



**Uniwersytet Humanistyczno - Przyrodniczy
im. Jana Długosza w Częstochowie
Wydział Nauk Ścisłych, Przyrodniczych i Technicznych
Instytut Chemii**

**Oznaczanie zawartości wybranych składników mineralnych
w próbkach produktów spożywczych
metodą płomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej (FAAS)**

PRACA DOKTORSKA

mgr Dorota Bajek

Promotor:

Prof. dr hab. Cezary Kozłowski

Częstochowa 2021

Podziękowania

*Pragnę serdecznie podziękować wszystkim osobom,
bez których niniejsza praca nie mogłaby powstać:*

*mojemu promotorowi Panu prof. dr hab. Cezaremu Kozłowskiemu
za opiekę naukową, zaoferowaną pomoc, cenne wskazówki i życzliwość,*

*Panu dr nauk medycznych Dariuszowi Nowickiemu
Dyrektorowi Powiatowej Stacji Sanitarno – Epidemiologicznej w Częstochowie
za okazaną pomoc, konsultacje i cenne rady,*

a także wszystkim innym Pracownikom

*Powiatowej Stacji Sanitarno – Epidemiologicznej w Częstochowie,
którzy przyczynili się do powstania niniejszej pracy,*

*oraz moim najbliższym za nieustające wsparcie, okazaną cierpliwość
i wyrozumiałość.*

SPIS TREŚCI

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń	5
--	---

CZEŚĆ LITERATUROWA

1. Wprowadzenie	7
2. Źródła występowania wybranych składników mineralnych oraz ich rola w funkcjonowaniu organizmu ludzkiego	8
2.1. Wapń.....	8
2.2. Magnez	9
2.3. Potas.....	9
2.4. Sód.....	10
3. Wzbogacanie żywności składnikami mineralnymi w świetle obowiązującego ustawodawstwa	10
4. Techniki oznaczania składników mineralnych w żywności	12
4.1. Spektroskopowe techniki oznaczania składników mineralnych w żywności	12
4.1.1. Płomieniowa absorpcyjna spektrometria atomowa (FAAS)	12
4.1.2. Pozostałe spektroskopowe techniki oznaczania składników mineralnych w żywności	14
4.2. Inne techniki oznaczania składników mineralnych w żywności	18
5. Techniki przygotowywania próbek do badań	19
6. Walidacja metod oznaczania składników mineralnych w żywności	22
7. Wpływ rodzaju matrycy na oznaczanie zawartości składników mineralnych.....	28

TEZY I CEL PRACY

8. Tezy i cel pracy	30
8.1. Tezy pracy	30
8.2. Cel i zakres pracy	30

METODYKA BADAŃ

9. Metodyka badań.....	32
9.1. Wytyczne ogólne	32
9.2. Odczynniki i roztwory	32
9.3. Materiał badawczy.....	33
9.4. Mineralizacja próbek	34
9.4.1. Suche spoielenie w piecu muflowym	34
9.4.2. Mineralizacja mikrofalowa	38
9.5. Krzywe wzorcowania	41
9.6. Oznaczanie pierwiastków i obliczanie ich zawartości w próbkach.....	42

WYNIKI BADAŃ, Dyskusja Wyników Badań

10.	Wyniki badań, dyskusja wyników badań.....	44
10.1.	Optymalizacja procedury analitycznej	44
10.1.1.	Optymalizacja wielkości odważki.....	44
10.1.2.	Optymalizacja warunków mineralizacji	47
10.1.3.	Ocena skuteczności zastosowania modyfikatorów matryc	50
10.2.	Wyniki oznaczeń zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu	52
10.2.1.	Wyniki oznaczeń zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu w próbkach żywności poddanych suchemu spopieleniu	52
10.2.2.	Wyniki oznaczeń zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu w próbkach żywności poddanych mineralizacji mikrofalowej	55
10.2.3.	Wyniki oznaczeń zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu w próbkach CRM poddanych suchemu spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej.....	58
10.2.4.	Wyniki oznaczeń zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu w próbkach materiału kontrolnego przeprowadzonych w ramach badań biegłości	62
10.3.	Wyniki obliczeń parametrów walidacyjnych metody	69
10.3.1.	Selektywność i specyficzność metody	69
10.3.2.	Granice wykrywalności i oznaczalności	69
10.3.3.	Zakresy liniowości i wyznaczone współczynniki zmienności krzywych wzorcowania.....	70
10.3.4.	Poprawność metody.....	71
10.3.4.1.	Mineralizacja w piecu muflowym	72
10.3.4.2.	Mineralizacja mikrofalowa	77
10.3.4.3.	Zestawienie wyników badania odzysku.....	83
10.3.5.	Zakresy robocze metody.....	88
10.3.6.	Precyzja metody	89
10.3.7.	Szacowanie niepewności pomiaru.....	90

PODSUMOWANIE I WNIOSKI

11.	Podsumowanie i wnioski	100
-----	------------------------------	-----

LITERATURA

12.	Literatura cytowana.....	103
-----	--------------------------	-----

WYKAZ RYSUNKÓW I TABEL

Wykaz rysunków	111
Wykaz tabel	112

WYKAZ STOSOWANYCH SYMBOLI I OZNACZEŃ

FAAS	płomieniowa absorpcyjna spektrometria atomowa
ICP-MS	spektrometria mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej
AAS	absorpcyjna spektrometria atomowa
GFAAS	absorpcyjna spektrometria atomowa z atomizacją w piecu grafitowym
HF-CS-FAAS	wysokorozdzielcza absorpcyjna spektrometria z ciągłym źródłem promieniowania
FAES	płomieniowa emisyjna spektrometria atomowa
AES	emisyjna spektrometria atomowa
ICP-AES	emisyjna spektrometria atomowa w plazmie indukcyjnie sprzężonej
DIB-FES	emisyjna spektrometria płomieniowa z wykorzystaniem obrazu cyfrowego
FES	emisyjna spektrometria płomieniowa
FIA	wstrzykowa analiza przepływowa
EF	współczynnik załężania
ATP	nukleotyd adeninowy adenozy-5'-trifosforan
CRM	certyfikowany matrycowy materiał referencyjny
m/z	stosunek masy jonów do ładunku
<i>LOD</i>	granica wykrywalności
<i>LOQ</i>	granica oznaczalności
<i>SD</i>	odchylenie standardowe
<i>RSD</i>	względne odchylenie standardowe
<i>c</i>	stężenie
<i>m</i>	wielkość odważki próbki
<i>x</i>	zawartość analitu w próbce
\bar{x}	średnia zawartość analitu w próbkach
x_m	stężenie analitu zmierzone w próbce rzeczywistej
x_z	stężenie analitu zmierzone w próbce niewzbogaconej
x_d	stężenie analitu dodane do próbki rzeczywistej
x_i	zawartość analitu w próbce oznaczona laboratoryjnie
<i>X</i>	wartość przypisana
<i>a</i>	współczynnik przesunięcia krzywej wzorcowania
<i>b</i>	współczynnik nachylenia krzywej wzorcowania (czułość metody)

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

r	współczynnik regresji liniowej
v	współczynnik zmienności
t	wartość wynikająca z rozkładu t-Studenta dla f stopni swobody i określonego poziomu ufności
f	odzysk substancji badanej
u_{pp}	niepewność standardowa pomiaru związana z dokładnością przyrządów pomiarowych
u_{kal}	niepewność standardowa pomiaru związana z wzorcowaniem przyrządów pomiarowych
u_{odz}	niepewność standardowa pomiaru związana z odzyskiem substancji badanej
u_{CRM}	niepewność standardowa pomiaru związana z precyzją oznaczeń w próbkach certyfikowanego matrycowego materiału odniesienia
U_c	złożona standardowa niepewność pomiaru
U	rozszerzona standardowa niepewność pomiaru
k	współczynnik rozszerzenia, wartość liczbowa uzależniona od przyjętego poziomu prawdopodobieństwa
PCA	analiza głównych składowych
PLS	regresja metodą najmniejszych kwadratów
LDA	liniowa analiza dyskryminacyjna
KNN	algorytm K najbliższych sąsiadów
SIMCA	technika modelowania indywidualnych grup
MLR	kalibracja wielowymiarowa (metoda najmniejszych kwadratów)
t-test	test t-Studenta
test-F	test F-Snedecora
R	granica powtarzalności
$U \times AV$	niepewność wartości przypisanej
$SDPA$	odchylenie standardowe dla oceny biegłości
$\sqrt{SDPA^2 + U \times AV^2}$	rozszerzone odchylenie standardowe dla oceny biegłości
NIST	National Institute of Standards and Technology
IRMM	Institute for Reference Materials and Measurements

1. Wprowadzenie

Składniki mineralne stanowią około 4 % masy ciała dorosłego człowieka. To 46 pierwiastków, z których 30 uważanych jest za niezbędne do zapewnienia prawidłowego rozwoju organizmu ludzkiego. Z punktu widzenia żywieniowego najistotniejsze z nich to: wapń, fosfor, potas, cynk i magnez [1].

Makroelementy takie jak sód, potas, magnez i wapń stanowią ważną grupę substancji odżywczych potrzebnych organizmowi ludzkiemu w ilościach większych niż 100 mg dziennie [2, 3]. Natomiast druga grupa pierwiastków występująca w organizmie w śladowych ilościach to mikroelementy, tj. żelazo, miedź, cynk, mangan i molibden [4-6].

Podczas procesów produkcji, przechowywania czy przetwarzania żywności poziom składników mineralnych może ulec obniżeniu, dlatego producenci uzupełniają straty wzbogacając nimi żywność stosując formy chemiczne określone w obowiązujących przepisach prawnych [7-9]. Należy jednak wziąć pod uwagę fakt, iż nadmierne spożycie składników mineralnych może wywołać niekorzystne skutki zdrowotne. Stąd konieczność ustalenia maksymalnych bezpiecznych poziomów spożycia składników mineralnych obecnych w żywności lub dodanych do niej w celach technologicznych jak również monitorowania ich zawartości w produktach spożywczych. Z tego powodu oznaczanie składników mineralnych w produktach spożywczych stanowi ważny aspekt analizy żywności [4].

Płomieniowa absorpcyjna spektrometria atomowa (FAAS) jest metodą powszechnie stosowaną do wykrywania i oznaczania ilościowego składników mineralnych występujących w produktach spożywczych. Problemy analityczne związane z oznaczaniem wapnia, magnezu, potasu i sodu tą metodą są znane i opisywane w literaturze. Technika FAAS charakteryzuje się występowaniem szeregu niepożądanych wzajemnych oddziaływań spowodowanych obecnością anionów powstających podczas przygotowania roztworu próbki i obecnością kationów w analizowanym środowisku lub związanych z jonizacją roztworu.

Istotnym czynnikiem wpływającym na wyniki prowadzonych oznaczeń jest sposób mineralizacji próbek. W niniejszej pracy podjęto próbę określenia optymalnych warunków mineralizacji badanych próbek oraz warunków wykonania oznaczeń wybranych składników mineralnych przy zastosowaniu FASS.

2. Źródła występowania wybranych składników mineralnych oraz ich rola w funkcjonowaniu organizmu ludzkiego

Składniki mineralne, występujące w organizmie człowieka w postaci wielu różnorodnych związków chemicznych nieorganicznych i organicznych, stanowią stosunkowo stałe składniki struktury tkanek lub występują w postaci jedno-, dwu- lub więcej wartościowych jonów mających zdolność tworzenia różnych połączeń i kompleksów.

Na podstawie wieloletnich badań ustalono jakie ilości poszczególnych składników odżywczych powinny być dostarczane z pożywieniem i wodą, aby w pełni zaspokoić zapotrzebowanie organizmu ludzkiego. Ilości te są bardzo różne, wynoszą od ok. 1 grama do kilkudziesięciu miligramów i stanowią podstawę podziału na makro - i mikroelementy. Makroelementy to składniki mineralne, na które zapotrzebowanie dzienne wynosi więcej niż na żelazo i są to wapń, fosfor, magnez, potas, sód, chlor i siarka. Do mikroelementów natomiast zaliczamy żelazo, cynk, miedź, kobalt, jod, mangan i selen [5].

Ze względu na różnorodne funkcje, jakie składniki mineralne pełnią w organizmie ludzkim można je podzielić na cztery grupy:

- grupa I – składniki mineralne stanowiące materiał budulcowy kości, zębów, skóry i włosów: wapń, fosfor, magnez, siarka, fosfor,
- grupa II – składniki mineralne wchodzące w skład związków odgrywających ważną rolę w procesach metabolicznych: żelazo, miedź, kobalt, jod, cynk,
- grupa III – składniki mineralne biorące udział w gospodarce wodno – elektrolitowej i odpowiedzialne za utrzymanie równowagi kwasowo – zasadowej: sód, potas, chlor,
- grupa IV – składniki mineralne o różnorodnym, nie do końca sprecyzowanym działaniu regulującym: selen, mangan, molibden, chrom [6].

2.1. Wapń

Wapń stanowi ok. 0,8 % ciężaru ciała noworodka i ok. 1,7 % ciała dorosłego człowieka. Wapń stanowi główny składnik kości i zębów.

Rola, jaką odgrywa wapń w organizmie ludzkim polega na:

- zapewnieniu prawidłowego wzrostu i rozwoju organizmu,
- zapewnieniu prawidłowej pobudliwości synaps układu mięśniowo – nerwowego,

- opóźnieniu występowania zmęczenia mięśni, np. poprzez zwiększenie pobierania przez nie tlenu skraca okres ich wypoczynku,
- zapewnieniu prawidłowej czynności serca – wapń wpływa na częstość uderzeń i na objętość wyrzutową serca (potas wykazuje działanie antagonistyczne),
- zapewnienie prawidłowego krzepnięcia krwi,
- ponadto wapń wchodzi w skład błon komórkowych, co ma duże znaczenie dla przepuszczalności naczyń [5].

Żywność jest dość uboga w ten składnik pokarmowy. W największych ilościach występuje on w mleku i przetworach mlecznych, a ponadto w niektórych rybach, szczególnie sardynkach spożywanych z ośmi. Dużą zawartością wapnia odznaczają się suche nasiona roślin strączkowych, soi, a także orzechy i suszone owoce [6].

2.2. Magnez

W organizmie dorosłego człowieka magnez występuje w ilości 20 ÷ 28 g, z czego ok. 40 % występuje w mięśniach i tkankach miękkich, 1 % w płynach pozakomórkowych, a pozostała część w kościach [1].

Magnez w organizmie ludzkim:

- bierze udział w procesach syntezy i rozpadu związków wysokoenergetycznych, przede wszystkim ATP,
- aktywuje szereg enzymów,
- jest związany z mechanizmami termoregulacji,
- jest powiązany z działaniem synaps nerwowomięśniowych,
- zapewnia kurczliwość mięśni (wapń wykazuje działanie antagonistyczne).

Głównym źródłem magnezu w pożywieniu jest twarda woda pitna. Ponadto w znaczących ilościach występuje on w produktach zbożowych i roślinach, szczególnie zielonych [6].

2.3. Potas

Potas występuje w organizmie dorosłego człowieka o masie 70 kg w ilości ok. 135 g [1]. Potas jest ważnym składnikiem protoplazmy komórek, występującym głównie w tkankach miękkich.

Potas w organizmie ludzkim:

- wpływa na gospodarkę wodno – elektrolitową ustroju, zmniejsza pęcznienie białek (sód wykazuje działanie antagonistyczne),
- reguluje równowagę kwasowo – zasadową i ciśnienie osmotyczne,
- zwiększa przepuszczalność błony komórkowej (pod tym względem działa antagonistycznie do wapnia),
- podnosi napięcie mięśni (wapń wykazuje działanie antagonistyczne),
- zwiększa czynność gruczołów wydzielniczych [5].

Znaczące ilości potasu zawierają owoce, warzywa (głównie ziemniaki) i świeże mięso [1].

2.4. Sód

Sód występuje w organizmie dorosłego człowieka w ilości ok. 92 g, z czego 34,5 g zawierają kości, a 46 g – płyny zewnątrzkomórkowe.

Rola sodu w organizmie ludzkim polega na:

- zapewnieniu równowagi osmotycznej w płynach ustrojowych,
- udziale w procesach kurczliwości mięśni i przewodnictwie nerwowym.

Podstawowym źródłem sodu w diecie jest pieczywo dostarczające ok. 20,3 % dziennego zapotrzebowania na ten składnik mineralny. Ponad połowa, a wg niektórych źródeł nawet 2/3 spożywanej soli stanowi sól kuchenna dodawana do potraw na etapie ich przygotowywania i spożywania [1].

3. Wzbogacanie żywności składnikami mineralnymi w świetle obowiązującego ustawodawstwa

Żywność jest produktem przetworzonym, częściowo przetworzonym lub nieprzetworzonym, przeznaczonym do spożycia przez ludzi [7].

Warunkiem zapewnienia prawidłowego funkcjonowania organizmu ludzkiego jest dostarczenie z zewnątrz wszystkich niezbędnych składników odżywczych, także składników mineralnych, których źródłem jest głównie pożywienie, ale także woda pitna i preparaty będące uzupełnieniem racji pokarmowej – suplementy diety [6].

Zróżnicowana dieta jest na ogół wystarczającym źródłem niezbędnych składników odżywczych, jednak w niektórych przypadkach mogą występować ich niedobory

lub nadmierne spożycie, co może mieć zły wpływ na stan zdrowia. Rozporządzenie w sprawie dodawania do żywności witamin i składników mineralnych oraz niektórych innych substancji wskazuje na konieczność ustalenia maksymalnych, bezpiecznych ilości składników mineralnych oraz ich form chemicznych, które mogą być dodawane do żywności [8].

Zalecane dzienne referencyjne ilości spożycia wapnia, magnezu i potasu dla osób dorosłych przedstawiono w tabeli 3.1. [9].

Tabela 3.1. Zalecane dzienne referencyjne ilości spożycia wapnia, magnezu i potasu dla osób dorosłych

Składnik mineralny	Zalecane dzienne spożycie
Wapń	800 mg
Magnez	375 mg
Potas	2000 mg

Zawartość składników mineralnych w produktach żywnościowych jest bardzo zróżnicowana i uzależniona od rodzaju produktu, strat technologicznych powstających na etapie produkcji, sposobu przechowywania, a także poziomu zanieczyszczenia środowiska naturalnego. Unikanie obierania, rozdrabniania, gotowania, rozmrażania czy blanszowania pozwala na znaczne ograniczenie strat składników mineralnych w procesie produkcji żywności [44].

W produkcji żywności wykorzystywane są między innymi składniki mineralne, dodawane do żywności przez producentów dobrowolnie lub obowiązkowo ze względów:

- zdrowotnych,
- w celach technologicznych,
- w celu pokrycia strat powstałych podczas procesów produkcji, przechowywania lub przetwarzania żywności,
- w celu uzyskania zamienników żywności o wartości odżywczej zbliżonej do wartości odżywczej żywności naturalnej [9].

Żywność wzbogacana dodatkiem składników mineralnych jest uważana przez niektórych konsumentów za przewyższającą pod względem odżywczym żywność naturalną. Wzbogacając żywność składnikami mineralnymi należy uwzględnić ich ilości spożywane z dzienną racją pokarmową. Niewłaściwe wzbogacanie żywności może prowadzić do zaburzenia proporcji pomiędzy nimi, co ma bardzo niekorzystny wpływ na

organizm [6]. Bardzo istotna dla bilansu wapniowego w organizmie jest odpowiednia proporcja wapnia i magnezu, która powinna wynosić 2:1. Żeby zachować proporcję pomiędzy tymi pierwiastkami nie można wzbogacać żywności tylko w wapń lub tylko w magnez – jest to typowa pułapka fortyfikacji lub suplementacji żywności [1].

Sód i potas mają niekorzystny wpływ na organizm ludzki w przypadku niedoboru jednego z nich i nadmiaru drugiego [5]. W procesach przetwarzania żywności zawartość potasu zmniejsza się, natomiast zwiększa się zawartość sodu, dlatego wzrost spożycia żywności przetworzonej przy obniżonym spożyciu warzyw i owoców w codziennej diecie prowadzi do zmniejszenia spożycia potasu. Zawartość sodu w diecie jest stosunkowo wysoka ze względu na obecny w żywności chlorek sodu. W celu obniżenia spożycia tego pierwiastka stosowane są coraz częściej substytuty soli kuchennej – chlorki potasu, wapnia i magnezu – charakteryzujące się słonym smakiem [1].

4. Techniki oznaczania składników mineralnych w żywności

Wybór odpowiedniej techniki analitycznej do oznaczania zawartości składników mineralnych w żywności jest duży i obejmuje m.in. miareczkowanie grawimetryczne, absorpcję atomową i spektroskopię emisyjną [10]. Niejednokrotnie uzależniony jest od rodzaju oznaczanego pierwiastka i rodzaju analizowanej próbki. Do oznaczania zawartości wapnia w mleku i przetworach mlecznych wykorzystywana jest głównie płomieniowa absorpcyjna spektrometria atomowa (FAAS) [11÷13], ale również miareczkowanie indukcyjnie [14,15], atomowa spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie sprzężonej indukcyjnie ICP OES [16÷18] oraz spektrometria mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie ICP-MS [19,20].

4.1. Spektroskopowe techniki oznaczania składników mineralnych w żywności

4.1.1. Płomieniowa absorpcyjna spektrometria atomowa (FAAS)

Absorpcyjna spektrometria atomowa (AAS) jest jedną z najczęściej stosowanych technik analitycznych, służącą do oznaczania zawartości pierwiastków śladowych, polegającą na pomiarze promieniowania monochromatycznego przez wolne atomy związku chemicznego. Jej podstawą jest prawo Kirchhoffa, zgodnie z którym pierwiastek absorbuje promieniowanie o takiej długości fali, jaką emituje w stanie wzbudzonym.

Podstawową zależnością ilościowych metod AAS jest wprost proporcjonalna zależność absorpcji od liczby atomów w jednostce objętości – ich stężenia – i grubości warstwy absorbującej. Odparowanie, atomizację i wzbudzenie próbki można osiągnąć przy wykorzystaniu płomienia (FAAS) lub na drodze elektrotermicznej, z zastosowaniem pieca grafitowego (GFAAS). Promieniowanie za źródła emitującego widmo liniowe – lampy z katodą wnątkową – charakterystyczne dla oznaczanego pierwiastka przechodzi przez atomizer, pada na szczelinę monochromatora oddzielającego konkretną linię rezonansową od pozostałych, a następnie jest przetwarzane na sygnał elektryczny mierzony przez detektor. Zakłócenia występujące w tej technice analitycznej można podzielić na:

- spektralne, powstające w wyniku nakładania się linii lub pasm absorpcyjnych i emisyjnych; tego rodzaju zakłócenia mogą powstawać przy oznaczaniu wapnia w obecności sodu, pierwiastków łatwo wzbudzalnych w płomieniu, emitujących własne promieniowanie, mogące nakładać się z promieniowaniem lamp katodowych,
- fizyczne, wynikające ze zmian fizycznych roztworów, mających wpływ na wydajność nebulizacji w atomizerze,
- chemiczne, powodowane reakcjami chemicznymi zachodzącymi w płomieniu palnika [21].

Technika FAAS jest szeroko stosowana w celu wykrywania i oznaczania ilościowego składników mineralnych w mleku krowim [22,23].

Poliana M. dos Santos i wsp. jako pierwsi zastosowali technikę FAAS do określenia stopnia rozcieńczenia mleka – zmian stężenia Ca i Na w płynnym mleku krowim, powstających w następstwie zafałszowań dodatkiem m.in. serwatki, mleka syntetycznego i nadtlenku wodoru [24].

W badaniach biegłości w zakresie oznaczania zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu w produktach mlecznych zorganizowanych przez niemieckie laboratorium Kempten Muva większość uczestników wykorzystało w badaniach technikę FAAS [10].

C.V.S. Ieggia i wsp. badali możliwości wykorzystania przygotowanych emulsji próbek całych jaj kurzych do rutynowego oznaczania Na, K, Ca, Mg, Zn i Fe metodą FAAS, zaawansowanej techniki wykrywania i oznaczania pierwiastków śladowych [25]. Zalety tej techniki są dobrze znane, pozwalają na wyeliminowanie zakłóceń, do wykonania oznaczeń wystarczają podstawowe umiejętności, a koszty oprzyrządowania i konserwacji są stosunkowo niskie [26].

O.M. Hernández i wsp. oznaczali pierwiastki alkaliczne (Na, K), pierwiastki ziem alkalicznych (Ca, Mg, Sr) i mikroelementy (Fe, Cu, Zn, Li, Rb) w próbkach miodu pochodzących z różnych miejsc Wysp Kanaryjskich w celu identyfikacji miejsca ich pochodzenia przy zastosowaniu spektrofotometru absorpcji atomowej wyposażonego w lampę deuterową do korekcji tła i lampy z katodą wnątkową dla każdego z oznaczanych pierwiastków [27].

C.V.S. Ieggli i wsp. zajmowali się oznaczaniem zawartości Na, K, Ca, Mg, Zn i Fe w próbkach czekolad techniką FAAS. Do badań wykorzystali próbki czekolady o różnej zawartości kakao, białej, mlecznej i ciemnej [28].

Małgorzata Misztal – Szkudlińska i wsp. oznaczali zawartość wapnia w gotowych produktach spożywczych przeznaczonych dla małych dzieci przy zastosowaniu atomowej spektroskopii absorpcyjnej, techniką płomieniową FAAS [29].

Technikę oznaczania zawartości wapnia i magnezu w produktach mlecznych przy wykorzystaniu wysokorozdzielczego spektrometru absorpcji atomowej z ciągłym źródłem promieniowania (HF-CS-FAAS) opracowali Brandao i wsp. [30].

4.1.2. Pozostałe spektroskopowe techniki oznaczania składników mineralnych w żywności

Płomieniowa emisyjna spektrometria atomowa (FAES)

W technice emisyjnej spektrometrii atomowej AES wykorzystywane są emisyjne widma atomowe pierwiastków. Można w niej wyróżnić dwa podstawowe etapy pierwszy, polegający na wzbudzeniu atomów i emisji promieniowania i drugi, związany z rozszczepieniem emitowanego promieniowania.

Warunkiem zajścia emisji promieniowania jest dostarczenie atomowi kwantu energii w celu przeniesienia elektronu na wyższy poziom energetyczny. Przejściu elektronu z wyższego poziomu energetycznego na niższy towarzyszy wydzielenie energii w postaci promieniowania elektromagnetycznego. Najniższy poziom wzbudzenia określany jest mianem poziomu rezonansowego – powrotowi elektronu z tego poziomu odpowiadają linie rezonansowe powstające w widmie. Wielkością stanowiącą o łatwości wzbudzenia atomu jest tzw. energia wzbudzenia, która zależy od jego budowy, a zwłaszcza od trwałości związania elektronów walencyjnych. W przypadku słabego związania elektronów walencyjnych, występującego np. u potasowców, wzbudzenie atomów następuje już w płomieniu palnika gazowego [21].

Poliana M. dos Santos i wsp. zastosowali technikę FAES do określenia zmian stężenia Ca i Na w płynnym mleku krowim, powstających w następstwie zafałszowań m.in. serwatką, mlekiem syntetycznym i nadtlenkiem wodoru [24].

Spektrometria mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie (ICP-MS)

Połączenie różnych technik analitycznych często daje większe możliwości niż zastosowanie każdej z nich osobno. Z reguły w pierwszym instrumencie analitycznym zachodzi rozdzielanie czyli separacja składników próbki, w drugim natomiast – analiza jakościowa i ilościowa. Technika ICP-MS nie jest typowym przykładem techniki sprzężonej ponieważ pierwszy z instrumentów (ICP) nie jest samodzielnym instrumentem analitycznym, jego rola polega wyłącznie na wytworzeniu jonów z próbki analitycznej, a więc jest to metoda jonizacji, a nie separacji, czy rozdzielania [31].

Zasadą techniki jest ICP-MS jest separacja jonów powstałych w plazmie metodami spektrometrii mas. Rozpylona w nebulizerze próbka przechodzi przez komorę mgielną do palnika, a następnie przez interfejs – urządzenie pozwalające na połączenie ze sobą dwóch lub więcej innych urządzeń umożliwiające ich współpracę, w którym dzięki obecności pomp mechanicznej i turbomolekularnych następuje znaczne obniżenie ciśnienia. Niskie ciśnienie jest niezbędne do wytworzenia strumienia gazowych jonów biegnących przez układ pól elektrycznego i magnetycznego. Układ soczewek elektrostatycznych zapewnia ustawienie gazowej wiązki jonów równoległe do analizatora, w którym następuje rozdział jonów wg stosunku masy do ładunku. Tak rozdzielone jony przechodzą dalej do detektora. W spektrometrii mas do rozdziału docierających jonów stosowane są dwa analizatory tj. analizator kwadropulowy i analizator czasu przelotu.

Zakłócenia występujące przy zastosowaniu tej techniki to:

- interferencje chemiczne, będące wynikiem oddziaływania chemicznego analitu z pozostałymi składnikami próbki; zwykle są one związane z powstawaniem związków chemicznych, głównie tlenków, w kontakcie z powietrzem, ale również z powstawaniem w plazmie jonów podwójnie naładowanych,
- fizyczne, związane z właściwościami fizycznymi analizowanego roztworu,
- spektralne, polegające na zmianach intensywności stałego tła w obecności interferenta lub zmianie tła zmiennego powodowanego najczęściej obecnością silnej linii innego pierwiastka w okolicy linii analizowanej; można je podzielić na izobaryczne, powstające w przypadku obecności w plazmie jonów, dla których stosunek masy jonów do ładunku m/z ma taką samą wartość jak dla jonów analitu

oraz poliatomowe, powstające, gdy cząsteczki wieloatomowe lub podwójnie naładowane mają taką samą wartość stosunku m/z jak badany izotop – ten typ interferencji można wyeliminować przy zastosowaniu komory kolizyjnej (zderzeniowej), w której jony wieloatomowe w skutek zderzenia się z gazem ulegają rozbiciu na nieinterferujące cząstki składowe, atomy lub jony,

- matrycowe, związane z wpływem pierwiastków obecnych w matrycy na intensywność mierzonego sygnału [21].

Technika ICP-MS jest jedną z najczęściej wykorzystywanych metod oznaczania pierwiastków występujących w badanych próbkach na poziomie śladowym. Zaletami tej techniki są: wysoka czułość, duża selektywność i niskie granice wykrywalności. Ponadto daje ona możliwość oznaczania wielu pierwiastków jednocześnie [32].

Emisyjna spektrometria atomowa z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie (ICP-OES)

W badaniach biegłości w zakresie oznaczania zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu w produktach mlecznych zorganizowanych przez niemieckie laboratorium Kempton Muva pięciu uczestników równoległe z oznaczaniem techniką FAAS wykonało oznaczenie techniką ICP-OES.

Wyniki badań wykonanych w celu potwierdzenia dokładności metody były zgodne w przypadku prawie wszystkich analizowanych próbek. Obliczone wartości średnie dla obu technik były porównywalne, nieznacznie wyższe dla ICP-OES, zatem techniki te można uznać za równoważne [10].

A. Witczak i A. Jarnuszewska analizowały zawartości Mg, Ca, K i Na w mieszankach modyfikowanych przeznaczonych dla niemowląt i małych dzieci techniką emisyjnej spektrometrii atomowej w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-AES) [33].

Emisyjna spektrometria płomieniowa z wykorzystaniem obrazu cyfrowego (DIB – FES)

Zawartość składników mineralnych w próbkach żywności można również oznaczyć przy zastosowaniu emisyjnej spektrometrii płomieniowej (FES), najstarszej techniki analizy chemicznej znanej pod nazwą fotometrii płomieniowej [34]. Oznaczanie sodu i wapnia w mleku w proszku tą techniką przy wykorzystaniu obrazu cyfrowego (DIB-FES) po raz pierwszy zaproponowali Wellington da Silva Lyra i wsp. [35,36]. Do uzyskania sygnału analitycznego użyto cyfrowego aparatu fotograficznego i kamery z cyfrowym

analizatorem obrazów jako detektora w widzialnym zakresie widma elektromagnetycznego.

