

Analytická chemie životního prostředí - anorganické polutanty Laboratorní cvičení (C6120)

Návody k úlohám

Josef Komárek a Jan Kuta

Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta
Brno 2013



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Inovace tohoto předmětu je spolufinancována Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky

Obsah

Předmluva.....	3
Analýza vod.....	4
Stanovení chemické spotřeby kyslíku (CHSK).....	4
Potenciometrické stanovení pH.....	8
Stanovení neutralizační kapacity.....	11
Stanovení chloridů ve vodách	17
Stanovení síranů ve vodách.....	20
Stanovení dusitanů ve vodách	23
Stanovení fluoridů ve vodách.....	27
Stanovení arsenu ve vodách	29
Stanovení rtuti ve vodách	40
Analýza půd.....	51
Tavení vzorků, stanovení SiO ₂	51
Stanovení rizikových prvků v půdách	55
Výluhy půd, stanovení fosforu	62
Analýza biologického materiálu.....	65
Suchý rozklad vzorku. Analýza obilovin	65
Mokrý rozklad. Stanovení kovů ve vlasech	71
Mokrý rozklad v autoklávu. Analýza mléka	86

Předmluva

Skripta obsahují návody k praktickým úlohám pro předmět C6120 Analytická chemie životního prostředí - anorganické polutanty - laboratorní cvičení. Tento předmět je určen zejména pro studenty studijního programu Chemie, ale zapisují si ho i studenti jiných studijních programů.

V posledních letech došlo k inovaci tohoto laboratorního cvičení a jejím cílem bylo uzpůsobit cvičení tak, aby bylo dobrou přípravou pro praxi. Měla by vést k lepšímu porozumění anorganické analýzy vzorků životního prostředí. Důraz je kladen na učení se novým dovednostem a správným návykům při praktické analýze vod, půd a biologických materiálů. Analýza je prováděna na reálných vzorcích. Všechny získané dovednosti mohou studenti použít nejen v další výuce, při řešení svých bakalářských a magisterských diplomových prací, ale též v projektech doktorského studia, při řešení výzkumných úkolů a později jako absolventi při své práci.

Praktické úlohy se týkají analýzy vod, půd a biologického materiálu. Návody na provedení úloh stanovení důležitých ukazatelů v pitných vodách vychází z knihy (učebnice) Horáková M., Lischke P., Grünwald A.: Chemické a fyzikální metody analýzy vod (SNTL Praha 1986). Postupy uvedené v této učebnici jsou často základem ČSN pro tato stanovení. Pro analýzu půd bylo využito postupů používaných v Ústředním kontrolním a zkušebním ústavu zemědělském v Brně a uvedených v metodických příručkách Analýza půd I a II. Jejich postupy jsou zpracovány s ohledem na nové mezinárodní a evropské normy. Analýza biologického materiálu je zaměřena především na provedení rozkladů vzorků pro prvkovou analýzu. Pro vlastní stanovení analytů ve vzorcích vod, půd a biologického materiálu se využívá jak klasických metod, tak metod instrumentálních, od gravimetrie po ICP-MS.

Skripta byla vytvořena v rámci realizace projektu OPVK, který je spolufinancován z Evropského sociálního fondu a státního rozpočtu České republiky.

Autoři

Analýza vod

Stanovení chemické spotřeby kyslíku (CHSK)

I. Úvodní část

1. Definice CHSK

CHSK je množství kyslíku potřebné na oxidaci organických látek přítomných ve vodě. Určuje se na základě spotřeby silného oxidačního činidla pro tuto oxidaci, která probíhá za přesně daných podmínek. Vyjadřuje se jako hmotnost kyslíku odpovídající ekvivalentní spotřebě oxidačního činidla na 1 litr vody, často v mg l^{-1} . Hodnota CHSK je tedy mírou celkového obsahu organických látek ve vodě a ukazuje na znečištění vody organickými látkami. Pro pitné vody je CHSK závazný ukazatel, pro povrchové vody ukazatel kyslíkového režimu vody.

2. Postupy oxidace

Organické látky se oxidují různými oxidačními činidly za různých podmínek a podle typu do různého stupně. Znamená to, že oxidace probíhá rozdílně v různě kyselém prostředí, při různé teplotě po různou dobu, případně za využití katalyzátoru. Z toho důvodu mají metody na stanovení CHSK uzanční charakter. Podle použitého oxidačního činidla se používají dvě metody. Jedna využívá manganistan draselný (CHSK_{Mn}), druhá dichroman draselný (CHSK_{Cr}). Oxidace dichromanem je účinnější, protože používá vyšší koncentraci činidla, delší dobu reakce (2 hod) při vyšší teplotě a katalýzu Ag solí. Příklad Ag₂SO₄ zkracuje dobu potřebnou pro plnou oxidaci organických látek a také eliminuje rušivý vliv chloridů (nedochází k oxidaci chloridů z důvodu tvorby nerozpustného AgCl).

Kromě organických látek se oxidují i některé látky anorganické povahy (dusitany, chloridy, Fe²⁺ atd.), které je vhodné stanovit ve vzorcích jinými metodami a spotřebu oxidačního činidla na tyto látky odečíst od celkové spotřeby.

Výhodou metody stanovení CHSK_{Mn} je její jednoduchost, nízká spotřeba KMnO₄ a krátká doba zahřívání. Podle autora se někdy nazývá Kubelova metoda. Nevýhodou je však nízký stupeň oxidace většiny organických látek.

Nevýhodou metody stanovení CHSK_{Cr} v pitných a neznečištěných povrchových vodách, je horší reprodukovatelnost stanovení, a proto se často (s výjimkou některých států) pro tyto vody používá méně účinná metoda s KMnO₄. Pro stanovení CHSK odpadních vod se všude používá pouze dichromanová metoda. U nás je normou určena pro stanovení CHSK v pitné vodě manganistanová metoda, v povrchové vodě manganistanová i dichromanová metoda a v odpadní vodě pouze dichromanová metoda.

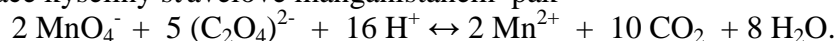
3. Stanovení CHSK_{Mn} podle Kubela

Metoda je založena na oxidaci organických látek pomocí KMnO₄ v silně kyselém prostředí kyseliny sírové za desetiminutového varu. K oxidaci musí být použit alespoň 40%-ní přebytek KMnO₄. Množství KMnO₄ spotřebované na oxidaci látek se určí po ukončení oxidace manganometrickou nepřímou titrací. Po přidavku známého množství standardního roztoku kyseliny šťavelové se její nadbytek titruje roztokem KMnO₄.

Oxidace roztokem KMnO₄ probíhá podle reakce



a oxidace kyseliny šťavelové manganistanem pak



Metoda se používá ke stanovení CHSK_{Mn} v pitných a přírodních vodách. Bez ředění vzorku je vhodná pro vody s $\text{CHSK}_{\text{Mn}} \leq 10 \text{ mg l}^{-1}$, při ředění pro vody s hodnotou CHSK_{Mn} do 100 mg l^{-1} .

4. Úprava vzorku

Pokud se vzorky nezpracují do 24 hod po odběru, měly by být konzervovány 2 ml zředěné H_2SO_4 (1 : 2) na 100 ml vzorku.

5. Rušivé vlivy

Při oxidaci organických látek dochází také k oxidaci některých látek anorganických. V pitných a přírodních vodách jsou to dusitany, sulfan, sulfidy, železo (II) a chloridy.

Sulfan, sulfidy, dusitany a Fe(II) se oxidují kvantitativně a jejich rušivý vliv lze odečíst na základě změřeného obsahu těchto sloučenin. Z ekvivalenčních poměrů potom 1 mg NO_2^- odpovídá 0,35 mg O_2 , 1 mg H_2S 0,47 mg O_2 a 1 mg Fe(II) 0,14 mg O_2 . Chloridy ruší při koncentraci $\geq 300 \text{ mg l}^{-1}$, což je v pitné a přírodní vodě u nás výjimečné. Jinak je nutné vzorek zředit.

II. Metoda stanovení CHSK_{Mn}

1. Pomůcky

- Varné baňky (250-300 ml) s plochým dnem. Baňky by měly být vyvařeny s okyseleným roztokem manganistanu.
- Krycí hodinová skla nebo nálevky se seříznutým stonkem.
- Varná tělíska jako keramické střepy nebo korálky promyté v okyseleném roztoku KMnO_4 .

2. Chemikálie

- Ředící voda – redestilovaná voda. Ta se používá k přípravě zředěné kyseliny sírové v objemovém poměru 1:15, k určení slepého pokusu a k případnému ředění vzorků. Nesmí se používat deionizovaná voda prošlá kolonou s organickým měničem iontů.
- Kyselina sírová zředěná v objemovém poměru 1:15 nebo 1:2 se připraví z 1 objemového dílu koncentrované H_2SO_4 ($\rho = 1,84 \text{ g ml}^{-1}$), který se za míchání přidává k 15 nebo 2 objemovým dílům ředící vody. Po ochlazení se roztok zředěný 1:15 použije na přípravu standardních roztoků kyseliny šťavelové. K roztoku zředěnému 1:2 a teplému asi 40°C se přidává roztok manganistanu draselného do slabě růžového zbarvení.
- Standardní roztok $0,05 \text{ mol l}^{-1}$ kyseliny šťavelové ($\text{C}_2\text{O}_4\text{H}_2$) se připraví rozpuštěním 6,3033 g $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve zředěné H_2SO_4 (1:15) a doplněním na 1000 ml zředěnou H_2SO_4 1:15. Roztok je při uchování v tmavé láhvi v chladničce stálý asi půl roku.
- Standardní roztok $0,005 \text{ mol l}^{-1}$ kyseliny šťavelové ($\text{C}_2\text{O}_4\text{H}_2$) se připraví ze 100 ml standardního roztoku $0,05 \text{ mol l}^{-1}$ kyseliny šťavelové ($\text{C}_2\text{O}_4\text{H}_2$) doplněním na 1000 ml zředěnou H_2SO_4 (1:15). Tento roztok lze připravit též rozpuštěním 0,6303 g $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ve zředěné H_2SO_4 (1:15) a doplněním touto kyselinou na 1000 ml. 1 ml roztoku $0,005 \text{ mol l}^{-1}$ $\text{C}_2\text{O}_4\text{H}_2$ odpovídá 0,08 mg CHSK_{Mn} . Roztok je stálý nejdéle 2 týdny. Uchovává se v chladničce.
- Manganistan draselný, zásobní roztok o koncentraci $c(\text{KMnO}_4) \approx 0,02 \text{ mol l}^{-1}$. Roztok se připraví rozpuštěním 3,2 g KMnO_4 v 1 l destilované vody a přechovává se v tmavé láhvi za občasného promíchávání. Roztok je možné použít až po 2 až 3 týdnech. Před použitím se musí nechat alespoň jeden den bez míchání.
- Manganistan draselný, odměrný roztok o koncentraci $c(\text{KMnO}_4) \approx 0,002 \text{ mol l}^{-1}$. Roztok se připraví ze 100 ml zásobního roztoku zředěním na 1000 ml destilovanou vodou. Po několika

dnech se roztok upraví tak, aby se jeho koncentrace nelišila o více než $\pm 0,0001 \text{ mol l}^{-1}$. 1 ml $0,002 \text{ mol l}^{-1} \text{ KMnO}_4$ odpovídá 0,08 mg CHSK_{Mn} . Při stanovení koncentrace odměrného roztoku KMnO_4 se ke 100 ml ředící vody (příp. vytitrovaného roztoku vzorku po stanovení CHSK_{Mn}) přidá 10,0 ml standardního roztoku $0,005 \text{ mol l}^{-1} \text{ C}_2\text{O}_4\text{H}_2$ a 5 ml zředěné kyseliny sírové 1:2 (v případě vytitrovaného roztoku bez přídavku H_2SO_4). Směs se zahřeje k varu a za horka se titruje $0,002 \text{ mol l}^{-1} \text{ KMnO}_4$ do slabě růžového zbarvení. Podle výsledku titrace se koncentrace roztoku KMnO_4 upraví.

3. Postup stanovení

Do varné baňky se vloží několik varných tělísek, nadávkuje 100 ml vzorku, přidá 5 ml zředěné H_2SO_4 (1:2), 20,0 ml $0,002 \text{ mol l}^{-1} \text{ KMnO}_4$ a vše se promíchá. Na hrdlo varné baňky se položí hodinové sklo nebo se do hrdla vloží nálevka s uříznutým stonkem a směs se zahřívá tak, aby se do 5 min uvedla k varu a var se udržuje přesně 10 min. K horkému roztoku se ihned přidá 20,0 ml $0,005 \text{ mol l}^{-1}$ kyseliny šťavelové. Odbarvený horký roztok se ihned titruje $0,002 \text{ mol l}^{-1} \text{ KMnO}_4$ do slabě růžového zbarvení. Teplota vzorku při titraci nesmí klesnout pod $80 \text{ }^\circ\text{C}$. Spotřeba manganistanu se odečte s přesností alespoň na 0,05 ml.

Dojde-li k odbarvení roztoku za varu nebo k jeho zhnědnutí a nebo je spotřeba $0,002 \text{ mol l}^{-1} \text{ KMnO}_4 > 12 \text{ ml}$ (tj. 60% přidaného KMnO_4) je třeba roztok vzorku zředit a stanovení opakovat. U ředěných vzorků nesmí být spotřeba menší než 4 ml (tj. 20% přidaného množství KMnO_4).

K slepému stanovení se odměří 100 ml ředící vody a zpracuje se stejným způsobem jako vzorek. Spotřeba odměrného roztoku nesmí být větší než 0,2 ml.

4. Výpočet a vyjadřování výsledků

CHSK_{Mn} se vypočítá jako hmotnostní koncentrace kyslíku odpovídající množství manganistanu draselného spotřebovaného při titraci vzorku po oxidaci organických látek a přídavku standardního roztoku kyseliny šťavelové.

$$\text{CHSK}_{\text{Mn}} = [(V_e - V_s) f_t c(\text{KMnO}_4) A_0 \cdot 10^3] / V_0$$

kde CHSK_{Mn}	je chemická spotřeba kyslíku vzorku vody (mg l^{-1}),
V_e	objem odměrného roztoku manganistanu draselného, spotřebovaného při titraci vzorku (ml),
V_s	objem odměrného roztoku manganistanu draselného, spotřebovaného při titraci slepého stanovení (ml),
V_0	objem vzorku použitý při stanovení CHSK_{Mn} (ml),
f_t	titrační přepočítávací faktor ($f_t = 5/2$)
$c(\text{KMnO}_4)$	látková koncentrace odměrného roztoku manganistanu draselného (mol l^{-1}), $c(\text{KMnO}_4) \approx 0,002 \text{ mol l}^{-1}$
A_0	atomární hmotnost kyslíku (g mol^{-1}), $A_0 = 16 \text{ g mol}^{-1}$.

Po dosazení se vzorec zjednoduší na tvar

$$\text{CHSK}_{\text{Mn}} = [(V_e - V_s) c(\text{KMnO}_4) \cdot 40 \cdot 10^3] / V_0$$

Při koncentracích $0 - 10 \text{ mg l}^{-1}$ se výsledek zaokrouhluje na $0,1 \text{ mg l}^{-1}$, při $10 - 100 \text{ mg l}^{-1}$ na $1,0 \text{ mg l}^{-1}$.

III. Použitá literatura

1. Horáková M., Lischke P., Grünwald A.: Chemické a fyzikální metody analýzy vod. SNTL Praha (1986).
2. Chalupa M. a kol.: Metody rozboru pitné vody. MLVH ČSR Praha (1975).
3. Nollé L.M.L.: Handbook of water analysis. CRC Press, Taylor & Francis Group (2007).
4. Česká norma. Jakost vod - Stanovení chemické spotřeby kyslíku manganistanem (CHSK_{Mn}) 75 7519, ČSN EN ISO 8467 (1997).

Potenciometrické stanovení pH

1. Princip

Potenciometrické stanovení pH spočívá v měření rozdílu potenciálů mezi dvěma elektrodami ponořenými do vzorku vody. Jedna z nich je referenční, s konstantním, dobře reprodukovatelným potenciálem, a k ní se vztahuje potenciál druhé elektrody měrné. Jako měrná elektroda se k potenciometrickému měření pH nejběžněji používá skleněná elektroda a jako referenční kalomelová nebo argentchloridová elektroda.

Skleněná elektroda je tvořena tenkou skleněnou membránou, nejčastěji ve tvaru baničky. Ta je naplněna tlumivým roztokem (pH_1) a ponořuje se do měřeného roztoku (pH_2). Na obou fázových rozhraních vzniknou potenciální rozdíly E_1 a E_2 , které se měří dvěma referenčními elektrodami, které pouze odvádějí potenciál. Potenciál vzniká výměnou iontů mezi roztokem a membránou, popř. difúzním dějem. Při měření touto elektrodou neruší obsah oxidujících a redukujících látek.

Za předpokladu, že potenciály obou referenčních elektrod jsou stejné a difúzní potenciály E_{L1} a E_{L2} , které mají opačné znaménko, jsou si velmi blízké, platí při teplotě 25 °C

$$E_2 - E_1 = 0,0592 (\text{pH}_2 - \text{pH}_1).$$

Protože však nejde o absolutní měření, není třeba znát hodnotu pH_1 , a tak pro výpočet platí

$$\text{pH}_2 = \text{pH}_1 + (E_2 - E_1) / 0,0592 = K + E / 0,0592.$$

Podíl mezi rozdílem potenciálů a rozdílem pH je tzv. elektrodová funkce (Nernstova odezva) a rovná se 59,2 mV na jednotku pH. Změna reakce roztoku o 1 pH vyvolá tedy změnu potenciálu o 59,2 mV.

Při prvním ponoření skleněné elektrody do vody křemičitan podléhá hydrolyze a na povrchu skleněné membrány se vytvoří vrstva hydratované kyseliny křemičité. Po určité době dojde k rovnováze mezi roztokem a povrchem elektrody. Rovnovážnému stavu odpovídá daná hodnota potenciálu závislá na pH, teplotě a na složení skla. Vymění-li se vnější roztok za jiný, změní se potenciál elektrody podle rovnice

$$E = \text{konst} + RT/F \ln a_{\text{H}^+}$$

kde E je potenciál elektrody, R - plynová konstanta, T - termodynamická teplota, F - Faradayova konstanta, a_{H^+} - aktivita vodíkových iontů.

Ideální elektrodové sklo by mělo vykazovat rychle se ustavující teoretickou odezvu v co největším rozmezí pH. I když vně baničky bude stejný roztok, utvoří se na skleněné membráně potenciál, tzv. asymetrický potenciál. Je způsoben rozdílnou strukturou vnitřního a vnějšího povrchu elektrody. Asymetrický potenciál je individuální pro každou elektrodu a je dalším důvodem, že pro měření pH je potřeba provádět kalibraci pomocí tlumivých roztoků.

Potenciál skleněné elektrody je v poměrně širokých mezích lineární funkcí pH roztoku, v němž je elektroda ponořena. Odchylky od lineárního průběhu jsou jednak v alkalické oblasti, jednak v roztocích silně kyselých. Odchylka v alkalické oblasti se projevuje tak, že od daného pH (9 až 10) je naměřena hodnota pH nižší než skutečná. To vede k pozitivní chybě a je dána tím, že v alkalické oblasti reaguje elektroda nejen na koncentraci H^+ , ale i na koncentraci Na^+ obsažených ve vzorku. V roztocích s nízkým pH naopak dochází k negativní chybě

a naměřené pH má vyšší hodnotu než je pH skutečné. To se vysvětluje vnikáním vodíkových iontů do gelovité vrstvy hydratované kyseliny křemičité.

Referenční kalomelová elektroda je tvořena rtuťí, pokrytou vrstvou chloridu rtuťného ponořenou do roztoku chloridových iontů o známé koncentraci. Používá se nasycený roztok chloridu draselného ($4,16 \text{ mol l}^{-1} \text{ KCl}$), a proto jde o nasycenou kalomelovou elektrodu. Její potenciál při teplotě $25 \text{ }^\circ\text{C}$ je $0,241 \text{ V}$. Referenční argentchloridová elektroda je tvořena postříbřeným Pt drátkem nebo plíškem, který je pokrytý vrstvičkou chloridu stříbrného a ponořený do roztoku chloridu draselného nebo sodného, či do kyseliny chlorovodíkové. Její potenciál je dán rovnicí $E = E^0_{\text{AgCl,Ag}} - 0,0592 \log a_{\text{Cl}^-}$, přičemž standardní potenciál $E^0_{\text{AgCl,Ag}} = 0,222 \text{ V}$.

2. Použití

Pomocí pH metru lze stanovit pH v oblasti hodnot od 1 do 14 u všech vod, u mezních hodnot se používají korekční grafy.

3. Rušivé vlivy

Stanovení je ovlivněno teplotou, a to jednak termodynamicky, což je eliminováno kompenzačním zařízením pH-metru, jednak teplotní závislostí disociačních konstant tlumivých složek vzorku, což lze vyloučit úpravou teploty roztoku. Skleněná elektroda musí být před prvním použitím nejméně 24 hod máčena ve vodě a její měřící část musí být stále ponořena ve vodě.

Funkce skleněné elektrody je omezena znečištěním, zvláště zamaštěním. Zamaštěné elektrody se otírají jemnou tkaninou namočenou v etheru nebo detergentu, pak se oplachují destilovanou vodou, máčí se v 2% HCl a znovu se oplachují v destilované vodě. Elektrodu můžeme také čistit ethanolem nebo benzenem. Potom ji ošetřujeme obdobně jako v předchozím případě. Po těchto operacích je vždy nutná kalibrace.

4. Přístroje

- pH-metr se skleněnou měrnou elektrodou a referenční kalomelovou nebo argentchloridovou elektrodou. Přístroj může být vybaven jedinou kombinovanou elektrodou.

5. Chemikálie

- Tlumivý roztok o pH 1,68. $12,710 \text{ g}$ hydrogenšřavelanu draselného $\text{KH}_3(\text{C}_2\text{O}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ p.a. se rozpustí v čerstvě povařené a ochlazené destilované vodě a při teplotě $20 \text{ }^\circ\text{C}$ se touto vodou doplní na 1 l . Roztok má při teplotě $20 \text{ }^\circ\text{C}$ $\text{pH}=1,675$.
- Tlumivý roztok o pH 4,00. $10,12 \text{ g}$ hydrogenftalátu draselného $\text{C}_6\text{O}_4.\text{COOK}.\text{COOH}$ p.a. vysušeného při teplotě $110 \text{ }^\circ\text{C}$ se rozpustí v čerstvě převařené a ochlazené vodě prosté CO_2 a při teplotě $20 \text{ }^\circ\text{C}$ se touto vodou doplní na 1 l . Roztok má při teplotě $20 \text{ }^\circ\text{C}$ $\text{pH}=4,002$, při $25 \text{ }^\circ\text{C}$ $\text{pH}=4,008$.
- Tlumivý roztok o pH 6,88. $3,39 \text{ g}$ KH_2PO_4 p.a. a $3,53 \text{ g}$ Na_2HPO_4 p.a. vysušených po dobu 2 hod při teplotě $110 \text{ }^\circ\text{C}$ se zároveň rozpustí v čerstvě převařené a ochlazené destilované vodě prosté CO_2 a při teplotě $20 \text{ }^\circ\text{C}$ se touto vodou doplní na 1 l . Roztok má při teplotě $20 \text{ }^\circ\text{C}$ $\text{pH}=6,881$, při $25 \text{ }^\circ\text{C}$ $\text{pH}=6,865$.
- Tlumivý roztok o pH 9,22. $3,80 \text{ g}$ $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ p.a., uzavřeného delší dobu v exsíkátoru nad bromidem sodným, se rozpustí v čerstvě převařené a ochlazené destilované vodě prosté CO_2 a při teplotě $20 \text{ }^\circ\text{C}$ se touto vodou doplní na 1 l . Roztok má při teplotě $20 \text{ }^\circ\text{C}$ $\text{pH} 9,225$, při $25 \text{ }^\circ\text{C}$ $\text{pH}=9,18$.
- Pro přípravu tlumivých roztoků je nutno použít destilovanou vodu o konduktivitě menší než $0,2 \text{ mS m}^{-1}$. Je možné použít tlumivé roztoky připravené komerčně.

6. Postup

pH-metr okalibrujeme použitím tlumivých roztoků o známém pH v blízkosti očekávaného pH vzorku postupem obdobným vlastnímu stanovení ve vzorku. Elektroda se před měřením opláchne destilovanou vodou, popř. i vzorkem, a ponoří se do vzorku. Hodnota pH se odečítá po jejím ustálení.

Správný chod přístroje je nutno často kontrolovat standardními tlumivými roztoky.

7. Zaokrouhlování výsledků

Výsledné hodnoty pH se zaokrouhlují na 0,05 až 0,1 podle druhu použitého přístroje s uvedením, že jde o potenciometrickou metodu.

8. Použitá literatura

1. Horáková M., Lischke P., Grünwald A.: Chemické a fyzikální metody analýzy vod. SNTL Praha (1986).

Stanovení neutralizační kapacity

I. Úvodní část

1. Definování neutralizační kapacity

Neutralizační kapacita vody vyjadřuje schopnost vody vázat určité látkové množství kyseliny (kyselinová neutralizační kapacita) nebo zásady (zásadová neutralizační kapacita) do zvolené hodnoty pH. Její stanovení se provádí titrací vody silnou kyselinou nebo zásadou do příslušné hodnoty pH. Vychází se ze spotřeby jednosytné kyseliny nebo jednosytné zásady při titraci 1 litru vody do zvolené hodnoty pH. Výsledek se pak udává v mmol l^{-1} , vypočtených ze spotřebovaného látkového množství H^+ nebo OH^- na titrovaný objem vody. Používají se zkratky, pro kyselinovou neutralizační kapacitu KNK a pro zásadovou neutralizační kapacitu ZNK. Jako dolní index k těmto zkratkám se uvádí zvolená hodnota pH.

2. Volba hodnoty pH

Hodnota pH se volí podle účelu, k němuž má stanovení neutralizační kapacity sloužit. Např. u průmyslových odpadních vod je to pH 7 a jde o odhad spotřeby kyseliny nebo zásady pro neutralizaci odpadní vody. U přírodních vod, pitných a užitkových vod, jde o pH 4,5 a 8,3. Tyto hodnoty pH odpovídají titračním exponentům uhličitanového systému $\text{CO}_2 - \text{HCO}_3^- - \text{CO}_3^{2-}$, který v těchto vodách zpravidla převažuje.

3. Stanovení neutralizační kapacity

Neutralizační kapacita se obvykle stanovuje titrací HCl nebo NaOH o koncentraci $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ a vypočítá se podle vztahů

$$\text{KNK} = V_e \cdot c \cdot 10^3 / V_0$$

$$\text{ZNK} = V_e \cdot c \cdot 10^3 / V_0$$

kde KNK je kyselinová neutralizační kapacita (mmol l^{-1}), ZNK zásadová neutralizační kapacita (mmol l^{-1}), V_e spotřeba odměrného roztoku kyseliny nebo zásady při titraci vzorku (ml), c koncentrace odměrného roztoku jednosytné kyseliny nebo zásady (mol l^{-1}) a V_0 objem titrovaného vzorku vody (ml).

U přírodních vod se obvykle stanovují

ZNK_{4,5} - zásadová neutralizační kapacita do pH 4,5 (zjevná acidita),

ZNK_{8,3} - zásadová neutralizační kapacita do pH 8,3 (celková acidita),

KNK_{8,3} - kyselinová neutralizační kapacita do pH 8,3 (zjevná alkalita),

KNK_{4,5} - kyselinová neutralizační kapacita do pH 4,5 (celková alkalita).

II. Stanovení zásadové neutralizační kapacity

1. Stanovení zásadové neutralizační kapacity do pH 4,5 a 8,3

Silně kyselou reakci vody o $\text{pH} < 4,5$ způsobuje přítomnost silných minerálních kyselin a jejich kyselých solí. V takovém případě se stanovuje ZNK_{4,5}. U přírodních a užitkových vod je pH většinou 5,5-7,5 a na jeho hodnotě se podílí rozpuštěný CO_2 a hydrogenuhličitany. V takových vodách nelze stanovit ZNK_{4,5}. U přírodních vod může být pH vody ovlivněno i přítomností huminových kyselin vznikajících rozkladem organických zbytků rostlin. Za jejich nepřítomnosti lze titrací vzorku vody silnou zásadou do pH 8,3 určit obsah volného CO_2 podle reakce



Zároveň se však titrují i slabé anorganické i organické kyseliny nebo jejich soli podléhající hydrolyze. U vod o $\text{pH} < 4,5$ se při stanovení $\text{ZNK}_{8,3}$ titrují i přítomné silné kyseliny a jejich hydrogenanionty. Stanovení volného CO_2 za těchto podmínek však nepřichází v úvahu, protože volný CO_2 se v takových vodách téměř nevyskytuje.

