



**VYSOKÁ ŠKOLA
CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ
V PRAZE**

Fakulta potravinářské a biochemické technologie

Ústav analýzy potravin a výživy

**LABORATOŘ INSTRUMENTÁLNÍCH METOD
V ANALÝZE POTRAVIN**

Atomová absorpční spektrometrie

Garant úlohy: prof. Dr. Ing. Richard Koplík

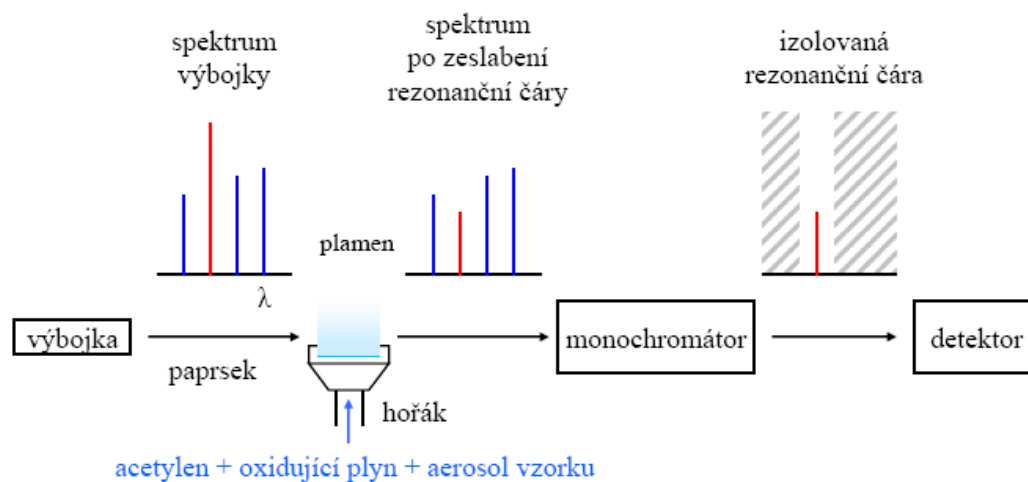
VÝUKOVÉ CÍLE LABORATORNÍHO CVIČENÍ

1. prohloubit teoretické znalosti studentů
2. naučit studenty zacházet s AA spektrometrem
3. demonstrovat vliv přístrojových parametrů (složení palivové směsi, poloha hořáku, optické podmínky) na velikost signálu
4. upozornit na chemické interference v plamenové AAS a chyby měření

STUDIJNÍ ČÁST

AAS je jednou z nejčastěji užívaných metod kvantitativní prvkové analýzy. Umožňuje v podstatě stanovení téměř všech kovových prvků a dále stanovení boru a křemíku. V laboratorním cvičení se studenti seznámí pouze s plamenovou AAS. Další techniky AAS (elektrotermická AAS, hydridová technika) se používají pro stanovení stopových až ultrastopových množství prvků, resp. pro některé speciální účely (stanovení, As, Se, Sb).

Atomová absorpční spektrometrie je založena na měření absorpce charakteristického monochromatického záření volnými atomy určitého prvku v základním energetickém stavu. V klasickém atomovém absorpčním spektrometru jde o měření zeslabení rezonanční spektrální čáry z emisního spektra daného prvku. Zdrojem záření je obvykle **výbojka s dutou katodou** ze stanovovaného prvku, která vysílá čárové spektrum prvku. V tomto spektru je jedna **rezonanční čára** nebo několik rezonančních čar a dále čáry nerezonanční. Čáry mají šířku několika pikometrů. Intenzita rezonanční spektrální čáry je zeslabena absorpcí volnými atomy daného prvku. Nerezonanční čáry atomovou absorpcí nevykazují. **Atomizace** vzorku, tj. rozpad větších částic na molekuly a následně na atomy, probíhá za vysoké teploty, které se dosahuje hořením v plameni nebo elektrickým ohřevem. Plamenový nebo jiný **atomizátor** představuje absorpční prostředí, v němž dochází k atomové absorpci. Ta se v zásadě řídí LAMBERTOVÝM-BEEROVÝM zákonem. Měří se tedy **absorbance** (tj. logaritmus poměru původní intenzity spektrální čáry k intenzitě po zeslabení). Při plamenové atomizaci se vzorek přivádí do přístroje kontinuálně jako aerosol zmlžováním nasávaného kapalného vzorku. Po průchodu paprsku atomizátorem (absorpčním prostředím) je rezonanční čára izolována **monochromátorem**, který vymezení v okolí čáry propustný **spektrální interval** o šířce nejčastěji 0,2-1 nm. Intenzita spektrální čáry je pak zaznamenána detektorem záření (viz obrázek).



