

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra analytické chemie

Rigorózní práce

**Validace kontroly obsahu
Al v $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, metodou ICP-OES**

Autor práce: Mgr. Viktor Brezovský

2021

Prohlašuji, že jsem svou rigorózní práci vypracoval samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu literatury.

Prohlašuji, že ve smyslu zákona č. 101/2000 Sb., o ochraně osobních údajů a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů, **souhlasím** se zpracováním svých osobních údajů pro potřeby rigorózního řízení, statistického vykazování a evidence účastníků státních rigorózních zkoušek na Univerzitě Palackého v Olomouci.

V Zátoru dne 2.6.2021

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval doc. RNDr. Janu Petrovi, Ph.D. za odborné vedení, ochotu a cenné rady při vypracování této práce. Další mé poděkování patří firmě Macco Organiques s.r.o. za souhlas se zveřejněním mnou naměřené a vypracované Validační zprávy, která je součástí této práce.

Děkuji své rodině, nejvíce pak Markétě a Berenice, za podporu a trpělivost, kterou se mnou měli při samotném experimentu.

Anotace

Chemický průmysl transformuje suroviny na množství nových syntetických látek, které mají široké využití ve všech oborech lidské činnosti. Dlouholetou tradici má chemický průmysl také v Bruntále, městě ležícím na úpatí Nízkého Jeseníku.

Příkladem, jak chemická výroba, za udržování vysoké úrovně kvality, existuje v blízkosti chráněné krajinné oblasti Jeseníků je firma Macco Organiques, s.r.o. – společnost, která je součástí kanadské korporace Lallemand.

Představená firma se majoritně zabývá výrobou anorganických solí používaných při přípravě infuzních a dialyzačních roztoků, kojenecké výživy a farmaceutik.

Výroba anorganických solí probíhá podle nejvyšších standardů pro výrobu léčivých aktivních látek a nadnárodních potravinářských standardů – FDA (U.S. Food and Drug Administration), FCC (Food chemical codex), Ph.Eur. (European Pharmacopoeia), ČL (Český lékopis), aj.

S povinností dodržovat lékopisné normy souvisí tlak na vývoj nových metod pro stanovení účinné složky a balastních látek obsažených v matrici.

Vyvinutí a zvalidování nové metody stanovení hliníku v matricích dihydrátu chloridu vápenatého $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a hexahydrátu chloridu hořečnatého $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ je předmětem této práce.

Annotation

The chemical industry transforms raw materials into new synthetic substances that are used in all fields of human activity. The well-known tradition of the chemical industry has Bruntál, the town lying near the National park Nízký Jeseník.

There is the Macco Organiques company that is a part of the Canadian corporation Lallemand. This chemical company is a good example that achieves the high level of quality standards and can exist near the protected landscape area.

The production program is focused on the manufacturing of inorganic salts used in the preparation of infusion and dialysis solutions, infant formulas, and pharmaceuticals.

The production of inorganic salts is carried out according to the highest standards for production of medicinal active substances and transnational food standards, e.g., FDA (U.S. Food and Drug Administration), FCC (Food chemical codex), Ph.Eur. (European Pharmacopoeia), ČL (Czech Pharmacopoeia).

There is a pressure to develop new methods for determination of active ingredients and ballast substances contained in matrix due to the obligation to reach the pharmacopeial standards.

The development and validation the new method of determination aluminum (Al) in matrix of calcium chloride dihydrate $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ and magnesium chloride hexahydrate $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ is the subject of this study.

1	Úvod	7
2	Teorie ICP-OES	8
2.1	Indukčně vázaná plazma (ICP)	8
2.2	Optická emisní spektrometrie (OES)	8
2.3	Princip výboje	9
2.4	Excitace částic	9
2.4.1	Maxwellovým-Boltzmannovým rozdělením	10
2.4.2	Sahova rovnice	10
2.4.3	Planckův vyzařovací zákon	10
2.5	Zavádění vzorku	11
2.5.1	Zmlžování vzorku	11
2.5.2	Zmlžovací komora a hořák	11
2.6	Axiální a radiální pohled	12
2.7	Výběr spektrální čáry	12
2.8	Spektrální interference	12
2.9	Nespektrální interference (matricový efekt)	12
2.10	Instrumentace ICP-OES	13
2.11	Rozvaha nad experimentem autora	15
2.11.1	ICP-OES nebo GF-AAS	15
2.11.2	Optimalizace metody	15
2.11.3	Charakteristické rysy ICP spektrometru Prodigy 7	16
3	Validační zpráva	17
3.1	Schvalovací list	18
3.2	Předmět validace	19
3.3	Validační plán	19
3.4	Validace – rozvaha	19
3.5	Analytická metoda	20
3.6	Kritéria přijatelnosti	20
3.7	Validace obsahu hliníku v matricích	21
3.7.1	Postup	21
3.8	Vyhodnocení	21
3.8.1	Specifita	21
3.8.2	Linearita a rozsah metody $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	22
3.8.3	Linearita a rozsah metody pro $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	33
3.8.4	Správnost	44
3.8.5	Opakovatelnost	52
3.8.6	Vyhodnocení verifikace	52

3.8.7	LOD, LOQ	53
3.8.8	Reprodukovatelnost	56
3.8.9	Robustnost.....	56
3.8.10	Optimalizace metody.....	56
3.8.11	Test na kontaminaci.....	57
3.8.12	Stabilita standardu a vzorku	58
4	Závěr	60
5	Literatura.....	61
6	Přílohy	62
6.1	<i>Příloha č. 1 SOP Stanovení Al v CaCl₂.2H₂O.....</i>	62
6.2	<i>Příloha č. 2 SOP Stanovení Al v MgCl₂.6H₂O</i>	69
6.3	<i>Příloha č. 3 Souhlas se zveřejněním Validační zprávy</i>	76

1 Úvod

Hliník (Al) je třetím nejhojněji vyskytujícím se prvkem v zemské kůře a je také přítomen ve vodě a potravinách. Již více než jedno století je řazen mezi neurotoxické prvky¹. Jednou z hlavních cest expozice hliníku u běžné populace je spotřeba potravin, zejména potravinových aditiv obsahujících hliník².

Vyvinout a zvalidovat metodu Stanovení hliníku v matricích chloridu vápenatého a chloridu hořečnatého má základ v reálné potřebě komerční výrobní společnosti stanovit koncentrace hliníku metodou s nižším limitem kvantifikace než dosud validní metodou. Důvodem jsou přísnější požadavky na kvalitu a čistotu vyrobeného materiálu.

Doposud se pro stanovení hliníku používala metoda atomové absorpční spektroskopie (AAS) s limitem stanovitelnosti (LOQ) 0,5 mg/kg. Novým kritériem přijatelnosti validované metody a předmětem této práce je dosažení limitu stanovitelnosti 0,2 mg/kg.

Přijatelnosti vyhověla analytická metoda optické emisní spektroskopie s indukčně vázanou plazmou (ICP-OES). Součástí schvalovací procedury je Validační zpráva a Schvalovací list s Validačním plánem, včetně odpovědných osob.

¹ Zatta P., Ibn-Lkhatat-Idrissi M., Zambenedetti P., Kilyen M., Kiss T. (2000). Brain Res. Bull. 59.

² WHO (World Health Organization) 1989 Thirty-third Report of the Joint FAO/. (nedatováno). WHO Expert Committee on Food Additives. 776 28.

2 Teorie ICP-OES

2.1 Indukčně vázaná plazma (ICP)

Indukčně vázané plazma (ICP) se používá v instrumentaci s optickou emisní spektrometrií (OES) jako budící zdroj. ICP poskytuje pro OES stanovení přibližně 70 prvků periodické tabulky. Technika je s úspěchem používána v analýze roztoků³.

Předpokladem pro analyticky úspěšné měření existuje dvojí pozorování plazmatu – pohled axiální a radiální. Existuje přímá úměra mezi hustotou zářivého toku a absorpčním maximem emitujících částic. Lineární průběh platí pouze pro nízké koncentrace analytu. Při vyšších koncentracích stanovované složky roste emise záření a dochází k rozšiřování spektrální čáry. Vysoký obsah analytu ve vzorku způsobuje nelinearitu koncentrace právě z důvodu nesplnění podmínky opticky tenké vrstvy.

Při měření emise v axiálním pohledu je analytická zóna plazmatu delší a k zakřivení kalibrační závislosti dochází u koncentrací analytu až o řád menších než při radiálním pozorování⁴.

2.2 Optická emisní spektrometrie (OES)

Optická emisní spektrometrie (OES – Optical Emission Spectrometry) je založena na registrování fotonů vzniklých přechody valenčních elektronů z vyšších energetických stavů na stavy nižší. Při OES se měří intenzita záření emitovaného atomy nebo ionty v excitovaném stavu. Emisní spektrum má čárový charakter. Čáry odpovídají přechodům valenčních elektronů a projevují se v oblasti 10-1500 nm.⁵

Metoda Optické emisní spektrometrie je v poslední době na vzestupu, především pro zvýšenou potřebu simultánního, rychlého, selektivního a citlivého stanovení prvků.⁶ Řeší se problém zplynění vzorku, atomizace, ionizace a excitace částic v plynném stavu, spektrální a nespektrální interference v případě složitých matic vzorků a změny pozadí emisního signálu u různých metod emisní spektrometrie⁷.

Pro stanovení prvků skupiny alkalických kovů a alkalických zemin, B, Al, La, Ga, In, Tl, W, Re a některých lanthanoidů je plamenová emisní spektrometrie citlivější metodou než plamenová AAS^{8,9}. Studie Klaus R. Koch (University of Cape Town), zabývající se stanovením Al v biologických vzorcích čaje a kávy a porovnávající metody ICP-OES a GF-AAS (grafitová atomová absorpční spektrometrie, analytická metoda umožňující detekovat extrémně nízké koncentrace prachových částic různých kovů)¹⁰, dospěla k závěru, že pro použité

³ Kanický, V. (2009). Kurz ICP 09. V *Kurz Spektroskopické společnosti Jana Marka Marci* (str. 1). Brno.

⁴ Otruba, V. (2009). Plazma jako spektroskopický zdroj. V *Kurz ICP 09* (str. 10). Brno.

⁵ Sommer, L. (1992). Optická emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu a vysokoteplotních plamenech (str. 9). Praha: Academia.

⁶ Santos E. J., Herrmann A. B., Olkuszewski J. L. Pierre T. S., Curtius A. J. (Sept. 2005). Determination of trace metals in electrolytic copper by ICP OES and ICP-MS. *Braz. arch. biol. technol.* vol.48 no.5 Curitiba.

⁷ Mestek O., Koplík R. (2002). Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plasmatem. Praha: VŠCHT.

⁸ Pickett E. E., Koirtyohan S. R. (1969). *Anal. Chem.* 41, No. 14, 28A.

⁹ Prudnikov E. D., Shapkina Y. S. (1986). *Warsaw: Chem. Anal.*, 31, 335.

biologické vzorky (čajové lístky a kávová zrna) ve vodných roztocích poskytuje lepší výsledky při stopových koncentracích Al metoda GF-AAS.

2.3 Princip výboje

Výboj je zažehnut z Teslova transformátoru. Zažehnutím indukčně vázaného plazmatu dochází k výboji a vlivem elektromagnetického pole vytvořeného na indukční cívce dochází k uvolnění volných elektronů. Topografie výboje je popsána na obrázku 2.1.

Zde je nutno dbát na dokonalé vysušení všech komponent hořáku, protože vlivem zbytkové vlhkosti po neúplném vysušení dochází k problémům při samotném zažehnutí výboje, více v kap. Aplikační doporučení.

Obr. 2.1 Topografie výboje ICP 1 – analytický kanál 2 – předehřívací zóna 3 – počáteční zářivá zóna 4 – analytická zóna 5 – chvost výboje 6 – indukční zóna 7 – aerosol 8 – základna výboje h_p – výška pozorování r – vzdálenost od osy výboje³.

2.4 Excitace částic

V ICP se nejrozšířeněji používá výboj argon-argonové plazma. Stav termodynamické rovnováhy je popsán rozdělovacím zákonem a termodynamickou teplotou. Rozdělovací zákon určuje rozdělení částic (molekul, atomů, iontů a elektronů) do stavů energie, ve kterých se vyskytují ve formě neutrální, ionizované nebo jako součást molekuly.

¹⁰ Koch K. R., Pougnet M. A., Villiers S. (1989). Determination of Aluminium Levels in Tea and Coffee by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry and Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. Analyst, August 1989, Volume 114.

2.4.1 Maxwellovým-Boltzmannovým rozdělením

Molekuly plynu se neustále pohybují a sráží, každá z nich má při stejné hmotnosti a jiné rychlosti rozdílnou kinetickou energii. Statistické rozdělení rychlostí náhodného pohybu částice plynu je velmi dobře popsáno Maxwellovým-Boltzmannovým rozdělením. Hustota pravděpodobnosti má tvar:

$$f(v) = \left(\frac{m}{2\pi kT}\right)^{3/2} \exp\left(-\frac{mv^2}{2kT}\right)$$

kde m je hmotnost molekuly, k je Boltzmannova konstanta ($1,38 \cdot 10^{-23}$ J.K⁻¹) a T je absolutní teplota. Důležitým parametrem je maximum, tedy nejpravděpodobnější rychlost.

$$v_{max} = \sqrt{\frac{2kT}{m}}$$

Rozdělení rychlostí druhů částic (molekul, atomů, iontů a elektronů) na energetických hladinách popisuje Maxwellova rovnice s určujícím parametrem – kinetická teplota T_{kin} .

2.4.2 Sahova rovnice

Sahovou rovnicí je pak popsána ionizace atomů, molekul a radikálů – s ionizační teplotou T_{ion} . Popisuje ionizační stupeň, který je závislý na rychlosti srážek částic plazmatu a tedy na teplotě. Má následující tvar:

$$P_+^2 / (1 - P_+) = CT^{3/2} \exp(-U_i/kT),$$

kde $C \sim 2,4 \times 10^{21} m^{-3}$, P_+ je stupeň ionizace, U_i je ionizační potenciál, T je teplota plazmatu a k je Boltzmannova konstanta.

2.4.3 Planckův vyzařovací zákon

Spektrální hustotu energie objasňuje Planckův vyzařovací zákon. Zdroje elektromagnetického záření vyzařují svou energii po kvantech. Na základě kvantové teorie a v souladu se zákony pravděpodobnosti odvodil Planck svůj vyzařovací zákon, který konstatuje:

Zahřátá tělesa vyzařují energii. Záření o frekvenci f může být vyzařováno, nebo pohlcováno jen po kvantech energie o velikosti

$$e = h \cdot f$$

kde $h = 6,625 \cdot 10^{-34}$ J.s je Planckova konstanta, $c = 3 \cdot 10^8$ m.s⁻¹ je rychlost světla, $k = 1,38 \cdot 10^{-23}$ J.K⁻¹ je Boltzmannova konstanta, T je termodynamická teplota

V tomto zákoně představuje h Planckovu konstantu, která má hodnotu $h = (6,6256 \pm 0,0005) \cdot 10^{-34}$ J.s. Z uvedeného formulace Planckova vyzařovacího zákona je možné pro dokonale černé těleso (dokonalý zářič -

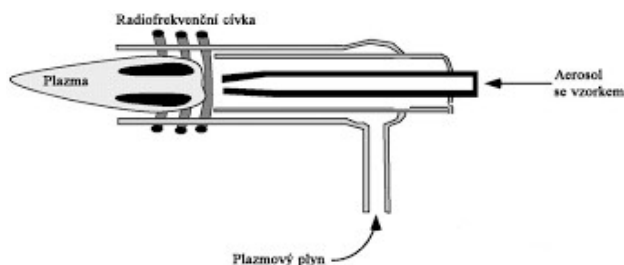
těleso, které všechno dopadající záření pohlcuje) ve vakuu odvodit vztah pro spektrální hustotu zářivého toku dokonale černého tělesa E_{ol} jako funkci vlnové délky záření λ a teploty zářiče T

$$E_{\lambda,1} = \frac{dE_o}{d\lambda} = f(\lambda, T) = c;$$

kde E_o je hustota zářivého toku dokonale černého tělesa a k je Boltzmannova konstanta, která má hodnotu $k = (1,38054 \pm 0,00018) \cdot 10^{-23} \text{ J.K}^{-1}$.

2.5 Zavádění vzorku

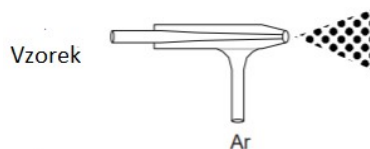
Nejrozšířenějším principem zavádění vzorku do plazmatu je tvorba aerosolů kapalných vzorků viz obrázek 2.2. Kapalný vzorek je nasáván přes peristaltickou pumpu a přes nebulizer zaváděn do zmlžovače. Kritickým parametrem je správné nastavení přitlaku hadiček zavádění vzorku a cesty vzorku do odpadu. Vlivem nesprávného přitlaku na peristaltické pumpě dochází k nekonstantnímu průtoku vzorku do zmlžovače a zhoršené odezvě signálu analytu.



Obr. 2.2 Zavádění vzorku do plazmatu

2.5.1 Zmlžování vzorku

Ve zmlžovací komoře je kapalný vzorek přiváděn přes fritu zmlžovače (nebulizeru) do zmlžovací komory. Nejpoužívanějším a v našem experimentu použitým typem je Meinhardův zmlžovač viz obrázek 2.3. Do nebulizeru vstupuje aerosol se vzorkem spolu s plazmovým plynem. Popsaný princip pneumatického zmlžovače je běžně používaný systém pro zavádění vzorku do plazmy, má však kritické faktory. Kapilára zmlžovače se sacím účinkem má malý průměr (200 až 300 μm) a z toho důvodu se může ucpávat pevnými částicemi nečistot nebo krystaly v případě roztoku vzorků s vysokým obsahem solí.



Obr. 2.3 Schéma skleněného koncentrického zmlžovače (nebulizeru) Meinhardova typu

2.5.2 Zmlžovací komora a hořák

Z nebulizeru vstupuje aerosol vzorku do zmlžovací komory. V našem experimentu byla použita cyklonová mlžná komora s tangenciálním vstupem aerosolu vzorku s nosným plynem viz obrázek 2.4.



Obr. 2.4 Schéma Nebulizeru a Zmlžovací komory

2.6 Axiální a radiální pohled

První systematická studie porovnávající signály na detektoru mezi axiálním a radiálním pohledem byla publikována v r. 1995¹¹. V současné době se používají dva způsoby měření záření vzhledem k výboji ICP.

Axiální pohled - Měření záření podél osy výboje. Při axiálním pozorování je pohled do optiky dán průřezem analytického kanálu. Optimum se získá vystředěním polohy kanálu v souřadnicích x,y vůči poloze clony.

Radiální pohled - Měření záření kolmo k ose výboje. S výhodou se používá v případě vyšších koncentrací analytu než v případě axiálního měření.

2.7 Výběr spektrální čáry

Známe-li stanovovaný prvek, je nutno vybrat konkrétní spektrální čáru prvku. Přihlíží se k poměru emise čar a poměru intenzit emise pozadí, poměru signálu k pozadí S/B. Výběr dané spektrální čáry analytu se stanoví s ohledem na obsah stanovované složky a vliv spektrálních interferencí.

2.8 Spektrální interference

O spektrální interferenci se jedná v případě překryvu spektrálních čar nebo interferenci vyvolané strukturálním pozadím. Tuto interferenci je možné eliminovat alternativní čarou analytu, která není spektrálně rušena.

2.9 Nespektrální interference (matricový efekt)

Nespektrální interference označovaný také jako matricový efekt je stav ovlivnění metody ve smyslu citlivosti, linearity, korelačního koeficientu s použitím matrice vzorku, namísto čistého roztoku analytu v rozpouštědle. Nespektrální interferenci je možné korigovat použitím vnitřního porovnávacího prvku, modelováním matrice nebo metodou přidavku standard.

¹¹ Ivaldi, J. C.; Tyson, J. F. . (n.d.). Spectrochim. Acta B 1995, 50, 1207.

2.10 Instrumentace ICP-OES

Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem je technika, která měří intenzitu emitovaného záření excitovaných atomů. Při přechodu atomu z energeticky vyššího stavu do stavu nižšího se vyzáří energie odpovídající rozdílu těchto stavů. K excitaci atomu dochází vlivem excitačního zdroje – indukčně vázané plazmě. A při deexcitaci se sleduje emise záření. Vlnová délka vyzářená, odpovídá energii daného přechodu.

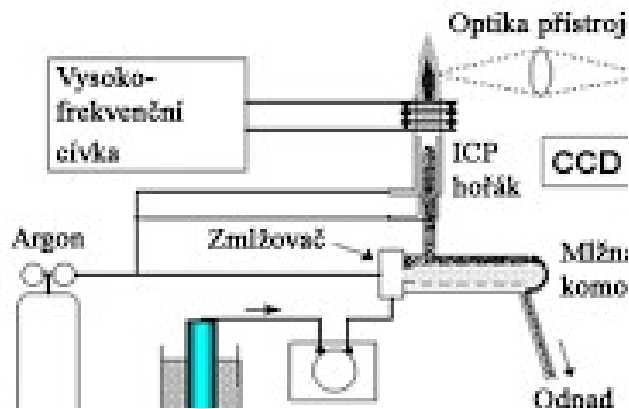
ICP-OES se s výhodou používá při analýze nejen kapalných vzorků viz obrázek 2.5. Umožňuje sekvenční i simultánní stanovení až 73 prvků současně při nízkém detekčním limitu. Plazma je ionizovaný plyn složený z elektronů

a nabitých iontů. V plazmatu se vyskytují volné náboje, které vykazují vysokou vodivost a reagují na elektrické a magnetické pole. Volně nabitým částicím je třeba dodat energii na udržení a vytvoření plazmatu. energii volným elektronům dodává elektromagnetické pole radiofrekvenčního generátoru a tím vzniká trvalý stabilní výboj. K iniciaci plazmatu se používá jiskrový výboj^{12 13} viz obrázek 2.6.

Optický spektrometr separuje záření podle vlnových délek a měří emise spektrálních čar. Jako disperzní člen jsou používány mřížka a odraz. V experimentu je použit ICP-OES s mřížkou typu Echelle a děličem spektrálních řádů hranolem viz obrázek 2.7. Pro Echelle mřížku je typická malá hustota vrypů se schodovitým tvarem. Mřížka Echelle vyžaduje separaci překrývajících se spektrálních řádů. Používá se tzv. zkřížená optika, kde difraktované záření vystupující z Echelle mřížky je podrobena disperzi hranolem ve směru kolmém na disperzi mřížky.

