

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie



Prvková analýza rostlinných olejů a tuků

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:

Jakub Grepl

Studijní obor:

Chemie

Vedoucí práce:

RNDr. Tomáš Pluháček, Ph.D.

Konzultant práce:

Mgr. Filip Gregar

2023 Olomouc

### **Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Katedry analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci a v informačním systému Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci .....

Podpis

## **Bibliografické identifikace:**

Jméno a příjmení autora: Jakub Grepl

Název práce: Prvková analýza rostlinných olejů a tuků

Typ práce: Bakalářská

Pracoviště: Katedra analytické chemie

Vedoucí práce: RNDr. Tomáš Pluháček, Ph.D.

Konzultant: Mgr. Filip Gregar

Rok odevzdání práce: 2023

Anotace:

Tato bakalářská práce se zabývá prvkovou analýzou potravinářských olejů pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS). Teoretická část poskytuje základní informace o olejích, rozkladech organických látek, ICP-MS, instrumentaci, interferencích a přímé analýze organických látek. Zároveň uvádí prvotní informace o metodě vnášení kyslíku do plazmatu, které je využito v experimentální části. Závěrem teoretické části je rešerše, která odkazuje na většinu článků, které se zabývají podobnou problematikou.

Předmětem experimentální části je vývoj, validace a srovnání dvou ICP-MS metod pro prvkovou analýzu v olejích. Základní metoda (referenční) zahrnuje mikrovlnný rozklad vzorků směsí kyselin v uzavřeném systému. Nově vyvinutou metodou umožňující přímou analýzu olejů je metoda vnášení kyslíku do plazmatu, jejíž vývoj a optimalizace jsou hlavním předmětem této závěrečné práce. Obě metody byly validovány v rozsahu: linearity, meze detekce, meze stanovitelnosti, preciznosti a pravdivosti. Obě validované ICP-MS metody byly použity pro analýzu 11 vzorků olejů. Stanovená množství těžkých kovů v jednotlivých vzorcích olejů nepřekročila povolené limity těžkých kovů vydané Světovou zdravotnickou organizací (SZO). Závěrem byly obě metody srovnány a bylo potvrzeno, že metoda vnášení kyslíku do plazmatu poskytuje spolehlivé výsledky obsahů prvků v potravinářských olejích.

Klíčová slova: rostlinné oleje, ICP-MS, vnášení kyslíku do plazmatu, těžké kovy

Počet stran: 53

Počet příloh: 1

Jazyk: Český

## **Bibliographical identification:**

Author's first name and surname: Jakub Grepl

Title: Elemental screening in vegetable oils and fats

Type of thesis: Bachelor's

Department: Department of Analytical Chemistry

Supervisor: RNDr. Tomáš Pluháček, Ph.D.

Consultant: Mgr. Filip Gregar

The year of submission: 2023

Annotation:

This Bachelor's thesis describes the elemental analysis of vegetable oils using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS). The theoretical part includes basic information about oils, the decomposition of organic matrices, the principles, interferences, instrumentation of ICP-MS and direct analysis of organic matrices. Simultaneously, it provides a chapter aimed at introducing oxygen-argon plasma discharge, which is further used in the experimental part. The conclusion of the theoretical part is a review that refers to the most recent articles published in oil quality control.

The experimental part focuses on comparing two ICP-MS-based methods for elemental analysis in oil samples. The basic method employs the microwave-assisted digestion of a sample with a mixture of acids in a closed vessel digestion unit. The newly developed method allows a direct analysis of oils after their simple dilution with the organic solvent. Both methods were validated in terms of linearity, the limit of detection (LOD), the limit of quantification (LOQ), precision and trueness. The validated methods had been used for the elemental screening of eleven oil samples. The determined amounts of heavy metals in individual oil samples did not exceed the permitted limits of heavy metals issued by the World Health Organization (WHO). In conclusion, both methods were compared, and it was shown, that the method using oxygen-argon plasma discharge provides reliable results reflecting the elemental levels in food oil samples.

Key words: vegetable oils, ICP-MS, oxygen-argon plasma discharge, heavy metals

Number of pages: 53

Number of appendices: 1

Language: Czech

### **Poděkování:**

Rád bych poděkoval vedoucímu mé bakalářské práce RNDr. Tomáši Pluháčkovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, připomínky a čas, který mi při vypracování mé bakalářské práce věnoval. Také bych rád poděkoval svému konzultantovi Mgr. Filipu Gregarovi za jeho drahocenný čas a spolupráci.

Dále bych rád poděkoval Katedře analytické chemie a Přírodovědecké fakultě Univerzity Palackého v Olomouci za poskytnutí přístrojů a chemikálií pro vypracování mé bakalářské práce.

Bakalářská práce vznikla za finanční podpory Interní grantové agentury Univerzity Palackého v Olomouci, IGA\_PrF\_2023\_027 „Aplikace instrumentálních metod při analýze látek ve složitých maticích“.

## Obsah

1. Úvod.....	1
2. Teoretická část .....	2
2.1. Lipidy.....	2
2.1.1. Rostlinné oleje .....	3
2.2. Rozklady .....	3
2.2.1. Rozklady organických látek pro ICP-MS .....	4
2.3. Těžké kovy.....	7
2.4. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem .....	8
2.4.1. Princip.....	8
2.4.2. Systém zavádění vzorků .....	9
2.4.3. Zmlžovače.....	10
2.4.4. Mlžná komora .....	10
2.4.5. Plazmová hlavice .....	11
2.4.6. Indukčně vázané plazma, vytváření výboje.....	12
2.4.7. Ionizace .....	13
2.4.8. Spojení (interface).....	13
2.4.9. Iontová optika .....	14
2.4.10. Kolizní/reakční cela (CRC) .....	15
2.4.11. Hmotnostní analyzátor .....	16
2.4.12. Detektor .....	18
2.5. Interference .....	19
2.5.1. Spektrální interference (polyatomové) .....	19
2.5.2. Nespektrální interference (matricové) .....	21
2.6. Analýza organických sloučenin pomocí ICP-MS.....	22
2.6.1. Zavádění organických látek do ICP-MS.....	23
2.6.2. Vliv organické matrice v ICP-MS .....	23
2.6.3. HMI mód.....	24
2.6.4. Vnášení kyslíku do plazmatu .....	25
2.7. Prvková analýza olejů.....	25
2.7.1. Rešerše .....	26
3. Experimentální část.....	31

3.1.	Chemikálie, přístroje a pomůcky .....	31
3.1.1.	Chemikálie .....	31
3.1.2.	Přístroje.....	32
3.1.3.	Pomůcky .....	32
3.2.	Analyzované vzorky .....	33
3.3.	Semikvantitativní stanovení kovů – výběr prvků pro kvantitativní ICP-MS analýzu .....	34
3.4.	Přístup k validaci ICP-MS metod .....	34
3.4.1.	Linearita .....	34
3.4.2.	Mez detekce a mez stanovitelnosti .....	35
3.4.3.	Pravdivost (výtěžnost) .....	36
3.4.4.	Preciznost (opakovatelnost).....	36
3.5.	Metoda vnášení kyslíku do plazmatu.....	37
3.5.1.	Příprava vzorků.....	37
3.5.2.	Příprava kalibrační řady roztoků.....	37
3.5.3.	Příprava roztoků pro validaci metody.....	38
4.	Výsledky a diskuse .....	39
4.1.	Výsledky validace metody .....	39
4.1.1.	Linearita .....	39
4.1.2.	Mez detekce a mez stanovitelnosti .....	42
4.1.3.	Pravdivost (výtěžnost) .....	43
4.1.4.	Preciznost (opakovatelnost).....	44
4.1.5.	Výsledky analýzy olejů.....	44
5.	Srovnání metod .....	47
6.	Závěr .....	49
7.	Seznam použitých zkratk .....	51
8.	Seznam použité literatury .....	52
	Příloha č. 1 .....	1

## 1. Úvod

Prvková analýza je základním odvětvím analytické chemie. Zabývá se kvalitativním důkazem a kvantitativním stanovením koncentrace/obsahu kovů, polokovů a nekovů v analyzovaném vzorku. Pro kvantitativní stanovení prvků se využívají nejčastěji metody atomové spektrometrie. Mezi ty základní se řadí atomová absorpční spektrometrie (AAS), hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) a optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES). Od 80. let 20. století získává největší pozornost právě ICP-MS, která díky multielementárnímu charakteru detekce prvků, velmi nízkým mezím detekce a širokému lineárnímu dynamickému rozsahu, předskočila svou konkurenci. Dnes patří mezi nejrozšířenější metody ultrastopové prvkové analýzy. [4]

Rostlinné oleje patří mezi základní potraviny v potravinářském průmyslu a existuje jich hned několik druhů. Mezi základní druhy se řadí slunečnicový, řepkový či olivový olej. Důležitým parametrem pro kontrolu rostlinných olejů je obsah jednotlivých prvků, které mohou mít, jak pozitivní, tak negativní účinky z hlediska jejich kvality a konzumace. Příkladem nebezpečných prvků jsou těžké kovy, které jsou pro lidský organismus toxické. Často uváděnými těžkými kovy jsou olovo, thalium, rtuť, antimon, stříbro, selen, arsen, zinek, měď, nikl, kobalt a chrom. Dále se sledují například koncentrace železa a mědi, které mají negativní účinky na oxidativní stabilitu olejů, resp. jejich trvanlivost. [14]

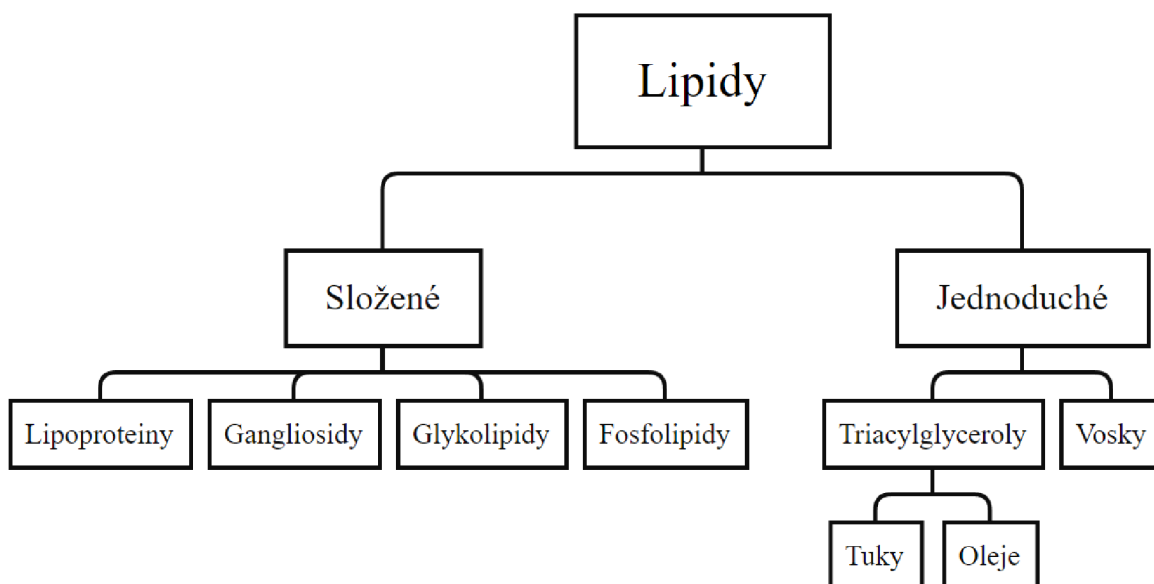
Předmětem experimentální části je zavedení nové metody vnášení kyslíku do plazmatu. Metoda vnášení kyslíku do plazmatu má velký potenciál při analýze organických látek, především kvůli velmi snadné předúpravě, tudíž menší možnosti kontaminace vzorků. Tato metoda pracuje se speciálními organickými rozpouštědly, tudíž se jedná o pouhé ředění bez rozkladu. Jako základem k porovnání slouží již ověřená roztoková metoda s využitím mikrovláknového rozkladu, a tedy převedením do vodných roztoků. Obě metody mají své výhody a nevýhody, jež budou dále diskutovány v závěru této práce po jejich ověření a vyhodnocení naměřených dat. Důležitou součástí je validace obou metod k ověření jejich spolehlivosti.



## 2. Teoretická část

### 2.1. Lipidy

Lipidy představují velkou skupinu organických sloučenin, jejichž význam spočívá hlavně ve stavební a ochranné funkci a zdroji energie u živých organismů. Jsou součástí tzv. lipoproteinové dvojvrstvy všech biomembrán u rostlin i živočichů. Z chemického hlediska se jedná převážně o estery vyšších mastných kyselin s trojsytným alkoholem glycerolem. Lipidy jsou hydrofobní, nerozpustné ve vodě a rozpustné v nepolárních rozpouštědlech. Tuto velkou skupinu lze rozdělit na lipidy jednoduché a složené. Do jednoduchých lipidů se řadí triacylglyceroly, které lze dále dělit podle skupenství na pevné tuky a kapalné oleje (viz Obr. 1). [15-18]



Obr. 1 Schéma dělení lipidů [22]

Obecně platí, že čím větší je počet dvojných vazeb v tucích, tím jsou tekutější. Tuky jsou, za pokojové teploty, pevné, protože na glycerolu jsou navázány převážně nasycené mastné kyseliny (např. kyselina palmitová, stearová). Oproti tomu oleje jsou kapalné, protože převažují nenasycené mastné kyseliny (např. kyselina olejová). Oleje dále můžeme dělit podle jejich původu na živočišné a rostlinné, které jsou popsány v následující kapitole. [15-18]

### **2.1.1. Rostlinné oleje**

Rostlinné oleje jsou zdrojem především nenasycených a polynenasycených mastných kyselin (např. omega 3, omega 6) a hrají důležitou roli u několika metabolických procesů v organismu. Příkladem může být metabolismus cholesterolu a krevních lipidů. Dále se podílí na kondici kardiovaskulárního systému, funkci imunitního systému a zprostředkovávají komunikaci ve vnitřním prostředí přes biomembrány. Rostlinné oleje, kromě mastných kyselin, obsahují například vitamín E (tzv. tokoferol), který je důležitým antioxidantem, jehož funkcí je chránit buněčné membrány před poškozením volnými radikály. Dále obsahují karotenoidy (provitamin A), které způsobují mírně oranžové zabarvení olejů a také lecithin, který patří mezi fosfolipidy a také se uplatňuje v metabolismu cholesterolu. Obecně se oleje nerozpouští ve vodě a oproti vodě mají nižší hustotu. Běžně se vyrábí lisováním ze semen nebo plodů rostlin. Existují dva způsoby lisování, a to za studena nebo za tepla. Lisováním za studena se získávají kvalitní oleje, vhodné pro konzumaci nebo pro terapeutické účely. Oproti tomu za tepla lisované oleje, nejsou tolik kvalitní a používají se spíše pro technické účely. Vyrábí se hned několik druhů potravinářských olejů (např. slunečnicový, řepkový, olivový, arganový, avokádový, bodlákový, dýňový, kokosový, konopný, atd...). Mezi nejpoužívanější potravinářské oleje se však řadí slunečnicové, řepkové a olivové oleje. Tyto tři základní druhy olejů byly využity pro prvkovou analýzu pomocí ICP-MS. [15, 17]

### **2.2. Rozklady**

Pojmem rozklad se rozumí ireverzibilní chemický proces, vedoucí k úplné destrukci původní sloučeniny (matrice). K rozkladům se využívá celá řada postupů, které jsou odlišné ve způsobu provedení. Odlišně se například rozkládají anorganické látky a organické látky, jak napovídá jejich matriční složení. Dále je důležitým faktorem, pro volbu vhodného typu rozkladu, cílový analyt, zda se jedná o maticové prvky nebo prvky obsažené ve stopovém množství. Rozklady běžně probíhají snadněji při vyšších teplotách, kdy zvýšená teplota zahájí a udržuje chemickou reakci. Zvýšení teploty pro rozklad se zajistí buďto klasickým ohřevem či fyzikálními a chemickými mechanismy (tzv. dielektrickým ohřevem). V tomto druhém případě se jedná o mikrovlnný rozklad. Rozklady lze dělit podle změny hodnot oxidačních čísel prvků v rozkladných látkách na:

- Rozklady látek bez změny oxidačního čísla
- Oxidační rozklady
- Redukční rozklady

Nebo podle chemického charakteru na rozklady:

- Organických látek
- Anorganických látek

O rozkladech organických látek pojednává následující kapitola.[6]

### **2.2.1. Rozklady organických látek pro ICP-MS**

Rozklad organických sloučenin/matric je nejčastěji založen na rozkladu pomocí směsi koncentrovaných i zředěných anorganických kyselin. Při rozkladu organické matrice se uhlík odstraní v podobě oxidu uhličitého ( $\text{CO}_2$ ), vodík jako voda ( $\text{H}_2\text{O}$ ), kyslík ve formě oxidů a vody, dusík ve formě oxidů dusíku, síra v podobě oxidu siřičitého ( $\text{SO}_2$ ) a halogenidy v podobě halogenvodíků. Rozklady organických látek lze jednoduše rozdělit podle použitého postupu na rozklady na suché cestě (např. spalování) a rozklady na mokré cestě. Rozklady na mokré cestě zahrnují rozklady pomocí anorganických kyselin s klasickým či mikrovlnným ohřevem nebo v otevřeném či uzavřeném systému. Rozklad v otevřeném systému probíhá za atmosférického tlaku a není vhodný pro rozklad těkavých látek, protože by docházelo ke ztrátám těkavých složek, analytu. Rozklad v uzavřeném systému může probíhat za atmosférického, mírně zvýšeného nebo vysokého tlaku a je vhodný pro většinu látek. Následující tabulka č. 1 popisuje činidla pro rozklad na mokré cestě. [6]

Tab. 1 Činidla aplikované při rozkladu organických matic [6]

Činidla	Matrice	Poznámky
$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HNO}_3$	Rostlinné materiály	Nejběžnější, nebezpečí ztrát As, Se, Hg apod.
$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$	Rostlinné materiály	Ztráty Ge, As, Ru, Se a Pb absorpcí na $\text{CaSO}_4$
$\text{HNO}_3$	Biologické materiály	Teplota – 350 °C, krátký čas rozkladu, vznik rozpustných dusičnanů
$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	Biologické materiály	Rychlá metoda rozkladu pro malé množství vzorků při nízké teplotě
$\text{HClO}_4$	Biologické materiály	Katalyzátory $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$ apod.
$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HClO}_4$	Biologické materiály	Vhodné pro malé množství vzorků, nebezpečí výbuchu.
$\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$	Vaječný bílek, uhlovodíky, (žádné tuky)	Malé nebezpečí výbuchu, žádné ztráty olova
$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$	Univerzální i tuky	Při přesné kontrole teploty bez nebezpečí, rozklad pod zpětným chladičem, ztráty As, Sb, Hg, Au, Fe, apod.
$\text{HCl} + \text{KClO}_3$	Biologické materiály	Nevhodné pro stopovou analýzu, kvůli možné ztrátě těkavého analytu
$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$	Univerzální kromě tuků, olejů, kompaktních plastů a elementárního uhlíku	Rozklad v důsledku vzniku OH radikálů, teplota pod 100 °C a vhodné pro vysoké navážky vzorku

### **2.2.1.1. Mikrovlnný rozklad**

Mikrovlnné záření bylo objeveno na konci 19. století a prakticky se uplatnilo ihned vzápětí na počátku 20. století. Využití mikrovlnné energie nezůstalo jen doménou domácností a v důsledku možnosti regulovaného přenosu energie se rychle rozšířilo i do průmyslových oblastí, jakými jsou například syntéza plastů, sloučenin přechodných kovů apod. V laboratořích se ohřev mikrovlnnou energií začal využívat zejména pro stanovení sušiny a později i pro mikrovlnné rozklady. Vysoké efektivity mikrovlnných rozkladů se dosahuje v důsledku rychlého generování tepla uvnitř vzorku přeměnou energie mikrovlnného záření na teplo, přičemž transparentní materiál rozkladných nádob má funkci vnitřního izolátoru. Mikrovlnný rozklad se využívá k přípravě všech typů vzorků pro prvkovou analýzu. První mikrovlnný rozklad s využitím anorganické kyseliny byl proveden v roce 1975. Od té doby byly rutinně zavedeny dva základní typy mikrovlnných rozkladů, kterými jsou rozklad v otevřeném a uzavřeném systému. Rozklad v otevřeném systému probíhá při teplotách varu rozkladných činidel, resp. teploty varu azeotropických směsí kyselin. Je vhodný i pro rozklad vzorků s explozivním charakterem (při rozkladu, kdy se vyvíjí vodík či u explozivních organických vzorků). Při rozkladu se používají skleněné, křemenné nebo teflonové nádoby. Otevřené systémy se dále používají pro kjeldahlizaci, hydrolyzu, luhování, resp. extrakci kyselinami. Oproti tomu rozklad v uzavřeném systému, který často probíhá za zvýšeného tlaku, je efektivnější, rychlejší a také dochází k dokonalejšímu rozkladu matrice vzorku. Proto je vhodný prakticky pro všechny typy vzorků. Mezi jeho další výhody se řadí snížené riziko kontaminace a zamezení ztrát těkavých látek. Dále se uzavřené rozklady mohou dělit podle použitého tlaku na rozklady za nízkého (<1 MPa), středního a vysokého (<10 MPa) tlaku. [5, 6]

#### **2.2.1.1.1. Mikrovlnný rozklad olejů**

Vhodným rozkladem organických látek (např. olejů) je mikrovlnný rozklad, kombinace mikrovlnného rozkladu s odpařením nadbytečné kyseliny či rozklad asistovaný ultrazvukem. Nejčastěji se využívá rozkladné směsi kyseliny dusičné a peroxidu vodíku. Po rozkladu vznikne koncentrovaný roztok, který se zředí ultračistou vodou. Vzniklá zředěná kyselina dusičná stabilizuje kovy ve vodném roztoku a takto připravený vzorek se následně analyzuje pomocí ICP-MS. Tento způsob předúpravy organických látek je vhodný i pro ICP-OES a AAS. [3]

