



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

VÝVOJ METOD SIMULTÁNNÍ ANALÝZY NA PŘÍSTROJI HR-CS-ET-AAS A JEJICH VYUŽITÍ V ENVIRONMENTÁLNÍ ANALÝZE

DEVELOPMENT OF THE SIMULTANEOUS ANALYSIS METHODS ON THE HR-CS-ET-AAS DEVICE AND
THEIR USE IN ENVIRONMENTAL ANALYSIS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Roman Jurnečka

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Mgr. Renata Komendová, Ph.D.

BRNO 2023

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1865/2022 Akademický rok: 2022/23
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany
životního prostředí
Student: **Bc. Roman Jurnečka**
Studijní program: Environmentální chemie a technologie
Studijní obor: bez specializace
Vedoucí práce: **doc. Mgr. Renata Komendová, Ph.D.**

Název diplomové práce:

Vývoj metod simultánní analýzy na přístroji HR–CS–ET–AAS a jejich využití v environmentální analýze

Zadání diplomové práce:

1. Zpracovat literární rešerši problematiky simultánní analýzy stanovení rizikových prvků metodou atomové absorpční spektrometrie s kontinuálním zdrojem záření a s monochromátorem o vysokém rozlišení.
2. Vyvinout metody simultánní analýzy – vybrat vhodné kombinace analytů a optimalizovat podmínky měření na HR–CS–ET–AAS.
3. Ověřit vyvinuté metodiky na analýze reálných vzorků.

Termín odevzdání diplomové práce: 8.5.2023:

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

Bc. Roman Jurnečka
student

doc. Mgr. Renata Komendová,
Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Jiří Kučerík, Ph.D.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2023

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá vývojem metod simultánního stanovení pomocí atomové absorpční spektrometrie s kontinuálním zdrojem záření a monochromátorem o vysokém rozlišení. Metody stanovení byly vyvinuty zejména s ohledem na analýzu environmentálních matric. Byly vyvinuty dvě metody simultánního stanovení s aplikací tří druhů vzorků životního prostředí. První z nich byla zaměřena na simultánní stanovení niklu a železa v čajových lístcích. Tato metoda byla dále aplikována i na vzorky půd. Druhou metodou je stanovení manganu a železa ve vodách. Zde byl zkoumán i vliv modifikátoru. Dále byla z literatury převzata kombinace vlnových délek již zavedené metody simultánního stanovení kadmia a železa v ovesných produktech. V rámci diplomové práce, byla tato metoda optimalizována na stanovení těchto specifických prvků v čaji. Mezi primární výhody simultánní analýzy patří úspora chemikálií, včetně argonu, ale také menší časová náročnost při obsluze. Vyvinuté metody lze zavést do praxe. Výstupem je také návrh laboratorní úlohy pro zavedení simultánní analýzy do výuky.

ABSTRACT

This thesis deals with the development of simultaneous determination methods using atomic absorption spectrometry with a continuous radiation source and high-resolution monochromator. The determination methods were developed especially with regard to the analysis of environmental matrices. Two methods of simultaneous determination were developed with the application of three types of environmental samples. The first of them was focused on the simultaneous determination of nickel and iron in tea leaves. This method was also applied to soil samples. The second method is the determination of manganese and iron in water. Here I also examined the influence of the modifier. Furthermore, the combination of wavelengths of the already established method of simultaneous determination of cadmium and iron in oat products was taken from the literature. As part of the thesis, this method was optimized to determine these specific elements in tea. The primary advantages of simultaneous analysis include the saving of chemicals, including argon, as well as less time-consuming operation. The developed methods can be put into practice. The output is a design of a laboratory task for the introduction of simultaneous analysis into teaching.

KLÍČOVÁ SLOVA

Simultánní analýza, HR-CS AAS, nikl, železo, mangan, kadmium

KEYWORDS

Simultaneous determination, HR-CS AAS, nickel, iron, manganese, cadmium

JURNEČKA, Roman. *Vývoj metod simultánní analýzy na přístroji HR-CS-ET-AAS a jejich využití v environmentální analýze*. Brno, 2023. Dostupné také z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/146159>. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí. Vedoucí práce Renata Komendová.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
Roman Jurnečka

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval vedoucí mé diplomové práce doc. Mgr. Renatě Komendové, Ph.D. za čas, který mi věnovala, ale také za odborné vedení, cenné rady, ochotu a trpělivost při vypracování závěrečné práce. Na tomto místě bych také rád poděkoval RNDr. Ondřeji Zvěřinovi, Ph.D. za rady, které mi velice pomohly v průběhu experimentální části, velké poděkování také patří za poskytnuté referenční materiály. Poděkování bych chtěl věnovat i mé rodině a přátelům, kteří mě během studia na FCH VUT nesmírně podporovali a zpříjemňovali průběh vysokoškolského života.

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	Teoretická část	10
2.1	Základy simultánní analýzy	10
2.2	Instrumentace nutná pro simultánní analýzu metodou AAS	11
2.3	Děje elektrotermické atomizace	12
2.4	Ovlivnění signálu	13
2.5	Interference	14
2.6	Metody korekce pozadí	15
2.7	Volba modifikátoru	16
2.8	Výskyt zájmových prvků	17
2.8.1	Železo a nikl v čajových lístcích a půdě	17
2.8.2	Železo a mangan ve vodách	18
2.8.3	Kadmium a železo v čajových lístcích	18
2.9	Metody simultánní analýzy	19
2.9.1	Stanovení Co, Fe, Ni a K v odpadní vodě	19
2.9.2	Simultánní stanovení Ba, Co, Fe a Ni v různých druzích ořechů	20
2.9.3	Simultánní stanovení kadmia a železa v obilných vložkách	21
2.9.4	Simultánní stanovení zinku a železa v zelenině	23
2.10	Limity detekce a stanovitelnosti	24
3	Cíl práce	25
4	Experimentální část	26
4.1	Použité chemikálie	25
4.1.1	Certifikované materiály	25
4.2	Použité pomůcky	25
4.3	Použité zařízení	25
4.4	Popis vzorku	26
4.4.1	Vzorky čajových lístků	26
4.4.2	Vzorky půd	27
4.4.3	Vzorky vod	28
4.5	Příprava vzorků	29
4.5.1	Mineralizace vzorků čajových lístků	29
4.5.2	Příprava vodného výluhu čaje	29
4.5.3	Mineralizace vzorků půd	30
4.5.4	Příprava vzorků vod	30
4.6	Vývoj metody simultánního stanovení niklu a železa v čajových lístcích	30
4.6.1	Volba vlnových délek a nastavení parametrů	30
4.6.2	Optimalizace teplotního programu	31
4.6.3	Validace metody	33
4.7	Vývoj metody simultánního stanovení Ni a Fe v půdě	35
4.7.1	Optimalizace teplotního programu	35
4.7.2	Validace metody	37

4.8	Vývoj metody simultánního stanovení Mn a Fe ve vodách	39
4.8.1	Volba vlnových délek a nastavení parametrů pro metodu bez využití modifikátoru.....	39
4.8.2	Optimalizace teplotního programu bez modifikátoru	40
4.8.3	Validace metody bez modifikátoru.....	43
4.8.4	Volba vlnových délek a nastavení parametrů pro metodu s využitím modifikátoru.....	45
4.8.5	Optimalizace teplotního programu v přítomnosti modifikátoru	45
4.8.6	Validace metody s modifikátorem	48
4.9	Výběr z vyvinutých metod simultánního stanovení manganu a železa.....	50
4.10	Optimalizace již vyvinuté metody simultánního stanovení Cd a Fe	51
4.10.1	Volba vlnových délek	51
4.10.2	Optimalizace teplotního programu	51
4.10.3	Validace metody	54
5	Výsledky a diskuze	57
5.1	Simultánní stanovení Ni a Fe v čajových lístcích	57
5.2	Simultánní stanovení Ni a Fe v půdě.....	59
5.3	Simultánní stanovení Mn a Fe ve vodách	61
5.4	Simultánní stanovení Cd a Fe v čajových lístcích.....	62
6	Závěr	63
7	Seznam použitých zdrojů.....	65
8	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	71
9	Seznam obrázků.....	72
10	Seznam tabulek	74
11	Přílohy.....	75
11.1	Teplotní programy	75
11.2	Návrh laboratorní úlohy pro zavedení simultánní analýzy do výuku	77
11.2.1	Simultánní stanovení manganu a železa ve vodách.....	77

1 ÚVOD

V současné době je velká pozornost věnována spotřebě materiálů a ekonomickému nakládání se surovinami. To se projevilo i v odvětví atomové absorpční spektrometrie. A to především při příležitosti, kdy se odborníci v této metodě snažili objevit neskutečný potenciál. Atomová absorpční spektrometrie, která využívá monochromátor o vysokém rozlišení, kontinuální zdroj záření (HR-CS AAS) a CCD detektor, je schopna zaznamenat velice blízké rozmezí vlnových délek v rozsahu od 0,2 do 1 nm [1, 2]. Díky této instrumentaci jsme přístroj schopni využívat pro simultánní stanovení více prvků, což je z ekonomického hlediska a nakládání s chemikáliemi a vlastním časem velice přívětivé. Nespornou výhodou multiprvkového stanovení je bezesporu menší spotřeba plynu, což je v případě využití elektrotermické atomizace argon. Dále tyto metody zaručují zkrácení doby analýzy. Příkladem může být stanovení dvou prvků simultánně, kde je časová úspora 50 %. V klasickém použití při stanovení jednoho prvku je doba analýzy zpravidla okolo 10 min. Při simultánních metodách je obrovskou výhodou menší opotřebení grafitové kyvety a větší úspora chemikálií, ať už se jedná o mineralizační roztoky, ale také standardy a modifikátory. Stejně jako u klasické AAS, která využívá jednovprvkové stanovení, tak i zde u víceprvkového stanovení je zapotřebí pouze 20 µl vzorku, což dělá tuto analytickou techniku nenahraditelnou. Hlavní nevýhodou těchto simultánních stanovení je časová náročnost při optimalizaci a omezené množství kombinací spektrálních čar.

První zmínky o atomovém absorpčním spektrometru s kontinuálním zdrojem záření, vysokorozlišovacím systémem a CCD detektorem byly již v roce 2003. Ovšem tento přístroj využíval jako zdroj atomizace plamen. Až v roce 2007 byla vyvinuta technika, která využívala elektrotermickou atomizaci. Zpočátku byla HR-CS AAS používána jako jednovprvková metoda. Postupem času již vznikaly metody založené na principu stanovení více prvků simultánně [1].

V současné době je již vyvinuta řada metod a je náročné nalézt další kombinace spektrálních čar. Mezi první zavedenou metodu, kterou vyvinul Welz a kol., patří simultánní stanovení kadmia při primární vlnové délce (228,802 nm) a železa při sekundární absorpční čáře (228,726 nm). Tuto metodu využili při stanovení Cd a Fe v obilných produktech. Jako certifikovaný referenční materiál (CRM) byl použit BCR 191 a NIST SRM 1573a. Jedná se o hnědý chléb a rajčatové listí. Kadmium a železo jsou velmi důležité prvky ze dvou zcela odlišných důvodů. Kadmium se řadí mezi extrémně toxické prvky, a to již při nízké koncentraci. A také má schopnost bioakumulace. Na druhou stranu železo, je nejhojnějším prvkem, který se vyskytuje v lidském těle a jeho nedostatek může způsobit různá onemocnění, např. anémii [2, 3]. Ferreira a kol. tuto metodu rozšířili o další prvek, a to konkrétně o cín, který simultánně stanovili s těmito dvěma prvky ve vzorcích konzervovaných potravin. Obecně platí, že interakce pocínovaného obalu s potravinou způsobuje migraci kovů do potravin. Ačkoliv byl cín prokázán jako netoxický prvek, některé studie prokázaly, že způsobuje gastrointestinální poškození, jako je např. nevolnost, průjem a zvracení [4]. Mezi další vyvinuté metody lze zařadit stanovení kobaltu, železa, olova a niklu v uhlíkových nanotrubicích. Tyto prvky se obecně vyskytují v nanotrubicích jako nečistoty, které vznikají v průběhu výroby, a to především ve formě katalyzátorů. Většina uhlíkových nanotrubic se vyrábí pomocí vysokoteplotních odpařovacích procesů nebo chemickou depozicí. Dokonalý průběh těchto dvou variant výroby zajišťuje již zmíněný katalyzátor bázi přechodných kovů [2, 5].

Velmi často probíhá vývoj simultánních metod na přístroji AAS ContrAA 800D, kterým je vybavena i laboratoř FCH VUT, a také v tomto případě byla tato instrumentální technika využita ke zpracování diplomové práce.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Základy simultánní analýzy

Primárním parametrem pro vývoj simultánních metod na HR-CS AAS je nalezení vhodné kombinace spektrálních čar prvků v rozmezí od 0,2 do 1 nm, a to v závislosti na vlnové délce [1, 2]. Největší početnost spektrálních absorpčních čar se vyskytuje v UV oblasti. Některé prvky, jako např. Fe, Co, Cr, Ni a další, mají v této oblasti stovky čar. Prvky jako Cu, Mn, Pb, Pd mají pouze desítky čar. Při výběru blízkých absorpčních čar v UV oblasti je limitujícím parametrem spektrální interval 0,2 až 0,3 nm [1]. S přechodem do viditelné oblasti se tento interval rozšiřuje, přičemž počet vhodných kombinací spektrálních čar se snižuje [1].

Dalším neméně důležitým faktorem je relativní citlivost, která je pro každý prvek a vlnovou délku jedinečná. Jedná se o veličinu, která je dána podílem změny odezvy přístroje a změny koncentrace sledovaného analytu. V tom případě je relativní citlivost určena směrnici kalibrační závislosti [1].

Při výběru prvků k simultánní analýze také záleží na termochemických vlastnostech stanovovaných prvků. Pokud jsou prvky stabilní, pak je stanovení zpravidla jednodušší. Mezi stabilní prvky patří téměř většina kovů. Klasickým příkladem je např. měď, železo, mangan, kobalt, nikl a další. Druhou skupinou jsou prvky těkavé, kam můžeme zařadit především kadmium, zinek a olovo. V situaci stanovení prvků s odlišnými termochemickými vlastnostmi, kdy např. jeden prvek je těkavý a druhý stabilní, je optimalizace již náročnější. Nejdříve dochází k pyrolýze nejvíce těkavého analytu, následně k jeho atomizaci, při které zpravidla dochází k pyrolýze stabilnějšího prvku. Opětovným navýšením teploty následuje atomizace nejvíce stabilního analytu. Základem je tedy dokonale provedená optimalizace teplotního programu pyrolýzy a atomizace pro stanovované prvky [2, 3, 6].

2.2 Instrumentace nutná pro simultánní analýzu metodou AAS

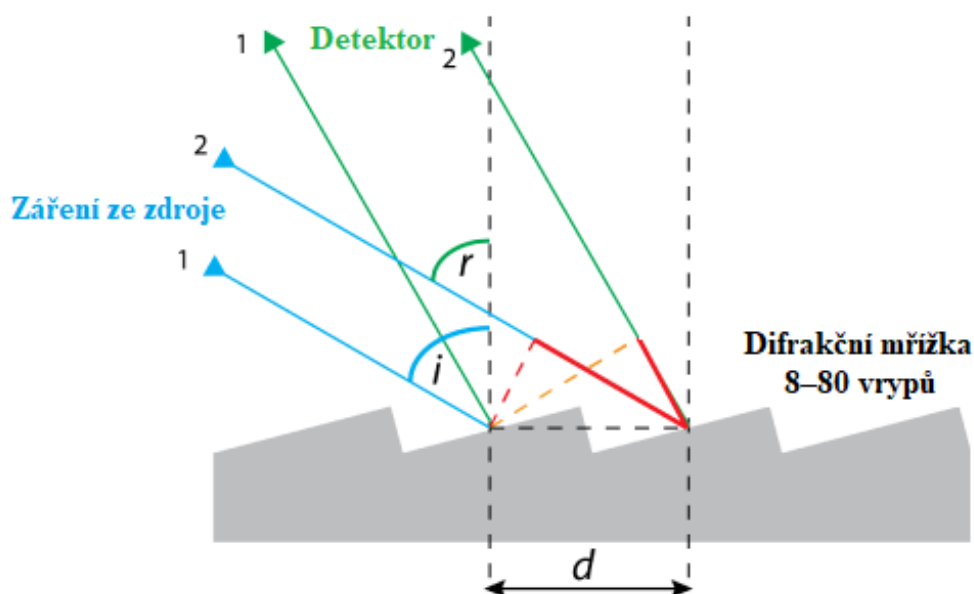
Primární součástí atomového absorpčního spektrometru, který využívá kontinuálního zdroje záření (CS), je vysokotlaká xenonová výbojka. Jedná se o zcela základní prvek pro multiprvkové simultánní stanovení, který disponuje vlastností vyzařovat záření v daleké UV oblasti již okolo 190 nm až po viditelnou oblast 900 nm. Což je klíčová vlastnost tohoto typu přístroje, kde je pro stanovení všech měřitelných prvků potřeba pouze jedna výbojka. Výkon tohoto druhu výbojky se pohybuje okolo 300 W (20V/15A), kvůli čemuž musí být celý systém chlazen. Chlazení zajišťuje zacyklený kruh, který využívá jako medium destilovanou vodu. Intenzita záření CS je u většiny prvků alespoň o jeden až dva řády vyšší než u odpovídajícího čárového zdroje záření (LS), včetně bezelektrodoých výbojek a superlamp [7]. Tato mimořádná intenzita xenonové výbojky zaručuje vynikající poměr signálu k šumu, čímž došlo k výraznému snížení detekčních limitů [8]. Typická pološířka absorpční čáry je 1 pm, k čemuž je již potřeba monochromátor o vysokém rozlišení, tzn. typ Echelle.

Tento Echelle monochromátor, ačkoliv je velice malých rozměrů, tak dosahuje velké účinnosti disperze. Při optimalizaci je nastaven tak, aby mřížky distribuovaly více energie do vyšších řádů spektra, tím je také dosaženo vyšší disperze [9, 10]. Tato vlastnost vyplývá z rovnice, která popisuje difrakci záření na odrazné mřížce:

$$m\lambda = d(\sin \alpha + \sin \beta) \quad (1)$$

kde m je řád difrakce, λ je vlnová délka, d je mřížková konstanta (vzdálenost mezi vrypů), α a β je úhel dopadu, resp. odrazu [9, 10].

Oproti klasickému typu mřížky využívá Echelle monochromátor odraz od úzkých ploch jednotlivých vrypů, které jsou na mřížce uspořádány stupňovitě. K dispozici je 8 až 80 vrypů, které jsou přesně upraveny na mm. Mezi největší výhody Echelle monochromátorů lze zařadit vysokou tepelnou stabilitu a také to, že přesnost spektrometrů není ovlivněna pohyblivými mechanickými prvky [9, 10]. Odraz na Echelle mřížce je vyobrazený na Obr. 1.



Obr. 1: Odraz záření vyobrazený na Echelle mřížce, upraveno dle [11]

Posledním prvek před vyhodnocením signálu je detektor typu CCD. Jedná se o nejběžnější vysoce výkonné a citlivé zobrazovací zařízení, které je složeno z malých snímačů nazývaných pixely. Bývají uspořádány v jedné řadě nebo matici. Základním principem tohoto zařízení je přeměna dopadajících fotonů na povrch detektoru na elektrický náboj. Jeho velikost je přímo úměrná intenzitě dopadajícího záření. Pomocí zesilovače je vyjádřena velikost náboje, která je na převodníku přeměněna na napětí, které je následně měřeno. Detekce signálu probíhá pomocí 200 pixelů, ale dalších 312 se podílí na korekci pozadí. Hlavními výhodami tohoto typu detektoru jsou nízké nároky na prostor, nízká hmotnost, ale především vynikající citlivost a vysoká rozlišovací schopnost [12–14].

Přičemž hlavní a primární proces probíhá v grafitové kyvetě při elektrotermické atomizaci.

2.3 Děje elektrotermické atomizace

Po nadávkování kapalného vzorku do prostoru grafitové kyvety je nutné vysušení. Pro sušení jsou zvoleny teploty 5 až 10 °C nad bodem varu rozpouštědla. U směsi rozpouštědel je nutnost zvolit více teplotních kroků, které odpovídají teplotám konkrétních rozpouštědel. Průběh ohřevu vzorku musí být konstantní, aby nedocházelo k nežádoucí jevům. Vhodné podmínky se zajistí sledováním vzorku v prostoru grafitové kyvety pomocí kamerového systému, který snímá průběh fáze sušení [10].

Dalším krokem je pyrolýza, jejímž hlavním cílem je především eliminace negativního vlivu matrice na průběh analýzy. Organická část ve vzorku je přeměněna na CO₂ a H₂O. Anorganická část je odpařována [15]. Během tohoto procesu nesmí dojít ke ztrátě analyzovaného prvku. K tomu je nutná optimalizace celého procesu. Všechny parametry zůstanou konstantní a postupně se navyšuje teplota pyrolýzy. Od určité hodnoty, specifické pro každou matici, pozorujeme pokles absorbance. Tento jev je způsobem právě ztrátami analytu, kterému chceme zamezit. Pro stanovení volíme teplotu pyrolýzy asi o 50 až 100 °C nižší od zaznamenaného poklesu intenzity [10].

Třetí fází je atomizace, jejíž teplota je určena z atomizační křivky. Její sestavení je založeno na obdobném způsobu, jako v předchozí fázi, ovšem zde je nastavena konstantní teplota pyrolýzy a mění se atomizační teplota. Důležitým parametrem je doba atomizace, která se zvolí tak, aby s její změnou nedocházelo ke změně plochy píku. Mezi další parametry patří rychlost nárůstu teploty a průtok plynu. Na průběh atomizace má také vliv množství vzorku, které může být až 50 µl, ovšem v obvyklých případech je dávkováno 20 µl, a pokud se využívá modifikátor, tak je celkový dávkovaný objem ještě o 5 µl vyšší [10, 16].

Probíhající děje během atomizace nelze důkladně popsat, protože jejich průběh je velmi komplikovaný. Zpravidla se tyto děje rozdělují do dvou hlavních kategorií. První důležitou skupinou a také primární jsou děje, které vedou k produkci volných atomů daných prvků z analytu. Druhou skupinou jsou děje, které vedou k jejich zániku nebo eliminaci z optické dráhy spektrometru. Z chronologického pohledu je proces zahájen vypařováním analytu v molekulární a atomární formě. V případě, kdy veškerý analyt v atomárním stavu nebyl odpařen, pokračuje proces disociací molekulárních forem, které se již nacházejí v plynném skupenství. Následně mohou v prostoru grafitové kyvety probíhat reakce vzniklých volných atomů v plynném stavu se složkami atmosféry. Tento nežádoucí děj nastává v případě, kdy nejsou uživatelem nastaveny optimální hodnoty v teplotním programu. Jedná se především

o dostatečný průtok inertního plynu, ale také jeho doba zdržení a včasné aplikování. Dále v atomizátoru mohou probíhat reakce mezi povrchem kyvety a také fyzikální transportní děje [10].

V době ukončení termických procesů sloužících k úpravě vzorku je možné předpokládat, že se analyt nachází ve formě oxidu nebo karbidů v monoatomární grafitové vrstvě. Vyprodukované volné atomy mohou vznikat specifickými reakcemi. Primárně se může analyt vypařovat ve formě oxidu. Následně zpravidla dochází k jeho disociaci již v plynném skupenství. Tímto mechanismem většinou probíhá stanovení např. Ca, Mg, Mn. V případech vzniku karbidů, které jsou velice termicky stabilní, může nastat případ, kdy prvky jako např. Hf, Ta, Tl, W nelze stanovit. Nebo u řady prvků nemusí stanovené hodnoty koncentrací odpovídat skutečným hodnotám. Je to z důvodu paměťových efektů a nízké citlivosti. Jedná se především o prvky jako je Ba, Mo, P, Si, U a V. Mimo jiné mohou paměťové efekty vznikat při nedokonalém odpaření vzorku [10].

Aby se zabránilo reakcemi vzorku s grafitovou kyvetou, tak je její povrch potažen vrstvou pyrolytické formy uhlíku. Jedná se o vrstvu, která je prakticky neporézní. Díky tomu je snížena reaktivita povrchu a grafit tak odolává i vyšší teplotě. Pro stanovení prvků, které již potřebují vysokou atomizační teplotu, se doporučuje nasycení grafitové kyvety vhodným prvkem, např. Ir, Zr, Ta, W, Au [10].

Závěrečná fáze čištění zajišťuje odstranění zbytků a nečistot, které zůstaly po atomizaci vzorku. Při nedokonalém vyčištění mohou nečistoty v grafitové kyvetě zůstat a negativně ovlivnit následující analýzu. Při čištění se však nedoporučuje volit příliš vysoké teploty, které obecně snižují životnost elektrotermického atomizátoru. Jako opatření při vyšších teplotách, ale také z důvodu zaručení co nejvyšší životnosti, a také adekvátní čistoty a reprodukovatelnosti, je vhodné zvolit maximální průtoky inertních plynů vnitřním prostorem atomizátoru. Po tomto čistícím kroku nastává chlazení elektrotermického atomizátoru [10].

2.4 Ovlivnění signálu

Citlivost metody závisí především na dvou jevech. Tím primárním je účinnost atomizace v grafitové kyvetě. Druhým jevem, zcela zásadním je absorpční schopnost vzniklých atomů. Účinnost atomizace může ovlivnit řada jevů. Hlavní vliv mají termické a chemické parametry atomizátoru. Mezi termické parametry můžeme zařadit rychlost ohřevu kyvety, dosažená teplota kyvety a teplotní gradient. Chemickými parametry se rozumí typ grafitové kyvety, struktura povrchu kyvety, ale také složení plynu. Dále také na účinnost atomizace mohou mít vliv chemické a termické vlastnosti analytu a jednotlivých složek matrice. Konkrétně se jedná o teplotu varu, termickou stabilitu, těkavost, tendenci ke tvorbě karbidů, intermetalických a lamelárních sloučenin [17].

Jeden z negativně působících dějů na průběh atomizace je sorpce kyslíku. K tomuto ději dochází zpravidla již při nízkých teplotách, kdy v průběhu stanovení vznikají oxidy. Tyto sloučeniny oxidu jsou navázány na povrch grafitové kyvety a desorbují až při teplotě 950 °C [17].

Veškeré faktory působící na průběh stanovení je nutné posuzovat komplexně. Zcela primárním krokem před každou analýzou je optimalizace podmínek stanovení. Avšak při každé chemické analýze může nastat řada komplikací. Jedním z nežádoucích vlivů jsou interference.

2.5 Interference

Přítomnost interferencí neboli rušivých vlivů je dáno matricí vzorku. Interference je efekt, který je dán rozdílnou velikostí signálu pro analyt pouze s přítomností čistého standardu a za přítomnosti rušivé matrice. Matrice může být jednoduchá, např. vzorek pitné vody konzervovaný kyselinou dusičnou, nebo komplikovanější, např. mineralizáty a výluhy půd, kompostů nebo odpadů, kde matrice představuje směs iontů, organických látek a komplexů o vysoké koncentraci. Čím je variabilita matrice větší, tím je i obtížnější odstranit veškeré rušivé vlivy [10].

Interference může ovlivnit přesnost stanovení, ale také pravdivost. Proto je nutnost interference eliminovat nebo zohlednit v procesu vyhodnocení. K čemuž slouží korekce pozadí nebo volba vhodné kalibrační techniky, např. technika přidání analytu, nebo použití chemických sloučenin, např. při eliminaci PO a NO molekul [18].

Výsledný signál také ovlivňuje průtok a čistota plynu, materiál atomizátoru a také zvolené rozpouštědlo. Zmíněné parametry nelze považovat za potenciální interference, protože průběh stanovení je stejný jak pro kalibrační roztoky, tak pro reálný vzorek. Z hlediska výskytu interferencí se častěji a výrazně uplatňují v ET–AAS než v FAAS. Ovšem ve srovnání s OES se v AAS vyskytují méně často [10, 18].

Druhy interferencí lze klasifikovat dle řady hledisek. Různé kategorie se vzájemně nevyklučují, ale spíše se doplňují při charakterizaci konkrétních rušivých vlivů. Velmi často se rozdělují mezi specifické a nespecifické nebo mezi aditivní a multiplikativní interference. Dle doporučení IUPAC, která jsou uvedena v národních a mezinárodních normách, se interference dělí na spektrální a nespektrální [10, 18].

Spektrální interference jsou způsobeny nedokonalým rozlišením absorpčního signálu analytu od jiného záření nebo absorpce záření interferentu. U AAS lze rozlišit různé příčiny spektrálních interferencí, mezi které patří přímé překrývání analytické čáry, absorpce záření molekulami plynu, absorpce doprovodnými látkami, které nedokáže monochromátor oddělit a další možnou příčinou je rozptyl záření způsobený přítomnými částicemi [10, 18].

V ET–AAS také dochází k absorpci pozadí, která způsobuje pozitivní chybu. Její výskyt lze předpokládat u složitých matic a u vzorků obsahujících soli. K eliminaci rušivých vlivů pozadí lze využít kontinuální zdroj záření, metodu Smith–Hieftje nebo Zeemanovskou korekci [10, 18].

