

OPONENTSKÝ POSUDEK

na dizertační práci Ing. Ivy URBANOVÉ

"Nové přístupy v oblasti stopové analýzy metodami atomové spektrometrie."

Předložená dizertační práce je sestavena jako tematicky ucelený soubor výsledků výzkumné práce doktorandky, která čítá celkem 133 stran textu včetně použité literatury a je doplněna 2 přílohami, které představují texty nejvýznamnějších publikovaných článků.

Doprovodný text je členěn klasicky do jednotlivých kapitol a po úvodních kapitolách, které nás uvádějí do problematiky interferencí v ICP-MS a možnostech jejich eliminací pomocí různých konstrukčních uspořádání přístrojového vybavení a uplatnění technologie kolizně-reakčních cel, se další kapitoly teoretické části zabývají specifiky matic složitých biologických vzorků na bázi potravinářských produktů a tělních tekutin a matrice kyseliny sírové vzhledem na stanovení vybraných prvků, případně jejich izotopů.

Praktická experimentální část je rozdělena do tří částí, z nichž první se zabývá použitými materiály a postupy přípravy pracovních a kalibračních roztoků. Druhá část se zabývá přípravou vzorků k analýze a poslední část se zabývá instrumentací použitou k analýzám a přístrojovou technikou pro pomocné operace.

Závěrečné kapitoly zahrnují postupně výsledky a diskuzi k jednotlivým praktickým analýzám prvků a jejich izotopů v různých maticích a jejich specifickým problémům týkajících se spektrálních interferencí a chemometrických charakteristik včetně časové náročnosti analýz, které jsou porovnány s publikovanými údaji podobných analýz. Konečné závěrečné shrnutí uvádí celkový přínos použitých postupů a metod a jejich možnosti pro praktické analýzy reálných vzorků se složitou maticí.

Práci uzavírá literární přehled čítající 240 literárních zdrojů a přílohy obsahující přehled autorčiných publikovaných prací souvisejících se studovanou tematikou.

Výsledky, které jsou shrnuty v předložené dizertační práci, přinášejí původní postupy a poznatky, které byly publikovány v renomovaných vědeckých periodikách s vysokým IF. Získané výsledky jsou v dizertační práci adekvátně hodnoceny, odpovídají současným poznatkům v oboru a tvoří hodnotný základ pro rozvoj vědeckého bádání v této oblasti do budoucna.

Práce je sepsána srozumitelně a po věcné, formální a jazykové stránce je zpracována poměrně pečlivě. Přesto mám k práci několik formálních připomínek a dotazů:

Formální připomínka se týká používání výrazu „hmota“, která se objevuje v různých variantách v celé práci. Jedná se o nepřesný a nevhodně převzatý výraz z angličtiny v kontrastu se správně použitou variantou – hmotnostní, hmotnostní spektrometrie.

Dále bych doporučoval pro definice přesnosti a správnosti používat primární zdroj, tedy příslušnou normu, nikoliv sekundární zdroje [214] a v tomto duchu tyto termíny používat v celé práci.

Chtěl bych se také na autorku obrátit s několika dotazy:

- Na str. 73 a dále uvádíte citlivost vyjádřenou jako intenzitu signálu za 1 vteřinu pro 1 ng.L^{-1} . Má takto vyjádřená citlivost praktický význam pro porovnání různých přístrojů pro stejnou metodu, tedy všeobecně ICP-MS? Jak je definovaná citlivost analytické metody?
- Jaký je váš názor na postupy s precipitací ve vztahu k velmi nízkým detekčním limitům metody TOF-ICP-MS a možné kontaminaci z použitých chemikálií?
- V různých tabulkách používáte různá vyjádření výsledků analýz, např. průměr $\pm 2SD$ – tab. 27 na str. 100 a průměr $\pm SD$ – tab. 30 na str. 111. Máte k těmto různým vyjádřením nějaké vysvětlení?
- Na str. 111 v tabulce 30 jsou uvedeny výsledky analýz kyseliny sírové různé čistoty. Korespondují navzájem tyto výsledky se zařazením do kategorií p.a. a čistý? A čím by se tyto nesrovnalosti daly vysvětlit?

