

UNIVERZITA KARLOVA
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Simona Adamová

STANOVENÍ KADMIA A MĚDI V KRVÍ SÝKOR KOŇADER

Determination of cadmium and copper in blood of great tits

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Jakub Hraníček, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: RNDr. Stanislav Musil, Ph.D.

Praha 2020

Tato práce vznikla v souvislosti s řešením projektu GAUK 1626218.

Prohlášení

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

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků získaných v této práci mimo Univerzitu Karlovu je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 6.1.2020

.....

Podpis

Poděkování

Chtěla bych poděkovat RNDr. Jakobovi Hraníčkoví, Ph.D. za trpělivost, přívětivý přístup a cenné rady při řešení této bakalářské práce. Rovněž děkuji RNDr. Stanislavovi Musilovi, Ph.D. za pomoc při konání experimentální části.

Abstrakt CZ

V současné době patří monitorování kvality životního prostředí mezi velmi důležité činnosti. K tomuto monitorování se zařazuje například sledování koncentračních úrovní těžkých kovů v organismech majících definovaný vztah k životnímu prostředí. Jako vhodný indikátor kvality životního prostředí byla zvolena sýkora koňadra (*Parus major*), která je příhodná především díky její četnosti a výskytu v okolí lidských sídlišť. Tato bakalářská práce se věnuje stanovení kadmia a mědi ve vzorcích sušené krve těchto ptáků z několika částí Evropy. U všech vzorků byla použita metoda mikrovlnného rozkladu a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, která se vyznačuje schopností stanovit simultánně i velmi nízké koncentrace zmíněných kovů v biologických vzorcích.

Klíčová slova

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, těžké kovy, měď, kadmium, sýkora koňadra, krev

Abstract EN

Monitoring of the environment is one of the most important activities nowadays. This monitoring includes, for example, monitoring the concentration levels of heavy metals in organisms with a defined relationship to the environment. Great tit (*Parus major*) was evaluated as a suitable indicator of the environment especially for its abundance and presence near human settlements. The target of this bachelor thesis is to determine cadmium and copper in dried blood samples of these birds from several parts of Europe. All samples were prepared using microwave digestion and analyzed using the inductively coupled plasma mass spectrometry, which is known for its ability to determine simultaneously metals in biological samples even at very low concentrations.

Key words

Inductively coupled plasma mass spectrometry, heavy metals, copper, cadmium, great tit, blood

Obsah práce

1	ÚVOD	- 7 -
1.1	Cíl bakalářské práce	- 7 -
2	TEORETICKÁ ČÁST	- 8 -
2.1	Těžké kovy	- 8 -
2.1.1	Měď	- 8 -
2.1.2	Kadmium.....	- 9 -
2.2	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem	- 11 -
2.2.1	Aplikace	- 11 -
2.2.2	Indukčně vázané plazma	- 12 -
2.2.3	Instrumentace	- 13 -
2.2.3.1	Vnášení vzorku do ICP-MS	- 13 -
2.2.3.2	Iontový zdroj	- 14 -
2.2.3.3	Rozhraní (interface) mezi iontovým zdrojem a hmotnostním spektrometrem. -	14 -
2.2.3.4	Hmotnostní spektrometr.....	- 14 -
2.2.3.5	Řídicí jednotka	- 15 -
2.2.4	Interference.....	- 16 -
2.2.5	Srovnání s dalšími spektrometrickými metodami	- 17 -
2.3	Předchozí výzkum	- 19 -
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	- 20 -
3.1	Používané chemikálie	- 20 -
3.2	Používané přístroje a zařízení	- 20 -
3.3	Postup prací	- 21 -
3.3.1	Příprava vzorků ke stanovení	- 21 -
3.3.2	Příprava kalibračních roztoků	- 22 -
3.3.3	Měření	- 28 -
4	VÝSLEDKOVÁ ČÁST	- 29 -
4.1	Kalibrační závislost	- 29 -
4.2	Mez detekce, mez stanovitelnosti	- 30 -
4.3	Referenční vzorky	- 30 -
4.4	Koncentrace kadmia a mědi ve vzorcích krve	- 32 -
5	ZÁVĚR	- 33 -
6	Použitá literatura	- 34 -

Seznam uvedených zkratek a symbolů

CE	kapilární elektroforéza
CPS	counts per second
CRM	certifikovaný referenční materiál
DF	zředovací faktor
eV	elektronvolt
F-AAS	plamenová atomová absorpční spektrometrie
GC	plynová chromatografie
GF-AAS	atomová absorpční spektrometrie s grafitovou píčkou
IC	iontová chromatografie
ICP	indukčně vázané plazma
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ICP-OES	optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
K	Kelvin
kW	kilowatt
LC	kapalinová chromatografie
LOD	mez detekce
LOQ	mez stanovitelnosti
MHz	megahertz
m/z	hmotnost/náboj
ppb	jednotka koncentrace $\mu\text{g/l}$
ppm	jednotka koncentrace mg/l
ppt	jednotka koncentrace ng/l
ppq	jednotka koncentrace pg/l
RF	radiofrekvenční
SD	směrodatná odchylka
TOF	analyzátor doby letu
W	watt

1 ÚVOD

Změny nastávající v dnešním světě každý den a rychlý vývoj technologií rozsáhle ovlivňují životní prostředí [1]. Jedním z těchto ovlivnění je zamořování životního prostředí těžkými kovy. Ty mohou mít negativní dopad nejen na rostliny a živočichy, ale také na člověka. Kontaminace kovy je rostoucím problémem v mnohých oblastech světa, a tak se hledání organismů, které by se daly využít jako bioindikátory, stalo důležitou činností [2]. Existují tři skupiny charakteristik, jež je nutné uvažovat při jeho vybírání: biologická významnost, metodologická významnost a společenská významnost [3]. Jako bioindikátory prostředí je tedy možné využít ptáky, neboť tato kritéria splňují. Navíc jsou v pohybu, takže znečišťující látky budou nasbírány z rozlehlého území, a jelikož se nachází vysoko v potravním řetězci, mohou podávat obraz rizika pro člověka lépe než například bezobratlí [4].

Městské znečištění má za následek kontaminaci tkání živočichů žijících v blízkosti člověka toxickými stopovými prvky, pěvci tak mohou sloužit jako vhodný indikátor tohoto znečištění [5]. Jedním z vyhovujících pěvců je sýkora koňadra. Právě její četnost a výskyt v blízkosti lidských obydlí umožňuje snadno sledovat úroveň těžkých kovů v životním prostředí člověka. Jako bioindikátory ukládání kovů jsou sýkory stále více využívány především s použitím neinvazivních postupů, jako je například sbírání perí a výměšků [6]. Ke stanovení je možné užít i vzorek krve. I když musí být množství odebrané krve velmi malé (bez rizika může být vzorkováno množství menší než 500 μl [7]), dnešní analytické techniky zvládnou z těchto objemů podat velmi přesné výsledky. Takovou metodou je i hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS), jež poskytuje velmi nízké meze detekce .

1.1 Cíl bakalářské práce

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo stanovení dvou těžkých kovů (mědi a kadmia) ve vzorcích sušené krve sýkor koňader. Hlavnímu cíli předcházely dílčí cíle sestávající z rozřazení vzorků do sérií, jejich rozložení pomocí mikrovlnného rozkladného zařízení, zředění, měření kalibrační závislosti, ověření správnosti měření pomocí referenčních materiálů a zjištění výtěžnosti. Ke stanovení zmíněných těžkých kovů byla zvolena metoda ICP-MS.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Těžké kovy

Termín těžké kovy je ve velké míře užíván pro charakterizování kovů, které působí jako látky znečišťující životní prostředí. Aby mohl být kov považován za těžký, musí být jeho relativní hustota (vztažená k vodě) větší než 5 [8]. Tento termín je však také často zaměňován označením toxické kovy či stopové kovy, přičemž za toxické kovy se považují prvky působící při určitých koncentracích škodlivě na člověka a ostatní biotické složky ekosystémů. Jako stopové kovy jsou poté nazývány kovy přítomné v organismech ve velmi nízkých koncentracích, řádově v jednotkách ppm. Ekotoxikologická terminologie v případě kovů nebezpečných pro živé jedince upřednostňuje výraz těžké kovy. Do této skupiny jsou zahrnovány zejména měď, zinek, kadmium, rtuť, olovo, chrom, nikl, mangan a železo. Navíc jsou k nim přiřazovány polokovy selen a arzen [9].

Těžké kovy se většinou v malém množství přirozeně vyskytují v zemské kůře. Ale vzhledem k mnohostrannému využití jejich sloučenin již existuje řada zdrojů a způsobů úniku do životního prostředí. Hlavními zdroji jsou: hutě a zpracování rud, rafinerie, chemický průmysl, hnojiva a insekticidy, spalování fosilních paliv, komunální odpad nebo cigaretový kouř [9]. Uniklé ionty kovů poté mohou být vstřebány do půdy, vody a organismů, kde jsou schopné způsobit jejich poškození. Nejsou biologicky degradovatelné. Přestože je známa řada neblahých účinků těžkých kovů na lidské zdraví, vystavování se jejich působení pokračuje, dokonce v některých částech světa roste [10].

2.1.1 Měď

Měď (Cu, Cuprum) náleží mezi ušlechtilé kovové prvky I.B skupiny periodické soustavy prvků. Tento prvek rovněž patří mezi nejstarší známé látky, využívané již od dob starověku. I jeho latinský název pochází z této doby. Pro ryzí měď je typická její načervenalá barva, nicméně nejčastěji se vyskytuje v podobě sulfidu, oxidu a uhličitanu, a to v jednomocném a dvojmocném stavu. Mezi hlavní měděné rudy jsou řazeny chalkopyrit (CuFeS_2), chalkozin (Cu_2S), kuprit (Cu_2O) a malachit ($\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{OH})_2$). Chalkopyrit tvoří 50 % těchto rud, jejichž značná množství je možné nalézt v Severní a Jižní Americe, Africe a zemích bývalého Sovětského svazu. Celkové množství mědi v zemské kůře činí 68 ppm. Základní fyzikální a chemické vlastnosti mědi uvádí Tab. 2.1 (viz strana 9) [11]. Dále je dobře kujná, tažná i dobrým elektrickým vodičem. Pro tyto vlastnosti ji lidstvo využívá

například pro výrobu elektrických zařízení či slitin, v zemědělství jsou sloučeniny mědi využívány jako pesticidy [12].

Tab. 2.1 Fyzikální a chemické vlastnosti mědi

Vlastnost	Hodnota
Protonové číslo	29
Atomová hmotnost	63,55
Počet stabilních izotopů	2
Elektronová konfigurace	[Ar]3d ¹⁰ 4s ¹
Elektronegativita	1,9
Hustota (20 °C) [g/cm ³]	8,95
Teplota tání [°C]	1083
Teplota varu [°C]	2570

Pro všechny organismy, od bakteriální buňky po člověka, je měď esenciálním stopovým prvkem [13]. Je součástí krevní bílkoviny hemocyaninu, jenž u některých měkkýšů zajišťuje transport kyslíku po těle. I v těle člověka se měď převážně váže na bílkoviny a její hladinu, kterou činí přibližně 100 mg, je nutné udržovat denním příjmem 3 až 5 mg Cu^{II}. Spolu s hemem se v cytochromoxidase podílí na přenosu elektronů. Změny obsahu tohoto kovu v organismu mohou vést k závažným poruchám [11]. Nedostatek může způsobovat zhoršenou syntézu hemoglobinu a posléze anémii. Naopak její hromadění v těle může mít rovněž za následek zdravotní problémy. K akumulaci dochází především v játrech a kostní dřeni. Vrozená neschopnost těla měď vylučovat se označuje jako Wilsonova choroba [9].

2.1.2 Kadmium

Objev kadmia, řazeného do II.B skupiny periodické soustavy prvků, je datován do roku 1817. Byl objeven F. Stromeyerem jako nečistota v uhličitane zinečnatém. Z jeho tehdejšího názvu, kalamínu, vzniklo pojmenování nového prvku - kadmium. Jedná se o bílý až namodralý měkký kov, který je možné krájet nožem. Zároveň je i kujný, tažný a dobrý vodič [14]. Další základní fyzikální a chemické vlastnosti shrnuje Tab. 2.2 (viz strana 10) [11].

Tab. 2.2 Fyzikální a chemické vlastnosti kadmia

Vlastnost	Hodnota
Protonové číslo	48
Atomová hmotnost	112,4
Počet stabilních izotopů	8
Elektronová konfigurace	[Kr]4d ¹⁰ 5s ²
Elektronegativita	1,7
Hustota (20 °C) [g/cm ³]	8,65
Teplota tání [°C]	320,8
Teplota varu [°C]	765

Obsah tohoto prvku v zemské kůře činí 0,16 ppm a jedná se o prvek chalkofilní. Proto je jeho nejdůležitější rudou sulfid, a tak je možné ho nalézt jako greenockit (CdS). Technicky důležitým zdrojem prvku jsou však zinkové rudy s obsahem kadmia v rozmezí 0,2 až 0,4 % [11]. Pro svou vlastnost chránit železo před korozí bývá využíváno v automobilovém průmyslu k výrobě plechů, dále slouží jako stabilizátor plastů i jako součást barevných pigmentů do nich přidávaných. Velmi významné je i jeho užití jako součásti elektrod v alkalických akumulátorech [12].

