

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Optimalizace mikrovlnným polem asistované extrakce pro potřeby ICP-MS
analýzy environmentálních vzorků

Diplomová práce

2023

Bc. Patrik Plachý

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2022/2023

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Patrik Plachý**
Osobní číslo: **C21435**
Studijní program: **N0531A130030 Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: **Optimalizace mikrovlnným polem asistované extrakce pro potřeby ICP-MS analýzy environmentálních vzorků**
Téma práce anglicky: **Optimisation of microwave field-assisted extraction for the needs of ICP-MS analysis of environmental samples**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Zpracujte literární rešerši zaměřenou na problematiku přípravy vzorku k ICP-MS analýze s ohledem na trendy současné zelené chemie a požadavky moderní atomové spektrometrie.
2. S využitím nástrojů frakcionálního faktorového plánování proveďte optimalizaci analytického postupu pro potřeby stanovení prvkového profilu vybraných vzorků a ověřte jeho správnost. Určete analytické charakteristiky navržené metody.
3. Postup aplikujte pro analýzu reálných vzorků.
4. Kriticky zhodnoťte dosažené výsledky.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucí práce.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Lenka Husáková, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Konzultant diplomové práce: **Ing. Jan Patočka, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Datum zadání diplomové práce: **7. února 2023**

Termín odevzdání diplomové práce: **5. května 2023**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. Ing. Petr Česla, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2023

Prohlašuji:

Práci s názvem „Optimalizace mikrovlnným polem asistované extrakce pro potřeby ICP-MS analýzy environmentálních vzorků“ jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 5. 5. 2023

Bc. Patrik Plachý

Poděkování

Na tomto místě bych speciálně rád poděkoval své vedoucí práce doc. Ing. Lence Husákové, Ph.D. za poskytnutí cenných podkladů a rad, nebetyčnou trpělivost a věnovaný čas v průběhu vypracování diplomové práce. Dále bych také rád poděkoval Ing. Martině Piroutkové a Ing. Janu Patočkovi, Ph.D. za zaslání materiály.

Poděkování patří také mým rodičům za podporu během celého studia.

ČESKÝ NÁZEV

Optimalizace mikrovlnným polem asistované extrakce pro potřeby ICP-MS analýzy environmentálních vzorků

ANOTACE

Práce byla věnována optimalizaci mikrovlnným polem asistované extrakce (MAE) pro potřeby multielementární analýzy půd metodou ICP-MS. Analýza byla provedena na spektrometru s kvadrupólovým analyzátozem iontů (Q-ICP-MS) a oktapólovým reakčním systémem (ORS), který slouží k potlačení polyatomických interferencí pomocí diskriminace kinetické energie (KED) v heliovém kolizním režimu. Pro optimalizaci MAE bylo použito frakcionálního faktorového plánování (FRFD). Výsledky analýzy byly zpracovány vybranými vícerozměrnými statistickými metodami. Správnost metody pro stanovení 42 elementů byla ověřena pomocí certifikovaných referenčních materiálů.

KLÍČOVÁ SLOVA

Multielementární analýza, environmentální vzorky, mikrovlnná extrakce, ICP-MS, vícerozměrná statistická analýza dat, plánování experimentu

TITLE

Optimization of microwave field-assisted extraction for the needs of ICP-MS analysis of environmental samples

ANNOTATION

This work deals with the optimization of microwave field-assisted extraction for the needs of multi-element analysis of soils using the ICP-MS method. The analysis was performed by a quadrupole mass spectrometer (Q-ICP-MS) with an octopole reaction system, which is used for suppression of polyatomic interferences using kinetic energy discrimination (KED) in helium collision mode. The fractional factorial design (FRFD) was used to optimize the MAE of soil samples. Multivariate statistical methods were used to process the analytical data. The trueness and precision of the analytical method were verified using two certified reference materials.

KEYWORDS

Multielement analysis, analysis of environmental samples, microwave field-assisted extraction, ICP-MS, multivariate statistical analysis, design of experiment

OBSAH

1	ÚVOD	12
2	TEORETICKÁ ČÁST	14
2.1	Odběr a úprava vzorku.....	14
2.2	Rozklad vzorku	15
2.2.1	Význam rozkladu enviromentálních vzorků před spektrální analýzou	15
2.2.2	Klasické metody rozkladu vzorku	15
2.2.3	Moderní metody rozkladu vzorku.....	18
2.3	Stabilizace a konzervace vzorků.....	21
2.4	Analýza environmentálních vzorků pomocí metody ICP-MS.....	21
2.4.1	Interferenční jevy při ICP-MS analýze.....	23
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	26
3.1	Přehled chemických látek potřebných k analýze	26
3.2	Postupy přípravy zásobních a pracovních roztoků	26
3.3	Mikrovlnným polem asistovaná extrakce	28
3.4	Laboratorní pomůcky.....	28
3.5	Zařízení pro mikrovlnnou extrakci a ICP-MS analýzu.....	29
3.5.1	Mikrovlnná pec	29
3.5.2	ICP-MS spektrometr	30
3.5.3	Destilační zařízení pro přípravu ultračistých chemikálií	33
3.6	Ověření kvality naměřených hodnot.....	33
3.7	Programy pro zpracování dat	33
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	34
4.1	Návrh experimentu MAE půd.....	34
4.2	Využití metody PCA pro klasifikaci extrakčních činidel	38
4.3	Nalezení důležitých faktorů a nastavení jejich úrovní.....	41
4.4	Validace optimalizovaného analytického postupu	46
4.5	Detekční limity navržené metody	48
4.6	Analýza reálných vzorků půd	49
5	ZÁVĚR	55
6	SEZNAM LITERATURY	56

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Schematické znázornění kvadrupólového analyzátoru [43]	22
Obrázek 2: Mikrovlnná pec Speedwave Xpert [52]	29
Obrázek 3: Záznam průběhu reakčních podmínek v mikrovlnné peci Speedwave Xpert.....	30
Obrázek 4: Q-ICP-MS spektrometr Agilent 7900 [52]	31
Obrázek 5: Podvarové destilační zařízení značky BSB 939 IR [55]	33
Obrázek 6: Dvojný graf komponentních vah a skóre pro aplikace MAE pro CRM NIST2702	38
Obrázek 7: Mapa komponentních vah zobrazující příspěvky původních proměnných pro konstrukci prvních dvou komponent	39
Obrázek 8: Diagram mediánů (plná čára) a dolního a horního kvartilu (čerchovaná čára) standardizovaných dat koncentrací vybraných prvků v extraktech	40
Obrázek 9: Diagramy efektů jednotlivých faktorů a jejich interakcí.....	43
Obrázek 10: Profily pro předpovědi a vhodnost MAE extrakce CRM NIST2702.....	44
Obrázek 11: Vhodnostní povrch/vrstevnice MAE extrakce CRM NIST2702	45
Obrázek 12: Detekční limity metody (mg kg^{-1}) vybraných prvků pro ICP-MS analýzu vzorků půd	48
Obrázek 13: Volba významných proměnných pomocí analýzy sousedních komponent	50
Obrázek 14: Paretův graf objasněného rozptylu s využitím analýzy hlavních komponent.....	51
Obrázek 15: Dvojný diagram komponentních skóre a vah pro PCA analýzu vzorků půd.....	52
Obrázek 16: Mapa komponentních vah pro PCA analýzu obsahu prvků u reálných vzorků půd	52
Obrázek 17: Radarové diagramy koncentrací vybraných prvků v půdách sledovaných lokalit	53
Obrázek 18: Diagram paralelních koordinát mediánů (plná čára) standardizovaných dat a odpovídajících hodnot dolních a horních kvartilů (čerchovaná čára) koncentrací vybraných prvků v reálných vzorcích půd.....	54

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Aplikace mokrého rozkladu v otevřeném systému pro environmentální vzorky ...	17
Tabulka 2: Aplikace suchého rozkladu pro environmentální vzorky	18
Tabulka 3: Aplikace mikrovlnné mineralizace pro rozklad environmentálních vzorků	20
Tabulka 4: Reakční podmínky extrakce vzorků půd	28
Tabulka 5: Parametry nastavení přístroje Q-ICP-MS Agilent 7900.....	32
Tabulka 6: Nastavení faktorů a jejich úrovní pro MAE optimalizaci.....	35
Tabulka 7: Srovnání úplného dvou úrovnového a zkráceného faktorového plánu.....	36
Tabulka 8: Schéma FRFD ^a plánu optimalizace MAE vytvořeného v programu Statistica	37
Tabulka 9: Analytické návratnosti (%) vybraných prvků pro MAE SRM NIST2702	37
Tabulka 10: Shrnutí významnosti faktorů a jejich efektů na účinnost MAE vybraných efektů	42
Tabulka 11: Výsledky prvkové analýzy (mg kg ⁻¹) vybraných CRM.....	47
Tabulka 12: Výsledky multiprvkové analýzy (mg kg ⁻¹) reálných vzorků půdy ^a	49
Tabulka 13: Přehled maximálních koncentrací (mg kg ⁻¹) pro vybrané prvky	49

SEZNAM ZKRATEK

ANOVA.....	analýza rozptylu
CRC	kolizně/reakční cela
CRM.....	certifikovaný referenční materiál
ET-AAS	atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací
ETV.....	elektrotermické odpařování
FFD	úplný faktorový plán
FRFD	frakcionální faktorový plán
FT.....	Fourierova transformace
HR-ICP-MS	vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie
ICP	indukčně vázané plazma
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s ionizací v indukčně vázaném plazmatu
ICP-OES	optická emisní spektrometrie s ionizací v indukčně vázaném plazmatu
IR	infračervené
ISO.....	Mezinárodní organizace pro normalizaci
IUPAC	Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii
KED	diskriminace kinetické energie
LA	laserová ablace
MAE.....	mikrovlnným polem asistovaná extrakce
MLOD.....	detekční limit metody
MQ.....	deionizovaná voda
NIST.....	Národní institut standardů a technologie
ORS.....	oktapólový reakční systém
PCA.....	metoda analýzy hlavních komponent
PE.....	polyethylen
PFA	perfluor alkoxyalkan kopolymer
PTFE	polytetrafluorethylen
Q.....	kvadrupólový analyzátor
RSD.....	relativní směrodatná odchylka
SRM.....	standardní referenční materiál
XRD.....	rentgenová difrakční analýza

1 ÚVOD

Elementární složení vzorků životního prostředí je klíčový údaj pro zhodnocení environmentální bezpečnosti dané lokality, ze které byl vzorek odebrán [1,2]. Studuje se tedy stupeň znečištění oblasti a posuzují se dopady tohoto znečištění na člověka a jiné živé organismy [2,3].

V posledních letech je o příslušnou problematiku rostoucí zájem, jak je známo z mnoha publikovaných studií [4–7] zabývajících se znečištěním životního prostředí v důsledku emisí škodlivých látek. Mezi škodlivé látky znehodnocující ekosystémy patří zejména těžké kovy [8]. Těžké kovy se do složek životního prostředí dostávají ze zdrojů lidské činnosti, jako je průmysl (hutnictví, těžba a spalování uhlí) a zemědělství (aplikace pesticidů a hnojiv) [2,9]. Jejich toxicita je dlouhodobě všeobecně známa. V lidském těle mohou poškozovat některé orgány, a to především mozek, játra, ledviny, plíce a také nervový systém. Některé těžké kovy ale v určitých dávkách působí příznivě (např. Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu) a jsou nezbytné pro správné fungování organismu. Nicméně požití vysokých dávek by mohlo zapříčinit závažná onemocnění. Proto je důležité mít informace o koncentraci těžkých kovů ve složkách životního prostředí [9,10].

Nejfrekventovanější problém v životním prostředí zřejmě představuje znečištění půd, v nichž se nejvíce hromadí těžké kovy postihující rostliny a živé organismy. Pro udržitelný rozvoj je tak potřebné provádět opatření k odstranění těžkých kovů ze složek životního prostředí. V současné době se hojně aplikuje nenákladná a ekologicky šetrná technika zvaná fyto-remediace, která slouží k sanaci znečištěných půd. Využívají se k tomu rostliny mající schopnost absorbovat těžké kovy. Pro správnou volbu rostliny je zapotřebí znát elementární složení půd, protože schopnost absorpce různých těžkých kovů se u jednotlivých rostlin liší a rostliny se před použitím testují. Podle toho se zjistí, jestli fyto-remediace příslušných půd bude účinná [10].

Elementární analýza environmentálních vzorků se v současné době nejvíce provádí prostřednictvím hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS). Touto instrumentální technikou je možné detekovat širokou škálu prvků ve vzorcích od ultra-stopového množství až po matriční prvky. V drtivé většině případů je vzorek do ICP-MS systému dávkován v kapalném stavu [11]. Pro získání vzorku v kapalném stavu k ICP-MS analýze je v současné době nejpreferovanější způsob rozklad vzorku v přítomnosti směsi kyselin prostřednictvím mikrovlnným polem asistované extrakce a mineralizace. Oproti

klasickým mineralizačním metodám je mikrovlnným polem asistovaná extrakce a mineralizace daleko rychlejší a výkonnější vzhledem k možnosti průběhu rozkladu za vyšších teplot a tlaků. Je zde také jistota získání kvalitního vzorku pro analýzu, neboť rozklad reakční směsi (vzorek + rozkladné činidlo) probíhá uzavřených nádobách a nehrozí tak riziko kontaminace a ztráty analytů v důsledku odpaření složek vzorku [12].

Často používaným činidlem pro rozklad environmentálních vzorků je lučavka královská neboli směs HCl a HNO_3 (3:1, v/v). Zmíněná směs ovšem není schopna kvantitativně extrahovat prvky z alumino-silikátové matrice a je tedy nutný přídavek dalšího reakčního činidla [13]. Standardně je k této směsi přidávána HF . Ta je ale kvůli své toxicitě a korozivitě vůči skleněným či křemenným komponentám ICP-MS instrumentace nežádoucí. Nicméně jak je patrné z výsledků této práce, tato reagentie může být úspěšně nahrazena pomocí NH_4F . Toto činidlo nejen že nemá destruktivní vliv na uvedené části přístrojového vybavení, ale ve srovnání s HF vykazuje odlišný reakční mechanismus a jeho aplikace eliminuje vznik těkavých fluoridů některých analytů, které mohou z reakční směsi uniknout při otevření nádoby po mikrovlnném rozkladu [11]. Optimalizaci mikrovlnným polem asistované extrakce vzorků půd s využitím NH_4F a dalších reagentií je věnována předložená diplomová práce. Sledován byl konkrétně vliv vybraných činidel na účinnost extrakce prvků a úkolem bylo optimalizovat jejich množství a reakční podmínky (teplota, čas) tak, aby bylo dosaženo v maximální míře kvantitativního průběhu extrakce. Pro optimalizaci analytického postupu byla použito efektivních a časově úsporných nástrojů frakcionálního faktorového plánování [14].

2 TEORETICKÁ ČÁST

V této části práce bude popsáno, jakým způsobem se postupuje při stanovení elementárního složení environmentálních vzorků. Jsou zde uvedena všechna úskalí od odběru vzorku až po samotnou analýzu. Velká pozornost je věnována různým způsobům rozkladů a zhodnocení vhodnosti jejich použití pro ICP-MS analýzu.

2.1 Odběr a úprava vzorku

Hlavním cílem vzorkování je získání kvalitního vzorku, který plně reprezentuje zkoumaný objekt. Z tohoto důvodu se před vzorkováním připraví plán, jehož cílem je poskytnout osobám pověřeným ke vzorkování informace o tom, jakým způsobem a jaké množství vzorku se má odebrat. Zaznamenány bývají i údaje o lokalitě, vzorkovaném objektu, transportu do laboratoře, úpravách vzorku po odběru včetně jeho uchování před analýzou. Plán je vytvořen až po důkladném prozkoumání vlastností vzorkovaných materiálů [3,15].

Vzorky půd jsou odebírány převážně třemi způsoby, a to pomocí prostého náhodného (náhodný výběr míst odběru v celém vzorkovaném objektu), stratifikovaného náhodného (rozdělení vzorkovaného objektu na předpokládané homogenní části s následným náhodným vzorkováním v každé z nich) a systematického vzorkování (vytvoření bodů vzorkování podle nějakého pravidelného vzoru, např. mřížky) [16]. Odebraná půda je umístěna do čistého plastového sáčku a převezena do laboratoře, kde je ze sáčku vyjmuta a vysušena na vzduchu nebo v sušárně. Pro homogenizaci je vysušený vzorek přečištěn od hrubších a dalších nežádoucích částí (např. zbytků rostlin) pomocí síta. Nakonec je provedeno rozdrčení přečištěné půdy v hmoždíři [17,18].

Vzorkování popílků je provedeno nejčastěji pomocí stratifikovaného náhodného a systematického odběru. Po odběru se postupuje obdobně jako vzorků půd, kdy odebraný vzorek je před analýzou vysušen a proséván kvůli odstranění větších částic. K homogenizaci vzorků popílků slouží laboratorní mlýn [19].

Výše popsaná charakteristika zmíněných metod odběrů značí, že pro uvedené vzorky poskytuje nejspolehlivější výsledky metoda systematického vzorkování, neboť se jedná o heterogenní objekty nemající shodné složení a vlastnosti v celém svém objemu. Systematický odběr je však dražší než prostý náhodný a stratifikovaný náhodný odběr. Je třeba vyhodnotit, jestli finanční náklady nepředstavují významné omezení pro zamýšlené použití [19].

2.2 Rozklad vzorku

2.2.1 Význam rozkladu environmentálních vzorků před spektrální analýzou

Před spektrální analýzou environmentálních vzorků je nezbytným krokem jejich rozklad, neboť environmentální vzorky v drtivé většině případů obsahují anorganické i organické složky. Je tedy potřeba vytvořit vzorek s jednoduchou maticí, u kterého je možné za pomoci spektrálních metod provést kvalitativní určení přítomných prvků a vyhodnocení jejich kvantitativního zastoupení [1,20].