Na základě předložené dizertační práce a přehledu vědeckých aktivit doložených články v renomovaných časopisech s vysokým IF lze konstatovat, že uchazečka splňuje požadavky dané Zákonem č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a její práce vyhovuje požadavkům kladeným na dizertační práci v oboru Analytická chemie na FCHT Univerzity Pardubice, kde prokázala své tvůrčí schopnosti. Proto na základě předložené disertační práce a po její úspěšné obhajobě navrhuji komisi

u d ě l i t

Ing. Ivě Urbanové vědecko-akademický titul „philosophiae doctor“ (PhD.).

Ve Zlíně 20. 8. 2014

Doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.

Ústav analýzy a chemie potravin

FT UTB ve Zlíně

O p o n e n t s k ý p o s u d e k

na disertační práci

Nové přístupy v oblasti stopové analýzy metodami atomové spektrometrie

Autor disertace:

Ing. Iva Urbanová

Oponent:

Doc. Ing. Olga Čelechovská, Ph.D.

Disertační práce je zaměřena na vývoj analytických postupů pro multielementární analýzu biologického materiálu a kyseliny sírové pomocí moderní techniky oaTOF-ICP-MS.

Předkládaná disertační práce je velmi objemná, celkově obsahuje 160 stran, je členěná do 6 hlavních kapitol (úvod, teoretická část, experimentální část, výsledky a diskuze, závěr, literatura), které jsou dále ještě členěny. Práce je doplněna seznamem použitých zkratk, seznamem publikací a odborných příspěvků autorky a přílohy obsahují kopie článků uvedených v mezinárodních odborných časopisech. Anotace je v českém a anglickém jazyce. Cílem předložené práce bylo navržení postupů pro multielementární ultra-stopovou analýzu vzorků moči, potravin a kyseliny sírové při využití metody TOF-ICP-MS s ortogonální akcelerací iontů.

Teoretická část obsahuje rešerši studované problematiky se zvláštním zřetelem na interference v technice ICP-MS a jejich eliminace chemickými i technickými metodami. Též je uveden přehled preanalytické přípravy biologického vzorku včetně detekčních limitů, dosažených při použití jednotlivých technik ICP-MS. Ucelenost rešerše se odráží v množství uvedených literárních pramenů (240), které jsou náležitě zařazeny v textu i tabulkách a citovány v seznamu použité literatury.

Experimentální část je tvořena podkapitolami popisující instrumentaci a experimentální podmínky při analýzách jednotlivých vzorků.

Kapitola Výsledky a diskuze je nejobjemnější část disertační práce (52 str.). V jednotlivých podkapitolách jsou řešeny spektrální i nespektrální interference u jednotlivých prvků matric vzorků. Bylo analyzováno 10 certifikovaných referenčních materiálů a naměřené výsledky byly porovnávány s certifikovanými hodnotami pomocí statistických testů. Výsledky jsou přehledně uvedeny v tabulkách a grafech, jsou uvedeny i matematické korekční rovnice. Byly vypočítány detekční limity a konfrontovány s literárními údaji. Diskuze je promyšlená a umožňuje formulovat přesvědčivé závěry.

Závěr disertační práce stručně shrnuje výsledky experimentální práce a uvádí přínos navržených postupů pro praktické využití.

K práci mám několik dotazů:

- * 3.2.6.1 Při přípravě roztoku z lyofilizované moči rozpuštěním ve vodě – zůstal roztok čirý?
- * 3.2.6.3 Rozklad sušeného mléka – bylo mineralizováno bez obnovení tj. byla přidána přidána konc. HNO_3 a H_2O_2 k suchému vzorku?
- * Str.57 Pro stanovení vápníku a hořčíku metodou FAAS je vhodnější plamen acetylén – oxid dusný
- * Tab. 21 Čím si vysvětlujete, že u Cd je LOD řádově vyšší než udává publikace 219?

Celkové hodnocení

Práce Ing. Ivy Urbanové, nazvaná Nové přístupy v oblasti stopové analýzy metodami atomové spektrometrie, po obsahové i formální stránce splňuje požadavky kladené na disertační práci. Předložená disertační práce zahrnuje množství časově náročné experimentální práce, vyžadující nejen značnou laboratorní zručnost ale i dobré teoretické znalosti. Věcné i formální zpracování dané problematiky svědčí o vědecké vyspělosti studentky, což potvrzuje řada jejích publikací v zahraničních časopisech i ostatních článků. Části disertační práce již prošly v publikacích náročným recenzním řízením a jsou zárukou kvality práce. Proto

doporučuji

práci k obhajobě.

V Brně 6.8.2014


Doc. Ing. Olga Čelechovská, Ph.D.

