

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

Fakulta chemická

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Brno, 2017

Hana Malčíková



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STANOVENÍ JODU V POTRAVINÁCH

DETERMINATION OF IODINE IN FOOD

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Hana Malčíková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

BRNO 2017

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1107/2016
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Hana Malčíková**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Potravinářská chemie
Vedoucí práce: **doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.**
Akademický rok: 2016/17

Název bakalářské práce:

Stanovení jodu v potravinách

Zadání bakalářské práce zadání:

1. vypracování literární rešerše k tématu práce
2. optimalizace techniky ICP-OES pro stanovení jodu v potravinách
3. analýza vybraných vzorků potravin
4. zpracování naměřených výsledků
5. diskuse k naměřeným výsledkům

Termín odevzdání bakalářské práce: 19.5.2017

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Hana Malčíková
student(ka)

doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá optimalizací techniky ICP-OES pro stanovení jódu v minerálních vodách.

Teoretická část nejdříve charakterizuje jód obecně, dále se zabývá jódem jakožto biogenním prvkem nezbytným pro funkci lidského organismu, jeho výskytem v potravinách a jeho průmyslovému využití. V dalších kapitolách se práce věnuje popisu analytických metod pro stanovení jódu, konkrétně iontové chromatografii a optické emisní spektrometrii s indukčně vázaným plazmatem. K nalezení je i popis principu a instrumentace obou zmíněných metod.

Experimentální část se zaměřuje na optimalizaci metody ICP-OES, nastavení přístroje pro IC, přípravu vzorků minerálních vod a analýzu vzorků pomocí obou metod.

Výsledky experimentální části vypovídají o obsahu jódu v minerálních vodách dostupných v České a Slovenské Republice.

ABSTRACT

The bachelor thesis deals with the optimization of ICP-OES method to determination of iodine in mineral waters.

At first, the Theoretic part characterize the iodine in general, next it concerns with it as the essential/biogenic element, which is necessary for the proper functioning of the human organism, with its occurrence in food and with its industrial utilization. In next chapters the thesis is describing analytical methods of iodine determination specifically ion chromatography and inductively coupled plasma optical emission spectrometry. The principle and instrumentation description of both methods are found.

The Experimental part is focused on optimization of ICP-OES methods, device setup for IC, on preparation of samples of mineral waters and the samples analysis using both methods.

The results of the Experimental part show a content of iodine in mineral waters accessible in the Czech Republic and the Slovak Republic.

KLÍČOVÁ SLOVA

Jód, ICP-OES, IC

KEY WORDS

Iodine, ICP-OES, IC

MALČÍKOVÁ, H. *Stanovení jodu v potravinách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 43 s. Vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych ráda poděkovala panu doc. Ing. Pavlu Divišovi, Ph.D. za odborné vedení, rady a poskytnutý čas během zpracování této bakalářské práce a dále panu Ing. Jaromíru Pořízkovi, Ph.D. za pomoc a rady v průběhu provedeného měření.

OBSAH

1 Úvod.....	7
2 Teoretická část.....	8
2.1 Jód.....	8
2.2 Výskyt jódu.....	8
2.3 Jód v potravinách.....	8
2.4 Funkce jódu v organismu.....	9
2.5 Štítná žláza a její onemocnění.....	10
2.5.1 Hypertyreóza.....	11
2.5.2 Hypotyreóza.....	11
2.6 Jód v průmyslu.....	11
2.7 Analytické metody pro stanovení jódu.....	12
2.7.1 ICP-OES.....	12
2.7.1.1 Princip metody ICP-OES.....	12
2.7.1.2 Instrumentace ICP-OES.....	13
2.7.1.3 Analytické využití metody ICP-OES.....	18
2.7.2 Iontová chromatografie.....	18
2.7.2.1 Princip metody.....	18
2.7.2.2 Měníče iontů.....	18
2.7.2.3 Instrumentace metody IC.....	19
2.7.2.4 Analytické využití metody IC.....	21
3 Experimentální část.....	22
3.1 Seznam použitých chemikálií.....	22
3.2 Použité laboratorní pomůcky.....	22
3.3 Použité přístroje.....	22
3.4 Analyzované vzorky.....	22
3.4.1 Příprava vzorků pro stanovení pomocí ICP-OES.....	22
3.4.2 Příprava vzorků pro stanovení pomocí IC.....	23
3.4.3 Příprava kalibračních roztoků pro optimalizaci techniky ICP-OES.....	23
3.4.4 Optimalizace techniky ICP-OES.....	23
3.4.5 Analýza pomocí metody Iontová chromatografie.....	24
4 Výsledky a diskuze.....	25
4.1 Optimalizace ICP-OES.....	25
4.1.1 Výběr vlnové délky.....	25
4.1.2 Robustnost.....	25
4.1.3 Optimalizace průtoku přídavného plynu.....	28

4.1.4	Optimalizace vlivu pH.....	29
4.1.5	Správnost metody	30
4.1.6	Přesnost metody	31
4.1.7	Opakovatelnost metody	32
4.1.8	Výtěžnost metody.....	32
4.1.9	Stanovení meze detekce a meze kvantifikace.....	33
4.1.10	Linearita.....	33
4.1.10.1	Mód Gauss.....	34
4.1.10.2	Mód Max	34
4.2	Aplikace optimalizované metody na analýzu minerálních vod.....	35
5	Závěr.....	36
6	Seznam použité literatury	38
7	Seznam použitých obrázků.....	41
8	Seznam použitých zkratk.....	42
9	Seznam rovnic	43

1 ÚVOD

V dnešní době se setkáváme se spoustou civilizačních chorob a lidí, u kterých se projevují, den ode dne přibývá. I když by se mohlo zdát, že v době moderních vynálezů, vyspělé techniky a pokročilé lékařské vědy, dokáže společnost zařídit, aby každý z nás měl zajištěn dostatek potřebných živin pro správnou funkci organismu, tak se i nadále setkáváme s nedostatkem biogenních prvků v potravě, což je zásadní faktor pro vývin ve zdravého jedince. Jedním z takovýchto prvků je také jód, prvek, bez něhož by se neobešla správná funkce hormonální soustavy žádného člověka ani zvířete.

Teoretická část této bakalářské práce poskytuje v první řadě informace o charakteristice a výskytu jódu v přírodě, v potravinách, taktéž objasňuje jeho podstatnou roli v lidském těle. Dále osvětluje problematiku nedostatku i nadbytečného příjmu jódu a onemocnění štítné žlázy. Dalším bodem je průmyslové využití jódu a jeho sloučenin. Také obsahuje výčet a popis analytických metod, sloužících ke stanovení jódu v potravinách. Metody Iontová chromatografie (IC) a Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) jsou rozebrány podrobněji, jelikož byly uplatněny při experimentální části. Je zde objasněn zejména princip a instrumentace zvolených metod.

Experimentální část této práce se zaměřuje na optimalizace techniky ICP-OES a na postupy jednotlivých analýz. Klíčové je zejména vhodné nastavení měřících přístrojů a správná příprava vzorků, včetně ředění.

Cílem bakalářské práce bylo optimalizovat techniku ICP-OES pro stanovení obsahu jódu a samotné stanovení v minerálních vodách dostupných v České a Slovenské Republice pomocí této metody. K porovnání výsledků slouží technika IC, která se v praxi běžně využívá právě ke stanovení iontů v minerálních vodách.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Jód

Jód je prvek vyskytující se v podobě šedočerných krystalků, má schopnost sublimovat ve fialové páry. Přírodní jód je izotopicky čistý prvek, tvořen nuklidem ^{127}I . Je rozpustný ve vodném roztoku KI, v polárnějších organických rozpouštědlech typu aceton tvoří hnědé roztoky, v sirouhlíku, chloroformu apod. tvoří fialové roztoky, ve kterých se vyskytuje ve formě I_2 [1]. Na počátku 19. století byl jód objeven v popelu mořských řas, koncem století byl prokázán jeho obsah i ve štítné žláze [2].

Z hlediska výživové potřeby člověka i zvířete představuje jód nezbytný mikroprvek. V lidském těle působí jako stěžejní složka hormonů štítné žlázy, které jsou nepostradatelné při správném vývoji nervové soustavy [3].

2.2 Výskyt jódu

Rozličné chemické formy jódu se nacházejí v půdě a sedimentech, odkud je vyplavován srážkami a koncentruje se v oceánech a mořích [4]. Na pevnině tvoří zásoby jódu minerální vody. Charakteristickou minerální vodou tohoto typu v České Republice je Vincentka. Jód z půdy se dostává do rostlin, odkud je přijímán živočichy. Nízký obsah jódu pro živočichy znamená negativní vliv na jejich vývoj a rozmnožování [4]. Značný podíl celkového jódu je vázaný v organických sloučeninách. Různé chemické formy jódu se vzájemně odlišují v sorpci v geologických vzorcích [5].

Vyšší koncentrace jódu se vyskytují i v ložiscích nerostů v podzemních solankách. Z těchto ložisek je jód extrahován pro průmyslovou výrobu [6].

V podobě jodičnanů se jód vyskytuje jako příměs v čilském ledku NaNO_3 [1]. Vyrábí se redukcí jodičnanů, které zbyly v matečných loužích po krystalizaci surového čilského ledku, případně oxidací jodidů. Další možností, jak získat jód, je oxidace jodidů izolovaných z vodního výluhu popela mořských rostlin chlorem. Vzniklý jód je potřeba oddělit filtrací a přečistí sublimací [1].

Celosvětově nedostatkem jódu trpí zejména horské oblasti. Ke značným vyplavením z půdy došlo v Himalájích, Andách, Alpách i v Číně [2].

Známé případy onemocnění z nedostatku jódu se logicky nachází právě v horských oblastech, např. v Alpách, na Slovensku, v Belgii, Nizozemí i Dánsku, ale také v Austrálii, UK i USA. V České Republice jsou se projevy vyskytují taktéž v horských oblastech, známé jsou i případy z oblastí Středních Čech a Valašska [4].

2.3 Jód v potravinách

Primárně člověk přijímá jód ze zeleniny, soli a pitné vody. Bohatými zdroji jsou taktéž některé mořské řasy, ryby a plody moře a mléčné výrobky [7]. Během vaření těchto surovin dochází k redukci obsahu jódu, který lze v podobě jodidů doplnit z potravinových doplňků [3].

V rámci Evropské Unie je doporučená denní dávka jódu pro dospělého jedince stanovena na $150 \mu\text{g}$ na den [4]. Podle Světové zdravotní organizace (WHO) je stanovena doporučená denní dávka jódu na $50\text{--}170 \mu\text{g}$. To vedlo k rozhodnutí průmyslově jodovat kuchyňskou sůl, jakožto k nejefektivnější možnosti, jak zajistit příjem jódu lidem. Avšak ani tento proces nedokáže zajistit doporučenou denní dávku v globálním měřítku [8]. Celosvětově nedostatek jódu ovlivňuje okolo dvou miliard lidí a je tak přední příčinou mentální retardace. Nedostatek také způsobuje problémy štítné žlázy včetně strumy. V mnoha zemích se jedná o stěžejní populační onemocnění [3].

Doporučená koncentrace jódu odpovídá 20–40 mg na 1 kg soli. Díky jodované soli přidávané do pečiva se i chléb stal účinným prostředkem pro zajištění stálého přísunu jódu. Stal se hlavním zdrojem jódu např. v Nizozemí [3].

Při produkci masných výrobků není v ČR povinné použití jodované soli. Po analýze vzorků slaných masných výrobků z fermentovaného masa spektrofotometrickými metodami však výsledky ukazují, že použití jodované soli bylo zřejmé pouze u českých výrobců. Veškeré vzorky byly přitom zakoupeny v ČR, nicméně pocházely z různých evropských zemí. Podle zmíněného výzkumu použití jodované a mořské soli neznámá, že by tyto produkty mohli být dobrým zdrojem jódu [9].

V ovoci a zelenině obsah jódu obecně nepřekročí $20 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, nicméně v některých zpracovaných výrobcích jako např. v ovocných koktejlech nebo konzervovaném ananasu z USA byly naměřeny koncentrace od $40 \mu\text{g}/\text{kg}$. Podstatně vyšší koncentrace jódu byly zaznamenány také v surové a vařené mrkvi původem z Afriky, konkrétně $200 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ a v surových houbách bylo zjištěno $235 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ jódu [3].

Jód je považován za významný prvek obsažený v mléce a mléčných výrobcích [3]. Fermentované mléčné výrobky dokáží člověka zásobovat i stopovým množstvím minerálních látek. Obsah všech minerálních látek v těchto výrobcích závisí na vícero okolnostech, např. plemeni a zdraví zvířete [10].

Studie forem jódu byly zpočátku omezeny s ohledem na nedostatek vhodných analytických metod, nicméně bylo zjištěno, že z několika forem jódu se v kravském a kozím mléce objevuje prakticky pouze ve formě jodidů, na rozdíl od lidského mateřského mléka a kojeneckých výživ, kde se vyskytuje v daleko složitějším komplexu nejméně dvou rozdílných chemických forem jódu [3]. Mléko jako součást stravy zejména dětí a dospívajících může být dokonce jednou z příčin překročení hranice doporučené denní dávky a s tím spojených obtíží [7].

Zastoupení jódu v běžných potravinových zdrojích je znázorněno v Tabulce 1.

Tabulka 1: Průměrný obsah jódu v přirozených potravinových zdrojích [7]

Zdroj	Ryby	Korýši	Mořské řasy	Mořská sůl
Obsah [$\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$]	1,22–200,5	0,798–1,6	1–2	Až 1,4

2.4 Funkce jódu v organismu

Jak již bylo zmíněno, jód patří k minerálním látkám, nezbytným pro lidský organismus [4]. V lidském těle zajišťuje správnou funkci štítné žlázy jakožto stěžejní složka hormonů trijodthyronin (T_3) a thyroxin (T_4), které se podílejí na správném chodu metabolismu a integritě pojivové tkáně [3]. Zachytáván je i v jiných tkáních, jako v žaludku, mléčné žláze, nebo placentě [4].

Projevy nedostatku jódu na růstu a vývoji se souhrnně nazývají nemoci z nedostatku jódu, zkráceně IDD z anglického Iodine Deficiency Disorders. Všechny jsou znatelné ve fázích růstu, tedy u plodu, novorozeněte i v dětství [2]. Při nedostatečném množství dochází k oslabení funkce štítné žlázy, též hypotyreóze [4]. Projevy tohoto onemocnění, stejně jako projevy způsobené zvýšenou funkcí žlázy jsou popsány v kapitolách 2.5.1, 2.5.2.