Wstrzykowa analiza przepływowa FIA

Analiza przepływowo – wstrzykowa stosowana w oznaczaniu pierwiastków techniką AAS umożliwia przeprowadzenie wielu etapów postępowania z próbkami w układzie przepływowym: bezpośredniego wprowadzania rozcieńczonych próbek, zateżania analitów czy wytwarzania ich lotnych związków [37,38]. Najczęściej wykorzystywane jest mieszanie próbki z różnymi roztworami – wodą, buforami spektralnymi lub buforami kontrolującymi interferencje chemiczne. Skutecznym sposobem uniknięcia jonizacji metali alkalicznych w płomieniu czy plazmie argonowej jest dodatek chlorku cezu lub azotanu lantanu. Można w ten sposób również wyeliminować problemy związane z dużą lepkością wprowadzanych próbek i wpływ ich głównych składników na wyniki oznaczeń [39]. Najczęściej stosowane do przetwarzania składu próbki w układach przepływowych są układy wykorzystujące właściwości sorpcyjne analitu na mikrokolumnach z odpowiednio dobranym wypełnieniem [37,40]. Można wyróżnić dwa sposoby przetwarzania składu analizowanej próbki przy zastosowaniu mikrokolumn pierwszy, w którym stała objętość roztworu jest dozowana przez zawór wstrzykowy i pompowana przez złożę mikrokolumny oraz drugi, w którym zastosowanie znacznie większej objętości roztworu pozwala na osiągnięcie większej wartości współczynników zateżania (EF). W pierwszym przypadku, wykorzystywanym głównie do wydzielania analitu, następuje ograniczenie objętości próbki ze względu na występowanie zjawiska dyspersji co pozwala na wyeliminowanie wpływu pulsacji pompy perystaltycznej i uzyskanie powtarzalnych objętości dozowanej próbki. W drugim przypadku powtarzalność analiz zależy przede wszystkim od stabilności przepływu roztworu przez złożę mikrokolumny, przy czym wydajność zateżania analitu, a więc i wartości EF, zależą od czasu przepływu. Prowadzenie zateżania w dłuższym czasie przy stałej prędkości przepływu powoduje wzrost wartości EF, ale zmniejsza liczbę analizowanych próbek w określonym czasie. Układy przepływowe z sorpcją kolumnową z detekcją FAAS i ICP-OES są skonstruowane w bardzo podobny sposób, w obu przypadkach wykorzystuje się wprowadzanie próbki ze stałą objętością lub ze stałym czasem przepływu roztworu przez kolumnę. Strumień eluentu, którym najczęściej jest roztwór kwasu mineralnego lub w przypadku sorbentów niejonowych rozpuszczalnik organiczny, po wymyciu zateżonych analitów kierowany jest bezpośrednio do rozpylacza detektora.

J.L.M. Santos i wsp. zaproponowali oznaczanie Ca w mleku metodą połączonych metod FAAS i wstrzykowej analizy przepływowej FIA. Zastosowanie techniki FAAS z systemami przepływu wtrysku jest dobrym rozwiązaniem, pozwalającym na wyeliminowanie lub zminimalizowanie problemów występujących w konwencjonalnej metodzie FAAS i metodzie miareczkowania [41, 42].

4.2. Inne techniki oznaczania składników mineralnych w żywności

Fotometria płomieniowa

Fotometria płomieniowa to najprostsza technika emisyjna wykorzystywana do oznaczania pierwiastków charakteryzujących się niskim potencjałem wzbudzenia, głównie litowców i berylowców, emitujących promieniowanie w części widzialnej światła, a więc wywołujące charakterystyczne zabarwienie płomienia palnika gazowego. Do płomienia palnika wprowadzana jest badana substancja zwykle w postaci rozpylonego roztworu, w którym następuje odparowanie rozpuszczalnika, atomizacja i wzbudzenie elektronów walencyjnych. Podczas powrotu do energetycznego stanu podstawowego następuje emisja promieniowania o ściśle określonej długości fali, którego natężenie jest proporcjonalne do stężenia substancji emitującej [21]. Snežana Ž. Kravić i wsp. opracowali metodę oznaczania zawartości wapnia, sodu i potasu w próbkach fermentowanych produktów mlecznych techniką fotometrii płomieniowej w płomieniu powietrze – butan [43].

Chromatografia jonowa (IC)

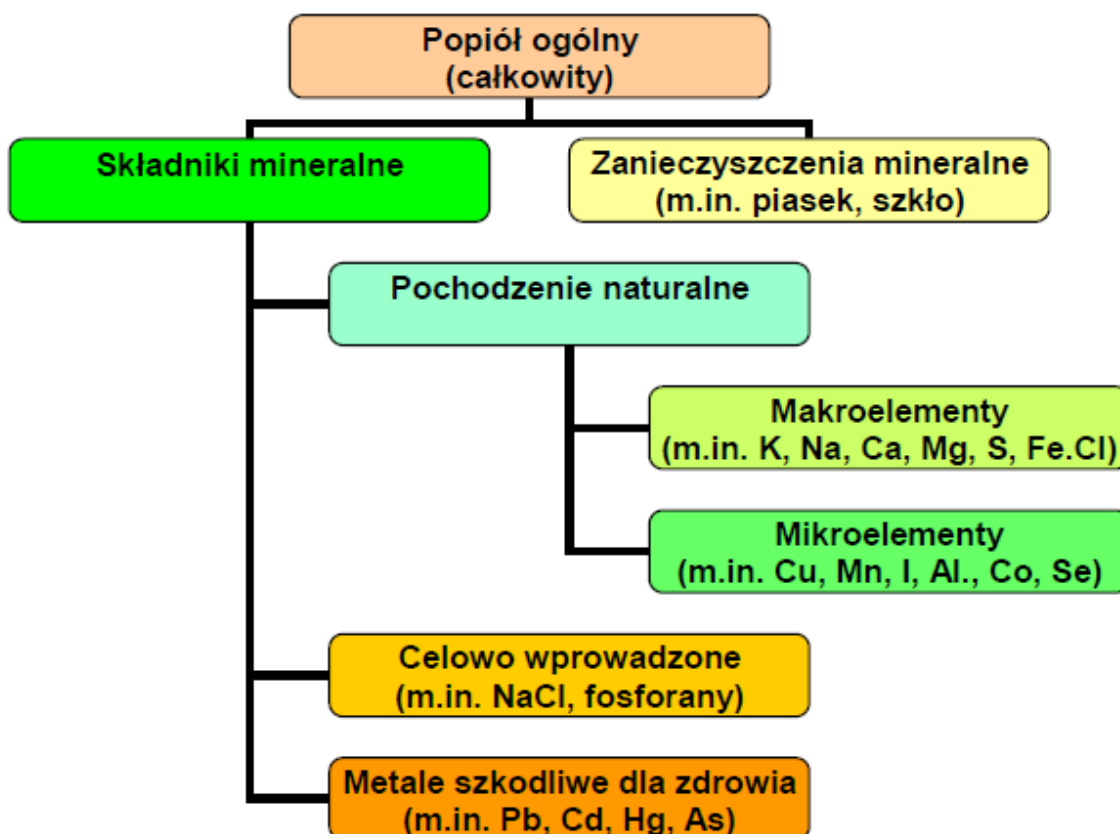
Chromatografia jonowa (Ion Chromatography – IC) jest stosowana do rozdzielania i oznaczania ilościowego pierwiastków w postaci jonowej. W metodzie tej analizie poddawane są mieszaniny wieloskładnikowe, do których rozdzielania stosuje się jonity o dużej pojemności wymiany jonowej, nie stosuje się natomiast supresorów i kolumn tłumienia. Do detekcji wykorzystywane są klasyczne metody takie jak refraktometria, spektrofotometria [44].

Technikę chromatografii jonowej z detekcją konduktometryczną wykorzystali A. Filipiak – Szok i wsp. do oznaczenia zawartości wybranych składników mineralnych w próbkach żywności należących do różnych grup produktów spożywczych. Technika ta okazała się być bardzo użyteczną w określaniu składu jakościowego i ilościowego analizowanych próbek, alternatywną w stosunku do najczęściej wykorzystywanej w tym celu metody FAAS [45].

5. Techniki przygotowywania próbek do badań

Różnorodność i złożoność związków chemicznych, w postaci których składniki mineralne występują w żywności powoduje, iż znalezienie metod analitycznych umożliwiających analizę produktów spożywczych jest niezwykle trudne. Najczęściej stosowanymi technikami przygotowania próbek do badań są mineralizacja sucha i mineralizacja mokra.

Mineralizacja sucha polega na spopieleniu części organicznej próbki w atmosferze powietrza w temperaturze 400 – 600°C. Powstający popiół, składający się w przeważającej mierze z węglanów i tlenków, roztwarzany jest w odpowiednim kwasie lub mieszaninie kwasów. Zawartość popiołu ogólnego (całkowitego) jest miarą ogólnej ilości składników mineralnych występujących w próbce żywności. Skład popiołu całkowitego, który niejednokrotnie ma duży wpływ na wyniki oznaczeń zawartości składników mineralnych w próbkach przedstawia rysunek 5.1.



Rysunek 5.1. Skład popiołu całkowitego [46]

Mineralizacja mokra polega na rozkładzie materii organicznej przy zastosowaniu ciekłych utleniaczy, zwykle mocnych kwasów mineralnych azotowego i siarkowego. Taki rodzaj mineralizacji pozwala na uniknięcie strat związanych z ulatnianiem się składników próbki przy zastosowaniu znacznie niższych temperatur, tj. 125 – 350°C [44].

Większość technik analitycznych stosowanych w celu określenia zawartości składników mineralnych wymaga matryc rozpuszczających się w wodzie. Z tego powodu często konieczne jest wyizolowanie minerałów z otaczającej je osnowy organicznej. Rozkład materii organicznej zazwyczaj prowadzi się na sucho lub na mokro w układach otwartych lub zamkniętych, stosując odpowiednie warunki termiczne, ultradźwięki, podczerwień i energię mikrofalową [47].

Poliana M. dos Santos i wsp. zaproponowali rozcieńczanie próbek serwatki i mleka w proszku wodą dejonizowaną w celu uzyskania stężeń Ca i Na mieszczących się w zakresach liniowości krzywych wzorcowania [24].

Laboratoria uczestniczące w badaniach biegłości w zakresie oznaczania zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu w produktach mlecznych zorganizowanych przez niemieckie laboratorium Kempton Muva wykorzystwały różne techniki rozkładu próbek, tj. suche spopielenie, mineralizację na mokro przy zastosowaniu kwasu azotowego, w układzie mikrofalowym otwartym lub zamkniętym, ciśnieniowym) [10].

Wellington da Silva Lyra i wsp. oznaczali zawartość sodu i wapnia w próbkach mleka w proszku poddanych suchemu spopieleniu metodą emisyjnej spektrometrii płomieniowej przy wykorzystaniu obrazu cyfrowego (DIB – FES) [48].

M.B. Petrovich i wsp. porównali różne procedury przygotowania próbek, tj. rozcieńczanie wodą lub kwasem i rozkład materii organicznej techniką mikrofalową przy użyciu stężonych lub rozcieńczonych kwasów. Wyniki oznaczenia zawartości wapnia w próbkach przygotowanych do badań sposobami opisanymi powyżej były porównywalne. [49].

S. Ž. Kravić i wsp. [43] opracowali metodę oznaczania zawartości wapnia, sodu i potasu w próbkach fermentowanych produktów mlecznych przygotowanych dwoma metodami tj. metodą bezpośrednią po zhomogenizowaniu próbek i przy zastosowaniu zmodyfikowanej metody Blay i Simpson [50].

C.V.S. Ieggia i wsp. ocenili możliwość wykorzystania emulsji próbek całych jaj kurzych do rutynowego oznaczania Na, K, Ca, Mg, Zn i Fe [25]. Jajo kurze to naturalny system zemulgowanych komponentów takich jak fosfolipidy, lipoproteiny i białka [51]. Jednym z problemów analitycznych był sposób przygotowania próbki do badań – ze

względu na jej lepkość i dużą zawartość materii organicznej, analiza bezpośrednia była szczególnie utrudniona. Trawienie próbek kwasami i nadtlenkami [52÷54] poprawia efektywność procesu mineralizacji w ultrafiolecie [55] lub przy zastosowaniu promieniowania mikrofalowego [51,56÷58].

Bezpośrednie emulgowanie ze środkami powierzchniowo czynnymi nie wymagające rozkładu matrycy organicznej zapewnia szybką procedurę przygotowania próbek [59]. Taki sposób postępowania zmniejsza lepkość i zawartość substancji organicznych w próbce, dzięki czemu w powstałej emulsji jajecznej można wykonać pomiar techniką FAAS zachowując jednorodność i stabilność systemu.

O. M. Hernández i wsp. oznaczali pierwiastki z grupy litowców (Na, K) i pierwiastki z grupy berylowców (Ca, Mg, Sr) oraz mikroelementy (Fe, Cu, Zn, Li, Rb) w próbkach miodu pochodzących z różnych miejsc Wysp Kanaryjskich w celu identyfikacji miejsca ich pochodzenia. Miód jest produktem naturalnym pozyskiwanym przez pszczoły z nektaru kwiatowego lub z innych części roślin. Pszczoły łączą nektar z określonymi substancjami i zasklepiają go w komórkach, gdzie następuje proces dojrzewania. Skład i właściwości produktu końcowego zależą od pochodzenia nektaru. Próbkę do badań przygotowano dwoma sposobami, tj. poprzez suche spoielenie lub przez rozpuszczenie w 0,1 M kwasie azotowym(V), a zawartość pierwiastków oznaczano bezpośrednio w powstałym roztworze [27].

C.V.S. Ieggli i wsp. opracowali metodę oznaczania zawartości Na, K, Ca, Mg, Zn i Fe techniką FAAS w próbkach różnych gatunków czekolad poddanych bezpośredniemu emulgowaniu ze środkami powierzchniowo czynnymi. Emulsje klasyfikowano jako układ olej – woda (O/W), w którym kropelki oleju są rozproszone w wodnej, zewnętrznej fazie ciekłej lub układ woda – olej (W/O), w którym kropelki wody są rozproszone w olejowej fazie zewnętrznej. Ponieważ emulsje wykazują właściwości ich faz zewnętrznych układ olej – woda jest najbardziej odpowiednim rozwiązaniem, umożliwiającym kalibrację za pomocą wodnych roztworów standardów, a ponadto charakteryzują się długotrwałą stabilnością i niską lepkością [28]. Bezpośrednia analiza czekolady tą techniką była możliwa po mineralizacji próbek zawierających duże zawartości związków organicznych. W literaturze opisane są przykłady mineralizacji próbek czekolady z udziałem promieniowania mikrofalowego, mokrego trawienia oraz suchego spoielenia [60÷63].

Małgorzata Misztal – Szkudlińska i wsp. oznaczali zawartość wapnia w gotowych produktach spożywczych przeznaczonych dla małych dzieci poddanych po przeprowadzeniu procesu liofilizacji i homogenizacji mineralizacji mikrofalowej [29].

A. Witczak i A. Jarnuszewska analizowały zawartości Mg, Ca, K i Na w mieszankach modyfikowanych przeznaczonych dla niemowląt i małych dzieci po mineralizacji próbek techniką mikrofalową. Badaniami objęto 15 rodzajów sproszkowanego mleka oraz analizę 9 próbek mleka kobiecego [33].

Metodę oznaczania zawartości wapnia i magnezu w produktach mlecznych, tj. mleku w proszku i w płynie oraz jogurcie poddanych analizie bezpośredniej lub po uprzedniej mineralizacji mikrofalowej opracowali Brandao i wsp. [30].

6. Walidacja metod oznaczania składników mineralnych w żywności

Walidacja metody, czyli sprawdzenie jej w warunkach laboratoryjnych miało na celu określenie takich parametrów, jak:

- specyficzność / selektywność,
- granica wykrywalności,
- granica oznaczalności,
- zakres liniowości,
- zakres pomiarowy,
- czułość,
- powtarzalność / precyzja pośrednia / odtwarzalność,
- poprawność metody,
- niepewność pomiaru.

Selektywność i specyficzność metody to parametry oceniane na etapie opracowania metody, definiowane jako czynniki przeszkadzające. Decydują one o możliwości dokładnego i precyzyjnego oznaczenia zawartości jednego składnika wobec obecności innych składników w złożonej próbce rzeczywistej, mogących powodować wystąpienie interferencji w danych warunkach pomiarowych [64]. Metoda jest selektywna, gdy w złożonej macierzy próbki badanej sygnał jest generowany wyłącznie przez analit.

Granica wykrywalności to najmniejsze stężenie pierwiastka możliwe do wykrycia za pomocą określonej metody analitycznej z określonym prawdopodobieństwem.

Granica oznaczalności to najmniejsze stężenie możliwe do ilościowego oznaczenia daną metodą analityczną z określoną dokładnością i precyzją [64].

Granice wykrywalności (*LOD*) i granice oznaczalności (*LOQ*) wyznaczono na podstawie analizy próbek ślepych i obliczono wg wzorów 1 i 2:

$$LOD = \bar{x} + 3 SD \quad (1)$$

$$LOQ = \bar{x} + 6 SD \quad (2)$$

w których: \bar{x} – średnia zawartość analitu w próbkach, a *SD* – odchylenie standardowe dla dwudziestu pomiarów obliczone wg wzoru 3:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (3)$$

w którym: *x* – zawartość analitu w próbce, \bar{x} – średnia zawartość analitu w próbkach, a *n* – ilość próbek poddanych badaniu.

Zakres liniowości to przedział zawartości analitu, w którym sygnał wyjściowy urządzenia pomiarowego jest proporcjonalny do sygnału uzyskanego dla próbki badanej [64]. Parametrem charakteryzującym zakres liniowości krzywej wzorcowania jest współczynnik regresji liniowej, którego wartość nie powinna być mniejsza niż 0,995. Określając zakresy liniowości krzywych wzorcowania należy również wyznaczyć średnie wartości współczynników: *a* – przesunięcia, *b* – nachylenia (czułość metody) oraz *v* – zmienności wzorcowania.

Zakres pomiarowy (roboczy) to przedział między najniższym (z reguły 0,1 krotność najwyższego dopuszczalnego stężenia lub spodziewanej zawartości oznaczanego pierwiastka w próbce), a najwyższym (z reguły 2 krotność najwyższego dopuszczalnego stężenia lub spodziewanej zawartości oznaczanego pierwiastka w próbce) stężeniem, jakie można oznaczyć za pomocą danej metody pomiarowej z określoną precyzją i dokładnością w zakresie liniowości krzywej wzorcowania [65]. Jednym ze sposobów określenia zakresów pomiarowych metody jest analiza odzysków próbek wzbogacanych dodatkiem roztworów wzorcowych oznaczanych pierwiastków na trzech różnych poziomach.

Czułość metody to najmniejsza różnica zawartości analitu, jaka może być stwierdzona za pomocą danej metody [64]. Określa zmianę sygnału analitycznego spowodowaną zmianą stężenia analitu – im większa zmiana sygnału przy małej zmianie stężenia analitu, tym większa czułość metody.

Powtarzalność to precyzja wyników uzyskanych w tych samych warunkach pomiarowych (jeden analityk, jeden przyrząd pomiarowy, jedno laboratorium), **precyzja pośrednia** to precyzja wyników uzyskanych w różnych warunkach pomiarowych (różni analitycy, jeden przyrząd pomiarowy, jedno laboratorium), natomiast **odtworzalność** to

precyzja wyników uzyskanych przez różnych analityków w różnych laboratoriach przy zastosowaniu tej samej metody i wykorzystaniu różnych przyrządów pomiarowych. Miarą powtarzalności / precyzji pośredniej / odtwarzalności jest względne odchylenie standardowe RSD [64], wykorzystywane do wyznaczania granicy powtarzalności, tj. maksymalnej dopuszczalnej różnicy pomiędzy pojedynczymi wynikami oznaczeń. Powtarzalność / precyzja pośrednia wyrażana jest często współczynnikiem zmienności obliczanym ze wzoru 4:

$$CV = RSD \times 100 \% \quad (4)$$

w którym: RSD – względne odchylenie standardowe powtarzalności ($\frac{SD}{\bar{x}}$), SD – odchylenie standardowe powtarzalności, \bar{x} – średnia zawartość oznaczanego pierwiastka.

Parametrem charakteryzującym powtarzalność jest granica powtarzalności obliczana ze wzoru 5:

$$R = t(P, f)\sqrt{2} \times SD \quad (5)$$

w którym: t – wartość wynikająca z rozkładu t - Studenta dla f stopni swobody i określonego poziomu ufności; dla $P = 95 \%$ $t = 2$, SD – odchylenie standardowe powtarzalności.

Poprawność metody to stopień zgodności wyniku oznaczenia jako wartości średniej obliczonej na podstawie serii pomiarów z wartością oczekiwaną [64]. Miarą poprawności metody jest odzysk substancji badanej obliczany wg wzoru 6:

$$f = \frac{x_m - x_z}{x_d} \quad (6)$$

w którym x_m – stężenie analitu zmierzone w próbce rzeczywistej, x_z – stężenie analitu zmierzone w próbce niewzbogaconej, a x_d – stężenie analitu dodanego do próbki rzeczywistej.

Niepewność pomiaru jest parametrem związanym z wynikiem pomiaru określającym przedział wokół wartości średniej, w którym z założonym prawdopodobieństwem może znaleźć się wartość oczekiwana [64].

Standardowa niepewność pomiaru jest parametrem określającym przedział wokół wartości przyjętej, najczęściej średniej, w którym na danym poziomie prawdopodobieństwa można się spodziewać wystąpienia wartości oczekiwanej, wyrażonym odchyleniem standardowym [64].

Złożona standardowa niepewność pomiaru (U_c) to standardowa niepewność pomiaru, której wartość obliczana jest z uwzględnieniem niepewności parametrów mających wpływ na wynik analizy związanych np. z dokładnością przyrządów pomiarowych,

wzorcowaniem przyrządów pomiarowych, odzyskiem substancji badanej, precyzją oznaczeń, itp., z zastosowaniem prawa propagacji niepewności. Wartość liczbowa złożonej standardowej niepewności pomiaru obliczana jest wg wzoru 7:

$$U_c = \sqrt{u_{pp}^2 + u_{kal}^2 + u_{odz}^2 + u_{CRM}^2 + \dots} \quad (7)$$

w którym: u_{pp} – niepewność standardowa pomiaru związana z dokładnością przyrządów pomiarowych, u_{kal} – niepewność standardowa pomiaru związana z wzorcowaniem przyrządów pomiarowych, u_{odz} – niepewność standardowa pomiaru związana z odzyskiem substancji badanej, u_{CRM} – niepewność standardowa pomiaru związana z precyzją oznaczeń w próbkach certyfikowanego matrycowego materiału odniesienia.

Rozszerzona standardowa niepewność pomiaru (U) to wielkość określająca przedział wokół uzyskanego wyniku analizy, w którym można z określonym prawdopodobieństwem spodziewać się wystąpienia wartości oczekiwanej, obliczana ze wzoru 8:

$$U = k \times U_c \quad (8)$$

w którym: U_c – złożona standardowa niepewność pomiaru, k – współczynnik rozszerzenia, wartość liczbowa uzależniona od przyjętego poziomu prawdopodobieństwa; dla najczęściej zakładanego poziomu ufności 95 % wartość $k = 2$.

Do opracowania danych uzyskanych na etapie walidacji metody wykorzystywanych jest szereg testów statystycznych.

Poliana M. dos Santos i wsp. do oceny statystycznej stężeń Na i Ca w mleku czystym i zafałszowanym wykorzystując parzysty test – t wykazali skuteczność metody w identyfikacji zafałszowanych próbek mleka, znaczące różnice w zawartości Ca i Na uzyskano tylko dla wybranych poziomów zafałszowania [24].

Laurent Noël i wsp. analizując wyniki badań biegłości zorganizowanych przez niemieckie laboratorium Kempten Muva w zakresie oznaczania zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu w próbkach mleka w proszku, sera topionego, odtłuszczonego mleka w proszku i kazeiny obliczyli względne odchylenia standardowe powtarzalności i odtwarzalności dla każdego rodzaju próbki wykorzystując testy Cochran'a i Grubbsa do usunięcia wyników odbiegających. Wyniki badań uzyskane przez wszystkie laboratoria były jednorodne, nie wykazywały znaczących różnic statystycznych. Nie zaobserwowano również wpływu techniki mineralizacji na wyniki badań ze statystycznego punktu widzenia [10].

Wellington da Silva Lyra i wsp. do oceny statystycznej uzyskanych wyników badań oznaczania sodu i wapnia w mleku w proszku metodą emisyjnej spektrometrii

plomieniowej przy wykorzystaniu obrazu cyfrowego (DIB-FES) zastosowali dwustronny test – *t*. Obliczone wartości względnego odchylenia standardowego były mniejsze niż w przypadku metody referencyjnej – FAAS. Dokładność metody potwierdzono niskimi wartościami średniokwadratowego błędu prognozy oraz odzyskiem substancji badanej na poziomie 98 i 103% [66].

M.B. Petrovich i wsp. do porównania różnych procedur przygotowania do badań próbek mleka i próbek certyfikowanych materiałów odniesienia wykorzystali dwustronny test – *t*. Wyniki uzyskane w dwóch standardowych materiałach odniesienia były porównywalne z wartościami certyfikowanymi przy poziomie ufności 95 %. Odzysk substancji badanych mieścił się w zakresie 93 % ÷ 116 %. Granice wykrywalności i oznaczalności dla Ca wyniosły odpowiednio 0.09 mg/l i 0.30 mg/l [49].

S. Ž. Kravić i wsp. do statystycznej oceny wyników oznaczania zawartości wapnia, sodu i potasu przy zastosowaniu fotometru plomieniowego w próbkach przygotowanych dwoma metodami tj. metodą bezpośrednią po zhomogenizowaniu próbki i przy zastosowaniu zmodyfikowanej metody Blay – Simpson zastosowali dwustronny test – *t*. Różnice pomiędzy wartościami otrzymanymi dla próbek przygotowanych do badań dwoma sposobami mieściły się w granicach błędu doświadczalnego przy poziomie ufności 95 % [43].

C.V.S. Ieggia i wsp. w celu potwierdzenia możliwości wykorzystania przygotowanych emulsji próbek całych jaj kurzych do rutynowego oznaczania Na, K, Ca, Mg, Zn i Fe przeprowadzili walidację metody. Zakresem walidacji objęli ocenę liniowości krzywych wzorcowania, dokładność i precyzję wykonywanych oznaczeń. Dokładność metody została dodatkowo potwierdzona przez oznaczenie pierwiastków w CRM – proszku jajecznym. Opracowanie statystyczne za pomocą *t* – testu wykazało brak znaczącej różnicy pomiędzy wartościami uzyskanymi laboratoryjnie i wartościami certyfikowanymi. Precyzję określono analizując powtarzalność (precyzję jednodniową) i precyzję pośrednią (precyzję wielodniową). Obliczone wartości *RSD* były prawidłowe dla wszystkich analizowanych pierwiastków. Ocena precyzji pośredniej przy zastosowaniu *F* – testu wykazała brak znaczącej różnicy między wynikami otrzymanymi w kolejnych dniach (obliczone wartości *F* były niższe od wartości *F* – tabelarycznych) [25].

O.M. Hernández i wsp. zawartość składników mineralnych w miodzie skorelowali z miejscem jego pochodzenia przy zastosowaniu różnych technik statystycznych, w tym głównie analizy głównych składowych (PCA), metody najmniejszych kwadratów – regresji liniowej (PLS), sieci neuronowych, analizy skupień, liniowej analizy

dyskryminacyjnej (LDA), algorytmu K najbliższych sąsiadów (KNN) i/lub techniki modelowania indywidualnych grup (SIMCA) [67,68,69]. Charakterystykę metody oparto na analizie skupień głównych składników, często używanej do przeszukiwania danych pozwalających na grupowanie próbek oraz klasyfikacji w analizie dyskryminacyjnej i regresji logistycznej. Analiza wielu zmiennych dotyczyła dwóch różnych grup: jednej, obejmującej Fe, Zn i Li i drugiej, obejmującej Cu, K, Na, Mg, Ca i Sr i wykazała potencjalny związek pomiędzy tymi dwoma grupami zmiennych i pochodzeniem próbek. Analiza głównych składowych oraz analiza skupień wykazała, że próbki miodu kanaryjskiego można identyfikować na podstawie zawartości w nich Na, K, Sr, Mg, Ca i Cu. Analiza dyskryminacyjna i analiza logistycznej regresji również pozwoliła na odróżnienie miodu kanaryjskiego od niepochodzącego z Wysp na podstawie oznaczenia w próbkach zawartości badanych metali [27].

C.V.S. Ieggli i wsp. metodę oznaczania zawartości Na, K, Ca, Mg, Zn i Fe w próbkach różnych gatunków czekolad poddanych bezpośredniemu emulgowaniu ze środkami powierzchniowo czynnymi poddali walidacji, której zakresem objęli liniowość krzywych wzorcowania, dokładność i precyzję. Dokładność metody została dodatkowo potwierdzona przez analizę CRM – SRM 2384 Baking Chocolate (NIST). Statystyczne opracowanie danych nie wykazało znaczącej różnicy pomiędzy wartościami oznaczonymi laboratoryjnie, a wartościami certyfikowanymi. Precyzję określono oceniając powtarzalność (precyzję jednodniową) i precyzję pośrednią (wielodniową). Opracowanie statystyczne za pomocą t – testu wykazało, że nie było znaczącej różnicy pomiędzy wartościami uzyskanymi laboratoryjnie i wartościami certyfikowanymi [28].

Małgorzata Misztal – Szkudlińska i wsp. do analiz statystycznych wyników oznaczeń zawartości wapnia w gotowych produktach spożywczych przeznaczonych dla małych dzieci wykorzystali programy komputerowe STATISTICA 10 oraz Graph Pad Prism. W celu stwierdzenia bądź wykluczenia istnienia różnic istotnych statystycznie w wynikach oznaczeń wapnia w różnych grupach produktów zastosowano testy nieparametryczne ANOVA *Kruskalla–Walisa*, test post-hoc *Dunna* oraz test *U Manna–Withney’a*. W wyniku przeprowadzonej analizy stwierdzono istotne różnice zawartości wapnia pomiędzy próbkami środków spożywczych przeznaczonych dla małych dzieci w różnych kategoriach wiekowych. Najwyższe stężenia oznaczanego pierwiastka stwierdzono w produktach mlecznych należących do grup twarożków, jogurczków smakowych i deserów mlecznych. Produkty mleczne przeznaczone dla małych dzieci charakteryzowały się najwyższym procentem realizacji obowiązujących norm żywienia. Poprawność

przeprowadzonych badań oceniono na podstawie wyników oznaczeń uzyskanych dla dwóch certyfikowanych materiałów odniesienia, BCR 063R i BCR 380R, dla których odzysk wyniósł odpowiednio 101 i 110 % [29].

A. Witczak i A. Jarnuszewska poprawność zastosowanej metody analitycznej (analizy zawartości Mg, Ca, K i Na w mieszankach modyfikowanych przeznaczonych dla niemowląt i małych dzieci poddanych mineralizacji mikrofalowej przy zastosowaniu emisyjnej spektrometrii atomowej w plazmie indukcyjnie sprzężonej ICP-AES) oceniły na podstawie analizy odzysku certyfikowanego materiału odniesienia Fish-Paste-2 (Quality Control Reference Material LGCQ1005). Na podstawie wyników badań mleka przeznaczonego dla niemowląt od 0 do 6 miesięcy stwierdzono przekroczenie podaży w porównaniu z wartością zalecaną w przypadku wszystkich czterech oznaczanych pierwiastków. Badania wykazały, że mieszanki przeznaczone dla dzieci w wieku od 6 do 12 miesięcy, podawane zgodnie z zaleceniami producentów, nie pokrywają dziennego zalecanego spożycia. Zawartość analizowanych pierwiastków w sztucznych mieszankach mlecznych była prawie dwukrotnie mniejsza w porównaniu z mlekiem kobiecym [33].

