

Stanovenie detekčných limitov v XRF analýze

Jakub Lakota

Bakalárska práca
2014



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Jakub LAKOTA**
Osobní číslo: **T10599**
Studijní program: **B2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Stanovení detekčních limitů rentgenového fluorescenčního spektrometru**

Zásady pro vypracování:

1. Popište metody stanovení detekčních limitů instrumentálních metod chemické analýzy.
2. Popište princip rentgenové fluorescenční spektrometrie.
3. Vypracujte literární rešerši o detekčních limitech v rentgenové fluorescenční spektrometrii.
4. Pokuste se experimentálně stanovit detekční limity rentgenového fluorescenčního spektrometru Elva X.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

- P. Jandera, T. Černohorský. Atomová spektroskopie, Pardubice, 1997, ISBN 807197114x.

- Články na dané téma v odborných časopisech dostupných pomocí databází knihovny UTB.

Vedoucí bakalářské práce:

doc. Ing. Vratislav Bednařík, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

Datum zadání bakalářské práce:

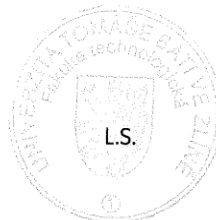
10. února 2014

Termín odevzdání bakalářské práce:

23. května 2014

Ve Zlíně dne 10. února 2014


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: JAKUB LAKOTA

Obor: CHTM

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 20. 5. 2014


.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlídá k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Objektom skúmania tejto bakalárskej práce je stanovenie detekčných limitov energeticky disperzného, röntgenflorescenčného spektrometru Elva X. Tieto detekčné limity boli stanovené pre 14 prvkov, ktoré boli pripravené vo forme vodných roztokov. Práca prezentuje výsledky merania vypočítané pomocou metódy kalibračnej priamky (krivky) a metódy stanovenia limitu slepím pokusom. Práca sa taktiež zaoberá problematikou limitov, ich definíciami a metódami výpočtu alebo vyjadrenia.

Kľúčové slová:

röntgenové lúče, röntgenflorescenčný spektrometer, limit detekcie, kalibračná krivka, spodný limit detekcie, prístrojový limit detekcie

ABSTRACT

The object of investigation of this thesis is to determine the detection limits of energy-dispersive, X-ray fluorescence spectrometry Elva X. The detection limits were determined for 14 elements which were prepared in aqueous solutions. The work presents the results of measurements calculated by using the method of calibration line (curve) and blank determination. The bachelor thesis also deals with limits, their definitions and methods of their calculation.

Keywords:

X-ray, X-ray fluorescence spectrometry, limit of detection, calibration curve, lowest limit of detection, instrumental limit of detection

Na tomto mieste by som sa rád poďakoval vedúcemu mojej bakalárskej práce doc. Ing. Vratislavovi Bednaříkovi, Ph.D. za vedenie, poskytnuté rady a množstvo času ktoré mi venoval pri vypracovávaní tejto práce. Taktiež by som sa rád poďakoval všetkým, ktorí mi pomáhali a podporovali ma.

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČASŤ.....	11
1 PRINCÍP RÖNTGENOVEJ FLUORESCENČNEJ SPEKTROMETRIE	12
1.1 VZNIK RÖNTGENOVÉHO ŽIARENIA.....	12
1.2 PRINCÍP XRF ANALÝZY.....	13
1.3 DETEKCIA SEKUNDÁRNEHO (CHARAKTERISTICKÉHO) ŽIARENIA.....	14
1.3.1 Detektory charakteristického žiarenia.....	14
2 LIMITY V RÖNTGENOVEJ FLUORESCENČNEJ SPEKTROMETRII	16
2.1 VYJADRENIE LIMITU DETEKČIE A KVANTIFIKÁCIE POMOCOU LIMITU SLEPÉHO POKUSU	18
2.2 LIMIT DETEKČIE LOD	19
2.3 SPODNÝ LIMIT DETEKČIE LLD A PRÍSTROJOVÝ LIMIT DETEKČIE ILD.....	20
2.3.1 Citlivosť prístroja	20
2.3.2 Spodný limit detekcie LLD.....	20
2.3.3 Prístrojový limit detekcie ILD	22
3 METÓDY STANOVENIA DETEKČNÝCH LIMITOV INŠTRUMENTÁLNYCH METÓD CHEMICKEJ ANALÝZY	25
3.1 VIZUÁLNA METÓDA (VISUAL METHOD).....	25
3.2 METÓDA POMERU SIGNÁLU K ŠUMU (SIGNAL TO NOISE RATIO).....	25
3.3 METÓDA SLEPÉHO POKUSU (BLANK DETERMINATION).....	26
3.4 METÓDA KALIBRAČNEJ KRIVKY	27
3.4.1 Lineárna regresia	27
II PRAKTICKÁ ČASŤ	28
4 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	29
4.1 POMÔCKY A PRÍSTROJE	29
4.1.1 Popis XRF spektrometra ElvaX.....	29
4.1.2 Meranie XRF spektier	30
4.2 VZORKY A POPIS PRÍPRAVY ROZTOKOV	30
4.2.1 Kritériá pre voľbu meraných prvkov.....	30
4.2.2 Popis prípravy roztokov	30
4.2.3 Použité chemikálie	31
4.2.4 Meranie intenzít	31
4.3 POSTUP VÝPOČTU NAVÁŽOK MERANÝCH PRVKOV.....	31
5 ZHODNOTENIE VÝSLEDKOV A DISKUSIA	33

5.1	FOSFOR	33
5.2	SÍRA	34
5.3	CHLÓR.....	35
5.4	DRASLÍK.....	36
5.5	VÁPNIK	38
5.6	CHRÓM.....	39
5.7	ŽELEZO	40
5.8	MEĎ	41
5.9	ZINOK.....	42
5.10	BRÓM.....	43
5.11	KADMIUM	44
5.12	JÓD.....	45
5.13	BÁRIUM.....	46
5.14	OLOVO	47
5.15	DISKUSIA K VÝSLEDKOM.....	49
	ZÁVER	50
	ZOZNAM POUŽITEJ LITERATURY	52
	ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK.....	54
	ZOZNAM OBRÁZKOV A GRAFOV	55
	ZOZNAM TABULIEK	56
	ZOZNAM PRÍLOH.....	57

ÚVOD

Intenzívny vývoj XRF analýzy (X-ray fluorescence spectrometry, alebo röntgenflorescenčnej analýzy) za posledné desaťročia zaručil, že táto analytická metóda si našla svoje stabilné miesto v pestrej palete analytických prístrojov. Jej využitie už dávno nie je výsadou len veľkých hutníckych spoločností, ale stala sa dostupnou pre mnohé odvetvia výskumu a výroby. Vďaka výskumu bolo dosiahnuté nielen zníženie výrobných nákladov na tieto zariadenia, ale taktiež znižovanie samotných rozmerov a hmotností prístrojov. Tie najmenšie sú jednoručné pištole s hmotnosťou blížiacou sa k jednému kilogramu. To zaručilo omnoho širší okruh užívateľov, ktorí ocenia najmä nedeštruktívny charakter analýzy (archeológia, zlatníctvo..).

Vyvstáva otázka, aká je citlivosť týchto prístrojov, nakoľko musela ustúpiť presnosť merania pred inými vlastnosťami. Výrobcovia rôznymi spôsobmi upravujú a „vylepšujú“ výsledné hodnoty detekčných a iných limitov, aby zvýšili ich kvalitu a prestíž. V teoretickej časti tejto práce popisujem jednotlivé koncentračné limity, s ktorými sa môžeme v praxi stretnúť ako aj metódy ich výpočtu alebo stanovenia. V druhej kapitole som venoval pomerne veľa priestoru termínom spodný limit detekcie a prístrojový limit detekcie. Urobil som tak z dôvodu, že aj medzi odbornou verejnosťou sa šíri mnoho nesprávnych, nepresných alebo zle pochopených pojmov. Snažil som sa porozumieť tejto problematike a poskytnúť čitateľovi tejto práce čo najvýstižnejšie informácie ohľadom limitov detekcie.

Cieľom tejto práce je pokúsiť sa stanoviť reálne detekčné limity vybraných prvkov pre vzorky s vodnou matricou na energeticky disperznom röntgenflorescenčnom spektrometri, ktorý som mal k dispozícii. Pre tento účel boli vybrané dve metódy stanovenia, a to kalibračná priamka a metóda slepého pokusu.

I. TEORETICKÁ ČASŤ

1 PRINCÍP RÖNTGENOVEJ FLUORESCENČNEJ SPEKTROMETRIE

1.1 Vznik röntgenového žiarenia

Röntgenové lúče (tiež nazývané rtg. žiarenie alebo lúče X) sú elektromagnetické žiarenie rovnakého charakteru ako sú napríklad viditeľné svetlo alebo rádiové vlny. Líši sa vlnovou dĺžkou, ktorá je oproti viditeľnému svetlu asi 1000 krát menšia, (pohybuje sa v jednotkách až stotínach nanometrov). Tak ako pre každé elektromagnetické žiarenie, tak aj pre röntgenové lúče platí takzvaný dualizmus (kvantovo-mechanický charakter). To znamená, že v niektorých prípadoch je výhodnejšie popisovať ho ako žiarenie s určitou vlnovou dĺžkou a inokedy ho chápať ako tok častíc (fotónov). [1]

Röntgenové žiarenie môže vznikáť dvojakým spôsobom. Prirodzene v prírode vznikajú napríklad rozpadom niektorých rádionuklidov alebo fúziou jadier vodíka v jadrách hviezd. Druhý spôsob je cielená príprava umelého žiarenia za pomoci elektrického prúdu, kedy rýchlo pohybujúce elektróny dopadajú na kladne nabitú elektródu (anódu). Röntgenové žiarenie sa objavuje aj ako neželaný produkt pri zváraní kovov elektrónovým lúčom alebo vo vákuových televíznych obrazovkách. [2]

Röntgenfluorescenčný spektrometer môže využívať ako zdroj primárneho röntgenového žiarenia rádionuklid alebo röntgenové lampy, ktorých v závislosti od svojho prevedenia, môže byť celá rada. Röntgenové lampy sú najbežnejším zdrojom budenia charakteristického žiarenia. Môžeme ich deliť podľa výkonu na:

- nízkovýkonné (1 až 200 W)
- výkonné (1-3 kW)
- pulzné vysokovýkonné (50-100 kW)

Podľa rozsahu vlnových dĺžok ich môžeme deliť na:

- bežné
- špeciálne pre zvlášť dlhé vlnové dĺžky

Podľa toho, či primárne žiarenie je anódou odrážané alebo ňou prechádza, delíme röntgenky na:

- reflexné
- transparentné

V praxi ešte delíme röntgenky podľa toho, či majú:

- uzemnenú anódu
- uzemnenú katódu [3]

1.2 Princíp XRF analýzy

XRF analýza patrí do skupiny metód atómovej spektroskopie subvalenčných elektrónov. Ich princíp je založený na interakcii atómov vzorku s prúdom častíc alebo žiarenia o vysokej (kinetickej) energii. Dôsledkom je vyrazenie excitovaného elektrónu z niektorej nižšej dráhy atómu. Voľné (vakantné) miesto je okamžite zaplnené niektorým elektrónom z vyššej hladiny, čo má za následok vyžiarenie energetického rozdielu vo forme fotónu. Tieto energetické rozdiely sú pre každý prvok iné, a preto charakteristické. Konkurenčným javom je Augerov efekt. Je to korpuskulárna relaxácia excitovaného stavu atómu, kedy dochádza pod vplyvom primárneho žiarenia k vyrazeniu dvoch elektrónov z toho istého atómu. [4]

Podľa spôsobu detekcie sa XRF prístroje delia na vlnovo disperzné a energeticky disperzné. U prvej skupiny sa sekundárne charakteristické žiarenie najprv monochromatizuje na difrakčnom kryštáli podľa vlnovej dĺžky charakteristickej pre skúmaný prvok a až potom sa privedie do detektoru. U energeticky disperzných XRF prístrojoch prichádza charakteristické žiarenie všetkých zistených prvkov súčasne do detektoru, ktorý triedi ich energie a následným výstupom je spektrum, ktoré ukazuje závislosť početnosti elektrónov za sekundu pre príslušné vlnové dĺžky (v nm) alebo príslušné energie (v keV). [5]

Aby bolo možné stanovovať aj ľahké prvky, používa sa evakuácia pracovného priestoru alebo vytesňovanie vzduchu (najmä kyslíku) héliom, čím sa obmedzí jeho interakcia s primárnym žiarením. Je dobré spomenúť, že táto spektrálna metóda analyzuje len povrchovú vrstvu vzorku. Výsledok analýzy je závislý na vlastnostiach povrchu, (skupenstvo, znečistenie, povrchová úprava) žiarenie preniká do hĺbky rádovo v nanometroch. Matričné prvky môžu taktiež rušiť analýzu svojim charakteristickým žiarením a absorpciou primárneho žiarenia röntgenky. Pre kvantitatívne stanovenie obsahu prvkov je preto potrebné použiť príslušné štandardy so známym obsahom stanovovaných prvkov s ohľadom na zloženie matrice. Okrem štandardov zliatin kovov sa vyrábajú

štandardy rôznych druhov skiel, plastov a iných materiálov. V súčasnosti sa už uplatňuje taktiež takzvaná bezštandardová metóda, založená na vývoji špeciálneho vyhodnocovacieho softvéru, ktorý zohľadňuje vplyv matrice a nedokonalosti skúmaného povrchu. [6]

1.3 Detekcia sekundárneho (charakteristického) žiarenia

Jednou z najdôležitejších súčastí každého spektrometru, je jeho detektor. Úlohou detektoru je transformovať energiu dopadajúcich fotónov na napäťové impulzy, ktoré sú ďalej spracovávané v elektronických obvodoch.

Na detekciu röntgenového žiarenia sa používajú tri základné typy detektorov – plynové proporcionálne, scintilačné a polovodičové. Plynový proporcionálny detektor je kovová komora, ktorej stredom je napnuté kovové vlákno. Plášť má záporný a vlákno kladný potenciál. Detektor je naplnený (odtavené detektory) alebo prefukovaný (prietokové detektory) inertným plynom. Röntgenové žiarenie vstupuje do detektoru veľmi tenkým okienkom zvyčajne vyrobeným z Berylia. Hrúbka tohto okienka má zásadný vplyv na citlivosť prístroja. Fotón röntgenového žiarenia spôsobí v detektore ionizáciu atómu inertného plynu. Vyrazený elektrón má dostatok energie k ionizácii ďalšieho atómu plynu. Lavínovito vznikajú páry, elektrón - kladne nabitý ión. Elektróny potom putujú k anóde a ióny ku katóde. Výsledkom je napäťový pulz, ktorého veľkosť v proporcionálnom detektore zodpovedá energii dopadajúceho fotónu.