Z biologického hlediska patří mezi nejtoxičtější prvky. Snadno se z kontaminované půdy vstřebává do rostlin a plodin. Následně se dostává do potravního řetězce, což u lidí vede k ovlivnění funkce ledvin [15], kde se hromadí. Dlouhodobý příjem v malých koncentracích způsobuje dokonce i jejich selhání. K akumulaci kadmia dochází také v játrech. Může se vázat na jednovazné SH skupiny cysteinových zbytků v proteinech, čímž způsobuje inhibici enzymů, a je schopné inhibovat enzymy obsahující zinek, ve kterých atom zinku nahradí [11]. Rovněž ovlivňuje metabolismus vápníku. Chronická expozice je příčinou poškození kostí včetně osteoporózy [16]. Jakmile se absorbuje v těle člověka, má velmi dlouhý biologický poločas odhadovaný na 17-30 let [17].

2.2 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

Základem hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) je spojení indukčně vázaného plazmatu s hmotnostní spektrometrií, kde indukčně vázané plazma (ICP) slouží jako budicí zdroj a zároveň jako zdroj iontů pro hmotnostní spektrometr. Hmotnostní spektrometr následně rozděljuje a deteguje ionty podle jejich hmotnosti [18]. Tato metoda je v dnešní době stále více využívána díky své výborné citlivosti, dobré přesnosti a správnosti [19]. Také vykazuje vysokou univerzálnost a rychlost analýzy, důležitou oblastí uplatnění jsou kombinace s chromatografickými (GC, LC, IC) a elektromigračními metodami (CE) pro speciální analýzy prvků [20].

Princip ICP-MS obnáší vnesení vzorku do plazmového hořáku s elektromagnetickým polem o vysoké frekvenci, kde je udržováno argonové plazma o teplotě 6 000-10 000 K. V analytickém kanálu plazmatu dochází k vypaření vzorku, jeho atomizaci a ionizaci. Ionty dále z analytického kanálu putují otvorem v kuželovitém sampleru do předvakua a z tohoto plazmového paprsku prochází část otvorem kuželovitého skimmeru do vakua v hmotnostním spektrometru s elektromagnetickými čočkami. Z iontové optiky jsou ionty zaneseny do analyzátoru. Ten může rozdělit ionty podle poměru m/z v čase (průletový analyzátor, TOF), v prostoru (sektorový analyzátor) či vyfiltruje ionty vybraného poměru m/z (kvadrupólový analyzátor). Putování nabitých částic končí průchodem iontů z analyzátoru do detektoru, jímž je nejčastěji elektronásobič, který dopadající ionty převádí na elektrický signál [20].

2.2.1 Aplikace

Oblast užití techniky ICP-MS je velmi široká a stále se rozšiřuje. Hlavním polem působnosti se stala analýza vzorků životního prostředí, a to především stanovování stopových prvků například v pitné, podzemní a mořské vodě, odpadní vodě, sedimentech, půdách i tuhých odpadech [21]. Vývoj nové instrumentace a kombinace ICP-MS s chromatografickými a elektroforetickými separacemi otvírá další možnosti využití metody v environmentální analýze, jako jsou analýzy halogenovaných organických sloučenin, pesticidů či ropných produktů [22].

Rychle se rozvíjejícím okruhem použití metody je biomedicína, neboť ICP-MS poskytuje rychlou a finančně efektivní cestu pro analýzy v toxikologii, patologii a forenzních vědách. Příkladem takových analýz jsou stanovení metaloproteinů, toxických prvků, jakými jsou olovo, kadmium a arzen, v moči a krvi a sledování hodnot nutričních

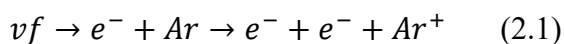
prvků, například železa, mědi a zinku. Dalšími možnostmi upotřebení jsou nejen stanovení prvků vzácných zemin v geologických vzorcích, ale i charakterizace jaderného materiálu a kontrola radioaktivního odpadu v jaderném průmyslu, který využívá důležité vlastnosti ICP-MS, a to konkrétně schopnosti rozlišení jednotlivých izotopů chemických prvků [21, 23].

2.2.2 Indukčně vázané plazma

Plazma bývá často oprávněně označováno jako čtvrté skupenství hmoty. Jeho vlastnosti jsou totiž od kapalin a plynů velmi odlišné. Příkladem takové vlastnosti je přítomnost volných nosičů náboje, neboť plazma tvoří směs elektronů, iontů a neutrálních částic. Navenek se však chová jako elektricky neutrální. Volné nosiče náboje plazmatu umožňují reagovat na elektrická a magnetická pole. Právě tyto pole ovlivňují jeho vlastnosti [20].

Od 80. let dvacátého století se v chemických analýzách využívá indukčně vázaného plazmatu, a to jako budicího zdroje například pro techniky ICP-OES a ICP-MS. Obvykle je pro tvorbu ICP využíváno vzácných plynů, především argonu. Argon netvoří stabilní sloučeniny, má jednoduché spektrum, nemusí disociovat na atomy [20] a jeho ionizační energie je velmi vysoká (15,8 eV), což umožňuje úspěšně ionizovat téměř všechny prvky s výjimkou například fluoru, helia nebo neonu [20, 24]. Ke vzniku plazmatu dochází v iontovém zdroji, kterým prochází tři argonové toky. Patří mezi ně vnější plazmový, s průtokem 10-20 l/min a vytvářející náboj, střední plazmový, o průtoku do 1 l/min a stabilizující náboj, a nosný o průtoku zhruba 1 l/min, který vytváří analytický kanál a vnáší aerosol vzorku [20, 23].

Plazma je zažehnuto jiskrovým výbojem z Teslova transformátoru. Uvolněné elektrony jsou posléze urychleny *vf* elektromagnetickým polem indukční cívky, vyrobené z mědi a chlazené vodou, čímž dochází k lavinovité ionizaci argonu [20, 23, 25]. Ionizaci popisuje rovnice 2.1 [20].



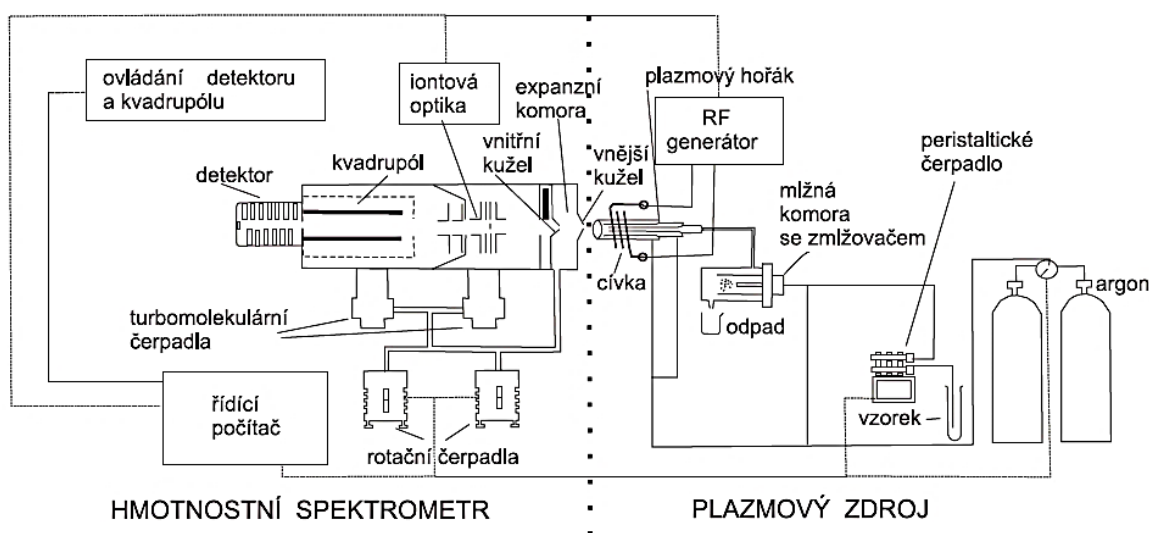
Takto ionizovaný plyn dále prochází plazmovou hlavicí. V prostoru indukční cívky vzniká sekundární *vf* proud, jenž způsobí zahřátí plynu na teplotu, kdy přechází v plazma [20]. Teplota plazmatu může dosáhnout hodnoty až 10 000 K a je udržováno indukovaným *vf* proudem.

Energie plazmatu je tak vysoká, že dochází k úplnému rozkladu molekul vzorku [26], vneseného například jako aerosol. Vzorek se velmi rychle desolvatuje, odpařuje, atomizuje

a nakonec ionizuje. U většiny prvků dochází k ionizaci do prvního stupně, a to s účinností blízké 100 %. Některé prvky mohou přecházet do stavu iontu s nábojem větším než +1, nicméně jejich četnost je velmi nízká [27]. Množství a zastoupení jednotlivých iontů analytu závisí především na energii oscilujících elektronů v plazmatu [24].

2.2.3 Instrumentace

Základními částmi ICP-MS instrumentace bývají zařízení pro přívod vzorku, iontový zdroj, rozhraní (interface) mezi iontovým zdrojem a hmotnostním spektrometrem, vlastní hmotnostní spektrometr, tvořený iontovou optikou, kvadrupólem a detektorem, vakuový systém a řídicí jednotka (počítač). Schéma zapojení instrumentace ukazuje Obr. 2.1 [20, 24].



Obr. 2.1 Schéma hmotnostního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem (převzato z [24])

2.2.3.1 Vnášení vzorku do ICP-MS

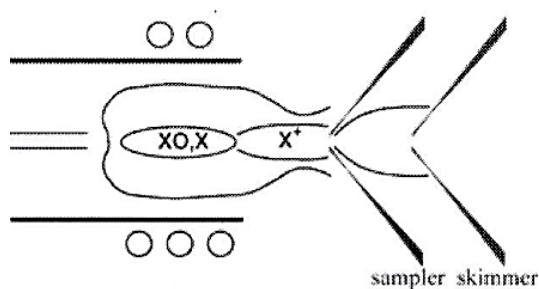
Vzorky jsou do plazmového zdroje vnášeny proudem argonu. Plyny a těkavé sloučeniny jsou vnášeny do argonu přímo pomocí dávkovacího kohoutu, kapalné vzorky je nutné zmlžit a vnést do plazmatu ve formě aerosolu. K tvorbě aerosolu se nejčastěji využívají pneumatické zmlžovače v kombinaci s chlazenou mlžnou komorou pro odstranění větších kapének aerosolu. U pevných látek bývá nutné jejich přímé převedení do roztoku nebo po vytavení či mineralizaci [20, 24].

2.2.3.2 Iontový zdroj

Iontový zdroj pro ICP-MS, do něhož je vnášen vzorek, tvoří několik částí: plazmová hlavice, radiofrekvenční generátor a indukční cívka. Plazmová hlavice sestává ze tří soustředných křemenných trubic, skrz které proudí tok argonu, a je uložena horizontálně, v ose dalšího zpracování iontů. Okolo špičky největší trubice je obehnána indukční cívka se třemi až šesti závitů, jenž je napájena RF generátorem produkující napětí v hodnotách mezi 1,5 až 2,5 kW a při 27 nebo 40 MHz [27].

2.2.3.3 Rozhraní (interface) mezi iontovým zdrojem a hmotnostním spektrometrem

Interface je jednou z nejlépe namáhanou částí přístroje, která je v přímém kontaktu s plazmatem. Zajišťuje oddělení hlavního toku argonu od středního toku atomů a iontů analyzovaného vzorku, který již vstupuje do vlastního spektrometru. Obvykle je tvořen dvěma kužely nazvanými sampler a skimmer. Ty jsou vyrobeny z tepelně vodivých materiálů chlazených vodou, jako jsou Ni a Pt. V prostoru mezi kužely je pomocí vývěvy udržován tlak o přibližné hodnotě 500 Pa. Obr. 2.2 zobrazuje schéma rozhraní [20].



Obr. 2.2 Schéma interface

2.2.3.4 Hmotnostní spektrometr

Hmotnostní spektrometr se skládá ze tří základní části, mezi které patří iontová optika, analyzátor iontů a detektor. Po opuštění interface prochází iontový paprsek nejdříve iontovou optikou, která má za úkol z iontového paprsku odstranit fotony, elektroneutrální částice a ionty způsobující zvýšení šumu detektoru. Elektroneutrální částice a fotony jsou odstraněny pomocí kovového terčiku, o který se zastaví. Analyzované ionty jsou iontovými čočkami vychýleny ze své dráhy a usměrněny tak, aby se mechanické překážce vyhnuly, a zároveň vytvořily souvislý proud. Takto zaostřený iontový svazek putuje do analyzátoru iontů, nejčastěji kvadrupólového separátoru. Některé ICP-MS přístroje obsahují separátory průletové, statické sektorové nebo iontovou past [20, 24].

Kvadrupólový separátor je tvořen čtyřmi kovovými tyčemi, obvykle z molybdenu. Oscilace jejich elektromagnetického pole vyvolává pohyb iontů směrem k detektoru. Pracuje také jako filtr, umožňuje projít pouze iontům o daném poměru m/z . Frekvence oscilací polarity kvadrupólových tyčí je konstantní, avšak amplituda napětí na tyčích se mění, což umožňuje průchod iontů v závislosti na jejich hmotnosti a náboji. Celý proces změny amplitudy probíhá velmi rychle, a tak je analýza celého hmotnostního spektra možná během několika sekund. Ionty, které přes kvadrupólový analyzátor neprošly, se na některé tyči vybijí a jsou z analyzátoru odstraněny vakuovými pumpami [24].

Ionty prošlé kvadrupólem dopadají na detektor, jichž u ICP-MS existuje několik typů. Prvním typem je Faradayův kelímek, který se vyznačuje nízkou citlivostí a velkou časovou konstantou. Proto je používán pro velké iontové toky. Detektory typu elektronového násobiče s kontinuální dynodou a elektronového násobiče s diskrétními dynodami charakterizuje vysoká citlivost s krátkou časovou konstantou. Dalším druhem je detektor obsahující kombinaci scintilátoru a fotonásobiče, ve kterém jsou ionty na konci své dráhy urychleny pomocným elektrickým polem a dopadají na scintilátor. Záblesky scintilátoru následně registruje fotonásobič. Multikolektorové detektory využívají kombinace několika detektorů nebo plošné multikanálové detektory [20].