Zjednodušené schéma měření v atomové absorpční spektrometrii

Podle LAMBERTOVA-BEEROVA zákona je okamžitá absorpance přímo úměrná jednak okamžité koncentraci volných atomů daného prvku v měřené zóně plamene, jednak délce atomizačního prostředí. Pro dosažení patřičné citlivosti jsou tedy hořáky pro AAS konstruovány jako štěrbinové se štěrbinou o délce 5–10 cm. (Otočením hořáku do kolmého směru se dosáhne snížení citlivosti a rozšíření pracovního rozsahu.) V plamenové AAS se absorpance vzorků a kalibračních roztoků zpravidla snímá několik sekund v několika opakováních (např. 3 čtení po 3 s) a určuje se průměrný signál. Kalibrace jsou v AAS v důsledku odchylek od LAMBERTOVA-BEEROVA zákona mírně zakřiveny. Lineární průběh kalibrace je zachován jen v oblasti malých koncentrací.

Dnes se v plamenové AAS používají jen dva **druhy plamenů**: plamen vzduch- C_2H_2 a plamen $N_2O-C_2H_2$. Podle poměru průtoků oxidujícího plynu a paliva může být plamen oxidační (tj. chudý na palivo), stechiometrický nebo redukční (bohatý na palivo). Plamen **vzduch-acetylén** mívá obvykle teplotu 2100-2400 °C a používá se při stanovení snadno atomizovatelných prvků (alkalické kovy, Mg, případně i Ca, některé přechodné prvky jako Mn, Fe, Co, Ni, platinové kovy, Cu, Ag, Au, Zn, Cd a nepřechodné kovy jako Pb, Sn a Bi). Vyšší teplota, cca 2650-2800 °C, může být dosažena v plameni **oxid dusný-acetylén**, který se proto používá ke stanovení prvků, které tvoří termicky stabilní sloučeniny a obtížně se atomizují. Jde hlavně o nekovy a polokovy (B, Si, Ge, As, Se), kovy alkalických zemin, kovy ze skupiny skandia, titanu, vanadu a chromu, dále lanthanoidy a nepřechodné kovy Al a Ga. (Tento výčet ovšem neznamená, že všechny tyto prvky jsou v potravinách a biologických vzorcích stanovitelné plamenovou AAS. Koncentrace většiny ze jmenovaných prvků jsou zde natolik malé, že k jejich případnému stanovení je třeba použít mnohem citlivější metodu.)

Plamenová AAS umožňuje stanovení prvků ve vodných roztocích (případně i v roztocích v organických rozpouštědlech vyjma rozpouštědel chlorovaných) nejčastěji v koncentracích řádu desetin až desítek $\mu\text{g/ml}$. **Citlivost stanovení** jednotlivých prvků je různá. Je-li u jednoho prvku k dispozici více rezonančních spektrálních čar, citlivosti měření na různých

čarách se rovněž liší, a to často velmi významně. V analýze potravin a biologických materiálů zpravidla používáme nejcitlivější spektrální čáru. V plamenové AAS se obvykle citlivost vyjadřuje nepřímou jako tzv. **charakteristická koncentrace** (viz tabulka). Má-li měřený prvek v roztoku charakteristickou koncentrací, pak přístroj naměří po nasátí do plamene absorpční 0,0044 (absorbance 0,0044 odpovídá transmitanci 0,99, tedy situaci, kdy je měrný paprsek zeslaben o 1 % intenzity). Čím je charakteristická koncentrace nižší, tím je citlivost měření vyšší. Charakteristická koncentrace je určitou mezí, pod kterou bývá analýza již méně spolehlivá. Hodnota charakteristické koncentrace určitého prvku na určité spektrální čáře dosažená za optimalizovaných podmínek je přibližně stejná pro různé modely atomových absorpčních spektrofotometrů (pokud jsou vybaveny srovnatelným spektrálním zdrojem). Mez stanovitelnosti konkrétního měření je závislá nejen na charakteristické koncentraci, ale především na kvalitě spektrálního zdroje a na době snímání absorpce. Obvykle je mez stanovitelnosti nižší než charakteristická koncentrace.