U sekvenčních přístrojů

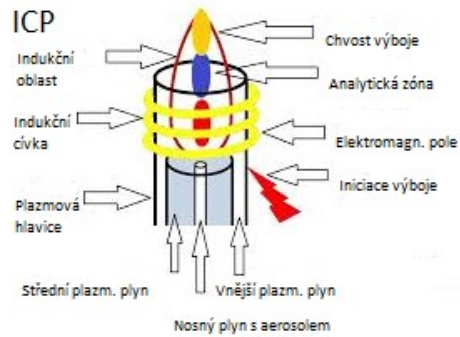
Použitým detektorem byl typ CMOC (Complementary Metal Oxide Semiconductor) – senzory transformují signál z nositele náboje na napětí přímo uvnitř každého pixelu. To je rozdíl oproti CCD (Charge Coupled Device), kde postupným přesouváním náboje z jednoho místa s určitým potenciálem na místo druhé dochází k vysouvání náboje na okraj čipu, kde je převodníkem transformován na napěťový signál. Hlavní výhodou mřížek Echelle pro ICP-OES je, že poskytují optimální kombinace rozlišení, disperze a vysoké propustnosti světla pro víceprvková detekce na malém detektoru (Practical guide to ICP-OES, Prodigy 7, Teledyne Leeman Labs.).



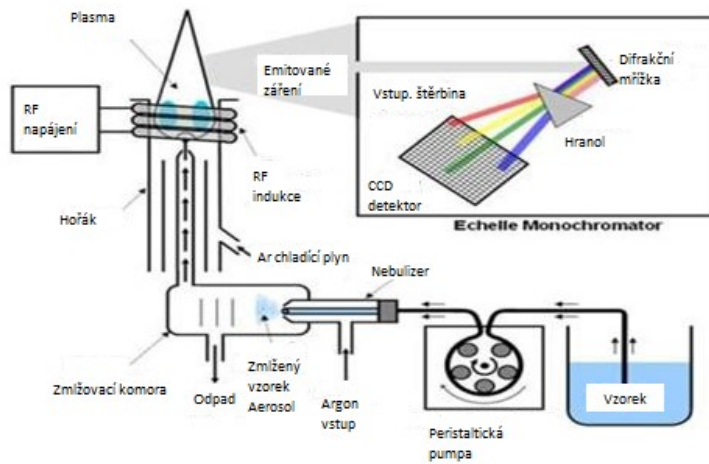
Obr. 2.5 Instrumentace ICP-OES

¹² Boss B. Ch. (1997). Instrumentation, and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. Perkin-Elmer corporation, USA.

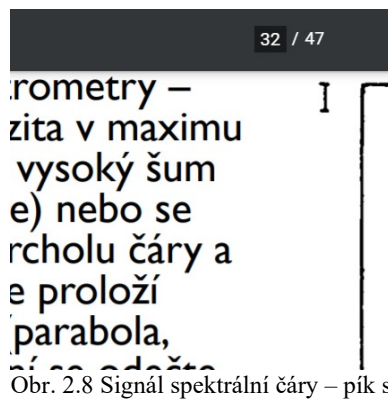
¹³ Otruba V. (2009). 5. kurz ICP spektrometrie, Spektroskopická společnost Jana Marka Marci. Brno.



Obr. 2.6 Schéma ICP plamene a hořáku



Obr. 2.7 Instrumentace ICP-OES s Echelle monochromátorem



Obr. 2.8 Signál spektrální čáry – pík signálu a body korekce pozadí

2.11 Rozvaha nad experimentem autora

2.11.1 ICP-OES nebo GF-AAS

Při výběru metody je třeba uvážit, jaký vzorek chceme analyzovat, zda jde o multiprvkovou analýzu z jednoho vzorku, a požadovaný koncentrační rozsah analytu. Současné rutinní stanovení Al a zároveň nejcitlivější bylo na GF-AAS s limitem stanovitelnosti $LOQ = 0,5 \text{ mg/kg}$. Tento limit však už nestačil požadavkům kontroly kvality a zákaznickým potřebám a bylo nutno zvalidovat novou metodu s předpokládaným limitem stanovitelnosti $LOQ = 0,2 \text{ mg/kg}$. Stanovením Al metodou ICP-OES se zabývá také studie Stanovení nečistot v ultračistém CaCl_2 a MgCl_2 , ale pro Al s vyšším limitem $LOQ = 0,5 \text{ mg/kg}$ ¹⁴.

Skutečnost, že metoda ICP-OES je vhodná pro stanovení nečistot v matrici CaCl_2 dává také studie Stanovení anorganických elementů v CaCl_2 metodou ICP-OES¹⁵. Analytické metody ICP-OES se využívá také při stanovení minorit v potravinářských aditivech¹⁶.

2.11.2 Optimalizace metody

Optimalizací parametrů plazmového výboje je nalezení nejlepších hodnot poměru signál/ pozadí (S/B) viz obrázek 2.8 a nejvyššího poměru signál/ šum (S/N) – tedy nejnížší relativní standardní odchylky měření (RSD).

Proces optimalizace metody usnadní software spektrometru. Instalovaný program usnadní nalezení optimálních parametrů metody. Diagnostika umožňuje změřené sekvence vzorků navzájem porovnávat, analyzovat. Měnit lze parametry výboje, průtok pracovních plynů, rychlost peristaltické pumpy, přítlak nasávacích hadiček, vzdálenost hořáku. Po změření analytu lze korigovat vlastní pík signálu spektrální čáry a přepočítat změnu na obsah prvku ve vzorku.

Nejprve byla testována metoda kalibrační křivky s vodnými standardy a stanoveným analytem Al v matrici $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Metoda však vykazovala nízkou linearitu a opakovatelnost. Zlepšení nepřineslo ani korekce s použitím porovnávacího prvku jako vnitřního standardu Fe $\lambda = 167,074 \text{ nm}$, který ovlivňoval blízkou spektrální čáru stanoveného analytu Al $\lambda = 167,079 \text{ nm}$. Určení korekcí navíc vyžaduje další měření na čarách rušivých prvků. Z toho důvodu se od korekce na vnitřní standard upustilo. Ovlivnění interferentním Fe v instrumentaci ICP-OES pojednává také studie B.L.Turner¹⁷

Příčinou nízké linearity se ukázal být maticový efekt vzorků analyzovaných vzorků $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Po tomto zjištění a přípravě maticových kalibračních standardů se linearita, přesnost a opakovatelnost stanovení zlepšila.

Následovalo hledání optimálního nastavení průtoku pracovního a chladicího plynu hořáku, rychlosti nasávání vzorku a zafixování vyčítací zóny píku signálu a pozadí.

¹⁴ Pouzar M., Černohorský T., Krejčová A. (January 2007). Determination of metal impurities in ultrapure CaCl_2 and MgCl_2 by ICP OES. *Microchimica Acta*, 156(3): 271-275.

¹⁵ Gaikhorst G. A., Temminghoff E. J. M., Houba V. J. G. (May 2000). Soil analysis procedures using 0.01 M calcium chloride as extraction reagent. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 31(9).

¹⁶ WHO (World Health Organization) 1989 Thirty-third Report of the Joint FAO/. (nedatováno). WHO Expert Committee on Food Additives, 776, 28.


¹⁷ Turner, B. L. (2016-Issue 21). Interference by Iron in the Determination of Boron by ICP-OES. *Journal Communications in Soil Science and Plant Analysis*, Volume 47.


2.11.3 Charakteristické rysy ICP spektrometru Prodigy 7 ¹⁸

- *Stabilní plazma* - zajišťuje rychlý start přístroje a výjimečnou dlouhodobou stabilitu. Již po 10 minutách od zapnutí (tzv. cool start) je možné provádět plnohodnotné analýzy.
- Počítačem řízené vstupní zrcátko - automaticky optimalizuje nastavení hořáku a umožňuje volbu axiálního nebo radiálního pozorování, resp. dual view.
- Počítačem řízená šířka vstupní štěrbiny - umožňuje měnit rozlišení v závislosti na dané aplikaci.
- Velká toroidní zrcadla - poskytují vynikající optickou účinnost.
- Nejnovější velkoplošný programovatelný detektor CMOS zaručuje:
 - Vysokou disperzi a optické rozlišení - minimalizace spektrálních interferencí.
 - Kontinuální pokrytí celého vlnového rozsahu - univerzální využití (všechny prvky mohou být měřeny na svých primárních spektrálních čarách, a to včetně prvků Na, K, Li, Ba a Sr).
 - Vysoká citlivost - vynikající detekční limity (řádově v ppb) i na reálných vzorcích.
 - V kombinaci s dvojitým rozkladem na mřížce a hranolu je dosaženo separace i jinak problematických prvků.
- Teplotně stabilizovaný optický systém - zaručuje vynikající dlouhodobou stabilitu nehledě bez ohledu na změny okolní teploty.
- Plynem plněný optický systém – znamená citlivost v UV a Vis oblasti spektra a nižší spotřeba inertního plynu.
- Modulární konstrukce - spolehlivost, jednoduchost a snadný servis.

¹⁸ Practical guide to ICP-OES, Prodigy 7, Teledyne Leeman Labs. (2013).

3 Validační zpráva

	
<i>Validační zpráva</i>	VR- 067/501/19
Validace kontroly obsahu Al v $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, metodou ICP OES	
Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský Schválil: Ing. Vok Kozelský	Výtisk č.:1

	
Validační zpráva	VR- 067/501/19

3.1 Schvalovací list

Předmět ověření:

Validace stanovení obsahu Al v krystalu CaCl₂·2H₂O, MgCl₂·6H₂O, dle USP, Ph.Eur., FCC, E509, ACS monografií a regulací na katalytické kovy. Validace bude provedena v plném rozsahu dle požadavků ICH Q2(R1) ¹⁹ ²⁰.

Validační plán:

Validační protokol vypracoval:	Mgr. Viktor Brezovský <i>SPJ</i>	Datum: 30.8.2019
Validační protokol kontroloval:	<i>Ing. Vok Kozelský</i> ŘJ	Datum: 2.9.2019
Validační protokol schválil:	<i>Ing. Vok Kozelský</i> ŘJ	Datum: 2.9.2019

Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský Schválil: Ing. Vok Kozelský	Výtisk č.:1
--	-------------

¹⁹ ICH Harmonised Tripartite Guideline, Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). (1994). Current Step 4 version, Parent Guideline dated 27 October 1994.

²⁰ ICH Harmonised Tripartite Guideline, ICH Q14: Analytical Procedure Development and Revision of Q2(R1) Analytical Validation dated 14 November 2018. (2018).

3.2 Předmět validace

Předmětem validace je měření obsahu hliníku. Měření se bude validovat pro následující matrice: $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

3.3 Validační plán

Validace metody je potvrzení přezkoušením a poskytnutím objektivního důkazu, že jsou jednotlivé požadavky na specifické zamýšlené použití splněny. Provádí se pomocí reálných roztoků pro celý předepsaný koncentrační rozsah a různé matrice. Laboratoř musí validovat takové metody, které nejsou normalizované a vyvinuté. Závěrem je vypracování validačního protokolu, postup využití validace a prohlášení, že metoda vyhovuje zamýšlenému použití¹⁸.

Plán validace analytické metody

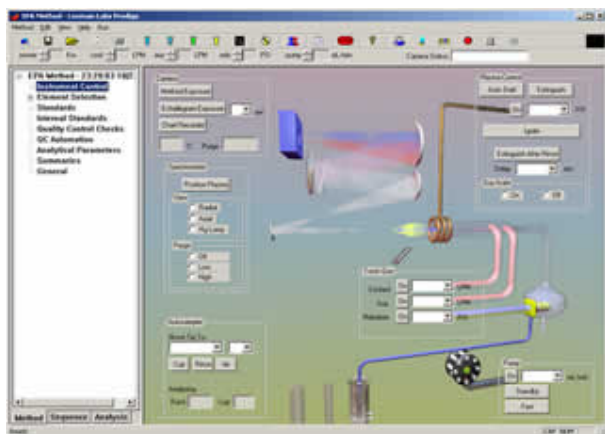
Součástí validace je akční plán s jednotlivými body

- Validační zpráva s prohlášením (kap. 3)
- Úvodní rozvaha (kap. 3.4)
- Standardní Operační Postup (SOP) – zavedení do praxe (kap. 6)

3.4 Validace – rozvaha

Validace nové analytické metody se stalo nutností. Výrobní společnost dosud stanovovala hliník Al metodou GF-AAS s $\text{LOQ}=0,5 \text{ mg/kg}$, ale díky zákaznickým požadavkům byla nucena vyvinout citlivější metodu s akceptačním kritériem $\text{LOQ}=0,2 \text{ mg/kg}$ ve vzorcích matric $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Přístrojové vybavení analytické laboratoře umožnilo validovat na instrumentační technice ICP-OES.

Rozvahou se dospělo k závěru, že stanovení Al na ICP-OES bude finančně méně náročné na spotřební materiál (technika GF-AAS spotřebovává finančně nákladné grafitové kyvety s omezeným počtem odpalů). Naproti tomu ICP-OES, kromě provozních plynů, které používá také GF-AAS nemá jiný spotřební materiál a navíc umožňuje sekvenční měření vzorků v sérii. Rozhodnutím se stalo validovat na přístroji firmy Teledyne Leeman labs, Typ Prodigy 7, s vyhodnocovacím software Salsa viz obrázek 3.4.



Obr. 3.4 Software Salsa

3.5 Analytická metoda

Obsah hliníku byl stanovován v šesti matricích komerční výroby metodou Opticko-emisní spektrometrie s iontově vázaným plazmatem (ICP-OES) na přístroji Prodigy 7, který pracuje na základě integrace vlnových délek. Tato metoda slouží ke stanovení obsahu stopových koncentrací v analyzovaném vzorku. Prodigy 7 je schopen dosahovat nízkých koncentrací při širokém dynamickém rozsahu a umožňuje přístup na skupinu vlnových délek při jakékoliv analýze.

Principem ICP-OES je interakce plazmy se vzorkem, který je v plazmě atomizován. Vybuzené elektrony se vrací zpět na původní energetické hladiny a emitují při tom světlo o přesně definované vlnové délce, určené energetickým rozdílem obou hladin.

$$\Delta E = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$$

kde ΔE je energetický rozdíl hladin elektronu v atomu, h je Planckova konstanta (6.626×10^{-34} J.s), ν je frekvence světelného vlnění, c je rychlost světla ve vakuu a λ je vlnová délka světla. Emitované světlo je poté vedeno na velmi výkonný monochromátor, který rozdělí zachycené světelné záření podle jeho vlnových délek a fotony tohoto rozděleného světla dopadají na citlivý detektor, který převede intenzitu dopadajícího záření na elektrický signál. Intenzity signálu odpovídá množství prvku, přítomného v analyzovaném roztoku.

Obsah hliníku byl v testovaných matricích $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ stanoven metodou kalibrační křivky na maticové standardy s přidavkem interního standardu. Kritéria přijatelnosti popisuje tabulka č. 1.

3.6 Kritéria přijatelnosti

Tab. č. 1: Kritéria přijatelnosti jednotlivých validačních parametrů

Validační parametr	Kritérium přijatelnosti	Ověření
Linearita	1,000	vyhovuje
Správnost (výtěžnost)	70 - 130 %	vyhovuje
Rozsah	LOQ – 150 %	vyhovuje
Výtěžnost	70 - 130 %	vyhovuje
Opakovatelnost (RSD)	max. 15 %	vyhovuje
Reprodukovatelnost (RSD)	max. 25 %	vyhovuje
Limit detekce	0,1 mg/kg	prokázán
Limit stanovitelnosti	0,2 mg/kg	prokázán

3.7 Validace obsahu hliníku v matricích

Validace obsahu Al v matricích $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

3.7.1 Postup

Byla proměřena emise standardů a vzorku pro jednotlivé emisní čáry kovů pomocí instrumentace ICP. Po optimalizaci metody byla jako první stanovena linearita ze šesti standardů, do kterých byly přidány interní standardy viz tabulka č. 2. Stanovení bylo provedeno na matricové standardy a blank. Z proměřené linearity byly odhadnuty limity detekce (dále LOD) a stanovitelnosti (dále LOQ) v programu Effi Validation a následně byla testována linearita z blanku a 3 vzorků s přidavkem standardu na úrovních LOD–30 %, LOD a LOQ. Výťažnost byla proměřena na 3 koncentrační úrovně přidavků standardu ve vzorku po nakalibrování (příprava kalibračních matricových standardů i vzorků viz kap. 6). Pro vyhodnocení validačních parametrů byly porovnány naměřené hodnoty s korekcí a bez korekce na interní standard.

Tab. č. 2: Testované vlnové délky Al a použité interní standardy

Analyt	Vlnová délka (nm)
Al	394,401; 396,152; 167,079
Interní standard	Vlnová délka (nm)
Sc	361,383; 357,253
Y	371,030; 377,433; 410,238

3.8 Vyhodnocení

3.8.1 Specifita

Specifita je vyhodnocena při optimalizaci metody a vybrání nejvhodnějších vlnových délek Al. V tabulce č. 3 je seznam kovů, které podle software programu Salsa jsou možnými interferenty signálu hliníku.

Tab. č. 3: Interferenty ovlivňující jednotlivé vlnové délky Al, Sc a Y které byly použité pro validaci

Použité vlnové délky Al a IS	Možné interferenty
Al 167,079 nm	Fe 167,074 nm
Al 394,401 nm	Ce 394,389 nm
	Cm 394,415 nm
Al 396,152 nm	Fe 396,114 nm
Sc 361,383 nm	Mg 361,378 nm
	W 361,379 nm
Sc 357,253 nm	Fe 357,259 nm
	Yb 357,250 nm
Y 371,030 nm	Fe 371,035 nm
	Yb 371,034 nm
Y 377,433 nm	Ti 377,433 nm
	Yb 377,432 nm
Y 410,238 nm	I 410,223 nm

Ze získaných údajů z přístroje je zřejmé, že vybrané vlnové délky Al a IS nejsou ovlivňovány signály žádných kovů, které se teoreticky nachází v maticích. Mohou být tedy použity pro ověřování jednotlivých validačních parametrů. Pouze Sc 361,383 nm je ovlivňováno hořčíkem. Tento interní standard proto nebude brán v úvahu při vyhodnocování výtěžnosti v Mg matici. V blízkosti vlnové délky Al 167,079 nm se nachází interferent Fe 167,074 nm. Pro tuto vlnovou délku Al je použit vysoký proplach optiky argonem.

3.8.2 Linearita a rozsah metody CaCl₂·2H₂O

Pro vyhodnocení linearity je připraveno 6 kalibračních standardů o koncentracích Al pokrývajících předpokládaný rozsah metody. Ověřován je interval linearity stanovením spolehlivostního faktoru, jehož podmínkou je $R^2 > 0,995$. Ověřování linearity je prováděno s korekcí na interní standardy viz tabulka č. 2. Každá koncentrační úroveň je 5x opakována. Vyhodnocení je provedeno pro každou použitou vlnovou délku Al zvlášť a s korekcí na interní standard.

Tab. č. 4: Ověřená linearita

Vlnová délka Al (nm)	Interní standard (nm)	Rozsah (mg/l)	Ověřený spolehlivostní faktor R^2	RSD (%)
167,079	Sc 357,253 Sc 361,383	0,02 - 1	0,9998 0,9999	5,86128 4,00601
394,401	Sc 357,253 Sc 361,383 Y371,030 Y 377,433 Y 410,238	0,02-1	0,9997 0,9993 0,0995 0,9999 0,9997	1,37116 1,09142 1,23350 1,43964 1,77196
396,152	Sc 357,253 Sc 361,383 Y371,030 Y 377,433 Y 410,238	0,02-1	1,0000 1,0000 1,0000 1,0000 0,9999	1,26365 1,52703 1,21566 1,29685 1,92824

Vyhodnocení linearity se prováděno na základě spolehlivostního faktoru R^2 , který je výsledkem lineární závislosti v obrázcích č. 1 – 3. Grafické vyhodnocení je vždy provedeno bez korekce a s korekcí na jednotlivé interní standardy. V následujících tabulkách je vyhodnocen parametr RSD z naměřených hodnot linearity, který by neměl přesáhnout 15 %. Tento parametr je kritériem pro opakovatelnost, která byla prováděna pětinasobným proměřením každého standardu v rámci linearity. V tabulkách č. 5 – 7 je vyhodnocena opakovatelnost z linearity pro vlnovou délku Al 167,079, nejprve bez korekce a následně s korekcí na všechny použité interní standardy.