### 2.3. Těžké kovy

Jedná se o chemické prvky s relativně velkou hustotou, které jsou toxické pro lidský organismus už při malých koncentracích (ng/g nebo µg/l). Příkladem těžkých kovů jsou olovo (Pb), arsen (As), rtuť (Hg), kadmium (Cd), zinek (Zn), stříbro (Ag), měď (Cu), železo (Fe), chrom (Cr), nikl (Ni), paladium (Pd) a platina (Pt). Tyto kovy jsou uvolňovány do životního prostředí přírodními i antropogenními zdroji např. průmyslovými odpady, těžbou či automobilovou dopravou. Jsou biologicky nerozložitelné, karcinogenní a mají tendenci se bioakumulovat v živých tkáních. Důsledkem dlouhodobého a trvalého vystavení těžkým kovům může dojít k nepříznivým zdravotním rizikům a obtížím. Nejvíce postiženými orgány bývají játra, ledviny, jejichž funkcí je vylučování toxických látek/prvků. Těžké kovy mohou negativně ovlivňovat enzymy a vitamíny v organismu, také pohybovou a nervovou soustavu. Dále způsobují hormonální nerovnováhu, neplodnost, zvyšují riziko potratu a mnoho dalších zdravotních obtíží. Z těchto důvodů se jejich množství (obsah) v potravinách musí přísně kontrolovat a jsou stanoveny jejich maximální přípustné limity. Limity těžkých kovů v olejích jsou uvedeny v následující tabulce č. 2. [19, 21]

Tab. 2 Přípustné limity těžkých kovů v potravinářských olejích [20]

Kovy	Obsah [µg/g]
Cd	0,05
Cu	0,10
Fe	1,00-1,50
As	0,10
Ni	0,20
Pb	0,10

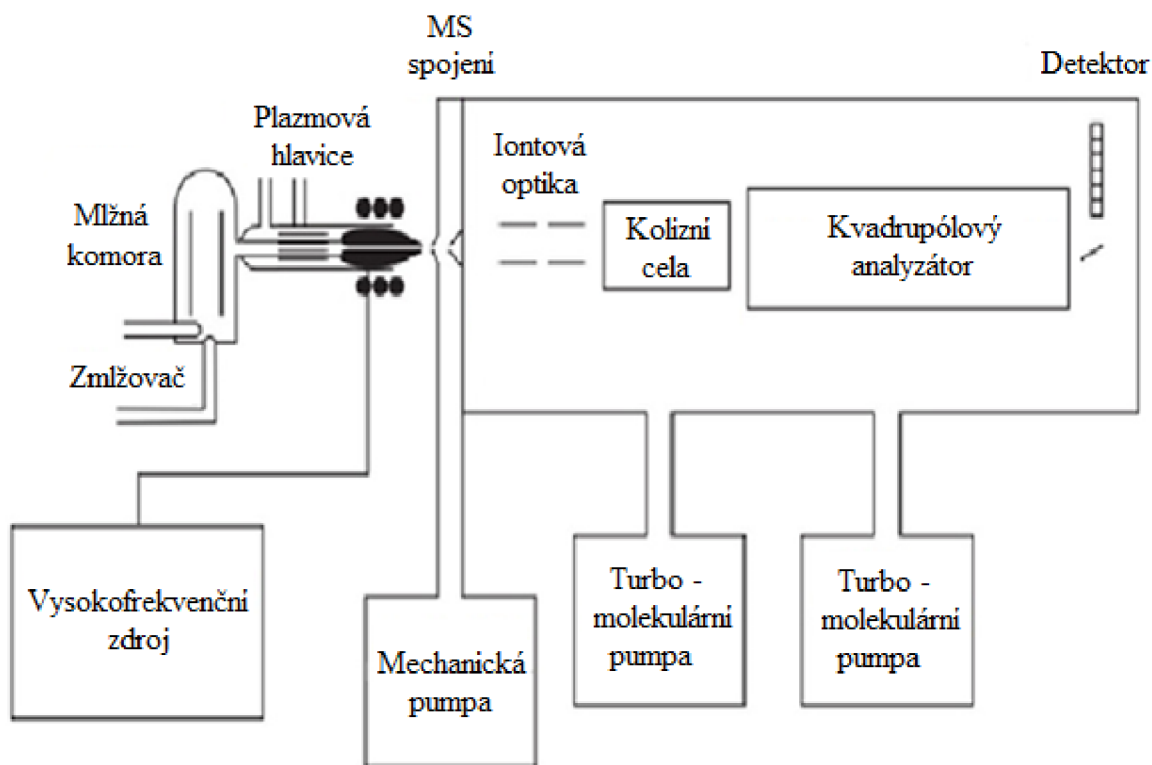
## 2.4. Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) dnes patří mezi vysoce rozvinuté ultrastopové analytické metody. Svým zaměřením na multielementární a izotopové analýzy našla uplatnění v mnoha vědeckých aplikacích. Její počátky spadají do 80. let 20. století, kdy byla poprvé vyvinuta spojením dvou již existujících částí argonového indukčně vázaného plazmatu (ICP), používaného v optické emisní spektrometrii (ICP-OES) a kvadrupólového hmotnostního spektrometru, který je dodnes využíván například s plynovou chromatografií (GC-MS). ICP-MS již od počátku poskytovala impozantní výsledky v multielementární analýze, kde dosahovala velmi nízkých mezí detekce v řádu jednotek ppt. Právě zmíněné unikátní analytické charakteristiky byly hlavním impulzem pro její rozvoj a široké uplatnění na poli prvkové analýzy. Nejruznější problémy například se stabilitou indukčně vázaného plazmatu, stabilitou signálu či vakua byly postupným vývojem odstraněny tak, aby bylo dosaženo spolehlivých kvantitativních výsledků. V současné době jsou hlavními přednostmi ICP-MS nízké meze detekce a schopnost analýzy prvků v relativně velkém koncentračním rozsahu od jednotek ppt až po tisíce ppm v jednom experimentu, při použití vhodného detektoru (viz kapitola č. 2.4.12.1.). Díky těmto vlastnostem, je ICP-MS v oblasti ultrastopové analýzy v podstatě bezkonkurenční. Dnes se již ICP-MS využívá všude tam, kde je potřeba rychlé analýzy látek, které obsahují velký počet stopových či matričních prvků. [1-5]

### 2.4.1. Princip

Nejčastěji kapalný vzorek je vnášen peristaltickou pumpou do zmlžovače, kde vznikne heterogenní směs – aerosol s nosným plynem (argonem). Aerosol je následně rozprášen do mlžné komory, kde se odstraní příliš velké kapky a jemný aerosol pokračuje pomocí nosného plynu dále do plazmové hlavice. Vzorek prochází vnitřním kanálem plazmové hlavice do ICP, kde dochází k postupné desolvataci, odpaření, atomizaci a ionizaci vzorku za vzniku kladně nabitých iontů při vysokých teplotách až 10 000 K. Proud iontů je efektivně transportován přes spojení (interface) do iontové optiky umístěné ve vakuové komoře, kde dojde k oddělení kladně nabitých iontů od neutrálních částic a fotonů. Zároveň je proud kladně nabitých iontů fokusován a nasměrován do kolizní cely, kde dochází k potlačení polyatomových interferencí. Ionty dále pokračují do hmotnostního analyzátoru, který separuje ionty analytu podle poměru  $m/z$  a ty dopadají na detektor. Detektor převádí

proud iontů na měřitelný elektrický signál. Vhodný software pak tento signál vyhodnotí v podobě grafu závislosti intenzity na poměru  $m/z$ . Celkové schéma ICP-MS je znázorněno a popsáno na následujícím obrázku č. 2. [1-5]



Obr. 2 Schéma hmotnostního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem [4]

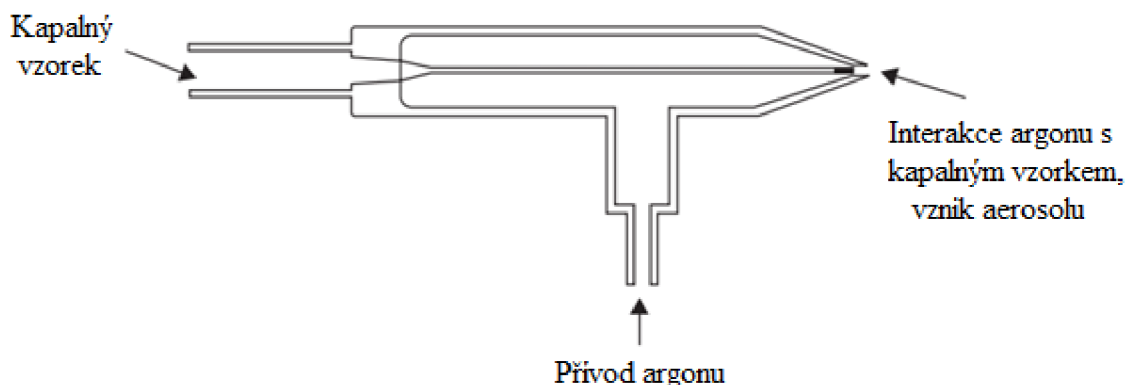
#### 2.4.2. Systém zavádění vzorků

Zavádění vzorku je považováno za Achillovu patu ICP-MS. Jelikož se jedná o možná nejslabší část ICP-MS přístroje, kdy se do plazmatu dopraví pouze 2-5 % původního množství vzorku v závislosti na použitém zmlžovači, mlžné komoře a matrici vzorku. Ve většině případů se vzorek zavádí v kapalném skupenství pomocí peristaltické pumpy. Peristaltická pumpa zajišťuje kontinuální přísun vzorku do zmlžovače. Využívá se třicestné peristaltické pumpy, kdy prvním kanálem se transportuje vzorek, druhým interní standard a třetím se odvádí nezmlžený roztok z mlžné komory do odpadu. Dále je tento systém tvořen zmlžovačem a mlžnou komorou. [1-5]



### 2.4.3. Zmlžovače

Důležitou roli při zavádění vzorků v ICP-MS hrají zmlžovače. V zmlžovači se smísí kapalný vzorek s nosným plynem a vytvoří se heterogenní a polydisperzní směs-aerosol, který je rozprášen do mlžné komory. Běžně se používá pneumatický zmlžovač, u kterého působí mechanická síla průtoku plynu o tlaku přibližně 20-30 psi. Existuje více typů zmlžovačů, kde mezi nepoužívanější patří koncentrický, mikrokonzentrický a úhlový („cross-flow“). Koncentrický se vyznačuje průtokem plynu paralelně ke kapiláře, je vhodný pro čisté roztoky a dosahuje velmi nízkých mezí detekce. Obvykle se vyrábí z křemene, borosilikátového skla či různých druhů polymerů, které jsou vhodné u látek s korozivními účinky nebo pro speciální aplikace. Oproti tomu u úhlového zmlžovače je proud argonu zaváděn v pravém úhlu vůči kapiláře pro vzorek, je vhodný pro těžší matrice a dokáže zpracovat i malé množství pevných částic. Často se vyrábí z plastu a je více robustní. [1-5]

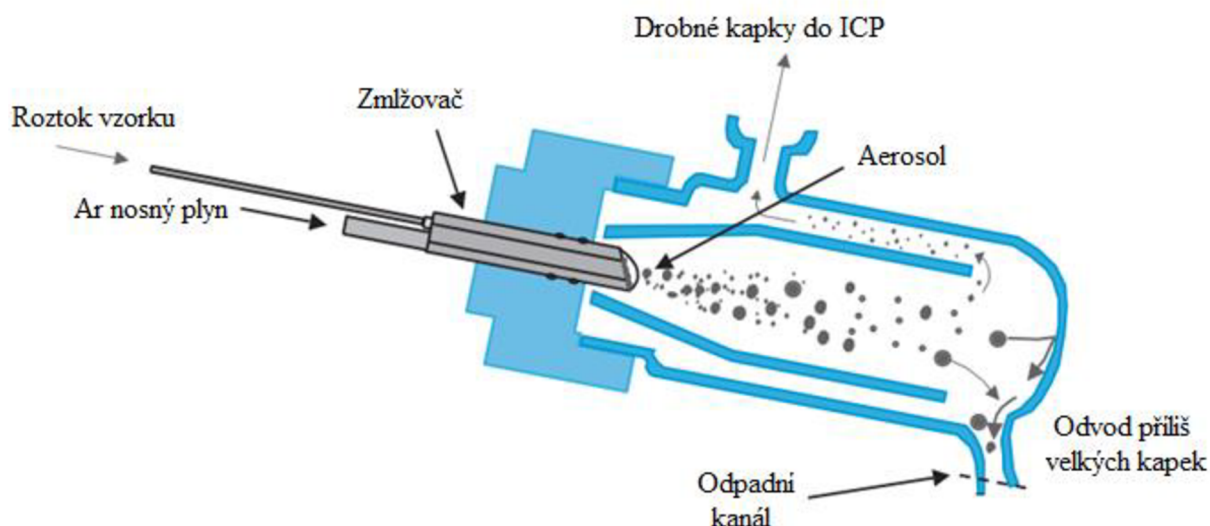


Obr. 3 Princip tvorby aerosolu pomocí koncentrického zmlžovače [5]

### 2.4.4. Mlžná komora

Hlavní funkcí mlžné komory je odstranění příliš velkých kapek, které nejsou vhodné pro analýzu a také vyhlazení zmlžovacích pulzů vytvořených peristaltickou pumpou. Mlžné komory bývají běžně chlazené kvůli stabilitě vzorku a snížení transportu těkavého rozpouštědla do plazmatu. Tato vlastnost snižuje množství polyatomických interferencí, zvyšuje stabilitu signálu a snižuje množství rozpouštědla při analýze organických vzorků. Mezi dva základní typy mlžných komor patří Scottova a cyklonická mlžná komora. Scottova

mlžná komora je nejvhodnější pro běžné používání a je robustnější než cyklonická. Principem je nasměrování aerosolu centrální trubicí, kdy příliš velké kapky, vlivem gravitační síly narážejí na stěnu vnější trubice a jsou odváděny do odpadního kanálu. Zatímco jemný aerosol je nucen změnit směr proudění o 180° a pokračuje vnější trubicí do plazmové hlavice (viz Obr. 4). Cyklonická mlžná komora se stává více populární, jelikož se dá vhodně modifikovat například pro nízké průtoky vzorků, rychlé promývání vzorků, organická rozpouštědla či může být korozivně rezistentní. Funguje na principu odstředivé síly, kdy příliš velké kapky narazí na stěny a jsou odvedeny odpadním kanálem a jemný aerosol pokračuje pomocí nosného plynu do plazmové hlavice. Běžně se vyrábí z křemene, borosilikátového skla či různých polymerů podobně jako u zmlžovačů. [1-5]

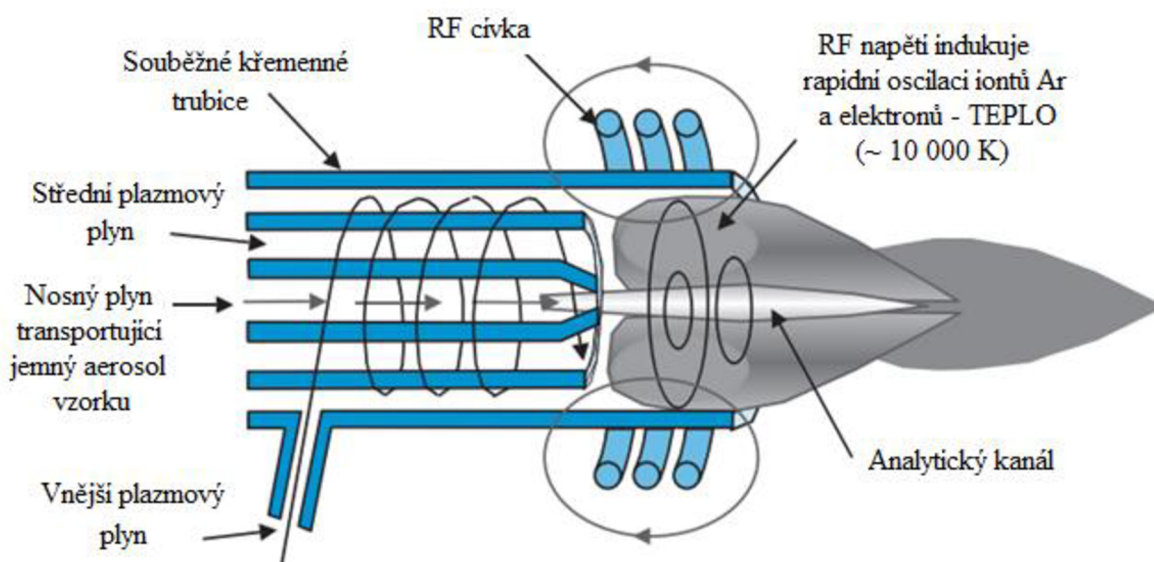


Obr. 4 Schéma tvorby a separace aerosolu ve Scottově mlžné komoře [2]

#### 2.4.5. Plazmová hlavice

Plazmová hlavice je umístěna horizontálně v měděné indukční cívce. Skládá se ze tří koncentrických trubic, které se vyrábí nejčastěji z křemene (viz Obr. 5). Plazmový plyn, argon, prochází jednak vnější trubicí při průtoku okolo 12-17 l/min., kde jeho hlavní funkcí je tvorba plazmatu a ochlazení plazmové hlavice. Dále jako pomocný plyn prochází prostřední trubicí o přibližném průtoku 1 l/min a využívá se pro stabilizaci plazmatu a oddělení plazmatu od plazmové hlavice. A vnitřní trubicí přináší proud argonu vzorek ze zmlžovače křemenným injektorem o stejném průtoku 1 l/min a vytváří tak v ICP

analytický kanál. Injektor se kromě křemene běžně vyrábí z hliníku, platiny či safíru. Kromě čistého argonu se dá využít i směsí plynů například směs kyslíku a argonu pro analýzu organických látek (viz kapitola č. 2.6.4.) či směs argonu a hélia pro laserovou ablaci. [1-5]



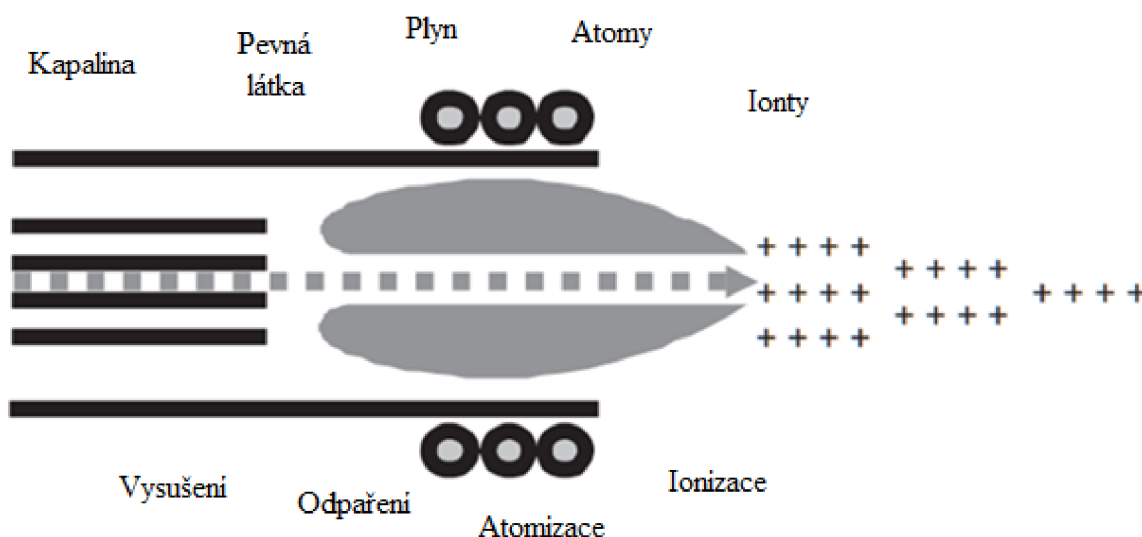
Obr. 5 Schéma plazmové hlavice [2]

#### 2.4.6. Indukčně vázané plazma, vytváření výboje

Proud argonu prochází střední a vnější trubicí křemenné plazmové hlavice a konec plazmové hlavice je obklopen měděnou vysokofrekvenční cívkou, která je připojena k RF (radiofrekvenčnímu) generátoru. Cívkou prochází vysokofrekvenční proud a generuje se silné magnetické pole na konci plazmové hlavice. Při průchodu proudu argonu skrze magnetické pole dochází výbojem z Teslova generátoru k iniciaci ICP, kdy dojde k odtržení elektronů z atomů argonu a ty pak Penningovou reakcí vytrhávají další elektrony až dojde ke vzniku ICP, které je tvořeno volnými elektrony, ionty a atomy argonu. Vzniklé plazma o teplotě 5 000–10 000 K se udržuje dodáváním energie z RF generátoru. Běžně se využívají dvojí frekvence 40,68 MHz nebo 27,12 MHz a RF generátory o výkonech až 1 600 W. Vysoké teploty plazmatu zapříčiňují desolvataci, odpaření, atomizaci a následnou ionizaci analytů uvolněním elektronu z jednotlivých atomů (viz Obr. 6). [1-5]

## 2.4.7. Ionizace

Vzniklý aerosol vzorku prochází několika odlišnými zónami v plazmovém výboji. Dochází k postupnému odpařování rozpouštědla, přeměně aerosolu na pevné částice a následně na plyn obsahující ionizované částice. V momentě, kdy se vzorek dostane do analytické části plazmatu (6 000-7 000 K), dojde k atomizaci a ionizaci za vzniku kladně nabitých iontů. První ionizační potenciál argonu odpovídá energii přibližně 15,8 eV, jež je dostatečně velká na ionizaci většiny prvků v periodické tabulce, a to většinou do prvního stupně. Pokud jsou přítomny prvky s nízkým druhým ionizačním potenciálem (např. kovy alkalických zemin) může dojít ke vzniku dvojnásobně nabitých iontů. Dvojnásobně nabité ionty jsou při analýze nežádoucí (jeví se jako ionty s poloviční hmotností ve hmotnostním spektru) a dají se eliminovat nastavením plazmového výboje. [1-5]