2.2.3.5 Řídicí jednotka

Jako řídicí jednotka u ICP-MS je používán počítač. Obvykle bývá schopný tří základních operací. První je kontrola hmotnostního spektrometru. Počítač dokáže kontrolovat hmotnostní spektrometr předkládáním hodnot a odchylek rozdílných parametrů. Aby mohl spektrometr řídit a kontrolovat, je nutné použití rozhraní převádějícího digitální počítačová data do dat analogových, která spektrometr přijímá. Druhá operace zahrnuje získávání a zpracování dat z hmotnostního spektrometru, kdy počítač zaměřený na hmotnostní spektrometrii registruje data z hmotnostního spektrometru a převádí je například na píky hmotnostního spektra. Třetí operací je interpretace dat [27].

2.2.4 Interference

I přes to, že je získané hmotnostní spektrum jednodušší než spektrum atomové, i u ICP-MS je možné se setkat s interferencemi [24]. Obvykle jsou interference rozlišovány do dvou hlavních skupin: spektrálních a nespektrálních.

U spektrálních se vyskytují interference izobarické, interference způsobené dvojnásobně nabitými ionty či interference polyatomické. Izobarické interference, které jsou zapříčiněny výskytem částic o stejném m/z jako analyt, lze pro přirozené prvky pozorovat v rozmezí hmotností od 36 do 204. Příkladem takové interference je výskyt $^{48}\text{Ca}^+$ při stanovení $^{48}\text{Ti}^+$ nebo výskyt $^{58}\text{Fe}^+$ při stanovení $^{58}\text{Ni}^+$. Izobarické interference je možné předvídat, a tak je možné je eliminovat například použitím variantního izotopu. Další druh interference způsobují vícenásobně nabitě ionty. Ionty s hmotností m_1 a nábojem $+2$ interferují signál na hodnotách $m/z = m_1/2$. Jako příklad lze uvést $^{88}\text{Sr}^{2+}$, který ruší stanovení $^{44}\text{Ca}^+$. Dvojnásobně nabitě ionty tvoří v ICP také například Ca, Ba, Ce, Cr nebo Mo [20].

Polyatomické interference jsou způsobeny kombinacemi dvou nebo více iontů a bývají způsobeny několika faktory. Většinou souvisejí s použitým plynem, složkami matrice ve vzorku, která je zejména u biologických vzorků velmi složitá, nebo průvodním kyslíkem či dusíkem z okolního vzduchu. Příkladem časté spektrální interference jsou interference vyvolané ionty argonu a jejich spojení s ionty dalšími, jako jsou ArH^+ , ArN^+ , ArC^+ , ArO^+ nebo ArCl^+ [21, 28]. Ar^+ , s hmotnostní jednotkou 40, komplikuje stanovení například draslíku a vápníku, tedy izotopů blízkých hodnotě 40. ArAr^+ o hmotnostní jednotce 80 interferuje při stanovení selenu, ArO^+ při stanovení ^{56}Fe . Interference dále může vyvolat přítomnost chloridů, síranů a fosforečnanů. Jako typický příklad se dá uvést stanovení As v roztocích obsahující vysoké koncentrace Cl^- iontů, kdy vzniká částice ArCl^+ interferující s jediným izotopem $^{75}\text{As}^+$. Pro předcházení tohoto typu pozitivní interference se používá jako základní rozpouštědlo roztok HNO_3 [24].

Dalšími existujícími možnostmi, jak zabránit nežádoucím interferencím, je aplikování matematické korekční rovnice a využití kolizně-reakčních cel. Principem použití korekční rovnice je měření intenzity rušivého izotopu v jiném vzorku, který je v ideálním případě prostý jakékoliv interference. Následně, když je znám poměr interferentu ve vzorku analytu ku vzorku jinému, je tato rovnice aplikována a výsledek měření opraven. Kolizně reakční cela využívá iontově-molekulárních kolizí a reakcí k pročištění iontového paprsku předtím, než se dostane do hmotnostního analyzátoru. Tyto cely vykazují velký potenciál pro

odstranění spektrálních interferencí s následnou možností určení množství dříve nekvantifikovatelných izotopů a jejich použití v současnosti ve výzkumu dominuje [21, 28].

Nespektrální interference mohou vyvolat matriční prvky ovlivněním energetických poměrů a ionizační rovnováhy v plazmatu. Platí, že signál lehkého izotopu analytu v izotopově těžké matici je potlačen více, než v případě izotopově těžkého analytu obsaženého v matici izotopově lehké. V případě, že vzorek obsahuje prvky hmotnostně blízké, určuje míru potlačení hodnota ionizačního potenciálu. Prvek s nižším ionizačním potenciálem způsobuje větší potlačení signálu, přičemž záleží také na poměru koncentrace analytu a obsahu matričních prvků. Naopak zvýšení signálu některých prvků může vyvolat přítomnost polárních sloučenin uhlíku, jako například nižších alkoholů a kyseliny octové.

Vliv nespektrálních interferencí je potlačován několika způsoby: metodou standardního přídávku, pomocí interního standardu a metodou izotopového zředování. Metoda standardního přídávku zajišťuje stejné podmínky při měření standardu i vzorku. Jako interní standard je volen izotop blízký svou hmotností a hodnotou ionizačního potenciálu analyzovanému prvku. Zároveň by měl být prvkem, který se v měřeném vzorku nevyskytuje. Nejčastěji bývají používány izotopy ^{115}In , ^{45}Sc , ^{89}Y , ^{209}Bi či ^{103}Rh . Pomocí interního standardu řídicí systém opravuje výchyly změřené koncentrace analytu způsobené nestabilitou přístroje. V případě, že je jako interní standard použit jeden z izotopů analyzovaného prvku, jedná se o metodu izotopového ředění, která poskytuje velmi vysokou přesnost stanovení [24].

2.2.5 Srovnání s dalšími spektrometrickými metodami

V porovnání s ostatními spektrometrickými metodami poskytuje ICP-MS velmi nízké meze detekce. U řady prvků se mez detekce pohybuje obvykle v desetinách ppb, u těžkých kovů v jednotkách ppt [24]. Meze detekce se nepřetržitě zlepšují, v kombinaci s kolizně-reakční celou je možné změřit koncentrace dokonce v ppq [21]. Analytickou citlivost pro jednotlivé prvky zobrazuje Obr. 2.3 (viz strana 18) [27]. Metoda ICP-MS předčí mnoho podobných metod také díky svému poměrně širokému dynamickému rozsahu. Ten může v určitých případech překrývat i více než osm řádů koncentrací [24].

Co se týče schopnosti analyzovat několik prvků zároveň, metoda ICP-MS obvykle zvládne simultánně stanovit 20-30 prvků během pár minut. V případě nutnosti stanovení více analytů je tedy upřednostňována například před F-AAS nebo GF-AAS, které jsou považovány spíše za jednorvkové techniky. U ICP-OES je množství současně

stanovitelných analytů velmi podobné, analýza však může trvat déle v důsledku relativně dlouhých čtecích časů (60-90 s) a navíc dosažené meze detekce často odpovídají metodě F-AAS [21].

1 H																	2 He	
3 * Li	4 * Be											5 * B	6 • C	7 N	8 O	9 - F	10 Ne	
11** Na	12 * Mg											13 * Al	14 • Si	15 - P	16 - S	17 - Cl	18 Ar	
19 - K	20 • Ca	21** Sc	22** Ti	23** V	24** Cr	25** Mn	26** Fe	27** Co	28** Ni	29** Cu	30** Zn	31** Ga	32** Ge	33** As	34** Se	35 • Br	36 Kr	
37** Rb	38** Sr	39** Y	40** Zr	41** Nb	42** Mo	43** Tc	44** Ru	45** Rh	46** Pd	47** Ag	48** Cd	49** In	50** Sn	51** Sb	52** Te	53** I	54 Xe	
55** Cs	56** Ba	57** La	72** Hf	73** Ta	74** W	75** Re	76** Os	77** Ir	78** Pt	79 Au	80 Hg	81** Tl	82** Pb	83** Bi	84 Po	85 At	86 Rn	
87 Fr	88 Ra	89 Ac																
			58** Ce	59** Pr	60** Nd	61 Pm	62** Sm	63** Eu	64** Gd	65** Tb	66** Dy	67** Ho	68** Er	69** Tm	70** Yb	71** Lu		
			90** Th	91 Pa	92** U	93 Np	94 Pu	95 Am	96 Cm	97 Bk	98 Cf	99 Es	100 Fm	101 Md	102 No	103 Lr		

□**	0.001–0.01 µg l ⁻¹	□•	0.1–1 µg l ⁻¹	□-	>10 µg l ⁻¹
□*	0.001–0.1 µg l ⁻¹	□•	1–10 µg l ⁻¹	□	údaj není k dispozici

Obr. 2.3 Analytická citlivost ICP-MS pro jednotlivé prvky

Z finančního hlediska patří ICP-MS mezi metody dražší, a to nejen kvůli pořizovací ceně přístroje, ale také kvůli ceně za spotřebovaný argon (15-20 l/min), elektrickou energii nutnou pro chod instrumentace a klimatizace a za nezbytné vybavení laboratoře. Vakuová čerpadla běžně setrvávají v chodu, přístroj tedy spotřebovává elektrickou energii, i když právě neměří. Z Tab. 2.3 poskytující porovnání ročních výdajů za provoz techniky a relativní ceny za stanovení vzorků u ICP-MS a několika dalších spektrometrických technik vyplývá, že diskutovaná metoda je pro provoz podstatně finančně náročnější [24].

Tab. 2.3 Srovnání ročních nákladů na provoz, relativní cena za stanovení 1 či n prvků u ICP-MS a dalších spektrometrických metod

Metoda	F-AAS	GF-AAS	ICP-OES	ICP-MS
Cena ročního provozu [tis. Kč]	80	150	250	400
Počet analyzovaných prvků	1	1	<i>n</i>	<i>n</i>
Relativní cena za vzorek	1	30	70	100

Vzhledem k náročnosti metody a také tomu, že je ICP-MS oproti ostatním porovnávaným postupům poměrně novou metodikou, bývá vyžadována i vyšší úroveň dovedností pracovníka obsluhujícího přístroj [21].

2.3 Předchozí výzkum

Pozorováním úrovně koncentrací těžkých kovů v životním prostředí za pomoci pěvců jako bioindikátorů se v uplynulých letech zabývalo již několik odborných článků. Využívání ptačích tkání ke stanovení těžkých kovů zmiňují například J. Burger a M. Gochfeld v článku *On developing bioindicators for human and ecological health* (Environmental monitoring and assessment, 2001), N. Bianchi a kol. v článku *Cadmium, lead and mercury levels in feathers of small passerine birds: noninvasive sampling strategy* (Environmental toxicology and chemistry, 2008) nebo také M. Coeurdassier a kol. v *Partitioning of Cd and Pb in the blood of European blackbirds (Turdus merula) from a smelter contaminated site and use for biomonitoring* (Chemosphere, 2012) [5].

Tématem kontaminace sýkor koňader a sýkor modřinek se zabývá T. Dauwe a kol. ve svém článku *Great and blue tit feathers as biomonitors for heavy metal pollution* (Ecological Indicators, 2002) či M. Eens a kol. v *Great and blue tits as indicators of heavy metal contamination in terrestrial ecosystems* (Ecotoxicology and Environmental Safety, 1999). Z prací českých autorů se této oblasti věnuje například P. Bauerová a kol. v článku *Associations of urban environmental pollution with health-related physiological traits in free-living bird species* (Science of the Total Environment, 2017) [5].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Používané chemikálie

- deionizovaná voda (<0.2 mS/cm)
- kyselina dusičná 65% (Honeywell, USA)
- peroxid vodíku 30% (Analytika, ČR)
- certifikovaný referenční materiál Seronorm 1406264 Trace Elements Whole Blood L-2 (Sero, Norsko)
- standardní roztok As o koncentraci 1000 mg/l, matrice 2% kyselina dusičná (Sigma-Aldrich, USA)
- standardní roztok Ca²⁺ iontů o koncentraci 1000 mg/l, matrice kyselina chlorovodíková (BDH Chemicals, Anglie)
- standardní roztok Cd o koncentraci 1000 mg/l, matrice 2% kyselina dusičná (Analytika, ČR)
- standardní roztok Cu o koncentraci 1000 mg/l, matrice 2% kyselina chlorovodíková (Analytika, ČR)
- standardní roztok Ni o koncentraci 1000 mg/l, matrice 2% kyselina chlorovodíková (Analytika, ČR)
- standardní roztok Pb o koncentraci 1000 mg/l, matrice 2% kyselina dusičná (Analytika, ČR)
- standardní roztok Zn o koncentraci 1000 mg/l, matrice 2% kyselina dusičná (Analytika, ČR)
- standardní roztok Rh o koncentraci 1000 mg/l, matrice 5% kyselina chlorovodíková (Fluka Analytical, USA)

3.2 Používané přístroje a zařízení

- zařízení pro přípravu deionizované vody (Watrex, Ultrapur, USA)
- analytické váhy ABT 220-5DM (Kern, Německo)
- analytické váhy R 160 P (Sartorius, Německo)

- zařízení pro mikrovlnný rozklad UltraWAVE (Milestone, Itálie)
- hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem 8900 ICP-MS Triple Quad (Agilent Technologies, USA)
- automatický dávkovač vzorků SPS 4 Autosampler s ISIS 3 dávkovacím zařízením (Agilent Technologies, USA)