Scintilačné detektory sa zvyčajne skladajú z monokryštálu jodidu draselného alebo sodného dotovaného tália (asi 0,1%), ktorý je spojený s fotonásobičom. Po dopade fotónov röntgenového žiarenia dochádza v kryštáli k excitácii valenčných elektrónov a pri deexcitácii sú emitované fotóny z viditeľnej oblasti spektra. Tie sú potom detekované fotonásobičom. Polovodičové detektory sú zvyčajne vyrobené z veľmi čistého germánia alebo z kremíka dotovaného lítiom – tzv. Si (Li) detektory. Po dopade röntgenového fotónu na detektor dochádza k vytvoreniu párov elektrón - diera. Ich počet je proporcionálny k energii dopadajúceho fotónu. [7]

1.3.1 Detektory charakteristického žiarenia

Plynové detektory pracujú na princípe ionizácie plynu vstupujúcim röntgenovým žiarením. V detektore sú umiestnené dve elektródy, medzi ktorými je napätie 1,5 až 2,5 kV. Detektor je naplnený detekčným plynom (Ar, Kr, He) a zhášacím plynom (metán). Pri

prieniku fotónu cez okienko je z detekčného plynu vyrazený elektrón a je vyvolaný elektrický impulz. Zhášací plyn vedie k rýchlej rekombinácii detekčného plynu na neutrálny atóm, čím je zabránené lavínovej ionizácii. Vysoké napätie zaistí, aby rekombinácia nebola rýchlejšia než dolet nábojov na elektródy.

Plynový detektor pracuje ako ionizačná komora, keď každý fotón röntgenového žiarenia vyvolá rovnaký pulz, ktorý je nezávislý na energii röntgenového žiarenia. Napätie medzi elektródami je nízke (stovky voltov).

Proporcionálne detektory pracujú pri vyšších napätiach, kedy vedie vznik páru ión – elektrón k sekundárnej ionizácii molekúl plynu. Tá je väčšia, keď má fotón röntgenového žiarenia vyššiu energiu.

Ešte vyššie napätie vyvolá po dopade fotónu lavínovú ionizáciu a úplne vybitie medzi katódou a anódou. Vzniká intenzívny pulz, ktorý takisto nezávisí na energii röntgenového žiarenia. Sčítanie týchto impulzov je princípom Geiger-Müllerovej trubice.

Ak pokračujeme vo zvyšovaní napätia, vyvoláme trvalý výboj a zničíme detektor.

Scintilačné detektory. Jodid sodný aktivovaný táliom NaI(Tl) je podstatou detektoru užívaného pre detekciu γ a krátkovlnného žiarenia. Pri interakcii žiarenia s kryštálom NaI(Tl) je ako následok excitácie elektrónov vo vonkajších elektrónových vrstvách produkované svetlo (jav nazývaný scintilácia) a meria sa fotonásobičom. Detektor pracuje proporcionálne – intenzita výstupných elektrických pulzov fotonásobiča závisí na energii röntgenového žiarenia. Na kryštál NaI(Tl) dopadá röntgenové žiarenie cez berýliové okienko. Uvoľnené fotóny viditeľného žiarenia sú zosilnené fotonásobičom.

Polovodičové detektory. Si(Li) detektor je kremík s pridaným lítiom. Na kryštál je privedené malé jednosmerné napätie, ktoré vytvorí pozitívne a negatívne zóny. Dopad röntgenového žiarenia vyvolá vznik nábojov, ktoré obidve zóny vodiivo prepojí a vzniká elektrický prúd. Polovodičové detektory pracujú za veľmi nízkych teplôt. Sú chladené kvapalným dusíkom alebo termoelektricky na teplotu nižšiu než 80K, aby nedochádzalo k vzniku nosičov náboja tepelnou cestou, ale len dopadom fotónu röntgenového žiarenia.

[8]

2 LIMITY V RÖNTGENOVEJ FLUORESCENČNEJ SPEKTROMETRII

V tejto kapitole popisujem niekoľko druhov limitov. Najznámejšími sú limit detekcie (LOD) a Limit kvantifikácie (LOQ). Sú to príbuzné parametre, majú však odlišné definície a nemali by byť zamieňané. Našou snahou je definovať najmenšiu koncentráciu analytu, ktorá môže byť detekovaná so zaručenou nepresnosťou výsledku.

Tabuľka 1 a 2 ukazujú, ako definujú detekčný limit a limit kvantifikácie jednotlivé authority ako sú United States Pharmacopoeia (USP), Foods and Drugs Administration (FDA), International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC), International Conference on Harmonisation (ICH) a Association of Analytical Communities (AOAC). Ako je z tabuliek zrejmé, chemické organizácie definujú limit detekcie aj kvantifikácie inak.

Tab. 1 Porovnanie charakteristík LOD podľa svetových chemických organizácií.

	ICH	AOAC	USP	IUPAC
Definícia	najnižšie množstvo analytu vo vzorke, ktoré môže byť detekované, ale nemusí byť nutne kvantifikované za daných experimentálnych podmienok	najnižší obsah, ktorý môže byť meraný s primeranou štatistickou istotou	najnižšie množstvo analytu vo vzorke, ktoré môže byť detekované, ale nie nevyhnutne kvantifikované	najmenšie množstvo koncentrácie analytu vo vzorke, ktoré je spoľahlivo výrazné od nuly
Metóda	1. vizuálne ohodnotenie (kap. 3.1) 2. pomer signálu a šumu (kap. 3.2) 3. založená na smerodajnej odchýlke výsledkov merania a sklone kalibračnej krivky (kap. 3.4)	založená na viac ako 20 meraní slepého pokusu	Detekčný limit by mal byť dostatočne nízky pre analýzu vzorky so známou konc. analytu nad a pod požadovaným limitom.	nešpecifikovaná
Výraz/ výpočet	Výsledky metód vizuálne hodnotenie a pomer signál - šum prezentujeme príslušnými grafmi. Výpočet LOD z kalibračnej krivky počítame zo vzorca: $LOD=3,29\sigma/k$ (1)	$LOD=\bar{I}+3\sigma$ (2) kde \bar{I} je stredná hodnota slepého merania, počet $n\geq 20$, a σ je smerodajná odchýlka priemeru merania	nešpecifikované	nešpecifikované

Prijaté kritéria	pomer signálu k šumu >3; nešpecifikovaný v ostatných kritériách	nešpecifikované	nešpecifikované	nešpecifikované
-------------------------	---	-----------------	-----------------	-----------------

Zdroj: [9]

Tab. 2 Porovnanie charakteristik LOQ podľa svetových chemických organizácií.

	ICH	US FDA	AOAC	USP
Definícia	najnižšie množstvo analytu vo vzorke, ktoré môže byť kvantifikované s vhodnou presnosťou a správnosťou	najnižšie množstvo analytu, ktoré môže byť kvantitatívne determinované s vhodnou presnosťou a správnosťou a taktiež nazývané spodný limit kvantifikácie (LLOQ)	je najnižšie množstvo analytu vo vzorke, kt. môže byť kvantifikované s primeranou presnosťou a správnosťou pre príslušný analyt a maticu.	najnižšie množstvo analytu vo vzorke, ktoré môže byť kvantifikované s príslušnou presnosťou a správnosťou
Metóda	1. vizuálne ohodnotenie (kap. 3.1) 2. Pomer signálu a šumu (kap. 3.2) 3. založená na smerodajnej odchýlke výsledkov merania a sklone kalibračnej krivky (kap. 3.4)	príprava štandardnej krivky a najnižšej konc. na kalibračnej krivke má byť prijatá ako LLOQ, ak spĺňa túto podmienku: hodnota pre $LLOQ=5 \times \bar{I}$ (3) kde \bar{I} je stredná hodnota slepeho pokusu	nešpecifikovaný	1. vizuálne ohodnotenie (kap. 3.1) 2. Pomer signálu a šumu (kap. 3.2) 3. založená na smerodajnej odchýlke výsledkov merania a sklone kalibračnej krivky (kap. 3.4)
Odporúčania	limit by mal byť overený analýzou vhodného počtu vzoriek pripravených na limite kvantifikácie	nešpecifikované	nešpecifikované	nešpecifikované
termín/ výpočet	limit kvantifikácie a metóda použitá na jeho určenie by mali byť prezentované a vyjadrené ako analytická konc.	nešpecifikované	$LOQ = \bar{I} + 10\sigma$ (4) kde \bar{I} je stredná hodnota slepeho pokusu a σ smerodajná odchýlka výsledku.	nešpecifikované

Zdroj: [9]

2.1 Vyjadrenie limitu detekcie a kvantifikácie pomocou limitu slepého pokusu

Limit slepého pokusu (LOB) je ďalší termín, používaný na popis najmenších koncentrácií meraných vzoriek. Vzorky je možné s požadovaným stupňom spoľahlivosti určiť pomocou analytickej procedúry. LOB (limit slepého pokusu) je najvyššia koncentrácia analytu, ktorú je možné namerať pri meraní slepého pokusu. Túto hodnotu vypočítame zo vzorca 5:

$$\text{LOB} = \bar{I}_0 + 1,645\sigma_0 \quad (5)$$

Kde \bar{I}_0 je priemerná intenzita signálov analytu v slepých vzorkách a σ_0 je smerodajná odchýlka série slepých pokusov.

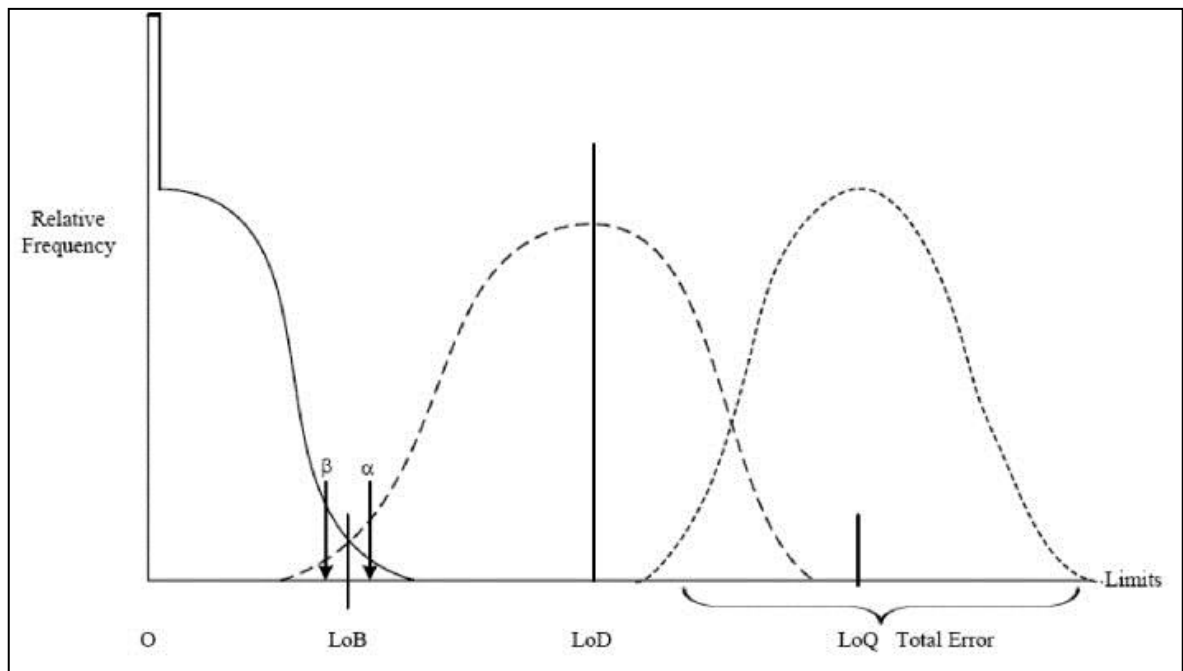
Detekčný limit potom reprezentuje najnižšiu koncentráciu analytu, ktorú možno spoľahlivo odlíšiť od limitu slepého pokusu. Detekčný limit je v tomto prípade definovaný ako súčet vypočítaného limitu slepého pokusu a smerodajnej odchýlky opakovaného merania vzoriek obsahujúcich nízku koncentráciu analytu.

$$\text{LOD} = \text{LOB} + 1,645\sigma_x \quad (6)$$

Pričom σ_x je smerodajná odchýlka série vzoriek s nízkou koncentráciou analytu.

Limit kvantifikácie je najnižšia koncentrácia, pri ktorej nielenže možno spoľahlivo detegovať analyt, ale ktorá taktiež spĺňa preddefinované ciele odchýlok a nepresností. Koncentrácia LOQ môže byť ekvivalentom k LOD, no môže mať oveľa vyššiu hodnotu.

[10]



Obr. 1 Vzťahy medzi LOB, LOD a LOQ. [10]

2.2 Limit detekcie LOD a limit kvantifikácie LOQ

Dôležitú štatistickú rolu v XRF analýze zohráva schopnosť prístroja zistiť, či je prvok prítomný alebo nie je prítomný vo vzorke. S určitou štatistickou presnosťou môžeme tvrdiť, že daný prvok je prítomný vo vzorke, ak jeho nameraná koncentrácia je väčšia ako určitý limit. Tento limit je limitom detekcie. Spravidla je oveľa menší ako limit determinácie LOQ. V praxi sa často stretávame s predstavou, že limit detekcie je najmenšia koncentrácia prvku, ktorú môžeme namerať. V skutočnosti sa jedná o koncentráciu, pri ktorej sme schopní posúdiť, či je hľadaný prvok prítomný vo vzorke alebo nie. Limit detekcie je vyjadrený ako koncentrácia (c_L) alebo množstvo (q_L), odvodené z najmenšieho merania (x_L), ktoré môže byť detegované so spoľahlivou určitosťou pre danú analytickú procedúru. Hodnota x_L je daná rovnicou 9,

$$x_L = x_{bl} + k\sigma_{bl} \quad (7)$$

kde x_{bl} je priemer slepých meraní, σ_{bl} je smerodajná odchýlka slepých meraní a k je konštanta vybraná podľa požadovaného stupňa spoľahlivosti. Organizácia IUPAC odporúča pre stupeň spoľahlivosti 90% používať hodnotu konštanty rovnú trom. Bolo tak rozhodnuté na základe predošlých empirických poznatkov. Prepočet nameraných hodnôt x_L na koncentrácie c_L sa uskutoční pomocou citlivosti.[11]

Tab. 3 Limity detekcie a kvantifikácie

	Hodnota limitu	Relatívna štandardná odchýlka
Limit detekcie	3σ	33 %
Limit kvantifikácie	10σ	10 %

Zdroj: [11]

2.3 Spodný limit detekcie LLD a Prístrojový limit detekcie ILD

2.3.1 Citlivosť prístroja

Dôležitý nástroj, potrebný pre determináciu limitných typov, je citlivosť prístroja pre daný prvok v danom vzorku. Definujeme ju ako stav hrubej intenzity získanej za jednotku koncentrácie. Pre výpočet stavu hrubej intenzity musíme namerať intenzity píku analytu na preskúšaných referenčných materiáloch, aby sme analyty mohli analyzovať. Pre výpočet citlivosti prístroja nesmú byť zmerané intenzity opravované o maticové efekty a taktiež musíme predpokladať lineárny vzťah medzi intenzitami a koncentráciou. Citlivosť, pre každý analyt i , je počítaná zo sklonu k_i kalibračnej krivky.