Charakteristické koncentrace a pracovní rozsahy měření v plamenové AAS pro vybrané prvky

Prvek	Plamen	λ (nm)	Charakteristická koncentrace ($\mu\text{g/ml}$)	Optimální pracovní rozsah ($\mu\text{g/ml}$)
Na	vzduch-C ₂ H ₂	589,0	0,004	0,05–0,7
Mg	vzduch-C ₂ H ₂	285,2	0,003	0,05–0,4
Al	N ₂ O-C ₂ H ₂	309,3	0,6	5–100
Fe	vzduch-C ₂ H ₂	248,3	0,05	0,2–8
Cu	vzduch-C ₂ H ₂	324,7	0,025	0,1–5
Zn	vzduch-C ₂ H ₂	213,9	0,008	0,1–1,4
Pb	vzduch-C ₂ H ₂	217,0	0,08	2–20

Atomizace analytu v plamenové AAS je výsledkem sledu postupných přeměn vzorku v systému zmlžovač-hořák. Z nasávaného kapalného vzorku (obvykle vodného roztoku) se ve zmlžovači vytváří aerosol drobných kapiček rozptýlených v palivové směsi (směs vzduch-acetylén nebo oxid dusný-acetylén). Účinnost tvorby aerosolu v běžném pneumatickém zmlžovači je malá (cca 5 %). Aerosol se stabilizuje průchodem mlžnou komorou a vstupuje do štěrbinovitého hořáku. Při vysoké teplotě hoření dochází k velmi rychlému vypaření rozpouštědla z kapek aerosolu a vzniká aerosol tuhých částic. Ty se pak rozpadají na molekuly sloučenin a následně na atomy jednotlivých prvků. Volné atomy analytu pak vyvolávají atomovou absorpci v té zóně plamene, kterou prochází měrný paprsek. Proces postupných změn částic v plameni však může pokračovat také ionizací analytu. Volné atomy prvku M přecházejí ztrátou elektronu na ionty M⁺. Vzniklé ionty již neabsorbují rezonanční čáru. Proto je **ionizace analytu** v AAS nežádoucím jevem. K ionizaci mají sklon prvky s nízkou ionizační energií, tj. hlavně alkalické kovy a kovy alkalických zemin. K ionizaci dochází při vyšších teplotách plamene. Teplota závisí na druhu plamene a složení palivové

směsi. Rovněž se liší v jednotlivých výškových zónách plamene. K potlačení ionizace analytu (nejčastěji sodíku a draslíku) se ke vzorku přidává sloučenina snadno ionizovatelného prvku čili **deionizační činidlo**. Nejčastěji se jedná o sloučeninu jiného alkalického kovu (CsCl nebo KCl) přidávanou v koncentracích řádu jednotek mg/ml do vzorků i do kalibračních roztoků.

Vliv jednotlivých procesů a činitelů na velikost absorbance a výsledky měření shrnuje následující tabulka.

Proces	Vlastnosti vzorku nebo podmínky měření, které mají na vliv na účinnost procesu	Vliv na absorbanci (další efekty)	Možný důsledek
Transport roztoku do zmlžovače a tvorba aerosolu	viskozita roztoku	↓	snížení citlivosti
	povrchové napětí	↓	snížení citlivosti
	průtok oxidujícího plynu	↑↓	
Desolvatace aerosolu	složení vzorku (teplota varu rozpouštědla)		
	teplota plamene		
Vypařování tuhých částic aerosolu – vznik molekul	teplota plamene		
Atomizace	složení palivové směsi (ovlivňuje teplotu a chemické vlastnosti plamene)	různý podle analytu	
	výška pozorování	většinou ↓	
	přítomnost rušivé matriční složky	↓ (posun optimální výšky pozorování k vyšším hodnotám)	soustavná chyba*
Ionizace	teplota plamene	↓	snížení citlivosti
	přítomnost doprovodných prvků ve vzorku		neodhadnutelný vliv na výsledek*

* nastává, pokud není efekt potlačen uvolňovacím/deionizačním činidlem nebo změnou druhu plamene.

