UNIVERZITA KARLOVA
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza

Bc. Eva Jeníková

ANALÝZA NANOČÁSTICOVÝCH SYSTÉMŮ ATOMOVOU SPEKTROMETRIÍ

Analysis of nanopartical systems by atomic spectrometry

Diplomová práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Jakub Hraníček, Ph.D.
Konzultant: doc. RNDr. Vojtěch Kubíček, Ph.D.

Praha 2018

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 15. května 2018.

Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala především vedoucímu mé diplomové práce, panu RNDr. Jakubovi Hraníčkovi, Ph.D, za cenné rady, připomínky a čas, který mi věnoval. Dále panu konzultantovi doc. RNDr. Vojtěchovi Kubíčkovi, Ph.D za uvedení do problematiky zkoumaných prvků. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za morální podporu nejen při studiu.

Abstrakt CZ EN a klíčová slova

Tato diplomová práce se zabývá optimalizací metod stanovení koncentrací titanu a fosforu pro jejich využití při analýze koloidních roztoků nanočástic TiO_2 modifikovaných bisfosfonáty. Pro tyto analýzy bylo využito atomové absorpční spektrometrie s plamenovou a elektrotermickou atomizací. Současně byly porovnány charakteristiky stanovení obou analytů na dvou odlišných spektrometrech. Technikou F-AAS na spektrometru GBC 933 AA bylo pro titan dosaženo detekčního limitu 5,2 mg l^{-1}, a pro fosfor bylo dosaženo detekčního limitu 163 mg l^{-1}. Na spektrometru ContrAA 700 bylo technikou F-AAS dosaženo téměř pětkrát nižšího detekčního limitu 1,1 mg l^{-1} pro stanovení titanu. Pro stanovení fosforu na tomto spektrometru bylo dosaženo podobné hodnoty 151 mg l^{-1}, jako na spektrometru GBC 933 AA. Při stanovení fosforu technikou ET-AAS na spektrometru ContrAA 700 bylo dosaženo detekčního limitu 1,23 mg l^{-1}, což je oproti plamenové technice výrazný rozdíl. Bylo prokázáno, že optimalizované metody vyhovují danému záměru, což bylo potvrzeno při analýze reálných vzorků obsahujících titan a fosfor v koloidním roztoku nanočástic TiO_2 modifikovaných bisfosfonáty.

Klíčová slova

Atomová absorpční spektrometrie, plamenová atomizace, elektrotermická atomizace, titan, fosfor, nanočástice, optimalizace, stanovení

Abstrakt EN

The present diploma thesis is focused on optimization methods of titanium and phosphorus concentration for their use in the colloidal solution of TiO_2 nanoparticles modified by bisphosphonates. For these analyses was used atomic absorption spectrometry with flame and electrothermal atomization. The characteristics of the two analytes were compared to two different spectrometers. Using the F-AAS technique on the GBC 933 AA spectrometer has been achieved a detection limit of 5,2 mg l^{-1} for titanium and a detection limit of 163 mg l^{-1} for the phosphorus. Using the ContrAA 700 spectrometer, F-AAS has been achieved an almost five times lower detection limit of 1,1 mg l^{-1} for titanium determination. For determination of phosphorus using this spectrometer, was obtained a similar value of 151 mg l^{-1}, as using the GBC 933 AA spectrometer. The determination of phosphorus by the ET-AAS technique using the ContrAA 700 spectrometer resulted in a detection limit of 1,23 mg l^{-1}, which is a significant difference compared to the flame system. It has been proved that optimized methods are consistent with the intention, which was confirmed by the analysis of real titanium and phosphorus samples in the colloidal solution of TiO_2 nanoparticles modified bisphosphonates.

Key words

Atomic absorption spectrometry, flame atomization, electrothermal atomization, titanium, phosphorus, nanoparticles, optimalization, determination

Obsah práce

1 ÚVOD ..... - 8 -
1.1 Cíl bakalářské práce ..... - 8 -
2 TEORETICKÁ ČÁST ..... - 9 -
2.1 Oxid titaničitý ..... - 9 -
2.1.1 Vlastnosti nanomateriálů na bázi TiO_2 ..... - 9 -
2.2 Bisfosfonáty ..... - 10 -
2.3 Atomová absorpční spektrometrie ..... - 10 -
2.3.1 Historie AAS ..... - 10 -
2.3.2 Instrumentace F-AAS ..... - 11 -
2.3.3 HR-CS-AAS ..... - 12 -
2.3.4 Instrumentace HR-CS AAS ..... - 13 -
2.3.5 Atomizační systém ..... - 13 -
2.3.6 Modifikátory v ET-AAS ..... - 14 -
2.3.7 Optický systém ..... - 15 -
2.3.8 Korekce pozadí ..... - 15 -
2.3.9 Využití AAS ..... - 15 -
2.3.10 Interference v AAS ..... - 16 -
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST ..... - 17 -
3.1 Použité chemikálie ..... - 17 -
3.2 Přístroje a vybavení ..... - 17 -
3.3 Pracovní postup ..... - 18 -
3.4 Statistické zpracování výsledků ..... - 21 -
4 VÝSLEDKOVÁ ČÁST A DISKUZE ..... - 23 -
4.1 Stanovení titanu ..... - 23 -
4.1.1 Optimalizace podmínek technikou F-AAS (GBC 933AA) ..... - 23 -
4.1.2 Optimalizace podmínek techniky HR-CS AAS (ContrAA 700) ..... - 26 -
4.1.3 Kalibrace a základní charakteristiky stanovení titanu ..... - 31 -
4.2 Stanovení fosforu ..... - 33 -
4.2.1 Optimalizace podmínek techniky F-AAS (GBC 933AA) ..... - 34 -
4.2.2 Optimalizace podmínek techniky F-AAS (ContrAA 700) ..... - 35 -
4.2.3 Ověření optimalizačních podmínek techniky ET-AAS (ContrAA 700) ..... - 38 -
4.2.4 Kalibrace a základní charakteristiky stanovení fosforu ..... - 40 -
4.3 Analýza reálných vzorků ..... - 43 -
5 ZÁVĚR ..... - 46 -
6 Použitá literatura ..... - 47 -

Seznam uvedených zkratek a symbolů

AAS	atomová absorpční spektrometrie
AES	atomová emisní spektrometrie
DLS	dynamický rozptyl světla
ET-AAS	atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací
F-AAS	atomová absorpční spektrometrie s atomizací v plamenu
GF-AAS	atomová absorpční spektrometrie s atomizací v grafitové kyvetě
HR-CS AAS	atomová absorpční spektrometrie s kontinuálním zdrojem záření a s vysokým rozlišením
OES	optická emisní spektrometrie
A	absorbance
c_{Al}	koncentrace hliníku [mg l^{-1}]
c_{HCL}	koncentrace kyseliny chlorovodíkové [mg l^{-1}]
c_{KCl}	koncentrace chloridu draselného [%]
c_{P}	koncentrace fosforu [mg l^{-1}, g l^{-1}]
c_{Ti}	koncentrace titanu [mg l^{-1}]
h	výška hořáku [mm]
I	napájecí proud výbojky [mA]
LOD	mez detekce [mg l^{-1}]
LOQ	mez stanovitelnosti [mg l^{-1}]
m_{BP}	hmotnost bisfosfonátů [g]
m_{N}	hmotnost nanočástic [g]
R	rozlišení [px]
T	teplota [°C]
v_{act}	průtoková rychlost acetylenu [l hod^{-1}]
v_{ox}	průtoková rychlost oxidu dusného [l hod^{-1}]
λ	vlnová délka [nm]
$\Delta\lambda$	šířka spektrálního intervalu [nm]

1 ÚVOD

Tato diplomová práce se zabývá vypracováním metod stanovení titanu a fosforu v připravených vzorcích obsahující nanočástice TiO_2, které jsou v současné době hojně využívány. Jako příklad lze uvést jejich využití pro fotokatalytické rozklady organických molekul. Díky této schopnosti je možné vytvořit efektivní čistírny odpadních vod, samosterilizující se lékařské nástroje aj. Všechna výše uvedená využití TiO_2 jsou možná díky tomu, že titan je ve formě nanočástic, které je možně díky modifikaci příslušnými látkami navázat na povrch.

1.1 Cíl bakalářské práce

Cílem této diplomové práce bylo především optimalizovat metody stanovení titanu a fosforu technikou atomové absorpční spektrometrie za účelem dosažení detekčních limitů vyhovující pro daný záměr, jímž byla analýza syntetizovaných koloidních roztoků. V úvahu byly vzaty dvě techniky atomizace – plamenová za využití plamene acetylen-oxid dusný a elektrotermická v grafitové kyvetě. Dílčími cíli práce pak bylo nalézt optimální podmínky pro výše uvedené techniky atomizace (např. průtoková rychlost acetylenu, koncentraci přídavku uvolňovacích činidel, čímž se u některých prvků výrazně zvyšuje analytický signál, výška paprsku nad hranou hořáku a další).

Součástí této práce bylo také syntetizovat koloidní roztoky nanočástic TiO_2 o průměru 20-100 nm, provést modifikaci vzniklých nanočástic bisfosfonáty a stanovit obsah titanu a fosforu v těchto roztocích.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Oxid titaničitý

TiO_2, také známý jako anhydrid kyseliny titanové, titan, anhydrid titanu nebo bílý titan je přirozeně se vyskytující oxid titanu. Je to bílý prášek bez zápachu, špatně rozpustný ve vodě, a je široce využívaný jako bílý pigment[1]. TiO_2 je jedním z nejrozšířenějších fotokatalyzátorů díky jeho chemické a biologické inertnosti, stabilitě a skutečnosti, že je jeho výroba nízkonákladová vzhledem k tomu, že tento vysoce fotoaktivní materiál neztrácí katalytickou aktivitu při opakovaném používání[2].

Nanočástice TiO_2 jsou široce používány v komerčních produktech, jako jsou opalovací krémy, zubní pasty, průmyslové výrobky (barvy, laky, papír)[3, 4, 5].

2.1.1 Vlastnosti nanomateriálů na bázi TiO_2

Fotokatalytický efekt byl mnoho let intenzivně studován skupinami vědců. Částice oxidu titaničitého v nano formě katalyzují oxidaci absorbovaných molekul za přítomnosti dopadajícího záření o příslušné energii. Pro vyvolání fotokatalytického účinku je zapotřebí dostatečné UVA záření (400-320 nm) a voda, což vede k produkci vysoce aktivních radikálů, jmenovitě hydroxylových radikálů a superoxidových radikálů. Tyto dva typy reaktivních radikálů jsou schopny spolupracovat a rozkládat organické sloučeniny[6, 7, 8].

Fotokotalytické procesy se tedy obecně podílejí na degradaci znečišťujících látek, selektivní přeměny organických látek a snížení emisí CO_2 při výrobě paliv. Druhou významnou vlastností těchto nanočástic je superhydrofilní efekt objevený v roce 1995. Po ozáření povrchu TiO_2 mají elektrony tendenci redukovat Ti(IV) kationty do stavu Ti(III) a fotoindukované díry oxidují O^{2-} anionty. V tomto procesu jsou atomy kyslíku vysouvány, a tím vznikají volné prostory, které jsou obsazeny molekulami vody. Tímto osazováním volných kyslíkových míst vodou dochází k produkci OH skupin, které mají tendenci dělat povrch hydrofilní[2].

2.2 Bisfosfonáty

Bisfosfonáty jsou pyrofosfátové analogy, které se váží v kostech na hydroxyapatit. Kostní remodelace jsou zprostředkovávány pomocí osteoblastů, které zajišťují kostní tvorbu, a osteoklasty, které zajišťují kostní resorpci. Ve zdravých kostech je proces remodelace v rovnováze. V případě kostní metastáze nastává sekrece cytokinů z rakovinových buněk, což vede k nepřiměřené aktivaci osteoklastů a tím pádem k narušení rovnováhy osteoblastů a osteoklastů. Bisfosfonáty jsou přijímány osteoklasty a způsobují apoptózu těchto resorpčních buněk v kostech[9]. Bisfosfonáty byly díky svým vynikajícím vazebným vlastnostem na hydroxyapatit a kovové povrchy, a dobrému bezpečnostnímu profilu, vyhodnoceny jako formulační činidla zejména pro sterickou stabilizaci nanočástic. Bylo zjištěno, že bisfosfonáty zvyšují stabilitu nanočástic, zatímco nanočástice stabilizované jinými sloučeninami s funkčními skupinami jako jsou sulfonáty, karboxyláty nebo difosfáty jsou méně stabilní[10].