Posudek disertační práce Ing. Ivy Urbanové

Ing. Iva Urbanová prezentuje v předložené disertační práci „Nové přístupy v oblasti stopové analýzy metodami atomové spektrometrie“ různé způsoby potlačení spektrálních i nespektrálních interferencí pro analýzu moči, potravin, mléka a kyseliny sírové pomocí spektrometrie indukčního plazmatu s hmotnostní detekcí s průletovým analyzátozem (oa-TOF-ICP-MS).

Práce je členěna do 8 kapitol. V teoretické části autorka popisuje zejména spektrální interference, jejich charakteristiku, způsoby identifikace a možné způsoby potlačení těchto interferencí. Dále je zde řešena problematika stopové analýzy těch typů vzorků, kterým se autorka věnuje v experimentální části (moč, potraviny a kyselina sírová). Tato část je zpracována na 36 stranách a autorka se v ní odkazuje na 207 zdrojů literatury. Celá tato část je zpracována pečlivě a po jazykové stránce je na velmi dobré úrovni. Přesto bych autorce vytkl zbytečného používání anglicismů v textu (str 18. použití „více účinného“ lepší je termín účinnější; používání slov benefit, keramický insert, replika...). Na str. 11 autorka píše: „... mohou v plazmě vznikat...“ - Plazma jako skupenský stav hmoty je rodu středního, tedy „ mohou vznikat v plazmatu“. „Ta plazma“ je část krve. V celé práci dále autorka používá nesprávný termín „hmota izotopu“, jako lepší se jeví termín „hmotnost izotopu“ nebo nejlépe „m/z izotopu“.

Popis spektrální interference, jejich dělení i způsoby jejich potlačení jsou popsány podrobně a autorka využila široké spektrum literatury k jejich popisu. Na straně 11 je při popisu spektrálních interference vlivem dvojnásobně nabitých iontů opomenuta skupina alkalických kovů, přestože tyto prvky tvoří dvojnásobně nabitě ionty nejsnáze. Při popisu polyatomických interference autorka opomněla zmínit i tvorbu těchto aduktů kombinací matričních prvků. Literatura pod číslem 29 (A.Y.Leikin et al., J. Anal. Chem., 67 (2012) 677) neřeší matematické korekce, ale jedná se o review shrnující použití kolizních a reakčních cel pro potlačení spektrálních interference. Na str. 14 autorka vyjmenovává problémy s polyatomickými asociáty chloru při analýze mořských vod nezmínila jedny z nejvýznamnějších a to $^{23}\text{Na}^{35}\text{Cl}$ (^{58}Ni , ^{58}Fe) a $^{23}\text{Na}^{37}\text{Cl}$ (^{60}Ni). Publikace č. 66 (R.G. Fernandez et al., J. Anal. At. Spectrom., 19, 649) se nezabývá vlivem polyatomických iontů Ca na stanovení Ni ale Fe. Na str. 15 autorka mylně uvádí, že asociátem $^{40}\text{Ar}^{23}\text{Na}$ je ovlivněn izotop Cu o m/z 65, ale ovlivněným izotopem je ^{63}Cu . Místo termínu „odstranění spektrálních interference“, který autorka použila jako nadpis kapitoly 2.3 a vyskytuje se dále v textu, by bylo vhodnější použití termínu „potlačení spektrálních interference“, protože použití kolizně-reakčních cel, matematických korekcí i studené plazma vedou pouze ke snížení vlivu polyatomických interference určitě ne k jejich úplnému odstranění. O tom se dá mluvit v případě použití MS s vysokou rozlišovací schopností a i zde ne u všech spektrálních interference a v případě separace analytu od interferujícího iontu. Dále autorka zaměňuje pojmy rozlišovací schopnost a rozlišení. Číselné hodnoty uváděné v celé práci (např. 2800 pro odlišení iontů $^{40}\text{Ar}^{23}\text{Na}$ a ^{63}Cu) odpovídají rozlišovací schopnosti ($R=m/\Delta m$), zatímco hodnoty rozlišení se běžně pohybují v rozmezí 0,01-1, přičemž rozlišení 1 znamená, že spektrometr je schopen rozlišit izotopy s $\Delta m=1$ (50 a 51, 238 a 239, ...). Na str. 27 autorka píše, že „Velký počet interferujících iontů je tvořen přímo v plazmatu.“ Kde jinde mohou vznikat interferující ionty?