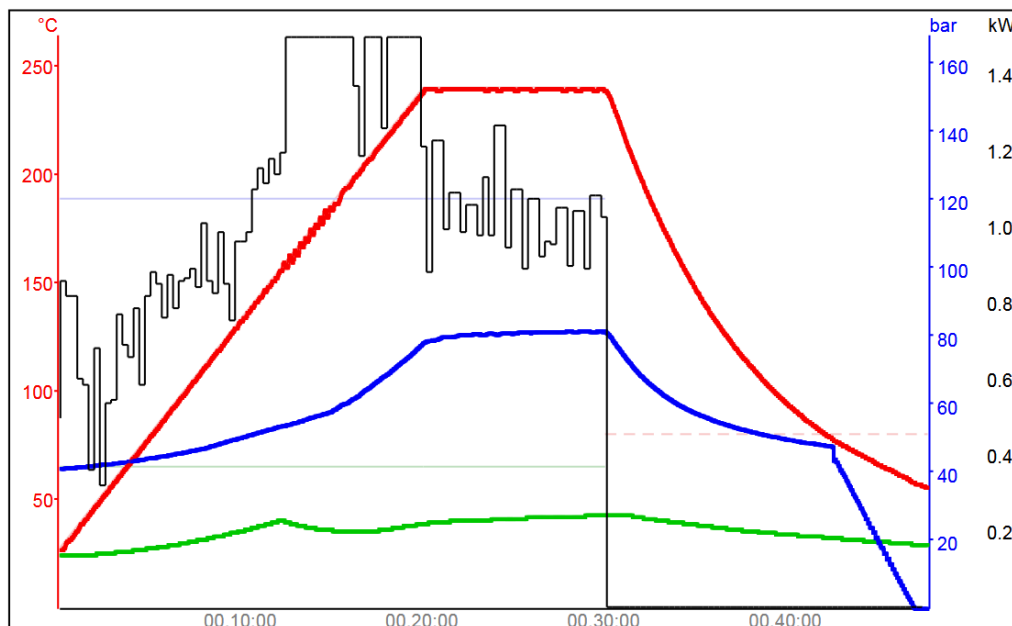
3.3 Postup prací

3.3.1 Příprava vzorků ke stanovení

Jednotlivé plastové mikrozkušavky (Eppendorf) obsahující sušené krevní vzorky sýkor koňader byly zváženy na analytických vahách ABT 220-5DM Kern a byly rozděleny do 38 sérií, které čítaly vždy 12 až 13 vzorků a 2 až 3 blanky (pro rozklad). Do mikrozkušavek byl napipetován 1 ml kyseliny dusičné a po uvolnění vzorků od stěn mikrozkušavek byly vzorky převedeny do křemenných zkumavek vhodných pro zvolený způsob rozkladu. Pro zajištění kvantitativního převedení vzorků byl do mikrozkušavek napipetován ještě 1 ml deionizované vody a jejich obsah byl po důkladném protřepání taktéž převeden do křemenných zkumavek. Dále bylo do zkumavek pro rozklad pipetováno 500 μ l peroxidu vodíku. Blanky byly připraveny do křemenných zkumavek pipetováním 1 ml kyseliny dusičné, 1 ml deionizované vody a 500 μ l peroxidu vodíku. Všechny zmíněné úkony, kromě vážení vzorků, byly vykonávány ve speciálním zařízení (flow boxu), aby bylo zabráněno jejich případné kontaminaci. Prázdné vyschlé mikrozkušavky byly opět zváženy. Z rozdílů hmotností byly zjištěny hmotnosti vzorků. Informace o rozdělení vzorků do sérií a hmotnostech vzorků poskytuje Tab. 3.1 (viz Příloha 1). Ve 21. sérii byly na první tři místa vloženy certifikované referenční vzorky Seronorm 1406264 Trace Elements Whole Blood L-2, aby byla posléze při měření ověřena jeho správnost. Tento certifikovaný referenční materiál byl nejprve rekonstituován. Do lahvičky s pevným vzorkem krve byly dle dodaného návodu připipetovány přesně 3 ml deionizované vody a za jemného míchání po dobu 30 minut byl veškerý pevný vzorek rozpuštěn. Z této lahvičky pak byly připraveny tři referenční vzorky (každý 1 ml), ke kterým byl přidán 1 ml kyseliny dusičné a 500 μ l peroxidu vodíku.

Tab. 3.1 Rozdělení vzorků do sérií, jejich označení a hmotnosti jednotlivých vzorků (viz Příloha 1)

Rozklad vzorků probíhal po jedné sérii (maximálně 15 vzorků v jedné sérii) v přístroji pro mikrovlnný rozklad UltraWAVE Milestone s maximálním výkonem 1500 W, při maximálním tlaku 80 bar a s maximální teplotou 240°C. Příklad průběhu rozkladu, konkrétně pro 35. sérii, zobrazuje Obr. 3.1.



Obr. 3.1 Průběh rozkladu vzorků (35. série)

Rozložené vzorky byly kvantitativně převedeny z křemenných zkumavek do 15ml plastových zkumavek a jejich obsah byl doplněn deionizovanou vodou na objem 10 ml. Pro snížení rizika kontaminace bylo převedení rozložených vzorků do plastových zkumavek rovněž prováděno ve flow boxu. Tyto zkumavky s rozklady vzorků pak byly přímo využity pro měření na ICP-MS.

3.3.2 Příprava kalibračních roztoků

Příprava kalibračních roztoků sestávala ze tří bodů, a to z přípravy dvou směsných standardů a kalibrační řady roztoků. Nejdříve byl do 100ml odměrné baňky připraven 1. směsný standard. Ten byl přichystán pipetováním 2,5 ml standardního roztoku Cu^{2+} , 0,5 ml standardního roztoku Pb, 0,25 ml standardního roztoku As, 0,25 ml standardního roztoku Ni a 0,1 ml standardního roztoku Cd (vše o koncentraci 1000 mg/l). Dále bylo do odměrné baňky přidáno 1,1 ml kyseliny dusičné a byla doplněna deionizovaná voda na konečný objem 100 ml. Jednotlivé složky 1. směsného standardu byly zváženy na analytických vahách R 160 P Sartorius. Výsledné koncentrace Cu, Pb, As, Ni a Cd,

pipetovaná množství standardních roztoků a kyseliny dusičné a také hmotnost jednotlivých složek udává Tab. 3.2.

Tab. 3.2 Složení 1. směsného standardu a hmotnosti jeho složek

Složka	Cílová koncentrace [mg/l]	Objem [ml]	Navážka [g]
Cu	25	2,5	2,4902
Pb	5,0	0,5	0,5108
As	2,5	0,25	0,2579
Ni	2,5	0,25	0,2513
Cd	1,0	0,1	0,0972
HNO ₃	-	1,1	1,5103
DIV	-	-	94,8288

Následně byl do plastové 50ml zkumavky připraven 2. směsný standard, který vznikl pipetováním 0,5 ml 1. směsného standardu, 0,075 ml standardního roztoku Zn a 0,075 ml standardního roztoku Ca. Poté bylo do zkumavky pipetováno 5 ml kyseliny dusičné a deionizovanou vodou byl doplněn objem zkumavky na konečných 50 ml. Jednotlivé složky 2. směsného standardu byly rovněž zváženy na analytických vahách R 160 P Sartorius. Tab. 3.3 (viz strana 24) podává informace o konečných koncentracích Zn, Ca, Cu, Pb, As, Ni a Cd, pipetovaných objemech jednotlivých složek 2. směsného standardu a navážky těchto složek.

Tab. 3.3 Složení 2. směsného standardu, hmotnosti jeho složek a cílové koncentrace prvků

Složka	Prvek 2. standardu	Cílová koncentrace prvku [$\mu\text{g/l}$]	Objem [ml]	Navážka [g]
Zn	-	1500	0,075	0,0706
Ca	-	1500	0,075	0,0711
1. směsný standard			0,500	0,5016
	Cu	250	-	-
	Pb	50	-	-
	As	25	-	-
	Ni	25	-	-
	Cd	10	-	-
HNO ₃	-	-	5,000	6,8897
DIV	-	-	-	44,3725

Dále byla připravena řada obsahující 6 kalibračních roztoků, z nichž 1. kalibračním roztokem byl blank. Všechny tyto roztoky byly připraveny do 50ml plastových zkumavek, přičemž blank byl zhotoven pipetováním 5 ml kyseliny dusičné a doplněním objemu na 50 ml deionizovanou vodou. 2. až 5. roztok kalibrační řady obsahoval dané množství 2. směsného standardu a kyseliny dusičné. Poté byly jejich objemy doplněny deionizovanou vodou na 50 ml. 6. kalibračním roztokem byl samotný 2. směsný standard. Tab. 3.4 (viz strana 25-27) informuje o pipetovaných množstvích 2. směsného standardu a kyseliny dusičné do jednotlivých roztoků kalibrační řady, zároveň udává hmotnosti jednotlivých složek a cílové koncentrace prvků obsažených ve 2. směsném standardu.

Tab. 3.4 Složení jednotlivých roztoků kalibrační řady, hmotnosti jejich složek, cílové koncentrace prvků

<u>Kalibrační roztok 1</u>				
Složka	Prvek 2. standardu	Cílová koncentrace prvku [μg/l]	Objem [ml]	Navážka [g]
2. směsný standard	-	-	-	-
	Zn	-	-	-
	Ca	-	-	-
	Cu	-	-	-
	Pb	-	-	-
	As	-	-	-
	Ni	-	-	-
	Cd	-	-	-
HNO ₃	-	-	5,0	6,9260
DIV	-	-	-	44,3711
<u>Kalibrační roztok 2</u>				
Složka	Prvek 2. standardu	Cílová koncentrace prvku [μg/l]	Objem [ml]	Navážka [g]
2. směsný standard	-	-	0,1	0,1054
	Zn	3,0	-	-
	Ca	3,0	-	-
	Cu	0,5	-	-
	Pb	0,1	-	-
	As	0,05	-	-
	Ni	0,05	-	-
	Cd	0,02	-	-
HNO ₃	-	-	5,0	6,9311
DIV	-	-	-	44,5036

Kalibrační roztok 3

Složka	Prvek 2. standardu	Cílová koncentrace prvku [µg/l]	Objem [ml]	Navážka [g]
2. směsný standard	-	-	0,4	0,4181
	Zn	12	-	-
	Ca	12	-	-
	Cu	2,0	-	-
	Pb	0,4	-	-
	As	0,2	-	-
	Ni	0,2	-	-
	Cd	0,08	-	-
HNO ₃	-	-	5,0	6,9251
DIV	-	-	-	44,2399

Kalibrační roztok 4

Složka	Prvek 2. standardu	Cílová koncentrace prvku [µg/l]	Objem [ml]	Navážka [g]
2. směsný standard	-	-	2,0	2,1279
	Zn	60	-	-
	Ca	60	-	-
	Cu	10	-	-
	Pb	2,0	-	-
	As	1,0	-	-
	Ni	1,0	-	-
	Cd	0,4	-	-
HNO ₃	-	-	5,0	6,9068
DIV	-	-	-	42,5668

Kalibrační roztok 5

Složka	Prvek 2. standardu	Cílová koncentrace prvku [$\mu\text{g/l}$]	Objem [ml]	Navážka [g]
2. směsný standard	-	-	10	10,5013
	Zn	300	-	-
	Ca	300	-	-
	Cu	50	-	-
	Pb	10	-	-
	As	5,0	-	-
	Ni	5,0	-	-
	Cd	2,0	-	-
HNO ₃	-	-	4,0	5,5317
DIV	-	-	-	35,5690

Kalibrační roztok 6

Složka	Prvek 2. standardu	Cílová koncentrace prvku [$\mu\text{g/l}$]	Objem [ml]	Navážka [g]
2. směsný standard	-	-	-	-
	Zn	1500	-	-
	Ca	1500	-	-
	Cu	250	-	-
	Pb	50	-	-
	As	25	-	-
	Ni	25	-	-
	Cd	10	-	-
HNO ₃	-	-	-	-
DIV	-	-	-	-

3.3.3 Měření

Měření vzorků proběhlo na přístroji 8900 ICP-MS Triple Quad Agilent. Pro zjištění koncentrací mědi bylo využito He módu reakční cely pro odstranění možných interferencí způsobených především ArNa^+ a SiCl^+ . U měření koncentrace Cd ve vzorcích byl u reakční cely použit no gas mód, neboť v případě tohoto prvku nedochází k žádným závažným interferencím. Další nastavené parametry měření ukazuje Tab. 3.5. Jako interní standard pro korekci změn citlivosti bylo použito ^{103}Rh (5 $\mu\text{g/l}$) v 1% HNO_3 . Tento roztok byl přimícháván pomocí T-spoje k roztokům vzorků před zmlžováním do mlžné komory.