Při nadbytečném příjmu jódu tkví nebezpečí v tom, že je schopen se akumulovat v tukové tkáni, kde může setrvat až desítky dní, než se vstřebá. Rizikovější je však použití jodovaných kontrastních látek užívaných v medicíně při vyšetření rentgenovým přístrojem. Příjem této látky může odstartovat poruchy štítné žlázy [11].

2.5 Štítná žláza a její onemocnění

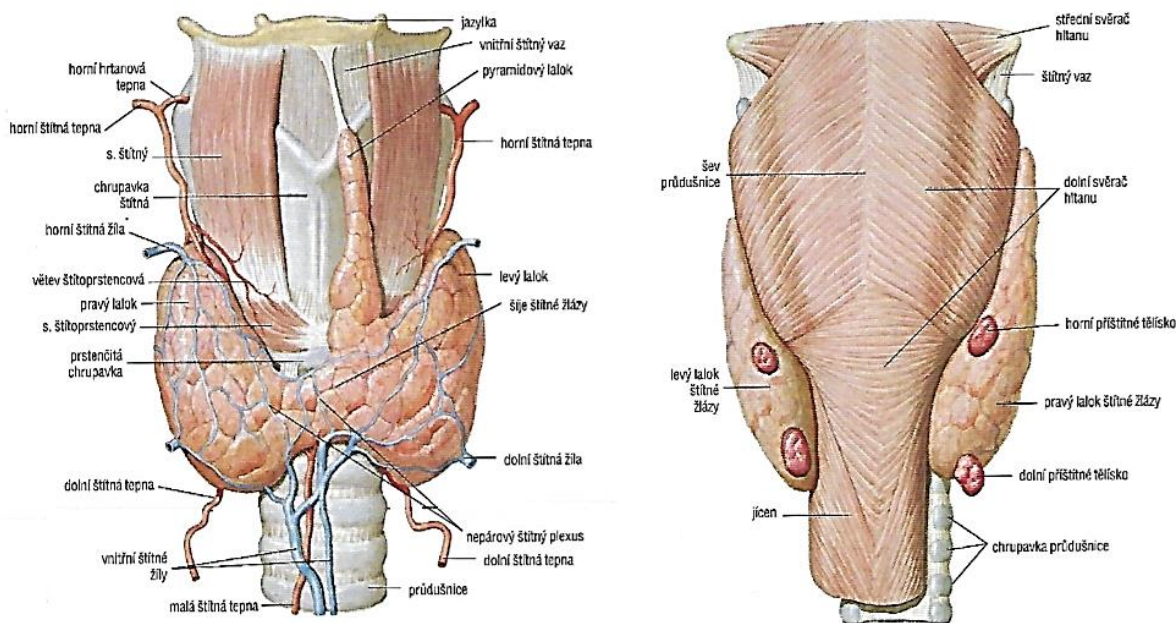
Štítná žláza je endokrinní žláza, která prostřednictvím vylučovaných hormonů spravuje metabolické procesy organismu [12]. Mezi orgány, jejichž funkce podléhá vlivu hormonů štítné žlázy patří např. srdce, ledvin či jater [3].

Leží v oblasti hrtanu a průdušnice, pod štítnou chrupavkou. Žláza je tvořena dvěma laloky a epitelovými váčky, které jsou plněny jodizovanou bílkovinou. Z této bílkoviny vznikají hormony štítné žlázy, konkrétně T_4 , T_3 a kalcitonin. propojených šíjí [12]. Orgán je bohatě zásoben krví ze čtyř přítomných tepen. Činnost žlázy řídí hypofýza, konkrétněji pak hormon hypofýzou produkovaný, tzv. TSH (tyreostimulující hormon), který odpovídá za růst a regulaci hormonů štítné žlázy do krve [13].

Onemocnění štítné žlázy je dnes jedním z nejběžnějších onemocnění. Klasickým projevem je struma [14]. U lidí s poruchami funkce štítné žlázy se kontroluje obsah v těle pomocí stanovení koncentrace jódu v moči. Tento proces označujeme termínem jodurie. Hraniční hodnotou koncentrace jódu je $100 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ [11].

Mezi choroby štítné žlázy způsobené nedostatečným přísunem jódu řadíme strumu, kretenismus, poruchy vývoje a poruchy funkce štítné žlázy jako jsou hypertyreóza a hypotyreóza. Dalšími onemocněními jsou záněty a nádory štítné žlázy [4].

Velký dopad na štítnou žlázu a její funkci má těhotenství. Během něj žláza naroste a produkce hormonů se zvýší o 50 %, stejně jako požadovaná denní dávka jódu. Tyto změny mohou vést v pozdějších stádiích těhotenství k hypotyreóze i u žen, které byly v prvním trimestru zdravé. Studie se také zaměřují na možný dopad hypotyreózy na zdraví matek a plodu a též souvislost mezi potratem a předčasným porodem u zdravých žen [16].



Obrázek 1: Anatomie štítné žlázy a okolních tkání (1)

2.5.1 Hypertyreóza

Hypertyreóza, taktéž zvýšená produkce hormonů štítné žlázy, je trvalé onemocnění, různého původu, především se jedná o chorobu Gravesovu-Basedowovu, která je nejčastější příčinou hypertyreózy v Evropě i USA [15]. Příznaky choroby jsou vyboulené oči a otok na krku [17]. K dalším příčinám řadíme toxickou strumu, autoimunitní reakci či toxický adenom [15].

Při hypertyreóze se vyskytuje pocení, únava, průjem, nesnášenlivost tepla a svalová slabost. Běžně se objevují nervově svalové a psychické příznaky typu třesu rukou, úzkosti, rychlého tlukotu srdce aj. [17].

Při léčbě hypertyreózy se zohledňuje věk pacienta, typ a závažnost onemocnění. Využívá se radioaktivního jódu a betablokátorů, které inhibují účinky hormonů žlázy [17].

2.5.2 Hypotyreóza

Hypotyreóza neboli snížená funkce štítné žlázy, se vyskytuje nejčastěji u starších lidí [18]. Častou příčinou bývá chronický zánět štítné žlázy na základě poruchy imunitního systému, dále nedostatečný i nadbytečný příjem jódu, dědičná porucha, rozvoj nemoci byl zaznamenán též po operaci žlázy nebo léčbě radiojodem [15].

Mezi příznaky hypotyreózy patří únava, zimomřivost. Dalšími příznaky je suchá pokožka a vlasy, zácpa. U žen se setkáváme také s nepravidelnostmi při menstruačním cyklu [18]. Díky souvislosti mezi neléčenou vrozenou hypotyreózou a opožděným vývojem poznávací funkce, byl prokázán zásadní vliv hormonů štítné žlázy na funkci mozku. Pacienti s hypotyreózou se setkávají s poruchami kognitivní funkce v různých stupních. Mohou být letargičtí, náladoví, trpět poruchami paměti, depresemi a špatnou motorickou koordinací [19].

Za posledních 150 let prošly způsoby léčby hypotyreózy vývojem. Během studií byly hormony štítné žlázy nahrazovány extrakty žlázy, které přetrvaly jako základ léčby po dobu téměř sta let [19]. Z toho důvodu, že lidské studie jsou omezené počtem vzorků tkáně, byly vyvinuty zvířecí modely, poskytující základní poznatky o tom, jak regulace dejodáz mohou ovlivnit nahrazení hormonů štítné žlázy. Jelikož fyziologie lidské žlázy je značně podobná fyziologii žlázy malých hlodavců, bylo použito právě jich. Zvířecí modely poskytly výrazný pokrok v léčbě metodou nahrazení hormonů. Byla provedena studie na krysách zbavených štítné žlázy, která dokázala, že samotná terapie v kombinaci s hormony štítné žlázy je schopná normalizovat sérum. Taktéž modely myší byly nápomocné [19].

2.6 Jód v průmyslu

Kromě produktů k lidské spotřebě a zvířecích krmiv se jód používá v mnoha lékařských, zemědělských a průmyslových aplikacích [6].

Používá se k výrobě anorganických jodidů (AgI, KI), léčiv, barviv aj. Ethanolový roztok jódu s obsahem KI se používá v medicíně jako dezinfekce zvaná jodová tinktura [1]. Velký podíl zaujímá výroba rentgenových kontrastních látek, uplatnění nachází jód také při výrobě polarizačních fólií na LCD obrazovkách [6]. Jodid draselný se zavádí do jódových tablet užívaných ke konzumaci v období jaderných nehod k ochraně štítné žlázy před účinky radiace. Biocidní přípravky s obsahem jódu se využívají v barvách jako konzervační látky [6]. K dalším aplikacím řadíme činidla usnadňující polymeraci plastů a jiných procesů vyžadujících chemickou syntézu [6].

2.7 Analytické metody pro stanovení jódu

Obsah jódu ve vodách a potravinách lze stanovit několika metodami. V přírodních vodách byly běžně používány spektrofotometrické metody, ICP-OES, potenciometrická titrace, HPLC, GC nebo iontově selektivní elektrody [20].

Pro množství v řádech mikrogramů byla použita např. spektrofotometrická měření po reakci jódu s malachitovou zelení, brilantní modří a základní tyrkysovou modří [20]. Po konverzi jodidu na jód a extrakci do xylenu, byl extrakt analyzován pomocí ICP-OES při vlnové délce 172,28 nm. Jodičnan redukovaný na jodid byl následně upraven obdobně kvůli stanovení celkového obsahu jodidu a obsahu jodičnanu [20]. Stanovení pomocí GC předcházela derivatizace jodidu do pentafluorobenzyljodidu s použitím pentafluorobenzylbromidu. Derivát byl posléze analyzován pomocí elektronového záchytu jako detekce [20].

Pro měření na HPLC bylo zapotřebí v první řadě konverze na alkyl-halogenid rtuťnatý. Jiná stanovení byla provedena pomocí iontově výměnné vysokoúčinné kapalinové chromatografie s použitím jodid-selektivní elektrody k detekci [20].

V pitných vodách se jód stanovuje zejména spektrometricky, pomocí GC nebo HPLC [20].

V minulosti byly vyvinuty jak ruční, tak automatické spektrometrické metody. Byla použita automatická metoda umožňující stanovení jodidových iontů v pitné vodě v množství menším než $0,4 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ a celkový anorganický jód, včetně jodičnanu v množství menším než $0,2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. Tyto metody byly založeny na katalytickém vlivu jódu na destrukci thiokyanátového iontu iontem nitrátovým. Tyto metody jsou použitelné pro stanovení normálních pitných vod [20].

V běžných potravinách typu ovoce, maso, párky, slanina, sýr, máslo, káva aj. se využívá zejména spektrofotometrických metod. Tyto metody jsou založeny na stejném vlivu na destrukci thiokyanátového iontu jako tomu bylo v případně stanovení jódu v pitných vodách [20].

Při stanovení ve stolní soli se využívá diferenciální pulzní polarografie a HPLC. HPLC se využívá taktéž při analýze mléka nebo léčiv [20].

2.7.1 ICP-OES

2.7.1.1 Princip metody ICP-OES

Princip ICP-OES je založen na detekci emitovaných fotonů vzniklých při deexcitaci elektronů zpět na základní energetickou hladinu. V první řadě je potřeba atomy excitovat dostatečným množstvím energie. Po návratu elektronů na stabilní, základní energetickou hladinu, ze které byly vybudeny, dochází k emisi požadovaného záření definované vlnové délky. Toto záření tvoří emisní spektrum čárového charakteru [21].

Poloha čáry λ popisuje kvalitativní složení vzorku a intenzita jeho kvantitativní složku. Počet čar spektra je úměrný počtu valenčních elektronů [21].

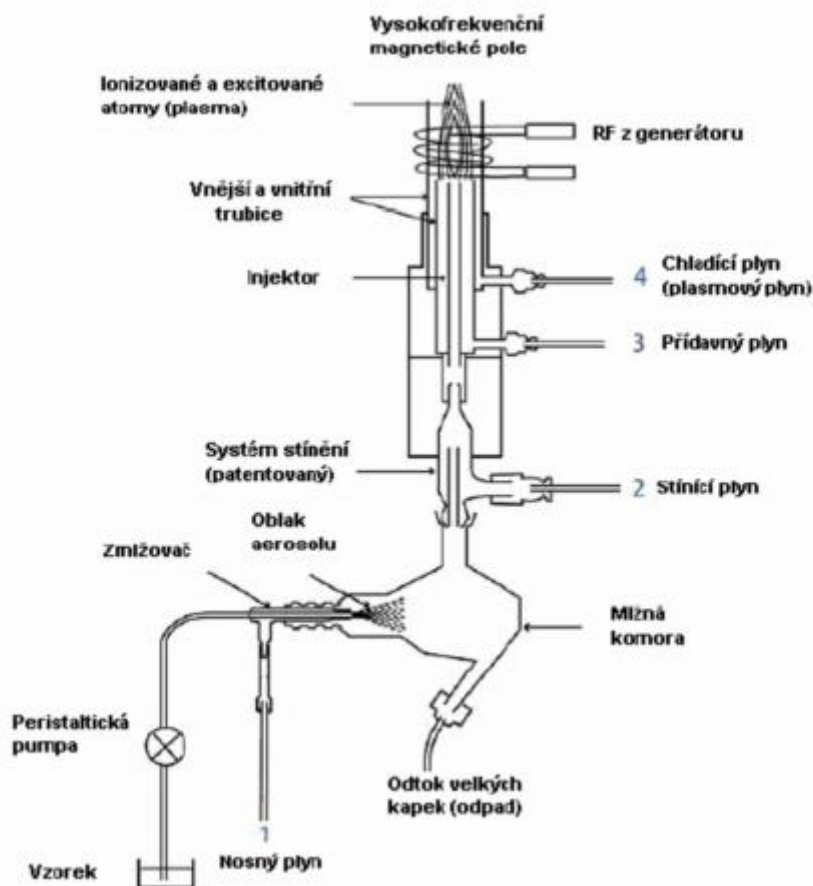
Emitované záření dopadá na optický systém, kde je roztríděno podle vlnových délek. Vyfiltrované záření je snímáno detektorem. Na základě odezvy detektoru je signál zpracován v počítači.

Mezi výhody použití ICP-OES patří kupříkladu nízká mez stanovitelnosti, malé interference a snadná kalibrace [22].

2.7.1.2 Instrumentace ICP-OES

K základním součástem přístroje ICP-OES patří následující:

- Zmlžování a transport vzorku
- Budící zdroj
- Optický systém
- Detektor



Obrázek 2: Instrumentace ICP-OES - Od vzorku po plazmovou hlavici (2)

Zmlžování a transport vzorku

Vzorky v kapalně formě jsou pomocí peristaltické pumpy načerpány do zmlžovače, kde pak dochází k přeměně na aerosol [23].