Tab. č. 5: Vyhodnocení linearity na Al 167,079 nm

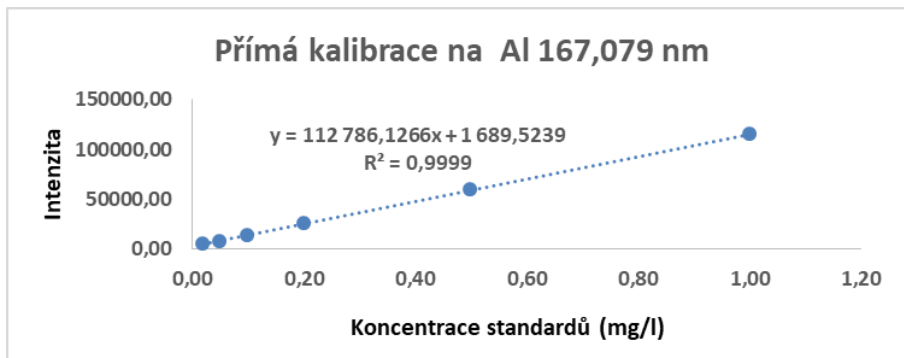
167,079 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	4408	3926	3765	3831	4486	4083,20	338,12379	8,28085
std 2	0,05	5870	6843	6909	6323	7680	6725,00	680,52076	10,11927
std 3	0,10	12756	12738	13492	12377	13085	12889,60	419,71931	3,25626
std 4	0,20	24088	24030	24789	24869	24606	24476,40	393,31196	1,60690
std 5	0,50	58310	59139	58794	58421	59003	58733,40	359,76701	0,61254
std 6	1,00	114913	112769	112875	114721	115420	114139,60	1230,17836	1,07778

Tab. č. 6: Hodnoty linearity pro Al 167,079 nm korigované na Sc 361,383 nm

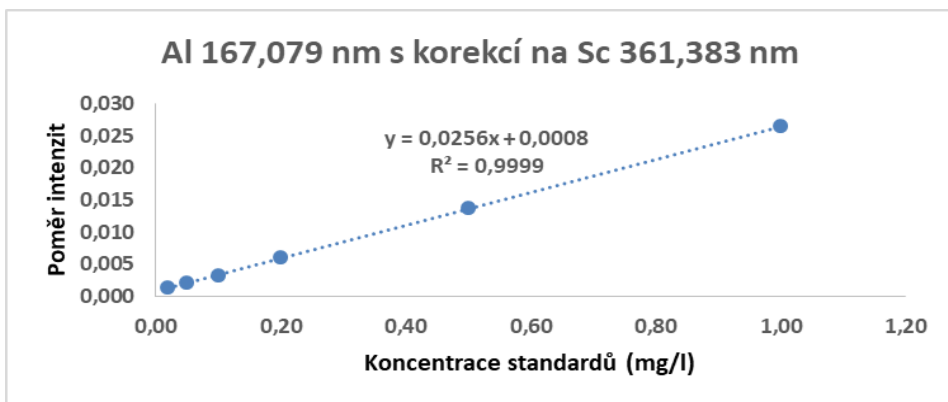
167,079 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,001404	0,001254	0,001322	0,00143	0,001173	0,001	0,00011	8,06207
std 2	0,05	0,001999	0,002234	0,002061	0,002137	0,002199	0,002	0,00010	4,55236
std 3	0,10	0,003133	0,003139	0,003513	0,003382	0,003231	0,003	0,00016	5,02378
std 4	0,20	0,006093	0,005456	0,006195	0,005879	0,005952	0,006	0,00028	4,80735
std 5	0,50	0,013558	0,0136	0,013681	0,013866	0,013996	0,014	0,00019	1,34993
std 6	1,00	0,026321	0,026239	0,02641	0,026363	0,026351	0,026	0,00006	0,24060

Tab. č. 7: Hodnoty linearity pro Al 167,079 nm korigované na Sc 357,253 nm

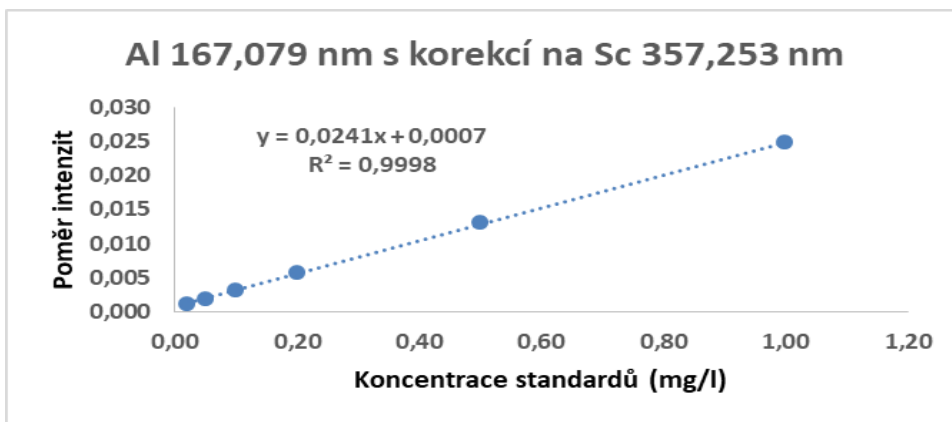
167,079 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,00089	0,000965	0,001238	0,001308	0,001067	0,001	0,00018	16,19806
std 2	0,05	0,002118	0,001673	0,00183	0,001533	0,00195	0,002	0,00023	12,57733
std 3	0,10	0,00308	0,003264	0,003245	0,003171	0,003062	0,003	0,00009	2,91648
std 4	0,20	0,005553	0,005624	0,005794	0,005815	0,005555	0,006	0,00013	2,25612
std 5	0,50	0,012977	0,013052	0,012871	0,012867	0,013013	0,013	0,00008	0,64637
std 6	1,00	0,024882	0,024895	0,024781	0,02456	0,024676	0,025	0,00014	0,57333



Obr. 1: Kalibrace Al 167,079 nm



Obr. 2: Kalibrace Al 167,079 nm s korekcí na Sc 361,383 nm



Obr. 3: Kalibrace Al 167,079 nm s korekcí na Sc 357,253 nm

V tabulkách č. 8 – 13 je vyhodnocena opakovatelnost z linearitu pro vlnovou délku Al 394,401, nejprve bez korekce a následně s korekcí na všechny použité interní standardy. Grafické zobrazení linearitu a spolehlivostní faktor pro tuto vlnovou délku Al bez korekce a s korekcí na interní standardy je v obrázcích č. 4 – 9.

Tab. č. 8: Vyhodnocení linearity na Al 394,401 nm

394,401 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	242607	244142	242456	241508	235527	241248,00	3334,62224	1,38224
std 2	0,05	245173	247306	254080	241131	249456	247429,20	4824,77976	1,94996
std 3	0,10	274266	275689	269187	264027	273722	271378,20	4776,43389	1,76007
std 4	0,20	309645	323981	324681	314800	318358	318293,00	6327,57983	1,98797
std 5	0,50	459425	452305	461949	458709	459878	458453,20	3642,14445	0,79444
std 6	1,00	683819	689264	686900	688195	684571	686549,80	2322,12848	0,33823

Tab. č. 9: Hodnoty linearity pro Al 394,401 nm korigované na Sc 361,383 nm

394,401 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,070828	0,07013	0,069216	0,06833	0,070639	0,070	0,00104	1,49641
std 2	0,05	0,071706	0,071904	0,073061	0,0705	0,070629	0,072	0,00105	1,46280
std 3	0,10	0,080001	0,081972	0,080194	0,081705	0,079388	0,081	0,00113	1,39763
std 4	0,20	0,094099	0,09364	0,094314	0,095646	0,093664	0,094	0,00082	0,86967
std 5	0,50	0,133136	0,133211	0,13463	0,133154	0,134314	0,134	0,00072	0,54155
std 6	1,00	0,200509	0,201971	0,204476	0,201069	0,201069	0,202	0,00158	0,78046

Tab. č. 10: Hodnoty linearity pro Al 394,401 nm korigované na Y 377,433 nm

394,401 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,104455	0,100624	0,104514	0,10596	0,104013	0,104	0,00198	1,90490
std 2	0,05	0,10995	0,106587	0,112492	0,108842	0,109929	0,110	0,00214	1,94904
std 3	0,10	0,12065	0,124279	0,117007	0,119467	0,116731	0,120	0,00308	2,57531
std 4	0,20	0,140978	0,140734	0,142497	0,146173	0,141607	0,142	0,00222	1,55734
std 5	0,50	0,204561	0,204033	0,203448	0,204343	0,204803	0,204	0,00052	0,25684
std 6	1,00	0,308887	0,310599	0,308637	0,307513	0,307764	0,309	0,00122	0,39439

Tab. č. 11: Hodnoty linearity pro Al 394,401 nm korigované na Sc 357,253 nm

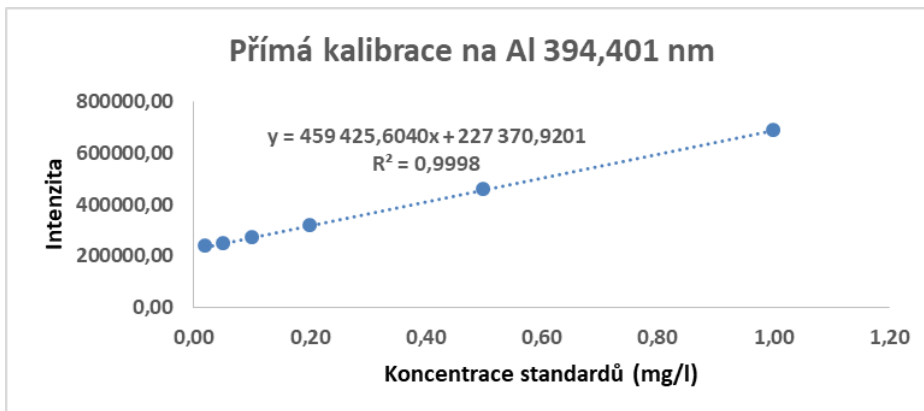
394,401 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,081823	0,084049	0,080688	0,083025	0,081055	0,082	0,00140	1,70170
std 2	0,05	0,08373	0,084995	0,082479	0,083913	0,082758	0,084	0,00100	1,20002
std 3	0,10	0,093271	0,088198	0,088841	0,088784	0,089293	0,090	0,00205	2,28176
std 4	0,20	0,103621	0,105086	0,102884	0,103345	0,099864	0,103	0,00192	1,86166
std 5	0,50	0,14435	0,14632	0,146243	0,145213	0,14416	0,145	0,00102	0,69955
std 6	1,00	0,216919	0,214302	0,214738	0,215848	0,214986	0,215	0,00104	0,48226

Tab. č. 12: Hodnoty linearity pro Al 394,401 nm korigované na Y 371,030 nm

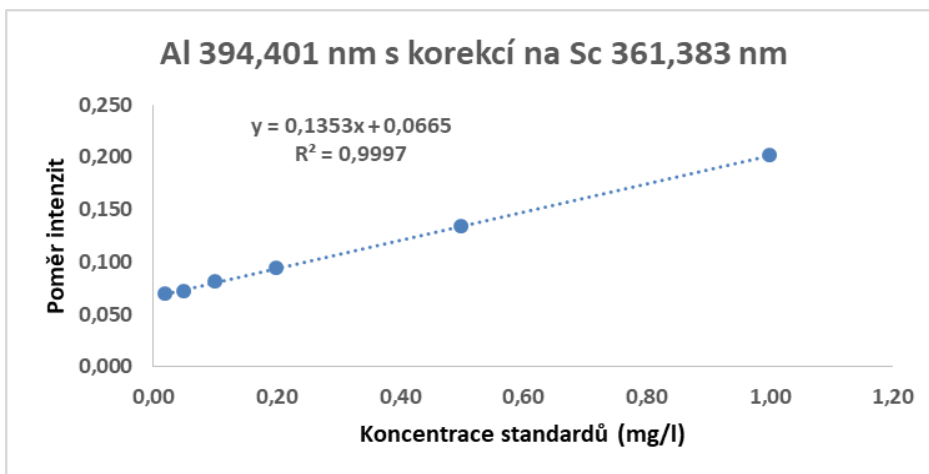
394,401 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,033284	0,034052	0,033687	0,033478	0,03369	0,034	0,00029	0,85053
std 2	0,05	0,03479	0,035792	0,03534	0,034417	0,034674	0,035	0,00056	1,58624
std 3	0,10	0,039615	0,038501	0,037834	0,039446	0,038492	0,039	0,00074	1,91095
std 4	0,20	0,045696	0,044582	0,044958	0,04593	0,04444	0,045	0,00066	1,47258
std 5	0,50	0,066743	0,064742	0,065177	0,064613	0,065397	0,065	0,00085	1,29969
std 6	1,00	0,098569	0,09807	0,098821	0,098565	0,098617	0,099	0,00028	0,28098

Tab. č. 13: Hodnoty linearity pro Al 394,401 nm korigované na Y 410,238 nm

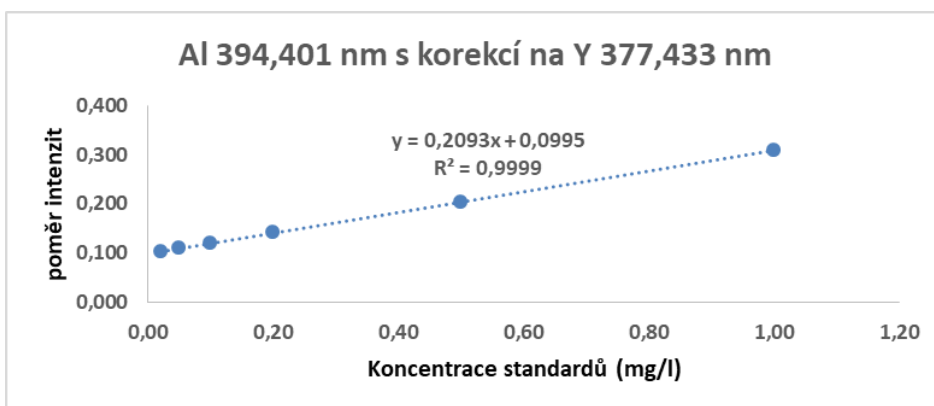
394,401 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	1,066581	1,081199	1,070321	1,068946	1,065747	1,071	0,00622	0,58118
std 2	0,05	1,12501	1,129116	1,078522	1,135808	1,079257	1,110	0,02825	2,54588
std 3	0,10	1,199785	1,225706	1,211625	1,27962	1,233598	1,230	0,03059	2,48722
std 4	0,20	1,458252	1,421035	1,475676	1,506923	1,469506	1,466	0,03107	2,11917
std 5	0,50	2,063379	2,058775	2,124632	2,143149	2,135361	2,105	0,04072	1,93426
std 6	1,00	3,242826	3,229543	3,307046	3,235986	3,244475	3,252	0,03135	0,96407



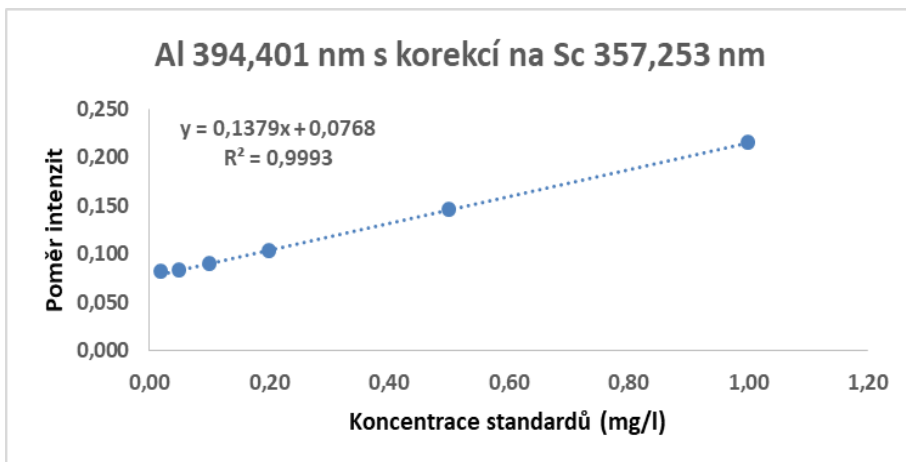
Obr. 4: Kalibrace Al 394,401 nm



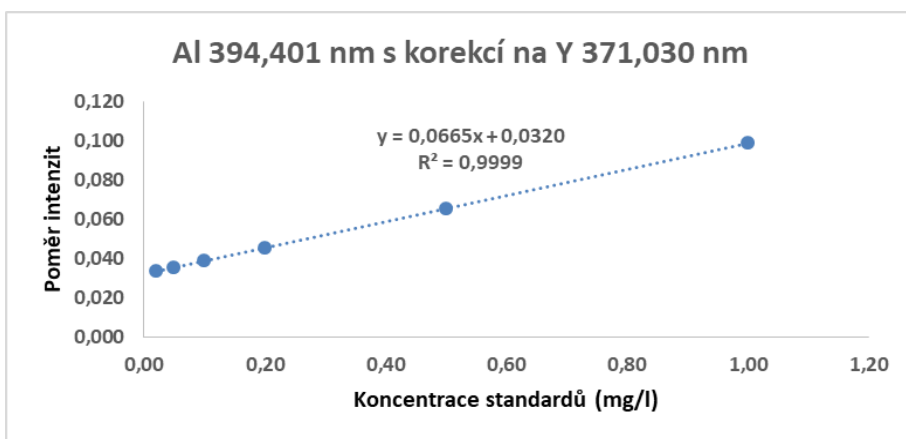
Obr. 5: Kalibrace Al 394,401 nm s korekcí na Sc 361,383 nm



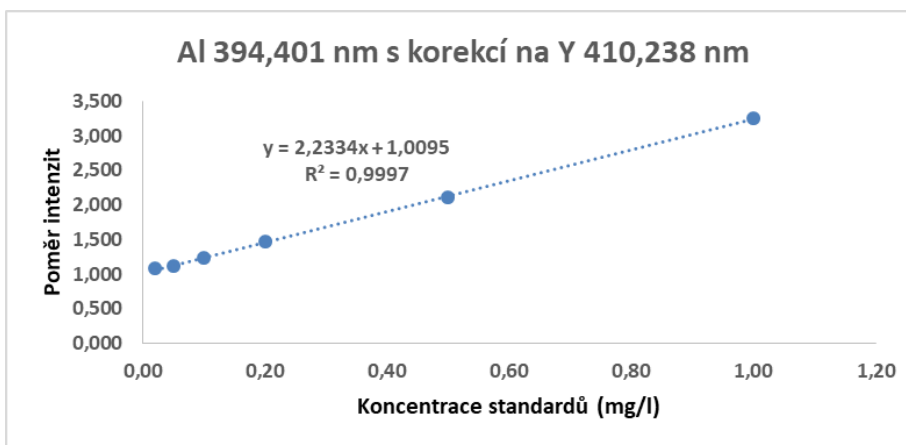
Obr. 6: Kalibrace Al 394,401 nm s korekcí na Y 377,433 nm



Obr. 7: Kalibrace Al 394,401 nm s korekcí na Sc 357,253 nm



Obr. 8: Kalibrace Al 394,401 nm s korekcí na Y 371,030 nm



Obr. 9: Kalibrace Al 394,401 nm s korekcí na Y 410,238 nm

V tabulkách č. 14 – 19 je vyhodnocena opakovatelnost z linearity pro vlnovou délku Al 396,152 nm, nejprve bez korekce a následně s korekcí na všechny použité interní standardy. Grafické zobrazení linearity a spolehlivostní faktor pro tuto vlnovou délku Al bez korekce a s korekcí na interní standardy je v obrázcích č. 10 – 15.

Tab. č. 14: Vyhodnocení linearity na Al 396,152 nm

396,152 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	150098	151383	158953	158492	154704	154726,00	4020,09956	2,59821
std 2	0,05	193957	187218	190207	182888	199805	190815,00	6458,28278	3,38458
std 3	0,10	253183	257884	252656	254237	256345	254861,00	2202,71821	0,86428
std 4	0,20	396604	389127	394377	392544	388225	392175,40	3517,59183	0,89694
std 5	0,50	789255	796328	783160	786265	794958	789993,20	5610,61420	0,71021
std 6	1,00	1465528	1464063	1460528	1465672	1453832	1461924,60	4975,96521	0,34037

Tab. č. 15: Hodnoty linearity pro Al 396,152 nm korigované na Sc 361,383 nm

396,152 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,026407	0,027867	0,027035	0,027618	0,027479	0,027	0,00057	2,10613
std 2	0,05	0,03607	0,03643	0,03958	0,036813	0,03878	0,038	0,00155	4,13180
std 3	0,10	0,056568	0,056333	0,058612	0,057003	0,057358	0,057	0,00090	1,56571
std 4	0,20	0,092926	0,093277	0,092365	0,091995	0,091597	0,092	0,00068	0,73590
std 5	0,50	0,199922	0,200143	0,198946	0,200077	0,199288	0,200	0,00053	0,26534
std 6	1,00	0,383275	0,382889	0,382134	0,383949	0,380381	0,383	0,00137	0,35731

Tab. č. 16: Hodnoty linearity pro Al 396,152 nm korigované na Y 377,433 nm

396,152 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,066929	0,067022	0,068689	0,067407	0,065815	0,067	0,00103	1,53984
std 2	0,05	0,085276	0,08119	0,08436	0,08514	0,08615	0,084	0,00192	2,26923
std 3	0,10	0,116862	0,118114	0,116207	0,118792	0,11333	0,117	0,00212	1,81808
std 4	0,20	0,177676	0,17729	0,176141	0,179142	0,173746	0,177	0,00202	1,14016
std 5	0,50	0,355972	0,355583	0,35699	0,356777	0,353488	0,356	0,00140	0,39215
std 6	1,00	0,662526	0,656805	0,659954	0,652694	0,653982	0,657	0,00409	0,62166

Tab. č. 17: Hodnoty linearity pro Al 396,152 nm korigované na Sc 357,253 nm

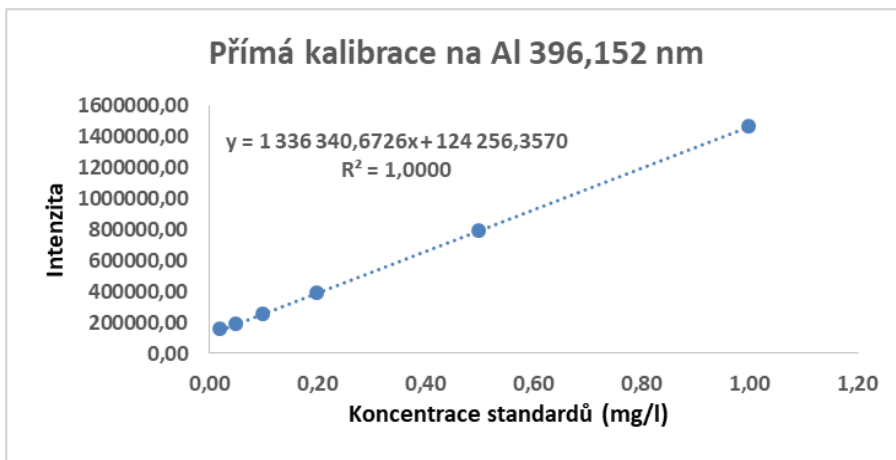
396,152 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,045241	0,044446	0,045463	0,042505	0,042855	0,044	0,00136	3,07854
std 2	0,05	0,057508	0,054745	0,055641	0,055955	0,054893	0,056	0,00111	1,98310
std 3	0,10	0,077369	0,078557	0,078872	0,077668	0,078519	0,078	0,00064	0,82242
std 4	0,20	0,118369	0,120471	0,121365	0,120175	0,119375	0,120	0,00114	0,94636
std 5	0,50	0,243619	0,24472	0,243772	0,242753	0,245811	0,244	0,00117	0,47852
std 6	1,00	0,450702	0,451639	0,449843	0,450994	0,45314	0,451	0,00123	0,27294

Tab. č. 18: Hodnoty linearity pro Al 396,152 nm korigované na Y 371,030 nm

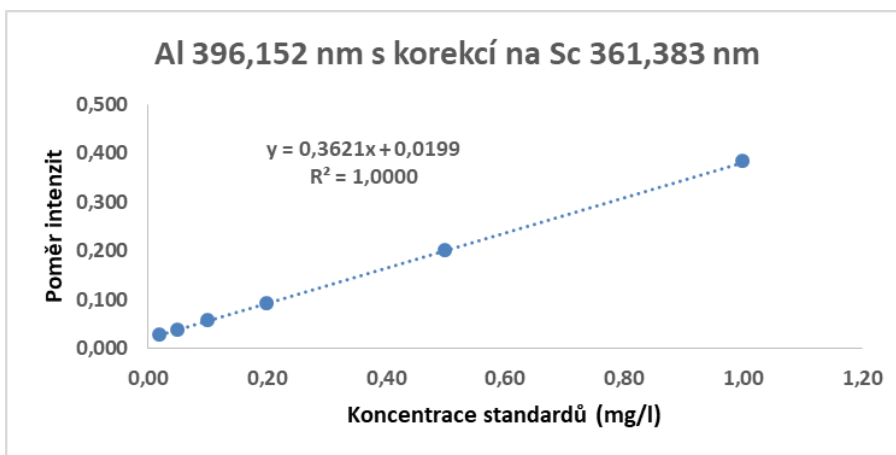
396,152 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,022467	0,021892	0,021565	0,021515	0,021826	0,022	0,00038	1,73714
std 2	0,05	0,027726	0,02756	0,028734	0,027503	0,027221	0,028	0,00058	2,09032
std 3	0,10	0,036753	0,037959	0,038449	0,036897	0,038342	0,038	0,00080	2,13136
std 4	0,20	0,057559	0,056626	0,057135	0,056401	0,056706	0,057	0,00046	0,81043
std 5	0,50	0,115096	0,115707	0,114929	0,115709	0,115075	0,115	0,00038	0,32530
std 6	1,00	0,212103	0,211988	0,211377	0,212076	0,212559	0,212	0,00042	0,19941