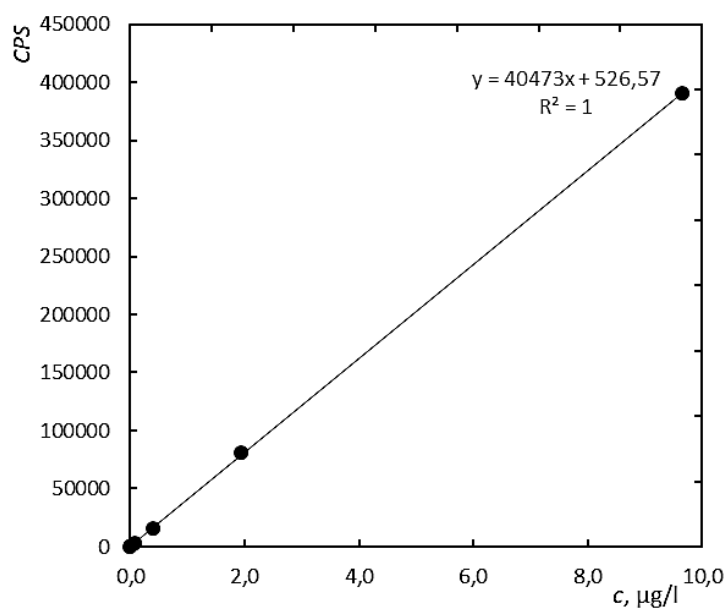
Tab. 3.5 Parametry měření

Parametr	Hodnota
Výkon	1550 W
Hloubka vzorkování	8 mm
Průtok Ar pro zmlžování	0,6 l/min
Průtok ředicího Ar	0,53 l/min
Rychlost peristaltického čerpadla	0,1 rps (0,35 ml/min nosič, 0,07 ml/min interní standard)
Teplota mlžné komory	2 °C
Mód kolizní cely (průtok plynu)	no gas mód (0 ml/min) He mód (4,8 ml/min)

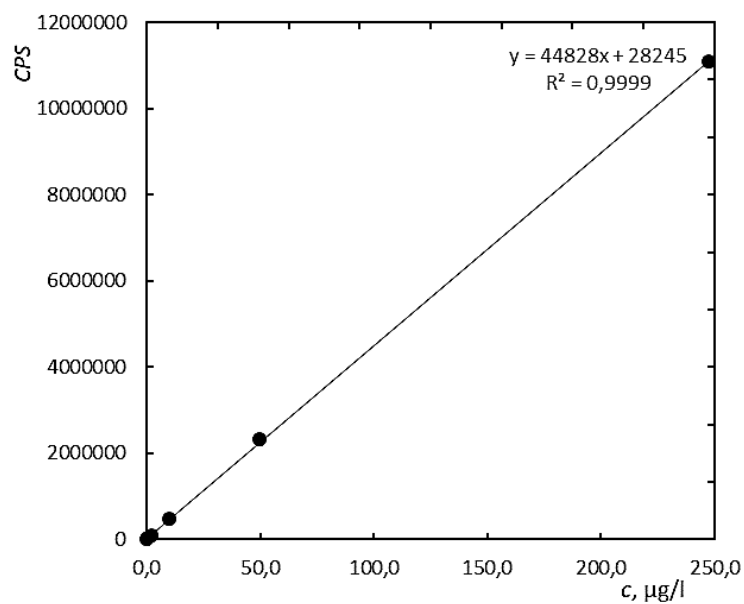
4 VÝSLEDKOVÁ ČÁST

4.1 Kalibrační závislost

Změřením koncentrací kadmia a mědi v kalibračních roztocích, jejichž koncentrace se pohybovaly pro kadmium od 0 $\mu\text{g/l}$ do 10 $\mu\text{g/l}$ a pro měď od 0 $\mu\text{g/l}$ do 250 $\mu\text{g/l}$, byly získány kalibrační závislosti. Kalibrační závislost pro stanovení koncentrace kadmia zobrazuje Obr. 4.1, pro stanovení koncentrace mědi Obr. 4.2.



Obr. 4.1 Kalibrační závislost pro stanovení kadmia



Obr. 4.2 Kalibrační závislost pro stanovení mědi

4.2 Mez detekce, mez stanovitelnosti

Meze detekce (LOD) a meze stanovitelnosti (LOQ) byly vypočteny z 11 vybraných blanků (pro rozklad) jako $(3 \times SD)/\text{citlivost}$ pro LOD a $(10 \times SD)/\text{citlivost}$ pro LOQ pro každý den měření. Jejich hodnoty pro stanovení kadmia i mědi udává Tab. 4.1.

Tab. 4.1 Hodnoty LOD a LOQ pro stanovení Cd a Cu pro každý den měření

Den měření	LOD pro Cd [$\mu\text{g/l}$]	LOD pro Cu [$\mu\text{g/l}$]	LOQ pro Cd [$\mu\text{g/l}$]	LOQ pro Cu [$\mu\text{g/l}$]
1.	0,0040	0,15	0,0140	0,50
2.	0,0008	0,10	0,0025	0,33

4.3 Referenční vzorky

Pomocí výsledků koncentrací kadmia a mědi v referenčních vzorcích Seronorm 1406264 Trace Elements Whole Blood L-2 byla zjištěna správnost měření porovnáním průměru naměřených hodnot s hodnotami, které jsou uvedeny v certifikátu. Hodnoty průměrů koncentrací a hodnoty certifikovaných koncentrací jsou zapsány v Tab. 4.2.

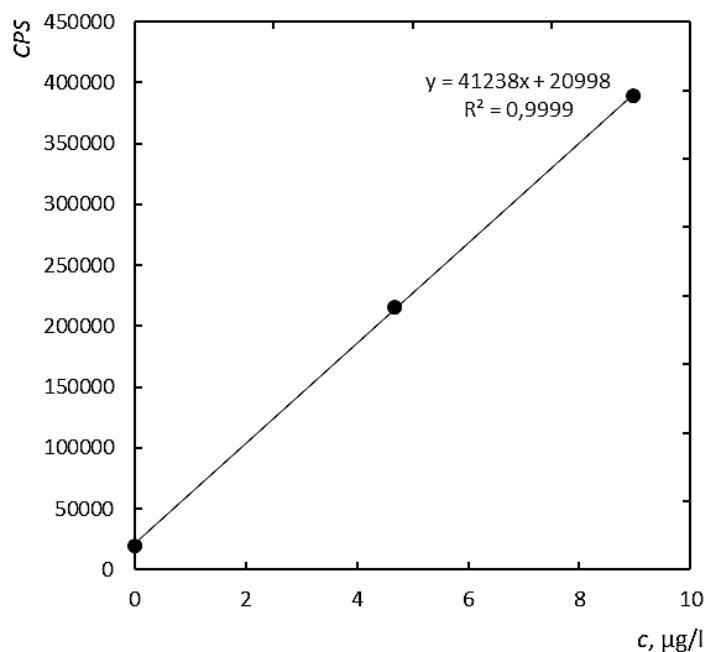
Tab. 4.2 Koncentrace Cd a Cu v Seronorm 1406264 Trace Elements Whole Blood L-2 a získané koncentrace těchto prvků během měření

Koncentrace Cd uvedená výrobcem [$\mu\text{g/l}$]	Koncentrace Cu uvedená výrobcem [mg/l]	Koncentrace Cd změřená [$\mu\text{g/l}$]	Koncentrace Cu změřená [mg/l]
$5,01 \pm 1,01$	$1,34 \pm 0,27$	$5,37 \pm 0,05$	$1,30 \pm 0,03$

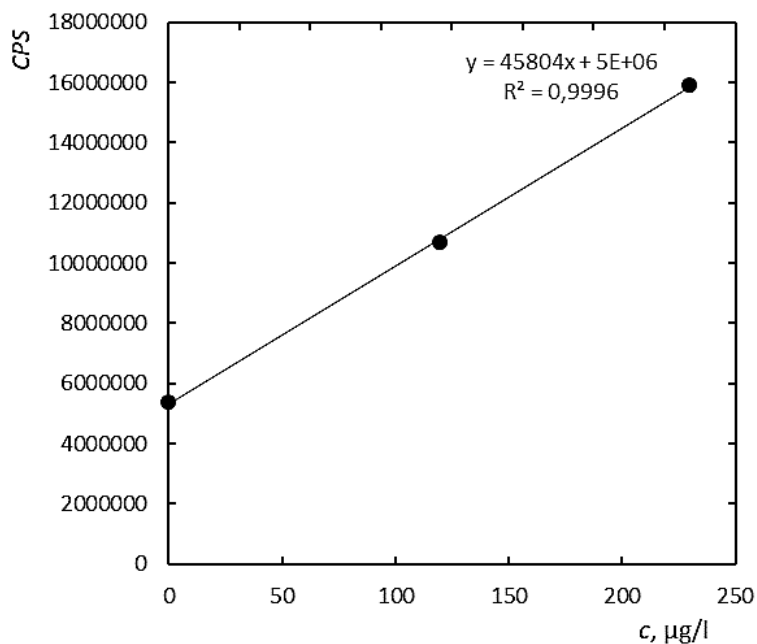
Měření bylo vyhodnoceno jako správné, neboť se změřené koncentrace v referenčních vzorcích pohybovaly v doporučených rozmezech.

Dále byla pro certifikovaný vzorek ověřena výtěžnost (tzv. recovery). Ke vzorkům bylo připraveno dané množství standardů tak, aby koncentrace standardního přídatku činily $4,5 \mu\text{g/l}$ a $9 \mu\text{g/l}$ pro Cd a $120 \mu\text{g/l}$ a $230 \mu\text{g/l}$ pro Cu. Ze získaných směrnic těchto přídatků (Obr. 4.3 a Obr. 4.4, viz strana 31) byla vypočtena výtěžnost jako poměr citlivosti

standardního přídatku a externí kalibrační závislosti (viz Obr. 4.1 a 4.2. str. 29).
O hodnotách výtěžnosti měření vzorku informuje Tab. 4.3 (viz strana 32).



Obr. 4.3 Graf závislosti standardního přídatku pro kadmium



Obr. 4.4. Graf závislosti standardního přídatku pro měď

Tab. 4.3 Hodnoty výtěžnosti měření

Výtěžnost pro Cd [%]	Výtěžnost pro Cu [%]
102±1,3	102±2,2

Hodnoty výtěžnosti, blízké 100 %, opět dokazují správnost měření. Nedošlo tedy k závažným nespektrálním interferencím či tyto interference byly správně korigovány použitím zvoleného interního standardu ^{103}Rh .

4.4 Koncentrace kadmia a mědi ve vzorcích krve

Díky získané kalibrační závislosti a zjištění správnosti měření byly získány koncentrace kadmia a mědi vzorků. Dále byly vypočítány zředovací faktory (DF) pro jednotlivé vzorky ze vztahu:

$$DF = \frac{V}{m} \quad (3.1)$$

kde V představuje konečný objem vzorku a m navážku vzorku krve.

Naměřené hodnoty koncentrací v každé sérii rozkladu byly korigovány na průměrnou hodnotu koncentrace v blanku v každé sérii. Tento rozdíl byl následně vynásoben příslušnou hodnotou DF pro každý vzorek, a tím byly získány koncentrace kadmia a mědi v jednotkách ng/g vzorku v původních vzorcích sušené krve. Výsledky těchto koncentrací jsou zapsány v Tab. 3.1 (viz Příloha 1).

5 ZÁVĚR

V rámci této bakalářské práce bylo vykonáno stanovení těžkých kovů ve vzorcích krve sýkor koňader z různých oblastí Evropy, konkrétně se jednalo o prvky kadmium a měď. K měření bylo využito metody hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.

Vzorky byly rozděleny do jednotlivých sérií, zváženy, rozloženy v mikrovlnném rozkladném zařízení a zředěny. Následně byly ve vzorcích změřeny koncentrace kadmia a mědi, čemuž předcházelo sestavení kalibrační závislosti, získání hodnot LOD a LOQ, zjištění správnosti měření pomocí stanovení koncentrací kadmia a mědi v referenčních vzorcích a ověření výtěžnosti. Po vyhodnocení byly koncentrace zmíněných těžkých kovů přepočteny na jednotku ng/g vzorku.

Rozsah výsledků získaných koncentrací byl značně široký. U kadmia se výsledky koncentrací pohybovaly mezi $2,0 \pm 0$ ng/g až $14,68 \pm 0,46$ $\mu\text{g/g}$. V případě mědi se koncentrace pohybovaly v rozmezí od 92 ± 40 ng/g do 108 ± 21 $\mu\text{g/g}$.