2. Princip

$\text{ZNK}_{4,5}$ se stanovuje titrací vzorku vody $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ NaOH na methylovou oranž nebo na směsný indikátor. $\text{ZNK}_{8,3}$ se stanovuje titrací vzorku vody $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ NaOH, příp. $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ NaOH, na fenolftalein.

3. Použití

Stanovení $\text{ZNK}_{4,5}$ nebo $\text{ZNK}_{8,3}$ se používá při analýze přírodních a užitkových vod, při $\text{ZNK} > 0,05 \text{ mmol l}^{-1}$. Stanovení $\text{ZNK}_{4,5}$ má význam při analýze vod, které obsahují silné minerální kyseliny a jejichž hodnota pH je menší než 4,5 (důlní vody, některé odpadní vody). $\text{ZNK}_{8,3}$ lze stanovit pouze u vod, jejichž hodnota $\text{pH} < 8,3$. Indikace hodnoty pH se běžně provádí vizuálně na fenolftalein. Pokud je pH vody určeno převážně jen uhličitánovým systémem $\text{CO}_2 - \text{HCO}_3^-$, lze z hodnoty $\text{ZNK}_{8,3}$ stanovit přibližný obsah volného CO_2 ve vodě.

4. Rušivé vlivy

Pokud se neprovádí stanovení přímo na místě odběru je nejlépe vodu vést na dno vzorkovnice hadičkou, nechat chvíli přetékat, uzavřít bez vzduchových bublin a chránit před oteplením. Vzorek je nutno zpracovat do 24 hod po odběru.

Pokud jsou vzorky zabarvené nebo zakalené používá se potenciometrická titrace. Pokud je ve vzorku při vizuální indikaci bodu ekvivalence přítomen volný chlor, rozkládá indikátory a musí se odstranit přidávkem ekvivalentního množství roztoku thiosíranu (roztok $2,5 \text{ g Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} / 100 \text{ ml}$ v destilované vodě).

Nezřetelnému přechodu způsobenému hydrolyzou solí silných kyselin a slabých zásad se zabrání urychlením hydrolyzy titrací za tepla (2 min varu před titrací). Lze pak stanovit jen $\text{ZNK}_{8,3}$ a není započítán CO_2 , který při varu vyprchá.

5. Chemikálie

- Voda prostá oxidu uhličitého. Před použitím se voda zbaví rozpuštěného CO_2 varem po dobu 15 min a ochlazením na teplotu laboratoře. Je možné CO_2 odstranit také probubláváním vzorků vody inertním plynem po dobu 20 min. Po odstranění CO_2 by se voda měla ihned použít.
- Hydroxid sodný, $c(\text{NaOH}) = 15 \text{ mol l}^{-1}$. Zásobní roztok se připraví rozpuštěním 625 g NaOH p.a. v 800 ml destilované vody a několik dní se nechá stát. Na dně se usadí Na_2CO_3 a čirý roztok neobsahuje uhličitany. Uchovává se v dobře těsnící láhvi z polyethylenu.
- Hydroxid sodný, odměrný roztok, $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol l}^{-1}$. 6,7 ml zásobního roztoku NaOH se zředí čerstvě převařenou (15-30 min varu) a rychle ochlazenou destilovanou vodou a doplní se na 1 l. Roztok se musí chránit před vzdušným CO_2 a každých 14 dní připravovat čerstvý. Titr tohoto roztoku se stanoví na kyselinu šťavelovou. 20 ml $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ NaOH se nadávákuje do bílé porcelánové misky, přidají se 3 kapky fenolftaleinu a titruje se odměrným roztokem $0,05 \text{ mol l}^{-1}$ kyseliny šťavelové (6,3034 g $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ p.a. uchovávané v exsikátoru nad CaCl_2 se rozpustí v čerstvě převažené destilované vodě a při teplotě 20°C se touto vodou doplní na 1 l) za míchání tyčinkou do odbarvení indikátoru. Obsah misky se odpaří na vodní lázni do sucha. Odparek se pak rozpustí v malém množství horké, čerstvě převažené destilované vody. Když roztok zružoví, dotitruje se roztokem kyseliny šťavelové

do odbarvení. Obsah misky se znovu odpaří do sucha a celý postup se opakuje tolikrát, až znovu rozpuštěný odparek zůstává bezbarvý. Koncentrace NaOH se vypočítá z celkové spotřeby kyseliny šťavelové.

- Přesnou koncentraci odměrného roztoku NaOH lze také stanovit použitím hydrogenftalátu draselného. 10,212 g $C_6H_4COOK.COOH$, vysušeného při teplotě 110 °C, se rozpustí v čerstvě převařené destilované vodě a při teplotě 20 °C se s ní doplní na 500 ml. 20,0 ml tohoto 0,1 mol l^{-1} roztoku se nadávkuje do titrační baňky, zředí se vyvařenou a ochlazenou destilovanou vodou na 100 ml, přidá se 5-10 kapek fenolftaleinu a titruje se odměrným roztokem 0,1 mol l^{-1} NaOH. Na konci titrace je dosaženo slabě růžové zbarvení, které vydrží alespoň 30 s. Stanovení je výhodné opakovat tak, že se k roztoku hydrogenftalátu přidá najednou celé množství roztoku NaOH spotřebované při první titraci, potom se přidá fenolftalein a dotitruje se do slabě růžového zbarvení.

Přesná koncentrace odměrného roztoku NaOH v mol l^{-1} se pro 0,1 mol l^{-1} NaOH vypočte podle vztahu

$$c(\text{NaOH}) = 0,1 V_1 / V_2$$

kde $c(\text{NaOH})$ je přesná koncentrace odměrného roztoku NaOH v mol l^{-1}

V_1 - objem roztoku standardu hydrogenftalanu draselného v ml (20 ml)

V_2 - spotřeba odměrného roztoku NaOH v ml.

- Hydroxid sodný, odměrný roztok, $c(\text{NaOH}) = 0,01$ mol l^{-1} . 100 ml čerstvě připraveného 0,1 mol l^{-1} NaOH se zředí čerstvě převařenou (15-30 min varu) a rychle ochlazenou destilovanou vodou a doplní se na 1 l. Roztok je třeba velmi pečlivě chránit před vzdušným CO_2 a jednou týdně připravovat čerstvý.
- Přesná koncentrace tohoto odměrného roztoku NaOH se stanovuje na hydrogenftalát draselný. 2,0423 g $C_6H_4COOK.COOH$, vysušeného při teplotě 110 °C, se rozpustí v čerstvě převařené destilované vodě a při teplotě 20 °C se s ní doplní na 1 l. 20,0 ml tohoto 0,01 mol l^{-1} roztoku se nadávkuje do titrační baňky, zředí se vyvařenou a ochlazenou destilovanou vodou na 100 ml, přidá se 5-10 kapek fenolftaleinu a titruje se odměrným roztokem 0,01 mol l^{-1} NaOH do slabě růžového zbarvení, které vydrží alespoň 30 s. Stanovení je výhodné opakovat tak, že se k roztoku hydrogenftalátu přidá najednou celé množství roztoku NaOH spotřebované při první titraci, potom se přidá fenolftalein a dotitruje se do slabě růžového zbarvení.

Přesná koncentrace odměrného roztoku NaOH v mol l^{-1} se vypočte pro 0,01 mol l^{-1} NaOH podle vztahu

$$c(\text{NaOH}) = 0,01 V_1 / V_2$$

kde $c(\text{NaOH})$ je přesná koncentrace odměrného roztoku NaOH v mol l^{-1} ,

V_1 - objem roztoku standardu hydrogenftalanu draselného v ml (20 ml),

V_2 - spotřeba odměrného roztoku NaOH v ml.

- Methylová oranž, 0,05%ní indikátorový roztok se připraví rozpuštěním 0,05 g sodné soli methylové oranže ve 100 ml horké destilované vody a po vychladnutí se zfiltruje.
- Fenolftalein, 0,5%ní indikátorový roztok se připraví rozpuštěním 0,5 g fenolftaleinu v 50 ml 96%ního ethanolu a zředí se 50 ml destilované vody. K roztoku se po kapkách přidává roztok NaOH o koncentraci 0,01 mol l^{-1} do prvního postřehnutelného růžového zbarvení.
- Směsný indikátor se připraví rozpuštěním 0,2 g bromkresolové zeleně ve 100 ml 96%ního ethanolu a 0,015 g methylové červeně v 50 ml 96%ního ethanolu, a následným smícháním obou roztoků. Uchovává se v tmavé láhvi.

6. Postupy stanovení

6.1. Postup stanovení ZNK_{4,5}.

Ke 100 ml vzorku se přidají dvě kapky methylové oranže nebo směšného indikátoru a titruje se odměrným roztokem 0,1 mol l⁻¹ NaOH do barevné změny indikátoru (u methylové oranže do žlutého, u směšného indikátoru do modrého zbarvení). Pokud je vzorek vody po přidání indikátorů zbarven modře nebo žlutě stanovení ZNK_{4,5} se neprovádí.

6.2. Postup stanovení ZNK_{8,3}.

100 ml vzorku se nadávkuje do titrační baňky, přidá se 5-10 kapek fenolftaleinu a titruje se 0,01 mol l⁻¹ NaOH za opatrného míchání se zamezením ztrát CO₂, do stálého slabě růžového zbarvení, které vydrží alespoň 30 s. Pokud je vzorek vody po přidání fenolftaleinu zbarven růžově až červeně stanovení ZNK_{8,3} se neprovádí.

7. Výpočet a vyjadřování výsledků

ZNK_{4,5} (mmol l⁻¹) a ZNK_{8,3} (mmol l⁻¹) se vypočítají podle vztahů

$$\text{ZNK}_{4,5} = V_e c(\text{NaOH}) \cdot 10^3 / V_0$$

$$\text{ZNK}_{8,3} = V_e c(\text{NaOH}) \cdot 10^3 / V_0$$

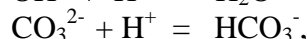
kde V_e je spotřeba odměrného roztoku NaOH při titraci vzorku (ml), $c(\text{NaOH})$ koncentrace odměrného roztoku NaOH (mol l⁻¹) a V_0 objem vzorku (ml).

Pro hodnoty ZNK 0,02-1,0 mmol l⁻¹ se výsledky zaokrouhlují na 0,02 mmol l⁻¹, 1,0-2,0 mmol l⁻¹ na 0,05 mmol l⁻¹, 2,0-5,0 mmol l⁻¹ na 0,1 mmol l⁻¹ a 5,0-10,0 mmol l⁻¹ na 0,2 mmol l⁻¹.

III. Stanovení kyselinové neutralizační kapacity

1. Stanovení kyselinové neutralizační kapacity do pH 8,3 a 4,5

Většina přírodních vod reaguje na fenolftalein (pH 8,3) kyselé a na methyloranž (pH 4,5) zásaditě, tedy pH < 8,3 a > 4,5. Hodnota pH > 8,3 je u přírodních a užitkových vod vyvolána přítomností uhličitanových a hydroxidových iontů. Potom se provádí stanovení KNK_{8,3} na základě reakcí



přičemž pH 8,3 představuje titrační exponent druhé reakce. Vyšší pH však nemusí být způsobeno přítomností hydroxidů, ale důsledkem intenzivní fotosyntézy vodních rostlin a řas. Pokud reakce na fenolftalein není alkalická, nejsou přítomny hydroxidy ani normální uhličitan, ale pouze hydrogenuhličitan. Při KNK < 1 mol l⁻¹ je nebezpečí náhlého poklesu pH, při KNK ≈ 1 - 2 mol l⁻¹ častého kolísání pH, při KNK ≈ 2 - 5 mol l⁻¹ již pH nekolísá nebo jen málo a při KNK ≈ 5 mol l⁻¹ se již pH téměř nemění, avšak tyto hodnoty se vyskytují jen zřídka.

Při stanovení KNK_{4,5} probíhá vedle uvedených reakcí ještě reakce



s titračním exponentem 4,5 a kromě hydrogenuhličitanů se zároveň titrují také silné a slabé zásady, anionty slabých kyselin a další anionty, které hydrolyzují za uvolňování iontů OH⁻.

2. Princip

KNK_{8,3} se stanovuje titrací vzorku vody 0,1 mol l⁻¹ HCl na fenolftalein. KNK_{4,5} se stanovuje titrací vzorku vody 0,1 mol l⁻¹ HCl na methylovou oranž nebo směšný indikátor.

3. Použití

Stanovení $\text{KNK}_{8,3}$, resp. $\text{KNK}_{4,5}$ se používá při analýze přírodních a užitkových vod. Z obou hodnot lze vypočítat obsah hydrogenuhličitanů, uhličitánů nebo hydroxidových iontů. Metoda je vhodná ke stanovení $\text{KNK} > 0,05 \text{ mmol l}^{-1}$.

4. Rušivé vlivy

Pokud jsou vzorky vody barevné nebo zakalené, používá se potenciometrická titrace. Volný chlor, který narušuje indikátor, může být odstraněn přidávkem ekvivalentního množství roztoku thiosíranu sodného ($2,5 \text{ g Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O} / 100 \text{ ml}$ v destilované vodě).

Přesné určení bodu ekvivalence ruší také vyšší obsah volného CO_2 , a tedy i CO_2 uvolněný z většího množství uhličitánů při titraci. Při přesnějším stanovení $\text{KNK}_{4,5}$ se proto CO_2 z titrované směsi vypuzuje provzdušňováním a titrační exponent se volí pH 5,0.

5. Chemikálie

- Kyselina chlorovodíková, odměrný roztok, $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol l}^{-1}$, připraví se z 8,5 ml koncentrované HCl p.a. následným zředěním destilovanou vodou na 1 l. Koncentrace se určí na $0,05 \text{ mol l}^{-1}$ roztok uhličitánu sodného připraveného rozpuštěním 5,2996 g Na_2CO_3 p.a. (vysušeného při $250 \text{ }^\circ\text{C}$) v čerstvě převařené a ochlazené destilované vodě a doplněním na 1 l. 20 ml tohoto roztoku se zředí převařenou destilovanou vodou na 100 ml, přidají se 3 kapky směsného indikátoru a titruje se $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ HCl až zmizí zelenomodré zbarvení titrovaného roztoku. Musí se dodržet podmínky jako při vlastním stanovení neutralizační kapacity, včetně provzdušňování. Odměrný roztok kyseliny se pak podle potřeby upraví, aby jeho koncentrace byla v rozmezí 0,099 až $0,101 \text{ mol l}^{-1}$. Potom se znovu určí koncentrace.

Výpočet látkové koncentrace roztoku kyseliny chlorovodíkové

$$c(\text{HCl}) = m V_1 / [53,00 \cdot (V_2 - V_3)]$$

kde $c(\text{HCl})$ je koncentrace připraveného odměrného roztoku HCl v mol l^{-1} ,

m - hmotnost uhličitánu sodného použitého k přípravě roztoku (g)

V_1 - objem roztoku uhličitánu sodného použitého k titraci (ml)

V_2 - spotřeba odměrného roztoku HCl při titraci roztoku uhličitánu sodného (ml),

V_3 - spotřeba odměrného roztoku HCl při slepém stanovení (ml).

- Kyselina chlorovodíková, odměrný roztok, $c(\text{HCl}) = 0,02 \text{ mol l}^{-1}$.
Do odměrné baňky objemu 500 ml se pipetuje 100 ml roztoku $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ HCl. Doplní se po rysku vodou a dobře promíchá. Roztok se připravuje před vlastním použitím.
- Fenolftalein, 0,5%ní roztok se připraví rozpuštěním 0,5 g fenolftaleinu v 50 ml 96%ního ethanolu a zředěním 50 ml destilované vody. K roztoku se po kapkách přidává $0,01 \text{ mol l}^{-1}$ NaOH do prvního postřehnutelného růžového zbarvení.
- Methylová oranž, 0,05%ní roztok se připraví rozpuštěním 0,05 g sodné soli methylové oranže ve 100 ml horké destilované vody a po vychladnutí se zfiltruje.

6. Postup

6.1. Postup stanovení $\text{KNK}_{8,3}$.

Ke 100 ml vzorku vody se přidají dvě kapky fenolftaleinu. Nezbarví-li se roztok růžově je hodnota $\text{KNK}_{8,3}$ rovna nule. Růžově zbarvený roztok se titruje $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ HCl (při $\text{KNK}_{8,3} = 4-20 \text{ mmol l}^{-1}$) nebo $0,02 \text{ mol l}^{-1}$ HCl (při $\text{KNK}_{8,3} = 0,4-4 \text{ mmol l}^{-1}$) proti bílé podložce až do odbarvení indikátoru. Zaznamenává se spotřeba kyseliny v ml.

Roztok se uchová pro stanovení $\text{KNK}_{4,5}$.

6.2. Postup stanovení $KNK_{4,5}$.

Odměří se 100 ml vzorku nebo se použije vytitrovaný vzorek po stanovení $KNK_{8,3}$. Pro přibližné stanovení se přidají 3 kapky methylové oranže a titruje se 0,1 mol l^{-1} HCl do cibulového zbarvení (pH 4,5).

7. Výpočet a vyjadřování výsledků

Hodnoty $KNK_{8,3}$ (mmol l^{-1}) a $KNK_{4,5}$ (mmol l^{-1}) se vypočítají podle vztahů

$$KNK_{8,3} = V_e c(\text{HCl}) \cdot 10^3 / V_0$$

$$KNK_{4,5} = V_e c(\text{HCl}) \cdot 10^3 / V_0$$

kde V_e je spotřeba odměrného roztoku HCl při titraci vzorku (ml), $c(\text{HCl})$ koncentrace odměrného roztoku HCl (mol l^{-1}) a V_0 původní objem vzorku (ml).

Při hodnotě KNK 0,005-1,0 mmol l^{-1} se výsledek zaokrouhluje na 0,005 mmol l^{-1} , při 1,0-2,0 mmol l^{-1} na 0,01 mmol l^{-1} , při 2,0-5,0 mmol l^{-1} na 0,02 mmol l^{-1} a při 5,0-10,0 mmol l^{-1} na 0,05 mmol l^{-1} .

IV. Použitá literatura

1. Horáková M., Lischke P., Grünwald A.: Chemické a fyzikální metody analýzy vod. SNTL Praha 1986.
2. Česká technická norma – Jakost vod – Stanovení zásadové (neutralizační) kapacity (ZNK) ČSN 75 7372, 2001.
3. Česká norma – Jakost vod – Stanovení kyselinové neutralizační kapacity (KNK) 75 7371, ČSN EN ISO 9963-1, 1996.

Stanovení chloridů ve vodách

I. Úvodní část

1. Výskyt chloridů

Chloridy jsou běžnou součástí všech přírodních vod. Ve sladkých vodách, podzemních a povrchových vodách je koncentrace chloridů obvykle $<100 \text{ mg l}^{-1}$. Vyšší koncentrace chloridů daná geologickým původem není v našich povrchových vodách obvyklá. Naopak v odpadních splaškových vodách a v některých vodách průmyslových (z papíren, z ropných vrtů, galvanický průmysl, změkčování vody) jsou často vysoké koncentrace chloridů, a proto větší množství chloridů v přírodní vodě může být ukazatelem znečištění těmito vodami. Chloridové ionty patří mezi ukazatele základního chemického složení povrchových vod a při vypouštění odpadních vod do povrchových vod patří obsah chloridů k závazným ukazatelům. Podle normy pro pitnou vodu je maximální přípustná koncentrace chloridových iontů v pitné vodě 100 mg l^{-1} , větší nalezená koncentrace chloridů má význam jako potenciální indikátor fekálního znečištění. Pouze když je koncentrace chloridů ve vodě prokazatelně ovlivněna geologickým složením podloží, je přípustná koncentrace iontů Cl^- 350 mg l^{-1} .

2. Stanovení chloridů

Chloridy se stanovují běžně ve všech typech vod. Vzorky odebrané pro jejich stanovení se nekonzervují. V uzavřené nádobě vydrží až 28 dní bez konzervace. Ke stanovení se nejčastěji používá odměrné stanovení, a to metodou argentometrickou nebo merkurimetrickou. Normy pro pitné a povrchové vody uvádějí obě metody, argentometrickou jako rozhodčí. Argentometrická titrace vychází z metody uvedené Mohrem v roce 1856. Chloridové ionty se titrují roztokem AgNO_3 v neutrálním nebo slabě alkalickém prostředí. Jako indikátor se používá K_2CrO_4 , který s Ag^+ tvoří červenohnědou sraženinu Ag_2CrO_4 . Rozpustnost AgCl je dosti vysoká, takže mez stanovení je nižší okolo 2 mg l^{-1} . V případě vzorků s nízkou koncentrací chloridů se přidá před titrací známé množství Cl^- ke vzorku a výsledky se korigují na slepý pokus. Tímto způsobem mohou být analyzovány vzorky o koncentraci $0,5\text{-}300 \text{ mg l}^{-1}$ Cl^- . Při merkurimetrické titraci se využívá tvorby silného nedisociovaného komplexu Cl^- s Hg^{2+} .

Kromě těchto titračních metod se pro stanovení nízkých koncentrací chloridových iontů ($0,01\text{-}10 \text{ mg l}^{-1}$) doporučuje spektrofotometrická metoda s thiokyanatanem rtuťnatým. K roztoku vzorku se přidá $\text{Hg}(\text{SCN})_2$. Chloridové ionty tvoří slabě disociující HgCl_2 a uvolňují ekvivalentní množství SCN^- . Tyto ionty tvoří s Fe^{3+} intenzivně červeně zbarvený komplex podle následujících rovnic



Absorbance se měří při 460 nm .

Při spektrofotometrickém stanovení s difenylkarbazonem reagují chloridy s přebytkem $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ za tvorby slabě disociovaného komplexu HgCl_2 . Volné Hg^{2+} ionty reagují s difenylkarbazonem a tvoří modře zbarvený komplex s maximem absorbance při 560 nm . Se vzrůstající koncentrací chloridů tedy klesá absorbance roztoku. Další spektrofotometrická metoda stanovení je založena na reakci chloridů s chloranilátem rtuťnatým, při které se vedle tvorby HgCl_2 uvolňuje ekvivalentní množství červeno-purpurových chloranilátových iontů. Ty se proměřují při 530 nm .

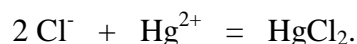
Pro rychlé stanovení chloridů v pitných vodách lze použít iontově selektivní chloridovou elektrodu (např. Orion 94-17-96-17). Kalibrace se provádí se standardními roztoky a vnesením závislosti napětí na negativním logaritmu koncentrace chloridů.

II. Merkurimetrické stanovení chloridů

1. Princip

Chloridy se titrují odměrným roztokem dusičnanu rtuťnatého při $\text{pH } 2,5 \pm 0,1$. Jejich reakcí vzniká rozpustný, ale prakticky nedisociovaný chlorid rtuťnatý (disociační konstanta HgCl_2 je $2,6 \cdot 10^{-15}$). Konec titrace je indikován difenylkarbazonem, který dává s přebytkem rtuťnatých iontů červenofialově zbarvený komplex.

Základem merkurimetrického stanovení je chemická reakce



2. Oblast použití

Metoda je vhodná pro stanovení chloridů ve všech typech vod. Bez objemové úpravy vzorku před stanovením lze stanovit chloridy v koncentraci 4 až 200 mg l^{-1} . Při menší koncentraci chloridů (4-100 mg l^{-1}) se provádí titrace odměrným roztokem o koncentraci 0,01 mol l^{-1} $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ a při koncentraci 10 – 200 mg l^{-1} Cl^- se titruje odměrným roztokem o koncentraci 0,025 mol l^{-1} . Při koncentraci chloridů pod 10 mg l^{-1} se dosáhne správnějších výsledků tím, že se vzorek před stanovením zkoncentruje odpařením.

3. Rušivé vlivy

Nesprávně nastavená hodnota pH před titrací vzorku značně ovlivňuje ostrost barevného přechodu!

Stanovení ruší bromidy a jodidy, které spotřebovávají $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ stejnou reakcí jako chloridy. Siřičitany, chromany a $\text{Fe}(\text{III})$ ruší v koncentraci nad 10 mg l^{-1} . Správné vystižení bodu ekvivalence je znemožněno intenzivním zákalem a barvou vzorku. Bromidy a jodidy je třeba stanovit zvlášť a výsledek jejich stanovení ekvivalentně odečíst. Vliv chromanů a iontů Fe^{3+} se odstraní ředěním vzorku.

4. Chemikálie

- Dusičnan rtuťnatý, odměrný roztok, $c[\text{Hg}(\text{NO}_3)_2] = 0,025 \text{ mol l}^{-1}$ (nebo $0,01 \text{ mol l}^{-1}$). 8,5 g (nebo 3,4 g) $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ se zvlhčí 1 ml koncentrované HNO_3 , rozpustí v malém množství redestilované vody a doplní na objem 1 l. K přípravě roztoku lze použít i oxid rtuťnatý. 5,5 g (nebo 2,2 g) HgO se rozpustí v malém přebytku koncentrované HNO_3 . To znamená, že na 5,5 g (nebo 2,2 g) HgO se použije asi 4 ml (nebo 2 ml) koncentrované HNO_3 ($\rho = 1,4 \text{ g cm}^{-3}$) a opatrně se ředí destilovanou vodou na objem 1 l. 1 ml tohoto odměrného roztoku odpovídá asi 1,773 (nebo 0,709) mg Cl^- . Titr odměrného roztoku se stanoví titrací 5 ml standardního roztoku NaCl o koncentraci $0,05 \text{ mol l}^{-1}$ (příp. $0,02 \text{ mol l}^{-1}$) NaCl , doplněného redestilovanou vodou na 100 ml, stejným způsobem jako při vlastním stanovení chloridů ve vzorku. Hodnota přepočítávacího faktoru f_t pro toto stanovení titru je $1/2$.
- Chlorid sodný, standardní roztok $c(\text{NaCl}) = 0,05 \text{ mol l}^{-1}$ (příp. $0,02 \text{ mol l}^{-1}$).
- Kyselina dusičná, roztok $c(\text{HNO}_3) \approx 0,2 \text{ mol l}^{-1}$. 12,7 ml koncentrované HNO_3 ($\rho = 1,4 \text{ g cm}^{-3}$) bez chloridu sodného se odměří do asi 500 ml destilované vody. Po zamíchání se roztok doplní destilovanou vodou na 1 l.
- Difenylkarbazon, bromfenolová modř – směsný indikátorový roztok. 0,5 g difenylkarbazonu a 0,05 g bromfenolové modře se rozpustí ve 100 ml 96% ethanolu. Roztok se přechovává v tmavé láhvi a při nízké teplotě. Není neomezeně stálý.
- Hydroxid sodný, 0,4% roztok. 4 g NaOH se po rozpuštění v destilované vodě doplní touto vodou na 1 l. Roztok je vhodný k předúpravě pH těch vzorků, jejichž pH je menší než asi 3,8. Lze použít též odměrný roztok NaOH o koncentraci $0,1 \text{ mol l}^{-1}$.

5. Postup

Do titrační baňky se odměří 100 ml zfiltrovaného vzorku vody nebo menší množství vzorku doplněné destilovanou vodou na 100 ml. Přidají se 0,3 ml směšného indikátorového roztoku a po kapkách se přidává roztok kyseliny dusičné, až barva indikátoru přejde z modrozelené do žluté. Pak se přidá navíc 0,25 ml kyseliny dusičné, čímž je dosaženo pH titrovaného vzorku o hodnotě $2,5 \pm 0,1$. Následně se vzorek titruje odměrným roztokem dusičnanu rtuťnatého do změny zbarvení na fialové, dané vznikem červenofialového komplexu iontu Hg^{2+} s difenylkarbazonem.

Množství odměrného roztoku dusičnanu rtuťnatého, potřebného k vyvolání barevné změny se zjistí slepým stanovením se 100 ml redestilované vody.