Nespektrální interference jsou takové, které mají vliv na počet atomů analytu v absorpčním prostředí. Dříve se rozlišovaly na dva typy: fyzikální a chemické interference. Nyní se nejčastěji klasifikují dle místa nebo doby jejich výskytu. Nespektrální interference se primárně rozdělují na interference v kondenzované a v plynné fázi. Interference v kondenzované fázi se vyskytují jak u FAAS, tak i u ET–AAS. V případě atomizace v plameni spočívají tyto rušivé vlivy ve změně rychlosti sání a účinnosti zmlžování. Mohou vznikat méně nebo více těkavé sloučeniny. V případě elektrotermické atomizace jsou interference založeny na změně rozložení vzorku na platformě grafitové kyvety při dávkování nebo sušení vzorku. Dochází ke změně povrchového napětí a viskozity vzorku. K pozitivnímu ovlivnění lze využít sloučeninu zvanou Triton X–100. Nejčastěji dochází ke ztrátě analytu kvůli nevhodně zvolené teplotě pyrolýzy, v případě nepoužití chemických modifikátorů. Dalším potenciálním interferentem mohou být obtížně těkavé sloučeniny, např. karbidy. Do této skupiny patří také příliš rychlé

nebo brzké odpařování analytu doprovodnými složkami, které se rozkládají během atomizačního kroku. Interference v plynné fázi se mohou vyskytovat u všech technik AAS. Jsou způsobeny změnou frakce analytu, který je disociován, excitován nebo ionizován v plynné fázi. V této fázi dochází k posunu disociační rovnováhy, jak u ET–AAS, tak i u FAAS. Změna disociační rovnováhy je závislá na prostorovém rozložení teploty v atomizátoru. Je možné ji pozitivně ovlivnit použitím modifikátoru. Dalším nežádoucím jevem je změna rychlosti výstupu analytu z prostoru elektrotermického atomizátoru. Většinou je možné ji eliminovat vhodnou optimalizací termické fáze. Nebo opět využít aplikaci modifikátoru [10, 18].

Pro zajištění reálných výsledků je nutné od celkové absorbance odečíst absorbanci pozadí. K čemuž slouží tzv. korekce pozadí.

2.6 Metody korekce pozadí

V současné době neexistuje technika, která by umožňovala stanovit výhradně absorpci samotného analytu. Je nutné změřit celkovou absorpci (specifickou a nespecifickou), poté absorpci pozadí a provést odečtení od celkové absorpce. Metody korekce pozadí lze rozdělit na sekvenční a simultánní. Při sekvenční korekci se nejdříve změní celková absorbance při odpovídající vlnové délce, která přísluší stanovovanému prvku, následně je změřeno pozadí, ovšem na analytické čáře s blízkou vzdáleností od čáry analytu, kde však konkrétní analyt neabsorbuje záření zvolené vlnové délky. Předpokladem je, že v tomto místě je hodnota absorpce pozadí přibližně totožná jako na pozici čáry analytu. Ke změření pozadí lze využít neabsorbující čáry z emisního spektra stanovovaného prvku, nebo použít analytickou čáru jiného prvku, což je možné pouze u multielementárních výbojek. Metodu sekvenční korekce nelze použít v případě, kdy se pozadí mění s vlnovou délkou a pro pozorování procesů, které se mění s časem. Tato metoda je využitelná pouze u FAAS a pouze v nouzovém řešení [10, 18, 19].

V dnešní době jsou moderní přístroje vybaveny simultánním typem korekce pozadí. V zásadě existují tři nejčastěji využívané techniky. Jedná se o korekci využívající zdroj kontinua, dále Zeemanovu korekci a metodu Smith–Hieftje [10].

Korekce založena na kontinuálním zdroji záření střídá paprsky čárového a kontinuálního zdroje záření v optické ose spektrometru. Pomocí čárového zdroje záření se stanovuje celková absorpce a využitím zdroje kontinua je určeno absorpční pozadí ve sledovaném spektrálním rozsahu. Specifická absorpce je získána z rozdílu hodnot obou měření. Zařízení na počátku stanovení nastaví intenzitu čárového a kontinuálního zdroje záření na stejnou hodnotu. Pokud bude docházet k specifické absorpci, tak se adekvátně sníží intenzita čárového zdroje, přičemž intenzita zdroje kontinua se sníží minimálně [10, 18].

Jako zdroje kontinuální záření se v UV oblasti v rozmezí 190–350 nm používají deuteriové výbojky. Nad 350 nm se využívá již halogenová žárovka s wolframovým vláknem. Výhodou korekce využívající kontinuální zdroj záření je nízká cena a vysoká frekvence při odečítání signálu. Mezi nevýhody patří nedokonalé korigování strukturovaného pozadí [10, 18].

Dalším způsobem korekce je využití metody Smith–Hieftje. Metoda je založena na rozšíření a samozvratu čáry. K samozvratu dochází z důvodu samoabsorpce. Tato technika funguje na periodickém principu, kdy se střídají tři fáze. První fází je normální žhavení, proces pokračuje vysokoproudovým pulsem a je zakončen uklidňovací fází. Celková absorpce se měří

v normálním žhavení, tedy při normálních provozních proudech, a tedy s normálními profily čar. Zatímco pozadí se měří vedle analytické čáry pomocí přežhavení výbojky za vysokého proudového pulsování. Tuto metodu korekce lze využít i při strukturovaném pozadí a v celém spektrálním rozsahu. Nevýhodou může být snížení citlivosti od 10 do 70 %, v závislosti na typu prvku, a omezená rychlost stanovení, z důvodu doby potřebné na uklidňovací fázi, zpravidla 40 ms. Další nevýhodou může být nedocílení samozvratu u některých prvků, jako např. Al, Mo, W a V [10, 18].

Posledním druhem je Zeemanova korekce. Tento typ korekce je využíván nejčastěji. Pracuje na principu štěpení spektrálních čar v přítomnosti silného magnetického pole. Existují dva typy, založené na štěpení čar. První typ, který štěpí emisní čáry, se nazývá přímá Zeemanovská korekce. Druhým typem štěpící absorpční čáry je inverzní Zeemanovská korekce, kde je zdroj magnetického pole umístěn na atomizátoru. Při vypnutém magnetu je měřena celková absorbance. Pokud je magnetické pole zapnuté dojde ke rozdělení čáry na tři komponenty, kdy centrální π komponenta je přítomna na analytické vlnové délce a je polarizována paralelně s magnetickým polem. Složky σ jsou symetricky posunuty o několik pikometrů od centrální složky π a jsou polarizovány kolmo k magnetickému poli. Složky π a σ lze od sebe rozlišit, protože vykazují polarizaci světla. Složky π jsou polarizované rovnoběžně s magnetickým polem a σ složky jsou polarizované kolmo k magnetu. Zcela primární výhodou zařízení využívající inverzní Zeemanovskou korekci je, že proces korekce probíhá přesně v místě absorpční čáry, tudíž je velmi dobře korigováno i složitější strukturní pozadí. Další výhodou je využití pouze jednoho zdroje záření, tudíž odpadají komplikace s nastavením dvou zdrojů záření, jak je tomu v případě korekce využívající kontinuální zdroj záření. Negativně působí vzorky s vysokou koncentrací analytu, kdy se rozšiřují σ složky, které částečně mohou absorbovat záření a ve výsledku může dojít k nesprávnému rozlišení odezvy analytu od pozadí [10, 18–20].

2.7 Volba modifikátoru

Jako modifikátory lze označit látky, které jsou schopny pozitivně ovlivnit průběh stanovení, ať už se jedná o vliv na proces termické úpravy nebo atomizace. Jedná se o látky, které potlačují nežádoucí interference. Avšak hlavní podmínkou je, že modifikátor nesmí obsahovat stanovovaný prvek. Mezi nejrozšířenější modifikátory lze zařadit sloučeniny na bázi Pd, Pt a Mg. Lze je rozdělit dle složení, kdy modifikátory obsahující ušlechtilé kovy, jako např. Ir, Pd, Pt, Rh a Ru, vynikají vysokým bodem tání. Druhá skupina obsahuje prvky tvořící karbidy. Jedná se zejména o Hf, Mo, Nd, Ta, Ti, V, W a Zr [21]. Modifikátory lze používat samostatně nebo kombinovaně. V poslední době se využívají tzv. permanentní modifikátory, které zaručují dlouhodobou chemickou odolnost a stálost povrchu grafitové květy [10, 21, 22].

Hlavní důvod využívání modifikátorů je stabilizace analytu do vyšších teplot. Vzniká tak stabilnější sloučenina, která se v průběhu termické úpravy efektivně zbaví těkavější složky z matrice. Další pozitivní vlastností je reakce s analytem, přičemž vzniká těkavější sloučenina. Tím se zabrání tvorbě termicky stabilní sloučeniny a zvýší se citlivost stanovení. Často se modifikátor využívá k odstranění interferencí, za produkce více těkavé sloučeniny. Jako příklad lze uvést dusičnan amonný, který zajistí odstranění chloridu sodného, a to převedením na chlorid amonný, který vytěká již při cca 355 °C [10, 22, 23].

2.8 Výskyt zájmových prvků

2.8.1 Železo a nikl v čajových lístcích a půdě

Železo je jeden z 16 základních prvků, které zaručují správný růst a reprodukci rostlin. Řadí se mezi mikroživiny a pro prosperující růst rostlin je vyžadována přístupnost tohoto prvku v půdách. Rostliny získávají železo především z rhizosféry. Ačkoliv je železo rostlinami vyžadováno pouze v malém množství, tak se podílí v mnoha důležitých fyziologických procesech. Železo hraje nezastupitelnou roli při vzniku chlorofylu a je nezbytné pro správnou funkci některých enzymů. Při nedostatku železa může u rostlin docházet ke chloróze neboli žloutnutí listů. Ačkoliv je železo jedním z nejrozšířenějších kovů v zemské kůře, jeho dostupnost pro kořeny rostlin je velmi nízká [24–26].

Nejhojnější formou železa v půdách je hematit neboli oxid železitý, který je ovšem nerozpustný [25]. Dodává půdě typicky červenou barvu. V půdách se uvádí typické množství 5 % železa (tj. 50 g.kg⁻¹) [27]. Dostupnost železa je dána redoxním potenciálem půdy a pH. V půdách, které jsou aerobní nebo mají vyšší pH, je železo snadno oxidováno a vyskytuje se převážně ve formě nerozpustných oxidů nebo hydroxidů železa. Při nižším pH se železité soli uvolňují z oxidu a stávají se dostupnější pro příjem kořeny. Pokud se v půdě vyskytuje také organická hmota, může být železo přítomné v redukované formě jako Fe²⁺, a to v půdním roztoku nebo adsorbováno na povrchu půdních částic. Organické látky v půdách mají zásadní vliv na dostupnost železa pro rostliny. Biochemické sloučeniny a organické kyseliny typu alifatické kyseliny, aminokyseliny, huminové a fulvové kyseliny mohou tvořit rozpustné komplexy s železem. Další možností je přítomnost chelatačních činidel a tím se zvýší i dostupnost železa pro rostliny [25, 28].

Nikl je v pořadí 24. nejhojněji se vyskytující prvek v zemské kůře. Je považován za mikroživinu a nachází se ve vegetativních částech většiny rostlin v rozmezí 1–10 mg.kg⁻¹. Jeho nedostatek může způsobit snížení růstu a metabolismu dusíku a dále také snížení příjmu železa. V nadměrném množství má nikl pro rostliny a lidskou populaci již toxické účinky. Některé druhy rostlin mají schopnost hromadit nikl ve výhonech ve vysokých koncentracích. Tyto rostliny se nazývají hyperakumulátory a uplatňují se v případech kontaminovaného prostředí. Obecně je známo, že pokud je rostlina schopna akumulovat více než 1 000 mg Ni na kg suché hmotnosti, je označována jako hyperakumulátor. Tyto rostliny pak lze s úspěchem využít pro tzv. fytoremediaci [29]. Příjem niklu rostlinami probíhá především před kořenový systém prostřednictvím pasivní difúze a aktivního transportu. Poměr mezi aktivním a pasivním transportem nelze určit. Záleží na druhu rostliny, chemické formě niklu a koncentraci v půdě nebo půdním roztoku. Celkový příjem niklu rostlinami záleží na koncentraci niklu, metabolismu rostlin, pH půdy nebo roztoku, přítomnosti dalších kovů a složení organické hmoty. Příjem obvykle klesá při vyšším pH půdního roztoku, z důvodu tvorby méně rozpustných sloučenin [29–31].

Nikl se dostává do půdy především z antropogenních zdrojů, jako je např. spalování fosilních paliv, likvidace komunálního a průmyslového odpadu a těžební průmysl a zemědělství. Většina niklu se využívá v metalurgickém a galvanickém průmyslu a také jako katalyzátor v chemickém a potravinářském průmyslu. A v poslední době čím dál častěji v bateriích dopravních prostředků. Ve většině přírodních půd je obvyklá koncentrace niklu

v rozmezí 1–450 mg.kg⁻¹. V kontaminovaných půdách však koncentrace niklu může dosáhnout 200–26 000 mg.kg⁻¹ [29, 30].

2.8.2 Železo a mangan ve vodách

Železo a mangan jsou přirozeně se vyskytující prvky v půdě, horninách a vodě. Tyto prvky také bývají často přítomny ve vodách podzemních. Jejich přítomnost může způsobit značné nepříjemnosti, zejména zhoršení organoleptických vlastností vody, což je příčinou např. skvrn na oblečení, sanitárním zařízení nebo může způsobit dráždivou chuť při konzumaci. Požití železa přítomného v pitné vodě není přímo spojeno s negativními účinky na lidské zdraví. Ve značné míře je pro lidské tělo prosperující, jelikož pomáhá přenášet kyslík v krvi. Druhým zájmovým prvkem je mangan, který je také přítomný ve vodách a vyskytuje se společně s železem, ovšem v nižších koncentracích. Mangan je nezbytný pro lidské zdraví, podporuje trávení, zvyšuje pevnost kostí a zlepšuje funkci imunitního systému. Každopádně malé nebo naopak příliš velké množství přijatého manganu může vyvolat toxicitu spojenou s nervovou soustavou [32, 33]. Limitní obsah železa ve vodách je 200 µg/l a manganu 50 µg/l [34].

2.8.3 Kadmium a železo v čajových lístcích

Ačkoliv je čaj vynikajícím zdrojem tříslovin, alkaloidů, aminokyselin a stopových prvků, které obzvláště hrají v lidském organismu důležitou roli, čajové lístky mohou být zdrojem kovů. Některé kovové prvky, jako je měď, mangan a zinek jsou nezbytné pro základní procesy v lidském těle. Ovšem přítomnost kadmia v čajových lístcích je nežádoucí, z důvodu toxicity pro lidský organismus. Kadmium není obsaženo pouze v čaji. Výskyt toxických kovů v produktech určených pro lidskou spotřebu se stal celosvětovým problémem. Nejvýznamnějším zdrojem toxických prvků jsou zejména obiloviny [35, 36].

Čaj může přijímat těžké kovy, mezi které se řadí i kadmium, z hnojiv, půd a emisí z metalurgického a těžebního průmyslu. Největší podíl těžkých kovů a dalších prvků se nachází v listech. Zdrojem kontaminantů mohou být také průmyslová zařízení, která se používají při výrobě čajů, kdy dochází ke kontaktu rostliny s kovovými prvky dané technologie [37, 38].

Opakovaná konzumace kontaminovaných čajových lístků je zdrojem potenciálních zdravotních rizik. Chronická expozice kadmia může způsobit vážné zdravotní problémy, jako je zhoršení paměti, řídnutí kostí nebo také rakovina. Kadmium a další těžké kovy jsou schopny se hromadit v tkáních a mají dlouhý poločas rozpadu [36–38].

Výskyt železa v čajových lístcích je popsán již výše.

2.9 Metody simultánní analýzy

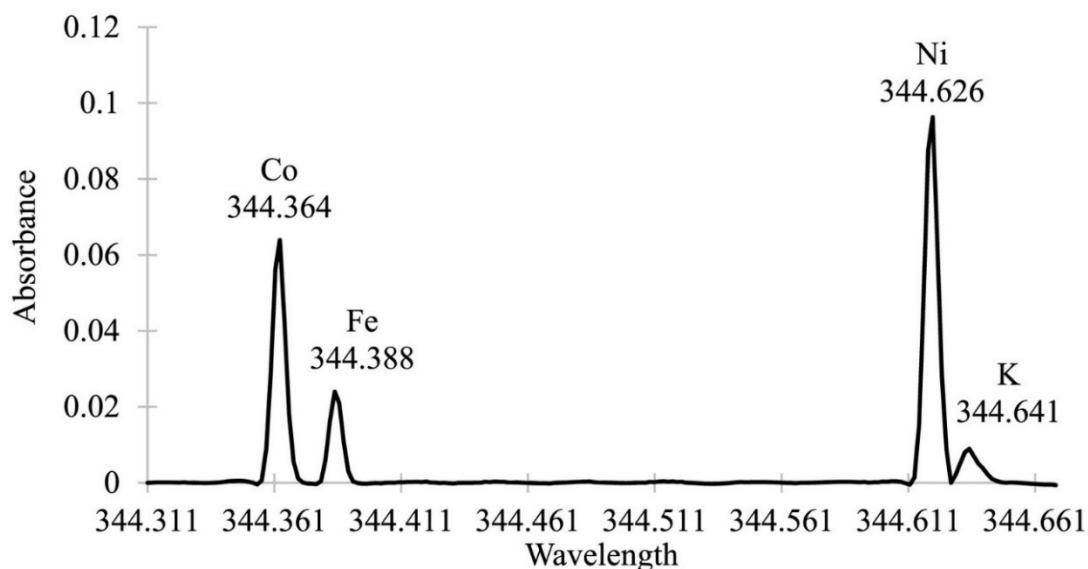
Současný trend ekonomiky a ekologie vyžaduje zavedení šetrnějších postupů především z hlediska spotřeby energie, chemikálií, ale také omezených časových možností. Představením HR-CS-AAS na trhu analytických přístrojů, otevřelo řadu možností s primárním využitím v rutinních laboratořích, kde by zavedení simultánní analýzy, přispělo ke značným úsporám.

Ačkoliv má tato metoda řadu úskalí, např. nalezení vhodných vlnových délek nebo snížená citlivost v závislosti na výběru dané vlnové délky, stále je v ní obrovský potenciál. Výhodou simultánního stanovení více prvků je menší intenzita záření pro sekundární čáry [39]. To obvykle vede k lepšímu poměru signálu a šumu a případně k lepším limitům detekce [39, 40].

Pro názornost byly vybrány čtyři velice zajímavé metody. První dvě metody zahrnují stanovení stabilních prvků. První z nich je stanovení Co, Fe, Ni a K v odpadní vodě [41]. Druhá metoda představuje stanovení Ni, Ba, Fe a Co v různých druzích ořechů [42]. Následující dvě metody fungují na rozdílné těkavosti vybraných prvků. Jedná se o stanovení kadmia a železa v obilných produktech a simultánní analýza zinku a železa v zelenině [43, 44].

2.9.1 Stanovení Co, Fe, Ni a K v odpadní vodě

Nil Ozbek vyvinul metodu na simultánní stanovení Co, Fe, Ni a K ve vzorcích odpadních vod [41]. Měření byla provedena pro 344,364 nm pro Co, 344,388 nm pro Fe, 344,626 nm pro Ni a 344,641 nm pro K při rozlišení 3 pixely. Relativní citlivosti prvků byly 1,6 % Co, 0,59 % Fe, 4,5 % Ni a 0,091 % K. Na uvedených prvcích byla provedena optimalizace teplotního programu. Jako nejvhodnější teplota pyrolýzy byla zvolena 1 000 °C a teplota atomizace 2 000 °C. Ačkoliv hodnota pyrolýzní teploty nebyla pro draslík ideální, poněvadž docházelo ke ztrátě citlivosti, tak byla zanedbána z důvodu vysokého množství draslíku ve vzorcích. Alternativou by mohlo být použití dvoustupňové atomizace, která by nejprve detekovala K a následně až Co, Fe a Ni. Což by ovšem celkově prodloužilo analýzu [41]. Na Obr. 2 je vyobrazeno 2D spektrum.



Obr. 2: Znárodné 2D spektrum 4 detekovaných prvků [41]

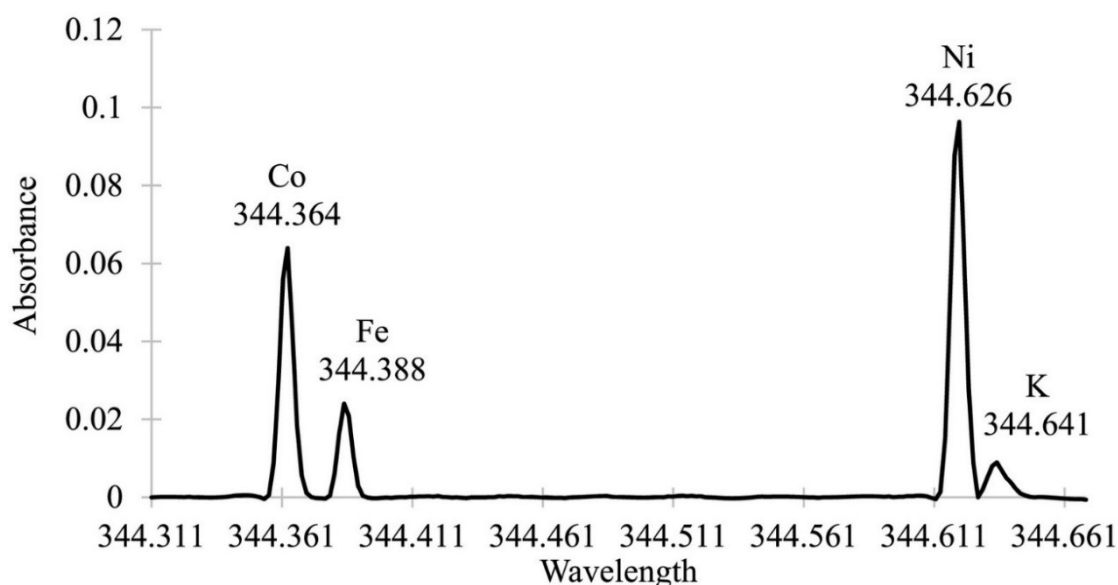
2.9.2 Simultánní stanovení Ba, Co, Fe a Ni v různých druzích ořechů

Další simultánní metodu vyvinul Franciele Rovasi Adolfo a kol., kdy současně stanovili Ba, Co, Fe a Ni v řadě druhů ořechů [42]. Vlnové délky byly nastaveny následovně: Ba – 352,497 nm, Co – 352,685 nm, Fe – 352,604 nm a Ni – 352,454 nm. Spektrální rozlišení na těchto čarách bylo cca 2 pm/pixel, což odpovídá spektrálnímu intervalu 0,4 nm, tedy $\pm 0,2$ nm kolem centrálního pixelu. Relativní citlivosti prvků byly 19 % Ni, 0,059 % Ba, 0,11 % Fe a 4,5 % Co. Integrované absorpční signály byly získány za využití rozlišení pěti pixelů (centrální pixel a čtyři postranní pixely). Integrační čas byl nastaven na 10 s [42].

Vzorky ořechů byly pro tento pokus extrahovány v systému pevná látka-olej-voda. Asi 0,8 g vzorku bylo naváženo do 15ml polyethylenové zkumavky, ke kterému bylo přidáno 4 ml vodného extrakčního roztoku obsahující 15 % Triton X-100 a 20 % HNO₃. Zkumavka byla manuálně třepána po dobu 30 s. Následně byla umístěna do vodní lázně o teplotě 90 °C na 4 minuty. Posledním krokem byla centrifugace při 5 000 otáčkách za minutu po dobu 10 minut. Došlo k rozdělení na čtyři fáze, přičemž organická vrstva byla odstraněna a vodná fáze obsahující extrahované analyty byla odebrána pomocí mikropipety pro další analýzu [42].

Dále byla také využita metoda mineralizace pomocí směsi kyseliny dusičné, vody a peroxidu vodíku [42].

Pouze v jednom případě bylo nutné využít primární vlnovou délku Ba, ke stanovení obsahu tohoto prvku ve vzorku pekanů [42]. Na Obr. 3 je znázorněné 2D spektrum 4 detekovaných prvků.



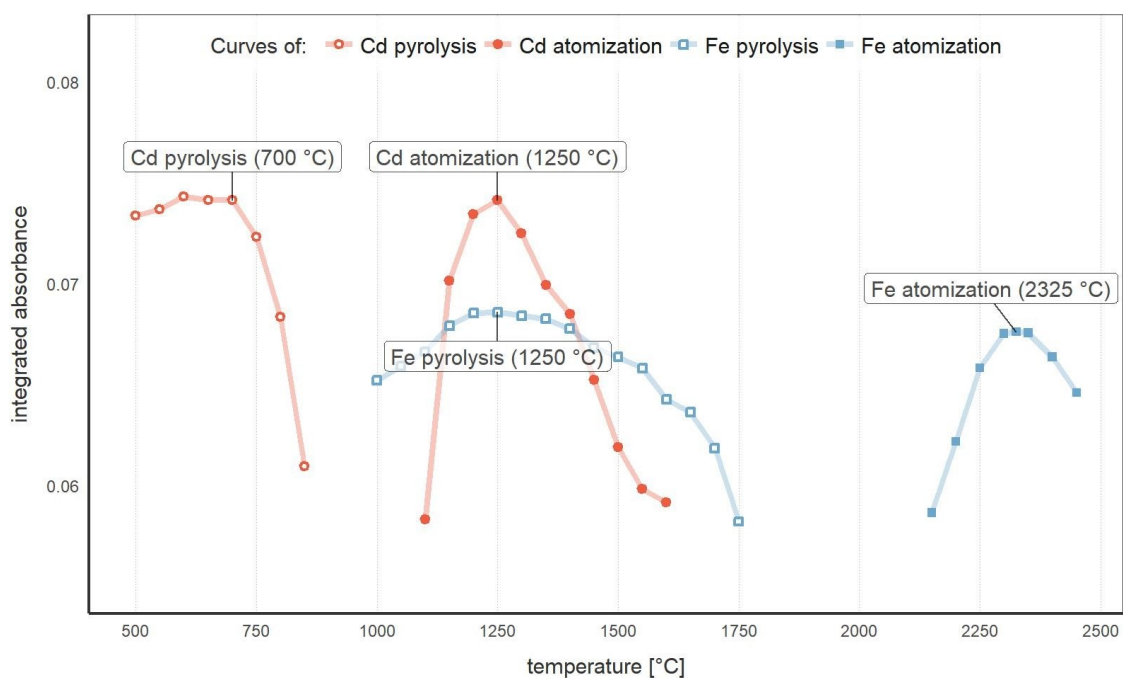
Obr. 3: Znázorněné 2D spektrum 4 detekovaných prvků [42]

2.9.3 Simultánní stanovení kadmia a železa v obilných vločkách

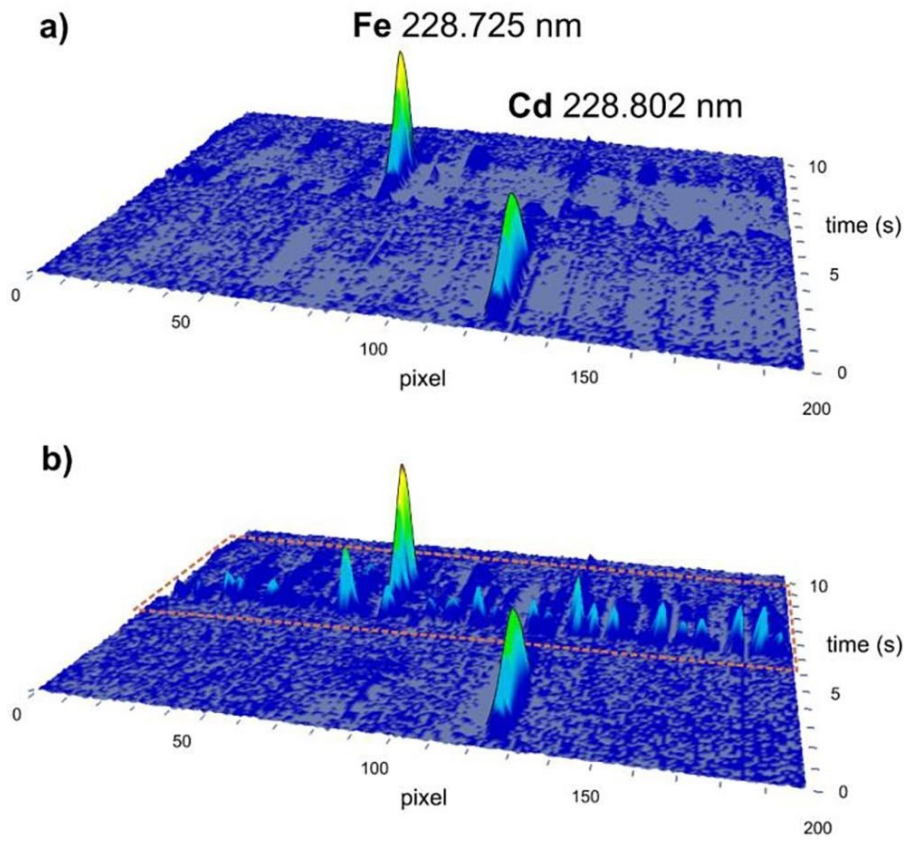
Zvěřina a kol. vyvinuli metodu na stanovení kadmia a železa v obilných vločkách [43]. Tedy prvky s odlišnými termochemickými vlastnostmi. Kdy kadmium se řadí mezi prvky těkavé a železo mezi prvky stabilní a ke stanovení potřebuje mnohem vyšší pyrolýzní a atomizační teplotu. Pro kadmium byla vybrána primární vlnová délka 228,802 nm se 100% citlivostí. A jelikož se železa ve vločkách vyskytuje hojně množství, mohla být zvolena vlnová délka 228,725 nm, která má citlivost pouze 0,91 %, ale stále je pro toto stanovení dobře kvantifikovatelná [43].