2.3 Atomová absorpční spektrometrie

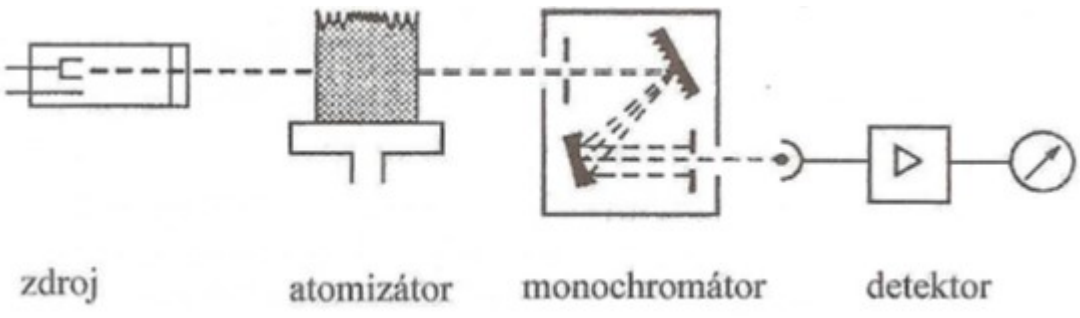
2.3.1 Historie AAS

Kolem roku 1925 byly k dispozici první komerční atomové spektrometry, které používali obloukové výbojky pro emisi a fotografické desky pro detekci a kvantitativní stanovení kovových prvků ve viditelné a UV oblasti[11]. Upřednostňovanou technikou byla optická emisní spektrometrie (OES), jelikož bylo snazší detekovat malý emisní signál v jinak tmavém prostředí bez přítomnosti světla než malé snížení záření v úzkém spektrálním intervalu v jasném prostředí, jak je to pro měření absorpce. Proto byla atomová absorpční spektrometrie v první polovině 20. století prakticky opomíjena[12]. První články o atomové absorpční spektrometrii byly publikovány sirem Alanem Walshem v Austrálii a Alkemadem a Milatzem v Nizozemsku roku 1955[13, 14]. Atomová emisní spektrometrie je založena na záření emitovaném termálními excitovanými atomy při přechodu do základního stavu. Atomizace vzorku je využita jak v AES tak v AAS. Jeden z nejpoužívanějších atomizátorů je plamen, kde se kapalný vzorek nasaje do atomizátoru, kde vznikne forma volných atomů v základním stavu. Po plamenové AAS následovala éra atomizace v grafitové pícce, kterou představil L'vov. V tomto systému je použita jako atomizátor odolná vyhřívaná karbonová kyveta, a ačkoliv byl L'vovův přístroj velice zajímavý a efektivní, začala se komerčně vyrábět pozměněná forma vyhřívaného

grafitového atomizátoru navržená Massmanem[15]. Grafitový atomizér byl citlivější, ale na druhou stranu více náchylnější k chemickým a spektrálním interferencím oproti plamenovému atomizátoru. Protože se začaly vyrábět atomizátory i z jiných materiálů než z grafitu, bylo pro tuto techniku osvojeno společné jméno elektrotermická atomizace (ET-AAS)[16].

2.3.2 Instrumentace F-AAS

Vzorek stanovovaného roztoku je nejprve v nebulizéru (zmlžovači) převeden do plynného stavu, což zvýší povrch rozpuštěného vzorku a tím usnadňuje odpařování. Vzorek aerosolu je transportován do oblasti plamenu, kde je většina kovových iontů redukována na elementární atomy prvku. Mezi nejpoužívanější zdroje záření v AAS patří výbojka s dutou kadotou. Používají se buď jednoprvkové lampy, které mají vyšší energetický výkon, nebo víceprvkové lampy. Také je možné použít bezelektrodové výbojky a kontinuální zdroj záření. Výbojka s dutou katodou se skládá z katodového vlákna zhotoveného z prvku, který je právě analyzován a vyplněna argonem nebo xenonem. Tato výbojka emituje záření o charakteristické vlnové délce a z velké části se skládá z rezonančního záření, jež absorbují volné atomy prvku. Tímto se intenzita dopadajícího paprsku snižuje. Záření procházející plamenem je přijímáno monochromátorem, který je nastaven tak, aby přijímal a vysílal záření s charakteristickou vlnovou délkou, která dopadá na detektor, který měří intenzitu záření[17, 18, 19]. Podle způsobu atomizace lze AAS dále rozdělit na plamenovou AAS, elektrotermickou AAS a AAS s hydridovou techniku[20].



Obr. 2.1: Instrumentace atomového absorpčního spektrometru (upraveno dle[21])

Zdroje kontinuálního záření

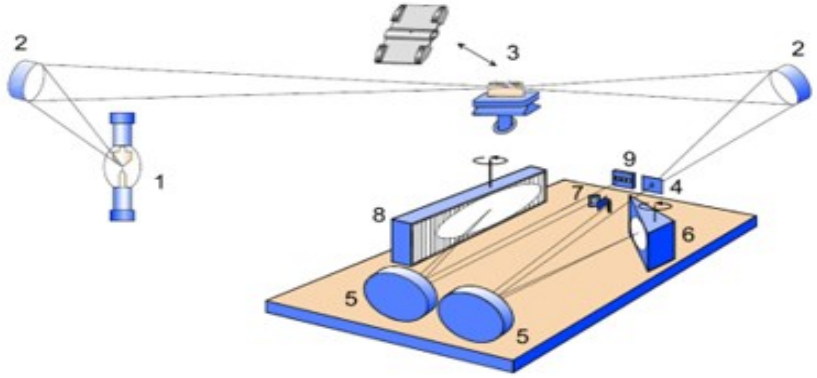
V porovnání s čárovými zdroji záření (LS), kdy je emitováno přednostně záření o charakteristické vlnové délce stanovovaného prvku, je kontinuální zdroj (CS) popsán jako radiační záření, které generuje spektrum s kontinuální spektrální distribucí přes široký rozsah vlnových délek. Mezi nejpoužívanější čárové radiační zdroje záření patří již dříve zmíněná výbojka s dutou katodou, a dále bezelektrodové výbojky. Jako kontinuální zdroj záření je využívána nejčastěji xenonová lampa s krátkým obloukem, která poskytuje záření v celém rozsahu vlnových délek, a to vede k řadě výhod. U přístrojů s čárovým zdrojem záření je známo, že jednotlivé výbojkou emitované spektrální čáry můžou mít výrazně odlišné intenzity. Proto bylo v HR-CS AAS dosaženo toho, aby byla možnost využít při stanovení i sekundární absorpční linie prvku, což vede k lepšímu poměru signálu ku šumu[22].

2.3.3 HR-CS-AAS

Pro atomovou absorpční spektrometrii byla vyvinuta nová instrumentální koncepce s využitím vysoce intenzivního zdroje záření xenonové lampy s krátkým obloukem, dvojitého echelle monochromátoru s vysokým rozlišením a CCD detektoru s rozlišením 2pm na 1 pixel. Tento typ detektoru umožňuje současně korekci pozadí v blízkosti analytické čáry. Mezi hlavní výhody tohoto systému patří zejména lepší poměr signálu ku šumu kvůli vysoké intenzitě zdroje záření, což vede ke zlepšení fotometrické přesnosti a lepším detekčním limitům. Na rozdíl od plamenové AAS, kde lze stanovit pouze jeden prvek, lze za použití atomového absorpčního spektrometru s vysokým rozlišením stanovit neomezený počet analytů pouze se změnou vlnové délky odpovídající určovanému analytu. Protože kontinuální zdroj vysílá všechny vlnové délky, je zde možnost vybrat více než jen jednu spektrální čáru analytu s širokým koncentračním rozsahem tak aby se rozšířil lineární pracovní rozsah, a aby se vybralo vhodné rozlišení k následným přizpůsobením podmínek pro konkrétní aplikace. Kromě toho zde dokáže software měnit složení plamene a výšku hořáku na předem optimalizované podmínky během jedné vteřiny. Hlavní výhodou této techniky je zlepšení analytického signálu a stabilita základní čáry, která vede k daleko nižšímu LOD a efektivní korekci složitých a extrémně rychlých změn[23].

2.3.4 Instrumentace HR-CS AAS

Zdrojem radiačního záření je zde xenonová vysokotlaká výbojka, která vydává nepřetržité záření soustředěné do atomizátoru, kde jsou produkovány atomy analytu v základním stavu jako u běžné AAS. Záření, které prošlo atomizátorem, je vedeno do vstupní štěrbiny, vysokorozlišovacího dvojitého monochromátoru. Přicházející záření je nejprve rozptýleno kombinací hranolů, a nakonec je určitý spektrální interval kolem analytické linie zachycen lineárním nábojem CCD detektoru[24].



Obr. 2.2: Instrumentace v HR-CS AA spektrometru s vysokorozlišovacím dvojitým monochromátorem; 1: xenonová obloukova lampa, 2: eliptická zrcátka, 3: atomizér, 4: vstupní štěrbina, 5: parabolická zrcátka, 6: hranol, 7: sklopná zrcátka a mezilehlá štěrbina, 8: echelle mřížka, 9: CCD detektor (upraveno dle[25])

2.3.5 Atomizační systém

Pro dosažení atomové absorpce je nutné, aby došlo k produkci volných atomů prvku v základním stavu. Tento proces probíhá v nebulizéru a nazývá se atomizace. Pro atomové absorpční zařízení je využívána řada komerčních nebulizérů, z nichž nejběžnější je použití plamenu nebo grafitové pece[25].

F-AAS

Plamen je chemická reakce, která probíhá v plynné fázi. Ideální plamen pro atomovou spektrometrii by měl vygenerovat správné množství tepelné energie k oddělení atomů od jejich chemických vazeb. Nejpoužívanějším plamenem je směs vzduch-acetylen a oxid dusný-acetylen. Výběr oxidantu záleží na teplotě plamenu a požadovaném složení

pro produkci volných atomů v základním stavu. Rozdíl plamenových směsí spočívá v tom, že při složení oxid dusný-acetylen je dosaženo teploty kolem 2900 °C a stanovuje se jím kolem 66 prvků, zatímco teplota plamene ve složení vzduch-acetylen se pohybuje kolem 2300 °C a je určen pro měření přibližně 30 prvků. V předmíchací komoře se smísí stanovovaný vzorek ve formě aerosolu s oxidantem a palivem, a větší kapičky vzorku se před vstupem do plamene rozptýlí nebo odčerpají. Tímto způsobem se vytváří stabilnější plamen, který je nesen na 10 cm dlouhou hlavu hořáku. Správné přizpůsobení plamene světelné dráze je velice důležité. Proto by měl přístroj obsahovat pevný držák pro vzorkovací systém a zajišťovat vertikální, horizontální a rotační nastavení[26].

GF-AAS

Tato technika je v podstatě stejná jako v případě F-AAS, kromě toho že je plamen nahrazen elektricky vyhřívanou polykrystalickou pícku připevněnou ke grafické trubici, která umožňuje, že je vzorek postupně zahříván až k teplotám 3000 °C. Tímto postupným zahříváním se opožďuje atomizace, a to vede k minimalizaci některých nespektrálních interferencí. Elektrotermická atomizace umožňuje téměř úplnou atomizaci vzorku, čímž je tato technika účinnější než F-AAS. Vzorek je nanesen přímo na platformu grafitové pece, která je postupně zahřívána, vzorek prochází procesem sušení, zbavení se organické hmoty, a odpaření a atomizaci kovů. Na konci teplotního programu je grafitová pec vyčištěna dalším nárůstem teploty a po následném ochlazení na laboratorní teplotu je dávkován další vzorek[27,28]. Atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací patří v oblasti elementárního stanovení, vzhledem k vysoké citlivosti, mezi nejpoužívanější analytické metody a poskytuje mnoho výhod v porovnání s měřením konvenční plamenové atomové absorpční analýzou. Je zde minimalizována kontaminace stopovými prvky přidáním činidel (modifikátorů). Velký rozdíl v porovnání s F-AAS je objem nadávkovaného vzorku, kde zde stačí objem 1-50 µl vzorku[29, 1].

2.3.6 Modifikátory v ET-AAS

Modifikátory matrice jsou sloučeniny, které ovlivňují tepelné procesy probíhající v prostředí atomizéru, aby se minimalizovala ztráta vzorku během pyrolýzy a aby došlo k odstranění nežádoucích vzorků matrice. Některé modifikátory způsobují vypaření složky matrice při nižších teplotách, jiné typy modifikátorů fungují jako stabilizátory analytu. K nejpoužívanějším modifikátorům patří soli kovů. Stabilizují mnoho druhů analytů, což

umožňuje použití vyšších teplot pyrolýzy, kde mohou být odstraněny nežádoucí komponenty matrice. Signál absorbance je tak často zpožděn, dokud pec nedosáhne vyšší a stabilnější teploty[22].

2.3.7 Optický systém

V AAS rozlišujeme dva druhy jednopaprskovým a dvoupaprskovým optickým systémem.

Rozdíl v konstrukci těchto spektrometrů spočívá v tom, že u jednopaprskového systému je primární záření vedeno skrz absorbovaný objem bez toho, aby byl geometrický paprsek nějak dělen, zatímco u dvoupaprskového spektrometru je záření rozděleno. Určité množství záření (vzorkový paprsek) prochází absorpčním objemem, zatímco další část záření (referenční paprsek) prochází mimo absorpční objem. Jednopaprskové spektrometry mají oproti dvoupaprskovým tu výhodu, že mají větší dynamicky rozsah a dochází k nižším ztrátám radiačního záření. Hlavní výhodou dvoupaprskového zařízení je lepší dlouhodobá stabilita, neboť je schopno kompenzovat změnu intenzity zdroje a citlivost detektoru[14].

2.3.8 Korekce pozadí

Absorpce analytu může být ovlivněna absorpcí pozadí. Tento typ absorpce je přičítán rozptylu světla na částicích tvořených rekombinaci matrice vzorku v určitých místech. Absorpci pozadí může rovněž způsobovat široký absorpční signál způsobený radikály nebo jinými molekulami, které se v nebulizéru odpařují. Proto, aby byla získána čistá absorbance atomů analytu, musí být odečtené nebo absorbované dopadající záření z celkově změřené absorbance odečteno. Tato operace je známá jako korekce pozadí[30].

