

MINERALIZACE BIOLOGICKÝCH MATERIÁLŮ PRO NÁSLEDNÉ STANOVENÍ KOVŮ METODOU ATOMOVÉ ABSORPČNÍ SPEKTROMETRIE

JAROSLAV REJNEK

*Katedra chemie, Pedagogická fakulta, Univerzita J. E. Purkyně, České mládeže 8, 400 96 Ústí nad Labem
e-mail: rejnekj@pf.ujep.cz*

Došlo dne 30.I.2002

Klíčová slova: mineralizace, atomová absorpční spektrometrie

Úvod

Potřeba stanovení stopových množství kovů v biologických materiálech se objevuje nejen v klinické biochemii, ale i v analýze potravin a v celkovém monitorování stavu znečištění životního prostředí. Jen velmi málo metod umožňuje přímé stanovení kovů ve vzorku. Pro většinu metod je nutná předcházející destrukce vzorku tak, aby vzorek byl v kapalné formě bez organické matrice.

Nejběžněji používané metody destrukce vzorku můžeme obecně rozdělit na suchý a mokřý rozklad^{1,2}. Suchý způsob se provádí v otevřeném nebo uzavřeném systému. Při destrukci vzorku probíhá vysušení, zuhelnatění, zpopelnění a převedení nespalitelného podílu do roztoku. Pro sušení se nejčastěji používá horkovzdušná sušárna, topná deska, či písečná lázeň. Tento krok je nejproblémovější z hlediska kontaminace vzorku¹⁻³. Vlastní spalování pak můžeme provádět nad plynovým kahanem, v elektrické kelímkové nebo muflové peci^{1,3}.

Mineralizace v uzavřeném systému se provádí v kalorimetrické bombě nebo v kovovém autoklávu. Tato metoda opět přináší nebezpečí kontaminace vzorku, tentokrát však korozi zařízení¹.

Určitou modifikací uzavřeného systému je mineralizace, která spočívá v kombinaci suchého rozkladu se zaváděním směsi oxidačních plynů $O_2 + O_3 + NO_x$ nad spalovaný vzorek. Vedlejším produktem procesu je kyselina dusičná.

Konečné zpracování nespalitelného produktu u metod suchého rozkladu představuje loužení popela nejčastěji v kyselině dusičné⁴⁻⁷, v kyselině chlorovodíkové^{8,9} nebo ve směsi obou kyselin¹⁰⁻¹². Celková účinnost se zvyšuje použitím ultrazvukové lázně.

Podstatou mokřého rozkladu je oxidace vzorku směsí silných anorganických kyselin za zvýšené teploty. Varianty tohoto rozkladu se od sebe liší použitými kyselinami a dobou jejich působení¹. Metoda mokřého rozkladu se provádí v otevřeném, polouzavřeném, či uzavřeném systému.

V otevřené soustavě se používají křemenné nebo skleněné baňky. Výhodou rozkladu je jednoduchá manipulace při přidávku činidel a použití většího množství vzorku. Nevýhodou tohoto postupu je možná kontaminace vzorku, úlet analytu a velká spotřeba činidel.

Pro destrukci materiálu v uzavřeném systému se používá autokláv, či kalorimetrická bomba. Předností je zamezení úniku analytu, menší spotřeba činidel a nemožnost kontaminace zvenku, může zde ovšem dojít ke kontaminaci zevnitř zařízení^{1,2}.

Jiným účinným mineralizačním procesem je metoda mokřého rozkladu s mikrovlnným ohřevem. Tato metoda se provádí za atmosférického i zvýšeného tlaku. Mineralizační nádoby musí být chemicky i tlakově odolné. Nejvhodnější z hlediska chemické odolnosti je teflon. Pokud je nutno při rozkladu použít vyšší teploty než 250 °C, musí se volit nádoby skleněné¹³. Nejčastěji používanými reagenty jsou kyselina dusičná, kyselina chlorovodíková, kyselina fluorovodíková a peroxid vodíku.

Hlavním cílem této práce je stanovit optimální způsob rozkladu některých biologických materiálů. Rozhodujícími faktory úspěšné mineralizace jsou ekonomické nároky, vyloučení možnosti kontaminace vzorku a minimalizace ztrát analytu. Dalším významným kritériem je vhodnost metody vzhledem k druhu vzorku a k velikosti navážky vzorku.