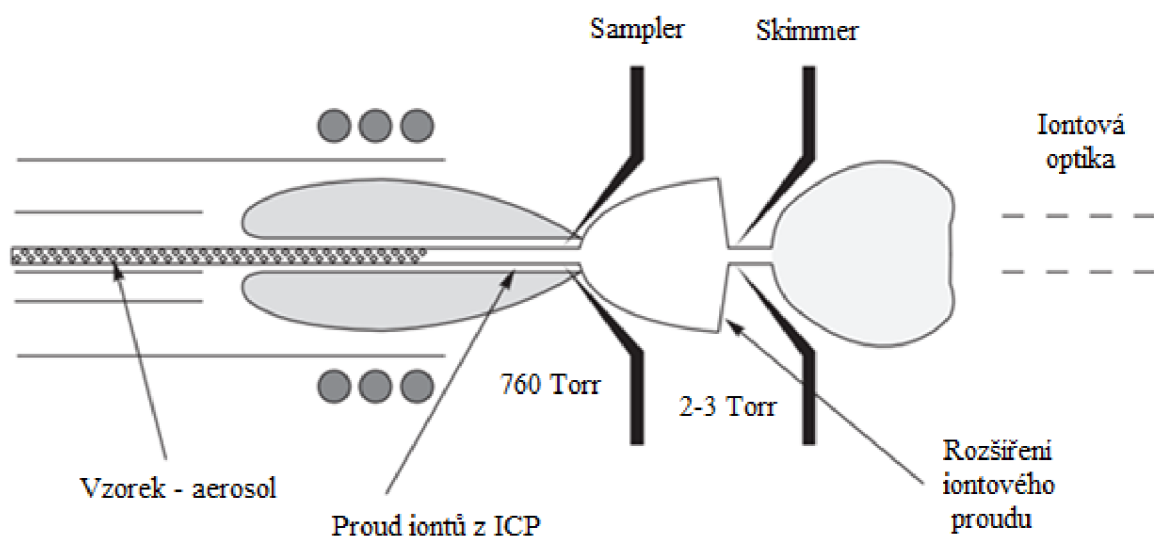


Obr. 6 Schéma principu přeměny vzorku na ionty [4]

## 2.4.8. Spojení (interface)

Účelem spojení je transportovat vzniklé ionty z plazmatu za atmosférického tlaku (760 torr) do hmotnostního analyzátoru, který je umístěn ve vakuu ( $10^{-6}$  torr). Tento přenos kladně nabitých iontů musí proběhnout efektivně, kontinuálně a bez narušení stability plazmového výboje. Ionty jsou nasměrovány přes dva kónusy s velmi malými otvory v jejich vrcholech, mezi kterými je udržováno vakuum (1-2 torr). Kónusy mají kuželovitý tvar

a většinou jsou vyrobeny z niklu či platiny, která je odolnější vůči korozivním vzorkům. Prvním v pořadí je vzorkovací kónus („sampler“), který má otvor ve vrcholu kužele v rozmezí 0,8-1,2 mm a následuje skimmer kónus s menším otvorem v rozmezí 0,4-0,8 mm. Otvor kónusů sloužící pro transport iontů se časem opotřebí, proto je nutné je pravidelně kontrolovat velikost a tvar jednotlivých otvorů a popřípadě kónusy včas vyměnit. Dále může dojít k ucpání kónusů, proto se zasolené vzorky nebo roztoky s vysokým obsahem uhlíku musí dostatečně ředit. Spojení je zobrazeno na obrázku č. 7. [1-5]



Obr. 7 Schéma spojení (interface) ICP-MS [4]

#### 2.4.9. Iontová optika

Hlavní rolí iontové optiky je extrakce a fokusace proudu kladně nabitých iontů z plazmového výboje do kolizní cely nebo přímo do hmotnostního analyzátoru a zároveň eliminace neutrálních částic a fotonů, které by mohly negativně ovlivnit výsledný signál. Iontová optika není tvořena klasickou optikou, jako například u ICP-OES nebo AAS, ale skládá se z několika kovových součástí (čoček), které jsou upevněny ve vhodném držáku. Na jednotlivé součástky (čočky) je vkládáno napětí a jsou navzájem od sebe izolované. Principem je vychýlení proudu kladně nabitých iontů o daný úhel do kolizní cely či přímo do hmotnostního analyzátoru, kdy neutrální částice a fotony nejsou vychýleny elektromagnetickým polem čoček a narazí na překážku. Mezi tři základní typy patří “in line“, kdy je do cesty (osy) vložena uzemněná překážka (disk), nastavení hmotnostního

analyzátoru mimo osu ke vstupu interface a třetí nejnovější přístup je vychýlení proudu iontů o 90° pomocí dutého iontového zrcadla. [1-5]

#### 2.4.10. Kolizní/reakční cela (CRC)

Kolizně/reakční cely byly vyvinuty v 90. letech 20. století a od té doby se staly natolik populárním nástrojem pro eliminaci polyatomických interferencí, že v dnešní době tento prvek obsahuje většina ICP-MS přístrojů s kvadrupólem či analyzátozem doby letu (TOF). Funkcí CRC systému je odstranění spektrálních polyatomových interferencí, které vznikají kombinací iontů argonu, rozpouštědel a matrice (viz kapitola 2.5.1.). Klíčový je CRC systém při stanovení prvků, které poskytují nevyhovující meze detekce způsobené přítomností spektrálních interferencí nebo jejich kombinací, které zvyšují pozadí na analyzované hodnotě  $m/z$ . Příklady takto zatížených izotopů i s jejich interferencemi jsou uvedeny v následující tabulce č. 3.

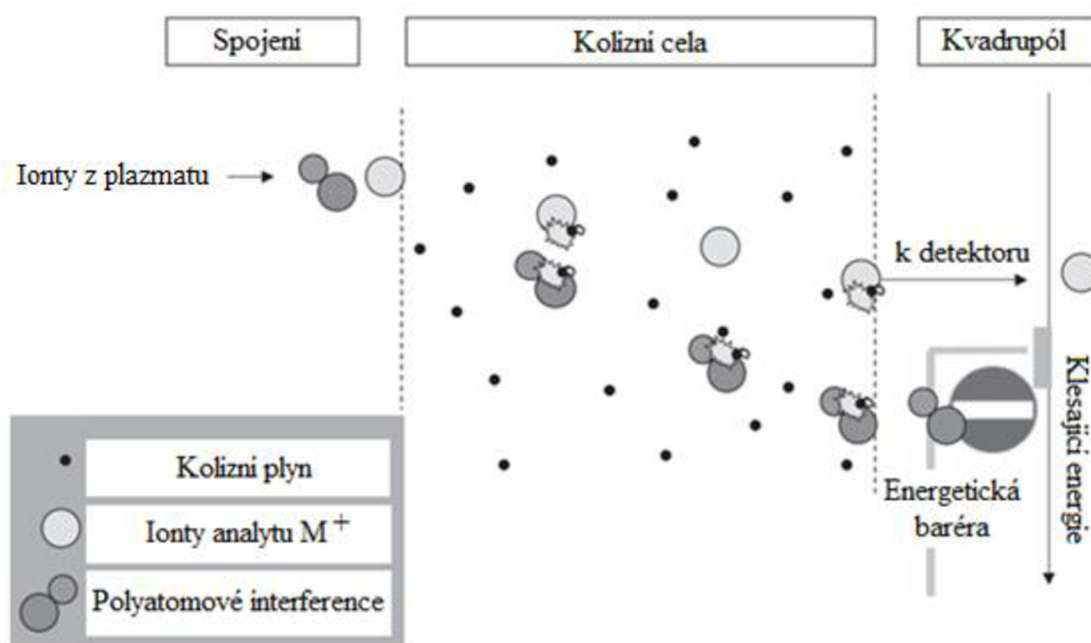
Tab. 3 Příklady spektrálních interferencí, při stanovení některých izotopů [4]

Spektrální interference	Izotop
$^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$	$^{56}\text{Fe}^+$
$^{38}\text{Ar}^1\text{H}^+$	$^{39}\text{K}^+$
$^{40}\text{Ar}^+$	$^{40}\text{Ca}^+$
$^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}^+$	$^{80}\text{Se}^+$
$^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$	$^{75}\text{As}^+$
$^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$	$^{52}\text{Cr}^+$
$^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$	$^{51}\text{V}^+$

V kolizních/reakčních celách se často využívají tzv. multipóly jako hmotnostní filtry. Například v tzv. DRC (dynamic reaction cell) systému se využívá kvadrupólu. Oproti tomu v kolizních celách se běžně využívá hexapólu nebo oktapólu. Existuje několik způsobů zapojení CRC systémů, kdy každý z nich může být vhodný pro jiné konkrétní aplikace. [2,4]

Kolizní cela (hexapól nebo oktapól) je umístěna mezi iontovou optikou a hmotnostním analyzátozem. V kolizní cele se pro efektivní odstranění polyatomických

interferencí využívá málo reaktivní kolizní plyn (např. vodík, helium). V porovnání se studovaným analytem mají polyatomové interference větší srážkový průřez, tudíž se průměrně srazí s větším počtem atomů kolizního plynu a buď se rozpadnou nebo ztratí část své kinetické energie. Díky tomu se analyt a polyatomické interference od sebe odseparují nastavením vhodného potenciálu na konci kolizní cely a pouze ionty analytu, s dostatečnou kinetickou energií („KED – kinetic energy discrimination“), pokračují do hmotnostního analyzátoru. [4]



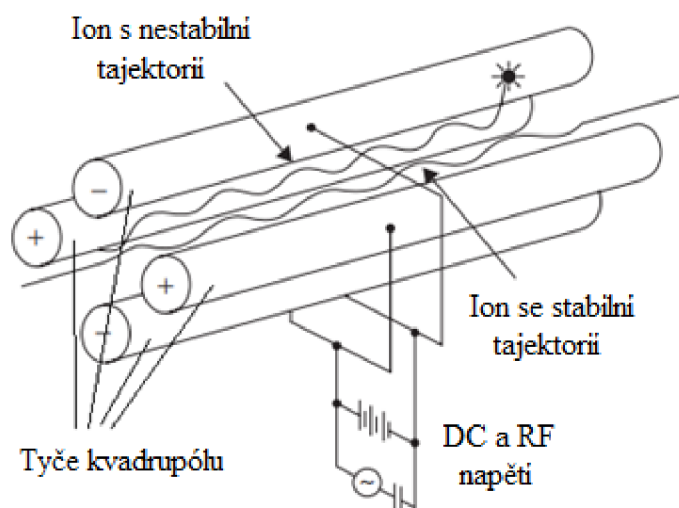
Obr. 8 Schéma principu kolizní cely a eliminace v podobě „KED“ [4]

#### 2.4.11. Hmotnostní analyzátor

Za srdce ICP-MS je považován hmotnostní analyzátor, který se nachází mezi iontovou optikou a detektorem v prostředí vakua o přibližném tlaku  $10^{-6}$  torru. Jeho funkcí je separovat ionty podle poměru hmotnosti k náboji ( $m/z$ ). Používá se více druhů hmotnostních analyzátorů, kdy mezi nejpoužívanější patří kvadrupólový hmotnostní analyzátor, analyzátor doby letu či sektorové analyzátoři s dvojitou fokusací. Každý z nich má své výhody a nevýhody v závislosti na konkrétním použití. [1-5]

### 2.4.11.1. Kvadrupólový analyzátor

Kvadrupólový analyzátor patří mezi nejpoužívanější hmotnostní analyzátoři v ICP-MS přístrojích. Vyniká svou jednoduchostí, všestranností, nízkými náklady a rychlostí skenování. Drobnou nevýhodou je nižší rozlišovací schopnost v rozmezí 300-400, která je ale pro prvkovou analýzu naprosto dostačující. Kvadrupólový analyzátor představili Paul a Steinwedel v roce 1953. Skládá se ze čtyř hyperbolických nebo kruhových tyčí/elektrod (viz Obr. 9). Na elektrody se vkládají dvě složky napětí vysokofrekvenční a stejnosměrné. Všechny 4 elektrody jsou uspořádány do kruhového tvaru a na protější tyče/elektrody se vkládá napětí stejné polarity. Nastavením vhodné kombinace obou napětí lze zvolit ionty s konkrétním poměrem  $m/z$ , které kvadrupólovým analyzátořem projdou a dopadnou na detektor. Ostatní ionty budou ve vzniklém elektrickém poli nestabilní a po vybití na tyčích kvadrupólu jsou odčerpány vakuovým systémem pryč mimo analyzátor. Tímto způsobem lze postupně proměřit celé spektrum iontů, resp. poměrů  $m/z$ , aniž by došlo k zahlcení detektoru. Kvadrupólový analyzátor se využívá pro elementární a izotopové analýzy v anorganické hmotnostní spektrometrii a je vhodný i pro nespočet aplikací v organické hmotnostní spektrometrii, zejména v uspořádání trojitého kvadrupólu. [1-5]



Obr. 9 Kvadrupólový hmotnostní analyzátor [5]

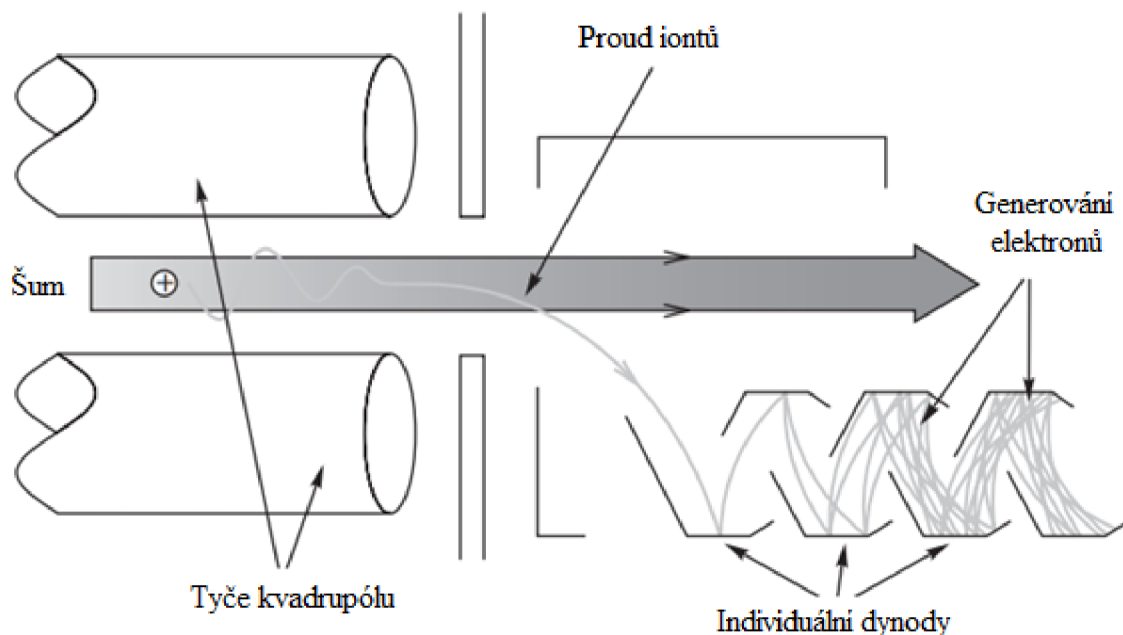


## 2.4.12. Detektor

Finálním krokem ICP-MS analýzy je detekce signálu separovaných iontů, kterou zajišťuje detektor. Funkcí detektoru je detekovat jednotlivé ionty ( $m/z$ ), které opouští hmotnostní analyzátor. Detektor zaznamenává intenzity signálů pro jednotlivé ionty a vytváří hmotnostní spektrum vyjadřující závislost intenzity na poměru  $m/z$ . V hmotnostním spektru je kvalitativním údajem hodnota poměru  $m/z$  a kvantitativním údajem jsou intenzity jednotlivých píků, které přímo odpovídají koncentraci prvku ve vzorku. Výsledné spektrum můžeme kvalitativně vyhodnotit při porovnání se spektrem naměřených standardů. Jako základní detektory se používají Faraday Cup a elektronový násobič s oddělenými dynodami. [1-5]

### 2.4.12.1. Elektronový násobič s oddělenými dynodami

Detektor se skládá z oddělených dynod a je umístěn mimo osu dráhy iontů vystupujících z kvadrupólu. Důsledkem vychýlení z osy je snížení šumu potlačením dopadu fotonů a neutrálních částic z iontového zdroje. Principem detektoru je uvolnění sekundárních elektronů po dopadu iontů na dynody a následné znásobení uvolněných elektronů opakovanými srážkami s oddělenými dynodami (viz Obr. 10). Výsledkem je diskrétní puls, který obsahuje miliony elektronů a je vyhodnocen v počítači. Moderní ICP-MS spektrometry jsou vybaveny dvoustupňovými elektronovými násobiči s oddělenými dynodami, které jsou schopny detekce signálu dvěma módy, a to analogovým (detekce na prostřední dynodě) a pulzním (využití všech dynod detektoru). Signál je zaznamenán v analogovém módu, pokud počet iontů dopadajících na detektor překoná určitou prahovou hodnotu. V opačném případě je nutné signál dále zesílit pomocí zbývajících dynod a signál je zpracován pulzním módem. Z tohoto vyplývá, že pulzní mód umožňuje detekci velmi nízkých koncentrací, oproti tomu analogový mód je vhodný pro stanovení vyšších koncentrací, u kterých by v případě vyššího zesílení došlo k saturaci detektoru. Velkou výhodou je využití, jak pulzního, tak analogového módu, což umožňuje měření v relativně velkém lineárním rozsahu od jednotek ppt až po tisíce ppm v jednom experimentu. [1-5]



Obr. 10 Schéma elektronového násobiče s oddělenými dynodami [4]

## 2.5. Interference

Interference vznikající v ICP-MS se běžně dělí na 2 základní typy: spektrální a nespektrální. Obecně interference vedou k nepřesným a falešně pozitivním výsledkům, nicméně vhodnou úpravou a optimalizací se dají minimalizovat, případně úplně odstranit. Následující kapitoly jsou zaměřeny na popis vzniku a eliminace obou typů interferencí. [4]

### 2.5.1. Spektrální interference (polyatomové)

Spektrální interference patří mezi nejkritičtější interference v ICP-MS a jsou obzvláště problematické pro hmotnostní analyzátoři s nízkou rozlišovací schopností. Nejběžněji se do nich řadí polyatomové neboli molekulární interference, které vznikají kombinací dvou a více atomů analytu a/nebo matrice. Vliv na jejich tvorbu má většinou použitý plazmový plyn, matrice analyzovaného vzorku, ostatní prvky ve vzorku či interakce s kyslíkem nebo dusíkem z okolního vzduchu. Například nejčastější jsou spektrální interference odvozené od plazmového plynu (argonu), vznikající interakcí argonových iontů s dalšími ionty. Nejvíce zastoupený izotop argonu ( $^{40}\text{Ar}^+$ ) má hodnotu  $m/z$  40 Da, který se

nejčastěji překrývá s jednonásobně nabitým iontem izotopu vápníku ( $^{40}\text{Ca}^+$ ), který má stejnou hodnotu  $m/z$ . Dalším příkladem může být interference  $^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$  (hodnota  $m/z$  56 Da), která odpovídá hmotnosti hlavního izotopu železa ( $^{56}\text{Fe}^+$ ). Běžnou interferencí zatěžující stanovení chromu ( $^{52}\text{Cr}^+$ ) v organické matrice je  $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$ , která vzniká kombinací iontů argonu ( $^{40}\text{Ar}^+$ ) s uhlíkem ( $^{12}\text{C}^+$ ). V neposledním případě může dojít k tvorbě spektrálních interferencí mezi ionty rozpouštědel a matricovými ionty. Vhodným příkladem může být slaná voda, která má velký obsah sodíku ( $^{23}\text{Na}^+$ ) a dochází k tvorbě interference  $^{40}\text{Ar}^{23}\text{Na}^+$ . Tato interference se překrývá s nejrozšířenějším izotopem mědi ( $^{63}\text{Cu}^+$ ) s hodnotou  $m/z$  63 Da, proto stanovení izotopu mědi ( $^{63}\text{Cu}^+$ ) pomocí ICP-MS ve slané vodě, bez jakékoliv optimalizace, není vhodné [4].