Brandao i wsp. precyzję metody oznaczania zawartości wapnia i magnezu w produktach mlecznych przy wykorzystaniu wysokorozdzielczego spektrometru absorpcji atomowej z ciągłym źródłem promieniowania (HF-CS-FAAS) ocenili w warunkach powtarzalności i odtwarzalności na podstawie wartości względnych odchyłeń standardowych. Dokładność metody została potwierdzona przez analizę certyfikowanego materiału odniesienia, beztłuszczowego mleka w proszku. Wyniki badań uzyskane dla próbek mleka w proszku i w płynie oraz jogurtu poddanych analizie bezpośredniej lub po uprzedniej mineralizacji nie wykazały istotnych różnic [30].

7. Wpływ rodzaju matrycy na oznaczanie zawartości składników mineralnych

Żywność jest bardzo złożoną matrycą, składającą się w przeważającej części ze składników organicznych mogących przysparzać wielu problemów analitycznych.

W celu zmniejszenia efektów matrycowych w przypadku analizy próbek mleka stosuje się szereg procedur przygotowania próbek, z których większość obejmuje etap mineralizacji [70,71].

Prosta technika oznaczania sodu i wapnia w mleku w proszku techniką (FES) przy wykorzystaniu obrazu cyfrowego (DIB-FES) zaproponowana przez Wellingtona da Silva

Lyra i wsp. [35,36] również nie była wolna od zakłóceń matrycowych i spektralnych, związanych przede wszystkim z oznaczaniem sodu w obecności wapnia. Problem zakłóceń widmowych został wyeliminowany przez zastosowanie wielowymiarowej kalibracji MLR (metody najmniejszych kwadratów), a dodanie środka zapobiegającego chelatowaniu wapnia pozwoliło na uniknięcie emisji w wyniku spalania materii organicznej w płomieniu palnika. Zazwyczaj producenci spektrofotometrów absorpcji atomowej i fotometrów płomieniowych zalecają używanie soli lantanu lub soli strontu jako modyfikatorów matrycy w przypadku oznaczania wapnia, jednak w metodzie DIB-FES nie mogą być one stosowane ponieważ emitują promieniowanie widzialne po wzbudzeniu w atmosferze powietrze – butan. Alternatywą jest zastosowanie substancji kompleksujących, zdolnych do reagowania z analitem i wytworzenia bardziej stabilnego i łatwo ulegającego rozkładowi w płomieniu kompleksu. W przypadku oznaczania większości pierwiastków zalecane jest stosowanie EDTA w postaci soli disodowej di-hydratu oraz w postaci wolnego kwasu. Wyniki badań porównano z wynikami uzyskanymi metodą odniesienia (FAAS) [48].

O.M. Hernández i wsp. oznaczali pierwiastki Na, K, Ca, Mg, Sr, Fe, Cu, Zn, Li i Rb w próbkach miodu metodą FAAS. Oznaczanie Ca i Mg tą metodą jest zazwyczaj związane z pewnymi zakłóceniami, których można uniknąć poprzez zastosowanie wyższej energii płomienia dla Ca i dodatku La_2O_3 jako czynnika uwalniającego jony Mg^{2+} . Oznaczanie Na, K, Li i Rb przy użyciu tej techniki jest związane z zakłóceniami jonizacji, które pociągają za sobą konieczność stosowania substancji tłumiących – próbki, w których oznaczano Na, Li, Rb zmodyfikowano dodatkiem KCl i wykorzystano do oznaczenia potasu [27].

C.V.S. Ieggli i wsp. opracowali metodę oznaczania zawartości Na, K, Ca, Mg, Zn i Fe w próbkach różnych gatunków czekolad poddanych bezpośredniemu emulgowaniu ze środkami powierzchniowo czynnymi. Warunkiem uzyskania miarodajnych wyników badań była stabilność zoptymalizowanych emulsji, którą monitorowano przez pomiar grawitacyjnego rozdzielania faz. Emulsje próbek przygotowane do oznaczania metodą FAAS musiały spełniać pewne kryteria, m.in. zawierać tylko elementy konieczne do ustabilizowania próbki tj. próbkę, środek powierzchniowo czynny, wodę oraz, jeśli to konieczne, dodatkowy składnik olejowy, powinny być stabilne w czasie pozwalającym na zakończenie procedury oznaczania, mieć niską lepkość umożliwiającą prawidłową aspirację próbki [28].

8. Tezy i cel pracy

8.1. Tezy pracy

Na podstawie analizy wyników wieloletnich badań oraz przeprowadzonego przeglądu dostępnej literatury sformułowano tezy pracy:

- oznaczone zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach rzeczywistych żywności należących do różnych grup produktów spożywczych poddanych suchemu spopieleniu i zmineralizowanych mikrofalowo wykazują zbliżone wartości,
- parametry walidacyjne metody wyznaczone na podstawie analizy certyfikowanego matrycowego materiału odniesienia i próbek rzeczywistych fortyfikowanych dodatkiem roztworów wzorcowych oznaczanych pierwiastków, poddanych suchemu spopieleniu i zmineralizowanych mikrofalowo mieszczą się w założonych kryteriach,
- na wyznaczone wartości parametrów walidacyjnych metody w obu przypadkach mineralizacji mają wpływ stan skupienia analizowanych matryc, wielkość odważki, zawartość oznaczanych pierwiastków w próbkach badanych i poziom wzbogacenia próbek.

8.2. Cel i zakres pracy

Głównym celem pracy było określenie wpływu zastosowanych warunków mineralizacji na wyniki analiz przeprowadzonych metodą płomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej (FAAS), co wiązało się z:

- oznaczeniem zawartości wybranych składników mineralnych w próbkach rzeczywistych żywności należących do różnych grup produktów spożywczych poddanych suchemu spopieleniu i zmineralizowanych mikrofalowo,
- wyznaczeniem podstawowych parametrów walidacyjnych metody na podstawie analizy certyfikowanego matrycowego materiału odniesienia i próbek rzeczywistych fortyfikowanych dodatkiem roztworów wzorcowych oznaczanych pierwiastków, poddanych suchemu spopieleniu i zmineralizowanych mikrofalowo,
- próbą określenia wpływu stanu skupienia próbek żywności, ich złożoności, wielkości i stopnia jednorodności odważek oraz sposobu mineralizacji na wyniki uzyskanych badań.

Hipotetycznie założono, że:

- granice wykrywalności i oznaczalności oraz wartości współczynników odzysku wyznaczone na podstawie analizy próbek rzeczywistych żywności przy zastosowaniu różnych technik mineralizacji mają zbliżoną wartość,
- granice oznaczalności oznaczanych pierwiastków, uzyskane przy zastosowaniu różnych technik mineralizacji nie przekraczają założonej wartości 1,5 mg / l,
- na obliczone wartości współczynników odzysku ma wpływ poziom wzbogacenia uzależniony od poziomu zawartości oznaczanych pierwiastków w badanych próbkach rzeczywistych,
- wartości współczynników odzysku wyznaczone na podstawie równoległych analiz próbek rzeczywistych i fortyfikowanych dodatkiem roztworów wzorcowych oznaczanych pierwiastków zmineralizowanych przy zastosowaniu różnych technik mineralizacji mieszczą się w granicach $0,8 \div 1,2$,
- wartości średnich współczynników odzysku wyznaczone na podstawie równoległych analiz próbek rzeczywistych i fortyfikowanych dodatkiem roztworów wzorcowych oznaczanych pierwiastków mieszczą się w granicach $0,9 \div 1,1$,
- wartości precyzji wyznaczone na podstawie równoległych analiz próbek certyfikowanego matrycowego materiału referencyjnego zmineralizowanych przy zastosowaniu różnych technik mineralizacji nie przekraczają 10 %,
- oszacowana na podstawie badań rozszerzona standardowa niepewność pomiarów dla omawianych technik mineralizacji nie przekracza 20 %,

Wyniki weryfikacji założonych hipotez wymagającej wielokrotnych oznaczeń zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach żywności rzeczywistych i fortyfikowanych dodatkiem roztworów wzorcowych oraz próbkach certyfikowanego matrycowego materiału referencyjnego przedstawiono w dalszej części pracy.

9. Metodyka badań

Zastosowana metoda polegała na suchym spopieleniu w piecu muflowym oraz mineralizacji mikrofalowej próbek i oznaczeniu w nich zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej z zastosowaniem modyfikatorów matrycy, roztworu podstawowego lantanu o stężeniu $c(\text{La}^{3+}) = 50 \text{ g/l}$ i roztworu podstawowego cezu o stężeniu $c(\text{Cs}^{+}) = 40 \text{ g/l}$.

9.1. Wytyczne ogólne

Do oznaczeń zastosowano odczynniki spektralnie czyste. Wszystkie roztwory przygotowano z wykorzystaniem wody pozbawionej oznaczanych pierwiastków, o wysokim stopniu czystości (przewodnictwo właściwe poniżej $0,1 \mu\text{S/cm}$) uzyskanej w systemie odwróconej osmozy firmy EKO – SERWIS Polska. Podczas analiz wykorzystano kolby miarowe, zlewki i szkiełka zegarkowe wykonane ze szkła borokrzemowego, będącego uniwersalnym szkłem laboratoryjnym do wszelkiego rodzaju zastosowań, wykazującego bardzo dobrą odporność chemiczną, termiczną i mechaniczną. Do przygotowania roztworów wzorcowych i fortyfikowania rzeczywistych próbek żywności wykorzystano certyfikowane materiały odniesienia firmy MERCK przeznaczone do AAS.

9.2. Odczynniki i roztwory

Podczas analizy wykorzystano następujące odczynniki i roztwory:

- acetylen rozpuszczony [72],
- podtlenek azotu o czystości $\geq 98,0 \%$ (v/v) w fazie gazowej,
- kwas azotowy o stężeniu $c(\text{HNO}_3) = 65\%$, MERCK,
- kwas chlorowodorowy o stężeniu $c(\text{HCl}) = 37\%$, MERCK,
- nadtlenek wodoru o stężeniu $c(\text{H}_2\text{O}_2) = 30\%$, MERCK,
- roztwór mianowany magnezu $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ w $0,5 \text{ mol/l HNO}_3$ o stężeniu $c(\text{Mg}^{2+}) = 1000 \text{ mg/l}$, MERCK,
- roztwór mianowany wapnia $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ w $0,5 \text{ mol/l HNO}_3$ o stężeniu $c(\text{Ca}^{2+}) = 1000 \text{ mg/l}$, MERCK,

- roztwór mianowany potasu KNO_3 w 0,5 mol/l HNO_3 o stężeniu $c(\text{K}^+) = 1000 \text{ mg/l}$, MERCK,
- roztwór mianowany sodu NaNO_3 w 0,5 mol/l HNO_3 o stężeniu $c(\text{Na}^+) = 1000 \text{ mg/l}$, MERCK,
- chlorek lantanu (III), MERCK,
- chlorek cezu (I), MERCK,
- roztwór podstawowy lantanu $c(\text{La}^{3+}) = 50 \text{ g/l}$,
- roztwór podstawowy cezu $c(\text{Cs}^+) = 40 \text{ g/l}$,
- roztwory do rozcieńczeń mineralizatów próbek, dla których wskazania spektrometru absorpcji atomowej były wyższe od wskazań uzyskanych dla roztworu wzorcowego o najwyższym stężeniu z zakresu krzywej wzorcowania sporządzone zgodnie z tabelą 9.1.

Tabela 9.1. Roztwory stosowane do rozcieńczania mineralizatów próbek

Sposób mineralizacji	Oznaczany pierwiastek	
	Magnez i wapń	Potas i sód
Mineralizacja w piecu muflowym	do kolby miarowej o pojemności 100 ml odmierzone 10 ml roztworu podstawowego lantanu, 4 ml kwasu chlorowodorowego i uzupełniono wodą dejonizowaną do objętości nominalnej	do kolby miarowej o pojemności 100 ml odmierzone 10 ml roztworu podstawowego cezu, 4 ml kwasu chlorowodorowego i uzupełniono wodą dejonizowaną do objętości nominalnej
Mineralizacja mikrofalowa	do kolby miarowej o pojemności 100 ml odmierzone 10 ml roztworu podstawowego lantanu, 10 ml kwasu azotowego i uzupełniono wodą dejonizowaną do objętości nominalnej	do kolby miarowej o pojemności 100 ml odmierzone 10 ml roztworu podstawowego cezu, 10 ml kwasu azotowego i uzupełniono wodą dejonizowaną do objętości nominalnej

9.3. Materiał badawczy

Materiał badawczy stanowiły próbki żywności należące do różnych grup produktów spożywczych, rzeczywiste i fortyfikowane dodatkiem roztworów wzorcowych oznaczanych pierwiastków:

- suplementy diety o niskiej zawartości oznaczanych pierwiastków: tabletki musujące PLUSSSSZ, tabletki musujące Zdrowit MM witaminy i minerały + luteina, tabletki musujące o smaku limonkowo – cytrynowym Vita Plus ISOSPORT,
- suplement diety o wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków – tabletki WMC Wapń-Magnez-Cynk,
- środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego o konsystencji stałej: mleko następne dla niemowląt NAN 2 i kaszka mleczno – ryżowa NESTLE,
- środki specjalnego przeznaczenia żywieniowego o konsystencji płynnej: sok z marchwi i jabłek BOBOFRUT i modyfikowane mleko w płynie dla dzieci powyżej 1. do 3. roku życia Bebiko Junior 3,
- mięso surowe – łopatka wieprzowa bez kości,
- produkty mleczne: mleko Mlekovita Plus 2,0 % tłuszczu i mleko UHT HEJ 2,0 % tłuszczu,
- produkt zbożowy – otręby owsiane,
- owoc świeży – jabłko Kortland,
- napój – napój niegazowany o smaku grejpfrutowym VERONI Mineral,

oraz próbki certyfikowanego matrycowego materiału referencyjnego BCR – 063R Skim Milk Powder IRRM i soku pomarańczowego analizowanego w ramach badań biegłości zorganizowanych przez LGC Standards, Program QBS (Quality In Beverages Scheme), próbka nr 510, runda BV250.

9.4. Mineralizacja próbek

Próbki do badań poddano suchemu spopieleniu w piecu muflowym i mineralizacji mikrofalowej (na mokro). Procedurę postępowania zmodyfikowano na podstawie doniesień literaturowych, badań własnych i Polskich Norm [73÷77]. Dokładny sposób optymalizacji mineralizacji próbek do badań opisano w rozdziale 10.1.2 niniejszej pracy.

9.4.1. Suche spopielenie w piecu muflowym

W przypadku suchego spopielenia odważki próbek, których wielkość uzależniono od stanu skupienia, jednorodności i spodziewanej zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu odważono w parownicy kwarcowej, zwęglono wstępnie na płycie grzewczej, a następnie w piecu do spalań w temperaturze ok. 400°C, po czym mineralizowano w temperaturze

nie wyższej niż 600°C w ciągu 6 – 16 godzin do uzyskania białego lub szarego popiołu. Podstawowe parametry mineralizacji próbek w piecu muflowym przedstawiono w tabeli 9.2.

Tabela 9.2. Podstawowe parametry mineralizacji próbek w piecu muflowym

Parametr	Etap mineralizacji		
	I	II	III
Temperatura [°C]	150	400	600
Czas [min]	30	15	360 ÷ 960

Po ostudzeniu do powstałych popiołów dodano 5 ml 37 % kwasu chlorowodorowego i zawartości parownic odparowano na wrzącej łaźni wodnej. Następnie dodano 4 ml w/w kwasu i ogrzewano pod szkiełkiem zegarkowym w ciągu 5 minut. Pozostałości rozpuszczono w wodzie dejonizowanej, przeniesiono ilościowo do kolb miarowych o pojemności 100 ml, dodano 10 ml roztworu podstawowego lantanu w przypadku oznaczania zawartości wapnia i magnezu lub 10 ml roztworu podstawowego cezu w przypadku oznaczania zawartości potasu i sodu. Kolby miarowe uzupełniono wodą dejonizowaną do objętości nominalnej. Ponadto z każdą serią analizowanych próbek przygotowano dwie próbki ślepe nie zawierające oznaczanych pierwiastków i postępowano z nimi w sposób opisany powyżej. Analogicznie postępowano również z próbkami fortyfikowanymi dodatkiem roztworów wzorcowych wapnia, magnezu, potasu i sodu. Poziomy wzbogacenia próbek, uzależnione od zawartości oznaczanych pierwiastków w badanych próbkach wyniosły od 0,5 mg / l do 200,0 mg / l, od 0,1 mg / l do 150,0 mg / l, od 0,5 mg / l do 200,0 mg / l i od 0,1 mg / l do 200,0 mg / l odpowiednio dla wapnia, magnezu, potasu i sodu.

Szczegółowe zestawienie poziomów wzbogacenia badanych próbek przedstawiono w tabeli 9.3.

Tabela 9.3. Wielkości odważek i poziomy wzbogacenia próbek poddanych suchemu spopieleniu

Rodzaj matrycy	Wielkość odważki [g]	Oznaczany pierwiastek	Poziom wzbogacenia [mg/100g] (% w stosunku do zawartości w próbce)		
			I	II	III
Suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków	0,05	Wapń	1000 mg/100g (39 %)	8000 mg/100g (311 %)	20000 mg/100g (776 %)
		Magnez	400 mg/100g (56 %)	2000 mg/100g (278 %)	4000 mg/100g (556 %)
		Potas	400 mg/100g (47 %)	2000 mg/100g (234 %)	4000 mg/100g (468 %)
		Sód	1000 mg/100g (14 %)	20000 mg/100g (284 %)	40000 mg/100g (568 %)
Suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków	0,05	Wapń	1000 mg/100g (4 %)	20000 mg/100g (82 %)	40000 mg/100g (164 %)
		Magnez	400 mg/100g (4 %)	10000 mg/100g (108 %)	30000 mg/100g / (323 %)
		Potas	—	—	—
		Sód	—	—	—
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna	1,00	Wapń	5 mg/100g (50 %)	50 mg/100g (500 %)	100 mg/100g (1000 %)
		Magnez	7 mg/100g (117 %)	35 mg/100g (583 %)	63 mg/100g (1050 %)
		Potas	50 mg/100g (53 %)	200 mg/100g (213 %)	300 mg/100g (319 %)
		Sód	5 mg/100g (21 %)	100 mg/100g (417 %)	200 mg/100g (833 %)
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała	0,10	Wapń	50 mg/100g (10 %)	1000 mg/100g (196 %)	2000 mg/100g (393 %)
		Magnez	70 mg/100g (113 %)	350 mg/100g (565 %)	700 mg/100g (1129 %)
		Potas	500 mg/100g (54 %)	2000 mg/100g (218 %)	3000 mg/100g (326 %)
		Sód	20 mg/100g (9 %)	500 mg/100g (236 %)	1000 mg/100g (472 %)

Tabela 9.3. Wielkości odważek i poziomy wzbogacenia próbek poddanych suchemu spopieleniu – c.d.

Rodzaj matrycy	Wielkość odważki [g]	Oznaczany pierwiastek	Poziom wzbogacenia [mg/100g] (% w stosunku do zawartości w próbce)		
			I	II	III
Mięso surowe	0,50	Wapń	10 mg/100g (91 %)	100 mg/100g (909 %)	1000 mg/100g (9091 %)
		Magnez	10 mg/100g (29 %)	100 mg/100g (1294 %)	500 mg/100g (1471 %)
		Potas	50 mg/100g (12 %)	1000 mg/100g (235 %)	2000 mg/100g (470 %)
		Sód	20 mg/100g (2 %)	1000 mg/100g (81 %)	2000 mg/100g (162 %)
Produkt mleczny	1,00	Wapń	150 mg/100g (119 %)	750 mg/100g (595 %)	1350 mg/100g (1071 %)
		Magnez	10 mg/100g (83 %)	100 mg/100g (833 %)	1000 mg/100g (8333 %)
		Potas	20 mg/100g (16 %)	200 mg/100g (160 %)	2000 mg/100g (1600 %)
		Sód	20 mg/100g (41 %)	200 mg/100g (408 %)	2000 mg/100g (4082 %)
Produkt zbożowy	0,50	Wapń	100 mg/100g (21 %)	1000 mg/100g (205 %)	2000 mg/100g (411 %)
		Magnez	10 mg/100g (7 %)	1000 mg/100g (654 %)	2000 mg/100g (1307 %)
		Potas	100 mg/100g (20 %)	1000 mg/100g (200 %)	2000 mg/100g (398 %)
		Sód	10 mg/100g (1000 %)	100 mg/100g (10000 %)	1000 mg/100g (100000 %)
Owoc świeży	1,00	Wapń	5 mg/100g (83 %)	250 mg/100g (4167 %)	500 mg/100g (8333 %)
		Magnez	10 mg/100g (200 %)	100 mg/100g (2000 %)	250 mg/100g (5000 %)
		Potas	50 mg/100g (59 %)	500 mg/100g (588 %)	1000 mg/100g (1176 %)
		Sód	10 mg/100g	250 mg/100g	500 mg/100g
Napój	1,00	Wapń	5 mg/100g (71 %)	50 mg/100g (714 %)	100 mg/100g (1429 %)
		Magnez	1 mg/100g (17 %)	200 mg/100g (3333 %)	500 mg/100g (8333 %)
		Potas	5 mg/100g (500 %)	250 mg/100g (25000 %)	500 mg/100g (50000 %)
		Sód	1 mg/100g (100 %)	500 mg/100g (50000 %)	1000 mg/100g (100000 %)

9.4.2. Mineralizacja mikrofalowa

W przypadku mineralizacji mikrofalowej odważki próbek, których wielkość uzależniono od stanu skupienia, jednorodności i spodziewanej zawartości składników mineralnych przeniesiono ilościowo do naczyń ciśnieniowych przy użyciu 10 ml 65 % kwasu azotowego i dodano 2 ml 30 % nadtlenu wodoru. Tak przygotowane próbki macerowano w ciągu jednej godziny, po czym zmineralizowano programując warunki pracy mineralizatora zamieszczone w tabeli 9.4.

Tabela 9.4. Podstawowe parametry mineralizacji próbek poddanych mineralizacji mikrofalowej.

Parametr	Etap mineralizacji				
	I	II	III	IV	V
Temperatura [°C]	130	200	100	100	100
Ciśnienie [bar]	24	30	20	20	20
Czas [min]	10	20	14	3	3
Czas narastania temperatury [min]	2	2	2	2	2
Moc [%]	40	40	10	10	10

Po zakończeniu mineralizacji zawartości naczyń ciśnieniowych przeniesiono przy użyciu wody dejonizowanej do kolb miarowych o pojemności 100 ml, dodano 10 ml roztworu podstawowego lantanu w przypadku oznaczania zawartości wapnia i magnezu lub 10 ml roztworu podstawowego cezu w przypadku oznaczania zawartości potasu i sodu. Kolby miarowe uzupełniono wodą dejonizowaną do objętości nominalnej. Ponadto z każdą serią analizowanych próbek przygotowano dwie próbki ślepe nie zawierające oznaczanych pierwiastków i postępowano z nimi w sposób opisany powyżej. Analogicznie postępowano również z próbkami fortyfikowanymi dodatkiem roztworów wzorcowych wapnia, magnezu, potasu i sodu. Poziomy wzbogacenia próbek, uzależnione od zawartości oznaczanych pierwiastków w badanych próbkach wyniosły od 0,1 mg / l do 100,0 mg / l, od 0,1 mg / l do 50,0 mg / l, od 0,1 mg / l do 50,0 mg / l i od 0,1 mg / l do 50,0 mg / l odpowiednio dla wapnia, magnezu, potasu i sodu.

Szczegółowe zestawienie poziomów wzbogacenia badanych próbek przedstawiono w tabeli 9.5.

Tabela 9.5. Wielkości odważek i poziomy wzbogacenia próbek poddanych mineralizacji mikrofalowej

Rodzaj matrycy	Wielkość odważki [g]	Oznaczany pierwiastek	Poziomy wzbogacenia [mg/100g] (% w stosunku do zawartości w próbce)		
			I	II	III
Suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków	0,025	Wapń	3000 mg/100g (64 %)	10000 mg/100g (215 %)	20000 mg/100g (429%)
		Magnez	400 mg/100g (35 %)	4000 mg/100g (346 %)	10000 mg/100g (865 %)
		Potas	2000 mg/100g (252 %)	10000 mg/100g (1258 %)	20000 mg/100g (2516 %)
		Sód	2000 mg/100g (28 %)	10000 mg/100g (140 %)	20000 mg/100g (279 %)
Suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków	0,025	Wapń	10000 mg/100g (4 %)	20000 mg/100g (73 %)	40000 mg/100g (145 %)
		Magnez	2000 mg/100g (20 %)	10000 mg/100g (100 %)	20000 mg/100g (200 %)
		Potas	—	—	—
		Sód	—	—	—
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna	0,1	Wapń	50 mg/100g (61 %)	1000 mg/100g (1220 %)	2000 mg/100g (2439 %)
		Magnez	10 mg/100g (143 %)	250 mg/100g (3571 %)	500 mg/100g (7143 %)
		Potas	100 mg/100g (85 %)	1000 mg/100g (847 %)	2000 mg/100g (1695%)
		Sód	50 mg/100g (122 %)	500 mg/100g (1220 %)	1000 mg/100g (2439 %)
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała	0,1	Wapń	50 mg/100g (10 %)	1000 mg/100g (191 %)	2000 mg/100g (382 %)
		Magnez	10 mg/100g (83 %)	250 mg/100g (2083 %)	500 mg/100g (4167 %)
		Potas	100 mg/100g (18 %)	1000 mg/100g (175 %)	2000 mg/100g (351%)
		Sód	50 mg/100g (10 %)	500 mg/100g (191 %)	1000 mg/100g (382 %)

Tabela 9.5. Wielkości odważek i poziomy wzbogacenia próbek poddanych mineralizacji mikrofalowej – c.d.

Rodzaj matrycy	Wielkość odważki [g]	Oznaczany pierwiastek	Poziomy wzbogacenia [mg/100g] (% w stosunku do zawartości w próbce)		
			I	II	III
Mięso surowe	0,1	Wapń	10 mg/100g (71 %)	1000 mg/100g (7143 %)	2000 mg/100g (14286 %)
		Magnez	10 mg/100g (31 %)	500 mg/100g (1563 %)	1000 mg/100g (3125 %)
		Potas	20 mg/100g (5 %)	1000 mg/100g (233 %)	2000 mg/100g (465 %)
		Sód	20 mg/100g (38 %)	1000 mg/100g (1887 %)	2000 mg/100g (3774 %)
Produkt mleczny	0,25	Wapń	100 mg/100g (100 %)	1000 mg/100g (1000 %)	2000 mg/100g (2000 %)
		Magnez	10 mg/100g (83 %)	1000 mg/100g (8340 %)	2000 mg/100g (16667 %)
		Potas	10 mg/100g (8 %)	1000 mg/100g (763%)	2000 mg/100g (1527 %)
		Sód	10 mg/100g (17 %)	1000 mg/100g (1724%)	2000 mg/100g (3448 %)
Produkt zbożowy	0,1	Wapń	150 mg/100g (30 %)	1000 mg/100g (199 %)	2000 mg/100g (398 %)
		Magnez	50 mg/100g (33 %)	1000 mg/100g (667 %)	2000 mg/100g (1333 %)
		Potas	100 mg/100g (21 %)	1000 mg/100g (207 %)	2000 mg/100g (414 %)
		Sód	20 mg/100g	1000 mg/100g	2000 mg/100g
Owoc świeży	0,1	Wapń	10 mg/100g (111 %)	250 mg/100g (2778 %)	500 mg/100g (5556 %)
		Magnez	10 mg/100g (250 %)	250 mg/100g (6250 %)	500 mg/100g (12500 %)
		Potas	50 mg/100g (53 %)	500 mg/100g (532 %)	1000 mg/100g (1064 %)
		Sód	10 mg/100g (1000 %)	250 mg/100g (25000 %)	500 mg/100g (50000 %)
Napój	1,0	Wapń	1 mg/100g (14 %)	25 mg/100g (357 %)	50 mg/100g (714 %)
		Magnez	1 mg/100g (17 %)	25 mg/100g (417 %)	50 mg/100g (833 %)
		Potas	1 mg/100g (100 %)	25 mg/100g (2500 %)	50 mg/100g (5000 %)
		Sód	1 mg/100g (50 %)	25 mg/100g (1250 %)	50 mg/100g (2500 %)

9.5. Krzywe wzorcowania

W celu wykonania oznaczeń zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu w próbkach żywności przygotowano ośmio – lub sześciopunktowe krzywe wzorcowania. Dla każdego z przygotowanych roztworów wzorcowych, odpowiadających określonym poziomom stężeń, wykonano po 3 równoległe pomiary absorbancji po ustawieniu zera na próbkę odczynnikową, nie zawierającą oznaczanego pierwiastka i wyznaczono równania krzywych wzorcowania. Wartości długości fali, przy których wykonano oznaczenia dla poszczególnych pierwiastków przedstawiono w tabeli 9.6.

Tabela 9.6. Warunki pracy spektrometru absorpcji atomowej

Rodzaj spektrofotometru	Oznaczany pierwiastek	Długość fali [nm]
SOLAAR M Series	Wapń	422,7
	Magnez	285,2
	Potas	766,5
	Sód	589,0

Krzywą wzorcowania do oznaczania zawartości wapnia przygotowano odmierając do kolb miarowych o pojemności 100 ml następujące ilości roztworu roboczego wapnia o stężeniu $c(\text{Ca}^{2+}) = 10 \text{ mg/l}$: 0,00; 0,50; 1,00; 5,00; 10,00 i 20,00 ml. Do każdej kolby dodano 10 ml roztworu podstawowego lantanu o stężeniu 50 g/l, a następnie 4 ml kwasu chlorowodorowego o stężeniu 37 % w przypadku oznaczania zawartości wapnia w próbkach poddanych suchemu spopieleniu lub 10 ml kwasu azotowego o stężeniu 65 % w przypadku oznaczania zawartości wapnia w próbkach zmineralizowanych mikrofalowo i uzupełniono wodą dejonizowaną do objętości nominalnej. Tak przygotowane roztwory wzorcowe zawierały odpowiednio następujące stężenia wapnia: 0,00; 0,05; 0,10; 0,50; 1,00 i 2,00 mg/l.

Krzywą wzorcowania do oznaczania zawartości magnezu przygotowano odmierając do kolb miarowych o pojemności 100 ml następujące objętości roztworu roboczego magnezu o stężeniu $c(\text{Mg}^{2+}) = 10 \text{ mg/l}$: 0,00; 0,50; 3,00; 5,00; 8,00 i 10,00 ml. Do każdej kolby dodano 10 ml roztworu podstawowego lantanu o stężeniu 50 g/l, a następnie 4 ml kwasu chlorowodorowego o stężeniu 37 % w przypadku oznaczania zawartości wapnia w próbkach poddanych suchemu spopieleniu lub 10 ml kwasu azotowego o stężeniu 65 %

w przypadku oznaczania zawartości wapnia w próbkach zmineralizowanych mikrofalowo i uzupełniono wodą dejonizowaną do objętości nominalnej. Tak przygotowane roztwory wzorcowe zawierały odpowiednio następujące stężenia magnezu: 0,00; 0,05; 0,30; 0,50; 0,80 i 1,00 mg/l.

Krzywą wzorcowania do oznaczania zawartości potasu przygotowano odmierzając do kolb miarowych o pojemności 100 ml następujące ilości roztworu roboczego potasu o stężeniu $c(K^+) = 10$ mg/l: 0,00; 1,00; 5,00; 10,00; 15,00 i 20,00 ml. Do każdej kolby dodano 10 ml roztworu podstawowego cezu o stężeniu 40 g/l, a następnie 4 ml kwasu chlorowodorowego o stężeniu 37 % w przypadku oznaczania zawartości wapnia w próbkach poddanych suchemu spopieleniu lub 10 ml kwasu azotowego o stężeniu 65 % w przypadku oznaczania zawartości wapnia w próbkach zmineralizowanych mikrofalowo i uzupełniono wodą dejonizowaną do objętości nominalnej. Tak przygotowane roztwory wzorcowe zawierały odpowiednio następujące stężenia potasu: 0,00; 0,10; 0,50; 1,00; 1,50 i 2,00 mg/l.