Tab. č. 19: Hodnoty linearity pro Al 396,152 nm korigované na Y 410,238 nm

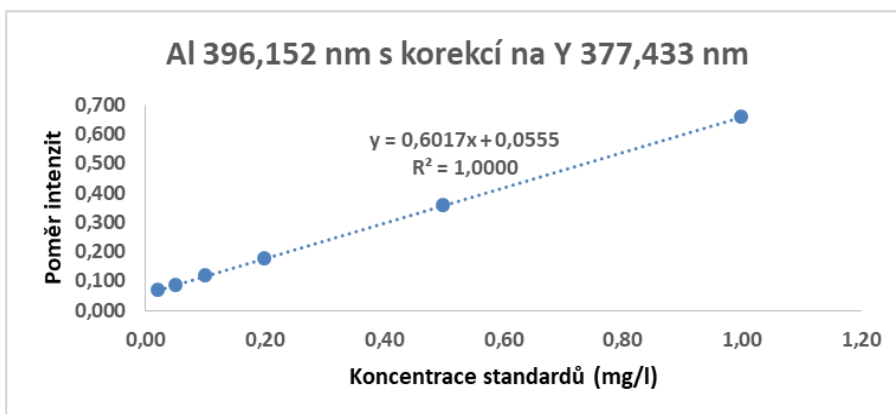
396,152 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,697693	0,71664	0,714872	0,670422	0,698391	0,700	0,01857	2,65500
std 2	0,05	0,900665	0,887588	0,923582	0,871074	0,849057	0,886	0,02836	3,19930
std 3	0,10	1,156205	1,216797	1,220345	1,211584	1,188072	1,199	0,02684	2,23896
std 4	0,20	1,82602	1,832699	1,86821	1,864387	1,832823	1,845	0,01984	1,07535
std 5	0,50	3,697339	3,645468	3,719038	3,795961	3,739048	3,719	0,05523	1,48487
std 6	1,00	6,966485	6,913526	7,05891	6,896303	6,97575	6,962	0,06377	0,91594



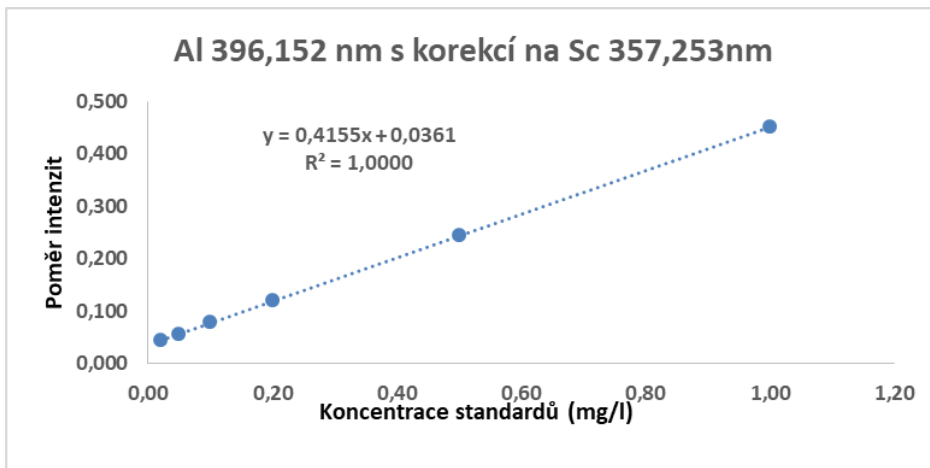
Obr. 10: Kalibrace Al 396,152 nm



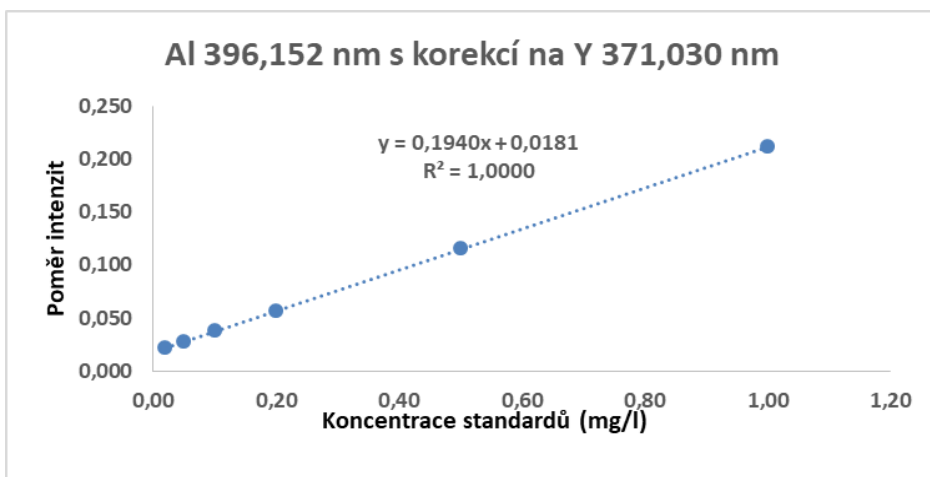
Obr. 11: Kalibrace Al 396,152 nm s korekcí na Sc 361,383 nm



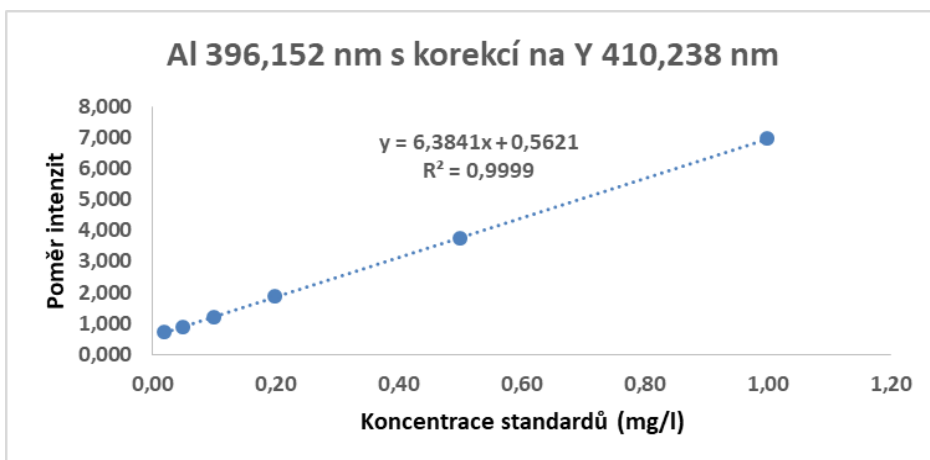
Obr. 12: Kalibrace Al 396,152 nm s korekcí na Y 377,433 nm



Obr. 13: Kalibrace Al 396,152 nm s korekcí na Sc 357,253 nm



Obr. 14: Kalibrace Al 396,152 nm s korekcí na Y 371,030 nm



Obr. 15: Kalibrace Al 396,152 nm s korekcí na Y 410,238 nm

Ze všech naměřených hodnot lze usoudit, že linearita daného rozsahu koncentrací standardů (0,02 – 1 mg/l) byla prokázána na základě splněného spolehlivostního faktoru $R^2 > 0,995$, pro všechny použité vlnové délky hliníku i pro korekci na pět vlnových délek interních standardů. Zároveň byla dokázána opakovatelnost linearitu vypočítáním relativní chyby RSD, která je ve všech případech menší než 15 %. Al s vlnovou délkou 394,401 nm má použitelnou hodnotu RSD. Avšak s touto vlnovou délkou se nedá pracovat, jelikož výsledky analýzy čisté šarže bez přídavku Al, poskytuje falešně zvýšenou koncentraci Al nad 1 mg/kg vlivem překryvu s jinou spektrální čarou, která tímto zvyšuje příspěvek signálu. Z toho důvodu je nejvýhodnější Al s vlnovou délkou 396,152 nm s korekcí na Sc 361,383 nm.

3.8.3 Linearita a rozsah metody pro $MgCl_2 \cdot 6H_2O$

Pro vyhodnocení linearitu je připraveno 6 kalibračních standardů o koncentracích Al pokrývajících předpokládaný rozsah metody. Ověřován je interval linearitu stanovením spolehlivostního faktoru, jehož podmínkou je $R^2 > 0,995$. Ověřování linearitu je prováděno s korekcí na interní standardy viz tabulka č. 20. Každá koncentrační úroveň je 5x opakována. Vyhodnocení je provedeno pro každou použitou vlnovou délku Al zvlášť a s korekcí na interní standard.

Tab. č. 20: Ověřená linearita

Vlnová délka Al (nm)	Interní standard (nm)	Rozsah (mg/l)	Ověřený spolehlivostní faktor R^2	RSD (%)
167,079	Y 371,030	0,02 - 1	0,9998	9,84338
	Y 377,422		0,9999	7,69835
	Y 410,238		0,9999	9,30115
394,401	Sc 357,253	0,02-1	1,0000	1,37116
	Sc 361,383		1,0000	1,09142
	Y371,030		1,0000	1,23350
	Y 377,433		1,0000	1,43964
	Y 410,238		1,0000	1,77196
396,152	Sc 357,253	0,02-1	1,0000	0,74473
	Sc 361,383		1,0000	0,64658
	Y 371,030		1,0000	0,55588
	Y 377,433		1,0000	0,49228
	Y 410,238		1,0000	0,91723

Vyhodnocení linearitu je prováděno na základě spolehlivostního faktoru R^2 , který je výsledkem lineární závislosti v obrázcích č. 16 – 19. Grafické vyhodnocení je vždy provedeno bez korekce a s korekcí na jednotlivé interní standardy. V následujících tabulkách je vyhodnocen parametr RSD z naměřených hodnot linearitu, který by neměl přesáhnout 15 %. Tento parametr je důkazem pro opakovatelnost, která je prováděna pětinasobným proměřením každého standardu v rámci linearitu. V tabulkách č. 21 – 24 je vyhodnocena opakovatelnost z linearitu pro vlnovou délku Al 167,079, nejprve bez korekce a následně s korekcí na všechny použité interní standardy.

Tab. č. 21: Vyhodnocení linearity na Al 167,079 nm

167,079 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	1972	2154	1971	2102	2029	2045,60	80,91539	3,95558
std 2	0,05	2296	2763	2638	2609	2269	2515,00	220,19650	8,75533
std 3	0,10	3747	4102	3916	3965	4110	3968,00	149,72809	3,77339
std 4	0,20	7773	7895	7360	7970	7409	7681,40	280,53752	3,65217
std 5	0,50	18704	18707	18438	18840	18385	18614,80	194,44717	1,04458
std 6	1,00	36518	36383	36376	36402	36453	36426,40	59,40791	0,16309

Tab. č. 22: Vyhodnocení linearity na Al 167,079 nm korigované na Y 371,030 nm

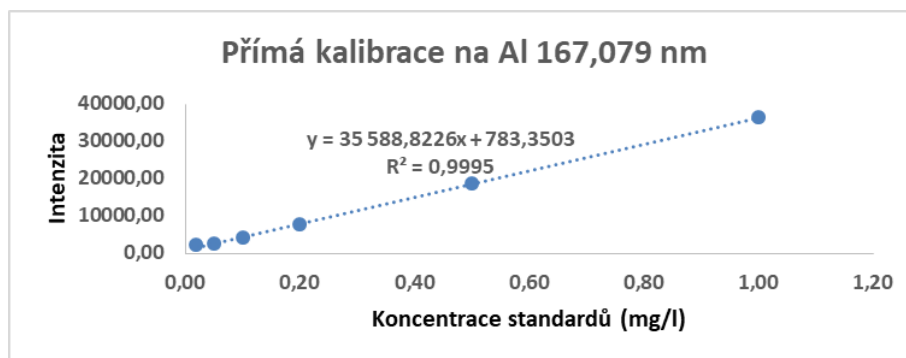
167,079 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,000228	0,000338	0,000325	0,000306	0,000174	0,0003	0,00007	25,68256
std 2	0,05	0,000705	0,000469	0,000584	0,000463	0,000434	0,0005	0,00011	21,25684
std 3	0,10	0,000982	0,000897	0,001078	0,001106	0,001084	0,0010	0,00009	8,55021
std 4	0,20	0,001909	0,001892	0,001828	0,001867	0,001872	0,0019	0,00003	1,62705
std 5	0,50	0,004771	0,004752	0,004619	0,004718	0,004708	0,0047	0,00006	1,24472
std 6	1,00	0,009193	0,009163	0,009213	0,009055	0,009113	0,0091	0,00006	0,69887

Tab. č. 23: Vyhodnocení linearity na Al 167,079 nm korigované na Y 377,433 nm

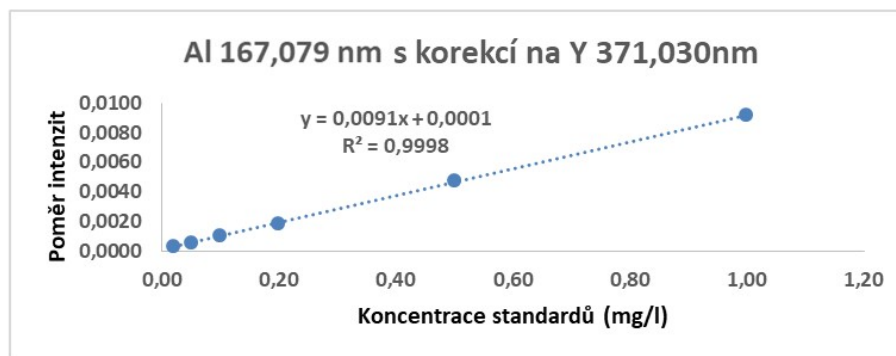
167,079 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,000826	0,000899	0,000618	0,001021	0,000646	0,001	0,00017	21,24628
std 2	0,05	0,001471	0,001419	0,001719	0,001949	0,001782	0,002	0,00022	13,24954
std 3	0,10	0,003014	0,003335	0,003282	0,003225	0,003008	0,003	0,00015	4,81448
std 4	0,20	0,006245	0,005786	0,006156	0,005611	0,005987	0,006	0,00026	4,38074
std 5	0,50	0,014536	0,014827	0,014656	0,014353	0,014919	0,015	0,00023	1,54290
std 6	1,00	0,028428	0,028329	0,028686	0,027999	0,028618	0,028	0,00027	0,95619

Tab. č. 24: Vyhodnocení linearity na Al 167,079 nm korigované na Y 410,238 nm

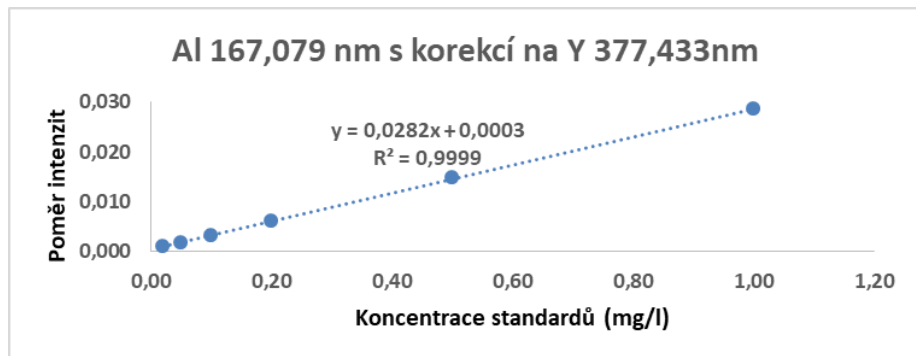
167,079 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,004681	0,004393	0,002947	0,005629	0,003411	0,004	0,00106	25,18749
std 2	0,05	0,009635	0,00942	0,012721	0,012204	0,011541	0,011	0,00150	13,51551
std 3	0,10	0,025357	0,024507	0,028062	0,022711	0,027212	0,026	0,00214	8,35485
std 4	0,20	0,044422	0,050784	0,049033	0,047944	0,048177	0,048	0,00233	4,83715
std 5	0,50	0,117796	0,120627	0,116701	0,123056	0,120015	0,120	0,00249	2,08216
std 6	1,00	0,231387	0,238146	0,237321	0,243573	0,238779	0,238	0,00435	1,82971



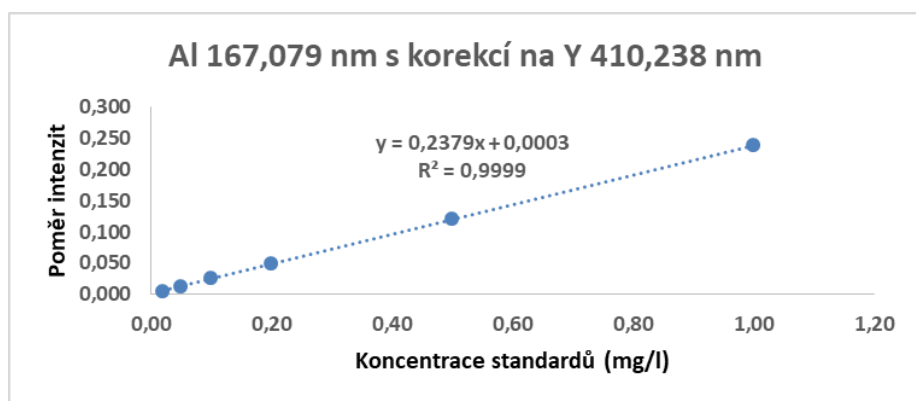
Obr. 16: Kalibrace Al 167,079 nm



Obr. 17: Kalibrace Al 167,079 nm s korekcí na Y 371,030 nm



Obr. 18: Kalibrace Al 167,079 nm s korekcí na Y 377,433 nm



Obr. 19: Kalibrace Al 167,079 nm s korekcí na Y 410,238 nm

V tabulkách č. 25 – 30 je vyhodnocena opakovatelnost z linearity pro vlnovou délku Al 394,401, nejprve bez korekce a následně s korekcí na všechny použité interní standardy. Grafické zobrazení linearity a spolehlivostní faktor pro tuto vlnovou délku Al bez korekce a s korekcí na interní standardy je v obrázcích č. 20 – 25.

Tab. č. 25: Vyhodnocení linearity na Al 394,401 nm

394,401 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	25386	25371	25261	22550	23108	24335,20	1389,88550	5,71142
std 2	0,05	35342	35171	37076	35765	33900	35450,80	1144,01735	3,22706
std 3	0,10	59105	58567	61006	58955	59618	59450,20	947,77355	1,59423
std 4	0,20	117031	114892	114213	113837	113062	114607,00	1507,66061	1,31550
std 5	0,50	268142	273994	279466	280445	280289	276467,20	5358,34683	1,93815
std 6	1,00	557243	549312	539758	543565	541991	546373,80	7029,21814	1,28652

Tab. č. 26: Vyhodnocení linearity na Al 394,401 nm korigované na Sc 357,253 nm

394,401 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,007943	0,007865	0,007827	0,007811	0,007926	0,008	0,00006	0,74384
std 2	0,05	0,015399	0,015495	0,015964	0,015347	0,016328	0,016	0,00042	2,70324
std 3	0,10	0,025758	0,025422	0,026684	0,025766	0,026302	0,026	0,00050	1,92940
std 4	0,20	0,05009	0,049726	0,049343	0,049979	0,050544	0,050	0,00044	0,89050
std 5	0,50	0,12071	0,119338	0,119296	0,119016	0,119226	0,120	0,00068	0,56745
std 6	1,00	0,234998	0,234456	0,235591	0,23538	0,235859	0,235	0,00055	0,23260

Tab. č. 27: Vyhodnocení linearity na Al 394,401 nm korigované na Sc 361,383 nm

394,401 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,004482	0,004613	0,00461	0,004385	0,004555	0,005	0,00010	2,13040
std 2	0,05	0,009232	0,009943	0,010435	0,010209	0,009285	0,010	0,00054	5,52262
std 3	0,10	0,019208	0,019266	0,019499	0,019983	0,019471	0,019	0,00031	1,56735
std 4	0,20	0,036674	0,036938	0,03715	0,037141	0,03773	0,037	0,00039	1,04775
std 5	0,50	0,094599	0,094606	0,094736	0,094531	0,093871	0,094	0,00034	0,36224
std 6	1,00	0,186978	0,18718	0,187624	0,187223	0,188282	0,187	0,00052	0,27583

Tab. č. 28: Vyhodnocení linearity na Al 394,401 nm korigované na Y 371,030 nm

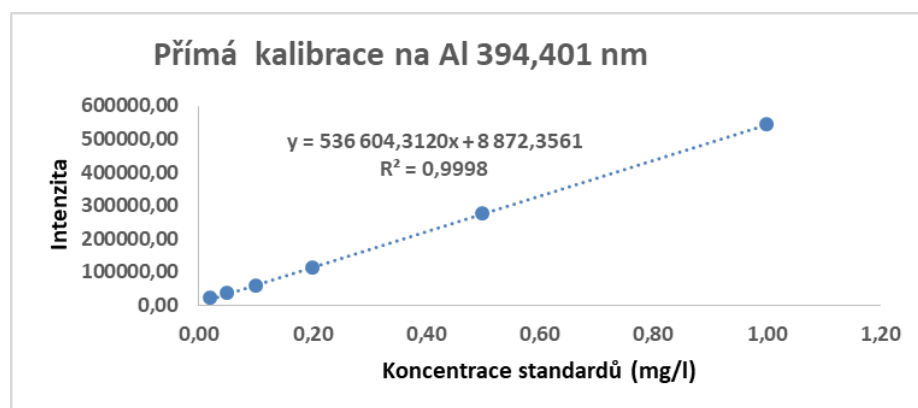
394,401 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,002627	0,003075	0,002789	0,002751	0,002605	0,003	0,00019	6,78951
std 2	0,05	0,00596	0,005924	0,005687	0,006089	0,005978	0,006	0,00015	2,49573
std 3	0,10	0,011209	0,011425	0,01124	0,011069	0,011185	0,011	0,00013	1,14787
std 4	0,20	0,021534	0,021354	0,021305	0,02141	0,021289	0,021	0,00010	0,46297
std 5	0,50	0,053804	0,053458	0,053646	0,053122	0,053507	0,054	0,00025	0,47478
std 6	1,00	0,106586	0,106687	0,107074	0,106887	0,106315	0,107	0,00029	0,27150

Tab. č. 29: Vyhodnocení linearity na Al 394,401 nm korigované na Y 377,433 nm

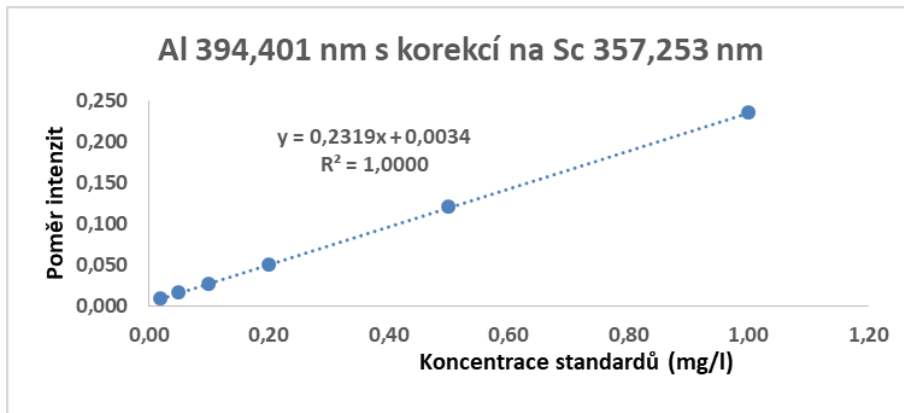
394,401 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,005	0,005457	0,005573	0,005455	0,004931	0,005	0,00029	5,58256
std 2	0,05	0,013806	0,013824	0,013382	0,01433	0,013891	0,014	0,00034	2,43216
std 3	0,10	0,027341	0,02716	0,027636	0,026751	0,026312	0,027	0,00052	1,91606
std 4	0,20	0,05143	0,051255	0,051995	0,051718	0,051157	0,052	0,00034	0,66865
std 5	0,50	0,130757	0,130993	0,130464	0,130788	0,130753	0,131	0,00019	0,14428
std 6	1,00	0,261156	0,259644	0,258248	0,258161	0,259388	0,259	0,00122	0,47123