Na Obr. 4 lze zaznamenat, že pyrolýza kadmia nastává již při 700 °C, následuje atomizace Cd, při které současně pyrolyzuje železo. Po zvýšení teploty na 2 325 °C dochází u železa k atomizaci.

Na Obr. 5 jsou znázorněná 3D spektra před a po eliminaci interferencí, konkrétně se jednalo o PO pásy [43].



Obr. 4: Optimalizační křivky pro stanovení kadmia a železa v obilných vločkách [43]



Obr. 5: 3D spektrum reálného vzorku po (a) a před (b) korekcí pozadí [43]

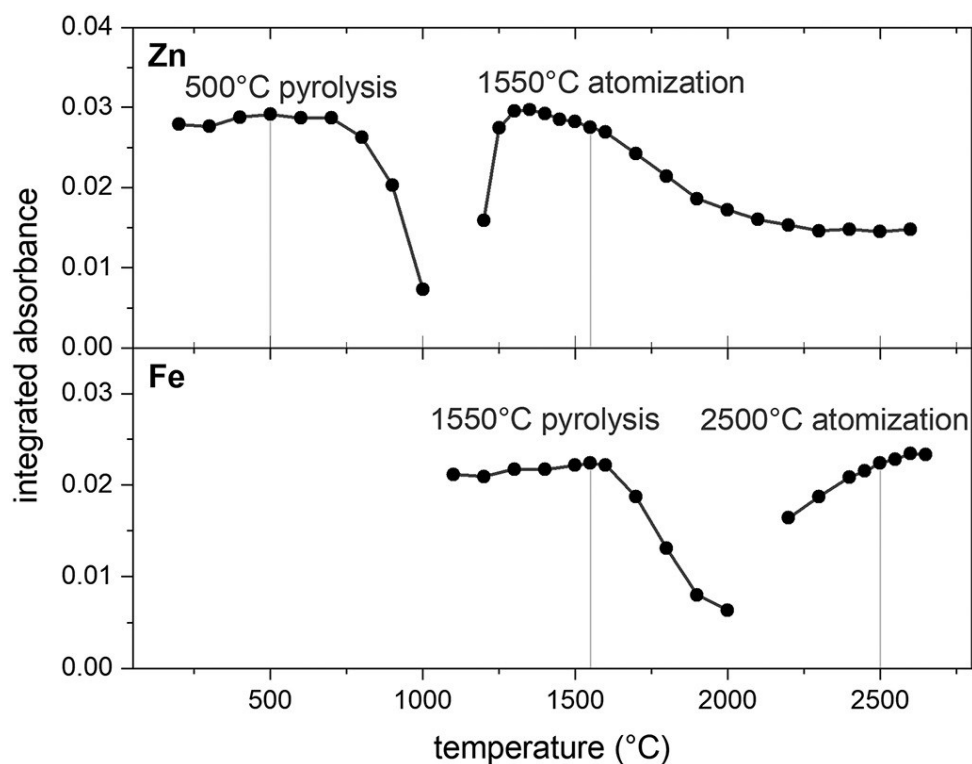
2.9.4 Simultánní stanovení zinku a železa v zelenině

Další příklad stanovení, kdy mají prvky rozdílné termochemické vlastnosti. Jedná se o simultánní stanovení zinku a železa v zelenině. Zinek je řazen mezi těkavé prvky a železo mezi stabilní. Teplota atomizace zinku byla optimalizována již na 1 550 °C, při které simultánně probíhala pyrolýza druhého stanovovaného prvku a to železa. Po zvýšení teploty až na 2 500 °C se atomizovalo také železo [44].

Pro stanovení byla vybrána sekundární vlnová délka Zn 307,588 nm s relativní citlivostí 0,02 % a Fe 307,572 nm s citlivostí 0,043 %. Konkrétní vlnové délky byly zvoleny díky lepšímu poměru citlivosti i S/N [44].

Tato metoda je využitelná pro zavedení do praxe, jelikož stanovuje dva často deficitní prvky v lidské potravě [44].

Na Obr. 6 jsou vyobrazené optimalizační křivky pro simultánní stanovení zinku a železa v zelenině.



Obr. 6: Optimalizační křivky pro stanovení zinku a železa v zelenině [44]

2.10 Limity detekce a stanovitelnosti

Součástí validace metod je nutné pro každý analyzovaný prvek stanovit limit detekce (LOD) a limit stanovitelnosti (LOQ). Desetkrát byla proměřena odezva blanku a zjednodušenou funkcí, která je součástí programu obsluhující AAS, s názvem ASpect CS, byla vypočítána mez detekce a stanovitelnosti.

Limit detekce je definován jako nejnižší hodnota koncentrace konkrétního analytu, která může být detekována, ovšem nemusí být kvantifikována. Hodnotu LOD lze vypočítat jako trojnásobek směrodatné odchylky získané z odezvy blanku. Limit detekce je vyjádřen vztahem:

$$LOD = \frac{3 \cdot S_B}{S} \quad (2)$$

kde S_B je směrodatná odchylka blanku a S je hodnota ze směrnice kalibrační přímky, která je definovaná jako citlivost [45–47].

Limit stanovitelnosti je definován jako nejnižší koncentrace analytu, kterou lze kvantifikovat, neboli určit, s danou přesností a nejistotou. Je vyjádřen vztahem:

$$LOQ = \frac{10 \cdot S_B}{S} \quad (3)$$

kde S_B je směrodatná odchylka blanku a S je hodnota ze směrnice kalibrační přímky, která je definovaná jako citlivost [45–47].

3 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce je zpracovat literární rešerši se zaměřením na problematiku simultánní analýzy rizikových prvků v environmentálních vzorcích. Experimentální část probíhala na atomové absorpční spektrometrii s kontinuálním zdrojem záření a s monochromátorem o vysokém rozlišení. Praktickým cílem je vyvinout metody simultánní analýzy, tzn. vybrat vhodné kombinace analytů a optimalizovat podmínky měření na HR-CS-ET-AAS. Součástí je ověření metody pomocí certifikovaných referenčních materiálů a následná analýza reálných vzorků.

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Použité chemikálie

Kalibrační standard niklu ASTASOL®, $c(\text{Ni}) = 1\,000,0 \pm 0,002 \text{ mg/l}$, (ANALYTIKA, spol. s r.o., ČR)

Kalibrační standard železa ASTASOL®, $c(\text{Fe}) = 1\,000,0 \pm 0,002 \text{ mg/l}$, (ANALYTIKA, spol. s r.o., ČR)

Kalibrační standard manganu ASTASOL®, $c(\text{Mn}) = 1\,000,0 \pm 0,002 \text{ mg/l}$, (ANALYTIKA, spol. s r.o., ČR)

Kalibrační standard kadmia ASTASOL®, $c(\text{Cd}) = 100,0 \pm 0,2 \text{ mg/l}$, (ANALYTIKA, spol. s r.o., ČR)

Modifikátor matrice $\text{Pd}(\text{NO}_3)_2 - 2 \text{ g/l v } 0,2 \% \text{ HNO}_3$ (ANALYTIKA, spol. s r.o., ČR)

Modifikátor matrice $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 - 2 \text{ g/l v } 0,2 \% \text{ HNO}_3$ (ANALYTIKA, spol. s r.o., ČR)

Kyselina chlorovodíková konc., p.a. (Merci, ČR)

Kyselina dusičná konc., p.a. (Merci, ČR)

Peroxid vodíku 30%, (PENTA s.r.o., ČR)

Milli-Q voda

4.1.1 Certifikované materiály

Matricový certifikovaný referenční materiál zeleného čaje METRANAL® CRM AN-BM02, (ANALYTIKA, spol. s r.o.)

Certifikovaný referenční materiál TEA LEAVES (INCT-TL-1), (Institute of Nuclear Chemistry and Technology, PL)

Materiál pro kontrolu jakosti METRANAL® (QCM 1) – Říční sediment (ANALYTIKA, spol. s r.o., ČR)

Certifikovaný referenční materiál, ICP multi-element standard solution IV, (Merck KGaA, Germany)

4.2 Použité pomůcky

Mikropipety (Finnpipette, 1–10 μl , 10–100 μl , 100–1 000 μl , 1 000–10 000 μl)

Laboratorní odměrné sklo

Parafilm

4.3 Použité zařízení

AAS ContrAA 800D (Analytik Jena, Německo)

Mikrovlnné zařízení ETHOS EASY (Milestone, Itálie)

Mili-Q Ultrapure Water Systems (Merck, Německo)

Laboratorní analytické váhy (Denver Instrument Co., USA)

4.4 Popis vzorku

4.4.1 Vzorky čajových lístků

Vzorky čajových lístků byly zakoupeny v obchodní síti České republiky, od společnosti ManuTea. Jednalo se o vzorky zelených čajů, a to bez příměsí, ale také s přidavkem přírodních dochucovadel typu jasmín nebo brusinka. Dále také o cesmínu paraguayskou a citronovou trávu. Konkrétní vybrané vzorky jsou zapsány v Tab. 1. Mapa plantáží stanovovaných vzorků je na Obr. 7. Dva vzorky čajů byly vypěstovány na plantážích v Číně a další v Argentině, Egyptě a Japonsku [48].

Tab. 1: Vybrané vzorky čajů [48]

Označení vzorku	Název	Místo pěstování
1	China gunpowder super – zelený čaj	Čína
2	Yerba mate elaborado con palo – cesmína paraguayská	Argentina
3	Jasmínový – zelený čaj	Čína
4	Brusinkovo – kaktusový – zelený čaj	Japonsko
5	Citronová tráva – bylina	Egypt



Obr. 7: Mapa plantáží analyzovaných čajů [48, 49]

4.4.2 Vzorky půd

Vzorkování půd proběhlo v blízkosti hlavní dopravní komunikace vedoucí do města Brna. Konkrétní silnice je velmi dopravně zatížená. Proto je v této oblasti očekávané zvýšení znečištění právě z dopravních prostředků. Vzorek byl odebrán pomocí plastové lopatky směsný vzorek z 5 půdních horizontů. Jedná se o nadložní organický horizont a následně půdní profil 0–2 cm, 2–10 cm, 10–20 cm a 20–30 cm. Vzorky byly uchovány v polyethylenových sáčcích.

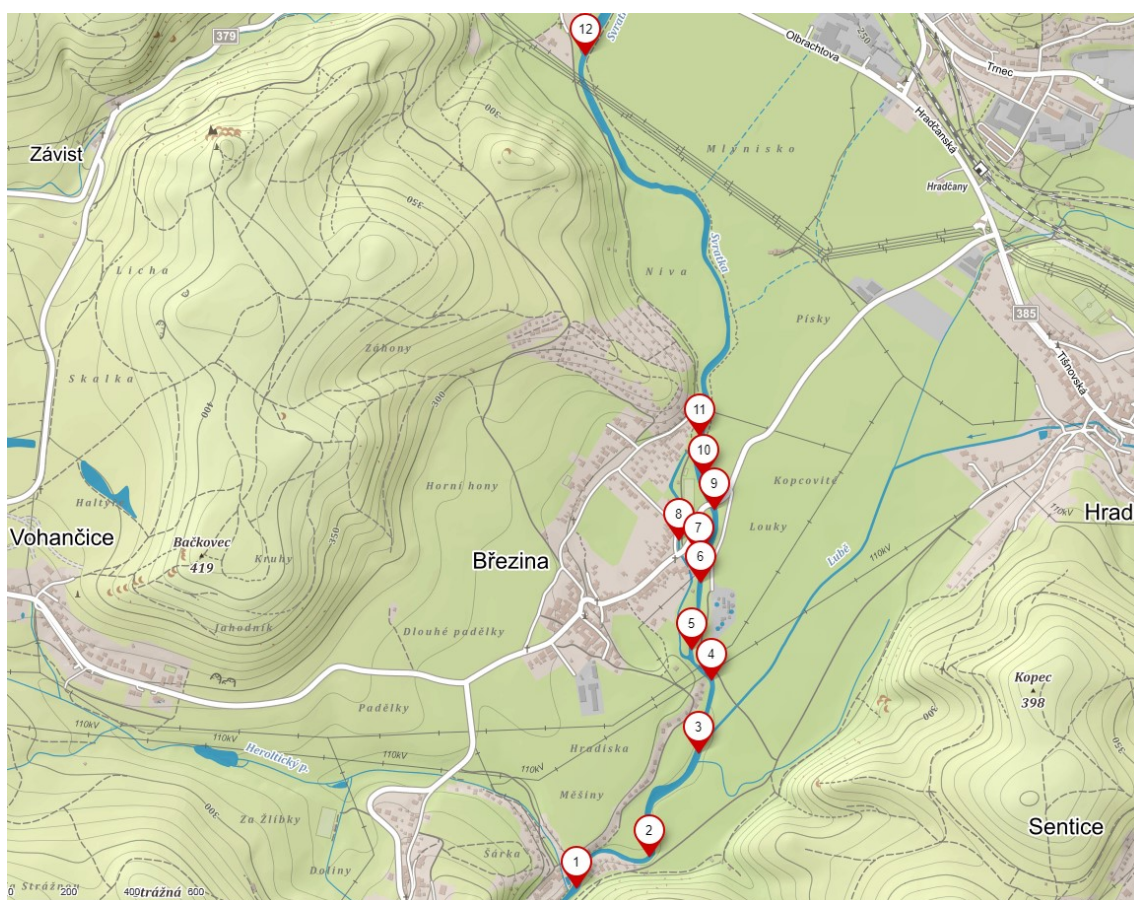
Vzorky půd byly transportovány do laboratoře FCH VUT v Brně, kde byly sušeny při laboratorní teplotě, následně zhomogenizovány a dle normy ČSN ISO 11464 [50] upraveny na velikost půdních částic <2 mm. Jedná se o tzv. jemnozem. Tímto způsobem předupravené vzorky již byly využity k mineralizaci. Odběrné místo půd je znázorněno červeným bodem na Obr. 8.



Obr. 8: Odběrné místo půd [49]

4.4.3 Vzorky vod

Vzorky vod byly odebrány zaškoleným a akreditovaným pracovníkem Výzkumného ústavu vodohospodářského T. G. Masaryka v Brně. Vzorkování probíhalo na řece Svatce. Celkem bylo odebráno 12 vzorků povrchových vod. Vzorky byly odebrány do předem určených vzorkovnic, umístěny do termoboxu a v neprodlené době doručeny do laboratoře FCH VUT v Brně. Vzorkování proběhlo v souladu s normou ČSN EN ISO/IEC 17025 a ČSN EN ISO 5667–14 [51, 52]. Na Obr. 9 jsou vyznačená odběrná místa na řece Svatce. Celkem na řece bylo odebráno 12 vzorků vod. Dále byly navzorkovány 4 vzorky vody podzemní, přesněji studniční.



Obr. 9: Odběrná místa na řece Svatce [49]

4.5 Příprava vzorků

Na mineralizaci předupravených vzorků čajových lístků a půd byl využit mikrovlnný rozkladný systém ETHOS EASY. Jedná se o zařízení, které je přizpůsobeno pro práci za vysokých teplot a tlaků. Kapacita tohoto zařízení je 15 vzorků.

4.5.1 Mineralizace vzorků čajových lístků

Pro převedení vzorků čajových lístků do kapalného skupenství bylo na analytických vahách s přesností na čtyři desetinná místa naváženo přibližně 100 mg vzorku. Toto množství bylo kvantitativně převedeno do teflonových patron. Ke vzorku bylo přidáno 9 ml kyseliny chlorovodíkové (HCl) a 1 ml peroxidu vodíku (H₂O₂). Po spuštění specifického programu (Tab. 2) a po jeho dokončení byly mineralizované vzorky kvantitativně převedeny do 50ml odměrných baněk, které byly následně Milli-Q vodou doplněny po rysku. Vzorky byly uchovány v polyetylenových nádobkách do doby analýzy.

Tab. 2: Teplotní program pro mineralizaci čajových lístků

Krok	Čas [min]	Teplota [°C]	Výkon [W]
Zahřívání	20	190	1 800
Rozklad	15	190	1 800
Chlazení	20	-	-

4.5.2 Příprava vodného výluhu čaje

Vodné výluhu vzorků čajů byly připraveny na základě doporučeného postupu od výrobce. Do předem dekontaminovaných a vyčištěných titračních baněk bylo odměřeno 100 ml mQ vody, která byla pomocí topné ploténky zahřáta na danou teplotu příslušící konkrétnímu vzorku čaje. Po ohřevu na doporučenou teplotu bylo do vody vloženo určité množství čaje v závislosti na množství vody. Doba louhování probíhala dle instrukcí výrobce. Po uplynutí doby louhování byla oddělena vodní fáze od pevné (čajové lístky) a čajový výluh byl převeden do předem dekontaminovaných a vyčištěných 100ml polyetylenových vzorkovnic. Pro konzervaci bylo do vzorku aplikováno 500 µl koncentrované kyseliny dusičné.

4.5.3 Mineralizace vzorků půd

Mineralizace vzorků půd probíhala obdobným způsobem jako u čajových lístků. Také bylo na analytických vahách naváženo 100 mg vzorku a kvantitativně převedeno do teflonových patron. Ke vzorku bylo přidáno 3 ml HCl a 1 ml HNO₃. Byla spuštěna mineralizace, viz Tab. 3. Po ukončení procesu byly mineralizáty kvantitativně převedeny do 50ml odměrných baněk a opět Milli-Q vodou doplněny po rysku. Dále byly vzorky skladovány v polyetylenových nádobkách, až do doby analýzy.

Tab. 3: Teplotní program pro mineralizaci půd

Krok	Čas [min]	Teplota [°C]	Výkon [W]
Zahřívání	15	200	1 800
Rozklad	15	200	1 800
Chlazení	20	-	-

4.5.4 Příprava vzorků vod

Vzorky vod byly odebrány do předem dekontaminovaných a vyčištěných 100ml polyetylenových vzorkovnic. Ke konzervaci byla použito 500 µl koncentrované kyseliny dusičné. Odběr vzorků vod byl zajištěn ve spolupráci s pracovníky z Výzkumného ústavu vodohospodářského T. G. Masaryka v Brně. Vzorky byly uloženy v chladu a temnu do doby analýzy.

4.6 Vývoj metody simultánního stanovení niklu a železa v čajových lístcích

4.6.1 Volba vlnových délek a nastavení parametrů

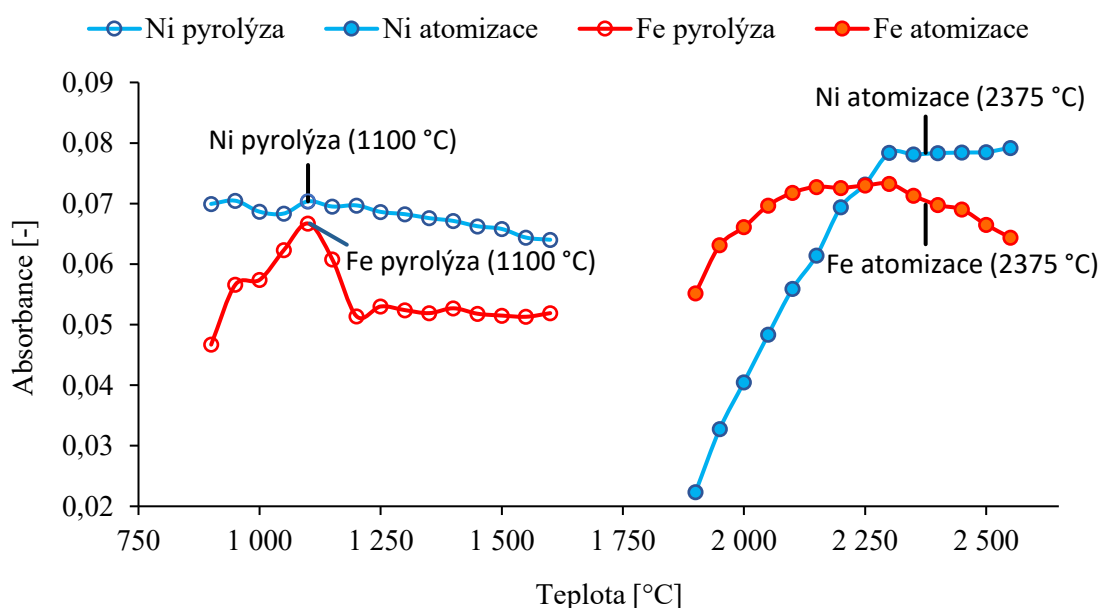
Pro vývoj metody simultánního stanovení více prvků na HR-CS AAS byly zvoleny prvky nikl a železo. Pro nikl byla zvolena sekundární vlnová délka s citlivostí 59 %. Jedná se o vlnovou délku 231,0960 nm. Pro stanovení železa byla vybrána vlnová délka 231,3100 nm s citlivostí 0,91 %. Přístroj je tedy schopen v tomto spektrálním rozsahu zaznamenat odezvu v oblasti cca 0,21 nm. Rozlišení pro simultánní stanovení bylo experimentálně ověřeno a adekvátní je hodnota 3 pixely. Pro zajištění stability vzorku v průběhu termické úpravy bylo k reálnému vzorku a standardu aplikováno 5 µl modifikátoru na bázi Mg. Jedná se konkrétně o Mg(NO₃)₂. Podrobné parametry stanovení jsou uvedeny v Tab. 4.

Tab. 4: Parametry pro simultánní stanovení niklu a železa

Prvek	Vlnová délka [nm]	Citlivost [%]	Rozlišení [pxl]	Modifikátor
Nikl	231,0960	59	3	Mg(NO ₃) ₂
Železo	231,3100	0,91	3	

4.6.2 Optimalizace teplotního programu

Optimalizace teplotního programu probíhala následovně. V prvním kroku byla za nižších teplot pyrolýzy experimentálně zjištěna vhodná teplota atomizace pro Fe a Ni a následovně byly proměřeny teploty pyrolýzy s již zjištěnou teplotou atomizace. Na Obr. 10 lze vidět křivku pyrolýzy a atomizace pro železo a nikl. Teplota pyrolýzy pro nikl a železo byla zvolena 1 100 °C. Dále lze zaznamenat, že pyrolýzní křivka železa po překročení této teploty klesá. Teplota atomizace byla zvolena 2 375 °C, ačkoliv již u železa byla zaznamenána nižší odezva. Důvodem, proč nebyla zvolena teplota při nejvyšší absorbanci je výskyt interference, proto byla zvolena vyšší teplota, kde byl záznam kvalitnější a poměr signálu k šumu výrazně lepší. Zvolený teplotní program je také zaznamenán v Tab. 5.

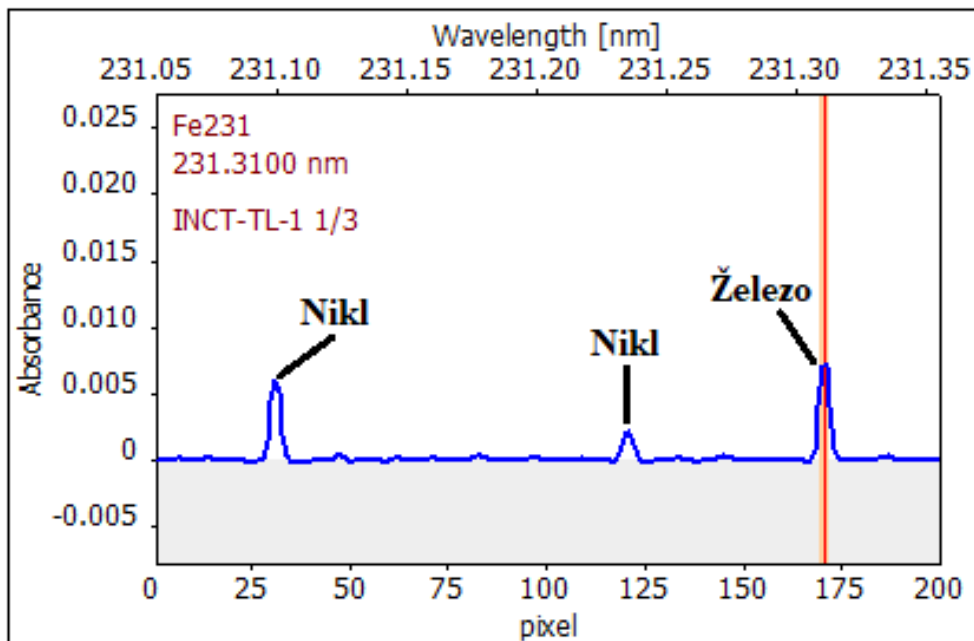


Obr. 10: Optimalizační křivky pro stanovení niklu a železa

Tab. 5: Teplotní program pro stanovení niklu a železa v čaji

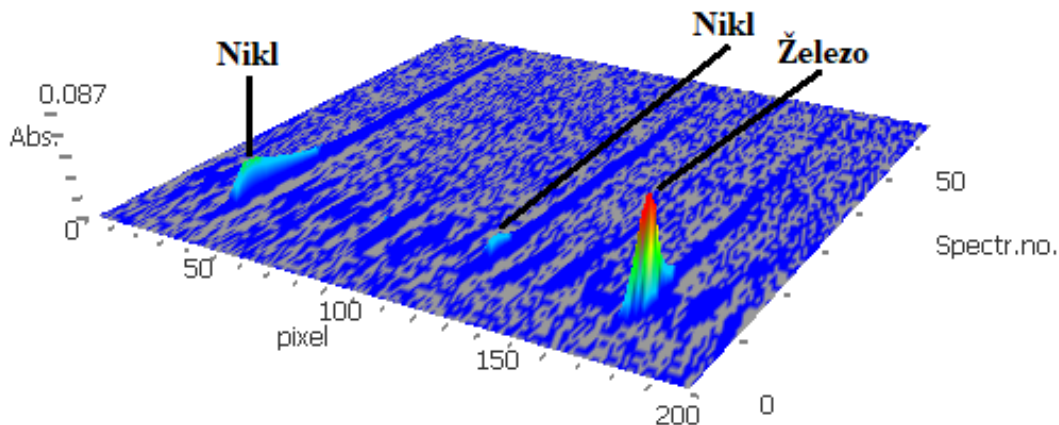
Proces	Teplota [°C]	Nárůst teploty [°C.s ⁻¹]	Doba zdržení [s]	Celkový čas [s]
Sušení	120	5	10	28,0
Pyrolýza	1 100	300	10	12,7
Přívod plynu	1 100	0	5	5,0
Atomizace	2 375	1 500	6	6,9
Čištění květy	2 500	500	4	4,3

Na Obr. 11 je vyobrazené dvojrozměrné spektrum závislosti absorpance na vlnové délce a měřených pixelech. Lze zaznamenat výskyt píků patřící niklu a železu.



Obr. 11: Zobrazené dvourozměrné spektrum niklu a železa v čaji

Na Obr. 12 je znázorněné trojrozměrné spektrum, na kterém lze opět vidět píky náležící niklu a železu. Spektrum je vyobrazené v závislosti absorpance na pixelech a čase.