### 2.5.1.1. Hydridy, oxidy, hydroxidy

Další typ spektrálních interferencí vzniká reakcí prvků ve vzorku s  $^1\text{H}^+$ ,  $^{16}\text{O}^+$  nebo  $^{16}\text{OH}^+$  (např. z vody nebo ze vzduchu) za tvorby hydridů ( $+^1\text{H}^+$ ), oxidů ( $+^{16}\text{O}^+$ ) a hydroxidů ( $+^{16}\text{O}^1\text{H}^+$ ). Tyto interference zvyšují poměr  $m/z$  jednotlivých prvků právě o 1, 16 a 17. Typicky vznikají v chlazených částech plazma před oblastí spojení (interface) a zapříčiňují vznik spektrálních překryvů s ostatními prvky. [4]

### 2.5.1.2. Dvojitě nabitě částice

K dalšímu typu spektrálních interferencí se dále řadí dvojitě nabitě ionty. Dvojitě nabitě ionty vznikají, když místo jednotně nabitého iontu vznikne dvojitě nabitý iont s poloviční hodnotou  $m/z$ . Stejně jako u oxidů, vznik těchto interferencí závisí na ionizačních podmínkách v plazmatu a dají se minimalizovat využitím např. prodloužené vnější trubice vedoucí do plazmatu nebo vložení kovového (platinového) disku umístěného mezi ICP a RF cívkou. [4]

### 2.5.1.3. Izobarické interference

Posledním příkladem spektrálních interferencí jsou tzv. izobarické interference. Vznikají produkcí různých izotopů dalších prvků ve vzorku, které mají stejnou hodnotu  $m/z$  jako analyt. Příkladem může být stanovení vanadu (V) v přítomnosti titanu (Ti) a chromu

(Cr). Vanad má dva základní izotopy s  $m/z$  50 a 51 Da. Pokud se v matici vyskytují chloridy, dochází k tvorbě interference  $^{16}\text{O}^{35}\text{Cl}^+$  o hodnotě  $m/z$  51 Da, proto lze použít pouze izotop  $^{50}\text{V}$ . Tento izotop má ale pouze 0,25 % výskyt a také se překrývá s izotopy  $^{50}\text{Cr}$  (0,04 %) a  $^{50}\text{Ti}$  (0,05 %). Z tohoto důvodu je toto stanovení velmi obtížné, pokud se nevyužije matematických korekčních rovnic. [4]

#### **2.5.1.4. Metody eliminace spektrálních interferencí**

V dnešní době jsou interference v ICP-MS velmi probádanou problematikou, a proto je řada metod/optimalizací, kterými je lze minimalizovat či odstranit. Pro odstranění spektrálních interferencí se dnes využívají automatické separátory matrice na principu kapalinové chromatografie. Další metodou jsou matematické korekční rovnice, které jsou vhodné pro odstranění především izobarických interferencí. Korekce se provádí ze znalosti poměru relativního zastoupení interferujících částic a analytu na hodnotě  $m/z$  a intenzity interferujícího prvku na hodnotě  $m/z$ , která není zatížena interferencí (například stanovení  $^{114}\text{Cd}$  v přítomnosti cínu s izotopy  $^{114}\text{Sn}$  (0,65 %) a  $^{118}\text{Sn}$  (24,23 %)). Pokud je intenzita interferencí výrazně vyšší než intenzita analytu, lze využít metody chladnějšího plazmatu, které výrazně omezuje tvorbu interferencí s argonem a umožňuje stanovení prvků s jinak velmi vysokými detekčními limity. Relativně novější metodou jsou kolizní/reakční cely (viz kapitola č. 2.4.10.) a také hmotnostní analyzátoři s vysokým rozlišením, kterými lze spektrální interference odlišit podle hodnoty  $m/z$ . Nejnovější metodou je použití trojitého kvadrupólu, kdy první kvadrupól separuje ionty s konkrétní hodnotou  $m/z$ , druhý plní funkci kolizní/reakční cely, kde dochází k tvorbě specifických fragmentů či aduktů a třetí separuje/vybírá konkrétní hodnoty  $m/z$  odpovídající fragmentům/aduktům analyzovaného izotopu. [4]

#### **2.5.2. Nespektrální interference (matricové)**

Matricové interference způsobují odchylky v signálu, které vznikají vlivem matrice samotné. Obecně se jedná o interference způsobené rozdíly ve složení kalibračních standardů a vzorku. Důsledky jsou změny ve transportu vzorku do zmlžovače, účinnosti zmlžování a také rozdíly v ionizaci v ICP. Dále může docházet k tvorbě tzv. spaced-charge-induced interferencí, které vznikají při transmissi iontů skrze iontovou optiku,

kde dochází k rozostření iontového svazku. Ionty z těžkých matic dominují proudu iontů a vytlačují z něj lehčí ionty. To vede k snížení citlivosti a nejmarkantnější to je při stanovení iontů s nižší hodnotou  $m/z$  v přítomnosti těžkých matic. To lze kompenzovat zavedením napětí na jednotlivé optické součástky, které proud iontů promíchají. Obecně lze tyto interference kompenzovat přidáním interního standardu, který kompenzuje nespektrální interference a je jeden z kontrolních prvků analýzy. Jako interní standard se nejčastěji využívají izotopy  $^9\text{Be}$ ,  $^{45}\text{Sc}$ ,  $^{59}\text{Co}$ ,  $^{74}\text{Ge}$ ,  $^{89}\text{Y}$ ,  $^{103}\text{Rh}$ ,  $^{115}\text{In}$ ,  $^{169}\text{Tm}$ ,  $^{175}\text{Lu}$ ,  $^{187}\text{Re}$ , and  $^{232}\text{Th}$ , které musí splňovat následující podmínky:

- Nejsou přítomny ve vzorku, mají podobnou hodnotu  $m/z$
- Neinterferují spektrálně s analytem nebo maticí a jejich hmotnosti se nepřekrývají s analytem
- Mají podobný ionizační potenciál jako analyt [4]

## 2.6. Analýza organických sloučenin pomocí ICP-MS

Přímá analýza organických látek pomocí metody ICP-MS je dosti komplexní a vyžaduje provést změny v instrumentaci. Organické látky mají řadu fyzikálních vlastností (např. viskozita, hustota, povrchové napětí a těkavost), které mohou narušovat a komplikovat zavádění vzorku přes zmlžovač, tvorbu aerosolu či samotnou ionizaci v plazmovém výboji (viz kapitola č. 2.6.2.). Z tohoto důvodu je u organických látek velmi důležitá předúprava vzorků. Příkladem těchto metod je spalování, uzavřený/otevřený systém pro rozklad anorganickou kyselinou, mikrovlnný rozklad, extrakce v systému kapalina-kapalina (LLE) atd. Nicméně některé z těchto metod mohou být časově náročné a hrozí u nich větší riziko kontaminace vzorku. Proto je často preferováno jednoduché zředění, které je rychlé a snadno automatizovatelné. Kritickým krokem zředění je volba samotného rozpouštědla. Často používanými organickými rozpouštědly jsou xylen, toluen nebo alkoholy jako je např. ethanol či methanol. Zároveň lze analyzovat pouze omezený počet prvků, kvůli omezené dostupnosti komerčních standardů připravených v olejové matici pro konkrétní prvky. Dalším způsobem, jakým lze eliminovat již zmíněné problémy, může být optimalizace metody. Vhodným příkladem je zavedení chlazené mlžné komory, vnášení kyslíku do plazmatu (viz kapitola č. 2.6.4.) či systémy, které pracují s menším množstvím vzorků. [12, 13]

### 2.6.1. Zavádění organických látek do ICP-MS

Obecně zavádění plynných či kapalných organických látek do ICP zapříčiní zvýšení pozadí hmotnostního spektra, a to hlavně pod hodnotu  $m/z$  53, protože vznikají polyatomové interference s uhlíkem jako například  $CN^+$ ,  $C_2^+$ ,  $CO_2^+$ ,  $CO^+$ ,  $ArC^+$ , atd. Tyto interference mají výrazný vliv na prvky s vysokou ionizační energií a mohou se projevit zvýšením/snížením signálu nebo se nemusí projevit vůbec v závislosti na pracovních podmínkách. Zvýšení signálu je vždy pozorováno u prvků Sb, Te, Au, Se, As, Hg, I and P, vlivem reakcí přenosu náboje v plazmatu. Důsledkem je změna v intenzitě/zastoupení iontů příslušných izotopů vedoucích k neočekávanému zvýšení signálu (vyšší výtěžnost analytů u vzorků v případě, kdy je kalibrace připravena bez přítomnosti organické matrice). Podobný efekt by se očekával u prvků B, Os, Pt, Ir, Cd, Be and S, avšak bylo experimentálně dokázáno, že tomu tak není. [12, 13, 24]

Naopak pozitivní vlastností je, že přidáním malého množství organických látek do ICP, za vhodných podmínek, dokáže efektivně potlačit některé polyatomické interference založené na kombinaci Ar a Cl s prvky matrice, dále také vznik oxidových iontů typu  $MO^+$ , dvojitě nabitých iontů a monoatomových izobarických iontů. [12, 13]

### 2.6.2. Vliv organické matrice v ICP-MS

Analýza pomocí technik ICP se skládá ze tří základních kroků: tvorba aerosolu, transport aerosolu, atomizace/excitace a ionizace v plazmatu. Všechny tyto kroky vyžadují vhodné zavádění vzorků a dobře optimalizované operační podmínky. Získaný výsledný signál primárně záleží na parametrech aerosolu.[23]

#### 2.6.2.1. Tvorba aerosolu

Z kapalného vzorku se nejčastěji pomocí pneumatického zmlžovače tvoří primární, polydisperzní aerosol. Aerosol v této fázi je polydisperzní v rámci velikosti kapek a turbulence, kdy některé kapičky se pohybují rychlostí až 80 m/s. Vlastnosti aerosolu závisí především na povrchovém napětí, viskozitě a těkavosti (tenzi par). Snížením povrchového napětí se sníží energie potřebná k disociaci vzorku a tím se podpoří tvorba jemného aerosolu. Stejný efekt má snížení viskozity, které podporuje nestabilitu povrchu kapaliny.

A v neposlední řadě těkavost, která má vliv na již vzniklý aerosol. Důsledkem těchto vlastností dochází ke vzniku jemnějšího aerosolu v přítomnosti organických matic než u čistě vodných roztoků. [23]

### **2.6.2.2. Transport aerosolu**

Hlavní rolí transportu je efektivní přepravení a modifikace polydisperzního aerosolu do plazmatu s odstraněním přebytečného rozpouštědla. Zároveň se redukuje turbulence z tvorby primárního aerosolu a dosahuje se rovnováhy elektrického náboje. Cílem je získání tzv. terciálního aerosolu, který je jemnější a méně polydisperzní. Terciální aerosol se následně transportuje do plazmatu. Transport je především ovlivněn hustotou rozpouštědla a jeho těkavostí. Vyšší těkavost podporuje odpařování v systému zavádění vzorku a jako důsledek se zvyšuje množství zavedeného rozpouštědla i vzorku do plazmatu. Důsledkem nižší hustoty jsou hrubší aerosoly, zavádění většího množství rozpouštědla do plazmatu a zvýšená účinnost transportu. [23]

### **2.6.2.3. Atomizace/excitace a ionizace**

Těkavé analyty jsou přeměněny na volné atomy, které se následně excitují a ionizují. Tyto procesy jsou převážně ovlivněny těkavostí a disociační energií. Vyšší těkavost vyvolává turbulence v plazmatu, kvůli zvýšenému množství rozpouštědla. Vyšší disociační energie zvyšuje energii plazma potřebnou k celkové disociaci matrice. Tyto důsledky mohou vyvolávat obtíže při iontové extrakci a generovat spektrální a nespektrální interference (viz kapitola č. 2.5.), případně může dojít k nestabilitě plazmatu až k jeho "zhasnutí". Iontovou extrakci dále ovlivňuje i složení matrice samotné a může docházet k usazování uhlíku v dávkovači, kónusech i optice. [23]

### **2.6.3. HMI mód**

Důležitou roli při analýze organických látek hraje HMI mód. Tento mód umožňuje analýzu organických látek, které by bez optimalizace byly složitě stanovitelné či nestanovitelné. Samotné ICP-MS zvládne stanovit vzorky do 15 % obsahu organických látek, kvůli nestálosti plazmového výboje. Proto je nutné provést naředění vzorků, a to buď

manuální mimo přístroj nebo právě ředění pomocí HMI módu v plynné fázi. Při použití tohoto módu dochází k ředění vzorku ředícím plynem těsně před vnesením vzorku do plazmatu. Tím se omezí možnost kontaminace během ředění, zanášení kónusů, plazmový výboj zůstane stabilní a nemůže dojít k jeho případnému “zhasnutí”.

#### **2.6.4. Vnášení kyslíku do plazmatu**

Novou a důležitou optimalizací metody při analýze organických látek je vnášení kyslíku do plazmatu. Běžně se zavádí jako nosný plyn samotný argon. Avšak přidání směsi argonu a kyslíku v poměru 8:2 může mít pozitivní efekt při stanovení organických látek. Zavedením této směsi se zvýší teplota plazmového výboje, podpoří se tvorba oxidových iontů, tím se omezí zanášení kónusů sazemi a podobně jako u HMI módu není ohrožena stabilita plazmatu. K vnášení kyslíku do plazmatu je ale nezbytné použít speciální součástky ICP-MS, a to systému vnášení vzorku do plazmatu (speciální hadičky pro zavádění organických rozpouštědel), plazmovou hlavici s injektorem 1,5 mm a všechny části rozhraní. Důležitá je výměna kovového držáku iontové optiky za mosazný, který lépe odvádí teplotu pro chlazení kónusů, a také výměna niklových kónusů za platinové.

#### **2.7. Prvková analýza olejů**

Prvková analýza je jedním ze základních procesů při kontrole kvality potravinářských olejů. Lze pomocí ní kontrolovat, zda nedošlo ke kontaminaci výchozích surovin při jejím růstu na poli (kontaminace půdy, hnojení, sklizeň apod.) či během výrobních procesů olejů. Při jejich analýze je nezbytná předúprava vhodným způsobem. Mezi preferované rozklady se řadí mikrovlnný rozklad, mikrovlnný rozklad s odpařením přebytečné kyseliny a rozklad asistovaný ultrazvukem. Jen pár metod, je vhodných pro víceprvkovou analýzu olejů a mezi tyto metody patří ICP-MS a ICP-OES. Tyto metody se využívají kvůli jejich skvělé citlivosti, rychlosti a velmi nízkým mezím detekce (viz kapitola č. 2.7.1.).



## 2.7.1. Rešerše

Tab. 4 Rešerše – práce zabývající se obdobnou tematikou

Téma práce	Autor	Analyt	Matrice	Analytická metoda	Anotace	Ref.
Porovnání přípravných metod pro víceprvkovou analýzu pomocí ICP-MS (2019)	Damak F. a spol.	Li, B, Na, Mg, Al, Si, K, Ca, Ti, V, Cr, Fe, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Fe, As, Se, Rb, Sr, Zr, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Cs, Ba, W, Pb	Olivový olej	ICP-MS	<p>Porovnání přípravných metod pro prvkovou analýzu v olivových olejích pomocí ICP-MS. Testovány byly mikrovlnný rozklad, kombinace mikrovlnného rozkladu s odpařením přebytečné kyseliny a rozklad asistovaný ultrazvukem. Meze detekce byly v rozsahu 0.3–160 µg/kg (Na, Mg, Fe, Zn, V, Mn, As, Rb, Sr, Ba, Pb), 0.012–190 µg/kg (Na, Mg, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Rb, Sr, Mo, Pb) a 0.00061–1.5 µg/kg (Na, Mg, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Rb, Sr, Mo, Ba, Pb), zatímco preciznost byla v rozsahu 5–21 %, 5.4–99 % a 5.1–40 % pro mikrovlnný rozklad, kombinovaný rozklad a rozklad asistovaný ultrazvukem v daném pořadí. Pravdivost byla v intervalu 63 %–136 % pro všechny analyzované prvky.</p> <p>Rozklad asistovaný ultrazvukem byl vyhodnocen jako nejvhodnější přípravná metoda pro analýzu olivových olejů pomocí ICP-MS, díky své jednoduchosti a snadnému použití.</p>	7
Víceprvková analýza olejů pomocí ICP-OES a ICP-MS s mikrovlnným rozkladem	Grebnev a-Balyuk a spol.	Al, As, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Dy, Fe, Ga, Ge, Gd, Eu, Er, Hf, Ho, In, K, La, Li, Lu, Mg, Mn, Mo, Na, Nb, Nd, Ni, P, Pr, Rb, Sc, Se, Si, Sm, Sn, Sr, Ta, Tb, Th, Ti, Tl, Tm, U, V, W, Y, Yb, Zn, Zr	Lehké a supervi-skózní oleje	ICP-MS, ICP-OES	<p>Porovnání dvou metod ICP-MS a ICP-OES pro prvkovou analýzu olejů s mikrovlnným rozkladem. Při navážce do 1000 mg se zkoumal efekt reziduální kyselosti a uhlíku na tvorbu analytického signálu u ICP-OES a ICP-MS. Výsledkem bylo, že ICP-AES dokáže určit 20 prvků na úrovni 0,01-100 µg/g a ICP-MS dokáže stanovit za daných podmínek 42 prvků na úrovni 0,01-100 ng/g.</p>	8

Tab. 5 Rešerše – práce zabývající se obdobnou tematikou

Téma práce	Autor	Analyt	Matrice	Analytická metoda	Anotace	Ref.
Efekt geografické polohy na oxidativní stabilitu a elementární analýzu tuniského oleje	Wali Ahmed a spol.	B, Na, P, Ca, Li, Mg, Fe, Cu, As, K	Extra-panenský olivový olej	ICP-MS	Bylo stanoveno 18 vzorků extra panenských olivových olejů z různých regionů Tuniska. Vzorky byly rozloženy pomocí mikrovlnného rozkladu s přidavkem 10 ml vodného roztoku obsahujícího 1 % kyseliny dusičné, 6,7 % peroxidu vodíku a 0,2 % HCl. Následně byly analyzovány pomocí ICP-MS. Naměřená množství stopových prvků byla nižší než maximální hodnoty určené společnostmi pro kontrolu kvality FAO a WHO v US. Výsledky prokázaly značné odlišnosti v olejích mezi jednotlivými regiony, což poukazovalo na vliv polohy a odlišných podmínek. V této studii stanovené kovy neprokázaly negativní vliv na oxidativní stabilitu olejů či lidské zdraví.	9
Stopová analýza prvků v tuniském a evropském extra-panenském oleji pomocí ICP-MS	Nasr Emna G. a spol	V, Cr, Co, Ni, Ba, Rb, Sr, Cd, Pb, As, Cu, Cr, Fe, Mn, Sr, Zn, Mg	Extra-panenský olivový olej	ICP-MS	Cílem bylo porovnat množství stopových prvků ve vzorcích extra-panenských olivových olejů z Tuniska, jižní Francie a Španělska pomocí ICP-MS. Byla stanovena koncentrace 17 stopových prvků v 42 vzorcích olejů. Největší rozdíly v koncentracích byly stanoveny u prvků Cu, Cr, Fe, Mn, Sr, V a Zn. Tato studie prokázala možnost použití profilů stopových prvků pro geografické odlišení olivových olejů.	10

Tab. 6 Rešerše – práce zabývající se obdobnou tematikou

Téma práce	Autor	Analyt	Matrice	Analytická metoda	Anotace	Ref.
<p>Optimalizovaná metoda pro přípravu vzorků a elementární analýzu extra-panenských olejů pomocí ICP-MS</p>	<p>Astolfi, M.L. a spol</p>	<p>Ag, Al, As, B, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Dy, Fe, Ga, K, La, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Nb, Nd, Ni, P, Pb, Pr, Rb, Sb, Se, Si, Sn, Sr, Tb, Te, Ti, Tl, U, V, W, Zn, Zr</p>	<p>Extra-panenský olivový olej</p>	<p>ICP-MS</p>	<p>Cílem této studie bylo přijít na rychlou a jednoduchou metodu kvantitativního stanovení 45 prvků v extra-panenských olivových olejích pomocí ICP-MS. Rozklad ultrazvukem a rozklad na mokré cestě byly porovnány pomocí referenčního materiálu s různými reakčními činidly, objemy a extrakčními/rozkladnými časy. Nejvhodnějším postupem bylo použití 5 ml reakční směsi F [10 % (v/v) HNO<sub>3</sub> a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 2:1 (v/v)] s rozkladem ve vodní lázni (95 °C, 40 min). Tento postup byl validován ze stanovení výtěžnosti u tří odlišných olejů na dvou koncentračních hladinách (S1 a S2). Stanovené hodnoty pravdivosti byly v intervalu 90-120 % (S1) a 85-106 % (S2) pro všechny prvky. Dále byla stanovena preciznost RSD &lt;15 % (S1) a &lt;20 % (S2).</p>	<p>11</p>

Tab. 7 Rešerše – práce zabývající se obdobnou tematikou

Téma práce	Autor	Analyt	Matrice	Analytická metoda	Anotace	Ref.
Analýza stopových prvků v palmovém oleji pomocí metody ICP-MS	Li Shuping Agilent Technologies, Inc.	Mg, P, Ca, Fe, Cu, As, Hg, Pb	Palmový olej	ICP-MS, ICP-OES	Záměrem této studie bylo porovnání metod ICP-MS a ICP-OES. Byly analyzovány 4 vzorky palmového oleje pomocí ICP-MS a byly využity dvě metody předúpravy vzorků: rozpuštění xylenem a rozklad s kyselinou a peroxidem asistovaný mikrovlnným rozkladem. Jako rozkladná směs byla použita směs 6 ml HNO <sub>3</sub> a 2 ml H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> . Výsledky obou předúprav byly velmi podobné, proto oba způsoby byly vhodné. Závěrem bylo vyhodnocení, že ICP-MS je vhodnější pro stanovení nižších koncentrací, má širší dynamický rozsah a snadněji se kontrolují a omezují interference oproti ICP-OES.	25
Víceprvková analýza ropných, surových olejů pomocí Agilent 7900 ICP-MS	Jenny Nelson (USA), Ed McCurdy (UK), Agilent Technologies	Na, Mg, Al, Si, P, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, ni, Cu, Zn, As, Se, Mo, Ag, Cd, Sn, Ba, Pb	Ropné oleje	ICP-MS	Cílem této studie bylo stanovení řady prvků, které mají významný vliv na kvalitu a výkon finálních ropných produktů. Celkem bylo stanoveno 18 vzorků ropného oleje, které se rozpouštěly v <i>o</i> -xyleny. Závěrem bylo, že metoda je velmi dobře reprodukovatelná, schopná stanovit velmi nízké koncentrace s velkým koncentračním rozsahem, a tudíž je vhodná pro rutinní analýzy v tomto oboru. Zároveň došli k závěru, že ICP-MS je vhodnější než ICP-OES.	26

Tab. 8 Rešerše – práce zabývající se obdobnou tematikou

Téma práce	Autor	Analyt	Matrice	Analytická metoda	Anotace	Ref.
Víceprvková analýza rostlinných olejů a tuků pomocí ICP-OES s předchozím rozpuštěním	Santiago Martinez a spol.	Al, Ba, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Si, Ti, V	Rostlinné oleje a tuky	ICP-OES	Cílem této práce byla analýza 11 vzorků olejů s předchozím rozpuštěním v xylenu. Byl otestován nový způsob zavádění vzorků “high temperature torch integrated sample introduction system“ (hTISIS) se kterým byly zaváděny velmi malé objemy vzorku do nosného plynu, což snížilo spotřebu vzorků a množství toxického odpadu. Závěrem bylo prohlášeno, že tato metoda je rapidní, přesná a univerzální pro víceprvkové analýzy většiny organických látek.	27
Spektroskopická analýza kovů v palmovém oleji z různých kroků technologického procesu výroby	Aleksandra Szydłowska-Czeriak a spol.	Mg, Ca, Cu, Fe, Pb	Palmový olej	ICP-MS	Záměrem této práce byla analýza koncentrací 5 prvků v různých krocích procesu výroby pomocí ICP-MS s předchozím mikrovlnným rozkladem a výsledky byly porovnány s GFAAS. K určení kvality vzorků palmového oleje byly využity PCA (principal component analysis) a HCA (hierarchical cluster analysis). Výsledkem bylo, že nejméně kvalitní (nejvyšší obsah kovů) měl surový palmový olej, zároveň byla značná korelace mezi daty naměřenými ICP-MS a GFAAS a bylo objasněno ve kterých krocích procesu výroby byla největší kontaminace.	28

### 3. Experimentální část

#### 3.1. Chemikálie, přístroje a pomůcky

##### 3.1.1. Chemikálie

- Multiprvkový standard pro olejovou analýzu CONOSTAN<sup>®</sup> S-21, SCP SCIENCE, Kanada

Tab. 9 Seznam 21 prvků a jejich obsahu ve standardu CONOSTAN<sup>®</sup>

Prvek	Obsah [μg/g]	Prvek	Obsah [μg/g]
Ag	100,0 ± 0,31	Al	100,0 ± 0,40
B	100,0 ± 0,17	Ba	100,0 ± 0,10
Ca	100,0 ± 0,50	Cd	100,0 ± 0,43
Cr	100,0 ± 0,43	Cu	100,0 ± 0,19
Fe	100,0 ± 0,56	Mg	100,0 ± 0,24
Mn	100,0 ± 0,19	Mo	100,0 ± 0,11
Na	100,0 ± 0,29	Ni	100,0 ± 0,38
P	100,0 ± 0,43	Pb	100,0 ± 0,75
Si	100,0 ± 0,37	Sn	100,0 ± 0,55
Ti	100,0 ± 1,08	V	100,0 ± 0,35
Zn	100,0 ± 0,19		

- Jednotlivé standardy Certipur<sup>®</sup> (c = 1 000 mg/l), Merck s.r.o, Německo

Dělení prvků podle matrice:

- H<sub>2</sub>O: B
- 2 % HNO<sub>3</sub>: Mg, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Ag, Cd, Pb, Ba
- 5 % HNO<sub>3</sub>: Al, Hg
- 5 % HNO<sub>3</sub> + 1 % HF: Ti
- 10 % HCl: Sn
- 2 % NH<sub>4</sub>OH: Mo
- Standard La, CONOSTAN<sup>®</sup>, SCP SCIENCE, Kanada
- Základní olej pro ředění kalibračních roztoků, ASTASOL<sup>®</sup>-OS, Analytika<sup>®</sup>, Česká republika
- ICP rozpouštědlo PermiSolv<sup>™</sup>, CONOSTAN<sup>®</sup>, SCP SCIENCE, Kanada

- Peroxid vodíku (30 %) p.a.+, Analytika, spol. s.r.o., Česká republika
- Kyselina dusičná Analpure<sup>®</sup> (65 %), Analytika, spol. s.r.o., Česká republika
- Kyselina chloristá Analpure<sup>®</sup> (70-72 %), Analytika, spol. s.r.o., Česká republika
- Kyselina chlorovodíková Analpure<sup>®</sup> (37 %), Analytika, spol. s.r.o., Česká republika

### **3.1.2. Přístroje**

- ICP-MS Agilent 7700, Agilent Technologies, Japonsko
- Mikrovlnný rozkladný systém, Milestone MLS 1200 Mega, Milestone, Itálie
- Elektronické váhy, Mettler Toledo New Classic MS, Mettler Toledo, Švýcarsko
- Přístroj na přípravu ultračisté vody, Milli-Q<sup>®</sup> Reference systém, Millipore, Francie
- Vortex, IKA<sup>®</sup>MS3 basic, Německo

### **3.1.3. Pomůcky**

- Plastové a skleněné laboratorní nádoby
- Spotřební laboratorní materiály
- Držák s teflonovými kelímky pro mikrovlnné rozklady
- Automatické pipety (Finnpipette<sup>®</sup> F2, Thermo scientific) se špičkami
- Rukavice

Veškeré laboratorní nádoby bylo ponecháno ve 2 % HNO<sub>3</sub> přibližně 24 hodin, několikrát bylo umyto ultračistou vodou a vysušeno v sušárně. Po vysušení bylo uskladněno v plastových uzavíratelných sáčcích, aby se zabránilo kontaminaci.