Krzywą wzorcowania do oznaczania zawartości sodu przygotowano odmierzając do kolb miarowych o pojemności 100 ml następujące ilości roztworu roboczego sodu o stężeniu $c(Na^+) = 10$ mg/l: 0,00; 1,00; 2,00; 4,00; 6,00 i 10,00 ml. Do każdej kolby dodano 10 ml roztworu podstawowego cezu o stężeniu 40 g/l, a następnie 4 ml kwasu chlorowodorowego o stężeniu 37 % w przypadku oznaczania zawartości wapnia w próbkach poddanych suchemu spopieleniu lub 10 ml kwasu azotowego o stężeniu 65 % w przypadku oznaczania zawartości wapnia w próbkach zmineralizowanych mikrofalowo i uzupełniono wodą dejonizowaną do objętości nominalnej. Tak przygotowane roztwory wzorcowe zawierały odpowiednio następujące stężenia sodu: 0,00; 0,10; 0,20; 0,40; 0,60 i 1,00 mg/l.

9.6. Oznaczanie pierwiastków i obliczanie ich zawartości w próbkach

Wykonano po 3 równoległe pomiary absorbancji roztworów przygotowanych mineralizatów próbek, zachowując takie same warunki pomiarowe jakie zastosowano podczas pomiarów absorbancji roztworów wzorcowych dla wapnia, magnezu, potasu i sodu. W przypadku, gdy wskazania spektrometru absorpcji atomowej były wyższe od wskazań uzyskanych dla roztworów wzorcowych o najwyższych stężeniach z zakresów krzywych wzorcowania, mineralizaty rozcieńczono roztworami sporządzonymi zgodnie z tabelą 9.1.

Zawartość wapnia, magnezu, potasu i sodu w próbkach poddanych suchemu spopieleniu i zmineralizowanych techniką mikrofalową obliczono wg wzoru 9:

$$x = \frac{c \times 100}{m} \quad (9)$$

w którym x – zawartość analitu w próbce [mg / 100 g], c – stężenie wapnia, magnezu, potasu i sodu odczytane z krzywej wzorcowania [mg / 100 ml], a m – wielkość odważki próbki [g].

10. Wyniki badań, dyskusja wyników badań

W rozdziale 10.1. opisano optymalizację procedury analitycznej. W rozdziale 10.2. natomiast przedstawiono wyniki oznaczeń zawartości wybranych składników mineralnych w próbkach żywności należących do różnych grup produktów spożywczych, w próbkach certyfikowanego materiału odniesienia BCR – 063R Skim Milk Powder IRRM i próbkach materiału kontrolnego, tj. soku pomarańczowym, poddanych suchemu spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej. Rozdział 10.3. poświęcono omówieniu obliczonych wartości podstawowych parametrów walidacyjnych metody wyznaczonych na podstawie analiz.

10.1. Optymalizacja procedury analitycznej

10.1.1. Optymalizacja wielkości odważki

Wielkość odważki uzależniono od stopnia homogenności badanych próbek i zastosowanego sposobu mineralizacji. Przeprowadzono serię równoległych oznaczeń w próbkach rzeczywistych i wzbogaconych dodatkiem roztworów wzorcowych oznaczanych pierwiastków o różnych wielkościach odważek. Ograniczeniem metody w przypadku mineralizacji mikrofalowej była wielkość odważki nieprzekraczająca wartości 0,3 g próbek w stanie stałym i 1,0 g próbek w stanie płynnym. W przypadku suchego spopielenia próbek uwzględniono fakt, iż im mniejsza ilość próbki tym krótszy proces jej mineralizacji.

Analiza wyników badań odzysku pozwoliła na ustalenie optymalnej wielkości odważki dla każdej z badanych matryc. W przypadku suchego spopielenia próbek wartości odzysku wszystkich oznaczanych pierwiastków zbliżone lub mieszczące się w granicach 90 % ÷ 110 % uzyskano dla odważek o wielkości 0,05 g próbek suplementów diety, 1,0 g próbek środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy płynnej, produktu mlecznego, owocu świeżego i napoju, 0,10 g próbek środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matrycy stałej i 0,50 g próbek mięsa surowego i produktu zbożowego. W przypadku mineralizacji mikrofalowej wielkości odważek, dla których uzyskano zadowalającą wartość odzysku wyniosły odpowiednio: 0,025 g próbek suplementów diety, 0,10 g próbek środków specjalnego przeznaczenia żywieniowego, mięsa surowego, produktu zbożowego i owocu świeżego, 0,25 g produktu mlecznego oraz 1,0 g próbek napoju.

Wyniki badań przedstawiono w tabeli 10.1. zamieszczonej poniżej.

Tabela 10.1. Optymalizacja wielkości odważek badanych matryc na podstawie analizy wyników badań odzysku próbek wzbogaconych na poziomie około 50 % poddanych suchemu spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej

Rodzaj matrycy	Oznaczany pierwiastek	Suche spopielenie			Mineralizacja mikrofalowa		
		Wielkość odważki [g] / wartość odzysku [%]			Wielkość odważki [g] / wartość odzysku [%]		
Suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	0,025 / (86,9)	0,05 / (90,3)	0,1 / (89,8)	0,002 / (85,1)	0,025 / (102,8)	0,03 / (87,9)
	Magnez	0,025 / (95,2)	0,05 / (95,5)	0,1 / (98,8)	0,002 / (82,1)	0,025 / (99,2)	0,03 / (92,5)
	Potas	0,025 / (90,1)	0,05 / (98,4)	0,1 / (96,4)	0,002 / (79,2)	0,025 / (98,0)	0,03 / (96,0)
	Sód	0,025 / (84,7)	0,05 / (88,8)	0,1 / (96,0)	0,002 / (79,8)	0,025 / (102,7)	0,03 / (90,4)
Suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	0,025 / (83,7)	0,05 / (89,5)	0,1 / (96,2)	0,002 / (69,5)	0,025 / (89,6)	0,03 / (96,3)
	Magnez	0,025 / (89,7)	0,05 / (98,7)	0,1 / (90,7)	0,002 / (89,2)	0,025 / (91,2)	0,03 / (109,3)
	Potas	0,025 / (91,5)	0,05 / (99,5)	0,1 / (95,1)	—	—	—
	Sód	0,025 / (90,1)	0,05 / (90,4)	0,1 / (93,7)	—	—	—
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna	Wapń	1,0 / (91,5)	1,5 / (91,2)	2,0 / (90,0)	0,05 / (83,1)	0,1 / (99,7)	0,2 / (96,2)
	Magnez	1,0 / (88,5)	1,5 / (88,7)	2,0 / (98,7)	0,05 / (90,8)	0,1 / (102,4)	0,2 / (108,1)
	Potas	1,0 / (96,4)	1,5 / (95,1)	2,0 / (96,4)	0,05 / (88,3)	0,1 / (95,1)	0,2 / (93,1)
	Sód	1,0 / (90,9)	1,5 / (96,2)	2,0 / (89,9)	0,05 / (95,0)	0,1 / (90,2)	0,2 / (90,9)
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała	Wapń	0,025 / (85,3)	0,05 / (82,0)	0,1 / (90,0)	0,1 / (88,9)	0,2 / (90,5)	0,3 / (91,5)
	Magnez	0,025 / (96,2)	0,05 / (89,4)	0,1 / (93,5)	0,1 / (105,7)	0,2 / (96,0)	0,3 / (90,6)
	Potas	0,025 / (90,0)	0,05 / (89,2)	0,1 / (90,4)	0,1 / (93,1)	0,2 / (105,2)	0,3 / (89,8)
	Sód	0,025 / (85,1)	0,05 / (88,9)	0,1 / (98,3)	0,1 / (89,5)	0,2 / (100,8)	0,3 / (98,2)

Tabela 10.1. Optymalizacja wielkości odważek badanych matryc na podstawie analizy wyników badań odzysku próbek wzbogaconych na poziomie około 50 % poddanych suchemu spoieleniu i mineralizacji mikrofalowej – c.d.

Rodzaj matrycy	Oznaczany pierwiastek	Suche spoielenie			Mineralizacja mikrofalowa		
		Wielkość odważki [g] / wartość odzysku [%]			Wielkość odważki [g] / wartość odzysku [%]		
Mięso surowe	Wapń	0,25 / (82,7)	0,5 / (90,3)	1,0 / (90,1)	0,025 / (112,8)	0,1 / (102,5)	0,5 / (90,2)
	Magnez	0,25 / (88,2)	0,5 / (109,9)	1,0 / (106,4)	0,025 / (85,2)	0,1 / (98,6)	0,5 / (86,6)
	Potas	0,25 / (89,9)	0,5 / (95,8)	1,0 / (98,2)	0,025 / (106,1)	0,1 / (98,2)	0,5 / (86,8)
	Sód	0,25 / (101,8)	0,5 / (100,6)	1,0 / (106,2)	0,025 / (76,5)	0,1 / (108,2)	0,5 / (90,8)
Produkt mleczny	Wapń	1,0 / (90,3)	1,5 / (89,7)	2,0 / (93,2)	0,25 / (99,5)	0,3 / (101,5)	0,5 / (98,3)
	Magnez	1,0 / (106,6)	1,5 / (100,5)	2,0 / (92,8)	0,25 / (100,8)	0,3 / (95,3)	0,5 / (100,6)
	Potas	1,0 / (90,0)	1,5 / (96,0)	2,0 / (108,2)	0,25 / (98,2)	0,3 / (89,4)	0,5 / (91,3)
	Sód	1,0 / (100,1)	1,5 / (99,2)	2,0 / (90,9)	0,25 / (107,3)	0,3 / (95,1)	0,5 / (88,8)
Produkt zbożowy	Wapń	0,25 / (85,2)	0,5 / (90,0)	1,0 / (93,0)	0,025 / (88,2)	0,05 / (85,3)	0,1 / (102,4)
	Magnez	0,25 / (88,8)	0,5 / (105,0)	1,0 / (98,2)	0,025 / (85,1)	0,05 / (90,4)	0,1 / (101,7)
	Potas	0,25 / (108,3)	0,5 / (93,3)	1,0 / (100,4)	0,025 / (90,5)	0,05 / (87,5)	0,1 / (93,0)
	Sód	0,25 / (91,6)	0,5 / (100,8)	1,0 / (109,2)	0,025 / (89,5)	0,05 / (89,7)	0,1 / (98,5)
Owoc świeży	Wapń	1,0 / (95,2)	1,5 / (93,2)	2,0 / (99,2)	0,05 / (87,0)	0,1 / (89,7)	0,2 / (98,9)
	Magnez	1,0 / (93,1)	1,5 / (109,1)	2,0 / (100,4)	0,05 / (85,1)	0,1 / (105,1)	0,2 / (95,7)
	Potas	1,0 / (103,2)	1,5 / (91,3)	2,0 / (88,3)	0,05 / (90,5)	0,1 / (100,8)	0,2 / (99,0)
	Sód	1,0 / (90,6)	1,5 / (107,2)	2,0 / (97,3)	0,05 / (110,2)	0,1 / (96,2)	0,2 / (91,9)
Napój	Wapń	1,0 / (91,5)	1,5 / (100,5)	2,0 / (98,2)	0,25 / (111,2)	0,5 / (87,2)	1,0 / (98,7)
	Magnez	1,0 / (98,9)	1,5 / (105,3)	2,0 / (98,2)	0,25 / (98,2)	0,5 / (89,8)	1,0 / (99,5)
	Potas	1,0 / (96,1)	1,5 / (91,7)	2,0 / (99,0)	0,25 / (88,2)	0,5 / (87,9)	1,0 / (90,8)
	Sód	1,0 / (98,3)	1,5 / (93,2)	2,0 / (100,8)	0,25 / (86,1)	0,5 / (90,3)	1,0 / (96,4)

10.1.2. Optymalizacja warunków mineralizacji

W celu ustalenia optymalnych warunków mineralizacji w piecu muflowym przeprowadzono serię równoległych analiz próbek rzeczywistych i wzbogaconych dodatkiem roztworów wzorcowych oznaczanych pierwiastków spopielonych w różnych temperaturach spalania.

W przypadku mineralizacji mikrofalowej optymalne warunki procesu ustalono przeprowadzając rozkład materii organicznej próbek rzeczywistych i wzbogaconych programując różne parametry pracy mineralizatora na II, zasadniczym etapie mineralizacji.

Analiza wyników badań odzysku w próbkach poddanych suchemu spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej pozwoliła na ustalenie optymalnych warunków mineralizacji badanych matryc.

W przypadku suchego spopielenia próbek wartości odzysku wszystkich oznaczanych pierwiastków zbliżone lub mieszczące się w granicach 90 % ÷ 110 % uzyskano dla próbek środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy płynnej, owocu świeżego i napoju już w temperaturze 500°C po 3 godzinach mineralizacji. Pozostałe matryce wymagały wyższej temperatury i dłuższego czasu spopielenia. Maksymalny czas mineralizacji w temperaturze 600°C wyniósł 16 godzin dla próbek środka spożywczego specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej, przy czym czas mineralizacji pozostałych próbek w tych warunkach był znacznie krótszy.

W przypadku mineralizacji mikrofalowej próbek wartości odzysku wszystkich oznaczanych pierwiastków zbliżone lub mieszczące się w granicach 90 % ÷ 110 % dla większości matryc uzyskano dopiero po mineralizacji w temperaturze 200°C, pod ciśnieniem 30 bar trwającej 20 min.

Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono w tabelach 10.2. i 10.3. zamieszczonych poniżej.

Tabela 10.2. Optymalizacja warunków mineralizacji badanych matryc na podstawie analizy wyników badań odzysku próbek wzbogaconych na poziomie około 50 % poddanych suchemu spopieleniu

Rodzaj matrycy	Oznaczany pierwiastek	Wartość odzysku [%]		
		Temperatura 500 [°C]	Temperatura 550 [°C]	Temperatura 600 [°C]
Suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	75,3	86,5	89,9
	Magnez	85,9	101,1	92,4
	Potas	81,5	87,2	90,7
	Sód	88,0	87,6	102,5
Suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	111,0	84,2	89,8
	Magnez	87,2	88,3	98,1
	Potas	—	—	—
	Sód	—	—	—
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna	Wapń	109,5	99,5	90,4
	Magnez	100,0	94,2	97,5
	Potas	97,2	89,4	90,0
	Sód	89,9	90,9	101,9
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała	Wapń	85,1	85,2	89,3
	Magnez	88,2	88,9	91,5
	Potas	85,0	87,2	98,7
	Sód	89,9	89,6	98,9
Mięso surowe	Wapń	78,9	81,5	89,5
	Magnez	91,2	90,5	96,2
	Potas	74,5	87,5	90,0
	Sód	101,1	89,8	99,7
Produkt mleczny	Wapń	86,0	89,2	89,8
	Magnez	87,2	92,4	94,2
	Potas	94,5	104,3	90,1
	Sód	85,6	105,1	98,3
Produkt zbożowy	Wapń	86,9	88,0	96,7
	Magnez	90,0	89,9	95,1
	Potas	112,6	98,6	98,3
	Sód	89,3	85,2	110,1
Owoc świeży	Wapń	94,4	90,5	95,7
	Magnez	96,2	91,5	96,4
	Potas	89,5	89,2	90,1
	Sód	90,2	89,8	97,0
Napój	Wapń	94,6	90,2	99,2
	Magnez	98,1	106,2	100,0
	Potas	105,4	100,1	98,3
	Sód	93,0	95,6	95,4

Tabela 10.3. Optymalizacja warunków mineralizacji badanych matryc na podstawie analizy wyników badań odzysku próbek wzbogaconych na poziomie około 50 % poddanych mineralizacji mikrofalowej

Rodzaj matrycy	Oznaczany pierwiastek	Wartość odzysku [%]		
		Temperatura 150 °C Ciśnienie 24 bar Czas 15 min	Temperatura 175 °C Ciśnienie 27 bar Czas 17 min	Temperatura 200 °C Ciśnienie 30 bar Czas 20 min
Suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	87,2	87,5	89,8
	Magnez	75,1	79,4	96,3
	Potas	89,3	88,5	92,1
	Sód	111,5	99,1	98,0
Suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	73,6	88,5	89,5
	Magnez	85,4	76,2	95,7
	Potas	—	—	—
	Sód	—	—	—
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna	Wapń	89,7	89,2	91,0
	Magnez	90,0	90,2	96,5
	Potas	89,6	98,4	90,8
	Sód	105,1	89,5	108,2
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała	Wapń	75,8	79,5	89,6
	Magnez	81,9	85,4	90,4
	Potas	88,4	91,4	102,7
	Sód	96,2	112,0	100,5
Mięso surowe	Wapń	76,4	81,9	89,5
	Magnez	77,2	91,5	95,7
	Potas	124,3	98,3	93,5
	Sód	115,8	94,8	105,4
Produkt mleczny	Wapń	85,4	86,3	94,1
	Magnez	90,8	101,6	98,3
	Potas	86,4	98,8	103,4
	Sód	88,0	84,4	95,4
Produkt zbożowy	Wapń	87,2	85,2	89,7
	Magnez	88,5	87,8	96,2
	Potas	86,4	90,4	90,8
	Sód	89,1	105,7	96,3
Owoc świeży	Wapń	89,7	90,5	93,2
	Magnez	89,9	98,3	96,8
	Potas	90,4	95,1	93,0
	Sód	98,2	96,2	105,1
Napój	Wapń	94,7	96,1	101,8
	Magnez	93,1	100,1	96,2
	Potas	87,3	94,7	94,3
	Sód	103,4	90,6	99,4

10.1.3. Ocena skuteczności zastosowania modyfikatorów matryc

W celu oceny skuteczności dodatku modyfikatorów matryc, tj. 10 ml roztworu chlorku lantanu (III) w przypadku oznaczania zawartości magnezu i wapnia oraz 10 ml roztworu chlorku cezu (I) przy oznaczaniu zawartości potasu i sodu, przeprowadzono serię równoległych analiz próbek rzeczywistych i wzbogaconych dodatkiem roztworów wzorcowych oznaczanych pierwiastków z dodatkiem lub bez dodatku roztworów modyfikatorów matryc.

Analiza wyników badań odzysku pozwoliła na ocenę skuteczności wykorzystania modyfikatorów matryc przy oznaczaniu zawartości wybranych składników mineralnych w próbkach żywności należących do różnych grup środków spożywczych.

Wyniki przeprowadzonych badań przedstawiono w tabeli 10.4. zamieszczonej poniżej.

Tabela 10.4. Ocena skuteczności dodatku modyfikatorów matryc na podstawie analizy wyników badań odzysku próbek wzbogaconych na poziomie około 50 % poddanych suchemu spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej

Rodzaj matrycy	Oznaczany pierwiastek	Wartość odzysku [%]			
		Suche spopielenie		Mineralizacji mikrofalowa	
		Bez dodatku modyfikatora matrycy	Z dodatkiem modyfikatora matrycy	Bez dodatku modyfikatora matrycy	Z dodatkiem modyfikatora matrycy
Suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	68,1	95,1	71,3	89,2
	Magnez	76,1	96,8	80,8	93,1
	Potas	124,1	90,0	68,7	93,7
	Sód	118,2	106,7	124,1	104,0
Suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	83,1	90,8	79,2	89,2
	Magnez	118,1	96,1	115,4	93,7
	Potas	—	—	—	—
	Sód	—	—	—	—
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna	Wapń	124,7	89,6	73,8	90,7
	Magnez	85,2	95,3	85,7	96,8
	Potas	83,1	98,0	86,4	109,4
	Sód	120,4	93,1	78,3	96,3
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała	Wapń	79,2	90,2	79,2	93,7
	Magnez	87,3	89,9	71,8	94,5
	Potas	92,1	92,4	84,7	89,7
	Sód	115,3	98,0	128,4	96,1
Mięso surowe	Wapń	76,5	90,3	117,3	93,1
	Magnez	82,9	98,6	90,0	98,1
	Potas	109,3	96,2	68,9	93,1
	Sód	68,3	98,2	78,2	105,2
Produkt mleczny	Wapń	85,0	88,9	79,1	106,7
	Magnez	86,4	90,4	87,2	102,7
	Potas	90,7	105,1	99,9	96,7
	Sód	75,2	93,4	113,5	98,3
Produkt zbożowy	Wapń	81,7	93,1	87,6	90,1
	Magnez	90,4	98,4	89,7	95,4
	Potas	90,6	90,9	85,1	105,3
	Sód	114,5	98,3	79,5	93,8
Owoc świeży	Wapń	119,4	96,2	86,1	96,2
	Magnez	90,7	105,4	117,5	105,3
	Potas	85,1	90,6	76,8	100,7
	Sód	86,7	93,4	111,8	96,1
Napój	Wapń	87,2	96,8	118,7	93,0
	Magnez	93,4	92,7	86,7	95,1
	Potas	90,7	104,7	85,1	90,8
	Sód	118,6	106,0	79,3	105,1

10.2. Wyniki oznaczeń zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu

10.2.1. Wyniki oznaczeń zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu w próbkach żywności poddanych suchemu spopieleniu

Mineralizacji w piecu muflowym poddano próbki żywności o wielkościach odważek przedstawionych w tabeli 9.3.

Zakresy stężeń, wartości średnie wyników oznaczeń zawartości poszczególnych składników mineralnych w matrycach należących do różnych grup środków spożywczych z uwzględnieniem standardowych rozszerzonych niepewności pomiarów oraz wartości rozstępów wyrażone w procentach w odniesieniu do wartości średnich uzyskanych wyników badań przedstawiono w tabeli 10.5.

Tabela 10.5. Zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu oznaczone w próbkach rzeczywistych żywności po mineralizacji w piecu muflowym

Rodzaj matrycy	Oznaczany pierwiastek	Zawartość pierwiastka [mg/100g]		
		Zakres stężeń	Rozstęp (% w stosunku do średniego wyniku)	Wartość średnia (ilość uzyskanych wyników / ilość uwzględnionych wyników)
Suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	1608 ÷ 2907	1299 (50 %)	2576 ± 309* (24 / 24)
	Magnez	601 ÷ 747	146 (20 %)	720 ± 79* (18 / 18)
	Potas	653 ÷ 1004	351 (41 %)	854 ± 128* (12 / 12)
	Sód	5968 ÷ 7825	1857 (26 %)	7040 ± 12* (12 / 12)
Suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	23019 ÷ 25260	2241 (9 %)	24348 ± 4139* (12 / 12)
	Magnez	8816 ÷ 10435	1619 (17%)	9292 ± 836* (27 / 27)
	Potas	—	—	—
	Sód	—	—	—
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna	Wapń	8 ÷ 13	5 (50 %)	10 ± 2* (12 / 12)
	Magnez	5 ÷ 6	1 (17 %)	6 ± 1* (6 / 6)
	Potas	90 ÷ 99	9 (10 %)	94 ± 9* (15 / 15)
	Sód	17 ÷ 33	16 (67 %)	24 ± 5* (12 / 12)
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała	Wapń	483 ÷ 585	102 (20 %)	509 ± 71* (12 / 12)
	Magnez	61 ÷ 63	2 (3 %)	62 ± 4* (6 / 6)
	Potas	715 ÷ 966	251 (27 %)	919 ± 110* (9 / 9)
	Sód	164 ÷ 243	79 (37 %)	212 ± 40* (12 / 12)

Tabela 10.5. Zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu oznaczone w próbkach rzeczywistych żywności po mineralizacji w piecu muflowym – c.d.

Rodzaj matrycy	Oznaczany pierwiastek	Zawartość pierwiastka [mg/100g]		
		Zakres stężeń	Rozstęp (% w stosunku do średniego wyniku)	Wartość średnia (ilość uzyskanych wyników / ilość uwzględnionych wyników)
Mięso surowe	Wapń	5 ÷ 25	20 (182 %)	11 ± 2* (12 / 12)
	Magnez	29 ÷ 40	11 (32 %)	34 ± 6* (12 / 12)
	Potas	370 ÷ 491	121 (28 %)	426 ± 81* (12 / 12)
	Sód	1061 ÷ 1581	520 (42 %)	1236 ± 272* (12 / 12)
Produkt mleczny	Wapń	110 ÷ 136	26 (21 %)	126 ± 13* (12 / 12)
	Magnez	9 ÷ 15	6 (50 %)	12 ± 2* (12 / 12)
	Potas	104 ÷ 158	54 (43 %)	125 ± 24* (12 / 12)
	Sód	40 ÷ 61	21 (43 %)	49 ± 10* (12 / 12)
Produkt zbożowy	Wapń	443 ÷ 553	110 (23 %)	487 ± 34* (12 / 12)
	Magnez	136 ÷ 179	43 (28 %)	153 ± 26* (12 / 12)
	Potas	468 ÷ 538	70 (14 %)	502 ± 65* (12 / 12)
	Sód	0 ÷ 2	2 (200 %)	1 ± 0,2* (12 / 12)
Owoc świeży	Wapń	3 ÷ 7	4 (67 %)	6 ± 1* (12 / 12)
	Magnez	4 ÷ 7	3 (60 %)	5 ± 1* (12 / 12)
	Potas	80 ÷ 94	14 (16 %)	85 ± 11* (12 / 12)
	Sód	0 ÷ 1	1 (100 %)	0 ± 0* (12 / 12)
Napój	Wapń	4 ÷ 8	4 (57 %)	7 ± 1* (12 / 12)
	Magnez	4 ÷ 8	4 (67 %)	6 ± 1* (12 / 12)
	Potas	0 ÷ 2	2 (200 %)	1 ± 0,2* (12 / 12)
	Sód	0 ÷ 2	2 (200 %)	1 ± 0,3* (12 / 12)

* standardowa rozszerzona niepewność pomiaru

Dla każdej z analizowanych matryc obliczono wartość rozstępu i średnią zawartość oznaczanych pierwiastków uwzględniając wszystkie uzyskane wyniki – nie stwierdzono wyników odbiegających. Najwyższe wartości rozstępu odnotowano w przypadku matryc o niskiej zawartości oznaczanych pierwiastków.

W przypadku oznaczania zawartości składników mineralnych w próbkach żywności po suchym spopieleniu rozstęp pomiędzy wynikami oznaczeń poszczególnych składników mineralnych stanowił więcej niż 50 % wartości średniej wyniku dla 5 z 9 analizowanych matryc: wapnia i potasu – jednej, magnezu – dwóch i sodu – czterech.

Rozstęp pomiędzy wynikami oznaczeń wszystkich czterech pierwiastków stanowił mniej niż 50 % wartości średniej wyniku w przypadku czterech analizowanych matryc, tj. suplementów diety o niskiej i wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków, środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej oraz produktu mlecznego.

Rozstęp pomiędzy wynikami oznaczeń wszystkich czterech pierwiastków stanowił więcej niż 50 % wartości średniej wyniku w przypadku jednej matrycy, tj. napoju.

W przypadku oznaczania wapnia najniższą procentową wartość rozstępu odnotowano w próbce suplementu diety o wysokiej zawartości oznaczanego pierwiastka, tj. 9 %, najwyższą natomiast – w próbce mięsa surowego, tj. 182 %.

W przypadku oznaczania magnezu najniższą procentową wartość rozstępu odnotowano w próbce środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej, tj. 3 %, najwyższą natomiast – w próbce napoju, tj. 67 %.

W przypadku oznaczania potasu najniższą procentową wartość rozstępu odnotowano w próbce środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy płynnej, tj. 10 %, najwyższą natomiast – w próbce napoju, tj. 200 %.

W przypadku oznaczania sodu najniższą procentową wartość rozstępu odnotowano w próbce suplementu diety o niskiej zawartości oznaczanego pierwiastka, tj. 26 %, najwyższą natomiast – w próbce napoju, tj. 200 %.

10.2.2. Wyniki oznaczeń zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu w próbkach żywności poddanych mineralizacji mikrofalowej

Mineralizacji mikrofalowej poddano próbki żywności o wielkościach odważek przedstawionych w tabeli 9.5. Wyniki oznaczeń zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu przedstawiono w tabeli 10.6.

Tabela 10.6. Zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu oznaczone w próbkach rzeczywistych żywności po mineralizacji mikrofalowej

Rodzaj matrycy	Oznaczany pierwiastek	Zawartość pierwiastka [mg/100g]		
		Zakres stężeń	Rozstęp (% w stosunku do średniego wyniku)	Wartość średnia (ilość uzyskanych wyników / ilość uwzględnionych wyników)
Suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	3583 ÷ 12480	8897 (191 %)	4662 ± 1958* (12 / 12)
	Magnez	1178 ÷ 1261	83 (7 %)	1156 ± 162* (7 / 7)
	Potas	675 ÷ 1015	340 (43 %)	795 ± 119* (8 / 8)
	Sód	6345 ÷ 7659	1314 (18 %)	7162 ± 1146* (6 / 6)
Suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	14360 ÷ 38638	24278 (89 %)	27354 ± 7112* (19 / 19)
	Magnez	8599 ÷ 10628	2029 (20 %)	10019 ± 3807* (13 / 13)
	Potas	—	—	—
	Sód	—	—	—
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna	Wapń	77 ÷ 89	12 (15 %)	82 ± 16* (10 / 10)
	Magnez	7 ÷ 8	1 (14 %)	7 ± 1* (10 / 10)
	Potas	110 ÷ 122	12 (10 %)	118 ± 11* (14 / 14)
	Sód	28 ÷ 49	21 (51 %)	41 ± 6* (14 / 14)
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała	Wapń	477 ÷ 642	165 (32 %)	524 ± 210* (8 / 8)
	Magnez	8 ÷ 47	39 (325 %)	12 ± 2* (6 / 6)
	Potas	548 ÷ 656	108 (19 %)	570 ± 97* (10 / 10)
	Sód	162 ÷ 549	387 (18 %)	212 ± 100* (10 / 10)

Tabela 10.6. Zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu oznaczone w próbkach rzeczywistych żywności po mineralizacji mikrofalowej – c.d.

Rodzaj matrycy	Oznaczany pierwiastek	Zawartość pierwiastka [mg/100g]		
		Zakres stężeń	Rozstęp (% w stosunku do średniego wyniku)	Wartość średnia (ilość uzyskanych wyników / ilość uwzględnionych wyników)
Mięso surowe	Wapń	4 ÷ 37	33 (236 %)	14 ± 2* (16 / 16)
	Magnez	29 ÷ 39	10 (31 %)	32 ± 3* (16 / 16)
	Potas	367 ÷ 494	127 (30 %)	430 ± 95* (10 / 10)
	Sód	48 ÷ 175	127 (240 %)	53 ± 10* (10 / 10)
Produkt mleczny	Wapń	78 ÷ 125	47 (47 %)	100 ± 11* (6 / 6)
	Magnez	12 ÷ 12	0 (0 %)	12 ± 1* (8 / 8)
	Potas	117 ÷ 331	214 (163 %)	131 ± 31* (8 / 8)
	Sód	43 ÷ 100	57 (98 %)	58 ± 12* (8 / 8)
Produkt zbożowy	Wapń	417 ÷ 595	178 (35 %)	503 ± 81* (6 / 6)
	Magnez	138 ÷ 191	53 (35 %)	150 ± 14* (6 / 6)
	Potas	430 ÷ 504	74 (15 %)	483 ± 58* (6 / 6)
	Sód	0 ÷ 1	1 (100 %)	0 ± 0 (6 / 6)
Owoc świeży	Wapń	3 ÷ 11	8 (89 %)	9 ± 2* (10 / 10)
	Magnez	4 ÷ 7	3 (75 %)	4 ± 0,4* (10 / 10)
	Potas	88 ÷ 170	82 (87 %)	94 ± 16* (10 / 10)
	Sód	0 ÷ 1	1 (100 %)	1 ± 0,2* (10 / 10)
Napój	Wapń	7 ÷ 7	0 (0 %)	7 ± 1* (2 / 2)
	Magnez	6 ÷ 6	0 (0 %)	6 ± 0,5* (2 / 2)
	Potas	1 ÷ 1	0 (0 %)	1 ± 0,1* (4 / 4)
	Sód	2 ÷ 2	0 (0 %)	2 ± 0,5* (4 / 4)

* standardowa rozszerzona niepewność pomiaru

Podobnie jak w przypadku próbek poddanych suchemu spopieleniu dla każdej z analizowanych matryc obliczono wartość rozstępu i średnią zawartość oznaczanych pierwiastków uwzględniając wszystkie uzyskane wyniki.