Pokud jde o **správnost stanovení**, je plamenová AAS poměrně neproblematickou metodou. Nicméně v některých případech může být při měření v plameni vzduch-C₂H₂ snížena účinnost atomizace v důsledku rušivého chemického působení matrice. Typickým příkladem **chemické interference** je účinek fosforečnanů, síranů, křemičitanů nebo vliv nadbytku hliníku nebo titanu při stanovení vápníku a hořčíku v plameni vzduch-C₂H₂. Při stanovení vápníku a hořčíku v potravinách jsou fosforečnany ve vzorku vždy přítomny a jejich rušivý vliv je velmi významný. Je vyvolán vznikem termostabilních fosfátů vápníku resp. hořčíku

v plameni. Tento rušivý vliv lze potlačit, přidá-li se ke vzorku tzv. **uvolňovací činidlo**. Pro bližší seznámení s problémem chemických interferencí v plamenové AAS doporučuji prostudovat následující výklad převzatý z knihy *Undergraduate Instrumental Analysis* (autoři James W. Robinson, Eileen M. Skelly Frame, George M. Frame II, nakladatelství CRC Press, 2014).

Chemical interference occurs when some chemical component in the sample affects the atomization efficiency of the sample compared with the standard solution. The result is either an enhancement or a depression in the analyte signal from the sample compared with that from the standard. This effect is associated most commonly with the predominant anions present in the sample. The anion affects the stability of the metal compound in which the analyte is bound, and this, in turn, affects the efficiency with which the atomizer produces metal atoms. For example, a solution of calcium chloride, when atomized in an air–acetylene flame, decomposes to calcium atoms more readily than a solution of calcium phosphate. Calcium phosphate is more thermally stable than calcium chloride. A solution of calcium chloride containing 1 µg/ml Ca will give a higher absorbance than a solution of calcium phosphate containing 1 µg/ml Ca. If phosphate ion is added to a solution of calcium chloride, the absorbance due to Ca will decrease as the concentration of phosphate increases. This is a chemical interference. It occurs in the atomization process. Chemical interference is a result of having insufficient energy in the flame or furnace to break the chemical bonds in molecules and form free atoms.

There are three **ways of compensating for chemical interference**. The **first approach** is to match the matrix of the standards and samples; that is, to have the same anion(s) present in the same concentrations in the working standards as in the samples being analyzed. This supposes that the samples have been thoroughly characterized and that their composition is known and constant. This may be the case in industrial production of a material or chemical, but often, the sample matrix is not well characterized or constant.

A **second approach** is to add another metal ion that forms an even more stable compound with the interfering anion than does the analyte ion. Such an ion is called a *releasing agent* because it frees the analyte from forming a compound with the anion and permits it to atomize. For example, lanthanum forms a very thermally stable phosphate, more stable than calcium phosphate. To determine Ca (or Mg) in solutions that contain an unknown or variable amount of phosphate, such as those from biological samples, the analyst can add a large excess of lanthanum (as the chloride or nitrate salt) to all standards and samples. The lanthanum “ties up” the phosphate by forming lanthanum phosphate. If all of the phosphate is now present as lanthanum phosphate, this eliminates the dependence of the formation of Ca (or Mg) atoms on the phosphate concentration. The exact concentration of phosphate does not have to be measured; it is only necessary to add enough La to completely react with the phosphate in the solution to be analyzed. Usually 500–2000 µg/ml La is sufficient for most types of samples. The same amount of La must be added to all the solutions, including the blank. The releasing agent should be of the highest purity possible.

The **third approach** is to eliminate the chemical interference by switching to a higher-temperature flame, if possible. For example, when a nitrous oxide–acetylene flame is used, there is no chemical interference on Ca (or Mg) from phosphate, because the flame has sufficient energy to decompose the calcium (or magnesium) phosphate molecules. No lanthanum addition is required in this case, but owing to a higher degree of analyte ionization in the hotter flame, some *ionization buffer* (CsCl or KCl) must be added to all samples, standards and blanks.

A fourth possible approach is the use of **the method of standard additions** (MSA). This approach can correct for some chemical interferences, but not all. For example, in the graphite furnace, if the analyte is present as a more volatile compound in the sample than the added analyte compound, the MSA will not work. The analyte form in the sample is lost prior to atomization as a result of volatilization, while the added analyte compound remains in the furnace until atomization; therefore, the standard additions method will not give accurate analytical results. To assure analytical accuracy, a suitable chemical modifier should be added to the samples prior to graphite furnace–AAS analysis.