Ak je kalibračná priamka plochou intenzity píku analytu I_p a i je funkcia koncentrácie C_i , môžeme tento vzťah vyjadriť nasledovne: $I_p = m_i \times C_i + I_b$, kde skutočná intenzita pozadia I_b je daná priesečníkom kalibračnej krivky a osi y . Sklon k_i je potom daný rovnicou (8)

$$k_i = \frac{I_p - I_b}{C_i} \quad (8)$$

kde C_i je koncentrácia analytu i , v %, ppm. Je to práve sklon kalibračnej krivky, ktorý umožňuje konvertovať merania čistých intenzít do koncentrácií. [12]

2.3.2 Spodný limit detekcie LLD

Keď XRF analytik rozvíja nový analytický program, musí vypočítať najmenšiu koncentráciu prvku, ktorú môže nájsť vo vzorke. Je to kontrola citlivosti prístroja, teda či je prístroj dostatočne citlivý na to, aby detegoval celé koncentračné rozmedzie prvku. Najmodernejší limit detekcie použitý v XRF analýze je spodný limit detekcie (LLD), ktorého hodnota zodpovedá trom smerodajným počtovým chybám σ_b súboru meraných intenzít. Tento limit je nad optimistickým odhadom skutočného limitu detekcie. V praxi je obľúbený najmä výrobcami analytických prístrojov.

Výraz „Spodný limit detekcie“ (LLD) sa často používa v literatúre o XRF spektrometroch k vyjadreniu najmenšieho množstva prvku v danom vzorku, ktoré môže byť namerané pre danú maticu. V praxi však nie je dobré používať tento limit, hneď z troch nasledujúcich dôvodov:

1. Z praktického hľadiska neexistuje dôvod, prečo spájať termíny ako sú horný alebo dolný s výrazom limit detekcie. Napríklad, ak auto dosiahne svoju maximálnu rýchlosť, nemôže sa pohybovať rýchlejšie. Spojenie slova „najnižší“ s výrazom limit detekcie je zbytočné a nelogické. V praktických situáciách výraz LLD nemá žiaden význam.

2. LLD je definovaný ako najnižšia čistá intenzita píku analytu, vyjadrená v koncentračných jednotkách, ktoré môžu byť merané s 95 % intervalom spoľahlivosti. Túto minimálnu intenzitu vypočítame ako dvojnásobok smerodajnej odchýlky slepého pokusu z kalibračnej krivky prvku i , intenzity šumu pod píkom analytu I_b a času merania T_b u ktorého nepredpokladáme chybu. Limit je vyjadrená prostredníctvom koncentrácie vo vzorci 9

$$2\sigma_b \Rightarrow \frac{2}{k_i} \times \sqrt{\frac{I_b}{T_b}} \quad (9)$$

Kde k_i je sklon kalibračnej krivky alebo citlivosť spektrometru v cps alebo %. V XRF analýze sú povinné merania intenzity pozadia a píku, chyba môže byť zväčšená o činiteľ $\sqrt{2}$, takže spodný limit detekcie je rovný

$$LLD = \frac{2 \times \sqrt{2}}{k_i} \times \sqrt{\frac{I_b}{T_b}} \approx \frac{3}{k_i} \times \sqrt{\frac{I_b}{T_b}} \quad (10)$$

alebo nahradením k_i rovnicou (8), dostávame rovnicu 11

$$LLD = \frac{3 \times C_i}{I_p - I_b} \times \sqrt{\frac{I_b}{T_b}} \quad (11)$$

Takže súčasný LLD používaný výrobcami je rovný trojnásobku smerodajnej počtovej chybe intenzity pozadia. „Fiktívne čísla“ vypočítané rovnicou (13) alebo (14) nie sú predstaviteľmi limitov detekcie používaných v praxi. Je dôležité zdôrazniť, že LLD nie je predstaviteľom skutočných experimentálnych výsledkov, ale iba minimálnym teoretickým

odhadom. Kvantitatívnu analýzu na LLD nie je možné použiť z nasledujúcich dôvodov: počet skutočných meraní je vždy limitovaný konečným číslom, nepresnosť priemernej intenzity pozadia (meranej na slepom vzorku) je zanedbateľná a experimentálna smerodajná odchýlka (σ_b) je odhadovaná teoretickou štandardnou počtovou chybou S_b .

V praktických situáciách nemôžeme predpokladať, že merania budú presne nasledovať Gaussovo rozdelenie. Taktiež detekčný limit počítaný s 95% intervalom spoľahlivosti, zvyčajne nie je stanovený tak, aby poskytol dostatočnú záruku dôveryhodnosti pre analytické merania. Zároveň početový čas pozadia (T_b) je často nahradzovaný celkovým časom n na zmeranie vrcholu a zázemia (kde $T = T_p + T_b$ a $T_p = T_b = T/2$) a hodnota používaná výrobcami v tomto prípade reprezentuje 100 sekúnd. Jediný dôvod, prečo takto učiť je zrejme redukovanie LLD hodnoty, ktorá klesá, keď početový čas rastie. Tieto všetky „úskoky“ majú za cieľ vytvoriť fiktívne čísla, ktoré vyzerajú lepšie, no nereprezentujú realitu.

3. Vo väčšine prípadov dochádza k nepochopeniu významu spodného limitu detekcie. Mnoho odborníkov si pletie limit detekcie a limit determinácie. Výraz limit detekcie, ktorý je založený na meraniach pozadia a limit determinácie, ktorý je založený na meraniach ľubovoľnej intenzity píku nad pozadím, sú často použité nesprávne a bežne sa medzi sebou zamieňajú. Inými slovami, najmenšia koncentrácia analytu v danej vzorke môže byť determinovaná prístrojom a nemôže byť odhadovaná iba z meraní intenzity pozadia. [12]

2.3.3 Prístrojový limit detekcie ILD

Autor DR. RICHARD M. ROUSSEAU navrhuje zastaraný výraz LLD nahradiť iným, viac realistickejším. Mal by mať výstižnejší názov, definíciu a taktiež výpočet. Navrhuje začať používať výraz Prístrojový Limit Detekcie (ILD), ktorý je definovaný ako minimálna čistá intenzita píku analytu, vyjadrená v koncentračných jednotkách. Môže byť detegovaná prístrojom v danom analytickom kontexte s 99.95% intervalom spoľahlivosti. ILD závisí od prístroja vzorkového maticového zloženia a analytu.

Avšak čítanie rovnakého píku prvku vo vzorku a v rovnakých experimentálnych podmienkach, rozdielnymi prístrojmi nám dá rozdielne ILD hodnoty. ILD nezávisí na matematických metódach použitých pre výpočet koncentračných hodnôt. ILD závisí, pre daný analyt v danom vzorku, iba na prístroji. [12]

Limit detekcie je spojený so schopnosťou prístroja rozlišovať intenzitu píku (I_p) od fluktuácií intenzity pozadia (I_b), spôsobených počtovými štatistikami alebo šumom pozadia. Potom vyvstáva otázka: „Aká je najnižšia intenzita píku analytu, ktorú sme schopní namerať tak, aby bola jasne rozpoznateľná od šumu pozadia?“ Aká veľká je intenzita pozadia I_b , ak sa všetky merania týkajú počtových štatistických chýb, kolísajúcich okolo priemernej hodnoty \bar{I}_b . Takže množstvo opakovaných meraní intenzity pozadia bude mať za výsledok distribúciu dát, ktoré sa približujú ku Gaussovej distribúcii charakterizovanej strednou hodnotou \bar{I}_b a štandardnou počtovou chybou σ_b . Tá reprezentuje kolísania intenzity I_b , spôsobené počtovými štatistickými chybami alebo šumom pozadia. [12]

XRF analytik musí pre tvrdenie, že analyt je prítomný vo vzorke zvoliť stupeň spoľahlivosti. Napríklad, 95% interval spoľahlivosti znamená, že pre veľký počet skúmaní, 95% pozorovaní udáva prítomnosť analytu, zatiaľ čo 5% pozorovaní odráža iba náhodné kolísanie v zázemovej intenzite. Avšak, 95% nie je dostatočný spoľahlivostný interval, s ktorým by sme si mohli byť istí, že hociká meraná intenzita je odlišená od zázemového šumu. Z toho dôvodu je autoritou IUPAC odporúčaná hodnota 99.95%. V praktických situáciách, charakteristická krivka intenzity I_p klesá s klesajúcou koncentráciou analytu a nakoniec sa stráca v zázemovom šume (v prípade slepého pokusu). Značne odlišná od zázemia, vrcholová intenzita I_p , nesmie byť iba väčšia ako I_b , ale tiež štatisticky odlišiteľná od zázemového šumu. Pravdepodobnosť, že analyt je prítomný na 99.95%, ak vrcholová intenzita I_p je väčšia ako $(I_b + 3.29\sigma_b)$. V tomto prípade, pravdepodobnosť, že zázemové meranie môže prevýšiť $(I_b + 3.29\sigma_b)$ je iba 0.05%. Akákoľvek nameraná intenzita, bude mať interval spoľahlivosti 99.95%, ak bude vyššia ako $(I_b + 3.29\sigma_b)$ a nebude detegovaná, v rovnakom intervale spoľahlivosti, ak bude menšia ako $(I_b + 3.29\sigma_b)$. [12]

Rozhodnutie „detegovaný“ alebo „nedetegovaný“ je tak založené na porovnaní hranice, teda limitu detekcie, ktorý je kombináciou priemernej zázemovej intenzity a zázemového šumu. ILD reprezentuje hranicu, nad ktorou vrcholová intenzita môže byť odlišiteľná od zázemového šumu na špecifikovanom stupni hodnovernosti. Pod týmto prahom predpokladáme, že vrcholová intenzita nie je odlišiteľná od zázemového šumu. V XRF analýze je akákoľvek koncentrácia vypočítaná z hrubej vrcholovej intenzity (to je

intenzita, ktorá sa rovná rozdielu medzi zmeranou vrcholovou intenzitou (I_p) a zázemovou intenzitou (I_b). Avšak, smerodajná počtová chyba (σ_p), je spojená s akýmkoľvek meraním vrcholovej intenzity. A taktiež, každé meranie zázemovej intenzity je sprevádzané smerodajnou počtovou chybou (σ_b). Z tohto dôvodu, XRF analytik prichádza do konfrontácie s problémom odlišovania skutočných hrubých vrcholových intenzít od náhodných výkyvov vo vrcholových a zázemových intenzitách. [12]

3 METÓDY STANOVENIA DETEKČNÝCH LIMITOV INŠTRUMENTÁLNYCH METÓD CHEMICKEJ ANALÝZY

3.1 Vizuálna metóda (Visual method)

Na prvý pohľad veľmi nespoľahlivá, subjektívna a neortodoxná metóda, môže dobre poslúžiť ako východisko pre porovnanie s inou analytickou metódou. Jedná sa o metódu, ktorou sa snažíme voľným okom odhadnúť či pík vyčnieva nad šum pozadia.

Túto jednoduchú metódu môžeme využiť pri neprístrojovom (riedim roztok, dokiaľ vykazuje charakteristické sfarbenie), ale aj prístrojovom odhade limitu detekcie. [13]

3.2 Metóda pomeru signálu k šumu (Signal to noise ratio)

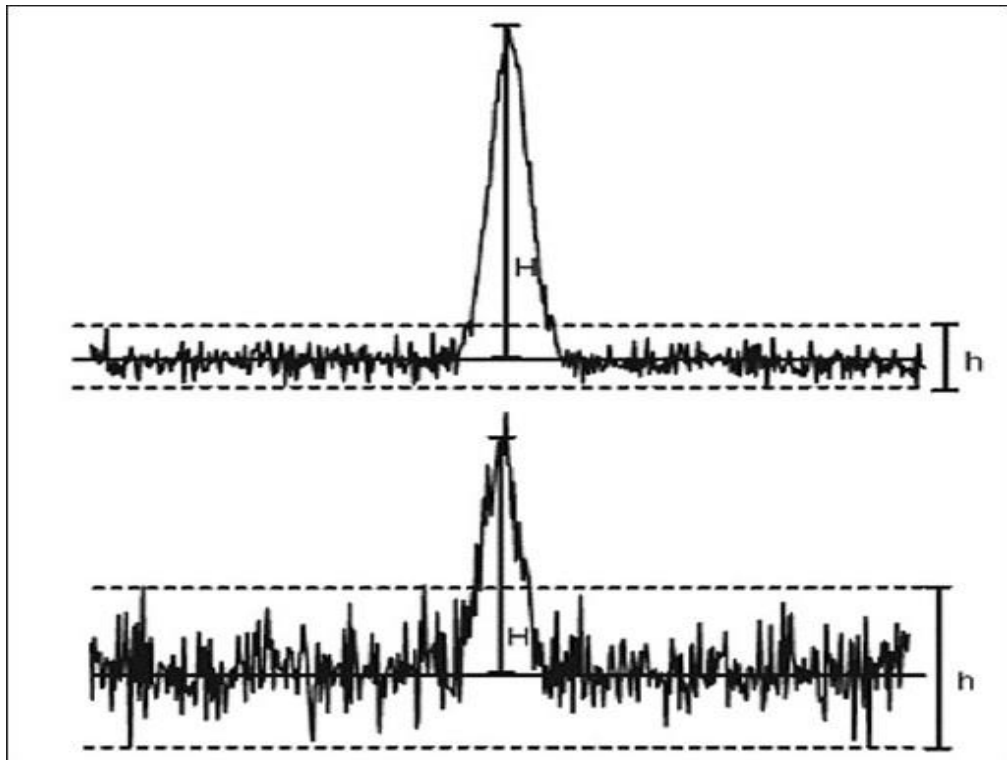
Pri použití tejto metódy stanovenia detekčného alebo kvantifikačného limitu porovnáme výšky pík analytu a pík šumu pozadia. Tie sú merané, a následne je koncentrácia analytu, ktorá by preukazovala signál rovnajúci sa určitej hodnote pomeru šum k signálu odhadovaná. Výška šumu môže byť meraná buď manuálne z grafu alebo autointegrátorom prístroja. Zlomok signál k šumu (S/N) rovný trom, je všeobecne akceptovaný pre odhadovanie LOD a zlomok S/N rovný desiatim je používaný pre LOQ. Táto metóda je bežne používaná pre analytické metódy, ktoré ukazujú zázemovú líniu šumu.

Pomer signálu a šumu je počítaný z rovnice 12

$$S/D = 2H/h \quad (12)$$

kde H je výška píku, ktorý zodpovedá príslušnému analytu, v chromatograme meraného roztoku. Meria sa od vrcholu píku signálu analytu po základnú líniu pozorovaného na vzdialenosť, 20 násobku šírky pri polovičnej výške h, čo je šum pozadia. v chromatograme pri meraní analytu alebo slepého pokusu. pozorovať do vzdialenosti rovnajúcej sa 20 násobku šírky v polovici výšky píku na chromatograme. [14]

Je dôležité spomenúť, že systém je nezávislý od značného driftu základnej čiary a dochádza k zmene počas tejto detekcie. Obrázok 2 ukazuje príklad S/N zlomok 10:1 a 3:1 ktorý približuje požiadavky pre LOQ a LOD. Tento prístup funguje iba pre vrcholové výškové merania. Modelový príklad je zobrazený na obrázku 2.



Obr. 2 Metóda signál k šumu, príklad 10:1 (hore) a 3:1 (dole) [14]

3.3 Metóda slepého pokusu (Blank determination)

Metóda slepého pokusu sa používa, ak nám pri meraní slepého pokusu vychádza nenulová hodnota merania (smerodajná odchýlka). LOD je vyjadrené ako koncentrácia skúmaného prvku, ktorá zodpovedá súčtu trojnásobku smerodajnej odchýlky a hodnoty slepého vzorku. LOQ reprezentuje koncentráciu skúmaného vzorku, ktorá zodpovedá súčtu desaťnásobku smerodajnej odchýlky a hodnoty slepého vzorku vid' vzorec 13 a 14 .

$$\text{LOD} \cong \bar{x} + 3\sigma \quad (13)$$

$$\text{LOQ} \cong \bar{x} + 10\sigma \quad (14)$$

Kde: \bar{x} - priemerná hodnota signálu meraného vzorku, σ - smerodajná odchýlka tohto vzorku.

