnotu predpísanú v štandardnom operačnom postupe (SOP) alebo v norme (oficiálnej metóde) – spravidla je to < 1/10.
 - Výsledky meraní najčastejšie CRM alebo RM sa vnášajú do (Shewhartovho) regulačného diagramu; Musia spĺňať požiadavky dané metódou, t.j. presnosť (napr. relatívna smerodajná odchýlka < 15%) a pravdivosť (napr. v intervale ± 20% od referenčnej hodnoty)

- Shewhartove regulačné diagramy a kvalita analytických meraní**
- Snahou je udržať merací proces v štatisticky zvládnutom stave, aby sa zabezpečila požadovaná zhoda výsledkov
 - Konkrétne pri stanovení PCDD/PCDF a dioxinům podobných PCB v potravinách a krmivách sa za účelom úradnej kontroly podľa nariadení (ES) č. 1883/2006 a č. 152/2009 požaduje, aby v koncentračnej oblasti maximálnych limitov bola relatívna chyba merania, ktorá vyjadruje pravdivosť merania ≤ 20 % a relatívna smerodajná odchýlka (RSD), ktorá vyjadruje presnosť merania < 15 %.
 - Regulačný diagram obsahuje centrálnu priamku (CL) rovnobežnú s osou x; Hodnota y predstavuje referenčnú hodnotu, napr. priemer meraní, koncentráciu v RM, atď.
 - Hranice reg. diagramu môžu predstavovať priamky vzdialené od CL o hodnotu 3s na každú stranu (je pravdepodobné, že 99,7 % hodnôt sa bude nachádzať medzi dolnou [LCL] a hornou [URL] reg. medzou); Je vhodné zakresliť aj tzv. výstražné medze pri hodnote ± 2s (~ 68 % hodnôt v intervale)
 - Pre analytické stanovenia má vedenie reg. diagramov prínos v tom, že manažér kvality dostáva rýchlu informáciu o stave kvality meraní



- Definície niektorých pojmov v analytické chemii**
- Analýta (Analyte)** Konkrétni sloučenina, prvek, ion, funkční skupina, nebo jejich kombinace ve vzorku, jehož přítomnost nebo množství je určováno metodami analytické chemie
- Vzorek (Sample)** Část materiálu vybraná z jeho většího množství
- Vzorkování (Sampling)** Činnosti související s přípravou a zpracováním plánu vzorkování, s vlastním odběrem vzorku a dalším nakládáním se vzorkem a činnosti související se zpracováním příslušné dokumentace
- Plán vzorkování (Sampling plan)** Předem stanovený postup pro výběr, odběr, úpravu na místě, dopravu a přípravu dílčích vzorků nebo vzorků, které budou odebrány ze základního souboru jako vzorek
- Bod odběru (Sampling point)** Pozice, ze které je vzorek odebrán, definovaná jednoznačně a nezměnitelně prostorovými a časovými souřadnicemi
- Protokol o odběru vzorku (Sampling protocol)** Dokument obsahující všechny potřebné informace o místě, způsobu provedení odběru vzorku a jeho dalším zpracování
- Mez detekce (Limit of detection, LOD)** Naměřená hodnota analytu, který je přítomen ve vzorku s pravděpodobností β, přičemž pravděpodobnost jeho nepřítomnosti je α
- Mez stanovitelnosti (Limit of quantification, LOQ)** Nejnižší množství analytu ve vzorku, které jsme schopni stanovit jako exaktní hodnotu se stanovenou nejistotou
- Nejistota měření (Measurement uncertainty)** Při výpočtu nejistoty se může vycházet ze statistické analýzy série opakovaných měření např. CRM (nejistota typu A) a/nebo příspěvku deklarovaných nebo odhadnutých nejistot z jednotlivých složek analýzy (nejistota typu B)
- Výtěžnost (Recovery)** Podíl stanoveného množství analytu nebo jeho ekvivalentu ve vzorku po jeho zpracování (extrakce, čištění) k množství této látky přidané ke vzorku před jeho zpracováním

Štandardný operačný postup v analytickom laboratóriu

- SOP je súbor písomných inštrukcií, ktoré popisujú rutinnú alebo opakujúcu sa činnosť v analytickom laboratóriu.
- Účelom SOP je, aby sa činnosti vykonávali správne a vždy rovnakým spôsobom. SOP sú neoddeliteľnou súčasťou systému kvality v analytickom laboratóriu.
- Technický SOP stručným a jasným spôsobom zrozumiteľným pre pracovníka so znalosťami práce v laboratóriu popisuje ako realizovať určitý analytický postup. SOP môže popisovať kompletný analytický postup, t.j. od úpravy vzorky pred extrakciou, extrakciu, čistenie, frakcionáciu, zakoncentrovanie, separáciu pomocou GC, detekciu pomocou MS, vyhodnotenie GC/MS záznamov a výpočet koncentrácií analytov. Pre každý z uvedených krokov však môže existovať samostatný SOP a na výkon analýzy sa potom použije súbor vybraných SOP.
- Technický SOP môže obsahovať tieto časti: (a) Názov, (b) účel a oblasť použitia, (c) zhrnutie metódy, (d) rušenie analýzy, (e) bezpečnostné opatrenia, (f) zariadenia a materiál, (g) chemikálie, (f) odber vzoriek, manipulácia a uskladnenie, (g) kontrola kvality (SP, RM), (h) postup spracovania vzorky, (f) postup stanovenia, napr. GC/MS.