LABORATORNÍ ČÁST

Pomůcky

- odměrné baňky 10 ml
- odměrné baňky 50 ml
- odměrné baňky 100 ml
- pipety 40–200 μl , 200–1000 μl , 1–5 ml, a pipetovací špičky

Potřebné roztoky

- koncentrované kyseliny: dusičná (65 %, cca 14 mol/l) a sírová (97 %, cca 18 mol/l)
- roztok HNO_3 , $c = 1 \text{ mol/l}$
- roztok HCl , $c = 1 \text{ mol/l}$
- zásobní roztok Cu obsahující 100 $\mu\text{g/ml}$ ve zředěné HNO_3 (0,7 mol/l)
- zásobní roztok Ca + Mg 100 $\mu\text{g/ml}$ ve zředěné HNO_3
- zásobní roztok P 100 $\mu\text{g/ml}$ (připravený rozpuštěním $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$)
- Schinkelův roztok ($\text{LaCl}_3 + \text{CsCl}$) obsahující 100 mg/ml La a 10 mg/ml CsCl

Úloha 1

Optimalizace a seřízení spektrometru pro stanovení mědi

1. Připravte 50 nebo 100 ml roztoku obsahujícího 5 $\mu\text{g/ml}$ Cu ve zředěné HNO_3 (0,2 mol/l) a stejný objem příslušného blanku.
2. Připravte AA spektrometr pro měření Cu podle tabulky a zapište si skutečně nastavené parametry.

	Cu
Žhavicí proud lampy	3 nebo 4 mA
Vlnová délka	324,7 nm
Šířka spektrálního intervalu	0,5 nm
Korekce pozadí	ano
Vyhodnocení signálu	integrace
Integrační doba	3 s
Počet replik	3
Časová konstanta	0,2 s
Výška pozorování	3-5 mm
Průtok vzduchu	10 l/min
Průtok acetylenu	1,0-1,2 l/min

3. Zapalte plamen a zkontrolujte, že po celé délce štěrby je plamen nepřerušovaný a stejnorodý.
4. Při nasávání blanku nastavte nulovou absorbanci, dále při nasávání roztoku Cu (5 µg/ml) změřte absorbanci, ověřte, že horizontální poloha hořáku je optimální a případně měření opakujte
5. Ověřte, že nastavení zmlžovače, které se mění velmi opatrnou rotací šroubem u sací kapiláry, je optimální.
6. Změřte závislost absorbance na výšce pozorování (vertikální poloze hořáku) v intervalu 4 až 10 mm; při každé nastavené výšce předem nastavte nulovou hodnotu při nasávání blanku a pak při nasávání roztoku Cu (5 µg/ml) upravte horizontální polohu hořáku tak, aby absorbance byla maximální.
7. Nastavte takovou výšku pozorování, kterou považujete za optimální.
8. Při zvolené výšce pozorování změřte závislost absorbance na hodnotě žhavicího proudu výbojky v intervalu 2 až 5 mA (případně 1 až 5 mA); kromě průměrné hodnoty absorbance zaznamenejte také relativní směrodatnou odchylku.

Zápis a zpracování dat do protokolu

- tabulka výchozího nastavení parametrů
- specifikace měřených závislostí a podmínek měření
- graf závislosti absorbance na výšce pozorování (bod 6) a závěr ohledně optimální výšky včetně komentáře
- graf závislosti absorbance na žhavicím proudu výbojky a komentář (zdůvodnění).

Úloha 2

Vliv koncentrace a druhu kyseliny v analyzovaném roztoku na absorbanci při stanovení mědi

1. Do sady 50 ml odměrných baněk připravte roztoky Cu (2 µg/ml) v různě koncentrovaných roztocích HNO₃ a H₂SO₄ a příslušné blanky podle tabulky na následující straně.
2. Proměřte závislost absorbance na koncentraci kyseliny v řadě HNO₃ a v řadě H₂SO₄. Postupujte od nejnižší koncentrace k nejvyšší; před každým měřením roztoku Cu nastavte při nasávání příslušného blanku nulovou absorbanci.

Zápis a zpracování dat do protokolu

- graf závislosti absorbance na látkové koncentraci HNO₃ a H₂SO₄ (studenti dopočítají výsledné koncentrace v posledních dvou sloupcích tabulky v šedých polích)
- komentář závislosti
- odhad minimálního poměru ředění potřebného při AAS analýze vzorku, jehož navážka byla rozložena kyselinou dusičnou za přítomnosti 5 ml konc. H₂SO₄, jestliže byl mineralizát doplněn demineralizovanou vodou na výsledný objem 50 ml.