Ak budeme predpokladať, že merané veličiny majú rovnaký rozptyl a normálové rozdelenie, iste môže nastať situácia, že metóda bude detekovať prvok, ktorý vo vzorke prítomný nie je, chyba typu I (falošne pozitívna chyba, α chyba). Alebo naopak, prvok detegovaný nebude, napriek tomu, že je vo vzorke prítomný, chyba typu II (falošne negatívna chyba, β chyba). Vysvetlenie toho javu spočíva vo vlastnostiach normálového rozdelenia a smerodajnej odchýlky, kedy v intervale $\pm 3\sigma$ leží 99,75% výsledkov.

Z toho vyplýva, že s určitou malou pravdepodobnosťou vzorka s nulovou koncentráciou analytu, môže náhodne vytvoriť signál prekračujúci limit detekcie, alebo naopak, vzorka s koncentráciou analytu tesne pod limitom detekcie môže náhodne vytvoriť signál pod limitom detekcie. Tieto chyby sa ľahko odhalia opakovanou analýzou toho istého vzorku. [15]

3.4 Metóda kalibračnej krivky

Základom metódy zo štatistického hľadiska je regresná analýza, na základe ktorej určujeme parametre a chyby kalibračného modelu. Najznámejšia a najpoužívanejšia metóda pre stanovenie LOD a LOQ. Graficky znázorňuje závislosť nameraného signálu na veľkosti meranej veličiny, koncentrácie analytu. Pri tejto metóde musí pracovník pripraviť sériu roztokov, ktoré obsahujú analyt v presne stanovených koncentráciách v rozsahu detekčného limitu. [8]

3.4.1 Lineárna regresia

Pre lineárnu kalibračnú krivku zavádzame predpoklad, že odpoveď prístroja (hodnota osi y) je lineárne závislá na koncentrácii (hodnota osi x) v prípade limitovaného rozsahu koncentracii. Daný vzťah vyjadrujeme pomocou rovnice:

$$y = kx + q \quad (15)$$

Kde k reprezentuje citlivosť a sklon kalibračnej krivky q je konštanta, ktorá popisuje pozadie. Táto metóda môže byť použitá vo všetkých prípadoch, nakoľko využíva pre kalibračnú krivku nízke hodnoty blízke nule. Čím použijeme homogénnejšie rozdelenie bodov kalibračnej krivky, tým dostávame spoľahlivejšie vyhodnotenie.

Výhodou tejto metódy je spoľahlivý spôsob ako vypočítať neistotu koncentrácie, spočítanej z kalibračnej krivky (pomocou štatistik najmenšieho štvorca). Taktiež je výhodou, že poskytuje údaje získané empiricky.

Nevýhodou tejto metódy je, že skúmaný prvok potrebujeme vo vysokej čistote a s vopred známou koncentráciou, čomu predchádza náročná príprava kalibračných roztokov. Taktiež je nevýhodou, že pripravované štandardizované roztoky musia mať rovnakú maticu ako neznáme vzorky.

$$LOD = \frac{3,29 \cdot \sigma}{k} \quad (16)$$

Kde σ je smerodajná odchýlka série meraní a k je sklon kalibračnej krivky. [16]

II. PRAKTICKÁ ČASŤ

4 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

4.1 Pomôcky a prístroje

Analytické váhy PRECISA 120 A, Typ 290-9212/G AG (Zürich, Švajčiarsko).

Prístroj slúžil k prevedeniu jednotlivých navážok chemikálii na prípravu roztokov.

ED XRF spektrometer ElvaX (Elvatech Ltd.; Kyjev, Ukrajina)

Na tomto prístroji sa merali jednotlivé pripravené roztoky.

Ostatné prístroje a pomôcky bežne používané v chemicko-analytickom laboratóriu.

4.1.1 Popis XRF spektrometra ElvaX

Rozmery prístroja : 500 x 400 x 240 mm; hmotnosť: 18-20 kg ; príkon : 50 W ; napájanie: 220 V/230 V, 50 Hz. Rozmery analytickej komory: 200 x 250 x 80 mm (možná analýza aj objemnejších vzoriek) .

Analyzátor:

Jedná sa o stolný analyzátor s rozsahom analýzy prvkov od sodíka po urán. Po technickej stránke je zložený z generátora röntgenových lúčov (generátor vysokého napätia: 4-50 kV, 0-100 μ A, röntgenky - v našom prípade striebornej s 125 μ m výstupným Be-okienkom), detektora pre vybudené röntgenové lúče a multikanálového analyzátoru (MCA). V závislosti na danej analýze umožňujú optimalizáciu excitačných podmienok zameniteľné primárne filtre (čo vyžaduje servisný zásah do prístroja). Využitie nízkej výstupnej energie röntgenky (5 W) je podmienené malou vzdialenosťou (14 mm) medzi anódou skúmaným vzorkom.

Detektor:

Je polovodičový Si-pin-diódový detektor s termoelektrickým chladením. Je zložený zo vstupného Be-Okienka (8 μ m) a aktívnej plochy (7 mm² o hrúbke 600 μ m) s rozlíšením 180 eV. Energetický rozsah röntgenových lúčov je 2,5 - 30 keV .

Výstupný signál detektoru je spracovaný elektronikou, pomocou multikanálového analyzátoru. Ten je zložený z tvarovacieho zosilňovača (FSA) a štvorkanálového analógovo- digitálneho prevodníku (SADC).

4.1.2 Meranie XRF spektier

XRF spektrá znázorňujú závislosť početnosti impulzov na príslušnej energii (až 4096 kanálov). Tie vznikajú zo záznamov detektora spektrometru. Viditeľné píky charakterizujú prítomnosť prvku vo vzorke. Pre presné zmeranie vzorky je nutným predpokladom čo najvyšší počet kalibračných štandardov. Meranie spektrometra je riadené počítačom za použitia obslužného softvéru ElvaX (verzia 2.8.2). [17]

4.2 Vzorky a popis prípravy roztokov

4.2.1 Kritériá pre voľbu meraných prvkov

Náš výber prvkov, pre ktoré sme sa rozhodli hľadať detekčný limit prístroja bol ovplyvnený niekoľkými faktormi:

- Výber na základe možností prístroja. Prístroj nedokáže analyzovať ľahké prvky s protónovým číslom menším než 11.
- Naša dostupnosť v rámci chemicko-analytického laboratória k vhodným chemikáliám.
- Z hľadiska významnosti prvkov a ich zlúčenín v životnom prostredí, prípadná ekotoxicita.

Taktiež bolo zámerom analyzovať čo najviac prvkov, v čo najširšom rozpätí protónových čísel, aby mohli byť vzájomne porovnané detekčné limity „ľahších“ a „ťažších“ prvkov.

4.2.2 Popis prípravy roztokov

Pre každý zo 14 prvkov bola pripravená sada kalibračných roztokov s presne známymi koncentraciami, ktoré boli pripravené nasledovne: Na analytických váhach som navážili navážku, približnú k vypočítanej navážke. Tá bola kvantitatívne prevedená do čistej 100 ml odmernej banky, rozpustená v malom množstve destilovanej vody a následne bola banka doplnená po rysku.

U prípravy desaťnásobne zriedených roztokov sme postupovali nasledovne. Zo základného roztoku bolo (roztokom premytou) pipetou odobraných 10ml roztoku a prevedených do ďalšej odmernej banky, ktorá bola následne doplnená destilovanou vodou po rysku.

Meraním roztokov bola zistená sada výsledkov- intenzít signálov, závislých od koncentrácií skúmaného prvku (analytu).

4.2.3 Použité chemikálie

Z nižšie uvedených chemikálií boli pripravené jednotlivé roztoky.

Dihydrogénfosforečnan amónny (p. a.)	$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$
Síran amónny (p. a.)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
Chlorid amónny (p.a.)	NH_4Cl
Dusičnan draselný (p. a.)	KNO_3
Tetrahydrát dusičnanu vápenatého (p. a.)	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
Nonahydrát dusičnanu chromnatého (p. a.)	$\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$
Nonahydrát dusičnanu železitého (p. a.)	$\text{Fe}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$
Trihydrát dusičnanu meďnatého (p. a.)	$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
Hexahydrát dusičnanu zinočnatého (p. a.)	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
Bromid sodný (p. a.)	NaBr
Tetrahydrát dusičnanu kademnatého (p. a.)	$\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
Jodičnan sodný (p. a.)	NaIO_3
Dusičnan barnatý (p. a.)	$\text{Ba}(\text{NO}_3)_2$
Dusičnan olovnatý (p. a.)	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$
Kyselina dusičná 65% (p. a.)	HNO_3

4.2.4 Meranie intenzít

Samotné meranie intenzít signálov prebiehalo tak, že časť pripraveného roztoku sa previedla do plastovej kvety, ktorej spodná strana je tvorená polyesterovou fóliou Mylar Film s hrúbkou 0,24mm. Čistý čas merania bol vo všetkých meraniach nastavený na 100 sekúnd, mŕtvy čas tvoril približne 5 až 10 % času čistého.

4.3 Postup výpočtu navážok meraných prvkov

Pri výpočte navážky meraných prvkov sme vychádzali z molárnej hmotnosti zlúčeniny. Po príprave roztoku sme vypočítali reálnu hmotovú koncentráciu z reálnej navážky.

Výpočet navážky zlúčeniny:

$$m_{xyz} = \frac{M_{xyz}}{M_x} * m_x \quad (17)$$

Kde m_{xyz} je hmotnost navážky zlúčeniny a m_x je hmotnosť skúmaného prvku v navážke (v našom prípade 1g)

Výpočet skutočnej hmotovej koncentrácie základného roztoku:

$$c = \frac{m_x}{V} \quad (18)$$

Kde V je objem základného roztoku. Komplexná tabuľka s vypočítanými a reálnymi navážkami všetkých meraných prvkov je uvedená v prílohe na konci práce.

5 ZHODNOTENIE VÝSLEDKOV A DISKUSIA

Limit detekcie bol pre všetky skúmané prvky stanovený metódou kalibračnej priamky (krivky). Koncentračná hodnota detekčného limitu bola spočítaná z odhadu smerodajnej odchýlky a sklonu kalibračnej krivky podľa vzorca 1 ($LOD = 3,29\sigma/k$). V prípade, že pri nulovej koncentrácii analytu, teda slepom pokuse, vychádzala nenulová intenzita, bol pre tento analyt stanovený detekčný limit aj metódou slepého pokusu. V tomto prípade, bol za rovnakých podmienok (napätí a prúdu), zmeraný slepý pokus (destilovaná voda) a to 10 krát.

5.1 Fosfor

Jednotlivé roztoky fosforu boli merané za týchto podmienok: napätie: **10kV**, prúd: **25 μ A** a jednotlivé intenzity sú zaznamenané v tabuľke 4. Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 3 a výsledná hodnota limitu je **0,146 g/l**.

Tab. 4 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie fosforu.

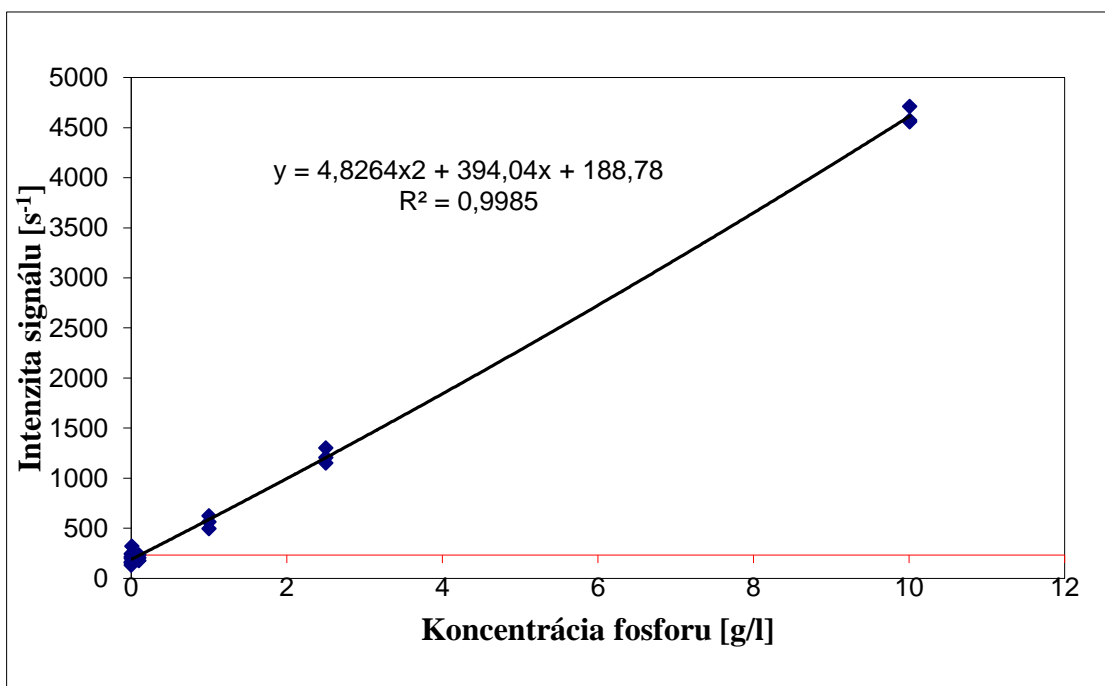
roztok č.	Koncentrácia P [g/l]	I1	I2	I3
1	10,0097	4713	4575	4560
2	2,5024	1152	1204	1302
3	1,0010	494	563	624
4	0,1001	176	234	206
5	0,0100	244	151	321
6	0,0010	164	155	244
slepý p.	0	213	199	132

Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 3 a výsledná hodnota limitu je **0,1461 g/l**. Pre tento prvok boli podľa vypočítaného limitu pripravené koncentrácie: 2LOD ktorej výsledok bol kladný, LOD s negatívnou odpoveďou a koncentrácia 1/2LOD s taktiež negatívnym výsledkom.

Tabuľka 5 zaznamenáva namerané intenzity signálov slepých vzoriek, teda destilovanej vody, z ktorých bola vypočítaná hodnota smerodajnej odchýlky. Hodnota LOD bola vypočítaná podľa vzorca 13 ($LOD \cong \bar{x} + 3\sigma$), a jeho hodnota je **370 [s⁻¹]**. Po prepočítaní tejto hodnoty cez rovnicu kalibračnej krivky dostávame hodnotu LOD v koncentrácii **0,459 g/l**, čo by malo zodpovedať intenzite limitu detekcie.

Tab. 5 Intenzity signálov fosforu, stanovených slepým pokusom.