### 3.2. Analyzované vzorky

Celkem bylo k analýze odebráno 11 vzorků olejů a každý byl od jiného výrobce. Jedná se o oleje tří základních druhů: slunečnicové, řepkové a extra-panenské olivové (viz Tab. 10). Všechny odebrané vzorky se řadí mezi potravinářské rostlinné oleje určené ke konzumaci.

Tab. 10 Seznam odebraných vzorků olejů

Číslo vzorku	Druh oleje	Název	Značka	Země výroby	Výrobce
1	Slunečnicový	Refined Sunflower Oil	K-Classic	Slovensko	Glencore Agriculture Czech, s.r.o.
2	Řepkový	Reines Rapsöl	K-Classic	Německo	Hamm
3	Slunečnicový	Olej na pečení slunečnicový	Oleana	Česká republika	Viterra Czech, s.r.o.
4	Řepkový olej	Řepkový olej	Penny	Maďarsko	Bunge zrt
5	Řepkový olej	Řepkový olej	My Price	Německo	Globus ČR, v.o.s.
6	Extra panenský olivový olej	Andorinha Portugal 1927	Andorinha	Portugalsko	Sovena Portugal, Consumer goods, S.A.
7	Extra panenský olivový olej	Chania Kritis PGI Extra virgin olive oil	Eridanous	Řecko	EL. RENIERIS & CO.
8	Řepkový olej	Řepkový olej	Gustona	Maďarsko	Glencore Agriculture Czech, s.r.o.
9	Extra panenský olivový olej	Extra panenský olivový olej	Franz Josef Exclusive	Španělsko	Gaston, s.r.o.
10	Řepkový olej	Řepkový olej, jednodruhový	Albert	Česká republika	Glencore Agriculture Czech, s.r.o.
11	Slunečnicový	Rostlinný jedlý olej, jednodruhový	Majola	Česká republika	Glencore Agriculture Czech, s.r.o.



### **3.3. Semikvantitativní stanovení kovů – výběr prvků pro kvantitativní ICP-MS analýzu**

Ze vzorků olejů č. 1-3 bylo automatickou pipetou zvlášť odpipetováno 270  $\mu$ l (přibližně 250 mg) do teflonových kelímků. Následně se do všech kelímků přidaly 3 ml koncentrované  $\text{HNO}_3$  a 1 ml  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Slepý pokus byl připraven stejným způsobem bez přítomnosti matrice. Kelímky se uzavřely teflonovými víčky, upevnily do držáku (rotoru) a vložily do mikrovlnného rozkladného systému na zvolený program č. 3 (viz Tab. S2 v příloze č. 1). Po zchladnutí, se rozložené vzorky převedly do 10 ml odměrné baňky, doplnily ultra-čistou vodou po rysku a promíchaly. Následně se přelily do plastové zkumavky vhodné pro analýzu a byly analyzovány. Z naměřených, přibližných obsahů kovů ve vzorcích byly vybrány prvky a byl určen rozsah kalibrace pro kvantitativní analýzu. Popis přípravy kalibračních standardů vzorků, vzorků pro validaci ICP-MS metody, experimentálních podmínek, výsledků validace a prvkové analýzy jsou shrnuty v kapitolách S.1. a S.2. uvedených v příloze č. 1.

### **3.4. Přístup k validaci ICP-MS metod**

Pro validaci obou ICP-MS metod byly použity následující parametry: linearita, mez detekce, mez stanovitelnosti, pravdivost (výťažnost), preciznost (opakovatelnost).

#### **3.4.1. Linearita**

Linearita byla testována na řadě kalibračních roztoků (viz kapitola Příprava kalibrační řady roztoků v příloze č. 1) pro roztokovou metodu a na řadě kalibračních roztoků (viz kapitola 3.5.2.) pro metodu vnášení kyslíku do plazmatu. Byl vyhodnocen korelační koeficient a lineární závislost kalibračních křivek.

Akceptační kritérium: Splnění lineární závislosti a korelační koeficient  $R \geq 0,99$

### 3.4.2. Mez detekce a mez stanovitelnosti

Stanovením 6 nezávisle připravených slepých pokusů byly naměřeny hodnoty koncentrací/obsahů pro určení mezí detekce a mezí stanovitelnosti. Naměřené hodnoty se přepočítaly z  $\mu\text{g/l}$  na  $\mu\text{g/g}$  podle rovnice č. 1 pro roztokovou metodu. Pro metodu vnášení kyslíku do plazmatu se naměřené hodnoty přepočítaly z  $\mu\text{g/kg}$  na  $\mu\text{g/g}$  podle rovnice č. 2. Přepočítané hodnoty se dosadily do rovnic 3, 4. Z vypočtených hodnot mezí detekce (LOD) a mezí stanovitelnosti (LOQ) bylo určeno, které prvky ve vzorcích nebyly detekovány, byly detekovány a kvantitativně stanoveny ve vzorcích olejů.

$$C_R = \frac{c_r \cdot V}{m} \quad (1)$$

V rovnici:  $c_r$  je naměřená koncentrace v  $\mu\text{g/l}$ ,  $V$  je objem odměrné baňky, do které se rozložený vzorek převáděl, v litrech,  $m$  je hmotnost navážky v gramech a  $C_R$  je koncentrace v  $\mu\text{g/g}$

$$C_K = \frac{c_k \cdot m_1}{m_2} \quad (2)$$

V rovnici:  $c_k$  je naměřený obsah v  $\mu\text{g/kg}$ ,  $m_1$  je celková hmotnost roztoku v kg,  $m_2$  je hmotnost navážky vzorku v gramech a  $C_K$  je obsah v  $\mu\text{g/g}$

$$LOD = \bar{x} + 3,3 \cdot s \quad (3)$$

$$LOQ = \bar{x} + 10 \cdot s \quad (4)$$

V rovnicích:  $\bar{x}$  je průměr naměřených hodnot,  $s$  je výběrový odhad směrodatné odchylky

### 3.4.3. Pravdivost (výtěžnost)

Výtěžnost byla ověřena stanovením 6 spikovaných vzorků na dvou koncentračních hladinách A, B pro roztokovou metodu a na 4 hladinách L (nízká), M (střední), H (vysoká), E (extrémní) pro metodu vnášení kyslíku do plazmatu. Naměřené hodnoty byly dosazeny do rovnice č. 5 a byla vypočtena výtěžnost v %. U naměřených hodnot nebylo potřeba odečítat pozadí, jelikož použitý základní olej k validaci byl CRM (certifikovaný referenční materiál), u kterého byl výrobcem deklarován velmi nízký obsah kovů.

$$\text{Výtěžnost (\%)} = \frac{c - c_p}{c_{ref}} \cdot 100 \quad (5)$$

V rovnici:  $c$  je koncentrace/obsah ( $\mu\text{g/g}$ ),  $c_p$  koncentrace pozadí ( $\mu\text{g/g}$ ),  $c_{ref}$  je referenční (teoretická) koncentrace ( $\mu\text{g/g}$ )

Akceptační kritérium: Výtěžnost 70 % - 150 %

(pozn. Akceptační kritéria byla zvolena s ohledem na kapitolu USP <232>.)

### 3.4.4. Preciznost (opakovatelnost)

Preciznost byla ověřena stanovením 6 vzorků základního oleje spikovaných na dvou koncentračních hladinách A, B pro roztokovou metodu a na 4 hladinách L, M, H, E pro metodu vnášení kyslíku do plazmatu. Naměřené hodnoty byly dosazeny do rovnice č. 6 a byla vypočtena relativní směrodatná odchylka (RSD) v %.

$$RSD(\%) = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \quad (6)$$

V rovnici:  $\bar{x}$  je průměr naměřených hodnot,  $s$  je výběrový odhad směrodatné odchylky

Akceptační kritérium:  $RSD \leq 20 \%$

## **3.5. Metoda vnášení kyslíku do plazmatu**

### **3.5.1. Příprava vzorků**

Do plastových zkumavek se pasturovými pipetami navážilo přibližně 1 g vzorku a následně přidalo přibližně 9 g rozpouštědla CONOSTAN Premisolv™ ICP Solvent, aby výsledné množství bylo přibližně 10 g. Ke každému vzorku se následně přidalo automatickou pipetou 100 µl (přibližně 75 mg) připraveného roztoku interního standardu La o koncentraci 5 mg/l (aby výsledný obsah byl 50 µg/kg), vzorky se promíchaly pomocí zátky ručně i na vortexu a přímo se analyzovaly. Všechny vzorky byly připraveny a analyzovány ve dvou nezávislých replikách (duplikátů).

### **3.5.2. Příprava kalibrační řady roztoků**

Pro přípravu kalibračních roztoků bylo nejdříve potřeba připravit výchozí roztok rozpouštědla s přizpůsobenou maticí (RPM), smícháním roztoků základního oleje a rozpouštědla CONOSTAN Premisolv™ ICP Solvent v poměru 1:9. Dále se pomocí pasturovy pipety navážilo dopočítané množství víceprvkového standardu (CONOSTAN® S-21) do plastové zkumavky a k tomu se přidalo vhodné množství RPM k přípravě kalibračního roztoku o hmotnosti přibližně 10 g. Dále se připravil slepý pokus (10 g RPM) a kontrolní vzorek (QC) na hladině 50 µg/kg, který se analyzoval každých 6 vzorků. Dále bylo přidáno 100 µl interního standardu (IS) La do všech vzorků, aby jeho výsledný obsah byl 50 µg/kg. Na závěr, z jednotlivých navážek, byly vypočteny obsahy při přípravě kalibrace. Teoretické hodnoty obsahů kalibračních roztoků jsou zaznamenány v tabulce č. 11.

Tab. 11 Teoretické hodnoty obsahů kalibračních roztoků

Kalibrační roztoky	Obsah [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]
Slepý pokus	0
1	0,1
2	0,5
3	1
4	5
5	10
6	50
7	100
8	250
9	500
QC	50

### 3.5.3. Příprava roztoků pro validaci metody

Vzorky pro validaci metody byly připraveny pro 4 hladiny podle tabulky č. 12. Pro přípravu jednotlivých vzorků byl použit obdobný postup jako v kapitole č. 3.5.1. a pro každou hladinu bylo připraveno 6 vzorků základního oleje.

Tab. 12 Hodnoty obsahů jednotlivých kovů pro validaci metody

Hladina	Obsah [ $\mu\text{g}/\text{g}$ ]
L (nízká)	0,01
M (střední)	0,05
H (vysoká)	0,1
E (extrémní)	2,6

## 4. Výsledky a diskuse

### 4.1. Výsledky validace metody

Metoda vnášení kyslíku do plazmatu byla validována pro validační parametry: linearita, mez detekce a stanovitelnosti, pravdivost a preciznost. Přehled validace a výsledek akceptačních kritérií je zobrazen v tabulce č. 13.

Tab. 13 Stručný přehled validace

Validační parametr	Akceptační kritérium	Výsledek
Linearita	Lineární závislost, $R \geq 0,99$	✓
Pravdivost (výtěžnost)	Výtěžnost 70–150 %	✓
Přesnost (opakovatelnost)	$RSD \leq 20 \%$	✓

Splněno ✓

#### 4.1.1. Linearita

Linearita byla testována na řadě kalibračních roztoků (viz kapitola č. 3.5.2.) pro různé obsahy. Vyhodnocení korelačních koeficientů je zaznamenáno v tabulce č. 14 a lineární závislosti kalibračních křivek jsou znázorněné níže na obrázcích č. 11-16 pro prvky B, Al, Ni, Cu, Sn, Pb s ohledem na pokrytí celého hmotnostního rozsahu a ostatní prvky na obrázcích S3 – S16 v příloze č. 1.

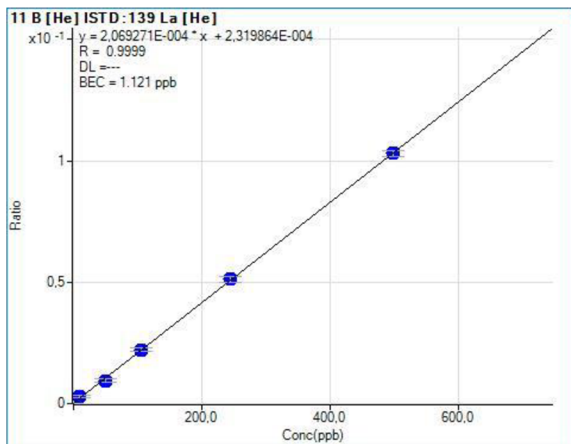
Tab. 14 Hodnoty korelačních koeficientů pro jednotlivé prvky

Prvek	Korelační koeficient R	Výsledek	Prvek	Korelační koeficient R	Výsledek
B	0,9999	✓	Fe	0,9996	✓
Na	0,9984	✓	Ni	0,9995	✓
Mg	0,9988	✓	Cu	0,9994	✓
Al	0,9994	✓	Zn	0,9994	✓
P	0,9986	✓	Mo	0,9998	✓
Ca	0,9988	✓	Ag	0,9997	✓
Ti	0,9997	✓	Cd	0,9999	✓
V	0,9998	✓	Sn	0,9997	✓

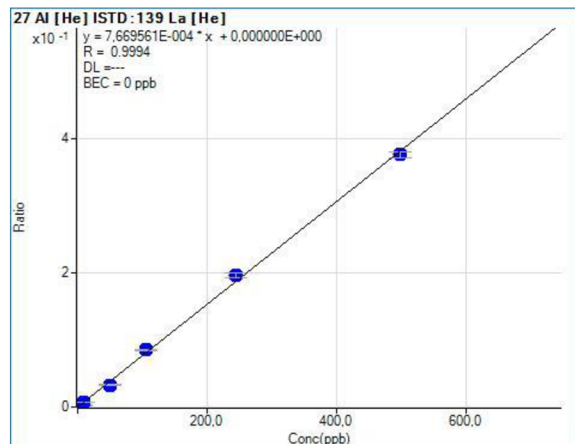
(Pokračování tabulky č. 14)

Cr	0,9996	✓	Ba	0,9997	✓
Mn	0,9996	✓	Pb	0,9999	✓

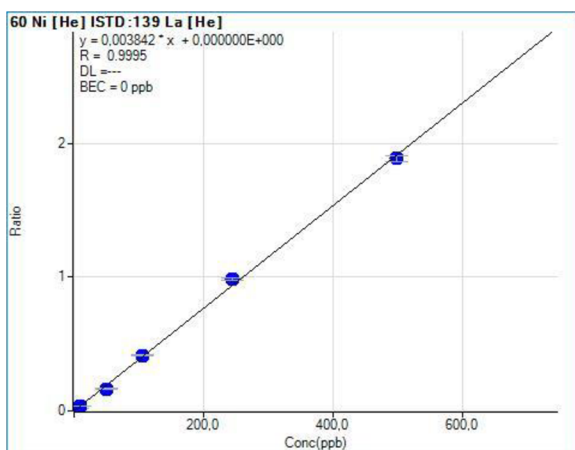
Splněno ✓



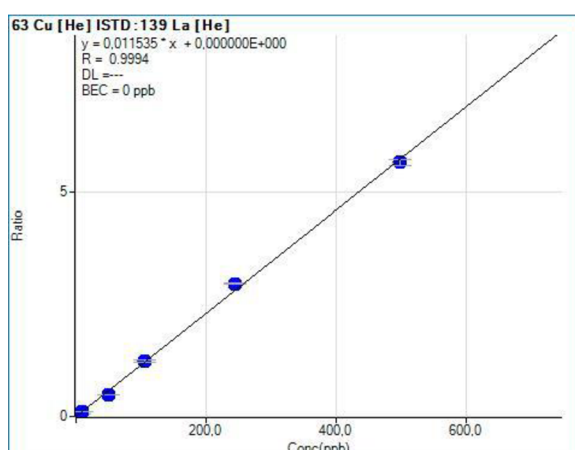
Obr. 12 Kalibrační křivka pro bór



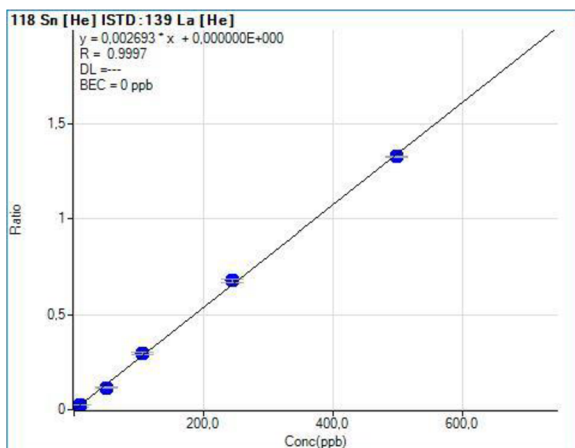
Obr. 11 Kalibrační křivka pro hliník



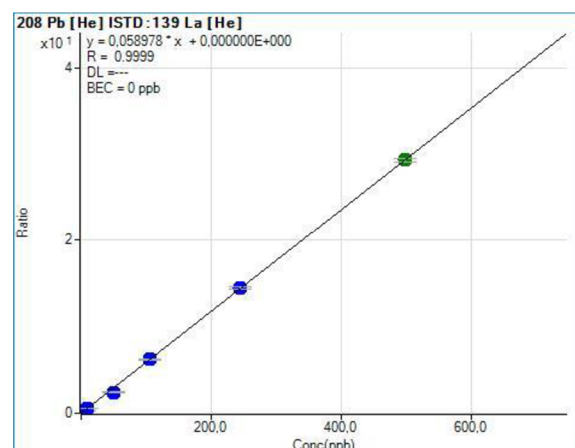
Obr. 14 Kalibrační křivka pro nikl



Obr. 13 Kalibrační křivka pro měď



Obr. 16 Kalibrační křivka pro cín



Obr. 15 Kalibrační křivka pro olovo

**Závěr:** Akceptační kritérium bylo splněno pro všechny prvky. Všechny kalibrační křivky byly lineární a korelační koeficienty byly v intervalu 0,9984-0,9999. Kalibrace byly provedeny v různých intervalech obsahů pro jednotlivé prvky (viz Tab. 15).

Tab. 15 Intervaly obsahů kalibrace pro jednotlivé prvky

Intervaly obsahů [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ]	Intervaly obsahů [ $\mu\text{g}/\text{g}$ ]	Prvky
50-500	0,5-5	Na, Mg, P, Ca
10-500	0,1-5	B
5-500	0,05-5	Zn
1-500	0,01-5	Al, Ti
0,5-500	0,005-5	Cr, Fe, Ni, Cu
0,1-500	0,001-5	V, Mn, Mo, Ag, Cd, Sn, Ba, Pb



#### 4.1.2. Mez detekce a mez stanovitelnosti

Stanovením 6 nezávisle připravených slepých pokusů pro prvky B, Na, Mg, Al, P, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Mo, Ag, Cd, Sn, Ba a Pb byly naměřeny hodnoty pro určení mezí detekce a stanovitelnosti. Vypočítané hodnoty LOD a LOQ v  $\mu\text{g/g}$  jsou uvedeny v tabulce č. 16.