Příprava roztoků pro úlohu 2

Označení roztoku	ml konc. HNO ₃	ml konc. H ₂ SO ₄	ml roztoku Cu 100	demi voda	výsledná konc. HNO ₃	výsledná konc. H ₂ SO ₄
blk HNO ₃ 0	0*	0	0	do 50 ml	0,015	0
Cu HNO ₃ 0	0	0	1	do 50 ml	0,015	0
blk HNO ₃ 0,5	0,5	0	0	do 50 ml		0
Cu HNO ₃ 0,5	0,5	0	1	do 50 ml		0
blk HNO ₃ 1	1	0	0	do 50 ml		0
Cu HNO ₃ 1	1	0	1	do 50 ml		0
blk HNO ₃ 2	2	0	0	do 50 ml		0
Cu HNO ₃ 2	2	0	1	do 50 ml		0
blk HNO ₃ 4	4	0	0	do 50 ml		0
Cu HNO ₃ 4	4	0	1	do 50 ml		0
blk HNO ₃ 6	6	0	0	do 50 ml		0
Cu HNO ₃ 6	6	0	1	do 50 ml		0
blk H ₂ SO ₄ 0	0*	0	0	do 50 ml	0	0
Cu H ₂ SO ₄ 0	0	0	1	do 50 ml	0,015	0
blk H ₂ SO ₄ 0,5	0	0,5	0	do 50 ml	0	
Cu H ₂ SO ₄ 0,5	0	0,5	1	do 50 ml	0,015	
blk H ₂ SO ₄ 1	0	1	0	do 50 ml	0	
Cu H ₂ SO ₄ 1	0	1	1	do 50 ml	0,015	
blk H ₂ SO ₄ 2	0	2	0	do 50 ml	0	
Cu H ₂ SO ₄ 2	0	2	1	do 50 ml	0,015	
blk H ₂ SO ₄ 4	0	4	0	do 50 ml	0	
Cu H ₂ SO ₄ 4	0	4	1	do 50 ml	0,015	
blk H ₂ SO ₄ 6	0	6	0	do 50 ml	0	
Cu H ₂ SO ₄ 6	0	6	1	do 50 ml	0,015	

* pro tento roztok se místo koncentrované HNO₃ dává 0,75 ml 1 mol/l HNO₃.

Úloha 3

Vliv koncentrace fosforu na absorbanci při stanovení vápníku (nebo hořčíku)

1. Připravte řadu roztoků obsahujících vápník (hořčík) v koncentraci 2 µg/ml a rostoucí koncentrace fosforu (ve formě dihydrogenfosforečnanu amonného) podle tabulky na další straně.
2. Připravte AA spektrometr k měření vápníku (hořčíku) podle tabulky parametrů na další straně.

- Zkontrolujte, že roztok bez fosforu poskytuje dostatečnou odezvu a nastavte vhodnou polohu hořáku a vhodný průtok acetylénu. Nastavené hodnoty výšky pozorování a průtoku acetylénu si запиšte.
- Proměřte závislost absorpance při vlnové délce spektrální čáry Ca (Mg) na koncentraci P.

Přístrojové parametry pro měření vápníku a hořčíku

	Ca	Mg
Žhavicí proud lampy	5 mA	5 mA
Vlnová délka	422,7 nm	285,2 nm
Šířka spektrálního intervalu	0,5 nm	0,5 nm
Korekce pozadí	ne	ano
Vyhodnocení signálu	integrace	integrace
Integrační doba	3 s	3 s
Počet replik	3	3
Časová konstanta	0,2 s	0,2 s
Rotační poloha hořáku	normální	hořák napříč
Výška pozorování	4-5 mm	4-5 mm
Průtok vzduchu	10 l/min	10 l/min
Průtok acetylénu	1,6-1,9 l/min	1,5-1,6 l/min