Experimentální část

Reagencie

Pro mineralizaci byly používány kyseliny H_2SO_4 , HNO_3 , HCl (suprapur, Carlo Erba Reagenti), H_2O_2 (p.a., Lachema, Brno). Při měření arsenu a selenu hydridovou technikou byl použit $NaBH_4$ (pulver 98%, Aldrich) a KOH (p.a., Lachema, Brno). Standardní roztoky mědi, zinku, železa, olova, kadmia, arsenu a selenu byly připraveny ze zásobních roztoků Astasol (Analytika, Praha). Dále byl použit certifikovaný referenční materiál lidských vlasů GBW 07601 a rostlinný materiál NIST 1515 – jablonoňové listy (dodavatel 2THETA, Český Těšín).

Aparatura

Pro rozkladné procesy obou referenčních materiálů byl použit Dry Mineralizer Apion (Tessek, Praha), mineralizátor Progmin 02 (P.R.O. Servis, Neštětice) a mikrovlnný mineralizátor UniClever (Plazmatronika, Wrocław, Polská republika).

Pro měření obsahu sledovaných kovů v mineralizátech byl použit plamenový atomový absorpční spektrometr Spectr-AA20+ s hydridovou jednotkou VGA-76 (Varian, Mulgrave, Austrálie).

Pracovní postupy

Pro každý ze způsobů mineralizace bylo připraveno vždy pět paralelních navážek certifikovaných referenčních materiálů pro každé hmotnostní množství. Rostlinný materiál byl navážován v hmotnostech 1 a 3 g, vlasový materiál v hmotnostech 0,5 a 1 g.

Mineralizační postupy na suché cestě

Navážky rostlinného a vlasového materiálu byly v kře-

menných kelímcích převrstveny 3 g dusičnanu hořečnatého a spalovány v mineralizátoru Progmin programem, který je uveden v tabulce I.

Pro rozklad v mineralizátoru Dry Mineralizer Apion nebylo využito převrstvení vzorku dusičnanem hořečnatým. Vzorky byly spalovány v kyvetách za přítomnosti směsi plynů $O_2 + O_3 + NO_x$ za podmínek, uvedených v tabulce II.

Po spalovacím procesu bylo k popelu přidáno 5 cm³ kyseliny chlorovodíkové (37 %) nebo 5 cm³ kyseliny dusičné (65 %) a na přímotopné desce Flexius byl vzorek zahříván po dobu 5 h při teplotě 70 °C. Po ukončení celého programu byl mineralizát zfiltrován do odměrné baňky objemu 10 cm³ až 50 cm³ (podle navážky vzorku a druhu ma-

teriálu) a do požadovaného objemu doplněn deionizovanou vodou.

Mineralizační postupy na mokré cestě

Navážky rostlinného materiálu a vzorku vlasů byly vpraveny do destilačních baněk a přelity 5 cm³ koncentrované kyseliny sírové. Po hodinovém stání bylo přidáno 10 cm³ kyseliny dusičné ($c_w = 65\%$) a poté byla směs 5 h zahřívána pod zpětným chladičem k varu. Po zchlazení bylo ke směsi přidáno 5 cm³ peroxidu vodíku a vše bylo další 2 h zahříváno. Takto získaný čirý roztok byl odkouřen na přímotopné desce do objemu 3–5 cm³, doplněn asi 5 cm³ deionizované vody a zfiltrován do odměrné baňky.

V dalším postupu bylo k mineralizovanému vzorku v teflonové mineralizační nádobce mikrovlnného mineralizačního systému UniClever přidáno rozkladné činidlo (HNO_3 , H_2O_2 , HCl), případně jejich směsi. Rozklad byl prováděn v uzavřeném systému a umožnil použití vyššího tlaku. Celý proces rozkladu byl volen jako víceokrový se zřetelem na druh rozkládaného materiálu. Mineralizační postupy jsou uvedeny v tabulce III. Po vysokotlakém rozkladu byl systém otevřen a opatřen destilačním nástavcem. Programem, při kterém bylo využito maximálního výkonu mikrovlnného pole, bylo nadby-

Tabulka I

Podmínky metody suchého rozkladu v automatickém mineralizátoru Progmin

Proces ^a	τ^b [h]	t^c [°C]
Vzestup	5	300
Prodleva	8	300
Vzestup	4	550
Prodleva	7	550
Vzestup	0,5	605
Prodleva	5	605