W przypadku oznaczania zawartości składników mineralnych w próbkach żywności po mineralizacji mikrofalowej rozstęp pomiędzy wynikami oznaczeń poszczególnych składników mineralnych stanowił więcej niż 50 % wartości średniej wyniku dla 8 z 9 analizowanych matryc: wapnia – czterech, magnezu i potasu – dwóch, a sodu – pięciu.

Rozstęp pomiędzy wynikami oznaczeń wszystkich czterech pierwiastków stanowił więcej niż 50 % wartości średniej wyniku w przypadku jednej matrycy tj. owocu świeżego.

Rozstęp pomiędzy wynikami oznaczeń wszystkich czterech pierwiastków stanowił mniej niż 50 % wartości średniej wyniku w przypadku jednej analizowanej matrycy, tj. napoju.

W przypadku oznaczania wapnia najniższą procentową wartość rozstępu odnotowano w próbce napoju, tj. 0 %, najwyższą natomiast – w próbce mięsa surowego, tj. 236 %.

W przypadku oznaczania magnezu najniższą procentową wartość rozstępu odnotowano w próbce napoju, tj. 0 %, najwyższą natomiast – w próbce środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matrycy stałej, tj. 325 %.

W przypadku oznaczania potasu najniższą procentową wartość rozstępu odnotowano w próbce napoju, tj. 0 %, najwyższą natomiast – w próbce produktu mlecznego, tj. 163 %.

W przypadku oznaczania sodu najniższą procentową wartość rozstępu odnotowano w próbce napoju, tj. 0 %, najwyższą natomiast – w próbce mięsa surowego, tj. 240 %.

10.2.3. Wyniki oznaczeń zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu w próbkach CRM poddanych suchemu spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej

Mineralizacji w piecu muflowym i mineralizacji mikrofalowej poddano próbki certyfikowanego matrycowego materiału odniesienia o wielkości odważki 0,10 g. W tabeli 10.7. przedstawiono porównanie z wartościami certyfikowanymi wyników oznaczeń zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach CRM poddanych suchemu spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej.

Tabela 10.7. Porównanie zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu oznaczonych w próbkach CRM przy zastosowaniu różnych sposobów mineralizacji z wartością certyfikowaną

Oznaczany pierwiastek	Rodzaj mineralizacji	Zakres stężeń [mg/100g]	Rozstęp (% w stosunku do średniej zawartości oznaczanego pierwiastka [mg/100g])	Średnia zawartość oznaczanego pierwiastka [mg/100g]	Niepewność standardowa pomiaru [mg/100g]	Certyfikowana zawartość oznaczanego pierwiastka [mg/100g]	Certyfikowana niepewność standardowa pomiaru [mg/100g]
Wapń	Suche spopielenie	1343 ÷ 1412	69 (5 %)	1374 ^a	96	1349 ^b	10
	Mineralizacja mikrofalowa	1132 ÷ 1452	320 (24 %)	1343 ^a	148		
Magnez	Suche spopielenie	119 ÷ 131	12 (10 %)	124 ^a	7	126,3 ^b	2,4
	Mineralizacja mikrofalowa	87 ÷ 131	44 (40 %)	110 ^a	8		
Potas	Suche spopielenie	1567 ÷ 1736	169 (10 %)	1659 ^a	116	1768 ^b	19
	Mineralizacja mikrofalowa	1582 ÷ 1796	214 (13 %)	1693 ^a	135		
Sód	Suche spopielenie	460 ÷ 501	41 (9 %)	473 ^a	47	437 ^b	3,1
	Mineralizacja mikrofalowa	298 ÷ 585	287 (64 %)	445 ^a	49		

^a średnia wartość wyznaczona na podstawie wyników uzyskanych w 20 oznaczeniach w jednym laboratorium

^b średnia wartość wyznaczona na podstawie wyników uzyskanych w 10 różnych laboratoriach, przy zastosowaniu różnych metod oznaczenia

Obliczono średnią zawartość każdego z pierwiastków w analizowanych próbkach CRM oraz wartość rozstępu z uwzględnieniem wszystkich uzyskanych wyników. Wyników odbiegających, obarczonych błędami grubymi nie stwierdzono.

Rozstęp pomiędzy wynikami oznaczeń poszczególnych składników mineralnych stanowił więcej niż 50 % wartości średniej wyniku w przypadku oznaczania sodu w próbkach CRM po mineralizacji mikrofalowej.

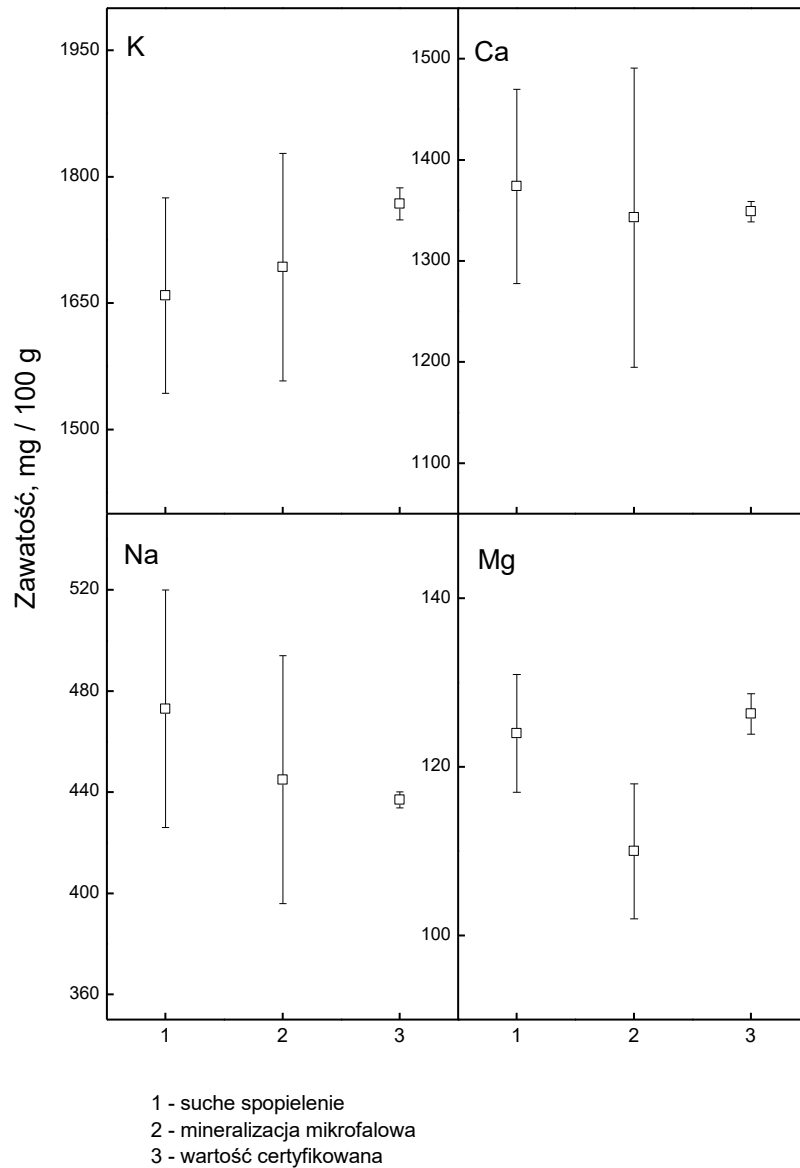
Rozstęp pomiędzy wynikami oznaczeń wszystkich czterech pierwiastków miał niższą wartość w przypadku próbek poddanych suchemu spopieleniu.

W przypadku mineralizacji mikrofalowej oznaczona w próbkach CRM zawartość wapnia, potasu i sodu, po uwzględnieniu niepewności standardowej pomiaru była zgodna z wartością certyfikowaną. W przypadku mineralizacji przeprowadzonej metodą suchego spopielenia natomiast zawartość wszystkich czterech składników mineralnych nie odbiegała od tej wartości.

Po uwzględnieniu standardowej niepewności rozszerzonej pomiaru dla współczynnika rozszerzenia $k = 2$ i poziomu ufności 95 % wyznaczone wartości dla wszystkich składników mineralnych były zgodne z wartościami certyfikowanymi.

Na rysunku 10.1. zilustrowano porównanie wyników oznaczeń zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach CRM poddanych suchemu spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej z wartościami certyfikowanymi.

Na podstawie analizy rysunku stwierdzono, iż wartości certyfikowane mieszczą się w wyznaczonych na etapie walidacji granicach niepewności pomiarów oznaczeń zawartości wapnia, potasu i sodu w próbkach poddanych zarówno suchemu spopieleniu, jak i mineralizacji mikrofalowej oraz zawartości magnezu w próbkach poddanych suchemu spopieleniu. Zawartość magnezu oznaczona w próbkach zmineralizowanych mikrofalowo po uwzględnieniu granic niepewności pomiaru odbiega od wartości certyfikowanej.



Rysunek 10.1. Porównanie wyników oznaczeń zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach CRM poddanych suchemu spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej z wartościami certyfikowanymi

10.2.4. Wyniki oznaczeń zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu w próbkach materiału kontrolnego przeprowadzonych w ramach badań biegłości

Oznaczenia zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu przeprowadzono w próbce soku pomarańczowego w ramach badań biegłości organizowanych przez LGC Standards, Program QBS (Quality In Beverages Scheme), próbka nr 510, runda BV250.

Zawartości składników mineralnych oznaczono w próbkach zakwaszonych, nie poddanych mineralizacji oraz zmineralizowanych „na sucho” z udziałem kwasu chlorowodorowego i „na mokro” z udziałem kwasu azotowego techniką mikrofalową. Zastosowano dwie wielkości odważek, tj. 0,50 g i 1,0 g. Równoległe z próbkami badanymi przeprowadzono analizę odzysku na poziomie wzbogacenia 100 mg / 100 g i 200 mg / 100 g. Wyniki przeprowadzonych badań zamieszczono w tabelach 10.8, 10.9, 10.10 i 10.11.

Tabela 10.8. Zawartość wapnia oznaczona w próbkach soku pomarańczowego rzeczywistych i wzbogaconych oraz wyznaczona średnia wartość odzysku

Sposób przygotowania próbki do badań	Wielkość odważki [g]	Średnia zawartość wapnia w próbkach [mg / 100 g]	Wartość odzysku [%]
Próbka zakwaszona	0,50	16,55	111,3**
	1,0	nie uwzględniono żadnego z uzyskanych wyników	114,8*
Próbka zmineralizowana w piecu muflowym	0,50	14,98	121,5**
	1,0	nie uwzględniono żadnego z uzyskanych wyników	91,0*
Próbka zmineralizowana mikrofalowo	0,50	14,91	123,2**
	1,0	15,78	107,2*

* poziom wzbogacenia 100 mg / 100 g

** poziom wzbogacenia 200 mg / 100 g

W obliczeniu średniej zawartości wapnia uwzględniono wyniki oznaczeń uzyskane dla próbek o wielkości odważki 0,50 g przygotowanych do badań na trzy różne sposoby, dla odważki 1,0 g natomiast jedynie wynik uzyskany dla próbki zmineralizowanej mikrofalowo. Wartość odzysku wyznaczona z każdą serią analizowanych próbek mieściła się w założonych granicach 90 ÷ 110 % jedynie w dwóch przypadkach, tj. próbek

o wielkości odważki 1,0 g zmineralizowanych mikrofalowo i spopielonych w piecu muflowym, przy czym w tym przypadku nie uwzględniono żadnego z wyników uzyskanych dla próbki niewzbogaconej. Obliczone wartości odzysku były bliższe założonym granicom prawidłowego odzysku przy zastosowaniu większej odważki, czyli na niższym poziomie wzbogacenia próbki.

Tabela 10.9. Zawartość magnezu oznaczona w próbkach soku pomarańczowego rzeczywistych i wzbogaconych oraz wyznaczona średnia wartość odzysku

Sposób przygotowania próbki do badań	Wielkość odważki [g]	Średnia zawartość magnezu w próbkach [mg / 100 g]	Wartość odzysku [%]
Próbka zakwaszona	0,5	14,97	99,4**
	1,0	13,93	100,6*
Próbka zmineralizowana w piecu muflowym	0,5	15,05	98,1**
	1,0	13,11	97,9*
Próbka zmineralizowana mikrofalowo	0,5	14,87	107,8**
	1,0	14,35	103,6*

* poziom wzbogacenia 100 mg / 100 g

** poziom wzbogacenia 200 mg / 100 g

Do obliczenia średniej zawartości magnezu wykorzystano wszystkie uzyskane wyniki oznaczeń. Wartość odzysku wyznaczona z każdą serią analizowanych próbek mieściła się w założonych granicach 90 ÷ 110 % we wszystkich rozpatrywanych przypadkach bez względu na zastosowaną wielkość odważki, a także sposób przygotowania próbek do badań.

Tabela 10.10. Zawartość potasu oznaczona w próbkach soku pomarańczowego rzeczywistych i wzbogaconych oraz wyznaczona średnia wartość odzysku

Sposób przygotowania próbki do badań	Wielkość odważki [g]	Średnia zawartość potasu w próbkach [mg / 100 g]	Wartość odzysku [%]
Próbka zakwaszona	0,50	198,62	92,4**
	1,0	192,67	96,7*
Próbka zmineralizowana w piecu muflowym	0,50	nie uwzględniono żadnego z uzyskanych wyników	109,3**
	1,0	nie uwzględniono żadnego z uzyskanych wyników	100,6*
Próbka zmineralizowana mikrofalowo	0,50	199,63	94,6**
	1,0	189,00	98,6*

* poziom wzbogacenia 100 mg / 100 g

** poziom wzbogacenia 200 mg / 100 g

W przypadku obliczania średniej zawartości potasu nie uwzględniono wyników uzyskanych dla próbek poddanych suchemu spopieleniu. Wartość odzysku wyznaczona z każdą serią analizowanych próbek mieściła się w założonych granicach 90 ÷ 110 % we wszystkich rozpatrywanych przypadkach bez względu na zastosowaną wielkość odważki, a także sposób przygotowania próbek do badań.

Tabela 10.11. Zawartość sodu oznaczona w próbkach soku pomarańczowego rzeczywistych i wzbogaconych oraz wyznaczona średnia wartość odzysku.

Sposób przygotowania próbki do badań	Wielkość odważki [g]	Średnia zawartość sodu w próbkach [mg / 100 g]	Wartość odzysku [%]
Próbka zakwaszona	0,50	5,74	106,7**
	1,0	5,73	102,3*
Próbka zmineralizowana w piecu muflowym	0,50	6,75	89,6**
	1,0	5,88	88,8*
Próbka zmineralizowana mikrofalowo	0,50	5,87	105,6**
	1,0	5,85	107,2*

* poziom wzbogacenia 100 mg / 100 g

** poziom wzbogacenia 200 mg / 100 g

W obliczeniu średniej zawartości sodu uwzględniono wszystkie uzyskane wyniki oznaczeń. Wartość odzysku wyznaczona z każdą serią analizowanych próbek nie mieściła się w założonych granicach $90 \div 110$ % w przypadku próbek spoielonych w piecu muflowym bez względu na poziom ich wzbogacenia.

Reasumując oznaczenie zawartości magnezu i sodu w analizowanej próbce nie stanowiło większego problemu analitycznego, zawartość potasu oznaczona w próbkach poddanych suchemu spoieleniu znacznie odbiegała od zawartości wyznaczonych w próbkach zakwaszonych i zmineralizowanych mikrofalowo, przy czym obliczona wartość odzysku była zadawalająca, oznaczenie zawartości wapnia natomiast sprawiało najwięcej kłopotów bez względu na wielkość odważki i sposób przygotowania próbek do badań – uzyskane wyniki oznaczeń znacznie różniły się między sobą, a wyznaczone wartości odzysku nie były zadawalające.

Problemy analityczne związane z oznaczaniem wapnia, szczególnie w obecności sodu są znane i opisywane w literaturze. Dysocjacja soli wapnia prowadzi do utworzenia wolnych atomów absorbujących promieniowanie, wapń może też znajdować się w analizowanym roztworze w postaci cząsteczek, połączeń z tlenem, z anionami i innymi rodnikami. W analizie przeprowadzanej techniką FAAS występuje wiele niepożądanych wzajemnych oddziaływań. Oddziaływania te mogą być spowodowane obecnością anionów powstających podczas przygotowania roztworu próbki i obecnością kationów w analizowanym środowisku, ale mogą również być związane z jonizacją roztworu. Tego typu oddziaływania mogą występować także wówczas, gdy oznaczany pierwiastek ma zdolność tworzenia tlenków odpornych na działanie wysokich temperatur. Obecność jonów siarczanowych, fluorkowych, fosforanowych i krzemianowych w znacznym stopniu zmniejsza absorbancję wapnia, wpływ jonów chlorkowych i azotanowych natomiast jest dużo słabszy, najkorzystniejsze zatem jest stosowanie w procesie mineralizacji próbek kwasu azotowego i chlorowodorowego. W/w oddziaływania są z reguły większe w płomieniach o niskiej temperaturze, tj. powietrze – propan, powietrze – gaz miejski. Pierwiastki alkaliczne i pierwiastki ziem alkalicznych ulegają w płomieniu jonizacji, co prowadzi do powstawania atomów zjonizowanych, pozbawionych jednego zewnętrznego elektronu, nie mogących zatem absorbować linii rezonansowej, obok neutralnych atomów absorbujących promieniowanie. Obecność innych atomów posiadających zdolność jonizacji (przekazywania elektronów) w takich warunkach może zakłócać równowagę pomiędzy tymi dwoma kategoriami. Jeżeli do roztworu, w którym oznaczany jest wapń będą dodawane wzrastające ilości łatwo jonizującego cezu nastąpi

przekazanie elektronów atomów cezu jonom wapnia, co spowoduje powstanie neutralnych jonów wapnia i wzmocnienie absorpcji. Tego typu oddziaływania mogą być korygowane m.in. przez:

- wzorcowanie uwzględniające odpowiednie stężenia pierwiastków zakłócających,
- oddzielanie pierwiastka oznaczanego lub pierwiastków zakłócających przy zastosowaniu różnych metod chemicznych np. ekstrakcji,
- rozdzielanie pierwiastka oznaczanego lub pierwiastków przeszkadzających przy użyciu wymiennicy jonowych,
- wykorzystanie buforu spektralnego – bardzo często oddziaływanie pierwiastka zakłócającego oznaczanie osiąga stały poziom, co może być wykorzystane do „zbuforowania” roztworów wzorcowych i analizowanych poprzez dodanie pierwiastka lub pierwiastków zakłócających, przy czym metoda ta może być stosowana tylko wtedy, gdy nie powoduje obniżenia czułości metody,
- odpowiedni dobór płomienia pozwalający na zmniejszenie lub wyeliminowanie niektórych niepożądanych oddziaływań: w zimnym płomieniu (powietrze – propan, powietrze – butan) oddziaływania kationów i anionów są dużo większe niż w bardziej gorących płomieniach (powietrze – acetylen, tlen – acetylen i in.).

W przypadku oznaczania wapnia w obecności pierwiastków alkalicznych, sodu i potasu następuje poprawa czułości, a wartość absorpcji tego pierwiastka wzrasta przy użyciu buforu dejonizującego. Dodatek cezu, pierwiastka wykazującego bardzo niski potencjał jonizacji jest szczególnie skuteczny. Oddziaływania krzemu na wapń, sód i potas można częściowo skorygować poprzez dodatek lantanu. Niektóre niepożądane oddziaływania np. związane z obecnością fosforanów w analizowanym roztworze zanikają przy zastosowaniu płomienia podtlenek azotu – acetylen [78]. Płomień tworzą gazy, które we wzajemnych reakcjach tworzą związki chemiczne mogące wchodzić w reakcje ze związkami lub z atomami oznaczanego pierwiastka. Mogą stanowić czynnik utleniający bądź redukujący w zależności od doboru warunków przeprowadzania analizy. W technice FAAS wykorzystuje się praktycznie dwa rodzaje płomieni, tj. powietrze – acetylen i podtlenek azotu – acetylen. Zmieniając stosunek ilościowy gazów utleniającego i palnego docierających do palnika można modyfikować płomień w celu osiągnięcia jak najlepszych warunków atomizacji próbki. Płomień, w którym gazu palnego jest znacznie mniej niż gazu utleniającego określany jest mianem „ubogiego”, płomień, w którym proporcje gazów wynikają ze stosunku stechiometrycznego reakcji spalania nazywany jest

płomieniem stechiometrycznym, natomiast płomień, w którym gazu palnego jest znacznie więcej niż gazu utleniającego to tzw. płomień „bogaty, świecący”. Dobór rodzaju płomienia jest uzależniony od warunków analitycznych, w płomieniu ubogim będą przeważały warunki utleniające, w płomieniu świecącym dominować będą warunki redukujące natomiast zastosowanie płomienia stechiometrycznego nie będzie preferowało żadnych warunków [79].

W związku z problemami analitycznymi, które wystąpiły podczas oznaczania zawartości wapnia przeprowadzono dodatkowe oznaczenia jego zawartości w próbkach soku pomarańczowego nie poddanych mineralizacji, rozcieńczonych 10 % roztworem kwasu azotowego. Do badań wykorzystano odważki próbki o różnych wielkościach. Zastosowano różny skład mieszaniny gazów palnych, a także różny sposób wyznaczenia krzywej wzorcowania. Analizę wykonano przy zastosowaniu spektrometru absorpcji atomowej SOLAAR M Series firmy Thermo Scientific. Wyniki badań zestawiono w tabeli 10.12.

Tabela 10.12. Wyniki oznaczeń wapnia w zakwaszonych próbkach soku pomarańczowego nie poddanych mineralizacji

Wielkość naważki [g]	Zawartość oznaczanego pierwiastka [mg/100 g]			
	Krzywa wzorcowania wyznaczona metodą regresji liniowej		Krzywa wzorcowania wyznaczona metodą najmniejszych kwadratów	
	Płomień stechiometryczny typu 4,1*	Płomień stechiometryczny typu 4,3**	Płomień stechiometryczny typu 4,1*	Płomień stechiometryczny typu 4,3**
0,99720	19,92	20,13	19,61	19,78
1,00372	21,74	20,12	21,38	19,76
0,75803	15,42	15,54	15,26	15,31
0,75432	16,08	16,11	15,92	15,88
0,49720	16,07	15,88	15,81	15,54
0,49061	15,70	15,49	15,45	15,15
0,24460	16,84	17,39	16,57	16,91
0,25845	15,67	16,33	15,42	15,89

*całkowity przepływ gazu 4,1 dm³/min., **całkowity przepływ gazu 4,3 dm³/min.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, iż skład mieszaniny gazów doprowadzonych do palnika, a także sposób wyznaczenia krzywej wzorcowania nie miały większego wpływu na oznaczoną zawartość wapnia, natomiast wartość ta oznaczona

w próbce o wielkości 1,0 g była wyższa od wartości średniej wyznaczonej dla pozostałych wielkości odważek, tj. 15,90 mg/ 100 g.

Organizator badań biegłości porównał wyznaczone zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu z wartościami przypisanymi, tj. medianami wyników uzyskanych przez laboratoria uczestniczące w badaniu i obliczył wartości parametru z – score lub z' – score (z ang. reszta standaryzowana) wg wzorów 10 i 11:

$$z = \frac{(x-X)}{SDPA} \quad (10)$$

$$z' = \frac{(x-X)}{\sqrt{SDPA^2 + U \times AV^2}} \quad (11)$$

w których x_i – zawartość analitu w próbce oznaczona laboratoryjnie, X – wartość przypisana, $U \times AV$ – niepewność wartości przypisanej, $SDPA$ – odchylenie standardowe dla oceny biegłości, a $\sqrt{SDPA^2 + U \times AV^2}$ – rozszerzone odchylenie standardowe dla oceny biegłości.

Obliczone wartości parametrów z – score i z' – score zamieszczono w tabeli 10.13.

Tabela 10.13. Oznaczone zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu oraz wartości przypisane i wartości parametru z – score lub z' – score wyznaczone przez organizatora badań biegłości

Oznaczany pierwiastek	Zawartość oznaczonego pierwiastka [mg/l]	Wartość przypisana [mg/l]	Wartość parametru	
			z – score	z' – score
Wapń	155,54	155,54	0,00	—
Magnez	143,79	138,45	—	+ 0,36
Potas	1949,75	1848,83	—	+ 0,44
Sód	59,65	—	—	—

Ujemna wartość parametru z –score lub z' – score oznacza, że uzyskany wynik jest niższy od wartości przypisanej, dodatnia wartość natomiast wskazuje, że uzyskany wynik jest od tej wartości wyższy. Bezwzględna wartość parametru z – score lub z' – score świadczy o wielkości błędu popełnionego przez uczestnika badań biegłości, a kryteria oceny uzyskanych wyników są następujące:

- $|z| \leq 2$ – wynik zadawalający
- $2 < |z| < 3$ – wynik wątpliwy
- $|z| \geq 3$ – wynik niezadawalający

Oznaczona zawartość wapnia stanowiła jednocześnie medianę wyników uzyskanych przez wszystkie laboratoria uczestniczące w badaniu biegłości. W przypadku oznaczania

zawartości sodu organizator badań biegłości nie wyznaczył wartości przypisanej i nie obliczył wartości parametru z – score lub z' – score ze względu na dużą rozbieżność wyników uzyskanych przez laboratoria uczestniczące w badaniu.

Wyniki badań w zakresie oznaczania zawartości wapnia, magnezu i potasu były zadowalające.

10.3. Wyniki obliczeń parametrów walidacyjnych metody

Zakresem walidacji metody objęto określenie takich parametrów jak specyficzność, selektywność, granica wykrywalności, granica oznaczalności, powtarzalność / odtwarzalność, zakres liniowości, zakres pomiarowy, czułość i poprawność metody oraz rozszerzona standardowa niepewność pomiaru.

Przyjęto następujące kryteria walidacji:

- wartość granicy wykrywalności: $\leq 0,5$ mg/l,
- wartość granicy oznaczalności: $\leq 1,5$ mg/l,
- wartość współczynnika korelacji liniowej: $r \geq 0,996$,
- wartość współczynnika zmienności wzorcowania: < 10 %,
- średnia wartość współczynnika odzysku: $0,9 \div 1,1$,
- wartość współczynnika zmienności powtarzalności / precyzji pośredniej < 10 %,
- wartość rozszerzonej standardowej niepewności pomiaru: ≤ 30 %.

10.3.1. Selektywność i specyficzność metody

Selektywność i specyficzność metody określono na podstawie danych literaturowych. W celu usunięcia częściowej jonizacji wapnia i magnezu w płomieniu palnika, do mineralizatów próbek w przypadku oznaczania tych pierwiastków dodawano chlorku lantanu (III) jako modyfikatora matrycy. W przypadku oznaczania potasu i sodu jako modyfikatora matrycy użyto chlorku cezu (I).

10.3.2. Granice wykrywalności i oznaczalności

Granice wykrywalności i oznaczalności wyznaczono na podstawie analizy 20 podwójnych próbek ślepych i obliczono ze wzorów (1) i (2) zamieszczonych w Części literaturowej pracy, rozdział 6. Wartości granic wykrywalności i oznaczalności, zakresy

liniowości krzywych wzorcowania oraz współczynniki zmienności wzorcowania wyznaczone na podstawie analiz próbek poddanych suchemu spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej zamieszczono w tabeli 10.14.

Tabela 10.14. Wartości granic wykrywalności i granic oznaczalności wyznaczone na podstawie analiz próbek po suchym spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej

Oznaczany pierwiastek	Sposób mineralizacji	LOD*	LOQ*
Wapń	Mineralizacja w piecu muflowym	0,3 mg/l	0,9 mg/l
	Mineralizacja mikrofalowa	0,2 mg/l	0,07 mg/l
Magnez	Mineralizacja w piecu muflowym	0,03 mg/l	0,11 mg/l
	Mineralizacja mikrofalowa	0,02 mg/l	0,06 mg/l
Potas	Mineralizacja w piecu muflowym	0,2 mg/l	0,7 mg/l
	Mineralizacja mikrofalowa	0,03 mg/l	0,1 mg/l
Sód	Mineralizacja w piecu muflowym	0,05 mg/l	0,2 mg/l
	Mineralizacja mikrofalowa	0,07 mg/l	0,2 mg/l

* granice wyznaczone dla matrycy, dla której miały one najwyższe wartości

Wyznaczone granice wykrywalności i oznaczalności nie wykraczały poza założone kryteria walidacji, miały niższe wartości w przypadku analiz próbek spopielenych w piecu muflowym dla wszystkich czterech oznaczanych pierwiastków.

10.3.3. Zakresy liniowości i wyznaczone współczynniki zmienności krzywych wzorcowania

Zakresy liniowości krzywych wzorcowania zoptymalizowano w oparciu o dane zawarte w Polskich Normach, instrukcji obsługi atomowego spektrometru absorpcji i literaturze fachowej [73÷77]. Dla wszystkich przygotowanych krzywych wzorcowania wyznaczono współczynniki zmienności wzorcowania. W tabeli 10.15. przedstawiono zakresy liniowości krzywych wzorcowania oraz wartości środkowe i maksymalne współczynników zmienności wzorcowania wyznaczone na podstawie analiz próbek poddanych suchemu spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej.

Tabela 10.15. Zakresy liniowości krzywych wzorcowania oraz wartości współczynników zmienności wzorcowania wyznaczone na podstawie analiz próbek po suchym spoieleniu i mineralizacji mikrofalowej

Oznaczany pierwiastek	Sposób mineralizacji	Zakres liniowości krzywej wzorcowania	Współczynnik zmienności wzorcowania mediana / max [%]
Wapń	Mineralizacja w piecu muflowym	0,05 ÷ 2,0 mg/l	2,51 / 10,40
	Mineralizacja mikrofalowa	0,05 ÷ 2,0 mg/l	3,01 / 9,95
Magnez	Mineralizacja w piecu muflowym	0,05 ÷ 1,0 mg/l	3,31 / 7,93
	Mineralizacja mikrofalowa	0,05 ÷ 1,0 mg/l	3,39 / 6,27
Potas	Mineralizacja w piecu muflowym	0,1 ÷ 2,0 mg/l	2,22 / 6,20
	Mineralizacja mikrofalowa	0,1 ÷ 2,0 mg/l	3,86 / 7,00
Sód	Mineralizacja w piecu muflowym	0,1 ÷ 1,0 mg/l	3,18 / 7,26
	Mineralizacja mikrofalowa	0,1 ÷ 1,0 mg/l	3,21 / 7,83

Krzywe wzorcowania wyznaczone dla wszystkich czterech pierwiastków w założonych zakresach wykazywały charakter liniowy, współczynnik korelacji liniowej w żadnym przypadku nie miał wartości mniejszej niż 0,996.

Wartości środkowe współczynników zmienności wzorcowania w żadnym przypadku nie przekroczyły założonego kryterium walidacji – były mniejsze niż 10 %. Niższe wartości środkowe współczynników zmienności wzorcowania odnotowano w przypadku krzywych wzorcowania przygotowanych na bazie kwasu chlorowodorowego (suche spoielenie w piecu muflowym).

Maksymalne wartości współczynników zmienności wzorcowania w przypadku krzywych wzorcowania wapnia przygotowanych na bazie kwasu chlorowodorowego (suche spoielenie) i na bazie kwasu azotowego (mineralizacja mikrofalowa) były najwyższe i oscylowały wokół wartości 10 %.