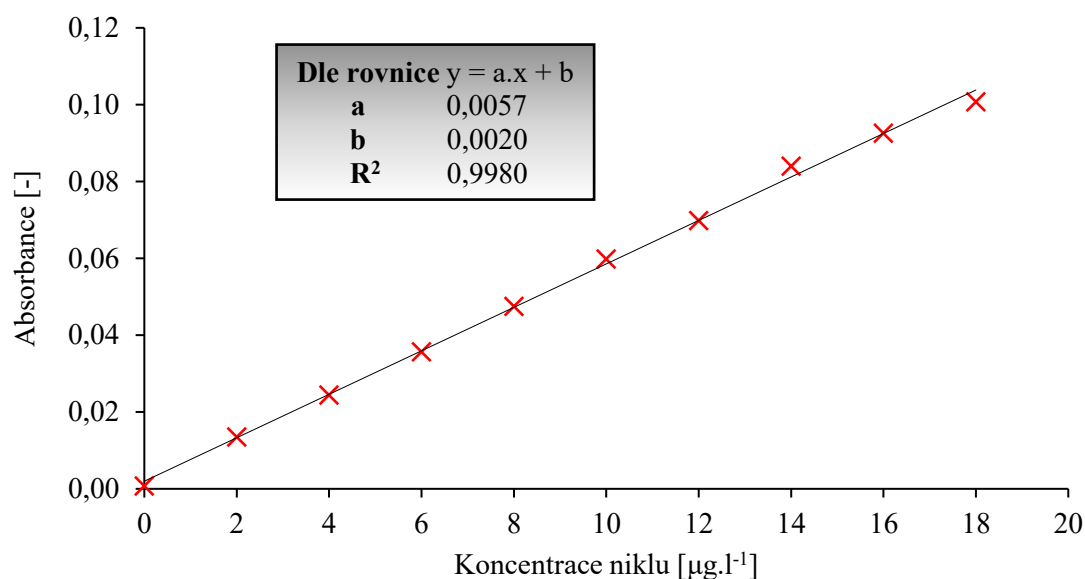


Obr. 12: Zobrazené trojrozměrné spektrum niklu a železa v čaji

4.6.3 Validace metody

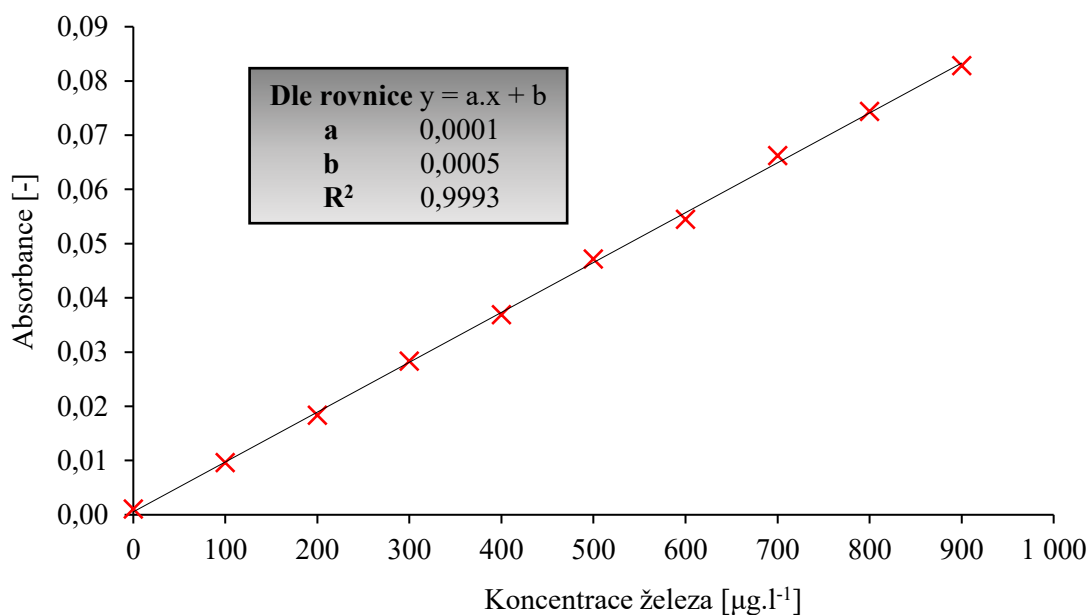
Validace metody pro simultánní stanovení železa a niklu v čajových lístcích probíhala za pomoci vytvoření směšného standardu obsahující tyto dva prvky. Měření kalibrační křivky a reálných vzorků probíhala za simultánního módu.

Pro stanovení niklu v čajových lístcích byla vytvořena kalibrace v rozsahu 0–18 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Při nejvyšší koncentraci je absorbance cca 0,1. Zvolený rozsah kalibrační křivky byl přizpůsoben obsahu Ni v reálných vzorcích. Kalibrační křivka je v tomto rozsahu lineární, čemuž nasvědčuje i hodnota korelačního koeficientu (0,9980). Podle literatury by měla být vyšší než 0,99 [53]. Kalibrační křivka pro nikl, včetně parametrů rovnice regrese, je na Obr. 13.



Obr. 13: Kalibrační křivka pro stanovení niklu v čaji

Při simultánním stanovení železa musely být s ohledem na reálný obsah železa ve vzorcích zvoleny vyšší hodnoty koncentrací. Rozsah kalibrační křivky byl zvolen od 0 do 900 $\mu\text{g.l}^{-1}$, kdy poslední bod měl odezvu cca 0,09. Hodnota spolehlivosti byla stanovena na 0,9993. Na Obr. 14 je zobrazena kalibrační křivka, včetně parametrů rovnice regrese pro stanovení železa v čaji.



Obr. 14: Kalibrační křivka pro stanovení železa v čaji

Vyvinutá metoda simultánního stanovení železa a niklu v čajových lístcích byla ověřena pomocí certifikovaných referenčních materiálů. Veškerá měření probíhala dle teplotního programu uvedeného v Tab. 5. První referenční materiál byl vzorek čínského zeleného čaje AN–BM02 a druhý byl černý čaj INCT–TL–1, původem z Argentiny. Experimentálně zjištěná hodnota CRM AN–BM02 stanoveného na obsah niklu odpovídala koncentraci $4,69 \pm 0,20 \text{ mg.kg}^{-1}$, certifikovaná hodnota je $4,84 \pm 0,13 \text{ mg.kg}^{-1}$. Pravdivost tohoto stanovení byla cca 96,9 %. Koncentrace železa byla stanovena na $215 \pm 8 \text{ mg.kg}^{-1}$, přičemž certifikovaná hodnota je $216 \pm 15 \text{ mg.kg}^{-1}$. Pravdivost stanovení železa v CRM AN–BM02 byla přibližně 100 %. Při stanovení druhého certifikovaného referenčního materiálu INCT–TL–1 byla experimentálně změřena koncentrace niklu, který odpovídal hodnotě $6,51 \pm 0,32 \text{ mg.kg}^{-1}$. Certifikovaná hodnota je $6,12 \pm 0,52 \text{ mg.kg}^{-1}$. Vypočítaná pravdivost stanovení činila cca 106,4 %. Hodnota železa u kontrolního materiálu INCT–TL–1 má pouze informativní charakter, nejedná se o certifikovanou hodnotu. Experimentálně zjištěné hodnoty jsou zaznamenané v Tab. 6.

Tab. 6: Experimentálně zjištěné hodnoty CRM

Označení vzorku	Koncentrace Ni [mg.kg ⁻¹]	Certifikovaná hodnota Ni [mg.kg ⁻¹]	Koncentrace Fe [mg.kg ⁻¹]	Certifikovaná hodnota Fe [mg.kg ⁻¹]
AN-BM02	$4,69 \pm 0,20$	$4,84 \pm 0,13$	$215,0 \pm 8,0$	216 ± 15
INCT-TL-1	$6,51 \pm 0,32$	$6,12 \pm 0,52$	$461,8 \pm 24,9$	*432

*Pouze informativní hodnota

Pro zjištění limitu detekce (LOD) a kvantifikace (LOQ) byl přístrojem 10krát změřen blank. Byla spočtena směrodatná odchylka a vypočteny LOD a LOQ pro zájmové prvky, které jsou zaznamenané v Tab. 7.

Tab. 7: Stanovené limity detekce a kvantifikace pro zájmové prvky

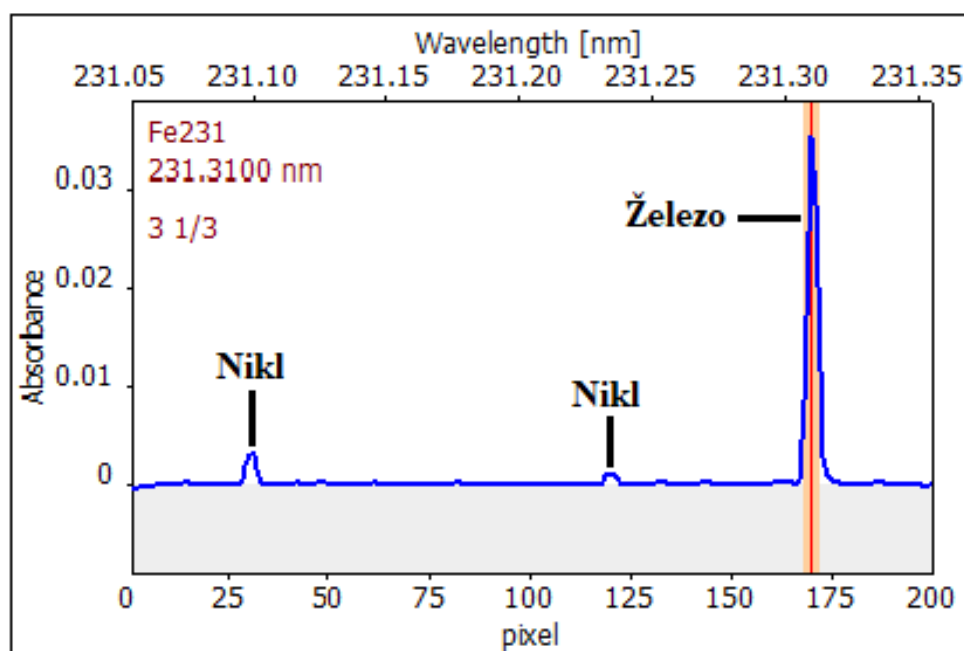
Prvek	LOD [$\mu\text{g.l}^{-1}$]	LOD _{Procedurální} [$\mu\text{g.l}^{-1}$]	LOQ [$\mu\text{g.l}^{-1}$]	LOQ _{Procedurální} [$\mu\text{g.l}^{-1}$]
Nikl	0,4257	5,077	1,277	15,23
Železo	35,74	91,08	107,2	273,2

4.7 Vývoj metody simultánního stanovení Ni a Fe v půdě

4.7.1 Optimalizace teplotního programu

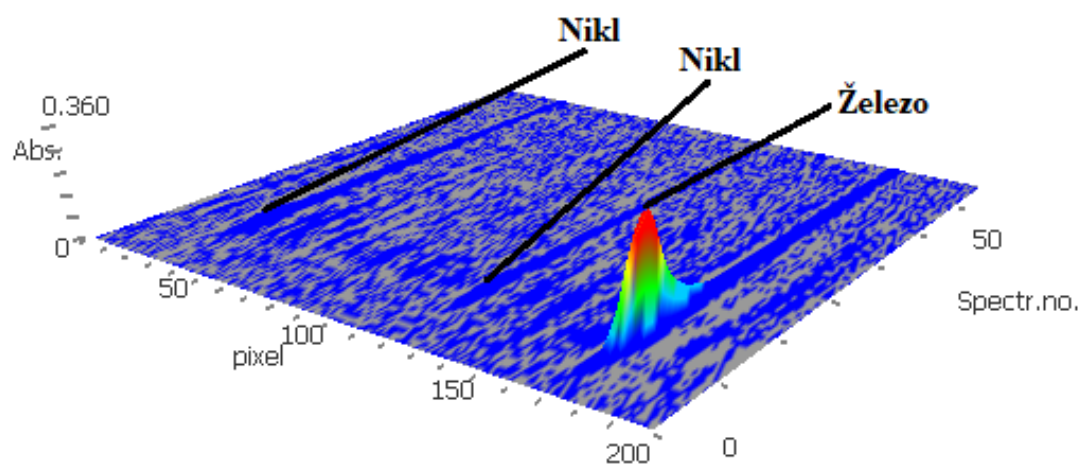
Optimalizace teplotního programu proběhla zkráceným způsobem, s ohledem na již vyvinutou simultánní metodu pro stanovení niklu a železa v čajových lístcích. Byla proměřena potenciální teplota pyrolýzy v rozmezí 900–1 300 °C a atomizační teplota v rozpětí 2 100–2 500 °C. Bylo zjištěno, že zvolený teplotní program u metody výše je vhodný i pro simultánní stanovení niklu a železa v půdě. Analýza opět probíhala za teploty pyrolýzy 1 100 °C a teploty atomizace 2 375 °C. Podrobné parametry simultánního stanovení jsou uvedeny v Tab. 4 a Tab. 5. Optimalizační křivky jsou vyobrazeny na Obr. 10.

Na Obr. 15 je znázorněné dvourozměrné spektrum simultánního stanovení niklu a železa v půdách. Lze zaznamenat odezvy náležící právě niklu a železu. Ve srovnání s Obr. 11, lze pozorovat vyšší odezvu železa.



Obr. 15: Zobrazené dvourozměrné spektrum niklu a železa v půdě

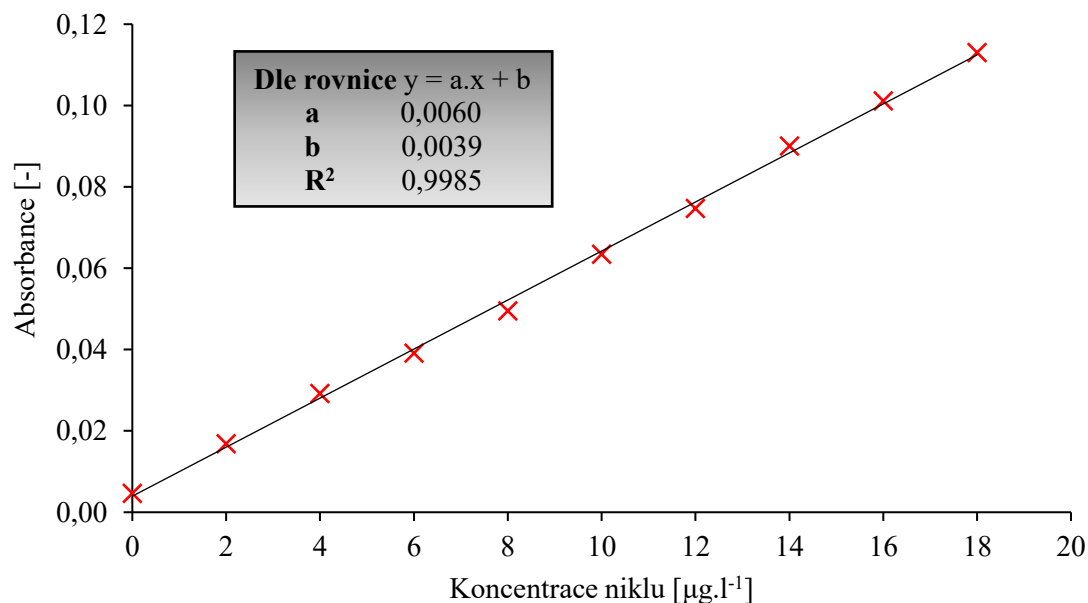
Na Obr. 16 lze vidět trojrozměrné spektrum simultánního stanovení niklu a železa v půdě. Lze v malé míře zaznamenat přítomnost rušivých vlivů.



Obr. 16: Zobrazené trojrozměrné spektrum niklu a železa v půdě

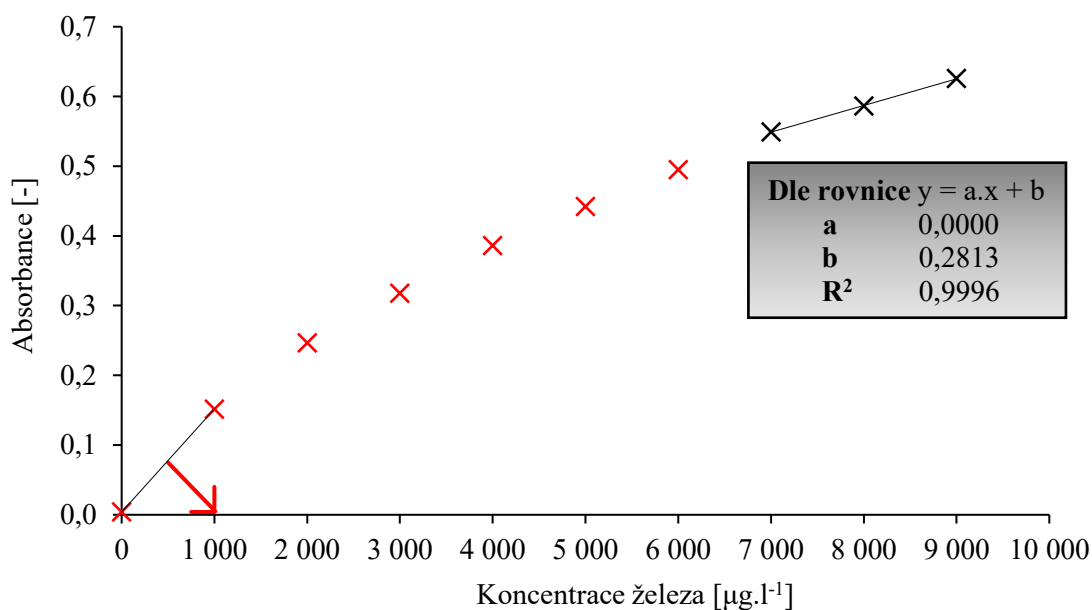
4.7.2 Validace metody

Na reálném vzorku půdy byla změřena odezva niklu a železa. Bylo zjištěno, že rozsah kalibrační řady pro stanovení niklu je dostačující v rozmezí od 0 do 18 $\mu\text{g.l}^{-1}$, tedy jak v předešlém případě. Kalibrační křivka byla změřena opakovaně a je zřejmé, že i v druhém případě má křivka totožný trend. Hodnota spolehlivosti zde činila 0,9985, což je v porovnání s hodnotou předešlého měření (0,9980), viz Obr. 13, zanedbatelné. Na Obr. 17 je vyobrazena změřená kalibrační křivka pro nikl včetně uvedených parametrů rovnice regrese.

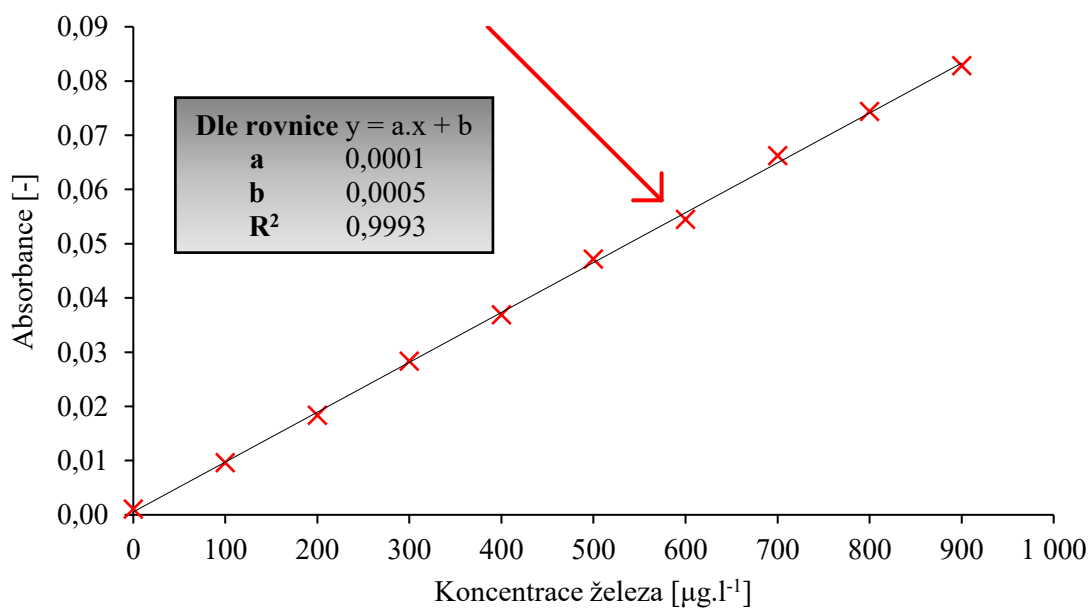


Obr. 17: Kalibrační křivka pro stanovení niklu v půdě

Při stanovení reálného vzorku bez využití ředění, byla hodnota odezvy železa natolik vysoká, že oproti předešlému případu (Obr. 14), bylo otestováno navýšení koncentračního rozsahu. Na Obr. 18 je vyobrazena závislost pro stanovení železa. Nejvyšší naměřená koncentrace byla 9 mg.l^{-1} a hodnota absorbance dosahovala hodnot cca 0,6. Lze zaznamenat, že tato závislost již nemá lineární charakter. Závislost vykazovala lineární charakter přibližně do koncentrace 1 mg.l^{-1} . V literatuře od Welze a kol. je uvedeno, že konkrétně u stanovení železa je pozorován specifický trend, kdy je kalibrační závislost při nižších koncentracích lineární, následně se při zvýšení koncentrace mění na polynomický charakter a opět při vyšších hodnotách koncentrací je lineární, ovšem má jinou směrnici než při nízkých hodnotách koncentrací [54]. Tento případ se projevil i u konkrétního stanovení, viz Obr. 18. Lze zaznamenat, při hodnotách do 1 mg.l^{-1} je závislost strmější, tedy má lineární dynamický pracovní rozsah, což svědčí o vyšší citlivosti, než v případě vyšších koncentrací, kdy je přímka postupně vzrůstající a citlivost tím pádem klesá. Obr. 18 odkazuje červenou šipkou na Obr. 19, z důvodu linearity do hodnot koncentrace přibližně 1000 $\mu\text{g.l}^{-1}$.



Obr. 18: Kalibrační křivka pro stanovení železa v půdě



Obr. 19: Kalibrační křivka pro stanovení železa v půdě

Nově vyvinutá metoda na stanovení niklu a železa ve vzorcích půd byla ověřena na certifikovaném referenčním materiálu Metranal 1. Experimentálně zjištěná hodnota niklu v certifikovaném materiálu byla stanovena na $36,3 \pm 1,1 \text{ mg.kg}^{-1}$ a certifikovaná hodnota je $35,4 \pm 5 \text{ mg.kg}^{-1}$. Pravdivost tohoto stanovení byla cca 102,5 %. Zjištěná hodnota železa v CRM byla $27\,829 \pm 501 \text{ mg.kg}^{-1}$, kdežto certifikovaná hodnota je stanovena na $25\,500 \pm 2\,700 \text{ mg.kg}^{-1}$. Pravdivost stanovení železa v CRM Metranal 1 byla

přibližně 109,1 %. V rámci odchylky je změřená hodnota považována za pravdivou. V Tab. 8 je zapsána experimentálně změřená a certifikovaná hodnota niklu a železa v certifikovaném referenčním materiálu Metranal 1. Stanovené hodnoty LOD a LOQ jsou zaznamenány v Tab. 9.

Tab. 8: Experimentálně zjištěná a certifikovaná hodnota CRM

Označení vzorku	Koncentrace Ni [mg.kg ⁻¹]	Certifikovaná hodnota Ni [mg.kg ⁻¹]	Koncentrace Fe [mg.kg ⁻¹]	Certifikovaná hodnota Fe [mg.kg ⁻¹]
Metranal 1	36,3 ± 1,1	35,4 ± 5	27 829 ± 501	25 500 ± 2 700

Tab. 9: Stanovené hodnoty LOD a LOQ pro stanovení niklu a železa v půdách

Prvek	LOD [μg.l ⁻¹]	LOD _{Procedurální} [μg.l ⁻¹]	LOQ [μg.l ⁻¹]	LOQ _{Procedurální} [μg.l ⁻¹]
Nikl	0,4257	4,104	1,277	12,31
Železo	35,74	136,0	107,2	408,1

4.8 Vývoj metody simultánního stanovení Mn a Fe ve vodách

4.8.1 Volba vlnových délek a nastavení parametrů pro metodu bez využití modifikátoru

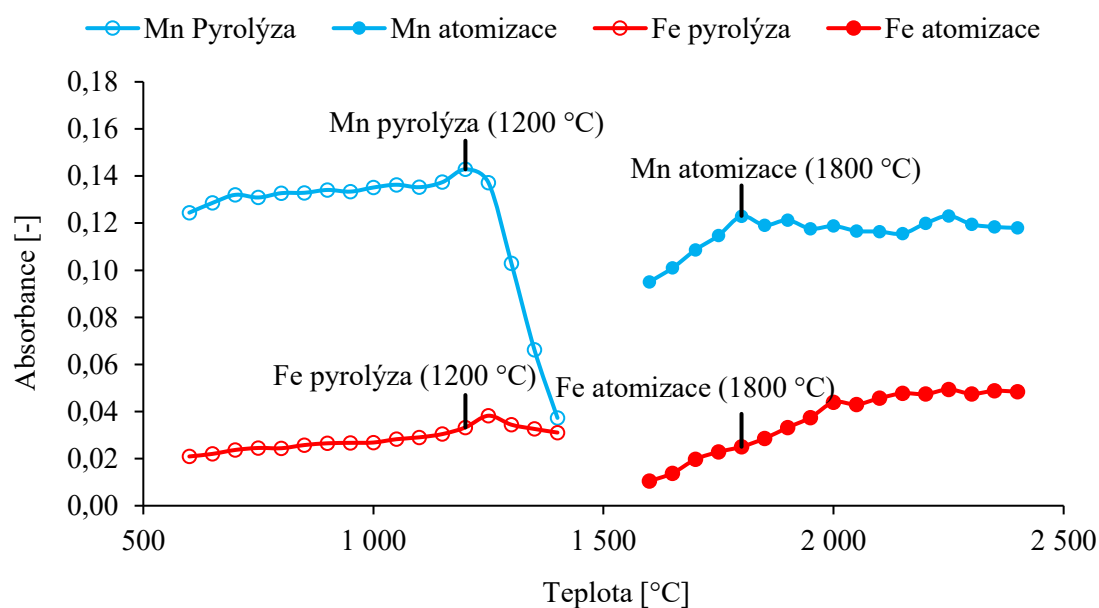
Další nově vyvinutá metoda simultánní analýzy je stanovení manganu a železa ve vodách. Pro mangan byla zvolena vlnová délka 210,9580 nm s relativní citlivostí 1,8 %. Vlnová délka pro stanovení železa byla vybrána 210,8960 nm s citlivostí 0,59 %. Rozlišení bylo nastaveno na 3 pixely, tedy jeden centrální a dva postranní. Pro tyto dva prvky je možné využít možnost měření jak bez přídavku modifikátoru ke vzorku, tak s přídavkem. S ohledem na snížení spotřeby chemikálií byla primárně vyzkoušena metoda bez aplikace modifikátoru. Parametry stanovení jsou zaznamenány v Tab. 10.

Tab. 10: Parametry pro stanovení železa a manganu bez přítomnosti modifikátoru

Prvek	Vlnová délka [nm]	Citlivost [%]	Rozlišení [pxl]
Mangan	210,9580	1,8	3
Železo	210,8960	0,59	3

4.8.2 Optimalizace teplotního programu bez modifikátoru

Optimalizace teplotního programu probíhala obdobným způsobem jako u předešlé metody. Nejprve byla nastavena nižší teplota pyrolýzy a byla proměřována teplota atomizace. Při zvolení nevhodnější atomizační teploty byla následně zjišťována teplota pyrolýzy postupným navyšováním od 600 °C, s krokem 50 °C. Na Obr. 20 lze vidět optimalizační křivky pyrolýzy a atomizace pro mangan a železo, bez přítomnosti modifikátoru. V případě atomizační teploty železa lze zaznamenat nejvyšší odezvu od 2 000 °C do 2 400 °C. Důvodem, proč byla zvolena teplota 1 800 °C (Obr. 21, Obr. 22) je ten, že při navyšování teploty se ve spektru začaly objevovat čím dál větší rušivé vlivy neboli interference (Obr. 23, Obr. 24). Dle knihovny možných interferencí byl vyhodnocen potenciální výskyt NO a PO pásů. Ovšem po samotné aplikaci a změření těchto dvou chemických individuí, nebyla zaznamenána žádná viditelná korekce spektra. Při teplotě 1 800 °C byly ve spektru zaznamenány také menší interference, ovšem simultánní analýza je také o kompromisech, a tudíž bylo s touto zvolenou teplotou pokračováno ve vývoji metody. Kompletní teplotní program pro stanovení manganu a železa bez modifikátoru ve vodách je zaznamenán v Tab. 11.