č. m.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	smerodajná odchýlka
P [s ⁻¹]	189	311	232	117	242	239	213	175	242	188	51,8



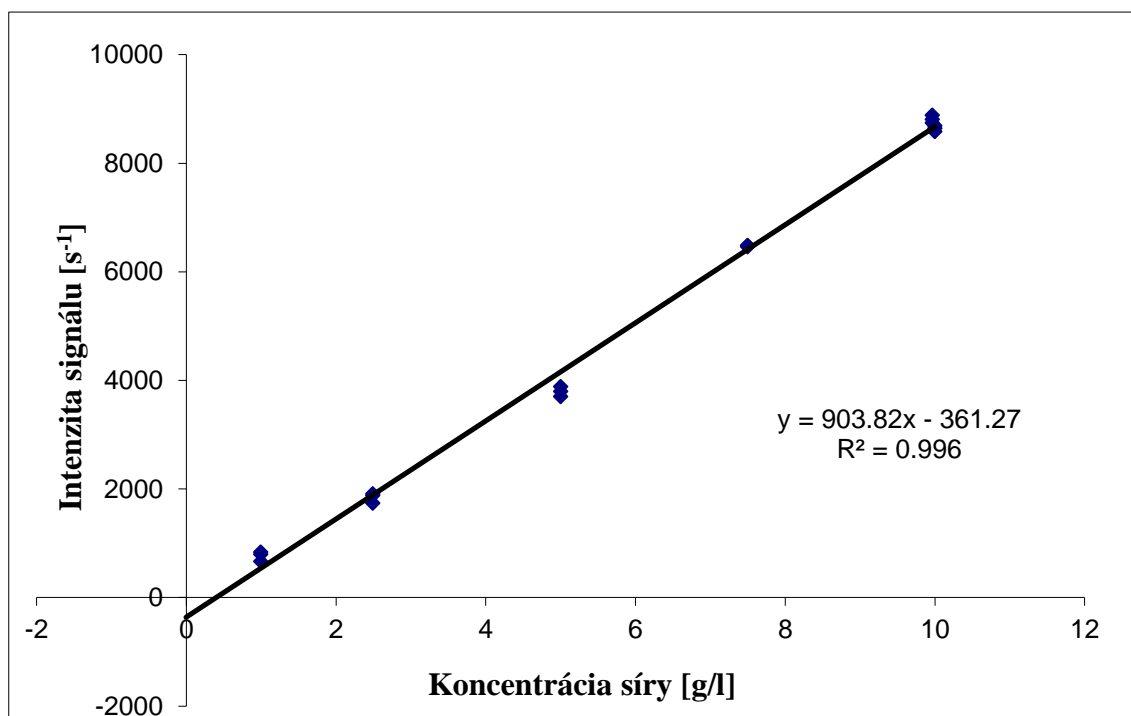
Obr. 3 Kalibračná krivka, závislosť intenzity na koncentrácii fosforu.

5.2 Síra

Jednotlivé roztoky síry boli merané za týchto podmienok: napätie: **10kV**, prúd: **16μA** a jednotlivé intenzity sú zaznamenané v tabuľke 6. Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 4 a výsledná hodnota limitu je **0,360 g/l**.

Tab. 6 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie síry.

roztok č.	Koncentrácia S [g/l]	I1	I2	I3
1	9,9677	8886	8744	8811
2	10,0004	8690	8645	8586
3	7,5003	6484	6462	6478
4	5,0002	3883	3798	3703
5	2,4919	1740	1878	1911
6	0,9968	836	666	793



Obr. 4 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii síry.

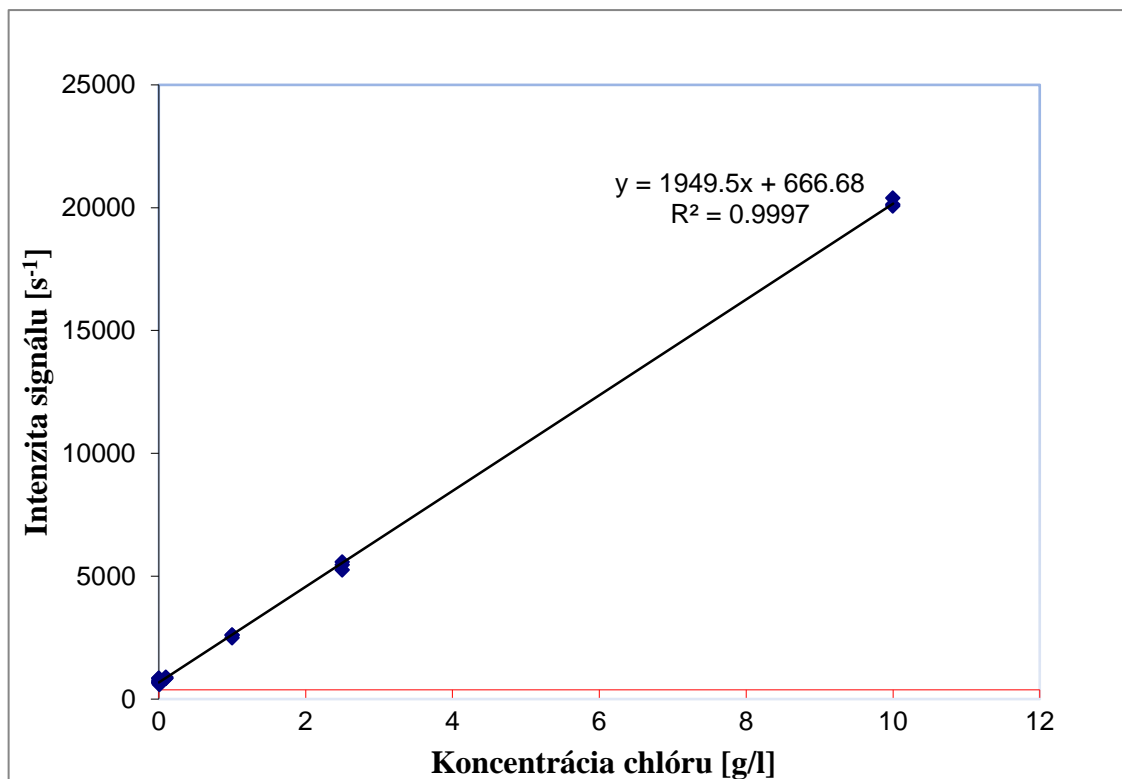
Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 4 a výsledná hodnota limitu je **0,3601 g/l**. Pre tento prvok bola podľa vypočítaného limitu pripravená koncentrácia: 2LOD ktorej výsledok bol kladný, koncentrácia LOD s pozitívnou odpoveďou a koncentrácia 1/2LOD s negatívnym výsledkom.

5.3 Chlór

Jednotlivé roztoky chlóru boli merané za týchto podmienok: napätie: **10kV**, prúd: **16 μ A** a jednotlivé intenzity sú zaznamenané v tabuľke 7. Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 5 a výsledná hodnota limitu je **0,049 g/l**.

Tab. 7 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie chlóru.

roztok č.	Koncentrácia Cl [g/l]	I1	I2	I3
1	10,0020	20137	20062	20397
2	2,5005	5254	5459	5575
3	1,0002	2493	2596	2601
4	0,1000	854	831	882
5	0,0100	588	738	708
6	0,0010	848	641	758
slepý p.	0	687	676	834



Obr. 5 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii chlóru.

Tabuľka 8 zaznamenáva namerané intenzity signálov slepých vzoriek, teda destilovanej vody, z ktorých bola vypočítaná hodnota smerodajnej odchýlky. Hodnota LOD bola vypočítaná podľa vzorca 13 ($LOD \cong \bar{x} + 3\sigma$), a jeho hodnota je **612** [s⁻¹]. Po prepočítaní tejto hodnoty cez rovnicu kalibračnej krivky dostávame hodnotu LOD v koncentrácii **0,028** g/l, čo by malo zodpovedať intenzite limitu detekcie.

Tab. 8 Intenzity signálov chlóru, stanovených slepým pokusom.

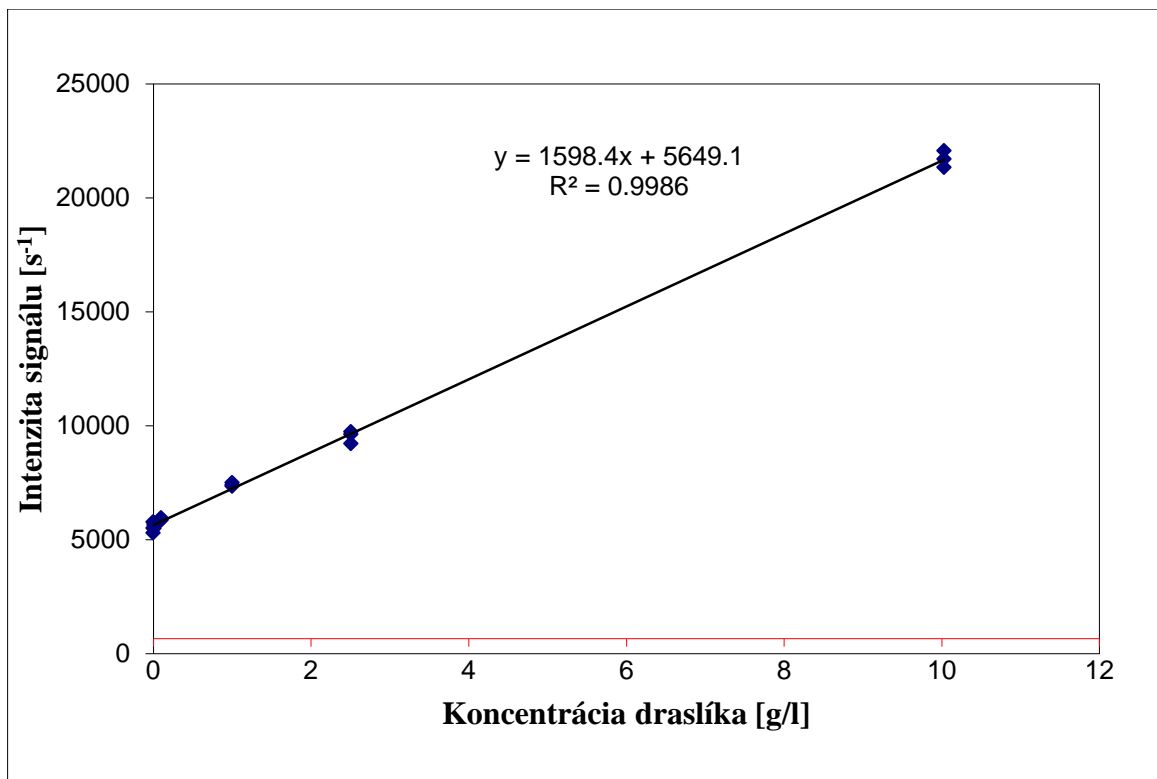
č. m.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	smerodajná odchýlka
Cl	451	354	510	431	389	451	536	432	464	487	53,9

5.4 Draslík

Jednotlivé roztoky draslíka boli merané za týchto podmienok: napätie: **10kV**, prúd: **16μA** a jednotlivé intenzity sú zaznamenané v tabuľke 9. Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 6 a výsledná hodnota limitu je **0,128** g/l.

Tab. 9 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie draslíka.

roztok č.	Koncentrácia K [g/l]	I1	I2	I3
1	10,0314	21698	22063	21332
2	2,5079	9622	9740	9215
3	1,0031	7407	7511	7358
4	0,1003	5874	5968	5868
5	0,0100	5500	5647	5754
slepý p.	0	5514	5301	5778



Obr. 6 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii draslíka.

Tabuľka 10 zaznamenáva namerané intenzity signálov slepých vzoriek, teda destilovanej vody, z ktorých bola vypočítaná hodnota smerodajnej odchýlky. Hodnota LOD bola vypočítaná podľa vzorca 13 ($LOD \cong \bar{x} + 3\sigma$), a jeho hodnota je **6137** [s^{-1}]. Po prepočítaní tejto hodnoty cez rovnicu kalibračnej krivky dostávame hodnotu LOD v koncentrácii **0,305** g/l, čo by malo zodpovedať intenzite limitu detekcie.

Tab. 10 Intenzity signálov draslíka, stanovených slepím pokusom.

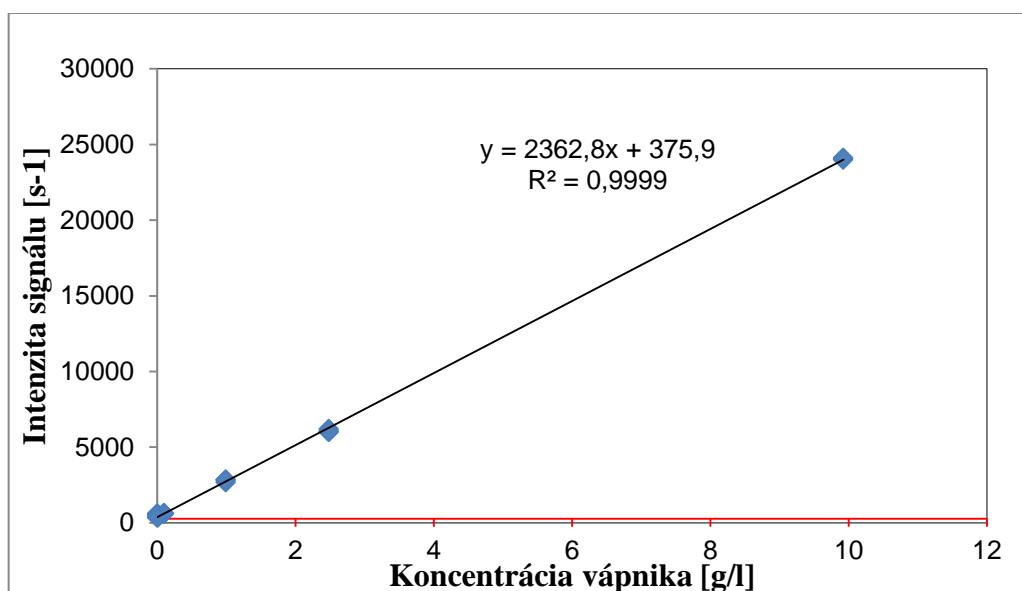
č. m.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	smerodajná odchýlka
K	5879	5770	5851	5839	5727	5880	5895	5868	5822	5748	59,6

5.5 Vápnik

Jednotlivé roztoky vápnika boli merané za týchto podmienok: napätie: **10kV**, prúd: **16 μ A** a jednotlivé intenzity sú zaznamenané v tabuľke 11. Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 6 a výsledná hodnota limitu je **0,043 g/l**.

Tab. 11 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie vápnika.

roztok č.	Koncentrácia Ca [g/l]	I1	I2	I3
1	9,9244	24073	23989	24104
2	2,4811	5986	6172	6038
3	0,9924	2675	2837	2811
4	0,0992	564	617	611
5	0,0099	508	344	397
6	0,0010	523	385	368
slepý p.	0	452	587	335



Obr. 7 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii vápnika.

Tabuľka 12 zaznamenáva namerané intenzity signálov slepých vzoriek, teda destilovanej vody, z ktorých bola vypočítaná hodnota smerodajnej odchýlky. Hodnota LOD bola

vypočítaná podľa vzorca 13 ($LOD \cong \bar{x} + 3\sigma$), a jeho hodnota je **617** [s^{-1}]. Po prepočítaní tejto hodnoty cez rovnicu kalibračnej krivky dostávame hodnotu LOD v koncentrácii **0,4594** [g/l]. Po prepočítaní tejto hodnoty cez rovnicu kalibračnej krivky dostávame hodnotu LOD v koncentrácii **0,102** g/l, čo by malo zodpovedať intenzite limitu detekcie.

Tab. 12 Intenzity signálov vápnika stanovených slepím pokusom.