6 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Draszawka-Bołzan, B.: Effect of heavy metals on living organisms, *World Scientific News* 5, 26-34 (2014)
- [2] Dauwe, T; Janssens, E.; Bervoets, L.; Blust, R; Eens, M.: Relationships between metal concentration in great tit nestlings and their environment and food, *Environmental Pollution* 131, 373-380 (2004)
- [3] Burger, J.; Gochfeld, M.: On developing bioindicators for human and ecological health, *Environmental Monitoring and Assessment* 66, 23-46 (2001)
- [4] Furness, R.W.; Greenwood, J.J.D.: *Birds as Monitors of Environmental Change*, London, Chapman & Hall 1993
- [5] Bauerová, P.; Vinklerová, J.; Hraníček, J.; Čorba, V.; Vojtek, L.; Svobodová, J.; Vinkler, M.: Associations of urban environmental pollution with health-related physiological traits in a free-living bird species, *Science of the Total Environment* 601-602, 1556-1565 (2017)
- [6] Costa, R.A; Eeva, T.; Vaqueiro, J.; Vingada, J. V.: Assessing heavy metals pollution using Great Tits (*Parus major*): feathers and excrements from nestlings and adults, *Environmental Monitoring and Assessment* 185, 5339-5344 (2013)
- [7] Coeurdassier, M.; Fritsch, C.; Faivre, B.; Crini, N.; Scheifler, R.: Partitioning of Cd and Pb in the blood of European blackbirds (*Turdus merula*) from a smelter contaminated site and use for biomonitoring, *Chemosphere* 87, 1368-1373 (2012)
- [8] Walker, H.; Sibly, R.M.; Hopkin, S.P.; Peakall, D.B.: *Principles of Ecotoxicology*, 4th edition, Boca Raton, CRC Press 2012
- [9] Kafka, Z.; Punčochářová, J.: Těžké kovy a jejich toxicita, *Chemické listy* 96, 611-617 (2002)
- [10] Järup, L.: Hazards of heavy metal contamination, *British Medical Bulletin* 68, 167-182 (2003)
- [11] Greenwood, N. N.; Earnshaw, A.: *Chemistry of the Elements*, Oxford, Pergamon Press 1984
- [12] Bencko, V.; Cíkr, M.; Lener, J.: *Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka* 2. vydání, Praha, Grada Publishing 1995
- [13] Hefnawy, A.; Elkhayat, H.: The importance of copper and the effects of its deficiency and toxicity in animal health, *International Journal of Livestock Research* 5, 1-20 (2015)
- [14] Bobrowska-Grzesik, E.; Ciba, J.; Grossman, A.; Kluczka, J.; Trojanowska, J.; Zołotajkin, M.: *Chemical Elements Compendium*, Český Těšín, 2 THETA 2013

- [15] *Heavy Metals in Soils* 3rd edition, Alloway, B. J. (edit.), Dordrecht, Springer 2013
- [16] Hill, M. K.: *Understanding Environmental Pollution* 3rd edition, New York, Cambridge University Press 2010
- [17] *Encyclopedia of Environmental Health*, Nriagu, J. O. (edit.), Amsterdam, Elsevier Science 2011
- [18] Němcová, I.; Čermáková, L.; Rychlovský, P.: *Spektrometrické analytické metody I*, Praha, Karolinum 2004
- [19] Becker, J. S.: Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and laser ablation ICP-MS for isotope analysis of long-lived radionuclides, *International Journal of Mass Spectrometry* 242, 183-195 (2005)
- [20] *6. kurz ICP spektrometrie*, Otruba, V. (edit.), Brno, Spektroskopická společnost Jana Marka Marci 2011
- [21] Thomas, R.: *Practical Guide to ICP-MS*, New York, Marcel Dekker 2004
- [22] Pröfrock, D.; Prange, A.: Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry (ICP-MS) for Quantitative Analysis in Environmental and Life Sciences: A Review of Challenges, Solutions, and Trends, *Applied Spectroscopy* 66, 843-868 (2012)
- [23] *Handbook of Spectroscopy 2*, Gauglitz, G. (edit.); Moore, D.S. (edit.), Weinheim, Wiley-VCH 2014
- [24] Michaljevič, M.; Strnad, L.; Šebek, O.: Využití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem v geochemii, *Chemické listy* 98, 123-130 (2004)
- [25] Magyar, B.: *Guide-Lines to Planning Atomic Spectrometric Analysis*, Budapest, Akadémiai Kiadó 1982
- [26] *Advances in Mass Spectrometry* 15, Gelpi, E. (edit.), Chichester, John Wiley & Sons 2001
- [27] de Hoffman, E.; Stroobant, V.: *Mass Spectrometry Principles and Applications* 3rd edition, Chichester, John Wiley & Sons 2007
- [28] Kaňa, A.; Mestek, O.: Použití dynamické reakční cely pro odstranění spektrálních interferencí při měření metodou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, *Chemické listy* 105, 930-937 (2011)

PŘÍLOHA 1

Tato příloha obsahuje Tab. 3.1, jež podává informace o rozdělení vzorků sušené krve sýkor do jednotlivých sérií, jejich označení a navážkách. Rovněž informuje o naměřených koncentracích kadmia a mědi v těchto vzorcích.

Tab. 3.1 Rozdělení vzorků do sérií, jejich označení, hmotnosti jednotlivých vzorků a stanovené koncentrace Cd a Cu v jednotlivých vzorcích po korekci na blank

Číslo vzorku (série/pořadí)	Kód vzorku	Hmotnost vzorku [g]	Koncentrace Cd [ng/g vzorku] (n=5)	Koncentrace Cu [ng/g vzorku] (n=5)
1/1	blank	-	-	-
1/2	blank	-	-	-
1/3	2018-CM-B10	0,01358	287±9	335±13
1/4	2018-CM-B09	0,02013	109±4	277±15
1/5	2018-CM-B08	0,01499	225±7	380±19
1/6	2018-CM-B07	0,00447	840±27	912±34
1/7	2018-CM-B06	0,00522	399±17	833±34
1/8	2018-CM-B05	0,02136	196±8	140±8
1/9	2018-CM-B04	0,01157	518±14	371±16
1/10	2018-CM-B03	0,03600	116±4	127±5
1/11	2018-CM-B02	0,01586	219±7	305±12
1/12	2018-CM-B01	0,01161	851±50	661±17
1/13	2018-CL-B11	0,02813	124±5	152±7
1/14	2018-CL-B10	0,01357	662±23	588±20
1/15	blank	-	-	-
2/1	blank	-	-	-
2/2	blank	-	-	-
2/3	2018-CL-B09	0,01433	486±12	250±24
2/4	2018-CL-B08	0,00709	541±27	210±48
2/5	2018-CL-B07	0,00764	531±19	640±41
2/6	2018-CL-B06	0,00799	639±17	1079±43
2/7	2018-CL-B04	0,01334	499±14	415±28
2/8	2018-CL-B03	0,02888	139±3	231±14

2/9	2018-CL-B02	0,01175	320±10	319±29
2/10	2018-CL-B01	0,00033 ^c	14677±456	6076±973
2/11	2018-CK-B14	0,01827	323±12	284±19
2/12	2018-CK-B13	0,01359	277±9	975±30
2/13	2018-CK-B12	0,02213	232±8	344±18
2/14	2018-CK-B11	0,02319	167±6	140±13
2/15	2018-CL-B05	0,03616	306±9	410±18
3/1	2018-CK-B10	0,02921	121±5	229±21
3/2	2018-CK-B03	0,01555	330±10	671±35
3/3	2018-CK-B09	0,01194	427±15	245±37
3/4	2018-CK-B08	0,01182	196±7	879±41
3/5	2018-CK-B07	0,00163	1014±32	8998±463
3/6	2018-CK-B06	0,01876	259±8	631±39
3/7	2018-CK-B05	0,01866	119±3	406±26
3/8	2018-CK-B04	0,02775	224±9	214±17
3/9	2018-CJ-B09	0,00451	713±27	496±93
3/10	2018-CK-B02	0,01830	342±10	342±26
3/11	2018-CK-B01	0,03699	165±5	214±13
3/12	2018-CJ-B11	0,02498	37±2	141±10
3/13	2018-CJ-B10	0,01542	124±4	354±34
3/14	blank	-	-	-
3/15	blank	-	-	-
4/1	2018-CJ-B08	0,01285	293±9	2020±55
4/2	2018-CJ-B07	0,01186	212±6	< 82 ^a
4/3	2018-CJ-B06	0,01106	159±5	< 88 ^a
4/4	2018-CJ-B05	0,01845	137±4	650±33
4/5	2018-CJ-B04	0,01466	69±4	339±26

4/6	2018-CJ-B03	0,05657	55±2	116±8
4/7	2018-CJ-B02	0,05095	66±2	140±11
4/8	2018-CJ-B01	0,01328	289±7	589±34
4/9	2018-CI-B09	0,01283	498±13	233±26
4/10	2018-CI-B08	0,00812	437±14	280±41
4/11	2018-CI-B07	0,01580	326±11	1077±47
4/12	2018-CI-B06	0,01521	403±14	113±20 ^b
4/13	2018-CI-B05	0,01141	191±6	97±30 ^b
4/14	blank	-	-	-
4/15	blank	-	-	-
5/1	2018-CI-B04	0,01566	336±12	616±37
5/2	2018-CI-B03	0,01515	279±11	1772±63
5/3	2018-EB-B16	0,01944	8±1	181±16
5/4	2018-EB-B15	0,00459	11±2	427±58
5/5	2018-EB-B14	0,01645	6±1	442±20
5/6	2018-EB-B13	-0,00707 ^d	-	-
5/7	2018-EB-B12	0,00842	12±2	536±41
5/8	2018-EB-B11	0,00624	16±1	756±54
5/9	2018-EB-B10	0,01383	8±1	207±27
5/10	2018-EB-B09	0,00612	4±1 ^b	186±47 ^b
5/11	2018-EB-B08	0,00164	14±4 ^b	997±202 ^b
5/12	2018-EB-B07	0,00201	24±4	1493±168
5/13	2018-EB-B06	0,00626	5±1 ^b	216±45 ^b
5/14	blank	-	-	-
5/15	blank	-	-	-
6/1	2018-EB-B05	-0,00257 ^d	-	-
6/2	2018-EB-B04	0,00939	< 6 ^a	< 224 ^a

6/3	2018-EB-B03	0,00617	< 8 ^a	< 340 ^a
6/4	2018-EB-B02	0,00287	< 18 ^a	< 730 ^a
6/5	2018-EB-B01	0,00759	< 7 ^a	< 277 ^a
6/6	2018-EA-B14	0,00715	< 7 ^a	< 294 ^a
6/7	2018-EA-B13	0,00349	< 15 ^a	< 602 ^a
6/8	2018-EA-B12	0,00465	< 11 ^a	< 452 ^a
6/9	2018-EA-B11	0,00678	< 7 ^a	< 310 ^a
6/10	2018-EA-B10	0,00408	< 12 ^a	< 515 ^a
6/11	2018-EA-B09	0,00648	< 8 ^a	390±112 ^b
6/12	2018-EA-B08	0,00559	< 9 ^a	< 376 ^a
6/13	2018-EA-B07	0,00492	< 10 ^a	< 427 ^a
6/14	blank	-	-	-
6/15	blank	-	-	-
7/1	2018-EA-B06	0,00293	4±2 ^b	159±67 ^b
7/2	2018-EA-B05	0,00339	19±2	274±59 ^b
7/3	2018-EA-B04	0,00384	4±1 ^b	227±60 ^b
7/4	2018-EA-B03	0,00486	8±1	208±38 ^b
7/5	2018-EA-B02	0,00488	2±1 ^b	182±44 ^b
7/6	2018-EA-B01	0,00448	3±1 ^b	< 101 ^a
7/7	2018-HC-B22	0,00210	22±4	9131±485
7/8	2018-HC-B21	0,00641	5±1	2759±102
7/9	2018-HC-B20	0,00357	11±2	6462±224
7/10	2018-HC-B19	0,00380	10±1	5936±172
7/11	2018-HC-B18	0,00630	4±1	3461±141
7/12	2018-HC-B17	0,00968	10±1	3247±76
7/13	2018-HC-B16	0,00465	8±2	4605±194
7/14	blank	-	-	-

7/15	blank	-	-	-
8/1	2018-HC-B15	0,00540	9±2	4223±165
8/2	2018-HC-B14	0,00502	9±3	3452±155
8/3	2018-HC-B13	0,00460	4±1	678±19
8/4	2018-HC-B12	0,00423	9±2	5165±190
8/5	2018-HC-B11	0,00454	4±3	5111±181
8/6	2018-HC-B10	0,00265	20±4	11086±307
8/7	2018-HC-B09	0,00342	3±2	5543±217
8/8	2018-HC-B08	0,00511	6±3	4019±145
8/9	2018-HC-B07	0,00610	6±1	5136±183
8/10	2018-HC-B06	0,00485	7±3	4628±131
8/11	2018-HC-B05	0,00149	10±2	11479±403
8/12	2018-HC-B04	0,00266	16±3	10457±324
8/13	2018-HC-B03	0,00392	6±2	5534±252
8/14	blank	-	-	-
8/15	blank	-	-	-
9/1	2018-HC-B02	0,00387	16±3	4994±176
9/2	2018-HC-B01	0,00262	14±3	7690±270
9/3	2018-CI-B02	0,01118	323±11	353±34
9/4	2018-CI-B01	0,01542	268±10	344±25
9/5	2018-CH-B08	0,00952	310±10	811±55
9/6	2018-CH-B07	0,00743	142±5	640±53
9/7	2018-CH-B06	0,01207	134±5	807±33
9/8	2018-CH-B05	0,01053	185±7	565±40
9/9	2018-CH-B04	0,01207	196±6	1104±51
9/10	2018-CH-B03	0,00813	177±7	619±51
9/11	2018-CH-B02	0,00808	397±10	765±53

9/12	2018-CH-B01	0,03212	38±2	245±13
9/13	2018-CG-B16	0,01231	113±4	413±38
9/14	blank	-	-	-
9/15	blank	-	-	-
10/1	2018-CG-B15	0,02228	82±3	392±30
10/2	2018-CG-B14	0,00992	190±6	675±66
10/3	2018-CG-B13	0,01287	326±11	632±73
10/4	2018-CG-B12	0,03042	117±3	311±24
10/5	2018-CG-B11	0,00769	375±11	804±81
10/6	2018-CG-B10	0,01231	281±13	1215±63
10/7	2018-CG-B09	0,02908	90±4	477±27
10/8	2018-CG-B08	0,01671	185±5	382±38
10/9	2018-CG-B07	0,00722	313±15	337±89 ^b
10/10	2018-CG-B06	0,01053	524±15	1689±78
10/11	2018-CG-B05	0,01314	342±8	458±48
10/12	2018-CG-B04	0,01807	265±9	318±35
10/13	2018-CG-B03	0,02925	215±6	191±22
10/14	blank	-	-	-
10/15	blank	-	-	-
11/1	2018-CG-B02	0,02829	147±4	376±36
11/2	2018-CG-B01	0,00948	174±13	1164±126
11/3	2018-CF-B11	0,01714	157±4	1483±67
11/4	2018-CF-B10	0,02153	58±2	201±44 ^b
11/5	2018-CF-B09	0,01155	97±3	521±87 ^b
11/6	2018-CF-B08	0,00760	86±4	1192±124
11/7	2018-CF-B07	0,00750	196±7	< 373 ^a
11/8	2018-CF-B06	0,01278	78±3	390±76 ^b