10.3.4. Poprawność metody

Poprawność metody oceniono na podstawie badań odzysku. Wartości współczynników odzysku i współczynników zmienności odzysku wyznaczono na podstawie wyników

oznaczeń próbek fortyfikowanych na trzech różnych poziomach i obliczono wg wzoru (6) zamieszczonego w Części literaturowej pracy, rozdział 6. Poziom wzbogacenia próbek uzależniono od zawartości w nich oznaczanych składników mineralnych i dobrano w taki sposób, aby stanowił ok. 0,1, 1 i 2 – krotność spodziewanej zawartości oznaczanego pierwiastka w próbce. W obliczeniach uwzględniono po 6 wyników oznaczeń uzyskanych na każdym z poziomów wzbogacenia, dla których odzysk mieścił się w granicach $80 \div 120$ %.

10.3.4.1. Mineralizacja w piecu muflowym

Wartości współczynników odzysku i współczynników zmienności odzysku wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach żywności fortyfikowanych na trzech różnych poziomach wzbogacenia poddanych suchemu spopieleniu przedstawiono w tabeli 10.16.

Tabela 10.16. Wartości współczynników odzysku i współczynników zmienności odzysku wyznaczone na podstawie analizy zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach poddanych suchemu spopieleniu

Rodzaj matrycy	Pierwiastek	Współczynnik odzysku			Wartość średnia współczynnika odzysku	Współczynnik zmienności odzysku [%]			Wartość średnia współczynnika zmienności odzysku [%]
		I	II	III		I	II	III	
Suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	0,988	1,01	1,01	1,00	10,22	3,00	1,75	4,99
	Magnez	1,01	0,955	1,05	1,00	2,21	4,06	1,68	2,65
	Potas	1,07	1,00	1,02	1,03	13,08	2,96	3,52	6,52
	Sód	1,02	1,04	1,04	1,03	10,88	5,98	6,02	7,63
Suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	1,06	1,00	0,955	1,01	20,38	1,48	1,10	7,65
	Magnez	1,07	1,00	0,920	0,998	1,29	3,86	1,26	2,14
	Potas	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sód	—	—	—	—	—	—	—	—
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna	Wapń	0,900	0,970	0,993	0,954	12,22	5,94	2,82	6,99
	Magnez	1,02	1,03	0,968	1,01	5,72	1,14	1,03	2,63
	Potas	1,13	1,03	0,995	1,05	6,96	2,01	0,84	3,27
	Sód	1,07	0,975	0,989	1,01	15,23	6,14	3,58	8,32
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała	Wapń	0,973	1,01	0,989	0,990	10,21	4,65	3,49	6,12
	Magnez	1,00	1,06	0,904	0,989	4,67	0,71	0,16	1,85
	Potas	1,23	1,44	1,33	1,33	12,03	0,89	1,52	4,81
	Sód	1,00	1,01	1,04	1,02	15,20	6,50	4,10	8,60
Mięso surowe	Wapń	1,03	0,995	0,990	1,01	15,83	4,20	2,06	7,36
	Magnez	0,933	0,983	1,02	0,977	11,04	5,82	2,61	6,49
	Potas	0,987	0,994	1,01	0,996	13,88	4,26	4,71	7,62
	Sód	1,04	1,01	0,995	1,02	14,04	6,57	6,90	9,17

Tabela 10.16. Wartości współczynników odzysku i współczynników zmienności odzysku wyznaczone na podstawie analizy zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach poddanych suchemu spopieleniu – c.d.

Rodzaj matrycy	Pierwiastek	Współczynnik odzysku			Wartość średnia współczynnika odzysku	Współczynnik zmienności odzysku [%]			Wartość średnia współczynnika zmienności odzysku [%]
		I	II	III		I	II	III	
Produkt mleczny	Wapń	0,969	1,01	0,994	0,993	7,54	0,75	0,93	3,07
	Magnez	0,933	1,00	1,04	0,993	14,68	1,75	3,60	6,68
	Potas	0,992	1,00	1,06	1,02	14,01	4,92	3,57	7,50
	Sód	1,01	0,982	1,00	0,997	13,07	7,68	3,02	7,92
Produkt zbożowy	Wapń	0,987	0,983	0,982	0,984	4,82	1,18	0,86	2,29
	Magnez	1,00	0,994	0,991	0,995	15,50	1,41	1,29	6,07
	Potas	1,06	1,02	1,02	1,03	4,93	2,75	2,49	3,39
	Sód	0,967	1,00	1,00	0,990	14,17	4,02	2,19	6,79
Owoc świeży	Wapń	0,933	0,995	0,997	0,975	17,47	1,60	1,12	6,73
	Magnez	0,883	0,955	1,02	0,954	8,53	3,36	2,16	4,68
	Potas	1,02	0,990	1,01	1,01	5,46	1,84	3,36	3,55
	Sód	0,950	1,00	1,02	0,990	11,05	2,90	2,93	5,63
Napój	Wapń	0,933	1,01	0,970	0,972	11,04	4,09	2,69	5,94
	Magnez	1,00	0,968	0,999	0,989	0,00	2,37	2,06	1,48
	Potas	1,07	0,993	0,997	1,02	9,63	2,82	3,34	5,26
	Sód	1,17	1,00	1,00	1,06	34,87	2,04	2,05	12,99

W obliczeniach współczynników odzysku wapnia, magnezu, potasu i sodu w próbkach poddanych suchemu spopieleniu nie uwzględniono wszystkich uzyskanych wyników – odrzucono wyniki, dla których odzysk nie mieścił się w granicach $80 \div 120$ %. Sytuacja taka miała miejsce w przypadku oznaczania zawartości wapnia w próbkach: środków specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycach płynnej i stałej, produktu zbożowego i owocu świeżego na I poziomie wzbogacenia próbek oraz mięsa surowego na I i III poziomie wzbogacenia próbek. Nie uwzględniono również wszystkich uzyskanych wyników oznaczania zawartości magnezu w próbkach: suplementu diety o wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków, produktu mlecznego i napoju na I poziomie wzbogacenia próbek oraz mięsa surowego na I i II poziomie wzbogacenia. W przypadku oznaczania zawartości potasu odrzucono wyniki nie mieszczące się w granicach $80 \div 120$ % uzyskane dla próbek: suplementu diety o niskiej zawartości oznaczanych pierwiastków i napoju na I poziomie wzbogacenia próbek, mięsa surowego na I i II poziomie wzbogacenia próbek oraz produktu mlecznego na wszystkich trzech poziomach wzbogacenia. Również w przypadku oznaczania zawartości sodu w próbkach: produktu zbożowego i napoju na I poziomie wzbogacenia próbek, suplementu diety o niskiej zawartości oznaczanych pierwiastków, środków specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycach stałej i płynnej, a także produktu mlecznego na I i II poziomie wzbogacenia próbek oraz mięsa surowego na wszystkich trzech poziomach wzbogacenia nie uwzględniono wszystkich uzyskanych wyników oznaczeń. Ogółem nie uwzględniono wszystkich uzyskanych wyników dla I poziomu wzbogacenia próbek w 21 przypadkach, odzysku wapnia w pięciu, magnezu – czterech, potasu – pięciu i sodu – siedmiu. Na II poziomie wzbogacenia próbek sytuacja taka miała miejsce w 9 przypadkach – po jednym dla odzysku wapnia i magnezu, dwóch dla odzysku potasu i pięciu dla odzysku sodu, na III poziomie wzbogacenia próbek natomiast tylko w 3 przypadkach – po jednym dla odzysku wapnia, potasu i sodu. Owoc świeży był pod tym względem najbardziej stabilną matrycą. W przypadku próbek mięsa surowego natomiast odnotowano największą ilość wyników badania odzysku nie mieszczących się w założonych kryteriach. W przypadku próbek środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego nie odnotowano wyników badania odzysku mieszczących się w założonych kryteriach.

Współczynniki odzysku wyznaczone na trzech poziomach wzbogacenia dla wapnia w próbkach po suchym spopieleniu mieściły się w granicach $0,9 \div 1,1$ w przypadku wszystkich analizowanych matryc. Współczynniki te nie spełniały założonych kryteriów dla I poziomu wzbogacenia w przypadku oznaczania magnezu w jednej matrycy, tj. owocu

świeżym, potasu – dwóch matrycach, tj. środkach specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matrycy stałej i płynnej oraz sodu – w jednej matrycy, tj. napoju. W przypadku oznaczania potasu w próbkach środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matrycy stałej, poddanych suchemu spopieleniu współczynnik odzysku wyznaczony na wszystkich trzech poziomach wzbogacenia nie spełniał założonych kryteriów. Najniższą wartość współczynnika odzysku odnotowano w przypadku oznaczania magnezu w próbkach owocu świeżego, tj. 0,883 na I poziomie wzbogacenia próbek, najwyższą natomiast – oznaczania potasu w próbkach środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matrycy stałej, tj. 1,44 na II poziomie wzbogacenia próbek. W przypadku pięciu matryc, tj. suplementów diety o niskiej i wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków, mięsa surowego, produktu mlecznego i produktu zbożowego współczynniki odzysku wyznaczone na wszystkich poziomach wzbogacenia wapniem, magnezem, potasem i sodem spełniały założone kryteria. Wartości średnie współczynników odzysku oznaczanych pierwiastków obliczone jako średnia arytmetyczna współczynników odzysku wyznaczonych dla trzech poziomów wzbogacenia mieściły się w przedziale $0,9 \div 1,1$ w przypadku każdej z analizowanych matryc z wyjątkiem jednej matrycy, tj. środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matrycy stałej, dla której średnia wartość współczynnika odzysku potasu wyniosła 1,33.

Współczynniki zmienności odzysku wyznaczone dla I poziomu wzbogacenia próbek przekroczyły wartość 10% w przypadku: oznaczania wapnia w 7 matrycach, tj. suplementach diety o niskiej i wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków, środkach specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycach stałej i płynnej, mięsie surowym, owocu świeżym i napoju, oznaczania magnezu w 3 matrycach, tj. mięsie surowym, produkcie mlecznym i produkcie zbożowym oraz oznaczania potasu w 4 matrycach, tj. suplementach diety o niskiej zawartości oznaczanych pierwiastków, środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej, mięsie surowym i produkcie mlecznym. W przypadku oznaczania zawartości sodu w próbkach wzbogaconych na I poziomie wyznaczone współczynniki zmienności odzysku miały wartość przekraczającą 10 % dla wszystkich analizowanych matryc. Wyznaczone dla II i III poziomu wzbogacenia próbek współczynniki zmienności odzysku oznaczanych składników mineralnych we wszystkich analizowanych matrycach nie przekraczały wartości 10 %. Najniższą wartość współczynnika zmienności odzysku odnotowano w przypadku oznaczania magnezu w próbkach napoju, tj. 0,00 %, najwyższą natomiast – oznaczania sodu w tej samej matrycy, tj. 34,87 %. Wartości średnie współczynników zmienności odzysku obliczone

jako średnia arytmetyczna współczynników zmienności odzysku wyznaczonych dla trzech poziomów wzbogacenia w przypadku każdej z analizowanych matryc były mniejsze niż 10 % z wyjątkiem wartości średniej współczynnika zmienności odzysku sodu w próbkach napoju, tj. 12,99 %.

10.3.4.2. Mineralizacja mikrofalowa

Wartości współczynników odzysku i współczynników zmienności odzysku wyznaczone na podstawie analizy zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach żywności fortyfikowanych na trzech różnych poziomach wzbogacenia zmineralizowanych mikrofalowo przedstawiono w tabeli 10.17.

Tabela 10.17. Wartości współczynników odzysku i współczynników zmienności odzysku wyznaczone na podstawie analizy zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach zmineralizowanych mikrofalowo

Rodzaj matrycy	Pierwiastek	Współczynnik odzysku			Wartość średnia współczynnika odzysku	Współczynnik zmienności odzysku [%]			Wartość średnia współczynnika zmienności odzysku [%]
		I	II	III		I	II	III	
Suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	0,801	1,04	0,946	0,928	24,22	20,48	16,70	20,47
	Magnez	0,814	1,04	1,09	0,980	11,55	2,99	3,09	5,88
	Potas	0,949	0,974	1,02	0,981	5,83	7,47	2,19	5,16
	Sód	0,767	0,915	0,879	0,854	11,02	1,80	1,65	4,82
Suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	0,727	0,755	0,805	0,762	7,99	14,04	14,53	12,19
	Magnez	0,932	0,585	0,962	0,827	28,97	7,76	19,44	18,72
	Potas	—	—	—	—	—	—	—	—
	Sód	—	—	—	—	—	—	—	—
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna	Wapń	0,960	1,08	1,02	1,02	6,97	12,87	4,97	8,27
	Magnez	1,12	0,923	0,938	0,993	3,64	2,88	4,43	3,65
	Potas	1,12	0,999	1,02	1,05	1,88	1,58	2,19	1,88
	Sód	1,00	1,03	1,08	1,04	2,66	7,50	3,10	4,42
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała	Wapń	1,10	0,885	0,995	0,993	22,64	17,74	17,59	19,32
	Magnez	1,13	1,07	1,09	1,10	9,12	6,29	5,74	7,05
	Potas	0,942	0,998	0,937	0,959	15,82	3,86	3,37	7,68
	Sód	0,887	0,919	0,963	0,923	32,02	29,60	6,63	22,75
Mięso surowe	Wapń	1,25	1,14	1,04	1,14	14,08	4,06	2,57	6,90
	Magnez	0,983	1,10	1,10	1,06	7,66	0,84	0,94	3,15
	Potas	0,925	1,11	1,05	1,03	22,92	1,52	3,99	9,48
	Sód	1,08	1,05	0,966	1,03	9,63	8,42	2,37	6,81

Tabela 10.17. Wartości współczynników odzysku i współczynników zmienności wyznaczone na podstawie analizy zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach zmineralizowanych mikrofalowo – c.d.

Rodzaj matrycy	Pierwiastek	Współczynnik odzysku			Wartość średnia współczynnika odzysku	Współczynnik zmienności odzysku [%]			Wartość średnia współczynnika zmienności odzysku [%]
		I	II	III		I	II	III	
Produkt mleczny	Wapń	0,792	1,11	1,14	1,01	1,48	2,99	7,66	4,04
	Magnez	1,10	1,07	1,07	1,08	0,0	1,43	2,26	1,23
	Potas	1,25	0,992	0,998	1,08	30,24	0,94	1,10	10,76
	Sód	0,983	0,925	0,937	0,948	13,53	4,44	5,45	7,81
Produkt zbożowy	Wapń	0,948	1,09	1,04	1,03	13,29	4,52	3,69	7,17
	Magnez	0,973	1,05	0,970	0,999	4,62	0,69	1,24	2,18
	Potas	0,940	0,996	0,968	0,968	4,31	1,36	1,22	2,30
	Sód	0,983	0,883	0,896	0,921	6,17	3,95	3,31	4,48
Owoc świeży	Wapń	0,850	0,943	1,01	0,933	26,59	5,07	3,45	11,72
	Magnez	1,15	0,895	0,958	1,00	4,77	0,82	1,44	2,34
	Potas	0,933	0,862	0,885	0,893	11,58	2,59	4,62	6,26
	Sód	1,05	1,09	1,02	1,05	5,22	3,36	2,12	3,57
Napój	Wapń	1,00	1,10	1,00	1,03	0,0	3,82	3,44	2,42
	Magnez	1,00	0,920	1,01	0,977	0,0	0,0	1,09	0,36
	Potas	1,00	0,927	1,01	0,980	0,0	3,25	1,02	1,42
	Sód	1,00	0,780	0,900	0,893	0,0	25,26	9,73	11,64

W obliczeniach współczynników odzysku wapnia, magnezu, potasu i sodu w próbkach poddanych mineralizacji mikrofalowej nie uwzględniono wszystkich uzyskanych wyników – odrzucono wyniki, dla których odzysk nie mieścił się w granicach $80 \div 120$ %. Sytuacja taka miała miejsce w przypadku oznaczania zawartości wapnia w próbkach środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej na I poziomie wzbogacenia próbek, środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy płynnej na II poziomie wzbogacenia oraz suplementów diety o niskiej i wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków, a także mięsa surowego dla wszystkich trzech poziomów wzbogacenia próbek. Nie uwzględniono również wszystkich uzyskanych wyników oznaczania zawartości magnezu w próbkach środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy płynnej na I poziomie wzbogacenia próbek oraz suplementu diety o wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków i mięsa surowego dla wszystkich trzech poziomów wzbogacenia próbek. W przypadku oznaczania zawartości potasu odrzucono wyniki nie mieszczące się w granicach $80 \div 120$ % uzyskane dla próbek środków specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycach stałej i płynnej, mięsa surowego i produktu mlecznego na I poziomie wzbogacenia próbek. Również w przypadku oznaczania zawartości sodu w próbkach: środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej i produktu mlecznego na I poziomie wzbogacenia próbek, środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy płynnej na I i II poziomie wzbogacenia próbek, owocu świeżego na III poziomie wzbogacenia próbek oraz mięsa surowego na wszystkich trzech poziomach wzbogacenia nie uwzględniono wszystkich uzyskanych wyników oznaczeń. Ogółem nie uwzględniono wszystkich uzyskanych wyników dla I poziomu wzbogacenia próbek w 15 przypadkach, odzysku wapnia w czterech, magnezu – trzech, potasu – czterech i sodu również czterech. Na II poziomie wzbogacenia próbek sytuacja taka miała miejsce w 8 przypadkach – w czterech dla odzysku wapnia i dwóch dla odzysku magnezu i sodu, na III poziomie wzbogacenia próbek natomiast w 7 przypadkach – dwóch dla odzysku magnezu i sodu oraz trzech dla odzysku wapnia. Produkt zbożowy, owoc świeży i napój były pod tym względem najbardziej stabilnymi matrycami. W przypadku badania odzysku składników mineralnych w wzbogaconych próbkach mięsa surowego zmineralizowanych mikrofalowo, podobnie jak w wzbogaconych próbkach tej matrycy poddanych suchemu spopieleniu odnotowano największą ilość wyników badania odzysku nie mieszczących się w założonych kryteriach.

Współczynniki odzysku wyznaczone na I poziomie wzbogacenia próbek po mineralizacji mikrofalowej nie mieściły się w granicach $0,9 \div 1,1$ dla wapnia w przypadku

pięciu matryc, tj. suplementów diety o niskiej i wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków, mięsa surowego, produktu mlecznego i owocu świeżego, dla magnezu – czterech matryc, tj. suplementu diety o niskiej zawartości oznaczanego pierwiastka, środków spożywczych specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycach stałej i płynnej oraz owocu świeżego, dla potasu – dwóch matryc, tj. środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy płynnej i produktu mlecznego i dla sodu – również dwóch matryc, tj. suplementu diety o niskiej zawartości oznaczanych pierwiastków i środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej. Współczynniki te nie spełniały założonych kryteriów dla II poziomu wzbogacenia w przypadku: oznaczania wapnia w czterech matrycach, tj. suplemente diety o wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków, środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej, mięsie surowym i produkcie mlecznym, oznaczania magnezu w dwóch matrycach, tj. suplemente diety o wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków i owocu świeżym, oznaczania potasu w jednej matrycy, tj. owocu świeżym oraz oznaczania sodu w dwóch matrycach, tj. produkcie zbożowym i napoju. Ponadto wyznaczone współczynniki odzysku nie spełniały założonych kryteriów na III poziomie wzbogacenia próbek w przypadku oznaczania wapnia w suplemente diety o wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków i produkcie mlecznym, w przypadku oznaczania potasu w owocu świeżym i w przypadku oznaczania sodu w suplemente diety o wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków i produkcie zbożowym. Współczynniki odzysku wyznaczone na wszystkich trzech poziomach wzbogacenia próbek nie spełniały założonych kryteriów w przypadku oznaczania wapnia w suplemente diety o wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków i produkcie mlecznym. Najniższą wartość współczynnika odzysku odnotowano w przypadku oznaczania wapnia w próbkach suplementu diety o wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków, tj. 0,727, najwyższą natomiast – oznaczania wapnia w mięsie surowym i potasu w produkcie mlecznym, tj. 1,25. Wartości średnie współczynników odzysku oznaczanych pierwiastków obliczone jako średnia arytmetyczna współczynników odzysku wyznaczonych dla trzech poziomów wzbogacenia nie mieściły się w przedziale $0,9 \div 1,1$ w przypadku pięciu analizowanych matryc, tj. suplementów diety o niskiej i wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków, mięsa surowego, owocu świeżego oraz napoju i wyniosły odpowiednio 0,854 dla sodu, 0,762 dla wapnia i 0,827 dla magnezu, 1,14 dla wapnia, 0,893 dla potasu oraz 0,893 dla sodu.

Współczynniki zmienności odzysku wyznaczone dla I poziomu wzbogacenia próbek przekroczyły wartość 10% w przypadku: oznaczania wapnia w 5 matrycach, tj.

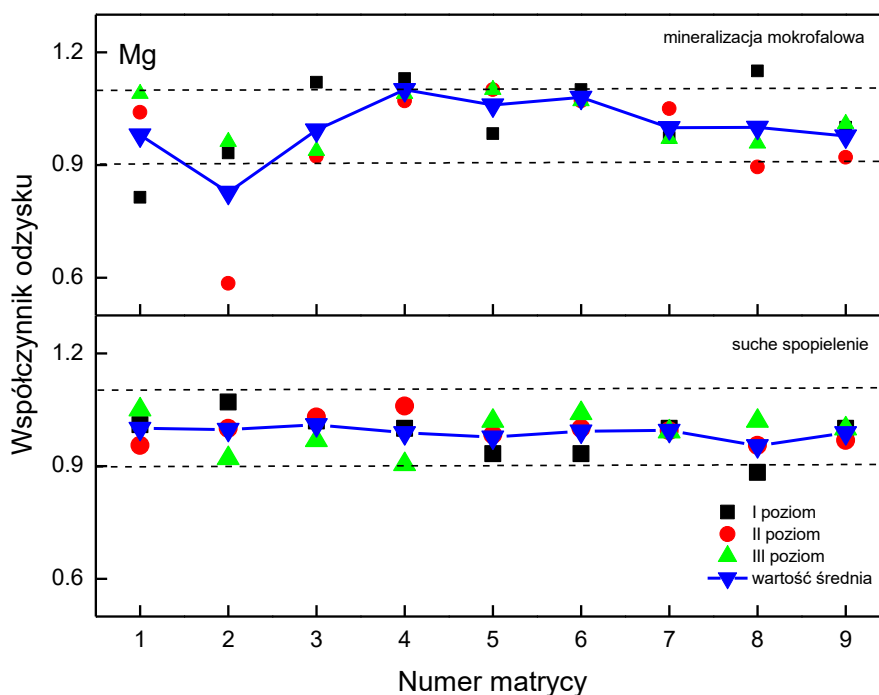
suplemencie diety o niskiej zawartości oznaczanych pierwiastków, środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej, mięsie surowym, produkcie zbożowym i napoju, oznaczania magnezu w 2 matrycach, tj. suplementach diety o niskiej i wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków, oznaczania potasu w 4 matrycach, tj. środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej, mięsie surowym, produkcie mlecznym i owocu świeżym oraz oznaczania sodu w 3 matrycach, tj. suplemencie diety o niskiej zawartości oznaczanych pierwiastków, środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej i produkcie mlecznym. Współczynniki zmienności odzysku wyznaczone dla II poziomu wzbogacenia próbek przekroczyły wartość 10 % w przypadku: oznaczania wapnia w 4 matrycach, tj. suplementach diety o niskiej i wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków i środkach specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycach płynnej i stałej oraz oznaczania sodu w 2 matrycach, tj. środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej i napoju. W przypadku oznaczania magnezu i potasu współczynniki odzysku wyznaczone dla II poziomu wzbogacenia próbek nie przekroczyły zakładanej wartości dla żadnej z analizowanych matryc. Współczynniki zmienności odzysku wyznaczone dla III poziomu wzbogacenia próbek nie spełniały założonych kryteriów i przekraczały wartość 10 % w przypadku oznaczania wapnia w 3 matrycach, tj. suplementach diety o niskiej i wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków oraz środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej oraz oznaczania magnezu w jednej matrycy, tj. suplemencie diety o wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków. Najniższą wartość współczynnika zmienności odzysku, tj. 0,00 % odnotowano w przypadku oznaczania magnezu w próbkach produktu mlecznego i wszystkich czterech oznaczanych pierwiastków w próbkach napoju, najwyższą natomiast – oznaczania sodu w środku specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej, tj. 32,02 %. Wartości średnie współczynników zmienności odzysku obliczone jako średnia arytmetyczna współczynników zmienności odzysku wyznaczonych dla trzech poziomów wzbogacenia przekraczały założoną wartość 10 % w przypadku sześciu matryc, tj. suplementu diety o wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków dla wapnia, suplementu diety o niskiej zawartości oznaczanych pierwiastków dla wapnia i magnezu, środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej dla wapnia i sodu, produktu mlecznego dla potasu, owocu świeżego dla wapnia i napoju dla sodu.

Dla trzech analizowanych matryc zmineralizowanych mikrofalowo, tj. środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy płynnej, mięsa surowego i produktu

zbożowego wartości średnie współczynników zmienności odzysku wyznaczone na trzech poziomach wzbogacenia próbek mieściły się w założonych granicach dla wszystkich oznaczanych pierwiastków.

10.3.4.3. Zestawienie wyników badania odzysku

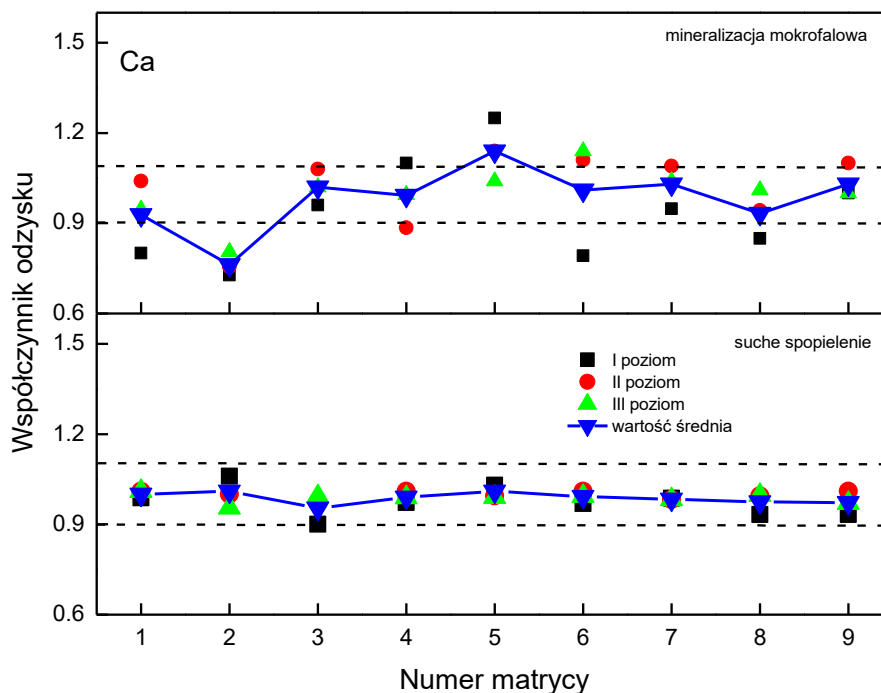
Wartości współczynników odzysku wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach żywności fortyfikowanych na trzech różnych poziomach wzbogacenia poddanych suchemu spopieleniu oraz zmineralizowanych mikrofalowo zilustrowano na rysunkach 10.2 ÷ 10.5.



Rysunek 10.2.

Wartości współczynników odzysku wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości magnezu w fortyfikowanych próbkach żywności poddanych suchemu spopieleniu oraz zmineralizowanych mikrofalowo; 1 – suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków, 2 – suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków, 3 – środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna, 4 – środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała, 5 – mięso surowe, 6 – produkt mleczny, 7 – produkt zbożowy, 8 – owoc świeży, 9 – napój

Na podstawie analizy rysunku stwierdzono, iż większe rozbieżności wartości współczynników odzysku wyznaczonych dla magnezu na trzech różnych poziomach wzbogacenia próbek odnotowano w przypadku mineralizacji mikrofalowej, przy czym najmniej stabilną matrycą pod tym względem był suplement diety o wysokiej zawartości magnezu.

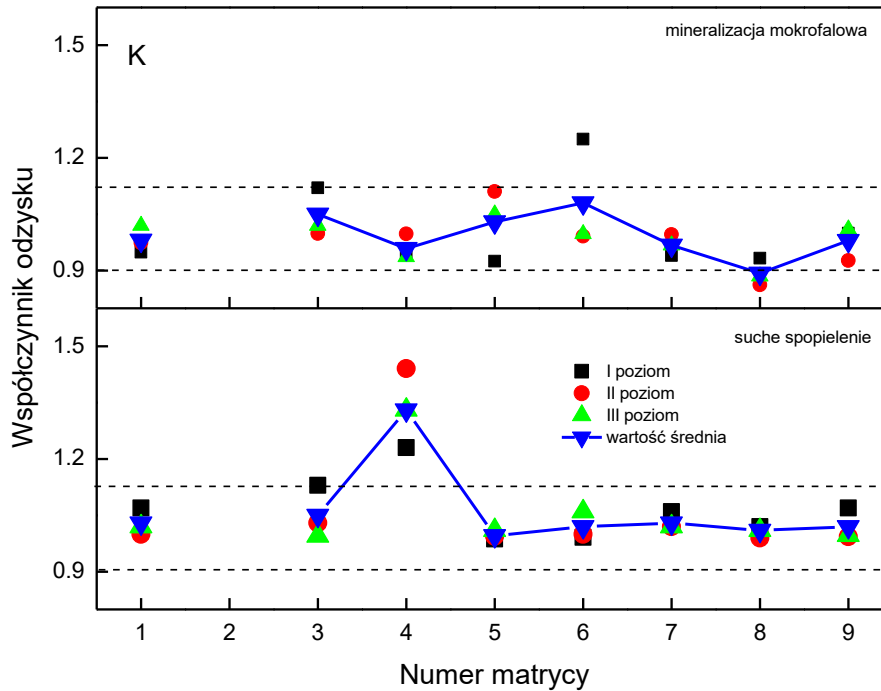


Rysunek 10.3.

Wartości współczynników odzysku wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości wapnia w fortyfikowanych próbkach żywności poddanych suchemu spopieleniu oraz zmineralizowanych mikrofalowo; 1 – suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków, 2 – suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków, 3 – środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna, 4 – środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała, 5 – mięso surowe, 6 – produkt mleczny, 7 – produkt zbożowy, 8 – owoc świeży, 9 – napój

Z analizy rysunku wynika, iż tak jak w przypadku magnezu większe rozbieżności wartości współczynników odzysku wyznaczonych dla wapnia na trzech różnych poziomach wzbogacenia próbek odnotowano w przypadku mineralizacji mikrofalowej,

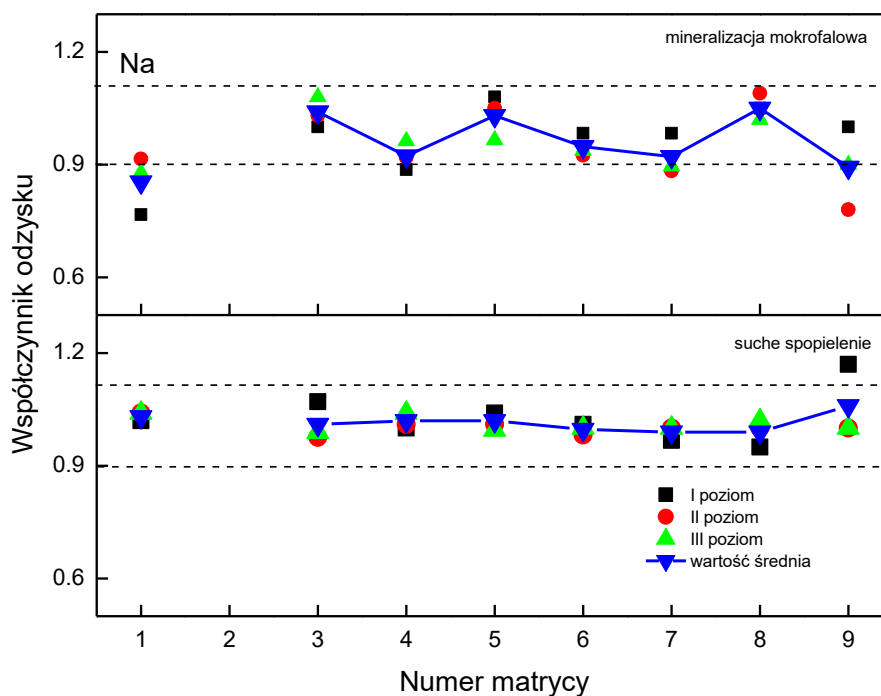
przy czym najmniej stabilną matrycą pod tym względem był produkt mleczny, a wyznaczone wartości współczynników odzysku dla suplementu diety o wysokiej zawartości wapnia nie mieściły się w założonych kryteriach dla wszystkich trzech poziomów wzbogacenia próbek.