Zmlžení vzorku je podstatný krok, bez něhož by analýza nemohla být uskutečněna. Po přeměně kapalného vzorku v aerosol, je vzorek unášen nosným plynem-argonem do plazmatu pomocí střední injektorové trubice [24].

Principiálně rozlišujeme zmlžovače pneumatické a ultrazvukové [21].

- Pneumatický zmlžovač pracuje tak, že roztok zpracovává na aerosol vnesením do proudu nosného plynu. U zmlžovačů bez sání aerosol vzniká narušováním filmu vzorku, který stéká po povrchu, štěrbinou nebo sítce přes přívod nosného plynu. Pneumatické zmlžovače nacházejí se využití u viskóznějších kapalin, případně u vzorků s vyšším obsahem solí [21].

Účinnost pneumatických zmlžovačů závisí na průtoku plynu, který strhává kapalinu k ústí nasávání [24].

Množství aerosolu, které je nasáváno do plazmatu, je závislé na velikosti kapek, přičemž ideální výsledky byly zaznamenány pro kapky o průměru menším 10 μm. Pneumatické zmlžovače však tyto podmínky nesplňují [24].

Mezi pneumatické zmlžovače řadíme zmlžovač typu Meinhard a typu Babington [24].

Zmlžovač typu Meinhard je zmlžovač s koncentricky umístěnou nasávací kapilárou a tlakovou dýzou [24].

Ve zmlžovači typu Babington jsou kapilára s dýzou paralelně umístěné. Existuje též možnost, kdy jsou kapiláry umístěny kolmo. Tento typ nazýváme křížový [24].

- Ultrazvukové zmlžovače pracují pomocí energie akustických vln dostatečné frekvence [21]. Aerosol vzniká v důsledku vibrace krystalu materiálu podobném BaTiO₃. Výhodou oproti pneumatickému zařízení je nízká spotřeba vzorku a vysoká účinnost, nicméně komplikaci představuje vysoká cena přístroje [24].

Jemné kapičky se dokáží rozpustit, vypařit a excitovat pro měření, velké kapky odchází do odpadu. Z tohoto důvodu je mezi zmlžovač a hořák umístěna mlžná komora. Mlžná komora slouží také ke snížení pulzace roztoku, které způsobuje peristaltická pumpa [23]. Obecně se mlžná komora navrhuje tak, aby k plazmatu dorazily kapičky o průměru 10 μm a menší. S běžným zmlžovačem a mlžnou komorou do plasmy přichází okolo 1–5 % vzorku, zbývající podíl putuje do odpadu [23].

Budící zdroj

Budící zdroj dodává systému energii potřebnou k emisi záření atomů vzorku. Do plazmatu se zmlžuje roztok vzorku, který je v něm spálen a může docházet k atomizaci a ionizaci valenčních elektronů.

Jako budící zdroj pro ICP-OES se používá plazmový zdroj [22].

- Teplota plazmatu se pohybuje okolo 10 000 K. Do plazma se dostane roztok vzorku ve formě aerosolu v argonu. Plazmový zdroj je schopen s vysokou citlivostí atomizovat a excitovat i prvky nízkých koncentrací a nekovového charakteru [22]. Plazmový zdroj se používá jakožto indukčně vázaný, kdy plazma vzniká díky působení vysokofrekvenčního elektromagnetického pole, které vyvolává indukční cívka v prostředí argonu. Plazma hoří v zařízení zvaném plazmová hlavice [24].

Klasicky se plazmová hlavice skládá ze tří křemenných koncentrických trubic umístěných ve středu cívky [24]. Ve spodní části hlavice se nachází Teslův induktor, díky kterému dochází k ionizaci plazmového plynu [24].

V první fázi Teslova výboje plazmatu vznikají elektrony argonu, které urychluje přítomné elektromagnetické pole a ty dále ionizují nárazem další atomy argonu:

Rovnice 1: Ionizace argonu (1)



Kanálem, který ve výboji vznikne, lze vést aerosol, který vznikl při zmlžení vzorku v chladnějším analytickém kanále, kde také dochází k atomizaci, ionizaci a excitaci elektronů přítomného vzorku.

Excitované atomy Ar* v kanále se uplatňují při ionizační reakci:

Rovnice 2: Ionizační reakce excitovaných atomů Ar (1)*

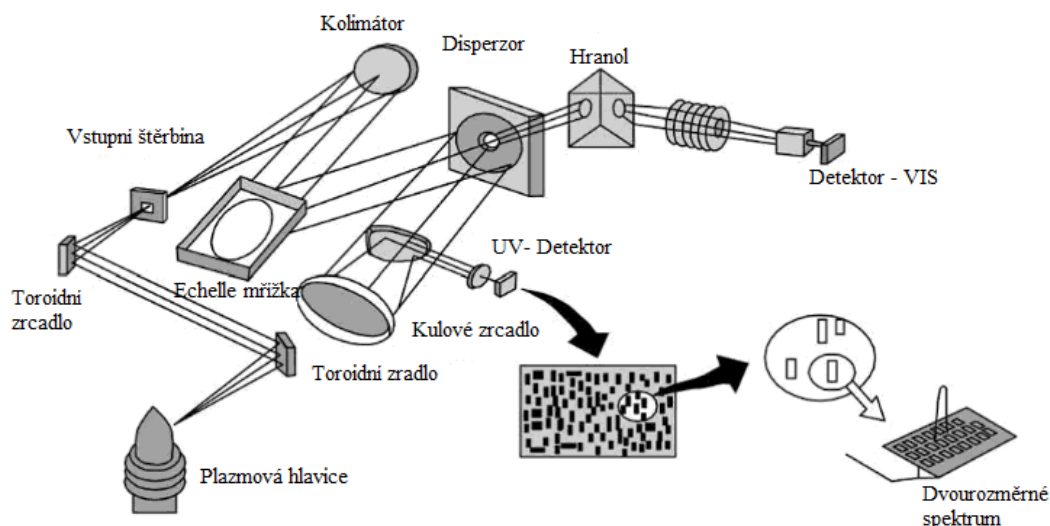


Aby nedošlo k roztavení křemenných trubic, je potřeba plazmu ochlazovat chladícím plynem. Běžně se používá argon nebo dusík [24].

Optický systém

Základní funkcí optického spektrometru je rozklad záření z budícího zdroje na jednotlivé spektrální čáry a měření jejich intenzit [24].

Optický systém se skládá ze vstupní a výstupní štěrbin, soustavy čoček nebo dutých zrcadel a disperzního prvku, tedy hranolu či soustava hranolů, disperzní mřížka a echelle mřížka. Systémy s disperzním prvkem pak nazýváme disperzní systém. V případě, že se spektrální interval upřesňuje na základě absorpce záření, odrazu, ohybu nebo interference, pak se jedná o systém nedisperzní [24].



Obrázek 3: ICP-OES Spektrometr založený na mřížce typu Echelle (3)

Zařízení se vstupní a výstupní štěrbinou nazýváme monochromátor. Obsahuje-li systém 1 vstupní a vícero výstupních štěrbin, jedná se o polychromátor.

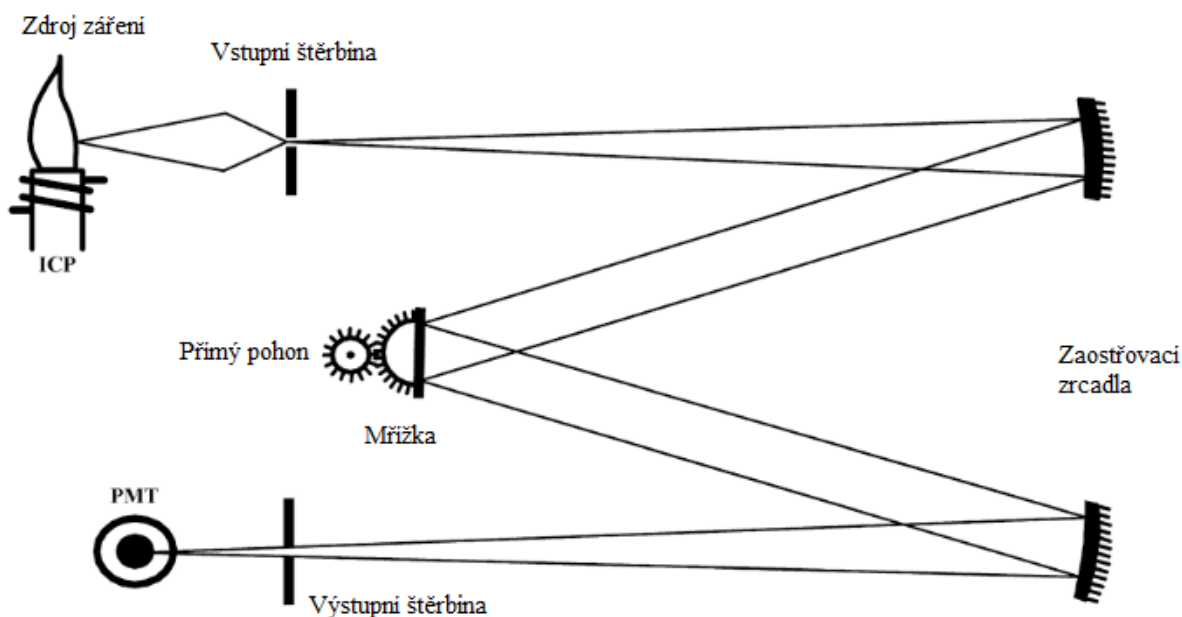
- Hranolový disperzní systém
Disperzním prvkem u hranolových přístrojů bývá nejčastěji trojboký hranol s úhlem lomu 60° . Ve viditelné oblasti se pro výrobu hranolů využívá speciálních skel s velkou disperzitou. V současnosti se využívají více mřížkové disperzní systémy [24].
- Mřížkový disperzní systém
Disperzním prvkem těchto systémů bývá rovinná nebo dutá mřížka, obsahující mnoho pravidelně uspořádaných vrypů na povrchu křemenné destičky. Některé druhy mají na povrchu reflexní vrstvu. Disperzní systémy tohoto druhu mají velkou disperzitu, konstantní v celém spektru [24].

Systém s rovinnou mřížkou

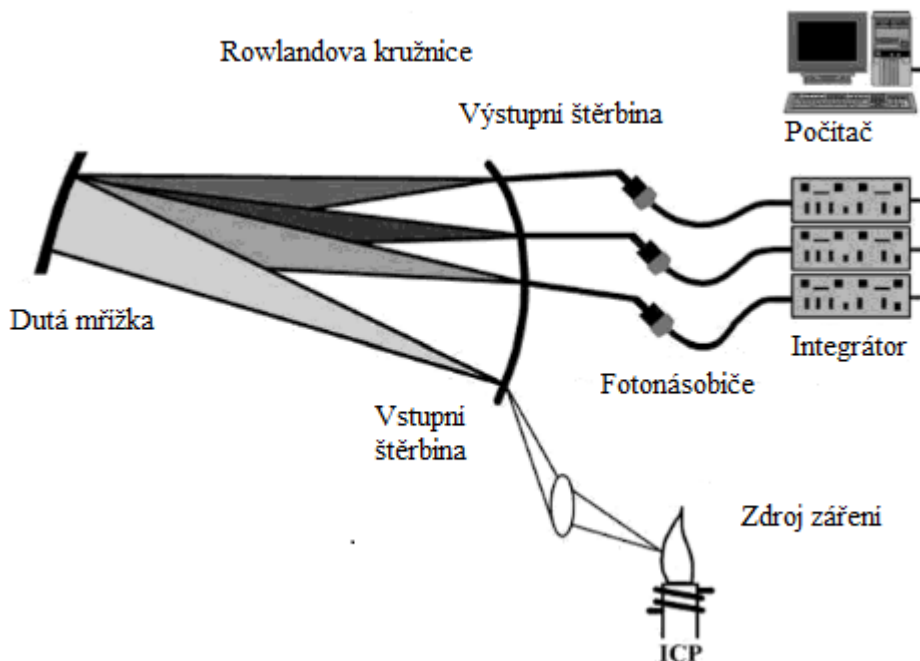
Díky rovinné mřížce lze nastavit vlnovou délku jednoduše. Mřížka je umístěna na pohyblivém stolečku, přičemž přesné nastavení je nastaveno pomocí počítače. Nejčastěji využívanými systémy jsou typy Czerny, Turner, resp. Ebert. Z této konstrukce se odvozuje též např. uspořádání uplatněné v polychromátorech. Ve všech uspořádáních je podstatné duté odrazové zrcadlo, které plní funkci kolimátoru a objektivu [24].

Systém s dutou mřížkou

Disperzní a zaostřovací funkci zároveň vykonává dutá mřížka. Vstupní štěrbinu, dutá mřížka i výstupní štěrbinu těchto systému leží po obvodu kružnice. Základním typem zmíněného uspořádání je konstrukce Paschen-Runge, kde úhel dopadu i odrazu mají konstantní hodnoty. Uspořádání Paschen-Runge se využívá převážně pro polychromátory, nicméně je možné ji použít také pro monochromátory, kde optické části jsou umístěny tak, aby záření, které bude vycházet výstupní štěrbinou, bylo pomocí zrcadel orientováno na jediný detektor. Výstupní štěrbinu je pohyblivá [24].



Obrázek 4: Czerny-Turner monochromátor (3)



Obrázek 5: Paschen-Runge polychromátor (3)

Detekce

Během detekce v OES se zaznamenává elektromagnetické záření, které je emitováno při zániku excitovaných stavů elektronů v UV, VIS oblastech [24].

V praxi se uplatňují detektory fotografické, fotonásobiče, diodová pole nebo SSD detektory.

- **Fotografická detekce**
Přístroje založené na tomto způsobu detekce nazýváme spektrografy. Z jednoho vzorku je možné získat obsáhlé spektrum, informace o vlnových délkách, intenzitě čar i o pozadí [24].
- **Fotoelektrická detekce**
Přístroje využívající fotoelektrickou detekci nazýváme spektrometry. Detektory bez vnitřního zesílení nazýváme fotonky, které se využívají spíše v plamenové emisní spektrometrii. Obsahují-li detektory vnitřní zesílení emise elektronů, pak se jedná o tzv. fotonásobiče [24].