^a Fáze mineralizačního procesu, ^b τ doba trvání fáze, ^c t nejvyšší dosažená teplota

Tabulka II

Podmínky metody suchého rozkladu v kombinaci se směsí $O_2 + O_3 + NO_x$ v automatickém mineralizátoru Apion

Proces ^a	τ^b [h]	t^c [°C]
Ohřátí na teplotu sušení	0,75	vzestup na 110
Sušení	1	110
Ohřátí na teplotu mineralizace	4	vzestup na 400
Mineralizace	14	400

^a Fáze mineralizačního procesu, ^b τ doba trvání fáze, ^c t nejvyšší dosažená teplota

Tabulka IV

Parametry přístroje SPECTR AA 20+ pro měření obsahu Pb, Cd, Cr, Zn, Cu, As a Se v mineralizátech CRM

Parametr	Pb ^a	Cd ^a	Fe	Zn	Cu	As ^b	Se ^b
Plamen				acetylen ^c – vzduch ^d			
Rychlost proudění acetyleny [dm ³ .min ⁻¹]	1,3	1,5	1,5	1,3	1,3	1,75	1,7
Vlnová délka záření [nm]	217,0 ^e	228,3 ^e	248,3 ^e	213,9 ^e	324,8	193,7 ^e	196,0 ^e
Šířka štěrby [nm]	1,0	0,5	0,2	1,0	0,5	0,5	1,0
Žhavicí proud [mA]	10,0	4,0	7,0	5,0	4,0	10,0	10,0

^a Měření prováděno se zakoncentrovávací trubicí ACT 80, ^b měření prováděno hydridovou technikou, ^c vstupní tlak acetyleny 588 kPa, ^d vstupní tlak vzduchu 3907 kPa, rychlost proudění vzduchu 12 dm³.min⁻¹, ^e vřazena korekce pozadí

Tabulka III

Použití mikrovlnné rozkladné programy

Krok	NIST 1515 ^a		GBW 07601 ^b	
	m_1^c	m_2^d	m_3^e	m_4^f
	$P^g/t^h/p^i$	$P^g/t^h/p^i$	$P^g/t^h/p^i$	$P^g/t^h/p^i$
1	80/1/2,3	50/1/2,3	90/1/2,3	60/1/2,3
2	90/3/3,3	60/1/2,3	0/0,6/–	0/0,6/–
3	100/10/5	80/1/3,3	100/5/5	40/1/2,3
4	–	90/1/5	–	0/0,6/–
5	–	80/2/3,3	–	100/5/5
6	–	100/2/5	–	–
Chlazení	10 min	10 min	10 min	10 min

^a NIST 1515 – Apple leaves, ^b GBW 07601 – Human hair, ^c m_1 navážka 1 g, ^d m_2 navážka 3 g, ^e m_3 navážka 0,5 g, ^f m_4 navážka 1 g, ^g P výkon mikrovlnného pole v % maximální hodnoty 150 W, ^h t doba trvání kroku (min), ⁱ p tlak (MPa)

Tabulka V

Koncentrace některých analytů v certifikovaném referenčním materiálu NIST 1515 – Apple Leaves stanovené metodou atomové absorpční spektrometrie

Stanovovaný prvek ^a	Navážka $m \sim 1$ g				Navážka $m \sim 3$ g				CRM ^f
	A ^b	B ^c	C ^d	D ^e	A ^b	B ^c	C ^d	D ^e	
Pb ^g <i>c</i>	0,328 ^j	0,450	0,490	0,435	0,415 ^j	0,459	0,500	0,465	0,470
<i>s</i>	0,062	0,019	0,025	0,038	0,050	0,020	0,032	0,030	0,024
Cd ^g <i>c</i>	ⁱ	ⁱ	ⁱ	ⁱ	ⁱ	ⁱ	ⁱ	ⁱ	0,013
<i>s</i>	–	–	–	–	–	–	–	–	0,002
Cu <i>c</i>	1,02 ^j	5,47	5,49	5,39	3,26 ^j	5,36	5,90	5,52	5,64
<i>s</i>	0,10	0,18	0,24	0,09	0,09	0,09	0,12	0,09	0,24
Zn <i>c</i>	10,4 ^j	12,0 ^j	12,9	12,8	11,9	12,4	12,8	12,3	12,5
<i>s</i>	0,62	0,42	0,88	0,55	0,65	0,45	0,85	0,40	0,3
Fe <i>c</i>	58,8	71,5	86,0	79,5	59,7 ^j	72,5 ^j	84,6	81,0	83
<i>s</i>	1,13	4,79	1,51	1,16	0,96	3,63	1,15	0,51	4,5
As ^h <i>c</i>	0,035	0,039	0,042	0,040	0,037	0,038	0,041	0,039	0,038
<i>s</i>	0,008	0,005	0,006	0,005	0,006	0,005	0,006	0,006	0,007
Se ^h <i>c</i>	0,040	0,047	0,047	0,048	0,046	0,048	0,045	0,047	0,050
<i>s</i>	0,012	0,010	0,006	0,008	0,009	0,008	0,010	0,006	0,009