Vzorky, jejichž pH je nižší než asi 3,8, odpovídající hodnotě pK bromfenolové modře, se po přidavku směšného indikátorového roztoku zbarví žlutě. Proto je třeba ke vzorku přidat roztok hydroxidu sodného až do vzniku barevné změny bromfenolové modře, tj. do změny barvy ze žluté do modrozelené. Až po této úpravě pH se pokračuje ve stanovení, tzn. přidá se roztok kyseliny dusičné do změny barvy bromfenolové modře z modrozelené do žluté, pak se přidá navíc 0,25 ml kyseliny dusičné a vzorek se titruje odměrným roztokem dusičnanu rtuťnatého.

6. Výpočet a vyjádřování výsledků

Látková koncentrace chloridů ve vzorku se vypočítá podle

$$c(\text{Cl}^-) = (V_e - V_s) f_t c[\text{Hg}(\text{NO}_3)_2] \cdot 10^3 / V_0$$

kde	$c(\text{Cl}^-)$	je látková koncentrace iontů Cl^- ve vzorku (mmol l^{-1}),
	V_e	spotřeba odměrného roztoku $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ při titraci vzorku (ml),
	V_s	spotřeba odměrného roztoku $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ při slepém stanovení (ml),
	V_0	původní objem vzorku při titraci (ml),
	$c[\text{Hg}(\text{NO}_3)_2]$	látková koncentrace odměrného roztoku $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ (mol l^{-1}),
	f_t	titrační přepočítávací faktor pro merkurimetrické stanovení chloridů, $f_t = 2$.

Hmotnostní koncentraci chloridů ve vzorku lze vypočítat ze vztahu

$$c_m(\text{Cl}^-) = c(\text{Cl}^-) A_{\text{Cl}}$$

kde

$c_m(\text{Cl}^-)$	je hmotnostní koncentrace chloridů ve vzorku (mg l^{-1}),
$c(\text{Cl}^-)$	látková koncentrace chloridů ve vzorku (mmol l^{-1}),
A_{Cl}	atomární hmotnost Cl ($35,453 \text{ g mol}^{-1}$).

Pro koncentrace chloridů (Cl^-) 1-10 mg l^{-1} se výsledky zaokrouhlují na 0,1 mg l^{-1} , 10-50 mg l^{-1} na 1 mg l^{-1} , 50-100 mg l^{-1} na 2 mg l^{-1} , 100-200 mg l^{-1} na 5 mg l^{-1} a 200-500 mg l^{-1} na 10 mg l^{-1} .

III. Použitá literatura

1. Horáková M., Lischke P., Grünwald A.: Chemické a fyzikální metody analýzy vod. SNTL Praha (1986).
2. Nollé L.M.L.: Handbook of water analysis. CRC Press, Taylor & Francis Group (2007).

Stanovení síranů ve vodách

I. Úvodní část

1. Výskyt síranů

Sírany se vyskytují téměř ve všech vodách, a to zejména ve formě aniontu SO_4^{2-} . V podzemních a povrchových vodách je jejich obsah v desítkách až stovkách mg l^{-1} , v minerálních a důlních vodách je obsah vyšší. Mezní hodnota pro pitné vody je $250 \text{ mg l}^{-1} \text{ SO}_4^{2-}$.

2. Metody stanovení

Ke stanovení síranů ve vodách se nejčastěji používají gravimetrické metody a metody titrační. Lze použít též metody spektrometrické, nefelometrické nebo elektrolytické. Gravimetrické stanovení je založeno na tvorbě málo rozpustné sraženiny síranu barnatého. Odměrné metody jsou založeny na reakci síranových iontů s Pb^{2+} nebo Ba^{2+} . Ke spektrofotometrickému stanovení lze využít reakci síranů s chromanem barnatým nebo thorinem. Používá se též reakce s chloranilanem barnatým. Metoda s thorinem je vhodná pro stanovení síranů ve vodách s malým obsahem rozpuštěných solí a lze stanovit obsah $1,5\text{-}15 \text{ mg l}^{-1}$. Sírany je možné stanovit vedle sulfidů, siřičitanů a thiosíranů spektrometricky v UV oblasti. Maxima absorpce byla pozorována při vlnových délkách 210 nm (SO_4^{2-}), 230 nm (S^{2-}), 220 nm ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) a 230 nm (SO_3^{2-}). Sraženina síranu barnatého může být za určitých podmínek udržována dostatečně dlouhou dobu ve vznosu, a tak může být použita k nefelometrickému stanovení. Naměřené hodnoty zcela neodpovídají Lambert-Beerovu zákonu, jsou však reprodukovatelné. Polarografické stanovení je založeno na reakci SO_4^{2-} se sraženinou chromanu barnatého a chromany uvolněné výměnnou reakcí se stanoví při $\text{pH } 9,7$ s hodnotou půlvlnového potenciálu $-0,36 \text{ V}$.

II. Titrační stanovení síranů dusičnanem olovnatým

1. Princip

Stanovení je založeno na reakci síranových iontů s ionty Pb^{2+} . Konec reakce, při níž vzniká málo rozpustná sraženina síranu olovnatého, je indikován barevnou změnou dithizonu, který reaguje s Pb^{2+} za vzniku fialově červeného chelátu. Indikátor mění barvu ze zelené do fialově červené. Rozpustnost sraženiny síranu olovnatého se snižuje přidávkem acetonu nebo ethanolu.

2. Použití

Metoda je vhodná pro vzorky s obsahem síranů nad 50 mg l^{-1} bez objemové úpravy vzorku.

3. Rušivé vlivy

Stanovení ruší všechny kationty s výjimkou alkalických kovů a iontů NH_4^+ , protože reagují s dithizonem. Součástí pracovního postupu je proto odstranění kationtů iontovou výměnou pomocí katexu.

4. Pomůcky

Kolona naplněná katexem v cyklu H^+ .

Překapávací skleněná trubice naplněná silně kyselým měničem kationtů s průměrem zrn 0,5 mm až 1,0 mm. Před naplněním kolony se katex nechá nabobtnat ve vodě nejméně 12 hod. Nabobtnalý katex se plní do kolony naplněné vodou.

Regenerace katexu se provádí promýváním naplněné kolony zředěnou kyselinou chlorovodíkovou (1,1 násobek objemu katexu v koloně). Následně se katex promývá destilovanou vodou dokud promývací voda obsahuje chloridy. Přítomnost chloridů se zkouší pomocí roztoku AgNO_3 . K 5 ml promývací vody se přidá $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$ do zřetelné kyselé reakce a 1 ml $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ AgNO}_3$. Pokud promývací voda chloridy neobsahuje, zůstane roztok čirý, pokud se zakalí pokračuje se v promývání.

Mikrobyreta.

5. Chemikálie

- Dusičnan olovnatý, odměrný roztok $c[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2] = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$. 3,312 g $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ p.a. sušeného při teplotě $180 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 2 hod se rozpustí v destilované vodě okyselené 4 ml kyseliny dusičné ($\rho = 1,4 \text{ g cm}^{-3}$) a touto vodou se doplní na 1000 ml. Koncentrace odměrného roztoku se stanoví titrací 10 ml standardního roztoku síranu sodného o koncentraci $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$ podle dále uvedeného postupu.
- Dithizon – indikátorová směs. Dithizon se smísí s kyselinou benzoovou v objemovém poměru 1 : 50 a směs se rozetře na jemný prášek.
- Ethanol (96% nebo 97%, v/v) nebo aceton. Ethanol lze nahradit ethanolen denaturovaným isopropanolem v objemovém poměru 9:1.
- Síran sodný, standardní roztok o koncentraci $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ Na}_2\text{SO}_4$. 1,4205 g Na_2SO_4 p.a. předem vysušeného při teplotě $200 \text{ }^\circ\text{C}$ se rozpustí v destilované vodě, převede se do odměrné baňky o objemu 1000 ml a doplní destilovanou vodou po značku.
- Kyselina chlorovodíková zředěná, k regeneraci katexu. Opatrně se smísí 14 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové ($\rho = 1,18 \text{ g cm}^{-3}$) s vodou a doplní na 100 ml.
- Dusičnan stříbrný, roztok $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ AgNO}_3$. 1,7 g AgNO_3 se rozpustí v 80 ml vody a roztok se doplní vodou na 100 ml. Roztok se uchovává v tmavé skleněné láhvi a je stálý, pokud je uchováván ve tmě.
- $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$

6. Postup

Vzorek vody se nechá prokapávat kolonou naplněnou měničem kationtů v cyklu H^+ . První podíl, asi 50 ml eluátu, se vylije. Zbytek se jímá do suché nádoby a použije k titraci. Z takto upraveného vzorku se odebere objem 10 až 20 ml s obsahem 1 až 20 mg SO_4^{2-} . Při koncentracích nižších se pipetuje objem vzorku úměrně vyšší a zkoncentruje se odpařením na 10 až 20 ml. K roztoku se přidá dvojnásobný objem ethanolu nebo acetonu a dithizon (indikátorová směs) do zřetelně zelené barvy, ale ne intenzivní. Roztok se titruje odměrným roztokem dusičnanu olovnatého za použití mikrobyrety ze zelené do fialově červené barvy. Titrovat je vhodné při denním světle, při umělém světle je ekvivalentní bod obtížně postřehnutelný.

7. Výpočet a vyjadřování výsledků

Látková koncentrace síranů se vypočítá podle vzorce

$$c(\text{SO}_4^{2-}) = (f_t V_e c[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2] \cdot 10^3) / V_0$$

kde

$c(\text{SO}_4^{2-})$ je látková koncentrace síranů (mmol l^{-1}),
 f_t titrační přepočítávací faktor, $f_t = 1$,

V_e spotřeba odměrného roztoku při titraci vzorku (ml),
 $c[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2]$ koncentrace odměrného roztoku (mol l^{-1}),
 V_0 původní objem titrovaného vzorku (ml).

Pro přepočítání na hmotnostní koncentraci platí

$$c_m(\text{SO}_4^{2-}) = c(\text{SO}_4^{2-}) M_{\text{SO}_4}$$

kde

$c_m(\text{SO}_4^{2-})$ je hmotnostní koncentrace síranů (mg l^{-1}),
 $c(\text{SO}_4^{2-})$ látková koncentrace síranů (mmol l^{-1}),
 M_{SO_4} molární hmotnost iontů SO_4^{2-} ($96,06 \text{ g mol}^{-1}$).

Výsledky vyjádřené v hmotnostní koncentraci se uvádějí nejvýše na tři platné číslice. Pro koncentrace síranů (SO_4^{2-}) 20-99 mg l^{-1} se výsledky zaokrouhlují na 0,1 mg l^{-1} , 100-200 mg l^{-1} na 1 mg l^{-1} .

III. Použitá literatura

1. Horáková M., Lischke P., Grünwald A.: Chemické a fyzikální metody analýzy vod. SNTL Praha (1986).
2. Chalupa M. a kol.: Metody rozboru pitné vody. MLVH ČSR Praha (1975).
3. Česká technická norma – Jakost vod – Stanovení rozpuštěných síranů – Odměrná metoda s dusičnanem olovnatým ČSN 75 7477 (2010).

Stanovení dusitanů ve vodách

I. Úvodní část

1. Výskyt dusitanů

Dusitany bývají obsaženy ve všech typech vod. Koncentrace dusitanů v podzemních a povrchových vodách je však zpravidla velmi malá (řádově setiny a desetiny mg l^{-1}), v odpadních splaškových vodách poměrně větší (řádově jednotky až desítky mg l^{-1}). Dusitany vznikají ve vodách zpravidla při biochemické redukci dusičnanů nebo při biochemické oxidaci amoniakálního dusíku. Z tohoto důvodu patří dusitany (podobně jako amoniakální N) mezi významné indikátory fekálního znečištění přírodních vod. Norma připouští maximálně $0,5 \text{ mg l}^{-1}$ dusitanů v pitné vodě. Indikátorovou hodnotu dusitany ztrácejí, jestliže jsou anorganického původu. Dusitany mohou totiž vznikat ve vodách i chemickou redukcí dusičnanů kovy, např. v podzemních vodách obsahujících Fe a Mn. Dusitany mohou ve vodách vznikat z dusičnanů také fotochemickou cestou. Proto je důležité posuzovat indikátorovou hodnotu dusitanů v pitné vodě komplexně. Dusitany jsou však samy o sobě v pitné vodě zdravotně závadné, protože způsobují methemoglobinemii.

2. Dusitany ve vodách

Stanovení dusitanů je nezbytnou součástí rozboru pitných vod. Stanovení dusitanů je součástí dusíkových bilancí. Dusitany jsou ve vodě velice nestálé, a proto je nutno vzorky analyzovat ihned po odběru nebo vzorky ochladit na teplotu 3 až 4 °C a stanovit co nejdříve (tj. v den odběru). Není-li to možné, je nutné vzorky vody konzervovat např. 3 ml CHCl_3 na 1 l vzorku.

3. Stanovení dusitanů

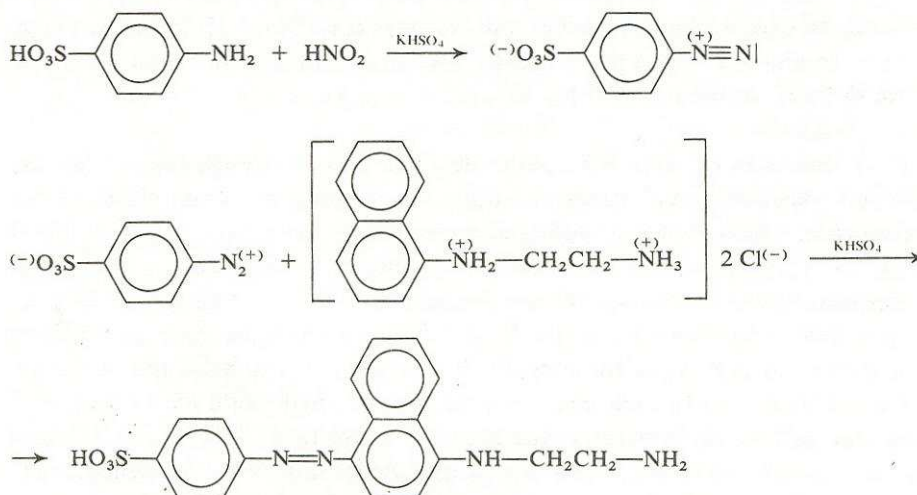
Metody stanovení dusitanů ve vodách využívají schopnosti kyseliny dusité diazotovat aromatické aminokyseliny. Vznikající diazoniové soli jsou kopulovány s jiným arylaminem za vzniku azobarviva, které je vhodné pro spektrofotometrické stanovení. Již v roce 1889 Griesse a Hosvaye navrhli metodu kdy je diazotována kyselina sulfanilová a vzniklá diazoniová sůl kopulována α -naftylaminem. Obě reakce probíhají v prostředí kyseliny octové. Protože bylo zjištěno, že průběh obou reakcí je silně závislý na reakční době, na pH prostředí a na druhu kyseliny použité k okyselení vzorku, vzniklo mnoho modifikací této metody. Nejlepších výsledků bylo dosaženo modifikací kdy kyselina sulfanilová je diazotována v prostředí kyseliny chlorovodíkové a diazoniová sůl je kopulována α -naftylaminem v prostředí upraveném octanovým tlumičem na hodnotu pH 2 až 2,5. Avšak α -naftylamin byl v roce 1966 označen jako karcinogenní látka, a proto jsou doporučovány modifikace s náhradou jiným nekarcinogenním arylaminem, např. 1-naftylamin-7-sulfonovou kyselinou a N-(1-naftyl)-ethylendiamidihydrochloridem. Právě druhý způsob je nejrozšířenější. I ten má však více modifikací a k diazotaci je používána buď kyselina sulfanilová nebo sulfonamid. Sulfonamid byl navržen pro větší čistotu komerčních preparátů, větší stabilitu roztoků a větší reakční rychlost jeho diazoniové soli při kopulační reakci. Modifikace jsou založeny také na rozdílném prostředí pro diazotaci a kopulaci, např. v prostředí hydrogensíranu draselného, kyseliny chlorovodíkové nebo fosforečné.

II. Metoda stanovení dusitanů se sulfanilovou kyselinou a N-(1-naftyl)-ethylendiamin-dihydrochloridem absorpční spektrofotometrií

1. Princip metody

Sulfanilová kyselina je diazotována v prostředí hydrogensíranu draselného kyselinou dusitou (z dusitanů ve vzorku) na diazoniovou sůl. Vniklá diazoniová sůl je kopulována s N-(1-naftyl)-ethylendiamindihydrochloridem na červené azobarvivo. Intenzita vzniklého zbarvení je úměrná koncentraci dusitanů ve vzorku.

Během stanovení probíhají tyto chemické reakce:



2. Oblast použití

Metodu je možné použít pro stanovení dusitanů ve všech typech vod. Bez ředění vzorku lze stanovit dusitany o koncentraci NO₂⁻ 0,05 až 0,5 mg l⁻¹.

3. Rušivé vlivy

Stanovení ruší nerozpuštěné látky, barva, zákal, silná oxidační a redukční činidla, Fe. Pokud se neodstraní zákal či barva filtrací ani odstředěním, je nutno vzorek čířit suspenzí hydroxidu hlinitého. K 100 ml vzorku vody se přidá 5 ml suspenze hydroxidu hlinitého, směs se promíchá, nechá usadit a čirý roztok se opatrně zfiltruje. První podíl filtrátu se vylije. Ke stanovení dusitanů se použije část filtrátu a výsledek se koriguje podle zředění vzorku přídatkem suspenze.

4. Přístroje a pomůcky

- Spektrometr

5. Chemikálie

- Destilovaná voda bez obsahu dusitanů a mědi. Destilovaná i deionizovaná voda často obsahuje stopy iontů NO₂⁻. Proto se pro velmi přesná stanovení doporučuje používat destilovanou vodu, která je zbavena stop NO₂⁻ redestilací destilované vody s přídatkem manganistanu draselného, a to buď z alkalického prostředí, nebo z kyselého prostředí. Na každý 1 l destilované vody se přidá asi 0,3 ml zásobního roztoku manganistanu draselného (připraveného pro stanovení CHSK_{Mn}) a 1 ml koncentrované kyseliny sírové (ρ = 1,84 g cm⁻³). Takto připravený roztok pro destilaci musí být růžový. Redestiluje se v celoskleněné pyrexové aparatuře a prvních 50 ml destilátu se vylije. Jímají se další frakce, které nemají obsahovat ani stopu manganistanu. Jeho přítomnost v destilátu lze zjistit reakcí

s o-tolidinovým činidlem (žluté zbarvení). Touto redestilací se voda zbaví také mědi. Ionty mědi katalyzují rozklad diazoniové soli.

- Sulfanilová kyselina, roztok. 3,46 g kyseliny sulfanilové a 27,2 g KHSO_4 se rozpustí v destilované vodě a touto vodou se doplní na 1 l.
- N-(1-naftyl)-ethylendiamindihydrochlorid, kopulační roztok. 0,040 g N-(1-naftyl)-ethylendiamindihydrochloridu se rozpustí ve 100 ml destilované vody. Roztok se uchovává v tmavé láhvi a ve tmě. Potom je stálý asi 1 měsíc.
- Dusitan sodný, standardní zásobní roztok o koncentraci $c_m(\text{NO}_2^-) \approx 100 \text{ mg l}^{-1}$. 0,15 g NaNO_2 předem vysušeného při teplotě 105°C se rozpustí v destilované vodě a touto vodou se doplní na 1 l. Přesný obsah iontů NO_2^- se stanoví nepřímo ze spotřeby manganistanu draselného na oxidaci dusitanu v kyselém prostředí. Do jodační baňky se k 50,0 ml $0,002 \text{ mol l}^{-1} \text{ KMnO}_4$ přidá 5 ml kyseliny sírové ($\rho = 1,84 \text{ g cm}^{-3}$) zředěné v objemovém poměru 1 : 1. Pak se přidá 100 ml zásobního roztoku dusitanu tak, že špička pipety sahá pod hladinu roztoku manganistanu. Směs se zamíchá a po 10 minutách se přidají asi 2 g tuhého KI. Jodační baňku je třeba zazátkovat. Roztok je pak nutno míchat, až se krystalky jodidu rozpustí. Přidá se škrobový maz a titruje se odměrným roztokem $0,01 \text{ mol l}^{-1} \text{ Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ do odbarvení. Slepé stanovení se provede stejným způsobem, jen místo roztoku dusitanu se přidá 100 ml destilované vody. 1 ml použitého roztoku thiosíranu sodného odpovídá 0,23 mg NO_2^- .

Skutečná koncentrace dusitanu ve standardním zásobním roztoku se vypočítá podle

$$c(\text{NO}_2^-) = [(V_s - V_e) f_t c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) M_{\text{NO}_2} 10^3] / V_0$$

kde $c(\text{NO}_2^-)$ je hmotnostní koncentrace iontů NO_2^- ve standardním zásobním roztoku v mg l^{-1} ,

V_s spotřeba odměrného roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ při titraci slepého stanovení v ml,

V_e spotřeba odměrného roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ při titraci 100 ml standardního zásobního roztoku dusitanu v ml,

f_t titrační přepočítávací faktor pro titrační stanovení NO_2^- , $f_t=1/2$,

$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)$ látková koncentrace odměrného titračního roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ v mol l^{-1} ,

M_{NO_2} molární hmotnost iontů NO_2^- (g mol^{-1}), $M_{\text{NO}_2} = 46 \text{ g mol}^{-1}$,

V_0 objem standardního zásobního roztoku dusitanu odebraný pro stanovení v ml, $V_0 = 100 \text{ ml}$.

Standardní zásobní roztok dusitanu je nestálý, proto se doporučuje konzervace, a to přidávkem chloroformu (1 ml na 1 l roztoku). Chloroform je nutno přidat až po stanovení skutečné koncentrace (titru) iontu NO_2^- . Konzervovaný roztok uchovávaný v chladu je stálý asi 1 měsíc.

Pracovní standardní roztoky dusitanu se připravují vždy čerstvé těsně před použitím.

- Manganistan draselný, odměrný roztok o koncentraci $c(\text{KMnO}_4) = 0,002 \text{ mol l}^{-1}$.
- Thiosíran sodný, odměrný roztok o koncentraci $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,01 \text{ mol l}^{-1}$.
- Hydroxid hlinitý, suspenze ve vodě. 125 g $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{ H}_2\text{O}$ nebo $\text{NH}_4\text{Al}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{ H}_2\text{O}$ se rozpustí v 1 l destilované vody, roztok se zahřeje na teplotu 60°C a za míchání se pomalu přidává 55 ml koncentrovaného roztoku amoniaku ($\rho = 0,91 \text{ g cm}^{-3}$). Sraženina se promývá dekantací destilovanou vodou, dokud nevymizí reakce na volný amoniak. Čerstvě připravená suspenze hydrolyzátů hlinitých solí zaujímá objem asi 1 l.

6. Kalibrační závislost

Připraví se kalibrační roztoky o koncentracích iontů NO_2^- 0,05 až $0,6 \text{ mg l}^{-1}$ a zpracují se dále uvedeným postupem. Roztoky se proměřují při vlnové délce $\lambda = 540 \text{ nm}$. Naměřené hodnoty absorpance se po odečtení hodnoty slepého stanovení vynesou do kalibračního grafu proti koncentraci iontů NO_2^- v mg l^{-1} .

7. Postup stanovení

K 25 ml čirého vzorku o koncentraci $c(\text{NO}_2^-) \leq 0,6 \text{ mg l}^{-1}$ se v odměrné baňce o objemu 50 ml přidá 2,5 ml roztoku kyseliny sulfanilové, směs se promíchá a nechá stát po dobu 10 min. Pak se přidá 2,5 ml kopulačního činidla, roztok se promíchá a nechá stát dalších 20 min. Po této době se doplní vodou po rysku, promíchá a měří se absorbance při vlnové délce $\lambda = 540 \text{ nm}$. Zbarvení je stálé nejméně 24 hodin. Stejným způsobem se měří absorbance slepého stanovení s destilovanou vodou.

8. Výpočet výsledků a jejich vyjadřování

Hmotnostní koncentrace iontů NO_2^- v mg l^{-1} ve vzorku se určí ve vzorku z kalibrační křivky s přihlédnutím k ředění vzorku před stanovením.

Pro koncentrace dusitanů (NO_2^-) 0,02-0,05 mg l^{-1} se výsledky zaokrouhlují na 0,002 mg l^{-1} , 0,05-0,1 mg l^{-1} na 0,005 mg l^{-1} , 0,1-0,2 mg l^{-1} na 0,01 mg l^{-1} , 0,2-0,5 mg l^{-1} na 0,02 mg l^{-1} a 0,5-1,0 mg l^{-1} na 0,05 mg l^{-1} .

III. Použitá literatura

1. Horáková M., Lischke P., Grünwald A.: Chemické a fyzikální metody analýzy vod. SNTL Praha (1986).

Stanovení fluoridů ve vodách

I. Úvodní část

1. Výskyt fluoridů

Fluoridy se dostávají do vody zvětráním nerostů a vyluhováním z půdy. Vyskytují se téměř ve všech povrchových i podzemních vodách. Jejich obsah však bývá malý, nepřevyšuje 1 mg l^{-1} . Koncentrace fluoridu ve vodách je limitována rozpustností fluoridu vápenatého a hořečnatého. Jelikož se fluorid vápenatý ve vodě rozpouští méně než fluorid hořečnatý, závisí rovnovážná koncentrace fluoridů ve vodě zejména na obsahu vápníku.

Vyšší obsah fluoridů lze nalézt ve vodách znečištěných odpadními vodami ze sklářského nebo chemického průmyslu, příp. důlními vodami. U pitných vod má obsah fluoridů velký význam zejména ze stomatologického hlediska. Za optimální je považována koncentrace $1,0 \text{ mg l}^{-1} \text{ F}^-$. Nejvyšší mezní hodnota je $1,5 \text{ mg l}^{-1} \text{ F}^-$.

2. Stanovení fluoridů

Ke stanovení fluoridů ve vodách se nejčastěji používají metody spektrofotometrické a potenciometrické. Spektrofotometricky lze stanovit fluoridy např. po reakci se zirkonalizarinem, zirkoneriochromcyaninem, lanthanalizarinkomplexonem, ceralizarinkomplexonem, fenylazo-dihydroxynaftalensulfonanem sodným a zirkonoxichloridem, xylenolovou oranží a zirkonoxichloridem, zirkon-solochromcyaninem, aj. Fluorimetrická metoda využívá zirkon-kvercetinového komplexu. Fluoridy lze stanovit také odměrně, např. titrací dusičnanem thoričitým na indikátor alizarinsulfonan.

Stále častěji se využívá potenciometrické stanovení fluoridů pomocí iontově selektivní elektrody.

II. Stanovení fluoridů absorpční spektrofotometrií po reakci se zirkonalizarinem

1. Princip metody

Při reakci fluoridů se zirkoničitými ionty vzniká bezbarvý komplexní fluorid, jehož stálost je větší než stálost barevného komplexu - červeného laku zirkoničitých iontů s alizarinem. Uvolnění ekvivalentního množství alizarinu z komplexu se projeví změnou zbarvení. Úbytek intenzity zbarvení červeného laku vlivem přítomnosti fluoridů odpovídá jejich koncentraci.

2. Oblast použití

Metodu lze použít ke stanovení fluoridů v pitných a povrchových vodách v koncentracích od $0,05$ do $2,5 \text{ mg l}^{-1}$.

3. Rušivé vlivy

Stanovení je rušeno látkami, které reagují s reakčním činidlem nebo tvoří komplexní fluorid. Při stanovení $1 \text{ mg l}^{-1} \text{ F}^-$ působí negativní chybu $-0,1 \text{ mg l}^{-1}$ přítomnost $1800 \text{ mg l}^{-1} \text{ Cl}^-$, $0,2 \text{ mg l}^{-1} \text{ Al}^{3+}$, $5 \text{ mg l}^{-1} \text{ Fe}^{3+}$ nebo $0,2 \text{ mg l}^{-1} \text{ Ag}^+$. Pozitivní chybu $+0,1 \text{ mg l}^{-1}$ způsobuje přítomnost $400 \text{ mg l}^{-1} \text{ SO}_4^{2-}$, $5 \text{ mg l}^{-1} \text{ PO}_4^{3-}$, příp. $1,1 \text{ mg l}^{-1}$ polyfosforečnanů. Rušivý vliv se odstraní přidáním příslušné rušivé látky k řadě pracovních roztoků pro přípravu kalibrační křivky.