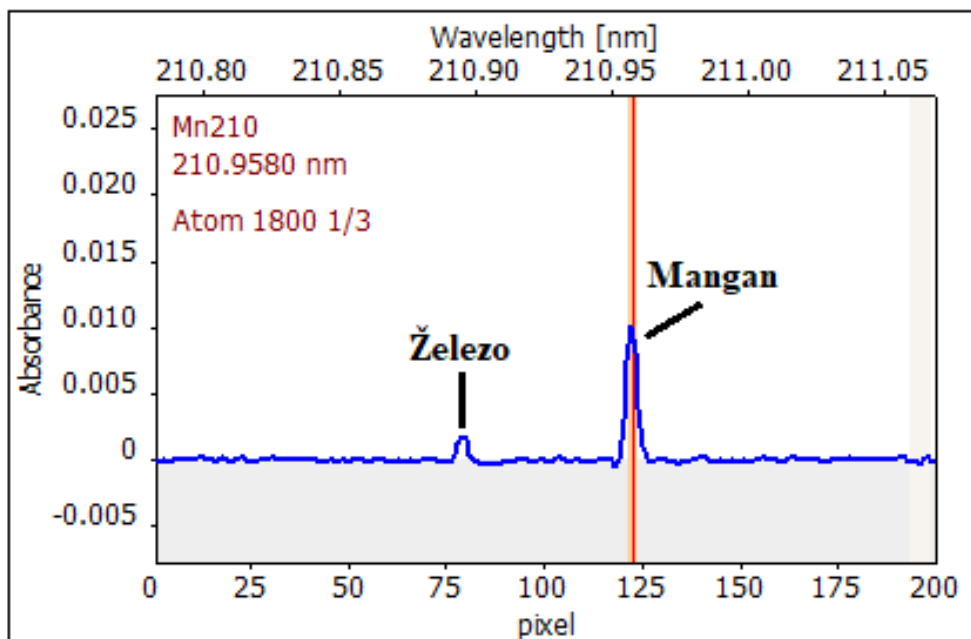


Obr. 20: Optimalizační křivky pro stanovení manganu a železa, bez využití modifikátoru

Tab. 11: Teplotní program pro stanovení manganu a železa, bez modifikátoru

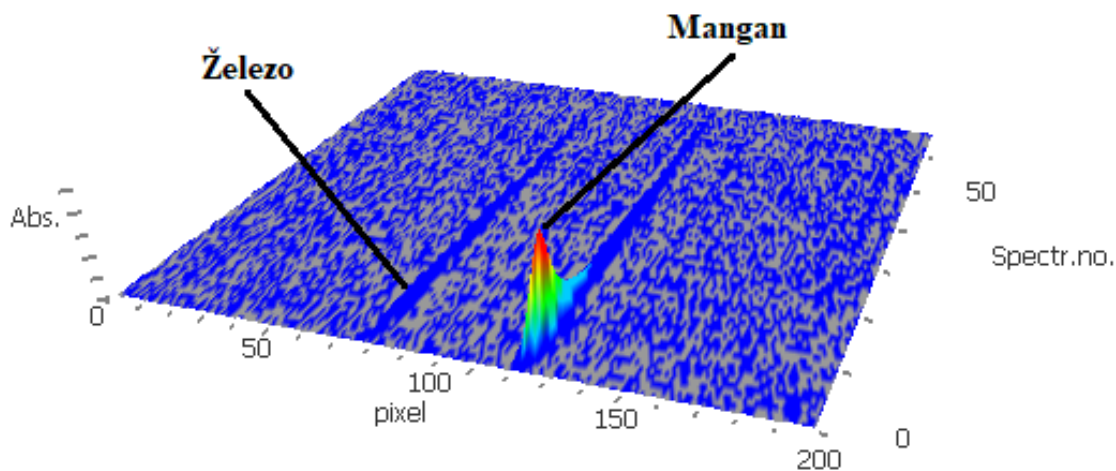
Proces	Teplota [°C]	Nárůst teploty [°C.s ⁻¹]	Doba zdržení [s]	Celkový čas [s]
Sušení	100	5	10	24,0
Pyrolýza	1 200	300	10	13,2
Přívod plynu	1 200	0	5	5,0
Atomizace	1 800	1 500	4	4,4
Čištění květy	2 450	500	4	5,3

Na Obr. 21 lze vidět dvourozměrné spektrum simultánního stanovení manganu a železa ve vodách, bez využití modifikátoru. Ve spektru nelze zaznamenat žádné výrazné interference, které by mohly negativně ovlivnit výsledek.



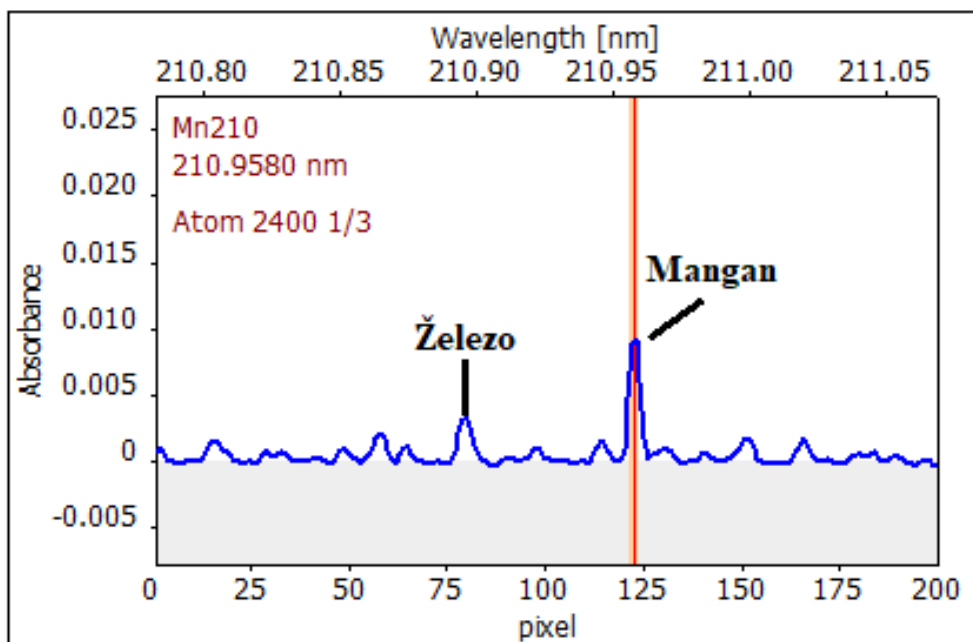
Obr. 21: Zobrazené dvourozměrné spektrum manganu a železa při teplotě atomizace 1 800 °C, bez využití modifikátoru

Na Obr. 22 je zobrazené trojrozměrné spektrum simultánního stanovení manganu a železa ve vodách, bez přítomnosti modifikátoru. Ani v 3D spektru nejsou zřejmé žádné výrazné interference. Pouze negativním jevem je velmi nízká odezva železa, která je v úrovni šumu. Což nasvědčuje o nevhodnosti této metody, kde nebyl využit modifikátor. Ovšem před finálním rozhodnutím, byla tato metoda ještě vyzkoušena na certifikovaném referenčním materiálu.



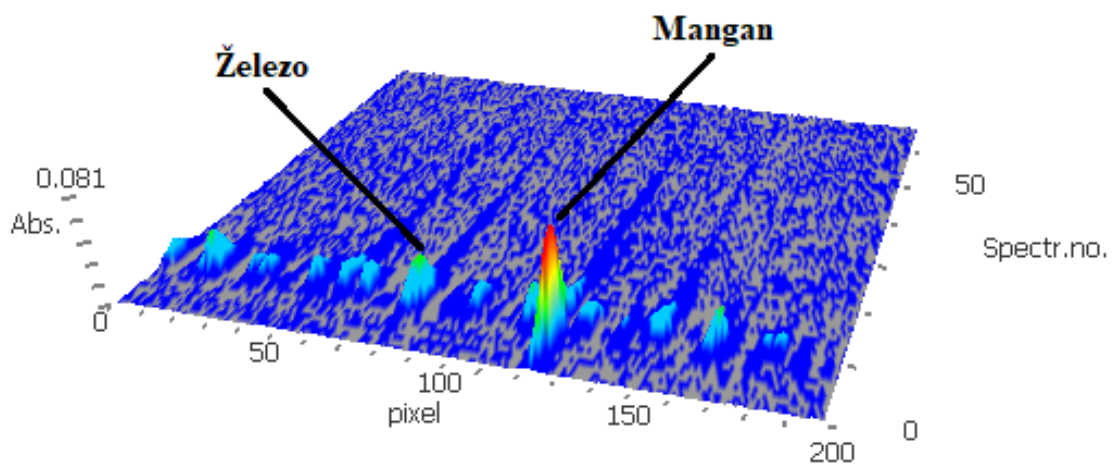
Obr. 22: Zobrazené trojrozměrné spektrum manganu a železa při teplotě atomizace 1 800 °C, bez využití modifikátoru

Z Obr. 23 je patrný důvod, proč nebyla využita vyšší teplota atomizace železa, čemuž nasvědčoval Obr. 20. Při teplotě 2 400 °C byly ve spektru zaznamenány již výrazné rušivé vlivy.



Obr. 23: Zobrazené dvourozměrné spektrum manganu a železa při teplotě atomizace 2 400 °C, bez využití modifikátoru

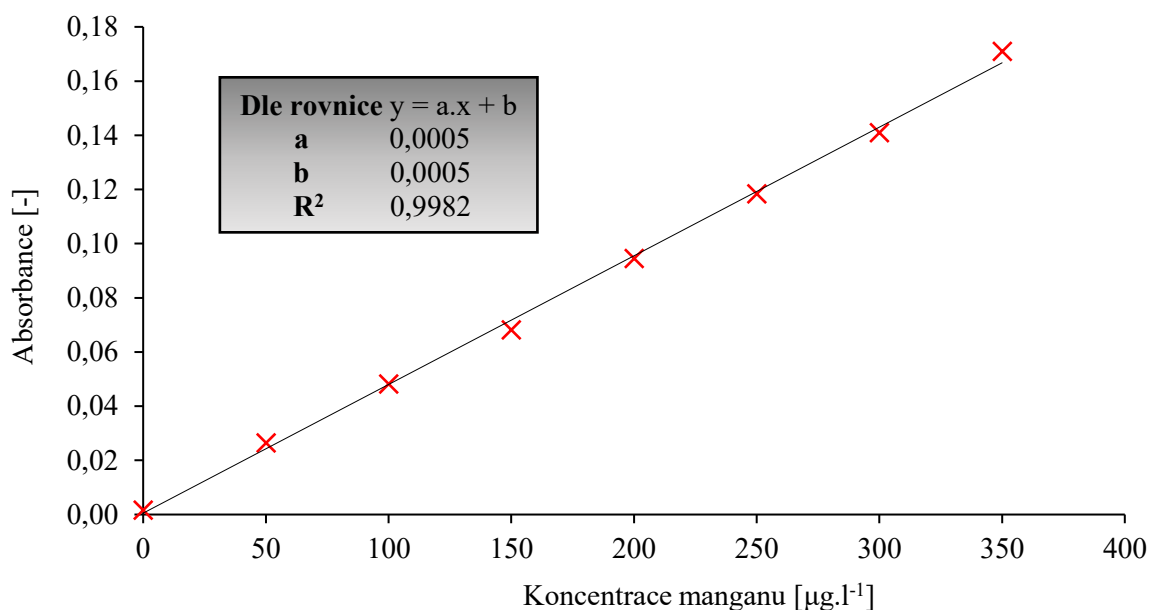
Tuto skutečnost potvrzuje i Obr. 24, na kterém je znázorněné trojrozměrné spektrum simultánního stanovení manganu a železa ve vodách, bez přítomnosti modifikátoru. Lze zaznamenat, že oproti Obr. 22 byla významně navýšena odezva železa. Ovšem výrazně se navýšily i interference.



Obr. 24: Zobrazené trojrozměrné spektrum manganu a železa při teplotě atomizace 2 400 °C, bez využití modifikátoru

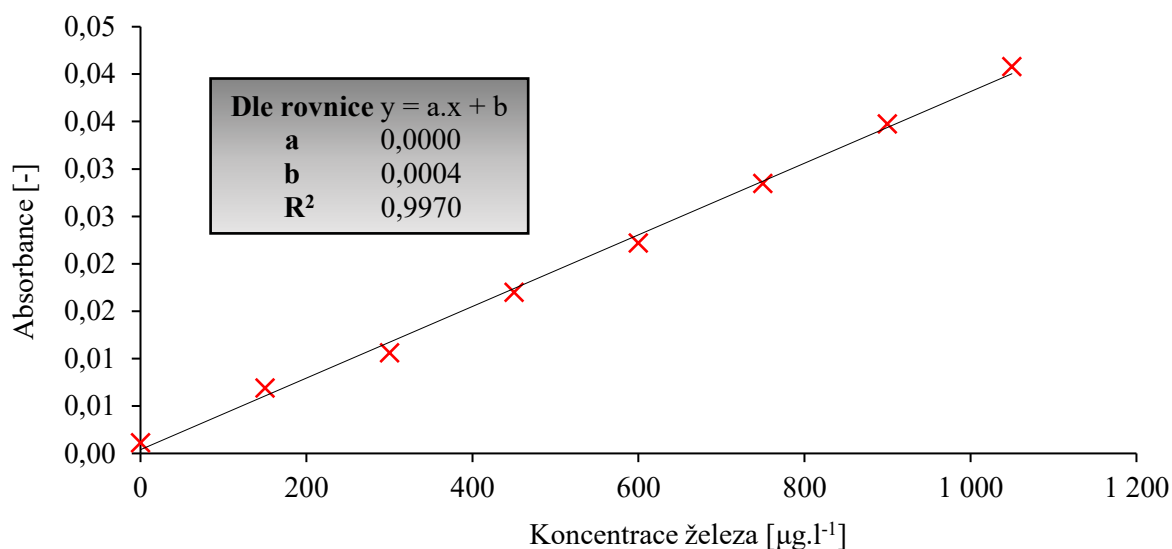
4.8.3 Validace metody bez modifikátoru

Reálný vzorek povrchové vody byl podroben simultánní analýze manganu a železa. Z naměřených absorbancí byl experimentálně zjištěn rozsah kalibračních křivek. Pro stanovení manganu byl zvolen koncentrační rozsah od 0 do 350 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Z připravené směsi kalibračního roztoku obsahující mangan a železo, byla simultánně proměřena kalibrace v již uvedeném rozsahu. Poslední bod kalibrace odpovídal absorbanci cca 0,17. Jedná se o lineární kalibrační závislost, jejíž hodnota linearity je 0,9982. Kalibrační křivka pro mangan, včetně parametrů regresní rovnice je na Obr. 25.



Obr. 25: Kalibrační křivka pro stanovení manganu ve vodách, bez využití modifikátoru

Při vytváření kalibrační křivky na stanovení železa byl opět brán zřetel na koncentraci železa v reálných vzorcích. Kalibrační rozsah byl zvolen od 0 do 1 000 $\mu\text{g.l}^{-1}$, kdy nejvyšší odezva byla cca 0,04. Hodnota spolehlivosti byla stanovena na 0,9970. Na Obr. 26 je vyobrazena kalibrační křivka, včetně zaznamenaných parametrů rovnice regrese.



Obr. 26: Kalibrační křivka pro stanovení železa ve vodách, bez využití modifikátoru

Na vyvinuté metodě simultánního stanovení manganu a železa ve vodách byla ověřena pravdivost pomocí certifikovaného referenčního materiálu ICP multi-element standard solution IV. Jedná se o směsný CRM, který obsahuje 23 prvků. Změřená hodnota manganu bez využití modifikátoru byla stanovena na $978 \pm 40 \text{ mg.l}^{-1}$. Certifikovaná hodnota je $1\,005 \pm 10 \text{ mg.l}^{-1}$. Pravdivost tohoto stanovení byla cca 97,3 %. Stanovená hodnota železa v CRM byla $1\,019 \pm 9 \text{ mg.l}^{-1}$, kdežto certifikovaná hodnota je stanovena na $998 \pm 10 \text{ mg.l}^{-1}$. Pravdivost stanovení byla 102,1 %, ovšem v rámci odchylky se experimentálně zjištěná hodnota vyskytuje mimo povolený rozsah. V Tab. 12 jsou zapsány experimentálně zjištěné a certifikované hodnoty CRM ICP multi-element standard solution IV. Případná chyba mohla vzniknout ředěním CRM. Stanovené limity detekce a kvantifikace jsou zaznamenány v Tab. 13.

Tab. 12: Experimentálně zjištěná a certifikovaná hodnota CRM, bez využití modifikátoru

Označení vzorku	Koncentrace Mn [mg.l ⁻¹]	Certifikovaná hodnota Mn [mg.l ⁻¹]	Koncentrace Fe [mg.l ⁻¹]	Certifikovaná hodnota Fe [mg.l ⁻¹]
ICP multi-element standard solution IV	978 ± 40	$1\,005 \pm 10$	$1\,019 \pm 9$	998 ± 10

Tab. 13: Stanovené limity detekce a kvantifikace pro mangan a železo bez modifikátoru

Prvek	LOD [µg.l ⁻¹]	LOD _{Procedurální} [µg.l ⁻¹]	LOQ [µg.l ⁻¹]	LOQ _{Procedurální} [µg.l ⁻¹]
Mangan	7,644	7,698	22,93	23,09
Železo	37,9	47,91	131,2	165,9

4.8.4 Volba vlnových délek a nastavení parametrů pro metodu s využitím modifikátoru

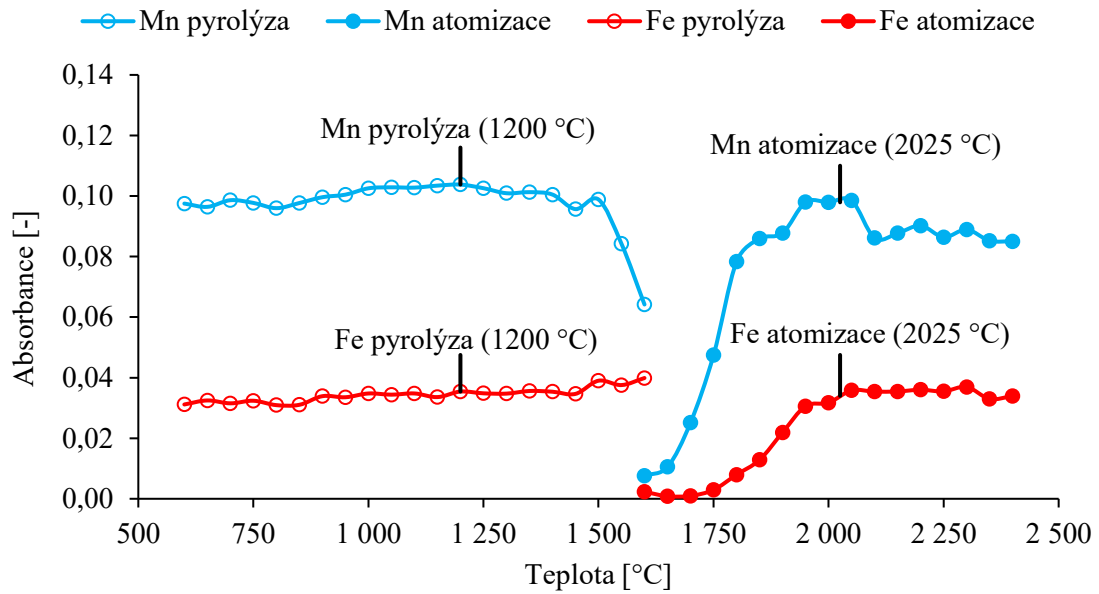
Vlnové délky a veškeré parametry byly zachovány s předchozím případem, ovšem do grafitové kyvety bylo přidáno 5 μl směsi modifikátoru dusičnanu palladnatého a dusičnanu hořečnatého. Celkový dávkovaný objem k analýze byl tedy 25 μl . Podrobné parametry nastavení metody jsou zaznamenány v Tab. 14.

Tab. 14: Parametry pro stanovení železa a manganu s přítomností modifikátoru

Prvek	Vlnová délka [nm]	Citlivost [%]	Rozlišení [pxl]	Modifikátor
Mangan	210,9580	1,8	3	Pd(NO ₃) ₂ + Mg(NO ₃) ₂
Železo	210,8960	0,59	3	

4.8.5 Optimalizace teplotního programu v přítomnosti modifikátoru

Optimalizace teplotního programu na stanovení manganu a železa ve vodách probíhala srovnatelným způsobem jako při předchozím nastavení teplot. Ovšem s tím rozdílem, že ke vzorku byl ještě aplikován chemický modifikátor na bázi Pd a Mg. Konkrétně dusičnan palladnatý a hořečnatý. Nejprve byla zjištěna atomizační teplota za konstantní teploty pyrolýzy a následně po zvolení adekvátní teploty atomizace, byla proměřena teplota pyrolýzy za konstantní atomizační teploty. Teplota pyrolýzy byla zvolena nastavena na stejnou teplotu jako v předešlém případě, tedy 1 200 °C, avšak lze z Obr. 27, kde jsou i vyobrazeny optimalizační křivky, zaznamenat, že hodnota absorpance byla konstantní i do vyšších teplot. Ovšem v případě vyšší teploty pyrolýzy manganu, lze vidět velký pokles odezvy okolo teploty 1 500 °C. Atomizační teplota byla stanovena na 2 025 °C. Lze podotknout, že teplota atomizace železa, mohla být zvolena 2 050 °C. Avšak v této situaci by mohlo dojít ke ztrátě manganu, z důvodu nečekaného navýšení teploty. Na Obr. 27 lze registrovat, že při vyšší teplotě dochází ke snížení absorpance manganu, tedy ke ztrátě. V této situaci musela být z preventivních důvodů zvolena nižší teplota atomizace o 25 °C oproti teplotě s nejvyšší odezvou. Bylo předpokládáno, že teplota během atomizace nebude stabilní a může narůst. V tomto případě, je zde pro takovýto konkrétní případ prostor, a pokud takový nastane, tak pro celkové stanovení je to pozitivní informace ve prospěch stanovení přesné hodnoty železa. V Tab. 15 je pak zaznamenán teplotní program pro simultánní stanovení manganu a železa s využitím modifikátoru.

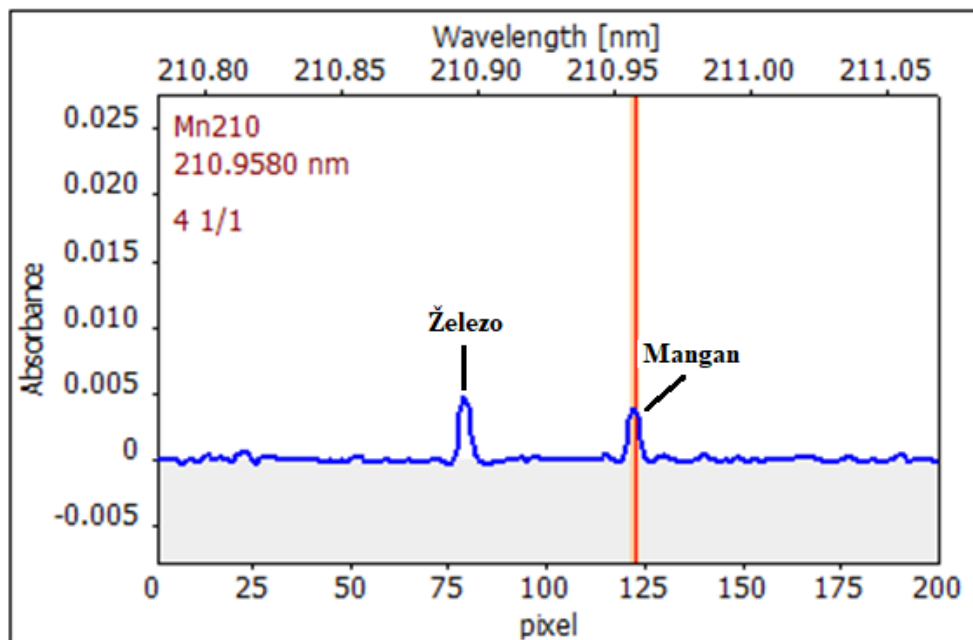


Obr. 27: Optimalizační křivky pro stanovení manganu a železa, s využitím modifikátoru

Tab. 15: Teplotní program pro stanovení manganu a železa s modifikátorem

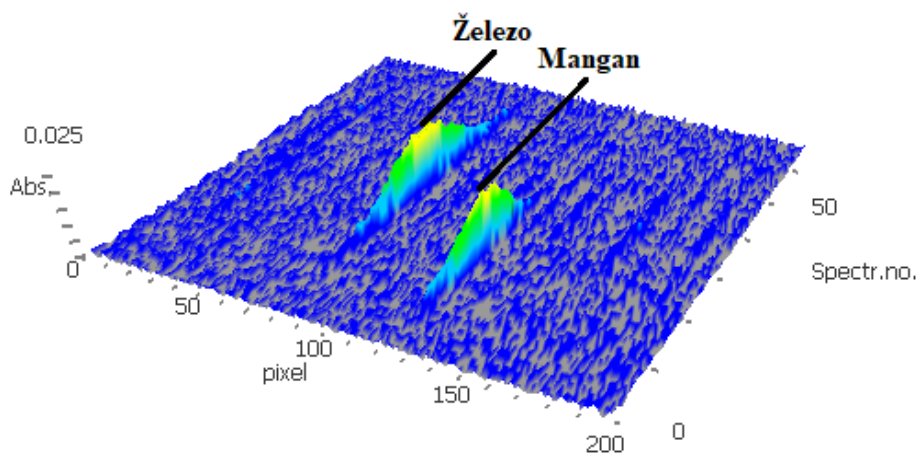
Proces	Teplota [°C]	Nárůst teploty [°C.s ⁻¹]	Doba zdržení [s]	Celkový čas [s]
Sušení	100	5	10	24,0
Pyrolýza	1 200	300	10	13,2
Přívod plynu	1 200	0	5	5,0
Atomizace	2 025	1 500	4	4,6
Čištění kvety	2 450	500	4	4,9

Na Obr. 28 je znázorněné dvourozměrné spektrum získané ze stanovené manganu a železa ve vodách, s využitím modifikátoru.



Obr. 28: Zobrazené dvourozměrné spektrum manganu a železa, s využitím modifikátoru

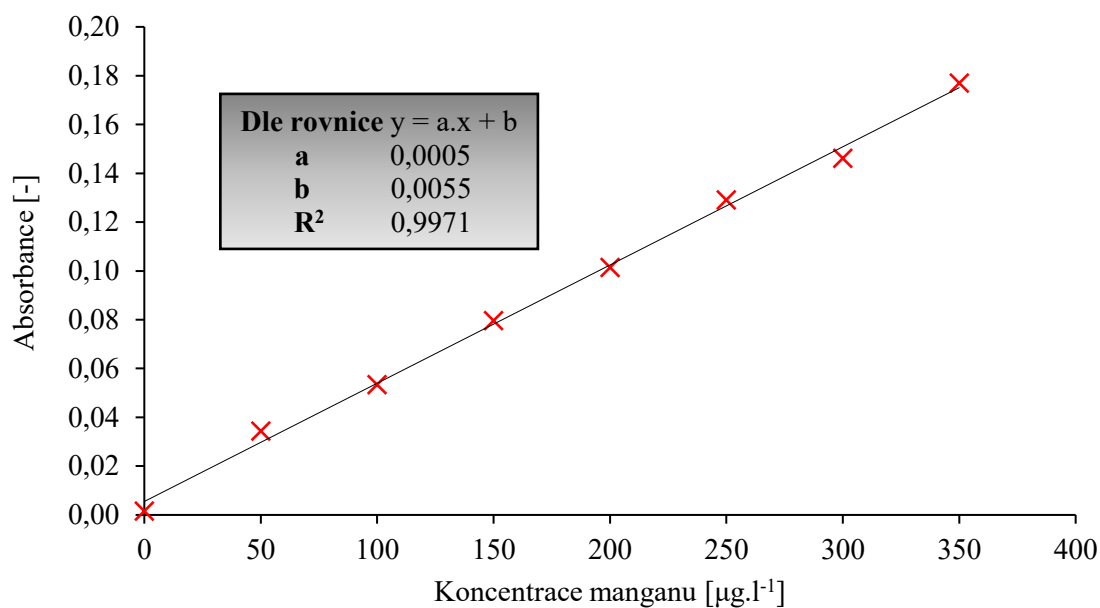
Z Obr. 29 lze zaznamenat výrazné zvýšení odezvy železa, oproti Obr. 22, kde nebyl využit modifikátor.



Obr. 29: Zobrazené trojrozměrné spektrum manganu a železa, s využitím modifikátoru

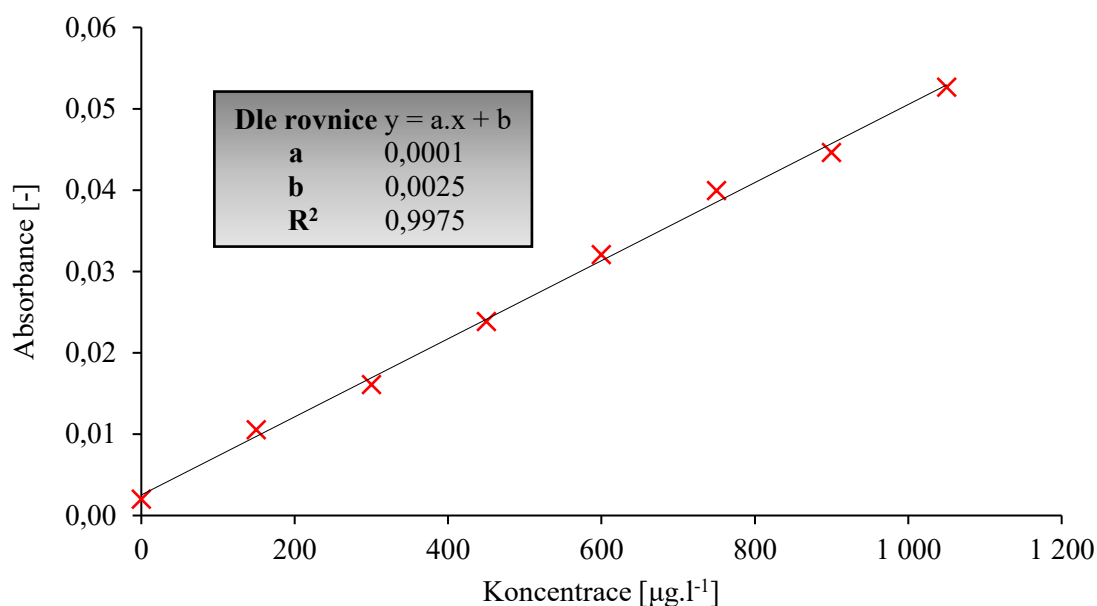
4.8.6 Validace metody s modifikátorem

Validace na simultánní stanovení manganu a železa ve vodách proběhla obdobně jako v dřívějších případech. Na rozdíl od předchozí metody, byl ke vzorku a standardu aplikován směsný modifikátor dusičnan palladnatý a hořečnatý. Kalibrační rozsah zůstal totožný, díky změněným podmínkám optimalizace se navýšily hodnoty absorbancí u jednotlivých bodů. Poslední bod kalibrace manganu byl přibližně 0,18. Hodnota spolehlivosti byla stanovena na 0,9971. Kalibrační křivka pro stanovení manganu, včetně parametrů rovnice regrese je vyobrazena na Obr. 30.