Fotonásobiče

Fotonásobiče se používají jako základní detekční prvek u automatických spektrometrů. Běžně se nachází za výstupní štěrbinou monochromátoru/polychromátoru. Proud fotonů z detektoru je během buzení vzorku nabíjen pomocí kondenzátoru, na jehož výstupu vzniká potenciál úměrný zářivému toku dopadajícímu na fotonásobič [24].

Hodnoty napětí se v počítači převádějí na analytické informace.

Soustava stávající se ze vstupní štěrbinou fotonásobiče, tlumícího článku, který reguluje napětí, a integračního obvodu se nazývá kanál. Za monochromátorem bývají zpravidla umístěny až dva kanály, přičemž druhý kanál slouží k měření intenzity pozadí. V případě polychromátoru se využívá stejného počtu kanálu, kolik má zařízení výstupních štěrbin [24].

Mezi další fotoelektrické detektory patří lineárně uspořádané fotodiody a snímací elektronky disektor (IDT) [24].

Lineárně uspořádané křemenné fotodiody

Tento typ detekce využívá rozsáhlý počet sériově zapojených diod o šířce 20 μm , vzdálených od sebe 25–100 μm . Každá z fotodiody je paralelně zapojena ke kondenzátoru. Detektor se nachází v ohnisku objektivu disperzního systému. Fotodiody se prakticky využívá u sekvenčních měření [24].

Snímací elektronka disektor (IDT)

Detekce skládající se z fotokatody, elektronového optického systému a elektronového násobiče. Mezi násobiči a optikou je vložena apertura. Fotokatoda je umístěna do ohniska objektivu, případně zrcadla. Fotoelektrony vysílané fotokatodou jako svazek jsou nasměrovány na stínidlo s aperturou. Následně elektrony dopadají na elektronový násobič a počet fotonů se měří v počítači. IDT se využívají v echelle spektrometrech. Poskytovaný signál se objevují v oblasti 200–800 nm [24].

- **SSD Detektor**
Existují dva typy optických SSD detektorů: CCD (Charge Couple Device) a CID (Charge Injection Device) detektor [25].
Oba typy detektoru jsou složeny z křemíkových destiček, které obsahují dvojrozměrné pole prvků citlivých na světlo-pixelů. Když světlo dorazí na povrch detektoru, fotony uvolňují

elektrony v detektorovém substrátu, které jsou pak zachyceny v pixelových místech. Každý pixel je schopen ukládat řadu elektronů [26].

Hlavní rozdíl tkví v tom, že CCD čte všechny pixely rychle po sobě, zatímco CID přistupuje ke čtení jednotlivých pixelů v náhodném pořadí [25].

2.7.1.3 Analytické využití metody ICP-OES

V zemědělství a potravinářství se pomocí ICP-OES stanovují vzorky s obsahem solí, rostlinné materiály, krmiva, potraviny. Stanovuje se obsah esenciálních živin i toxikantů. Běžné je stanovení stopového množství kovů v rýži, pивě a víně [23].

V medicíně se využívá ke stanovení esenciálních a toxických prvků jako je Pb, Hg a Cd v krvi, Ni a Cu v moči, nebo B, P a S v kostech [23].

Další použití nachází metoda v metalurgii, při stanovení obsahu prvků v kovech nebo při stanovení lanthanoidů [23].

2.7.2 Iontová chromatografie

2.7.2.1 Princip metody

Chromatografie je fyzikálně-chemická separační metoda, která využívá neustále se opakující tvorby rovnovážných stavů. Základem u všech typů chromatografie je rozdělení analytu mezi stacionární a mobilní fázi. V obecném pohledu na věc se může jednat o škálu možných reakcí, kupříkladu adsorpci, chemisorpci, precipitaci, tvorbu komplexu aj. Pro chromatografii je typickou interakcí právě kombinace uvedených reakcí, během nichž se uplatňují intermolekulární síly [27].

Chromatografie na iontových měničích je založena na iontových interakcích mezi ionty analytu a ionizovanými funkčními skupinami měniče tvořícího stacionární fázi s opačným nábojem oproti náboji analytu [28].

Podle náboje analytu dělíme IC na aniontovou a kationtovou [29].

Při separaci látek na ionexech se využívá jejich různé selektivity sorpce k měniči, kterou popisuje rovnovážná konstanta iontové reakce [28].

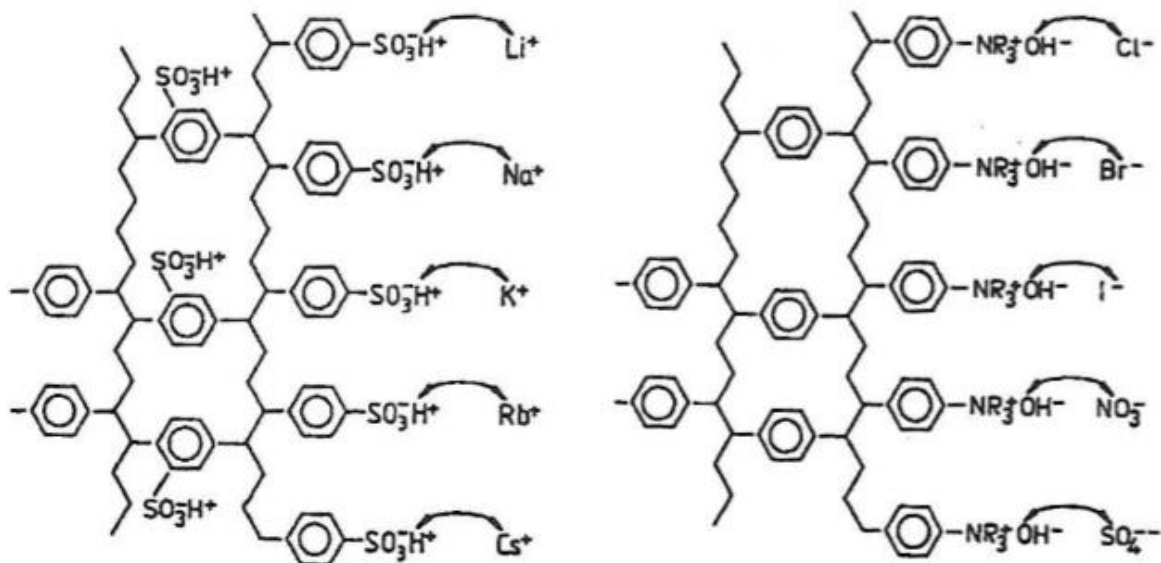
2.7.2.2 Měníče iontů

V IC se používá řada stacionárních fází, které na povrchu nesou funkční skupiny na bázi iontové výměny-měníče iontů [31]. Běžný iontoměníč je vysokomolekulární ion s rigidní strukturou, jehož charakteristické substituenty mají danou velikost částic a pórovitost [27]. Zpravidla rozlišujeme iontoměníče na katexy a anexy, podle obsažené funkční skupiny [28].

Katexy jsou nerozpustné, polymerní kyseliny uvolňující kationty. Mohou to být slabé i silné sloučeniny, přičemž u silných sloučenin hovoříme o iontoměníčích, které se dokáží plně disociovat v rozsahu pH=1–14 [28]. Anexy jsou naopak bázemi uvolňujícími anionty. Opět se můžeme shledat se silnými i slabými, avšak silné anexy se dokáží disociovat v pH=1–12 [28].

Aktivní skupina iontoměníče se skládá z iontu vázaného a iontu vyměnitelného, který se disociuje. Tento tzv. protiion bývá v procesu výměny iontů zaměněn za jiný ion. Druh vázaného iontu označujeme jako cyklus, tento pojem je následně doplněn o daný ion [32]. Množství aktivních skupin měniče vyjadřuje výměnná kapacita, definovanou libovolnými jednotkami, např. teoretická hmotnostní výměnná kapacita, teoretická objemová výměnná kapacita nebo analytická hmotnostní výměnná kapacita [32].

Příkladem používaných ionexů může být trifluoroctová kyselina, benzensulfonová kyselina, karboxylový aniont nebo aminy [28].



Obrázek 6: Schéma frakce kationtoměniče, aniontoměniče (4)

Strukturně členíme iontoměniče následovně:

Tabulka 2: Strukturální rozdělení iontoměničů [28]

Stacionární fáze	Popis
Povrchově porézní	Vrstva měniče je nanášena na pórovitou matici
Mikroparticulární s organickou maticí	Též známé jako ionexové pryskyřice; zástupci jsou ionexy styrenového případně akrylátového typu
Chemicky vázané iontoměniče	Jako matrice v tomto případě slouží silikagel

2.7.2.3 Instrumentace metody IC

IC probíhá v uzavřeném systému, který obsahuje následující části:

- Čerpadlo mobilní fáze
- Dávkovací zařízení
- Uzavřená kolona se stacionární fází
- Supresor
- Detektor

Čerpadla

Čerpadla pro kapalinovou chromatografii musí být schopna dávkovat tok kapaliny plynule při tlacích až MPa s nastavitelnými průtoky, které odpovídají konkrétnímu typu kolon. Rozlišujeme tři základní typy čerpadel, a to čerpadlo pneumatické, lineární a reciproční [27].

- Pneumatická čerpadla

Stlačený plyn, jakožto zdroj tlaku, bývá buď v kontaktu s kapalinou, nebo je oddělen pístem. Tato čerpadla dobře udržují nastavený průtok, avšak nevýhodou je jejich obtížné zapojení do systému [27].

- Lineární dávkovač

Jedná se o vysokotlaký válec s pístem, jehož rychlost pohybu je řízena motorem. Jedná se o čerpadlo s bezpulsním způsobem toku [27].

- Reciproční čerpadla

Součástí tohoto typu čerpadel jsou zpětné ventily, které se zavírají a otevírají při pravidelném pohybu pístu, přičemž poloha pístů se obměňuje při vytlačování kapaliny.[30] Reciproční čerpadla se vyrábí v podobě pístových a membránových čerpadel. U pístové verze se mobilní fáze stýká přímo s pístem, v případě membránového čerpadla je kapalina od pístu oddělena membránou [30], [27]. Výhodně se využívají při gradientové eluci. Gradient složení mobilní fáze můžeme provést v nízkotlaké části před čerpadlem, nebo ve vysokotlaké části chromatografu, při použití více čerpadel podle obsahu složek mobilní fáze [27].

Dávkování

K nanesení vzorku do toku mobilní fáze slouží dávkovací kohouty. Odměření objemu vzorku zajišťuje dávkovací smyčka, jež může být vnitřní i vnější. Vnější smyčka je tvořena nerezovou kapilárou o objemu 5–100 μl [27]. Vzorek je vnesen vřazením smyčky do mobilní fáze otočením ventilu. Menší objemy bývají dávkovány vnitřní smyčkou. Dávkovací ventil bývá zpravidla čtyřcestný nebo šesticestný, bývá elektricky ovládan a často slouží jako součást automatických dávkovačů [27].

Též je možné použití septového dávkovače, který vnáší vzorek do systému pomocí injekční stříkačky. Výhodou tohoto způsobu dávkování je možnost obměňování objemů dle potřeb uživatele, avšak nevýhodou je častá potřeba výměny septa [27].

Ačkoliv je variace objemů vnášeného vzorku komfortní, v porovnání dávkovacích zařízení je automatický dávkovač přesnější [27].

Detektory

Nejvíce využívaným detektorem v IC je detektor vodivostní, jelikož je pro měření iontů univerzální. Jelikož většina iontů nemá UV chromofory, není tak možná absorpce UV a měření vodivosti mobilní fáze je proto ideální volbou [29].

Základ detektoru tvoří dvě elektrody-platinová nebo zlatá, napájené střídavým napětím [27]. Při některých analýzách aniontů se využívá též fotometrický detektor [29].

Optimální detektor v kapalinové chromatografii splňuje následující vlastnosti: vysoká citlivost, nízký šum, lineární odezva, možnost gradientové eluce, minimální vliv na změny tlaku, teploty a průtoku mobilní fáze [27].

Kolona

Kolona je trubice různé délky a průměru, která se vyrábí z nerezové oceli, tvrzeného skla, či plastu. Její funkcí je tvořit prostor pro stacionární fázi [27]. Základem výplně kolony v IC, tedy stacionární fáze–měničů iontů je nosič, běžně silikagel [29]. Kolona pro IC mívá v průměru 6–10 mm a bývá dlouhá 150–1000 mm [27].

Supresor

Významnou součástí moderního iontového chromatografu je supresor. Supresor potlačuje vodivost pozadí eluátu pomocí výměny iontů přes membránu případně použitím vysokokapacitní iontově-výměnné pryskyřice [29]. V případě, že se eluát skládá z ředěného roztoku původně silné kyseliny (např. HNO_3) nebo báze (např. KOH), vysoká vodivost pozadí může být zásadním způsobem eliminována díky výměně elučních protiiontů (NO_3^-/K^+) za OH^- –případně H_3O^+ , tvořících H_2O v obou případech [29].

2.7.2.4 *Analytické využití metody IC*

Již ve 20.století se IC využívala ke stanovení aminokyselin, další biochemické uplatnění nachází při separaci nukleových kyselin [28].

Obecně vzato je moderní IC schopná provést kvantitativní analýzu při koncentracích rozpuštěných látek v rozmezí 10 µg/l-10 mg/l. Běžně se tak využívá k analýze vzorků vodných vzorků s anorganickými ionty. Taktéž byla IC již použita pro stanovení organických i anorganických kationtů, a to zejména pro ionty kovů a organických aminů [29].

CO se průmyslového využití týče, jedněmi z největších uživatelů IC jsou potravinářské a nápojové odvětví. Konkrétně se aplikuje např. v analýzách dětské stavy, ke kontrole obsahu dusičnanů a dusitanů; ke sledování obsahu konzervačních iontů, stanovení pozůstatků bromičnanu v pekárenských výrobcích. V pivovarnictví se používá ke stanovení a sledování kvasících cukrů, jako jsou glukóza, fruktóza, či maltóza. Avšak hlavní aplikací IC v potravinářství je stanovení organických kyselin ve víně, pivu nebo džusech [29].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Seznam použitých chemikálií

- Ultra čistá deionizovaná voda ze stanice ELGA PureLab Classic (Veolia Water Systems Ltd., UK)
- Kyselina dusičná 68 %, p.a.+ (Analytika Praha spol., s.r.o., ČR)
- Standard jodidů o koncentraci 1 g·dm⁻³ (Analytika Praha spol. s.r.o., ČR)

3.2 Použité laboratorní pomůcky

- Běžné laboratorní sklo
- Mikropipety
- Plastové zkumavky

3.3 Použité přístroje

- Analytické laboratorní váhy AND HA-202M (A&D Company, JAP)
- Stanice pro přípravu ultra čisté deionizované vody ELGA PureLab Classic (Veolia Water Systems Ltd., UK)
- Ultrazvuková lázeň (Ultrasonic Compact cleaner PSO 3000 A; PowerSonic s.r.o.)
- Autosampler AS 500 (Horiba Scientific Ltd., F)
- Optický emisní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem Jobin Yvon Ultima 2 (Horiba Scientific Ltd., FR)
- Iontový chromatograf (Metrohm 850 Professional Ion Chromatograph)

3.4 Analyzované vzorky

Po dohodě s vedoucím práce byly odkoupeny z obchodní sítě minerální vody následujících českých značek: Vincentka, Zaječická hořká, Hanácká kyselka a ze slovenských značek potom Sulínka a Cigelka.