Stanovení ruší $\text{KNK}_{4,5}$ nad 1 mmol l^{-1} a k odstranění se používá ekvivalentní množství kyseliny chlorovodíkové. Při stanovení působí rušivě též chlor. K jeho odstranění se přidává ke vzorku $0,05 \text{ ml}$ $0,5\%$ roztoku arsenitanu sodného.

4. Přístroj a pomůcky

- spektrofotometr, vlnová délka 520 až 550 nm, kyvety. K zjištění optimální vlnové délky je vhodné proměřit absorpční spektrum pro roztok s nejvyšší koncentrací F^- (proti destilované vodě). Měření vzorků a kalibračních roztoků pak provádět pro vlnovou délku s nejvyšší změřenou hodnotou absorbance.

5. Chemikálie

- Alizarinová červeň S, roztok. 0,75 alizarinové červeně S se rozpustí v destilované vodě a touto vodou doplní na 1 l.
- Dichlorid-oxid zirkoničitý, roztok. 0,354 $ZrOCl_2 \cdot 8H_2O$ se rozpustí v 600 až 800 ml destilované vody, přidá se 33,3 ml kyseliny sírové ($\rho = 1,84 \text{ g cm}^{-3}$) a směs se promíchá. K roztoku se přidá 100 ml kyseliny chlorovodíkové ($\rho = 1,19 \text{ g cm}^{-3}$) a směs se opět promíchá. Po ochlazení se roztok převede do odměrné baňky a její obsah se doplní destilovanou vodou na 1 l. Roztok lze používat po 1 h stání. Uchovává se v tmavé láhvi.
- Fluorid sodný
Zásobní roztok. 1 ml roztoku odpovídá 0,1 mg F^- . 0,221 g NaF p.a. vysušeného při teplotě 105 °C se rozpustí v destilované vodě a doplní na 1 l.
Pracovní roztok. 1 ml roztoku odpovídá 0,01 mg F^- . 100 ml zásobního roztoku se doplní destilovanou vodou na 1 l. Přípravuje se vždy čerstvý roztok.
Kalibrační roztoky se připraví v koncentracích: 0; 0,05; 0,15; 0,25; 0,50; 1,0; 1,5; 2,5 mg l^{-1} F^- .

6. Postup

Do Erlenmeyerovy baňky se odměří 100 ml čirého vzorku s obsahem do 2,5 mg l^{-1} F^- , přidá se 5 ml roztoku alizarinové červeně S a 5 ml roztoku dichlorid-oxidu zirkoničitého. Po dokonalém promíchání se směs nechá stát po dobu 60 min při 20 °C. Pak se měří absorbance při optimální vlnové délce (z rozsahu 520-550 nm).

7. Výpočet a vyjadřování výsledků

Změřené absorbance se vynesou do grafu proti koncentraci kalibračních roztoků uvedené v mg l^{-1} . Hmotnostní koncentrace fluoridů se vypočítá z hodnoty odečtené z kalibrační křivky s přihlédnutím k objemu vzorku použitého ke stanovení.

Pro koncentrace fluoridů (F^-) 0,05-0,2 mg l^{-1} se výsledky zaokrouhlují na 0,01 mg l^{-1} , 0,2-0,5 mg l^{-1} na 0,02 mg l^{-1} , 0,5-1,0 mg l^{-1} na 0,05 mg l^{-1} a 1,0-2,5 mg l^{-1} na 0,1 mg l^{-1} .

III. Použitá literatura

1. Horáková M., Lischke P., Grünwald A.: Chemické a fyzikální metody analýzy vod. SNTL Praha (1986).
2. Chalupa M. a kol.: Metody rozboru pitné vody. MLVH ČSR Praha (1975).
3. Noll L.M.L.: Handbook of water analysis. CRC Press, Taylor & Francis Group (2007).

Stanovení arsenu ve vodách

I. Úvodní část

1. Výskyt arsenu

Arsen se vyskytuje v atmosféře, v půdě, vodě, flóře, v tkáních lidského i zvířecího organismu [1]. Může existovat v reálných vzorcích v různých formách, které vykazují různou mobilitu, dostupnost a toxicitu v životním prostředí nebo biologickém systému. Sloučeniny arsenu jsou nakloněny k různým transformacím, jako methylace, demethylace, oxidace, redukce, hydrolýza a reakce se sloučeninami síry. Tyto efekty mohou vést ke změnám forem i po odebrání vzorku. Toxické působení různých forem arsenu je dáno v pořadí As (III) > As (V) > monomethylarsonát (MMA) > dimethylarsinát (DMA) > arsenobetain (AsB) > další organické sloučeniny arsenu. Sloučeniny arsenu se ukládají v játrech a ledvinách, charakteristická je také jejich akumulace ve vlasech, nehtech a kůži. Mohou přestoupit i přes placentu, kde způsobují poškození plodu. Zasahují též nervový systém. Arsen bývá také označován jako protoplazmatický jed, protože může pronikat buněčnými membránami do protoplazmatického prostoru a hluboce postihovat živou hmotu. Je klasifikován i jako kapilární jed, protože způsobuje propustnost stěn krevních kapilár. Nejtoxičtější arsenitany i arseničnany mohou mít při dlouhodobé expozici karcinogenní charakter (rakovina kůže a plic). Akutní otravy jsou spojeny s bolestmi hlavy a někdy i zažívacími potížemi, které mohou vyústit v selhání krevního oběhu a smrt. Chronické otravy způsobují záněty kůže, trvalé zažívací potíže a poškození nervového systému [2].

Zdroje kontaminace půd i vod mohou být různé: arsenové pesticidy a herbicidy, tavení kovových rud, dřevařská konzervační činidla, aditiva do skla nebo léčiva pro veterinární medicínu. Přítomnost arsenu ve vodě povrchové, podzemní i mořské je spojena především s geochemickým prostředím. Arsen tvoří součást jezerních nánosů, sopečných ložisek, geotermálních pramenů a odpadů z těžby fosilních paliv.

2. Arsen ve vodách

Většina environmentálních vod obsahuje As v nízkých hladinách. Koncentrace $\mu\text{g l}^{-1}$ a sub- $\mu\text{g l}^{-1}$ jsou v pitných vodách a vodách oceánů. Podle vyhlášky MZČR č. 252/2004 Sb. je nejvyšší mezní hodnota arsenu v pitné vodě $10 \mu\text{g l}^{-1}$. Avšak mnohem vyšší hladiny As ($> 0,1 \mu\text{g ml}^{-1}$) mohou být nalezeny v geotermálních vodách a odpadních vodách. Minoritní frakce MMA a DMA se vyskytují v mořských vodách v koncentracích sub- $\mu\text{g l}^{-1}$.

Protože se arsen v přírodních vodách vyskytuje především v anionické formě, ztráty komplexací s huminovými látkami nebo sorpcí na stěnách nejsou kritické. Uchovávání vzorků vod bez ztrát As pro stanovení celkového obsahu je možné po více měsíců jak ve skleněných, tak v plastových lahvích. Problematické je konzervování vzorků, když se stanovují jednotlivé formy arsenu.

Vážným problémem jsou suspendované částice, protože část As může být adsorbována na hydratovaných oxidech Fe a Mn, např. v říčních vodách a vodách v ústích řek, nebo přítomna v organicky vázaných formách v planktonu, řasách a dispergovaných částicích sedimentu. Tudíž vyšší výsledky pro As mohou být získány při analýze nefiltrovaných okyselených vzorků, což je způsobeno vyluhováním As sloučenin z dispergovaných částic po okyselení. Ačkoliv změny forem a celkového obsahu As v odebraném vzorku nejsou okamžité, někteří autoři doporučují filtraci ihned po odebrání vzorku, rozhodně před jeho okyselením. Frakce částic ($> 0,45 \mu\text{m}$) je vhodné pak analyzovat zvlášť po rozkladu [3].

Termodynamicky stabilní formy anorganického arsenu ve vodách bohatých kyslíkem jsou HAsO_4^{2-} (mořská voda) a H_2AsO_4^- (sladké vody), tedy As (V), zatímco u kyslíkem chudých

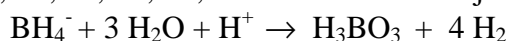
vod je rovnováha posunuta k As (III). U vzorků přírodních sladkých i mořských vod byla při uchovávání v polyethylenových lahvích bez přídavku konzervačního činidla pozorována pomalá oxidace As (III), která při 20 °C probíhala rychleji než při ochlazení. Zatímco přídavek kyseliny na pH =2 v čerstvých vodách oxidaci As (III) téměř úplně omezuje, As (III) v mořské vodě se nezávisle na teplotě ve 3 dnech plně oxiduje na As (V). Skladování mořské vody pro stanovení poměru koncentrací forem As (III) / As (V) se proto nedoporučuje. Stanovení z nekonzervovaného vzorku musí být provedena do jednoho dne. Jiné přírodní vody (říční, pozemní, pitné, spodní) mohou být při okyselení na pH 2 bez změny poměru koncentrací těchto forem uchovávány až 100 dní. Při zamezení přístupu kyslíku mohou být vzorky filtrovaných vod uchovávány v chladu při 4 °C bez dalších přídavků. Methylované formy arsenu ve filtrovaných, okyselených vzorcích vod jsou relativně stabilní. Pro vyvarování se problémů při stanovení forem arsenu je nejlépe provádět stanovení do několika hodin od odběru vzorků [1].

3. Stanovení AAS

Hlavní rezonanční čára arsenu je 193,7 nm. Protože v této oblasti citlivost detektoru klesá a ztráty záření na optických prvcích rostou, závisí pro tento prvek poměr signál/šum silně na jakosti spektrometru. Důležitý vliv má také zdroj záření, přičemž bezelektrodová výbojka podává lepší výsledky. Rezonanční čára 193,7 nm je izolována ve spektrálním intervalu 0,7-1 nm. Rozšířený rozsah a lineárnější kalibrační křivka může být získána při 197,2 nm, ale s 1,5x nižší citlivostí. Arsen se výhodně stanovuje AAS s hydridovou technikou (HGAAS) [1].

4. Hydridová technika v AAS

Pro stanovení AAS je třeba analyt přeměnit na těkavý hydrid. Potom následuje jeho uvolnění ze vzorku, vedení do atomizátoru a atomizace. Hydridy se tvoří redukcí analytu tetrahydridoboritanem sodným (NaBH₄). Redukční činidlo se přidává ve formě pelet nebo roztoku v 0,1-1 mol l⁻¹ NaOH, příp. KOH. Hydroxid se přidává ke stabilizaci roztoku činidla. Účinnost tvorby hydridů je téměř 100%. Přeměnu na těkavé hydridy lze využít u As, Bi, Ge, Pb, Sb, Se, Sn, Te, In a Tl. Reakce lze zjednodušeně popsat:



Generátory hydridů lze rozdělit na dávkové, průtokové kontinuální a FIA generátory. V dávkovém generátoru - reakční nádoba dochází ke smíchání vzorku upraveného kyselinou s tetrahydridoboritanem. Vytvořené hydridy a vodík jsou odváděny nosným plynem. V kontinuálních generátorech dochází ke smíchání toku vzorku, toku NaBH₄ a nosného plynu v kapilárách. Oddělení plynu nastává v separátoru fází. U FIA generátorů je diskrétní objem vzorku dávkován pomocí dávkovacího ventilu do toku nosné kapaliny, nejčastěji HCl. Promíchání zóny vzorku s HCl probíhá v kapiláře, smíchání s NaBH₄ a argonem ve směšovací jednotce. Atomizace hydridů může probíhat v difúzním plameni Ar(N₂)-H₂, v elektrotermickém atomizátoru, v plamínku uvnitř křemenné trubice a ve vyhřívané křemenné trubici.

5. Atomizátor

Nejčastěji používané hydridové atomizátory jsou křemenné trubice (QTA). Jsou to T trubice s horizontálním ramenem v optické ose (optická trubice). Prostřední ramínko T trubice slouží pro vedení hydridu tokem plynu z generátoru. Podle vedení kyslíku pro optimální podmínky se rozdělují QTA do dvou typů – plamínek v trubici a externě vyhřívaná křemenná trubice [4,5]. Vyhřívaná trubice je velice populární, protože je dodávána komerčně.

Atomizátor s plamínkem uvnitř trubice používá kapiláru umístěnou do vstupního ramene T trubice k vedení malého toku kyslíku na podporu palivově bohatého $H_2 - O_2$ difuzního mikroplamene. Tento plamínek je neviditelný a hoří na konci kapiláry. Nevyžaduje se externí ohřev. Avšak nosný plyn musí obsahovat velké množství vodíku k podpoře mikroplamínku. V něm jsou H radikály tvořeny reakcí mezi kyslíkem a vodíkem, přičemž tvorba mraku H radikálů je omezena na malý objem na konci kapiláry.

Vyhřívaná trubice využívá buď elektrický odporový ohřev nebo ohřev plamenem $C_2H_2 -$ vzduch. Zahřívá se optická trubice atomizátoru na teplotu 700 – 1100 °C. Nosný plyn je argon nebo dusík. Pro atomizaci hydridů je vyžadováno malé množství vodíku. Ten je přítomen vzhledem k rozkladu $NaBH_4$ použitého pro generování hydridů. Vyhřívaný QTA nepotřebuje speciální trubici pro vedení kyslíku, ale určitý obsah kyslíku je nezbytný pro dosažení optimální citlivosti. Poptávka po kyslíku je pokryta stopami kyslíku přítomného v roztoku vzorku, v roztoku činidla a plynech. Na začátku horké zóny atomizátoru je mrak radikálů tvořen analogicky jako u plamínku v trubici. Pozice mraku je kontrolována teplotním profilem v atomizátoru, průtokem nosného plynu a tvarem atomizátoru. Mrak vyplňuje pouze malý objem atomizátoru.

V obou typech je hydrid za optimálních podmínek plně atomizován v mraku reakcí s extrémně energetickými H radikály. Vytvořené volné atomy analytu jsou pak transportovány dále do optické trubice. Existují dvě cesty, které vedou k odstranění atomů analytu z optické trubice. Jedna je mechanicky, prouděním pomocí toku plynu. Druhá cesta jsou chemické reakce. Protože volné atomy analytu nemohou z termodynamického hlediska existovat vně mraku radikálů, začínají zanikat bezprostředně po opuštění mraku. Ačkoliv přesný mechanismus zániku atomů není jasný, je dokázáno, že je kriticky ovlivněn stavem vnitřního povrchu atomizátoru a že produkty jsou odstraněny z optické osy tokem nosného plynu [4-6].

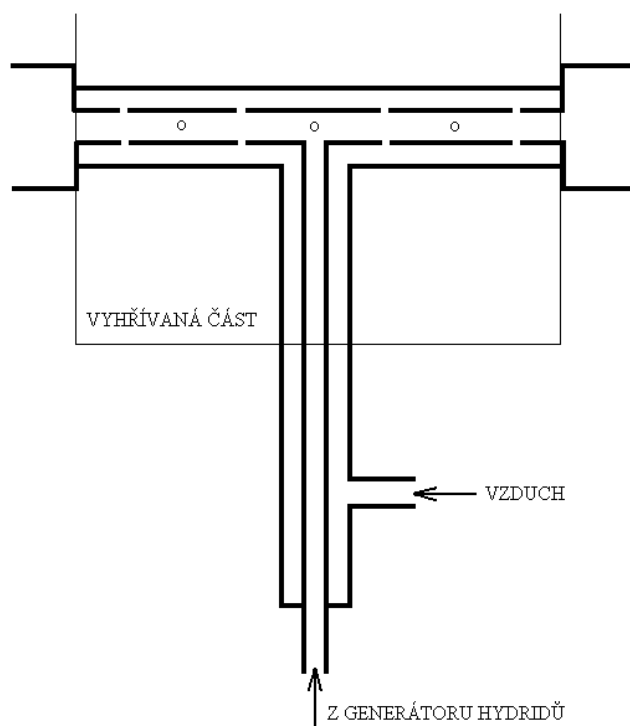
QTA poskytuje dlouhou dobu pobytu volných atomů v optické ose a následně velmi vysokou citlivost. Navíc pozadí je nízké, takže limit detekce je velmi dobrý. Avšak jsou zde také nedostatky jako nízká odolnost k atomizačním interferencím, nedostatečná linearita kalibračních závislostí a nízká dlouhodobá stabilita citlivosti. Poslední je vázáno na změny vnitřního povrchu atomizátoru. Příčinou je, že získaná citlivost je kontrolována reakcemi volných atomů na povrchu a ty jsou dány kvalitou tohoto povrchu atomizátoru [4,6].

Zdroj všech potíží v QTA je, že volné atomy po opuštění H radikálového mraku, podléhají chemickým reakcím. V důsledku toho, všechny nedostatky QTA mohou být eliminovány, když se analyt udržuje ve stavu volných atomů. Této situace se dosáhne návratem atomizace zaniklých atomů. Reatomizace jedinou zaniklých atomů analytu v optické trubici QTA však je nemožná. Pouze produkty reakcí mohou být reatomizovány v přídavném mraku H radikálů. Mrak radikálů může být tvořen pouze v jiném plameni nebo vedením přídavného kyslíku do optické trubice. Tyto dvě možnosti jsou vlastně analogické. Příčinou je, že vedením kyslíku do horké části atomizátoru (předpokládajíc malou frakci přítomného vodíku) se vytvoří mikroplamen. Právě to je principem nového atomizátoru hydridů – mikroplamenového křemenného multiatomizátoru [6].

6. Mikroplamenový křemenný multiatomizátor

Multiatomizátor je uspořádán tak, aby umožňoval vícenásobný vstup vzduchu do externě vyhřívaného horizontálního ramene atomizátoru a zároveň se maximálně podobal konvenčnímu křemennému atomizátoru [6]. Střední část horizontálního ramene se skládá ze dvou koncentrických trubic. Vnitřní trubice má ve stěně podél celé délky malé otvory. Vnější koncentrická trubice horizontálního ramene je bez otvorů. Dutina mezi oběma horizontálními koncentrickými trubicemi slouží pro přívod vzduchu, který vstupuje otvory do vnitřní trubice. Vnější část horizontálního ramene je identická s ramenem konvenčního křemenného

atomizátoru. Také vstupní rameno ve tvaru T je složeno ze dvou koncentrických trubic. Hydridy nesené nosným plynem a vodíkem (z generátoru hydridů) vstupují do optické trubice přes vnitřní trubici vstupním ramenem analogicky jako u konvenčních atomizátorů. Vzduch je zaváděn do horizontální dutiny mezi vnitřní a vnější trubicí vstupního ramene. Průtok vzduchu je ovládán přes vzduchové čerpadlo. Ve skutečnosti jediný rozdíl mezi multiatomizátorem a konvenčním atomizátorem spočívá ve dvojitém uspořádání stěn v centrální části horizontálního ramene, v otvorech ve vnitřní koncentrické trubicí a dvojitým uspořádání stěn vstupního ramene. Délka a vnitřní průměr horizontálního ramene a stejně tak vstupního ramene je u obou typů atomizátorů shodná [6].

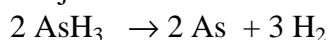


Obr. 1. Mikroplamenový křemenný multiatomizátor (schéma).

Účinnost atomizátoru je srovnatelná s konvenčními atomizátory. Mezi nejdůležitější rysy patří potlačení interferencí a nižší zakřivení kalibračních křivek. Srovnatelná je také citlivost a poměr signálu k šumu. Významný rozdíl mezi multiatomizátorem a konvenčním atomizátorem je v odolnosti proti interferencím. Nízká odolnost konvenčních atomizátorů proti interferencím při atomizaci hydridů je dobře známa. Interference při hydridové technice AAS jsou zapříčiněny v důsledku přítomnosti dalších prvků tvořících hydridy. Škála interferencí je velice široká a vliv rozdílných experimentálních podmínek je různý a liší se jak pro jednotlivé analyty, tak pro interferenty. Může to být přičítáno zejména rozdílům v designu a rozměrech atomizátoru, v atomizační teplotě, v procesu generování hydridů a v průtoku nosného plynu. Multiatomizátor vykazuje podstatně lepší toleranci vůči interferencím [6].

7. Atomizace ve vyhříváné křemenné trubicí

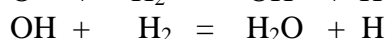
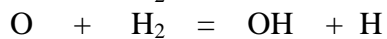
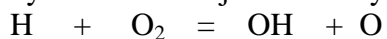
Mechanismus jednoduché termické disociace



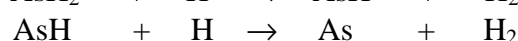
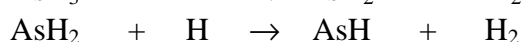
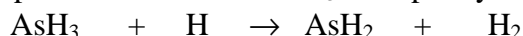
je z několika příčin nepravděpodobný. K dosažení optimální citlivosti s křemennou trubicí je dostačující teplota 800-900 °C, zatímco v grafitové trubicí při ETAAS je potřeba 2200-2600 °C. Přimíchání nepatrného množství vzduchu nebo kyslíku k nosnému plynu má značný vliv

na citlivost stanovení a umožňuje úplnou atomizaci již při teplotách okolo 700 °C. Výrazný vliv na atomizační signál má povrch křemene [1].

Při 900 °C bez přítomnosti vodíku se ze samotného AsH₃ žádné atomy As netvoří. K atomizaci v křemenné trubici je vedle vodíku potřeba také nepatrné množství kyslíku, přičemž jeho potřeba při nižších teplotách je větší. Za normálních analytických podmínek může potřeba kyslíku od rozpuštěného vzduchu v měřeném roztoku být uspokojivá. Reakcí vodíku s kyslíkem vznikají H-radikály



a ty se podílí na atomizaci AsH₃ třístupňovým mechanismem



V křemenné trubici se tedy reakcí kyslíku s vodíkem tvoří ve vyhřívané zóně mrak H radikálů. Pozice tohoto mraku je určena teplotním profilem uvnitř atomizátoru, průtokem a složením nosného plynu a konstrukcí atomizátoru. Vlastní funkcí ohřevu trubice je nastartovat reakci mezi kyslíkem a vodíkem a udržovat ji. Trvá však synergický efekt mezi přívodem kyslíku a teplotou na citlivost v teplotním rozsahu 600-1000 °C. Čím vyšší je teplota, tím nižší je potřeba kyslíku pro optimální citlivost [1].

Počet H radikálů je hlavně určen přívodem kyslíku do atomizátoru. Pro účinnou atomizaci není rozhodující počet H radikálů nýbrž příčná hustota mraku radikálů. Proto je spotřeba kyslíku určena průměrem té části atomizátoru, kde se mrak nachází. Proudění plynu je takové, že se mrak radikálů nachází v přívodní části atomizátoru a tato přívodní část musí mít co nejmenší vnitřní průměr.

Rychlost dalších reakcí atomů analytu závisí na kontaktu volných atomů s povrchem křemene, tzn. na průtoku plynu a reaktivitě povrchu. Zatímco ve velké části atomizátoru převládá laminární proudění, tam kde je přívodní trubice připojena na absorpční trubici dochází k výrazné turbulenci. V turbulentní zóně nastávají značné ztráty atomů analytu, zatímco tyto v laminární zóně jsou významné jen při pomalém proudění. Ztráty reakcemi se stěnou budou značně urychleny znečištěním povrchu, zvláště za zvýšené teploty. To vysvětluje pozorované rozdíly v citlivosti mezi atomizátory stejných rozměrů. Ke snížení kontaminace povrchu se používá postup čištění HF, který zřetelně snižuje reaktivitu povrchu.

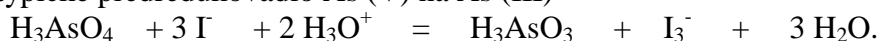
8. Podmínky pro tvorbu AsH₃

Optimální množství, příp. koncentrace NaBH₄ závisí na systému, ale nemá kritickou úlohu. Typické koncentrace jsou 2-3% (m/v) s dávkovým systémem, 0,5-1% pro průtokový systém a 0,2-1% pro FIA systém. Roztok se připravuje denně čerstvý. Stabilita je zlepšena zalkalizováním s 0,1-2% NaOH a vakuovou filtrací přes membránu 0,45 μm.

Atomizační signál je však závislý na oxidačním stavu a použitém hydridovém systému. AsH₃ je generován z roztoků As (III) v širokém aciditním rozsahu od 9-10 mol l⁻¹ HCl po neutrální pH. Z As (V) se hydrid netvoří při pH > 0,3-0,5. Typické reakční prostředí je 0,5-5 mol l⁻¹ HCl. Hladiny 5-6 M nejsou však praktické vzhledem k možné korozi zařízení. V dávkovém systému rozdíl mezi As (III) a As (V) činí asi 25-30%. V průtokovém systému tento rozdíl závisí na délce reakční cívky a dosahuje až desetinásobku. Tento rozdíl je závislý též na pH, z čehož vyplývá možnost stanovení As (III) selektivně při pH 4-5. Z těchto důvodů musí být arsen při stanovení celkového obsahu v jednom oxidačním stavu. Reakční rychlost je vyšší pro As (III), zatímco As (V) často produkuje nižší a širší signál. Potom výška píku může být až 10x nižší než pro As (III). Efekt oxidačního stavu na analytický signál může být snížen nebo eliminován prodloužením reakční doby, vyšší koncentrací NaBH₄ a příp. měřením

integrální absorpance. Když není vyžadována maximální citlivost stanovení, tak může být úprava vzorku zvolena jako oxidační rozklad, kdy veškerý As je ve formě As (V).

Pro měření je preferován As (III), a proto je požadována předredukce. Jodid (K nebo Na) je typické předredukovaadlo As (V) na As (III)



Široce se používá KI v 5 M HCl. Vyšší koncentrace HCl je upřednostněna pro rychlejší předredukci jodidem. Za těchto analytických podmínek je také rušení přechodných prvků ve velkém přebytku sníženo. Rychlost a úplnost vratné reakce závisí na koncentraci I⁻, aciditě vzorku, teplotě, matici vzorku a přítomnosti oxidovadel v mineralizátu vzorku. Někdy se používají směsná předredukovaadla pro zlepšení provedení. Směs KI-kyselina askorbová (0,1-5%) redukuje vznikající jod a zlepšuje stabilitu vznikajících roztoků. Směs hydroxylamin hydrochlorid – KI se používá pro analýzu kyselých mineralizátů/výluhů pro lepší toleranci k oxidovadlům a k ostatním interferentům [1]. Jak vysoký obsah kyseliny, tak KI sám představují problém, zvláště když se pracuje s velkými objemy v dávkovém systému. Z tohoto důvodu se jako předredukční činidlo doporučuje také L-cystein. Kromě toho lze použít také thiomocovinu, sulfid sodný nebo TiCl₃.

9. Úprava vzorku

Příprava vzorku je určitě nejkritičtější částí stanovení arsenu. As se může ztrácet během rozkladu organické matrice nebo rozpouštění pevných vzorků ve formě halidů (AsCl₃, AsF₃), hydridů a organokovových sloučenin arsenu. Proto jsou při rozkladu nutné silné oxidační podmínky až všechny sloučeniny arsenu jsou zoxidovány na arseničnan a převedeny do roztoku. Po rozkladu se arsen pro HGAAS stanovení převede redukcí na trojmocný. Avšak některé organoarsenové formy (DMA, arsenobetain) jsou extrémně odolné k mokré oxidaci. Protože tyto formy jsou přítomné v mořské flóře a fauně, v kalech a sedimentech, v moči, v mnoha environmentálních vodách, mohou zůstat podceněny při přímém stanovení HG technikou v těchto neupravených nebo neúplně rozložených vzorcích. Např. běžné mokré rozklady s HNO₃ v otevřených nebo tlakových nádobkách nestačí při analýze moči, mořských potravin, a občas i u jednodušších maticí (vlasy). HNO₃ nerozloží MMA, DMA, arsenobetain, fenylarsonovou kyselinu. Ovšem rozklad s HNO₃ může být dokončen např. se směsí HNO₃-HClO₄-H₂SO₄ [7].

Řada uváděných postupů přímého HGAAS stanovení arsenu ve vodách se vyznačuje nedoceněním celkového obsahu arsenu. Hodně autorů získalo vyšší výsledky celkového obsahu při některých úpravách vzorků jako mokrá rozklad nebo UV ozáření vzorků vod. To platí zejména pro vzorky obsahující organicky vázaný arsen, jako odpadní vody a mořské vody. DMA (méně MMA) vykazuje mnohem nižší signál při přímém stanovení. Tyto rozdíly se více projevují s FIA systémem a u kontinuálního systému než u dávkového systému. Fenylarsonát, arsenobetain a jiné tzv. „skryté“ sloučeniny arsenu (např. v pobřežních vodách) netvoří vůbec žádný hydrid.