2.3.9 Využití AAS

Atomová absorpční spektrometrie má mnoho využití v různých odvětvích chemie. V klinických analýzách se používá pro stanovení kovů v biologických tekutinách jako jsou krev a moč. Dále je možno tuto metodu použít pro enviromentální analýzu pro monitorování životního prostředí a zjištění množství jednotlivých prvků v řekách, jezerech, pitné vodě, vzduchu a nápojích jako jsou pivo nebo víno[31].

2.3.10 Interference v AAS

V atomové absorpční spektrometrii je možno se setkat se dvěma typy interferencí. Spektrální interference jsou způsobeny absorpcí záření jinými elementárními nebo molekulárními druhy při vlnových délkách, které se překrývají se spektrálními oblastmi analytu přítomném ve vzorku. Nespektrální interference jsou způsobeny matricí vzorku a podmínkami, které ovlivňují atomizační účinnost, nebo ionizaci neutrálních atomů v nebulizéru[32].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

- Kalibrační roztok titanu, c(Ti) = 1000 ± 5 mg l^{-1}, (ASTASOL, ČR)
- Kalibrační roztok fosforu, c(P)= 1000 ± 5 mg l^{-1}, (ASTASOL, ČR)
- Dihydrogenfosforečnan amonný >99 % p.a., (Lachner, ČR)
- Síran hlinitý oktadekahydrát p.a. (Lachner, ČR)
- Chlorid vápenatý >96 % p.a. (Lachner, ČR)
- Kyselina fluorovodíková, 24-26 % p.a. (Lachner, ČR)
- Chlorid titaničitý >99 % p.a., (Fluka) byl před použitím čištěn destilací v proudu argonu
- Deionizovaná voda, o vysoké čistotě, připravená zařízením Milli-Qplus (USA)
- Kyselina dusičná, Analpure, 67-69 %, (fa Analytika s.r.o.)
- Chlorid draselný, p.a. (Lachner, ČR)
- Kyselina 4-hydroxy-4,4-difosfonobutanová, disodná sůl – H_5L^3 (příprava Mgr. A. Zabloudil, katedra anorganické chemie PřF UK)
- Hydroxid sodný (Lachner, ČR)

3.2 Přístroje a vybavení

- Atomový absorpční spektrometr GBC 933 AA s plamenovou atomizací (acetylen-oxid dusný, acetylen-vzduch)
- Výbojky s dutou katodou (Varian Techtron, Austrálie) pro stanovení prvků Ti a P (konkrétní parametry nastavení výbojek s dutou katodou jsou uveden v Tab. 3.2)
- Předvážky EW 600-2M KERN, Německo
- Atomový absorpční spektrometr ContrAA 700 (Analytik Jena AG) s plamenovou i elektrotermickou atomizací
- pH metr (inoLab pH 7110, WTW)
- DLS analyzátor ALV (Langen, Německo)
- Kyvety použité při měření DLS (Scherf Präzision Europe GmbH, Meiningen) o síle stěny 1 mm.
- Magnetické míchadlo (MSH-500D, Witeg)

3.3 Pracovní postup

Tato kapitola je věnována popisu pracovních postupů pro přípravu zásobních roztoků a koloidního roztoku nanočástic oxidu titaničitého.

Příprava zásobních roztoků

Pro přípravu zásobního roztoku hliníku o koncentraci 5,0 g l^{-1} bylo naváženo 6,18 g pevného $Al_2(SO_4)_3$. 18 H_2O a rozpuštěno ve 100 ml deionizované vody.

Pro přípravu zásobního roztoku fosforu o koncentraci 50 g l^{-1} bylo naváženo 18,57 g pevného $NH_4H_2PO_4$, a rozpuštěno ve 100 ml deionizované vody.

Příprava roztoků používaných při ET-AAS

Pro přípravu roztoku kyseliny dusičné, ($c(HNO_3) \approx 0{,}48$ %, $\rho_{0,5\%} \approx 1{,}002$ g/ml) bylo do odměrné baňky o objemu 1000 ml nalito cca 500 ml deionizované vody a opatrně se přidalo 5 ml 68% HNO_3 pomocí skleněné pipety. Roztok byl promíchán, vytemperován na laboratorní teplotu a doplněn deionizovanou vodou po rysku.

Pro přípravu roztoku kyseliny dusičné, ($c(HNO_3) \approx 5\%$) bylo do 50ml odměrné baňky pipetováno 3,6ml 68 % HNO_3 a doplněno deionizovanou vodou po rysku.

Roztok pro přípravu kyseliny dusičné, ($c(HNO_3) \approx 0{,}2\%$) byl připraven naředěním 0,48 % HNO_3 (42 ml 0,48 % kyseliny + 58 ml deionizované vody).

Pro přípravu roztoku $Mg(NO_3)_2$ o koncentraci 2 g/l v 0,2 % HNO_3 bylo do 25ml odměrné baňky odměřeno 15 ml 0,2 % HNO_3 a přidáno 0,0864 g pevného $Mg(NO_3)_2$ .6 H_2O (čistoty 99,995+ %). Roztok byl doplněn po rysku 0,2% HNO_3.

Pro přípravu modifikátoru Pd + $Mg(NO_3)_2$ byly do 10 ml odměrné baňky pipetovány 3 ml roztoku $Mg(NO_3)_2$ o koncentraci 2 g/l v 0,2 % HNO_3 a 5 ml roztoku Pd o koncentraci 2 g/l v 5 % HNO_3. Po rysku byla doplněna 5 % HNO3 a roztok byl promíchán. Tento typ modifikátoru je používán při stanovení Ag, As, Au, Bi, Cu, Ga, Ge, Hg, In, Mo, P, Sb, Se, Sn, Te, Tl.

Příprava koloidního roztoku oxidu titaničitého

Do baňky o objemu 1000 ml bylo odměřeno 900 ml deionizované vody. Baňka opatřena velkým magnetických míchadlem byla chlazena ve vodní lázni s ledem na teplotu 0 °C. Do takto vychlazené vody bylo při maximálních otáčkách magnetického míchadla (1500 rpm) přikapáváno postupně 3,5 ml (32 mmol) redestilovaného chloridu titaničitého. Následně byla chladící lázeň odstraněna a obsah se nechal po dalších 24 hodin intenzivně míchat. Poté byl roztok uložen do chladničky na 32 hodin.

Dynamický rozptyl světla (DLS)

Za účelem zjištění velikosti nanočástic TiO_2 bylo využito přístroje dynamického rozptylu světla. Tato technika, také známá pod pojmem fotonová korelační spektroskopie, je jednou z nejběžnějších metod používaných k určení velikosti částic. DLS měří Brownianův pohyb vztažený k velikosti částic. Je to náhodný pohyb částic v důsledku bombardování molekulami rozpouštědla, které je obklopují. Čím větší je částice, tím pomalejší bude Browninanův pohyb. Menší částice jsou odráženy dále molekulami rozpouštědla a pohybují se rychleji[33]. Jednou z největších výhod této metody je především krátká doba trvání experimentálního měření velikosti částic (do 30 sekund).

Výsledná velikost nanočástic v roztoku byla 28 nm, což znamená, že se tento požadavek vešel do rozsahu 20–100 nm.

Povrchová modifikace koloidního oxidu titaničitého látkou H_5L^3

Bylo naváženo 0,462 g bisfosfonátu H_5L^3, který byl dále rozpuštěn v 15 ml destilované vody o teplotě přibližně 50 °C. Výsledná koncentrace zásobního roztoku bisfosfonátu byla 0,1 mol l^{-1}. Takto připravený roztok byl filtrován přes mikrofiltr 0,22 µm**.**

Do kádinky s magnetickým míchadlem bylo pipetováno 15 ml zásobního roztoku TiO_2 (2,7 mg ml^{-1}). Za intenzivního míchání byl k roztoku přidán takový objem zásobního roztoku bisfosfonátu, aby poměr $mTiO_2$:mBP byl 1:0,5 (42,39 mg TiO2:21,19 mg BP). Bylo tedy přidáno 804 µl a roztok byl nadále 15 minut míchán. Po uplynutí 15 minut bylo počáteční pH (5,5) upraveno pomocí 0,1 M hydroxidu sodného na přibližně 6,5. Takto upravený koloidní roztok modifikovaný částicemi byl přelit do dialyzační membrány. Dialyzační krok byl opakován po 24 hodinách celkem 7x oproti přibližně 20 násobnému množství destilované vody, přičemž byly každý den odebrány 2 ml vzorku.

Podmínky měření

Pro měření roztoků nanočástic oxidu titaničitého modifikovaným bisfosfonáty byly parametry přístrojů nastaveny na experimentálně zjištěné optimální parametry, případně na ověřené hodnoty dané přístrojovým manuálem (Tab. 3.2-3.4). Ve všech případech stanovení bylo využito složení plamene acetylen-oxid dusný.

Tab. 3.2: Parametry přístroje pro stanovení Ti a P technikou F-AAS (GBC 933 AA)

	GBC 933 AA	
Prvek	Ti	P
Vlnová délka	364,3 nm	213,6 nm
Napájecí proud	15 mA	10 mA
Šířka spektrálního intervalu	0,5 nm	1,0 nm
Průtok oxidu dusného	75 l hod^{-1}	65 l hod^{-1}
Počet opakování měření	3	3
Integrační čas měření	3 s	3 s

Tab. 3.3: Parametry přístroje pro stanovení Ti a P technikou F-AAS (ContrAA 700)

	ContrAA 700	
Prvek	Ti	P
Vlnová délka	364,27 nm	213,62 nm
Napájecí proud	13 mA	13 mA
Rozlišení	7 pixelů	5 pixelů
Průtok oxidu dusného	55 l hod^{-1}	55 l hod^{-1}
Počet opakování měření	3	3
Integrační čas měření	5 s	5 s

Tab. 3.4 Parametry přístroje pro stanovení P technikou ET-AAS (ContrAA 700)

	ContrAA 700
Prvek	P
Vlnová délka	213,62 nm
Napájecí proud	13 mA
Rozlišení	5 pixelů
Dávkovaný objem	20 µl
Počet opakování měření	3
Integrační čas měření	5 s

3.4 Statistické zpracování výsledků

Při každém měření byly měřeny vždy tři hodnoty, z nichž byl již přístrojem vyhodnocen **medián**, což je hodnota ležící uprostřed hodnot výsledků, seřazených podle velikosti. V případě lichého počtu výsledků je medián roven prostřednímu z výsledků a v případě sudého počtu je roven aritmetickému průměru dvou prostředních hodnot.

Aritmetický průměr

$$x = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} x_i$$

kde x_i je vypočtený výsledek a n je počet vypočtených výsledků. Pro malý počet n je aritmetický průměr citlivý na okrajové hodnoty. Proto se při n ≤ 20 požívá hodnota mediánu. V případě již zmíněného malého počtu n měření provedených na jednom vzorku, se směrodatná odchylka *s* vypočítá podle vzorce:

$$s = k_n \cdot R$$

kde je *R* rozpětí nejvyšší a nejnižší hodnoty vypočtených výsledků a k_n je tabelovaný koeficient.

$$R = x_{max} - x_{min} = x_n - x_1$$

Mez opakovatelnosti, *r*, je intervalový odhad, který představuje rozsah hodnot, ve kterém

leží odhad střední hodnoty s udanou pravděpodobností. Tato pravděpodobnost je udávána koeficientem spolehlivosti, který volíme 95 %, a vypočte se dle vztahu:

$$r = f(n) \cdot s_r$$

Kde je *f(n)* součinitel kritického rozpětí, tabelovaný pro příslušný koeficient spolehlivosti.

Určení meze detekce a meze stanovitelnosti z kalibrační závislosti

Pomocí statistických analýz kalibrační závislosti, lze získat nejen korelační koeficient a koeficienty lineární regrese, ale i jejich směrodatné odchylky a zejména směrodatnou odchylku s_r. Tato směrodatná odchylka charakterizuje rozptýlení bodů kolem regresní přímky pro případ, že *x* je nezávislé a *y* je závisle proměnná.

$$s_r = \sqrt{\frac{\sum (y_i - Y_i)^2}{n-2}},$$

kde y_i znamená naměřené hodnoty závislé veličiny regresní rovnice. Y_i jsou hodnoty závislé veličiny, vypočtené z rovnice regrese pro dané x_i. Mez detekce i mez stanovitelnosti lze určit s pomocí s_r.