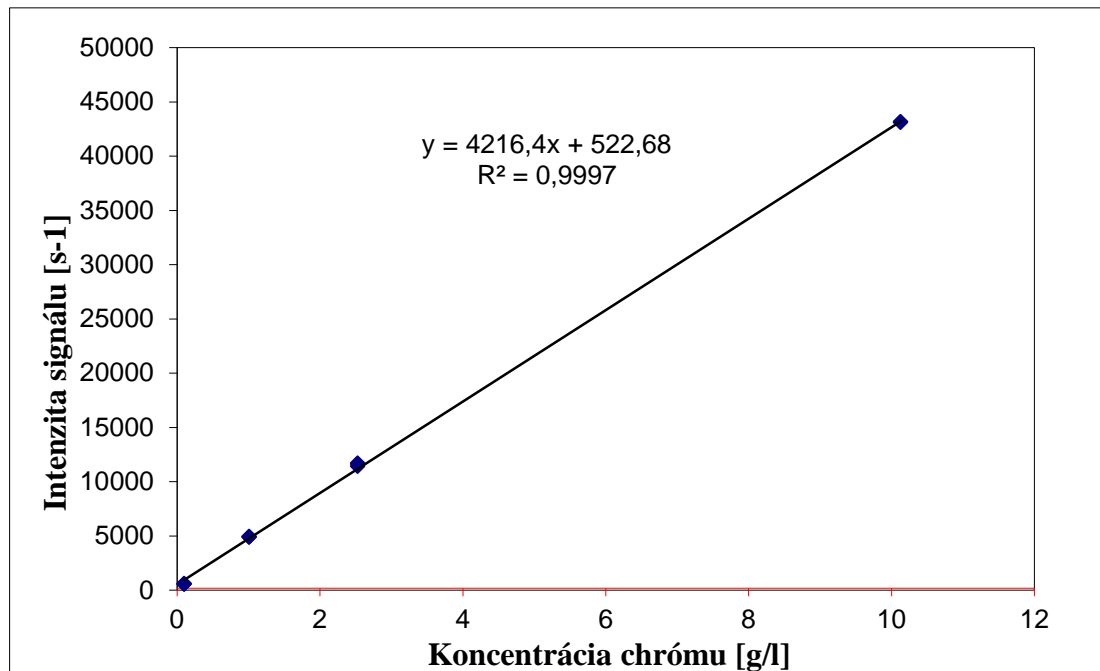
č. m.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	smerodajná odchýlka
Ca	506	407	410	407	424	452	437	442	497	404	37,1

5.6 Chróm

Jednotlivé roztoky chrómu boli merané za podmienok: napätie: **10kV**, prúd: **14 μ A** a jednotlivé intenzity sú zaznamenané v tabuľke 13. Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 6 a výsledná hodnota limitu je **0,093** g/l.

Tab. 13 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie chrómu.

roztok č.	koncentrácia Cr [g/l]	I1	I2	I3
1	10,1291	43130	43137	43128
2	2,5323	11598	11695	11408
3	1,0129	4893	4950	4894
4	0,1013	536	555	600



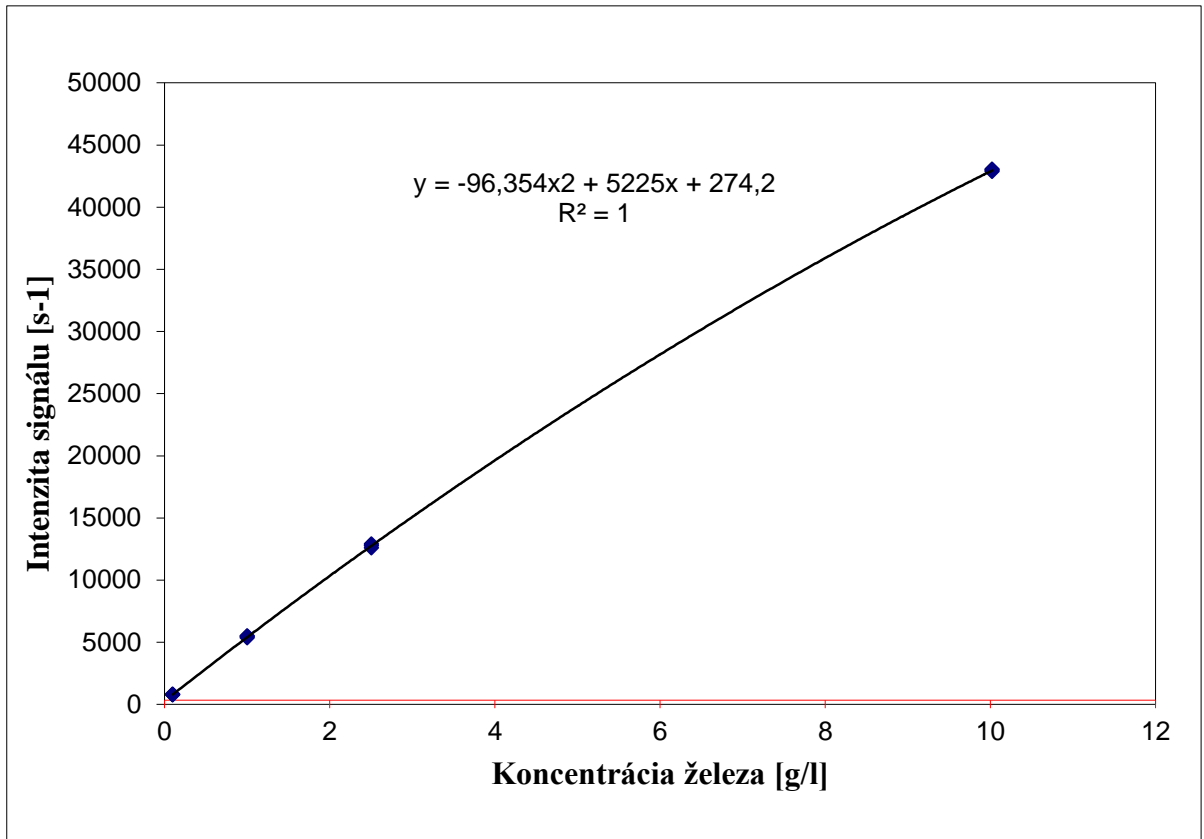
Obr. 8 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii chrómu.

5.7 Železo

Jednotlivé roztoky železa boli merané za týchto podmienok: napätie: **10kV**, prúd: **14 μ A** a jednotlivé intenzity sú zaznamenané v tabuľke 14. Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 9 a výsledná hodnota limitu je **0,169 g/l**.

Tab. 14 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie železa.

roztok č.	koncentrácia Fe [g/l]	I1	I2	I3
1	10,0214	42863	43045	42971
2	2,5054	12586	12895	12756
3	1,0021	5516	5465	5354
4	0,1002	758	808	771



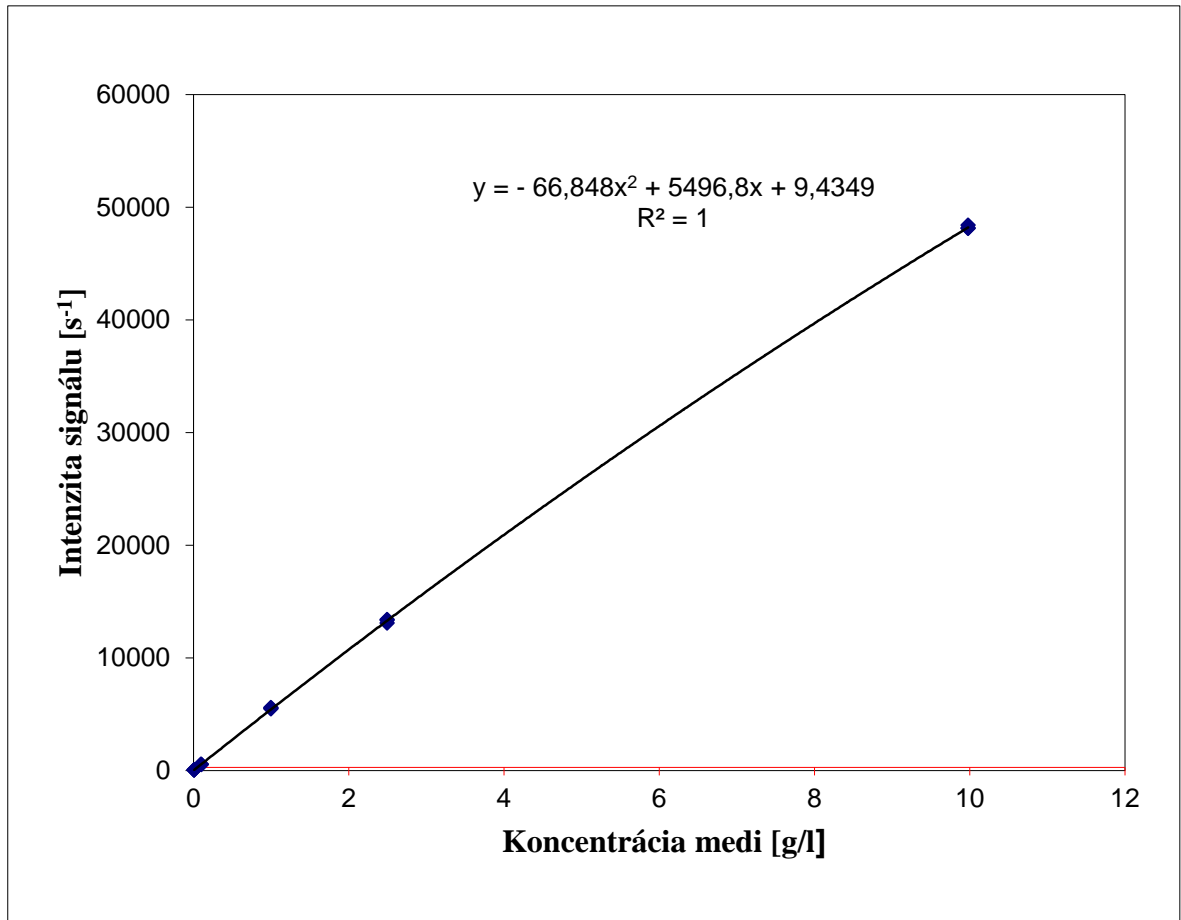
Obr. 9 Kalibračná krivka, závislosť intenzity na koncentrácii železa.

5.8 Med'

Jednotlivé roztoky medi boli merané za týchto podmienok: napätie: **45kV**, prúd: **3 μ A** a jednotlivé intenzity sú zaznamenané v tabuľke 15. Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 10 a výsledná hodnota limitu je **0,101 g/l**.

Tab. 15 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie medi.

roztok č.	koncentrácia Cu [g/l]	I1	I2	I3
1	9,9813	48390	48145	48116
2	2,4953	13344	13076	13382
3	0,9981	5455	5535	5570
4	0,0998	523	556	534
5	0,0100	31	41	30



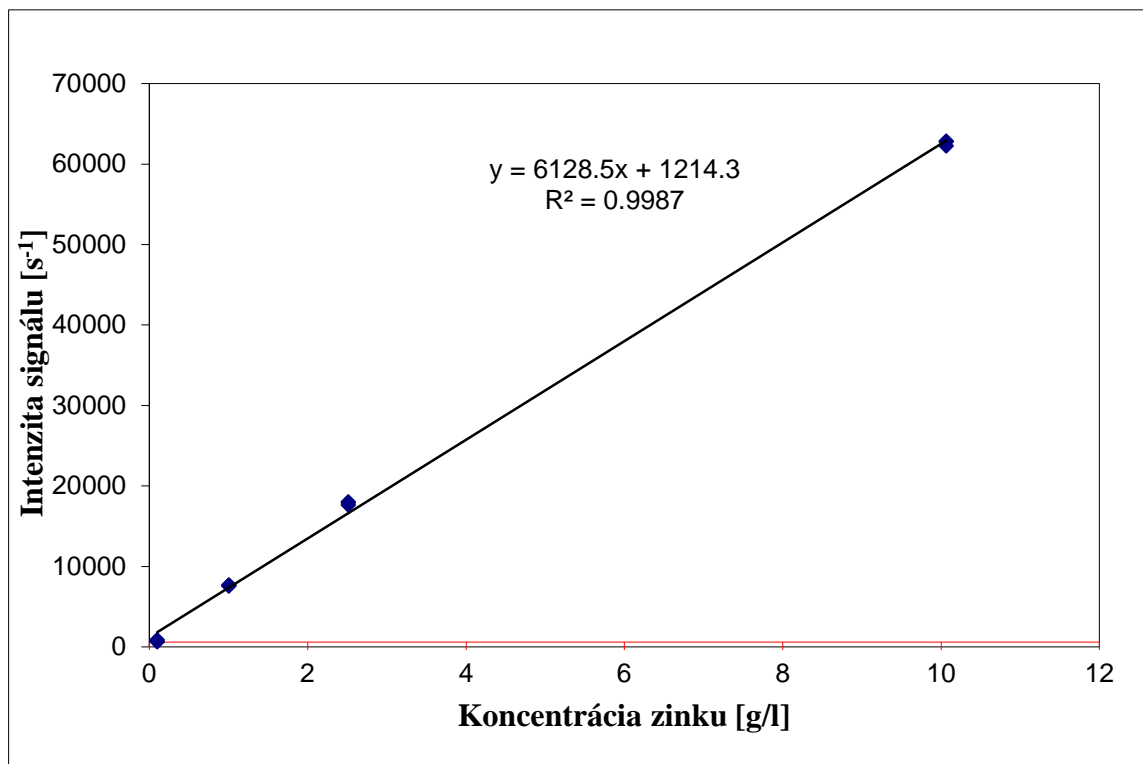
Obr. 10 Kalibračná krivka, závislosť intenzity na koncentrácii medi.

5.9 Zinok

Jednotlivé roztoky zinku boli merané za týchto podmienok: napätie: **15kV**, prúd: **4 μ A** a jednotlivé intenzity sú zaznamenané v tabuľke 16. Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 11 a výsledná hodnota limitu je **0,193 g/l**.