Obr. 30: Kalibrační křivka pro stanovení manganu ve vodách, s využitím modifikátoru

V případě kalibrační křivky železa, byl absorbance posledního bodu navýšena na hodnotu cca 0,05. Hodnota spolehlivosti činila 0,9975. Kalibrační závislost pro stanovení železa, včetně parametrů rovnice regrese je na Obr. 31.



Obr. 31: Kalibrační křivka pro stanovení železa ve vodách, s využitím modifikátoru

Opět pro zjištění pravdivosti metody byl změřen certifikovaný referenční materiál ICP multi-element standard solution IV. Experimentálně zjištěná hodnota manganu s využitím modifikátoru odpovídala hodnotě $1\,003 \pm 19 \text{ mg.l}^{-1}$, certifikovaná hodnota je $1\,005 \pm 10 \text{ mg.l}^{-1}$. Pravdivost byla vypočítána na přibližně 99,8 %. Změřená hodnota železa v CRM byla stanovena na $1\,006 \pm 31 \text{ mg.l}^{-1}$ a certifikovaná koncentrace je $998 \pm 10 \text{ mg.l}^{-1}$. Pravdivost stanovení CRM byla 100,8 %. V Tab. 16 jsou zaznamenány experimentálně zjištěné a certifikované hodnoty CRM ICP multi-element standard solution IV. Zjištěné hodnoty LOD a LOQ jsou v Tab. 17.

Tab. 16: Experimentálně zjištěná a certifikovaná hodnota CRM s využitím modifikátoru

Označení vzorku	Koncentrace Mn [mg.l ⁻¹]	Certifikovaná hodnota Mn [mg.l ⁻¹]	Koncentrace Fe [mg.l ⁻¹]	Certifikovaná hodnota Fe [mg.l ⁻¹]
ICP multi-element standard solution IV	$1\,003 \pm 19$	$1\,005 \pm 10$	$1\,006 \pm 31$	998 ± 10

Tab. 17: Stanovené hodnoty limitů detekce a kvantifikace pro mangan a železo, s modifikátorem

Prvek	LOD [$\mu\text{g.l}^{-1}$]	LOD _{Procedurální} [$\mu\text{g.l}^{-1}$]	LOQ [$\mu\text{g.l}^{-1}$]	LOQ _{Procedurální} [$\mu\text{g.l}^{-1}$]
Mangan	5,810	6,190	17,43	18,58
Železo	34,90	38,00	121,6	132,4

4.9 Výběr z vyvinutých metod simultánního stanovení manganu a železa

Pro zvolení vhodné a přesné metody simultánního stanovení manganu a železa, bylo nutné provést kontrolu návratnosti přídávků standardu. Dle literatury by se návratnost měla pohybovat $\pm 10\text{--}15\%$ od aplikovaného množství [53].

Pro zjištění návratnosti přídávku standardů, bylo ke vzorkům přidáno $50\ \mu\text{g.l}^{-1}$ standardního roztoku manganu a $150\ \mu\text{g.l}^{-1}$ standardu železa. Vzorky byly stanoveny jak metodou bez přídávku modifikátoru, tak s přídávkem. K určení vhodnosti metody, by se koncentrace Mn a Fe měla navýšit o koncentraci přídávku standardu. Průměrné hodnoty návratnosti přídávků standardů jsou uvedeny v Tab. 18. Je patrné, že u metody bez přídávku standardů, se návratnost odlišuje o více než 10% , resp. 15% . Což je společně s nízkou odezvou železa (Obr. 22) důvodem, proč je tato metoda nevhodná pro simultánní stanovení manganu a železa ve vodách.

Z hodnot stanovení manganu a železa s modifikátorem je zřejmé, že se návratnosti přídávku standardu nevychylovaly o více než 10% . Konkrétně byla návratnost manganu $93,93\%$ a železa $95,99\%$. Metoda s přídávkem modifikátoru byla zvolena za vhodnou pro simultánní stanovení.

Tab. 18: Hodnoty návratnosti standardu manganu a železa

Aplikace	Návratnost přídávku manganu		Návratnost přídávku železa	
	[$\mu\text{g.l}^{-1}$]	[%]	[$\mu\text{g.l}^{-1}$]	[%]
Bez modifikátoru	55,33	110,7	110,1	73,36
S modifikátorem	46,97	93,93	144,0	95,99

4.10 Optimalizace již vyvinuté metody simultánního stanovení Cd a Fe

4.10.1 Volba vlnových délek

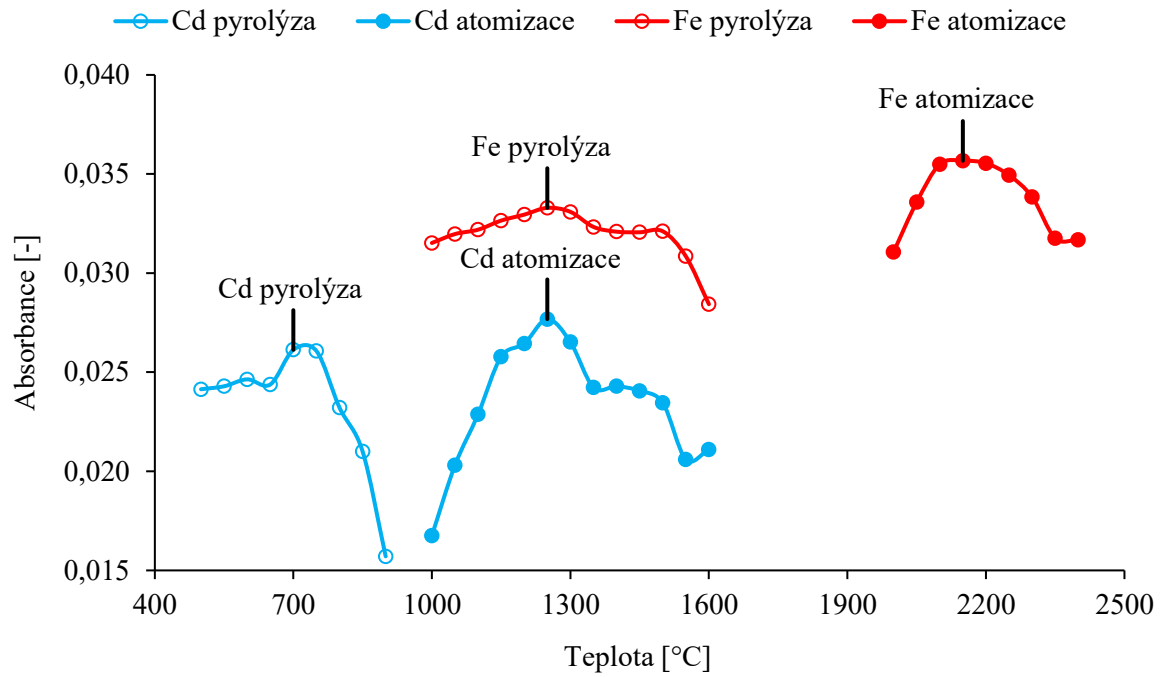
Metoda simultánní analýzy kadmia a železa je již publikována Zvěřina a kol.. Tato metoda byla optimalizována za našich laboratorních podmínek, na stanovení Cd a Fe v čaji. Vlnová délka pro stanovení kadmia byla zvolena primární (228,802 nm), tedy se 100% citlivostí. Simultánně bylo stanoveno i železo s vlnovou délkou 228,725 nm, s citlivostí 0,91 %. Rozlišení bylo nastaveno na 3 pixely, tedy 1 centrální a 2 postranní. Z důvodu zajištění stability vzorku bylo ke vzorku aplikováno 5 µl směsného modifikátoru na bázi Pd a Mg. Jednalo se o dusičnan palladnatý a hořečnatý. Podrobné parametry simultánního stanovení jsou zaznamenány v Tab. 19.

Tab. 19: Parametry pro stanovení kadmia a železa

Prvek	Vlnová délka [nm]	Citlivost [%]	Rozlišení [pxl]	Modifikátor
Kadmium	228,802	100	3	Pd(NO ₃) ₂ + Mg(NO ₃) ₂
Železo	228,725	0,91	3	

4.10.2 Optimalizace teplotního programu

Před optimalizací teplotního programu již bylo známo, že se bude jednat o stanovení s dvoukrokovou atomizací, jelikož kadmium patří mezi těkavé prvky a železo mezi stabilní. Nejprve byla pro každý prvek nastavena nízká teplota pyrolýzy a následně byla zjišťována atomizační teplota, navyšováním atomizační teploty. Byla potvrzena vyšší těkavost kadmia, což je i znázorněné na Obr. 32, kdy již při 700 °C docházelo k pyrolýze kadmia, následně zvýšením teploty na 1250 °C probíhala atomizace kadmia a simultánně i pyrolýza železa. Zvýšením teploty na 2150 °C proběhla atomizace železa. Zvolený teplotní program je uveden v Tab. 20.

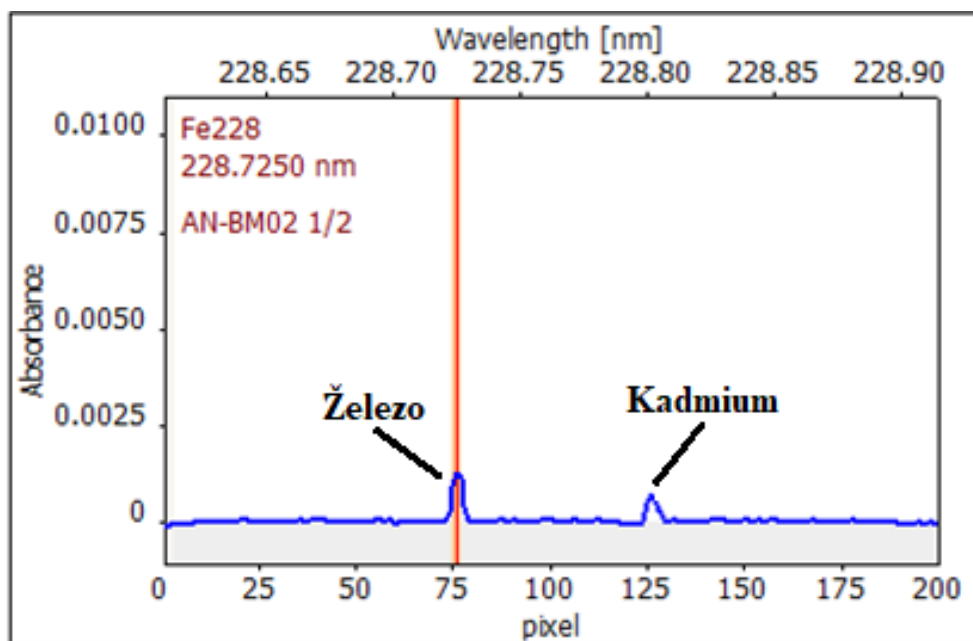


Obr. 32: Optimalizační křivky pro stanovení kadmia a železa

Tab. 20: Teplotní program pro stanovení kadmia a železa

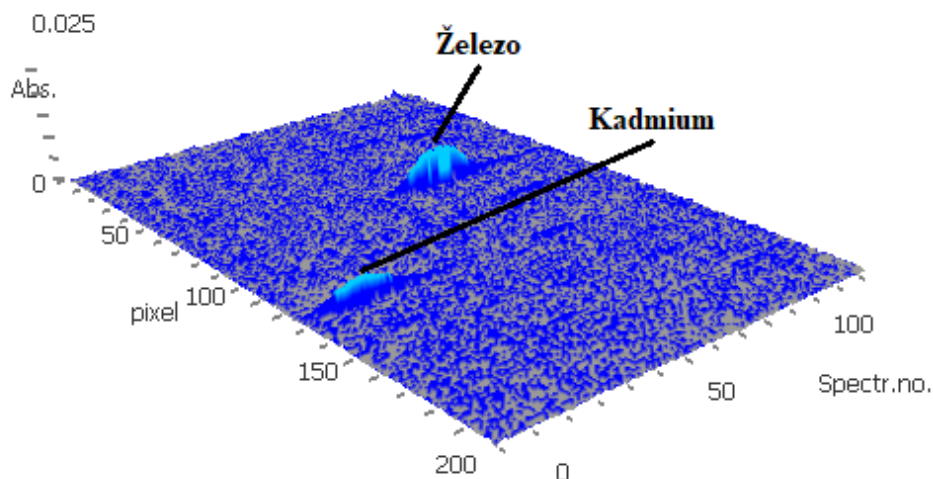
Proces	Teplota [°C]	Nárůst teploty [°C.s ⁻¹]	Doba zdržení [s]	Celkový čas [s]
Sušení č. 1	80	6	20	29,2
Sušení č. 2	90	3	15	18,3
Sušení č. 3	110	5	10	14,0
Pyrolýza	700	300	10	11,2
Přívod plynu	700	0	5	5,0
Atomizace č. 1	1 250	1 500	4	4,4
Atomizace č. 2	2 150	2 500	5	5,4
Čištění kyvety	2 550	150	3	5,7

Z Obr. 33 jsou na dvourozměrném spektru patrné píky kadmia a železa. V oblasti detekčního pole nebyla zaznamenána žádná výrazná interference.



Obr. 33: Zobrazené dvourozměrné spektrum kadmia a železa

Na Obr. 34 je znázorněné trojrozměrné spektrum ze simultánního stanovení kadmia a železa. Odezvy jsou odlišitelné od pozadí. Lze vidět, že píky jsou rozlišeny i z časového hlediska.

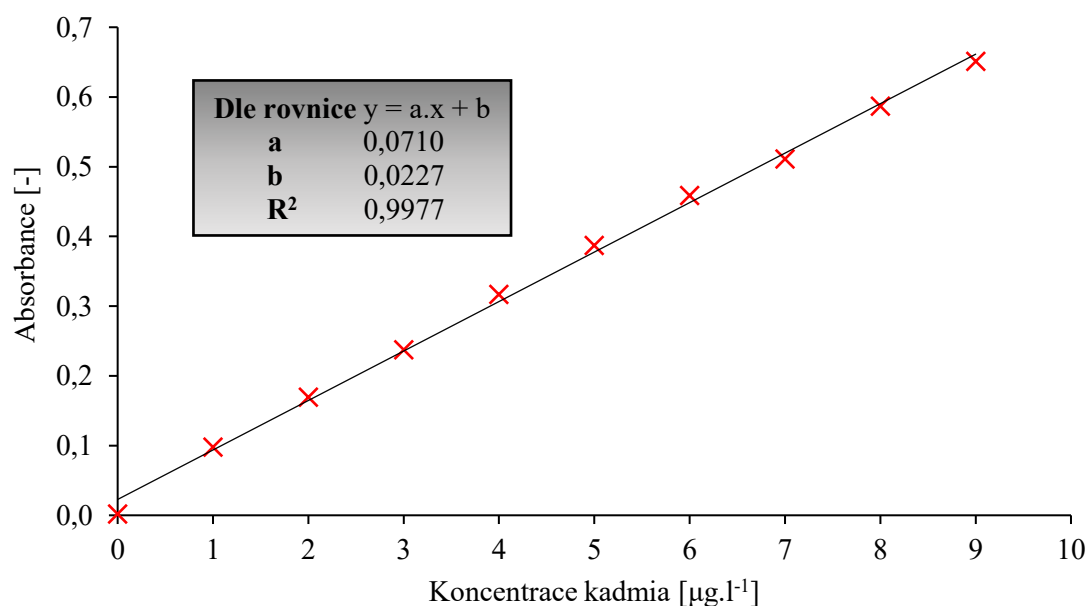


Obr. 34: Zobrazené trojrozměrné spektrum kadmia a železa

4.10.3 Validace metody

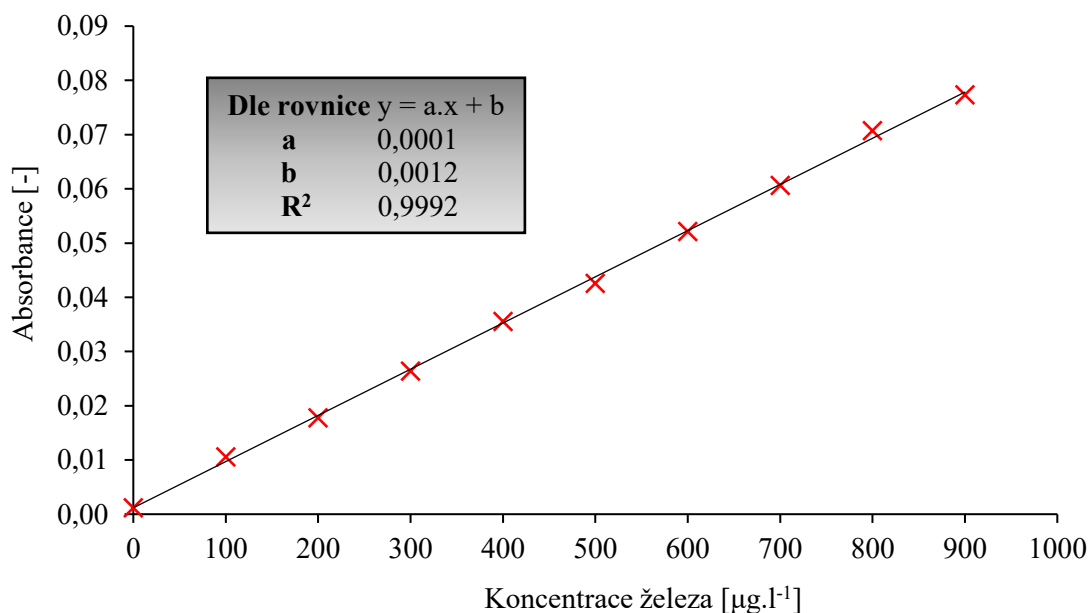
Počátek validace spočíval ve vytvoření rozsahu kalibračních křivek pro stanovení kadmia a železa v čaji. K tomu byl připraven směsný standard, který obsahoval oba zájmové prvky. Samotné měření kalibračních bodů a reálných vzorků probíhalo simultánně.

Kalibrační rozsah při stanovení kadmia byl v rozmezí od 0 do 9 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Poslední kalibrační bod měl hodnotu absorbance přibližně 0,65. Na Obr. 35 je zobrazena kalibrační křivka pro stanovení kadmia v čaji, včetně parametru rovnice regrese. V grafu lze zaznamenat, že kalibrační bod o koncentraci 1 $\mu\text{g.l}^{-1}$ má již absorbanci cca 0,1. V této oblasti se vyskytovaly i odezvy reálných vzorků. Pro zajištění přesnosti by bylo vhodné zvolit kalibrační rozsah pouze do 2 $\mu\text{g.l}^{-1}$ s menšími rozptyly mezi jednotlivými body.



Obr. 35: Kalibrační křivka pro stanovení kadmia v čajových lístcích

Kalibrační rozsah pro stanovení železa v čajích byl zvolen stejný, jako v nově vyvinuté metodě simultánního stanovení niklu a železa v čaji, tedy od 0 do 900 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Hodnota spolehlivosti byla stanovena na 0,9992. Kalibrační křivka, včetně parametrů rovnice regrese, je vyobrazena na Obr. 36.



Obr. 36: Kalibrační křivka pro stanovení železa v čajových lístcích

Metoda byla validována na dva certifikované referenční materiály. Prvním referenčním materiálem byl již dříve použitý vzorek čínského zeleného čaje AN-BM02, kde změřená koncentrace kadmia byla $75,36 \pm 0,53 \mu\text{g.kg}^{-1}$ a certifikovaná hodnota je stanovena na $75 \pm 4 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Pravdivost stanovení byla 100,5 %. Zjištěná hodnota železa byla $180,26 \pm 9,19 \text{ mg.kg}^{-1}$, kdežto certifikovaná hodnota byla $216 \pm 15 \text{ mg.kg}^{-1}$. Druhým referenčním materiálem byl vzorek černého čaje INCT-TL-1, kde experimentálně zjištěná hodnota kadmia činila $27,45 \pm 1,26 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Certifikovaná koncentrace kadmia v tomto CRM je $30 \pm 4 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Pravdivost stanovení je 91,5 %. Stanovený obsah železa v druhém referenčním materiálu byl $442,83 \pm 14,17 \text{ mg.kg}^{-1}$. Certifikovaná koncentrace železa v INCT-TL-1 je 432 mg.kg^{-1} , ale jedná se pouze o informativní hodnotu. Veškeré změřené a certifikované hodnoty jsou uvedeny v Tab. 21. Stanovené limity detekce a kvantifikace jsou zaznamenány v Tab. 22.

Tab. 21: Experimentálně zjištěné a certifikované hodnoty CRM

Označení vzorku	Koncentrace Cd [$\mu\text{g.kg}^{-1}$]	Certifikovaná hodnota Cd [$\mu\text{g.kg}^{-1}$]	Koncentrace Fe [mg.kg^{-1}]	Certifikovaná hodnota Fe [mg.kg^{-1}]
AN-BM02	$75,36 \pm 0,53$	75 ± 4	$180,26 \pm 9,19$	216 ± 15
INCT-TL-1	$27,45 \pm 1,26$	30 ± 4	$442,83 \pm 14,17$	*432

*Pouze informativní hodnota

Tab. 22: Stanovené limity detekce a kvantifikace pro stanovení kadmia a železa v čajových lístcích

Prvek	LOD [$\mu\text{g.l}^{-1}$]	LOD_{Procedurální} [$\mu\text{g.l}^{-1}$]	LOQ [$\mu\text{g.l}^{-1}$]	LOQ_{Procedurální} [$\mu\text{g.l}^{-1}$]
Kadmium	0,320	0,439	1,067	1,464
Železo	11,42	26,59	48,16	112,1

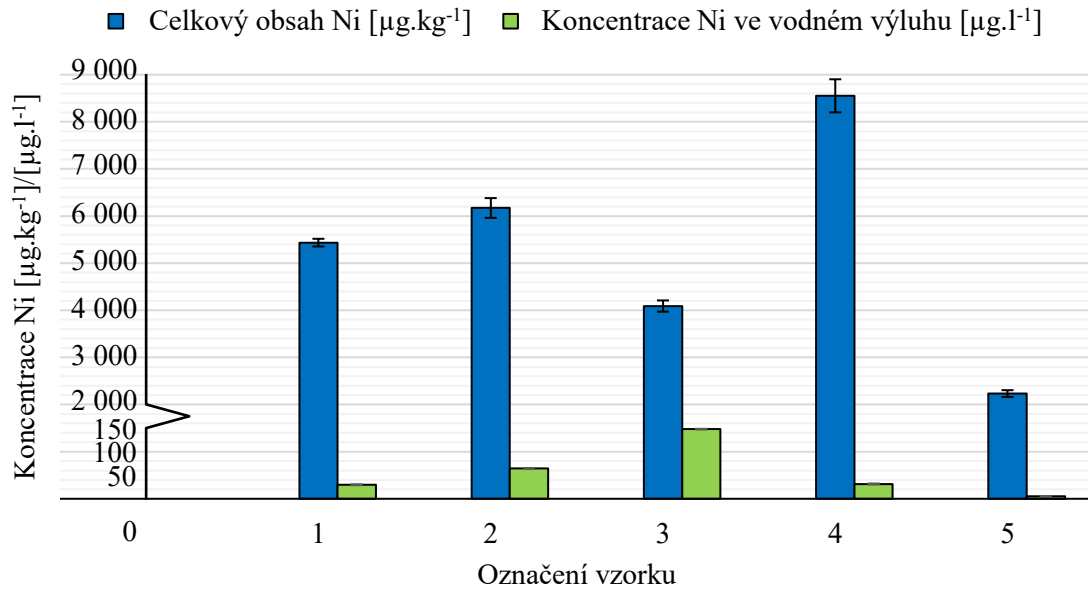
5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Simultánní stanovení Ni a Fe v čajových lístcích

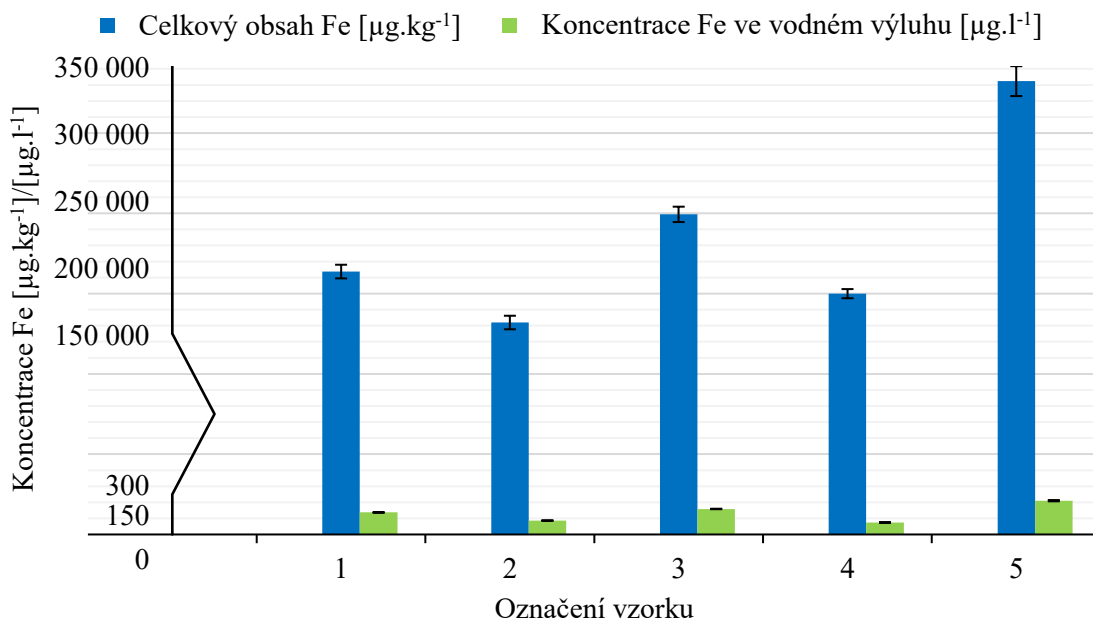
Pro simultánní stanovení niklu a železa bylo vybráno 5 druhů čajů od společnosti ManuTea. Byla provedena analýza na zjištění celkového obsahu niklu a železa v čajových lístcích a ve vodném výluhu, provedeného dle instrukcí výrobce. Koncentrace železa v lístcích se pohybovala od 158 do 339 mg.kg⁻¹, přičemž nejvyšší koncentrace byla naměřena u vzorku č. 5, tedy citronové trávy. Rovněž u vodného výluhu tohoto vzorku čaje byl zjištěn nejvyšší obsah Fe, který činil 252 µg.l⁻¹. Jinak se hodnoty pohybovaly od 89 do 252 µg.kg⁻¹. U celkového obsahu niklu ve vzorcích čajových lístků byly hodnoty v rozmezí od 2,23 do 8,55 mg.kg⁻¹. Nejhojněji se nikl vyskytoval v brusinko-kaktusovém zeleném čaji. Ve vodném výluhu byly koncentrace niklu v rozsahu od 5,1 do 148 µg.l⁻¹. Přičemž nejvyšší koncentrace Ni byla ve vzorku č. 3, tedy jasmínovém zeleném čaji. Veškeré naměřené hodnoty jsou zaznamenány v Tab. 23. Grafické znázornění celkového obsahu Ni a Fe a obsahu těchto prvků ve vodném výluhu, je vyobrazeno na Obr. 37 a Obr. 38.