Za předpokladu, že platí rovnice:

$$y = B \cdot x + A$$

kde *x* je koncentrace v použitém roztoku jeho standardu a *y* značí signál. Pro zjištění LOD jako koncentrace, kdy existuje definovaná pravděpodobnost, že je analyt přítomen, avšak jeho koncentrace se nedá určit. Hodnota LOD byla položena trojnásobku s_r a dosazena do regresní rovnice:

$$LOD = \frac{3s_r - A}{B}$$

Za hodnotu signálu pro LOQ je brán desetinásobek s_r:

$$LOD = \frac{10s_r - A}{B}$$

4 VÝSLEDKOVÁ ČÁST A DISKUZE

4.1 Stanovení titanu

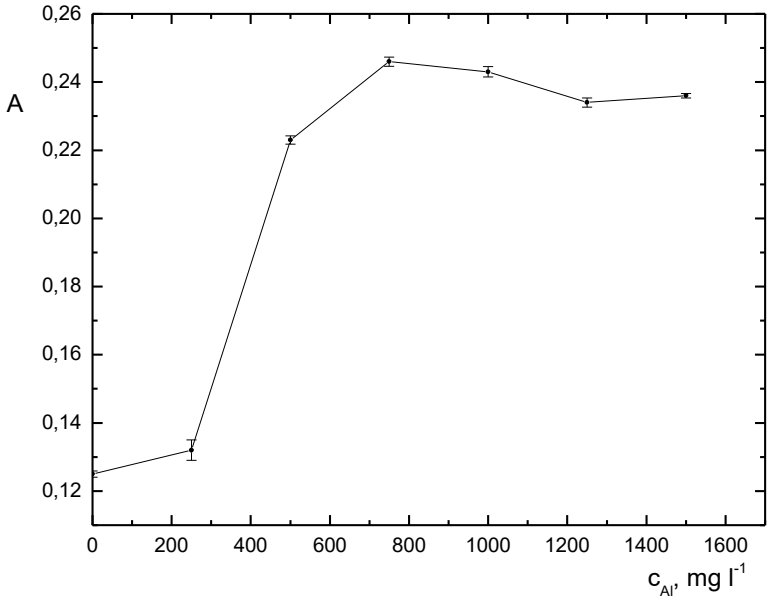
Pro stanovení titanu technikou F-AAS bylo nejprve nutné optimalizovat experimentální parametry pro dosažení nejvyšší citlivosti stanovení tohoto prvku. Experimentální parametry byly optimalizovány pro oba využité spektrometry (AAS s klasickou výbojkou s dutou katodou i AAS s kontinuálním zdrojem záření a s vysokým rozlišením). Charakteristiky získané za optimálních podmínek posloužily pro porovnání obou přístrojů.

4.1.1 Optimalizace podmínek technikou F-AAS (GBC 933AA)

Všechna měření v této kapitole probíhala na atomovém absorpčním spektrometru GBC 933 AA. Před vytvořením kalibrační závislosti a stanovením vybraných prvků v koloidním roztoku titanových nanočástic s bisfosfonáty bylo nejprve nutné najít optimální experimentální parametry pro dané stanovení. Mezi optimalizované parametry patřily: výběr a koncentrace vhodného uvolňovacího činidla (hliníku), výška paprsku nad hranou hořáku a průtoková rychlost acetylenu.

Koncentrace přídavku uvolňovacího činidla

Jako první byl sledován vliv přítomnosti hliníku (hlinitých iontů) v měřených roztocích na hodnotu získaného signálu. Z odborné literatury je známé, že hliník působí jako uvolňovací činidlo. Jeho přítomnost způsobuje významné zvýšení analytických signálů několika prvků. Připravená sada měřených roztoků obsahovala hliník o koncentraci 0; 250; 500; 750; 1000; 1250 a 1500 mg l^{-1}. Koncentrace titanu v analyzovaném roztoku byla 150 mg l^{-1}.

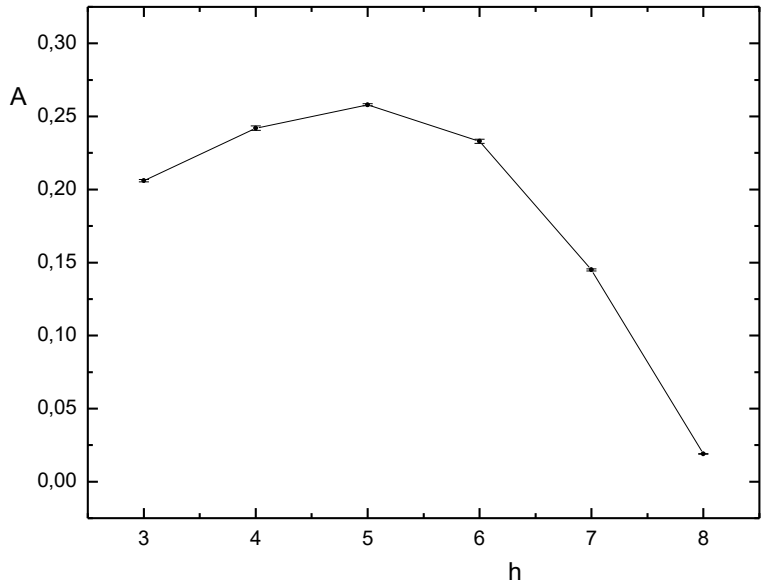


Obr. 4.1: Závislost absorbance na koncentraci přidaných hlinitých iontů pro stanovení Ti
I = 15 mA; λ = 364,3 nm; $\Delta\lambda$ = 0,5 nm; h = 6 rel. j.; v_{ox} = 75 l hod^{-1}; v_{act} = 250 l hod^{-1}

Na základě grafického znázornění výsledků optimalizace (viz Obr. 4.1) je patrné, že se zvyšující se koncentrací hliníku stoupá i hodnota analytického signálu. Nejvyššího signálu bylo dosaženo u přídavku 750 mg l^{-1} hliníku, a proto byla pro další optimalizační kroky použita tato koncentrace ve všech dalších případech měření titanu technikou F-AAS.

Výška paprsku nad hranou hořáku

Dalším optimalizovaným parametrem bylo určení optimální výšky paprsku primárního záření procházejícího nad hranou hořáku. Roztok použitý v této optimalizační studii obsahoval titan o koncentraci 150 mg l^{-1} a hliník o koncentraci 750 mg l^{-1}. Výškový rozsah byl 3-8 relativních jednotek, které na daném typu spektrometru slouží pro nastavení optimální výšky hořáku. Získané výsledky jsou graficky znázorněny na Obr. 4.2.

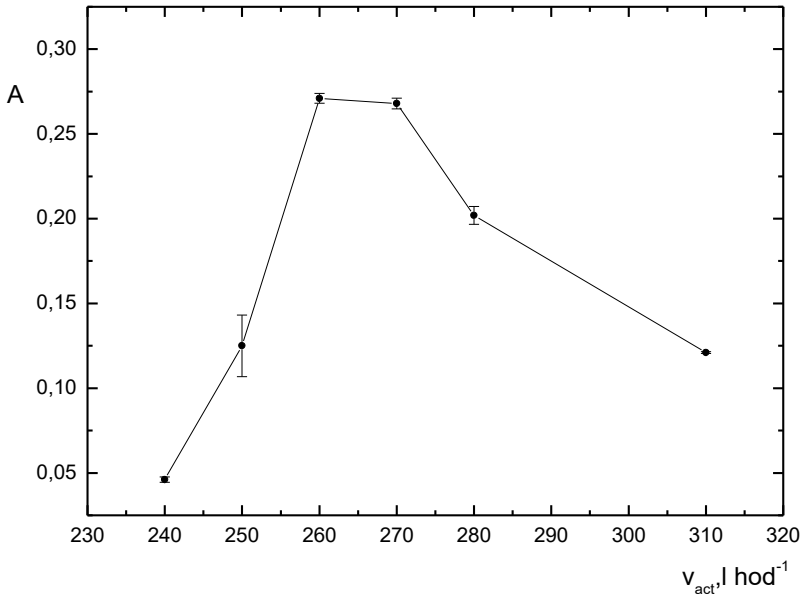


Obr. 4.2: Závislost absorbance na výšce hořáku pro stanovení titanu
I = 15 mA; λ = 364,3 nm; $\Delta\lambda$ = 0,5 nm; v_{ox} = 75 l hod^{-1}; v_{act} = 250 l hod^{-1}, h – relativní jednotka

Z grafického znázornění je patrné, že analytický signál se zvyšující se výškou hořáku lehce stoupá a kolem hodnoty výšky 5 relativních jednotek byl zaznamenán nejvyšší analytický signál. Po této hodnotě analytický signál se stoupající výškou hořáku klesal. Pro další případy měření titanu technikou F-AAS byla použita výška 5 relativních jednotek, jelikož při této výšce dochází k nejvyšší absorpci primárního záření volnými atomy prvku v základním stavu.

Průtokové rychlosti acetylenu

Mezi další parametry ovlivňující citlivost stanovení patří také průtoková rychlost acetylenu. Pro tento optimalizační krok byl použit roztok 150 mg l^{-1} titanu a 750 mg l^{-1} přídavku hliníku. Vzorek byl proměřen při šesti hodnotách průtokových rychlostí acetylenu, který tvoří jednu složku hořlavé směsi. Hodnoty byly 240; 250; 260; 270; 280 a 310 l hod^{-1}.



Obr. 4.3: Závislost absorbance na průtokové rychlosti acetylenu pro stanovení titanu
I = 15 mA; λ = 364,3 nm; $\Delta\lambda$ = 0,5 nm; h = 5 rel. j.; v_{ox} = 75 l hod^{-1}

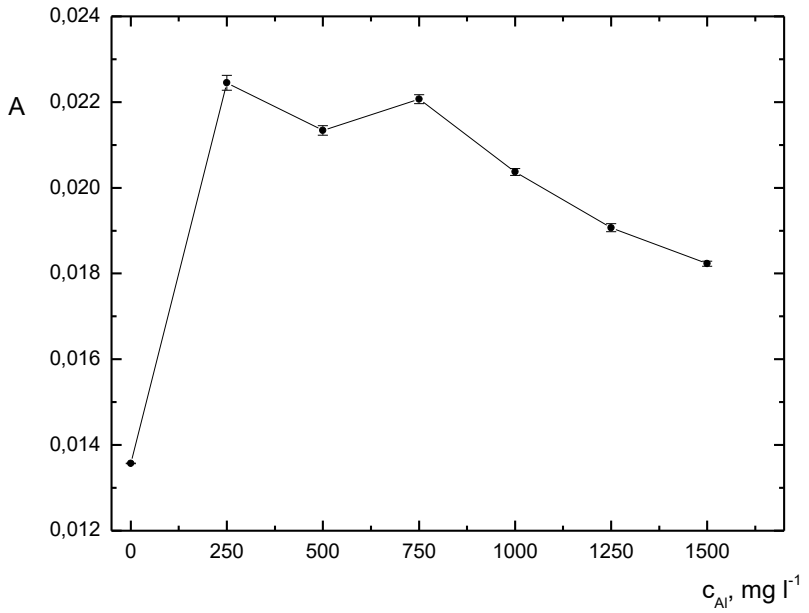
Z grafické závislosti absorbance na průtokové rychlosti na Obr. 4.3 lze vyčíst, že analytický signál se zvyšující se průtokovou rychlostí stoupá, až dosáhne maximální hodnoty při 260 l hod^{-1}. Tato průtoková rychlost byla zvolena jako optimální a byla použita v dalších optimalizačních krocích a kalibraci titanu technikou F-AAS.

4.1.2 Optimalizace podmínek techniky HR-CS AAS (ContrAA 700)

Všechna měření v této kapitole byla prováděna na atomovém absorpčním spektrometru s kontinuálním zdrojem záření a s vysokým rozlišením ContrAA 700. Mezi optimalizované parametry patřily: koncentrace přídavku hliníku, koncentrace přídavku kyseliny chlorovodíkové, výška paprsku nad hranou hořáku a průtoková rychlost acetylenu.

Koncentrace přídavku uvolňovacího činidla

V tomto optimalizačním kroku bylo použito šest vzorků o koncentraci 10 mg l^{-1} Ti a koncentraci uvolňovacího činidla (hliníku) stoupající od 0 mg l^{-1} do 1500 mg l^{-1} po jednotce 250 mg l^{-1}.

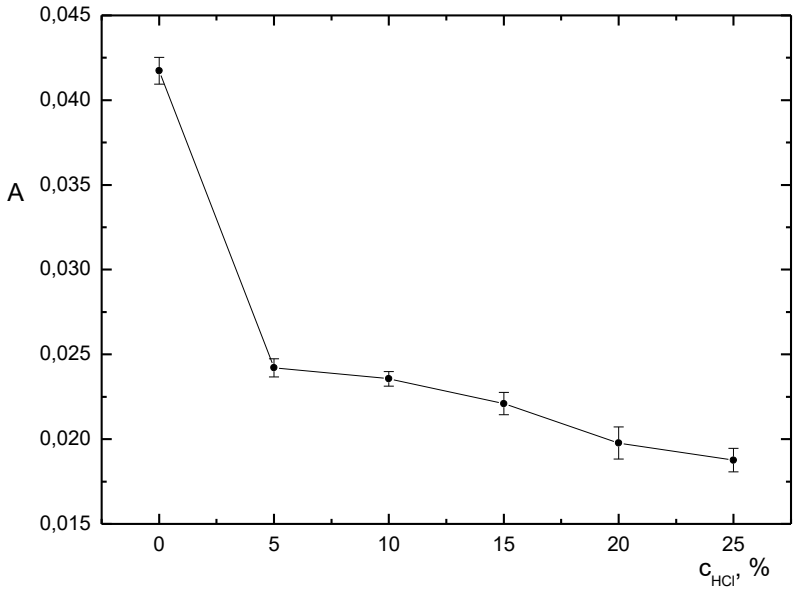


Obr. 4.4: Závislost absorbance na koncentraci přidaného hliníku pro stanovení titanu
I =13 mA; λ = 364,27 nm; R = 7 pixelů; h = 5 mm; v_{act} = 225 l hod^{-1}; v_{ox} = 55 l hod^{-1}

Na základě výsledků grafické závislosti absorbance na koncentraci hliníku (viz Obr. 4.4) byla do dalších optimalizačních kroků přidáván hliník o koncentraci 250 mg l^{-1}, což je koncentrace, ve které bylo dosaženo nejvyššího analytického signálu. Z grafické závislosti je patrné, že dále se zvyšující se koncentrací analytický signál lehce klesá. Přídavek byl použit do vzorků k sestrojení kalibrační závislosti i k analýze reálných vzorků titanu technikou F-AAS.