Tabulka 3: Obsah jodidů ve vzorcích uváděný výrobcí

Vzorek	c [mg·l ⁻¹]
Vincentka	6,880
Zaječická Hořká	0,488
Hanácká kyselka	0,110
Sulínka	0,060
Cigelka	0,423

3.4.1 Příprava vzorků pro stanovení pomocí ICP-OES

Vzorky o objemu 20 cm³ byly přímo odebrány ze zásobní lahve a degasovány pomocí UV po dobu 20 min při laboratorní teplotě. Takto připravené vzorky byly následně použity pro finální analýzu pomocí techniky ICP-OES.

3.4.2 Příprava vzorků pro stanovení pomocí IC

Vzorky byly rovněž přímo odebrány ze zásobní lahve a degasovány pomocí UV. Po 10 minutách v ultrazvukové lázni byly vzorky použity pro srovnávací analýzu pomocí techniky IC.

3.4.3 Příprava kalibračních roztoků pro optimalizaci techniky ICP-OES

Vzorky byly připraveny ředěním zásobního standardu o koncentraci $1 \text{ g}\cdot\text{l}^{-1}$.

Pro účely optimalizace byla provedena 4 měření kalibračních roztoků, simulující rozličné podmínky. K prvnímu testovacímu měření byly použity roztoky o koncentracích $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, $5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, $10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Pro druhé a třetí měření sloužícímu ke kontrole vlivu průtoku G a tlaku, byl zvolen následující rozsah koncentrací: $0 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, $0,5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, $5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, $10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$, $25 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a $50 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

V případě ověření míry vlivu pH byly připraveny vzorky následovně. Do tří odměrných baněk o objemu 25 ml bylo přidáno 125 μl standardu jodidů. První roztok byl pouze doplněn ultra čistou deionizovanou vodou po rysku. Ke druhému roztoku bylo přidáno 10 μl koncentrované HNO_3 , do posledního roztoku bylo přidáno 25 μl koncentrované HNO_3 a dále byl druhý i třetí roztok doplněn ultra čistou deionizovanou vodou po rysku.

3.4.4 Optimalizace techniky ICP-OES

Tabulka 4: Základní nastavení přístroje ICP-OES pro měření před optimalizací.

Přístroj	ICP-OES Ultima 2 (Horiba Scientific Ltd., Illkirch Cedex F)
Zmlžovač	Typ Meinhard
Mlžná komora	Cyklonová
Tlak na zmlžovači	3–3,3 bar
Výkon generátoru	1200 W
Rychlost otáček peristaltické pumpy	20 rpm
Průtok Ar	Plazmový plyn P ₁ $13 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ Plazmový plyn P ₂ $14 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ Auxiliární plyn $0,2 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ Přídavný plyn G ₁ $0,2 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$ Přídavný plyn G ₂ $0,5 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$

Tabulka 5: Nastavení přístroje ICP-OES pro měření testu robustnosti

Parametr	Značka	Základní hodnota	Změna parametru
Výška hořáku	A	0 mm	+1 mm
Tlak na zmlžovači	B	0,3 MPa	0,33 MPa
Průtok plynu (G ₁ , G ₂)	C	G ₁	G ₂
Auxiliární plyn	D	Zapnutý	Vypnutý
Plazmový plyn (P ₁ , P ₂)	E	P ₁	P ₂
Změna pH	F	Bez úprav pH	S přidavkem HNO ₃ koncentrované
Přídavek soli (NaCl)	G	Bez přídavku soli	S přidavkem soli

3.4.5 Analýza pomocí metody Iontová chromatografie

Měření bylo provedeno na Fakultě chemické, VUT v Brně. Základní nastavení přístroje uvádí Tabulka 6. Analýza slouží k porovnání výsledků optimalizované metody ICP-OES, pro určení správnosti a přesnosti měření.

Tabulka 6: Parametry přístroje pro Iontovou chromatografií pro měření viz Obrázek 9

Přístroj	Metrohm 850 Professional Ion Chromatograph
Typ kolony	Metrosep A supp 7
Rozměry kolony	250/4 mm
Teplota kolony	45 °C
Mobilní fáze	3,6 mmol·l ⁻¹ Na ₂ CO ₃
Průtok mobilní fáze	0,7 ml·min ⁻¹
Nástřík	20 µl
Supresní roztok	100 mmol·l ⁻¹ H ₂ SO ₄

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Optimalizace ICP-OES

Optimalizaci metody je třeba provést vždy před zahájení analýzy, jelikož podmínky měření pro různé roztoky se liší. Na základě testu robustnosti byly určeny parametry, které bylo nutno optimalizovat pro ideální analýzu jódu ve vzorcích minerálních vod.

4.1.1 Výběr vlnové délky

Ve VUV oblasti má jód tři přední emisní čáry: 142,549, 178,276 a 183,038 nm. Nejintenzivnější emisní čára se objevuje při 178,218 nm a dále při 182,980 nm [34].

Hlavním problémem při používání nejintenzivnějších emisních čar pro měření jódu je blízká hodnota emisní čáry fosforu, která se nachází v rozmezí pouze 0,007 až 0,011 nm. S dobrým monochromátorem je sice možné od sebe rozlišit emisní čáry prvků, ale pokud je poměr fosforu k jódu vysoký, jak je tomu ve většině biologických vzorků, pak nelze vyloučit chyby měření [34].

I když je spektrální čára při 183 nm méně citlivá, není rušena interferencí fosforu. Ku příkladu v experimentu, který provedli Braselton a jeho kolegové [34], byl po rozpuštění vzorku zelené řasy chlorella obohacené jódem stanoven LOD $3 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ právě při 183 nm [34].

Aby se předešlo interferencím fosforu, je možné jód izolovat z matrice např. ve formě par (I_2). Nakahara a Wasa upřednostňovali tuto techniku za použití HClO_4 nebo H_2O_2 pro oxidaci [34].

Během analýz jednotlivých typů vzorků při různých vlnových délkách autoři článku [35] získali následující výsledky. Pomocí měření ICP-OES s axiálním pozorováním ve vzorcích mléka nebyly na emisní čáře 183,038 nm zaznamenány žádné interference, v referenčním roztoku byla spektrální čára při 183,038 nm ovlivněna přítomností hliníku, vápníku a železa. Pomocí měření ICP-OES s radiálním pozorováním byly pozorovány interference způsobené přítomností uhlíku a fosforu ve vzorcích chlorelly obohacené o jód. Tyto interference se objevují při vlnových délkách 178,218 a 182,98 nm [35]. U produktů z mořských řas, potravinových doplňků a minerálních vod se objevovaly spektrální interference ve 178,276 nm způsobené spektrální čarou fosforu ve 178,2829 nm [35].

Na základě výše uvedených informací by měla být pro optimalizaci techniky ICP-OES a stanovení jódu ve vzorcích minerálních vod použita vlnová délka 178,276 nm, nicméně tato vlnová délka se nachází příliš hluboko v UV oblasti pro analýzu pomocí přístroje Ultima 2. Z tohoto důvodu byla vybrána vlnová délka 182,976 nm.

4.1.2 Robustnost

Pro zjištění parametrů ovlivňujících výsledky analýz, byl proveden test robustnosti.

Robustnost metody vyjadřuje schopnost zůstat netečný vůči malým, avšak záměrným změnám parametrů metody a poskytuje informaci o jeho spolehlivosti během používání. Dalo by se říci, že pomocí testu robustnosti určíme závislost signálu na změnách parametrů, které charakterizují metodu. Kritické parametry měření se nastavují na nominální úrovni, která obsahuje základní nastavení parametrů a je převzata z dokumentů SOP a na alternativní úrovni, která se skládá z parametrů pozměněných o malou hodnotu [36].

Test robustnosti slouží ke zjištění tzv. kontrastů parametrů. Potvrdí-li se předpoklad, že kontrasty jsou nulové, pak je metoda robustní pro daný parametr [36].

Pro test robustnosti byl zvolen standard o koncentraci $5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Pro vzorky obohacené o NaCl činil jeho přípravek 0,025 g, roztoky o nízkém pH byly okyseleny 25 μl koncentrované HNO_3 . Nastavení všech parametrů pro test robustnosti uvádí Tabulka 7.

Tabulka 7: Základní nastavení zvolených parametrů testu robustnosti [36]

	1	2	3	4	5	6	7	8
A/a	A	A	A	A	a	a	a	a
B/b	B	B	b	b	B	B	b	b
C/c	C	c	C	c	C	c	C	c
D/d	D	D	d	d	d	d	D	D
E/e	E	e	E	e	e	E	e	E
F/f	F	f	f	F	F	f	f	F
G/g	G	g	g	G	g	G	G	g
VÝSLEDKY	r	t	u	v	w	x	y	z

Tabulka uvádí kritické parametry, velkými písmeny označuje nominální úroveň, malými pak alternativní úroveň parametrů [36].

Číselné hodnoty výsledků z testu robustnosti uvádí Tabulka 8.

Tabulka 8: Výsledky testu robustnosti

r	t	u	v
24 085	44 520	139 339	10 925
w	x	y	z
19 739	52 676	108 673	10 201

Z naměřených výsledků lze následovně určit průměr měřeného signálu:

Rovnice 3: Výpočet průměru měřeného signálu (2)

$$p = \frac{r + t + u + v + w + x + y + z}{8} \quad 3.$$

a směrodatnou odchylku podle vzorce:

Rovnice 4: Výpočet směrodatné odchylky(2)

$$s = \sqrt{\frac{(r - p)^2 + (t - p)^2 + (u - p)^2 + (v - p)^2 + (w - p)^2 + (x - p)^2 + (y - p)^2 + (z - p)^2}{7}} \quad 4.$$

Dále lze určit interval spolehlivosti jako:

Rovnice 5: Interval spolehlivosti (2)

$$L_{1,2} = V_i \pm t_{0,95} \cdot \frac{s}{\sqrt{2}} = V_i \pm \Delta, \text{ kde} \quad 5.$$

$V_i=0$,

t =tabelovaný koeficient t-rozdělení, $t_{0,95}=1,895$ [37].

V případě, že vypočtený interval spolehlivosti obsahuje bod nula, pak se jedná o statisticky bezvýznamný kontrast a postup je pro daný parametr robustní. Robustnost posuzujeme srovnáním absolutní hodnoty kontrastu s hodnotou Δ . Je-li absolutní hodnota kontrastu menší než hodnota Δ , parametr je robustní [36].

Kontrasty parametrů sloužící pro výpočet intervalu spolehlivosti viz Rovnice 5 byly vypočteny podle následujících rovnic 6-12 (2):

Rovnice 6

$$V_A = \frac{1}{4} \cdot (r + t + u + v) - \frac{1}{4} \cdot (w + x + y + z) \quad 6.$$

Rovnice 7

$$V_B = \frac{1}{4} \cdot (r + t + w + x) - \frac{1}{4} \cdot (u + v + y + z) \quad 7.$$

Rovnice 8

$$V_C = \frac{1}{4} \cdot (r + u + w + y) - \frac{1}{4} \cdot (t + v + x + z) \quad 8.$$

Rovnice 9

$$V_D = \frac{1}{4} \cdot (r + t + y + z) - \frac{1}{4} \cdot (w + x + u + v) \quad 9.$$

Rovnice 10

$$V_E = \frac{1}{4} \cdot (r + z + u + x) - \frac{1}{4} \cdot (w + v + y + t) \quad 10.$$

Rovnice 11

$$V_F = \frac{1}{4} \cdot (r + w + z + v) - \frac{1}{4} \cdot (t + u + x + y) \quad 11.$$

Rovnice 12

$$V_G = \frac{1}{4} \cdot (r + x + y + v) - \frac{1}{4} \cdot (w + t + u + z) \quad 12.$$

Hodnoty vypočtených kontrastů uvádí Tabulka 9.

Tabulka 9: Hodnoty kontrastů

V_A	V_B	V_C	V_D
6 895	-32 029,5	43 378,5	-8 800
V_E	V_F	V_G	
10 611	-70 064,5	-4 360	

Pomocí rovnic 3, 4 a 5 byly vypočteny hodnoty průměru měřeného signálu, směrodatné odchylky a intervalu spolehlivosti, výsledky zaznamenává Tabulka 10.

Tabulka 10: Hodnoty průměru měřeného signálu, směrodatné odchylky a intervalu spolehlivosti

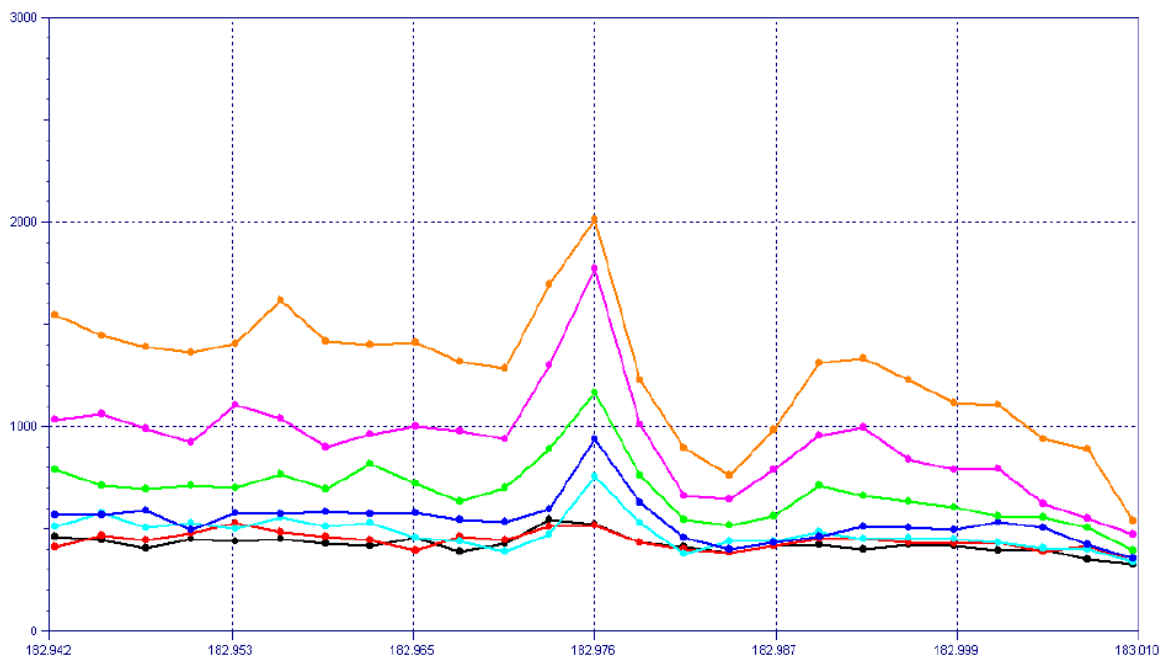
Průměr měřeného signálu \bar{p}	51 269,75
Směrodatná odchylka s	48 027,38
Interval spolehlivosti $L_{1,2}$	64 524,92

Porovnání absolutních hodnot kontrastů viz Tabulka 9 s intervalem spolehlivosti udává, že měření je robustní pro všechny parametry kromě průtoku přídavného plynu G_2 .