Jako zvláště účinný se ukázal rozklad s HNO₃-HClO₄, jakož i suché spalování s MgO-Mg(NO₃)₂. Protože však práce s HClO₄ je spojena s určitým nebezpečím, používá se méně. Při stanovení arsenu s využitím suchého spalování nebyly pozorovány žádné ztráty. Alternativou slouží odkuřování s H₂SO₄-H₂O₂. Některé postupy spoléhají na přísady katalyzátorů jako Mo(VI), V(V) nebo silných oxidovadel jako K₂Cr₂O₇, KMnO₄ nebo K₂S₂O₈. Uvádí se, že alkalický peroxidisíran je účinnější než kyselé roztoky tohoto činidla [8,9]. Do postupů se zahrnují mokré rozklady s HNO₃-HClO₄-H₂SO₄, HNO₃-H₂SO₄-K₂Cr₂O₇, K₂S₂O₈, přestože roste slepý pokus, mez detekce a náklady [8,10-12]. Slibné přístupy pro on-line předúpravu vzorku jsou UV fotooxidace a chemické působení alkalickým roztokem K₂S₂O₈, ale obě techniky jsou ještě zdokonalovány [8,9,13,14]. Pro stanovení tzv. „skrytého“ arsenu

v pobřežních vodách se ukazuje být postačující postup s UV ozářením, který je také použitelný pro stanovení arsenu v říční vodě.

K nedostatkům hydridové techniky patří, že vyšší obsah jiných hydridotvorných prvků, jakož i přechodných prvků jako Cu a Ni může rušit. U silněji kontaminovaných vod je proto nutná opatrnost a případně upřednostnit stanovení AAS s elektrotermickou atomizací (ETAAS). Potenciálními interferenty v analýze odpadních vod jsou Cu, Co, Ni a vzácné kovy, některé rozpuštěné plyny (CO_2 , H_2S) a pěnотvorná činidla. Příležitostné kontroly se standardními přídávky jsou velmi vhodné.

II. Vlastní metoda stanovení

Metoda byla vypracována především na základě ČSN EN ISO 11969 – Jakost vod – Stanovení arsenu - Metoda atomové absorpční spektrometrie (technika hydridů). Ta je identická s evropskou normou EN ISO 11969; 1996. Kromě toho byly použity přístupy uvedené v literatuře a využívané v laboratořích zabývajících se stanovením arsenu.

1. Oblast použití

Metoda je vhodná pro stanovení arsenu, i organicky vázaného, v pitných, podzemních a povrchových vodách, v koncentračním rozsahu od $1 \mu\text{g l}^{-1}$ do $20 \mu\text{g l}^{-1}$ As. Při vyšších koncentracích je nutno vzorek vhodně ředit.

2. Princip metody

Metoda je založena na měření absorpce atomů arsenu vzniklých tepelným rozkladem AsH_3 . Za podmínek stanovení je na hydrid kvantitativně převáděn pouze As (III). Aby nedocházelo k chybám stanovení, je nutné před stanovením převést ostatní oxidační formy arsenu na trojmocný arsen. Ten se redukuje na plynný hydrid AsH_3 reakcí s tetrahydridoboritanem sodným v prostředí kyseliny chlorovodíkové. Absorbance se měří při vlnové délce 193,7 nm.

3. Chemikálie

- Kyselina chlorovodíková konc., $\rho = 1,18 \text{ g ml}^{-1}$.
- Zředěná kyselina chlorovodíková, 1 díl HCl + 9 dílů vody.
- Kyselina dusičná konc., $\rho = 1,40 \text{ g ml}^{-1}$.
- Tetrahydridoboritan sodný, 0,8% roztok. Asi ve 20 ml vody se rozpustí 0,055 g hydroxidu sodného a přidá se 0,8 g NaBH_4 . Roztok se doplní vodou na 100 ml. Připravuje se v den použití.
- Jodid draselný (KI), 20% (m/v) vodný roztok.
- Kyselina askorbová, 10% (m/v) vodný roztok.
- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, 4% (m/v) roztok ve 4% (m/v) NaOH.
- Standardní roztok As(III), 1000 mg l^{-1} As. K 1,320 g As_2O_3 v 1 l odměrné baňce se přidají 2 g NaOH a vše se rozpustí v malém objemu vody. Objem baňky se doplní vodou po rysku. Roztok je stálý nejméně jeden rok.
- Zásobní roztok As(III) I, 10 mg l^{-1} As. Do odměrné baňky na 100 ml se odpipetuje 1 ml standardního roztoku As(III) o koncentraci 1000 mg l^{-1} As. Po přidání 2 ml konc. HCl se objem doplní vodou po rysku. Roztok je stálý jeden měsíc.
- Zásobní roztok As(III) II, $0,1 \text{ mg l}^{-1}$ As. Do odměrné baňky na 100 ml se odpipetuje 1 ml zásobního roztoku As(III) I o koncentraci 10 mg l^{-1} As. Po přidavku 2 ml konc. HCl se objem doplní vodou po rysku. Roztok se připravuje v den použití.

4. Přístroje a pomůcky

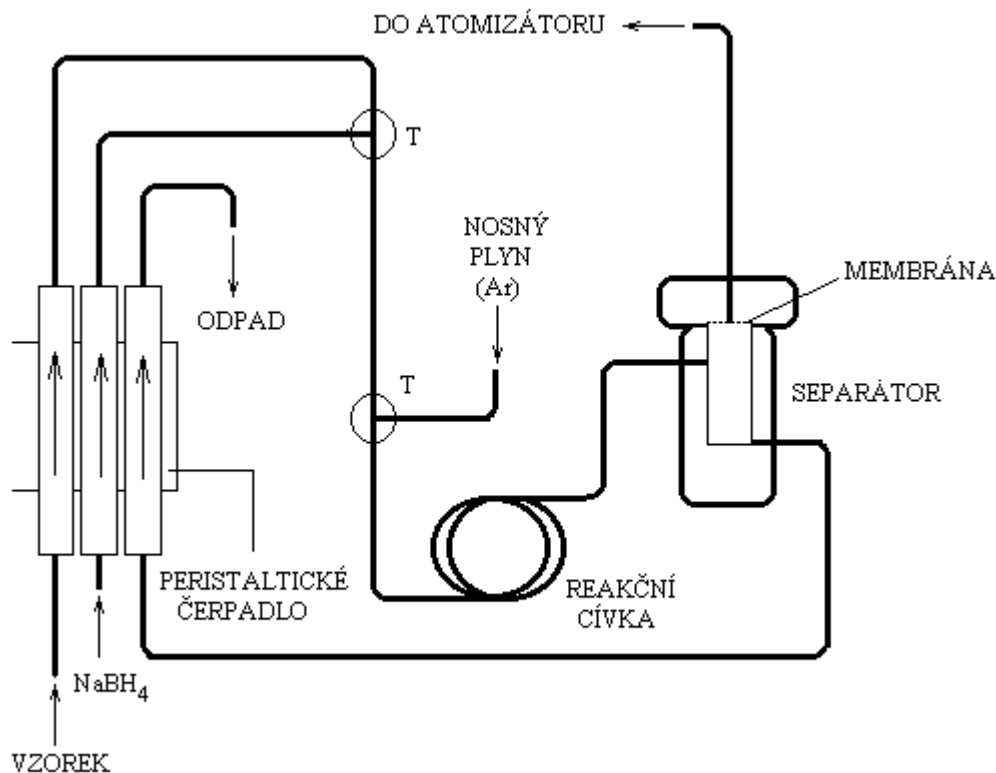
- Atomový absorpční spektrometr Perkin-Elmer, vybavený hydridovým systémem, korektorem pozadí a vhodným zdrojem záření (bezelektrodová arsenová výbojka, výbojka s dutou katodou).

Příprava přístroje k měření

Po zapnutí spektrometru se nastaví tyto parametry: vlnová délka 193,7 nm, propouštěný spektrální interval 0,7 nm, napájení bezelektrodové výbojky 8 W, příp. 16 mA pro výbojku s dutou katodou, čtení průměrného signálu v intervalu 2 s, příp. 5 s. Poloha absorpční trubice se optimalizuje na maximální propustnost světelného paprsku.

Hydridový systém (schéma obr. 2)

Roztoky vzorků a roztok NaBH_4 jsou čerpány odděleně pomocí kapilár a peristaltického čerpadla. Pomocí T kusu jsou oba roztoky smíchány a vedeny reakční kapilárou k dalšímu T kusu. Na ten je napojen nosný plyn argon, který přivádí vznikající hydridy do separátoru fází. Průtok argonu se nastaví pomocí průtokoměru jehlovým ventilem. Kapalína ze separátoru fází je odváděna pomocí peristaltického čerpadla do odpadu. Plynná fáze přechází přes membránu v separátoru do atomizátoru - křemenné T trubice, vyhřívané pomocí mikroprocesorové jednotky.



Obr.2. Schéma hydridového systému.

Obsluha peristaltického čerpadla Ismatec

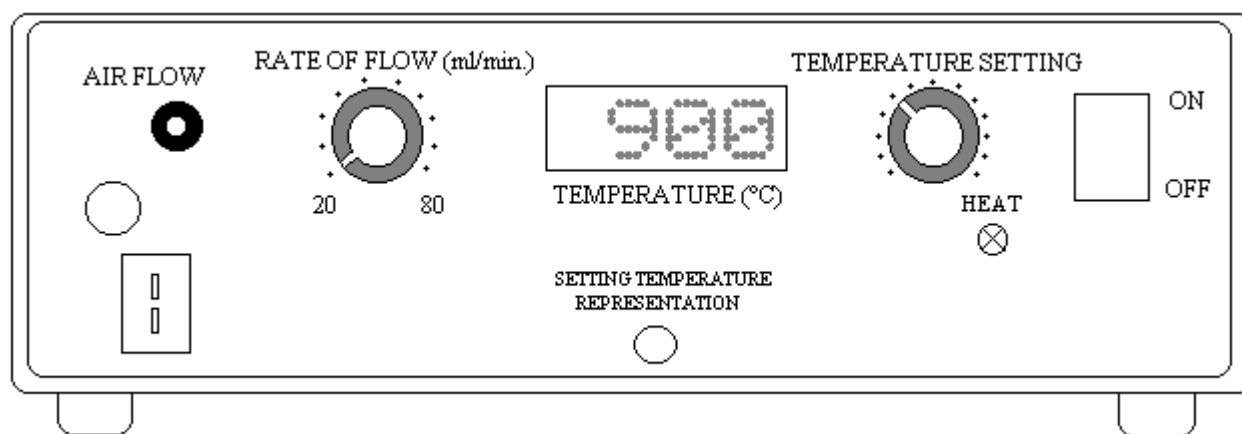
Čerpadlo se zapíná/vypíná zeleným tlačítkem on/off. Vlastní čerpání kapaliny se zapíná a vypíná stlačením červeného tlačítka RUN/STOP. Čerpadlo je nastaveno na průtoky $1,2 \text{ ml min}^{-1}$ pro hadičku o vnitřním průměru 0,51 mm a $3,9 \text{ ml min}^{-1}$ pro hadičku o vnitřním průměru 1,02 mm. V případě změn je třeba postupovat podle návodu výrobce.

Obsluha a nastavení mikroprocesorové řídicí jednotky (obr. 3).

Vyhřívání bloku zařízení AEHT 01 se spustí zapnutím hlavního vypínače (ON). Červená dioda (HEAT) indikuje, že vyhřívání je zapnuto. Červený knoflík SETTING

TEMPERATURE REPRESENTATION přepíná mezi aktuální a požadovanou teplotou v atomizační trubici, zobrazovanou na displeji TEMPERATURE °C. Jeho stisknutím a pomocí potenciometru TEMPERATURE SETTING se nastaví nebo zkontroluje požadovaná teplota 900 °C. Pomocí RATE OF FLOW, sloužícímu k nastavení průtoku vzduchu z vestavěného vzduchového čerpadla se nastaví průtok 25 ml min⁻¹. Jednotka se vypíná hlavním vypínačem (OFF). Po vypnutí jednotky bude displej stále zobrazovat teplotu v atomizační trubici a přístroj se sám automaticky vypne cca po 30 min, kdy dojde k jejímu ochlazení na okolní teplotu.

- Tlaková láhev s argonem.
- Skleněné nádoby, které se čistí těsně před použitím teplou zředěnou kyselinou dusičnou (10%) a propláchnou redestilovanou vodou.



Obr. 3. Mikroprocesorová řídicí jednotka

5. Odběr vzorků

Vzorky se odebírají do polyethylenových vzorkovnic nebo vzorkovnic z borosilikátového skla, předem vymytých kyselinou dusičnou (např. 10%) a propláchnutých redestilovanou vodou. Odebraný vzorek se po případné filtraci přes membránový filtr o velikosti pórů 0,45 µm konzervuje 5 ml HNO₃ na litr vzorku vody, pH vzorku musí být < 2.

6. Příprava kalibračních roztoků a roztoku slepého stanovení

Pro koncentrační rozsah 1 µg l⁻¹ až 20 µg l⁻¹ As se dávkuje 0 ml, 1 ml, 5 ml, 10 ml, 15 ml a 20 ml zásobního roztoku arsenu II o koncentraci 0,1 mg l⁻¹ As do řady 100 ml odměrných baněk. Potom se do každé baňky přidá po 0,5 ml konc. HNO₃ a objemy se doplní vodou po rysku. Roztoky odpovídají koncentracím 0 µg l⁻¹, 1 µg l⁻¹, 5 µg l⁻¹, 10 µg l⁻¹, 15 µg l⁻¹ a 20 µg l⁻¹ As. Kalibrační roztoky se připravují denně čerstvé a zpracovávají stejným způsobem jako vzorek.

Roztok slepého stanovení se připraví odpipetováním 0,5 ml konc. HNO₃ do odměrné baňky na 100 ml a doplněním objemu vodou po rysku. Roztok se zpracuje stejným způsobem jako vzorek.

7. Předběžná úprava vzorku

Sloučeniny s organicky vázaným arsenem se rozloží UV fotolýzou Je-li známo, že analyzovaný vzorek neobsahuje organicky vázaný arsen, je v tomto případě dovoleno postup rozkladu vynechat.

Ke 20 ml roztoku vzorku se přidají 3 ml roztoku $K_2S_2O_8$. Vzorek v křemenné zkumavce se umístí do zařízení pro UV fotolýzu, případně se použije průtokové zařízení pro UV fotolýzu. Tento rozklad se provádí po dobu 15 min.

8. Redukce As (V) na As (III)

Před vlastním stanovením je třeba sloučeniny As převést na As (III). Jako redukční činidlo se používá KI, který má zároveň funkci maskovacího činidla pro potlačení interferencí Cu, Ag, Hg, Fe (III).

Ke 20 ml nerozloženého vzorku se přidá 2,5 ml konc. HCl a 1 ml roztoku KI. Roztok se zamíchá a po 15 min se přidá 1 ml roztoku kyseliny askorbové. Takto upravený vzorek nesmí obsahovat volný jod. V případě vzorku rozloženého s $K_2S_2O_8$ se přidají 3 ml konc. HCl a dále se postupuje stejně. Analogicky se upraví kalibrační roztoky a roztoky slepého stanovení.

9. Pracovní postup

Do kádinky s upraveným roztokem vzorku se vloží kapilára a roztok se nasává peristaltickým čerpadlem průtokovou rychlostí $3,9 \text{ ml min}^{-1}$ do hydridového systému. Předtím se průtok nosného plynu argonu nastaví na 50 ml min^{-1} . Roztoky vzorků (nebo kalibrační roztoky a roztoky slepého stanovení) se v transportní trase oddělují promývacím roztokem zředěné kyseliny chlorovodíkové. Druhou kapilárou se současně nasává z kádinky roztok tetrahydridoboritanu sodného rychlostí $1,2 \text{ ml min}^{-1}$. Po ustálení signálu se tento zaznamenává. Postup se opakuje s dalšími roztoky. K výpočtu se použije průměr ze získaných výsledků. Průměry hodnot slepého stanovení a kalibračních roztoků se používají k sestrojení kalibrační křivky.

Před vlastním měřením absorbance kalibračních roztoků se pro ustanovení rovnováhy v generátoru nasává cca 3 min promývací roztok zředěné HCl a roztok $NaBH_4$. Poté se několikrát krátce nasaje malé množství nejvyššího kalibračního roztoku stanovovaného prvku a znovu se nasává cca 3 min promývací roztok.

Vlastní měření se provádí s frekvencí vzorkování:

sání vzorku/promývacího roztoku	čtení absorbance
45 s vzorek/kalibrační roztok	dosažení rovnovážného signálu
20 s, příp. 30 s vzorek/kalibrační roztok	10 x integrace 2 s, příp. 6 x 5 s
10 s promývací roztok	proplach systému

10. Výpočet výsledků základním kalibračním postupem a vyjadřování výsledků

Koncentrace arsenu v roztoku se vypočítá srovnáním absorpční odezvy roztoku vzorku s odezvou roztoků známé koncentrace (kalibračních roztoků), tedy z kalibrační křivky. Do výpočtu musí být zahrnuty veškeré ředící úkony. Výsledky se vyjadřují v $\mu\text{g l}^{-1}$, nejvýše na tři platné číslice a jedno desetinné místo.

11. Údržba křemenné trubice multiatomizátoru

Při vniknutí kapiček z generátoru hydridů do atomizátoru dochází ke změně povrchových vlastností vnitřního povrchu křemenné trubice a tím ke zhoršení citlivosti a přesnosti. Potom je nutné vyloužit vnitřní trubici multiatomizátoru ve směsi koncentrované HNO_3 a koncentrované HF v poměru 7:3 nebo v samotné koncentrované HF po dobu 5-10 min. Poté se trubice pečlivě vypláchne destilovanou vodou a nechá vyschnout. Vysychání může být urychleno připojením trubice na vakuum [6].

Upozornění: V případě, že reakční směs nedopatřením vnikne do atomizátoru, okamžitě vypněte vyhřívání. Potom propláchněte multiatomizátor kyselinou tak, jak je uvedeno výše. V žádném případě nepoužívejte k sušení trubice stlačený vzduch, který by mohl kontaminovat

vnitřní povrch trubice. Atomizátor se nesmí dotýkat žádných kovových předmětů, mohlo by tak dojít ke snížení citlivosti. Nedotýkejte se holýma rukama zahříváných částí atomizátoru – stopy alkálií mohou urychlit rozrušování křemenného povrchu.

III. Použitá literatura

1. Welz B., Sperling M.: Atomabsorptionsspektrometrie. Wiley-VCH, Weinheim 1997.
2. Kafka Z., Punčochářová J.: Chem. Listy 96, 611-617 (2002).
3. Anderson R.K., Thompson T., Culbard E.: Analyst 111, 1153-1158 (1986).
4. Dědina J., Matoušek J.: J. Anal. Atom. Spectrom. 15, 301-304 (2000).
5. Dědina J., Tsalev D.: Hydride generation atomic absorption spectrometry. Wiley, Chichester 1995.
6. Návod k použití zařízení pro atomizaci hydridů AEHT 01. RMI, Lázně Bohdaneč, 2002.
7. Stoeppler M., Apel M.: Fresenius Z. Anal. Chem. 317, 226-227 (1984).
8. Atallah R.H., Kalman D.A.: Talanta 38,167-173 (1991).
9. Cullen W.R., Dodd M.: Appl. Organometall. Chem. 2, 1-7 (1988).
10. Yamamoto M., Fujishige K., Tsubota H., Yamamoto Y.: Anal. Sci. 1, 47-50 (1985).
11. Cox D.H.: J. Anal. Toxicol. 4, 207-211 (1980).
12. Kinard J.T., Gales Jr. M.: J. Environ. Sci. Health A16, 27-50 (1981).
13. Tsalev D.T., Sperling M., Welz B.: Analyst 117, 1735-1741 (1992).
14. Pretorius L., Kempster P.L., Van Vliet H.R., Van Staden J.F.: Fresenius J. Anal. Chem. 342, 391-393 (1992).

Stanovení rtuti ve vodách

I. Úvodní část

1. Výskyt rtuti

Sloučeniny rtuti patří mezi nejedovatější látky. Jejich přítomnost v životním prostředí má neblahé účinky na všechny živé organismy. Různé formy tohoto prvku (anorganické i organické) se do prostředí dostávají z přírodních i antropogenních zdrojů. Zastoupení rtuti v přírodě je velmi nízké [1]. Hlavními zdroji rtuti jsou zvětrávání a sopečná aktivita. Kromě těchto přírodních pochodů hraje stále větší roli průmyslové znečištění. Určitý význam má i rtuť obsažená ve fosilních palivech. I když je její obsah v uhlí a ropě docela nízký, významný obsah kovu je pak při spalování uvolněn do atmosféry. Těkává rtuť, která je produktem inhalací, zvětrávání a sopečné činnosti, je z atmosféry vymývána srážkami a hromadí se ve vodách a půdách. Sem se také dostává z průmyslových vod. Velká část rtuti reaguje za vzniku nerozpustných sloučenin, např. HgS a HgSe. V sedimentech dochází k alkylaci anorganických forem rtuti za vzniku organokovových sloučenin, které se kumulují v organismech a zasahují potravní řetězec. V této formě rtuť nejčastěji vstupuje do lidského těla [1,2]. Toxické účinky sloučenin rtuti jsou dány jejich molekulovou strukturou, stabilitou, cestami biotransformace a rychlostí vylučování. Rtuťnaté sloučeniny poškozují ledviny a střevní trakt. Díky vysoké afinitě k SH-skupinám jsou ochotně absorbovány erythrocyty a bílkoviny plazmy. Páry rtuti jsou rozpustné v tucích, při vdechnutí způsobují bolest hlavy, zánět močového měchýře a ztrátu paměti. Z organokovových sloučenin rtuti se v životním prostředí nejčastěji objevují halogenidy methylrtuti, které jsou přibližně 10x toxicitější než její anorganické formy. Jsou neurotoxické a mají silnou tendenci se bioakumulovat v potravních řetězcích, zvláště ve vodních ekosystémech [3,4]. Methylrtuť je rozpustná v tucích, po vstřebání v trávicím traktu vstupuje do krve, z níž se dostává do mozku. V membránových proteinech a enzymech se váže na SH-skupiny a způsobuje tak nevratné poškození centrálního nervového systému. Vysoká koncentrace methylrtuti způsobuje u těhotných žen poškození plodu [1].

2. Obsah rtuti ve vodách

Obsah rtuti ve vodách je různý pro různé druhy vod. Celková koncentrace rtuti ve vodách se pohybuje v rozmezí 0,2 – 100 ng l⁻¹, v některých případech může být ještě nižší. Podle vyhlášky MZČR č. 252/2004 Sb. je nejvyšší mezní hodnota rtuti v pitné vodě 1 µg l⁻¹. Obsah rtuti ve vodách oceánů se liší od obsahu tohoto prvku v říčních a sladkých vodách. V oceánech může být nižší než je mez detekce metod obvykle používaných při jejím stanovení (0,1 µg l⁻¹). Ve sladkých vodách se koncentrace rtuti pohybuje v rozmezí 0,5 -100 ng l⁻¹ [5]. Povrchová voda v neznečištěných oblastech obsahuje přibližně 20 ng l⁻¹ rtuti, podzemní voda 10 – 50 ng l⁻¹ a vody řek protékajících průmyslovými oblastmi mohou obsahovat až 1 µg l⁻¹ rtuti.

3. Stanovení rtuti AAS

Rtuť ve vzorku lze stanovit různými technikami atomové absorpční spektrometrie (AAS), které se navzájem liší citlivostí a způsobem atomizace vzorku. Jsou to plamenová AAS, AAS s elektrotermickou atomizací, metoda studených par (CVAAS) a termooxidační metoda. Pro stanovení rtuti se využívá měření absorpce záření na rezonanční čáře rtuti 253,7 nm. Analýza vzorků s nízkým obsahem rtuti se provádí především metodou studených par a termooxidační metodou. K absorpci záření v těchto případech dochází v průtokových absorpčních kytetách [1,2]. Pro stanovení rtuti využívající termooxidační rozklad vzorku s následným zachycením rtuti v amalgamátoru byly vyvinuty speciální analyzátoři, TMA 254

(1985) a AMA 254 (1990) české výroby (Altec). Podle normy TNV 75 7440 je možné stanovit rtuť ve vodách pomocí analyzátorů AMA a TMA o koncentraci od $0,2 \mu\text{g l}^{-1}$ do $50 \mu\text{g l}^{-1}$. Stanovení nižších koncentrací rtuti než $0,2 \mu\text{g l}^{-1}$ je možné po zkoncentrování vzorku opakovaným dávkováním a odpařením vzorku přímo v dávkovacím zařízení systému [6].

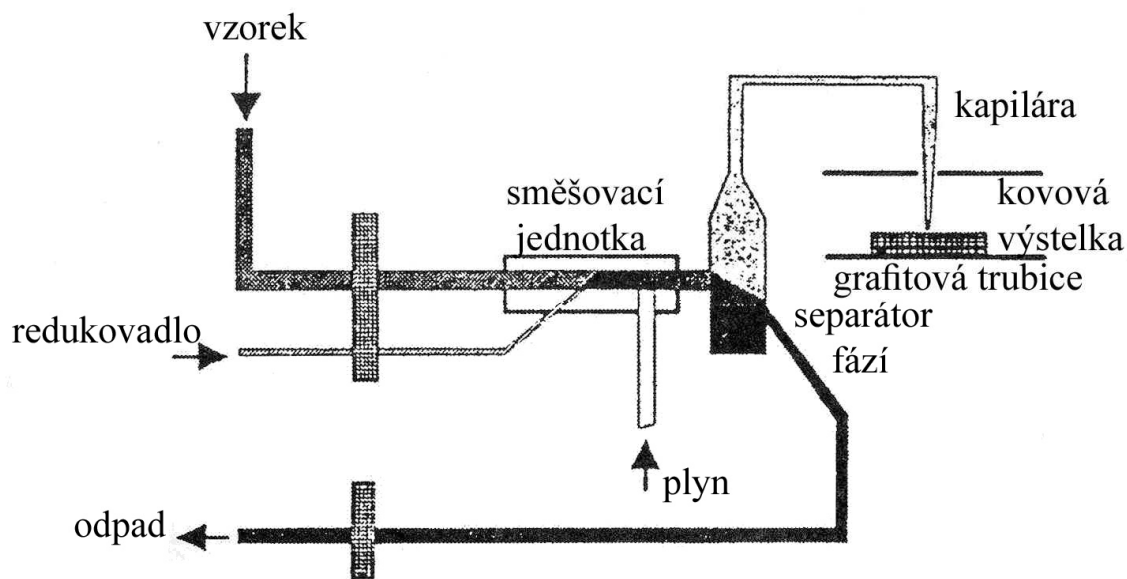
4. Metoda studených par v AAS

Ke stanovení rtuti AAS se nejčastěji používá metoda studených par. Je to redukčně-
vyvíjecí metoda pro vydestilování rtuti z roztoků a využívá toho, že rtuť má jako jediný kov dostatečnou tenzi par ($0,16 \text{ Pa}$) při $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Pro AAS je monoatomická pára rtuti získaná redukcí v roztoku vedena proudem plynu do absorpční průtokové trubice - kyvety, umístěné do cesty paprsku zdroje záření. Páry rtuti lze vyvíjet v cirkulačním, průtokovém nebo průtokovém injekčním (FI) systému. Jednoduché aparatury jsou konstruovány na principu uzavřeného neboli cirkulačního systému. V uzavřeném okruhu se čerpá vzduch přes reakční nádobu a absorpční kyvetu. Po asi 1 minutě od přidání redukčního činidla se ustaví rovnováha mezi koncentrací rtuti ve vodné fázi a v plynné fázi. Hodnota rozdělovací konstanty je $0,4$ a je nezávislá na většině proměnných, jako je koncentrace rtuti, procentový obsah fází (rozmezí poměru vzduch:voda $1:3$ až $4:1$) a koncentrace kyseliny (HCl nebo HNO_3). Konstanta závisí na koncentraci H_2SO_4 a teplotě roztoku (vyšší koncentrace kyseliny a teplota zvyšují koncentraci rtuti v plynné fázi) [2]. Při postupu s cirkulací par dosahuje absorpční signál konstantní hodnoty [2]. Dalším používaným systémem je technika bez cirkulace par, tzv. průtoková metoda, ve které páry jednorázově procházejí kyvetou. Získaný dynamický signál má tvar asymetrického píku.