Při této analýze by byla překážkou vlastní matrice, která při spektrálním měření často interferuje [20,21,22]. Kromě toho, jak již bylo uvedeno výše, je u většiny současných instrumentálních technik nutné vzorek do systému dávkovat v kapalném stavu. Toho lze dosáhnout různými metodami rozkladu. Rozklad je v mnoha případech náročný vzhledem ke složité matici většiny environmentálních vzorků a k úplnému dokonání tohoto procesu je zpravidla nutné použít více rozkladných činidel a dostatečné množství energie [21]. V průběhu let došlo k rozvoji metod umožňujících získání přesných výsledků v relativně krátkém čase a s použitím malého množství rozpouštědel z důvodu eliminace kontaminace vzorku [23]. Podrobně budou problémy související s přípravou vzorků k analýze rozebrány v následujících kapitolách.

2.2.2 Klasické metody rozkladu vzorku

2.2.2.1 Rozklady vzorků kyselinami v otevřeném systému

Rozklad v otevřeném systému pomocí běžných minerálních kyselin probíhá nejčastěji ve standardní skleněné nebo teflonové (např. PTFE či PFA) nádobě s využitím klasické laboratorní ohřívací plotny [20,24]. Nevýhodou tohoto postupu je však časová náročnost a někdy velká spotřeba rozkladných činidel, v důsledku čehož může docházet ke kontaminaci vzorku [25].

Nejrozšířenějším činidlem pro rozklad organické matrice je HNO_3 , která je na rozdíl od ostatních minerálních kyselin pro analýzu snadno dostupná v požadované čistotě a nebývá také zdrojem interferencí při následných spektrálních měřeních [20,26]. Samotná však většinou neposkytuje úplný rozklad a je nutné ji aplikovat ve směsi s dalšími činidly (např. HCl , HClO_4 , H_2O_2 , H_2SO_4 , H_3PO_4) [26,27]. Tato spojení HNO_3 s některými uvedenými silnými minerálními kyselinami se ukazují být problematická při následné analýze metodou ICP-MS, jelikož složky

těchto reagensů (S, Cl, P) mohou být zdrojem spektrálních interferencí. HClO_4 způsobuje pro změnu problémy již při samotném rozkladu kvůli svým explozivním vlastnostem. Proto tyto kyseliny pro současné rozklady vzorků nejsou již doporučovány [26].

Před stanovením elementárního složení environmentálních vzorků je vhodné aplikovat mezinárodně uznávanou metodu extrakce lučavkou královskou [17,28]. Tato metoda prošla v posledních letech určitou modifikací. Pro zvýšení účinnosti rozkladu se začal přidávat k uvedené směsi také H_2O_2 [28]. Mimoto se v současné době se přestala využívat norma ISO 11466 značící rozklad v otevřeném systému pod refluxem, kterou nahradil rozklad v mikrovlnné peci podle normy ISO 12914 s nižší spotřebou rozkladných činidel [13].

Extrakce lučavkou královskou ovšem neposkytuje úplnou extrakci prvků u vzorků se silikátovou maticí (např. půdy). Pro kvantitativní extrakci prvků je v tomto případě nutné přidat HF [13,28]. Některé problémy spojené s aplikací této kyseliny [25,29] již byly diskutovány v úvodní části textu této diplomové práce. Zmínit lze dále vznik nerozpustných fluoridů, kterým lze předcházet přidávkem HClO_4 a následným odpařením roztoku. Mimo již zmíněné nežádoucí jevy při použití HClO_4 se vyskytují rovněž problémy spojené se vznikem oxidů některých těžkých kovů (např. Ta, Hf, Zr). Musel se tedy zajistit jiný způsob k překonání těchto obtíží [29]. Vzhledem k principům rozvíjející se zelené chemie řešení nabízí nahrazení velmi toxické HF méně toxickým NH_4F . Rozklad pomocí NH_4F je srovnatelně účinný s HF bez výše uvedených problémů. Ukázalo se, že některé prvky jsou dokonce z matrice extrahovány rychleji než při použití HF [29,30].

V následující tabulce jsou uvedeny konkrétní příklady rozkladu vzorků na mokré cestě v otevřeném systému provedené dříve různými autory. V tabulce jsou k dispozici informace o navázce vzorku, použitých činidlech a jejich množstvích, reakčních podmínkách daného rozkladu a analytické technice pro stanovení elementárního složení vzorku.

Tabulka 1: Aplikace mokrého rozkladu v otevřeném systému pro environmentální vzorky

Vzorek	Navážka [mg]	Činidla	Reakční podmínky	Metoda stanovení	Zdroj
Horniny (žula, granodiorit)	50	300 mg 98% NH ₄ F + MQ H ₂ O (pár kapek) 2x 1,5 mL 68% HNO ₃ 1 mL 68% HNO ₃ + 1 mL MQ H ₂ O + 1 mL 1 μg g ⁻¹ roztoku In jako vnitřního standardu	T = 250 °C t = 2 hod (el. trouba) Po přid. HNO ₃ T = 160 °C (2x odpaření do sucha na horké plotně) Po přid. další směsi T = 120 °C t = 6 hod (do čirého roztoku)	ICP-MS	[25]
Půdy, čedič	50	2 mL 65% HNO ₃ + 1 mL 47% NH ₄ F 1,5 mL 30% H ₂ O ₂ 3x 1 mL 65% HNO ₃ 5 mL MQ H ₂ O	T = 240 °C t = 10 hod Po přid. H ₂ O ₂ T = 190 °C (přes noc) Po přid. HNO ₃ T = 240 °C (3x odpaření do sucha) Po přid. H ₂ O T = 240 °C t = 15 min	ICP-MS	[30]

2.2.2.2 Rozklady na suché cestě

Nejvíce využívanou metodou rozkladů na suché cestě je zpopelnění vzorku v muflové peci probíhající při teplotě okolo 450 °C. Zpopelněním dojde k odstranění organické části matrice a vzniklý zmineralizovaný vzorek se před následnou instrumentální analýzou rozpustí v kyselině. Výhodou tohoto procesu je zakoncentrování analytu vzhledem k možnosti rozkladu většího množství vzorku pro stanovení elementárního složení [21,26,27]. Kromě muflové pece se rozklad provádí také pomocí plamene (při teplotě 400–600 °C). V obou případech je vzniklý popel prostý organických složek, které byly odstraněny ve formě CO₂ [20].

Největším problémem při zpopelňování vzorku je ztráta některých těkavých analytů (např. As, Se, Hg) z důvodu průběhu rozkladu při vysoké teplotě. Řeší se to přidávkem

pomocných činidel, a to především dusičnanu hořečnatého nebo oxidu hořečnatého [23,31]. V případě ICP-MS analýzy je přídavek zmíněných činidel nežádoucí nejen v důsledku nepřesného stanovení původní koncentrace Mg ve vzorku, ale také vzniku velkého množství solí způsobujících interferenční jevy [31].

Další způsob rozkladu na suché cestě představuje tavení pomocí zejména boritanových, uhličitanových a hydroxidových tavících činidel. K dosažení úplného rozkladu je zapotřebí použít velké množství tavících činidel, u kterých je vyžadována vysoká čistota, což je finančně nákladné. V případě nedostatečné čistoty by mohlo docházet ke kontaminaci vzorku. Tento proces je také spojen s výskytem vysokého obsahu solí ve výsledném vzorku, což je dalším zdrojem potíží při následné ICP-MS analýze [31].

V následující tabulce je detailně uvedena konkrétní aplikace rozkladu vzorků, tentokrát na suché cestě.

Tabulka 2: Aplikace suchého rozkladu pro environmentální vzorky

Vzorek	Navážka [mg]	Činidla	Reakční podmínky	Technika stanovení	Zdroj
Rostlinné matrice	1000	0,02 mg Mg(NO ₃) ₂ 2 mL demin. vody + 2 mL konc. HNO ₃ + 2 mL konc. HF (2x přidat) 1 mL HNO ₃ + 1 mL HF (2x přidat) 2 mL HNO ₃	T = 450 °C t = 6 hod (zpopelnění v muflové peci s přídavkem Mg(NO ₃) ₂) Po ochlazení a přidání reakční směsi 2x odpaření do sucha na pískové lázni (+ přídavek 2. směsi) Po přidání 2 mL HNO ₃ zahřátí k varu	ICP-AES a ET-AAS	[21]

2.2.3 Moderní metody rozkladu vzorku

2.2.3.1 Mikrovlnná mineralizace

V současné době je rozklad vzorků před elementární analýzou pomocí ICP-MS realizován ve většině případů pomocí mikrovlnné mineralizace, která je neúčinnější a nejvýkonnější rozkladnou metodou. Mikrovlnná mineralizace se poprvé začala využívat v 70.

letech 20. století. Její zavedení znamenalo velký průlom v mineralizačních technikách. Jedná se v podstatě o vylepšenou metodu rozkladů na mokré cestě. Díky vynalezení této metody došlo ve srovnání s klasickou metodou rozkladů vzorků pomocí kyselin ke zjednodušení a značnému zkrácení doby přípravy vzorku, a to z řádu hodin na několik minut. Snížilo se také riziko kontaminace a minimalizovaly se ztráty vzorku v důsledku vytěkání jeho složek, protože rozklad probíhá v uzavřených nádobách [12,22]. Vysoká účinnost tohoto rozkladu je zajištěna tím, že mikrovlnné záření zajišťující ohřev působí přímo na reakční směs se vzorkem a není pohlceno stěnami nádoby [22,23,32]. Mikrovlny tak díky tomuto působení na vzorek umožní snadnější rozklad vzorku způsobený rychlou difúzí jeho složek [1]. Mikrovlnná mineralizace je tedy vzhledem ke své účinnosti a tím i energetické efektivnosti výhodnější než klasický ohřev na mokré cestě a její používání je plně v souladu s trendy zelené chemie [32].

V průběhu procesu mikrovlnné mineralizace jsou vzorky zahřívány v přítomnosti kyselin na teplotu okolo 200–260 °C v nádobách odolných proti vysokému tlaku, které jsou zpravidla zhotoveny z teflonu. Rozklad se děje v peci, ve které jsou zabudována čidla zaznamenávající hodnoty teplot a tlaků jednak z bezpečnostních důvodů (např. zabránění vzniku explozivních reakcí), ale také kvůli zajištění správných parametrů pro úplný rozklad konkrétního vzorku [33]. Zásadním parametrem pro mikrovlnnou mineralizaci je teplota. Teplotní program mineralizace je volen na základě bodu varu použité kyseliny nebo směsi kyselin. Tento parametr má vliv na další reakční parametry, jako je doba rozkladu a tlak [23].

Ani v případě mikrovlnné mineralizace se u mnoha vzorků nedosáhne kvantitativního rozkladu při použití samotné HNO_3 . Pro některé rozklady půd a dalších geologických vzorků se používá HNO_3 ve směsi HCl a přídavkem H_2O_2 . V jiných případech se využívá i H_2SO_4 . Díky jejímu vysokému bodu varu umožní výkonný rozklad za vysokých teplot a produktem rozkladu jsou velmi čiré roztoky. Nicméně z důvodu problémů uvedených v kapitole 2.2.2.1 a také tvorbě síranů některých prvků (např. Pb a Ba) se od používání H_2SO_4 upouští [12]. Podobně jako u klasického rozkladu na mokré cestě se pro rozklad těchto vzorků se silikátovou matricí přidává k výše uvedené směsi HF nebo méně toxický a také méně korozivní NH_4F . Dále se mohou aplikovat i jiné fluor obsahující činidla [34]. V tabulce 3 jsou uvedeny jsou uvedeny některé praktické aplikace mikrovlnné mineralizace pro analýzu environmentálních vzorků.

Tabulka 3: Aplikace mikrovlnné mineralizace pro rozklad environmentálních vzorků

Vzorek	Navážka [mg]	Činidla	Reakční podmínky	Technika stanovení	Zdroj
Půdy a sedimenty	100	1 mL MQ H ₂ O + 5 mL 5% HNO ₃ + 3 mL 3% HF	p = 30 bar t = 40 min T _{max} = 240 °C P ₁ = 250 W (10 min) P ₂ = 400 W (10 min) P ₃ = 650 W (10 min) P ₄ = 250 W (10 min)	ICP-MS	[12]
Půdy	100	2 mL HNO ₃ + 6 mL HCl + 2 mL HF (ultračistě kyseliny od firmy Merck)	p: neudán t = 19 min T: neudána E = 3 192 kJ P ₁ = 500 W (2 min) P ₂ = 0 W (2 min) P ₃ = 500 W (5 min) P ₄ = 800 W (8 min) P ₅ = 1 000 W (10 min)	ICP-MS	[28]
Půdy a sedimenty (pro stanovení Be)	10	5 mL 100 g L ⁻¹ NH ₄ F do zkumavky + 20 ml 100 g L ⁻¹ NH ₄ F do vnější nádoby	p: neudán t = 15 min T _{max} = 190 °C P _{max} = 1 450 W	ICP-MS	[35]
Rostliny, fosfátová hnojiva, kaly, popílký (pro stanovení Si a B)	50	5 mL 100 g L ⁻¹ NH ₄ F do PFA zkumavky + 20 mL 100 g L ⁻¹ NH ₄ F do vnější nádoby	t = 15 min T _{max} = 180 °C P _{max} = 1 450 W	FAAS a ICP- OES	[36]
Popílký	10	5 mL 140 g L ⁻¹ NH ₄ F do zkumavky + 20 ml 140 g L ⁻¹ NH ₄ F do vnější nádoby	t = 10 min T _{max} = 200 °C P _{max} = 1 450 W	ICP-MS	[11]
Zirkon	500	5 g NH ₄ HF ₂ (ultračistý od firmy Pelchem Ltd.)	p _{max} = 55 bar t = 60 min T _{max} = 240 °C P _{max} = 1 600 W f = 2 450 MHz	FT- Ramanova spektroskopie a XRD	[37]
Uhlí a popílký	10	1 mL 70% HNO ₃ + 10 mL 70 % HNO ₃ do 120 mL vnější nádoby	p _{max} = 110 bar t = 15 min T: neudána P _{max} = 1 000 W	ICP-MS	[38]

2.3 Stabilizace a konzervace vzorků

Před samotnou analýzou je nutné zabránit změnám složení vzorků, které by mohly být způsobeny ztrátami stanovovaných analytů v důsledku fyzikálních (těkání, adsorpce, absorpce), chemických (chemické reakce) anebo biologických (mikrobiální degradace) dějů. Rozhodujícím faktorem pro prevenci takových jevů je správné uchování s použitím vhodných nádob, případně přidavek konzervačních činidel (např. HCl, H₂SO₄) [3].

Zmineralizované vzorky popílků a půd jsou odebrány do čistých plastových nádob [3,18]. Ty jsou využívány v případě prvkové analýzy vzhledem k výrazné sorpci iontů kovů na stěny skleněných nádob. Pro získání kvalitních analytických výsledků jsou vzorky v plastových nádobách vloženy do mrazničky kvůli zabránění všech výše uvedených procesů. Při zajištění takovýchto podmínek pro uchování uvedených vzorků není nutný přidavek konzervačních činidel [3].

2.4 Analýza environmentálních vzorků pomocí metody ICP-MS

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) je v současné době hojně využívanou instrumentální technikou pro stanovení elementárního složení vzorků životního prostředí. Mezi její přednosti patří zejména mimořádná detekční schopnost, díky které je možné zaznamenat přítomnost stopových a ultrastopových prvků ve vzorcích (prvky o koncentraci v řádu ppb až ppt) [12,39,40]. Realizovat je však možné bez větších potíží i stanovení matričních prvků.

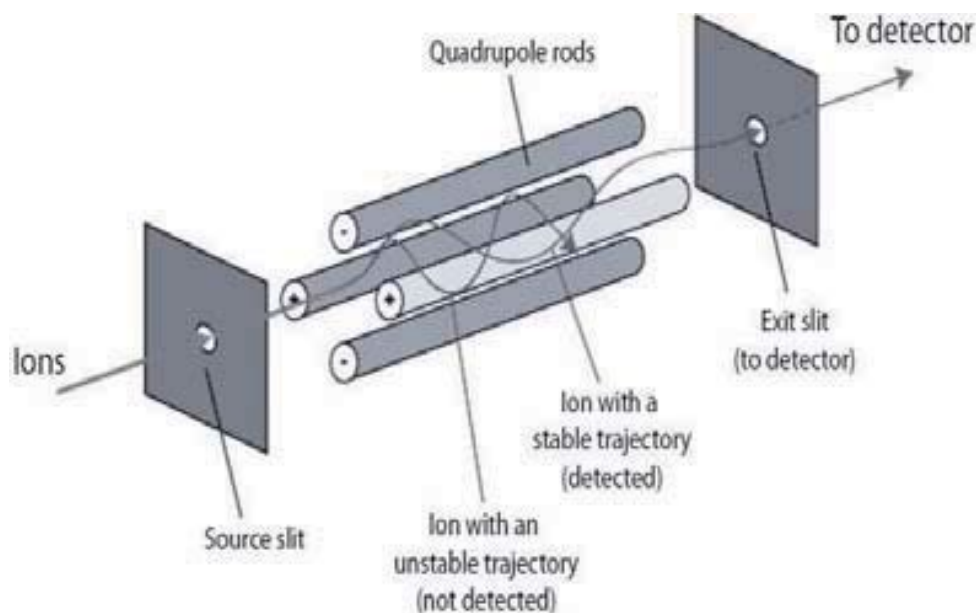
Limity detekce jsou pro některé analyzované prvky podobné jako u dříve často používané atomové absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (ET-AAS), ale ICP-MS dostává přednost z důvodu možnosti multielementární analýzy a menší časové náročnosti. Multielementární analýzu lze provádět také pomocí optické emisní spektrometrie s ionizací v indukčně vázaném plazmatu (ICP-OES), která však nemá dostatečnou citlivost pro stanovení stopového množství analytů. ICP-MS tak kombinuje výhody analýzy velkého množství prvků s možností analýzy prvků o různých koncentracích [12,39].

V současnosti se rozvíjejí také metody pro přímé dávkování pevných vzorků bez předchozího kroku mineralizace, konkrétně s využitím laserové ablace (LA) nebo elektrotermického odpařování (ETV). Tyto metody jsou výhodné z důvodu zkrácení délky analytického postupu, snížení rizika kontaminace či zamezení výskytu některých spektrálních interferencí, ke kterým může docházet během analýzy kapalných vzorků v přítomnosti

reakčních činidel [30]. Nicméně k danému účelu jsou zapotřebí vysoce nákladná (LA) anebo hůře dostupná (ETV) zařízení, proto i v dnešní době stále převažují standardní systémy vnášení kapalného vzorku do ICP-MS spektrometru [36].