Koncentrace přídavku HCl

Na základě doporučení přístrojového manuálu byl testován přídavek kyseliny chlorovodíkové různých koncentrací a sledován vliv na velikost získaného analytického signálu. V tomto optimalizačním kroku bylo použito šest vzorků o koncentraci 10 mg l^{-1} titanu a 250 mg l^{-1} hliníku. Grafický průběh je znázorněn na Obr. 4.5.

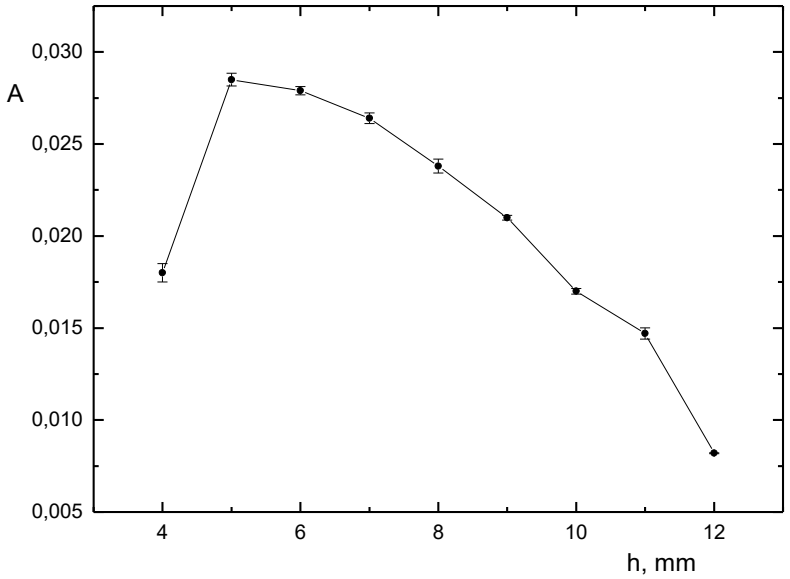


Obr. 4.5: Závislost absorbance na koncentraci přidané HCl pro stanovení titanu
I = 13 mA; λ = 364,27 nm; R = 7 pixelů; h = 5 mm; v_{act} = 225 l hod^{-1}; v_{ox} = 55 l hod^{-1}

Z grafické závislosti je vidět výrazný rozdíl mezi signály bez přídavku kyseliny a s kyselinou chlorovodíkovou. Získaný signál je u vzorku bez kyseliny téměř dvojnásobný, něž u vzorků, ve kterých kyselina byla přítomna. Z tohoto důvodu probíhaly další měření bez přítomnosti kyseliny chlorovodíkové ve vzorku.

Výška paprsku nad hranou hořáku

V tomto optimalizačním kroku byl použit roztok o koncentraci 10 mg l^{-1} titanu s koncentrací hliníku 250 mg l^{-1}. Plamenový profil byl proměřen v rozsahu 4–12 mm po jednotce 1 mm.

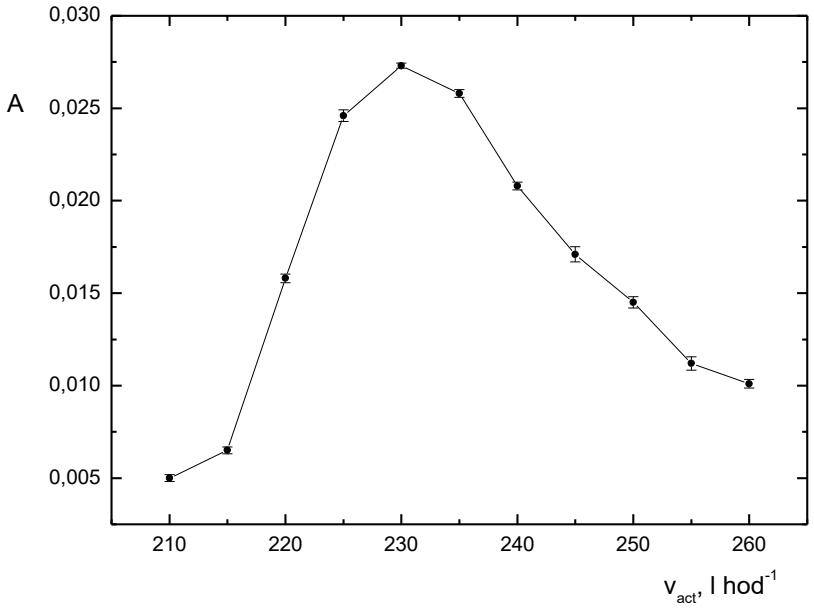


Obr. 4.6: Závislost absorbance na výšce hořáku pro stanovení titanu
I = 13 mA; λ = 364,27 nm; R = 7 pixelů; v_{act} = 225 l hod^{-1}; v_{ox} = 55 l hod^{-1}

Z grafické závislosti absorbance na výšce hořáku je patrné, že nejvyšší analytický signál byl změřen ve výšce 5 mm nad hranou hořáku. Po této hodnotě analytický signál se zvyšující se výškou už pouze jen klesá, tudíž byla tato hodnota zařazena do dalšího optimalizačního kroku a pro samotnou kalibraci.

Průtoková rychlost acetylenu

Ve třetím optimalizačním kroku byl použit roztok o koncentraci 10 mg l^{-1} titanu s přídavkem hliníku o koncentraci 250 mg l^{-1} měřený při průtokových rychlostech 210-260 l hod^{-1} s jednotkou 5 l hod^{-1}.



Obr. 4.7: Závislost absorbance na průtokové rychlosti acetylenu pro stanovení titanu
I = 13 mA; λ = 364,27 nm; R = 7 pixelů; h = 5 mm; v_{ox} = 55 l hod^{-1}

Z grafické závislosti absorbance na průtokové rychlosti na Obr. 4.7 je patrné, že byl nejvyšší analytický signál naměřen při průtokové rychlosti acetylenu 230 l hod^{-1}. Tento experimentálně zjištěný parametr byl použit pro sestrojení kalibrační řady titanu technikou F-AAS.

Tab. 4.1: Přehled optimalizovaných parametrů pro stanovení titanu technikou F-AAS

	GBC 933 AA	ContrAA 700
Přídavek hliníku	750 mg l^{-1}	250 mg l^{-1}
Výška hořáku	5 rel. j.	5 mm
Průtok acetylenu	260 l hod^{-1}	230 l hod^{-1}

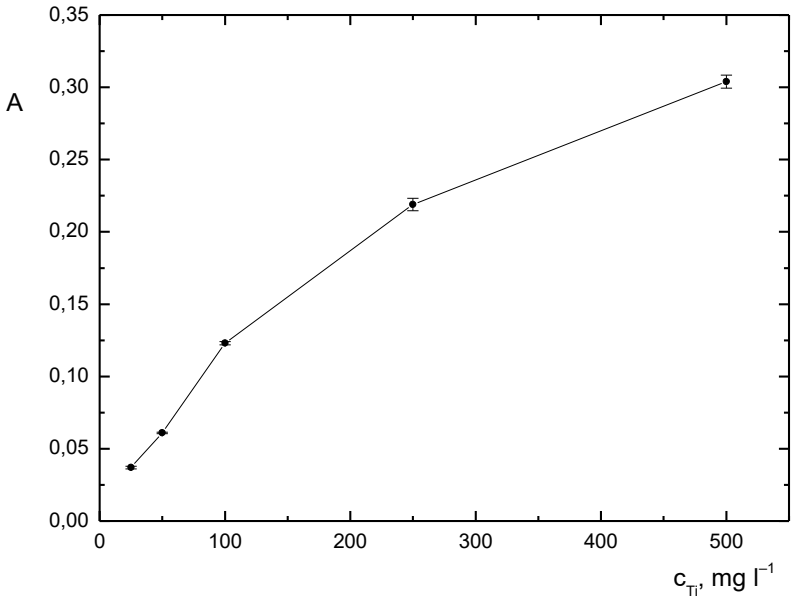
V Tab. 4.1 je přehled experimentálně zjištěných optimálních hodnot pro stanovení titanu technikou F-AAS na spektrometru GBC 933 AA a spektrometru ContrAA 700.

4.1.3 Kalibrace a základní charakteristiky stanovení titanu

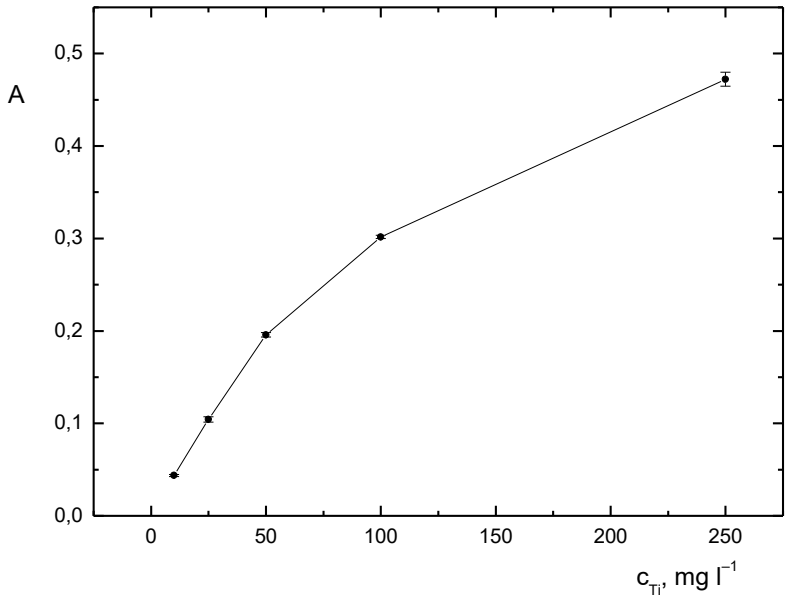
Za optimálních hodnot experimentálních parametrů nalezených v Tab. 4.1 byly změřeny signály kalibračních roztoků a následně sestaveny kalibrační závislosti absorbance na koncentraci titanu. Kalibrační řada titanu měřená na plamenovém atomovém absorpčním spektrometru byla připravena z koncentrací 25; 50; 100; 250 a 500 mg l^{-1} titanu. K těmto kalibračním roztokům byl přidán přídavek hliníku tak, aby jeho výsledná koncentrace v roztoku byla 750 mg l^{-1}. Kalibrační řada titanu měřená na atomovém absorpčním spektrometru s kontinuálním zdrojem záření a s vysokým rozlišením obsahovala vzorky o koncentraci 10; 25; 50; 100 a 250 mg l^{-1} titanu, a přídavkem hliníku o koncentraci 250 mg l^{-1} v každém kalibračním vzorku. Základní charakteristiky metod stanovení titanu jsou uvedeny v Tab. 4.2. K výpočtu příslušných limitů byl u techniky F-AAS na spektrometru GBC 933 AA použit roztok o koncentraci 250 mg l^{-1} titanu s přídavkem 750 mg l^{-1} hliníku a u techniky F-AAS n spektrometru ContrAA 700 roztok o koncentraci 50 mg l^{-1} titanu s přídavkem 250 mg l^{-1} hliníku. Z deseti odečtených hodnot signálu byla spočtena směrodatná odchylka použita k výpočtu meze detekce, meze stanovitelnosti a byla vypočtena i hodnota opakovatelnosti. Grafické závislosti absorbance na koncentraci titanu obou vypracovaných metod jsou uvedeny na Obr. 4.8 a Obr. 4.9.

Tab. 4.2: Charakteristiky metody stanovení titanu technikou F-AAS

Charakteristika	GBC 933 AA	ContrAA 700
Mez detekce (mg l^{-1}), 3σ	5,2	1,1
Mez stanovitelnosti (mg l^{-1}), 10σ	17,0	3,7
Citlivost (l mg^{-1})	2,9 10^{-3}	4,2 10^{-3}
Opakovatelnost (%)	2,1	0,84
Korelační koeficient	0,9997	0,9997
Lineární dynamický rozsah do (mg l^{-1})	100	50
Pracovní rozsah do (mg l^{-1})	500	250



Obr. 4.8: Kalibrační závislost titanu (GBC 933 AA)
I = 15 mA; λ = 364,3 nm; $\Delta\lambda$ = 0,5 nm; h = 5 rel. j.; v_{ox} = 75 l hod^{-1}; v_{act} = 260 l hod^{-1}



Obr. 4.9: Kalibrační závislost titanu (ContrAA 700)
I = 13 mA; λ = 364,27 nm; R = 7 pixelů; h = 5 mm; v_{act} = 230 l hod^{-1}; v_{ox} = 55 l hod^{-1}

Vzájemné ovlivnění prvků u techniky F-AAS

Jelikož šlo o stanovení titanu v podobě nanočástic TiO_2 modifikovaných bisfosfonáty, bylo vhodné provést test, zda tyto dva prvky, titan a fosfor, neovlivňují přesnost analytického stanovení. Byly připraveny dvě sady měření pro každý stanovovaný prvek jedna. Oba páry vzorků obsahovaly vzorek o koncentraci 150 mg l^{-1} titanu, 750 mg l^{-1} hliníku a 2500 mg l^{-1} fosforu. Pár pro stanovení titanu obsahoval navíc vzorek o koncentraci 150 mg l^{-1} titanu a 750 mg l^{-1} hliníku. Pár pro stanovení fosforu obsahoval vzorek o koncentraci 2500 mg l^{-1} fosforu.