V poslední době se k vyvíjení par rtuti používají FI systémy (obr.1), ve kterých dochází k reakci diskrétně dávkovaného objemu vzorku s redukčním činidlem v průtokovém kapilárním systému a s oddělením par rtuti v separátoru fází. Potom často následuje zkoncentrování pomocí amalgamace např. v elektrotermickém atomizátoru na platformě pokryté Ir se záchytem při $160 \text{ }^\circ\text{C}$ a atomizací při $2100 \text{ }^\circ\text{C}$, na Ir výstelce, na grafitu pokrytém Au se záchytem při $20 \text{ }^\circ\text{C}$ a atomizací při $700 \text{ }^\circ\text{C}$, a na Au/Pt síťce. Páry rtuti jsou vedeny do atomizátoru teflonovou kapilárou a křemennou špicí [7].

5. Postupy redukce

Redukci Hg^{2+} v roztoku lze provést SnCl_2 v kyselém prostředí, formaldehydem v alkalickém prostředí, kyselinou askorbovou ($\text{pH} = 11$), cínatanem sodným, hydrazinem nebo NaBH_4 . Nejčastěji používanými redukčními činidly jsou SnCl_2 a NaBH_4 [8,9]. Při použití chloridu cínatého je vzorek probubláván inertním plynem nebo vzduchem a rtuť se vytěsňuje z roztoku. Při reakci s NaBH_4 v kyselém prostředí dochází k uvolňování vodíku, který spolu s proudem inertního plynu transportuje většinu kovové rtuti z roztoku do absorpční kyvety. NaBH_4 lze použít pouze v systému bez cirkulace par, v uzavřeném systému by vlivem velkého objemu uvolněného vodíku docházelo ke značnému zvýšení tlaku [2]. V některých maticích je však citlivost vůči NaBH_4 různá. Zatímco anorganická rtuť je přímo redukována na elementární rtuť, methylrtuť při nízkých koncentracích tetrahydridoboritanu poskytuje jako meziproduct hydrid methylrtuti, a teprve při vyšší koncentraci NaBH_4 se redukuje na rtuť. Protože SnCl_2 v kyselém prostředí neredukuje organicky vázanou rtuť, lze jeho účinkem stanovit pouze obsah anorganické rtuti ve vzorku. Pro stanovení celkového obsahu rtuti je ve všech případech vyžadována mineralizace vzorku. Mineralizace organických forem rtuti se provádí použitím kombinace silné kyseliny a oxidačního činidla (H_2O_2 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, KMnO_4 , $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$), příp. zvýšené teploty, UV nebo mikrovlnného záření [10].



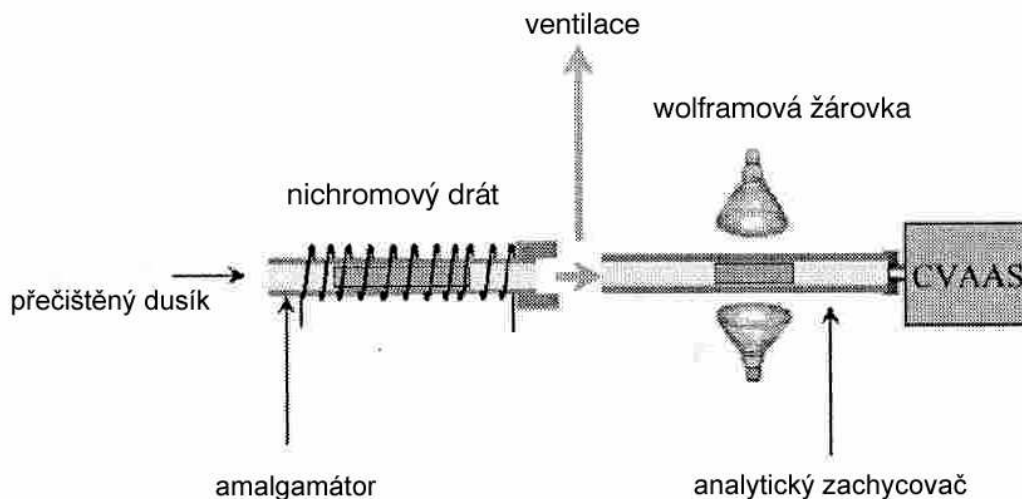
Obr.1. Schéma FI systému generování studených par (převzato z [7]).

6. Prekoncentrační postupy

Nutnost stanovit rtuť v nejnižších koncentracích vede k vývoji obohacovacích technik. Mnoho těchto technik je založeno na ušlechtilosti rtuti, díky níž se může elektrochemicky nebo chemicky vázat např. na měď [2]. Jako nejlepší se ukázala kombinace redukce a uvolnění rtuti s následnou amalgamací. Tento postup eliminuje vliv rozdělovací rovnováhy a vliv zředění rtuťového oblaku do velkého objemu použité aparatury. Rtuť se zkoncentruje ve formě par v malém objemu amalgamační náplně, ze které ji lze po kvantitativním zachycení pouhým zahřátím náplně opět uvolnit. Náplň, nejčastěji vzácný kov, je ve formě vrstvy drátků, kovové vaty, gázy nebo filmu na nosiči např. azbestu nebo křemelině. Nejčastějším způsobem zadržení rtuťové páry je amalgamace na zlatě a stříbře, lze použít také měď, palladium nebo platinu [9,11]. Páry rtuti mohou být také zachyceny na vrstvě aktivního uhlí, ve směsi $I_2 - KI$ napuštěné do porézní hmoty, koprecipitací s CdS nebo v kyselém roztoku $KMnO_4$ [2].

Amalgamace na zlatě a stříbře probíhá při teplotě 20 – 100 °C, uvolnění par rychlým zahřátím při teplotě 500 – 700 °C pro zlato nebo 350 °C pro stříbro. Amalgamační technika zlepšuje citlivost a mez detekce metody. Vyšší citlivost je dána kvantitativním vydestilováním rtuti z roztoku a umístěním celého oblaku par rtuti v absorpční průtokové kyvetě. Proto je nutné dodržovat podmínky pro dobu amalgamace, dobu ohřevu amalgamátoru, průtok plynu pro vypuzení Hg oblaku a vzdálenost amalgamační trubice od průtokové kyvetě [11]. S použitím této techniky se získá vyšší a užší signál než bez použití amalgamace [2].

Pro stanovení nízkých koncentrací rtuti ve vzduchu se používá dvoufázová amalgamace (obr.2). Jeden amalgamátor je vyhříván pomocí cívky tvořené nichromovým drátem, druhý analytický zachycovač wolframovou lampou. Mez detekce přístroje je 0,01 ng, mez detekce metody činí 0,04 ng, což odpovídá 21 ng m⁻³ Hg ve vzduchu [12].



Obr.2. Schéma metody studených par s dvoufázovou amalgamací (převzato z [12])

7. Interference

Páry rtuti obsahují vodní páru, případně i kapičky vody. Voda se odstraní pomocí vysoušedel. Nejčastěji se k zadržení vody používá $Mg(ClO_4)_2$. Výzkumy ukázaly, že vodní pára neabsorbuje záření na absorpční čáře rtuti. Je však nezbytné, aby se zamezilo tvorbě větších kapek vody a kondenzaci vody v absorpční kyvetě. Místo použití vysoušedel lze zahřát kyvetu na 120-200 °C [2]. Chyby při stanovení rtuti mohou být způsobeny neselektivní absorpcí záření v přítomnosti těkavých organických látek. Tento vliv se z větší části odstraní ještě před redukcí sloučenin rtuti přidávkem manganistanu a probubláváním inertním plynem po dobu 10 minut. Vliv lze odstranit použitím korektoru pozadí [8].

Zvláštní pozornost si zasluhuje efekt některých anorganických iontů přítomných v roztoku v okamžiku redukce. Většina aniontů NO_3^- , Cl^- , SO_4^{2-} , ClO_4^- , F^- , PO_4^{3-} má malý vliv. Bez úpravy vzorku nastává snížení absorpčního signálu v přítomnosti SO_3^{2-} , S^{2-} , $S_2O_3^{2-}$, Br^- , I^- a SCN^- . Vliv je různý při různých postupech redukce [2]. Některé rušivé vlivy těžkých kovů a hydridotvorných prvků jsou vyšší při použití $NaBH_4$ než při použití $SnCl_2$. Také při použití průtokových systémů mohou být rušivé vlivy těžkých kovů menší [8]. Negativní vliv byl také pozorován v přítomnosti solí palladia, platiny a zlata [2]. Chlorid cínatý působí znečištění címem, takže dochází k rušivým vlivům při následném použití tetrahydridoboritanu sodného. Proto je nezbytné používat při redukcí oddělené systémy pro každé redukční činidlo [2,8].

8. Kontaminace a odběr vzorků

Okamžitá analýza vzorků přímo na místě odběru je prakticky proveditelná pouze v málo případech. Většina vzorků musí být dopravena do laboratoře k následné analýze nebo se uchovává jako srovnávací vzorky [13]. Během skladování může docházet k procesům transformace a degradace jednotlivých chemických specií, takže v době analýzy se obsah specií ve vzorku může významně lišit od obsahu ve vzorku původním. Analytická data pak neposkytují informace o speciích v původním systému. Zvláště u vod, v nichž je koncentrace rtuti velmi nízká, představují jakékoliv nepatrné ztráty významnou část z počátečního množství a výsledky jsou tak zatíženy chybou [14].

Ztráty různých forem rtuti z roztoku mohou být způsobeny adsorpcí na stěnách nádob, těkavostí rtuti a jejích sloučenin, ale také přeměnou specií rtuti. Přítomnost stopových množství redukčních činidel (mikroorganismy, huminové kyseliny, nečistoty) v roztoku má za následek redukci Hg^{2+} na Hg^0 , který spontánní disproportionací poskytuje Hg^{2+} a elementární těkavou rtuť. Procesy přeměny zahrnují vznik těkavých sloučenin nebo vysoce stabilních

komplexů rtuti a amalgámů po redukci Hg^{2+} na Hg^0 [14]. Nejsledovanější specie rtuti jsou methylrtuť a anorganická rtuť. Mezi fyzikální a chemické parametry ovlivňující stabilitu patří koncentrace specií rtuti, složení matrice, materiál skladovací nádoby, pH vzorku, teplota a světlo [14]. Ztráty v nádobách jsou vyšší při nízké koncentraci rtuti, především u methylrtuti. V neokyseleném roztoku s koncentrací methylrtuti $10 \mu\text{g l}^{-1}$ došlo po 1 týdnu ke snížení koncentrace o 10%, po 2 týdnech o 50%, přičemž roztok s koncentrací $100 \mu\text{g l}^{-1}$ byl stabilnější [14]. Ztráty methylrtuti závisí též na iontové síle prostředí. V prostředí $0,5 \text{ mol l}^{-1}$ NaCl dochází k větším ztrátám než v deionizované vodě. Rychlost ztrát klesá v pořadí mořská voda s bakteriemi – mořská voda – deionizovaná voda [14].

Volba nádoby závisí na jejích povrchových vlastnostech a nečistotách. Jako nevyhovující materiál se ukazuje polyethylen, ve kterém dochází k rozkladu a přeměně organicky vázané rtuti na anorganickou formu a k adsorpci či redukci rtuti vlivem přítomnosti aktivních míst jako jsou uhlíkové radikály, karbonylové skupiny a aditiva (aminy, thioly, fenolické skupiny). Nevhodné jsou také polypropylen a PVC. Rozporné jsou údaje o použitelnosti PTFE [2,14]. Nejlepší výsledky vykazuje Pyrex sklo. V poslední době se pro pitnou a říční vodu doporučuje používat PET (polyethylen tereftalát) láhve, jejichž vlastnosti se výrazně neliší od PTFE. Jejich výhodou je nízká cena a možnost recyklace [14].

Není jednoznačný názor o vlivu pH na stabilitu solí rtuti. Obecně se však doporučuje skladovat vzorky při nízkém pH [14]. Mírné zvýšení teploty nemá vliv na stabilitu roztoků, ale chlazené vzorky vykazují lepší výsledky než vzorky uchovávané při laboratorní teplotě [14]. Působením UV záření dochází k okamžitému rozkladu methylrtuti, a proto se doporučuje uchovávat vzorky ve tmě [14]. K zamezení ztrát anorganické rtuti z roztoku je vhodná kombinace nízkého pH, vysoké iontové síly (omezuje adsorpci na stěny) a oxidačních činidel (udržují rtuť ve dvojmocném stavu). Jako konzervační činidla lze tedy použít minerální kyseliny nebo silná oxidační činidla [14]. Vhodným stabilizačním činidlem pro vzorky vod je přírůstek HNO_3 , HCl a $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$, jako méně spolehlivá se jeví stabilizace pomocí HNO_3 a také stabilizace s H_2SO_4 a KMnO_4 [13]. Množství oxidačního činidla by mělo být nízké, aby se zamezilo kontaminaci vzorku a omezila se zvýšená spotřeba redukčního činidla.

Je nutné věnovat pozornost také kontaminaci roztoku. Ta může být způsobena rtuťí adsorbovanou ve skle a rtuťí v nosném plynu. Doporučuje se používat vysoce čistou deionizovanou vodu. Nosný plyn bez rtuti lze připravit filtrací za použití teflonové membrány a vychytávací trubice z křemene s náplní pokrytou zlatem [5]. Všechno skleněné nádobí se doporučuje namočit do 40% HNO_3 na 1 týden, potom umýt deionizovanou vodou a opět podrobit působení 10% HNO_3 po dobu 1 týdne. Nové materiály se čistí saponátem nebo organickým rozpouštědlem, potom směsí HCl a HNO_3 a nakonec deionizovanou vodou. Materiály se suší v sušárnách s laminárním tokem čistého vzduchu [5].

9. Úprava vzorků vod pro stanovení rtuti

Pro stanovení celkového obsahu rtuti ve vzorku vody metodou studených par je nutné, aby všechny formy organické rtuti byly převedeny na anorganickou (iontovou) formu. Nejčastěji se využívá mineralizace vzorku roztokem KMnO_4 nebo $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ v H_2SO_4 [2]. Nadbytek KMnO_4 se odstraní přidávkou hydroxylaminu do odbarvení roztoku. Vzorek je možné alternativně podrobit působení směsi $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ s přidávkou V_2O_5 jako katalyzátoru nebo HNO_3 s přidávkou molybdenanu. Normy ČSN EN 1483 a ČSN EN 12338 doporučují mineralizaci vzorku vody směsí KMnO_4 , HNO_3 a H_2SO_4 s následným přidávkem $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ [8,9]. Tyto normy dovolují i jiné alternativy, jako je mineralizace pomocí ultrazvuku, mineralizace v autoklávu nebo v mikrovlnné peci. Manganistan a peroxodisíran nemohou být použity jako oxidační činidlo u vzorků s relativně vysokým obsahem chloridů (např. mořská

voda), protože dochází k oxidaci na plynný Cl_2 . K mineralizaci mořské vody se využívá fotooxidace UV zářením [2].

II. Metoda stanovení rtuti ve vodách bez zkoncentrování

Metoda byla vypracována především na základě české technické normy ČSN EN 1483 Jakost vod – Stanovení rtuti. Je českou verzí evropské normy EN 1483; 1997. Ze dvou možných metod, z nichž jedna používá jako redukční činidlo chlorid cínatý a druhá tetrahydroboritan sodný, byla s ohledem na matici vzorků vybrána první varianta. Metoda je vhodná ke stanovení koncentrace rtuti ve vodě, např. v podzemní, povrchové a odpadní vodě, v rozsahu koncentrací od $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$ do $10 \mu\text{g l}^{-1}$. Vyšší koncentrace se stanoví po zředění vzorku.

1. Oblast použití

V přírodních vodách se obecně vyskytují sloučeniny rtuti jen ve velmi nízkých koncentracích, menších než $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$. K úplnému rozkladu všech sloučenin rtuti je nezbytná mineralizace vzorku. Mineralizace se může vynechat pouze tehdy, je-li jisté, že koncentraci rtuti lze měřit i bez této předběžné úpravy.

2. Princip metody stanovení rtuti po redukci chloridem cínatým bez zkoncentrování

Jednomocná nebo dvojmocná rtuť se redukuje na elementární formu chloridem cínatým v kyselém prostředí. Elementární rtuť se z roztoku uvolní probubláváním proudem vzduchu a páry rtuti se vedou do absorpční kvyety. Absorbance se měří při vlnové délce 253,7 nm pomocí atomového absorpčního spektrometru. Koncentrace rtuti se vypočte z kalibrační křivky.

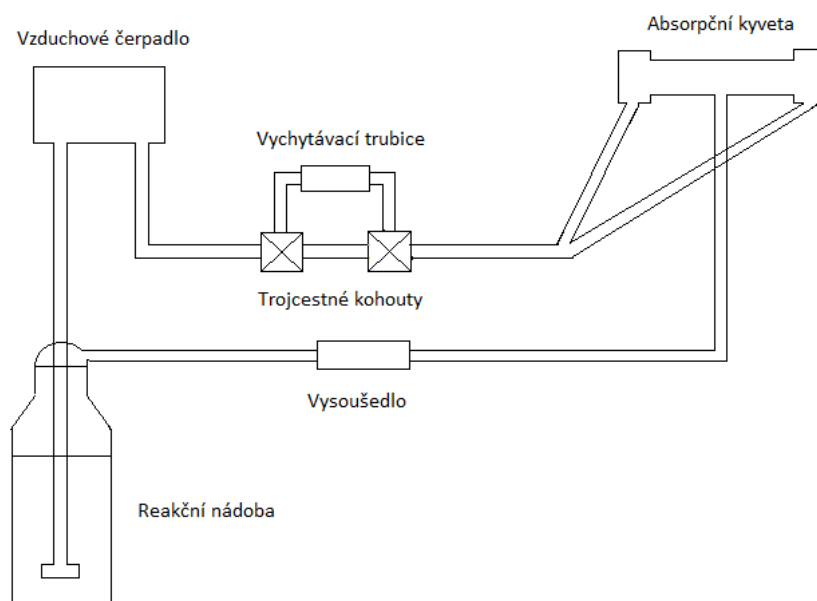
3. Chemikálie

- Použitá voda by měla být redestilovaná.
- Kyselina dusičná konc., $\rho = 1,40 \text{ g.cm}^{-3}$
- Kyselina sírová konc., $\rho = 1,84 \text{ g.cm}^{-3}$
- Kyselina chlorovodíková konc., $\rho = 1,16 \text{ g.cm}^{-3}$
- Manganistan draselný, roztok: 5 g KMnO_4 se rozpustí ve 100 ml vody.
- Dichroman draselný, konzervační roztok: 5 g $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ se rozpustí v 500 ml HNO_3 a zředí vodou na 1000 ml. (Dichroman draselný je jedovatý, opatrně při manipulaci s tuhou látkou i s roztoky.)
- Peroxodisíran draselný, roztok: 40 g $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ se rozpustí v 1000 ml vody.
- Hydroxylamin hydrochlorid, roztok: 10 g $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ se rozpustí ve 100 ml vody.
- Chlorid cínatý, roztok: 5 g $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ se rozpustí ve 30 ml kyseliny chlorovodíkové. Roztok se zředí vodou na 100 ml. Doporučuje se odstranit stopy rtuti asi 30 min probubláváním roztoku dusíkem, příp. vzduchem.
- Zásobní roztok Hg^{2+} I, $c = 100 \text{ mg l}^{-1} \text{ Hg}$: k 10 ml standardního roztoku $1,000 \text{ g l}^{-1} \text{ Hg}^{2+}$ se přidá 1 ml konzervačního roztoku a roztok se zředí na 100 ml vodou. 1 ml tohoto roztoku obsahuje 0,1 mg rtuti. Roztok je stálý nejméně 1 rok.
- Zásobní roztok Hg^{2+} II, $c = 1 \text{ mg l}^{-1} \text{ Hg}$: k 1 ml zásobního roztoku I se přidá 1 ml konzervačního roztoku a roztok se zředí vodou na 100 ml. 1 ml tohoto roztoku odpovídá 1 μg rtuti. Roztok je stálý asi 1 týden.
- Roztok Hg^{2+} pro přípravu kalibračních roztoků, $c = 50 \mu\text{g l}^{-1} \text{ Hg}$: k 5 ml zásobního roztoku Hg^{2+} II se přidá 1 ml konzervačního roztoku a roztok se zředí na 100 ml vodou. 1 ml tohoto roztoku obsahuje 50 ng rtuti. Roztok se připravuje v den použití.

- Zředěná HNO_3 pro čištění laboratorního skla: 150 ml koncentrované kyseliny dusičné se zředí na 1000 ml vodou.

4. Přístroje a pomůcky

- Atomový absorpční spektrometr Perkin-Elmer s deuteriovou korekcí pozadí.
- Zdroj záření pro stanovení rtuti: výbojka s dutou katodou nebo bezelektrodová výbojka.
- Přídavné zařízení pro stanovení rtuti (obr.3):
 - průtoková absorpční kyveta uchycená do držáku, který je umístěn do spektrometru místo hořáku
 - vzduchové cirkulační membránové čerpadlo s výkonem $0,6 \text{ l min}^{-1}$, s hadičkami z teflonu, silikonu (uzavřený systém)
 - skleněné nádoby na 250 ml s plochým dnem a zábrusem
 - promývací vsuvka s otvory pro probublávání
 - trubice s vysoušedlem $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$
 - trojcestné kohouty
 - vychytávací trubice s amalgamační náplní - křemelinou pokrytou zlatem a vrstvou aktivního uhlí.
- Odměrné baňky, pipety.
Veškeré laboratorní sklo se před použitím čistí zředěnou kyselinou dusičnou a potom několikrát vyplachuje vodou.
- Dávkovače Dispensette, Brand.



Obr.3. Schéma zařízení pro stanovení rtuti redukcí SnCl_2 bez zkoncentrování.

5. Odběr a předběžná úprava vzorků

K odběru vzorků vod se používají vzorkovnice z borito-křemičitého skla (příp. křemene, polysulfonových (PSU) nebo tetrafluorethylen-hexafluorpropylenových (FEP) polymerů). Doporučuje se do vzorkovnice před odběrem odměřit 10 ml konzervačního roztoku a při odběru objem doplnit vzorkem na 1000 ml. Roztok by měl mít $\text{pH} \approx 1$ a žlutooranžovou barvu.

6. Příprava kalibračních roztoků a roztoku pro slepé stanovení

Do sedmi odměrných baněk na 100 ml se postupně napipetuje 0 ml, 1 ml, 2 ml, 4 ml, 6 ml, 8 ml a 10 ml roztoku Hg^{2+} o koncentraci $50 \mu\text{g l}^{-1}$. Do každé z těchto odměrných baněk se přidá 1 ml konzervačního roztoku. Objem odměrných baněk se doplní vodou po rysku a promíchá. Kalibrační roztoky obsahují $0 \mu\text{g l}^{-1}$, $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$, $1 \mu\text{g l}^{-1}$, $2 \mu\text{g l}^{-1}$, $3 \mu\text{g l}^{-1}$, $4 \mu\text{g l}^{-1}$ a $5 \mu\text{g l}^{-1}$ rtuti. Připraví se bezprostředně před každou řadou měření.

Pro slepé stanovení se připraví stejný objem roztoku jako je objem měřených vzorků a dává se 10 ml konzervačního roztoku na každých 1000 ml redestilované vody. Slepé stanovení se začleňuje do každé řady analýz.

7. Mineralizace manganistanem draselným a peroxidisíranem draselným

Do 250 ml nádoby se odpipetuje 100 ml stabilizovaného vzorku vody. Opatrně se přidá 15 ml roztoku manganistanu draselného, 1 ml kyseliny dusičné a 1 ml kyseliny sírové. Po každém přidavku se směs důkladně promíchá. Po 15 min stání se přidá 10 ml roztoku peroxidisíranu draselného. Volně uzavřená nádoba se umístí na vodní lázeň a obsah se mineralizuje 2 hod při $95 \text{ }^\circ\text{C}$. Během mineralizace je nutno zajistit přebytek manganistanu draselného. V případě potřeby se přírůstek manganistanu zvýší nebo se postup opakuje s menším objemem vzorku. Roztok se nechá zchladnout na teplotu laboratoře. Mineralizáty se analyzují co nejdříve. Stejným způsobem, za použití odpovídajícího objemu vody a konzervačního roztoku místo vzorku, se zpracuje roztok pro slepé stanovení a také kalibrační roztoky. Pokud je obsah organických látek ve vzorku nízký je možné koncentraci manganistanu snížit nebo zvolit alternativní metodu mineralizace, např. pouze s malým množstvím manganistanu bez zahřívání.

8. Pracovní postup

Po zapnutí atomového absorpčního spektrometru se nastaví tyto parametry: vlnová délka 253,7 nm, propouštěný spektrální interval 0,7 nm, proud 5 mA pro výbojku s dutou katodou. Poloha absorpční kyvety se seřídí na maximální propustnost světelného paprsku. Pokud byl vzorek mineralizován, přidá se bezprostředně před měřením 5 ml roztoku $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$. Přírůstek 5 ml obecně stačí k redukci přebytku oxidačních činidel a k rozpuštění sraženiny oxidu manganického. Pokud se roztok nevyjasní, přidá se další $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$. Potom se přidají 2 ml roztoku chloridu cínatého a nádoba se okamžitě uzavře promývací vsuvkou. Zapne se čerpadlo. V uzavřeném systému s cirkulačním čerpadlem prochází vzduch reakční nádobkou, přes vysoušedlo a absorpční kyvetu tak dlouho, dokud není dosaženo konstantní hodnoty absorbance. Po ukončeném měření absorbance se přepnou trojcestné kohouty a páry rtuti jsou z průtokové absorpční kyvety vedeny do vychytávací trubice, aby nedocházelo ke kontaminaci ovzduší. Po vychytání rtuti (nulová absorbance) se trojcestné kohouty přepnou do původní polohy, promývací vsuvka se vyjme, opláchne vodou a čerpadlo vypne. Stejným způsobem jako vzorky vody se měří kalibrační roztoky a roztok pro slepé stanovení.

9. Výpočet výsledků a jejich vyjadřování

Sestrojí se kalibrační křivka a vypočítá rovnice lineární kalibrační funkce.

Koncentrace rtuti c_{Hg} ve vzorku v $\mu\text{g l}^{-1}$ se vypočte podle vzorce:

$$c_{\text{Hg}} = [(A - A_s) \cdot V_M] / b \cdot V_p$$

kde A je absorbance vzorku vody, A_s absorbance roztoku pro slepé stanovení,

b směrnice kalibrační křivky v $1 \mu\text{g}^{-1}$,

V_p objem vzorku použitý k přípravě měřeného roztoku v ml,

V_M objem měřeného roztoku v ml.

Výsledky se uvádějí v $\mu\text{g l}^{-1}$ a zaokrouhlují na $0,1 \mu\text{g l}^{-1}$, např. $0,6 \mu\text{g l}^{-1}$, $1,0 \mu\text{g l}^{-1}$ Hg.

III. Metoda pro stanovení rtuti ve vodách po zkoncentrování amalgamací

Metoda byla vypracována především na základě ČSN EN 12338 Jakost vod – Stanovení rtuti. Je českou verzí evropské normy EN 12338; 1998. Metoda je vhodná ke stanovení rtuti v podzemních, povrchových i odpadních vodách v koncentracích od $0,01 \mu\text{g l}^{-1}$ do $1 \mu\text{g l}^{-1}$.

1. Princip metody stanovení rtuti po redukci chloridem cínatým se zkoncentrováním amalgamací

Rtuť přítomná ve vzorku se redukuje na elementární formu roztokem SnCl_2 , a poté se vede proudem inertního nosného plynu, příp. vzduchu, přes velký povrch ušlechtilého kovu na který se adsorbuje. Rtuť se uvolní rychlým ohřátím adsorbentu a proudem nosného inertního plynu vede do absorpční kyvety, kde se měří absorbance při $253,7 \text{ nm}$.