^a *c* průměrná hodnota koncentrace ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), *s* směrodatná odchylka ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), ^b A suchá mineralizace v zařízení Progmin, ^c B suchá mineralizace v zařízení Apion, ^d C mineralizace na mokré cestě, ^e D mikrovlnná mineralizace v zařízení UniClever, ^f CRM certifikované hodnoty referenčního materiálu NIST 1515 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), ^g pro měření použito zakoncentrovávací trubice ACT 80, ^h měření prováděno hydridovou technikou, ⁱ pod mezí stanovitelnosti, ^j hodnota nesplňuje podmínku (*I*)

Tabulka VI

Koncentrace některých analytů v certifikovaném referenčním materiálu GBW 07601 – Human Hair stanovené metodou atomové absorpční spektrometrie

Stanovovaný prvek ^a	Navážka $m \sim 0,5$ g				Navážka $m \sim 1$ g				CRM ^f
	A ^b	B ^c	C ^d	D ^e	A ^b	B ^c	C ^d	D ^e	
Pb ^g <i>c</i>	7,95	8,50	8,95	8,14	8,10	8,10	9,15	8,90	8,8
<i>s</i>	0,70	0,60	0,80	0,82	0,70	0,70	0,90	0,50	0,9
Cd ^g <i>c</i>	0,09	0,12	0,15 ⁱ	0,13	0,10	0,10	0,14	0,12	0,11
<i>s</i>	0,05	0,04	0,06	0,06	0,08	0,08	0,06	0,03	0,02
Cu <i>c</i>	5,95 ⁱ	9,90	12,9 ⁱ	10,7	6,46 ⁱ	6,46 ⁱ	9,64 ⁱ	9,97	10,6
<i>s</i>	0,28	0,49	0,30	0,19	0,20	0,20	0,36	0,30	0,36
Zn <i>c</i>	179 ⁱ	191	183	189	182	182	197	190	190
<i>s</i>	9,9	4	7,5	5,5	8	8	6,5	4	5
Fe <i>c</i>	40,4 ⁱ	55,7	65,5 ⁱ	52,3	30,2 ⁱ	30,2 ⁱ	58,3	53,5	54
<i>s</i>	0,41	0,68	2,64	0,89	0,20	0,20	2,26	0,20	6
As ^h <i>c</i>	0,22	0,25	0,29	0,26	0,25	0,25	0,30	0,29	0,28
<i>s</i>	0,05	0,04	0,05	0,03	0,05	0,05	0,05	0,02	0,04
Se ^h <i>c</i>	0,48 ⁱ	0,57	0,60	0,56	0,55	0,55	0,61	0,61	0,60
<i>s</i>	0,07	0,03	0,08	0,05	0,06	0,06	0,08	0,02	0,03

^a *c* průměrná hodnota koncentrace ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), *s* směrodatná odchylka ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), ^b A suchá mineralizace v zařízení Progmin, ^c B suchá mineralizace v zařízení Apion, ^d C mineralizace na mokré cestě, ^e D mikrovlnná mineralizace v zařízení UniClever, ^f CRM certifikované hodnoty referenčního materiálu GBW 07601 ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$), ^g pro měření použito zakoncentrovávací trubice ACT 80, ^h měření prováděno hydridovou technikou, ⁱ hodnota nesplňuje podmínku (*I*)

tečné množství rozpouštědla oddestilováno v takovém množství, aby získaný objem nebyl větší než 3–5 cm³. Poté byl mineralizát zfiltrován do odměrné baňky.

Doplnění mineralizátů do objemu 10, 25 nebo 50 cm³ (podle stanovovaného analytu a navážky vzorku) bylo provedeno deionizovanou vodou.