Tab. 4.3: Vliv vzájemného ovlivnění prvků

Stanovení titanu	
Vzorek	A
150 mg l^{-1} Ti + 750 mg l^{-1}Al + 2500 mg l^{-1} P	0,296
150 mg l^{-1} Ti + 750 mg l^{-1}Al	0,301
Stanovení fosforu	
Vzorek	A
150 mg l^{-1} Ti + 750 mg l^{-1}Al + 2500 mg l^{-1} P	0,052
2500 mg l^{-1} P	0,049

Měření probíhala již s optimalizovanými parametry přístroje pro oba prvky. Z Tab. 4.3 je patrné, že jsou mezi dvojicemi stanovení minimální rozdíly, tudíž lze usoudit, že jednotlivé prvky na sebe při analytickém stanovení nemají výrazný vliv.

4.2 Stanovení fosforu

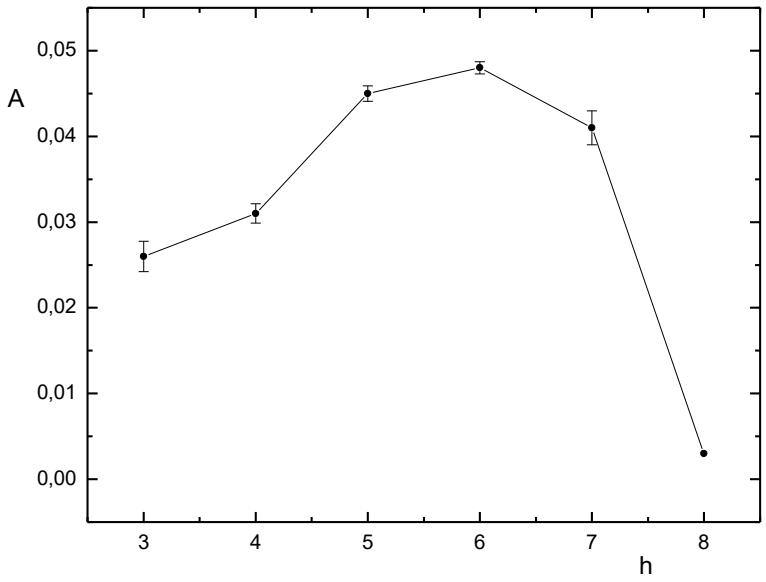
Druhým stanovovaným prvkem byl fosfor. Jako v předchozím případě stanovení bylo nejprve nutné optimalizovat parametry obou přístrojů pro dosažení maximální citlivosti prováděných stanovení. Jako v předchozím případě stanovení titanu bylo i u fosforu využito techniky F-AAS, a tedy obou příslušných spektrometrů. Při stanovení fosforu na spektrofotometru ContrAA 700 bylo v této kapitole z důvodu vysokých detekčních limitů dosažených technikou F-AAS využito i techniky ET-AAS (v závěru této kapitoly).

4.2.1 Optimalizace podmínek techniky F-AAS (GBC 933AA)

Všechna měření v této kapitole probíhala na atomovém absorpčním spektrometru GBC 933AA. Mezi optimalizační parametry patřila výška paprsku nad hranou hořáku a průtoková rychlost acetylenu. Optimalizace uvolňovacích činidel zde neproběhla, jelikož na základě výsledků z mé bakalářské práce, uvolňovací činidla jako hliník, nebo vápník u stanovení fosforu analytický signál nezvyšují[34].

Výška paprsku nad hranou hořáku

Pro určení výšky paprsku nad hranou hořáku v tomto optimalizačním kroku byl použit roztok o koncentraci 2500 mg l^{-1} fosforu. Výškový rozsah byl proměřen v rozmezí 3-8 relativních jednotek.



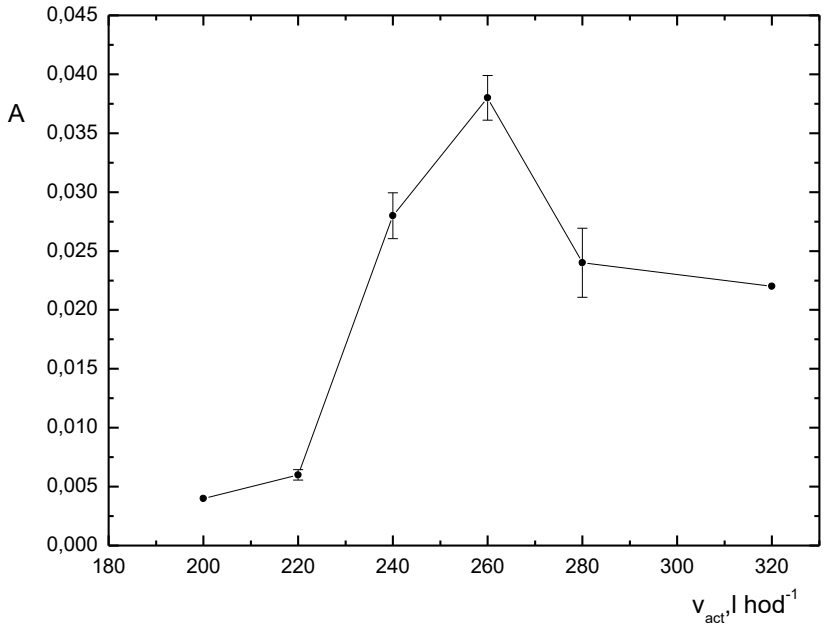
Obr. 4.10: Závislost absorbance na výšce hořáku pro stanovení fosforu
I = 10 mA; λ = 213,6 nm; $\Delta\lambda$ = 1,0 nm; v_{ox} = 65 l hod^{-1}; v_{act} = 240 l hod^{-1}, h – relativní jednotka

Z výše uvedené grafické závislosti absorbance na výšce hořáku na Obr. 4.10 je patrné, že se zvyšující výškou analytický signál postupně stoupá až k hodnotě 6 relativních jednotek, a pak dojde k prudkému poklesu. Při této výšce bylo tedy dosaženo maximální

citlivosti a tato výška byla použita v dalších optimalizačních krocích, při kalibraci a při analýze reálných vzorků.

Průtoková rychlost acetylenu

Pro určení průtokové rychlosti acetylenu byl použit roztok o koncentraci 2500 mg l^{-1} fosforu. Roztok byl proměřen při průtokových rychlostech acetylenu 200; 220; 240; 260; 280 a 320 l hod^{-1}. Grafická závislost je uvedena na Obr. 4.11.



Obr. 4.11: Závislost absorbance na průtokové rychlosti acetylenu pro stanovení fosforu
I = 10 mA; λ = 213,6 nm; $\Delta\lambda$ = 1,0 nm; h = 6 rel. j.; v_{ox} = 65 l hod^{-1}

Stejně jako v předchozím případě stanovení titanu byla i u stanovení fosforu optimalizována průtoková rychlost acetylenu. Analytický signál se zvyšující se průtokovou rychlostí acetylenu stoupá až do hodnoty 260 l hod^{-1}, a poté s dalším nárůstem průtokové rychlosti analytický signál klesá.

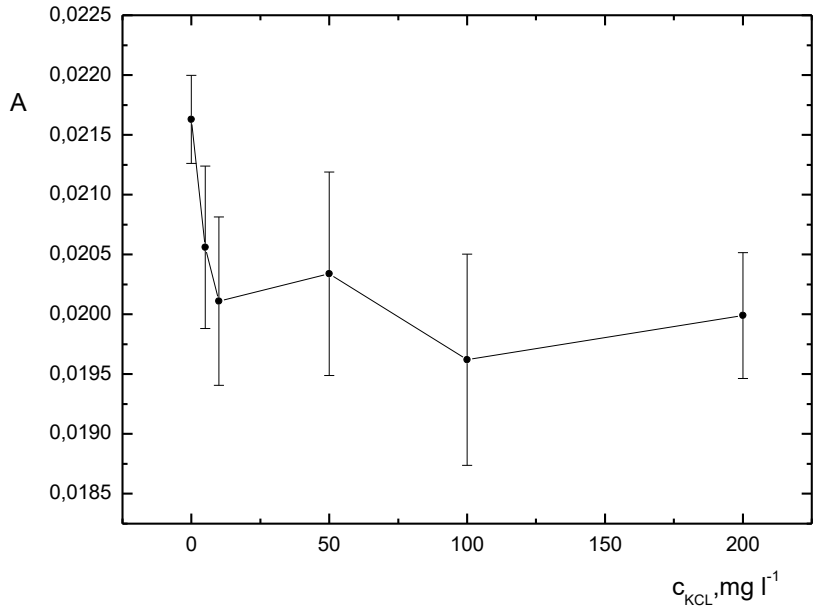
4.2.2 Optimalizace podmínek techniky F-AAS (ContrAA 700)

Všechna měření v této kapitole byla prováděna na atomovém absorpčním spektrometru s kontinuálním zdrojem záření a s vysokým rozlišením ContrAA 700. Na základě doporučení z přístrojového manuálu byl u stanovení fosforu zařazen do

optimalizačních kroků i přídavek KCl. Dále určení výšky nad hranou hořáku a optimalizace průtokové rychlosti jako v předchozích případech.

Přídavek KCl

Na základě doporučení přístrojového manuálu byl zkoumán přídavek ionizačního pufru KCl, který se používá pro potlačení ionizačních interferencí při F-AAS. V tomto optimalizačním kroku bylo připraveno šest roztoků o koncentraci 0; 5; 10; 50; 100 a 200 mg l^{-1} KCl.



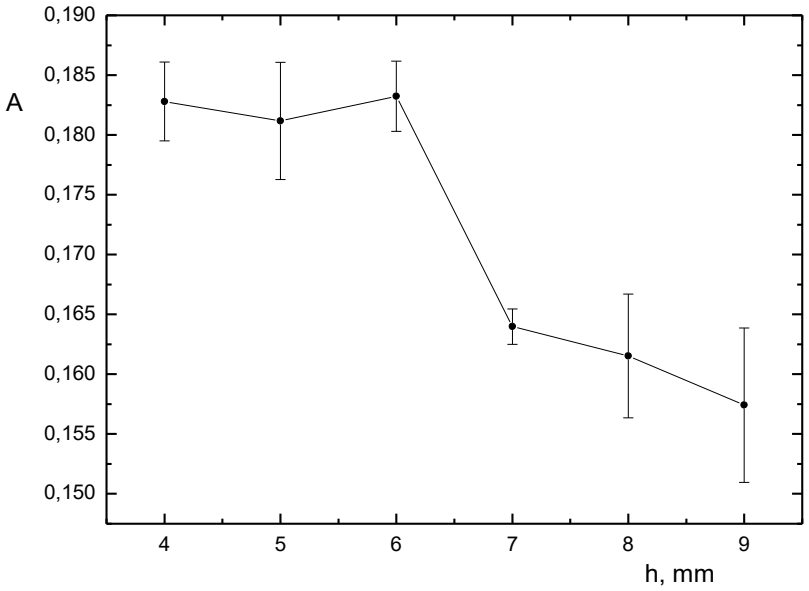
Obr. 4.12: Závislost absorbance na koncentraci KCl pro stanovení fosforu
I = 13 mA; λ = 213,62 nm; R = 5 pixelů; h = 6 mm; v_{act} = 225 l hod^{-1}; v_{ox} = 55 l hod^{-1}

Z grafické závislosti na Obr. 4.12 je patrné, že byl největší analytický signál naměřen u vzorku bez přídavku KCl, a to skoro dvojnásobný oproti zbylým pěti vzorkům obsahující konkrétní přídavek KCl. Pro další optimalizační kroky, kalibraci a samotné stanovení reálných vzorků nebylo tohoto přídavku využito.

Výška paprsku nad hranou hořáku

Druhým optimalizačním krokem stanovení fosforu pomocí techniky F-AAS na spektrometru ContrAA 700 byla optimalizace výšky paprsku nad hranou hořáku, ve které je dosaženo nejvyšší citlivosti. V tomto optimalizačním kroku byl použit roztok o

koncentraci 5 g l^{-1} fosforu. Výškový rozsah byl zvolen od 4 do 9 mm a výsledná optimalizační závislost je uvedena na Obr. 4.13.

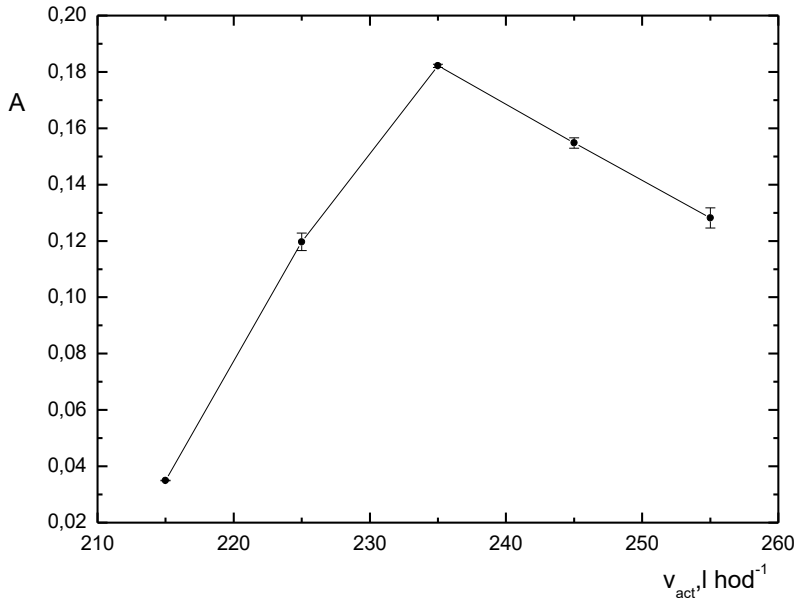


Obr. 4.13: Závislost absorbance na výšce hořáku pro stanovení fosforu
I = 13 mA; λ = 213,62 nm; R = 5 pixelů; v_{act} = 225 l hod^{-1}; v_{ox} = 55 l hod^{-1}

Z grafické závislosti absorbance na výšce hořáku pro stanovení fosforu je zřejmé, že nejvyšší analytický signál byl naměřen při výšce 6 mm nad hranou hořáku a se zvyšující se výškou analytický signál dále klesá. Proto byla hodnota výšky 6 mm hořáku použita i v dalším optimalizačním kroku, kalibraci a analýze reálných vzorků.