11/9	2018-CF-B05	0,02297	167±4	< 122 ^a
11/10	2018-CF-B04	0,03871	33±1	122±24 ^b
11/11	2018-CF-B03	0,01099	281±12	< 255 ^a
11/12	2018-CF-B02	0,00547	51±2	1557±183
11/13	2018-CF-B01	0,00709	146±7	474±133 ^b
11/14	blank	-	-	-
11/15	blank	-	-	-
12/1	2018-CE-B11	0,01890	239±6	347±9
12/2	2018-CE-B10	0,02600	123±4	566±18
12/3	2018-CE-B09	0,01617	174±7	652±31
12/4	2018-CE-B08	0,02196	144±4	367±19
12/5	2018-CE-B07	0,00537	239±12	613±26
12/6	2018-CE-B06	0,00857	187±7	479±23
12/7	2018-CE-B05	0,04231	60±2	254±9
12/8	2018-CE-B04	0,01322	212±8	371±20
12/9	2018-CE-B03	0,01926	242±8	369±24
12/10	2018-CE-B02	0,01234	247±7	223±16
12/11	2018-CE-B01	0,02376	124±5	588±24
12/12	2018-CD-B11	0,04597	84±3	252±9
12/13	2018-CD-B10	0,00945	140±5	243±17
12/14	blank	-	-	-
12/15	blank	-	-	-
13/1	2018-CD-B09	0,02487	131±5	405±19
13/2	2018-CD-B08	0,01601	91±4	787±32
13/3	2018-CD-B07	0,02212	148±4	426±20
13/4	2018-CD-B06	0,02785	83±2	237±9
13/5	2018-CD-B05	0,01182	147±5	473±20

13/6	2018-CD-B04	0,01949	121±5	300±12
13/7	2018-CD-B03	0,02553	149±4	349±10
13/8	2018-CD-B02	0,02582	141±4	266±10
13/9	2018-CD-B01	0,00963	124±5	450±28
13/10	2018-CC-B10	0,01448	280±8	387±19
13/11	2018-CC-B09	0,01656	157±5	431±21
13/12	2018-CC-B08	0,02623	121±4	520±20
13/13	2018-CC-B07	0,02547	138±6	424±18
13/14	blank	-	-	-
13/15	blank	-	-	-
14/1	2018-CC-B06	0,03467	41±2	268±18
14/2	2018-CC-B05	0,03129	129±4	274±23
14/3	2018-CC-B04	0,03551	65±2	316±23
14/4	2018-CC-B03	0,02303	105±3	311±26
14/5	2018-CC-B02	0,01842	140±5	362±34
14/6	2018-CC-B01	0,02668	161±6	420±31
14/7	2018-CB-B12	0,01839	92±4	682±50
14/8	2018-CB-B11	0,04000	36±2	123±16
14/9	2018-CB-B10	0,02745	60±2	675±39
14/10	2018-CB-B09	0,02993	75±2	272±19
14/11	2018-CB-B08	0,01267	141±5	429±49
14/12	2018-CB-B07	0,03553	49±1	146±16
14/13	2018-CB-B06	0,05548	47±2	97±10
14/14	blank	-	-	-
14/15	blank	-	-	-
15/1	2018-CB-B05	0,01929	153±6	278±9
15/2	2018-CB-B04	0,04890	56±1	101±6

15/3	2018-CB-B03	0,01209	213±6	359±19
15/4	2018-CB-B02	0,01297	151±5	1583±66
15/5	2018-CB-B01	0,01632	110±3	577±24
15/6	2018-PA-B01	0,00166	11±2	583±71
15/7	2018-PA-B02	0,00175	24±4	1996±78
15/8	2018-PA-B03	0,00689	4±1	204±12
15/9	2018-PA-B04	0,00391	15±1	623±39
15/10	2018-PA-B05	0,00438	14±2	280±28
15/11	2018-PA-B06	0,00510	9±1	200±17
15/12	2018-PA-B07	0,00329	7±2	372±27
15/13	2018-PA-B08	0,00410	6±1	204±23
15/14	blank	-	-	-
15/15	blank	-	-	-
16/1	2018-PA-B09	0,00261	11±3	270±32
16/2	2018-PA-B10	0,00388	5±1	144±22
16/3	2018-PA-B11	0,00141	30±5	9859±287
16/4	2018-PA-B12	0,00245	8±1	2657±134
16/5	2018-PA-B13	0,00126	56±5	897±93
16/6	2018-PA-B14	0,00455	4±1	206±17
16/7	2018-PA-B15	0,00397	7±1	311±30
16/8	2018-EK-B01	0,00212	44±3	62979±1819
16/9	2018-EK-B02	0,00290	49±4	2144±86
16/10	2018-EK-B03	0,00441	13±2	1524±72
16/11	2018-EK-B04	0,00197	73±6	1372±109
16/12	2018-EK-B05	0,00392	8±1	663±38
16/13	2018-EK-B06	0,00140	78±5	4781±181
16/14	blank	-	-	-

16/15	blank	-	-	-
17/1	2018-EK-B07	0,00473	8±2	1792±103
17/2	2018-EK-B08	0,00255	10±4	3983±216
17/3	2018-EK-B09	0,00565	8±1	1156±66
17/4	2018-EK-B10	0,00282	12±2	791±79
17/5	2018-BA-B01	0,00217	59±5	2581±168
17/6	2018-BA-B02	0,00334	73±5	1860±109
17/7	2018-BA-B03	0,00297	37±3	1842±107
17/8	2018-BA-B04	0,00324	35±3	739±71
17/9	2018-BA-B05	0,00910	30±2	558±39
17/10	2018-BA-B06	0,00253	184±10	2223±123
17/11	2018-BA-B07	0,00351	69±3	1641±86
17/12	2018-BA-B08	0,00679	105±4	857±45
17/13	2018-BA-B09	0,00197	121±8	2506±147
17/14	blank	-	-	-
17/15	blank	-	-	-
18/1	2018-BA-B10	0,00298	116±6	1468±130
18/2	2018-BA-B11	0,00400	35±2	1445±113
18/3	2018-BA-B12	0,00198	48±2	1379±194 ^b
18/4	2018-BA-B13	0,00427	41±4	1001±91
18/5	2018-BA-B14	0,01050	12±1	383±38
18/6	2018-BA-B15	0,00306	81±4	833±115 ^b
18/7	2018-BA-B16	0,00423	257±9	507±87 ^b
18/8	2016-PA-B14	0,00532	11±1	684±70
18/9	2016-PA-B15	0,00260	9±1	596±133 ^b
18/10	2018-NB-B01	-0,00003 ^d	-	-
18/11	2018-NB-B02	0,00046 ^c	163±12	5663±718 ^b

18/12	2018-NB-B03	0,00096 ^c	201±10	5951±446
18/13	2018-NB-B04	0,00100 ^c	87±7	< 1000 ^a
18/14	blank	-	-	-
18/15	blank	-	-	-
19/1	2018-NB-B05	0,00010 ^c	311±32	< 8000 ^a
19/2	2018-NB-B06	0,00146	69±6	< 548 ^a
19/3	2018-NB-B07	0,00865	22±1	304±40
19/4	2018-NB-B08	0,00149	86±6	1771±237
19/5	2018-NB-B09	0,00105	71±6	< 762 ^a
19/6	2018-NB-B10	0,00338	22±2	< 237 ^a
19/7	2018-NB-B11	0,00129	129±5	< 620 ^a
19/8	2018-NB-B12	0,00309	49±4	307±110 ^b
19/9	2018-BC-B01	0,00092 ^c	215±15	5856±443
19/10	2018-BC-B02	0,00090 ^c	225±8	8389±514
19/11	2018-BC-B03	0,00023 ^c	310±25	7331±1439 ^b
19/12	2018-BC-B04	0,00046 ^c	269±14	8334±879
19/13	2018-BC-B05	-0,00049 ^d	-	-
19/14	blank	-	-	-
19/15	blank	-	-	-
20/1	2018-BC-B06	0,00037 ^c	144±15	10076±658
20/2	2018-BC-B07	0,00045 ^c	244±12	11747±662
20/3	2018-BC-B08	0,00393	208±6	852±48
20/4	2018-BC-B09	0,00000 ^d	-	-
20/5	2018-BC-B10	0,00630	142±5	642±33
20/6	2018-BC-B11	0,00183	208±8	1526±109
20/7	2018-FA-B01	0,00588	103±4	1711±84
20/8	2018-FA-B02	0,00557	50±1	2458±87

20/9	2018-FA-B03	0,00643	26±2	1890±84
20/10	2018-FA-B04	0,00226	42±3	3715±190
20/11	2018-FA-B05	0,00367	32±3	4140±182
20/12	2018-FA-B06	0,00682	47±2	2146±98
20/13	2018-FA-B07	0,00214	131±6	6192±319
20/14	blank	-	-	-
20/15	blank	-	-	-
21/1	CRM	0,91490	5,28±0,14	1302±49
21/2	CRM	0,96692	5,37±0,19	1279±35
21/3	CRM	0,96271	5,34±0,15	1253±42
21/4	2018-FA-B08	0,00800	23±2	1316±51
21/5	2018-FA-B09	0,00822	12±2	262±16
21/6	2018-FA-B10	0,00567	31±3	1424±49
21/7	2018-FA-B11	0,00289	85±7	3466±89
21/8	2018-FA-B12	0,00458	18±3 ^b	680±41
21/9	2018-FA-B13	0,00328	103±7	17759±336
21/10	2018-FA-B14	0,00346	38±4	3149±95
21/11	2018-FA-B15	0,00828	30±2	2756±73
21/12	2018-FE-B07	0,00290	11±4 ^b	788±50
21/13	2018-FE-B08	0,00626	27±2	480±25
21/14	blank	-	-	-
21/15	blank	-	-	-
22/1	2018-FE-B09	0,01120	16±1	492±32
22/2	2018-FE-B10	0,01501	8±0	1371±54
22/3	2018-FE-B11	0,00659	11±1	1230±67
22/4	2018-FE-B12	0,00589	23±1	488±42
22/5	2018-FE-B13	0,00074 ^c	80±6	3331±275

22/6	2018-FE-B14	0,00420	54±2	1267±73
22/7	2018-FE-B15	0,00199	68±3	2885±151
22/8	2018-PO-B01	-0,00214 ^d	-	-
22/9	2018-PO-B02	-0,00046 ^d	-	-
22/10	2018-PO-B03	-0,00025 ^d	-	-
22/11	2018-PO-B04	-0,00038 ^d	-	-
22/12	2018-PO-B05	-0,00024 ^d	-	-
22/13	2018-PO-B06	-0,00003 ^d	-	-
22/14	blank	-	-	-
22/15	blank	-	-	-
23/1	2018-PO-B07	0,00023 ^c	< 35 ^a	5806±1786 ^b
23/2	2018-PO-B08	0,00002 ^c	760±157 ^b	108457±21075 ^b
23/3	2018-PO-B09	-0,00003 ^d	-	-
23/4	2018-PO-B10	0,00012 ^c	< 67 ^a	< 8333 ^a
23/5	2018-PO-B11	-0,00069 ^d	-	-
23/6	2018-PO-B12	0,00195	< 4 ^a	< 513 ^a
23/7	2018-PO-B13	0,00026 ^c	99±18	16144±1712
23/8	2018-PO-B14	0,00062 ^c	15±6 ^b	2141±646 ^b
23/9	2018-PO-B15	-0,00004 ^d	-	-
23/10	2016-PO-B16	0,00059 ^c	< 14 ^a	< 1695 ^a
23/11	2016-PO-B17	0,00065 ^c	< 12 ^a	1715±628 ^b
23/12	2016-PO-B18	0,00071 ^c	< 11 ^a	2480±611 ^b
23/13	2016-PO-B19	0,00058 ^c	< 14 ^a	1757±721 ^b
23/14	blank	-	-	-
23/15	blank	-	-	-
24/1	2016-PO-B20	0,00073 ^c	34±6 ^b	3511±948 ^b

24/2	2016-PO-B21	0,00067 ^c	< 12 ^a	50749±1989
24/3	2016-PO-B22	0,00078 ^c	< 10 ^a	< 1282 ^a
24/4	2016-PO-B23	0,00098 ^c	40±7	< 1020 ^a
24/5	2016-PO-B24	0,00084 ^c	25±3 ^b	1867±808 ^b
24/6	2016-PO-B25	0,00098 ^c	< 8 ^a	2286±735 ^b
24/7	2016-PO-B26	0,00117	< 7 ^a	< 855 ^a
24/8	2016-PO-B27	0,00055 ^c	< 15 ^a	< 1818 ^a
24/9	2016-PO-B28	0,00084 ^c	< 10 ^a	1452±817 ^b
24/10	2016-PO-B29	0,00086 ^c	< 9 ^a	< 1163 ^a
24/11	2016-PO-B30	0,00118	< 7 ^a	1969±581 ^b
24/12	2016-PA-B01	0,00178	< 4 ^a	1155±383 ^b
24/13	2016-PA-B02	0,00218	4±2 ^b	< 459 ^a
24/14	blank	-	-	-
24/15	blank	-	-	-
25/1	2016-PA-B03	0,00242	6±1 ^b	484±125 ^b
25/2	2016-PA-B04	0,00195	23±4	< 513 ^a
25/3	2016-PA-B05	0,00246	10±1	970±147 ^b
25/4	2016-PA-B06	0,00372	10±1	< 269 ^a
25/5	2016-PA-B07	0,00277	7±1 ^b	839±121 ^b
25/6	2018-PA-B08	0,00457	5±1 ^b	549±82 ^b
25/7	2016-PA-B09	0,00432	8±1	361±81 ^b
25/8	2016-PA-B10	0,00248	10±1	637±124 ^b
25/9	2016-PA-B11	0,00368	7±1	< 272 ^a
25/10	2016-PA-B12	0,00256	6±1 ^b	< 391 ^a
25/11	2016-PA-B13	0,00417	7±1	619±84 ^b
25/12	2018-SA-B15	0,00290	5±1 ^b	< 345 ^a