Rysunek 10.4. Wartości współczynników odzysku wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości potasu w fortyfikowanych próbkach żywności poddanych suchemu spoieleniu oraz zmineralizowanych mikrofalowo; 1 – suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków, 2 – brak danych, 3 – środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna, 4 – środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała, 5 – mięso surowe, 6 – produkt mleczny, 7 – produkt zbożowy, 8 – owoc świeży, 9 – napój

Na podstawie analizy rysunku stwierdzono, iż rozbieżności wartości współczynników odzysku wyznaczonych dla potasu na trzech różnych poziomach wzbogacenia próbek w przypadku suchego spoielenia i mineralizacji mikrofalowej były porównywalne. Ponadto wartości współczynników odzysku wyznaczone dla próbek środka specjalnego

przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej – poddanych suchemu spopieleniu nie mieściły się w założonych kryteriach dla wszystkich trzech poziomów wzbogacenia próbek.

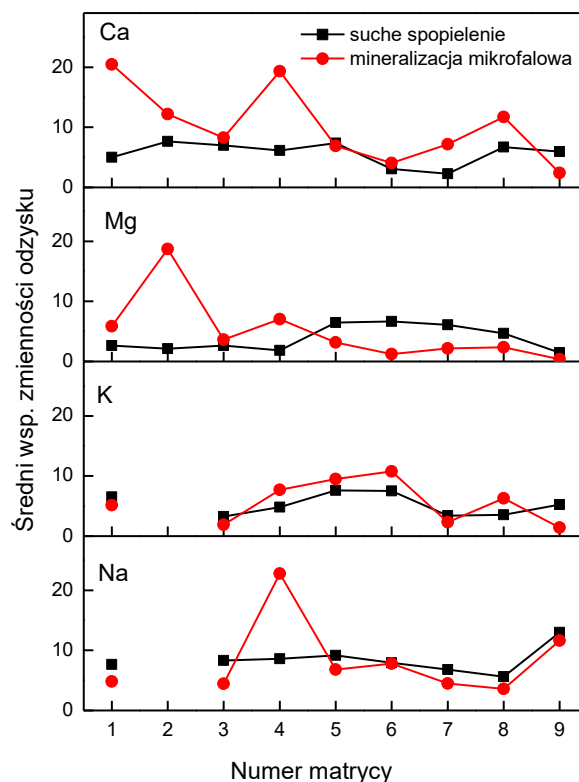


Rysunek 10.5. Wartości współczynników odzysku wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości sodu w fortyfikowanych próbkach żywności poddanych suchemu spopieleniu oraz zmineralizowanych mikrofalowo; 1 – suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków, 2 – brak danych, 3 – środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna, 4 – środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała, 5 – mięso surowe, 6 – produkt mleczny, 7 – produkt zbożowy, 8 – owoc świeży, 9 – napój

Na podstawie analizy rysunku stwierdzono, iż rozbieżności wartości współczynników odzysku wyznaczonych dla sodu na trzech różnych poziomach wzbogacenia próbek w przypadku suchego spopielenia i mineralizacji mikrofalowej były porównywalne.

Średnie wartości współczynników zmienności odzysku wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach żywności

fortyfikowanych na trzech różnych poziomach wzbogacenia zmineralizowanych w piecu muflowym oraz poddanych mineralizacji mikrofalowej zilustrowano na rysunku 10.6.



Rysunek 10.6. Średnie wartości współczynników zmienności odzysku wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w fortifikowanych próbkach żywności poddanych suchemu spopieleniu oraz zmineralizowanych mikrofalowo; 1 – suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków, 2 – suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków, 3 – środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna, 4 – środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała, 5 – mięso surowe, 6 – produkt mleczny, 7 – produkt zbożowy, 8 – owoc świeży, 9 – napój

Z analizy rysunku wynika, iż średnie wartości współczynników zmienności odzysku odbiegające od założonych kryteriów odnotowano w przypadku oznaczania wapnia w dwóch matrycach oraz oznaczania magnezu w jednej matrycy i sodu również w jednej

matrycy. Najmniej stabilną matrycą pod tym względem był środek spożywczy specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matryca stała, dla którego wartości współczynników zmienności odzysku wyznaczone dla wapnia i sodu wyniosły około 20 %.

10.3.5. Zakresy robocze metody

Zakresy liniowości krzywych wzorcowania oraz zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu oznaczone w próbkach rzeczywistych i wzbogaconych dodatkiem roztworów wzorcowych, dla których obliczona wartość odzysku mieściła się w przyjętych kryteriach posłużyły do określenia zakresów roboczych metody. Jako dolne i górne granice zakresów roboczych metody dotyczące części analitycznej przyjęto zakresy liniowości krzywych wzorcowania. Jako dolne granice zakresów roboczych dotyczące całości metody przyjęto wyniki oznaczeń w próbkach rzeczywistych dla matryc o najmniejszej zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu. Jako górne granice natomiast, wyniki oznaczeń w próbkach wzbogaconych dla matryc, dla których poziom wzbogacenia roztworami wzorcowymi oznaczanych pierwiastków był najwyższy. Zakresy pomiarowe krzywych wzorcowania oraz zakresy robocze metody wyznaczone na podstawie analizy próbek poddanych suchemu spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej przedstawiono w tabeli 10.18.

Tabela 10.18. Zakresy pomiarowe krzywych wzorcowania i zakresy robocze metod

Oznaczany pierwiastek	Rodzaj mineralizacji	Zakres pomiarowy krzywej wzorcowania	Zakres roboczy metody*
Wapń	Mineralizacja w piecu muflowym	0,05 ÷ 2 mg/l	3 ÷ 62628 mg/100g
	Mineralizacja mikrofalowa		3 ÷ 63840 mg/100g
Magnez	Mineralizacja w piecu muflowym	0,05 ÷ 1,0 mg/l	4 ÷ 37773 mg/100g
	Mineralizacja mikrofalowa		4 ÷ 30771 mg/100g
Potas	Mineralizacja w piecu muflowym	0,1 ÷ 2,0 mg/l	0 ÷ 5236 mg/100g
	Mineralizacja mikrofalowa		1 ÷ 21992 mg/100g
Sód	Mineralizacja w piecu muflowym	0,1 ÷ 1 mg/l	0 ÷ 50367 mg/100g
	Mineralizacja mikrofalowa		0 ÷ 25034 mg/100g

* wartości obliczone dla różnych wielkości odważek poszczególnych matryc

10.3.6. Precyzja metody

Powtarzalność oznaczeń, będącą miarą precyzji metody, oceniono na podstawie wyników badań uzyskanych dla certyfikowanego matrycowego materiału referencyjnego. Niepewności standardowe pomiarów wyrażone współczynnikami zmienności powtarzalności oraz wartości granic powtarzalności obliczone wg wzorów (4) i (5) zamieszczonych w Części literaturowej pracy, rozdział 6. przedstawiono w tabeli 10.19.

Tabela 10.19. Wartości odchyłeń standardowych powtarzalności, współczynników zmienności powtarzalności i granic powtarzalności wyznaczone na podstawie wyników badań CRM

Oznaczany pierwiastek	Rodzaj mineralizacji	Parametry charakteryzujące precyzję metody		
		Odchylenie standardowe powtarzalności <i>SD</i>	Współczynnik zmienności powtarzalności <i>CV</i>	Granica powtarzalności <i>R</i>
Wapń	Mineralizacja w piecu muflowym	25,9	1,89	73,3
	Mineralizacja mikrofalowa	41,0	3,05	116,0
Magnez	Mineralizacja w piecu muflowym	2,38	1,92	6,7
	Mineralizacja mikrofalowa	2,52	2,29	7,1
Potas	Mineralizacja w piecu muflowym	48,3	2,91	136,6
	Mineralizacja mikrofalowa	38,4	2,27	108,6
Sód	Mineralizacja w piecu muflowym	15,8	3,34	44,7
	Mineralizacja mikrofalowa	22,8	5,12	64,5

Obliczone współczynniki zmienności nieprzekraczające wartości 10 % świadczą o statystycznie nieistotnym różnicowaniu wyników oznaczeń [80]. Przy zastosowaniu obu sposobów mineralizacji odnotowano wysoką powtarzalność wyników badań w przypadku oznaczania zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu w CRM. Wartości średnie uzyskanych wyników oznaczeń, przedstawione w tabeli 10.7, po uwzględnieniu granic powtarzalności były zgodne z wartościami certyfikowanymi z wyjątkiem wyników

oznaczania magnezu w próbkach zmineralizowanych mikrofalowo. Obliczone wartości CV były niższe w przypadku oznaczania zawartości trzech spośród czterech oznaczanych pierwiastków, tj. wapnia, magnezu i sodu w próbkach poddanych suchemu spopieleniu.

10.3.7. Szacowanie niepewności pomiaru

Wartości liczbowe złożonych standardowych niepewności pomiaru U_c obliczono ze wzoru zamieszczonego w Części literaturowej pracy z uwzględnieniem niepewności standardowych pomiaru związanych z wzorcowaniem przyrządów pomiarowych u_{kal} , odzyskiem substancji badanej u_{odz} i z precyzją oznaczeń w próbkach certyfikowanego matrycowego materiału odniesienia u_{CRM} . W obliczeniach uwzględniono wartości średnie współczynników zmienności odzysku na trzech poziomach wzbogacenia i wartości środkowe współczynników zmienności wzorcowania.

Wyniki obliczeń dla poszczególnych pierwiastków zamieszczono w tabelach 10.20 ÷ 10.23.

Tabela 10.20. Wartości standardowych niepewności pomiaru oraz złożonych standardowych niepewności pomiaru wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości wapnia

Rodzaj matrycy	Wartości standardowych niepewności pomiaru i złożonych standardowych niepewności pomiaru									
	Suche spoiwienie					Mineralizacja mikrofalowa				
	u_{kal} [%]	u_{odz} [%]	u_{CRM} [%]	U_c [%]	wartość średnia U_c [%]	u_{kal} [%]	u_{odz} [%]	u_{CRM} [%]	U_c [%]	wartość średnia U_c [%]
Suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków	2,74	4,99	1,89	6,00	6,62	2,92	20,47	3,05	20,90	11,37
Suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków	3,53	7,65	1,89	8,63	6,62	2,92	12,19	3,05	12,90	11,37
Środek specjalnego przeznaczenia żywnościowego, matryca płynna	2,21	6,99	1,89	7,57	6,62	4,07	8,27	3,05	9,71	11,37
Środek specjalnego przeznaczenia żywnościowego, matryca stała	2,21	6,12	1,89	6,78	6,62	4,07	19,32	3,05	19,98	11,37
Mięso surowe	2,21	7,36	1,89	7,91	6,62	2,55	6,90	3,05	7,96	11,37
Produkt mleczny	3,53	3,07	1,89	5,05	6,62	2,55	4,04	3,05	5,67	11,37
Produkt zbożowy	2,21	2,29	1,89	3,70	6,62	2,55	7,17	3,05	8,20	11,37
Owoc świeży	2,21	6,73	1,89	7,33	6,62	2,55	11,72	3,05	12,38	11,37
Napój	2,21	5,94	1,89	6,61	6,62	2,55	2,42	3,05	4,65	11,37

Wyniki badań, dyskusja wyników badań

Tabela 10.21. Wartości standardowych niepewności pomiaru oraz złożonych standardowych niepewności pomiaru wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości magnezu

Rodzaj matrycy	Wartości standardowych niepewności pomiaru i złożonych standardowych niepewności pomiaru									
	Suche spoiwienie					Mineralizacja mikrofalowa				
	u_{kal} [%]	u_{odz} [%]	u_{CRM} [%]	U_c [%]	wartość średnia U_c [%]	u_{kal} [%]	u_{odz} [%]	u_{CRM} [%]	U_c [%]	wartość średnia U_c [%]
Suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków	4,16	2,65	1,92	5,29	6,41	2,93	5,88	2,29	6,96	7,04
Suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków	3,47	2,14	1,92	4,50	6,41	2,93	18,72	2,29	19,09	7,04
Środek specjalnego przeznaczenia żywnościowego, matryca płynna	2,17	2,63	1,92	3,91	6,41	3,46	3,65	2,29	5,53	7,04
Środek specjalnego przeznaczenia żywnościowego, matryca stała	2,40	1,85	1,92	3,59	6,41	3,46	7,05	2,29	8,18	7,04
Mięso surowe	5,75	6,49	1,92	8,88	6,41	3,59	3,15	2,29	5,30	7,04
Produkt mleczny	5,75	6,68	1,92	9,02	6,41	3,59	1,23	2,29	4,43	7,04
Produkt zbożowy	5,75	6,07	1,92	8,58	6,41	3,59	2,18	2,29	4,78	7,04
Owoc świeży	5,75	4,68	1,92	7,66	6,41	3,59	2,34	2,29	4,86	7,04
Woda mineralna	5,75	1,48	1,92	6,24	6,41	3,59	0,36	2,29	4,27	7,04

Wyniki badań, dyskusja wyników badań

Tabela 10.22. Wartości standardowych niepewności pomiaru oraz złożonych standardowych niepewności pomiaru wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości potasu

Rodzaj matrycy	Wartości standardowych niepewności pomiaru i złożonych standardowych niepewności pomiaru									
	Suche spoiwienie					Mineralizacja mikrofalowa				
	u_{kal} [%]	u_{odz} [%]	u_{CRM} [%]	U_c [%]	wartość średnia U_c [%]	u_{kal} [%]	u_{odz} [%]	u_{CRM} [%]	U_c [%]	wartość średnia U_c [%]
Suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków	2,76	6,52	2,91	7,65	7,20	5,09	5,16	2,27	7,60	8,02
Suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Środek specjalnego przeznaczenia żywnościowego, matryca płynna	1,75	3,27	2,91	4,71	7,20	3,48	1,88	2,27	4,56	8,02
Środek specjalnego przeznaczenia żywnościowego, matryca stała	1,75	4,81	2,91	5,89	7,20	3,48	7,68	2,27	8,73	8,02
Mięso surowe	4,67	7,62	2,91	9,40	7,20	5,09	9,48	2,27	11,00	8,02
Produkt mleczny	4,67	7,50	2,91	9,30	7,20	5,09	10,76	2,27	12,12	8,02
Produkt zbożowy	4,67	3,39	2,91	6,46	7,20	5,09	2,30	2,27	6,03	8,02
Owoc świeży	4,67	3,55	2,91	6,55	7,20	5,09	6,26	2,27	8,38	8,02
Napój	4,67	5,26	2,91	7,61	7,20	5,09	1,42	2,27	5,75	8,02

Wyniki badań, dyskusja wyników badań

Tabela 10.23. Wartości standardowych niepewności pomiaru oraz złożonych standardowych niepewności pomiaru wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości sodu

Rodzaj matrycy	Wartości standardowych niepewności pomiaru i złożonych standardowych niepewności pomiaru									
	Suche spoielenie					Mineralizacja mikrofalowa				
	u_{kal} [%]	u_{odz} [%]	u_{CRM} [%]	U_c [%]	wartość średnia U_c [%]	u_{kal} [%]	u_{odz} [%]	u_{CRM} [%]	U_c [%]	wartość średnia U_c [%]
Suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków	1,70	7,63	3,34	8,50	9,67	3,81	4,82	5,12	8,00	10,78
Suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Środek specjalnego przeznaczenia żywnieniowego, matryca płynna	2,46	8,32	3,34	9,30	9,67	2,01	4,42	5,12	7,06	10,78
Środek specjalnego przeznaczenia żywnieniowego, matryca stała	2,46	8,60	3,34	9,55	9,67	2,01	22,75	5,12	23,41	10,78
Mięso surowe	4,54	9,17	3,34	10,76	9,67	3,81	6,81	5,12	9,33	10,78
Produkt mleczny	4,54	7,92	3,34	9,72	9,67	3,81	7,81	5,12	10,09	10,78
Produkt zbożowy	3,41	6,79	3,34	8,30	9,67	3,81	4,48	5,12	7,80	10,78
Owoc świeży	3,41	5,63	3,34	7,38	9,67	3,81	3,57	5,12	7,31	10,78
Napój	3,41	12,99	3,34	13,84	9,67	3,81	11,64	5,12	13,27	10,78

Wyniki badań, dyskusja wyników badań

Wyznaczone wartości standardowych niepewności pomiaru związanych z precyzją wykonywanych badań oraz wzorcowaniem przyrządów pomiarowych nie przekroczyły wartości 10 % w żadnym z rozpatrywanych przypadków.

Wyznaczona wartość standardowej niepewności pomiaru związana z odzyskiem substancji badanej po suchym spopieleniu próbek przekroczyła wartość 10 % tylko w jednym przypadku, tj. oznaczania zawartości sodu w próbce napoju. W przypadku analizy próbek zmineralizowanych mikrofalowo natomiast wartości niepewności standardowej związanej z odzyskiem substancji badanej były większe niż 10 % przy oznaczaniu wapnia w czterech matrycach, tj. suplementach diety o niskiej i wysokiej zawartości wapnia, środka spożywczym specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej i owocu świeżym, magnezu w jednej matrycy, tj. suplemente diety o wysokiej zawartości magnezu, potasu również w jednej matrycy, tj. produkcie mlecznym i sodu w dwóch matrycach, tj. środka spożywczym specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej i napoju. Wartości te miały największy wpływ na wyznaczone złożone standardowe niepewności pomiaru.

Wyznaczone wartości złożonych standardowych niepewności pomiaru przekraczały wartość 10 % w przypadku oznaczania zawartości sodu w dwóch matrycach, tj. mięsie surowym i napoju poddanych suchemu spopieleniu. W przypadku mineralizacji mikrofalowej natomiast wartości te były większe niż 10 % przy oznaczaniu wapnia w czterech matrycach, tj. suplementach diety o niskiej i wysokiej zawartości wapnia, środka spożywczym specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej i owocu świeżym, magnezu w jednej matrycy, tj. suplemente diety o wysokiej zawartości magnezu, potasu w dwóch matrycach, tj. mięsie surowym i produkcie mlecznym oraz sodu w trzech matrycach tj. środka spożywczym specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej, produkcie mlecznym i napoju. Najwyższą wartość złożonej standardowej niepewności pomiaru odnotowano w przypadku oznaczania sodu w środku specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej po mineralizacji mikrofalowej tj. 23,41 %.

W tabeli 10.24 przedstawiono wartości złożonych standardowych niepewności pomiaru oraz rozszerzonych standardowych niepewności pomiaru obliczone dla współczynnika rozszerzenia $k = 2$ i poziomu ufności 95 % dla magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach należących do różnych grup produktów spożywczych zmineralizowanych w piecu muflowym i poddanych mineralizacji techniką mikrofalową.

Tabela 10.24. Wartości złożonych niepewności standardowych pomiaru i rozszerzonych standardowych niepewności pomiaru dla współczynnika rozszerzenia $k = 2$ i poziomu ufności 95 % wyznaczone dla wyników oznaczeń zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach należących do różnych grup produktów spożywczych

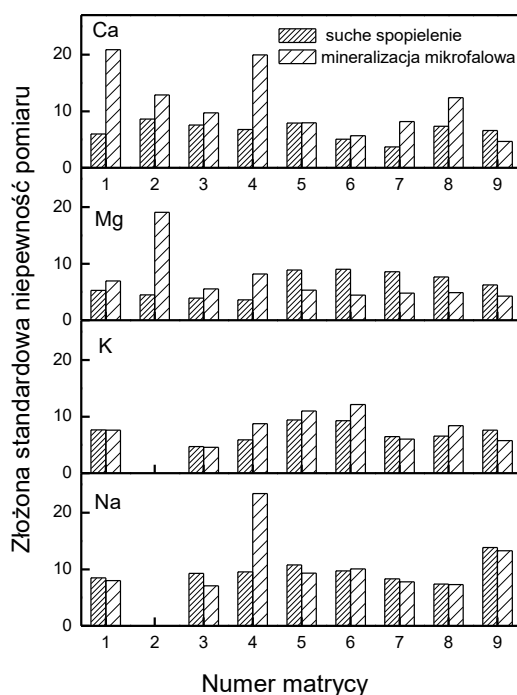
Rodzaj matrycy	Pierwiastek	Mineralizacja w piecu muflowym		Mineralizacja mikrofalowa	
		Złożona standardowa niepewność pomiaru	Rozszerzona standardowa niepewność pomiaru	Złożona standardowa niepewność pomiaru	Rozszerzona standardowa niepewność pomiaru
		U_c [%]	U [%]	U_c [%]	U [%]
Suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	6,00	12	20,90	42
	Magnez	5,29	11	6,96	14
	Potas	7,65	15	7,60	15
	Sód	8,50	17	8,00	16
Suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków	Wapń	8,63	17	12,90	26
	Magnez	4,50	9	19,09	38
	Potas	—	—	—	—
	Sód	—	—	—	—
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna	Wapń	7,57	15	9,71	19
	Magnez	3,91	8	5,53	11
	Potas	4,71	9	4,56	9
	Sód	9,30	19	7,06	14
Środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała	Wapń	6,78	14	19,98	40
	Magnez	3,59	7	8,18	16
	Potas	5,89	12	8,73	17
	Sód	9,55	19	23,41	47
Mięso surowe	Wapń	7,91	16	7,96	16
	Magnez	8,88	18	5,30	11
	Potas	9,40	19	11,00	22
	Sód	10,76	22	9,33	19

Tabela 10.24. Wartości złożonych niepewności standardowych pomiaru i rozszerzonych standardowych niepewności pomiaru dla współczynnika rozszerzenia $k = 2$ i poziomu ufności 95 % wyznaczone dla wyników oznaczeń zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach należących do różnych grup produktów spożywczych – c.d.

Rodzaj matrycy	Pierwiastek	Mineralizacja w piecu muflowym		Mineralizacja mikrofalowa	
		Złożona standardowa niepewność pomiaru	Rozszerzona standardowa niepewność pomiaru	Złożona standardowa niepewność pomiaru	Rozszerzona standardowa niepewność pomiaru
		U_c [%]	U [%]	U_c [%]	U [%]
Produkt mleczny	Wapń	5,05	10	5,67	11
	Magnez	9,02	18	4,43	9
	Potas	9,30	19	12,12	24
	Sód	9,72	20	10,09	20
Produkt zbożowy	Wapń	3,70	7	8,20	16
	Magnez	8,58	17	4,78	10
	Potas	6,46	13	6,03	12
	Sód	8,30	17	7,80	16
Owoc świeży	Wapń	7,33	15	12,38	25
	Magnez	7,66	15	4,86	10
	Potas	6,55	13	8,38	17
	Sód	7,38	15	7,31	15
Napój	Wapń	6,61	13	4,65	9
	Magnez	6,24	13	4,27	9
	Potas	7,61	15	5,75	12
	Sód	13,84	28	13,27	27

Najwyższe wartości złożonej standardowej niepewności pomiaru odnotowano w przypadku oznaczania zawartości sodu w próbkach napoju poddanych suchemu spopieleniu, tj. 28 % i w próbkach środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej zmineralizowanych mikrofalowo, tj. 47 %.

Na rysunku 10.7. zilustrowano wartości złożonych standardowych niepewności pomiaru obliczone dla współczynnika rozszerzenia $k = 2$ i poziomu ufności 95 % dla magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach należących do różnych grup produktów spożywczych zmineralizowanych w piecu muflowym i poddanych mineralizacji techniką mikrofalową.



Rysunek 10.7. Wartości złożonych standardowych niepewności pomiaru dla magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach należących do różnych grup produktów spożywczych zmineralizowanych w piecu muflowym i poddanych mineralizacji techniką mikrofalową; 1 – suplement diety, niska zawartość oznaczanych pierwiastków, 2 – suplement diety, wysoka zawartość oznaczanych pierwiastków, 3 – środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca płynna, 4 – środek specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matryca stała, 5 – mięso surowe, 6 – produkt mleczny, 7 – produkt zbożowy, 8 – owoc świeży, 9 – napój

W tabeli 10.25. przedstawiono uśrednione wartości rozszerzonych standardowych niepewności pomiaru wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń wapnia, magnezu, potasu i sodu w próbkach żywności zmineralizowanych w piecu muflowym i poddanych mineralizacji techniką mikrofalową.

Tabela 10.25. Wartości średnie rozszerzonych standardowych niepewności pomiaru wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach żywności

Pierwiastek	Rozszerzona standardowa niepewność pomiaru U [%]	
	Mineralizacja w piecu muflowym	Mineralizacja mikrofalowa
Wapń	13	23
Magnez	13	14
Potas	14	16
Sód	20	22

Wyznaczone wartości rozszerzonej standardowej niepewności pomiaru były niższe w przypadku próbek żywności poddanych suchemu spopieleniu dla wszystkich oznaczanych pierwiastków.

Najwyższe średnie wartości rozszerzonej standardowej niepewności pomiaru dla współczynnika rozszerzenia $k = 2$ i poziomu ufności 95 % odnotowano w przypadku oznaczania sodu w próbkach żywności poddanych suchemu spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej tj. odpowiednio 20 % i 22 % oraz wapnia w próbkach poddanych mineralizacji mikrofalowej, tj. 23 %.

11. Podsumowanie i wnioski

Przedstawione w niniejszej pracy wyniki badań dotyczące oznaczania zawartości wybranych składników mineralnych w próbkach żywności należących do różnych grup środków spożywczych pozwoliły na określenie wpływu zastosowanego sposobu mineralizacji na wyniki oznaczeń i wartości podstawowych parametrów walidacyjnych metody. Uzyskane wyniki badań upoważniają do sformułowania następujących wniosków:

1. Wielkość zastosowanej odważki uzależniono od warunków mineralizacji i od stopnia jednorodności próbki. W przypadku mineralizacji mikrofalowej wielkość odważki nie mogła przekraczać 0,3 g próbki w stanie stałym i 1,0 g próbki w stanie płynnym, co stanowiło pewne ograniczenie tej metody. Suchemu spopieleniu natomiast można było poddać znacznie większe, bardziej reprezentatywne ilości próbek.
2. Rozstęp pomiędzy wynikami oznaczeń poszczególnych składników mineralnych był mniejszy w przypadku suchego spopielenia próbek bez względu na wielkość próbki poddanej badaniu.
3. Wyznaczone granice wykrywalności i oznaczalności wykazały zbliżone wartości w przypadku obu zastosowanych sposobów mineralizacji, jednakże wyższe wartości odnotowano w przypadku suchego spopielenia próbek. Granice oznaczalności oznaczanych pierwiastków nie przekroczyły założonej wartości 1,5 mg/l.
4. Wyznaczone wartości współczynników zmienności wzorcowania nie przekroczyły założonej wartości 10 % w przypadku żadnego z oznaczanych pierwiastków, przy czym ich największe wartości odnotowano przy oznaczaniu wapnia zarówno po suchym spopieleniu próbek, jak i mineralizacji mikrofalowej.
5. W obliczeniu współczynników odzysku w próbkach poddanych suchemu spopieleniu nie uwzględniono wszystkich uzyskanych wyników w przypadku oznaczania magnezu na I poziomie wzbogacenia w suplemente diety o wysokiej zawartości magnezu. W przypadku mineralizacji mikrofalowej nie uwzględniono wszystkich uzyskanych wyników oznaczeń w obliczeniu współczynników odzysku dla próbek:
 - suplementu diety o niskiej zawartości oznaczanych składników mineralnych dla wapnia na wszystkich trzech poziomach wzbogacenia,

- suplementu diety o wysokiej zawartości oznaczanych składników mineralnych dla wapnia i magnezu na wszystkich trzech poziomach wzbogacenia,
- środka spożywczego specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy płynnej dla wapnia na II poziomie wzbogacenia oraz dla magnezu, potasu i sodu na I poziomie wzbogacenia,
- środka spożywczego specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej dla wapnia, potasu i sodu na I poziomie wzbogacenia,
- mięsa surowego dla wapnia, magnezu i sodu na wszystkich trzech poziomach wzbogacenia i potasu na I poziomie wzbogacenia,
- mleka spożywczego dla potasu i sodu na I poziomie wzbogacenia
- owocu świeżego dla sodu na III poziomie wzbogacenia,

W przypadku tego rodzaju mineralizacji w obliczeniu współczynnika odzysku na trzech poziomach wzbogacenia próbek uwzględniono wszystkie uzyskane wyniki dla dwóch matryc tj. produktu zbożowego i napoju.

6. Na wyznaczone wartości współczynników odzysku miał wpływ poziom wzbogacenia uzależniony od poziomu zawartości oznaczanych pierwiastków w badanych próbkach rzeczywistych. W większości rozpatrywanych przypadków wartości współczynników odzysku wyznaczone na podstawie równoległych analiz próbek rzeczywistych i fortyfikowanych dodatkiem roztworów wzorcowych oznaczanych pierwiastków zmineralizowanych przy zastosowaniu różnych technik mineralizacji mieściły się w granicach $0,8 \div 1,2$. Wartość współczynnika odzysku najbardziej odbiegającą od założonego kryterium $0,9 \div 1,1$ tj. 1,44 odnotowano w przypadku oznaczania potasu w próbce środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego – matrycy stałej, poddanej suchemu spopieleniu na II poziomie wzbogacenia. W przypadku mineralizacji mikrofalowej wartość ta była najbardziej odbiegająca od założonych granic, tj. 0,585 dla magnezu oznaczanego w próbce suplementu diety o wysokiej zawartości magnezu na II poziomie wzbogacenia. Wartości średnie współczynników odzysku oznaczanych pierwiastków obliczone jako średnia arytmetyczna współczynników odzysku wyznaczonych dla trzech poziomów wzbogacenia mieściły się w przedziale $0,9 \div 1,1$ w przypadku każdej z analizowanych matryc poddanych suchemu spopieleniu z wyjątkiem jednej matrycy, tj. środka specjalnego przeznaczenia żywieniowego, matrycy stałej, dla

której średnia wartość współczynnika odzysku potasu wyniosła 1,33. Wartości średnie współczynników odzysku oznaczanych pierwiastków w próbkach po mineralizacji mikrofalowej nie spełniały założonych kryteriów w przypadku pięciu analizowanych matryc, tj. suplementów diety o niskiej i wysokiej zawartości oznaczanych pierwiastków, mięsa surowego, owocu świeżego oraz napoju i wyniosły odpowiednio: 0,854 dla sodu, 0,762 dla wapnia i 0,827 dla magnezu, 1,14 dla wapnia, 0,893 dla potasu oraz również 0,893 dla sodu.