Při klasické ICP-MS analýze je vzorek v kapalném stavu nasáván do systému peristaltickým čerpadlem a poté je převeden na aerosol pomocí zmlžovače. Vzorek je ve formě aerosolu vnášen do plazmového hořáku, který z prvků přítomných ve vzorku vytvoří ionty. Účinnost ionizace je vysoká. Vzniká velký počet nabitých částic s minimálním počtem neionizovaných částic, což zabezpečuje nízké signály pozadí. Tím je zaručena schopnost přístroje analyzovat až ultrastopová množství prvků [41]. V hmotnostním analyzátoru jsou ionty separovány podle poměru hmotnosti a hodnoty náboje iontu (m/z).

Pro multielementární stopovou analýzu je ze všech hmotnostních analyzátorů nejvíce využíván kvadrupólový analyzátor, který je výhodný z hlediska vysoké výkonnosti, robustnosti a relativně krátké době analýzy. Součástí Q-ICP-MS systémů je kolizně/reakční cela (CRC), která slouží k eliminaci vzniklých interferencí při stanovení elementárního složení vzorků [42]. Schéma kvadrupólového analyzátoru je znázorněno na obrázku níže.



Obrázek 1: Schematické znázornění kvadrupólového analyzátoru [43]

2.4.1 Interferenční jevy při ICP-MS analýze

Při analýze vzorků metodou ICP-MS často dochází k nežádoucím jevům vlivem výskytu prvků a sloučenin způsobujících překryv s cílovými analyty ve výsledném signálu. Toto má negativní vliv na určení správné koncentrace analytu ve vzorku. Zmíněné jevy se nazývají interference. Interference se dělí na spektrální a nespektrální. Na základě zjištění původu těchto dvou druhů interferencí byly v průběhu let vyvinuty metody pro jejich eliminaci [44].

V následujících podkapitolách jsou uvedeny základní informace o spektrálních a nespektrálních interferencích a jsou také zmíněny možnosti jejich eliminace.

2.4.1.1 Spektrální interference

Spektrální interference jsou závažným problémem při analýze vzorků pomocí ICP-MS, neboť způsobují generování vyšší koncentrace analytu, než která je skutečně ve vzorku přítomna. Spektrálními interferencemi se rozumí signály způsobené monoizotopickými či polyatomovými izobarickými ionty [45,46,47].

Monoizotopické interference jsou vyvolány překrývajícími se izotopy minimálně dvou různých prvků, které mají stejnou hodnotu m/z (např. $^{58}\text{Fe}^+$ a $^{58}\text{Ni}^+$). Polyatomické interference vznikají tehdy, kdy dochází ke vzniku molekulárních iontů spojením prvků přítomných v matrici s prvky plazmového plynu [45,48]. Polyatomový iont tedy interferuje s analytem, pokud součet izotopů jednotlivých prvků v polyatomovém iontu je stejný jako u příslušného analytu. Příkladem může být interference iontu $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$ při stanovení chromu při použití izotopu $^{52}\text{Cr}^+$ [46,47].

Monoizotopické interference se dají snadno monitorovat a odstranění jejich výskytu lze vyřešit použitím alternativních izotopů [44,45]. Tento postup je však neuskutečnitelný u těch prvků, které mají pouze jeden izotop (např. As, Co, Mn). V tomto případě je další možností použití matematické korekce, která je výhodná v případě nepříliš silného signálu rušícího izotopu jiného prvku ve srovnání s cílovým analytem [45].

Matematickou korekci lze rovněž aplikovat pro potlačení spektrálních vlivů polyatomických iontů [49], nicméně i zde je korekce méně účinná v případě stanovení velice nízkých koncentrací analytu v přebytku matrice. V určitém smyslu může řešení potlačení spektrálních vlivů nabízet snížení výkonu radiofrekvenčního generátoru plazmy. Bylo zjištěno [45,48], že se v daném případě výrazným způsobem snižuje tvorba některých polyatomických

iontů (ArO^+ , ArC^+). Nicméně vzhledem k nízké teplotě plazmatu je menší pravděpodobnost vzniku iontů u prvků s vysokou ionizační energií (např. As, Se). Tyto prvky se tedy obtížně detekují. Vzhledem k uvedeným problémům byl do rutinní praxe zaveden princip tzv. diskriminace kinetické energie (KED) polyatomických iontů, kdy je nejčastěji do oktapólové cely, která je součástí spektrometru, zaveden kolizní plyn (převážně He). Plyn podstoupí několik srážek s polyatomovými ionty, ale i cílovými analyty. Polyatomové ionty v důsledku své velikosti ztratí velkou část svojí kinetické energie, čímž se zamezí jejich vstupu do hmotnostního analyzátoru a jsou tak stanovovány pouze cílové analyty [45,48]. Pomocí KED je možno odstranit polyatomické interference v širokém rozsahu hodnot (obvykle $m/z = 40-100$) [42].

Další možností pro eliminaci polyatomických interferencí je využití vysokorozlišovacího hmotnostního spektrometru (HR-ICP-MS), který je schopen díky své unikátní konstrukci a možnosti dosažení vysokého rozlišení detekovat a eliminovat spektrální interference. Nevýhodou tohoto postupu je nižší citlivost a přesnost stanovení způsobená pomalejším transportem iontů z ICP do hmotnostního analyzátoru a vysoká pořizovací cena instrumentace [45].

2.4.1.2 Nespektrální interference

Nespektrální interference patří mezi další rušivé vlivy vyskytující se při ICP-MS analýze reálných vzorků. U těchto typů interferencí dochází k zaznamenání vyšší nebo nižší hodnoty koncentrace analytu ve vzorku. Nespektrální interference jsou způsobeny rozdílnými faktory při jednotlivých dějích v průběhu ICP-MS analýzy, tj. od transportu vzorku přes ionizaci analytů až po zastoupení iontů ve výsledném iontovém paprsku [44]. Rozdílnými faktory jsou míněny odlišná složení analyzovaných vzorků ve srovnání s použitým kalibračním roztokem [46].

Nespektrální interference se dělí na reverzibilní (způsobují zesílení či potlačení signálu) a ireverzibilní (způsobují potlačení signálu v důsledku vysokých koncentrací solí usazujících se na vzorkovacím kónusu ICP-MS spektrometru). Zatímco reverzibilní interference trvají pouze při analýze určitého vzorku, ireverzibilní interference způsobují nevratné zkreslení signálu [47]. Dále také negativně ovlivňují funkci přístroje pro zavádění vzorku, neboť na vzorkovacím kónusu (sampleru) dochází k zanášení otvoru vlivem usazování solí [44]. Eliminovat tyto jevy lze do určité míry snížením množství dávkovaného vzorku. Takové řešení

nabízí spojení průtokové injekční analýzy s ICP-MS spektrometrem, kdy se dávkovaná množství vzorku pohybují řádově v μL [40].

Pro korekci reverzibilních nespektrálních interferencí je nejjednodušší metodou přidavek vnitřního porovnávacího prvku, což bývá vhodně zvolený prvek s podobnými vlastnostmi i hmotností jako analyt. Nevýhodou této metody je však v některých případech její neúčinnost, protože i prvek s podobnými vlastnostmi a hmotností jako analyt se v závislosti na matici může chovat různým způsobem. Dalším řešením je použití metody standardního přídatku. Možným způsobem korekce reverzibilního nespektrálního signálu je také ředění vzorku roztokem izotopu analytu. Tento přístup je však zdlouhavý a finančně nákladný. Korekci reverzibilních nespektrálních interferencí je možno provádět také jednoduchou přípravou vzorku, která nahradila dřívější složitější separační metody. Provádí se ředění roztoku vzorku čistou vodou a také úprava či rozklad pomocí rozličných reagentů [40]. Moderní systémy též pro korekci nespektrálních vlivů nabízejí možnosti ředění aerosolu v plynné fázi, kdy je dosaženo zvýšení robustnosti plazmy a efektivnější disociace matrice, což v konečném důsledku umožňuje analýzu vzorků s vysokým obsahem rozpuštěných pevných látek, aniž by bylo vyžadováno specifické ředění původního vzorku [50].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Přehled chemických látek potřebných k analýze

- 65% (m/m) podvarová HNO_3 čistoty p.p. (Penta spol., s.r.o., Chrudim, ČR)
- NH_4F čistoty p.a. (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA)
- 37% (m/m) HCl čistoty p.p. (Fluka)
- Standard Rh \rightarrow koncentrace 1 g L^{-1} (SCP Science Ltd., Kanada)
- Víceprvkové standardy pro ICP-MS
 - Li, B, Be, Al, Ti, V, Cr, Mn, Ni, Co, Cu, Ga, Ge, As, Se, Rb, Rh, Sr, Zr, Mo, Ru, Pd, Ag, Cd, Sn, Sb, Te, Ba, Ta, W, Re, Pt, Hg, Tl, Pb, Bi, Th, Cs, Hf, U \rightarrow koncentrace 1 g L^{-1} (Analytika spol., s.r.o. ČR, nebo SCP Science Ltd., Kanada)
 - La, Ce, Pr, Nd, U \rightarrow koncentrace 100 mg L^{-1} (Analytika spol., s.r.o., ČR)
 - Sc, Y, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu \rightarrow koncentrace 20 mg L^{-1} (Analytika spol., s.r.o., ČR)
 - Na, Mg, K, Zn \rightarrow koncentrace 10 g L^{-1} (Analytika spol., s.r.o., ČR)

3.2 Postupy přípravy zásobních a pracovních roztoků

▪ Víceprvkové zásobní standardy

Víceprvkový zásobní standard A o koncentraci $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ přítomných prvků (Li, B, Be, Al, Ti, V, Cr, Mn, Ni, Co, Cu, Ga, Ge, As, Se, Rb, Sr, Zr, Te, Ba, Ta, W, Re, Mo, Ru, Pd, Ag, Cd, Sn, Sb, Pt, Hg, Tl, Pb, Bi, Th, Cs, Hf, Zn) byl připraven přidáním 2.5 mL standardu o koncentraci 10 mg L^{-1} uvedených prvků do 50 mL odměrné baňky. Před doplněním baňky redestilovanou vodou po rysku byly ionty v roztoku stabilizovány přidávkem 500 μL ultračisté 65% HNO_3 .

Víceprvkový zásobní standard B o koncentraci $500 + 100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ přítomných prvků (La, Ce, Pr, Nd, U, resp. Sc, Y, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu) byl připraven do 50 mL odměrné baňky přidáním 250 μL standardu obsahujícího 100 a 20 mg L^{-1} zmíněných prvků. Před doplněním baňky redestilovanou vodou po rysku byl roztok opět stabilizován přidávkem 500 μL ultračisté 65% HNO_3 .

Roztok zásobního standardu C o koncentraci 50 mg L^{-1} přítomných prvků (Ca, Mg, Fe a Zn) byl připraven do 50 mL odměrné baňky přidáním 250 μL standardu obsahujícího 10 g L^{-1}

daných prvků. Následně byla provedena stejná stabilizace jako u předchozích dvou standardů a doplnění redestilovanou vodou po rysku.

- **Kalibrační standardy pro ICP-MS**

Kalibrační standardy pro ICP-MS byly připraveny ze zmíněných víceprvkových standardů A, B, C tak, aby přítomné prvky v nich byly obsaženy v níže uvedených koncentracích:

- A) 0, 1, 5, 10, 50, 100 $\mu\text{g L}^{-1}$ Li, B, Al, V, Cr, Fe, Ni, Co, As, Se, Rb, Sr, Zr, Mo, Ru, Pd, Cd, Sn, Sb, Cs, Ba, Hf, Re, Pt, Tl, Pb, Bi, Th
- B1) 0.1, 0.5, 1, 5, 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ La, Ce, Pr, Nd, U
- B2) 0.02, 0.1, 0.2, 1, 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ Y, Tb, Ho, Yb, Sm, Eu, Gd, Er, Lu, Dy
- C) 0.5, 1, 5, 10 mg L^{-1} Na, Mg, P, K, Ca, Mn, Cu, Zn

- **Příprava roztoku HNO_3**

Roztok kyseliny dusičné o koncentraci 2 mol L^{-1} byl získán zředěním 69 mL 65% kyseliny dusičné (čistoty p.p.) redestilovanou vodou v odměrné baňce na objem 500 mL a byl použit na vymývání laboratorních nádob, které byly do tohoto roztoku ponořeny po dobu 24 hodin.

- **Příprava roztoku fluoridu amonného**

Pro přípravu mineralizačního činidla obsahujícího 100 g L^{-1} NH_4F bylo do 100 mL odměrné baňky naváženo 10 g NH_4F a baňka byla doplněna po rysku redestilovanou vodou.

- **Příprava pracovního roztoku Rh**

Kvůli potlačení nežádoucích interferenčních jevů při analýze pomocí metody ICP-MS byl použit roztok Rh, které sloužilo jako porovnávací prvek. Roztok byl získán ze standardu Rh o koncentraci 1 g L^{-1} ve dvou krocích. Nejdříve byl připraven roztok o koncentraci 10 mg L^{-1} a ten byl posléze naředěn na požadovanou koncentraci Rh odpovídající 200 $\mu\text{g L}^{-1}$. Do ICP-MS systému byl takto připravený roztok dávkován peristaltickou pumpou ke všem standardům a vzorkům v teflonových nádobách. Po nadávkování bylo provedeno promíchání pomocí směšovací cely f. Agilent.

3.3 Mikrovlnným polem asistovaná extrakce

Vzorky půd byly extrahovány pomocí mikrovlnného mineralizátoru. K extrakci bylo za pomoci analytických vah naváženo cca 250 mg jednotlivých vzorků půd do předem vyčištěných a vysušených PTFE nádob. Posléze bylo do všech nádob přidáno 2.5 mL výše uvedeného roztoku NH_4F , 6 mL 65% HNO_3 a 7 mL 37% HCl . Směs byla ponechána k ustálení a nádoby byly umístěny do mikrovlnné pece, kde proběhla extrakce za podmínek uvedených v tabulce 4.

Po skončení extrakce byly nádoby vyjmuty z mikrovlnné pece a obsah v nich byl zchlazen na laboratorní teplotu. Vzniklé suspenze byly přefiltrovány přes jednorázový membránový filtr značky Whatman s velikostí pórů 0.45 μm . Přefiltrované roztoky byly kvantitativně převedeny do 50 mL odměrné baňky a zředěny redestilovanou vodou po rysku. Výsledné extrakty byly poté přidány do PE zkumavek a uchovány v mrazničce až do samotné analýzy.

Tabulka 4: Reakční podmínky extrakce vzorků půd

Krok	Teplota [°C]	Tlak [bar]	Nárůst (min)	Držení (min)	Výkon [%]
1	170	< 10	5	35	70
3–5	50	< 10	1	5	0

3.4 Laboratorní pomůcky

- Skleněné laboratorní nádoby – odměrné baňky, nálevky (SIMAX, ČR)
- Plastové laboratorní nádoby (Vitrum spol., ČR)
- PE nádobky na uskladnění výsledného extraktu pro analýzu (Jet Biofil)
- Injekční stříkačky (Fisher Scientific) s jednorázovými membránovými filtry značky Whatman o velikosti pórů 0.45 μm
- Analytické váhy (RADWAG, Polsko)
- Automatické mikropipety (Biohit Inc., Německo)
- Přístroj na přípravu ultračisté vody (Millipore, Bedford, USA)

3.5 Zařízení pro mikrovlnnou extrakci a ICP-MS analýzu

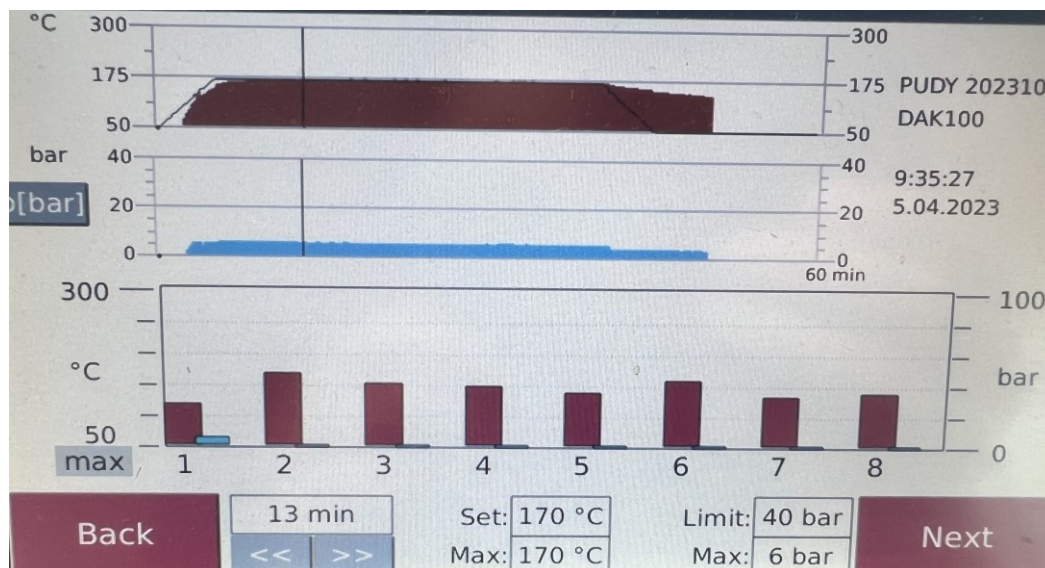
3.5.1 Mikrovlnná pec

Mikrovlnným polem asistovaná extrakce byla provedena v mikrovlnné peci Speedwave Xpert (Obrázek 2) s maximálním výkonem 2000 W. Takto vysoký výkon umožňuje přístroji rozkládat i vzorky se složitými maticemi za vyšších tlaků a teplot (až 150 barů a 300 °C). Další výhodou tohoto přístroje je možnost simultánní přípravy až 8 vzorků. Příprava vzorku se provádí v PTFE nádobách, které se volí z důvodu jejich vysoké životnosti a malé reaktivity [51].