Tab. č. 30: Vyhodnocení linearity na Al 394,401 nm korigované na Y 410,238 nm

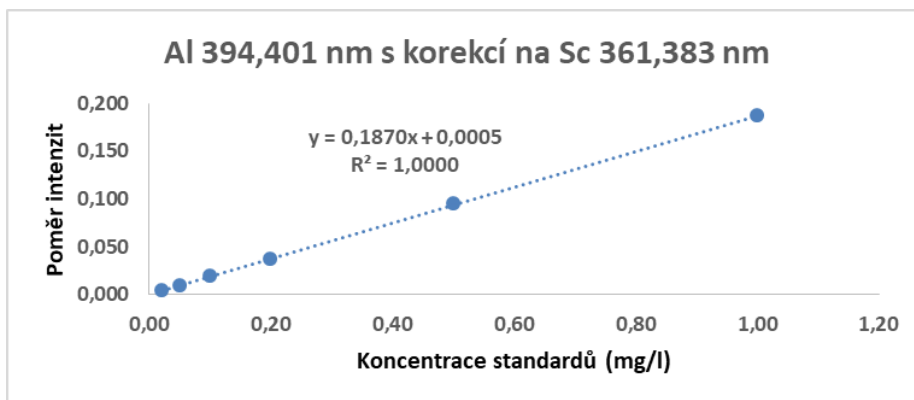
394,401 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,062006	0,063327	0,071704	0,054957	0,0567	0,062	0,00658	10,66075
std 2	0,05	0,124198	0,130761	0,131775	0,126883	0,130063	0,129	0,00313	2,42936
std 3	0,10	0,245441	0,244064	0,234775	0,231086	0,24371	0,240	0,00645	2,69009
std 4	0,20	0,48287	0,47478	0,474371	0,475579	0,477028	0,477	0,00347	0,72853
std 5	0,50	1,149532	1,170065	1,148829	1,161657	1,144718	1,155	0,01055	0,91320
std 6	1,00	2,289726	2,297342	2,336343	2,283891	2,301529	2,302	0,02049	0,89027



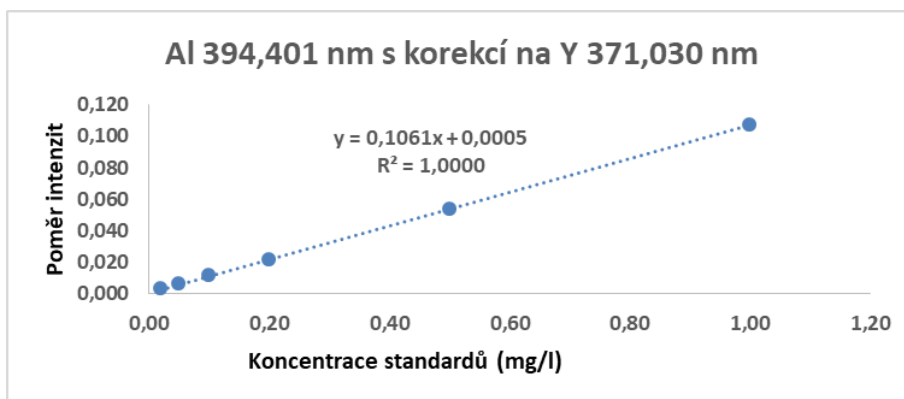
Obr. 20: Kalibrace Al 394,401 nm



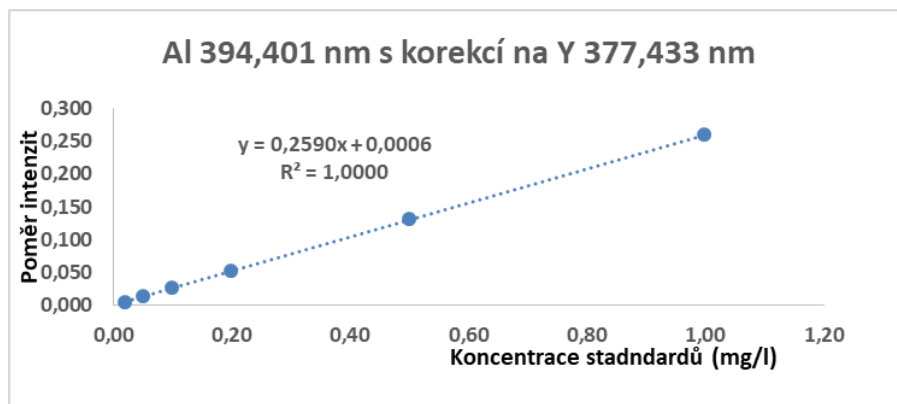
Obr. 21: Kalibrace Al 394,401 nm korigované na Sc 357,253 nm



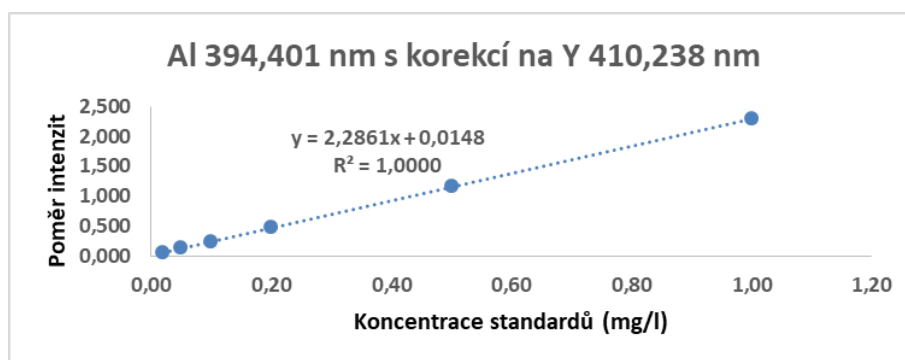
Obr. 22: Kalibrace Al 394,401 nm korigované na Sc 361,383 nm



Obr. 23: Kalibrace Al 394,401 nm korigované na Y 371,030 nm



Obr. 24: Kalibrace Al 394,401 nm korigované na Y 377,433 nm



Obr. 25: Kalibrace Al 394,401 nm korigované na Y 410,238 nm

V tabulkách č. 31 – 36 je vyhodnocena opakovatelnost z linearit pro vlnovou délku Al 396,152 nm, nejprve bez korekce a následně s korekcí na všechny použité interní standardy. Grafické zobrazení linearit a spolehlivostní faktor pro tuto vlnovou délku Al bez korekce a s korekcí na interní standardy je v obrázcích č. 26 – 31.

Tab. č. 31: Vyhodnocení linearit na Al 396,152 nm

396,152 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	85664	84414	82995	81580	80781	83086,80	1999,93792	2,40705
std 2	0,05	126204	126388	125415	126123	126350	126096,00	395,57995	0,31371
std 3	0,10	222425	220710	221484	221535	219601	221151,00	1058,11176	0,47846
std 4	0,20	424496	419312	421779	416615	417079	419856,20	3306,78374	0,78760
std 5	0,50	996550	1006572	1021945	1032364	1025746	1016635,40	14690,80542	1,44504
std 6	1,00	2041942	2005846	1977137	1985073	1970059	1996011,40	28964,45239	1,45112

Tab. č. 32: Vyhodnocení linearity na Al 396,152 nm korigované na Sc 357,253 nm

396,152 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,025687	0,024573	0,024657	0,025312	0,024828	0,025	0,00047	1,89463
std 2	0,05	0,048488	0,048543	0,049206	0,049344	0,04999	0,049	0,00062	1,26608
std 3	0,10	0,086227	0,087194	0,086965	0,086744	0,086979	0,087	0,00037	0,42460
std 4	0,20	0,167836	0,167184	0,16875	0,168867	0,167888	0,168	0,00070	0,41687
std 5	0,50	0,409155	0,409343	0,409855	0,409606	0,412144	0,410	0,00122	0,29662
std 6	1,00	0,808555	0,806249	0,806113	0,809084	0,808201	0,808	0,00137	0,16959

Tab. č. 33: Vyhodnocení linearity na Al 396,152 nm korigované na Sc 361,383 nm

396,152 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,01813	0,018422	0,017788	0,018504	0,017896	0,018	0,00031	1,73209
std 2	0,05	0,036591	0,036603	0,036174	0,036527	0,036134	0,036	0,00023	0,63754
std 3	0,10	0,068791	0,067985	0,069263	0,068222	0,06867	0,069	0,00050	0,72941
std 4	0,20	0,130034	0,131103	0,131016	0,131258	0,131074	0,131	0,00049	0,37485
std 5	0,50	0,324897	0,325658	0,325366	0,325856	0,326478	0,326	0,00059	0,18009
std 6	1,00	0,645211	0,643685	0,643173	0,645197	0,64686	0,645	0,00145	0,22550

Tab. č. 34: Vyhodnocení linearity na Al 396,152 nm korigované na Y 371,030 nm

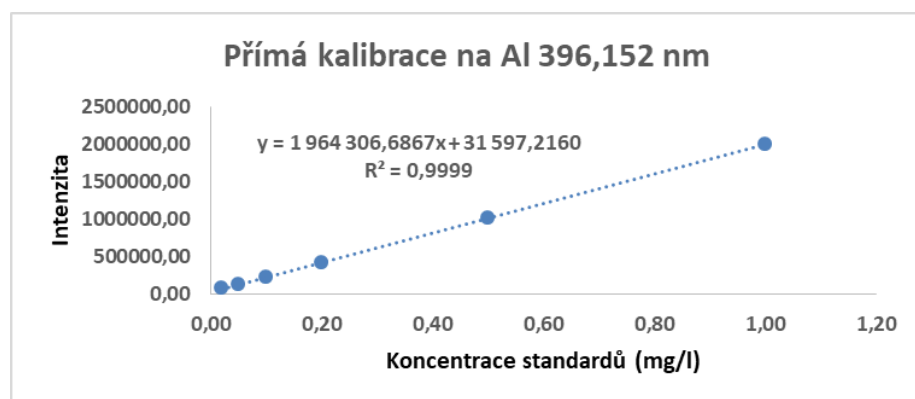
396,152 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	59910	60518	59252	57577	60109	59473,20	1154,46381	1,94115
std 2	0,05	120294	119553	119720	119336	119880	119756,60	361,84361	0,30215
std 3	0,10	221094	221615	223031	223271	222428	222287,80	924,18921	0,41576
std 4	0,20	420804	422776	420331	421001	419743	420931,00	1139,78046	0,27078
std 5	0,50	1053730	1052522	1050687	1048357	1048651	1050789,40	2353,12777	0,22394
std 6	1,00	2081413	2081271	2077918	2072699	2075402	2077740,60	3770,56021	0,18147

Tab. č. 35: Vyhodnocení linearity na Al 396,152 nm korigované na Y 377,433 nm

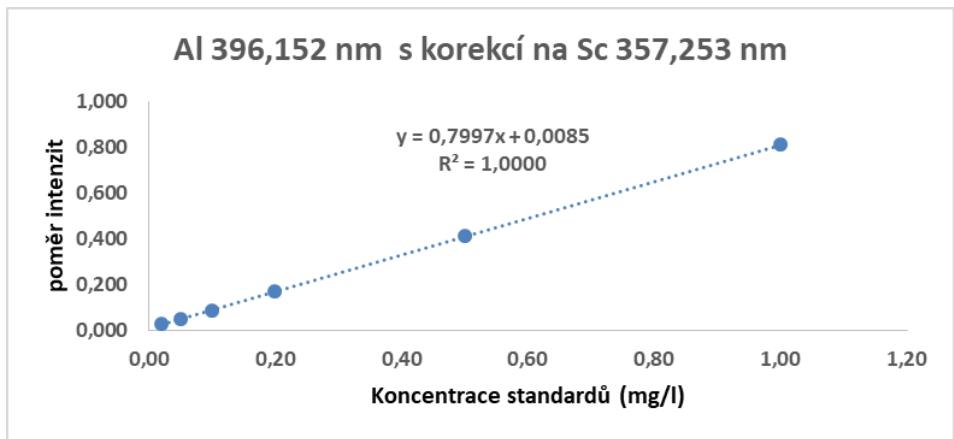
396,152 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,027111	0,027517	0,027733	0,027137	0,027735	0,027	0,00031	1,12096
std 2	0,05	0,052767	0,05242	0,053112	0,052	0,052447	0,053	0,00042	0,79205
std 3	0,10	0,096935	0,097115	0,097022	0,097743	0,097815	0,097	0,00042	0,43069
std 4	0,20	0,182478	0,18259	0,182348	0,182113	0,18245	0,182	0,00018	0,09871
std 5	0,50	0,443193	0,441749	0,44148	0,441003	0,440941	0,442	0,00091	0,20683
std 6	1,00	0,877396	0,870056	0,872609	0,873293	0,874138	0,873	0,00266	0,30442

Tab. č. 36: Vyhodnocení linearity na Al 396,152 nm korigované na Y 410,238 nm

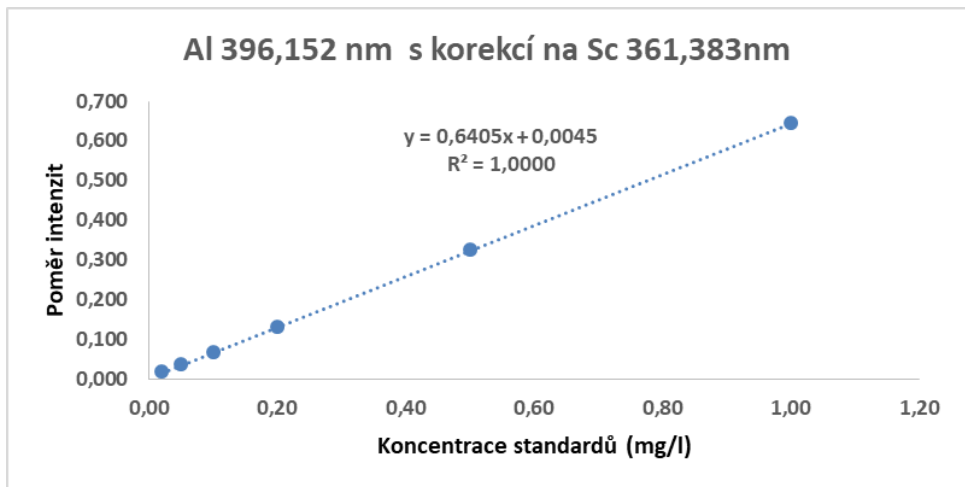
396,152 nm	konc. [mg/l]	1	2	3	4	5	prům	sm. odch	RSD (%)
std 1	0,02	0,236587	0,244117	0,239898	0,2445	0,243051	0,242	0,00335	1,38615
std 2	0,05	0,500626	0,506343	0,51715	0,505744	0,507204	0,507	0,00602	1,18594
std 3	0,10	0,939929	0,955461	0,941115	0,942261	0,940706	0,944	0,00652	0,69081
std 4	0,20	1,853608	1,84244	1,852931	1,828474	1,846222	1,845	0,01022	0,55402
std 5	0,50	4,509031	4,56519	4,507249	4,537171	4,521563	4,528	0,02397	0,52946
std 6	1,00	8,968744	8,966185	9,205361	8,966949	9,065481	9,035	0,10453	1,15702



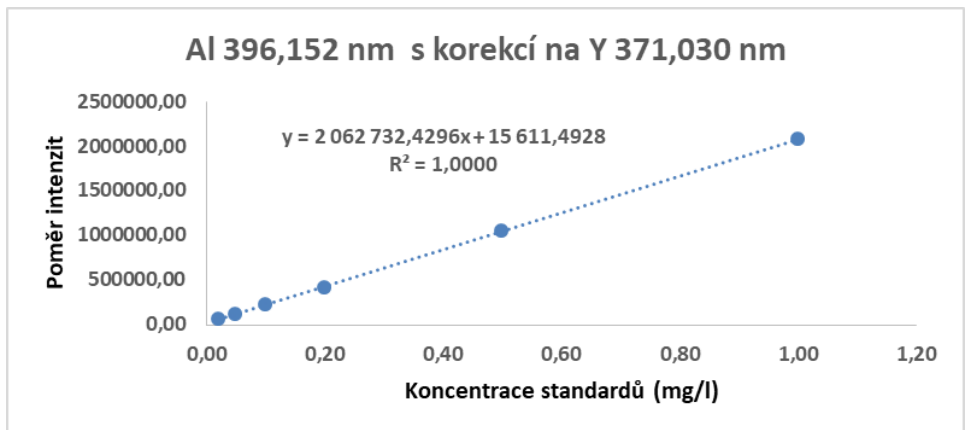
Obr. 26: Kalibrace Al 396,152 nm



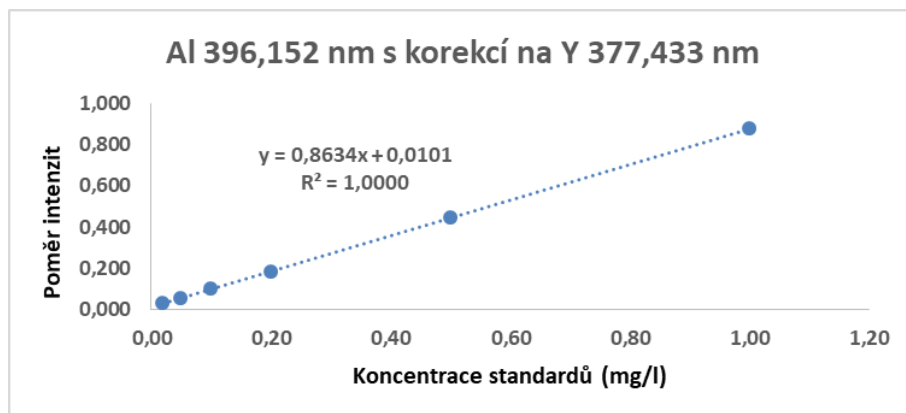
Obr. 27: Kalibrace Al 396,152 nm korigované na Sc 357,253 nm



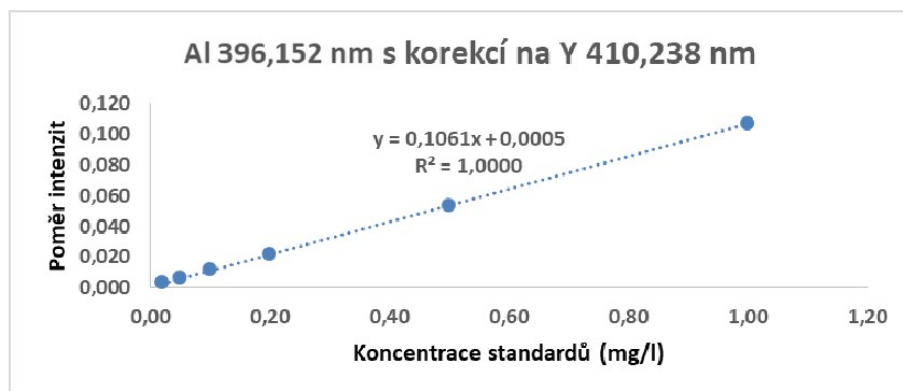
Obr. 28: Kalibrace Al 396,152 nm korigované na Sc 361,383 nm



Obr. 29: Kalibrace Al 396,152 nm korigované na Y 371,030 nm



Obr. 30: Kalibrace Al 396,152 nm korigované na Y 377,433 nm



Obr. 31: Kalibrace Al 396,152 nm korigované na Y 410,238 nm

Ze všech naměřených hodnot lze usoudit, že linearita daného rozsahu koncentrací standardů (0,02 – 1 mg/l) je prokázána na základě splněného spolehlivostního faktoru $R^2 > 0,995$ pro všechny použité vlnové délky hliníku i pro korekci na pět vlnových délek interních standardů. Zároveň byla dokázána opakovatelnost linearitu vypočítáním relativní chyby RSD, která je ve všech případech menší než 15 %.

3.8.4 Správnost

Pro vyhodnocení parametru správnosti jsou proměřovány 3 koncentrační úrovně u obou matic, které byly měřeny jako vzorek po kalibraci ze 3 kalibračních standardů a blanku. Z naměřených hodnot byla vypočítána výtěžnost, která by měla odpovídat rozsahu 70 – 130 %. Od každé matrice byly takto proměřeny vždy 2 šarže.

Výtěžnost byla měřena zároveň s korekcí na pět výše zmíněných interních standardů. Opět byly použity tři vlnové délky hliníku. Hodnoty byly mezi sebou porovnány a byly vybrány nejvhodnější vlnové délky hliníku a interních standardů, které by mohly být následně použity pro stanovování Al v komerčních vzorcích. Vybrané vlnové délky, tj. ty, jejichž výsledky co nejvíce odpovídaly koncentracím vnesených standardů do vzorku, byly následně vyhodnoceny na výtěžnost a opakovatelnost. Vyhodnocené výsledky byly opět srovnány a na jejich základě byla vybrána nejvhodnější kombinace vlnových délek hliníku a interního standardu.

V tabulkách č. 37 – 39 jsou vypočítány hodnoty výtěžnosti a RSD pro matici $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Ze všech tří vlnových délek Al byla na základě výsledků vybrána pouze Al 396,152 nm, která byla vyhodnocena na interní standardy Sc 361,383 nm, Sc 357,253 nm a Y 377,433 nm.

Vyhodnocení správnosti měření zahrnuje také výsledky z měření šesti vápíkových a hořčíkových šarží. Tyto šarže byly měřeny na AAS a ICP v rámci verifikace metody PhEur, USP, viz kap. 3.8.6.