Tab. 16 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie zinku.

roztok č.	koncentrácia Zn [g/l]	I1	I2	I3
1	10,0673	62816	62229	62758
2	2,5168	18009	17886	17591
3	1,0067	7545	7652	7673
4	0,1007	643	628	865



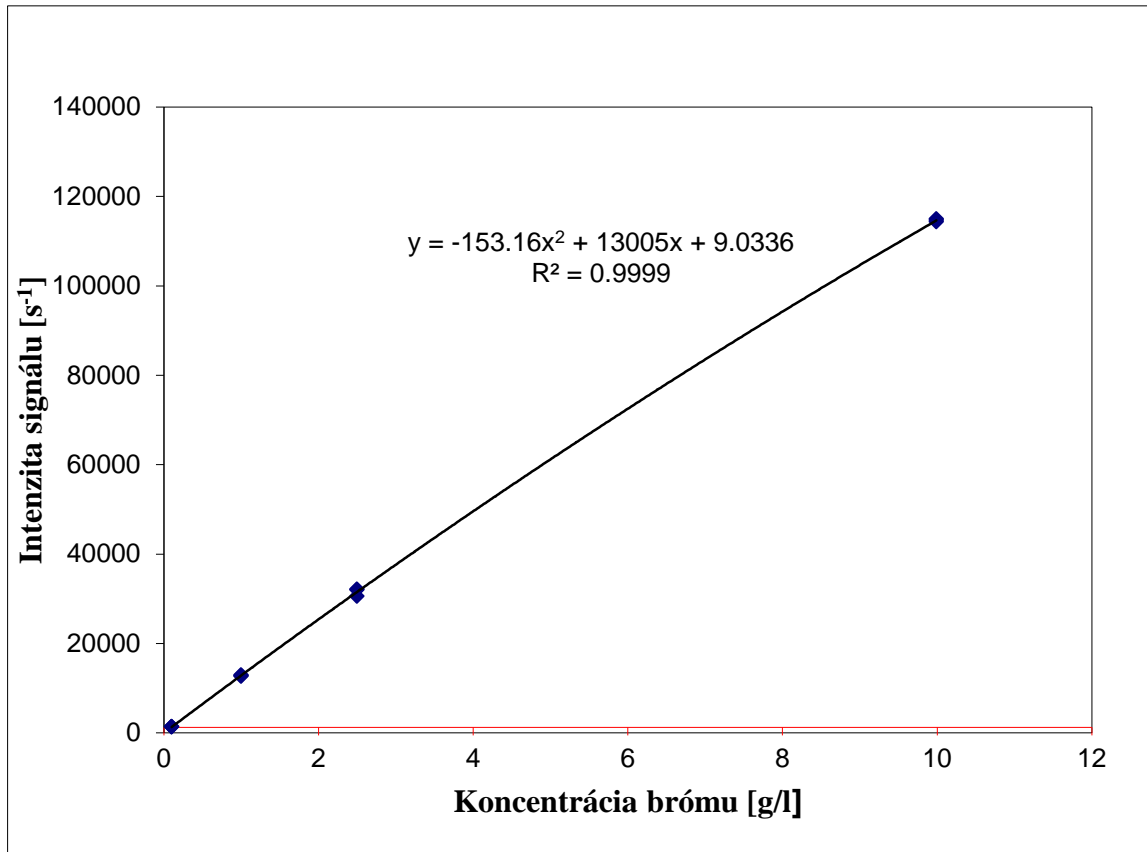
Obr. 11 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii zinku.

5.10 Bróm

Jednotlivé roztoky brómu boli merané za týchto podmienok: napätie: **45kV**, prúd: **2μA** a jednotlivé intenzity sú zaznamenané v tabuľke 17. Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 12 a výsledná hodnota limitu je **0,122 g/l**.

Tab. 17 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie brómu.

roztok č.	koncentrácia Br [g/l]	I1	I2	I3
1	9,9913	114298	114699	114966
2	2,4978	32157	30560	32006
3	0,9991	12634	12765	12905
4	0,0999	1363	1326	1371



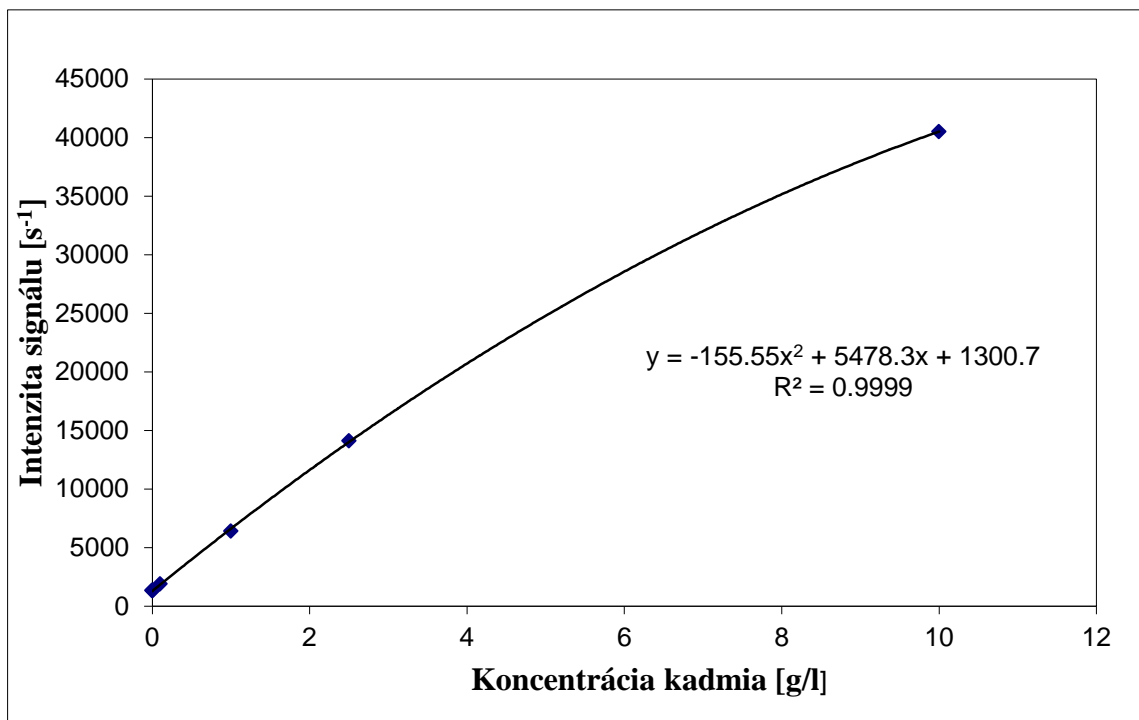
Obr. 12 Kalibračná krivka, závislosť intenzity na koncentrácii brómu.

5.11 Kadmium

Jednotlivé roztoky kadmia boli merané za týchto podmienok: napätie: **45kV**, prúd: **4 μ A** a jednotlivé intenzity sú zaznamenané v tabuľke 18. Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 13 a výsledná hodnota limitu je **0,198 g/l**.

Tab. 18 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie kadmia.

roztok č.	koncentrácia Cd [g/l]	I1	I2	I3
1	10,1409	42486	40864	38223
2	2,535225	14377	14146	13860
3	1,01409	6351	6816	6035
4	0,101409	1923	1842	1975
5	0,010141	1374	1353	1317
6	0,001014	1248	1482	1230
slepý p.	0	1373	1344	1338



Obr. 13 Kalibračná krivka, závislosť intenzity na koncentrácii kadmia.

Tabuľka 19 zaznamenáva namerané intenzity signálov slepých vzoriek, teda destilovanej vody, z ktorých bola vypočítaná hodnota smerodajnej odchýlky. Hodnota LOD bola vypočítaná podľa vzorca 13 ($LOD \cong \bar{x} + 3\sigma$), a jeho hodnota je **1599** [s⁻¹]. Po prepočítaní tejto hodnoty cez rovnicu kalibračnej krivky dostávame hodnotu LOD v koncentrácii **0,055** g/l, čo by malo zodpovedať intenzite limitu detekcie.

Tab. 19 Intenzity signálov stanovených slepím pokusom.

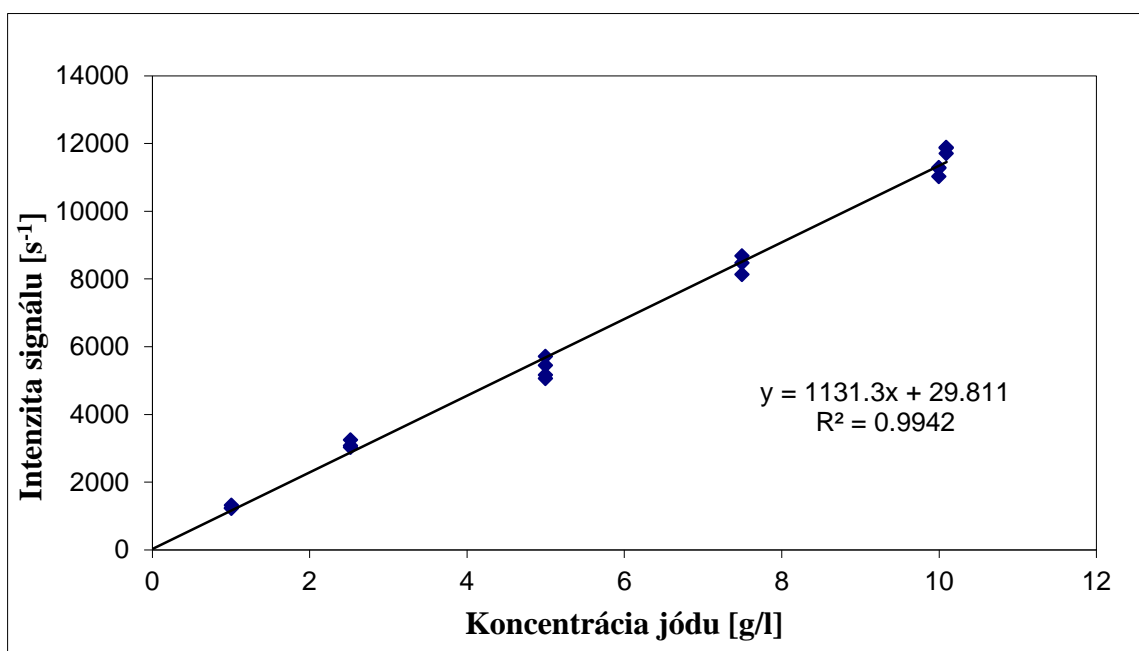
č. m.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	smerodajná odchýlka
Cd	1363	1141	1275	1006	1154	1380	1358	1174	1149	1296	123,2

5.12 Jód

Jednotlivé roztoky jódu boli merané za týchto podmienok: napätie: **45kV**, prúd: **4μA** a jednotlivé intenzity sú zaznamenané v tabuľke 20. Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 14 a výsledná hodnota limitu je **0,427** g/l.

Tab. 20 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie jódu.

roztok č.	koncentrácia I [g/l]	I1	I2	I3
1	10,0950	11885	11861	11706
2	9,9987	11290	11025	11265
3	7,499025	8473	8134	8677
4	4,99935	5166	5445	5711
5	2,5238	3243	3030	3074
6	1,0095	1231	1232	1316



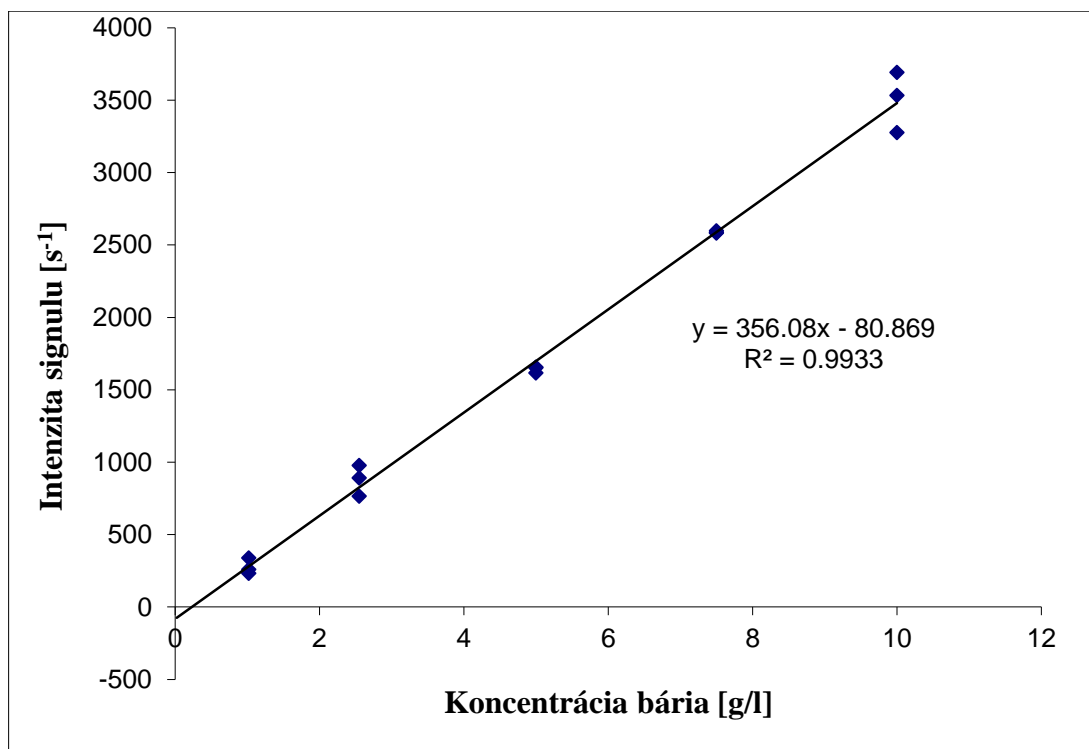
Obr. 14 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii jódu.

5.13 Bárium

Jednotlivé roztoky bária boli merané za týchto podmienok: napätie: **45kV**, prúd: **5 μ A** a jednotlivé intenzity sú zaznamenané v tabuľke 21. Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 15 a výsledná hodnota limitu je **0,391 g/l**.

Tab. 21 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie bária.

roztok č.	koncentrácie Ba [g/l]	I1	I2	I3
1	10,0011	3692	3276	3531
2	7,500825	2581	2596	2586
3	5,00055	1616	1656	1652
4	2,5003	764	976	890
5	1,0001	337	231	258



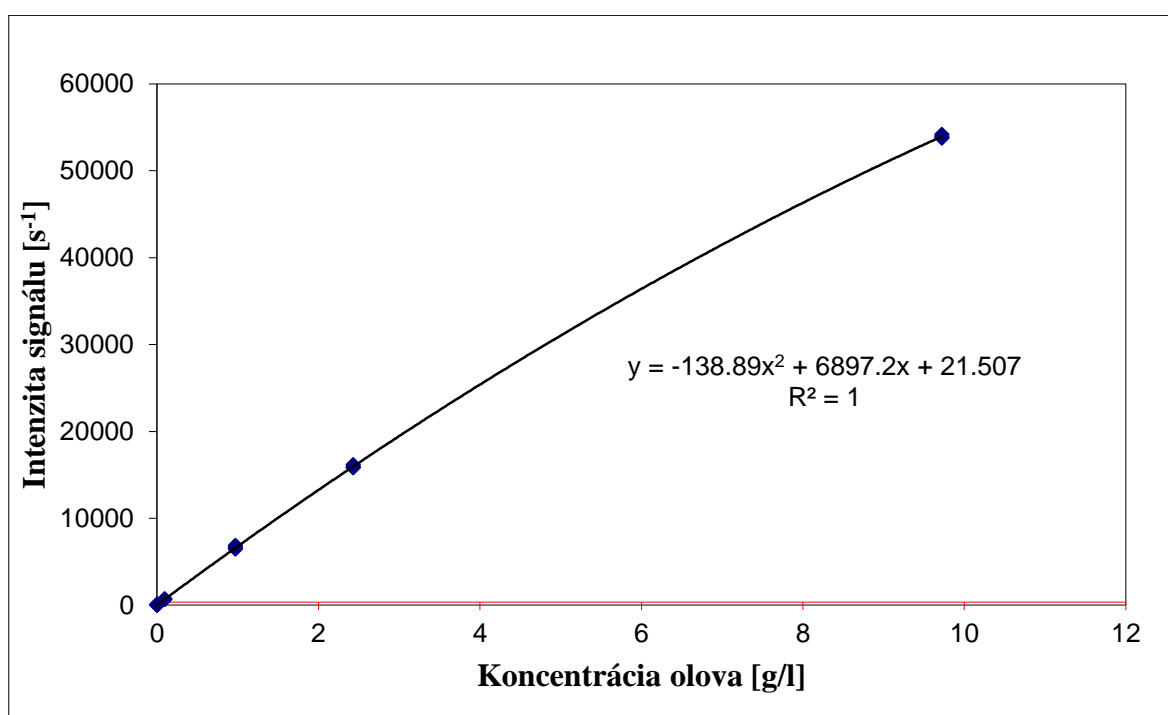
Obr. 15 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii bária.