Významné ovlivnění měřeného signálu bylo pozorováno i pro hodnoty pH. Z tohoto důvodu byl vliv pH dále zkoumán.

4.1.3 Optimalizace průtoku přídavného plynu

Z důvodu zjištění vlivu průtoku přídavného plynu bylo provedeno optimalizační měření s nastavením průtoku plynu 0,2-0,8 l·min⁻¹. Podle grafického vyhodnocení viz Obrázek 7 jsme došli k závěru, že optimální nastavení pro měření jódu při dané vlnové délce se pohybuje okolo 0,5 l·min⁻¹.



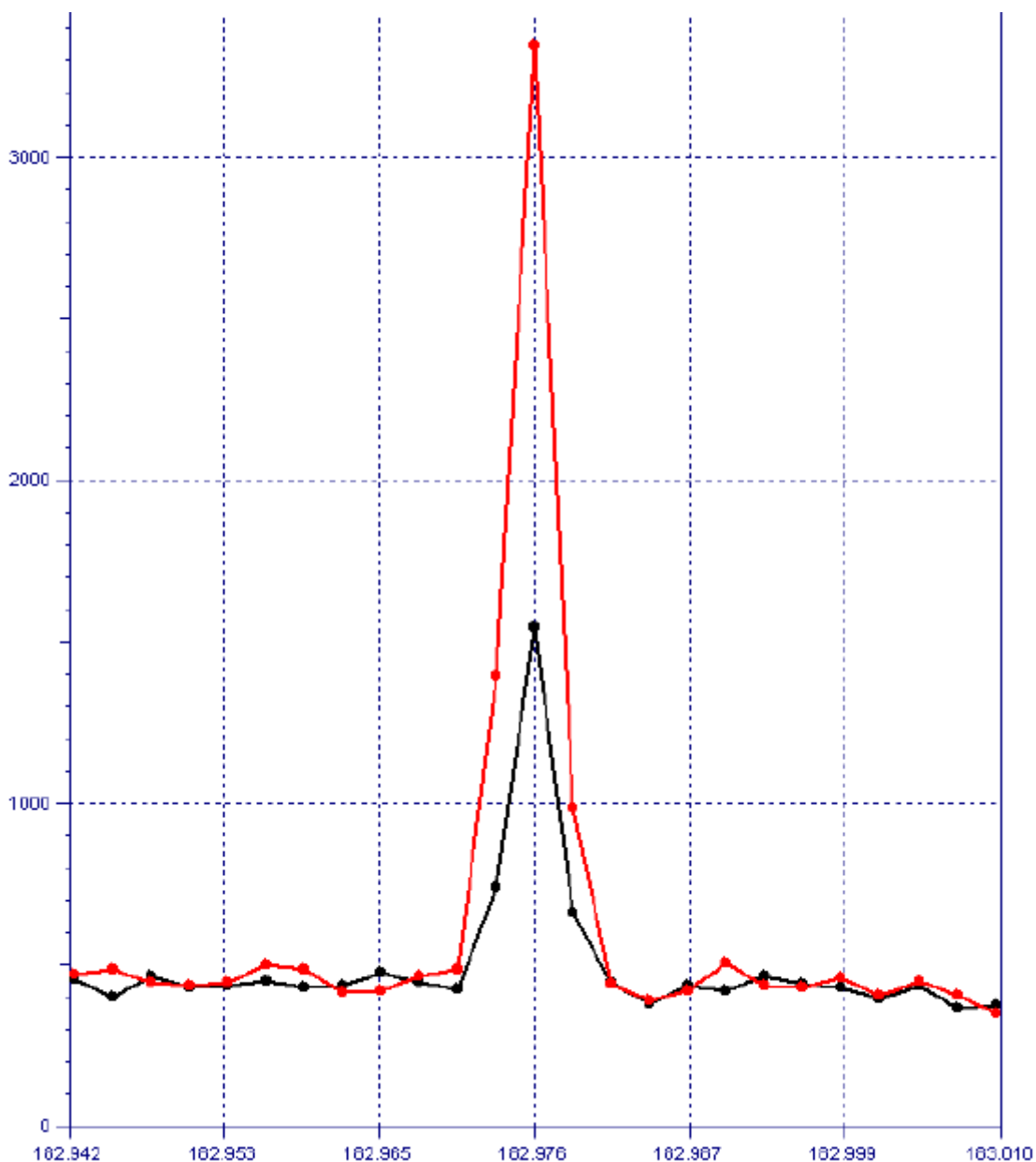
Obrázek 7: Optimalizace průtoku přídavného plynu G_2 , kde na osa x vyjadřuje vlnovou délku λ , osa y intenzitu záření. Jednotlivé průtoky jsou znázorněny křivkami následujících barev: oranžová pro 0,2 l·min⁻¹, růžová pro 0,3 l·min⁻¹, zelená pro 0,4 l·min⁻¹, tmavě modrá pro 0,5 l·min⁻¹, světle modrá pro 0,6 l·min⁻¹, červená pro 0,7 l·min⁻¹ a černá pro 0,8 l·min⁻¹.

4.1.4 Optimalizace vlivu pH

Jelikož byl pozorován také vliv pH na měřený signál, byl tento parametr dále zkoumán.

Bylo provedeno optimalizační měření, kde byly použity roztoky standardu o koncentraci $5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Tyto standardy byly dále okyseleny přidavkem koncentrované HNO_3 v rozmezí 0, 10 a 25 μl HNO_3 .

Ve výstupu měření viz Obrázek 8 pozorujeme nárůst signálu v kyselejším prostředí. Tuto skutečnost lze odůvodnit oxidací jódu na těkavé formy v prostředí HNO_3 [33]. Tyto těkavé formy se pak mohou lépe dostat do plazmatu a detekovaný signál je o to vyšší.



Obrázek 8: Optimalizace pH, kde osa x vyjadřuje vlnovou délku λ , osa y intenzitu záření

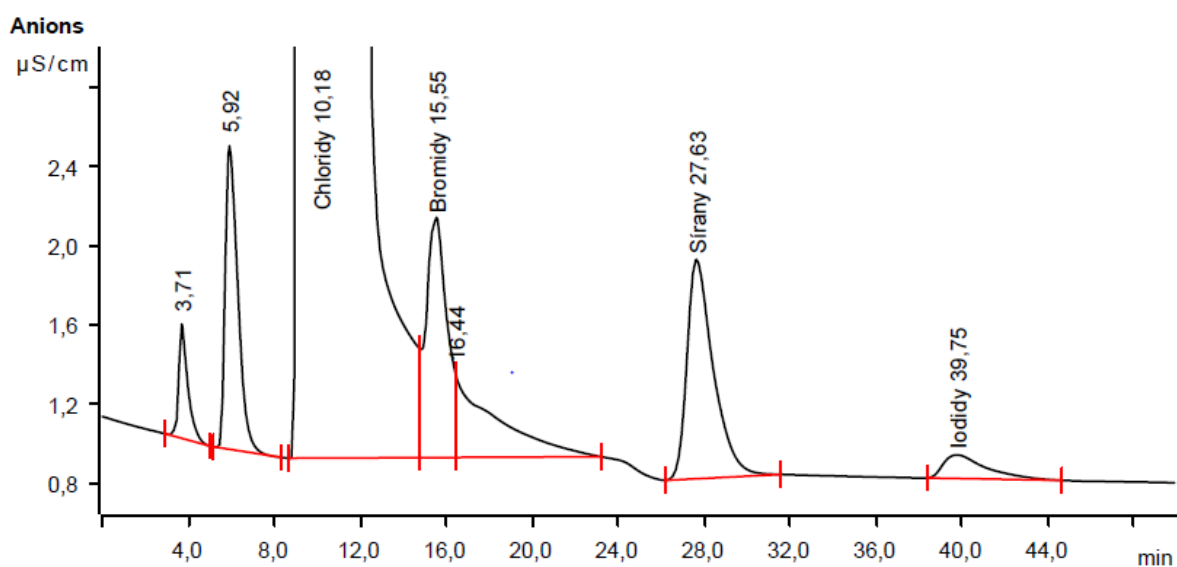
Červená křivka v grafu značí kyselé prostředí, kterého bylo dosaženo přidavkem 25 μl koncentrované HNO_3 . Oproti tomu křivka černá značí vzorek samotný, bez přidavků kyseliny.

4.1.5 Správnost metody

Správnost vyjadřuje odchylku výsledku od skutečné hodnoty, kombinuje pravdivost a přesnost měření. Pravdivost značí těsnost střední hodnoty souboru výsledků metody vůči skutečné hodnotě. Přesnost popisuje proměnlivost výsledků, které byly získány metodou. Přesnost bývá obvykle vyjadřována směrodatnou odchylkou opakovatelnosti a směrodatnou odchylkou reprodukovatelnosti [36].

Určit odchylku metody jakožto míru pravdivosti lze buďto analýzou certifikovaného referenčního materiálu, anebo porovnáním validované metody s jinou validovanou metodou, u které známe přibližnou hodnotu odchylky, nejlépe s primární metodou měření [36].

Vzorek minerální vody Vincentka byly pro srovnání proměřeny pomocí Iontové chromatografie, bohužel citlivost metody je nižší oproti metodě ICP-OES. Koncentrace jodidů ve vzorku minerální vody Vincentka byly znatelně nízké a zaznamenány byly pouze v minerální vodě-Vincentka, v ostatních vzorcích nedokázal přístroj hodnoty stanovit.



Obrázek 9: Výstup z chromatografu znázorňující obsah minerálních látek v minerální vodě-Vincentka

Potíže během analýzy mohly způsobovat další přítomné soli. Evidentní je vysoké zastoupení chloridů, bromidů a síranů. Retenční čas jodidů byl zaznamenán jako 39,75 minut.

V minerální vodě Vincentka byla stanovena koncentrace jodidů na 6,41 mg·l⁻¹.

Při srovnávání výsledků získaných různými metodami je potřeba rozhodnout, který soubor obsahuje přesné nebo správné výsledky. Pro malé počty stanovení v souborech se využívá Lordův test [38].

Pro výpočet Lordova testu byly použity výsledky analýz vzorku minerální vody Vincentka.

Koncentrace jodidů v mg·l⁻¹ stanovené pomocí obou metod znázorňuje Tabulka 11.

Tabulka 11: Stanovené koncentrace jodidů ve vzorcích

IC	6,41	6,55	6,72	Průměr	6,53
ICP-OES	6,6	6,5	6,8		6,63

Ze stanovených koncentrací byla určena průměrná hodnota a rozptyl pro obě použité metody. Tyto parametry slouží k výpočtu Lordova testu. Je-li $u \geq u_\alpha$, pak je rozdíl aritmetických průměrů statisticky významný [38].

Výpočet parametru u byl proveden podle Rovnice 13: Výpočet Lordova u -testu.

Rovnice 13: Výpočet Lordova u -testu (3)

$$u = \frac{|x_A - x_B|}{R_A + R_B} = \frac{|6,53 - 6,63|}{|(6,7 - 6,4) + (6,8 - 6,5)|} = 0,167, \text{ kde} \quad 13.$$

x_i určuje průměrnou hodnotu naměřené koncentrace,

R_i odpovídá rozptylu naměřené koncentrace

Po porovnání vypočteného kritéria u s tabelovanou hodnotou u_α pro 3 měření, která odpovídá hodnotě 1,046, [38] bylo zjištěno, že obě metody poskytují stejné výsledky. Na základě těchto informací lze říci, že metoda ICP-OES poskytuje správné výsledky analýz.

4.1.6 Přesnost metody

Přesnost popisuje míru souhlasu nezávislých výsledků zkoušky. Vyjadřuje nakolik jsou výsledky pozorování rozptýleny okolo střední hodnoty. Závisí na rozdělení náhodných chyb. Přesnost souboru měření lze vyjádřit kvantitativně např. jako výběrovou směrodatnou odchylku, rozpětí apod. [36].

Pro určení přesnosti metody byly použity výsledky z analýzy minerální vody Zaječická Hořká viz Tabulka 12.

Z důvodu nízkého obsahu jódu ve vzorku minerální vody Zaječická Hořká byl k tomuto vzorku přidán 1 mg jódu. Oproti původnímu množství udávaného výrobcem (Tabulka 3) byl nyní očekáván výsledek 1,488 mg·l⁻¹ jódu. Přesnost byla vyjádřena pomocí odchylky RSD.

RSD se určí jako desetinásobek směrodatné odchylky. Hodnota RSD byla stanovena na 9,1 %.

Výsledky analýzy minerální vody Zaječická hořká s přidavkem 1 mg jódu byly použity též pro vyhodnocení dalších kvalitativních parametrů metody, které uvádí také Tabulka 12. Všechny výpočty byly provedeny analogicky podle návodu v Analytical Detection Limit Guidance [39].

Tabulka 12: Analýza minerální vody Zaječická hořká a výpočty z naměřených výsledků

	c [mg·l ⁻¹]	Výtěžnost R
	1,58	106,18
	1,33	89,38
	1,52	102,15
	1,47	98,79
	1,39	93,41
	1,45	97,45
	1,49	100,13
	1,63	109,54
Směrodatná odchylka	0,0907	Průměr R
MDL	0,272	99,6
LOQ	0,907	Výběrová směrodatná odchylka
RSD	9,1	6,5
Opakovatelnost	0,254	

4.1.7 Opakovatelnost metody

Opakovatelnost vyjadřuje míru souhlasu výsledků nezávislých měření jediného analytu provedených stejnou metodou, experimentátorem, pomocí stejného přístroje na stejném místě, za stejných podmínek v krátkém časovém úseku. Jedná se o vlastnost použité metody [36].