Průtoková rychlost acetylenu

Jako v předchozím případě optimalizace výšky byl i v tomto optimalizačním kroku použit roztok o koncentraci 5 g l^{-1} fosforu, který byl proměřen při průtokové rychlosti od 215 do 255 l hod^{-1} s jednotkou 10 l hod^{-1}. Grafická závislost je uvedena na Obr. 4.14.



Obr. 4.14: Závislost absorbance na průtokové rychlosti acetylenu pro stanovení fosforu
I = 13 mA; λ = 213,62 nm; R = 5 pixelů; h = 6 mm; v_{ox} = 55 l hod^{-1}

Z grafické závislosti absorbance na průtokové rychlosti acetylenu pro stanovení fosforu je patrné, že se zvyšující se průtokovou rychlostí analytický signál stoupá až dosáhne maxima v hodnotě průtokové rychlosti acetylenu 235 l hod^{-1} a dále signál klesá.

Tab. 4.5: Přehled optimalizovaných parametrů pro stanovení fosforu technikou F-AAS

	GBC 933 AA	ContrAA 700
Výška hořáku	6 rel. j.	6 mm
Průtok acetylenu	260 l hod^{-1}	235 l hod^{-1}

V Tab. 4.5 je přehled experimentálně zjištěných optimálních hodnot pro stanovení foforu technikou F-AAS na spektrometru ContrAA 700.

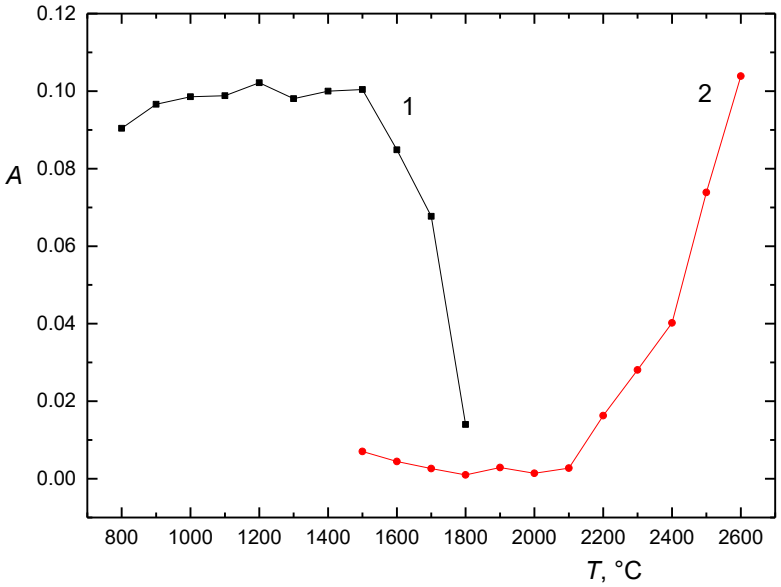
4.2.3 Ověření optimalizačních podmínek techniky ET-AAS (ContrAA 700)

Na základě získaných výsledků a vypracování metod stanovení titanu a fosforu technikou F-AAS nebylo možné stanovení fosforu v reálném vzorku. Teoretická koncentrace fosforu v reálném vzorku činila 15 mg l^{-1} což se ani jednou vypracovanou

metodou nepodařilo stanovit. Proto byla ke stanovení fosforu vybrána metoda ET-AAS. Všechny vzorky v této kapitole byly připraveny v prostředí 0,48 % HNO_3.

Průběh teplotního programu pyrolýzy a atomizace

V této kapitole byly studovány závislosti absorbancí na zvyšujících se teplotách pyrolýzy a atomizace. Ve fázi pyrolýzy dochází k přeměně nebo odstranění matrice vzorku bez ztráty prvku, který má být analyzován. Optimální teplotu pyrolýzy je možně zjistit pomocí rozkladné křivky (křivky pyrolýzy), kde se opakovaně analyzuje stejný vzorek. Při konstantní teplotě atomizace byly proměřeny různé teploty pyrolýzy v rozsahu 800-1800 °C. Optimální teplota pyrolýzy je teplota cca o 50-100 °C nižší než teplota, při níž začne křivky pyrolýzy klesat. Stejným postupem je možno dojít k optimální hodnotě atomizace (analogicky o 50-100 °C vyšší). Teploty atomizace byly měřeny v rozmezí 1500-2600 °C. Pro křivku pyrolýzy i křivku atomizace byl použit roztok o koncentraci 25 mg l^{-1} fosforu. V případě fosforu by bylo zjevně vhodné pokračovat ve vyšších stupních atomizace, což ale vzhledem k přístrojovým i materiálovým možnostem nebylo možné.



Obr. 4.15: Závislost absorbance na vzrůstající teplotě
1- křivka pyrolýzy; 2- křivka atomizace
I = 13 mA; λ = 213,62 nm

Z grafické závislosti absorbance na vzrůstající teplotě je u křivky pyrolýzy po teplotě 1200 °C patrný pokles absorbance, který znamená v této fázi ztrátu analytu. Tímto

experimentem bylo zjištěno, že pro teplotu pyrolýzy i atomizace mohou být použity hodnoty teplot z teplotního programu přístroje, který je určen pro měření fosforu.

Tab. 4.6: Teplotní program použitý pro stanovení fosforu technikou ET-AAS

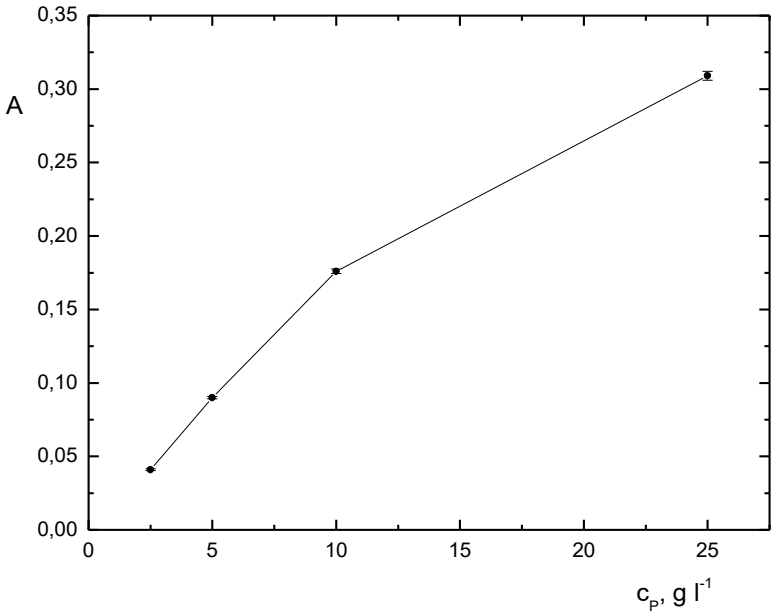
Teplotní program	Teplota (°C)	Nárůst (°C s^{-1})	Časový úsek (s)
Sušení	80	6	20
Sušení	90	3	20
Sušení	110	5	10
Pyrolýza	350	50	20
Pyrolýza	1150	300	10
Adaptace plynu	1150	0	5
Atomizace	2550	1500	4
Čištění	2650	500	4

4.2.4 Kalibrace a základní charakteristiky stanovení fosforu

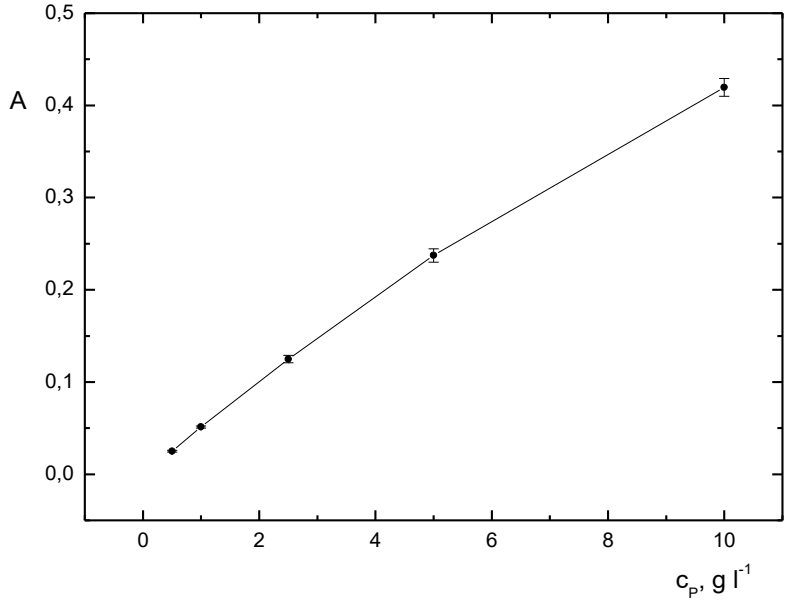
Z hodnot získaných při optimalizaci v Tab. 4.5 byly sestaveny kalibrační závislosti fosforu. Kalibrační řada fosforu zjištěná na plamenovém atomovém absorpčním spektrometru byla připravena z koncentrací 2,5; 5,0; 10 a 25 g l^{-1} fosforu. Kalibrační řada fosforu zjištěná na atomovém absorpčním spektrometru s kontinuálním zdrojem záření a s vysokým rozlišením byla sestavena z koncentrací 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10 g l^{-1} fosforu. Kalibrační řada fosforu zjištěná technikou atomové absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací byla sestavena ze vzorků o koncentraci 2,5; 5,0; 10 a 25 mg l^{-1} fosforu. Základní charakteristiky metod stanovení fosforu jsou uvedeny v Tab. 4.6. K výpočtu příslušných limitů byl u techniky F-AAS na spektrometru GBC 933 AA použit roztok o koncentraci 10 g l^{-1} fosforu a u techniky F-AAS na spektrometru ContrAA 700 roztok o koncentraci 2,5 g l^{-1} fosforu. U techniky ET-AAS na spektrofotometru ContrAA 700 byl použit pro výpočet základních charakteristik vzorek o koncentraci 10 mg l^{-1} fosforu a kalibrační řada pro fosfor byla připravena z koncentrací 2,5; 5,0; 10 a 25 mg l^{-1}. Z deseti odečtených hodnot signálu byla spočtena směrodatná odchylka použita k výpočtu meze detekce, meze stanovitelnosti a byla vypočtena i hodnota opakovatelnosti. Grafické závislosti fosforu obou vypracovaných metod jsou uvedeny na Obr. 4.16-4.18.

Tab. 4.6: Základní charakteristiky metod stanovení fosforu

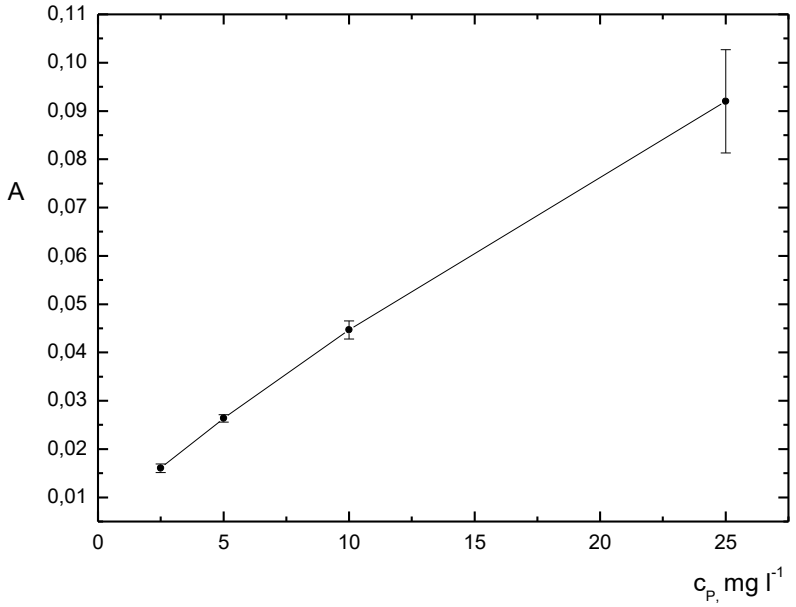
Charakteristika	F-AAS	HR-CS AAS	ET-AAS
Mez detekce (mg l^{-1}), 3σ	163	151	1,23
Mez stanovitelnosti (mg l^{-1}), 10σ	545,8	504,9	4,1
Citlivost (l mg^{-1})	$1{,}8\ 10^{-5}$	$5{,}0\ 10^{-5}$	$5{,}5\ 10^{-3}$
Opakovatelnost (%)	0,56	2,0	5,2
Korelační koeficient	0,9984	0,9999	0,9908
Lineární dynamický rozsah do (g l^{-1})	5,0	5,0	0,010
Pracovní rozsah do (g l^{-1})	25	10	0,025