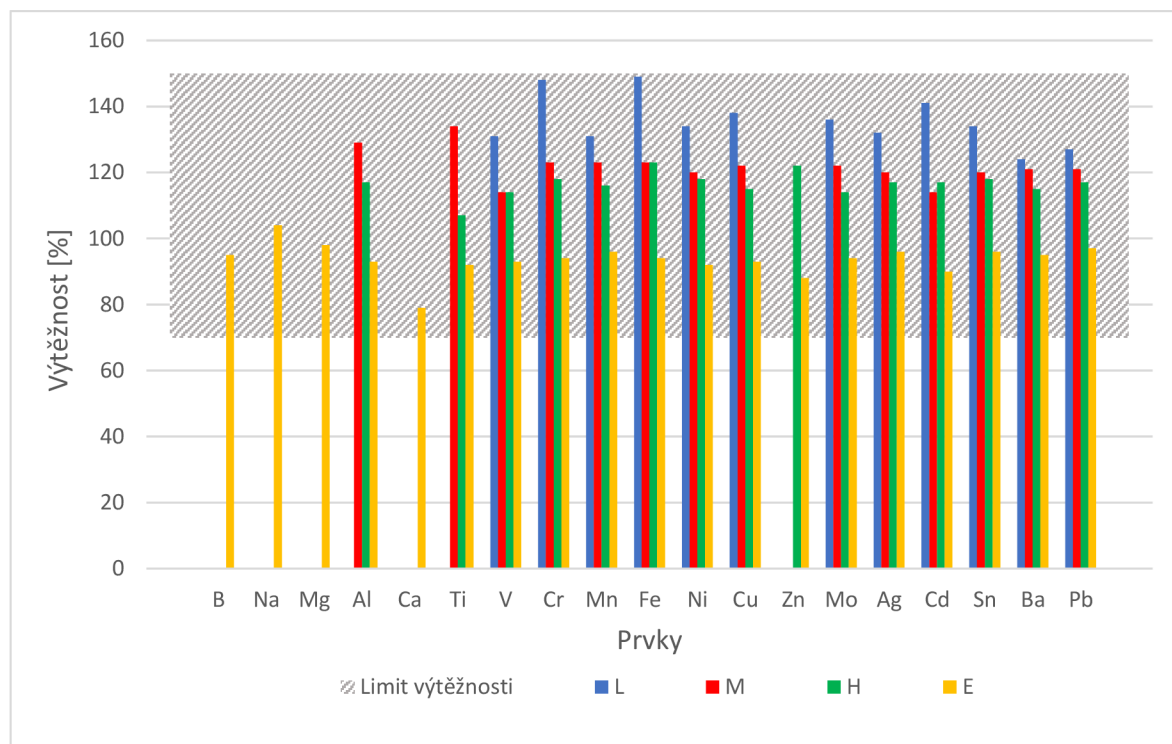
Tab. 16 Vypočítané hodnoty LOD a LOQ metodu vnášení kyslíku do plazmatu

Prvek	LOD [ $\mu\text{g/g}$ ]	LOQ [ $\mu\text{g/g}$ ]	Prvek	LOD [ $\mu\text{g/g}$ ]	LOQ [ $\mu\text{g/g}$ ]
B	0,14	0,27	Fe	0,003	0,006
Na	0,58	0,84	Ni	0,003	0,006
Mg	0,20	0,28	Cu	0,003	0,007
Al	0,008	0,017	Zn	0,007	0,013
P	3,5	7,6	Mo	0,0004	0,0011
Ca	0,12	0,34	Ag	0,0004	0,0010
Ti	0,011	0,024	Cd	0,002	0,005
V	0,0004	0,0008	Sn	0,001	0,003
Cr	0,004	0,007	Ba	0,0004	0,0011
Mn	0,001	0,003	Pb	0,0002	0,0004

**Závěr:** Meze detekce (LOD) a meze stanovitelnosti (LOQ) byly dopočítány pro všechny stanovované prvky. Meze detekce (LOD) se pohybovaly v intervalu od 0,0002  $\mu\text{g/g}$  pro olovo až po 3,5  $\mu\text{g/g}$  pro fosfor. Meze stanovitelnosti (LOQ) se pohybovaly v intervalu od 0,0004  $\mu\text{g/g}$  pro olovo až po 7,6  $\mu\text{g/g}$  pro fosfor.

### 4.1.3. Pravdivost (výtěžnost)

Pravdivost byla ověřena stanovením 6 vzorků základního oleje spikovaných prvky B, Na, Mg, Al, P, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Mo, Ag, Cd, Sn, Ba a Pb na 4 hladinách L, M, H, E. Vypočítané hodnoty výtěžností na všech hladinách jsou zaznamenány v grafu na obrázku č. 17.

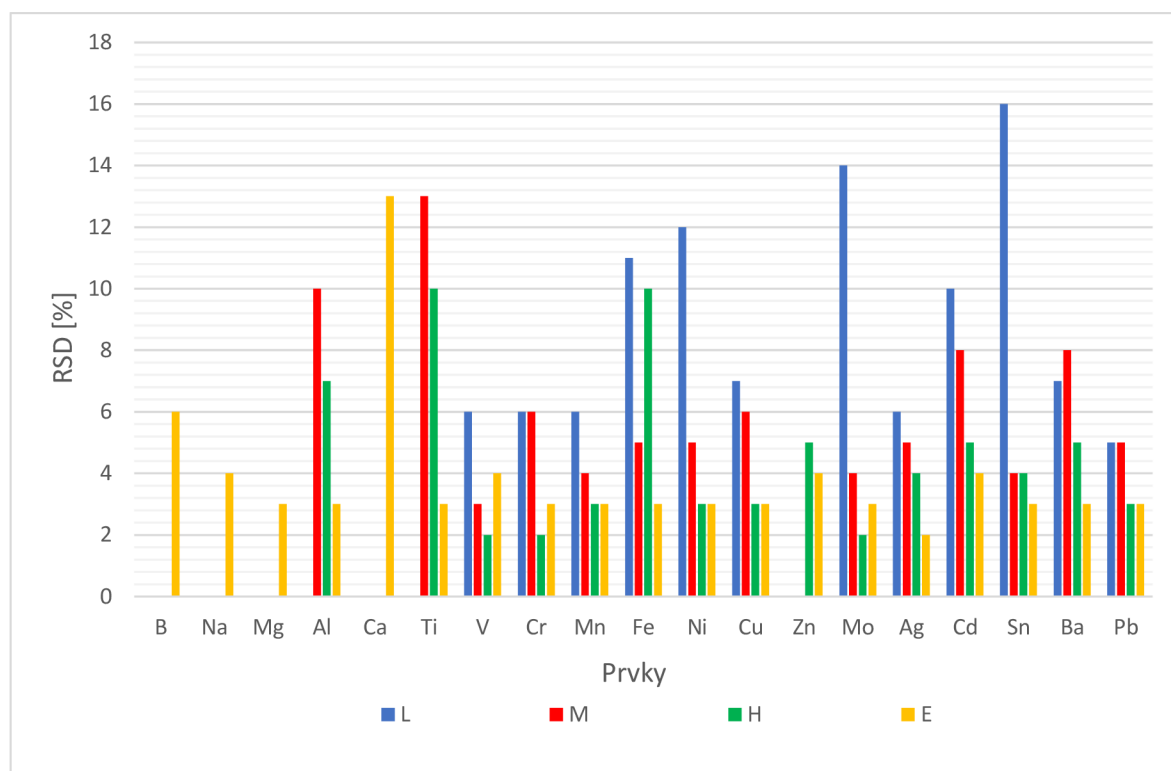


Obr. 17 Výtěžnosti jednotlivých prvků pro hladiny L (nízká), M (střední), H (vysoká), E (extrémní)

**Závěr:** Akceptační kritérium bylo splněno pro všechny prvky. Hladiny byly vybrány podle připravených kalibrací a dopočítaného LOQ. Pro bor, sodík, hořčík a vápník byla výtěžnost vyhodnocena pouze na hladině E. Pro hliník a titan byla výtěžnost vyhodnocena na hladinách M, H a E. Pro zinek se vyhodnotily hladiny H a E. Pro ostatní prvky byly vyhodnoceny všechny čtyři hladiny. Jediný fosfor nebyl vyhodnocen, jelikož nejvyšší hladina E byla nižší než dopočítané LOQ. Nejvyšší hodnoty výtěžnosti byly naměřeny pro hladinu L. Pro většinu prvků byly hodnoty výtěžnosti v intervalu 90–130 %.

#### 4.1.4. Preciznost (opakovatelnost)

Preciznost byla ověřena stanovením 6 vzorků základního oleje spikovaných prvky B, Na, Mg, Al, P, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Mo, Ag, Cd, Sn, Ba a Pb na 4 hladinách L, M, H, E. Vypočítané hodnoty relativní směrodatné odchylky jsou shrnuté v grafu na obrázku č. 18.



Obr. 18 Hodnoty RSD (%) jednotlivých prvků pro hladiny L, M, H, E

**Závěr:** Akceptační kritérium bylo splněno pro všechny prvky. Hodnoty RSD byly v intervalu 2-16 %. Nejvyšší hodnoty RSD byly stanoveny pro hladinu L. Jediný fosfor nebyl vyhodnocen, jelikož nejvyšší hladina E byla nižší než dopočítané LOQ.

#### 4.1.5. Výsledky analýzy olejů

Naměřené hodnoty duplikátů vzorků byly přepočítány z  $\mu\text{g}/\text{kg}$  na  $\mu\text{g}/\text{g}$  (viz rovnice č. 2), zprůměrovány a u hodnot nad LOQ byla dopočítána směrodatná odchylka. Jednotlivé hodnoty byly vyhodnoceny pomocí dopočítaných LOD a LOQ. Vyhodnocené výsledky byly zaznamenány v tabulce č. 17.

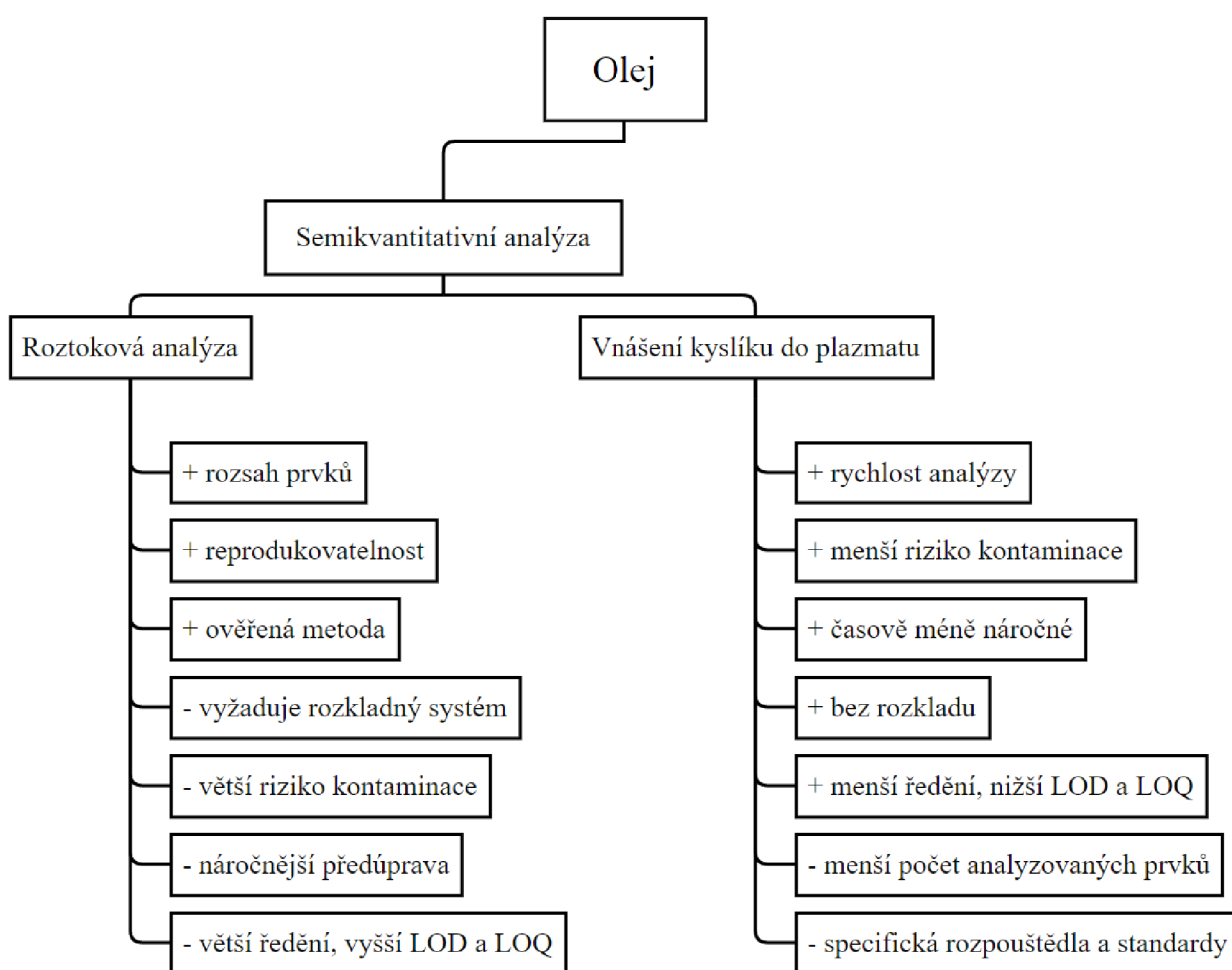
Tab. 17 Obsahy jednotlivých prvků v µg/g pro vzorky olejů

Prvky	Obsah ( $\bar{x} \pm s$ , µg/g), (pozn. < LOD – prvek nebyl detekován, < LOQ – prvek byl detekován, ale nebyl stanoven)										
	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	Vzorek 6	Vzorek 7	Vzorek 8	Vzorek 9	Vzorek 10	Vzorek 11
B	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Na	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Mg	< LOD	0,87 ± 0,02	< LOD	0,36 ± 0,14	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Al	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOD
P	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Ca	< LOD	4,73 ± 1,22	< LOD	2,07 ± 1,33	0,98 ± 0,52	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,40 ± 0,32	< LOD
Ti	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
V	0,0037 ± 0,0009	0,0016 ± 0,0003	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	0,0010 ± 0,0005	< LOQ
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Mn	0,004 ± 0,000	0,012 ± 0,001	< LOQ	0,008 ± 0,002	0,005 ± 0,001	< LOD	< LOD	< LOQ	0,007 ± 0,000	0,005 ± 0,001	< LOD
Fe	0,030 ± 0,015	0,042 ± 0,000	0,100 ± 0,009	0,040 ± 0,015	0,011 ± 0,001	< LOD	< LOD	< LOQ	0,092 ± 0,005	0,022 ± 0,001	< LOQ
Ni	0,011 ± 0,005	0,007 ± 0,003	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD
Cu	0,012 ± 0,004	0,008 ± 0,002	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOQ	< LOQ	< LOD
Zn	< LOD	0,049 ± 0,009	< LOD	0,019 ± 0,004	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,014 ± 0,015	< LOD
Mo	0,0027 ± 0,0003	0,0018 ± 0,0001	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD
Ag	0,0031 ± 0,0008	0,0013 ± 0,0004	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cd	< LOQ	0,007 ± 0,000	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD
Sn	< LOQ	0,007 ± 0,002	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Ba	0,0028 ± 0,0006	0,0087 ± 0,0004	< LOQ	0,0036 ± 0,0005	0,0033 ± 0,0016	< LOD	< LOQ	< LOQ	0,0238 ± 0,0173	0,0639 ± 0,0864	< LOD
Pb	0,0017 ± 0,0004	0,0017 ± 0,0002	0,0004 ± 0,0003	0,0007 ± 0,0002	< LOQ	< LOD	0,0004 ± 0,0003	< LOD	0,0007 ± 0,0001	< LOQ	< LOD

**Závěr:** Obsahy většiny stanovovaných prvků ve vzorcích byly nižší než meze detekce ICP-MS. Ve vzorku 2 se stanovilo nejvíce prvků hořčík, vápník, vanad, mangan, železo, nikl, měď, zinek, molybden, stříbro, kadmium, cín, baryum a olovo. Těžké kovy byly stanoveny ve vzorcích 1, 2, 3, 4, 5, 9, 10, ale žádný ze vzorků neobsahoval nadlimitní obsahy těžkých kovů (viz Tab. 2).

## 5. Srovnání metod

Obě metody byly úspěšně validovány, tudíž se prokázalo, že poskytují spolehlivé výsledky. Porovnáním obou metod byla pozorována korelace výsledků u většiny vzorků (kromě stanoveného hliníku roztokovou metodou). Nejhorší korelace výsledků byla zaznamenána u vzorku č. 5, ve kterém se pomocí roztokové metody stanovily koncentrace prvků Ca, Al, Fe, Cu, Pb, které nebyly potvrzeny metodou vnášení kyslíku do plazmatu. Přesto, že se metodou vnášení kyslíku do plazmatu analyzoval menší počet prvků kvůli málo dostupným standardům, byl touto metodou stanoven větší počet prvků díky nižším LOD a LOQ. Každá z metod má své výhody a nevýhody, které jsou popsány na obrázku č. 19.



Obr. 19 Schéma popisující experimentální část + výhody a nevýhody obou metod

Roztoková metoda je velmi spolehlivá, ověřená a v dnešní době se využívá rutinně v mnoha laboratořích zaměřených na stopovou analýzu. Vyniká možností stanovení většího počtu prvků, s ohledem na širší dostupnost vodných certifikovaných referenčních materiálů,

ve kterých jsou prvky stabilizované zředěnými kyselinami či bázemi. V tomto experimentu byly roztokovou metodou stanoveny navíc prvky Li, Be, K, Co, As, Se, Sb a Hg oproti metodě vnášení kyslíku do plazmatu. Mezi její největší nevýhody patří náročnější předúprava úplným rozkladem směsí kyselin, který vyžaduje pořízení mikrovlnného rozkladného systému. Ten je jednak finančně nákladný a zároveň při rozsáhlejší předúpravě vzorků hrozí vyšší riziko kontaminace. Další nevýhodou je nezbytnost většího ředění oproti metodě vnášení kyslíku do plazmatu a s tím souvisí i vyšší dosahované meze detekce a stanovitelnosti. Meze detekce a meze stanovitelnosti u roztokové metody byly vyšší u 16 z 18 společných, stanovovaných prvků. Vyšší až jeden řád pro prvky Na, Ti, V, Cr, Ni, až dva řády pro prvky B, Al, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn, Mo, Sn, Ba, Pb a pro Mg a Cd byly nižší než u metody vnášení kyslíku do plazmatu.

Metoda vnášení kyslíku do plazmatu vyniká svou jednoduchostí a menší časovou náročností, jelikož se jedná o pouhé ředění vhodným organickým rozpouštědlem, ve kterém může být již rozpuštěn interní standard. Díky méně rozsáhlé manipulaci je zároveň minimalizováno riziko kontaminace a není potřeba rozkladného systému. Ovšem finanční nároky na instrumentaci jsou velmi podobné, jelikož je nutné pořídit speciální součástky a chemikálie (platinové kónusy, mosazný držák iontové optiky, plazmová hlavice s užší střední trubicí, speciální hadičky, specifická rozpouštědla a standardy). Díky této metodě je možné vzorky méně ředit, tudíž se dostaneme na nižší obsahy zejména těžkých kovů i nižší hladiny pro validaci. Drobnou nevýhodou je horší dostupnost certifikovaných referenčních materiálů prvků připravených v olejových maticích, tudíž v současné době můžeme analyzovat menší rozsah prvků. Nicméně CRM těžkých kovů a biogenních prvků jsou již dostupné na několika hladinách od 10 µg/g do 10 000 µg/g.

## 6. Závěr

U roztokové ICP-MS metody byly první experimenty zaměřeny na optimalizaci mikrovlnného rozkladu, kdy byly testovány mikrovlnné programy a rozkladné směsi. Nejvhodnější se prokázal program č. 3 s rozkladnou směsí 3 ml HNO<sub>3</sub> a 1 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. S touto optimalizací postupu se provedlo semikvantitativní i kvantitativní stanovení vzorků roztokovou metodou.

Semikvantitativní stanovení bylo provedeno stanovením tří vzorků olejů č. 1-3 k určení rozsahu kalibrace a rozsahu prvků pro kvantitativní analýzu. U roztokové metody byly vybrány kalibrační rozsahy 0,5; 1; 5; 10; 50; 100; 250 µg/l pro skupiny prvků S1 a S3 a 0,05; 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 25 µg/l pro skupinu prvků S2. Ke kvantitativnímu stanovení bylo vybráno 26 prvků – Li, Be, B, Na, Mg, Al, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Mo, Cd, Sn, Sb, Ba, Hg a Pb. U metody vnášení kyslíku do plazmatu byly vybrány intervaly obsahů 50-500 µg/kg pro prvky Na, Mg, P, Ca, 10-500 µg/kg pro B, 5-500 µg/kg pro Zn, 1-500 µg/kg pro prvky Al a Ti, 0,5-500 µg/kg pro prvky Cr, Fe, Ni, Cu a 0,1-500 µg/kg pro prvky V, Mn, Mo, Ag, Cd, Sn, Ba a Pb. Pro kvantitativní stanovení bylo vybráno 20 prvků – B, Na, Mg, Al, P, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Mo, Ag, Cd, Sn, Ba a Pb. Křemík byl z kvantitativní analýzy vynechán, jelikož některé části ICP-MS (např. zmlžovač, mlžná komora, plazmová hlavice) byly z křemenného skla.

Obě ICP-MS metody byly validovány v rozsahu validačních parametrů: linearita, mez detekce, mez stanovitelnosti, preciznost a pravdivost. U validace roztokové metody byly všechny kalibrační křivky lineární a korelační koeficienty byly v intervalu 0,9974-1,0000. Pro ověření pravdivosti a preciznosti byly stanoveny výtěžnosti a hodnoty RSD jednotlivých prvků na dvou koncentračních hladinách A, B (0,1-20 µg/g). Hodnoty výtěžnosti byly v intervalu 83-142 % (pro většinu prvků byly v intervalu 80–110 %) a hodnoty RSD byly v intervalu 1–16 % s výjimkou draslíku (28 %). U validace metody vnášení kyslíku do plazmatu byly všechny kalibrační křivky lineární a korelační koeficienty byly v intervalu 0,9984-0,9999. Pro ověření pravdivosti a preciznosti byly stanoveny výtěžnosti a hodnoty RSD jednotlivých prvků na čtyřech hladinách L, M, H, E (0,01-2,6 µg/g). Hodnoty výtěžnosti byly v intervalu 79–149 % (pro většinu prvků byly v intervalu 90–130 %) a hodnoty RSD byly v intervalu 2–16 %. Validační parametry byly splněny pro všechny prvky s výjimkou vyšší hodnoty RSD u draslíku při stanovení roztokovou metodou.