Tab. 23: Výsledky stanovení Ni a Fe v čaji

Označení vzorku	Celkový obsah Ni [mg.kg ⁻¹]	Obsah Ni ve vodném výluhu [µg.l ⁻¹]	Celkový obsah Fe [mg.kg ⁻¹]	Obsah Fe ve vodném výluhu [µg.l ⁻¹]
1	5,44 ± 0,08	29,7 ± 0,8	196,5 ± 5,1	164,6 ± 3,0
2	6,17 ± 0,21	64,3 ± 0,6	158,4 ± 5,1	103,9 ± 2,5
3	4,09 ± 0,12	147,8 ± 1,0	239,2 ± 5,7	190,7 ± 1,7
4	8,55 ± 0,35	31,5 ± 1,0	180,0 ± 3,4	89,3 ± 1,0
5	2,23 ± 0,07	5,1 ± 0,1	339,8 ± 11,2	252,4 ± 4,8



Obr. 37: Porovnání celkového obsahu niklu v čajových lístcích a obsah Ni ve vodném výluhu



Obr. 38: Porovnání celkového obsahu železa v čajových lístcích a obsah Fe ve vodném výluhu

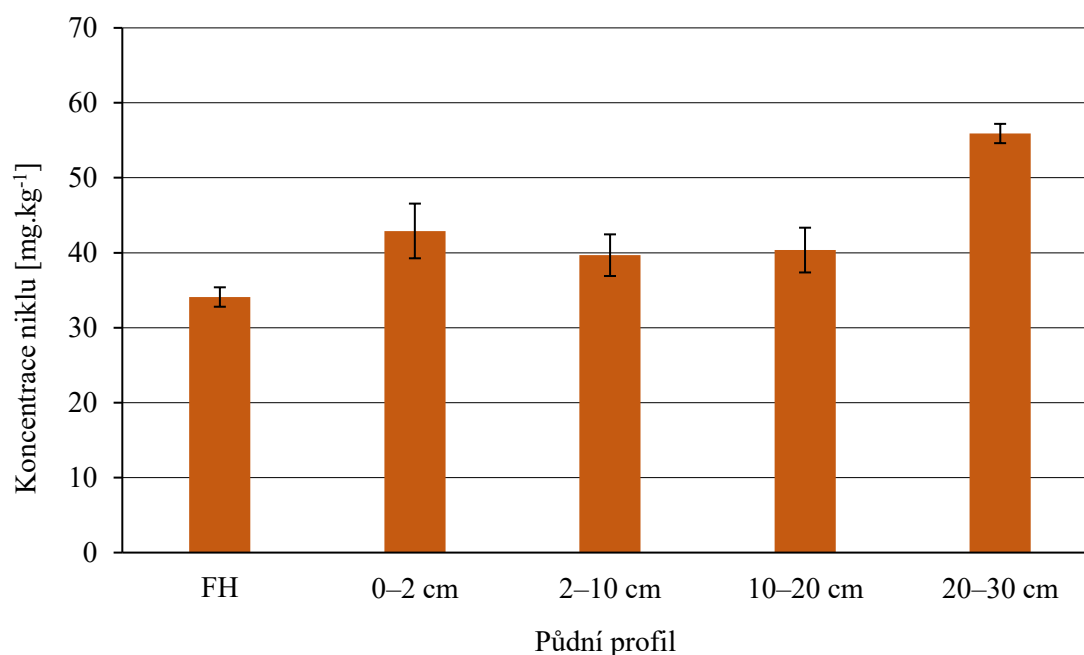
5.2 Simultánní stanovení Ni a Fe v půdě

Jako aplikační vzorky pro otestování simultánního stanovení niklu a železa, byla navzorkována půda z blízké vzdálenosti od pozemní komunikace. Vzorky půdy byly odebrány z 5 půdních profilů, a to z nadložního organického horizontu a dále z hloubky 0–2 cm, 2–10 cm, 10–20 cm a 20–30 cm. Nejvyšší naměřená hodnota niklu se vyskytovala v nejhluběji odebraném místě, konkrétně $55,9 \pm 1,3 \text{ mg.kg}^{-1}$. Nejnižší koncentrace Ni byla stanovena v nadložním horizontu. Koncentrace železa v půdě se pohybovala od cca $31\,000 \text{ mg.kg}^{-1}$ do přibližně $54\,000 \text{ mg.kg}^{-1}$. Kdežto nejvyšší naměřená hodnota byla zjištěna také v nejnižší odebraném místě, tedy 20–30 cm. V Tab. 24 lze vidět experimentálně zjištěné hodnoty niklu a železa v odebraném vzorku půdy.

Tab. 24: Výsledky stanovení Ni a Fe v půdě

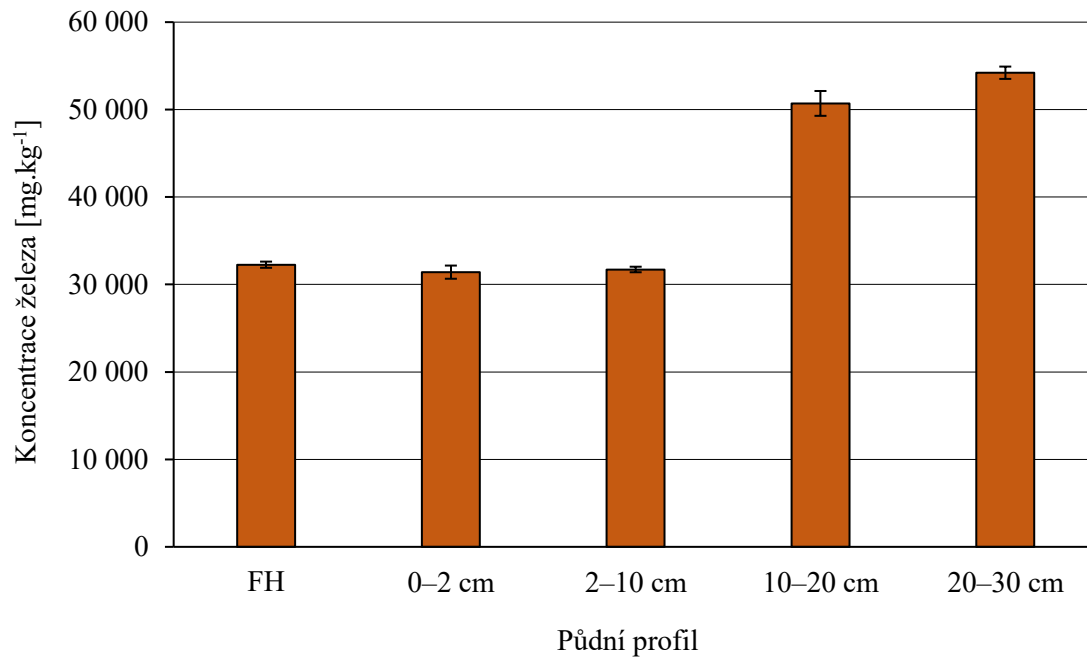
Označení vzorku	Typ vzorku	Koncentrace Ni [mg.kg ⁻¹]	Koncentrace Fe [mg.kg ⁻¹]
1	FH	$34,1 \pm 0,9$	$32\,261 \pm 355$
2	0–2 cm	$42,9 \pm 3,6$	$31\,411 \pm 754$
3	2–10 cm	$39,7 \pm 2,8$	$31\,716 \pm 317$
4	10–20 cm	$40,4 \pm 3,0$	$50\,707 \pm 1\,420$
5	20–30 cm	$55,9 \pm 1,3$	$54\,213 \pm 705$

Na Obr. 40 je graficky znázorněná závislost koncentrace niklu v půdě na půdním profilu. Opět lze zaznamenat, že se obsah niklu zvyšuje s hloubkou odběrného místa, což svědčí o mobilitě niklu v půdě.



Obr. 39: Obsah niklu v závislosti na půdním profilu

Z Obr. 40 lze vyčíst téměř stabilní koncentraci železa v nadložním horizontu a půdních profilech 0–2 cm a 2–10 cm. Od odběrné hloubky 10–20 cm dochází k výraznému nárůstu obsahu železa v půdě. V hloubce 20–30 cm bylo zaznamenáno jen mírné zvýšení koncentrace oproti předchozímu půdnímu profilu.



Obr. 40: Obsah železa v závislosti na půdním profilu

5.3 Simultánní stanovení Mn a Fe ve vodách

Pro simultánní stanovení manganu a železa ve vodách byla vybrána metoda s využitím modifikátoru, jelikož poskytovala lepší poměr signálu a šumu, a také experimentálně zjištěná koncentrace CRM více odpovídala reálné certifikované hodnotě. Z řeky Svratky v okolí města Tišnova bylo odebráno 12 vzorků, které byly stanoveny na přítomnost manganu a železa. Obsah manganu se přibližně pohyboval od $75 \mu\text{g.l}^{-1}$ až do cca $97 \mu\text{g.l}^{-1}$. Koncentrace železa v řece Svratce byla v rozmezí od cca $120 \mu\text{g.l}^{-1}$ do $1070 \mu\text{g.l}^{-1}$. Nejvyšší naměřená koncentrace manganu byla ve vzorku 12, což je vzorek odebraný ze slepého ramene řeky Svratky. Nejvyšší naměřená koncentrace železa byla ve vzorku č. 4. Jedná se konkrétně o výtok z čistírny odpadních vod. Lze zaznamenat, že se tato koncentrace výrazně snížila v již následujících odběrných místech, které se nachází po proudu řeky. Jde o vzorky č. 3, 2 a 1. V Tab. 25 jsou zaznamenány veškeré experimentálně zjištěné hodnoty koncentrací manganu a železa v řece Svratce.

Tab. 25: Experimentálně zjištěné hodnoty koncentrací železa a manganu ve povrchových vodách (s modifikátorem)

Vzorek	Koncentrace Mn [$\mu\text{g.l}^{-1}$]	Koncentrace Fe [$\mu\text{g.l}^{-1}$]
1	$83,56 \pm 2,34$	$373,88 \pm 7,10$
2	$78,84 \pm 1,89$	$331,46 \pm 3,98$
3	$74,88 \pm 1,35$	$122,77 \pm 1,84$
4	$93,05 \pm 1,21$	$1072,3 \pm 36,5$
5	$79,81 \pm 2,23$	$373,19 \pm 7,46$
6	$82,05 \pm 2,87$	$333,68 \pm 6,01$
7	$93,95 \pm 2,91$	$385,34 \pm 9,25$
8	$79,51 \pm 1,67$	$374,56 \pm 8,61$
9	$75,74 \pm 1,14$	$329,06 \pm 8,23$
10	$91,80 \pm 1,56$	$401,59 \pm 12,05$
11	$89,63 \pm 1,70$	$377,47 \pm 10,95$
12	$96,84 \pm 3,68$	$266,45 \pm 9,06$

Dále byly odebrány vzorky podzemní vody, jedná se konkrétně o studniční vodu ze soukromých zdrojů. Nejvyšší naměřená koncentrace železa byla ve vzorku 1, konkrétně $412,3 \pm 15,7 \mu\text{g.l}^{-1}$. Vzorky 2 a 3 bylo detekováno, ovšem hodnoty se pohybovaly pod limitem stanovitelnosti. Koncentrace manganu v odebraných studničních vodách byla pod limitem detekce. Konkrétní změřené hodnoty koncentrací manganu a železa jsou zaznamenány v Tab. 26.

Tab. 26: Experimentálně zjištěné koncentrace železa a manganu v podzemní vodě (s modifikátorem)

Vzorek	Koncentrace Fe [$\mu\text{g.l}^{-1}$]	Koncentrace Mn [$\mu\text{g.l}^{-1}$]
Studna č. 1	$412,3 \pm 15,7$	$<5,81^*$
Studna č. 2	$72,5 \pm 2,2^{**}$	$<5,81^*$
Studna č. 3	$50,2 \pm 2,2^{**}$	$<5,81^*$
Studna č. 4	$289,0 \pm 14,7$	$<5,81^*$

* < limit detekce

** < limit kvantifikace

5.4 Simultánní stanovení Cd a Fe v čajových lístcích

Simultánní stanovení kadmia a železa bylo vyzkoušeno na 5 vzorcích čajových lístků. Byla provedena mineralizace čajových lístků a také vodný výluh, dle pokynů výrobce. Ze změřených hodnot kadmia lze zjistit, že Cd se vyskytuje ve třech z pěti vzorků, v rozmezí od cca $73 \mu\text{g.kg}^{-1}$ do cca $118 \mu\text{g.kg}^{-1}$. Bylo zjištěno, že kadmium se neuvolňuje do vodného výluhu, jelikož se změřené hodnoty vyskytovaly pod mezí detekce. Celkový obsah železa ve vzorcích čaje se pohyboval v rozpětí od cca 107mg.kg^{-1} do přibližně 176mg.kg^{-1} . V Tab. 27 jsou zaznamenány experimentálně zjištěné hodnoty Cd a Fe v čaji.

Tab. 27: Výsledky simultánního stanovení kadmia a železa v čaji

Označení vzorku	Celkový obsah Cd [$\mu\text{g.kg}^{-1}$]	Obsah Cd ve vodném výluhu [$\mu\text{g.l}^{-1}$]	Celkový obsah Fe [mg.kg^{-1}]	Obsah Fe ve vodném výluhu [mg.l^{-1}]
1	$72,79 \pm 1,89$	$<0,320$	$142,45 \pm 2,28$	$0,207 \pm 0,004$
2	$45,39 \pm 2,77$	$<0,320$	$114,13 \pm 0,57$	$0,094 \pm 0,001$
3	$117,5 \pm 5,88$	$<0,320$	$160,65 \pm 4,82$	$0,197 \pm 0,005$
4	$<0,320$	$<0,320$	$106,66 \pm 0,43$	$0,083 \pm 0,001$
5	$<0,320$	$<0,320$	$175,64 \pm 1,58$	$0,234 \pm 0,006$

6 ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývá vývojem metod simultánní analýzy aplikovatelných na vzorcích životního prostředí. Primárním úkolem studie, bylo vybrat vlnové délky analytů ve vhodném rozmezí a následně provést optimalizaci na reálném vzorku environmentální matrice. Konkrétně byly analyzovány vzorky čajových lístků, půdy a vody.

Pro vývoj první metody byly nalezeny vlnové délky niklu a železa, vhodné k simultánnímu stanovení. Pro nikl byla zvolena vlnová délka 231,0960 nm s relativní citlivostí 59 % a pro železo 231,3100 nm s citlivostí 0,91 %. Tato metoda byla v první řadě aplikována na vzorky čajových lístků, na kterých také proběhla optimalizace teplotního programu. Teplota pyrolýzy pro oba prvky byla zvolena 1 100 °C a teplota atomizace 2 375 °C. Pravdivost metody byla ověřena na certifikovaných referenčních materiálech čínského zeleného čaje AN-BM02 a černého čaje INCT-TL-1. Celková koncentrace niklu ve vzorcích čajových lístků se pohybovala v rozmezí 2,23–8,55 mg.kg⁻¹, kdežto ve vodném výluhu byly koncentrace 5,1–148 µg.l⁻¹. Celkový obsah železa byl 158–339 mg.kg⁻¹ a vodné výluhy obsahovaly 89 až 252 µg.l⁻¹. Tato metoda byla vyzkoušena také na vzorcích půdy. Kvůli vysokému obsahu železa v půdách byl změněn kalibrační rozsah železa na 0–9 000 µg.l⁻¹. Ovšem projevila se skutečnost popsaná v literatuře od Welze a kol. [54], kdy závislost byla lineární pouze do cca 1 mg.l⁻¹, následně vykazovala polynomický charakter a opět při vyšších koncentracích byla závislost opět lineární, ovšem s jinou směrnici, než u nízkých hodnot koncentrací. Z tohoto důvodu musely být vzorky naředěny. Bylo změřeno 5 vzorků půdy z různých půdních profilů. Koncentrace niklu byla v rozmezí cca 34–56 mg.kg⁻¹ a železa cca 31–54 g.kg⁻¹. Nejvyšší koncentrace obou prvků byla v půdním profilu 20–30 cm. Pravdivost metody byla ověřena na CRM Metranal 1.

Druhou vyvinutou metodou je simultánní stanovení manganu a železa ve vodách. Byla nalezena vhodná kombinace vlnových délek u zájmových prvků. Pro mangan byla zvolena vlnová délka 210,9580 nm s relativní citlivostí 1,8 % a pro železo 210,8960 nm s citlivostí 0,59 %. První variantou této metody bylo stanovení bez přítomnosti modifikátoru, což je přívětivé z pohledu spotřeby chemikálií. Jako vhodná teplota pyrolýzy byla použita 1 200 °C a teplota atomizace 1 800 °C. Pro zjištění pravdivosti metody byl využit CRM ICP multi-element standard solution IV.

Byla vyzkoušena i varianta s aplikací modifikátoru ke vzorku. Po optimalizaci metody byla zjištěna teplota pyrolýzy 1 200 °C a teplota atomizace 2 025 °C.

Pro zjištění vhodnosti zavedení metody do praxe, musela být využita metoda standardního přídatku. Kde v případě metody bez přítomnosti modifikátoru byla návratnost standardu manganu 110,7 % a železa 73,36 %. Což je v rámci 10–15% odchylky neakceptovatelné. Ve variantě s přídatkem modifikátoru, byla návratnost přídatku manganu 93,93 % a železa 95,99 %. Simultánní metoda stanovení manganu a železa s přítomností modifikátoru s aplikací na povrchové a podzemní vody byla tímto potvrzena za vyhovující. Celkem bylo změřeno 12 vzorků povrchových vod, konkrétně z řeky Svatky a 4 vzorky studniční vody. Koncentrace manganu v řece Svatce se pohybovala od přibližně 85 µg.l⁻¹ do 97 µg.l⁻¹. Koncentrace železa byla v rozmezí cca 123 až 1072 µg.l⁻¹. Přičemž nejvyšší obsah těchto prvků byl detekován na výtoku z čistírny odpadních vod. U studničních vod se koncentrace železa

pohybovala v rozmezí přibližně $50 \mu\text{g.l}^{-1}$ až $412 \mu\text{g.l}^{-1}$. Koncentrace manganu byla stanovena pod limitem detekce.

Poslední metodou je simultánní stanovení kadmia (228,802 nm) s citlivostí 100 % a železa (228,725 nm) s citlivostí 0,91 %. Optimalizace proběhla na vzorcích čajových lístků, kdy byla zvolena teplota pyrolýzy kadmia $700 \text{ }^\circ\text{C}$ a teplota atomizace $1\ 250 \text{ }^\circ\text{C}$, přičemž v tomto atomizačním kroku proběhla i pyrolýza železa. Následným navýšením teploty na $2\ 150 \text{ }^\circ\text{C}$ atomizovalo i železo. Jedná se o tzv. o dvoukrokovou atomizaci. Celkový obsah kadmia v čajových lístcích byl v rozmezí cca $45\text{--}118 \mu\text{g.kg}^{-1}$, ve vodném výluhu byla koncentrace kadmia pod limitem detekce.

Výhodami simultánního stanovení na atomovém absorpčním spektrometru je oproti sekvenční analýze především menší spotřeba chemikálií, ať už se jedná o standardy, modifikátory, kyseliny nebo argon, ale také menší opotřebení grafitové kyvety a časová úspora celkové doby měření. Mezi nevýhody lze zařadit vysokou náročnost optimalizace a omezený počet vhodných kombinací vlnových délek.

Výstupem této diplomové práce je také návrh laboratorní úlohy pro zavedení simultánní analýzy do výuku.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] RESANO, M., M. R. FLÓREZ a E. GARCÍA-RUIZ. High-resolution continuum source atomic absorption spectrometry for the simultaneous or sequential monitoring of multiple lines. A critical review of current possibilities. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* [online]. 2013, 88, 85–97 [vid. 2023-02-19]. ISSN 0584-8547. Dostupné z: doi:10.1016/J.SAB.2013.06.004
- [2] FERREIRA, Sergio L.C., Marcos A. BEZERRA, Adilson S. SANTOS, Walter N.L. DOS SANTOS, Cleber G. NOVAES, Olivia M.C. DE OLIVEIRA, Michael L. OLIVEIRA a Rui L. GARCIA. Atomic absorption spectrometry – A multi element technique. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2018, 100, 1–6 [vid. 2023-02-19]. ISSN 0165-9936. Dostupné z: doi:10.1016/J.TRAC.2017.12.012
- [3] DOS SANTOS, Lisia M.G., Rennan G.O. ARAUJO, Bernhard WELZ, Silvana do C. JACOB, Maria Goreti R. VALE a Helmut BECKER-ROSS. Simultaneous determination of Cd and Fe in grain products using direct solid sampling and high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry. *Talanta* [online]. 2009, 78(2), 577–583 [vid. 2023-04-11]. ISSN 0039-9140. Dostupné z: doi:10.1016/J.TALANTA.2008.12.006
- [4] LEAO, Danilo J., Mario M.S. JUNIOR, Geovani C. BRANDAO a Sergio L.C. FERREIRA. Simultaneous determination of cadmium, iron and tin in canned foods using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Talanta* [online]. 2016, 153, 45–50 [vid. 2023-04-11]. ISSN 0039-9140. Dostupné z: doi:10.1016/J.TALANTA.2016.02.023
- [5] RESANO, Martín, Eduardo BOLEA-FERNÁNDEZ, Engracia MOZAS, María R. FLÓREZ, Patricia GRINBERG a Ralph E. STURGEON. Simultaneous determination of Co, Fe, Ni and Pb in carbon nanotubes by means of solid sampling high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* [online]. 2013, 28(5), 657–665 [vid. 2023-04-11]. ISSN 13645544. Dostupné z: doi:10.1039/C3JA30377B
- [6] POZZATTI, Marianna, Flávio V. NAKADI, Maria Goreti R. VALE a Bernhard WELZ. Simultaneous determination of nickel and iron in vegetables of Solanaceae family using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry and direct solid sample analysis. *Microchemical Journal* [online]. 2017, 133, 162–167 [vid. 2023-05-08]. ISSN 0026-265X. Dostupné z: doi:10.1016/J.MICROC.2017.03.021
- [7] JENA, Analytik AG. *Fundamentals , Instrumentation and Techniques of Atomic Absorption Spectrometry 2/ 65* [online]. nedatováno. Dostupné z: www.analytik-jena.com
- [8] *ContraA 800 Technology Highlights - Analytik Jena* [online]. [vid. 2023-03-08]. Dostupné z: <https://www.analytik-jena.us/products/elemental-analysis/aas/contraa-800/contraa-800-technology-highlights/>

- [9] WANG, Qingyu, Honghai SHEN, Weiqi LIU a Pengzhang DAI. A High-Resolution MIR Echelle Grating Spectrometer with a Three-Mirror Anastigmatic System. *Applied Sciences (Switzerland)* [online]. 2022, 12(16) [vid. 2023-05-02]. ISSN 20763417. Dostupné z: doi:10.3390/APP12168013
- [10] ČERNOHORSKÝ, T. a P. JANDERA. *Atomová spektroskopie*. 1. vydání. 1997. ISBN 80-7194-114-X.
- [11] 7.3: Wavelength Selectors - *Chemistry LibreTexts* [online]. [vid. 2023-05-03]. Dostupné z: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis_\(LibreTexts\)/07%3A_Components_of_Optical_Instruments/7.03%3A_Wavelength_Selectors](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis_(LibreTexts)/07%3A_Components_of_Optical_Instruments/7.03%3A_Wavelength_Selectors)
- [12] LI, Yunfei, Zilong KOU, Gong WANG, Yachong HOU, Xiaofan XIE, Yu YU, Yulei WANG a Zhiwei LU. Recent advances of short-pulse laser-induced breakdown effect on charge-coupled device detectors. *Optics & Laser Technology* [online]. 2022, 156, 108533 [vid. 2023-04-16]. ISSN 0030-3992. Dostupné z: doi:10.1016/J.OPTLASTEC.2022.108533
- [13] ZUMBAHLEN, Hank. Sensors. *Linear Circuit Design Handbook* [online]. 2008, 193–243 [vid. 2023-04-16]. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-7506-8703-4.00003-1
- [14] *What is a CCD? - Spectral Instruments* [online]. [vid. 2023-04-16]. Dostupné z: <https://specinstcameras.com/what-is-a-ccd/>
- [15] 9.1: Sample Atomization Techniques - *Chemistry LibreTexts* [online]. [vid. 2023-04-17]. Dostupné z: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis_\(LibreTexts\)/09%3A_Atomic_Absorption_and_Atomic_Fluorescence_Spectrometry/9.01%3A_Sample_Atomization_Techniques](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Instrumental_Analysis_(LibreTexts)/09%3A_Atomic_Absorption_and_Atomic_Fluorescence_Spectrometry/9.01%3A_Sample_Atomization_Techniques)
- [16] 6.2B: Electrothermal Atomization – Graphite Furnace - *Chemistry LibreTexts* [online]. [vid. 2023-04-17]. Dostupné z: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Molecular_and_Atomic_Spectroscopy_\(Wenzel\)/6:_Atomic_Spectroscopy/6.2:_Atomization_Sources/6.2B:_Electrothermal_Atomization__Graphite_Furnace](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Analytical_Chemistry/Molecular_and_Atomic_Spectroscopy_(Wenzel)/6:_Atomic_Spectroscopy/6.2:_Atomization_Sources/6.2B:_Electrothermal_Atomization__Graphite_Furnace)
- [17] KOMÁREK J. *Atomová absorpční spektrometrie*. 1. vydání. 2000. ISBN 80-210-2500-X.
- [18] WELZ, Bernhard a Michael SPERLING. *Atomic Absorption Spectrometry*. 3rd vyd. 1999. ISBN 978-3-527-28571-6.
- [19] DE LOOS-VOLLEBREGT, Margaretha T C. Background Correction Methods in Atomic Absorption Spectrometry [online]. 2000 [vid. 2023-04-25]. Dostupné z: doi:10.1002/9780470027318.a5104.pub2
- [20] FLAJNIK, Christine a Fred DELLES. Evaluation of Deuterium and Zeeman Background Correction with the Presence of Spectral Interferences Determinations of Arsenic in an Aluminium Matrix and Selenium in an Iron Matrix by GFAAS. nedatováno.

- [21] PEDRO, Juana, Jorge STRIPEKIS, Adrian BONIVARDI a Mabel TUDINO. Surface studies on graphite furnace platforms covered with Pd, Rh and Ir as modifiers in graphite furnace atomic absorption spectrometry of tellurium. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* [online]. 2015, 107, 152–158 [vid. 2023-04-19]. ISSN 0584-8547. Dostupné z: doi:10.1016/J.SAB.2015.03.004
- [22] ORTNER, H. M., E. BULSKA, U. ROHR, G. SCHLEMMER, S. WEINBRUCH a B. WELZ. Modifiers and coatings in graphite furnace atomic absorption spectrometry—mechanisms of action (A tutorial review). *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* [online]. 2002, 57(12), 1835–1853 [vid. 2023-04-19]. ISSN 0584-8547. Dostupné z: doi:10.1016/S0584-8547(02)00140-4
- [23] VOLYNSKY, Anatoly B. a Rainer WENNRICH. Mechanisms of the action of platinum metal modifiers in electrothermal atomic absorption spectrometry: aims and existing approaches. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* [online]. 2002, 57(8), 1301–1316 [vid. 2023-04-19]. ISSN 0584-8547. Dostupné z: doi:10.1016/S0584-8547(02)00063-0
- [24] MORRISSEY, Joe a Mary Lou GUERINOT. Iron uptake and transport in plants: The good, the bad, and the ionome. *Chemical reviews* [online]. 2009, 109(10), 4553 [vid. 2023-04-19]. ISSN 00092665. Dostupné z: doi:10.1021/CR900112R
- [25] HOCHMUTH, George. Iron (Fe) Nutrition of Plants. *EDIS* [online]. 2011, 2011(8) [vid. 2023-04-19]. Dostupné z: doi:10.32473/EDIS-SS555-2011
- [26] PATRA, Abhik, Vinod Kumar SHARMA, Hanuman Singh JATAV, Asik DUTTA, Ravindra Kumar REKWAR, Arghya CHATTOPADHYAY, Ankita TRIVEDI, Kiran Kumar MOHAPATRA a Ajin S. ANIL. Iron in the soil–plant–human continuum. *Frontiers in Plant-Soil Interaction* [online]. 2021, 531–546 [vid. 2023-04-19]. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-90943-3.00009-2
- [27] SCHULTE, E E. Understanding Plant Nutrients Soil and Applied Iron. nedatováno.
- [28] LINDSAY, W. L. a A. P. SCHWAB. The chemistry of iron in soils and its availability to plants. <https://doi.org/10.1080/01904168209363012> [online]. 2008, 5(4–7), 821–840 [vid. 2023-04-19]. ISSN 15324087. Dostupné z: doi:10.1080/01904168209363012
- [29] HE, Shanying, Zhenli HE, Xiaoe YANG a Virupax C. BALIGAR. Mechanisms of Nickel Uptake and Hyperaccumulation by Plants and Implications for Soil Remediation. *Advances in Agronomy* [online]. 2012, 117, 117–189 [vid. 2023-04-20]. ISSN 0065-2113. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-394278-4.00003-9
- [30] YUSUF, M., Q. FARIDUDDIN, S. HAYAT a A. AHMAD. Nickel: An Overview of Uptake, Essentiality and Toxicity in Plants. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 2010 86:1 [online]. 2010, 86(1), 1–17 [vid. 2023-04-20]. ISSN 1432-0800. Dostupné z: doi:10.1007/S00128-010-0171-1