5.14 Olovo

Jednotlivé roztoky olova boli merané za týchto podmienok: napätie: **45kV**, prúd: **2 μ A** a jednotlivé intenzity sú zaznamenané v tabuľke 22. Sklon kalibračnej krivky bol odčítaný z grafu 16 a výsledná hodnota limitu je **0,112 g/l**.

Tab. 22 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie olova.

roztok č.	koncentrácia Pb [g/l]	I1	I2	I3
1	9,7222	53744	54164	53942
2	2,4306	15809	16143	15888
3	0,9722	6631	6845	6434
4	0,0972	653	688	660
5	0,0097	74	80	45
6	0,0010	43	45	45
slepý p.	0	39	45	-



Obr. 16 Kalibračná krivka, závislosť intenzity na koncentrácii olova.

Tabuľka 23 zaznamenáva namerané intenzity signálov slepých vzoriek, teda destilovanej vody, z ktorých bola vypočítaná hodnota smerodajnej odchýlky. Hodnota LOD bola vypočítaná podľa vzorca 13 ($LOD \cong \bar{x} + 3\sigma$), a jeho hodnota je **51** [s⁻¹]. Po prepočítaní tejto hodnoty cez rovnicu kalibračnej krivky dostávame hodnotu LOD v koncentrácii **0,004** g/l, čo by malo zodpovedať intenzite limitu detekcie.

Tab. 23 Intenzity signálov olova stanovených slepým pokusom.

č. m.	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	smerodajná odchýlka
Pb	40	41	41	48	42	43	37	37	43	43	3,2

5.15 Diskusia k výsledkom

V experimentálnej časti tejto bakalárskej práce sa čiastočne preukázalo, že u tohto typu spektrometru sa so zvyšujúcim protónovým číslom, rádovo zvyšuje aj odhad smerodajnej odchýlky nameraných intenzít. Čo sa týka podmienok, za ktorých boli jednotlivé vzorky merané (napätie a prúd privádzané do röntgenky), pre každý analyt boli stanovené zvlášť. Dôvodom je minimalizácia šumu pozadia - spravidla platí, že čím je protónové číslo prvku vyššie, tým je napätie vyššie a prúd nižší. Z nameraných a vypočítaných údajov je možné vypožorovať niekoľko málo súvislostí.

Najnižšie detekčné limity vypočítané kalibračnou priamkou boli u prvkov ľahších a to chlóru, vápniku a chrómu. U prvých dvoch limitná koncentrácia nepresiahla hodnotu 0,05 gramov analytu na liter roztoku, u tretieho limit nepresiahol hodnotu 0,01 g/l. Komplexná tabuľka s vypočítanými detekčnými limitmi všetkých meraných prvkov je uvedená v prílohe na konci práce.

Najvyššie detekčné limity stanovené pomocou metódy kalibračnej priamky, boli nájdené u prvkov s podstatne vyšším protónovým číslom, ^{53}I a ^{56}Ba majú svoje detekčné limity pre röntgenflorescenčný spektrometer pri koncentráciách okolo 0,4 gramu na liter roztoku. Pomerne vysoký detekčný limit bol vypočítaný aj pre síru (0,36 g/l).

Stanovenie detekčného limitu pomocou metódy slepého pokusu prebehlo len u šiestich prvkov a to fosforu, chlóru, draslíku, vápniku a kadmia. Pri meraní slepých pokusov týchto prvkov, prístroj vyhodnotil prítomnosť prvku s nenulovou a teda falošnou intenzitou. Najnižšia intenzita 50 s^{-1} a aj koncentrácia (0,004 g/l) detekčného limitu bola stanovená u prvku s najvyšším protónovým číslom z našej skupiny prvkov a síce u olova ^{82}Hg . Najvyššia hodnota LOD bola vypočítaná pre fosfor (0,459) g/l.

ZÁVER

V experimentálnej časti tejto bakalárskej práce som sa pokúsil stanoviť detekčné limity energeticky disperzného, röntgenflorescenčného spektrometru pre 14 prvkov vo vzorke s vodnou matricou. Praktické overenie dvoch vypočítaných limitov detekcie (fosforu a síry) potvrdzuje, že táto koncentrácia je hranicou medzi „nájdením“ a „nenájdením“ detegovaného prvku. U fosforu bol pri limitnej koncentrácii výsledok merania negatívny, u síry zas pozitívny. Limit detekcie je iracionálne číslo, ktorého presnú hodnotu nikdy nestanovíme. Dôvodom je nepresnosť prípravy vzorku a chyba merania. Avšak v praktických situáciách si vystačíme aj s približnou hodnotou. Výrobcovia tohto konkrétneho prístroja udávajú detekčné limity bez definovaných podmienok merania a druhu matrice vzorku.

Uvedené výpočty a výsledky merania môžu ďalej poslúžiť pri meraní reálnych vzoriek s vodnou matricou.

ZOZNAM POUŽITÉJ LITERATURY

- [1] Fukátko T., *Detekce a měření různých druhů záření BEN* – technická literatura Praha 2007
- [2] NAVRÁTIL, Leoš. *Medicínská biofyzika*. Vyd. 1. Praha: Grada, 2005, 524 s. ISBN 80-247-1152-4.
- [3] *Rentgenová spektrometrie: sborník přednášek z kurzu*. 2. upr. a dopl. vyd. Český Těšín: 2 THETA, 2005, 285 s., ISBN 8086380173.
- [4] SLÁNSKÝ, Ervín, Zdeněk JOHAN a Robert ROTTER. *Analýza látek rentgenovými paprsky*. 1. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1970, 257 s.
- [5] ČERNOHORSKÝ, Tomáš a Pavel JANDERA, UNIVERZITA PARDUBICE FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ. *Atomová spektroskopie*. Pardubice, 1997.
- [6] Laboratoř nedestruktivní analýzy. *Laboratoř nedestruktivní analýzy* [online]. 2008 [cit. 2014-04-03]. Dostupné z: <http://barrande.nm.cz/index.php?p=7>
- [7] E. P. BETIN, *Principles and Practice of X-Ray Spectrometric Analysis*, Plenum Press, New York, (1970).
- [8] HARRIS, Daniel C. *Quantitative chemical analysis*. 6th ed. New York: W.H. Freeman and Co., 2003, 1 v. (various pagings). ISBN 07-167-4464-3.
- [9] SHRIVASTAVA A, GUPTA VB. Methods for the determination of limit of detection and limit of quantitation of the analytical methods. *Chron Young Sci*. [online]. 2011 [cit. 2014-02-28]. Dostupné z: <http://www.cysonline.org/article.asp?issn=2229-5186;year=2011;volume=2;issue=1;spage=21;epage=25;aulast=Shrivastava>
- [10] ARMBRUSTER, David a Terry PRY. Limit of Blank, Limit of Detection and Limit of Quantitation. *Clin Biochem Rev* [online]. 2008, č. 29, s. 49-52 [cit. 2014-03-03]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2556583/>
- [11] THOMSEN, Volker, Debbie SCHATZLEIN a David MERCURO. Limits of Detecton in Spectroscopy. [online]. 2003, s. 112-114 [cit. 2014-04-03]. Dostupné z: <http://www.spectroscopyonline.com/spectroscopy/data/articlecolumn//spectroscopy/512003/79733/article.pdf>

- [12] ROUSSEAU, R. M.: Detection Limit and Estimate of Uncertainty of Analytical XRF Results. The Rigaku Journal[online]. 2001, roč. 18, č. 2 [cit. 2014-03-9]. Dostupné z:<http://www.rigaku.com/downloads/journal/Vol18.2.2001/Rousseau.pdf>
- [13] R. JENKINS and J. V. GILFRICH, X-Ray Spectrometry, 21, 263, (1992).
- [14] ICH Q2B (1996) *Validation of Analytical Procedure: Methodology*, International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. [online]. 1996, s. 10 [cit. 2014-02-28]. Dostupné z: <http://www.fda.gov/downloads/RegulatoryInformation/Guidances/UCM128049.pdf>
- [15] HOLZBECHER,Z., CHURÁČEK,J. a kol.: Analytická chemie, SNTL Praha 1987.
- [16] SANAGI, M. Marsin, Susie L. LING, Zalilah NASIR, Wan Aini WAN IBRAHIM a ABU NAIM. *Comparison of Signal-to-noise, Blank Determination, and Linear Regression Methods for the Estimation of Detection and Quantification Limits for Volatile Organic Compounds by Gas Chromatography*. [online]. 2008, s. 9 [cit. 2014-02-28]. Dostupné z: http://eprints.utm.my/5670/2/MarsinSanagi20080604_Comparison_of_SNR_Blank_Regression.pdf
- [17] Elvatech: *Operační manuál k software EDXRF spektrometru Elva X*, RMI, s.r.o., Lázně Bohdaneč

ZOZNAM POUŽITÝCH SYMBOLOV A SKRATIEK

XRF	Röntgenfluorescenčná (X-ray fluorescence)
LOD	Limit detekcie (limit of detection).
LOQ	Limit kvantifikácie / determinácie (limit of quantification).
LLOQ	Najnižší limit kvantifikácie
LOB	Limit slepého pokusu (limit of blank).
LLD	Spodný limit detekcie (lowest limit of detection).
ILD	Prístrojový limit detekcie (instrumental limit of detection)
S/N	Metóda stanovenia limitu pomerom signálu a šumu (signal to noise ratio)
ICH	International Conference on Harmonisation
AOAC	Association of Analytical Communities
USP	United States Pharmacopoeia
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
US FDA	Foods and Drugs Administration
σ	smerodajná odchýlka

ZOZNAM OBRÁZKOV A GRAFOV

Obr. 3 Vzťahy medzi LOB, LOD a LOQ.

Obr. 4 Metóda signál k šumu, príklad 10:1 (hore) a 3:1 (dole)

Obr. 3 Kalibračná krivka, závislosť intenzity na koncentrácii fosforu.

Obr. 4 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii síry.

Obr. 5 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii chlóru.

Obr. 6 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii draslíka.

Obr. 7 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii vápnika.

Obr. 8 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii chrómu.

Obr. 9 Kalibračná krivka, závislosť intenzity na koncentrácii železa.

Obr. 10 Kalibračná krivka, závislosť intenzity na koncentrácii medi.

Obr. 11 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii zinku.

Obr. 12 Kalibračná krivka, závislosť intenzity na koncentrácii brómu.

Obr. 13 Kalibračná krivka, závislosť intenzity na koncentrácii kadmia.

Obr. 14 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii jódu.

Obr. 15 Kalibračná priamka, závislosť intenzity na koncentrácii bária.

Obr. 16 Kalibračná krivka, závislosť intenzity na koncentrácii olova.

ZOZNAM TABULIEK

Tab. 24 Porovnanie charakteristík LOD podľa svetových chemických organizácií.

Tab. 25 Porovnanie charakteristík LOQ podľa svetových chemických organizácií.

Tab. 26 Limity detekcie a kvantifikácie

Tab. 27 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie fosforu.

Tab. 28 Intenzity signálov fosforu, stanovených slepým pokusom.

Tab. 29 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie síry.

Tab. 30 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie chlóru.

Tab. 31 Intenzity signálov chlóru, stanovených slepím pokusom.

Tab. 32 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie draslíka.

Tab. 33 Intenzity signálov draslíka, stanovených slepím pokusom.

Tab. 34 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie vápnika.

Tab. 35 Intenzity signálov vápnika stanovených slepím pokusom.

Tab. 36 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie chrómu.

Tab. 37 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie železa.

Tab. 38 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie medi.

Tab. 39 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie zinku.

Tab. 40 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie brómu.

Tab. 41 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie kadmia.

Tab. 42 Intenzity signálov stanovených slepím pokusom.

Tab. 43 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie jódu.

Tab. 44 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie bária.

Tab. 45 Namerané intenzity pre jednotlivé koncentrácie olova.

Tab. 46 Intenzity signálov olova stanovených slepím pokusom.

ZOZNAM PRÍLOH

P I Tabuľka navážok zlúčenín, koncentrácií skúmaných prvkov a ich detekčných limitov vypočítaných z kalibračnej priamky

**PRÍLOHA P I: TABUĽKA NAVÁŽOK ZLÚČENÍN, KONCENTRÁCIÍ SKÚMANÝCH PRVKOV A ICH
DETEKČNÝCH LIMITOV VYPOČÍTANÝCH Z KALIBRAČNEJ PRIAMKY**

	Skúmaný prvok	Vybraná zlúčenina pre skúmaný prvok	Molárna hmotnosť vybranej zlúčeniny	Molárna hmotnosť skúmaného prvku	Jeden gram skúmaného prvku vo vybranej zlúčenine	Skutočná navážka	Skutočná koncentrácia roztoku č.1	Reálne konc. pre medz detekcie	Reálne koncentrácia pre medz detekcie
	značka	vzorec	M_{xy} [g/mol]	M_x [g/mol]	navážka [g]	[g]	[g/dm ³]	[g/dm ³]	[mmol/dm ³]
1.	¹⁵ P	NH ₄ H ₂ PO ₄	115,0563	30,973762	3,7146	3,7182	10,0096	0,146	4,718
2.	¹⁶ S	(NH ₄) ₂ SO ₄	132,1406	32,066	4,1209	4,1076	9,9677	0,360	8,725
3.	¹⁷ Cl	NH ₄ Cl	53,4912	35,4527	1,5088	1,5091	10,0020	0,049	1,387
4.	¹⁹ K	KNO ₃	101,10324	39,0983	2,5859	2,594	10,0314	0,128	3,283
5.	²⁰ Ca	Ca(NO ₃) ₂ *4H ₂ O	236,149	40,078	5,8922	5,8477	9,9244	0,043	1,069
6.	²⁴ Cr	Cr(NO ₃) ₂ *9H ₂ O	338,1435	51,9961	6,5032	6,5872	10,1291	0,093	1,789
7.	²⁶ Fe	Fe(NO ₃) ₃ *9H ₂ O	403,99734	55,847	7,2340	7,2495	10,0214	0,169	3,028
8.	²⁹ Cu	Cu(NO ₃) ₂ *3H ₂ O	241,6023	63,546	3,8020	3,7949	9,9813	0,101	1,582
9.	³⁰ Zn	Zn(NO ₃) ₂ *6H ₂ O	297,49156	65,39	4,5495	4,5801	10,0673	0,193	2,950
10.	³⁵ Br	NaBr	102,89377	79,904	1,2877	1,2866	9,9913	0,122	1,522
11.	⁴⁸ Cd	Cd(NO ₃) ₂ *4H ₂ O	308,482	112,411	2,7442	2,7829	10,1409	0,198	1,765
12.	⁵³ I	NaIO ₃	197,89244	126,90447	1,5594	1,5742	10,0950	0,423	1,093
13.	⁵⁶ Ba	Ba(NO ₃) ₂	261,33688	137,327	1,9030	1,9426	10,2080	0,391	1,984
14.	⁸² Pb	Pb(NO ₃) ₂	331,20988	207,2	1,5985	1,5541	9,7222	0,112	0,540