Obr. 4.16: Kalibrační závislost fosforu u techniky F-AAS (GBC 933AA)
I = 10 mA; λ = 213,6 nm; $\Delta\lambda$ = 1,0 nm; h = 6 rel. j.; v_{ox} = 65 l hod^{-1}; v_{act} = 260 l hod^{-1}



Obr. 4.17: Kalibrační závislost fosforu u techniky F-AAS (ContrAA 700)
I = 13 mA; λ = 213,62 nm; R = 5 pixelů; h = 6 mm; v_{act} = 235 l hod^{-1}; v_{ox} = 55 l hod^{-1}



Obr. 4.18: Kalibrační závislost fosforu u techniky ET-AAS (ContrAA 700)

I = 13 mA; λ = 213,62 nm

4.3 Analýza reálných vzorků

V této kapitole byl stanoven celkový obsah titanu a fosforu v sedmi připravených reálných vzorcích nanočástic TiO_2 modifikovaných bisfosfonáty. Pro tato stanovení bylo využito optimalizovaných metod stanovení titanu a fosforu technikou F-AAS a ET-AAS. Během přípravy těchto vzorků bylo využito dialýzy, během které dochází k odstranění přebytečného chlorovodíku, a tím dochází ke zvýšení stability koloidního roztoku. Díky stanovení obsahu titanu a fosforu ve vzorcích bylo možné zjistit, zda během dialýzy nedochází k poklesu množství částic zapříčiněným odmýváním iontů titanu. Vzorky byly z dialyzační membrány odebírány každých 24 hodin po dobu jednoho týdne. Vzorek číslo jedna je tedy vzorek odebraný po 24 hodinové dialýze. Vzorek číslo sedm je odebrán po sedmi dnech tedy po 168 hodinách. Předpokládaná koncentrace titanu v koloidním roztoku TiO_2 modifikovaným bisfosfonáty byla vypočtena na 88 mg l^{-1} a koncentrace fosforu na 25 mg l^{-1}. Ke všem vzorkům byl přidán hliník tak, aby jeho výsledná koncentrace ve vzorku činila 750 mg l^{-1}. Vzorky byly připraveny do 10 ml odměrných baněk odebráním 530 µl roztoku nanočástic TiO_2 modifikovaný bisfosfonáty, bylo přidáno 500 µl zásobního roztoku hliníku a doplněno po rysku destilovanou vodou. V případě stanovení fosforu technikou ET-AAS byly příslušné vzorky připravovány se stejným objemem roztoku nanočástic TiO_2 modifikovaný bisfosfonáty, tedy 530 µl, jen byly po rysku doplněny 0,48 % HNO_3.

Tab. 4.8: Stanovení titanu ve vzorku nanočástic TiO_2 modifikovaným bisfosfonáty technikou F-AAS (GBC 933AA) s výchozí koncentrací fosforu 88 mg l^{-1}

Vzorek	Absorbance	Vypočtená koncentrace Ti (mg l^{-1})
1	0,090	75
2	0,073	60
3	0,080	66
4	0,061	50
5	0,078	65
6	0,078	65
7	0,076	63

Tab. 4.9: Stanovení titanu ve vzorku nanočástic TiO_2 modifikovaným bisfosfonáty technikou F-AAS (ContrAA 700) s výchozí koncentrací titanu 88 mg l^{-1}

Vzorek	Absorbance	Vypočtená koncentrace Ti (mg l^{-1})
1	0,34934	83
2	0,29219	69
3	0,30934	73
4	0,27702	66
5	0,25783	61
6	0,28200	67
7	0,33321	79

Tab. 4.10: Stanovení fosforu ve vzorku nanočástic TiO_2 modifikovaným bisfosfonáty technikou ET-AAS (ContrAA 700) s výchozí koncentrací fosforu 25 mg l^{-1}

Vzorek	Absorbance	Vypočtená koncentrace Ti (mg l^{-1})
1	0,07869	20
2	0,06608	17
3	0,04534	11
4	0,05150	12
5	0, 05562	14
6	0,04999	12
7	0,05783	14

Na základě výsledků stanovení obsahu titanu (viz. Tab. 4.8; 4.9) a fosforu (viz. Tab. 4.10) v koloidním roztoku nanočástic TiO_2 modifikovaným bifosfonáty získaných pomocí kalibračních křivek bylo možné určit, po jaké době (po kolika vymývacích cyklech) se ionty titanu z dialyzační membrány přestanou vymývat. Při pohledu do Tab. 4.8 a 4.9 je patrné, že vypočtené koncentrace titanu po druhém dni nijak výrazně neklesají a dá se říci, že je koncentrace titanu v roztoku stabilní. Z výsledků vypočtených koncentrací fosforu v Tab. 4.10 je možně usoudit, že koncentrace fosforu zůstává stabilní po třetím dni měření.

Při stanovení titanu bylo tedy zjištěno, že je zapotřebí dvou vymývacích cyklů, aby došlo k odstranění částic titanu, které jsou příliš malé, a tudíž pro další účely nežádoucí. Při stanovení fosforu bylo zjištěno, že je potřeba přibližně tří vymývacích cyklů, aby došlo k odstranění fosforu, který není sorbovaný na nanočástice TiO_2.

5 ZÁVĚR

Tato diplomová práce byla zaměřena na vypracování metod stanovení titanu a fosforu. Jako detekční techniky byly použity atomová absorpční spektrometrie s plamenovou (F-AAS) a elektrotermickou (ET-AAS) atomizací. Optimalizované metody byly využity pro analýzy koloidních roztoků v koloidním roztoku nanočástic TiO_2 modifikovaných bisfosfonáty. Jako první byla optimalizována metoda pro stanovení titanu technikou F-AAS, při níž bylo využito obou dostupných atomových absorpčních spektrometrů: GBC 933 AA a ContrAA 700. Mezi optimalizované parametry při stanovení titanu a fosforu patřila koncentrace přídavku uvolňovacího činidla (hliník), výška paprsku nad hranou hořáku a průtoková rychlost acetylenu. Dále byl proveden experiment, zda se tyto dva prvky navzájem neovlivňují. Bylo zjištěno že k vzájemnému ovlivnění nedochází.

Po optimalizaci byly sestrojeny grafické závislosti titanu i fosforu a vypočteny základní charakteristiky metod: mez detekce, mez stanovitelnosti, opakovatelnost, citlivost, lineární dynamický rozsah a k němu odpovídající korelační koeficient. Mez detekce pro stanovení titanu technikou F-AAS byla na spektrometru ContrAA 700 téměř pětkrát nižší než na spektrometru GBC 933 AA. Jelikož teoretická koncentrace fosforu v reálném vzorku koloidního roztoku nanočástic modifikovaných bisfosfonáty byla 25 mg l^{-1} bylo vzhledem k vysokým detekčním limitům u stanovení fosforu technikou F-AAS využito i techniky ET-AAS na spektrometru ContrAA 700. Při porovnání mezí detekcí pro stanovení fosforu je patrný řádový rozdíl ve výsledných hodnotách mezi technikou F-AAS a ET-AAS.

Nedílnou součástí této práce byla i příprava koloidního roztoku nanočástic TiO_2 o požadované velikosti 20-100 nm a následná modifikace nanočástic bisfosfonátem H_5L^3. Velikost nanočástic byla charakterizována pomocí DLS analyzátoru ALV na průměrnou velikost částic 28 nm. Tento připravený roztok byl přenesen do dialyzační membrány, přičemž byly každý den odebrány 2 ml tohoto roztoku po dobu sedmi dní. Odebrané vzorky byly analyzovány pomocí optimalizovaných metod F-AAS a ET-AAS.

6 POUŽITÁ LITERATURA

[1] Warheit, D.B.; et al.: Pulmonary toxicity study in rats with three forms of ultrafine-TiO_2 particles: differential responses related to surface properties. *Toxicology* **230**:1, 90-104 (2007).

[2] Fujishima, A.; Rao, T.N.; Tryk, D.A.: Titanium dioxide photocatalysis. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* **1**:1, 1-21 (2000).

[3] Mitrano, D.M.; et al.: Review of nanomaterial aging and transformations through the life cycle of nano-enhanced products. *Environment International* **77**, 132-147 (2015).

[4] Keller, A. A.; McFerran, S.; Lazareva, A.; Suh, S.: Global life cycle releases of engineered nanomaterials. *Journal of Nanoparticle Research* **15**:6, 1-17 (2013).

[5] Wang, C.; Liu, H.; Liu, Y.; He, G; Jiang, C.: Comparative activity of TiO2 microspheres and P25 powder for organic degradation: Implicative importance of structural defects and organic adsorption. *Applied Surface Science* **319**, 2-7 (2014).

[6] Strini, A.; Roviello, G.; Ricciotti, L.; Ferone, C.; Messina, F.; Schiavi, L.; Corsaro, D.; Cioffi, R.: TiO_2-Based Photocatalytic Geopolymers for Nitric Oxide Degradation. *Materials* **9**:7, 513 (2016).

[7] Chapuis, Y.; et al.: Photocatalytic oxidation of volatile organic compounds using fluorescent visible light. *Journal of the Air & Waste Management Association* **52**:7, 845-854 (2002).

[8] Gerischer, H.; Heller, A.: Photocatalytic Oxidation of Organic Molecules at TiO_2 Particles by Sunlight in Aerated Water. *Journal of The Electrochemical Society* **139**:1, 113-118 (1992).

[9] O'Carrigan, B.; Wong, M. H. F.; Willson, M. L.; Stockler, M. R.; Pavlakis, N.; Goodwin, A.: Bisphosphonates and other bone agents for breast cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 10 (2017).

[10] Giger, E.V.; Castagner, B.; Leroux, J.C.: Biomedical applications of bisphosphonates. *Journal of Controlled Release* **167**:2, 175-188 (2013).

[11] Lockyer, J. N.: *Studies in Spectrum Analysis*. London, Appleton 1878.

[12] Walsh, A.: Atomic absorption spectroscopy—stagnant or pregnant?. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* **35**:11,12, 643-652 (1980).

[13] Walsh, A.: The application of atomic absorption spectra to chemical analysis.

Spectrochimica Acta **7**, 108–117 (1955).

[14]Welz, B.; Sperling, M.: *Atomic Absorption Spectrometry*, 3th ed. Weinheim, Wiley-VCH 1999.

[15] L'vov, B. V.: Fifty Years of Atomic Absorption Spectrometry. *Journal of Analytical Chemistry* **60**:4, 382-392 (2005).

[16] Namik, K. A.; Ataman, O. Y.: *Trace Element Analysis of Food and Diet*. Cambridge, Royal Society of Chemistry 2006.

[17] Kalra, Y. P.: *Handbook of Reference Methods for Plant Analysis*. Boca Raton, CRC Press 1997.

[18] McMahon, G.: *Analytical Instrumentation: A Guide to Laboratory, Portable and Miniaturized Instruments*. Chichester, John Wiley & Sons, Ltd. 2008.

[19] Farrukh, M. A.: *Atomic Absorption Spectrometry*, London, Intechopen 2012.

[20] Němcová I., Čermáková L., Rychlovský P.: *Spektrometrické analytické metody I.* 2. vyd. Praha, Karolinum 2004.

[21] Komárek, J.: *Atomová absorpční spektrometrie*. Brno, Masarykova univerzita v Brně 2000.

[22] Welz, B.; Vale, M. G. R.; Borges, D. L. G.; Lepri, F. G.; Heitmann, U.: High-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry — An analytical and diagnostic tool for trace analysis. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* **62**:9, 873-883 (2007).

[23]Welz, B.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; Heitmann, U.; Vale, M. G. R.: High-Resolution Continuum-source Atomic Absorption Spectrometry – What Can We Expect?. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **14**:2, 220-229 (2003).

[24]Welz, B.; Vale, M. G. R.; Pereira É. R.; Castilho I. N. B.; Dessuy M. B.: Continuum source atomic absorption spectrometry: past, present and future aspects – a critical review. *Journal of the Brazilian Chemical Society* **25**:5, 799-821 (2014).

[25] Van Loon, J. A.: *Analytical Atomic Absorption Spectroscopy: Selected Methods*. New York, Academic Press 1980.

[26] Cantle, J. E.: *Atomic absorption spectrometry*. Amsterdam, Elsevier 1986.

[27] Ozbek, N.; Ozcan, M.: Simultaneous determination of Co, Al and Fe by HR CS-GFAAS. *Talanta* **148**, 17-21 (2016).

[28] Nadkarni, R. A.: *Modern Instrumental Methods of Elemental Analysis of Petroleum Products and Lubricants*. Baltimore, ASTM International 1991.

[29] Sunderman, F.W.: Electrothermal atomic absorption spectrometry of trace metals in biological fluids. *Annals of Clinical and Laboratory Science* **5**:6, 421-434 (1975).

[30] Namiesnik, J.; Szefer, P.: *Analytical Measurements in Aquatic Environments*. Boca Raton, CRC Press 2009.

[31] Jackson, K. W.; Chen, G.: Atomic absorption, Atomic emission, and flame emission spektrometry. *Analytical Chemistry* **68**:12, 231-256 (1996).

[32]Nielsen S. S.; Food Analysis, 3. vyd., Kluwer Academic/Plenum Publishers 2003.

[33] Glatter, O.: *Scattering Methods and their Application in Colloid and Interface Science.* Graz, Elsevier 2018.

[34] Jeníková, E.: *Stanovení titanu a fosforu atomovou absorpční spektrometrií*: Bakalářská práce PřF UK Praha, 2015.