- [31] AHMAD, Muhammad Sajid Aqeel a Muhammad ASHRAF. Essential roles and hazardous effects of nickel in plants. *Reviews of environmental contamination and toxicology* [online]. 2011, 214, 125–167 [vid. 2023-04-20]. ISSN 0179-5953. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4614-0668-6_6
- [32] Private Well Water: Iron and Manganese in Private Well Water. 2019.
- [33] L. MCFARLAND, Mark a Monty C. DOZIER. Drinking Water Problems: Iron and Manganese. nedatováno.
- [34] 252/2004 Sb. Vyhláška, kterou se stanoví hygienické požadavky na pitnou a teplou vodu a četnost a rozsah kontroly... [online]. [vid. 2023-04-25]. Dostupné z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-252#>
- [35] PODWIKA, W., K. KLESZCZ, M. KROŚNIAK a P. ZAGRODZKI. Copper, Manganese, Zinc, and Cadmium in Tea Leaves of Different Types and Origin. *Biological Trace Element Research* [online]. 2018, 183(2), 389 [vid. 2023-04-25]. ISSN 15590720. Dostupné z: doi:10.1007/S12011-017-1140-X
- [36] WINIARSKA-MIECZAN, Anna. Protective effect of tea against lead and cadmium-induced oxidative stress—a review. *Biometals* [online]. 2018, 31(6), 909 [vid. 2023-04-25]. ISSN 15728773. Dostupné z: doi:10.1007/S10534-018-0153-Z
- [37] YAO, Qinghua, Minmin HUANG, Yunyun ZHENG, Meizhen CHEN, Chongyao HUANG a Qiu LIN. Prediction and Health Risk Assessment of Copper, Lead, Cadmium, Chromium, and Nickel in Tieguanyin Tea: A Case Study from Fujian, China. *Foods* 2022, Vol. 11, Page 1593 [online]. 2022, 11(11), 1593 [vid. 2023-04-25]. ISSN 2304-8158. Dostupné z: doi:10.3390/FOODS11111593
- [38] COLAPINTO, Cynthia K., Tye E. ARBUCKLE, Lise DUBOIS a William FRASER. Is there a relationship between tea intake and maternal whole blood heavy metal concentrations? *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology* 2016 26:5 [online]. 2016, 26(5), 503–509 [vid. 2023-04-25]. ISSN 1559-064X. Dostupné z: doi:10.1038/jes.2015.86
- [39] WELZ, Bernhard, Silvine MORÉS, Eduardo CARASEK, Maria Goreti R. VALE, Michael OKRUSS a Helmut BECKER-ROSS. High-Resolution Continuum Source Atomic and Molecular Absorption Spectrometry—A Review. <http://dx.doi.org/10.1080/05704928.2010.483669> [online]. 2010, 45(5), 327–354 [vid. 2023-04-25]. ISSN 05704928. Dostupné z: doi:10.1080/05704928.2010.483669
- [40] RESANO, M., M. R. FLÓREZ a E. GARCÍA-RUIZ. High-resolution continuum source atomic absorption spectrometry for the simultaneous or sequential monitoring of multiple lines. A critical review of current possibilities. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* [online]. 2013, 88, 85–97 [vid. 2023-04-25]. ISSN 0584-8547. Dostupné z: doi:10.1016/J.SAB.2013.06.004
- [41] OZBEK, Nil. Simultaneous determination of Co, Fe, Ni and K with HR CS GFAAS. *Microchemical Journal* [online]. 2019, 145, 1066–1069 [vid. 2023-04-11]. ISSN 0026-265X. Dostupné z: doi:10.1016/J.MICROC.2018.12.002

- [42] ROVASI ADOLFO, Franciele, Paulo CÍCERO DO NASCIMENTO, Letícia BRUDI, Denise BOHRER a Leandro MACHADO DE CARVALHO. Simultaneous determination of Ba, Co, Fe, and Ni in nuts by high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry after extraction induced by solid-oil-water emulsion breaking. *Food Chemistry* [online]. 2021, 345, 128766 [vid. 2023-04-11]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/J.FOODCHEM.2020.128766
- [43] ZVĚŘINA, Ondřej, Jan KUTA, Pavel COUFALÍK, Pavlína KOSEČKOVÁ a Josef KOMÁREK. Simultaneous determination of cadmium and iron in different kinds of cereal flakes using high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry. *Food Chemistry* [online]. 2019, 298, 125084 [vid. 2023-04-11]. ISSN 0308-8146. Dostupné z: doi:10.1016/J.FOODCHEM.2019.125084
- [44] ZVĚŘINA, Ondřej, Monika VYCHYTILOVÁ, Jaqueline RIEGER a Walter GOESSLER. Fast and simultaneous determination of zinc and iron using HR-CS GF-AAS in vegetables and plant material. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* [online]. 2023, 201, 106616 [vid. 2023-04-11]. ISSN 0584-8547. Dostupné z: doi:10.1016/J.SAB.2023.106616
- [45] GEGENSCHATZ, Sofia A., Fabricio A. CHIAPPINI, Carla M. TEGLIA, Arsenio MUÑOZ DE LA PEÑA a Héctor C. GOICOECHEA. Binding the gap between experiments, statistics, and method comparison: A tutorial for computing limits of detection and quantification in univariate calibration for complex samples. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2022, 1209, 339342 [vid. 2023-05-02]. ISSN 0003-2670. Dostupné z: doi:10.1016/J.ACA.2021.339342
- [46] SHRIVASTAVA, Alankar a VipinB GUPTA. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chronicles of Young Scientists* [online]. 2011, 2(1), 21 [vid. 2023-05-02]. ISSN 2229-5186. Dostupné z: doi:10.4103/2229-5186.79345
- [47] ARMBRUSTER, David A a Terry PRY. Limit of Blank, Limit of Detection and Limit of Quantitation. *The Clinical Biochemist Reviews* [online]. 2008, 29(Suppl 1), S49 [vid. 2023-05-02]. ISSN 0159-8090. Dostupné z: /pmc/articles/PMC2556583/
- [48] Čaje dle země původu | *ManuTea.cz* [online]. [vid. 2023-04-27]. Dostupné z: <https://www.manutea.cz/caje-dle-zeme-puvodu-x2s11975>
- [49] *Zeměpisná • Mapy.cz* [online]. [vid. 2023-04-27]. Dostupné z: <https://mapy.cz/zemepisna?l=0&x=-17.8203942&y=27.1601346&z=2>
- [50] ČSN ISO 11464 (836160) [online]. [vid. 2023-04-20]. Dostupné z: <https://www.technicke-normy-csn.cz/csn-iso-11464-836160-231481.html#>
- [51] ČSN EN ISO/IEC 17025 (015253) [online]. [vid. 2023-04-26]. Dostupné z: <https://www.technicke-normy-csn.cz/csn-en-iso-iec-17025-015253-160680.html#>
- [52] ČSN EN ISO 5667-14 (757051) [online]. [vid. 2023-04-26]. Dostupné z: <https://www.technicke-normy-csn.cz/csn-en-iso-5667-14-757051-226215.html#>

- [53] SCHLEMMER, Gerhard a Bernard RADZIUK. *Analytical graphite furnace atomic absorption spectrometry: a laboratory guide*. B.m.: Springer Science & Business Media, 1999. ISBN 3764357703.
- [54] WELZ, Bernhard, Lísia M.G.dos SANTOS, Rennan G.O. ARAUJO, Silvana do C. JACOB, Maria Goreti R. VALE, Michael OKRUSS a Helmut BECKER-ROSS. Unusual calibration curves observed for iron using high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* [online]. 2010, 65(3), 258–262 [vid. 2023-04-27]. ISSN 0584-8547. Dostupné z: doi:10.1016/J.SAB.2010.01.007

8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

AAS	atomová absorpční spektrometrie
CCD	charge coupled device
CRM	certifikovaný referenční materiál
ET-AAS	atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací
FAAS	atomová absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací
FCH VUT	Fakulta chemická Vysokého učení technického v Brně
HR-CS AAS	vysokorozlišovací atomová absorpční spektrometrie s kontinuálním zdrojem záření
ICP	indukčně vázané plazma
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LOD	mez detekce
LOQ	mez stanovitelnosti
OES	Optická emisní spektrometrie

9 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1: Odraz záření vyobrazený na Echelle mřížce, upraveno dle [11]	10
Obr. 2: Znázorněné 2D spektrum 4 detekovaných prvků [41].....	18
Obr. 3: Znázorněné 2D spektrum 4 detekovaných prvků [42].....	19
Obr. 4: Optimalizační křivky pro stanovení kadmia a železa v obilných vložkách [43]	20
Obr. 5: 3D spektrum reálného vzorku po (a) a před (b) korekcí pozadí [43].....	21
Obr. 6: Optimalizační křivky pro stanovení zinku a železa v zelenině [44]	22
Obr. 7: Mapa plantáží analyzovaných čajů [48, 49]	26
Obr. 8: Odběrné místo půd [49]	27
Obr. 9: Odběrná místa na řece Svratce [49]	28
Obr. 10: Optimalizační křivky pro stanovení niklu a železa.....	31
Obr. 11: Zobrazené dvourozměrné spektrum niklu a železa v čaji	32
Obr. 12: Zobrazené trojrozměrné spektrum niklu a železa v čaji	32
Obr. 13: Kalibrační křivka pro stanovení niklu v čaji.....	33
Obr. 14: Kalibrační křivka pro stanovení železa v čaji	34
Obr. 15: Zobrazené dvourozměrné spektrum niklu a železa v půdě.....	35
Obr. 16: Zobrazené trojrozměrné spektrum niklu a železa v půdě	36
Obr. 17: Kalibrační křivka pro stanovení niklu v půdě.....	37
Obr. 18: Kalibrační křivka pro stanovení železa v půdě	38
Obr. 19: Kalibrační křivka pro stanovení železa v půdě	38
Obr. 20: Optimalizační křivky pro stanovení manganu a železa, bez využití modifikátoru....	40
Obr. 21: Zobrazené dvourozměrné spektrum manganu a železa při teplotě atomizace 1 800 °C, bez využití modifikátoru	41
Obr. 22: Zobrazené trojrozměrné spektrum manganu a železa při teplotě atomizace 1 800 °C, bez využití modifikátoru	41
Obr. 23: Zobrazené dvourozměrné spektrum manganu a železa při teplotě atomizace 2 400 °C, bez využití modifikátoru	42
Obr. 24: Zobrazené trojrozměrné spektrum manganu a železa při teplotě atomizace 2 400 °C, bez využití modifikátoru	42
Obr. 25: Kalibrační křivka pro stanovení manganu ve vodách, bez využití modifikátoru	43
Obr. 26: Kalibrační křivka pro stanovení železa ve vodách, bez využití modifikátoru.....	44
Obr. 27: Optimalizační křivky pro stanovení manganu a železa, s využitím modifikátoru.....	46
Obr. 28: Zobrazené dvourozměrné spektrum manganu a železa, s využitím modifikátoru.....	47
Obr. 29: Zobrazené trojrozměrné spektrum manganu a železa, s využitím modifikátoru	47
Obr. 30: Kalibrační křivka pro stanovení manganu ve vodách, s využitím modifikátoru	48
Obr. 31: Kalibrační křivka pro stanovení železa ve vodách, s využitím modifikátoru.....	49
Obr. 32: Optimalizační křivky pro stanovení kadmia a železa	52
Obr. 33: Zobrazené dvourozměrné spektrum kadmia a železa	53
Obr. 34: Zobrazené trojrozměrné spektrum kadmia a železa.....	53
Obr. 35: Kalibrační křivka pro stanovení kadmia v čajových lístcích	54
Obr. 36: Kalibrační křivka pro stanovení železa v čajových lístcích.....	55
Obr. 37: Porovnání celkového obsahu niklu v čajových lístcích a obsah Ni ve vodném výluhu	58

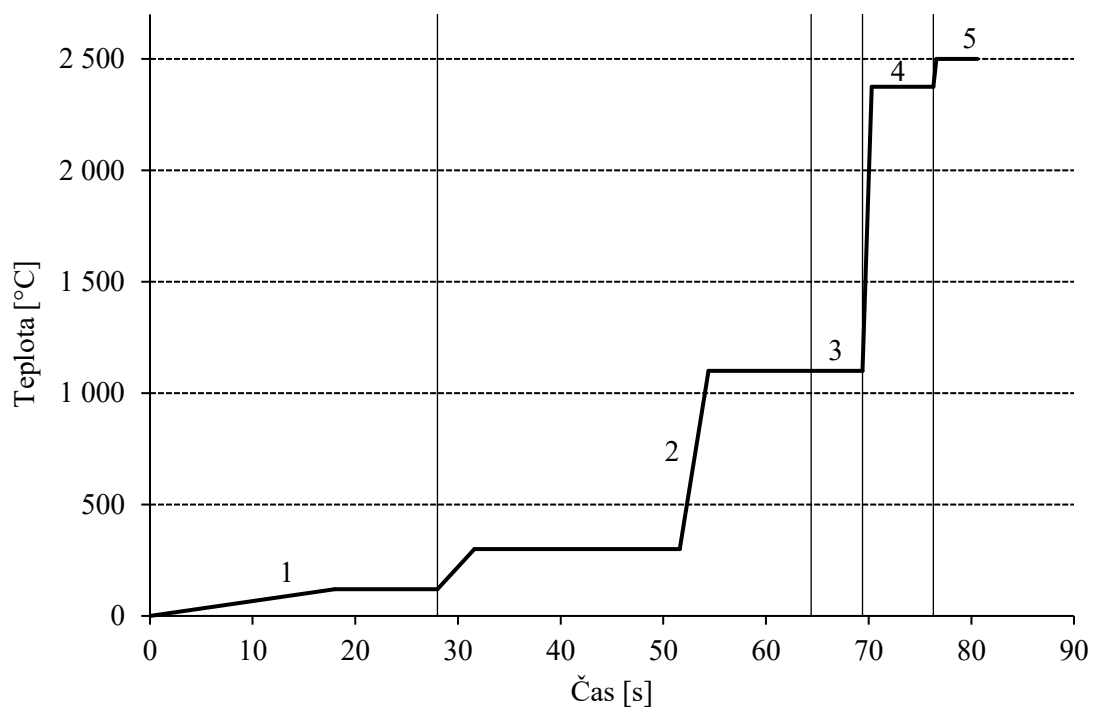
Obr. 38: Porovnání celkového obsahu železa v čajových lístcích a obsah Fe ve vodném výluhu	58
Obr. 39: Obsah niklu v závislosti na půdním profilu	59
Obr. 40: Obsah železa v závislosti na půdním profilu	60

10 SEZNAM TABULEK

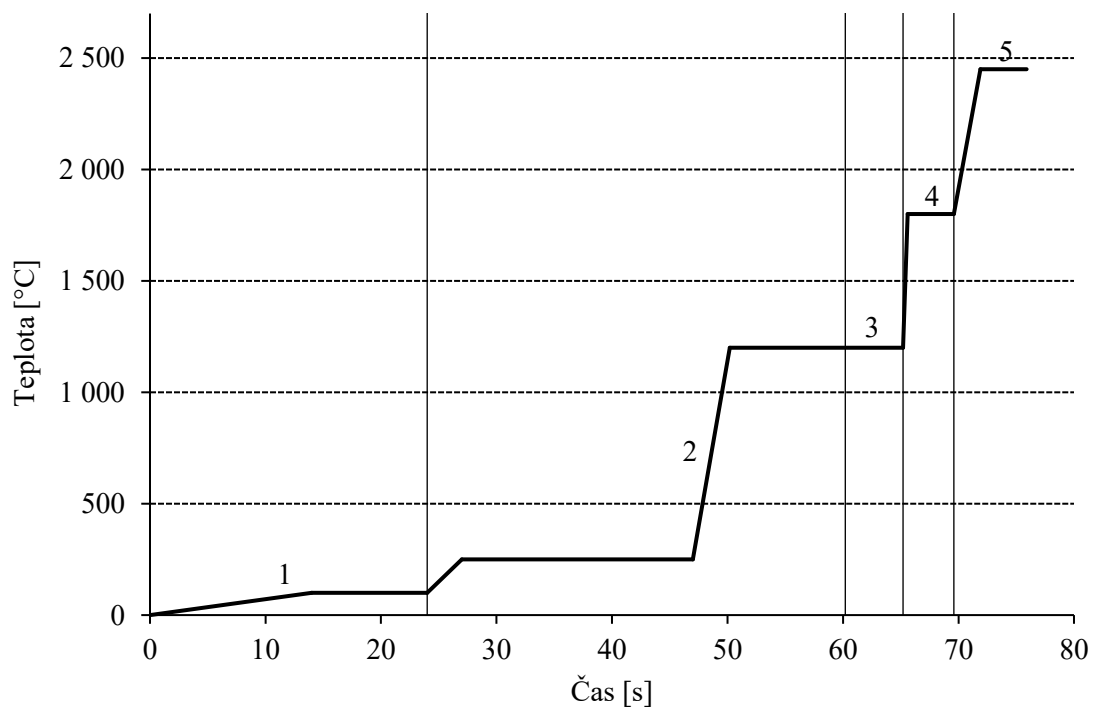
Tab. 1: Vybrané vzorky čajů [48]	26
Tab. 2: Teplotní program pro mineralizaci čajových lístků	29
Tab. 3: Teplotní program pro mineralizaci půd	30
Tab. 4: Parametry pro simultánní stanovení niklu a železa.....	30
Tab. 5: Teplotní program pro stanovení niklu a železa v čaji	31
Tab. 6: Experimentálně zjištěné hodnoty CRM	34
Tab. 7: Stanovené limity detekce a kvantifikace pro zájmové prvky	35
Tab. 8: Experimentálně zjištěná a certifikovaná hodnota CRM	39
Tab. 9: Stanovené hodnoty LOD a LOQ pro stanovení niklu a železa v půdách	39
Tab. 10: Parametry pro stanovení železa a manganu bez přítomnosti modifikátoru	39
Tab. 11: Teplotní program pro stanovení manganu a železa, bez modifikátoru.....	40
Tab. 12: Experimentálně zjištěná a certifikovaná hodnota CRM, bez využití modifikátoru...	44
Tab. 13: Stanovené limity detekce a kvantifikace pro mangan a železo bez modifikátoru	44
Tab. 14: Parametry pro stanovení železa a manganu s přítomností modifikátoru	45
Tab. 15: Teplotní program pro stanovení manganu a železa s modifikátorem	46
Tab. 16: Experimentálně zjištěná a certifikovaná hodnota CRM s využitím modifikátoru.....	49
Tab. 17: Stanovené hodnoty limitů detekce a kvantifikace pro mangan a železo, s modifikátorem	50
Tab. 18: Hodnoty návratnosti standardu manganu a železa.....	50
Tab. 19: Parametry pro stanovení kadmia a železa	51
Tab. 20: Teplotní program pro stanovení kadmia a železa	52
Tab. 21: Experimentálně zjištěné a certifikované hodnoty CRM	55
Tab. 22: Stanovené limity detekce a kvantifikace pro stanovení kadmia a železa v čajových lístcích	56
Tab. 23: Výsledky stanovení Ni a Fe v čaji	57
Tab. 24: Výsledky stanovení Ni a Fe v půdě	59
Tab. 25: Experimentálně zjištěné hodnoty koncentrací železa a manganu ve povrchových vodách (s modifikátorem)	61
Tab. 26: Experimentálně zjištěné koncentrace železa a manganu v podzemní vodě (s modifikátorem).....	62
Tab. 27: Výsledky simultánního stanovení kadmia a železa v čaji.....	62

11 PŘÍLOHY

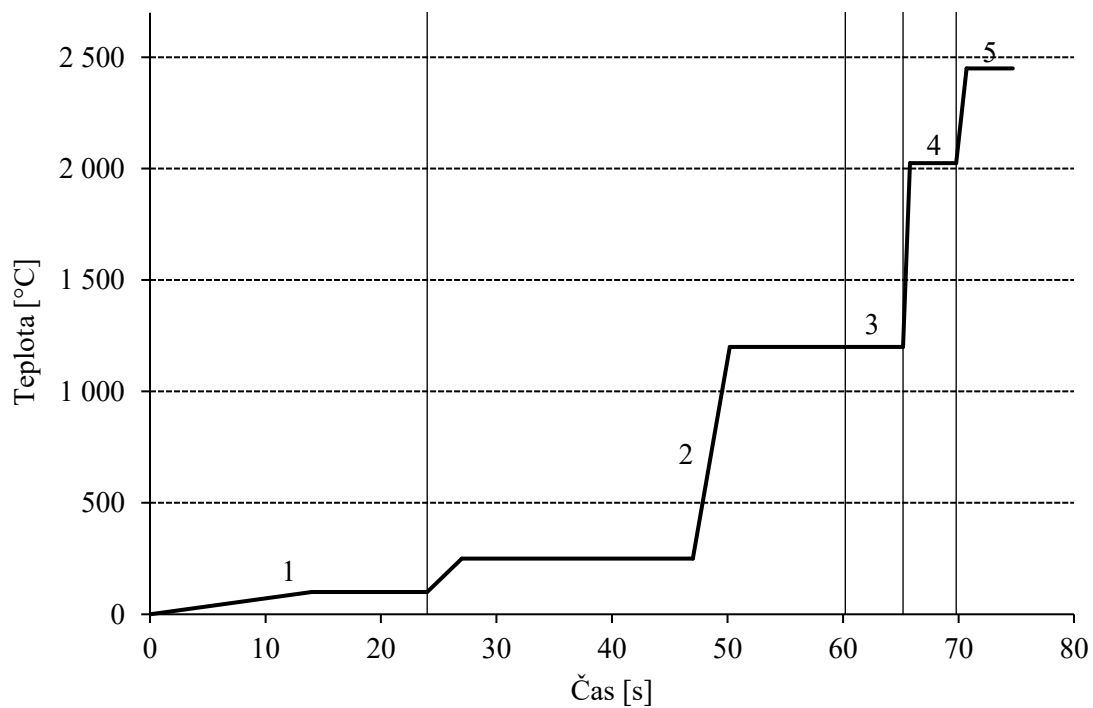
11.1 Teplotní programy



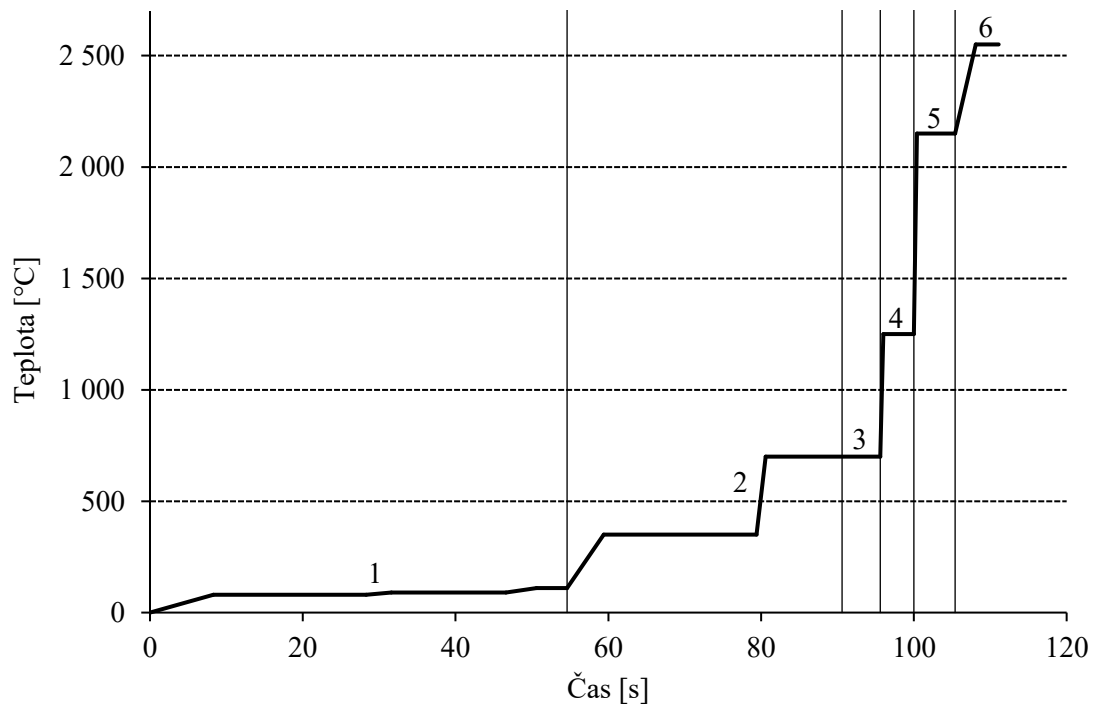
Příloha 1: Teplotní program pro stanovení niklu a železa v čaji a půdě, 1 – sušení, 2 – pyrolýza, 3 – přívod plynu, 4 – atomizace, 5 – čištění kyvety



Příloha 2: Teplotní program pro stanovení manganu a železa ve vodách, bez přítomnosti modifikátoru, 1 – sušení, 2 – pyrolýza, 3 – přívod plynu, 4 – atomizace, 5 – čištění kyvety



Příloha 3: Teplotní program pro stanovení manganu a železa ve vodách, s přítomností modifikátoru, 1 – sušení, 2 – pyrolýza, 3 – přívod plynu, 4 – atomizace, 5 – čištění kyvety



Příloha 4: Teplotní program pro stanovení kadmia a železa v čaji, 1 – sušení, 2 – pyrolýza, 3 – přívod plynu, 4 – atomizace č. 1, 5 – atomizace č. 2, 6 – čištění kyvety

11.2 Návrh laboratorní úlohy pro zavedení simultánní analýzy do výuku

11.2.1 Simultánní stanovení manganu a železa ve vodách

Úkoly

- Příprava kalibračních roztoků a vlastních vzorků vod
- Simultánní stanovení manganu a železa ve vodách

Teorie

Atomová absorpční spektrometrie je jedna z nejrozšířenějších metod, pro kvantitativní stanovení více než 60 prvků. Touto analytickou metodou lze analyzovat vzorky s obsahem analytu v rozmezí koncentrace od $\mu\text{g.l}^{-1}$ až po g.l^{-1} . Princip stanovení je založen na převedení vzorku do plynného stavu a následné absorpci záření vzniklými volnými atomy analytů. Atomová absorpční spektrometrie je v prvé řadě využívána jako sekvenční analytická metoda. V poslední době se ovšem vyvíjí metody založené na simultánním stanovení více prvků. K tomu je nutná patřičná instrumentace AAS. Musí obsahovat vysokotlakou xenonovou výbojku, která je schopna generovat kontinuální spektrum v celém rozsahu vlnových délek, 185–900 nm. Vynikající intenzita xenonové výbojky, společně s Echelle monochromátorem s vysokorozlišovací schopností a CCD detektorem, zajišťuje výborný poměr signálu a šumu. Výhodami simultánního stanovení je nižší spotřeba chemikálií, menší opotřebení grafitové kyvety a časová úspora. Mezi nevýhody ovšem patří časová náročnost při optimalizaci a omezený počet vhodných kombinací vlnových délek.

Pomůcky

AAS ContrAA 800D, mikropipety, odměrné baňky, laboratorní sklo

Chemikálie

Kalibrační standard (Fe) = $1\,000,0 \pm 0,002 \text{ mg/l}$, kalibrační standard manganu (Mn) = $1\,000,0 \pm 0,002 \text{ mg/l}$, kyselina dusičná konc. p.a., Milli-Q voda

Nastavení metody

Příloha 5: Parametry simultánního stanovení manganu a železa ve vodách

Prvek	Vlnová délka [nm]	Citlivost [%]	Rozlišení [pxl]	Modifikátor
Mangan	210,9580	1,8	3	Pd(NO ₃) ₂ + Mg(NO ₃) ₂
Železo	210,8960	0,59	3	

Proces	Teplota [°C]	Nárůst teploty [°C.s⁻¹]	Doba zdržení [s]	Celkový čas [s]
Sušení	100	5	10	24,0
Pyrolýza	1 200	300	10	13,2
Přívod plynu	1 200	0	5	5,0
Atomizace	2 025	1 500	4	4,6
Čištění kvety	2 450	500	4	4,9

Pracovní postup

- Příprava kalibračních roztoků a vlastních vzorků vod

V programu ASpect CS zvolte metodu Mn, Fe 210 nm s modifikátorem. Připravte směsný kalibrační roztok manganu a železa o koncentraci Mn (500 µg.l⁻¹) a Fe (1 000 µg.l⁻¹). Kalibrační křivka bude v rozsahu Mn 0–350 µg.l⁻¹ a Fe 0–900 µg.l⁻¹. Počet kalibračních bodů je možné upravit, je na zvážení vyučujícím. Vlastní vzorky odebrané do vzorkovnic je nutné konzervovat, 500 µl HNO₃ na 100 ml vzorku vody. V záložce programu Sample ID zvolit počet vzorků, náležitě je popsat a v případě ředění vzorků změnit hodnoty ve sloupci Pre-DF, pokud ředí uživatel, nebo AS-DF zdali má vzorky ředit AAS. V okénku Sequence potvrdit stanovení kalibrace a změnit počet stanovených vzorků.

- Simultánní stanovení manganu a železa ve vodách

Zkontrolujte nastavení metody dle Příloha 5, Příloha 6 a v ikoně Multi-line evaluation, ověřte zda bude stanovení probíhat simultánně. Do příslušných pozic autosampleru vložte okyselenou vodu (500 µl HNO₃ na 100 ml mQ vody), směs modifikátoru Pd(NO₃)₂ a Mg(NO₃)₂, směsný standard a vlastní vzorky. Pomocí ikony Run sequence pojmenujte soubor, zvolte umístění souboru a spusťte stanovení.

Obsah protokolu

- Teorie – AAS, simultánní analýza, výhody a nevýhody
- Schéma spektrometru AAS ContrAA 800D
- Postup – v trpném rodě a minulém čase popsat přípravu a samotné měření
- Vyhodnocení výsledků, včetně odchylky a komentáře
- Závěr – zhodnotit průběh měření a okomentovat výsledky

Zpracování výsledků

Z naměřených dat sestavit graf závislosti absorbance na koncentraci $A=f(c)$ a vyhodnotit koncentraci manganu a železa ve vzorcích. Hodnoty lze porovnat a okomentovat s vyhláškou 252/2004 Sb., která stanovuje limitní koncentrace prvků v pitné vodě.