Stanovení koncentrace některých prvků v mineralizátech metodou atomové absorpční spektrometrie

Atomovou absorpční spektrometrií byly ve zmineralizovaném certifikovaném referenčním materiálu stanovovány koncentrace mědi, zinku, železa, olova, kadmia, arsenu a selenu. Měření bylo prováděno metodou standardních přídávků. Podmínky měření jsou uvedeny v tabulce IV.

Výsledky a diskuse

Všechny výsledky byly zpracovány za použití statistického aparátu¹⁴. U souborů dat byly stanoveny průměrné hodnoty obsahu sledovaných analytů ve zmineralizovaných materiálech (odhad polohy) a směrodatná odchylka (odhad rozptylu).

Výsledky obsahu Pb, Cd, Cu, Zn, Fe, As, Se v rostlinném a vlasovém certifikovaném referenčním materiálu jsou uvedeny v tabulce V a VI.

Správnost metod byla ověřena podle vztahu (I).

$$-2\sigma_D \leq x - \mu \leq 2\sigma_D \quad (I)$$

kde σ_D je certifikovaná hodnota směrodatné odchylky, μ je certifikovaná hodnota obsahu analytu v CRM a x je průměrná hodnota zjištěná výpočtem z provedených měření. Pokud je splněna podmínka (I), poskytuje metoda správné výsledky. V opačném případě jsou výsledky nesprávné¹⁵.

Získané výsledky jsou ovlivněny stupněm destrukce matrice certifikovaného materiálu. Jsou zřejmé rozdíly mezi zjištěnými výsledky jednotlivých navážek, ale i mezi použitými metodami.

Olovo a kadmium byly v obou zpracovávaných materiálech ve velmi nízké koncentraci. Tomu musely být upraveny podmínky měření. Kalibrační i vlastní roztoky byly měřeny za použití zakoncentrovávací trubice ACT 80. V rostlinném materiálu jsou však hodnoty kadmia pod mezí stanovitelnosti.

Při stanovení arsenu a selenu v lidských vlasech nastal opačný případ. Citlivost hydridové techniky si vyžádala vyšší zředění mineralizátu.

Porovnáním naměřených hodnot získaných u mineralizátů mikrovlnné mineralizace s hodnotami certifikovanými byla zjištěna velmi dobrá shoda u všech sledovaných analytů. Při tomto způsobu mineralizace byla velmi významným okamžikem rozkladu počáteční fáze mineralizace. Většinou se jedná o prudkou exotermní reakci, která při nesprávně nastavených parametrech může vést k reakci explozivní. Výhodou zařízení je sice automatické ukončení programu a chlazení při překročení nastavených parametrů, ovšem reakce je natolik exotermní, že i po přerušení mikrovlnného pole pokračuje dále a stává se nekontrolovatelnou. Výsledkem takového stavu může být porušení uzavřenosti systému a znehodnocení celého rozkladu. Tento problém počáteční fáze destrukce byl řešen prudkým chlazením, snížením množství oxidační směsi, ale především rozdělením do několika kroků této fáze.

Dobré shody hodnot bylo dosaženo u vzorků, jejichž úprava byla prováděna suchou mineralizací v automatickém mineralizátoru Dry Mineralizer Apion. Z tohoto hodnocení se vymykají stanovení mědi a železa, které poskytly hodnoty nižší, než jsou hodnoty certifikované.

Výsledky měření obsahu analytů v mineralizátech připravených spalováním v Progminu a mokrou mineralizací jsou vzhledem k certifikovaným hodnotám značně rozdílné a nelze k nim zaujmout jednoznačné stanovisko. V případě Progminu se tento problém týká nestejných mineralizačních podmínek v rozkladných nádobkách. Zvolené teploty spalování je dosaženo u dna křemenného kelímku, směrem vzhůru k víčku kelímku teplota klesá. Tento teplotní gradient mezi dnem kelímku a víčkem je větší u vyšších teplot. Z těchto důvodů lze předpokládat rozdílný stupeň destrukce organické matrice. U mokrého způsobu mineralizace sehraje roli množství přidávaných reagentů, častá manipulace se vzorkem a otevřenost systému.