V experimentální části zpracované na 12 stranách autorka popisuje přípravu použitých roztoků pro jednotlivé analýzy, přípravu vzorků a použité experimentální vybavení a parametry jednotlivých zařízení, které zahrnuje mikrovláknou rozkladnou pec, ICP-MS spektrometr s TOF analyzátozem, atomový absorpční spektrometr, ICP-OES spektrometr a podvarovou destilační aparaturu. K této části mám jedinou výtku a to k tvrzení autorky: že z mlžné komory vstupuje do plazmatu suchý aerosol. Bez desolvací jednotky to není dost dobře možné.

Výsledková část i s diskuzí je zpracována na 53 stranách. Autorka se zde věnuje popisu optimalizace pracovních postupů pro analýzu moči, potravin, mléka a kyseliny sírové a věnuje se i popisu možných interferencí, které mohou komplikovat tyto analýzy. Tato část je zpracována kvalitně jak po jazykové stránce tak i odborné, o čemž svědčí, že zde prezentované výsledky jsou součástí publikací, které byly publikovány v mezinárodních recenzovaných časopisech s vysokým IF (Talanta, Microchimica Acta a Food Chemistry). Přesto mám i k této části několik připomínek.

V části věnující se analýze moči chybí v Tabulce 18 (str. 60 – 62) mezi pozorovanými spektrálními interferencemi adukty Na a Cl s m/z 58 a 60, které budou komplikovat stanovení Ni. Na str. 63 autorka popisuje vliv spektrálních interferencí stanovení různých izotopů. Pokud budeme vycházet z Tabulce 18, tak pro koncentraci Na 2500 mg l⁻¹ (fyziologická koncentrace) odpovídá falešně pozitivní signál pro ⁶³Cu přibližně 20 µg l⁻¹, což je pro vzorek blanku Seronom Urine Blank 100 % a ne jak autorka tvrdí pouze 10 %. Protože i když vzorek naředíme a snížíme tím koncentraci Na na 250 mg l⁻¹ a s tím související falešně pozitivní signál odpovídající koncentraci 2 µg l⁻¹ ⁶³Cu, současně s tím dojde i k odpovídajícímu snížení koncentrace Cu v daném vzorku blanku a chyba tak zůstává stále 100 %. Dále autorka opomněla interferující iont ²³Na³⁵Cl, který zcela určitě bude přispívat k falešně pozitivnímu signálu izotopu 58. A při fyziologických koncentracích Na a Cl v moči se dá předpokládat výrazná interference. Použití izotopu 58 pro stanovení Ni mi přijde nešťastné jednak kvůli výše zmíněné výrazné polyatomické interferenci a za druhé i kvůli monoizotopickému překryvu s Fe. V případě těchto dvou konkrétních referenčních materiálů je chyba způsobená tímto monoizotopickým překryvem opravdu minimální, jak píše autorka. Ale v případě, že metoda by měla být určena pro analýzu reálných vzorků moči, u kterých může být z jakéhokoliv důvodu vyšší koncentrace Fe, je tento izotop pro stanovení Ni nevhodný.

V Tabulkách 20 a 22 autorka porovnává izotopické poměry stejných prvků ve vodném roztoku s poměry v různých maticích. Pro srovnání ale chybí izotopické poměry vypočtené z přirozeného zastoupení jednotlivých izotopů, protože izotopové poměry prvků mohou být ovlivněny spektrálními interferencemi i ve vodném roztoku (např. ⁶⁰Ni/⁵⁸Ni – 0,385 – přirozené zastoupení, 0,369 – CRM moči a 0,333 – vodný roztok). Autorka tvrdí, že správnost stanovení byla potvrzena i na základě izotopických poměrů pro dané analyty. To ovšem není úplně pravda, protože na základě poměru dvou izotopů stejného prvku, nemůžeme určit, jestli jeden z nich není zatížen spektrálními interferencemi nebo ne. Na základě tohoto poměru můžeme pouze říct, že jeden z izotopů je zatížen spektrálními interferencemi víc než ten druhý.