Mikrovlnná pec je ovládána pomocí tabletu či mobilního telefonu. Na těchto zařízeních jsou nastaveny reakční podmínky. Teplotu i tlak je nutné kontrolovat po celou dobu analýzy, k čemuž slouží čidla zabudovaná v přístroji. IR spektrometrické čidlo umožňuje nepřetržité měření teploty v průběhu celého rozkladu bezkontaktním způsobem. Bezkontaktně je měřen i tlak pomocí součástky vyrobené ze speciálního skla, jež je lokalizována v uzávěru teflonové nádoby. Měření tlaku je založeno na tom, že uzávěrem nádoby prochází polarizované světlo a daná součástka ze speciálního skla jeho polarizaci mění [51]. Záznam průběhu teploty a tlaku je znázorněn níže na obrázku 3.



Obrázek 2: Mikrovlnná pec Speedwave Xpert [52]



Obrázek 3: Záznam průběhu reakčních podmínek v mikrovlnné peci Speedwave Xpert

3.5.2 ICP-MS spektrometr

Víceprvková analýza vzorků metodou ICP-MS byla provedena prostřednictvím spektrometru Agilent 7900 s kvadrupólovým analyzátozem iontů (Obrázek 4). Do tohoto systému jsou vzorky, standardy i roztok porovnávacího prvku nasávány tříkanálovou peristaltickou pumpou a poté jsou zmlženy pomocí skleněného koncentrického zmlžovače MicroMist. Roztok porovnávacího prvku je současně nasáván a smíchán se vzorky pomocí speciální směšovací cely [53,54]. K atomizaci a ionizaci slouží křemenný hořák s vnitřním průměrem injektorové trubice 2.5 mm.

Přístroj je vybaven oktapólovou kolizně reakční celou (Octopole Reaction System – ORS). Tato cela slouží k eliminaci polyatomických interferencí pomocí diskriminace kinetické energie (KED) v heliovém kolizním režimu (He mode). Při analýze byly pomocí softwaru ICP-MS MassHunter automaticky naladěny pracovní parametry režimu cely „bez plynu“ během spouštěcí sekvence. Parametry heliového ("He") a vysokoenergetického heliového režimu ("HE He") byly naopak nastaveny ručně. Pro přechod mezi jednotlivými režimy bylo potřeba 5 sekund [53,54]. Režim „bez plynu“ byl využit pro analýzu prvků bez spektrálních interferencí, režim „He“ posloužil k odstranění spektrální interferencí při analýze Na, Al, P, K, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu a vysokoenergetický režim „HE He“ byl využit pro analýzu Al, P, V, Co.

Spektrometr Agilent 7900 je vysoce výkonný přístroj se širokým dynamickým rozsahem dosahujícím až 11 řádů. Je tak možno analyzovat ultrastopové prvky (v řádu ppt) a i majoritní prvky (v řádu procent) [52].

Pro dosažení nejvyšší citlivosti přístroje byly pracovní podmínky optimalizovány prostřednictvím víceprvkového kalibračního roztoku při každé spouštěcí sekvenci. Z kalibračních křivek byly poté vyhodnoceny koncentrace analyzovaných prvků s koeficienty determinace lepšími než 0,999.



Obrázek 4: Q-ICP-MS spektrometr Agilent 7900 [52]

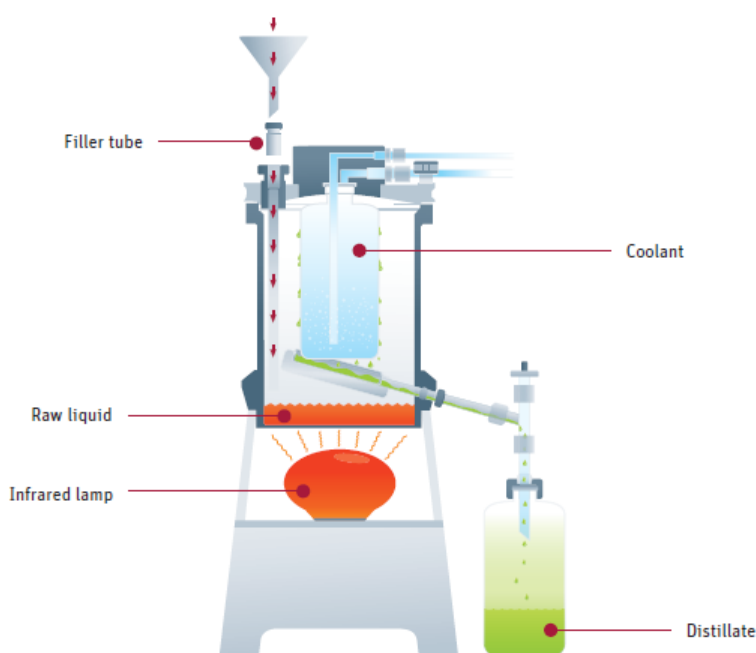
Tabulka 5: Parametry nastavení přístroje Q-ICP-MS Agilent 7900

Parameter	Setting		
ICP			
Rf power (27 MHz) (W)	1550		
Sampling depth (mm)	10		
Plasma gas flow (L min ⁻¹)	15		
Auxiliary gas flow (L min ⁻¹)	0.9		
Nebulizer gas flow (L min ⁻¹)	1.05		
Nebulizer pump (rps)	0.1		
Spray chambre temperature (°C)	2		
Mass spectrometer	No gas mode	He mode	HEHe mode ^a
Extract 1 (V)		0	
Extract 2 (V)	-230	-215	-225
Omega bias (V)	-80	-100	-100
Omega lens (V)	11.5	10	10.8
Cell entrance	-30	-40	-140
Cell exit	-50	-60	-150
Deflect (V)	14,2	1.6	-60
Plate bias	-35	-60	-150
Helium flow (mL min ⁻¹)	0	6	10
OctP bias	-8	-18	-100
OctP RF	170	200	200
Energy discrimination (V)	5	5	9
Number of elements	37 ^b	10 ^c	2 ^d
Acquisition			
Points per peak	1		
Replicates	3		
Sweeps/replicate	100		
Total acquisition time (s)	70		

^a "HEHe" mód – mód využívající vysokoenergetického helia; Sledované izotopy (integrační čas): ^b ⁷Li, ⁹Be ¹¹B, ²⁴Mg, ²⁷Al, ³¹P, ⁶⁶Zn, ⁸⁵Rb, ⁸⁸Sr, ⁸⁹Y, ⁹⁵Mo, ¹¹¹Cd, ¹¹⁸Sn, ¹²¹Sb, ¹³³Cs, ¹³⁸Ba, ¹³⁹La, ¹⁴⁰Ce, ¹⁴¹Pr, ¹⁴⁶Nd, ¹⁴⁹Sm, ¹⁵³Eu, ¹⁵⁷Gd, ¹⁵⁹Tb, ¹⁶³Dy, ¹⁶⁵Ho, ¹⁶⁶Er, ¹⁷²Yb, ¹⁷⁵Lu, ¹⁷⁸Hf, ¹⁸²W, ²⁰⁵Tl, ²⁰⁶⁺²⁰⁷⁺²⁰⁸Pb, ²⁰⁹Bi, ²³²Th, ²³⁸U, ¹⁰³Rh (all 0.1 s); ^c ²³Na, ³⁹K, (both 0.3 s), ⁵¹V (1 s), ⁵²Cr, ⁵⁵Mn, ⁵⁶Fe, ⁵⁹Co, ⁶⁰Ni, ⁶³Cu, ¹⁰³Rh (all 0.3 s); ^d ⁷⁵As, ⁷⁸Se (both 1 s), ¹⁰³Rh (0.3 s).

3.5.3 Destilační zařízení pro přípravu ultračistých chemikálií

Ke stanovení ultrastopového množství prvků pomocí ICP-MS jsou zapotřebí kyseliny ve vysoké čistotě. Tyto kyseliny byly připraveny pomocí destilačního přístroje BSB 939IR (Berghof, Německo). Toto zařízení sestává ze tří částí: infračervené lampy, PTFE nádoby s odpařovací komorou a chladiče vyrobeného z PFA polymeru. K přístroji je také napojena PFA lahev, kde je shromažďován vzniklý destilát (Obrázek 5). Destilace je iniciována pomocí infračervené lampy, která zprostředkovává bezkontaktní ohřev, díky čemuž je garantováno minimální riziko kontaminace [55].



Obrázek 5: Podvarové destilační zařízení značky BSB 939 IR [55]

3.6 Ověření kvality naměřených hodnot

Validace analytické metody byla realizována pomocí certifikovaných referenčních materiálů: NIST SRM 2702 Marine Sediment (National Institute of Standards and Technology, NIST, Gaithersburg, USA) a NIST SRM 1633b Coal Fly Ash (NIST, Gaithersburg, USA).

3.7 Programy pro zpracování dat

Získaná data byla analyzována pomocí programu Statistica 14 (TIBCO Software Inc.) a Matlab 2022a (The MathWorks Inc). Použita byla dále sada aplikací Microsoft Office 365.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Návrh experimentu MAE půd

Cílem tohoto experimentu bylo pozorovat vliv vybraných extrakčních činidel (H_2O , HNO_3 , HCl , NH_4F) na účinnost extrakce vybraných prvků v CRM půdy NIST2702 a najít pro tuto práci přijatelnou kombinaci činidel a optimalizovat jejich množství spolu s reakčními podmínkami (teplota, doba extrakce).

Jak bylo zmíněno v teoretické části této práce, pro rozklad vzorků půd se dříve využívala časově náročná (cca 16 hodin) extrakce pomocí směsi HCl a HNO_3 (3:1, v/v) podle normy ISO 11466 (Soil quality – Extraction of trace elements soluble in aqua regia) [56] probíhající pod refluxem. Tato extrakce byla z uvedených důvodů nahrazena extrakcí probíhající v mikrovlnné peci podle normy ISO 12914 (Soil quality – Microwave-assisted extraction of the aqua regia soluble fraction for the determination of elements) [57]. Ani tato extrakce však není dostatečná vzhledem k tomu, že vzorky půd obsahují prvky vázané v alumino-silikátové matici, které při použití směsi HCl a HNO_3 nejsou z této matrice kvantitativně extrahovány. Nedochozí tak k úplnému rozkladu a analytické výsledky jsou nepřesné. Účinným řešením se ukázalo být přidání HF . Její použití je však v dnešní době v rozporu s trendy zelené chemie. Jak je patrné z literatury [29,30,34], HF může být úspěšně nahrazena jinými činidly obsahujícími fluor. Nicméně v současné době neexistuje jeden doporučený postup pro takovou náhradu u příprav vzorků půd a dalších geologických materiálů.

Cílem této studie tak tedy byla optimalizace postupu extrakce v mikrovlnném zařízení garantující kvantitativní výsledky stanovení co největšího množství prvků při zajištění vysokého analytického výkonu s použitím relativně šetrných reakčních činidel. Mimoto byla volba činidel pro extrakci zvolena s ohledem na vhodnost pro následující spektrální analýzu. Negativa spojená s použitím HF s ohledem na analytickou instrumentaci byla diskutována v teoretické části práce. Dopady korozivních účinků kyseliny fluorovodíkové na skleněné a křemenné komponenty ICP-MS instrumentace jsou v praxi eliminovány přidávkem kyseliny borité, což však znemožňuje současné stanovení boru ve vzorku. Volbou NH_4F se předejde těmto negativním dopadům, protože NH_4F nemá korozivní účinky a není zapotřebí ze vzorku odstranit jeho přebytek. NH_4F je také snadno dostupný v čistotě traceSELECT, která se hodí pro ultrastopovou analýzu. Jak již bylo uvedeno v kapitole 2.2.2.1, s použitím NH_4F se netvoří ve větší míře nerozpustné ani těkavé fluoridy. Produktem reakce jsou obvykle dobře rozpustné fluorokomplexy a nedochází tak ke ztrátám analytu [11,36].

K vlastní optimalizaci mikrovlnným polem asistované extrakce byl použit certifikovaný referenční materiál NIST 2702 Inorganic in Marine Sediment se známým elementárním složením, podle něhož bylo následně možné zjistit správnost získaných analytických výsledků. Cílem optimalizace bylo identifikovat faktory významně se podílejících na extrakci a určit úrovně jejich nastavení. Mezi tyto faktory patří reakční činidla, konkrétně 65% (m/m) HNO₃, 37% (m/m) HCl a NH₄F o koncentraci 100 g L⁻¹. Dalšími sledovanými faktory byly teplota extrakce a doba trvání daného procesu. Extrahovalo se vždy 250 mg vzorku podle podmínek uvedených v kapitole 3.3 a tabulce 4. Detaily nastavení úrovní jednotlivých faktorů shrnuje tabulka 6.

Tabulka 6: Nastavení faktorů a jejich úrovní pro MAE optimalizaci

Označení faktoru	Faktor	Jednotky	Dolní mez	Centrální bod	Horní mez
F1	HNO ₃	mL	0	3.5	7
F2	HCl	mL	0	3.5	7
F3	NH ₄ F	mL	0	1.5	3
F4	Teplota	°C	160	180	200
F5	Čas	min	10	30	50

Návrh experimentu byl proveden metodou frakcionálního faktorového plánování (FRFD). Tato metoda byla vybrána díky své časové nenáročnosti a mimořádně výkonnosti. Je zde možné určit výše uvedené faktory a úrovně jejich nastavení jednodušším způsobem než při plném faktorovém plánování (FFD) [14].

Při FFD plánování by totiž pro sledování 5 faktorů na dvou úrovních (2⁵) bylo potřeba provést 32, respektive 64 experimentů za dvojího opakování (n = 2). Jak je uvedeno v tabulce 7, se zavedením FRFD plánování s jedním centrálním bodem došlo k redukci počtu experimentů ze 64 na 18. Dalším přínosem je, že začlenění jednoho centrálního bodu umožňuje zaznamenat kvadratickou závislost odezvy na faktorů. Jedinou nevýhodou zavedení FRFD plánování je ztráta dat a informací o interakcích vyšších řádů, avšak pro praktické účely toto není zpravidla důležité.

Tabulka 7: Srovnání úplného dvou úrovnového a zkráceného faktorového plánu

Plán	Počet faktorů	Počet úrovní	Centrální bod	Počet opakování (n)	Počet experimentů
FFD	5	2	0	2	$2^5 \times 2 = 64$
FRFD	5	2	1	2	$(2^{5-2} + 1) \times 2 = 18$

FFD a FRFD – plný, resp. zkrácený faktorový plán

Vlastní FRFD 2^{k-p} plán, kde číslo **2** vyjadřuje počet úrovní, písmeno **k** počet faktorů a **p** frakci, o kterou je plný faktorový plán zredukován [14], byl vytvořen v programu Statistica 14. Schéma tohoto plánu je uvedeno v tabulce 8.

Ve zmíněné tabulce jsou udány určité kombinace a úrovně nastavení jednotlivých faktorů. V FRFD plánu jsou začleněny kombinace faktorů, jako je typ a množství použitých činidel, teplota a čas v náhodné posloupnosti opakování jednotlivých experimentů. U některých experimentů je objem reakčních činidel roven nule, tzn. že v tomto případě byla místo daného činidla přidána redestilovaná voda. Jednotlivé extrakce byly ve shodě s níže uvedeným schématem provedeny podle údajů popsaných v kapitole 3.3.

Naměřené hodnoty koncentrace vybraných prvků (Li, Be, Na, Mg, Al, P, K, V, Cr, Fe, Mn, Ni, Co, Cu, Zn, Rb, Sr, Sn, Sb, Cs, Ba, La, Ce, Sm, W, Tl, Pb, Th, U) byly z důvodu větší přehlednosti přepočteny na hodnoty analytických návratností (tabulka 9). Pomocí hodnot analytických návratností je zřejmé, jaká panuje shoda mezi naměřenými a deklarovanými hodnotami. Zkrácený přehled těchto hodnot je uveden v tabulce 9.