Mez opakovatelnosti je hodnota, o níž lze s 95 % pravděpodobností říci, že se absolutní hodnota rozdílu dvou výsledků zkoušky bude nacházet pod ní nebo jí bude rovna [36].

Opakovatelnost je vyjádřena jako 2,8násobek směrodatné odchylky od naměřených koncentrací jódu ve vzorku minerální vody Zaječická Hořká, které uvádí Tabulka 12.

Hodnota opakovatelnosti pro 8 uskutečněných opakování byla stanovena na 0,254 mg·l⁻¹.

4.1.8 Výtěžnost metody

Výtěžnost metody souvisí se správností metody. Jde o jednu ze složek odhadu nejistot výsledku metody, ve které se objevuje separace analytu jakožto dílčí krok. Výtěžnost posuzuje účinnost separace analytu ze složitých matic a vliv matrice na výsledky analýz [36].

Určit výtěžnost metody pro rozličné matrice a různé obsahy analytu lze použitím certifikovaného referenčního materiálu o definovaném matricovém složení, anebo pomocí přídatku analytu známé koncentrace do matrice slepého vzorku [36].

Po přidání 1 mg jódu ke vzorku minerální vody Zaječická hořká byla očekávaná celková koncentrace jódu 1,488 mg·l⁻¹. S ohledem na celkovou koncentraci a na naměřené hodnoty během osmi opakování, byly určeny hodnoty výtěžnosti jednotlivých opakování, jejich průměrná hodnota a výběrová směrodatná odchylka. Všechna uvedená data poskytuje Tabulka 12.

Výpočet výtěžnosti jednotlivých opakování uvádí Rovnice 14.

Rovnice 14: Výtěžnost opakování (4)

$$R = \frac{c_i}{1,488} \quad 14.$$

Výtěžnost metody byla určena na $99,6 \pm 6,5$ %.

4.1.9 Stanovení meze detekce a meze kvantifikace

Mez detekce metody určuje nejmenší množství analytu ve vzorku, které může být detekováno. Při odhadu meze detekce vycházíme z hodnot signálu. První způsob odhadu hodnoty meze detekce spočívá v aplikaci konceptu „slepý pokus + 3·s“, kde s odpovídá směrodatné odchylce slepého pokusu a mez detekce lze určit z kalibrační křivky [36]. Tento postup byl uplatněn v kapitole 4.1.10.

Alternativní výpočet MDL spočívá v násobku směrodatné odchylky naměřené koncentrace v oblasti očekávaného LOD hodnotou Studentova t-parametru [39]. Pro 8 opakování a 7 stupňů volnosti je hodnota t-parametru rovna 2,998.

Mez kvantifikace metody udává nejnížší množství analytu ve vzorku, které může být kvantifikováno s předem zadanou nejistotou. Obvykle se jedná o hodnotu koncentrace analytu, která odpovídá hodnotě slepého pokusu plus desetinásobek směrodatné odchylky slepého pokusu, tedy koncept „slepý pokus + 10·s“ [36]. I tento postup byl uplatněn v kapitole 4.1.10.

Jinou možností pro určení meze kvantifikace je použití desetinásobku směrodatné odchylky naměřené koncentrace [39].

LOD a LOQ vypočítané z konceptu „slepý pokus + 3·s“ a „slepý pokus + 10·s“ byly určeny jako 0,489 mg/l, respektive $1,467 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ z rovnice kalibrační křivky $y = 251,2 \cdot x + 617,75$ (při měření v módu Max). Výsledná hodnota koncentrace MDL z alternativního výpočtu odpovídá hodnotě $0,272 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a hodnota LOQ pak odpovídá $0,907 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Obě výsledné hodnoty uvádí Tabulka 12.

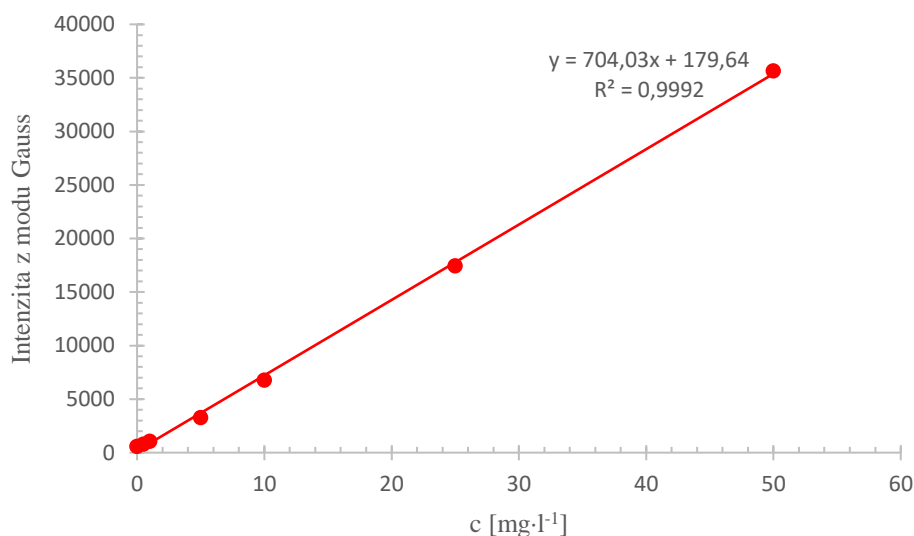
4.1.10 Linearita

Linearita metody úzce souvisí s její kalibrací. Testování linearity kalibračního vztahu zahrnuje proložení experimentálních bodů kalibrační závislosti lineární funkcí pomocí metod regresní analýzy.

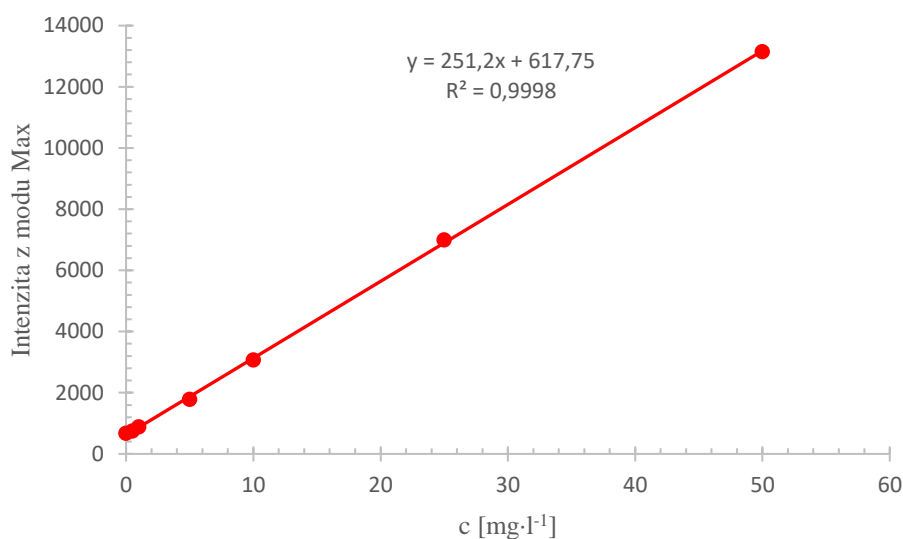
Nepotvrdí-li se linearita závislosti, experimentální body je třeba proložit kvadratickou funkcí a otestovat, zda experimentální body vyhovují kvadratickému vztahu. Nepotvrdí-li se ani kvadratická závislost, je kalibrační křivka nevhodná a je zapotřebí ověřit, jsou-li významné parametry metody při optimální kombinaci. Pro výpočet nejistoty kalibrace je nevhodnější lineární průběh kalibrační křivky, což znamená, že metoda je v pracovním rozsahu lineární [36].

Poté co byl vyhodnocen optimální průtok přídavného plynu G_2 , byla proměřena kalibrační křivka pro tuto hodnotu. Kalibrační křivka byla sestavena pro intenzitu signálu měřenou z módu gauss a z módu max. Kalibrační křivky jsou znázorněny viz Obrázek 10 a Obrázek 11.

Naměřená data byla použita k výpočtu hodnoty limitu detekce a limitu kvantifikace podle Rovnice 3 a Rovnice 4.



Obrázek 10: Kalibrační křivka pro optimální průtok přídavného plynu G₂ při měření intenzity z modu gauss



Obrázek 11: Kalibrační křivka pro optimální průtok přídavného plynu G₂ při měření intenzity z modu max.

Podle korelačního koeficientu R^2 , který je v případě měřené intenzity z modu Gauss roven 0,9992 a v případě měřené intenzity z modu Max roven 0,9998, můžeme soudit, že metoda je lineární v celém svém rozsahu (0,5 — 50 mg·l⁻¹).

4.1.10.1 Mód Gauss

Intenzita píku je určena maximem intenzity, která se odčítá z Gaussovy křivky proložené body v okolí píku. Počet bodů musí být dostatečně velké k pokrytí více než třetiny píku. V případě, že by nebyly splněny tyto podmínky, mohlo by dojít ke špatné opakovatelnosti [40].

4.1.10.2 Mód Max

V režimu Max nedochází ke skenování píku, ale monochromátor najede přímo na pík a zde se měří daná intenzita po celou integrační dobu. Vzhledem k malému počtu měřených bodů lze zvolit delší integrační dobu bez prodloužení celkové doby analýzy [40].

4.2 Aplikace optimalizované metody na analýzu minerálních vod

Jód je esenciální prvek, který se bohužel v potravinách vyskytuje v nízkých koncentracích.

Na základě stanovených hodnot LOD a LOQ (kapitola 4.1.9) lze konstatovat, že metoda ICP-OES je vhodná pro analýzu potravin s vyšším obsahem jódu. Nicméně rozklad matric pevného skupenství za účelem získání nepatrného množství, které se v potravinách vyskytuje, není příliš výhodný. Z tohoto důvodu byly jako matrice pro analýzu určeny minerální vody.

Pro stanovení nižších koncentrací jódu v potravinách by bylo zapotřebí využít modifikovanou metodu ICP-OES jako generování par jódu apod., případně jinou metodu, např. ICP-MS.

Výsledky analýz minerálních vod po aplikaci optimalizované metody udává Tabulka 13.

Tabulka 13: Výsledky analýz vzorků minerálních vod pomocí optimalizované ICP-OES

VZOREK	c [mg·l ⁻¹]
Zaječická Hořká	0,46
Vincentka	6,72
Hanácká kyselka	<LOD
Sulínka	<LOD
Cigelka	0,44

5 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo zpracování literární rešerše o výskytu jódu v potravinách, o funkci jódu v lidském těle a o analytických metodách používaných ke stanovení obsahu jódu v potravinách. Jednou z používaných metod pro analýzu jódu v potravinách je ICP-OES, která byla v této práci podrobněji zkoumána, validována a použita pro stanovení jódu v minerálních vodách.

V prvním kroku byla vybrána vlnová délka pro optimalizaci metody a následovně analýzy. Na základě možných spektrálních a nespektrálních interferencí by měla být pro optimalizaci techniky a stanovení jódu ve vzorcích minerálních vod použita vlnová délka 178,276 nm, nicméně tato vlnová délka se nachází příliš hluboko v UV oblasti pro analýzu pomocí přístroje Ultima 2. Z tohoto důvodu byla vybrána vlnová délka 182,976 nm.

Pro zjištění parametrů ovlivňujících výsledky analýz, byl proveden test robustnosti. Z naměřených výsledků byla určena směrodatná odchylka, kontrasty parametrů a interval spolehlivosti. Po porovnání kontrastů s hodnotou intervalu spolehlivosti, bylo zjištěno, že měření je robustní pro všechny parametry kromě průtoku přidavného plynu G_2 . Z následujícího optimalizačního měření s nastavením průtoku plynu 0,2–0,8 l/min bylo zjištěno, že optimální nastavení pro analýzu jódu, při vybrané vlnové délce 182,976 nm, se pohybuje při 0,5 l/min.

Dále bylo pozorováno významné ovlivnění signálu hodnotami pH, tyto hodnoty byly podrobeny dalšímu zkoumání. Bylo provedeno měření se standardy okyselenými přidávkem koncentrované kyseliny dusičné v rozsahu 0, 10 a 25 μ l. Během analýzy byl pozorován nárůst signálu u vzorků s vyšším přidávkem kyseliny. Tuto skutečnost lze odůvodnit oxidací jódu na těkavé formy, ke které dochází právě v prostředí kyseliny dusičné. Tyto těkavé formy se lépe dostávají do plazmatu, což vyvolá nárůst detekovaného signálu.

Po optimalizaci metody následovalo zhodnocení správnosti, přesnosti, opakovatelnosti a výtěžnosti metody po srovnání s referenční technikou IC. Byly určeny meze detekce a kvantifikace a posouzena linearita metody. Na závěr byla optimalizovaná metoda ICP-OES aplikovaná na analýzu vzorků vybraných minerálních vod.

Správnost metody byla posuzována na základě porovnání výsledků analýzy minerální vody Vincentka s výsledky téhož vzorku u referenční metody IC. Koncentrace jódu ve Vincentce byla metodou ICP-OES stanovena na průměrnou hodnotu 6,63 mg/l. Metodou IC byla stanovena koncentrace jódu v minerální vodě 6,53 mg/l. Po provedení Lordova testu bylo zjištěno, že obě metody poskytují stejné výsledky. Na základě těchto informací lze říci, že metoda ICP-OES poskytuje správné výsledky analýz. Správnost metody byla také ověřena stanovením výtěžnosti na vzorku minerální vody Zaječická Hořká, obohacené o 1 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ jódu. Výtěžnost metody byla $99,6 \pm 6,5$ %.

Pro určení přesnosti metody byly použity výsledky z analýzy minerální vody Zaječická Hořká. Z důvodu nízkého obsahu jódu ve vzorku minerální vody byl k tomuto vzorku jódu o koncentraci 1 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Přesnost byla vyjádřena pomocí relativní směrodatné odchylky a její hodnota byla stanovena na 9,1 %.

Opakovatelnost metody vyjadřující míru souhlasu výsledků nezávislých měření analytu provedených stejnou metodou, za stejných podmínek byla vyjádřena jako 2,8násobek směrodatné odchylky koncentrací jódu ve vzorku minerální vody Zaječická Hořká. Hodnota opakovatelnosti pro uskutečněná opakování byla stanovena na 0,254 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$.