Autorka stanovuje citlivost pro jednotlivé izotopy a vyjadřuje ji jako intenzitu signálu pro 1 ng l⁻¹ (str. 73, 93). Z popisu experimentu není jasné, jaké roztoky byly pro zmlžování použity. Znamená to tedy, že pro stanovení byl zmlžován roztok o koncentraci 1 ng l⁻¹? Hodnota citlivosti např. 8*10⁻⁴ cps/ng l⁻¹ pro ⁸⁹Y se mi zdá poměrně nízká, pro koncentraci 1 µg l⁻¹ by to znamenalo signál o velikosti 0,08 cps. V případě Tabulky 25 je citlivost pro ⁷⁵As 1,1*10⁻⁴ pro 1 ng l⁻¹, tato citlivost v kombinaci s Obr. 7 by znamenala, že koncentrace As ve vzorku mléka je řádově ve stovkách mg l⁻¹.

V kapitole věnující se analýze potravin řeší autorka volbu porovnávacího prvku (str. 77). Mezi vhodné kandidáty porovnávacího prvku (PP) by bylo vhodné použít např. i Bi a Tl, které se nacházejí při vyšších m/z a mají i vyšší ionizační energie a byly by vhodným PP pro izotopy Pb, Th, U, Hf ..., které byly rovněž stanovovány.

V části věnující se analýze mléka jsou spektrální interference způsobené Ca ionty řešeny vysrážením Ca²⁺ pomocí kyseliny šťavelové. V Tabulkách 26 a 27 znázorňujících srovnání nalezených obsahů v CRM mléka a reálných vzorků mléka po jeho mineralizaci a precipitaci měly být uvedeny i hodnoty obsahů prvků, u kterých došlo vlivem srážení s kyselinou šťavelovou k jejich výraznému

poklesu (Cu, Cd, Sr...). Hodnoty úseků na ose y znázorněné v tabulce 28 měly být otestovány, zda jsou statisticky významné či nikoliv.

V kapitole věnující se analýze kyseliny sírové jsou spektrální interference způsobené sírou řešeny vysrážením síranových iontů pomocí různých barnatých solí. Na str. 110 autorka píše: „Rozdíly mezi směnicemi vodné kalibrace a metodou přidavku standardu byly pro většinu analytů větší než 15 % a nebylo tedy možné ke kvantifikaci využít vodnou kalibraci. Nedal by se tento problém vyřešit použitím porovnávacího prvku jako v předchozích případech?”

Předložená disertační práce řeší aktuální problematiku spektrálních interferencí v ICP-MS s TOF analyzátořem. Jak je z práce patrné, autorce se tyto problémy podařilo výrazně potlačit, takže toto řešení jsou poté aplikována přímo na reálné vzorky s velmi odlišnou maticí. Vyřešení těchto problémů svědčí o systematické práci autorky a je dokladem toho, že autorka se v dané problematice velmi dobře orientuje. Ing. Urbanová je autorkou a spoluautorkou 8 publikací v mezinárodních recenzovaných časopisech a své výsledky dokázala prezentovat na řadě mezinárodních i národních konferencích. Na základě těchto skutečností doporučuji předloženou práci k obhajobě.

Dotazy:

1. Autorka stanovuje citlivost pro jednotlivé izotopy a vyjadřuje ji jako intenzitu signálu pro 1 ng l⁻¹ (str.73, 93). Z popisu experimentu není jasné, jaké roztoky byly pro zmlžování použity. Znamená to tedy, že pro stanovení byl zmlžován roztok o koncentraci 1 ng l⁻¹? V případě Tabulky 25 je citlivost pro ⁷⁵As 1,1*10⁻⁴ pro 1 ng l⁻¹, tato citlivost v kombinaci s Obr. 7 by znamenala, že koncentrace As ve vzorku mléka je řádově ve stovkách mg l⁻¹. Jsou uvedené hodnoty tedy správné?
2. K čemu je dobré sledování obsahu např. REE ve vzorcích potravin? Jedná se o prvky sledované kvůli zdravotním rizikům?
3. Proč je nutné brát v úvahu teplotu mlžné komory 10 °C pro rozpustnost Ba(NO₃)₂?
4. Na straně 27 píšete, že velký počet interferujících iontů je tvořen přímo v plazmatu. Kde jinde mohou vznikat další interferující ionty?
5. Jak ovlivní čistota BaBr₂ LOD stanovovaných prvků při analýze kyseliny sírové?
6. Na str. 110 autorka píše: „Rozdíly mezi směnicemi vodné kalibrace a metodou přidavku standardu byly pro většinu analytů větší než 15 % a nebylo tedy možné ke kvantifikaci využít vodnou kalibraci. Nedal by se tento problém vyřešit použitím porovnávacího prvku jako v předchozích případech?”

V Brně dne 29.8.2014


Tomáš Vaculovič, Ph.D.