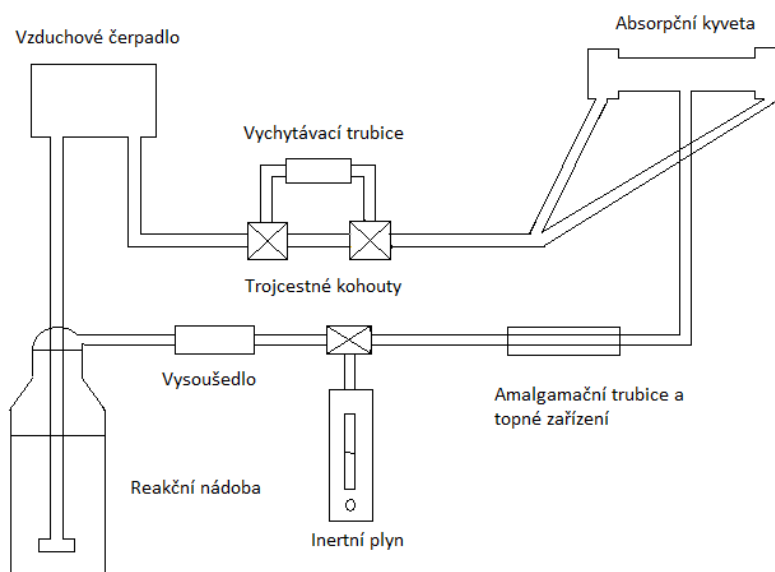
2. Chemikálie

- Při stanovení se používají chemikálie analytické čistoty s nejnižším možným obsahem rtuti. Pracovní roztoky a kyseliny se připravují stejným způsobem a o stejné koncentraci jako v kap. II.3. Kalibrační roztoky rtuti se připraví tak, aby odpovídaly koncentraci rtuti v měřených roztocích v rozsahu $0,05 \mu\text{g l}^{-1}$ až $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$.

3. Přístroje a pomůcky

Měření se provádí na atomovém absorpčním spektrometru s přídatným zařízením jako v kap. II.4., pouze navíc je

- amalgamační trubice - křemenná trubice o délce 13 cm s vsunutou 1 cm vrstvou gázy ze zlata a platiny. Je umístěna do topného zařízení ovládaného ze zdroje. Au/Pt gáza je v trubici uchycena bodovým zúžením křemenné trubice a smotky z křemenné vaty. Kromě gázy lze alternativně použít náplň vychytávacích trubic – křemelinu pokrytou zlatem.
- topné zařízení - odporová topná cívka. Amalgamační trubice ($\phi 5 \text{ mm}$) je v délce 2 cm omotána 2 x 9 závitů odporového drátu (průřez $0,5 \times 0,12 \text{ mm}$, $17,9 \Omega \text{ m}^{-1}$) a uchycena v bezpečnostním krytu. Zdroj umožňuje nastavit délku topného impulsu a příkon do topného elementu. Po zapnutí zdroje topení se nastaví ovladače času a výkonu (teploty) na příslušné hodnoty. Při provádění ohřevu se pak sepne spínač puls.



Obr.4. Schéma zařízení pro stanovení rtuti redukcí SnCl_2 se zkoncentrováním amalgamací.

4. Úprava a odebírání vzorku

Vzorky se odebírají a upravují podle postupu uvedeného v kap. II.5. a II.7.

5. Postup zkoušky

Před měřením se nastaví parametry atomového absorpčního spektrometru a seřídí absorpční kyveta jako v kap. II.8. Pokud byl vzorek mineralizován KMnO_4 , odbarví se přidávkem $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ jako v kap. II.8. Potom se přidají 2 ml roztoku chloridu cínatého, nádobka se okamžitě uzavře promývací vsuvkou a zapne se čerpadlo. V uzavřeném systému s cirkulačním čerpadlem prochází vzduch reakční nádobou, přes vysoušedlo, amalgamační trubici a absorpční kyvetu. Po 4 min. zkoncentrování se vyjme promývací vsuvka, opláchně vodou, vypne se čerpadlo a přepnou se trojcestné kohouty. Otevře se přívod argonu a po ustálení průtoku 100 ml min^{-1} se zachycená rtuť uvolní rychlým 30 s zahřátím náplně na 600°C spuštěním topného zařízení. Rtuťové páry se převedou proudem inertního plynu do absorpční kyvety a měří se výška, příp. plocha píku. Z průtokové absorpční kyvety jsou páry rtuť vedeny do vychytávací trubice, aby nedocházelo ke kontaminaci ovzduší. Před dalším měřením může být amalgamační trubice z vnějšku chlazená stlačeným vzduchem. Po ochlazení trubice se průtok argonu vypne a trojcestné kohouty přepnou do původní polohy. Stejným způsobem jako vzorky vody se měří kalibrační roztoky a roztok pro slepé stanovení.

6. Výpočet a vyjadřování výsledků

Při výpočtu se postupuje stejně jako v kap. II.9. Výsledky se uvádějí v $\mu\text{g l}^{-1}$ a zaokrouhlují na $0,01 \mu\text{g l}^{-1}$.

IV. Použitá literatura

1. Emteborg H.: Speciation of mercury in environmental and biological matrices at ultratrace levels based on capillary gas chromatography and atomic spectrometry. Umea University, Sweden (1995).
2. Welz B.: Atomabsorptionsspektrometrie. Wiley-VCH Weinheim (1997).
3. Ikingura J.R., Akagi H.: Methylmercury production and distribution in aquatic systems. Science of the Total Environment 234, 109-118 (1999).
4. Fournier F., Karasov W.H., Kenow K.P., Meyer M.W., Hines R.K.: The oral bioavailability and toxicokinetics of methylmercury in common loon (*Gavia immer*) chicks. Comparative Biochemistry and Physiology Part A 133, 703-714 (2002).
5. Cossa D., Sanjuan J., Cloud J., Stockwell P. B., Corns W. T.: Automated technique for mercury determination at sub-nanogram per litre levels in natural waters. J. Anal. Atom. Spectrometry 10, 287- 291 (1995).
6. Odvětvová technická norma vodního hospodářství Jakost vod-stanovení rtuťi jednoúčelovým atomovým absorpčním spektrometrem. TNV 75 7440 (1998).
7. Sinemus H.W., Kleiner J., Radziuk B., Stabel H.H.: Automatisierung und Optimierung der Quecksilberbestimmung mittels Kopplung von Kaltdampf-Technik und ETAAS. CANAS 93, 657-664 (1993).
8. Česká technická norma, Jakost vod – Stanovení rtuťi. ČSN EN 1483 (1997).
9. Česká technická norma, Jakost vod – Stanovení rtuťi – Metody po zkoncentrování amalgamací. ČSN EN 12338 (1999).
10. Segade S. R., Tyson J. F.: Determination of inorganic mercury and total mercury in biological samples by flow injection-cold vapor-atomic absorption spectrometry using sodium borohydride as the sole reducing agent. Spectrochim. Acta Part B 58, 797-807 (2003)
11. Kunert I., Komárek J., Sommer L.: Determination of mercury by atomic absorption spectrometry with cold vapour and electrothermal techniques. Anal. Chim. Acta 106, 285-297 (1979).

12. Chang M. J., McDaniel R. L., Naworal J. D., Self D. A.: A rapid method for determination of mercury in mainstream cigarette smoke by two-stage amalgamation cold vapor atomic absorption spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrometry* 17, 710-715 (2002).
13. Štefanidesová V., Seidlerová J., Dvorská P.: Stabilizace standardních roztoků pro stanovení rtuti metodou AAS. *Chemické Listy* 96, 117-119 (2002).
14. Li-Ping Yu, Xiu-Ping Yan: Factors affecting the stability of inorganic and methylmercury during sample storage. *Trends Anal. Chem.* 22, 245-253 (2003).
15. Komárek J., Červenka R.: Stanovení rtuti a jejích forem technikami AAS a AFS. Skripta Kurzu AAS pro pokročilé II (2006).
16. Červenka R.: Disertační práce MU (2011).

Analýza půd

Tavení vzorků, stanovení SiO₂

I. Úvodní část

1. Úvod

Při rozkladu vzorku tavením vzniká analyt a tavenina zcela odlišného fázového složení, než má původní tuhý vzorek. Navíc je proces tavení a rozpouštění taveniny doprovázen tvorbou plyných zplodin. Při tavení vznikají nové fáze s převažující krystalickou strukturou, látky sklovitého charakteru s neuspořádanou nebo mikrokrytalickou stavbou. Rozpouštění má proběhnout v jedné operaci s minimálními časovými nároky.

Tavení představuje hluboký zásah do struktury analyzovaného materiálu. Ve srovnání s původní látkou vznikají nové fáze s odlišným složením a strukturou, rozpustné ve vodě nebo snadno rozložitelné kyselinami. Podle rozpustnosti v tavenině postupně při ochlazování krystalují jednotlivé nově vytvořené sloučeniny. Utuhlá tavenina tedy nepředstavuje homogenní hmotu, ale směs krystalů často i s amorfni či kryptokrystalickou složkou. Dochází k distribuci souboru analyzovaných prvků mezi vznikající tuhé fáze. Podle režimu tavení i regulace ochlazování taveniny se dá v celém jejím objemu vytvořit sklovitá hmota s homogenní distribucí všech analyzovaných složek. Jakmile však po určité době dojde k odsakelnění, poruší se homogenita taveniny. Homogenní roztok se dá získat rozpuštěním celého objemu taveniny v kyselinách.

Proces tavení a vhodný způsob zpracování taveniny má vést k totálnímu rozrušení původní struktury vzorku a k přeměně i rezistentních tuhých látek na sloučeniny snadno rozpustné v kyselinách. Tento způsob totální destrukce tuhé fáze je i dnes aktuální, jak dokazuje stále zlepšované instrumentální vybavení automatických taviček a jejich uplatnění v analytické praxi.

2. Tavení

Tavidlo nebo směs tavidel se volí podle charakteru vzorku a především s ohledem na požadovaná stanovení. Tavení se používá pro rozklad geomateriálů, minerálních i organických půd. Vzniklá tavenina se rozpouští v kyselinách. U vzorků půd a jílu předchází tavení mineralizace organických látek na suché cestě. Jako tavidla se používají Na₂CO₃, K₂CO₃, CsCO₃, Na₂O₂, NaOH, KOH, K₂S₂O₇, LiBO₂, Li₂B₄O₇, nejčastěji však Na₂CO₃ a v poslední době též směs LiBO₂ a Li₂B₄O₇.

Tavení s alkalickými uhličitany patří v silikátové analýze k nejstarším a nejvíce oblíbeným způsobům rozkladu. Tato tavidla se osvědčila zvláště při rozbořech materiálů s vysokým obsahem oxidu křemičitého. Jako tavidla se používají v analytických laboratořích nejčastěji uhličitan sodný nebo sodnodraselný, zřídka též čistý uhličitan draselný. Uhličitan lithný nebo cesný slouží jako tavidlo pouze ve vyjimečných případech. Způsob aplikace uvedených tavidel se obvykle řídí požadavky finální analytické metody. Jednotlivá tavidla se liší teplotou tání, což souvisí nejen s jejich specifickými účinky, ale též s teplotou termické disociace tavidla.

Při termickém rozkladu se uvolňuje alkalický oxid a oxid uhličitý:



Uhličitan lithný, podobně jako cesný, začíná odštěpovat oxid uhličitý již při 600 °C, uhličitan sodný nad 900 °C a draselný až při 950 °C. V atmosféře oxidu uhličitého se tyto hodnoty posouvají k vyšším teplotám.

Teplotná stabilita tavidla ovlivňuje nejen volbu nádob, ale i efektivitu celého procesu. Uvolněný alkalický oxid zvyšuje korozi obvykle používaných platinových kelímků. Koroze se též zvyšuje s rostoucí teplotou taveniny i dobou rozkladu. Míra koroze souvisí též se složením analyzovaného materiálu i s přídatkem oxidačních činidel k tavidlu. Při zvýšeném podílu oxidantů se tavení provádí v niklových kelímcích nebo miskách. Tavení s přídatkem alkalického dusičnanu snižuje, zvláště v plameni plynového hořáku, redukci a interakci sloučenin železa se stěnami platinových nádob (legování).

Protože většina tavidel obsahuje i zájmové prvky (Na, K, Cs), volí se také jako tavidlo boritany. Boritany představují tavidla se specifickými vlastnostmi, která nemají oxidační účinky. Boritany tají za vzniku silně viskózních tavenin, které podle způsobu chlazení tuhnou na krystalické nebo sklovité struktury, na rozdíl od uhličitanů s lehce tekutými taveninami. Proces tavení probíhá v krátkém časovém intervalu a zpravidla nedochází k uvolňování plynů. Převedení taveniny do roztoku však trvá déle než u uhličitanů, protože boritany více přilnou ke stěnám nádob a v kyselinách se rozpouštějí pomaleji. Tavení s boritany litnými je nyní hodně rozšířené. Při rozkladu tavením je limitujícím faktorem nízká návážka, která vyžaduje dokonalou homogenizaci a velmi jemné pomletí tak, aby vzorek prošel sítem o délce oka 0,25 mm. Postup rozkladu půd tavením s boritanem lithným je zahrnut do souboru ISO norem (ISO 14869-2). Je určen pro následné stanovení Na, K, Mg, Ca, Ti, Mn, Fe, Al a Si. Přítomné organické látky se odstraňují, aby se zamezilo redukci na kovy. Vzorek se taví se směsí tetraboritanu lithného a metaboritanu lithného a tavenina se rozpustí ve zředěné kyselině dusičné.

Spalování organických látek ve 200 mg vzorku probíhá v kelímcích umístěných do pece s postupným zvyšováním teploty na 450 °C v průběhu 1 hod a při této teplotě 3 hod. Následné tavení vzorku se provádí v platinovém nebo grafitovém kelímku s 5-7 násobkem směsi tetraboritanu lithného a metaboritanu lithného (1+4) při 1 000 - 1 100 °C do roztavení boritanů a rozpuštění vzorku po dobu asi 10-30 min. Přednost je dávana kelímkům ze slitiny platiny a zlata (95:5). Teplota tání $\text{Li}_2\text{B}_4\text{O}_7$ je 915 °C a LiBO_2 845 °C. Tavenina se rozpouští ve 200 ml 0,5 mol l^{-1} kyseliny dusičné za intenzivního míchání (zpravidla 20-30 min). Roztok je stálý nejdéle 3 dny, později může docházet k hydrolyze nebo polymeraci a vysrážení.

3. Nádoby z platiny

Platinové kelímky a misky patří k vybavení laboratoří. Teplota tání čisté platiny je 1772 °C. Materiál nádob obsahuje kromě platiny vždy příměs ostatních platinových kovů, zejména palladia a rhodia. Stejně kelímky a misky slouží bez jakékoliv úpravy jejich povrchu a struktury analytikům po dobu několika generací. Ale i takový rezistentní materiál se v dlouhodobé časové periodě mění. Mikrostruktura nádob závisí na technologii jejich výroby a při aplikaci různých technik rozkladu podléhá však pozvolna zjevné i skryté destrukci. Při střídavém zahřívání na vysoké teploty materiál rekrystalizuje a stěny se stávají poréznější. To umožňuje průnik tavenin i roztoků intergranulárními cestami hlouběji do materiálu jejich stěn. Míra rekrystalizace se dá omezit vnášením tzv. disperzoidů. Příklad ve formě kovového zirkonia k platině se technologickým zpracováním převádí na oxid a rozptyluje do intergranulárního prostoru. Tím se nejen brzdí rekrystalizace materiálu, ale též se zlepšují jeho mechanické vlastnosti. Přitom se zabraňuje deformaci stěn opakovanými teplotními změnami. Podobně působí i příměs iridia. Během dlouhodobého používání v analytických laboratořích jsou platinové misky i kelímky narušovány legováním nečistot a jejich difuzí do hlubších vrstev. Nádoby se tak stanou hlavním zdrojem kontaminantů, které postupně přecházejí do reakční směsi. Např. v kelímcích, ve kterých se rozkládají silikáty kyselinou fluorovodíkovou proniká tato kyselina intergranulárním prostorem rekrystalovaných nádob dovnitř stěn. Tyto nádoby nejsou, ani po důkladném vyčištění, vhodné pro stanovení submiligramových množství fluoridů. Ani po několikanásobném čištění platinové nádoby

tavením s hydrogensíranem draselným a po opakovaném loužení vyžíhaného kelímku ve zředěné kyselině chlorovodíkové neklesá obsah legovaného železa ve stěnách tak, aby bylo možné stanovení jeho stopového množství.

Použité platinové nádoby se nesmí čistit kyselinou chlorovodíkovou s přídavkem oxidačních činidel. Přitom se uvolňuje aktivní chlor podobně jako při působení lučavky královské. V analytických laboratořích se pro čištění nádob obvykle používá zředěná kyselina chlorovodíková po periodickém žíhání kelímku nebo misky v oxidační atmosféře. Míra znečištění nádob závisí na způsobu jejich předchozího použití. Po rozborech značně komplikovaného materiálu, kde se kombinuje kyselinový rozklad s tavením nerozloženého podílu, je čištění náročnější. Účinná je i tavenina uhličitanu sodného s tetraboritanem sodným v hmotnostním poměru (3+1), která rozpouští oxidické filmy na stěnách platinových nádob. Rychlejší, ale ne vždy účinný, je hydrogensíran draselný. Míra koroze stěn kelímku silně závisí na jejich kvalitě. Ztráta hmotnosti nádoby činí řádově desítky miligramu platiny. Zvyšuje se s dobou interakce vzorku s nádobou, s agresivitou tavidla i teplotou tavení. Alkalicko-oxidační tavidla (uhličitan sodný nebo draselný s přídavkem alkalického dusičnanu nebo peroxidu sodíku) atakují stěny nádob zvláště při prodloužené reakční době. Musí se kontrolovat teplota taveniny a snižovat reakční dobu na nezbytné minimum. Tavení s alkalickými hydroxidy vede k destrukci platinových nádob, a proto je nepřijatelné.

II. Stanovení SiO_2 v půdách a silikátech

1. Princip

Navážený vzorek se rozloží vytavením s uhličitanem sodným. Tavenina se vylouží vodou, rozpustí ve zředěné kyselině chlorovodíkové, oxid křemičitý se vyloučí odpařením k suchu a stanoví vážkově. Před rozkladem půd tavením se nejprve spálí v peci organické látky.

Stanovení oxidu křemičitého má za základ vylučování gelu kyseliny křemičité dehydratací z roztoku kyseliny chlorovodíkové. Vyloučený podíl kyseliny křemičité, ve formě gelu $\text{SiO}_2 \cdot x \text{H}_2\text{O}$, se odfiltruje. Sraženina v platinovém kelímku se po vysušení a vyžíhání převede na oxid křemičitý v tzv. „surovém stavu“ a ten se v kelímku zváží.

Oxid křemičitý se odstraní odkouřením s kyselinou fluorovodíkovou a sírovou za zvýšené teploty ve formě těkavého fluoridu křemičitého a po vyžíhání se kelímek s odparkem opět zváží. Z rozdílu hmotností je zjištěna hmotnost přečištěného oxidu křemičitého, která se použije k výpočtu jeho obsahu v analyzovaném vzorku.

2. Chemikálie

- Kyselina chlorovodíková konc., 1+1, 1%
- Kyselina sírová zředěná 1+4
- Kyselina fluorovodíková konc.
- Uhličitan sodný bezvodý
- Dusičnan sodný

3. Provedení

1 g vzorku se naváží do platinového kelímku. Jedná-li se o jíl, opatrně se vyžihá na Mékerově kahanu za účelem odstranění organických látek. Ve vzorcích půd se spálí organické látky v peci. U živců, pegmatitů a vyvřelých hornin je žíhání vzorků zbytečné. Po vychladnutí se ke vzorku přidá 10 g uhličitanu sodného a 0,1 g dusičnanu sodného. Obsah kelímku se důkladně promíchá skleněnou tyčinkou nebo platinovým drátkem a převrství malým množstvím (0,5 g) uhličitanu sodného. Kelímek se přikryje platinovým víčkem a pozvolna se zahřívá v plameni Mékerova kahanu nebo v elektrické peci, až dojde k natavení směsi. Pak se

teplota zvýší (900-950 °C) a obsah kelímku se úplně roztaví. Po ukončení vývoje reakčních plynů se tavenina udržuje za občasného promíchávání krouživým pohybem v tekutém stavu a na závěr rozkladu se opět krouživým pohybem přenesou na stěnu kelímku.

Pro stanovení obsahu oxidu křemičitého a hlavních složek se po skončeném tavení kelímek nechá vychladnout, utuhlá tavenina se i s kelímkem přenesou do porcelánové odpařovací misky a vyluhuje horkou vodou. Po úplném rozpadu taveniny se kelímek vyjme, opláchne a pod sklíčkem se přidává konc. kyselina chlorovodíková, až roztok přestane šumět, v nadbytku ještě asi 5 ml. Rychlost rozpouštění závisí na dokonalém rozpadu taveniny. Kelímek se přežhne a případně vzniklý oxidický modrošedý nálet na stěnách vyžíhaného kelímku se rozpustí malým množstvím kyseliny chlorovodíkové a přidá se k roztoku v odpařovací misce. Tento roztok se zahřeje, aby se vypudil oxid uhličitý a po opláchnutí víčka se odpaří na vodní lázni, pískové lázni nebo pod infralampou do sucha. Odparek se ovlhčí konc. kyselinou chlorovodíkovou, vzniklé krystaly se rozdrtí a obsah misky se znovu odpaří do sucha.

Miska s odparkem se vloží do sušárny, kde se ponechá při teplotě 110 °C asi půl hodiny. Po vychladnutí se odparek ovlhčí asi 5 ml konc. kyseliny chlorovodíkové, nechá stát 5-10 minut, přilije se asi 100 ml horké vody a důkladně promíchá tyčinkou. Asi po 5-10 minutách se odfiltruje vyloučený oxid křemičitý (filtrem střední hustoty), který se promyje 3x dekantací horkým 1% roztokem kyseliny chlorovodíkové a nakonec na filtru důkladně horkou vodou. Filtrát se jímá do 250 ml odměrné baňky. Filtr s vyloučeným oxidem křemičitým se spálí v původně použitém platinovém kelímku, který byl po vyčištění přežhán a zvážen. Kelímek se zakryje cca z poloviny platinovým víčkem a filtrační papír se zpopelní nejprve nad oxidačním plamenem Mékerova kahanu a poté se zpopelnění filtračního papíru a vyžhání sraženiny dokončí žháním 2-4 hodiny v elektrické peci při 1000 °C. Po vychladnutí v exsíkátoru se kelímek s SiO₂ zváží. Žhání a vážení se opakuje do dosažení konstantní hmotnosti. Zjištěná hmotnost se zaznamená.

K vyžíhané sraženině v kelímku se přidají 2 ml kyseliny sírové (65%) a 5 ml kyseliny fluorovodíkové (38%) a kelímek se zakryje víčkem. Po rozpuštění sraženiny se reakční směs zvolna odkouří na topné desce nebo pískové lázni k suchu, kelímek s odparkem se opatrně přežhne nad oxidačním plamenem Mékerova kahanu, až ustane vývoj plynných reakčních produktů a vyžhání se dokončí v elektrické peci při 1200 °C do konstantní hmotnosti. Po vytemperování na laboratorní teplotu v exsíkátoru se kelímek se zbytkem zváží a zjištěná hmotnost se zaznamená.

4. Výpočet

Obsah SiO₂ se vypočítá v procentech podle

$$w(\text{SiO}_2) = 100 \cdot m_s/m_v$$

kde $w(\text{SiO}_2)$ je obsah SiO₂ ve vzorku (%)
 m_s hmotnost SiO₂ v kelímku (g)
 m_v hmotnost vzorku (g)

III. Použitá literatura

1. Křesťan V. a autorský kolektiv: Analýza skelných materiálů a surovin pro jejich výrobu. Práh (2011).
2. Weiss D. a kol.: Metody chemické analýzy silikátových hornin. ÚÚG Praha (1973).
3. Weiss D. a kol.: Metody chemické analýzy nerostných surovin. ÚÚG Praha (1983).
4. Zbírál J. a kol.: Jednotné pracovní postupy. Analýza půd II. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Brno (2011).

Stanovení rizikových prvků v půdách

I. Úvodní část

1. Úvod

Do skupiny cizorodých látek v životním prostředí se zahrnují v zemědělských půdách tzv. rizikové prvky, mezi které patří arsen, kadmium, kobalt, chrom, měď, rtuť, thalium, molybden, nikl, olovo, zinek a někdy i vanad a beryllium. Jsou často označovány jako těžké kovy nebo potenciálně nebezpečné prvky.

2. Stanovení celkových obsahů rizikových prvků

Pro stanovení celkových obsahů rizikových prvků se používají rozklady vzorků, které probíhají zpravidla v oxidačním prostředí. Tím dojde k mineralizaci organických látek. Mineralizace probíhá spalováním organických látek na suché cestě nebo za použití kyseliny dusičné na mokré cestě. Silikáty se odstraní odkouřením s kyselinou fluorovodíkovou. Fluoridy se převedou do roztoku kyselinou boritou. Tento postup má řadu variant. Rozklad může být prováděn v otevřeném nebo uzavřeném systému, s klasickým nebo mikrovlnným ohřevem. Použit lze také kyselinu chloristou v kombinaci s kyselinou fluorovodíkovou. Kromě toho se používá také tavení např. s boritanem lithným a rozpuštění taveniny v kyselinách. Tavení se provádí po předchozí mineralizaci na mokré cestě. V ISO normách jsou zahrnuty pouze dva postupy, rozklad se směsí HF-HClO₄ a tavení se směsí Li₂B₄O₇-LiBO₂.

Stanovení skutečných celkových obsahů rizikových prvků těmito postupy je poměrně málo časté. Důvodem je náročnost postupů rozkladu vzorků půd, ale také to, že celkový obsah nevypovídá o mobilitě stanovovaných prvků v půdě. Celkový obsah má určitý vliv na rozpustnost a množství přístupných obsahů sledovaných kovů rostlinami, ale i jako ukazatel toxicity půd. Celkové (totální) obsahy jsou významné pro stanovení jejich zásoby v půdě s možností posouzení jejich potencionálního uvolnění. Toto stanovení má význam při zjišťování biochemické akumulace sledovaných kovů v půdě.

3. Extrakce půd pro stanovení celkových obsahů rizikových prvků

Častější je použití metod stanovení uzančních celkových obsahů rizikových prvků, tzv. pseudototálních obsahů. Tyto obsahy jsou dobrým ukazatelem kontaminace půdy. Z hlediska provedení jsou postupy stanovení méně pracné a řada z nich je zahrnuta do souboru norem. Jedním takovým celosvětovým standardním postupem je extrakce půdy horkou lučavkou královskou. V ČR se pro stanovení indikačních mezí používá extrakt 2 mol l⁻¹ HNO₃ za laboratorní teploty a pro stanovení hraničních hodnot extrakce půdy lučavkou královskou za varu. Metoda extrakce 2 mol l⁻¹ HNO₃ tak plní funkci screeningové metody. Frakce, která se těmito postupy z půdy neuvolní do roztoku, obsahuje nepřístupné formy sledovaných prvků. Výhodou extrakčních postupů je použití poměrně velké navážky a běžná úprava vzorků bez nutnosti jemnějšího mletí vzorků.

4. Extrakce půd pro stanovení mobilních obsahů rizikových prvků

Pro odhad přechodu rizikových prvků z půdy do potravního řetězce, do spodních vod apod. se často doporučuje stanovení jejich mobilní resp. snadno mobilizovatelné frakce. Pro určení aktuální mobility rizikových prvků se využívají extrakce se zředěnými roztoky neutrálních solí (chlorid vápenatý, dusičnan sodný, dusičnan amonný), voda za normální teploty nebo za varu, zředěné roztoky chelatačních činidel (kyselina diethylentriaminopentaoctová-DTPA, EDTA) a zředěné roztoky slabých kyselin (kyselina octová, kyselina citronová) a 0,43 mol l⁻¹ HNO₃. Koncentrace stanovovaných prvků

v extraktu je nízká a stanovení vyžaduje použití citlivých analytických metod (ET-AAS, ICP-MS). Použité chemikálie musí být vysoce čisté, protože zvláště při vyšší koncentraci extrakčního činidla (1 mol l⁻¹ NH₄NO₃) může být obsah některých prvků v chemikáliích stejný i vyšší než obsah extrahovaný z půdy. Nejpropracovanější postup je extrakce půd roztokem dusičnanu amonného. Často se používá i extrakce vodou, roztokem chloridu vápenatého a roztokem 0,43 mol l⁻¹ HNO₃.