Tabulka 8: Schéma FRFD^a plánu optimalizace MAE vytvořeného v programu Statistica

Číslo pokusu	Replika	CB	HNO ₃	HCl	NH ₄ F	TEPLOTA	ČAS
17	2	1	7,0	7,0	3,0	200	50
7	1	1	0,0	7,0	3,0	160	10
16	2	1	0,0	7,0	3,0	160	10
12	2	1	0,0	7,0	0,0	160	50
8	1	1	7,0	7,0	3,0	200	50
13	2	1	7,0	7,0	0,0	200	10
15	2	1	7,0	0,0	3,0	160	50
4	1	1	7,0	7,0	0,0	200	10
14	2	1	0,0	0,0	3,0	200	10
11	2	1	7,0	0,0	0,0	160	10
10	2	1	0,0	0,0	0,0	200	50
9 (C)	1	0	3,5	3,5	1,5	180	30
2	1	1	7,0	0,0	0,0	160	10
1	1	1	0,0	0,0	0,0	200	50
18 (C)	2	0	3,5	3,5	1,5	180	30
3	1	1	0,0	7,0	0,0	160	50
5	1	1	0,0	0,0	3,0	200	10
6	1	1	7,0	0,0	3,0	160	50

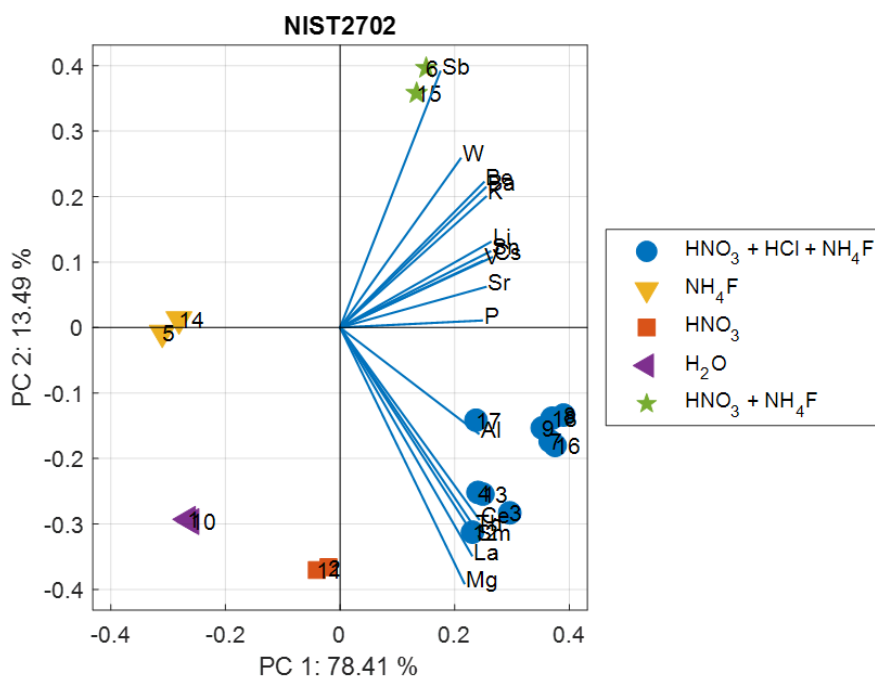
^a Návrh: $2^{5-2} + 1$ centrální bod (CB), n = 2

Tabulka 9: Analytické návratnosti (%) vybraných prvků pro MAE SRM NIST2702

Pokus	K	V	Cr	Fe	Mn	...	Sr	Sn	Sb	Cs	Ba
17	67.1	71.3	69.2	73.2	71.3	...	76.9	79.7	75.6	81.2	83.2
7	76.8	86.8	81.6	82.5	83.4	...	93.6	96.1	76.0	99.0	99.8
16	82.7	87.7	83.2	87.0	86.8	...	92.8	97.2	55.6	98.0	100.5
12	55.0	87.1	83.6	86.6	90.2	...	70.8	93.5	10.0	84.9	55.5
8	82.8	87.5	84.9	89.9	87.3	...	94.7	99.2	86.9	99.1	101.7
13	66.0	86.5	83.0	91.0	89.7	...	70.6	95.1	72.7	92.2	71.6
15	72.8	89.6	85.2	90.4	90.3	...	81.2	93.6	90.9	89.9	95.7
4	59.9	84.0	81.3	88.6	87.8	...	67.7	95.0	73.1	88.7	64.4
14	6.3	27.2	5.1	0.0	1.3	...	1.7	0.0	30.4	7.1	0.2
11	15.9	68.7	73.0	81.9	92.1	...	41.4	30.7	2.1	43.9	19.7
10	9.8	0.8	6.5	2.0	80.5	...	39.8	0.0	0.4	2.0	6.7
9	90.1	92.2	87.9	94.1	93.4	...	92.1	93.4	82.2	98.1	94.7
2	18.5	68.3	74.3	81.5	90.0	...	42.5	39.0	1.7	48.2	22.6
1	11.0	1.0	4.4	1.2	80.3	...	40.5	0.4	1.1	3.9	5.0
18	87.1	90.1	86.4	91.4	92.2	...	93.5	95.4	90.6	98.5	96.4
3	74.6	90.2	87.0	92.5	92.5	...	77.3	95.3	16.1	94.5	76.9
5	7.9	18.1	3.5	0.2	2.9	...	1.6	4.3	39.1	8.6	0.4
6	86.3	90.4	84.2	91.0	91.4	...	80.2	93.1	90.2	92.8	96.2

4.2 Využití metody PCA pro klasifikaci extrakčních činidel

Hodnoty analytických návratností (tabulka 9) získané pomocí výše uvedeného experimentu byly poté analyzovány pomocí metody analýzy hlavních komponent (PCA). Metodou PCA bylo možné provést projekci původního 29 rozměrného prostoru do nižší 2D dimenze a prozkoumat podrobněji strukturu zdrojové matice dat. Podle dvojného diagramu komponentních vah a komponentních skóre (obr. 6) vysvětlují první a druhá hlavní komponenta (PC1 a PC2) 78.41, resp. 13.49 % a tedy dohromady téměř 92 % variability původních zdrojových dat. Pro sestrojení PC1 mají srovnatelný vliv veškeré prvky uvedené ve dvojném diagramu komponentních vah na obr. 6, resp. 7. Pro konstrukci PC2 mají nejvyšší vliv prvky jako Sb, W, Mg a některé lanthanoidy.

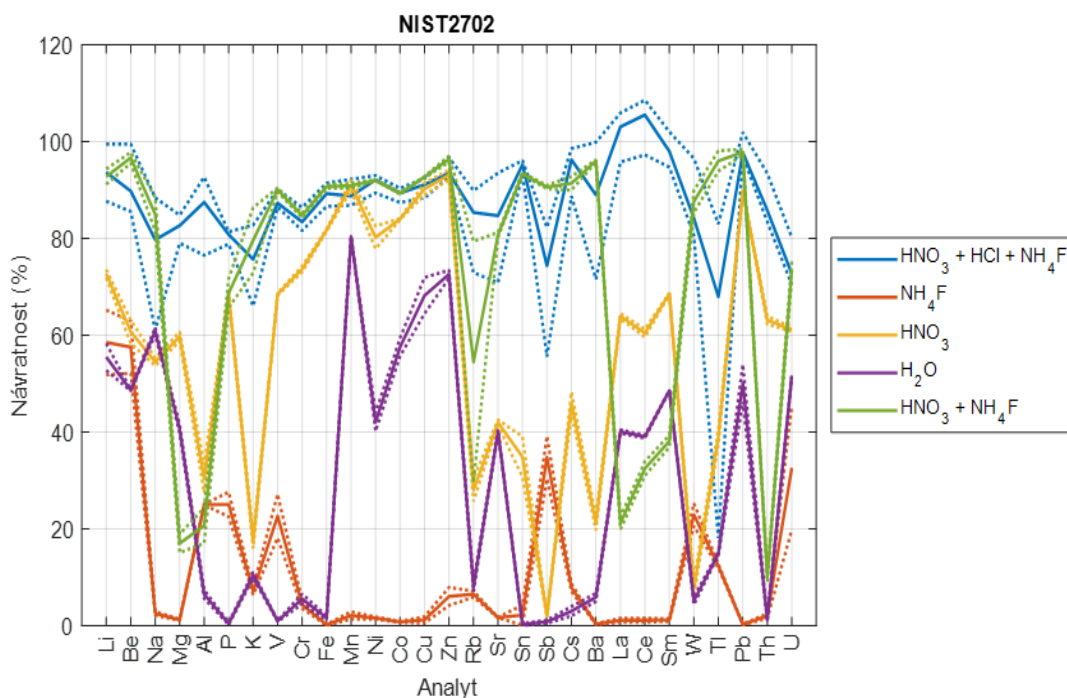


Obrázek 6: Dvojný graf komponentních vah a skóre pro aplikaci MAE pro CRM NIST2702

Ve dvojném diagramu (obr. 6) jsou jednotlivé experimenty klasifikovány na základě aplikace různých extrakčních činidel. Jsou zde uvedeny výsledky extrakce za použití H_2O , HNO_3 , NH_4F , směsí $\text{HNO}_3 + \text{NH}_4\text{F}$ a $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{NH}_4\text{F}$.

(Li, Be, Na, P, K, V, Cr, Fe, Mn, Ni, Co, Cu, Zn, Rb, Sr, Sn, Sb, Cs, Ba, La, Ce, Sm, W, Tl, Pb, U).

Na obr. 6 je toto patrné zvláště u experimentů č. 6 a 15 označených zelenou hvězdou, pomocí které jsou vyjádřeny výsledky extrakce pomocí směsi $\text{HNO}_3 + \text{NH}_4\text{F}$. V diagramu je vidět pozitivní korelace pro Sb s 1. i 2. hlavní komponentou. Pro uvedené vzorky a zmíněny analyt tak bylo dosaženo nejlepších analytických výsledků. U celé řady prvků (Li, Be, Na, K, V, Cr, Fe, Mn, Ni, Co, Cu, Zn, Sr, Sn, Cs, W, Pb, U) tento postup zajišťuje výsledky podobné podmínkám se směsí činidel $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{NH}_4\text{F}$. Nicméně např. pro Al, Rb, La, či Ce se ukazuje přídavek HCl jako klíčový. V některých případech (u prvků Sb a Tl) však po přidavku HCl dochází ke snížení účinnosti extrakce (viz obr. 8) patrně důsledkem tvorby příslušných nerozpustných chloridů.



Obrázek 8: Diagram mediánů (plná čára) a dolního a horního kvartilu (čerchovaná čára) standardizovaných dat koncentrací vybraných prvků v extraktech

Z obrázku 6 je ale zřejmé, že pro většinu analyzovaných vzorků nacházejících se ve dvojném diagramu v modrém shluku, značící extrakci pomocí směsi $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{NH}_4\text{F}$, bylo dosaženo nejlepších výsledků. Z diagramu je také zřejmá korelace mezi těmito vzorky a koncentracemi Al, Mg a některých lanthanoidů. Dále je patrné z obr. 8, že kromě těchto analytů

byly i pro ostatní prvky za použití směsi $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{NH}_4\text{F}$ získány příznivé hodnoty analytických návratností. Bylo tak dosaženo dobré shody mezi naměřenými hodnotami u jednotlivých vzorků a deklaroványmi hodnotami testovaného CRM. Hodnoty analytických návratností se pohybovaly okolo hodnot větších než 80 %. Do toho byly zahrnuty výsledky všech různých experimentů, tzn. i takových, při kterých nebyly podmínky optimální. U některých prvků, zvláště Tl, Sb, Na, Sr či Ba, byly výsledky významně závislé na množství přidaných extrakčních činidel nebo reakčních podmínek. Interkvartilové rozpětí je zřejmé z obrázku 8, a to z polohy pásů dolního a horního kvartilu. Proto bylo potřebné optimalizovat množství reagensů, které bylo třeba při experimentu dodržet.

4.3 Nalezení důležitých faktorů a nastavení jejich úrovní

Vliv jednotlivých faktorů a jejich efektů na stanovení prvků byl vyhodnocen pomocí analýzy rozptylu (ANOVA). Výsledky této analýzy jsou v zestručněné formě uvedeny v tabulce 10. Z důvodu testování velkého množství prvků (29) zde nejsou uvedeny všechny informace, které by zahrnovaly obsáhlé výstupy.

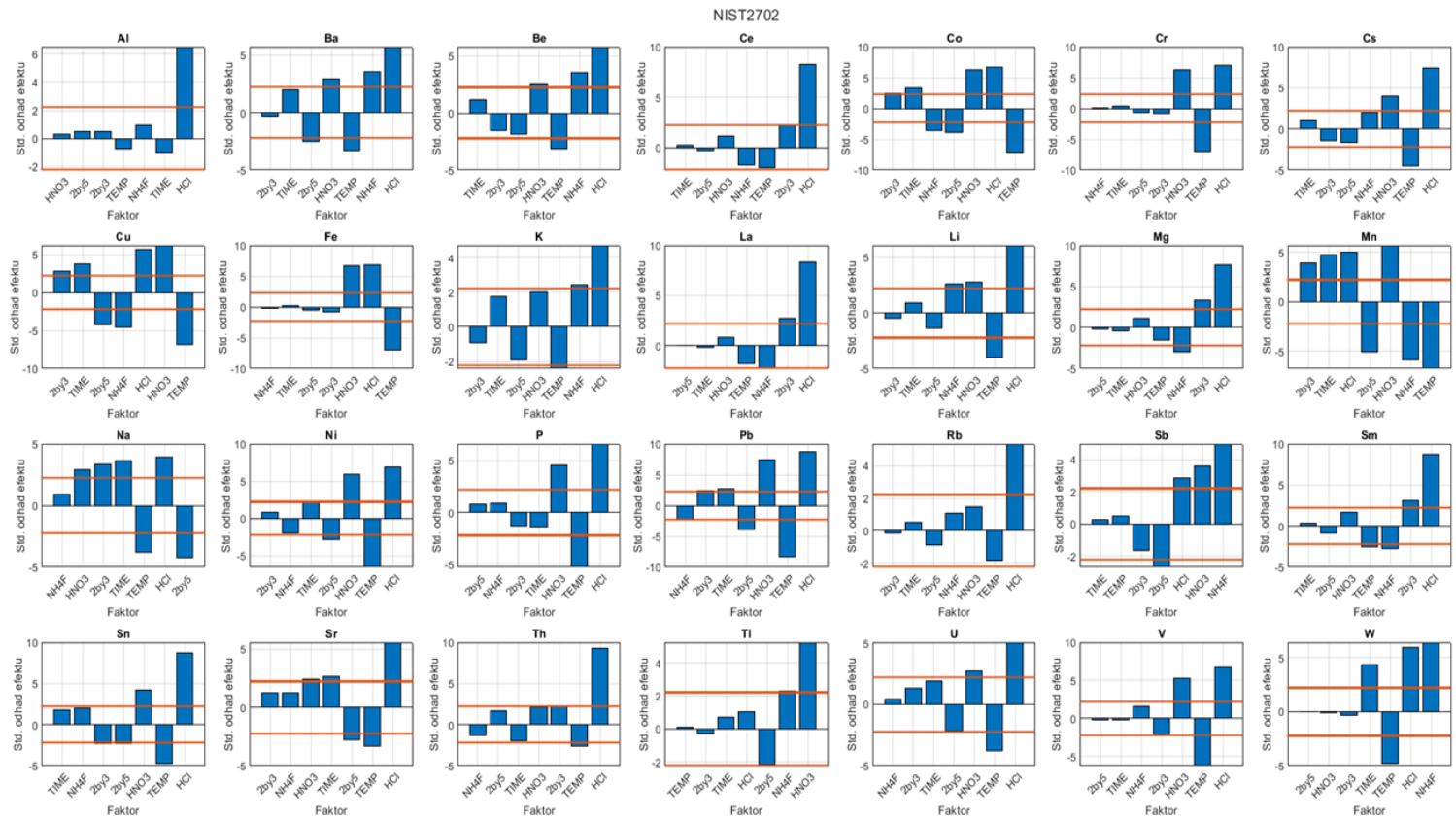
Vliv faktorů a jejich efektů v grafické podobě je znázorněn na obrázku 9. Z něho je patrné, že faktory vyobrazené jako sloupce překračující vodorovnou červenou čáru, která značí hladinu významnosti 0.05, jsou statisticky významné. Efekty s kladnými hodnotami vyjadřují, že se se zvětšující hodnotou úrovně nastavení faktoru zvětšuje i hodnota závisle proměnné, tzn. hodnota výtěžnosti extrakce. U efektů se zápornými hodnotami naopak hodnota výtěžnosti klesá při zvětšující se hodnotě úrovně nastavení faktoru. Shrnutí přínosu jednotlivých faktorů na výtěžnost prvků je uvedeno v tabulce 10. Je vidět, že najít optimální podmínky pro experiment studující odezvu různých prvků není jednoduché.

Cílem identifikace významných faktorů a úrovně jejich nastavení bylo najít optimální podmínky pro všechny prvky. Proto byly pro toto studium zkonstruovány diagramy profilů pro předpovědi a vhodnost (obrázky 10,11). Zjistilo se, že vyšší teplota extrakce nepůsobí na vybrané prvky negativně, neboť hodnoty analytických návratností se pohybují v intervalu tolerance (modře vyznačený interval).

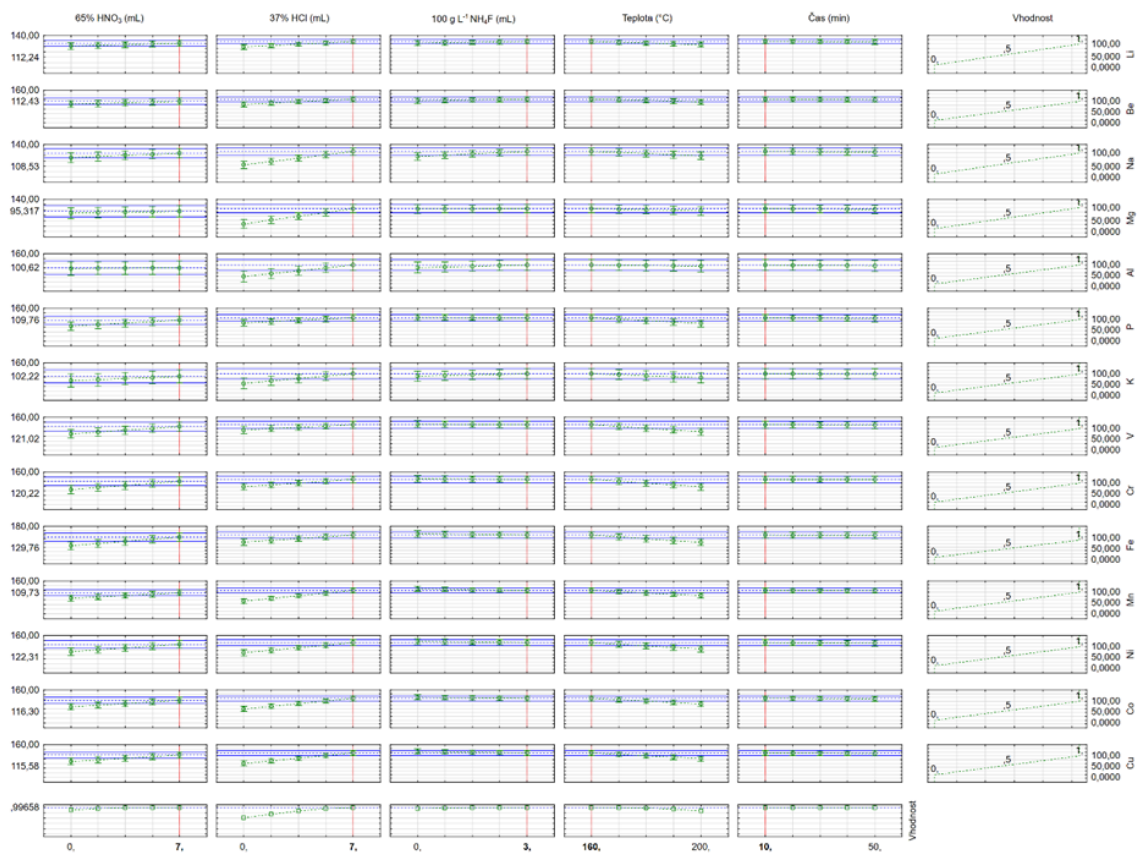
Tabulka 10: Shrnutí významnosti faktorů a jejich efektů na účinnost MAE vybraných efektů