Tab. č. 37: Stanovení výtěžnosti u Ca matrice s 0,3 mg/l Sc 361,383 nm pro Al 396,152 nm

CaCl ₂ · 2H ₂ O + Sc 361 nm							
Šarže C3842	Vnesená koncentrace (mg/kg)	c bez přídávku (mg/kg)	c s přídávkem (mg/kg)	Výtěžnost (%)	Sm. Odch.	Průměr	RSD (%)
396,152 nm	1	0,2603	1,0633	80,30	10,37062	85,17000	12,17638
		0,3960	1,1805	78,45			
		0,3881	1,1190	73,09			
		0,3821	1,2377	85,56			
		0,2259	1,2449	101,90			
	0,2102	1,1274	91,72	4,06756	99,31583	4,09558	
	2	0,2603	2,3443				104,20
	0,3960	2,2924	94,82				
	0,3881	2,2791	94,55				
	0,3821	2,3699	99,39				
	0,2259	2,2918	103,30				
	0,2102	2,2030	99,64	2,16675	105,15933	2,06045	
	5	0,2603	5,5596				105,99
	0,3960	5,5538	103,16				
	0,3881	5,5746	103,73				
0,3821	5,5298	102,95					
0,2259	5,5849	107,18					
0,2102	5,6077	107,95					
Šarže C3977	Vnesená koncentrace (mg/kg)	c bez přídávku (mg/kg)	c s přídávkem (mg/kg)	Výtěžnost (%)	Sm. Odch.	Průměr	RSD (%)
396,152 nm	1	0,1046	1,2780	117,34	6,13707	111,16333	5,52077
		0,1455	1,2897	114,42			
		0,1364	1,2992	116,28			
		0,1357	1,2387	110,30			
		0,1510	1,2250	107,40			
	0,1636	1,1760	101,24	2,37391	102,62833	2,31311	
	2	0,1046	2,2418				106,86
	0,1455	2,2053	102,99				
	0,1364	2,1926	102,81				
	0,1357	2,1523	100,83				
	0,1510	2,1517	100,04				
	0,1636	2,2085	102,25	2,41666	107,55700	2,24686	
	5	0,1046	5,2957				103,82
	0,1455	5,5688	108,47				
	0,1364	5,5240	107,75				
0,1357	5,6063	109,41					
0,1510	5,4329	105,64					
0,1636	5,6762	110,25					

Tab. č. 38: Stanovení výtěžnosti u Ca matrice s 0,3 mg/l Sc 357,253 nm pro Al 396,152 nm

CaCl ₂ · 2H ₂ O + Sc 357 nm							
Šarže C3842	Vnesená koncentrace (mg/kg)	c bez přídavku (mg/kg)	c s přídavkem (mg/kg)	Výtěžnost (%)	Sm. Odch.	Průměr	RSD (%)
396,152 nm	1	0,4775	1,1804	70,29	8,44637	76,11167	11,09734
		0,4106	1,0608	65,02			
		0,4451	1,2745	82,94			
		0,3140	1,0641	75,01			
		0,3609	1,2448	88,39			
		0,4709	1,2211	75,02			
	2	0,4775	2,3357	92,91	4,14075	95,95000	4,31552
		0,4106	2,2854	93,74			
		0,4451	2,2872	92,11			
		0,3140	2,3786	103,23			
		0,3609	2,3189	97,90			
		0,4709	2,3872	95,82			
	5	0,4775	5,4496	99,44	1,68229	100,62533	1,67183
		0,4106	5,5341	102,47			
		0,4451	5,3551	98,20			
0,3140		5,3950	101,62				
0,3609		5,4636	102,05				
0,4709		5,4692	99,97				
Šarže C3977	Vnesená koncentrace (mg/kg)	c bez přídavku (mg/kg)	c s přídavkem (mg/kg)	Výtěžnost (%)	Sm. Odch.	Průměr	RSD (%)
396,152 nm	1	0,1674	1,3363	116,89	11,59145	106,07833	10,92725
		0,2352	1,1885	95,33			
		0,2165	1,1121	89,56			
		0,1112	1,2210	110,98			
		0,1741	1,3542	118,01			
		0,1947	1,2517	105,70			
	2	0,1674	2,3668	109,97	2,44909	107,66750	2,27467
		0,2352	2,3853	107,51			
		0,2165	2,4019	109,27			
		0,1112	2,2442	106,65			
		0,1741	2,3591	109,25			
		0,1947	2,2619	103,36			
	5	0,1674	5,3103	102,86	1,10972	104,60400	1,06088
		0,2352	5,4671	104,64			
		0,2165	5,4679	105,03			
0,1112		5,4155	106,09				
0,1741		5,3696	103,91				
0,1947		5,4499	105,10				

Tab. č. 39: Stanovení výtěžnosti u Ca matrice s 0,3 mg/l Y 377,433 nm pro Al 396,152 nm

Šarže C3842	Vnesená koncentrace (mg/kg)	c bez přídavku (mg/kg)	c s přídavkem (mg/kg)	Výtěžnost (%)	Sm. Odch.	Průměr	RSD (%)
396,152 nm	1	0,3707	1,3438	97,31	8,80673	88,05333	10,00158
		0,5077	1,3728	86,51			
		0,5669	1,3666	79,97			
		0,4532	1,4546	100,14			
		0,4791	1,3324	85,33			
	0,5027	1,2933	79,06	2,80741	100,82250	2,78451	
	2	0,3707	2,4569				104,31
		0,5077	2,4489				97,06
		0,5669	2,5479				99,05
		0,4532	2,5245				103,57
		0,4791	2,5095	101,52			
	0,5027	2,4913	99,43	2,88032	100,54233	2,86478	
	5	0,3707	5,5745				104,08
		0,5077	5,4892				99,63
		0,5669	5,4509				97,68
0,4532		5,5830	102,60				
0,4791		5,5937	102,29				
0,5027	5,3517	96,98					
Šarže C3977	Vnesená koncentrace (mg/kg)	c bez přídavku (mg/kg)	c s přídavkem (mg/kg)	Výtěžnost (%)	Sm. Odch.	Průměr	RSD (%)
396,152 nm	1	0,3877	1,3671	97,94	14,24531	112,14167	12,70296
		0,1306	1,4945	136,39			
		0,3062	1,4765	117,03			
		0,3613	1,4184	105,71			
		0,4210	1,4213	100,03			
		0,2241	1,3816	115,75			
	2	0,3877	2,5046	105,85	6,20713	107,62167	5,76755
		0,1306	2,4455	115,75			
		0,3062	2,4242	105,90			
		0,3613	2,5207	107,97			
		0,4210	2,3767	97,79			
		0,2241	2,4738	112,49			
	5	0,3877	5,6354	104,95	1,66484	104,96433	1,58611
		0,1306	5,5143	107,67			
		0,3062	5,5310	104,50			
		0,3613	5,5134	103,04			
		0,4210	5,6050	103,68			
		0,2241	5,5211	105,94			

Výsledky všech tří použitých vlnových délek Al bez korekce na interní standard nemohly být brány v úvahu vzhledem k neadekvátním naměřeným hodnotám z důvodu vlivu matrice. Proto byly porovnávány výsledky s korekcí na interní standardy. Takto byla jako nejvhodnější vybrána vlnová délka Al 396,152 nm. Vyhodnocení výtěžnosti bylo provedeno na tři interní standardy, viz tabulky č. 37 – 39. Zbylé dva interní standardy byly z vyhodnocení vyřazeny opět kvůli neadekvátním výsledkům. Z vyhodnocení výtěžnosti a hodnoty RSD pro matrici CaCl₂·2H₂O lze usoudit, že nejvhodnější kombinace použité vlnové délky Al a interního standardu je Al 396,152 nm s korekcí na Sc 361,383 nm.

V tabulkách č. 40 – 43 jsou vypočítány hodnoty výtěžnosti a RSD pro matrici MgCl₂·6H₂O. Tentokrát byly vyhodnoceny všechny vlnové délky Al s korekcí na různé interní standardy.

Tab. č. 40: Stanovení výtěžnosti u Mg matrice 0,3 mg/l Y 377,433 nm pro Al 396,152 nm

MgCl₂ · 6H₂O + Y 377 nm							
Šarže M3160	Vnesená koncentrace (mg/kg)	c bez přídavku (mg/kg)	c s přídavkem (mg/kg)	Výtěžnost (%)	Sm. Odch.	Průměr	RSD (%)
396,152 nm	0,2	0,1198	0,3808	130,50	21,01997	109,50000	19,19632
		0,1347	0,3913	128,30			
		0,1398	0,3233	91,75			
		0,1415	0,3958	127,15			
		0,1236	0,3024	89,40			
	1	0,1246	0,3044	89,90	2,13165	98,07333	2,17353
		0,1198	1,1241	100,43			
		0,1347	1,1414	100,67			
		0,1398	1,0999	96,01			
		0,1415	1,1173	97,58			
	5	0,1236	1,1047	98,11	0,39893	99,89500	0,39935
		0,1246	1,0810	95,64			
		0,1198	5,1396	100,40			
		0,1347	5,1069	99,44			
		0,1398	5,1124	99,45			
396,152 nm	0,2	0,1415	5,1304	99,78	4,78307	123,87500	3,86121
		0,1236	5,1298	100,12			
		0,1246	5,1334	100,18			
		0,1457	0,4060	130,15			
		0,1515	0,3894	118,95			
	1	0,1460	0,3843	119,15	0,90160	114,72000	0,78591
		0,1449	0,4030	129,05			
		0,1619	0,4081	123,10			
		0,1476	0,3933	122,85			
		0,1457	1,2904	114,47			
	5	0,1515	1,2978	114,63	0,48171	100,21367	0,48068
		0,1460	1,2998	115,38			
		0,1449	1,3023	115,74			
		0,1629	1,2944	113,15			
		0,1476	1,2971	114,95			
5	0,1457	5,1664	100,41	0,48171	100,21367	0,48068	
	0,1515	5,1467	99,90				
	0,1460	5,1813	100,71				
	0,1449	5,1738	100,58				
	0,1629	5,1334	99,41				
		0,1476	5,1611	100,27			

Tab. č. 41: Stanovení výtěžnosti u Mg matrice s 0,3 mg/l Sc 361,383 nm pro Al 396,152 nm

MgCl ₂ · 6H ₂ O + Sc 361 nm							
Šarže M3160	Vnesená koncentrace (mg/kg)	c bez přídavku (mg/kg)	c s přídavkem (mg/kg)	Výtěžnost (%)	Sm. Odch.	Průměr	RSD (%)
396,152 nm	0,2	0,2095	0,3511	70,80	24,08667	95,22500	25,29448
		0,2057	0,3601	77,20			
		0,2309	0,3917	80,40			
		0,2089	0,3960	93,55			
		0,2297	0,4853	127,80			
		0,2191	0,4623	121,60			
	1	0,2095	1,2073	99,78	1,38273	100,34167	1,37802
		0,2057	1,2174	101,17			
		0,2309	1,2119	98,10			
		0,2089	1,2249	101,60			
		0,2297	1,2459	101,62			
		0,2191	1,2169	99,78			
	5	0,2095	5,2678	101,17	0,28972	100,87633	0,28720
		0,2057	5,2575	101,04			
		0,2309	5,2584	100,55			
		0,2089	5,2685	101,19			
		0,2297	5,2594	100,59			
		0,2191	5,2551	100,72			
Šarže M3168	Vnesená koncentrace (mg/kg)	c bez přídavku (mg/kg)	c s přídavkem (mg/kg)	Výtěžnost (%)	Sm. Odch.	Průměr	RSD (%)
396,152 nm	0,2	0,2771	0,4352	79,05	7,11517	79,73333	8,92371
		0,2822	0,4524	85,10			
		0,2885	0,4386	75,05			
		0,2942	0,4348	70,30			
		0,2676	0,4248	78,60			
		0,2899	0,4705	90,30			
	1	0,2771	1,5010	122,39	1,75801	121,11500	1,45152
		0,2822	1,4739	119,17			
		0,2885	1,5023	121,38			
		0,2942	1,4839	118,97			
		0,2676	1,5018	123,42			
		0,2899	1,5035	121,36			
	5	0,2771	5,3218	100,89	0,37596	100,33233	0,37472
		0,2822	5,3000	100,36			
		0,2885	5,2988	100,21			
		0,2942	5,2846	99,81			
		0,2676	5,2969	100,59			
		0,2899	5,2971	100,14			

Tab. č. 42: Stanovení výtěžnosti u Mg matrice s 0,3 mg/l Y 371,030 nm pro Al 396,152 nm

MgCl ₂ · 6H ₂ O + Y 371 nm							
Šarže M3160	Vnesená koncentrace (mg/kg)	c bez přídatku (mg/kg)	c s přídatkem (mg/kg)	Výtěžnost (%)	Sm. Odch.	Průměr	RSD (%)
396,152 nm	0,2	0,2297	0,3748	72,55	4,94567	75,76667	6,52750
		0,2030	0,3439	70,45			
		0,2110	0,3598	74,40			
		0,2000	0,3652	82,60			
		0,2002	0,3626	81,20			
		0,2034	0,3502	73,40			
	1	0,2297	1,2211	99,14	1,77591	101,83500	1,74391
		0,2030	1,2187	101,57			
		0,2110	1,2365	102,55			
		0,2000	1,2060	100,60			
		0,2002	1,2318	103,16			
		0,2034	1,2433	103,99			
	5	0,2297	5,2014	99,43	0,13936	99,60167	0,13991
		0,2030	5,1927	99,79			
		0,2110	5,1938	99,66			
		0,2000	5,1768	99,54			
		0,2002	5,1744	99,48			
		0,2034	5,1887	99,71			
Šarže M3168	Vnesená koncentrace (mg/kg)	c bez přídatku (mg/kg)	c s přídatkem (mg/kg)	Výtěžnost (%)	Sm. Odch.	Průměr	RSD (%)
396,152 nm	0,2	0,2623	0,4720	104,85	7,99580	113,22500	7,06186
		0,2544	0,4889	117,25			
		0,2535	0,4807	113,60			
		0,2395	0,4823	121,40			
		0,2708	0,4753	102,25			
		0,2368	0,4768	120,00			
	1	0,2623	1,4517	118,94	1,56639	120,97833	1,29477
		0,2544	1,4675	121,31			
		0,2535	1,4593	120,58			
		0,2395	1,4634	122,39			
		0,2708	1,4673	119,65			
		0,2368	1,4668	123,00			
	5	0,2623	5,2196	99,15	0,27424	99,39200	0,27592
		0,2544	5,2196	99,30			
		0,2535	5,2381	99,69			
		0,2395	5,2286	99,78			
		0,2708	5,2298	99,18			
		0,2368	5,1992	99,25			

Tab. č. 43: Stanovení výtěžnosti u Mg matrice s 0,3 mg/l Y 410,238 nm pro Al 396,152 nm

MgCl ₂ · 6H ₂ O + Y 410 nm							
Šarže M3160	Vnesená koncentrace (mg/kg)	c bez přídatku (mg/kg)	c s přídatkem (mg/kg)	Výtěžnost (%)	Sm. Odch.	Průměr	RSD (%)
396,152 nm	0,2	0,2310	0,4328	100,90	10,83457	107,00000	10,12577
		0,2002	0,3927	96,25			
		0,1995	0,4456	123,05			
		0,2077	0,4041	98,20			
		0,2189	0,4528	116,95			
	1	0,2310	1,2365	100,55	1,13929	101,39333	1,12364
		0,2002	1,2194	101,92			
		0,1995	1,2241	102,46			
		0,2077	1,2336	102,59			
		0,2189	1,2303	101,14			
	5	0,2310	5,2253	99,89	0,37384	100,14567	0,37329
		0,2002	5,2271	100,54			
		0,1995	5,1990	99,99			
		0,2077	5,2075	100,00			
		0,2189	5,2077	99,78			
396,152 nm	0,2	0,3031	0,4942	95,55	5,73920	93,69167	6,12562
		0,2914	0,4636	86,10			
		0,2801	0,4634	91,65			
		0,2771	0,4620	92,45			
		0,2741	0,4812	103,55			
	1	0,3031	1,4553	115,22	1,62879	117,63333	1,38463
		0,2914	1,4601	116,87			
		0,2801	1,4569	117,68			
		0,2771	1,4515	117,44			
		0,2741	1,4590	118,49			
	5	0,3031	5,1832	97,60	0,97660	98,61800	0,99029
		0,2914	5,2301	98,77			
		0,2801	5,2082	98,56			
		0,2771	5,1628	97,71			
		0,2741	5,2898	100,31			
		0,2883	5,2254	98,74			

Jako nejvhodnější vlnová délka pro stanovování hliníku v matrici MgCl₂·6 H₂O byla zvolena Al 396,152 nm s korekcí na interní standard Y 377,433 nm která byla opět porovnána s ostatními vlnovými délkami na základě vyhodnocení výtěžnosti a opakovatelnosti. Interní standard Y 410,030 nm nemohl být pro vyhodnocení použit, jelikož neposkytoval spolehlivé signály. V blízkosti Sc 361,383 nm se nachází jako interferent Mg 361,378 nm, proto tento IS nebyl vybrán jako vhodný.

3.8.5 Opakovatelnost

RSD z vyhodnocení linearity a výtěžnosti pro Ca a Mg matrice a Al 396,152 nm vyhovělo požadavku na opakovatelnost (RSD < 15 %).

3.8.6 Vyhodnocení verifikace

Tab. č. 44, 45 Výsledky srovnání naměřených hodnot na ICP pro Ca a Mg matrici

CaCl₂.2H₂O Al 396,152 nm + Sc 361			MgCl₂.6H₂O Al 396,152 nm + Y 377		
Šarže	ICP mg/kg	ALS mg/kg	Šarže	ICP mg/kg	ALS mg/kg
1/04/C3842	0,2903	<0,5	23/22/M3160	0,1213	<0,5
	0,1328			0,1325	
01/02/C3856	0,1847	<0,5	01/19/M3168	0,2184	<0,5
	0,0358			0,2153	
20/02/C3858	0,1287	<0,5	03/19/M3169	0,2087	<0,5
	0,1365			0,1889	
01/16/C3983	0,0720	<0,5	109/M3170	0,1075	<0,5
	0,1102			0,1227	
21/13/C3977	0,1182	<0,5	105/M3173	0,0754	<0,5
	0,1061			0,0887	
111/06/C3989	0,0890	<0,5	01/02/M3176	0,3155	<0,5
	0,0927			0,2929	

Tab. č. 46, 47 Výsledky srovnání naměřených hodnot na ICP a AAS pro Ca a Mg matrici

CaCl₂.2H₂O Al 396,152 nm + Sc 361			MgCl₂.6H₂O Al 396,152 nm + Y 377		
Šarže	ICP mg/kg	AAS mg/kg	Šarže	ICP mg/kg	AAS mg/kg
10/01/C3887	0,3232	0,1841	16/04/M2687	0,03828	0,4154
	0,3814	0,1924		0,3674	0,3262
4/11/C3921	0,4176	0,2838	119/10/M2691	0,9156	0,3864
	0,3002	0,2386		0,9020	0,1789
161/09/C3855	0,2886	0,2792	18/02/M2695	0,7716	0,1701
	0,3463	0,2591		0,7810	0,1977
12/10/C3955	0,4099	0,3113	15/03/M2693	0,1683	0,1220
	0,3512	0,2526		0,1848	0,2222
01/08/C3842	0,3719	0,4052	05/03/M2680	0,1135	0,2421
	0,3309	0,4703		0,1141	0,4546
30/09/C3220	0,3878	0,1429	01/06/M2682	0,2044	0,2120
	0,3762	0,1109		0,2007	0,3517


Vzorky byly porovnány s výsledky z externí laboratoře, všechny naměřené výsledky z ICP vyhovují limitu naměřených výsledků v externí laboratoři tj. Al < 0,5 mg/kg viz tabulky 44, 45.

Vyhodnocení verifikace zahrnuje také výsledky z měření šesti vápníkových a hořčíkových šarží. Tyto šarže byly měřeny na AAS a ICP v rámci verifikace metody PhEur, USP viz tabulky 46, 47.

3.8.7 LOD, LOQ

Limit detekce a stanovitelnosti byl odhadnut ze signálů kalibračních standardů a velikosti šumu blanku. Vyhodnocení LOD, LOQ bylo provedeno z kalibrační křivky naměřené linearity prostřednictvím programu Effi Validation viz obrázky č. 32 - 33. Následně byl LOD a LOQ ověřen kalibrací na sadě vzorků s přídavkem standardu o koncentraci pohybující se kolem stanoveného limitu.

Vyhodnocení LOD, LOQ z kalibrační přímky z programu Effi Validation je zde uvedeno pro vlnovou délku Al 396,152 nm s korekcí na interní standard viz obrázky č. 32 – 33, Sc 361,383 nm viz obrázek č. 33 a Y 377,433 nm viz obrázek č. 32, jelikož tyto kombinace byly vybrány jako nejvhodnější v rámci vyhodnocení výtěžnosti.

	Meze - Z kalibrační přímky - Al ICP - Validace Al v MgCl ₂ 6STD - List -	Macco Organiques, s.r.o. Bruntál
	1	

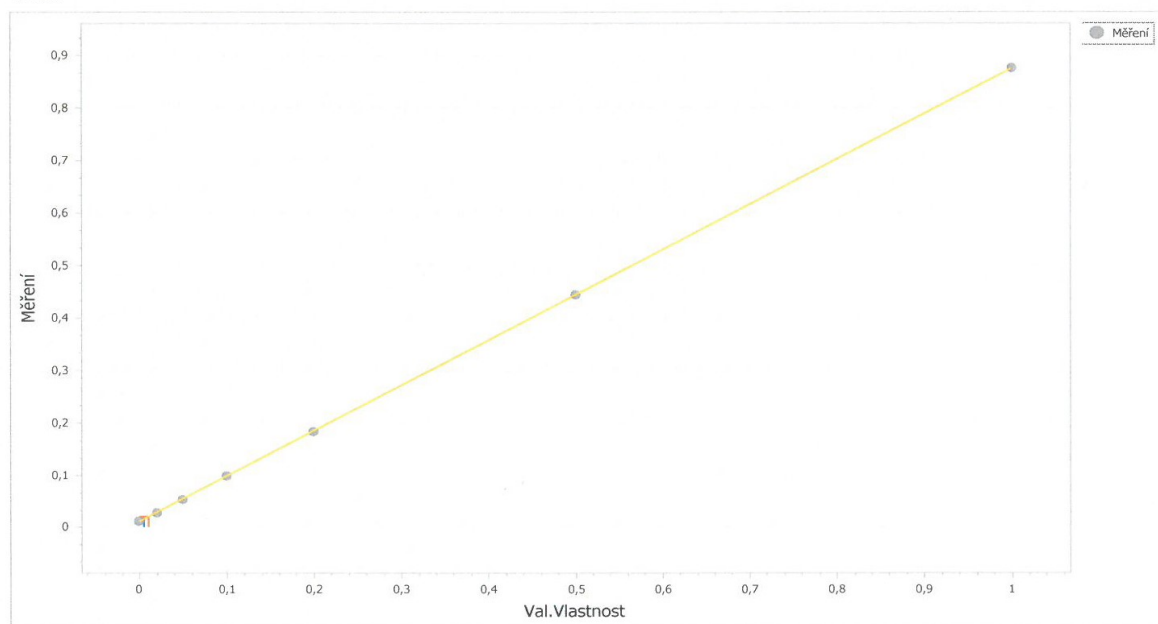
Vstupní data

Popis	Val.Vlastnost [1]	Měření 1 [1]
blank	0	0,011292
STD1	0,02	0,027447
STD2	0,05	0,052549
STD3	0,1	0,097326
STD4	0,2	0,182396
STD5	0,5	0,441673
STD6	1	0,873498

Vyhodnocení

Měření na mezi detekce	Měření na mezi stanovitelnosti	Validovana vlastnost na mezi detekce	Validovana vlastnost na mezi stanovitelnosti
0,0145	0,0184	0,0048	0,0093

Graf



Závěr: Mez det./stanovitel. je 0,0145 resp. 0,0184. Val.vlastnost na mezi det./stanovitel. je 0,0048 resp. 0,0093.