25/13	2018-SA-B14	0,00308	5±1 ^b	589±110 ^b
25/14	blank	-	-	-
25/15	blank	-	-	-
26/1	2018-SA-B17	0,00068 ^c	< 12 ^a	4169±302
26/2	2018-EE-B08	0,00599	19±1	247±19
26/3	2018-EE-B09	0,00555	11±2	231±19
26/4	2018-EE-B10	0,00092 ^c	9±5 ^b	2072±199
26/5	2018-EE-B11	0,00290	7±2 ^b	621±60
26/6	2014-EI-B01	-0,00013 ^d	-	-
26/7	2014-EI-B02	0,00136	8±3 ^b	4443±224
26/8	2015-EI-B01	0,00134	7±3 ^b	3166±178
26/9	2015-EI-B02	0,00034 ^c	< 24 ^a	7900±617
26/10	2018-HA-B01	0,00571	5±1	1736±70
26/11	2018-HA-B02	0,00274	6±2 ^b	1497±115
26/12	2018-HA-B03	0,00254	< 3 ^a	1192±65
26/13	2018-HA-B04	0,00577	3±1 ^b	1206±62
26/14	blank	-	-	-
26/15	blank	-	-	-
27/1	2018-HA-B05	0,00253	6±2 ^b	1751±133
27/2	2018-HA-B06	0,00437	7±1	1178±56
27/3	2018-HA-B07	0,00260	7±1 ^b	2378±462
27/4	2018-HA-B08	0,00477	11±1	1660±82
27/5	2018-HA-B09	0,02166	3±0	366±16
27/6	2018-HA-B10	0,00728	5±1	1313±66
27/7	2018-HA-B11	0,00346	9±1	1836±103
27/8	2018-HA-B12	0,00484	10±0	2199±96
27/9	2018-HA-B13	0,00345	3±1 ^b	1143±58

27/10	2018-HA-B14	0,00095 ^c	20±4 ^b	3505±214
27/11	2018-HA-B15	0,00006 ^c	175±33 ^b	47908±2645
27/12	2018-HA-B16	-0,00012 ^d	-	-
27/13	2018-HA-B17	0,00338	4±1 ^b	1372±65
27/14	blank	-	-	-
27/15	blank	-	-	-
28/1	2018-HA-B18	0,00393	3±1 ^b	1236±68
28/2	2018-HA-B19	0,00096 ^c	14±4 ^b	4937±294
28/3	2018-HA-B20	0,00463	3±0 ^b	1918±95
28/4	2018-HA-B21	0,00165	6±2 ^b	2057±148
28/5	2018-HA-B22	0,00432	3±1 ^b	1388±80
28/6	2018-HA-B23	0,00154	17±3	1590±100
28/7	2018-HA-B24	0,00292	4±1 ^b	4054±178
28/8	2018-HA-B25	0,00263	9±2 ^b	6021±250
28/9	2018-HA-B26	0,00501	5±1	2267±146
28/10	2018-HA-B27	0,00226	6±1 ^b	4796±208
28/11	2018-HA-B28	0,00462	4±0 ^b	2304±96
28/12	2018-HA-B29	0,00196	15±3	6523±291
28/13	2018-EI-B01	0,00031 ^c	37±6 ^b	21231±1340
28/14	blank	-	-	-
28/15	blank	-	-	-
29/1	2018-EI-B02	0,00208	4±2 ^b	4787±202
29/2	2018-EI-B03	0,00213	11±1 ^b	6281±348
29/3	2018-EI-B04	0,00166	6±3 ^b	9205±385
29/4	2018-EI-B05	0,00086 ^c	9±6 ^b	18928±717
29/5	2018-EI-B06	0,00230	4±2 ^b	35181±1267
29/6	2018-EI-B07	0,00153	21±4	12487±570

29/7	2018-EI-B08	0,00138	< 6 ^a	8438±365
29/8	2018-SB-B01	0,00285	4±1 ^b	741±56 ^b
29/9	2018-SB-B02	0,00249	5±2 ^b	< 402 ^a
29/10	2018-SB-B03	0,00226	7±1 ^b	848±75 ^b
29/11	2018-SB-B04	-0,00108 ^d	-	-
29/12	2018-SB-B05	0,00120	< 7 ^a	< 402 ^a
29/13	2018-SB-B06	0,00215	< 4 ^a	< 402 ^a
29/14	blank	-	-	-
29/15	blank	-	-	-
30/1	2018-SB-B07	0,00213	12±1	586±86 ^b
30/2	2018-SB-B08	0,00200	6±2 ^b	< 500 ^a
30/3	2018-SB-B09	0,00257	8±1 ^b	478±67 ^b
30/4	2018-SB-B10	0,00051 ^c	19±3 ^b	2630±274 ^b
30/5	2018-EF-B01	0,00539	4±1 ^b	< 186 ^a
30/6	2018-EF-B02	0,00165	8±1 ^b	< 606 ^a
30/7	2018-EF-B03	0,00275	21±2	< 364 ^a
30/8	2018-EF-B04	0,00486	6±1	255±46 ^b
30/9	2018-EF-B05	0,01025	3±1	287±25 ^b
30/10	2018-EF-B06	0,00431	7±1	< 232 ^a
30/11	2018-EF-B07	0,00122	< 7 ^a	< 820 ^a
30/12	2018-EF-B08	0,00519	4±1 ^b	< 193 ^a
30/13	2018-EF-B09	0,00201	7±2 ^b	< 498 ^a
30/14	blank	-	-	-
30/15	blank	-	-	-
31/1	2018-EF-B10	0,00178	11±2 ^b	2463±146
31/2	2018-EF-B11	0,00494	13±1	416±40
31/3	2018-EF-B12	0,00428	< 2 ^a	455±43

31/4	2018-SA-B01	0,00194	4±2 ^b	2152±120
31/5	2018-SA-B02	0,00495	3±1 ^b	1071±59
31/6	2018-SA-B03	0,00370	4±1 ^b	866±48
31/7	2018-SA-B04	0,00201	4±1 ^b	2660±148
31/8	2018-SA-B05	0,00249	5±1 ^b	1421±90
31/9	2018-SA-B06	0,00197	4±1 ^b	1476±106
31/10	2018-SA-B07	0,00106	< 8 ^a	690±144
31/11	2018-SA-B08	0,00127	< 6 ^a	1434±122
31/12	2018-SA-B09	0,00159	5±1 ^b	727±104
31/13	2018-SA-B10	0,00203	4±1 ^b	819±75
31/14	blank	-	-	-
31/15	blank	-	-	-
32/1	2018-SA-B11	0,00209	4±2 ^b	372±132 ^b
32/2	2018-SA-B12	0,00380	6±2 ^b	346±73 ^b
32/3	2018-SA-B13	0,00157	< 5 ^a	< 446 ^a
32/4	2018-SA-B14	0,00193	4±2 ^b	481±142 ^b
32/5	2018-FS-B01	0,00153	36±4	13234±522
32/6	2018-FS-B02	0,00187	140±5	4557±262
32/7	2018-FS-B03	0,00247	54±5	87845±2742
32/8	2018-FS-B04	0,00379	18±1	5447±269
32/9	2018-FS-B05	0,00278	76±6	5290±226
32/10	2018-FS-B06	0,00235	58±3	9200±416
32/11	2018-FS-B07	0,00343	54±3	95416±3895
32/12	2018-FS-B08	0,00381	13±2	5234±187
32/13	2018-FS-B09	0,00403	11±1	6288±317
32/14	blank	-	-	-
32/15	blank	-	-	-

33/1	2018-FS-B10	0,00126	54±4	11633±661
33/2	2018-FS-B11	0,00093 ^c	89±5	11574±530
33/3	2018-FS-B12	0,00049 ^c	566±32	73780±2572
33/4	2018-FS-B13	0,00792	11±1	2437±95
33/5	2018-FS-B14	0,00330	19±1	4484±198
33/6	2018-NA-B01	0,00427	50±2	859±65
33/7	2018-NA-B02	0,00642	68±3	536±34
33/8	2018-NA-B03	0,00455	76±3	852±71
33/9	2018-NA-B04	0,00480	42±1	408±31
33/10	2018-NA-B05	0,00431	32±2	618±53
33/11	2018-NA-B06	0,00258	51±5	679±70
33/12	2018-NA-B07	0,00420	64±2	551±56
33/13	blank	-	-	-
33/14	blank	-	-	-
33/15	blank	-	-	-
34/1	2018-NA-B08	0,00484	43±2	275±47
34/2	2018-NA-B09	0,00319	48±4	968±90
34/3	2018-NA-B10	0,00283	132±6	268±80 ^b
34/4	2018-NA-B11	0,00367	75±3	421±60
34/5	2018-NA-B12	0,00461	59±2	339±46
34/6	2018-PB-B01	0,00436	10±2	434±55
34/7	2018-PB-B02	0,00337	28±2	1793±96
34/8	2018-PB-B03	0,00340	21±2	2266±146
34/9	2018-PB-B04	0,00166	30±5	3447±222
34/10	2018-PB-B05	0,00352	11±2	1168±73
34/11	2018-PB-B06	0,00415	10±2	1083±74
34/12	2018-PB-B07	0,00360	17±2	493±71

34/13	blank	-	-	-
34/14	blank	-	-	-
34/15	blank	-	-	-
35/1	2018-FL-B01	0,02279	2±0	454±20
35/2	2018-FL-B02	0,03164	2±0	295±15
35/3	2018-FL-B03	0,01445	4±0	725±39
35/4	2018-FL-B04	0,01049	6±1	914±44
35/5	2018-FL-B05	0,01517	6±0	629±24
35/6	2018-FL-B06	0,00042 ^c	50±9 ^b	17980±751
35/7	2018-FL-B07	0,00812	10±1	1041±51
35/8	2018-FL-B08	0,01244	7±0	790±37
35/9	2018-FL-B09	0,01134	7±0	935±46
35/10	2018-FL-B10	0,01435	4±0	886±43
35/11	2018-FL-B11	0,01878	3±1	570±35
35/12	2018-FL-B12	0,01063	3±0	1074±70
35/13	blank	-	-	-
35/14	blank	-	-	-
35/15	blank	-	-	-
36/1	2018-FL-B13	0,00852	3±0	1177±53
36/2	2018-DE-B01	0,00372	7±1	472±53
36/3	2018-DE-B02	0,00402	17±1	637±52
36/4	2018-DE-B03	0,00429	12±1	983±55
36/5	2018-DE-B04	0,00223	16±2	1983±84
36/6	2018-DE-B05	0,00286	38±3	827±80
36/7	2018-DE-B06	0,00427	7±1	322±39
36/8	2018-DE-B07	0,00556	5±1	282±37
36/9	2018-DE-B08	0,00453	11±2	602±40

36/10	2018-DE-B09	0,00266	6±1 ^b	442±53
36/11	2018-DE-B10	0,00603	7±1	488±38
36/12	2018-DE-B11	0,00552	9±1	1537±72
36/13	blank	-	-	-
36/14	blank	-	-	-
36/15	blank	-	-	-
37/1	2018-DE-B12	0,00259	16±2	599±137 ^b
37/2	2018-FE-B01	0,00612	19±1	899±63
37/3	2018-FE-B02	0,00688	43±2	838±59
37/4	2018-FE-B03	0,00971	33±1	759±49
37/5	2018-FE-B04	0,01130	10±1	378±37
37/6	2018-FE-B05	0,00577	39±2	944±78
37/7	2018-FE-B06	0,00914	20±1	1198±64
37/8	2018-EC-B01	0,00995	12±1	665±46
37/9	2018-EC-B02	0,01066	4±0	1986±98
37/10	2018-EC-B03	0,00860	3±0	144±39 ^b
37/11	2018-EC-B04	0,01090	3±0	2491±101
37/12	2018-EC-B05	0,01120	3±0	1631±67
37/13	blank	-	-	-
37/14	blank	-	-	-
37/15	blank	-	-	-
38/1	2018-EC-B06	0,01080	2,4±0,3	143±50 ^b
38/2	2018-EC-B07	0,01367	3,7±0,4	163±39 ^b
38/3	2018-EC-B08	0,01066	2,9±0,2	1912±94
38/4	2018-EC-B09	0,01446	3,0±0,3	1425±69
38/5	2018-EC-B10	0,01287	2,5±0,2	92±40 ^b
38/6	2018-EE-B01	0,00403	16±2	< 248 ^a

38/7	2018-EE-B02	0,00589	13±1	533±99 ^b
38/8	2018-EE-B03	0,00637	12±1	264±83 ^b
38/9	2018-EE-B04	0,00605	6±1	283±85 ^b
38/10	2018-EE-B05	0,00478	9±1	468±114 ^b
38/11	2018-EE-B06	0,00640	12±2	< 156 ^a
38/12	2018-EE-B07	0,00209	11±2 ^b	< 478 ^a
38/13	blank	-	-	-
38/14	blank	-	-	-
38/15	blank	-	-	-

Legenda:

- a) výsledky s hodnotami pod LOD
- b) výsledky s hodnotami mezi LOD a LOQ
- c) vzorky s nízkou hmotností, kdy případná chyba v navážce mohla způsobit nadhodnocení či podhodnocení výsledné koncentrace
- d) záporné navážky, vzorek byl vyloučen a výsledná koncentrace Cd a Cu nebyla vypočtena