Limit detekce byl určen dvěma způsoby. V první řadě byl použit koncept „slepý pokus + 3·s“, kterým byla stanovena hodnota LOD = 0,489 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ při měření v módu Max. Alternativním výpočtem, s využitím Studentova t-parametru, byla hodnota MDL = 0,272 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Obdobně byly stanoveny i hodnoty LOQ (1,467 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ a 0,907 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$).

Linearita kalibrace byla posuzována na základě kalibračního měření signálu při módu Gauss a módu Max. Podle korelačního koeficientu R^2 , který je roven 0,9992 v případě měření z módu Gauss a 0,9998 v případě měření z módu Max, lze soudit linearitu metody v celém rozsahu měření, tedy pro 0,5-50 mg·l⁻¹.

Na základě zjištění během optimalizace a validace techniky, lze konstatovat, že technika ICP-OES je vhodná pro analýzu potravin s vyšším obsahem jódu. Pro stanovení nižších koncentrací jódu v potravinách by bylo zapotřebí využít modifikované metody ICP-OES s využitím generování par jódu či prekoncentrace, což může být předmětem dalších studií.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KRÄTSMÁR-ŠMORGOVIČ, Juraj. *Všeobecná a anorganická chémia: učebnica pre farmaceutické fakulty*. 2. upr. vyd. Martin: Osveta, 2007. ISBN 9788080632458.
- [2] O'DELL, Boyd L. a Roger Allan. SUNDE. *Handbook of nutritionally essential mineral elements: Clinical Nutrition in Health and Disease*. New York: Marcel Dekker, 1997. ISBN 0824793129
- [3] GUARDIA, M. de la a Salvador GARRIGUES. *Handbook of mineral elements in food*. Chichester, UK: John Wiley and Sons, Ltd., 2015. ISBN 9781118654361.
- [4] ZAMRAZIL, Václav a Jarmila ČEŘOVSKÁ. *Jod a štítná žláza: optimální přívod jodu a poruchy z jeho nedostatku*. Praha: Mladá fronta, 2014. Aeskulap. ISBN 9788020433022.
- [5] PREEDY, Victor R., Gerard N. BURROW a Ronald WATSON. *Comprehensive Handbook of Iodine Nutritional, Biochemical, Pathological and Therapeutic Aspects*. 1. London: Academic Press, 2009. ISBN 9780123741356.
- [6] HORA, Katja. Iodine production and industrial applications. *IDD NEWSLETTER* [online]. 2016, **44**(3), 8-9 [cit. 2017-04-26]. Dostupné z: http://www.ign.org/cm_data/idd_aug16_mail.pdf
- [7] Bezpečnost potravin A-Z: Jód. *Bezpecnostpotravin.cz* [online]. Praha 1: Ministerstvo zemědělství a Ústav zemědělské ekonomiky informací, 2012 [cit. 2016-05-09]. Dostupné z: <http://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/92282.aspx>
- [8] LIPIEC, Elbieta et al. Investigation of iodine bioavailability from chicken eggs versus iodized kitchen salt with in vitro method. *European Food Research and Technology = Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung.A* [online]. 2012, vol. 234, no. 5, s. 913-919. ISSN 14382377.
- [9] Clinical Research; New Clinical Trials and Studies Findings from National Institute of Public Health Discussed (Determination of iodine and sodium content in fermented meat products purchased in the Czech Republic-a pilot study). *Veterinary Week* [online]. Atlanta, USA, 2014, s. 348. [cit. 2017-04-22]. ISSN 1944-2777. Dostupné z: <https://proxy.mzk.cz/login?auth=shibboleth&?url=https://search.proquest.com/docview/1620610931?accountid=12552>
- [10] OZCAN, Tulay. Determination of Minerals in Kefir by Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer (ICP-OES). *Asian Journal of Chemistry* [online]. Ghaziabad, 2010, **8**(22), 6589-6594. [cit. 2017-04-22]. ISSN 09707077. Dostupné z: <https://proxy.mzk.cz/login?auth=shibboleth&?url=https://search.proquest.com/docview/1867137666?accountid=12552>
- [11] BRÁZDOVÁ, Zuzana, Jiří RUPRICH, Drahoslava HRUBÁ a Alena PETRÁKOVÁ. Dietary Guidelines in the Czech Republic III.: Challenge for the 3rd millennium. *Central European Journal of Public Health*, 2001, **9**(1), 30-34. ISSN 1210-7778
- [12] RIGUTTI, Adriana. *Ilustrovaný atlas anatomie*. 2. vydání. Přeložil Zuzana KASLOVÁ, přeložil Kateřina BROUK. Říčany: Sun, 2016. ISBN 9788075670250.
- [13] DE GROOT, Leslie J. a J. Larry JAMESON. *Endocrinology Adult and Pediatric: Thy Thyroid Gland E-Book* [online]. 6. Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 2013 [cit. 2017-04-27]. ISBN 9780323221535. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=vjctIKeMh3sC>
- [14] DVOŘÁK, Josef. *Štítná žláza a její nemoci: poučení pro nemocné*. Praha: SERIFA, 2002. ISBN 80-902859-1-0.
- [15] LÍMANOVÁ, Zdeňka. *Štítná žláza*. Praha: Galén, 2006. Trendy soudobé endokrinologie. ISBN 8072624008.

- [16] STAGNARO-GREEN, Alex, Marcos ABALOVICH, Erik ALEXANDER, et al. Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid Disease During Pregnancy and Postpartum. *Thyroid* [online]. 2011, **21**(10), 1081-1125 [cit. 2017-04-14]. DOI: 10.1089/thy.2011.0087. ISSN 10507256. Dostupné z: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/thy.2011.0087>
- [17] COOPER, David, Michael MCDERMOTT a Leonard WARTOFSKY, ed. Hyperthyroidism. In: *Hormone Health Network: Your Endocrine System Resource* [online]. Washington: Endocrine Society, 2010 [cit. 2016-05-10]. Dostupné z: <http://www.hormone.org/diseases-and-conditions/thyroid/hyperthyroidism>
- [18] COOPER, David, Michael MCDERMOTT a Leonard WARTOFSKY, ed. Hypothyroidism. In: *Hormone Health Network: Your Endocrine System Resource* [online]. Washington: Endocrine Society, 2010 [cit. 2016-05-10]. Dostupné z: <http://www.hormone.org/diseases-and-conditions/thyroid/hypothyroidism/hypothyroidism-symptoms>
- [19] GEREBEN, Balázs, Elizabeth A MCANINCH, Miriam O RIBEIRO a Antonio C BIANCO. Scope and limitations of iodothyronine deiodinases in hypothyroidism. *Nature Reviews. Endocrinology* [online]. London: Nature Publishing Group, 2015, **11**(11), 642-652 [cit. 2017-04-15]. DOI: 10.1038/nrendo.2015.155. ISSN 17595029. Dostupné z: <https://proxy.mzk.cz/login?auth=shibboleth&?url=https://search.proquest.com/docview/1786889378?accountid=12552>
- [20] CROMPTON, T. R. *Determination of anions: A guide for the analytical chemist*. 1. New York: Springer, 1996. ISBN 3540601627.
- [21] STUŽKA, Václav. *Analytická atomová spektrometrie*. 2. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého, 2000. ISBN 8024402068.
- [22] OTRUBA, Vítězslav, ed. *kurz ICP spektrometrie*. Brno: Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, 2011. ISBN 9788090453913.
- [23] *Ewing's analytical instrumentation handbook*. 3rd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker, 2005. ISBN 9780849390395.
- [24] MIERTUŠ, Stanislav. *Atomová a molekulová spektroskopie*. Bratislava: Alfa, 1992. ISBN 8005009461.
- [25] TYLER, GEOFF. *Classical Optics or Solid State Detectors ?* [online]. Longjumeau, 2002: [cit. 2017-05-14]. 3 p. Technical Note 03. Jobin Yvon S.A.S., Horiba Group Dostupné z: http://www.horiba.com/fileadmin/uploads/Scientific/Downloads/OpticalSchool_CN/TN/ICP/Classical_Optics_or_Solid_State_Detectors.pdf
- [26] *The Thermo Scientific iCAP 7000 Plus Series ICP-OES Unique Charge Injection Device (CID) Detector* [online]. Waltham, c2016 [cit. 2017-05-14]. 4 p. Technical Note. TN43335-EN 0216C. Thermo Fisher Scientific Inc. Dostupné z: <https://tools.thermofisher.com/content/sfs/brochures/TN-43335-ICP-OES-CID-Detector-iCAP-7000-Plus-Series-TN43335-EN.pdf>
- [27] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie II*. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 8021417420.
- [28] NOVÁKOVÁ, Lucie a Michal DOUŠA. *Moderní HPLC separace v teorii a praxi*. Praha [i.e. Hradec Králové]: Lucie Nováková, 2013. ISBN 9788026042433.
- [29] FANALI, Salvatore. *Liquid chromatography: fundamentals and instrumentation*. Waltham: Elsevier, 2013. ISBN 9780124158078.
- [30] VOLKA, Karel, Jaroslav FOGL, Milan POPL a Miloslav SUCHÁNEK. *Analytická chemie II*. Praha: VŠCHT, 1997, 236 s. ISBN 8070802278.

- [31] BALDRIANOVÁ, Lucie a Peter BARATH. Iontová chromatografie na profesionální úrovni. *CHEMAGAZÍN* [online]. 2011, **XXI**(6), 10-11 [cit. 2016-05-09]. Dostupné z: http://www.chemmagazin.cz/userdata/chemmagazin_2010/file/CHEMAGAZIN_XXI_6_cl3.pdf
- [32] KAVŘÍK, Radek. *Spojení SPE extrakce s optickou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem pro stanovení jodu*. Brno, 2006. Diplomová práce. Přírodovědecká fakulta Masarykovy univerzity v Brně. Vedoucí práce Mgr. Jiří Machát, Ph.D.
- [33] ŠEDA, Martin, Jaroslav ŠVEHLA, Jan TRÁVNÍČEK, Vlasta KROUPOVÁ, Karel FIALA a Marie SVOZILOVÁ. Optimalizace stanovení stopových koncentrací jódu v povrchových vodách metodou ICP-MS. *Chemické Listy* [online]. 2011, **105**(7), 538-541 [cit. 2017-04-24]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011_07_538-541.pdf
- [34] SHELOR, C. Phillip a Purnendu K. DASGUPTA. Review of analytical methods for the quantification of iodine in complex matrices. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2011, **702**(1), 16-36 [cit. 2017-05-14]. DOI: 10.1016/j.aca.2011.05.039. ISSN 00032670. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0003267011007574>
- [35] OLIVEIRA, Adriana A., Lilian C. TREVIZAN a Joaquim A. NÓBREGA. REVIEW: Iodine Determination by Inductively Coupled Plasma Spectrometry. *Applied Spectroscopy Reviews* [online]. 2010, **45**(6), 447-473 [cit. 2017-05-14]. DOI: 10.1080/05704928.2010.502207. ISSN 05704928. Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/05704928.2010.502207>
- [36] BADAL ET AL, Milan, SUCHÁNEK, Miloslav, ed. *Kvalimetrie: 10. Jakost v analytické laboratoři 2000*. Praha: EURACHEM-ČR, 2000. ISBN 8090186882.
- [37] Chajdiak J., Rublíková E., Gudába M.: *Štatistické metódy v praxi*. Statis, Bratislava 1997
- [38] Multimediální učebnice "Příklady z analytické chemie": 4. HODNOCENÍ ANALYTICKÝCH VÝSLEDKŮ. *Učebnice* [online]. Olomouc [cit. 2017-05-16]. Dostupné z: <http://ach.upol.cz/ucebnice/hodnoceni5.htm>
- [39] ANALYTICAL DETECTION LIMIT GUIDANCE & Laboratory Guide for Determining Method Detection Limits. In: *Wisconsin Department of Natural Resources* [online]. Madison, 1996 [cit. 2017-05-16]. Dostupné z: <http://dnr.wi.gov/regulations/labcert/documents/guidance/-lodguide.pdf>
- [40] HORIBA JOBIN YVON S.A.S, LABTECH BRNO, ed. *Návod k obsluze JY ICP Spektrometry*. 1. BRNO, 2008.

7 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

- (1) RIGUTTI, Adriana. *Ilustrovaný atlas anatomie*. 2. vydání. Přeložil Zuzana KASLOVÁ, přeložil Kateřina BROUK. Říčany: Sun, 2016. ISBN 9788075670250.
- (2) HORIBA Jobin Yvon S.A.S a Labtech Brno. *Návod k obsluze JY ICP Spektrometry*. BRNO, 2008.
- (3) *Ewing's analytical instrumentation handbook*. 3rd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker, 2005. ISBN 9780849390395.
- (4) SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie*. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 8021417420.

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

IC	Iontová chromatografie
ICP-OES	Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
WHO	Světová organizace zdraví
LCD	Liquid Crystal Display
IDD	Iodine Deficiency Disorders
TSH	Tyreostimulující hormon
GC	Plynová chromatografie
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
UV	Ultrafialová oblast záření
VIS	Viditelná oblast záření
SSD	Solid State Detector
IDT	Snímací elektronka disektor
CCD	Charge Couple Device
CID	Charge Injection Device
VUV	Vacuum ultraviolet (vakuová ultrafialová oblast spektra)
LOD	Limit of detection (mez detekce)
LOQ	Limit of quantification (mez stanovitelnosti)
SOP	Standardní operační postup
RSD	Relative standard deviation (Relativní směrodatná odchylka)
MDL	Method detection limit (ekvivalent LOD)

9 SEZNAM ROVNIC

- (1) SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie*. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 8021417420.
- (2) BADAL ET AL, Milan, SUCHÁNEK, Miloslav, ed. *Kvalimetrie: 10. Jakost v analytické laboratoři 2000*. Praha: EURACHEM-ČR, 2000. ISBN 8090186882.
- (3) Multimediální učebnice "Příklady z analytické chemie": 4. HODNOCENÍ ANALYTICKÝCH VÝSLEDKŮ. *Učebnice* [online]. Olomouc [cit. 2017-05-16]. Dostupné z: <http://ach.upol.cz/ucebnice/hodnoceni5.htm>
- (4) ANALYTICAL DETECTION LIMIT GUIDANCE & Laboratory Guide for Determining Method Detection Limits. In: *Wisconsin Department of Natural Resources* [online]. Madison, 1996 [cit. 2017-05-16]. Dostupné z: <http://dnr.wi.gov/regulations/labcert/documents/guidance/-lodguide.pdf>