Obr. 32: Vyhodnocení LOD a LOQ z kalibrační křivky matrice MgCl₂ pro Al 396,152 nm s interním standardem Y 377,433 nm.

Podle vyhodnocení z linearity v programu Effi Validation viz obrázek 32, byl limit detekce matrice MgCl₂ 0,0048 mg/l a limit kvantifikace MgCl₂ 0,0093 mg/l. Po přepočítání na dvacetinásobné zředění vzorku je hodnota LOD rovna 0,096 mg/kg a LOQ rovna 0,186 mg/kg.

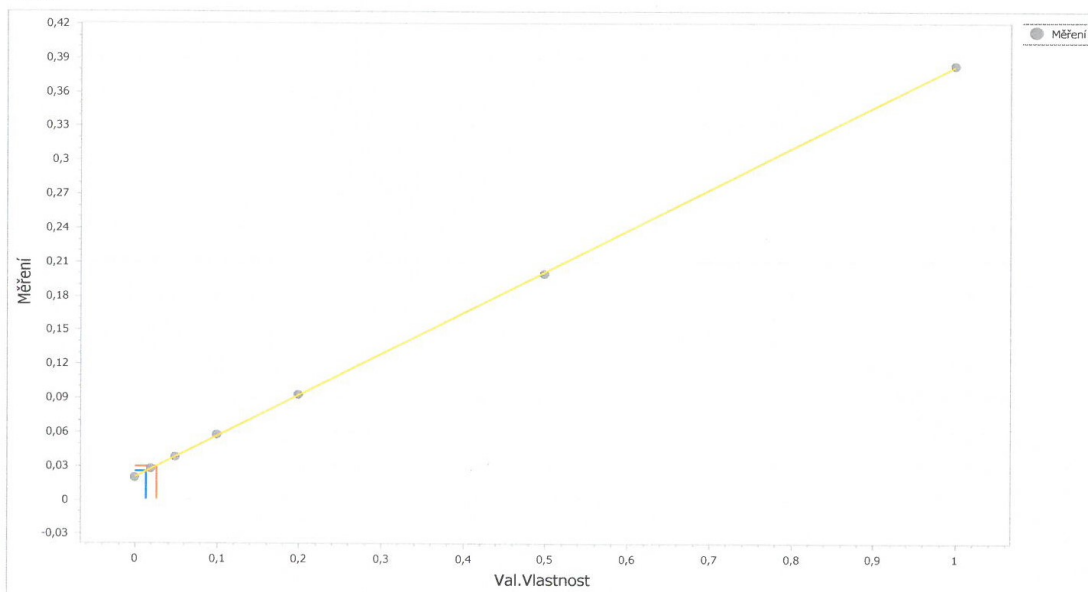
Vstupní data

Popis	Val.Vlastnost [1]	Měření 1 [1]
Blank	0	0,01925
STD1	0,02	0,027281
STD2	0,05	0,037535
STD3	0,1	0,057175
STD4	0,2	0,092432
STD5	0,5	0,199675
STD6	1	0,382526

Vyhodnocení

Měření na mezi detekce	Měření na mezi stanovitelnosti	Validována vlastnost na mezi detekce	Validována vlastnost na mezi stanovitelnosti
0,0246	0,0292	0,0134	0,0261

Graf



Závěr: Mez det./stanovitel. je 0,0246 resp. 0,0292. Val.vlastnost na mezi det./stanovitel. je 0,0134 resp. 0,0261.

Obr. 33: Vyhodnocení LOD a LOQ z kalibrační křivky matrice CaCl_2 pro Al 396,152 nm s interním standardem Sc 361,383 nm.

Podle vyhodnocení z linearity v programu Effi Validation, respektující pravidla statistického zpracování dat²¹ viz obrázek č. 33, byl limit detekce matrice CaCl_2 0,0134 mg/l a limit kvantifikace CaCl_2 0,0261 mg/l. Po přepočítání na dvacetinásobné zředění vzorku je hodnota LOD rovna 0,268 mg/kg a LOQ rovna 0,522 mg/kg.

²¹ Meloun, M., Militký J. (2006). Kompedium statistického zpracování dat. Praha: Academia.

3.8.8 Reprodukovatelnost

Je vyhodnocena změřením 5 vzorků připravených 2 různými lidmi v různých dnech.

V tabulce č. 48 a 49 jsou uvedeny naměřené výsledky vzorku $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Mezi výsledky změřenými interně odchylka nepřesahuje 20 %. Naměřené výsledky byly porovnány s výsledky z externí laboratoře, viz kapitola 3.8.6.

Tab. č. 48 a 49: Výsledky reprodukovatelnosti vzorků $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Al 396,152 nm + Y 377 nm					$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Al 396,152 nm + Sc 361 nm				
	1. Série vzorků [mg/kg]		2. Série vzorků [mg/kg]	Odchylka [%]		1. Série vzorků [mg/kg]		2. Série vzorků [mg/kg]	Odchylka [%]
1.	0,2165	7.	0,2115	-0,7952	1.	0,2903	7.	0,1821	-0,3078
	0,2362		0,2376			0,2389			
2.	0,2729	8.	0,2898	5,4523	2.	0,4024	8.	0,4861	9,6055
	0,2886		0,2967			0,4279			
3.	0,2254	9.	0,2507	4,8651	3.	0,0308	9.	0,0461	14,2857
	0,2268		0,2235			0,0083			
4.	0,1371	10.	0,1293	-5,1724	4.	0,0693	10.	0,0669	12,1547
	0,1355		0,1292			0,0346			
5.	0,1667	11.	0,1270	-15,8179	5.	0,3386	11.	0,2604	1,3340
	0,1298		0,1226			0,2467			
6.	0,4120	12.	0,4017	-4,8094	6.	0,1890	12.	0,1570	-4,7681
	0,4197		0,3900			0,2065			

3.8.9 Robustnost

Robustnost metody je ověřena úmyslnou změnou podmínek oproti metodě, viz optimalizace metody v kap. 3.8.10. Optimalizace byla prováděna pro všechny matrice stejně jako u Ca a Mg matrice a nastavení parametrů metody v programu SALSA je také u všech matric stejně. V rámci robustnosti je také proveden test na kontaminaci vzorku znečištěným vzorkem.

3.8.10 Optimalizace metody

Je prováděna pro získání co nejpřesnějšího signálu (co nejnižší intenzita pozadí a co nejvyšší intenzita signálu). Největší vliv na intenzitu má nastavení výkonu plazmy, se kterým se zároveň nastavuje i průtok chladicího argonu. Rovněž důležité je zmlžování vzorku, které je nastavováno rychlostí otáčení peristaltické pumpy. Pumpa zavádí vzorek do zmlžovače, současně proudí do zmlžovače také argon, jehož průtok je nastaven. Je důležité, aby vzorek po průchodu kapilárou nebulizéru nescapeval, musí tvořit hustou mlhu ve zmlžovací komoře, aby se do plazmy dostalo co nejvíce vzorku. Tyto parametry byly postupně nastaveny a vybrány ty, které poskytovaly nejlepší naměřené výsledky. Vybrané nastavení metody bylo poté použito pro měření všech matric.

Pro optimalizaci byly připraveny a proměřeny vzorky:

- blank (čištěná voda + 5 ml zřed. HNO_3 + 3 ml Y,Sc (10 mg/l)/100 ml)
- čistý vzorek (5 g vzorku + čištěná voda + 5 ml zřed. HNO_3 + 3 ml Y,Sc (10 mg/l)/100 ml)
- vzorek s přidavkem standardu (5 g vzorku + čištěná voda + 5 ml zřed. HNO_3 + přidavek standardu Al 1 mg/kg + 3 ml Y,Sc (10 mg/l)/100 ml)

Doba oplachu dávkovače v kyselině byla nastavena na 40 s, doba nástřiku vzorku, neboli uptake time, byla nastavena na 80 s (40 s se vzorek dostává do zmlžovače, 40 s se stabilizuje).

Tab. č. 50: Parametry poskytující nejvyšší citlivost

Parametr	Nastavená hodnota
Výkon plazmy	1,2 kW
Průtok chladícího plynu	15 l/min
Rychlost peristaltické pumpy	20 rpm
Tlak nebulizéru	45 psi
Průtok pomocného argonu	1,2 l/min
Pozice hořáku	8mm (MgCl_2) ; 12 mm (CaCl_2)
Integrační čas pro axiální snímání	40 s
Uptake time	80 s
Rinse (oplach v kyselině)	40 s

V tabulce č. 50 jsou hodnoty parametrů, které byly vybrány na základě naměřených dat jako nejvhodnější pro proměření všech validovaných matic.

3.8.11 Test na kontaminaci

V rámci robustnosti byl prováděn test na kontaminaci, při kterém bylo zjišťováno, zda doba oplachu vzorku v kyselině je dostatečná. Byl měřen čistý vzorek a vzorek s přidavkem standardu 10 mg/kg. Po kalibraci byl první změřen čistý vzorek, následně byl dávkovač poslán na 30 sekund do oplachu, poté byl změřen vzorek s přidavkem 10 mg/kg, opět proběhl oplach po dobu 30 sekund a nakonec byl změřen znovu čistý vzorek a byly porovnány výsledky. Validní výsledky dokázaly, že v metodě je oplach nastavený na 40 sekund dostatečný. Pro názornost byl jako čistý vzorek brán vzorek s přidavkem standardu 1 mg/kg, jelikož koncentrace Al v reálných vzorcích je pro porovnatelnost nízká.

Tab. č. 51 a 52: Vyhodnocení testování kontaminace

MgCl ₂ .6H ₂ O, Al 396,152 nm + Y 377 nm			CaCl ₂ .2H ₂ O, Al 396,152 nm + Sc 361 nm		
Přídavek Al [mg/kg]	Měřená koncentrace [mg/kg]	Průměr [mg/kg]	Přídavek Al [mg/kg]	Měřená koncentrace [mg/kg]	Průměr [mg/kg]
1	1,1454	1,12955	1	1,1991	1,26578
	1,1281			1,3084	
	1,1225			1,2008	
	1,1176			1,3238	
	1,1348			1,2852	
	1,1289			1,2774	
10	9,8541	9,85430	10	9,7045	9,74927
	9,8519			9,7553	
	9,8534			9,7751	
	9,8796			9,6982	
	9,8233			9,6933	
	9,8635			9,8692	
1	1,1348	1,12722	1	1,2443	1,32108
	1,1150			1,3097	
	1,1350			1,3117	
	1,1170			1,3606	
	1,1321			1,3432	
	1,1294			1,3570	
	odchylka %	-0,2066		odchylka %	4,3688

V tabulce č. 51 a 52 je vyhodnocena odchylka z měření vzorku před a po změření znečištěného vzorku (vzorku s přídavkem standardu 10 mg/kg). Odchylka nepřesahuje 10 %, doba oplachu 40 sekund nastavená v metodě je dostatečná.

3.8.12 Stabilita standardu a vzorku

Proměřena je stabilita standardu 1 mg/kg a 10 mg/kg cca po 1 měsíci při skladování v plastové uzavřené nádobě na světle při laboratorní teplotě. Proměřená byla stabilita vzorku po 48 hodinách viz tabulka č. 53, 54. Vyhodnocena byla také stabilita standardů MgCl₂.6H₂O a CaCl₂.2H₂O v koncentracích Al 1 mg/kg a 10 mg/kg viz tabulky č. 55.-58.

Tab. č. 53, 54: Vyhodnocení stability vzorku Ca a Mg matrice po 48 hod

STD MgCl₂.6H₂O+1 mg/kg Al Al 396,152 nm + Y 377 nm		STD CaCl₂.2H₂O+1 mg/kg Al Al 396,152 nm + Sc 361 nm	
Start [mg/kg]	Po 2 dnech [mg/kg]	Start [mg/kg]	Po 2 dnech [mg/kg]
1,0232	1,1729	1,1287	1,1858
1,0248	1,1606	1,1365	1,2714
Odchylka %	13,4364	Odchylka %	8,4761

Z vyhodnocení odchylky proměřeného vzorku po 2 dnech lze usoudit, že vzorek je stabilní po dobu 48 hodin.

Tab. č. 55, 56: Vyhodnocení stability standardů MgCl₂.6H₂O po 1 měsíci

STD MgCl₂.6H₂O+1 mg/kg Al Al 396,152 nm + Y 377 nm		STD MgCl₂.6H₂O +10 mg/kg Al Al 396,152 nm + Y 377 nm	
Start [mg/kg]	Po 1 měs. [mg/kg]	Start [mg/kg]	Po 1 měs. [mg/kg]
1,0046	1,0467	9,6708	9,4419
1,0041	1,0470	9,6723	9,4240
Odchylka %	4,2316	Odchylka %	-2,4670

Tab. č. 57, 58: Vyhodnocení stability standardů CaCl₂.2H₂O po 1 měsíci

STD CaCl₂.2H₂O+1 mg/kg Al Al 396,152 nm + Sc 361 nm		STD CaCl₂.2H₂O +10 mg/kg Al Al 396,152 nm + Sc 361 nm	
Start [mg/kg]	Po 1 měs. [mg/kg]	Start [mg/kg]	Po 1 měs. [mg/kg]
1,0365	0,9787	10,2061	9,6720
1,0442	0,9774	10,1920	9,6655
Odchylka %	-5,9884	Odchylka %	-5,1995

4 Závěr

Zadáním práce bylo nalézt validní metodu, použitelnou v rutinní práci analytické laboratoře. Vyvinutá metoda stanovení hliníku na ICP-OES splňuje všechna kritéria na novou validovanou metodu. Stanovení hliníku v matricích chloridu vápenatého dihydrátu a chloridu hořečnatého hexahydrátu je od září r. 2019 uvedena do praxe analytické laboratoře výrobního závodu.

Ověření na reálných a modelových roztocích prokázalo, že metoda je vhodná k zamýšlenému účelu pro všechny analyty. Stanovení splňuje požadovaná kritéria validace. Pro dosažení optimálního poměru linearity a koncentrace roztoku je roztok vzorku zředěn dvacetkrát.

Metoda poskytuje analyticky správné výsledky, je lineární, splňuje požadavky na opakovatelnost a správnost. Metoda je robustní vůči kontaminantu předchozím vzorkem a proměnné koncentraci vzorku. Roztoky pracovních standardů je možno použít po dobu minimálně jednoho měsíce. Zvalidovaná metoda umožňuje měřit vzorky v sérii a je pro komerční sektor finančně udržitelná.

Validace metody a vydání Standardního operačního postupu byly napsány podle standardů ICH (International Council for Harmonisation), ICH Q2(R1) Validace analytických procesů, ICH Q2(R2)/Q14 Proces vývoje analytických postupů.

5 Literatura

1. Zatta P., Ibn-Lkhatat-Idrissi M., Zambenedetti P., Kilyen M., Kiss T. (nedatováno). 2000 Brain Res. Bull. 59.
2. WHO (World Health Organization) 1989 Thirty-third Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. 776 28 .
3. Kanický, V. (2009). Kurz ICP 09. In *Kurz Spektroskopické společnosti Jana Marka Marci* (p. 1). Brno.
4. Otruba, V. (2009). Plazma jako spektroskopický zdroj. In *Kurz ICP 09* (p. 10). Brno.
5. Sommer, L. (1992). Optická emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu a vysokoteplotních plamenech (str. 9). Praha: Academia.
6. Santos E. J., Herrmann A. B., Olkuszewski J. L. Pierre T. S., Curtius A. J. (Sept. 2005). Determination of trace metals in electrolytic copper by ICP OES and ICP-MS. Braz. arch. biol. technol. vol.48 no.5 Curitiba.
7. Mestek O., Koplík R. (2002). Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Praha: VŠCHT.
8. Pickett E. E., Koirtiyohan S. R. (1969). Anal. Chem. 41, No. 14, 28A.
9. Prudnikov E. D., Shapkina Y. S. (1986). Warsaw: Chem. Anal., 31, 335.
10. Koch K. R., Pougnet M. A., Villiers S. (1989). Determination of Aluminium Levels in Tea and Coffee by Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry and Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. Analyst, August 1989, Volume 114.
11. Ivaldi, J. C.; Tyson, J. F. . (n.d.). Spectrochim. Acta B 1995, 50, 1207.
12. Boss B. Ch. (1997). Instrumentation, and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. Perkin-Elmer corporation, USA.
13. Otruba V. (2009). 5. kurz ICP spektrometrie, Spektroskopická společnost Jana Marka Marci. Brno.
14. Pouzar M., Černohorský T., Krejčová A. (January 2007). Determination of metal impurities in ultrapure CaCl₂ and MgCl₂ by ICP OES. Microchimica Acta, 156(3): 271-275.
15. Gaikhorst G. A., Temminghoff E. J. M., Houba V. J. G. (May 2000). Soil analysis procedures using 0.01 M calcium chloride as extraction reagent. Communications in Soil Science and Plant Analysis 31(9).
16. WHO (World Health Organization) 1989 Thirty-third Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 776, 28.
17. Turner, B. L. (2016-Issue 21). Interference by Iron in the Determination of Boron by ICP-OES. Journal Communications in Soil Science and Plant Analysis, Volume 47.
18. Practical guide to ICP-OES, Prodigy 7, Teledyne Leeman Labs. (2013).
19. ICH Harmonised Tripartite Guideline, Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). (1994). Current Step 4 version, Parent Guideline dated 27 October 1994.
20. ICH Harmonised Tripartite Guideline, ICH Q14: Analytical Procedure Development and Revision of Q2(R1) Analytical Validation dated 14 November 2018. (2018).
21. Meloun, M., Militký J. (2006). Kompendium statistického zpracování dat. Praha: Academia.

6 Přílohy

6.1 Příloha č. 1 SOP Stanovení Al v $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$



Macco Organiques s. r.o., divize 501

Výtisk číslo
STANDARDNÍ OPERAČNÍ POSTUP SJ č.: SOP 162/501/19

Stanovení obsahu Al

v krystalu dihydrátu chloridu vápenatého $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

(ICP spektrofotometr Prodigy 7)

1. CÍL

Cílem tohoto SOP je stanovení zásad pro stanovení obsahu Hliníku v krystalu chloridu vápenatého, v souladu s požadavky na rozsah zkoušení a laboratorní techniku danou tímto předpisem

2. ROZSAH PLATNOSTI

- (1) SOP platí pro zkoušení krystalů chloridu vápenatého (dihydrátu $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).
- (2) Dodržení SOP je závazné pro všechny pracovníky laboratoře společnosti Macco Organiques, s.r.o.

3. POJMY A ZKRATKY

- (1) SOP standardní operační postup

4. ZKUŠEBNÍ A KALIBRAČNÍ POSTUPY

4.1. Stanovení obsahu Al

Obsah Hliníku se stanoví na ICP spektrometru Prodigy 7 (obsluha přístroje dle SOP 009/501/15).

<i>Datum vydání</i>	<i>09.09.2019</i>	<i>Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský</i>	<i>Podpis</i>
<i>Platnost od</i>	<i>10.09.2019</i>	<i>Schválil: Ing. Vok Kozelský</i>	<i>Podpis</i>



4.1.1 Parametry metody

Označení metody CaCl₂-Al/xxxx, kde xxxx je pořadové číslo

Podmínky metody ICP Prodigy 7

Pozice hořáku	12 mm
Průtok chladícího plynu (Ar)	15 l/min
Průtok pomocného plynu (Ar)	1,2 l/min
Výkon na budícím zdroji (trioda)	1,20 kW
Tlak nebulizeru (zmlžovače)	45 psi
Rychlost peristaltické pumpy	20 ot./min.
Integrační časy snímání	axiálně - 40 s, radiálně - 0 s

Tabulka č. 1: Shrnutí parametrů stanovení

Analyt Vlnová délka	linearita standardů [mg/l]	Koncentrace Kalibr. std. 1-2-3 [mg/l]	Akceptační meze pro Control 80-120 % [mg/l]	faktor R	LOQ [mg/kg]
Al 396,152	0,02-1	0,02 – 0,1 – 1	80-120	Min 0,995	0,2

4.1.2 Použité chemikálie

- (1) řed. HNO₃: 50 ml konc.65 % HNO₃ suprapur a 50 ml destil. vody
- (2) Zásobní standard Al (1 g/l): Komerční referenční materiál
- (3) Zásobní směsný standard Y, Sc (10 mg/l): Do odměrné baňky o objemu 100 ml odpipetovat 1 ml Y (1 g/l) a 1 ml Sc (1 g/l) a doplnit po rysku destilovanou vodou
- (4) Zásobní standard Al (10 mg/l): Do odměrné baňky o objemu 100 ml odpipetovat 1 ml Al (1 g/l) a doplnit po rysku destilovanou vodou.
- (5) 40% matrice CaCl₂: 400 g CaCl₂.2H₂O (prokazatelně neobsahující stanovované prvky, rozpustit v dest. vodě a kvantitativně převést do 1000 ml odměrné baňky a doplnit po rysku.
- (6) Kalibrační standard – STD 1 (0,02mg/l): Do odměrné baňky o objemu 250 ml odměřit 30 ml 40% matrici CaCl₂ a 12,5 ml zředěné HNO₃. Do roztoku přidat podle tabulky č. 2, 0,5 ml Al 10 mg/l a 7,5 ml Y, Sc 10mg/l. Doplnit po rysku destilovanou vodou.

<i>Datum vydání</i>	<i>09.09.2019</i>	<i>Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský</i>	<i>Podpis</i>
<i>Platnost od</i>	<i>10.09.2019</i>	<i>Schválil: Ing. Vok Kozelský</i>	<i>Podpis</i>



Macco Organiques s. r. o., divize 501

Výtisk číslo

STANDARDNÍ OPERAČNÍ POSTUP SJ č.: SOP 162/501/19

Tabulka č. 2

Standard č. 1	Koncentrace std. [mg/l]	Přídavek std.
Hliník	0,02	0,5 ml std. 10mg/l
Yttrium, Scandium	0,3	7,5 ml std. 10mg/l

- (7) Kalibrační standard – STD 2 (0,1 mg/l) : Do odměrné baňky o objemu 250 ml odměřit 30 ml 40% matrice CaCl_2 a 12,5 ml zředěné HNO_3 . Do roztoku odpipetovat podle tabulky č. 3, 2,5 ml Al 10mg/l a 7,5 ml Y,Sc 10mg/l. Doplnit po rysku destilovanou vodou.

Tabulka č. 3

Standard č. 2	Koncentrace std. [mg/l]	Přídavek std.
Hliník	0,1	2,5 ml std. 10mg/l
Yttrium, Scandium	0,3	7,5 ml std. 10mg/l

- (8) Kalibrační standard – STD 3 (1,0 mg/l): Do odměrné baňky o objemu 250 ml odměřit 30 ml 40% Matrice CaCl_2 a 12,5 ml zředěné HNO_3 . Do roztoku odpipetovat podle tabulky č. 4, 25 ml Al 10mg/l a 7,5 ml Y, Sc (10mg/l). Doplnit po rysku destilovanou vodou.