Příprava roztoků pro úlohu 3

Označení roztoku	ml 1 M HCl	ml roztoku Ca+Mg 100 µg/ml	ml roztoku P 100 µg/ml	demi voda	koncentrace Ca(Mg)/P µg/ml
0	5	0	0	do 50 ml	0/0
Ca 2 P 0	5	1,0	0	do 50 ml	2/0
Ca 2 P 0,4	1	0,2	0,04	do 10 ml	2/0,4
Ca 2 P 0,8	1	0,2	0,08	do 10 ml	2/0,8
Ca 2 P 1,2	1	0,2	0,12	do 10 ml	2/1,2
Ca 2 P 1,6	1	0,2	0,16	do 10 ml	2/1,6
Ca 2 P 2	1	0,2	0,2	do 10 ml	2/2
Ca 2 P 2,4	1	0,2	0,24	do 10 ml	2/2,4
Ca 2 P 2,8	1	0,2	0,28	do 10 ml	2/2,8
Ca 2 P 3,2	1	0,2	0,32	do 10 ml	2/3,2
Ca 2 P 3,6	1	0,2	0,36	do 10 ml	2/3,6
Ca 2 P 4	1	0,2	0,4	do 10 ml	2/4

Zápis a zpracování dat do protokolu

- tabulka skutečných použitých parametrů měření Ca (Mg)
- graf závislosti absorpance Ca (Mg) na koncentraci P
- komentář výsledků.

Úloha 4

Odstranění interference fosforu při stanovení vápníku (hořčíku) přidavkem uvolňovacího a deionizačního činidla ($\text{LaCl}_3 + \text{CsCl}$): testování vlivu koncentrace přidaného La na výsledek

1. Podle dále uvedených tabulek připravte řady testovacích roztoků s postupně rostoucími koncentracemi La, které budou obsahovat buď
 - A) vápník (a hořčík) bez fosforu (Ca, Mg 2, P 0) a vápník (a hořčík) s fosforem ve stejné hmotnostní koncentraci (Ca, Mg 2, P 2 $\mu\text{g/ml}$) nebo
 - B) vápník (a hořčík) bez fosforu (Ca, Mg 2, P 0) a vápník (a hořčík) s fosforem v pětinašobné hmotnostní koncentraci (Ca, Mg 2, P 10 $\mu\text{g/ml}$).
2. Za podmínek použitých v úloze 3 změřte absorbance na analytické čáře vápníku (nebo hořčíku) jednotlivých roztoků bez fosforu a s fosforem. Před každým měřením testovacího roztoku nastavte nulovou absorbanci při nasávání příslušného blanku.
3. Vyhodnoťte výsledky.

Zápis a zpracování dat do protokolu

- tabulka nebo graf znázorňující vliv přidavku La na absorbanci roztoků a vyrovnání absorbancí roztoků bez fosforu a s fosforem
- komentář výsledků s vysvětlením zjištěného trendu
- závěrečné doporučení ke způsobu eliminace rušivého vlivu.

A) Testy při koncentraci Ca (Mg) 2 µg/ml a koncentraci P 2 µg/ml

A1) koncentrace La 0

do 10 ml OB se odpipetují roztoky podle tabulky:

Označení roztoku	ml 1 M HCl	ml roztoku Ca+Mg 100 µg/ml	ml roztoku P 100 µg/ml	ml Schinkelova roztoku (La 100 mg/ml)
blk La0 P0	1	0	0	0
La 0 Ca2 P0	1	0,2	0	0
blk La0	1	0	0,2	0
La 0 Ca2 P2	1	0,2	0,2	0

doplnit demi vodou po značku

A2) koncentrace La 0,5 mg/ml

do 10 ml OB se odpipetují roztoky podle tabulky:

Označení roztoku	ml 1 M HCl	ml roztoku Ca+Mg 100 µg/ml	ml roztoku P 100 µg/ml	ml Schinkelova roztoku (La 100 mg/ml)
blk La 0,5 P0	1	0	0	0,05
La 0,5 Ca 2 P0	1	0,2	0	0,05
blk La 0,5	1	0	0,2	0,05
La 0,5 Ca2 P2	1	0,2	0,2	0,05

doplnit demi vodou po značku

A3) koncentrace La 1 mg/ml

do 10 ml OB se odpipetují roztoky podle tabulky:

Označení roztoku	ml 1 M HCl	ml roztoku Ca+Mg 100 µg/ml	ml roztoku P 100 µg/ml	ml Schinkelova roztoku (La 100 mg/ml)
blk La 1 P0	1	0	0	0,1
La 1 Ca 2 P0	1	0,2	0	0,1
blk La 1	1	0	0,2	0,1
La 1 Ca2 P2	1	0,2	0,2	0,1

doplnit demi vodou po značku

A4) koncentrace La 2 mg/ml

do 10 ml OB se odpipetují roztoky podle tabulky:

Označení roztoku	ml 1 M HCl	ml roztoku Ca+Mg 100 µg/ml	ml roztoku P 100 µg/ml	ml Schinkelova roztoku (La 100 mg/ml)
blk La 2 P0	1	0	0	0,2
La 2 Ca 2 P0	1	0,2	0	0,2
blk La 2	1	0	0,2	0,2
La 2 Ca2 P2	1	0,2	0,2	0,2

doplnit demi vodou po značku

A5) koncentrace La 5 mg/ml

do 10 ml OB se odpipetují roztoky podle tabulky:

Označení roztoku	ml 1 M HCl	ml roztoku Ca+Mg 100 µg/ml	ml roztoku P 100 µg/ml	ml Schinkelova roztoku (La 100 mg/ml)
blk La 5 P0	1	0	0	0,5
La 5 Ca 2 P0	1	0,2	0	0,5
blk La 5	1	0	0,2	0,5
La 5 Ca2 P2	1	0,2	0,2	0,5

doplnit demi vodou po značku

B) Testy při koncentraci Ca (Mg) 2 µg/ml a koncentraci P 10 µg/ml

B1) koncentrace La 0

do 10 ml OB se odpipetují roztoky podle tabulky:

Označení roztoku	ml 1 M HCl	ml roztoku Ca+Mg 100 µg/ml	ml roztoku P 100 µg/ml	ml Schinkelova roztoku (La 100 mg/ml)
blk La 0 P0	1	0	0	0
La 0 Ca 2 P0	1	0,2	0	0
blk La 0	1	0	1	0
La 0 Ca 2 P 10	1	0,2	1	0

doplnit demi vodou po značku

B2) koncentrace La 0,5 mg/ml

do 10 ml OB se odpipetují roztoky podle tabulky:

Označení roztoku	ml 1 M HCl	ml roztoku Ca+Mg 100 µg/ml	ml roztoku P 100 µg/ml	ml Schinkelova roztoku (La 100 mg/ml)
blk La 0,5 P0	1	0	0	0,05
La 0,5 Ca 2 P0	1	0,2	0	0,05
blk La 0,5	1	0	1	0,05
La 0,5 Ca 2 P10	1	0,2	1	0,05

doplnit demi vodou po značku

B3) koncentrace La 1 mg/ml

do 10 ml OB se odpipetují roztoky podle tabulky:

Označení roztoku	ml 1 M HCl	ml roztoku Ca+Mg 100 µg/ml	ml roztoku P 100 µg/ml	ml Schinkelova roztoku (La 100 mg/ml)
blk La 1 P0	1	0	0	0,1
La 1 Ca 2 P0	1	0,2	0	0,1
blk La 1	1	0	1	0,1
La 1 Ca 2 P10	1	0,2	1	0,1

doplnit demi vodou po značku

B4) koncentrace La 2 mg/ml

do 10 ml OB se odpipetují roztoky podle tabulky:

Označení roztoku	ml 1 M HCl	ml roztoku Ca+Mg 100 µg/ml	ml roztoku P 100 µg/ml	ml Schinkelova roztoku (La 100 mg/ml)
blk La 2 P0	1	0	0	0,2
La 2 Ca 2 P0	1	0,2	0	0,2
blk La 2	1	0	1	0,2
La 2 Ca 2 P10	1	0,2	1	0,2

doplnit demi vodou po značku

B5) koncentrace La 5 mg/ml

do 10 ml OB se odpipetují roztoky podle tabulky:

Označení roztoku	ml 1 M HCl	ml roztoku Ca+Mg 100 µg/ml	ml roztoku P 100 µg/ml	ml Schinkelova roztoku (La 100 mg/ml)
blk La 5 P0	1	0	0	0,5
La 5 Ca 2 P0	1	0,2	0	0,5
blk La 5	1	0	1	0,5
La 5 Ca 2 P10	1	0,2	1	0,5

doplnit demi vodou po značku

B6) koncentrace La 10 mg/ml

do 10 ml OB se odpipetují roztoky podle tabulky:

Označení roztoku	ml 1 M HCl	ml roztoku Ca+Mg 100 µg/ml	ml roztoku P 100 µg/ml	ml Schinkelova roztoku (La 100 mg/ml)
blk La 10 P0	1	0	0	1
La 10 Ca 2 P0	1	0,2	0	1
blk La 10	1	0	1	1
La 10 Ca 2 P10	1	0,2	1	1

doplnit demi vodou po značku