Analyt	Faktor 1	Faktor 2	Faktor 3	Faktor 4	Faktor 5	Interakce
	HNO ₃	HCl	NH ₄ F	Teplota	Čas	
Li	+	+	+	-	<i>n</i>	<i>n</i>
Be	+	+	+	-	<i>n</i>	<i>n</i>
Na	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	+F2F3, -F2F5
Mg	<i>n</i>	+	-	<i>n</i>	<i>n</i>	+F2F3
Al	<i>n</i>	+	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>
P	+	+	<i>n</i>	-	<i>n</i>	<i>n</i>
K	+	<i>n</i>	+	-	<i>n</i>	<i>n</i>
V	+	+	<i>n</i>	-	<i>n</i>	<i>n</i>
Cr	+	+	<i>n</i>	-	<i>n</i>	<i>n</i>
Fe	+	+	<i>n</i>	-	<i>n</i>	<i>n</i>
Mn	+	+	-	-	+	+F2F3, -F2F5
Ni	+	+	<i>n</i>	-	<i>n</i>	-F2F5
Co	+	+	-	-	<i>n</i>	+F2F3, -F2F5
Cu	+	+	-	-	<i>n</i>	+F2F3, -F2F5
Zn	+	+	-	-	<i>n</i>	+F2F3, -F2F5
Rb	<i>n</i>	+	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>
Sr	<i>n</i>	+	<i>n</i>	-	<i>n</i>	-F2F5
Sn	+	+	<i>n</i>	-	<i>n</i>	-F2F5, -F2F3
Sb	+	+	+	<i>n</i>	<i>n</i>	-F2F5
Cs	+	+	<i>n</i>	-	<i>n</i>	<i>n</i>
Ba	+	+	+	-	<i>n</i>	-F2F5
La	<i>n</i>	+	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	+F2F3,
Ce	<i>n</i>	+	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	+F2F3,
Sm	<i>n</i>	+	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	+F2F3,
W	<i>n</i>	+	+	-	++	<i>n</i>
Tl	+	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>	<i>n</i>
Pb	+	+	<i>n</i>	-	<i>n</i>	+F2F3, -F2F5
Th	<i>n</i>	+	<i>n</i>	-	<i>n</i>	+F2F3
U	+	+	<i>n</i>	-	<i>n</i>	<i>n</i>

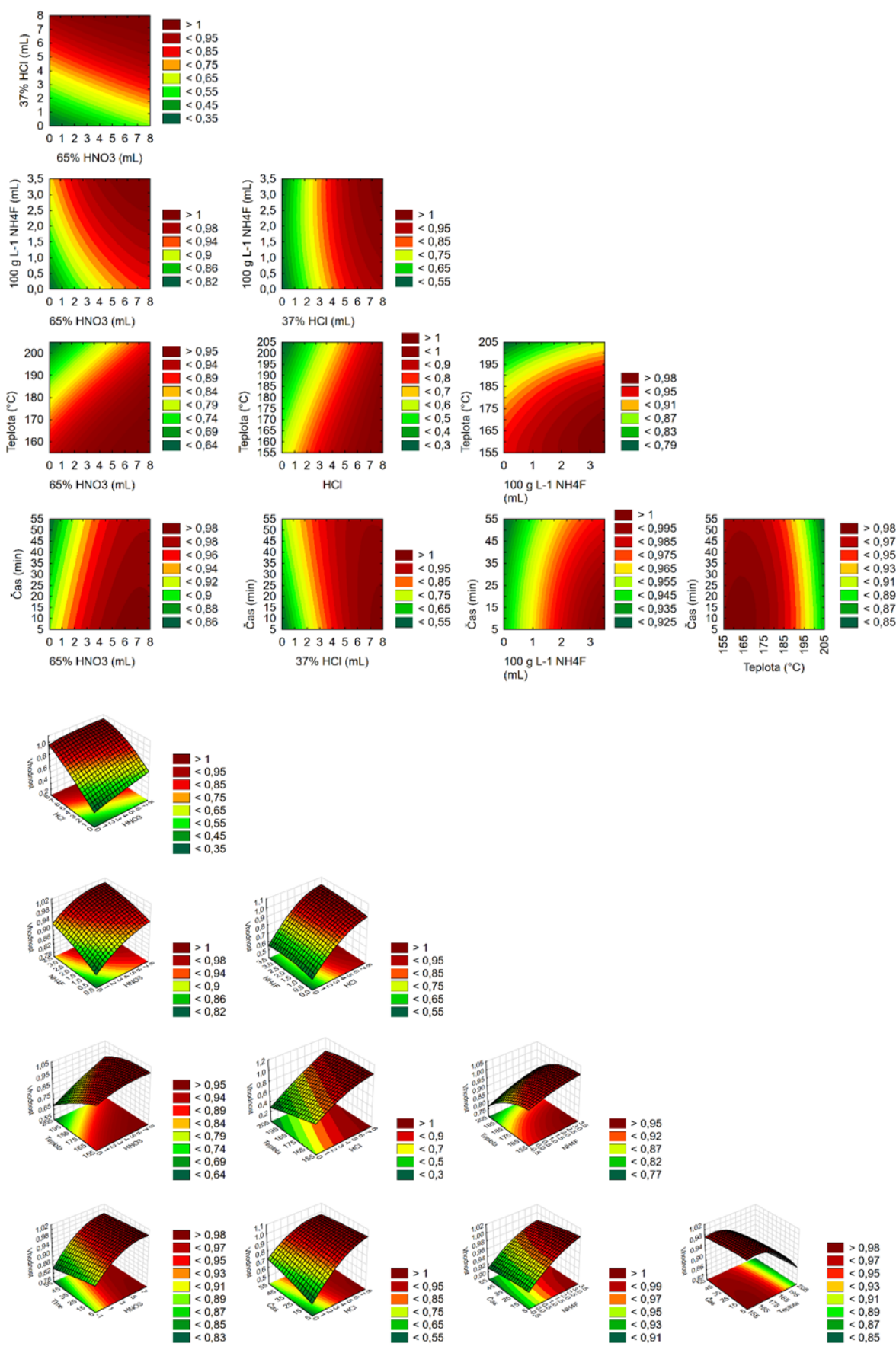
n nevýznamný faktor či interakce, +/- pozitivní, resp. negativní vliv efektu daného faktoru



Obrázek 9: Diagramy efektů jednotlivých faktorů a jejich interakcí



Obrázek 10: Profily pro předpovědi a vhodnost MAE extrakce CRM NIST2702



Obrázek 11: Vhodnostní povrch/vrstevnice MAE extrakce CRM NIST2702

S využitím výše uvedených grafických diagnostik byly pro extrakci půd jako optimální zvoleny následující podmínky: 6 mL 65% HNO₃, 7 mL 37% HCl a 2.5 mL NH₄F o koncentraci 100 g L⁻¹. Optimální doba extrakce a teplota pak byly 35 min, resp. 170 °C. Experiment byl proveden s konstantní navázkou 250 mg.

4.4 Validace optimalizovaného analytického postupu

Pravdivost a preciznost naměřených hodnot byla zjištěna analýzou komerčně dostupných CRM NIST 2702 Marine Sediment a NIST SRM 1633b Coal Fly Ash. Pravdivost vyjadřuje, jak se naměřené hodnoty liší od skutečných hodnot (hodnoty deklarované výrobcem CRM). Preciznost vyjadřuje těsnost souhlasu mezi jednotlivými měřeními.

Preciznost byla zjištěna za podmínek opakovatelnosti ze tří na sobě nezávislých měření CRM provedených během jednoho dne a také během jednoho měsíce. Těsnost souhlasu získaných výsledků byla vyjádřena pomocí relativní směrodatné odchylky jednotlivě pro tato dvě časová období (v %).

Pro zjištění pravdivosti stanovení byl výsledek z naměřených hodnot udán ve formě střední hodnoty, která byla porovnávána s deklarovanou hodnotou, z čehož byla vypočítána analytická návratnost. Nalezené hodnoty byly rovněž opatřeny intervalem spolehlivosti charakterizujícím rozšířenou nejistotu výsledků. Naměřené a deklarované hodnoty 42 analyzovaných prvků (Li, Be, Na, Mg, Al, P, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Rb, Sr, Mo, Cd, Sn, Sb, Cs, Ba, La, Ce, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Yb, Lu, Hf, W, Tl, Pb, Th, U) ve dvou výše zmíněných CRM jsou uvedeny v tabulce 11. Získané výsledky se od deklarovaných v zásadě příliš nelišily. Hodnoty analytických návratností se pohybovaly v rozmezí 81–111 %.

Kromě analytické návratnosti byla vypočítána také již zmíněná opakovatelnost měření vyjádřená pomocí RSD. Z výsledků v tabulce 11 je patrné, že analytická metoda byla spolehlivá, neboť hodnoty u stanovení jednotlivých prvků byly nízké (většinou do 10 %).

Tabulka 11: Výsledky prvkové analýzy (mg kg⁻¹) vybraných CRM

Prvek	CRM	Uvedeno	Nalezeno ^a	R ^b , %	RSD (%)	
					c	d
Li	NIST SRM 2702 Marine Sediment	78.2	73.6 ± 1.7	94	1.13	1.01
Be	NIST SRM 2702 Marine Sediment	3	3 ± 0.1	100	2.01	1.36
Na	NIST SRM 2702 Marine Sediment	6810 ± 200	5777 ± 86	85	0.74	1.59
Mg	NIST SRM 2702 Marine Sediment	9900 ± 740	10075 ± 353	102	1.75	2.21
Al	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	150500 ± 2700	124033 ± 17682	83	7.13	5.56
P	NIST SRM 2702 Marine Sediment	1552 ± 66	1560 ± 29	100	0.94	4.02
K	NIST SRM 2702 Marine Sediment	20540 ± 720	17222 ± 762	84	2.21	4.64
Ca	NIST SRM 2702 Marine Sediment	3430 ± 240	3387 ± 351	99	5.19	8.83
Ti	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	7910 ± 140	6335 ± 821	80	6.48	3.55
V	NIST SRM 2702 Marine Sediment	358 ± 9.2	348 ± 39	97	5.58	1.45
Cr	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	198 ± 4.7	176 ± 3.3	89	0.94	5.17
Mn	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	132 ± 1.7	114 ± 0.5	86	0.24	3.02
Fe	NIST SRM 2702 Marine Sediment	74000	71398 ± 7014	96	4.91	0.89
Co	NIST SRM 2702 Marine Sediment	27.8 ± 0.58	26.4 ± 1.5	95	2.75	1.12
Ni	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	121 ± 1.8	111 ± 3.3	92	1.50	2.57
Cu	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	113 ± 2.6	101 ± 3.7	90	1.84	2.86
Zn	NIST SRM 2702 Marine Sediment	486 ± 4.2	488 ± 1.7	100	1.76	0.79
As	NIST SRM 2702 Marine Sediment	45.3 ± 1.8	46.2 ± 4.1	102	4.47	0.53
Rb	NIST SRM 2702 Marine Sediment	128 ± 8.8	119 ± 2.6	93	1.11	1.12
Sr	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	1041 ± 14	960 ± 11	92	0.56	1.15
Mo	NIST SRM 2702 Marine Sediment	10.8 ± 1.6	9.47 ± 0.33	88	1.75	1.81
Cd	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	0.784 ± 0.006	0.867 ± 0.059	111	3.40	2.46
Sn	NIST SRM 2702 Marine Sediment	31.6 ± 2.4	31.5 ± 0.7	100	1.18	0.14
Sb	NIST SRM 2702 Marine Sediment	5.6 ± 0.24	4.5 ± 0.15	81	1.69	2.45
Cs	NIST SRM 2702 Marine Sediment	7.1	7.1 ± 0.1	100	0.87	1.38
Ba	NIST SRM 2702 Marine Sediment	397 ± 3.2	399 ± 12	101	1.44	0.38
La	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	94	92.7 ± 3.4	99	1.81	3.85
Ce	NIST SRM 2702 Marine Sediment	123 ± 5.8	126 ± 3.8	102	1.52	1.03
Nd	NIST SRM 2702 Marine Sediment	56	45 ± 3.5	81	3.83	2.64
Sm	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	20	18.3 ± 1	91	2.83	3.36
Eu	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	4.1	4.17 ± 0.24	102	2.83	7.41
Gd	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	13	13.7 ± 1.3	105	4.58	2.96
Tb	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	2.6	2.55 ± 0.17	98	3.34	2.66
Dy	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	17	16.9 ± 0.68	99	2.02	5.22
Yb	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	7.6	7.63 ± 0.89	100	5.84	9.84
Lu	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	1.2	1.16 ± 0.08	97	3.62	3.66
Hf	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	6.8	6.5 ± 0.06	96	0.50	3.76
W	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	5.6	5.62 ± 0.24	100	2.12	0.72
Tl	NIST SRM 2702 Marine Sediment	0.827 ± 0.006	0.829 ± 0.004	100	0.23	8.20
Pb	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	68.2 ± 1.1	69.3 ± 5.7	102	4.11	2.15
Th	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	25.7 ± 1.3	25.8 ± 2.3	101	4.42	11.4
U	NIST SRM 1633b Coal Fly Ash	8.79 ± 0.36	8.8 ± 0.87	100	4.97	2.32

^a průměr ± 2 S.D. (n = 3);

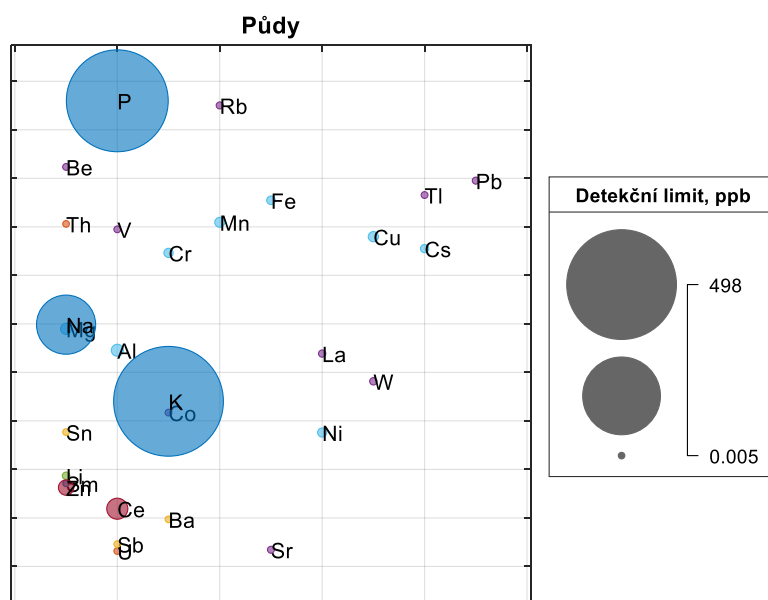
^b návratnost (%) = (nalezená hodnota/deklarovaná hodnota)×100;

^{c,d} Preciznost stanovená za podmínek reprodukovatelnosti, resp. opakovatelnosti

4.5 Detekční limity navržené metody

Hodnoty detekčních limitů byly vypočteny na základě kritéria 3σ v souladu s doporučením komise IUPAC. Odhady byly určeny na základě experimentálního vyhodnocení variability měření slepých vzorků. Variabilita byla vyjádřena ve formě směrodatné odchylky určené z několika opakovaných měření (n = 10). Hodnoty detekčního limitu pak byly vyhodnoceny jako koncentrace odpovídající trojnásobné hodnotě směrodatné odchylky, přičemž parametry regrese potřebné pro tento výpočet byly získány ze softwaru ICP-MS spektrometru.

Jak je patrné z níže uvedeného obrázku, hodnoty detekčních limitů pro stanovení celkového počtu 54 prvků se pohybovaly v rozmezí $0.005 - 500 \text{ mg kg}^{-1}$. Ve všech případech jsou tyto hodnoty plně postačující pro analýzu reálných vzorků půd. Námi dosažené limity získané s ohledem na nastavení optimalizovaného postupu přípravy vzorku byly často lepší než hodnoty uváděné dříve některými autory [12,35] pro potřeby multiprvkové analýzy půd.



Obrázek 12: Detekční limity metody (mg kg^{-1}) vybraných prvků pro ICP-MS analýzu vzorků půd

4.6 Analýza reálných vzorků půd

Analytická metoda, která byla optimalizovaná s využitím FRFD, byla použita pro analýzu reálných vzorků půd. Analyzováno bylo celkem 9 reálných vzorků pocházejících ze 3 rozličných lokalit (C1, C2 a P). Symboly C značí kontrolní lokality, symbol P pak vzorky odebrané z blízkosti skládky polymetalického prachu.

V každém ze vzorků bylo stanoveno celkem 54 prvků. Jelikož je výsledná datová matice značně rozsáhlá, je zde prezentována pouze ve zkrácené podobě (viz tabulka 12).