Závěr

Na základě zjištěných hodnot koncentrace sledovaných analytů v mineralizátech certifikovaných referenčních materiálů můžeme učinit tyto závěry:

- Vhodné metody, které vedou k reprodukovatelným hodnotám, jsou mikrovlnná mineralizace a suchá mineralizace v automatickém mineralizátoru Dry Mineralizer Apion.
- Byly vypracovány a ověřeny metody pro navážku 1 g a 3 g rostlinného materiálu a pro navážku 0,5 g a 1 g vlasového materiálu.
- Vyšší navážky je možné mineralizovat fokusovaným mikrovlnným polem v uzavřeném systému pouze za použití větších objemů kyseliny dusičné a peroxidu vodíku; zmineralizovaný vzorek je nutno následně zakoncentrovat.
- V souvislosti s výše zmíněnými kroky mikrovlnné mineralizace se nabízejí další alternativy. Lze nejprve provést částečnou destrukci organické matrice kyselinou dusičnou a peroxidem vodíku v otevřeném systému (zahřívání pod zpětným chladičem) s následným uzavřením reaktoru. Další způsob umožňuje provést částečnou destrukci přidáním výše zmíněných reagentů a ponecháním uzavřené kyvety po určitou dobu v klidu. Tím odpadá počáteční prudce exotermní fáze rozkladu. Následně je na vzorek opět aplikováno mikrovlnné pole.
- Při mineralizaci v Dry Mineralizer Apion je nutno věnovat pozornost správné funkci reaktoru, kde probíhá reakce amoniaku s kyslíkem za vzniku ozonu a oxidů dusíku; zejména snížená čistota amoniaku a jeho nevhodně volený tlak při vstupu do reaktoru mohou být zdrojem potíží.
- Obě výše zmíněné metody mineralizace jsou úsporné z hlediska spotřeby chemikálií, přičemž významně výhodnější z tohoto hlediska je mineralizace mikrovlnná. Ta, kromě nižší spotřeby chemikálií, umožňuje také časovou úsporu. S ohledem na zjištěné výsledky lze říci, že použití mikrovlnné techniky zajišťuje přesnější a ekonomicky méně náročnou analytickou práci.

Tato práce byla finančně podpořena grantem 0674/2001 Fondu rozvoje vysokých škol a výzkumným záměrem MŠMT J12/98:13430002.

LITERATURA

1. Pikhart J., Gasparič J.: Chem. Listy 87, 16 (1993).

2. Čurdová R., Koplík R.: *Anorganická analýza v životním prostředí*, str. 97. 2Theta, Český Těšín 1998.
3. Mader P., Čurdová, E.: Chem. Listy 91, 227 (1997).
4. Shamsipoor M., Wahdat F., Fresenius Z.: Anal. Chem. 288, 191 (1977).
5. Andersson A., Nilsson K. O., Swedisk J.: Agric. Rec. 6, 151 (1976).
6. Weitz A., Fuchs G., Fresenius Z.: Anal. Chem. 1982, 313.
7. Drbal K., Véber K.: Vod. hospodar. 12, 519 (1990).
8. Chreneková E., Rusinová N.: Chem. Listy 72, 990 (1978).
9. Biswas S. K., Ray M. N.: J. Indian Chem. Soc. 67, 1007 (1990).
10. Krečmar K.: *Dizertační práce*. VŠZ, Praha 1982.
11. Gamanina I. A., Zvjagincev A. M., Čujkov V. A.: Agrokhimiya 6, 112 (1985).
12. Bočarov V. A., Rossočanskaja V. L., Tilova N. P., Moroz N. V.: Chem. Technol. 1, 29, 115 (1986).
13. Kingston H. M., Haswell S. J.: *Microwave-Enhanced Chemistry*. American Chemical Society, Washington, D.C. 1984.
14. Meloun M., Militký J.: *Statistické zpracování experimentálních dat*. Edice Plus, Praha 1994.
15. ISO Guide 33, ISO 1989. *Use of certified reference material*.

J. Rejnek (*Department of Chemistry, Pedagogical Faculty, Purkyně University, Ústí nad Labem*): **Mineralization of Biological Materials for Subsequent Determination of Metals by Atomic Absorption Spectrometry**

The conditions of decomposition by dry and wet mineralization were verified on certified reference materials of apple tree leaves (NIST 1515) and human hair (GBW 07601). In the mineralizates, Pb, Cd, Cu, Zn, Fe, Se and As were determined by AAS with flame atomization. The precision of the obtained results was tested by statistical methods. A good agreement of the measured with certified results was attained in microwave and dry mineralization in UniClever and Apion mineralizers, respectively.