7. Wyznaczone wartości precyzji w żadnym przypadku nie przekroczyły wartości 10 %, były zatem statystycznie nieistotne. W przypadku suchego spopielenia i mineralizacji mikrofalowej wyniosły odpowiednio dla wapnia 1,92 i 3,04, dla magnezu 1,88 i 2,00, dla potasu 2,73 i 2,17 oraz dla sodu 3,62 i 5,22.
8. Oszacowane na podstawie wyników badań wartości rozszerzonej standardowej niepewności pomiarów dla omawianych technik mineralizacji przekroczyły założoną wartość 20 % w przypadku oznaczania zawartości wapnia w próbkach zmineralizowanych mikrofalowo oraz oznaczaniu sodu w próbkach przygotowanych do badań przy wykorzystaniu obu sposobów mineralizacji.
9. Wyniki oznaczeń uzyskane dla próbek żywności należących do różnych grup środków spożywczych uzależnione były od stanu skupienia matrycy, wielkości odważki i stopnia jednorodności, a także od zastosowanego sposobu mineralizacji. Na niepewność wyników badań miały wpływ przede wszystkim współczynnik zmienności wzorcowania i współczynnik zmienności odzysku wyznaczony na podstawie oznaczeń próbek rzeczywistych i fortyfikowanych dodatkiem roztworów wzorcowych oznaczanych pierwiastków. Na wartość współczynnika odzysku poza czynnikami wymienionymi powyżej istotny wpływ miał również poziom wzbogacenia próbek i stopień ich rozcieńczenia.

Analiza parametrów walidacyjnych metody wykazała, że sposób mineralizacji próbek rzeczywistych i fortyfikowanych żywności na zawartość wapnia, magnezu, potasu i sodu oznaczoną metodą płomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej miał niewielki wpływ. Przygotowanie próbek do badań techniką suchego spopielenia próbek może generować więcej błędów analitycznych ze względu na bardziej złożoną procedurę postępowania. W przypadku mineralizacji mikrofalowej natomiast procedura postępowania jest znacznie mniej złożona, co pozwala na szybsze przygotowanie próbek do analiz.

12. Literatura cytowana

- [1] D. Zaręba, E. Trebnió, M. Ziarno, *Składniki mineralne mleka i jego przetworów*, Przemysł Spożywczy 66 (2012) 30-34.
- [2] K. D. Cashman, *Macrominerals in milk and dairy products, nutritional significance*. In: H. Roginski, P. F. Fox, & J. W. Fuquay (Eds.), *Encyclopedia of dairy sciences*, London, UK: Academic Press, 2002, 2051-2058.
- [3] Mayes, P. A. (2000) Nutrition, w: R. K. Murray, D. K. Granner, P. A. Mayes, V. W. Rodwell, *Harper's Biochemistry* 25th Edition, McGraw-Hill Health Profession Division, New York 2000.
- [4] M. N. M. Reyes & R. C. Campos, *Determination of copper and nickel in vegetable oils by direct sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry*, Talanta 70 (2006) 929-932.
- [5] A. Szczygieł, *Podstawy fizjologii żywienia*, PZWL Warszawa, 1975.
- [6] A. Brzozowska i inni, *Składniki mineralne w żywieniu człowieka*, Wydawnictwo Akademii Rolniczej w Poznaniu, Poznań, 2002.
- [7] Rozporządzenie (WE) Nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002 r. ustanawiające ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego, powołujące Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności oraz ustanawiające procedury w zakresie bezpieczeństwa żywności (Dz. U. L 31 z 01.02.2002, s. 1) z późniejszymi zmianami.
- [8] Rozporządzenie (WE) nr 1925/2006 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 20 grudnia 2006 r. w sprawie dodawania do żywności witamin i składników mineralnych oraz niektórych innych substancji (Dz. U. L 404 z 30.12.2006 r., s. 26) z późniejszymi zmianami.
- [9] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) nr 1169/2011 z dnia 25.10.2011 w sprawie przekazywania konsumentom informacji na temat żywności, zmiany rozporządzeń Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1924/2006 i (WE) nr 1925/2006 oraz uchylecia dyrektywy Komisji 87/250/EWG, dyrektywy Rady 90/496/EWG, dyrektywy Komisji 1999/10/WE, dyrektywy 2000/13/WE Parlamentu Europejskiego i Rady, dyrektyw Komisji 2002/67/WE i 2008/5/WE oraz rozporządzenia Komisji (WE) nr 608/2004 (Dz. U. L 304 z 22.11.2011, s. 18) z późniejszymi zmianami.

- [10] L. Noël, M. Carl, C. Vastel, T. Guérin, *Determination of sodium, potassium, calcium and magnesium content in milk products by flame atomic absorption spectrometry (FAAS): a joint ISO/IDF collaborative study*, International Dairy Journal 18 (2008) 899-904.
- [11] M. A. de la Fuente, M. Juárez, *Rapid determination of calcium, magnesium, sodium and potassium in milk by flame atomic spectrometry after microwave oven digestion*, Analyst 120 (1995) 107-111.
- [12] C.S. He, Q. Zhou, H. Fan, *Determination of mineral elements in milk and milk products extracted with hydrochloric acid (HCl) by FAAS*, Spectroscopy and Spectral Analysis 19 (1999) 868-870.
- [13] M. A. de la Fuente, F. Montes, G. Guerrero, M. Juárez, *Total and soluble contents of calcium, magnesium, phosphorus and zinc in yoghurts*, Food Chemistry 80 (2003) 573-578.
- [14] Baccan, J. C. Andrade, O. E. S. Godinho, J. S. Barone, *Química analítica quantitativa elementar*, 3. ed. Edgard Blücher, São Paulo, 2001.
- [15] A. B. V. H. Lara, G. Nazário, M. E. W. Almeida, W. Pregolato, *Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz*, 2. ed. v. 1 Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, 1976.
- [16] M. A. Murcia, A Vera, M. M. Tomé, A Muñoz, M. H. Córdoba, R. O. Gonzalez, *Fast determination of the Ca, Mg, K, Na and Zn contents in milk and nondairy imitation milk using ICP-AES without mineralization stage*. Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie. 32 (1999) 175-179.
- [17] M. A. Morgano, L. A. Souza, J. M. Neto, P. H. C. Rondó, *Composição mineral do leite materno de bancos de leite*, Ciência e Tecnologia de Alimentos 25 (2005) 819-824.
- [18] A. Asfaw, G. Wibetoe, *Simultaneous determination of hydride (Se) and non-hydride-forming (Ca, Mg, K, P, S, Zn) elements in various beverages (beer, coffee and milk) with minimum sample preparation by ICP-AES and use of a dual-mode sample introduction system*, Analytical and Bioanalytical Chemistry 382 (2005) 173-179.
- [19] J. A. Nobrega, Y. Gelinas, A. Krushevska, R. M. Barnes, *Direct determination of major and trace elements in milk by inductively coupled plasma atomic emission and mass spectrometry*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry 12 (1997) 1243-1246.

- [20] K-L. Chen, S-J. Jiang, *Determination of calcium, iron and zinc in milk powder by reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry*, *Analytica Chimica Acta* 470 (2002) 223-228.
- [21] A. Cygański, *Metody spektroskopowe w chemii analitycznej*, wydanie IV rozszerzone, Wydawnictwa Naukowo – Techniczne, Warszawa, 2013.
- [22] C. C. Nascentes, M. A. Arruda, A. R. Nogueira, J. A. Nóbrega, *Direct determination of Cu and Zn in fruit juices and bovine milk by thermospray flame furnace atomic absorption spectrometry*, *Talanta* 64 (2004) 912-917.
- [23] V. A. Soares, M. M. M. Kus, A. L. C. Peixoto, J. S. Carrocci, R. F. S. Salazar, H. J. Izário Filho, *Determination of nutritional and toxic elements in pasteurized bovine milk from Vale Do Paraiba Region (Brazil)*, *Food Control* 21 (2010) 45-49.
- [24] Poliana M. dos Santos, Lenon F. B. Costa, Edénir R. Pereira-Filho, *Study of calcium and sodium behavior to identify milk adulteration using flame atomic absorption spectrometry*, *Food and Nutrition Sciences* 3 (2012) 1228-1232.
- [25] C. V. S. Ieggli, D. Bohrer, P. C. do Nascimento, L. M. de Carvalho, S. C. Garcia, *Determination of sodium, potassium, calcium, magnesium, zinc, and iron in emulsified egg samples by flame atomic absorption spectrometry*, *Talanta* 80 (2010) 1282-1286.
- [26] B. Welz, M. Sperling, *Atomic Absorption Spectrometry*, 3rd ed., Wiley–VCH, Weinheim, 1999.
- [27] O. M. Hernández, J. M. G. Fraga, A. I. Jiménez, F. Jiménez, J. J. Arias, *Characterization of honey from the Canary Islands: determination of the mineral content by atomic absorption spectrophotometry*, *Food Chemistry* 93 (2005) 449-458
- [28] C. V. S. Ieggli, D. Bohrer, P. C. do Nascimento, L. M. de Carvalho, *Determination of sodium, potassium, calcium, magnesium, zinc and iron in emulsified chocolate samples by flame atomic absorption spectrometry*, *Food Chemistry* 124 (2011) 1189-1193.
- [29] M. Misztal – Szkudlińska, A. Chełmieniec, P. Szefer, *Ocena zawartości wapnia w gotowych produktach spożywczych przeznaczonych dla małych dzieci*, *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna XLVIII* (2015) 463-466.
- [30] G. C. Brandao, G. D. Matos, S. L. C. Ferreira, *Slurry sampling and high – resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry using*

- secondary lines for the determination of Ca and Mg in dairy products*, Microchemical Journal 98 (2011) 231-233.
- [31] K. Jurowski, W. Piekoszewski, *Spektrometria mas sprzężona z plazmą wzbudzoną indukcyjnie z mikropróbkowaniem za pomocą odparowania laserowego (LA ICP-MS)*, ISBN: 978-83-941637-0-9, Scientiae et Didactics, Kraków, 2015.
- [32] M. Pakieła, M. Wojciechowski, E. Bulska, *Zastosowanie spektrometrii mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej z mikropróbkowaniem laserowym do oznaczania składu pierwiastkowego pyłów*, Przegląd Geologiczny 57, nr 12 (2009), 1084-1089
- [33] A. Witczak, A. Jarnuszewska, *Zawartość wybranych mineralnych składników żywieniowych w mleku modyfikowanym dla niemowląt dostępnym w szczecińskich sklepach*, Roczniki PZH 62 (2011) 257-262.
- [34] R. F. Jarrell, *A brief history of atomic emission spectrochemical analysis, 1666-1950*, Journal of Chemical Education, 77 (2000) 573-576.
- [35] W. S. Lyra, V. B. Santos, A. G. G. Dionízio, V. L. Martins, L. F. Almeida, E. N. Gaião, P. H. G. D. Diniz, E. C. Silva and M. C. U. Araújo, *Digital image – based flame emission spectrometry*, Talanta 77 (2009) 1584-1589.
- [36] W. S. Lyra, F. A. C. Sanches, F. A. S. Cunha, P. H. G. D. Diniz, S. G. Lemos, E. C. Silva and M. C. U. Araújo, *Indirect determination of sodium diclofenac, sodium dipyrone and calcium gluconate in injection drugs using digital image-based (webcam) flame emission spectrometric method*, Analytical Methods 3 (2011) 1975-1980.
- [37] L. Campanella, M. Trojanowicz, K. Pyrzyńska, *Chemical speciation by flow – injection analysis. A review*, Talanta 43 (1996) 825-838.
- [38] K. Pyrzyńska, M. Trojanowicz, *Functionalized cellulose sorbents for preconcentration of trace metals in environmental analysis*, Critical Reviews in Analytical Chemistry 29 (1999) 313-321.
- [39] C. W. McLeod, *Flow injection techniques in inductively coupled plasma spectrometry*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry 2 (1987) 549-552.
- [40] Z. L. Fang, *Trends and potentials in flow injection on – line separation and preconcentration techniques for electrothermal atomic absorption spectrometry*, Spectrochimica Acta (Part B) 53 (1998) 1371-1379.

- [41] J. L. M. Santos, M. F. T. Ribeiro, J. L. F. C. Lima, A. C. B. Dias, E. A. G. Zagatto, *Multipumping flow systems: an alternative approach to sample handling in spectroscopy measurements*, Spectroscopy Letters 40 (2007) 41-50.
- [42] K. Soszgen, S. D. Cekic, E. Tutem, A. Apak, *Spectrophotometric total protein assay with copper(II) – neocuproine reagent in alkaline medium*, Talanta 68 (2006) 1601-1609.
- [43] S. Ž. Kravić, Z. J. Suturović, A. D. Đurović, T. Ž. Brezo, S. D. Milanović, R. V. Malbaša, V. R. Vukić, *Direct determination of calcium, sodium and potassium in Fermented milk products*, Acta Periodica Technologica 43 (2012) 43-49.
- [44] J. Kumirska, M. Gołębiowski, M. Paszkiewicz, A. Bychowska, *Analiza żywności*, Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk, 2010.
- [45] A. Filipiak – Szok, M. Kurzawa, E. Szlyk, *Simultaneous determination of selected anti-nutritional components in Asiatic plants using ion chromatography*, European Food Research Technology 242 (2016) 1515-1521.
- [46] B. Pacholek, *Oznaczanie zawartości składników mineralnych, Wybrane metody analizy żywności*, Wydawnictwo Akademii Ekonomicznej w Poznaniu, Poznań 2003, 21.
- [47] E. de Oliveira, *Sample preparation for atomic spectroscopy: Evolution and future trends*, Journal of the Brazilian Chemical Society 14 (2003) 174-182.
- [48] W. S. Lyra, L. Farias de Almeida, F. A. da Silva Cunha, P. H. Gonçalves Dias Diniz, V. Lacerda Martins, M. C. Ugulino de Araujo, *Determination of sodium and calcium in powder milk using digital image-based flame emission spectrometry*, Analytical Methods 6 (2014) 1044-1050.
- [49] M. B. Petrovich, V. R. A. Filho, J. A. G. Neto, *Direct determination of Calcium in milk by atomic absorption spectrometry using flow-injection analysis*, Eclética Química Journal 32 (2007) 25-30.
- [50] G. R. Simpson, R. A. Blay, *Rapid method for the determination of the metals copper, zinc, tin, iron and calcium in foodstuffs by atomic absorption spectroscopy*, Food Trade Review 36 (1966) 35-37.
- [51] Y. Mine, *Emulsifying characterization of hens egg yolk proteins in oil-in-water emulsions*, Food Hydrocolloids 12 (1998) 409-415.
- [52] A. C. Pappas, F. Karadas, P. F. Surai, N. A. R. Wood, P. Cassey, G. R. Bortolotti, B. K. Speake, *Interspecies variation in yolk selenium concentrations among eggs*

- of *free-living birds: the effect of phylogeny*, Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 20 (2006) 155-160.
- [53] C. Pan, K. Huang, Y. Zhao, S. Qin, F. Chen, Q. Hu, *Effect of selenium source and level in hen's diet on tissue selenium deposition and egg selenium concentrations*, Journal of Agricultural and Food Chemistry 55 (2007) 1027-1032.
- [54] Z. Kilic, O. Acar, M. Ulasan, M. Ilim, *Determination of lead, copper, zinc, magnesium, calcium and iron in fresh eggs by atomic absorption spectrometry*, Food Chemistry 76 (2002) 107-116.
- [55] R. Manjusha, K. Dash, D. Karunasagar, *UV-photolysis assisted digestion of food samples for the determination of selenium by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS)*, Food Chemistry 105 (2007) 260-265.
- [56] A. Bargellini, I. Marchesia, L. Rizzi, L. Cauteruccio, R. Masironi, M. Simioli, P. Borella, *Selenium interactions with essential and toxic elements in eggs yolk from commercial and fortified eggs*, Journal of Trace Elements in Medicine and Biology 22 (2008) 234-241.
- [57] J. Burger, M. Gochfeld, *Spatial and temporal patterns in metal levels in eggs of common terns (Sterna hirundo) in New Jersey*, Science of the Total Environment 311 (2003) 91-100.
- [58] O. D Uluozlu, M. Tuzen, D. Mendil, M. Soylak, *Assessment of trace element contents of chicken products from Turkey*, Journal of Hazardous Materials 163 (2009) 982-987.
- [59] A. Sanz-Medel, M .R. F. de la Campa, E. B. Gonzalez, M. L. Fernandez-Sanchez, *Organised surfactant assemblies in analytical atomic spectrometry*, Spectrochimica Acta (Part B) 54 (1999) 251-287.
- [60] S. Dahiya, R. Karpe, A. G. Hegde, R. M. Sharma, *Lead, cadmium and nickel in chocolates and candies from suburban areas of Mumbai, India* Journal of Food Composition and Analysis 18 (2005) 517-522.
- [61] M. Güldas, *Comparison of digestion methods and trace elements determination in chocolates with pistachio using atomic absorption spectrometry*, Journal of Food Nutrition Research 47 (2008) 92-99.
- [62] N. Jalbani, T. G. Kazi, M. K. Jamali, M. B. Arain, H. I. Afridi, S. T. Sheerazi et al., *Application of fractional design and Doehlert matrix in the optimization of experimental variables associated with the ultrasonic-assisted digestion*

- of chocolate samples for aluminum determination by atomic absorption spectrometry*, Journal of AOAC International 90 (2007) 1682-1688.
- [63] A. Sepe, S. Costantini, L. Ciaralli, M. Ciprotti, R. Giordano, *Evaluation of aluminium concentrations in samples of chocolate and beverages by electrothermal atomic absorption spectrometry*, Food Additives & Contaminants 18 (2001) 788-796.
- [64] P. Konieczka, J. Namieśnik, *Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych*, Wydawnictwa Naukowo – Techniczne, Warszawa, 2007.
- [65] M. Dobecki, *Walidacja metod pomiarowych i szacowanie niepewności pomiaru czynników chemicznych w powietrzu na stanowiskach pracy*”, Medycyna Pracy 63 (2012) 723-732.
- [66] W. S. Lyra, L. Farias de Almeida, F. A. da Silva Cunha, P. H. Gonçalves Dias Diniz, V. Lacerda Martins, M. C. Ugulino de Araújo, *Determination of sodium and calcium in powder milk using digital image-based flame emission spectrometry*, Analytical Methods 6 (2014) 1044-1050.
- [67] M. J. Latorre, R. Peña, S. García, C. Herrero, *Authentication of Galician (N.W. Spain) honeys by multivariate techniques based on metal content data*, Analyst 125 (2000) 307-312.
- [68] M. J. Latorre, R. Peña, C. Pita, A. Botana, S. García, C. Herrero, *Chemometric classification of honeys according to their type. II. Metal content data*, Food Chemistry 66 (1999) 263-268.
- [69] M. N. Rashed, M. E. Soltan, *Major and trace elements in different types of Egyptian mono-floral and non-floral bee honeys*, Journal of Food Composition and Analysis 17 (2004) 725-735.
- [70] Y. Luo, B. Zhang, M. Chen, J. Wang, X. Zhang, W. Y. Gao, J.F. Huang and W. L. Fu, *Rapid and simultaneous determination of essential minerals and trace elements in human milk by improved flame atomic absorption spectroscopy (FAAS) with microwave digestion*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58 (2010) 9396-9400.
- [71] M. D. Silvestre, M. J. Lagarda, R. Farré, C. Martínez – Costa and J. Brines, *Copper, iron and zinc determinations in human milk using FAAS with microwave digestion*, Food Chemistry 68 (2000) 95- 99.
- [72] PN-C-84905:1998 *Gazy techniczne. Acetylen rozpuszczony*.

- [73] U. Rutkowska (red.), *Wybrane metody badania składu i wartości odżywczej żywności*, Praca zbiorowa, Warszawa, PZWL 1981.
- [74] H. Kunachowicz, *Wybrane metody analityczne oceny wartości odżywczej żywności*, Warszawa, IŻŻ 1997.
- [75] PN EN 15505:2009 *Artykuły żywnościowe. Oznaczanie pierwiastków śladowych. Oznaczanie zawartości sodu i magnezu metodą płomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej (AAS) po mineralizacji mikrofalowej*.
- [76] PN EN 1134:1999 *Soki owocowe i warzywne. Oznaczanie zawartości sodu, potasu, wapnia, magnezu metodą spektrometrii absorpcji atomowej (AAS)*.
- [77] Procedury mineralizacji pieca mikrofalowego MWS-3⁺ firmy BERGHOF.
- [78] M. Pinta, *Absorcyjna spektrometria atomowa. Zastosowania w analizie chemicznej*, PWN Warszawa, 1997.
- [79] L. Kozak, P. Niedzielski, *Atomizery w absorpcyjnej spektrometrii Atomowej*, Techniki i Metody 16 (2011) 13-14.
- [80] A. Zeliaś, *Metody statystyczne*, Polskie Wydawnictwo Ekonomiczne, Warszawa, (2000), 64.

WYKAZ RYSUNKÓW

Rysunek 5.1.	Skład popiołu całkowitego [46]	19
Rysunek 10.1.	Porównanie wyników oznaczeń zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach CRM poddanych suchemu spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej z wartościami certyfikowanymi.....	61
Rysunek 10.2.	Wartości współczynników odzysku wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości magnezu w fortyfikowanych próbkach żywności poddanych suchemu spopieleniu oraz zmineralizowanych mikrofalowo.....	83
Rysunek 10.3.	Wartości współczynników odzysku wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości wapnia w fortyfikowanych próbkach żywności poddanych suchemu spopieleniu oraz zmineralizowanych mikrofalowo.....	84
Rysunek 10.4.	Wartości współczynników odzysku wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości potasu w fortyfikowanych próbkach żywności poddanych suchemu spopieleniu oraz zmineralizowanych mikrofalowo.....	85
Rysunek 10.5.	Wartości współczynników odzysku wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości sodu w fortyfikowanych próbkach żywności poddanych suchemu spopieleniu oraz zmineralizowanych mikrofalowo.....	86
Rysunek 10.6.	Średnie wartości współczynników zmienności odzysku wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w fortyfikowanych próbkach żywności poddanych suchemu spopieleniu oraz zmineralizowanych mikrofalowo	87
Rysunek 10.7.	Wartości złożonych standardowych niepewności pomiaru dla magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach należących do różnych grup produktów spożywczych zmineralizowanych w piecu muflowym i poddanych mineralizacji techniką mikrofalową	98

WYKAZ TABEL

Tabela 3.1.	Zalecane dzienne referencyjne ilości spożycia wapnia, magnezu i potasu dla osób dorosłych.....	11
Tabela 9.1.	Roztwory stosowane do rozcieńczania mineralizatów próbek	33
Tabela 9.2.	Podstawowe parametry mineralizacji próbek w piecu muflowym	35
Tabela 9.3.	Wielkości odważek i poziomy wzbogacenia próbek poddanych suchemu spoieleniu	36-37
Tabela 9.4.	Podstawowe parametry mineralizacji próbek poddanych mineralizacji mikrofalowej	38
Tabela 9.5.	Wielkości odważek i poziomy wzbogacenia próbek poddanych mineralizacji mikrofalowej	39-40
Tabela 9.6.	Warunki pracy spektrometru absorpcji atomowej	41
Tabela 10.1.	Optymalizacja wielkości odważek badanych matryc na podstawie analizy wyników badań odzysku próbek wzbogaconych na poziomie około 50 % poddanych suchemu spoieleniu i mineralizacji mikrofalowej	45-46
Tabela 10.2.	Optymalizacja warunków mineralizacji badanych matryc na podstawie analizy wyników badań odzysku próbek wzbogaconych na poziomie około 50 % poddanych suchemu spoieleniu	48
Tabela 10.3.	Optymalizacja warunków mineralizacji badanych matryc na podstawie analizy wyników badań odzysku próbek wzbogaconych na poziomie około 50 % poddanych mineralizacji mikrofalowej	49
Tabela 10.4.	Ocena skuteczności dodatku modyfikatorów matryc na podstawie analizy wyników badań odzysku próbek wzbogaconych na poziomie około 50 % poddanych suchemu spoieleniu i mineralizacji mikrofalowej	51
Tabela 10.5.	Zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu oznaczone w próbkach rzeczywistych żywności po mineralizacji w piecu muflowym.....	53-54
Tabela 10.6.	Zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu oznaczone w próbkach rzeczywistych żywności po mineralizacji mikrofalowej	56-57
Tabela 10.7.	Porównanie zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu oznaczonych w próbkach CRM przy zastosowaniu różnych sposobów mineralizacji z wartością certyfikowaną.....	59
Tabela 10.8.	Zawartość wapnia oznaczona w próbkach soku pomarańczowego rzeczywistych i wzbogaconych oraz wyznaczona średnia wartość odzysku	62

Wykaz rysunków i tabel

Tabela 10.9.	Zawartość magnezu oznaczona w próbkach soku pomarańczowego rzeczywistych i wzbogaconych oraz wyznaczona średnia wartość odzysku	63
Tabela 10.10.	Zawartość potasu oznaczona w próbkach soku pomarańczowego rzeczywistych i wzbogaconych oraz wyznaczona średnia wartość odzysku	64
Tabela 10.11.	Zawartość sodu oznaczona w próbkach soku pomarańczowego rzeczywistych i wzbogaconych oraz wyznaczona średnia wartość odzysku	64
Tabela 10.12.	Wyniki oznaczeń wapnia w zakwaszonych próbkach soku pomarańczowego nie poddanych mineralizacji	67
Tabela 10.13.	Oznaczone zawartości wapnia, magnezu, potasu i sodu oraz wartości przypisane i wartości parametru z – score lub z' – score wyznaczone przez organizatora badań biegłości	68
Tabela 10.14.	Wartości: granic wykrywalności i granic oznaczalności wyznaczone na podstawie analiz próbek po suchym spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej	70
Tabela 10.15.	Zakresy liniowości krzywych wzorcowania oraz wartości współczynników zmienności wzorcowania wyznaczone na podstawie analiz próbek po suchym spopieleniu i mineralizacji mikrofalowej.....	71
Tabela 10.16.	Wartości współczynników odzysku i współczynników zmienności odzysku wyznaczone na podstawie analizy zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach poddanych suchemu spopieleniu.....	73-74
Tabela 10.17.	Wartości współczynników odzysku i współczynników zmienności odzysku wyznaczone na podstawie analizy zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach zmineralizowanych mikrofalowo.....	78-79
Tabela 10.18.	Zakresy pomiarowe krzywych wzorcowania i zakresy robocze metod.....	88
Tabela 10.19.	Wartości odchyłeń standardowych powtarzalności, współczynników zmienności powtarzalności i granic powtarzalności wyznaczone na podstawie wyników badań CRM	89
Tabela 10.20.	Wartości standardowych niepewności pomiaru oraz złożonych standardowych niepewności pomiaru wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości wapnia	91
Tabela 10.21.	Wartości standardowych niepewności pomiaru oraz złożonych standardowych niepewności pomiaru wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości magnezu	92

Tabela 10.22.	Wartości standardowych niepewności pomiaru oraz złożonych standardowych niepewności pomiaru wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości potasu	93
Tabela 10.23.	Wartości standardowych niepewności pomiaru oraz złożonych standardowych niepewności pomiaru wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń zawartości sodu	94
Tabela 10.24.	Wartości złożonych niepewności standardowych pomiaru i rozszerzonych standardowych niepewności pomiaru dla współczynnika rozszerzenia $k = 2$ i poziomu ufności 95 % wyznaczone dla wyników oznaczeń zawartości magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach należących do różnych grup produktów spożywczych.....	96-97
Tabela 10.25.	Wartości średnie rozszerzonych standardowych niepewności pomiaru wyznaczone na podstawie wyników oznaczeń magnezu, wapnia, potasu i sodu w próbkach żywności	99

DOROBEK NAUKOWY

PUBLIKACJE

1. **D. Bajek**, J. Łęska, D. Nowicki, C. Kozłowski; *Wpływ poziomu wzbogacenia próbek żywności solami magnezu, wapnia, potasu i sodu na współczynnik odzysku wyznaczony metodą płomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej*; Chemistry Environment Biotechnology, 2016, 19, 105-109, Jan Długosz University, Częstochowa
2. J. Łęska, **D. Bajek**, C. Kozłowski; *Oznaczanie ołowiu i kadmu w wodzie pitnej, metodą atomowej absorpcyjnej spektrometrii z wzbudzeniem elektrotermicznym (GFAAS)*; Chemistry Environment Biotechnology, 2018, 21, 26-29, Jan Długosz University, Częstochowa

DONIESIENIA KONFERENCYJNE

1. **D. Bajek**, D. Nowicki, C. Kozłowski; *Wpływ sposobu mineralizacji próbek mleka na zawartość wapnia oznaczoną metodą płomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej (FAAS)*; XXI Konferencja Nowoczesne Metody Instrumentalne w Analizie Śladowej; 8-9 grudnia 2016 Centrum Nauk Biologiczno – Chemicznych UW, Warszawa
2. **D. Bajek**, D. Nowicki, C. Kozłowski; *Ocena organoleptyczna materiałów i wyrobów przeznaczonych do kontaktu z żywnością metodą trójkątową rozszerzoną*; VII Konferencja Naukowa z cyklu ŻYWNOSĆ – ŻYWIENIE – DIETETYKA na temat „Dietetyka w gastronomii i cateringu”; 25-26 wrzesień 2017 Akademia im. J. Długosza, Częstochowa
3. J. Łęska, **D. Bajek**, C. Kozłowski; *Zastosowanie spektrometrii absorpcji atomowej z atomizacją w piecu grafitowym (GFAAS) do oznaczania ołowiu i kadmu w wodzie pitnej*; Forum Młodych Nauki 2016

UCZESTNICTWO W SEMINARIACH

1. Seminarium GC i GC/MS – techniki GC/MS, wielowymiarowa chromatografia gazowa, optymalizacja metod GC/MS-MS na przykładzie pozostałości pestycydów, termodesorpcja; Perlan Technologies; 27-28.09.2011 Zegrze
2. Rola i praktyczne możliwości oceny sensorycznej; Akademia Wiedzy Użytecznej LeoPard; 03.12.2013 Warszawa

3. Trendy analityczne i nowe rozwiązania w analizach wielopierwiastkowych i przygotowaniu próbek; Spectro-Lab; 01.06.2016 Katowice
4. Praktyczne podejścia do szacowania niepewności pomiaru; LGC Standards Sp. z o.o.; 13.04.2016 Warszawa
5. Szacowanie niepewności pomiaru w praktyce chemicznych laboratoriów badawczych; Polskie centrum Akredytacji oraz Centrum Nauk Biologiczno – Chemicznych Uniwersytetu Warszawskiego; 23-25.10.2017 Warszawa
6. Szkolenie doskonalące z zakresu nowelizacji normy PN-EN ISO 17025 z elementami audytu wewnętrznego; LabISO Consulting Radosław Keller; 01.03.2019 Częstochowa
7. Stwierdzanie zgodności i zasada podejmowania decyzji w praktyce laboratoryjnej; Ce2 – Centrum Edukacji; 25.02.2020 Warszawa

UCZESTNICTWO W SZKOLENIACH

1. Znakowanie środków spożywczych; SILLIKER; 10.04.2006 Warszawa
2. Kryteria wyboru metod analiz stosowanych w urzędowej kontroli żywności i monitoringu, walidacja, prezentacja wyników; WSSE Katowice; 13.06.2008 Katowice
3. Audit wewnętrzny w laboratorium badawczym; Gdańska Fundacja Wody; 02-04.04.2008 Gdańsk
4. Zanieczyszczenia żywności, urzędowa kontrola – wymagania dla laboratoriów; WSSE Katowice; 12.12.2013 Katowice
5. Walidacja metod analitycznych, szacowanie niepewności pomiaru, niepewność związana z etapem pobierania próbki; Biuro Naukowo – Techniczne SIGMA; 31.03-01.04.2016 Katowice
6. Doskonalenie umiejętności auditowania oraz wymagania normy ISO/IEC 1725; Biuro Naukowo – Techniczne SIGMA; 18.04.2016 Katowice

UCZESTNICTWO W SZKOLENIACH SPECJALIZACYJNYCH

1. Elektrochemiczne metody stosowane w analityce; Zakład Analityki Farmaceutycznej Studium Farmacji CMKP Bydgoszcz; 19-24.01.1998
2. Metody postępowania w analityce sanitarnej; Zakład Analityki Farmaceutycznej Studium Farmacji CMKP Bydgoszcz; 20-25.04.1998

SPECJALIZACJE

1. Pierwszy Stopień Specjalizacji w zakresie analityki sanitarnej; Zakład Analityki Farmaceutycznej Studium Farmacji CMKP Bydgoszcz; 26.11.1998