Tabulka 12: Výsledky multiprvkové analýzy (mg kg^{-1}) reálných vzorků půdy^a

Lokalita	Al	Cr	Fe	Mn	Ni	Co	Cu	Zn	...	Pb
C1	65369	107,1	26245	564	28,3	9,86	24,0	101,8	...	27,2
C1	48527	99,8	20950	453	23,0	8,10	17,6	76,8	...	25,5
C1	53112	89,6	22826	629	24,7	9,49	20,2	82,7	...	26,2
C2	45509	41,5	21180	616	29,4	7,85	57,7	155,1	...	29,9
C2	47842	47,1	21334	698	32,0	9,08	54,2	152,1	...	31,4
C2	44361	40,1	19674	611	29,1	7,88	52,6	115,6	...	28,7
P	48620	72,7	22131	680	55,7	10,41	50,3	238,0	...	42,5
P	47778	67,4	21252	652	54,6	9,96	48,8	397,3	...	52,8
P	47836	70,1	21185	621	54,1	9,95	49,4	245,6	...	46,6

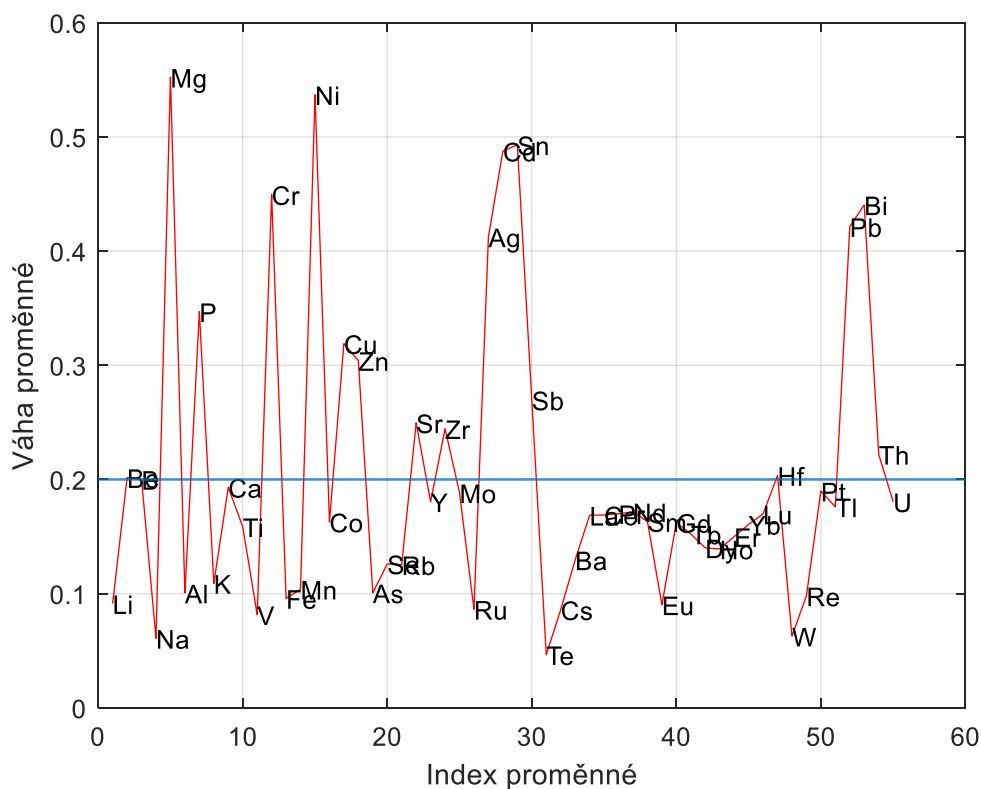
^a bylo analyzováno celkem 54 prvků, C1 a C2 kontrolní lokality, P lokalita v blízkosti skládky

Pro určitou představu jsou v tabulce 13 uvedeny některé limitní hodnoty vybraných těžkých kovů, které ve vysokých koncentracích působí škodlivě. Jedná se o hodnoty doporučené v rámci EU a ČR.

Tabulka 13: Přehled maximálních koncentrací (mg kg^{-1}) pro vybrané prvky

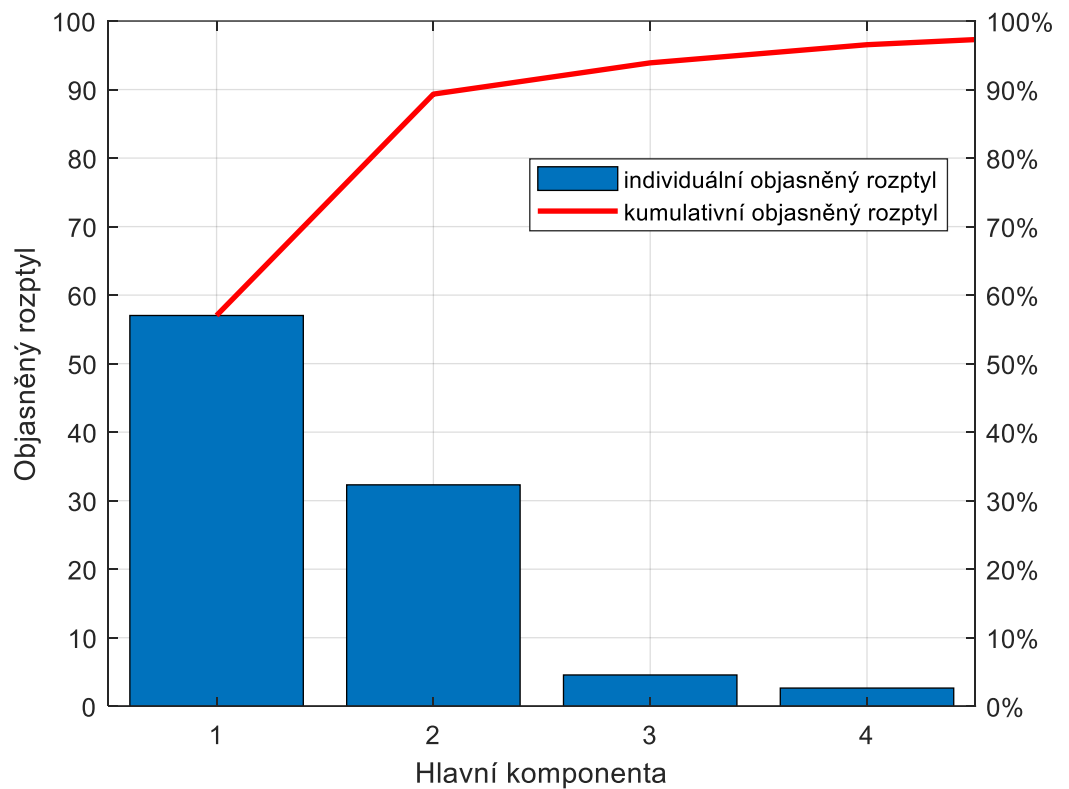
	Cr	Ni	Cu	Zn	Pb
EU [58]	–	75	140	300	300
ČR [59]	90	50	60	120	60

Data výsledků multiprvkové analýzy reálných vzorků půd byla zpracována s využitím nástrojů vícerozměrné analýzy dat. Protože zdrojová matice obsahovala velké množství proměnných, byla nejprve pro redukci znaků použita metoda sousedních komponent (NCA) [60]. Výsledky této analýzy jsou uvedeny na obrázku 13. Zde jsou na x-ové ose uvedeny všechny analyzované prvky, na ose y je pak vyhodnocena váha každé proměnné s ohledem na separaci vzorků ve smyslu daných lokalit. Veškeré prvky uvedené v daném obrázku nad modrou linií jsou pro klasifikaci významné. Jedná se jmenovitě o: Be, B, Mg, P, Cr, Ni, Cu, Zn, Sr, Zr, Ag, Cd, Sn, Sb, Hf, Pb, Bi a Th.



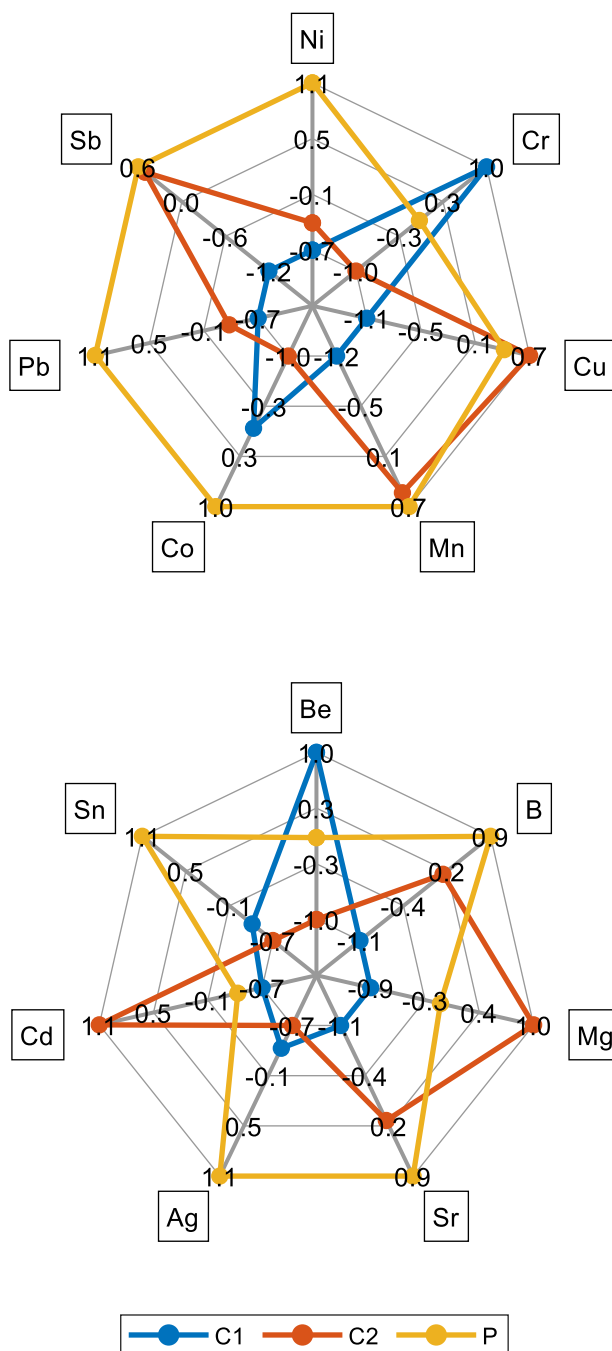
Obrázek 13: Volba významných proměnných pomocí analýzy sousedních komponent

Pro redukovanou datovou matici obsahující pouze významné proměnné byla aplikována metoda analýzy hlavních komponent. Projekce dat z původního 54 rozměrného prostoru do 2D dimenze byla úspěšná. Z Paretova diagramu uvedeného na obrázku 14 je zřejmé, že pomocí dvou hlavních komponent se podařilo objasnit téměř 90% variability původních zdrojových dat.



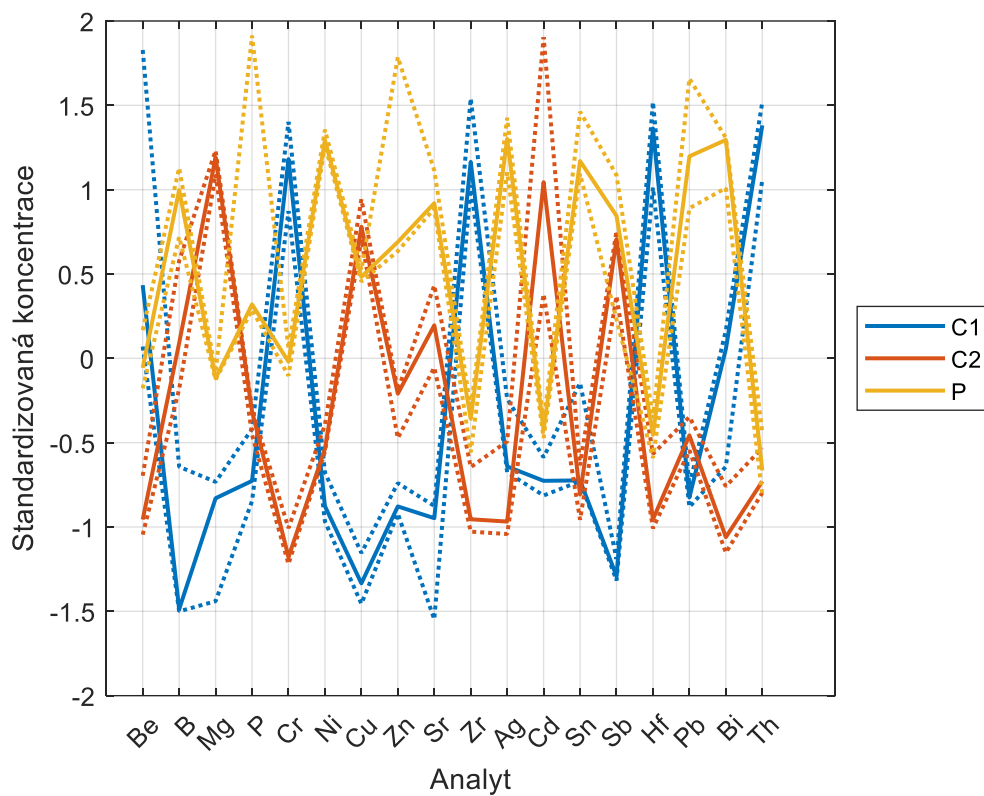
Obrázek 14: Paretův graf objasněného rozptylu s využitím analýzy hlavních komponent

Z dvojného diagramu komponentních skóre a komponentních vah uvedeném na obr. 15 je patrná separace vzorků z jednotlivých lokalit. Z obrázků je patrná vysoká míra závislosti mezi obsahem Ni, Zn či Pb a vzorků půd z okolí skládky (P). Příspěvky jednotlivých proměnných pro konstrukci první a druhé hlavní komponenty jsou uvedeny na obrázku 16. Z nich je možné usoudit na menší či větší obsah jednotlivých prvků ve studovaných vzorcích.



Obrázek 17: Radarové diagramy koncentrací vybraných prvků v půdách sledovaných lokalit

Lepší představu o obsahu vybraných prvků si můžeme udělat z radarových diagramů uvedených na obrázku č. 17. Z nich je patrné, že pro znečištěnou lokalitu byly pozorovány významně vyšší koncentrace Ni, Sb, Co, Mn, Pb, Sn, Ag, Sr či B. Hodnoty mediánů standardizovaných koncentrací, včetně údajů týkajících se interkvartilového rozpětí těchto koncentrací u vybraných prvků, znázorňuje obrázek 18.



Obrázek 18: Diagram paralelních koordinát mediánů (plná čára) standardizovaných dat a odpovídajících hodnot dolních a horních kvartilů (čerchovaná čára) koncentrací vybraných prvků v reálných vzorcích půd

5 ZÁVĚR

Práce byla věnována optimalizaci metody mikrovlnným polem asistované extrakce vzorků půd k ICP-MS analýze kvůli zajištění kvalitních výsledků při stanovení koncentrací širokého spektra prvků ve vzorcích.

Extrakce vzorků půd byla realizována v mikrovlnné peci Speedwave Xpert v PTFE nádobách. Výsledné optimalizované podmínky zahrnovaly dobu extrakce 35 min při teplotě 170 °C za použití 6 mL 65% HNO₃, 7 mL 37% HCl a 2.5 mL roztoku NH₄F o koncentraci 100 g L⁻¹. Pro optimalizaci metody bylo využito frakcionálního faktorového plánování (FRFD), jehož schéma bylo vygenerováno v programu Statistica 14. Jednalo se o pěti faktorový dvouúrovňový plán zahrnující po zkrácení a zařazení centrálního bodu 18 experimentů vhodných kombinací experimentálních parametrů. Získané koncentrace vybraných prvků u jednotlivých experimentů byly přepočteny na hodnoty analytických návratností tak, že získané hodnoty koncentrací u certifikačního referenčního materiálu SRM NIST2702 určené metodou ICP-MS byly porovnány s hodnotami deklarovanými výrobcem. Hodnoty analytických návratností byly poté podrobeny analýze pomocí metody hlavních komponent (PCA). Ze sestrojených grafů a diagramů bylo zjištěno, že pro většinu stanovovaných prvků poskytuje nejlepší výsledky extrakce pomocí směsi HNO₃ + HCl + NH₄F. Pro nastavení přesné úrovně jednotlivých faktorů extrakce byla provedena analýza rozptylu (ANOVA) studující vliv jednotlivých faktorů a jejich efektů na stanovení prvků. S využitím grafických nástrojů analýzy experimentu byly vyhodnoceny výše uvedené optimální podmínky pro extrakci reálných vzorků půd. Správnost takto optimalizované metody byla ověřena pomocí dvou komerčně dostupných certifikovaných referenčních materiálů. Ukázalo se, že navržená metoda byla přijatelná, neboť naměřené hodnoty celkového počtu 42 prvků se od deklarovaných příliš nelišily (hodnoty analytických návratností se pohybovaly okolo 80–110 %).

Optimalizovaná metoda mikrovlnné extrakce byla použita pro analýzu reálných vzorků půd ze 3 různých lokalit, a to dvou kontrolních lokalit a jedné lokality poblíž skládky. Po analýze pomocí sestrojených diagramů bylo zjištěno, že vzorky půd odebraných poblíž skládky obsahovaly mnohem vyšší podíl těžkých kovů, jako je Ni, Pb, Co nebo Mn, což je způsobeno tím, že půda je vystavena emisím škodlivých látek v blízkosti skládky.

6 SEZNAM LITERATURY

- [1] ZHONG, Yanhui, Mengmeng JI, Yufei HU, Gongke LI a Xiaohua XIAO. Progress of environmental sample preparation for elemental analysis. *Journal of Chromatography A* [online]. 2022, **1681**, 1–14. ISSN 0021-9673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2022.463458.
- [2] STIHI, Claudia, Gheorghe Valerica CIMPOCA, Gheorghe VLAICU, Anca Irina GHEBOIANU, Iulian BANCUTA, Ghisa V. a Gabriel STATE. Environmental samples analysis by atomic absorption spectrometry (AAS) and inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy (ICP-AES). *Romanian Journal of Physics*. 2009, **54**(7–8), 741–746. Dostupné z: https://rjp.nipne.ro/2009_54_7-8/0741_0747.pdf.
- [3] ZHANG, Chunlong. *Fundamentals of Environmental Sampling and Analysis*. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc., 2007. ISBN 978-0-471-71097-4. Dostupné z: doi:10.1002/0470120681.
- [4] HERNANDEZ, Laura, Anne PROBST, Jean Luc PROBST a Erwin ULRICH. Heavy metal distribution in some French forest soils: evidence for atmospheric contamination. *Science of The Total Environment* [online]. 2003, **312**(1–3), 195–219. ISSN 0048-9697. Dostupné z: doi:10.1016/S0048-9697(03)00223-7.
- [5] WALKER, T. R., P. D CRITTENDEN a S. D YOUNG. Regional variation in the chemical composition of winter snow pack and terricolous lichens in relation to sources of acid emissions in the Usa river basin, northeast European Russia. *Environmental Pollution* [online]. 2003, **125**(3), 401–412. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:10.1016/S0269-7491(03)00080-0.
- [6] ZHANG, Jing a Cong-Qiang LIU. Major and rare earth elements in rainwaters from Japan and East China Sea: Natural and anthropogenic sources. *Chemical Geology* [online]. 2004, **209**(3–4), 315–326. ISSN 0009-2541. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemgeo.2004.06.014.
- [7] AUBERT, Dominique, Gaël LE ROUX, Michael KRACHLER, Andriy CHEBURKIN, Bernd KOBER, William SHOTYK a Peter STILLE. Origin and fluxes of atmospheric REE entering an ombrotrophic peat bog in Black Forest (SW Germany): Evidence from snow, lichens and mosses. *Geochimica et Cosmochimica Acta* [online]. 2006, **70**(11), 2815–2826. ISSN 0016-7037. Dostupné z: doi:10.1016/j.gca.2006.02.020.
- [8] FRANCOVÁ, Anna, Vladislav CHRASTNÝ, Hana ŠILLEROVÁ, Martina VÍTKOVÁ, Jana KOCOURKOVÁ a Michael KOMÁREK. Evaluating the suitability of different

environmental samples for tracing atmospheric pollution in industrial areas. *Environmental Pollution (Barking, Essex: 1987)* [online]. 2017, **220**(Part A), 286–297. ISSN 1873-6424. Dostupné z: doi:10.1016/j.envpol.2016.09.062.