Tabulka č. 4

Standard č. 3	Koncentrace std. [mg/l]	Přídavek std.
Hliník	1	25 ml std. 10mg/l
Yttrium, Scandium	0,3	7,5 ml std. 10mg/l

- (9) Kontrolní vzorek- Control: std č. 3
- (10) Blank: je 5% roztok rekrystalizované matrice $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ s přídavkem řed. HNO_3 . Do 250 ml odměrné baňky přidat 30 ml 40% matrice, 12,5 ml zředěné HNO_3 a 7,5 ml Y,Sc (10 mg/l), doplnit po rysku destilovanou vodou.

<i>Datum vydání</i>	<i>09.09.2019</i>	<i>Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský</i>	<i>Podpis</i>
<i>Platnost od</i>	<i>10.09.2019</i>	<i>Schválil: Ing. Vok Kozelský</i>	<i>Podpis</i>



4.2 Pracovní postup

- (1) Do suché kádinky o objemu 100 ml navážit 5 g vzorku krystalu, přidat asi 60 ml destilované vody a řádně promíchat, po rozpuštění roztok kvantitativně převést do 100 ml odměrné baňky, přidat 5 ml řed. HNO₃ a 3 ml Y, Sc (10 mg/l) a 0,5 ml Al (10 mg/l), doplnit po rysku destilovanou. vodou. Získáme tak roztok vzorku pro měření.
- (2) Vzorek měřit na ICP spektrometru (obsluha přístroje dle SOP 009/501/15), za použití metod označených CaCl₂-Al/xxxx.
- (3) Pro kontrolu kalibrace přístroje (pro danou metodu) měřit s každou řadou vzorků Control, po kalibraci, každých 8 vzorcích a na konci sekvence. Výsledky se musí pohybovat ve stanovených akceptačních mezích viz tabulka č. 5, v opačném případě se musí provést nová kalibrace (případně konzultovat odchylku s SPJ).

Tabulka č. 5

Standard č. 3 (Control)	Koncentrace std.	Přídavek std.
Hliník	1 mg/l	80-120 % 0,8 – 1,2 mg/l

4.3 Měření na ICP spektrometru

4.3.1 Peakování zdroje

Před samotným měřením je nutné **peakovat zdroj**, pokud už nebylo peakování provedeno před předchozím měřením stejné matrice (SOP 009/501/15, kap. 4.7.4.1). Při měření na ICP spektrometru postupovat podle SOP 009/501/15 Měření na spektrometru Prodigy 7.

4.3.2 Kontrola vlnové délky

Spektrometr využívá pro určení polohy spektrální čáry na detektoru informací z knihovny čar. Poloha se může v čase měnit, proto by měly být spektrální čáry před měřením zkontrolovány. Při kontrole čáry postupovat podle postupu SOP v kap. 4.3.2.1.

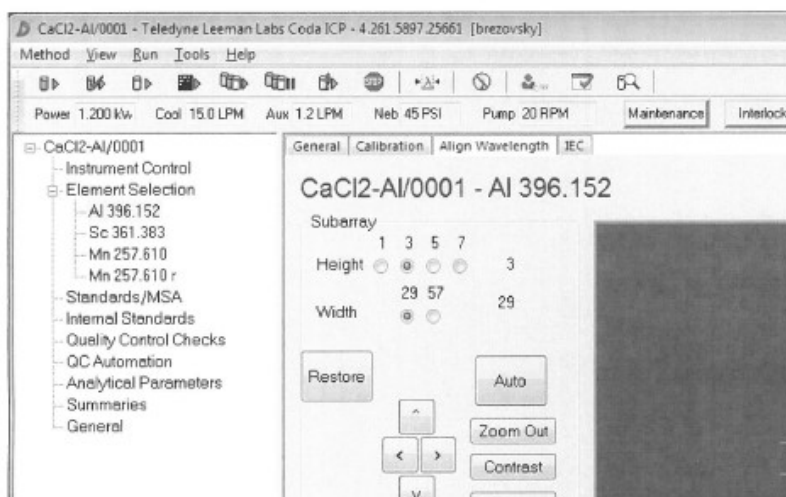
<i>Datum vydání</i>	<i>09.09.2019</i>	<i>Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský</i>	<i>Podpis</i>
<i>Platnost od</i>	<i>10.09.2019</i>	<i>Schválil: Ing. Vok Kozelský</i>	<i>Podpis</i>



Kontrola Echelle snímku spektrální čáry

- V základní obrazovce kliknout na záložku **Method**, vybrat v **Element Selection** vlnovou délku, která je kontrolována Al 396,152 nm.
- Kliknout na horní záložku **Align Wavelength** a vybrat v okně **Echelle Images** snímek pro Al 1 ppm.
- Načtený obrázek porovnat s **Echelle snímkem (obr. 1)**.

Obrázek č.1: Echelle snímek CaCl₂



4.3.2.1 Kontrola scanů naměřených vzorků

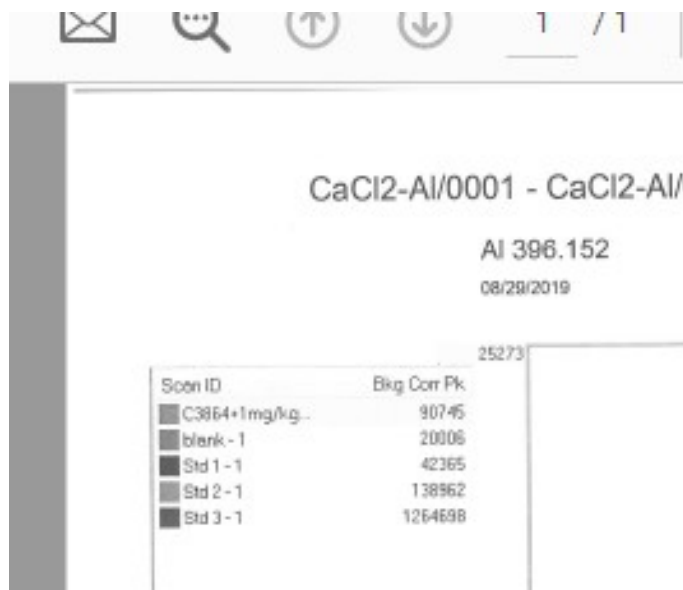
Před tiskem výsledků je nutné zkontrolovat scany naměřených vzorků.

- V záložce **Analysis** vybrat na horní liště položku **Scans**, kliknout na ikonu změřeného vzorku, v nabídce **Line** vybrat Al 396,152 nm.
- Načtený scan porovnat se **scanem (obr. 2)**.

Datum vydání	09.09.2019	Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský	Podpis
Platnost od	10.09.2019	Schválil: Ing. Vok Kozelský	Podpis



Obrázek č.2: Scan snímek CaCl₂



4.4 Výpočty

Získaný výsledek je uveden v jednotkách mg/kg (krystal).

Měření je provedeno sekvenčně za pomoci autosampleru. Pro výpočet je zapotřebí zadat v sekvenci vzorky a jejich přepočtový koeficient do pole ředění „dilution“.

Koeficient ředění pro krystal – 20 (tj. 5g/100ml)

<i>Datum vydání</i>	09.09.2019	<i>Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský</i>	<i>Podpis</i>
<i>Platnost od</i>	10.09.2019	<i>Schválil: Ing. Vok Kozelský</i>	<i>Podpis</i>



5. Záznamy a související dokumentace

5.1 Záznamy

- (1) Provozní kniha spektrofotometru Prodigy 7
- (2) Laboratorní deníky
- (3) Protokol o zkoušce
- (4) Průvodní listy jakosti
- (5) Zápis do LIMS (Labsys)

5.2 Související dokumentace

- (1) OS-Q-01/04 Řízení dokumentů a údajů
- (2) SOP 08/04 Řízení a tvorba SOP
- (3) OS-Q 13/04 Kontrola a zkoušení
- (4) SOP 009/501/15 Měření na spektrometru Prodigy 7

6. ZMĚNY

- (1) Správce tohoto SOP je samostatný pracovník jakosti. Změny musí být v souladu s ustanovením OS-Q Řízení dokumentů a údajů.
- (2) Revize tohoto SOP bude prováděna ve lhůtě jednou za tři roky od data vydání, dále na základě vzniklé potřeby změny.

7. ZÁVĚREČNÁ USTANOVENÍ

Všichni pracovníci, pro které tento SOP platí, musí být seznámeni s jeho obsahem

<i>Datum vydání</i>	<i>09.09.2019</i>	<i>Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský</i>	<i>Podpis</i>
<i>Platnost od</i>	<i>10.09.2019</i>	<i>Schválil: Ing. Vok Kozelský</i>	<i>Podpis</i>

6.2 Příloha č. 2 SOP Stanovení Al v MgCl₂.6H₂O



Macco Organiques s. r.o., divize 501

Výtisk číslo
STANDARDNÍ OPERAČNÍ POSTUP SJ č.: SOP 161/501/19

Stanovení obsahu Al

v krystalu hexahydrátu chloridu hořečnatého MgCl₂.6H₂O

(ICP spektrofotometr Prodigy 7)

1. CÍL

Cílem tohoto SOP je stanovení zásad pro stanovení obsahu Hliníku v krystalech chloridu hořečnatého v souladu s požadavky na rozsah zkoušení a laboratorní techniku danou tímto předpisem

2. ROZSAH PLATNOSTI

- (1) SOP platí pro zkoušení krystalů chloridu hořečnatého (hexahydrátu MgCl₂.6H₂O).
- (2) Dodržení SOP je závazné pro všechny pracovníky laboratoře společnosti Macco Organiques, s.r.o.

3. POJMY A ZKRATKY

- (1) SOP standardní operační postup

4. ZKUŠEBNÍ A KALIBRAČNÍ POSTUPY

4.1 Stanovení obsahu Al

- (1) Obsah Hliníku se stanoví na ICP spektrometru Prodigy 7 (obsluha přístroje dle SOP 009/501/15).

<i>Datum vydání</i>	<i>09.09.2019</i>	<i>Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský</i>	<i>Podpis</i>
<i>Platnost od</i>	<i>10.09.2019</i>	<i>Schválil: Ing. Vok Kozelský</i>	<i>Podpis</i>



Macco Organiques s. r.o., divize 501

Výtisk číslo
STANDARDNÍ OPERAČNÍ POSTUP SJ č.: SOP 161/501/19

4.1.1 Parametry metody

Označení metody MgCl₂-Al/xxxx, kde xxxx je pořadové číslo měření

Podmínky metody ICP Prodigy 7

Pozice hořáku	8 mm
Průtok chladícího plynu (Ar)	15 l/min
Průtok pomocného plynu (Ar)	1,2 l/min
Výkon na budícím zdroji (trioda)	1,20 kW
Tlak nebulizeru (zmlžovače)	45 psi
Rychlost peristaltické pumpy	20 ot./min.
Integrační časy snímání	axiálně - 40 s, radiálně - 0 s

Tabulka č. 1: Shrnutí parametrů stanovení

Analyt Vlnová délka	linearita standardů [mg/l]	Koncentrace Kalibr. std. 1-2-3 [mg/l]	Akceptační meze pro Control 80-120 % [mg/l]	faktor R	LOQ [mg/kg]
Al 396,152	0,02-1	0,02 – 0,1 – 1	80-120	Min 0,995	0,2

4.1.2 Použité chemikálie

- (1) řed. HNO₃: 50 ml konc.65 % HNO₃ suprapur a 50 ml destil. vody
- (2) Zásobní standard Al (1 g/l): Komerční referenční materiál
- (3) Zásobní směsný standard Y, Sc (10 mg/l): Do odměrné baňky o objemu 100 ml odpipetovat 1 ml Y (1 g/l) a 1 ml Sc (1 g/l) a doplnit po rysku destilovanou vodou
- (4) Zásobní standard Al (10 mg/l): Do odměrné baňky o objemu 100 ml odpipetovat 1 ml Al (1 g/l) a doplnit po rysku destilovanou vodou.
- (5) 25% matrice MgCl₂: 250 g MgCl₂.6H₂O prokazatelně neobsahující stanovované prvky, rozpustit v dest. vodě a kvantitativně převést do 1000 ml odměrné baňky a doplnit po rysku.

<i>Datum vydání</i>	<i>09.09.2019</i>	<i>Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský</i>	<i>Podpis</i>
<i>Platnost od</i>	<i>10.09.2019</i>	<i>Schválil: Ing. Vok Kozelský</i>	<i>Podpis</i>



Macco Organiques s. r.o., divize 501

Výtisk číslo
STANDARDNÍ OPERAČNÍ POSTUP SJ č.: SOP 161/501/19

- (6) Kalibrační standard – STD 1 (0,02mg/l): Do odměrné baňky o objemu 250 ml odměřit 50 ml 25% matrice $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ a 12,5 ml zředěné HNO_3 . Do roztoku přidat podle tabulky č. 2, 0,5 ml Al 10 mg/l a 7,5 ml Y, Sc 10mg/l. Doplnit po rysku destilovanou vodou.

Tabulka č. 2

Standard č. 1	Koncentrace std. [mg/l]	Přídavek std.
Hliník	0,02	0,5 ml std. 10mg/l
Ytrium, Scandium	0,3	7,5 ml std. 10mg/l

- (7) Kalibrační standard – STD 2: Do odměrné baňky o objemu 250 ml odměřit 50 ml 25% matrice $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ a 12,5 ml zředěné HNO_3 . Do roztoku přidat podle tabulky č. 3, 2,5 ml Al 10mg/l a 7,5 ml Y, Sc 10mg/l. Doplnit po rysku destilovanou vodou.

Tabulka č. 3

Standard č. 2	Koncentrace std. [mg/l]	Přídavek std.
Hliník	0,1	2,5 ml std. 10mg/l
Ytrium, Scandium	0,3	7,5 ml std. 10mg/l

- (8) Kalibrační standard – STD 3: Do odměrné baňky o objemu 250 ml odměřit 50 ml 25% matrice $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ a 12,5 ml zředěné HNO_3 . Do roztoku přidat podle tabulky č. 4, 25 ml Al 10mg/l a 7,5 ml Y, Sc (10mg/l). Doplnit po rysku destilovanou vodou.

Tabulka č. 4

Standard č. 3	Koncentrace std. [mg/l]	Přídavek std.
Hliník	1	25 ml std. 10mg/l
Ytrium, Scandium	0,3	7,5 ml std. 10mg/l

- (9) Kontrolní vzorek- Control: std č. 3
- (10) Blank: je 5% roztok rekrystalizované matrice $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ s přídavkem řed. HNO_3 . Do 250 ml odměrné baňky přidat 50 ml 25% matrice $MgCl_2$, 12,5 ml zředěné HNO_3 a 7,5 ml Y, Sc (10 mg/l), doplnit po rysku destilovanou vodou.

Datum vydání	09.09.2019	Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský	Podpis
Platnost od	10.09.2019	Schválil: Ing. Vok Kozelský	Podpis



Macco Organiques s. r.o., divize 501

Výtisk číslo
STANDARDNÍ OPERAČNÍ POSTUP SJ č.: SOP 161/501/19

4.2 Pracovní postup

- (1) Do suché kádinky o objemu 100 ml navážit 5 g vzorku krystalu $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, přidat asi 60 ml destilované vody a řádně promíchat, po rozpuštění roztok kvantitativně převést do 100 ml odměrné baňky, přidat 5 ml řed. HNO_3 a 3 ml Y, Sc 10 mg/l a doplnit po rysku destilovanou vodou. Získáme tak roztok vzorku pro měření.
- (2) Vzorek měřit na ICP spektrometru (obsluha přístroje dle SOP 009/501/15), za použití metod označených $MgCl_2-Al/xxxx$.
- (3) Pro kontrolu kalibrace přístroje (pro danou metodu) měřit s každou řadou vzorků Control, po kalibraci, každých 8 vzorcích a na konci sekvence. Výsledky se musí pohybovat ve stanovených akceptačních mezích (viz tabulka č. 5), v opačném případě se musí provést nová kalibrace (případně konzultovat odchylku s SPJ).

Tabulka č. 5

Standard č. 3 (Control)	Koncentrace std.	Přídavek std.
Hliník	1 mg/l	80-120 % 0,8 – 1,2 mg/l

4.3 Měření na ICP spektrometru

4.3.1 Peakování zdroje

Před samotným měřením je nutné **peakovat zdroj**, pokud už nebylo peakování provedeno před předchozím měřením stejné matrice (SOP 009/501/15, kap. 4.7.4.1). Při měření na ICP spektrometru postupovat podle SOP 009/501/15 Měření na spektrometru Prodigy 7.

4.3.2 Kontrola vlnové délky

Spektrometr využívá pro určení polohy spektrální čáry na detektoru informací z knihovny čar. Poloha se může v čase měnit, proto by měly být spektrální čáry před měřením zkontrolovány. Při kontrole čáry postupovat podle postupu SOP v kap. 4.3.2.1.

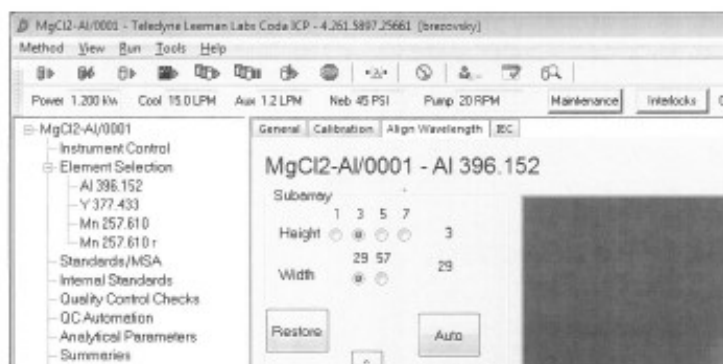
Datum vydání	09.09.2019	Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský	Podpis
Platnost od	10.09.2019	Schválil: Ing. Vok Kozelský	Podpis



4.3.2.1 Kontrola Echelle snímku spektrální čáry

- d) V základní obrazovce kliknout na záložku **Method**, vybrat v **Element Selection** vlnovou délku, která je kontrolována Al 396,152 nm.
- e) Kliknout na horní záložku **Align Wavelength** a vybrat v okně **Echelle Images** snímek pro Al 1 ppm.
- f) Načtený obrázek porovnat s **Echelle snímkem (obr. 1)**.

Obrázek č.1: Echelle snímek MgCl₂



4.3.2.2 Kontrola scanů naměřených vzorků

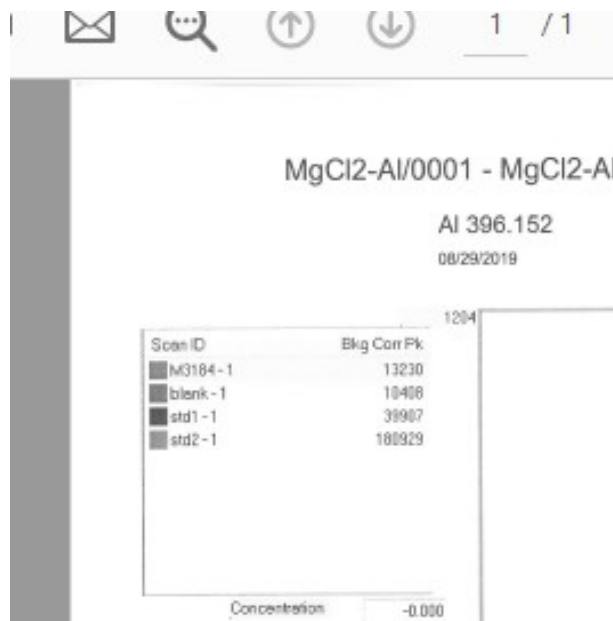
Před tiskem výsledků je nutné zkontrolovat scany naměřených vzorků.

- a) V záložce **Analysis** vybrat na horní liště položku **Scans**, kliknout na ikonu změřeného vzorku, v nabídce **Line** vybrat Al 396,152 nm.
- b) Načtený scan porovnat se **scanem (obr. 2)**.

Datum vydání	09.09.2019	Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský	Podpis
Platnost od	10.09.2019	Schválil: Ing. Vok Kozelský	Podpis



Obrázek č.2: Scan snímek MgCl₂



4.4 Výpočty

Získaný výsledek je uveden mg/kg (krystal).

Měření je provedeno sekvenčně za pomoci autosampleru. Pro výpočet je zapotřebí zadat v sekvenci vzorky a jejich přepočtový koeficient do pole ředění „dilution“.

Koeficient ředění pro krystal – 20 (tj. 5g/100ml)

<i>Datum vydání</i>	<i>09.09.2019</i>	<i>Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský</i>	<i>Podpis</i>
<i>Platnost od</i>	<i>10.09.2019</i>	<i>Schválil: Ing. Vok Kozelský</i>	<i>Podpis</i>



5. ZÁZNAMY A SOUVISEJÍCÍ DOKUMENTACE

5.1 Záznamy

- (1) Provozní kniha spektrofotometru Prodigy 7
- (2) Laboratorní deníky
- (3) Protokol o zkoušce
- (4) Průvodní listy jakosti
- (5) Zápis do LIMS (Labsys)

5.2 Související dokumentace

- (1) OS-Q-01/04 Řízení dokumentů a údajů
- (2) SOP 08/04 Řízení a tvorba SOP
- (3) OS-Q 13/04 Kontrola a zkoušení
- (4) SOP 009/501/15 Měření na spektrometru Prodigy 7

6. ZMĚNY

Správce tohoto SOP je samostatný pracovník jakosti. Změny musí být v souladu s ustanovením OS-Q Řízení dokumentů a údajů.

- 6.1.** Revize tohoto SOP bude prováděna ve lhůtě jednou za tři roky od data vydání, dále na základě vzniklé potřeby změny.

7. ZÁVĚREČNÁ USTANOVENÍ

Všichni pracovníci, pro které tento SOP platí, musí být seznámeni s jeho obsahem.

<i>Datum vydání</i>	<i>09.09.2019</i>	<i>Vypracoval: Mgr. Viktor Brezovský</i>	<i>Podpis</i>
<i>Platnost od</i>	<i>10.09.2019</i>	<i>Schválil: Ing. Vok Kozelský</i>	<i>Podpis</i>

6.3 Příloha č. 3 Souhlas se zveřejněním Validační zprávy



Macco Organiques, s.r.o.

Souhlas

Tento souhlas opravňuje Mgr. Viktora Brezovského k použití Validační zprávy č. VR 055-501/19 Validace obsahu Al v matricích $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ vypracované společností Macco Organiques, s.r.o., k přípravě a publikaci dizertační práce výše jmenované osoby.

Povolil: Charis Stambolidis, Generální ředitel

Dne : 1.6.2021



17

Macco Organiques, s.r.o.
Zahradní 46c - CZ - 782 01 Bruntál

Macco Organiques, s.r.o. | Zahradní 46c, 782 01 Bruntál | Czech Republic
Phone: +420 555 530 300 | Fax: +420 555 530 301 | E-mail: macco@macco.cz
Website: www.macco.cz | IČO: 268 19 210 | DIČ: CZ26819210
Společnost je zapsána v OR vedením u krajského soudu v Olšavě, oddíl C, vložka 276/09

BRINGING
MINERALS
TO LIFE...