Oběma metodami bylo stanoveno všech 11 vzorků olejů, s kvantitativním vyhodnocením pomocí kalibrační křivky. Získaná data byla vyhodnocena pomocí dopočítaných LOD a LOQ. Obě metody poskytly srovnatelné závěry o tom, že oleje buď kovy neobsahují nebo je obsahují ve velmi malých koncentracích. Většina prvků nebyla detekována, případně nebyla stanovena. Ve vzorcích č. 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 10 a 11 byly stanoveny některé z těžkých kovů (Fe, Ni, Cu, Ag, Pb, Zn a Cd), nicméně naměřené koncentrace byly velmi vzdáleny od povolených maximálních limitů pro těžké kovy. Ve většině vzorcích č. 2, 3, 4, 5, 8, 9, 10, 11 při stanovení roztokovou metodou byl stanoven hliník, který ovšem nebyl potvrzen metodou vnášení kyslíku do plazmatu. Proto je možné, že se vzorky kontaminovaly při předúpravě vzorků v podobě mikrovlnného rozkladu. Jediný vzorek, ve kterém nebyl stanoven žádný kov ani jednou metodou byl vzorek 6, Extra-panenský olivový olej značky Andorinha z Portugalska. Díky menšímu ředění u metody vnášení kyslíku do plazmatu byly dopočítány nižší meze detekce a stanovitelnosti, tím pádem byly detekovány a stanoveny i prvky na nižších hladinách (od 0,4 ng/g), které roztokovou metodou stanoveny a detekovány nebyly. Závěrem je potřeba konstatovat, že metoda vnášení kyslíku do plazmatu se prokázala jako spolehlivá a vhodná pro přímé stanovení potravinářských rostlinných olejů pomocí ICP-MS.

## 7. Seznam použitých zkratek

AAS	Atomová absorpční spektrometrie ( <i>Atomic absorption spectrometry</i> )
CRC	Kolizně reakční cela ( <i>Collision reaction cell</i> )
CRM	Certifikovaný referenční materiál ( <i>Certified reference material</i> )
DC	Stejnoseměrný proud ( <i>Direct current</i> )
DRC	Dynamická reakční cela ( <i>Dynamic reaction cell</i> )
FAO	Organizace pro výživu a zemědělství ( <i>Food and agriculture Organization of the United Nations</i> )
GC-MS	Plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií ( <i>Gas chromatography -mass spectrometry</i> )
HMI	Systém zavádění vyššího obsahu matrice ( <i>High Matrix Introduction</i> )
ICP	Indukčně vázané plazma ( <i>Inductively coupled plasma</i> )
ICP – MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ( <i>Inductively coupled plasma-mass spectrometry</i> )
ICP – OES	Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem ( <i>Inductively coupled plasma-optical emission spectrometry</i> )
KED	Eliminace interferencí na principu diskriminace kinetické energie ( <i>Kinetic energy discrimination</i> )
LLE	Extrakce kapalina-kapalina ( <i>Liquid-liquid extraction</i> )
ppm	Miliónina ( <i>Parts per milion</i> )
Psi	Libry na čtverečný palec ( <i>Pounds per square inch</i> )
QC	Vzorek kontroly kvality ( <i>Quality control sample</i> )
RF	Radiofrekvenční ( <i>Radiofrequency</i> )
RSD	Relativní směrodatná odchylka ( <i>Relative standard deviation</i> )
s	Výběrový odhad směrodatné odchylky ( <i>Sample standard deviation</i> )
s.r.o	Společnost s ručením omezeným ( <i>Self-regulatory organization</i> )
WHO	Světová zdravotnická organizace ( <i>World health organization</i> )

## 8. Seznam použité literatury

- [1] Simon M. Nelms, ICP Mass Spectrometry Handbook, Blackwell Publishing, New Jersey 2005
- [2] ICP-MS Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry – A primer, Agilent Technologies, USA 2005, Publication Number: 5989-3526EN
- [3] Johanna Sabine Becker, Inorganic Mass Spectrometry – Principles and Applications, Research Centre Jülich, Germany 2007
- [4] Robert Thomas, Practical Guide to ICP-MS: A Tutorial for Beginners, second ed., CRC Press, Taylor & Francis Group, New York 2008
- [5] John R. Dean, Practical Inductively Coupled Plasma Spectroscopy, Northumbria University, Newcastle, UK 2005
- [6] Erika Krakovská a Heinz - Martin Kuss, Rozklady v analytickej chémii – súčasný stav a trendy, VIENALA Košice, Slovenská republika, november 2001
- [7] Damak, F.; Asano, M.; Baba, K.; Ksibi, M.; Tamura, Kenji, Comparison of Sample Preparation Methods for Multielements Analysis of Olive Oil by ICP-MS, *Methods na Protoc.* 2, 72 (2019)
- [8] Grebneva-Balyuk, O.N.; I.V. Kubrakova; O.A. Tyutyunnik; S.Yu. Lapshin; D.V. Pryazhnikov, Multielement Analysis of Oil by ICP-AES and ICP-MS with Microwave-Assisted Sample Preparation, *Journal of Analytical Chemistry* 76, p306-314 (2021)
- [9] Wali, A.; Damak, F.; Kawada, K.; Isoda, H.; Tamura, K.; Ksibi M., The effects of geographic region and cultivar on oxidative stability and elemental analysis of Tunisian extra virgin olive oil, *European food research and technology* 247, p1401-1409 (2021)
- [10] Nasr, E.G.; Epova, E.N.; de Diego, A.; Souissi, R.; Hammami, M.; Abderrazak, H.; Donard, O.F.X., Trace Elements Analysis of Tunisian and European Extra Virgin Olive Oils by ICP-MS and Chemometrics for Geographical Discrimination, *Foods* 82, 11 (2022)
- [11] Astolfi, M.L.; Marconi, E.; Vitiello, G.; Massimi, L., An optimized method for sample preparation and elemental analysis of extra-virgin olive oil by inductively coupled plasma mass spectrometry, *Food chemistry* 130027, 2021
- [12] Martinez, S.; Sanchez, R.; Lefevre, J.; Todoli, L.J., Multielemental analysis of vegetable oils and fats by means of ICP-OES following a dilution and shot methodology, *Journal of analytical atomic spectrometry* 35, p1897-1909 (2020)
- [13] Liu, S.H.; Han, Z.T.; Kong, X.K.; Zhang, J.; Lv, Z.; Yuan, G.L., Organic matrix effects in inductively coupled plasma mass spectrometry: a tutorial review 57, p461-489 (2021)
- [14] [https://cs.wikipedia.org/wiki/T%C4%9B%C5%BEk%C3%A9\\_kovy](https://cs.wikipedia.org/wiki/T%C4%9B%C5%BEk%C3%A9_kovy), staženo 1. října 2022
- [15] <https://www.klasterniofficina.cz/blog/oleje-charakteristika>, staženo 10. října 2022
- [16] [https://cs.wikipedia.org/wiki/Vitam%C3%ADn\\_E](https://cs.wikipedia.org/wiki/Vitam%C3%ADn_E), staženo 10. října 2022
- [17] <https://cs.wikipedia.org/wiki/Olej>, staženo 10. října 2022
- [18] Lipidy – Wikipedia (wikipedia.org), staženo 1. listopadu 2022
- [19] [https://eccevita.cz/306-tezke\\_kovy](https://eccevita.cz/306-tezke_kovy), staženo 21. prosince 2022

- [20] Zhu, F.K.; Fan, W.X.; Wang X.J.; Qu, L.; Yao, S.W., Health risk assessment of eight heavy metals in nine varieties of edible vegetable oils consumed in China. Food and chemical toxicology 49, p3081-3085 (2011)
- [21] Manavi Yadav; Radhika Gupta; Rakesh Kumar Sharma, Advances in Water Purification Techniques, Chapter 14 – Green and Sustainable Pathways for Wastewater Purification, India, p355-383, 2019
- [22] <https://slideplayer.cz/slide/11831893/>, staženo 7. února 2023
- [23] Amélie L.; Anthony N.; José L.T.T.; Carole B.; Laurent V.; Thomas V.; Frédéric Ch., Introduction of organic/hydro-organic matrices in inductively coupled plasma optical emission spectrometry and mass spectrometry: A tutorial review. Part I. Theoretical considerations, ScienceDirect, p37-40, France, Spain (2015)
- [24] Guillermo Grindlay; Juan Mora; Margaretha de Loos-Vollebregtm; Frank Vanhaecke, A systematic study on the influence of carbon on the behavior of hard-to-ionize elements in inductively coupled plasma-mass spectrometry, Science Direct, p42-49, Spain (2013)
- [25] Li Shuping, Analysis of Trace Elements in Palm Oil using ICP-MS, Agilent Tachnologies, Inc., Food, USA (2020)
- [26] Jenny Nelson (USA); Ed McCurdy (UK), Multi-Element Analysis of Petroleum Crude Oils using an Agilent 7900 ICP-MS, Agilent Technologies, Inc. 2017, Food, USA; UK
- [27] Santiago Martinez; Raquel Sánchez; Johan Lefevre; Josí-Luis Todolí, Multielemental analysis of vegetable oils and fats by means of ICP-OES following a dilution and shot methodology, Royal society of chemistry 2020, 35, p1897-1909
- [28] Aleksandra Szydłowska-Czerniak; Konrad Trokowski; György Karlovits; Edward Szlyk, Spectroscopic Determination of Metals in Palm Oils from different Stages of the Technological Process, Agricultural and food chemistry 2013, 61, p2276-2283, Poland
- [29] M. Ručka, Aplikace technik atomové spektrometrie pro kontrolu kvality farmaceutické výroby, bakalářská práce, Univerzita Palackého, Olomouc 2018
- [30] M. Ručka, LA-ICP-MS v analýze uměleckých děl, diplomová práce, Univerzita Palackého, Olomouc 2020
- [31] A. Mikulová, Analýza předmětů kulturního dědictví, bakalářská práce, Univerzita Palackého, Olomouc 2022
- [32] D. Trčková, Analýza metalosloučenin, bakalářská práce, Univerzita Palackého, Olomouc 2022

## Příloha č. 1

### S.1. Parametry ICP-MS

Při vývoji obou ICP-MS metod byly optimalizovány parametry nastavení přístroje s cílem získat nejvyšší hodnoty signálu a zároveň minimalizovat vznik dvojnásobně nabitých a oxidických iontů. Verifikace technického stavu ICP-MS, zahrnující automatickou sekvenci ladění celého ICP-MS a testování výkonnostních parametrů, byla prováděna každý den před vlastním měřením. Parametry ICP-MS jsou popsány v následující tabulce S1.

Tab. S1 Parametry ICP-MS při měření

Parametr	Roztoková metoda	Vnášení kyslíku do plazmatu
Integrační časy [ms]	100, 200	200
Příkon generátoru [W]	1 550	1 550
Vzdálenost plazmové hlavice od rozhraní [mm]	8,0	10,0
Nosný plyn [l/min]	1,05	0,99
Pumpa zmlžovače [rps]	0,10	0,10
Teplota mlžné komory [°C]	2	2
He v kolizní cele [ml/min]	4,3	4,3
Proplach, peristaltická pumpa [rps]	0,50 (HNO <sub>3</sub> (2 %))	0,40 (CONOSTAN Premisol <sup>TM</sup> ICP Solvent)
Čas proplachu mezi vzorky [s]	30	120
Monitorované izotopy	<sup>7</sup> Li, <sup>9</sup> Be, <sup>11</sup> B, <sup>23</sup> Na, <sup>24</sup> Mg, <sup>27</sup> Al, <sup>39</sup> K, <sup>43</sup> Ca, <sup>44</sup> Ca, <sup>45</sup> Sc, <sup>47</sup> Ti, <sup>51</sup> V, <sup>52</sup> Cr, <sup>55</sup> Mn, <sup>56</sup> Fe, <sup>59</sup> Co, <sup>60</sup> Ni, <sup>63</sup> Cu, <sup>66</sup> Zn, <sup>72</sup> Ge, <sup>75</sup> As, <sup>78</sup> Se, <sup>89</sup> Y, <sup>95</sup> Mo, <sup>107</sup> Ag, <sup>111</sup> Cd, <sup>115</sup> In, <sup>118</sup> Sn, <sup>121</sup> Sb, <sup>137</sup> Ba, <sup>159</sup> Tb, <sup>202</sup> Hg, <sup>206</sup> Pb, <sup>207</sup> Pb, <sup>208</sup> Pb, <sup>209</sup> Bi	<sup>11</sup> B, <sup>23</sup> Na, <sup>24</sup> Mg, <sup>29</sup> Si, <sup>31</sup> P, <sup>43</sup> Ca, <sup>44</sup> Ca, <sup>47</sup> Ti, <sup>51</sup> V, <sup>52</sup> Cr, <sup>55</sup> Mn, <sup>56</sup> Fe, <sup>60</sup> Ni, <sup>63</sup> Cu, <sup>66</sup> Zn, <sup>95</sup> Mo, <sup>107</sup> Ag, <sup>111</sup> Cd, <sup>118</sup> Sn, <sup>137</sup> Ba, <sup>139</sup> La, <sup>206</sup> Pb, <sup>207</sup> Pb, <sup>208</sup> Pb

## S.2. Roztoková analýza

### Příprava vzorků pro mineralizace a kvantitativní stanovení

Z jednotlivých vzorků se odvážilo automatickou pipetou přibližně 250 mg do teflonových kelímků. Následně byly vzorky rozloženy mikrovlnným rozkladem (viz kapitola č. 3.3.) na mikrovlnný program č. 3 (viz. Tab. S2). Připravené vzorky k analýze byly přes noc uchovány v lednici při 4 °C a nejpozději další den byly analyzovány. Takto bylo připraveno všech 11 vzorků, každý byl připraven ve dvou nezávislých replikách (duplikátů).

Tab. S2 Mikrovlnný program č. 3

Krok	Čas [min]	Výkon [W]
1	2	250
2	2	0
3	5	400
4	2	0
5	2	500
6	2	0
7	6	600
Ventilace: 5 min		

## Příprava kalibrační řady roztoků

Kalibrační roztoky byly připraveny ze standardů jednotlivých prvků rozdělených do 3 skupin S1, S2, S3 podle různých koncentračních rozsahů. Skupina S1 zahrnovala prvky – B, Al, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Sn, Ba, Li, Se, Sb, Be. Skupina S2 zahrnovala prvky – Na, Mg, Ca, K. Skupina S3 zahrnovala prvky Cd, Hg, Pb, As. Byla připravena kalibrační řada v rozsahu dle tabulky S3. Dále se připravil kontrolní vzorek (QC) o koncentraci 100 µg/l, který se opakovaně měřil každých 6 vzorků a jako interní standard se použil již připravený roztok obsahující Sc, Y, In a Bi (500 µg/l).

Tab. S3 Kalibrační roztoky pro jednotlivé skupiny prvků

Kalibrační roztoky	Koncentrace S <sub>1</sub> [µg/l]	Koncentrace S <sub>2</sub> [µg/l]	Koncentrace S <sub>3</sub> [µg/l]
Slepý pokus	0	0	0
1	0,5	0,5	0,05
2	1	1	0,1
3	5	5	0,5
4	10	10	1
5	50	50	5
6	100	100	10
7	250	250	25
8	-	500	-
9	-	1000	-
QC	100	100	10

## Příprava roztoků pro validaci metody

Pro skupiny prvků S1, S2, S3 (viz kapitola Příprava kalibrační řady roztoků) byly připraveny vzorky o koncentracích (viz Tab. S4). K přípravě vzorků byl použit roztok základního oleje, který byl standardně rozložen mikrovlákným rozkladem (viz kapitola č. 3.3.). Pro každou koncentrační hladinu bylo připraveno 6 vzorků a k tomu ještě zvlášť 6 slepých pokusů pro stanovení hodnot LOD a LOQ.

Tab. S4 Koncentrační hladiny pro jednotlivé skupiny S1, S2, S3

	Koncentrace S <sub>1</sub> [μg/g]	Koncentrace S <sub>2</sub> [μg/g]	Koncentrace S <sub>3</sub> [μg/g]
Koncentrační hladina A	0,8	10	0,1
Koncentrační hladina B	4	20	0,5

### Výsledky validace metody

Roztoková metoda byla validována pro validační parametry: linearita, mez detekce a stanovitelnosti, pravdivost a preciznost. Přehled validace a výsledek akceptačních kritérií je zobrazen v tabulce S5.

Tab. S5 Stručný přehled validace

Validační parametr	Akceptační kritérium	Výsledek
Linearita	Lineární závislost, $R \geq 0,99$	✓
Pravdivost (výťažnost)	Výťažnost 70–150 %	✓
Preciznost (opakovatelnost)	$RSD \leq 20 \%$	✓

Splněno ✓



## Linearita

Linearita byla testována na řadě kalibračních roztoků (viz kapitola Příprava kalibrační řady roztoků). Vyhodnocení korelačních koeficientů je zaznamenáno v tabulce S6.

Tab. S6 Hodnoty korelačních koeficientů pro jednotlivé prvky

Prvek	Korelační koeficient R	Výsledek	Prvek	Korelační koeficient R	Výsledek
Li	0,9999	✓	Co	0,9999	✓
Be	0,9998	✓	Ni	1,0000	✓
B	0,9998	✓	Cu	0,9999	✓
Na	0,9974	✓	Zn	0,9996	✓
Mg	1,0000	✓	As	0,9996	✓
Al	0,9999	✓	Se	0,9999	✓
K	0,9998	✓	Mo	0,9999	✓
Ca	0,9987	✓	Cd	1,0000	✓
Ti	0,9999	✓	Sn	0,9994	✓
V	0,9997	✓	Sb	0,9993	✓
Cr	0,9999	✓	Ba	1,0000	✓
Mn	1,0000	✓	Hg	1,0000	✓
Fe	1,0000	✓	Pb	1,0000	✓

Splněno ✓

**Závěr:** Akceptační kritérium bylo splněno pro všechny prvky. Všechny kalibrační křivky byly lineární a korelační koeficienty se pohybovaly v intervalu 0,9974-1,0000.

## Mez detekce a mez stanovitelnosti

Stanovením 6 nezávisle připravených slepých pokusů pro prvky B, Al, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Sn, Ba, Li, Se, Sb, Be, Na, Mg, Ca, K, Cd, Hg, Pb a As byly naměřeny hodnoty pro určení meze detekce a meze stanovitelnosti. Vypočítané hodnoty LOD a LOQ v  $\mu\text{g/g}$  jsou uvedeny v tabulce S7.

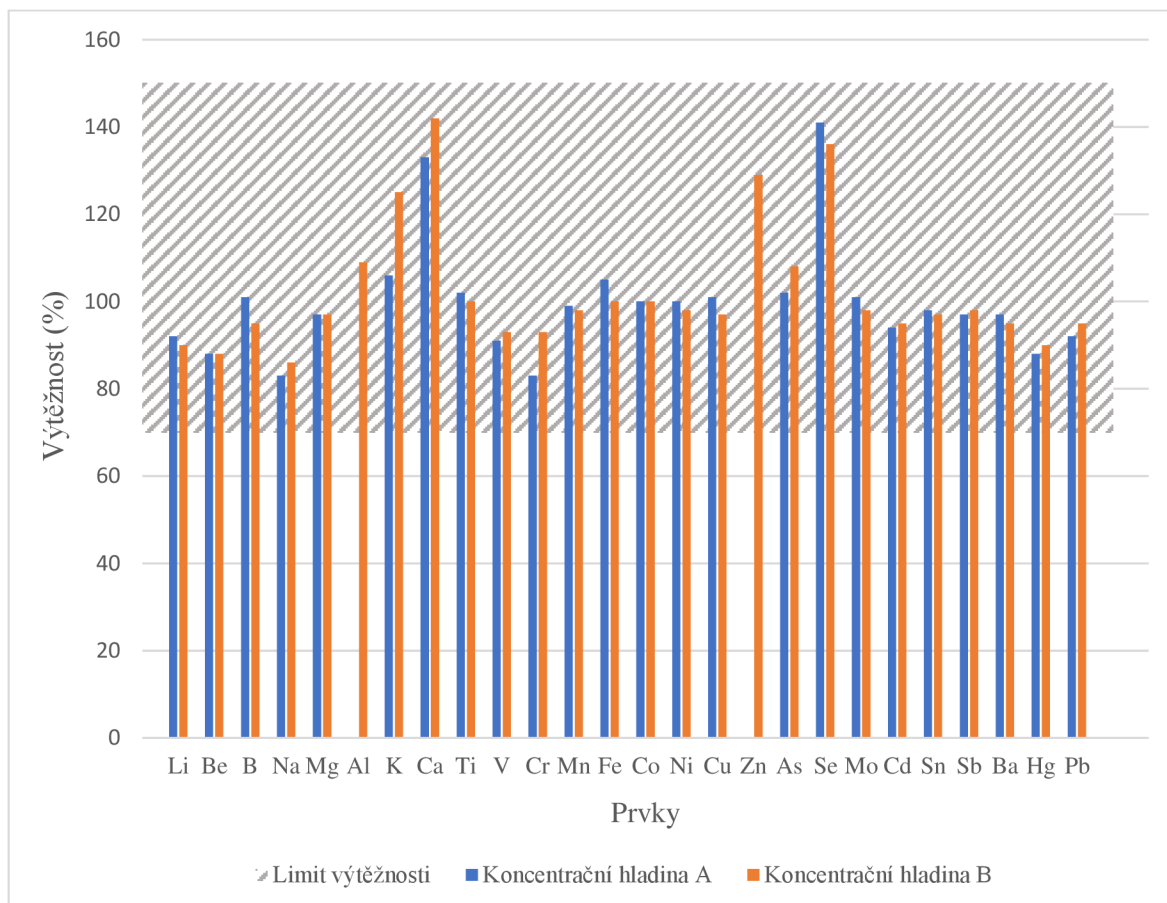
Tab. S7 Vypočítané hodnoty LOD a LOQ pro roztokovou analýzu

Prvek	LOD [ $\mu\text{g/g}$ ]	LOQ [ $\mu\text{g/g}$ ]	Prvek	LOD [ $\mu\text{g/g}$ ]	LOQ [ $\mu\text{g/g}$ ]
Li	0,003	0,007	Co	0,087	0,22
Be	0,002	0,006	Ni	0,005	0,010
B	12,1	32,1	Cu	0,036	0,083
Na	0,80	1,1	Zn	0,58	1,3
Mg	0,052	0,088	As	0,002	0,003
Al	0,17	0,23	Se	0,025	0,037
K	2,5	3,8	Mo	0,026	0,070
Ca	3,7	8,4	Cd	0,0002	0,0003
Ti	0,018	0,032	Sn	0,013	0,031
V	0,002	0,004	Sb	0,011	0,026
Cr	0,016	0,038	Ba	0,005	0,010
Mn	0,038	0,084	Hg	0,007	0,014
Fe	0,13	0,28	Pb	0,002	0,004

**Závěr:** Meze detekce (LOD) a meze stanovitelnosti (LOQ) byly dopočítány pro všechny stanovované prvky. Meze detekce (LOD) se pohybovaly v intervalu 0,0002  $\mu\text{g/g}$  pro kadmium až po 12,1  $\mu\text{g/g}$  pro bor. Meze stanovitelnosti (LOQ) se pohybovaly v intervalu 0,0003  $\mu\text{g/g}$  pro kadmium až po 32,1  $\mu\text{g/g}$  pro bor.