[9] ENGWA, Godwill Azeh, Paschaline Udoka FERDINAND, Friday Nweke NWALO, Marian N. UNACHUKWU. Mechanism and Health Effects of Heavy Metal Toxicity in Humans. In: KARCIOGLU, Ozgur, Banu ARSLAN. *Poisoning in the Modern World – New Tricks for an Old Dog?* [online]. London: IntechOpen, 2019. ISBN 978-1-83880-786-3. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.82511.

[10] BHAT, Shakeel Ahmad, Omar BASHIR, Syed Anam UL HAQ, Tawheed AMIN, Asif RAFIQ, Mudasir ALI, Juliana Heloisa Pinê AMÉRICO-PINHEIRO a Farooq SHER. Phytoremediation of heavy metals in soil and water: An eco-friendly, sustainable and multidisciplinary approach. *Chemosphere* [online]. 2022, **303**, 1–10. ISSN 0045-6535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2022.134788.

[11] HUSÁKOVÁ, Lenka, Iva URBANOVÁ, Tereza ŠÍDOVÁ a Michaela ŠAFRÁNKOVÁ. Simultaneous Determination of 11 Elements in Fly Ash by Inductively Coupled Plasma Orthogonal Acceleration Time-of-Flight Mass Spectrometry After Closed-Vessel Microwave-Assisted Extraction with Ammonium Fluoride. *Journal of Analytical Chemistry* [online]. 2018, **73**(7), 650–660. ISSN 1061-9348. Dostupné z: doi:10.1134/S1061934818070092.

[12] FALCIANI, Roberta, Ezio NOVARO, Marina MARCHESINI a Massimo GUCCIARDI. Multi-element analysis of soil and sediment by ICP-MS after a microwave assisted digestion method. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* [online]. 2000, **15**(5), 561–565. ISSN 1364-5544. Dostupné z: doi:10.1039/B000742K.

[13] SANTORO, Anna, Andrea HELD, Thomas P. J. LINSINGER, Andres PEREZ a Marina RICCI. Comparison of total and *aqua regia* extractability of heavy metals in sewage sludge: The case study of a certified reference material. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2017, **89**, 34–40. ISSN 0165-9936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2017.01.010.

[14] HUSÁKOVÁ, Lenka, Michaela ŠAFRÁNKOVÁ, Tereza ŠÍDOVÁ, Iva URBANOVÁ. THE use of FFD for optimization of direct determination of Be in soils and sediments by HR-CS-ET-AAS. In: Univerzita Pardubice. 2016.

[15] HORÁLEK, V., J. G. K. ŠEVČÍK, E. ČURDOVÁ a V. HELÁN, *Vzorkování I: obecné zásady*. Český Těšín: 2 Theta, 2010. ISBN 978-80-86380-53-7.

- [16] LAWRENCE, Patrick G., Wayne ROPER, Thomas F. MORRIS a Karl GUILLARD. Guiding soil sampling strategies using classical and spatial statistics: A review. *Agronomy Journal* [online]. 2020, **112**(4), 493–510. ISSN 1435-0645. Dostupné z: doi:10.1002/agj2.20048.
- [17] TWARÓG, Anna, Magdalena MAMAK, Henryk SECHMAN, Piotr RUSINIAK, Ewelina KASPRZAK a Krzysztof STANEK. Impact of the landfill of ashes from the smelter on the soil environment: case study from the South Poland, Europe. *Environmental Geochemistry and Health* [online]. 2020, **42**(5), 1453–1467. ISSN 1573-2983. Dostupné z: doi:10.1007/s10653-019-00435-y.
- [18] WEBB, Benjamin a Samuel B. ADELOJU. Evaluation of some wet digestions methods for reliable determination of total phosphorus in Australian soils. *Microchemical Journal* [online]. 2013, **111**, 47–52. ISSN 0026-265X. Dostupné z: doi:10.1016/j.microc.2013.02.001.
- [19] KALADHARAN, Gopakumar, Asghar GHOLIZADEH VAYGHAN a Farshad RAJABIPOUR. Review, Sampling, and Evaluation of Landfilled Fly Ash. *ACI Materials Journal* [online]. 2019, **116**(4), 113–122. ISSN 0889-325X. Dostupné z: doi:10.14359/51716750.
- [20] MATUSIEWICZ, Henryk. Sample Preparation for Inorganic Trace Element Analysis. *Physical Sciences Reviews* [online]. 2017, **2**(5), 1–39. ISSN 2365-659X. Dostupné z: doi:10.1515/psr-2017-8001.
- [21] VASSILEVA, E., H. DOCEKALOVÁ, H. BAETEN, S. VANHENTENRIJK a M. HOENIG. Revisitation of mineralization modes for arsenic and selenium determinations in environmental samples. *Talanta* [online]. 2001, **54**, 187–196. ISSN 1873-3573. Dostupné z: doi:10.1016/S0039-9140(00)00652-4.
- [22] BURGUERA, Marcela a José Luis BURGUERA. Microwave-assisted sample decomposition in flow analysis. *Analytica Chimica Acta* [online]. 1998, **366**(1–3), 63–80. ISSN 0003-2670. Dostupné z: doi:10.1016/S0003-2670(97)00661-2.
- [23] OLIVEIRA, Elisabeth de. Sample preparation for atomic spectroscopy: evolution and future trends. *Journal of the Brazilian Chemical Society* [online]. 2003, **14**(2), 174–182. ISSN 0103-5053. Dostupné z: doi:10.1590/S0103-50532003000200004.
- [24] MAICHIN, B., M. ZISCHKA a G. KNAPP. Pressurized wet digestion in open vessels.

Analytical and Bioanalytical Chemistry [online]. 2003, **376**(5), 715–720. ISSN 1618-2642. Dostupné z: doi:10.1007/s00216-003-1962-6.

[25] HU, Zhaochu, Wen ZHANG, Yongsheng LIU, Haihong CHEN, Richard M. GASCHNIG, Keqing ZONG, Ming LI, Shan GAO a Shenghong HU. Rapid bulk rock decomposition by ammonium fluoride (NH₄F) in open vessels at an elevated digestion temperature. *Chemical Geology* [online]. 2013, **355**, 144–152. ISSN 0009-2541. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemgeo.2013.06.024.

[26] HOENIG, Michel a Anne-Marie DE KERSABIEC. Sample preparation steps for analysis by atomic spectroscopy methods: present status. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* [online]. 1996, **51**(11), 1297–1307. ISSN 0584-8547. Dostupné z: doi:10.1016/0584-8547(96)01507-8.

[27] ADAMCZYK-SZABELA, Dorota, Piotr ANIELAK a Wojciech M. WOLF. Influence of Digestion Procedure and Residual Carbon on Manganese, Copper, and Zinc Determination in Herbal Matrices by Atomic Absorption Spectrometry. *Journal of Analytical Methods in Chemistry* [online]. 2017, **2017**(5), 1–10. ISSN 2090-8865. Dostupné z: doi:10.1155/2017/6947376.

[28] GAUDINO, Stefania, Chiara GALAS, Maria BELLI, Sabrina BARBIZZI, Paolo DE ZORZI, Radojko JAĆIMOVIĆ, Zvonka JERAN, Alessandra PATI a Umberto SANSONE. The role of different soil sample digestion methods on trace elements analysis: a comparison of ICP-MS and INAA measurement results. *Accreditation and Quality Assurance* [online]. 2007, **12**(2), 84–93. ISSN 1432-0517. Dostupné z: doi:10.1007/s00769-006-0238-1.

[29] MENG, Zuchao a Ni ZHANG. Digestion of Insoluble Fluorides in Geochemical Samples by Ammonium Fluoride. *Analytical Letters* [online]. 2012, **45**(14), 2086–2095. ISSN 0003-2719. Dostupné z: doi:10.1080/00032719.2012.680060.

[30] MARIET, Clarisse, Oulfa BELHADJ, Stéphanie LEROY, Francine CARROT a Nicole MÉTRICH. Relevance of NH₄F in acid digestion before ICP-MS analysis. *Talanta* [online]. 2008, **77**, 445–450. ISSN 1873-3573. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2008.07.007.

[31] HOENIG, Michel. Preparation steps in environmental trace element analysis — facts and traps. *Talanta* [online]. 2001, **54**(6), 1021–1038. ISSN 0039-9140. Dostupné z: doi:10.1016/S0039-9140(01)00329-0.

- [32] FOSTER, Barbara L. a Michael E. COURNOYER. The use of microwave ovens with flammable liquids. *Chemical Health and Safety* [online]. 2005, **12**(4), 27–32. ISSN 1074-9098. Dostupné z: doi:10.1016/j.chs.2005.01.015.
- [33] *Reaction control Control of pressure and temperature | Berghof Products + Instruments* [online] [vid. 2023-04-18]. Dostupné z: https://www.berghof-instruments.com/en/downloads/?file=files/downloads/downloads/Working_principle_sensors.pdf&cid=1657.
- [34] HU, Zhaochu, Shan GAO, Yongsheng LIU, Shenghong HU, Laishi ZHAO, Yanxiang LI a Qi WANG. NH₄F assisted high pressure digestion of geological samples for multi-element analysis by ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* [online]. 2010, **25**(3), 408–413. ISSN 1364-5544. Dostupné z: doi:10.1039/B921006G.
- [35] HUSÁKOVÁ, Lenka, Iva URBANOVÁ, Michaela ŠAFRÁNKOVÁ a Tereza ŠÍDOVÁ. Slurry sampling high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry for direct beryllium determination in soil and sediment samples after elimination of SiO interference by least-squares background correction. *Talanta* [online]. 2017, **175**, 93–100. ISSN 1873-3573. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2017.07.031.
- [36] HUSÁKOVÁ, Lenka, Iva URBANOVÁ, Tereza ŠÍDOVÁ, Tereza CAHOVÁ, Tomáš FALTYS a Jitka ŠRÁMKOVÁ. Evaluation of ammonium fluoride for quantitative microwave-assisted extraction of silicon and boron from different solid samples. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* [online]. 2015, **95**(10), 922–935. ISSN 0306-7319. Dostupné z: doi:10.1080/03067319.2015.1070409.
- [37] NHLABATHI, T. N., J. T. NEL, G. J. PUTS a P. L. CROUSE. Microwave digestion of zircon with ammonium acid fluoride: Derivation of kinetic parameters from non-isothermal reaction data. *International Journal of Mineral Processing* [online]. 2012, **114–117**, 35–39. ISSN 0301-7516. Dostupné z: doi:10.1016/j.minpro.2012.09.002.
- [38] LACHAS, H., R. RICHAUD, A. A. HEROD, D. R. DUGWELL, R. KANDIYOTI a K. E. JARVIS. Determination of 17 trace elements in coal and ash reference materials by ICP-MS applied to milligram sample sizes. *Analyst* [online]. 1999, **124**(2), 177–184. ISSN 1364-5528. Dostupné z: doi:10.1039/A807849A.
- [39] *Trace Element Analysis Using ICP-MS for Environmental Samples, Part One: Regulations and Routine Monitoring | Thermo Fischer Scientific* [online] [vid. 2023-04-06]. Dostupné z:

<https://assets.thermofisher.com/TFS-Assets/CMD/Reference-Materials/AR-TEA-ICP-MS-Regulations-Monitoring-SPEC-0717-EN.pdf>.

[40] DAMS, Richard F. J., Jan GOOSSENS a Luc MOENS. Spectral and non-spectral interferences in inductively coupled plasma mass-spectrometry. *Microchimica Acta* [online]. 1995, **119**(3–4), 277–286. ISSN 1436-5073. Dostupné z: doi:10.1007/BF01244007.

[41] HELALUDDIN, A. B. M., Reem Saadi KHALID, Mohamed ALAAMA a Syed Atif ABBAS. Main Analytical Techniques Used for Elemental Analysis in Various Matrices. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* [online]. 2016, **15**(2), 427–434. ISSN 1596-9827. Dostupné z: doi:10.4314/tjpr.v15i2.29.

[42] SUREKAR, B., Daniel KUTSCHER. Overcome unexpected interferences and accelerate environmental analysis using triple quadrupole ICP-MS. *Brazilian Journal of Analytical Chemistry* [online]. 2021, **8**(32), 231–236. ISSN 2179–3425. Dostupné z: <https://brjac.com.br/artigos/2021-V8-32/brjac-32-thermo-report-AN44484.pdf>.

[43] TAOUATAS, Nadia, Madalina M. DRUGAN, Albert J. R. HECK a Shabaz MOHAMMED. Straightforward ladder sequencing of peptides using a Lys-N metalloendopeptidase. *Nature Methods* [online]. 2008, **5**(5), 405–407. ISSN 1548-7105. Dostupné z: doi:10.1038/nmeth.1204.

[44] EVANS, E. Hywel a Jeffrey J. GIGLIO. Interferences in inductively coupled plasma mass spectrometry. A review. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* [online]. 1993, **8**, 1–18. ISSN 1364-5544. Dostupné z: doi:10.1039/JA9930800001.

[45] LUM, Tsz-Shan a Kelvin Sze-Yin LEUNG. Strategies to overcome spectral interference in ICP-MS detection. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* [online]. 2016, **31**(5), 1078–1088. ISSN 1364-5544. Dostupné z: doi:10.1039/C5JA00497G.

[46] BIZZI, C. A., M. F. PEDROTTI, J. S. SILVA, J. S. BARIN, J. A. NÓBREGA a E. M. M. FLORES. Microwave-assisted digestion methods: towards greener approaches for plasma-based analytical techniques. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* [online]. 2017, **32**(8), 1448–1466. ISSN 1364-5544. Dostupné z: doi:10.1039/C7JA00108H.

[47] LOULA, Martin, Antonín KAŇA a Oto MESTEK. Non-spectral interferences in single-particle ICP-MS analysis: An underestimated phenomenon. *Talanta* [online]. 2019, **202**, 565–571. ISSN 0039-9140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2019.04.073.

- [48] *Interferences in ICP-MS: Do we still have to worry about them?* | PerkinElmer [online] [vid. 2023-04-07]. Dostupné z: <https://resources.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/tch-1815551-nexion-5000-icp-ms-interferences.pdf>.
- [49] HUSÁKOVÁ, Lenka, Iva URBANOVÁ, Lenka AUDRLICKÁ-VAVRUŠOVÁ, Jitka ŠRÁMKOVÁ, Tomáš ČERNOHORSKÝ, Marie BEDNAŘÍKOVÁ a Lucie PILAŘOVÁ. Multi-element analysis of urine by inductively coupled plasma orthogonal acceleration time-of-flight mass spectrometry. *Microchimica Acta* [online]. 2011, **173**, 173–181. ISSN 1436-5073. Dostupné z: doi:10.1007/s00604-010-0539-2.
- [50] *Výhody systému High Matrix Introduction* | HPST [online] [vid. 2023-05-23]. Dostupné z: <https://hpst.cz/sites/default/files/download/2021/04/2-vyhody-systemu-high-matrix-introduction-hmi-hpst.pdf>.
- [51] *Speedwave Xpert* | RMI, s.r.o. [online] [vid. 2023-04-18]. Dostupné z: <http://www.rmi.cz/speedwave-xpert>.
- [52] *Skupina Atomové spektrometrie* | Fakulta chemicko-technologická [online] [vid. 2023-04-18]. Dostupné z: <https://fcht.upce.cz/fcht/atomovy-spektrometrie#main>.
- [53] PATOČKA, Jan a Lenka HUSÁKOVÁ. Multi-element analysis of urine using octopole collision cell ICP-Q-MS. *Scientific Papers of the University of Pardubice, Series A; Faculty of Chemical Technology* [online]. 2020, **26**, 87–96. ISSN 1211-5541. Dostupné z: <https://dk.upce.cz/handle/10195/76728>.
- [54] VARRÀ, Maria Olga, Lenka HUSÁKOVÁ, Jan PATOČKA, Sergio GHIDINI a Emanuela ZANARDI. Multi-element signature of cuttlefish and its potential for the discrimination of different geographical provenances and traceability. *Food Chemistry* [online]. 2021, **356**, 1–11. ISSN 1873-7072. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2021.129687.
- [55] *Podvarová destilace v teflonu* | RMI, s.r.o. [online] [vid. 2023-04-18]. Dostupné z: <http://www.rmi.cz/podvarova-destilace-v-teflonu>.
- [56] *ISO 11466:1995* | ISO [online] [vid. 2023-05-01]. Dostupné z: <https://www.iso.org/standard/19418.html>.
- [57] *ISO 12914:2012* | ISO [online] [vid. 2023-05-01]. Dostupné z: <https://www.iso.org/standard/52171.html>.

[58] 1986L0278 — EN — 05.06.2003 — 003.001 — 1 | FAOLEX Database [online] [vid. 2023-05-23]. Dostupné z: <https://faolex.fao.org/docs/pdf/eur19147.pdf>.

[59] 153/2016 Sb. | Portál eAGRI [online] [vid. 2023-05-23]. Dostupné z: https://eagri.cz/public/web/ws_content?contentKind=regulation§ion=1&id=86487&name=153/2016.

[60] YANG, Wei, Kuanquan WANG a Wangmeng ZUO. Neighborhood Component Feature Selection for High-Dimensional Data. *Journal of Computers* [online]. 2012, 7, 161–168. Dostupné z: [doi:10.4304/jcp.7.1.161-168](https://doi.org/10.4304/jcp.7.1.161-168).