## Pravdivost (výtěžnost)

Výtěžnost byla ověřena stanovením 6 vzorků základního oleje spikovaných prvky B, Al, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Sn, Ba, Li, Se, Sb, Be, Na, Mg, Ca, K, Cd, Hg, Pb a As na dvou koncentračních hladinách A, B. Vypočítané hodnoty na obou koncentračních hladinách jsou zaznamenány v grafu na obrázku S1.

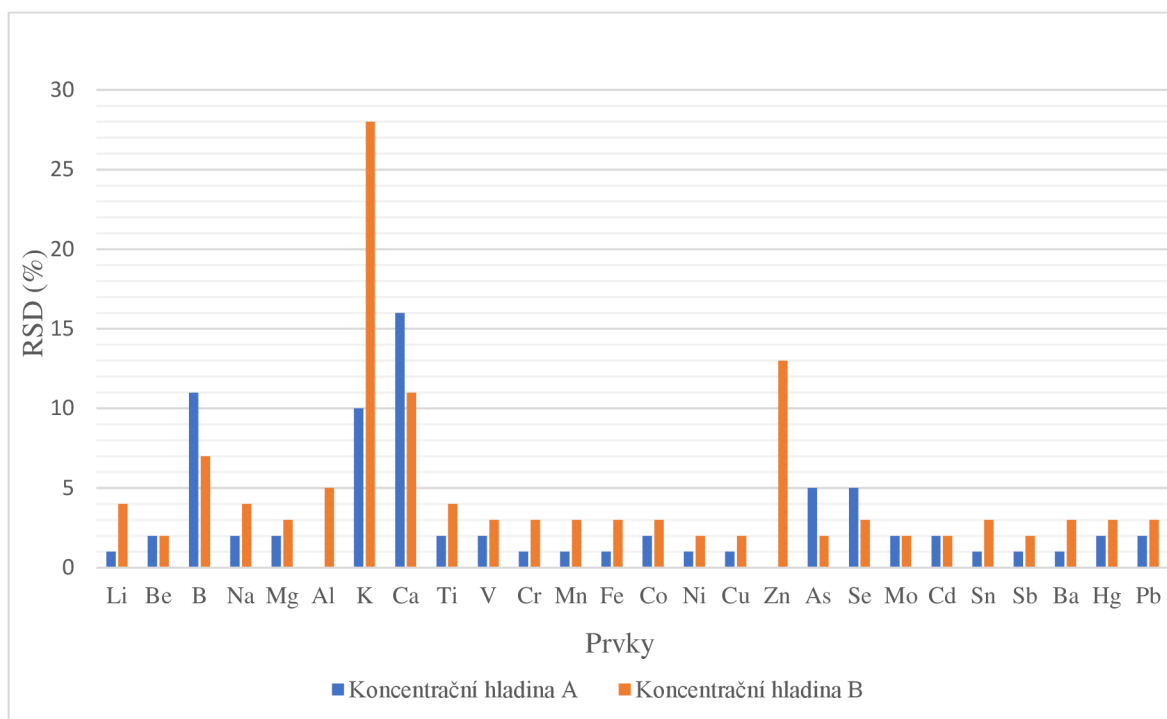


Obr. S1 Graf závislosti výtěžnosti jednotlivých prvků pro koncentrační hladiny A, B

**Závěr:** Akceptační kritérium bylo splněno pro všechny prvky. U Al a Zn byla validace provedena pouze na vyšší koncentrační hladině, kvůli nízké koncentraci na koncentrační hladině A. U prvků As, Se se kvůli nedokonalému rozkladu v kelímku 2 naměřily zvýšené hodnoty koncentrací. Nedokonalý rozklad zapříčinil větší obsah uhlíku, vlivem kterého dochází k reakcím přenosu náboje v plazmatu. Důsledkem jsou změny v iontové populaci, zvýšení ionizace, přenos náboje v plazmatu, a tedy odlišné koncentrace As, Se v kelímku 2 od ostatních kelímků [1]. Z tohoto důvodu se vynechaly naměřené hodnoty z kelímku 2 pro obě koncentrační hladiny, a proto bylo do průměru započítáno pouze 5 hodnot.

## Preciznost (opakovatelnost)

Přesnost byla ověřena stanovením 6 vzorků základního oleje spikovaných prvky B, Al, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Mo, Sn, Ba, Li, Se, Sb, Be, Na, Mg, Ca, K, Cd, Hg, Pb a As na dvou koncentračních hladinách A, B. Vypočítané hodnoty relativní směrodatné odchylky jsou shrnuté v grafu na obrázku S2.



Obr. S2 Graf hodnot RSD (%) pro preciznost metody

**Závěr:** Akceptační kritérium bylo splněno pro všechny prvky s výjimkou draslíku na vyšší koncentrační hladině B. U Al a Zn byla validace provedena pouze na vyšší hladině, kvůli nízké koncentraci na koncentrační hladině A. Většina (22 z 26) prvků poskytovala hodnotu preciznosti vyjádřenou jako RSD pod 5 %.

## Výsledky analýzy olejů

Naměřené hodnoty duplikátů vzorků byly přepočítány z  $\mu\text{g/l}$  na  $\mu\text{g/g}$  (viz rovnice č. 1), zprůměrovány a u hodnot nad LOQ byly dopočítány směrodatné odchylky. Jednotlivé hodnoty byly vyhodnoceny a zaznamenány v tabulce S8.

Tab. S8 Koncentrace jednotlivých prvků v  $\mu\text{g/g}$  pro vzorky olejů

	Obsah ( $\bar{x} \pm s$ , $\mu\text{g/g}$ ), (pozn. < LOD – prvek nebyl detekován, < LOQ – prvek byl detekován, ale nebyl stanoven, * změřena jediná hodnota)										
Prvek	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	Vzorek 6	Vzorek 7	Vzorek 8	Vzorek 9	Vzorek 10	Vzorek 11
Li	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ
Be	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
B	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Na	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOQ	3,279 $\pm$ 0,057	2,791 $\pm$ 0,222
Mg	< LOQ	0,718 $\pm$ 0,001	< LOQ	0,526 $\pm$ 0,013	0,246 $\pm$ 0,137	< LOD	< LOD	< LOQ	0,173 $\pm$ 0,035	< LOQ	0,096 $\pm$ 0,065
Al	< LOQ	0,245 $\pm$ 0,011	0,356 $\pm$ 0,012	0,683 $\pm$ 0,530	1,564 $\pm$ 0,611	< LOD	< LOD	1,487 $\pm$ 0,818	1,004 $\pm$ 0,449	2,493 $\pm$ 0,070	2,695 $\pm$ 0,302
K	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	4,834 $\pm$ 3,349	< LOD	< LOD
Ca	< LOD	< LOQ	< LOQ	< LOQ	8,655 $\pm$ 7,700	< LOD	< LOD	< LOD	12,856 $\pm$ 3,685	< LOD	< LOD
Ti	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	0,056 $\pm$ 0,032	0,039 $\pm$ 0,024	0,049 $\pm$ 0,003	0,048 $\pm$ 0,004
V	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cr	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Mn	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Fe	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,856 $\pm$ 1,139	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOD
Co	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

(Pokračování tabulky S8)

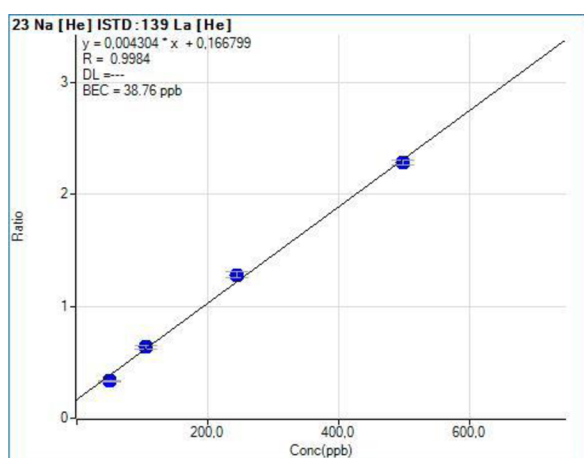
Ni	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD	0,082 ± 0,114	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cu	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,084*	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Zn	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	1,940 ± 0,102	< LOD	< LOD
As	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD
Se	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Mo	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Cd	< LOQ	< LOD	0,0004 ± 0,0003	< LOQ	0,0011 ± 0,0012	< LOQ	< LOD	0,0005 ± 0,0001	0,0003 ± 0,0001	< LOD	0,0005 ± 0,0001
Sn	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Sb	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Ba	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOQ	0,019 ± 0,018	< LOD	< LOD	< LOQ	0,025 ± 0,009	0,018 ± 0,003	0,012 ± 0,001
Hg	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
Pb	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	0,050*	< LOQ	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

**Závěr:** Koncentrace většiny stanovovaných prvků ve vzorcích byly nižší než meze detekce ICP-MS. Ve vzorku 5 se stanovilo nejvíce prvků hořčík, hliník, vápník, železo, nikl, měď, kadmium, baryum a olovo. Těžké kovy byly stanoveny ve vzorcích 3, 5, 8, 9, 11, ale žádný ze vzorků neobsahoval koncentrace těžkých kovů, které by překročily povolené limity.

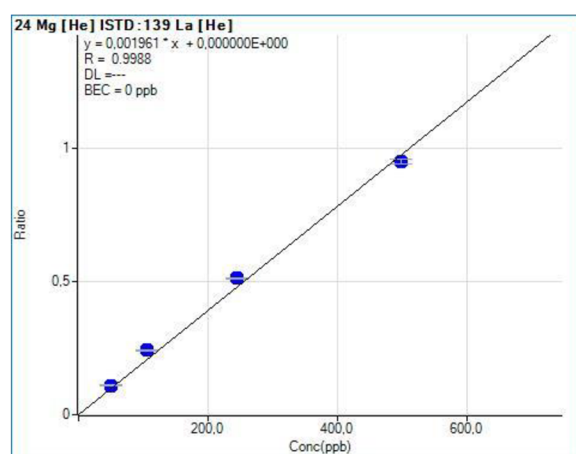
### S.3. Metoda vnášení kyslíku do plazmatu

#### Výsledky validace metody pro linearitu

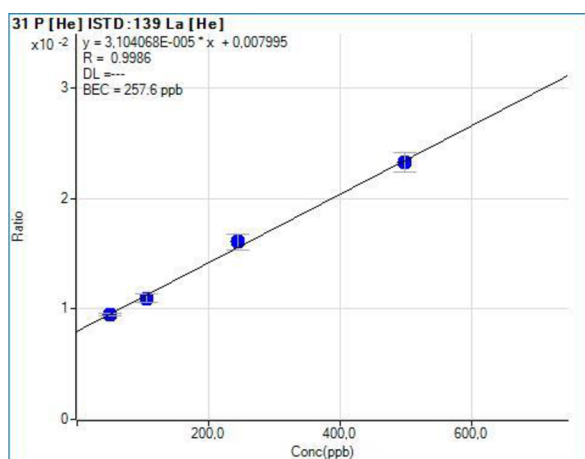
Linearita byla testována na řadě kalibračních roztoků (viz kapitola č. 3.5.2.) pro různé obsahy. Jako kontrolní prvek byl použit interní standard La. Lineární závislosti kalibračních křivek jsou znázorněny na obrázcích S3-S16 pro prvky Na, Mg, P, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Zn, Mo, Ag, Cd a Ba.



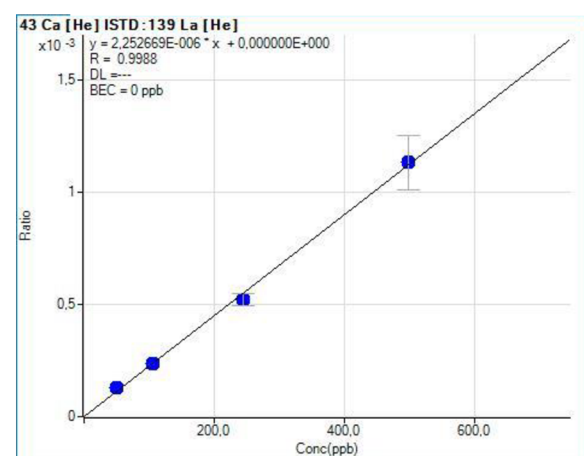
Obr. S4 Kalibrační křivka pro sodík



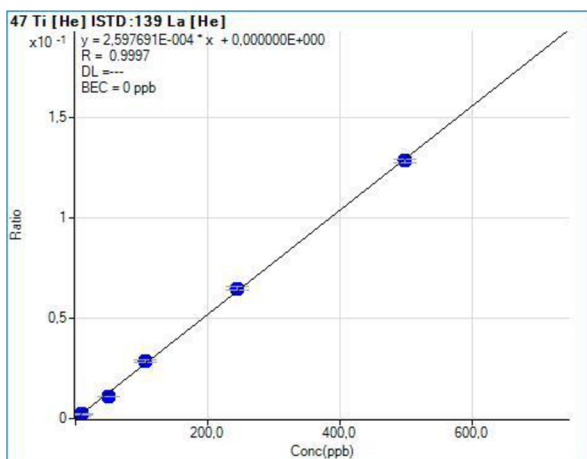
Obr. S3 Kalibrační křivka pro hořčík



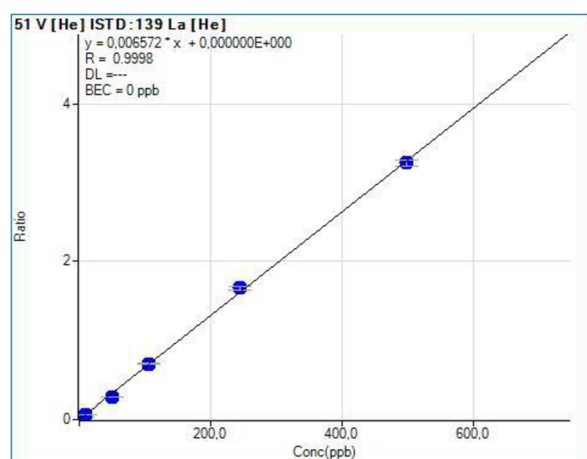
Obr. S6 Kalibrační křivka pro fosfor



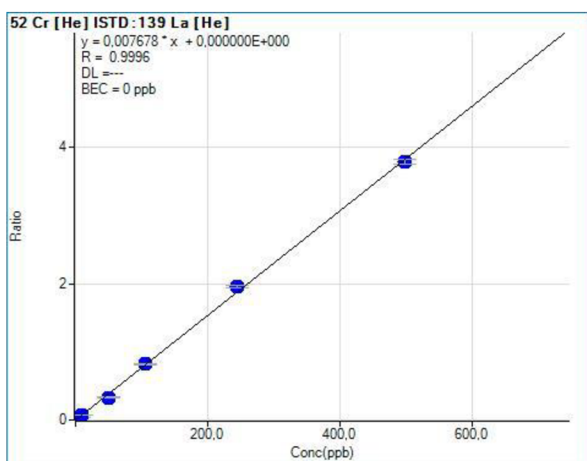
Obr. S5 Kalibrační křivka pro vápník



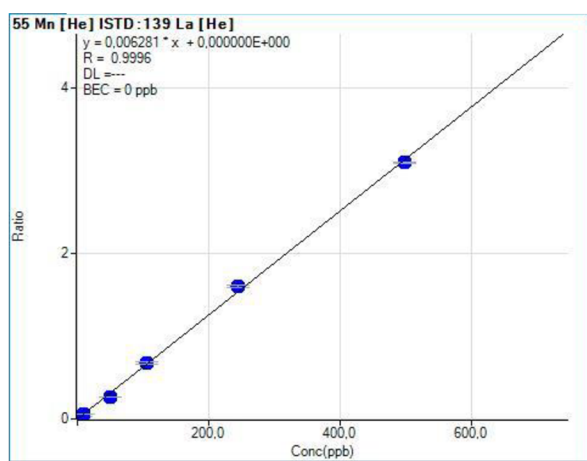
Obr. S8 Kalibrační křivka pro titan



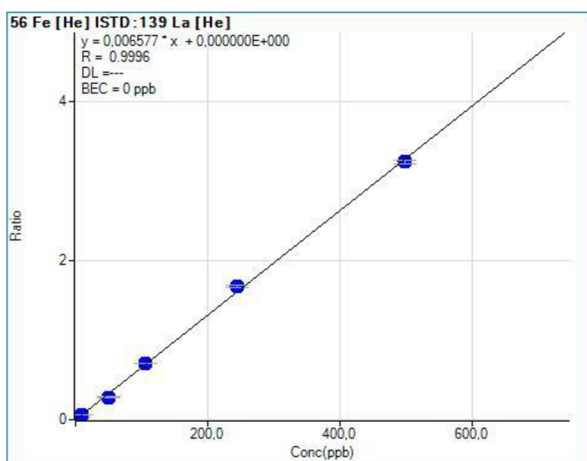
Obr. S7 Kalibrační křivka pro vanad



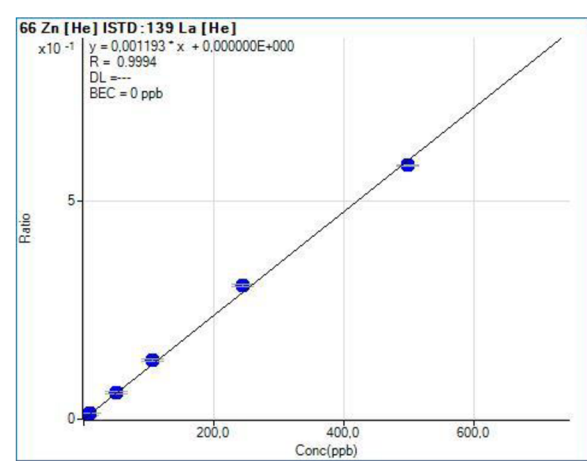
Obr. S10 Kalibrační křivka pro chrom



Obr. S9 Kalibrační křivka pro mangan

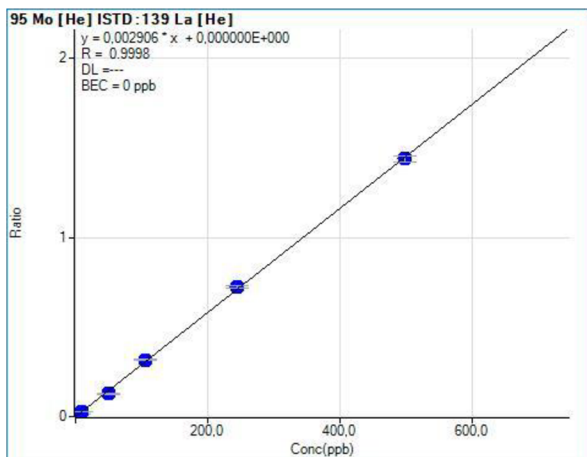


Obr. S12 Kalibrační křivka pro železo

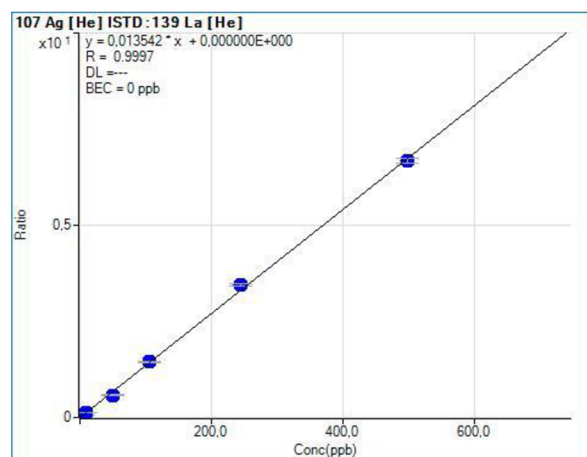


Obr. S11 Kalibrační křivka pro zinek

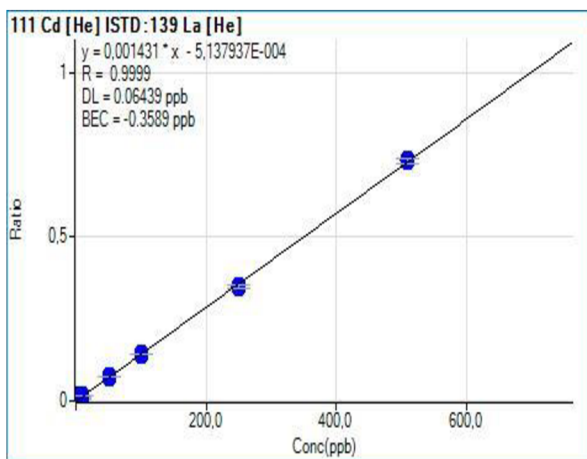




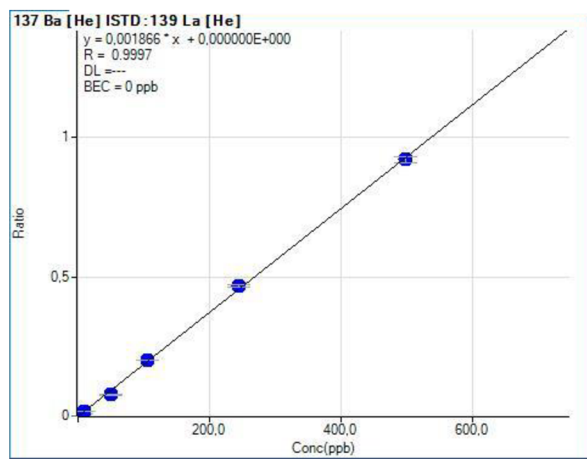
Obr. S14 Kalibrační křivka pro molybden



Obr. S13 Kalibrační křivka pro stříbro



Obr. S16 Kalibrační křivka pro kadmium



Obr. S15 Kalibrační křivka pro baryum

## **Seznam použité literatury**

- [1] Guillermo Grindlay; Juan Mora; Margaretha de Loos-Vollebregtm; Frank Vanhaecke, A systematic study on the influence of carbon on the behavior of hard-to-ionize elements in inductively coupled plasma-mass spectrometry, Science Direct, p42-49, Spain (2013)