II. Úprava půdních vzorků

Pro fyzikálně-chemické analýzy se vzorky upravují sušením, drcením, proséváním, dělením a mletím.

1. Princip

Ze vzorku se odstraní větší kameny a části rostlin. Pak se vzorek suší a v průběhu sušení se postupně rozmělnují půdní agregáty. Suchý vzorek se následně prosévá přes síto o velikosti ok 2 mm nejlépe na půdním deaglomerátoru tak, aby nedocházelo k drcení skeletu. Vzorek se pak v případě potřeby reprezentativně rozdělí. Získaný laboratorní vzorek se použije pro jednotlivé navážky u požadovaných stanovení. Pokud je pro některá stanovení potřebná navážka menší než 2 g, vzorek se upraví mletím tak, aby beze zbytku prošel sítem s velikostí ok 0,25 mm, příp. 0,15 mm. Takto se připraví vzorky jemnozeme I a II.

2. Pomůcky a přístroje

- sušárna
- půdní prosévačka
- achátová miska
- síto s 2 mm otvory, u vzorků humusového horizontu lesních půd se použije síto o velikosti ok 1 mm
- síto o délce ok 0,25 mm, příp. 0,15 mm.

3. Postup

Odebraný půdní vzorek se vysuší rozprostřený do tenké vrstvy (max. 5 cm, lépe do 2 cm) na suchém a větraném místě. Vzorek nesmí být při sušení kontaminován. Nesmí se sušit na slunci a teplota nesmí přesáhnout 40 °C. Kromě vysušení na vzduchu je možnost sušení v sušárně s nucenou cirkulací vzduchu při teplotě 40±2 °C nebo lyofilizací. V průběhu sušení je třeba půdní agregáty rozmělnovat ručně nebo za pomoci dřevěné paličky. Při lyofilizaci se agregáty rozpadnou bez rozmělnování.

Jemnozeme I

Z vysušeného půdního vzorku se odstraní větší částice skeletu, rostlinné a živočišné zbytky a vzorek se potom opatrně rozmělní v půdní prosévačce nebo ručně tak, aby nebyly rozdraceny částice skeletu. Částice skeletu větší jak 2 mm se oddělí prosátím sítem o velikosti otvorů 2 mm. Větší části skeletu se odstraňují již před zahájením sušení. Zvláště u těžkých jílovitých půd je nutné rozrušit hrudky ještě před úplným vysušením vzorku.

Jemnozeme II

Z jemnozeme I se oddělí reprezentativní část o hmotnosti nejméně 5 g. Z tohoto podílu vzorku se pečlivě vyberou zbytky rostlinného a živočišného původu. Vzorek se potom rozetře v achátové misce tak, aby prošel beze zbytků sítem o délce strany oka 0,25 mm, příp. 0,15 mm.

K zamezení kontaminace vzorku je vhodné pro rozmělnění používat kulové nebo vibrační keramické příp. achátové mlýnky. Upravené vzorky se mohou skladovat

v papírových sáčcích nebo plastových či skleněných uzavřených lahvích se širokým hrdlem na suchém a dobře větraném místě mimo dosah slunečního záření po dobu 5 i více let (podle stanovovaných parametrů).

III. Extrakce půd 2 mol l⁻¹ HNO₃ pro stanovení celkových obsahů rizikových prvků

1. Rozsah použití

Postup je určen pro vzorky půd, sedimentů a kalů. V mineralizátu je možné stanovit všechny zmíněné rizikové prvky.

2. Princip

Upravený vzorek se extrahuje 2 mol l⁻¹ HNO₃ za laboratorní teploty.

3. Přístroje a pomůcky

- třepačka
- stříkačkové membránové filtry (velikost ok 0.45 μm)
- skleněná pipeta o objemu 10 ml
- polypropylenové centrifugační zkumavky o objemu 15 ml
- polypropylenové zkumavky o objemu 10 ml pro uchovávání vzorku

4. Chemikálie

- kyselina dusičná, koncentrovaná, 65% (m/m), c = 14,4 mol l⁻¹, ρ(HNO₃) = 1,4 g cm⁻³
- kyselina dusičná, zředěná, c(HNO₃) = 2 mol l⁻¹. 139 ml koncentrované kyseliny dusičné se zředí vodou na výsledný objem 1000 ml.

5. Postup

Do centrifugační zkumavky se naváží (1,00±0,01) g vzorku a přidá se pipetou 10 ml 2 mol l⁻¹ HNO₃. Po důkladném protřepání se vzorek extrahuje 60 min na horizontální třepačce při frekvenci 180 ot min⁻¹. Po extrakci se vzorek centrifuguje při 6000 ot min⁻¹ po dobu 10 min. Supernatant je následně filtrován přes stříkačkový membránový filtr do čisté a suché plastové zkumavky o objemu 10 ml, přičemž první 2 ml filtrátu se použijí pro propláchnutí filtru.

IV. Extrakce půd 1 mol l⁻¹ NH₄NO₃ pro stanovení mobilních obsahů rizikových prvků

1. Rozsah použití

Postup je určen pro vzorky půd. V extraktu je možné stanovit mobilní frakce všech zmíněných rizikových prvků.

2. Princip

Extrakce půd roztokem 1 mol l⁻¹ NH₄NO₃ probíhá při vlastním pH půdy. Po ustavení rovnováhy mezi půdou a extrakčním roztokem se stanovuje obsah jednotlivých prvků v extraktu pomocí ICP-MS.

3. Přístroje a pomůcky

- třepačka
- stříkačkový membránový filtr
- skleněná pipeta o objemu 10 ml
- polypropylenové centrifugační zkumavky o objemu 15 ml

- polypropylenové zkumavky o objemu 10 ml pro uchovávání vzorku

4. Chemikálie

- dusičnan amonný, extrakční roztok, $c(\text{NH}_4\text{NO}_3) = 1 \text{ mol l}^{-1}$. 80,04 g NH_4NO_3 se rozpustí v asi 800 ml vysoce čisté vody a objem se upraví na 1000 ml.
- kyselina dusičná, koncentrovaná, 65% (m/m), $c = 14,4 \text{ mol l}^{-1}$, $\rho(\text{HNO}_3) = 1,4 \text{ g cm}^{-3}$

5. Postup

Do centrifugační zkumavky se naváží ($4,00 \pm 0,01$) g vzorku a přidá se pipetou 10 ml 1 mol l^{-1} NH_4NO_3 . Po důkladném protřepání se vzorek extrahuje 120 min na horizontální třepačce při frekvenci 180 ot min^{-1} . Po extrakci se suspenze centrifuguje při 6000 ot min^{-1} po dobu 10 min. Supernatant je následně filtrován přes stříkačkový membránový filtr do čisté a suché plastové zkumavky o objemu 10 ml, přičemž první 2 ml filtrátu se použijí pro propláchnutí filtru. Aby se zamezilo ztrátám analytů sorpcí na stěny nádoby, je potřeba filtrát okyselit přídatkem koncentrované kyseliny dusičné v množství 0,1 ml na 10 ml extraktu.

V. Stanovení kovů metodou ICP-MS

1. Úvod do ICP-MS

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) je moderní metoda prvkové analýzy s uplatněním v různých oblastech analytické chemie. V klasickém uspořádání se přístroj skládá ze zmlžovacího systému, iontového zdroje, kónusů, iontové optiky, hmotnostního analyzátoru a detektoru. Jediněčný je především způsob ionizace analytů, který je pro oblast hmotnostní spektrometrie velmi netypický. Indukčně vázané plazma (ICP) je velmi silný ionizační zdroj, kde dochází k rozrušení všech původních vazeb ve vzorku a tím i ztrátě informací o struktuře sloučenin. Zdrojem iontů v ICP-MS je argonové plazma o teplotě $6000 - 10000 \text{ }^\circ\text{C}$, které je udržováno pomocí střídavého vysokofrekvenčního magnetického pole tzv. indukční vazbou. Více informací o ICP a ICP-MS lze nalézt např. ve sborníku 5. kurzu ICP spektrometrie (ISBN 9788090373280), který je dostupný v Knihovně univerzitního kampusu PřF MU.

Zjednodušeně lze princip stanovení popsat následujícím způsobem. Kapalný vzorek je čerpán peristaltickým čerpadlem ke zmlžovači, který z kapalného vzorku vytváří aerosol. Aerosol dále prochází přes mlžnou komoru, kde dochází k odstranění větších částic (aerosol by měl obsahovat maximum částic s velikostí pod $1 \mu\text{m}$). Následně vstupuje do ICP, kde velmi rychle dochází k odpaření vody, atomizaci molekul a ionizaci atomů především do stavu M^+ . Ionty z ICP procházejí přes 2-3 vzorkovací kónusy do vakuové oblasti hmotnostního spektrometru a pomocí iontové optiky jsou vedeny do hmotnostního analyzátoru. V hmotnostním analyzátoru (obvykle jednoduchý kvadrupól) jsou jednotlivé ionty rozděleny dle poměru hmotnost/náboj a detekovány elektronásobičem.

Z hlediska analytických vlastností se ICP-MS vyznačuje především možností stanovení naprosté většiny prvků periodické tabulky a to včetně i pro atomovou spektrometrii netypických prvků, jako jsou halogeny (vyjma fluoru), síra či fosfor. Další důležitou vlastností je možnost stanovení více prvků vedle sebe v jednom analytickém kroku, který netrvá obvykle déle, než několik minut. Spolu s atomovou absorpční spektrometrií s elektrotermickou atomizací (ETAAS) se jedná o nejcitlivější metodu prvkové analýzy s mezemi detekce v oblasti ng l^{-1} . Nicméně existují jistá omezení ohledně množství a složení matrice vzorků, která může významně ovlivnit kvalitu výsledků. V prvé řadě je to přítomnost nerozpuštěných látek, které mohou blokovat zmlžovač a ovlivňovat tvorbu aerosolu. Toto je kritické především u koncentrických zmlžovačů, použitím např. žlábkových zmlžovačů (Babingtonův typ) se riziko blokace minimalizuje. Významné problémy mohou způsobit také

vyšší koncentrace rozpuštěných látek ve vzorku. Matriční prvky společně s plazmovým plynem (Ar) mohou vytvářet tzv. polyatomické ionty, které mohou interferovat na hmotách analytů. Tyto interference se nazývají spektrální. Jako příklad lze uvést ion $^{75}\text{ArCl}^+$, který může navyšovat signál iontu $^{75}\text{As}^+$. Dalším problémem spojeným s vysokými koncentracemi rozpuštěných látek jsou tzv. nespektrální interference. V tomto případě jde o ovlivnění signálu stanovovaných analytů prostřednictvím různých jevů, které však nesouvisejí s hmotnostními překryvy iontů. Matrice může ovlivnit míru ionizace analytů v ICP, prostorové rozložení iontů v iontovém paprsku a pod. V neposlední řadě může docházet k depozici matrice na vzorkovacích kónusech a iontové optice, což způsobuje přístrojový drift.

Z praktického hlediska je vhodné analyzovat roztoky neobsahující žádné nerozpuštěné látky a rozpuštěné látky anorganické povahy do koncentrace 1 g l^{-1} . Vzhledem k tomu, že v atomové spektrometrii se analyzují většinou kyselé roztoky, upřednostňuje se pro konzervaci vzorků a rozklady organických či biologických materiálů kyselina dusičná. Kyselina dusičná je složená z prvků, které se přirozeně vyskytují ve vodě a okolní atmosféře (H, N, O). Na rozdíl od jiných kyselin, které ve struktuře mají atomy i jiných prvků (Cl, S, P, F) se tak snižuje riziko tvorby spektrálních interferencí. Další vlastností kyseliny dusičné je, že plazma je tolerantní k relativně vysokým koncentracím HNO_3 (až 40 %) ve srovnání s HCl (18 %), H_2SO_4 (1 %) či dokonce H_3PO_4 (0,1 %). Analýza roztoků obsahujících HF je možná pouze při použití teflonových zmlžovačů a mlžných komor, poněvadž HF reaguje se skleněnými součástmi zmlžovacího systému.

2. ICP-MS přístroj a jeho nastavení

Měření budou prováděna na přístroji Agilent 7500ce ICP-MS. Jde o kvadrupólový hmotnostní spektrometr, jehož součástí je kolizně reakční cela, která slouží k redukci spektrálních interferencí. Pro účely našeho měření bude použito helium jako kolizní plyn. Polyatomické ionty pocházející z matrice mají větší iontový průměr než jednoduché ionty analytů a tím i vyšší pravděpodobnost srážky s pracovním plynem v kolizní cele. Interferenty srážkami ztrácejí kinetickou energii a při správně nastavené potenciální bariéře na výstupu z cely neprocházejí interferenty dále do hmotnostního spektrometru. Nespektrální interference budou korigovány pomocí porovnávacích prvků Ge, Rh a Bi. Do kalibračních grafů se pak bude vynášet poměr signálu analytu k signálu porovnávacího prvku. Tento poměr by při dané koncentraci měl ideálně být nezávislý na složení matrice. Důležité parametry nastavení přístroje jsou shrnuty v tab.1.

3. Pomůcky

- Odměrné baňky o objemu 25 nebo 50 ml
- Automatické pipety s nastavitelným objemem v rozsahu 0,01 – 5 ml

4. Chemikálie

- kyselina dusičná, koncentrovaná, 65% (m/m), $c = 14,4 \text{ mol l}^{-1}$, $\rho(\text{HNO}_3) = 1,4 \text{ g cm}^{-3}$
- vysoce čistá voda
- kalibrační standard Astasol s koncentrací analytů Cr, Ni, Cu, As, Cd, Sb a Pb 100 mg l^{-1}
- zásobní standard porovnávacích prvků (Ge, Rh, Bi) o koncentraci 100 mg l^{-1}

5. Pracovní postup

5.1. Příprava kalibračních roztoků. Ředění vzorků

Připraví se sada kalibračních roztoků o koncentraci analytů 0-5-20-150-500 $\mu\text{g l}^{-1}$. Pro přípravu kalibračních roztoků se použije zásobní kalibrační standard o koncentraci Cr, Ni, Cu, As, Cd, Sb a Pb 100 mg l^{-1} . Kalibrační roztoky obsahují jako matici zředěnou kyselinu

dusičnou o koncentraci odpovídající 1 ml kyseliny na 100 ml roztoku. Roztok porovnávacích prvků se připraví ředěním zásobního roztoku vysoce čistou vodou na koncentraci 200 $\mu\text{g l}^{-1}$ v 50 ml odměrné baňce s přídavkem 0,5 ml kyseliny dusičné. Roztok porovnávacích prvků se přimíchává k roztoku vzorku v průběhu měření pomocí peristaltického čerpadla. Roztok po extrakci 2 mol l^{-1} HNO_3 se před měřením 10x zředí pomocí vysoce čisté vody.

Tab.1: Parametry měření

Parametr	Hodnota
Sběr signálu	
Izotop analytu/izotop porovnávacího prvku	$^{52}\text{Cr}/^{72}\text{Ge}$, $^{60}\text{Ni}/^{72}\text{Ge}$, $^{63}\text{Cu}/^{72}\text{Ge}$, $^{75}\text{As}/^{72}\text{Ge}$, $^{111}\text{Cd}/^{103}\text{Rh}$, $^{121}\text{Sb}/^{103}\text{Rh}$, $^{208}\text{Pb}/^{209}\text{Bi}$
Integrační doba na jednotlivých izotopech (1 cyklus)	0,5 s pro analyty a 0,3 s pro porovnávací prvky
Počet cyklů	5
Zmlžovací systém	
Zmlžovač	MicroMist (koncentrický zmlžovač)
Mlžná komora	Scottův typ
Teplota v mlžné komoře	2 °C
Průtok vzorku	0,4 ml min^{-1} pro roztok vzorku; 0,125 ml min^{-1} pro roztok porovnávacích prvků
Indukčně vázané plazma	
Příkon do plazmatu	1500 W
Průtok plazmového plynu (Ar)	15 l min^{-1}
Vzorkovací hloubka	8 mm
Průtok zmlžovacího plynu	0,75 ml min^{-1}
Průtok přídatného plynu	0,25 ml min^{-1}
Iontové čočky	
Extract 1	Typicky mezi 1 až 4 V
Extract 2	Typicky mezi -130 až -180 V
Omega bias-ce	Typicky mezi -16 až -30 V
Omega lens -ce	Typicky mezi 1 až 3 V
Kolizní cela	
Cell entrance	-30 V
Cell exit	-50 V
OctP RF	200 V
OctP Bias	-19 V
Průtok plynu celou (He)	5,5 ml min^{-1}
Kvadrupól a detektor	
QP focus	-10 V
QP Bias	-15 V
Ostatní parametry (rozlišení, napětí na detektoru ...)	Automatické ladění

5.2. Uvedení přístroje do chodu a vlastní analýza

Po spuštění se přístroj nechá přibližně 20 minut proplachovat 5% kyselinou dusičnou (minimálně do doby, než klesne teplota v mlžné komoře na požadované 2 °C). Poté se nastaví v dialogovém okně „tune“ parametry uvedené v tabulce č.1. Ladění napětí na iontových čočkách (především první extrakční) se provádí před každým měřením pro dosažení maximální citlivosti přes celý hmotnostní rozsah měření. Pomocí kalibračního roztoku s nejvyšší koncentrací analytů se naladí tzv. P/A faktor (detektor může pracovat v pulzně-analogovém módu, což umožňuje linearitu kalibračních křivek přes několik koncentračních řádů). Vyvolá se vytvořená metoda (obsahující mimo jiné i program peristaltického čerpadla a další parametry) a spustí analýza. Při analýze se postupuje od kalibračního standardu

s nejvyšší koncentrací po kalibrační standard s nejnižší koncentrací, následně se proměří slepé pokusy a na závěr extrakty z půd. Analýza extraktů s maticí $1 \text{ mol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$ předchází analýze extraktů s maticí $2 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$.

6. Vyhodnocení

Kalibrační závislost se sestrojí z poměru signálu analytů k signálu porovnávacího prvku. Tentýž přepočít se provede i pro signály vzorků a slepých pokusů. Pomocí kalibrační závislosti se vypočte koncentrace prvků v roztocích slepých pokusů a vzorků v $\mu\text{g l}^{-1}$. Střední hodnota koncentrace analytů v slepých pokusech se odečte od koncentrace analytů ve vzorcích. Spočte se mez detekce metody (LOD) jako trojnásobek směrodatné odchylky (SD) koncentrace analytů ve slepých pokusech a porovná s koncentracemi analytů ve vzorcích. Je-li ve vzorcích koncentrace nižší, než je hodnota LOD, dále se s hodnotou nepočítá. Koncentrace prvků po odečtení střední hodnoty slepého pokusu se přepočte na obsah prvků v půdě v jednotkách $\mu\text{g g}^{-1}$ – v úvahu se bere ředění vzorků, celkový objem a navážka vzorku. Vypočte se střední hodnota obsahu prvků ve vzorku, jeho směrodatná a relativní směrodatná odchylka (RSD). U prvků, které se nacházejí pod LOD se nahradí hodnota obsahu značkou <LOD - LOD je třeba přepočítat na $\mu\text{g g}^{-1}$.

Protokol by měl obsahovat následující informace:

1. Tabulky signálů analytů a porovnávacích prvků v kalibračních roztocích, slepých pokusech a vzorcích. Poměry signálu a vypočtené koncentrace (i pro kalibrační roztoky).
2. Parametry lineární regrese ve formě $y = ax + b$, kde parametry a a b budou vypočteny s přesností alespoň na 3 platné číslice.
3. Vypočtené střední hodnoty u slepých pokusů, jejich SD a vypočtené LOD.
4. Vypočtené střední hodnoty obsahů prvků v půdě, jejich SD a RSD.

VI. Použitá literatura

1. Zbiral J. a kol.: Jednotné pracovní postupy. Analýza půd II. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Brno (2011).
2. Zbiral J., Honsa I. a kol.: Jednotné pracovní postupy. Analýza půd I. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Brno (2010).
3. Kanický V., Otruba V., Vaculovič T., Holá M.: Sborník 5. kurzu ICP spektrometrie. Spektroskopická společnost Jana Marka Marci. Brno (2009)
4. Kuta J.: ICP-MS v analýze vzorků životního prostředí. 6. kurz ICP spektrometrie. Spektroskopická společnost Jana Marka Marci. Brno (2011)

Výluhy půd, stanovení fosforu

I. Úvodní část

1. Stanovení přístupných látek v půdě

Látky nezbytné pro výživu rostlin jsou v půdě přítomné ve formě půdního roztoku, výměnně vázané na povrchu minerálních a organických koloidů, fixované v jílových minerálech, vázané v organické hmotě, v biomase aj. Pro rostliny dostupný podíl tvoří jen malou část z celkového obsahu v půdě (od několika desetin až po 1%) a je představován hlavně živinami rozpuštěnými v půdním roztoku, poutanými v sorpčním půdním komplexu a živinami vázanými v půdě ve sloučeninách rozpustných ve slabých kyselinách nebo zásadách. Obsah se stanovuje tak, že činnost kořenového systému rostlin se nahrazuje působením vhodné chemické sloučeniny, která tyto látky extrahuje.

Těchto extrakčních roztoků je používána celá řada. Pro stanovení přijatelného fosforu např. činidlo podle Melicha 2, obsahující fluorid amonný pro zvýšení rozpustnosti forem fosforu vázaných na železo a hliník, chlorid amonný příznivě ovlivňující desorpci draslíku, hořčíku a vápníku a potřebná kyselost vyluhovacího roztoku je nastavena kyselinou octovou a kyselinou chlorovodíkovou. Tento vyluhovací roztok dobře modeluje přístupnost látek v půdě pro rostliny.

Na základě snahy o stanovení více prvků v jednom extraktu pomocí víceprvkových měřících postupů byl tento vyluhovací roztok upraven na roztok Mehlich 3, který obsahuje $0,2 \text{ mol l}^{-1} \text{ CH}_3\text{COOH}$, $0,015 \text{ mol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{F}$, $0,013 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$, $0,25 \text{ mol l}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$ a $0,001 \text{ mol l}^{-1} \text{ EDTA}$. Činidlo má lepší schopnost pufovat pH při extrakci tak, aby nedocházelo k jeho zvýšení nad 2,9, kdy již nemá přídavek fluoridu vliv na uvolňování fosforu. Fluorid amonný je zachován pro zvýšení rozpustnosti různých forem fosforu vázaných na hliník. EDTA umožňuje rozšířit použití metody i ke stanovení mědi a jiných mikroelementů. Dusičnan amonný příznivě ovlivňuje desorpci draslíku, hořčíku a vápníku. Kyselá reakce je nastavena kyselinou octovou a kyselinou dusičnou. Extrakční roztok podle Melicha 3 na rozdíl od předchozího roztoku obsahuje místo chloridu amonného a kyseliny chlorovodíkové dusičnan amonný a kyselinu dusičnou, navíc pak EDTA. Může mít nižší korozivní účinky na přístrojovou techniku a umožňuje též stanovení Cu, Zn, Fe, Al, S, Mn, B a jiných prvků. Pro jejich stanovení se využívají metody atomové spektrometrie.

2. Fosfor v půdě a jeho stanovení

V půdě je fosfor obsažen ve formách anorganických a organických. Významným přirozeným zdrojem fosforu v půdě je apatit. Zvětráváním apatitů a jiných fosfátových minerálů se uvolňují anionty kyseliny fosforečné a přechází do jiných, tzv. sekundárních, velmi rozmanitých forem minerální nebo organické povahy, z nichž některé slouží jako zdroj fosforu. Převážná část minerálních sloučenin fosforu v půdě je ve vodě nerozpustná, a proto tento fosfor je pro rostliny málo přístupný. Podíl vodorozpustných sloučenin je velmi malý. Tvoří jej např. fosforečnany alkalických kovů a dihydrogenfosforečnan vápenatý.

Fosfor ve výluhu tvoří se směsným činidlem složeným z kyseliny sírové, molybdenanu amonného, kyseliny askorbové a vinanu antimonylo-draselného fosfomolybdenovou modř modrého zbarvení, jehož intenzita je přímo úměrná koncentraci fosforu v roztoku. Absorbance se měří po 2 hod stání při vlnové délce 750 nm. Zbarvení je stabilní minimálně 1 hod.

II. Příprava půdního extraktu podle Mehlicha 2

1. Princip

Půda se extrahuje kyselým roztokem, který obsahuje fluorid amonný pro zvýšení rozpustnosti různých forem fosforu vázaných na železo a hliník. V roztoku je přítomen i chlorid amonný, který příznivě ovlivňuje desorpci draslíku, hořčíku a vápníku. Kyselá reakce vyluhovacího roztoku je nastavena kyselinou octovou a kyselinou chlorovodíkovou.

Pří stanovení obsahu fosforu v karbonátových půdách metoda v některých případech selhává, jednak vlivem uvolňovaného oxidu uhličitého, který ruší spektrofotometrické stanovení, a jednak nedostatečným uvolňováním fosforu do extrakčního roztoku.

2. Přístroje

- třepačka

3. Chemikálie

- Kyselina octová, ledová
- Chlorid amonný
- Fluorid amonný
- Kyselina chlorovodíková, (koncentrovaná ($h = 1,19 \text{ g ml}^{-1}$))
- Extrakční roztok podle Mehlicha 2: v 750 ml redestilované vody se postupně rozpustí 11,5 ml ledové kyseliny octové, 10,7 g chloridu amonného, 0,56 g fluoridu amonného a přidá se 1 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Objem se doplní vodou na 1000 ml.

4. Pracovní postup

Do uzavíratelné PE nádoby o objemu 250 ml se naváží 10 g upraveného půdního vzorku. Přidá se 100 ml extrakčního roztoku podle Mehlicha 2 a po uzavření se extrahuje na třepačce 10 min. Po extrakci se suspenze ihned filtruje přes hustý filtrační papír. Těsně před filtrací se obsah promíchá.

Extrakt není stálý, všechna měření je třeba provést v den přípravy.

III. Spektrofotometrické stanovení fosforu

1. Princip

Fosfor se stanovuje v půdním extraktu spektrofotometricky jako fosfomolybdenová modř. Ortofosforečnany reagují v prostředí kyseliny sírové za katalytického účinku Sb(III) s molybdenanem amonným a vzniká heteropolykyselina – kyselina molybdátosfosforečná. Redukcí kyselinou askorbovou přechází žlutý komplex této heteropolykyseliny na fosfomolybdenovou modř, vhodnou pro spektrofotometrické stanovení. Intenzita modrého zbarvení se měří při vlnové délce 750 nm.

2. Přístroje a pomůcky

- Spektrofotometr
- Dávkovací pipety

3. Chemikálie

- Kyselina sírová zředěná, $c(\text{H}_2\text{SO}_4) = 2,5 \text{ mol l}^{-1}$: 133 ml konc. kyseliny sírové ($h = 1,84 \text{ g.ml}^{-1}$) se opatrně nalije do asi 700 ml redestilované vody v kádince. Po vychladnutí se objem převede do odměrné baňky na 1000 ml a baňka se doplní vodou po značku.

- Molybden – antimonitě činidlo: 6,0 g molybdenanu amonného se rozpustí v asi 200 ml vody. Odděleně se rozpustí asi ve 100 ml vody 0,146 g vlnanu antimonylo-draselného. (Vlnan antimonylo-draselný je toxická látka). Oba roztoky se postupně přidávají k 500 ml 2,5 mol l⁻¹ H₂SO₄ a po vytemperování se objem upraví na 1000 ml. Roztok se uchovává v chladničce maximálně 2 měsíce.
- Redukční a vybarvovací roztok: ve 224 ml molybden-antimonitěho činidla se rozpustí 1,182 g kyseliny askorbové a objem se upraví redestilovanou vodou na 2000 ml. Pokud roztok není čistý, přefiltruje se. Při uchování v chladničce je roztok stálý asi týden.
- Zásobní standardní roztok fosforu: 1,0984g dihydrogenfosforečnanu draselného se rozpustí ve vodě. Po rozpuštění se kvantitativně převede do odměrné baňky na 1000 ml a doplní po značku. 1 ml roztoku obsahuje 0,25 mg P.

4. Pracovní postup

4.1. Příprava roztoků pro kalibraci

Ze standardního roztoku fosforu se do odměrných baněk na 100 ml pipetuje: 0; 2; 4; 6 a 8 ml. Potom se baňky doplní extrakčním roztokem po značku. Roztoky obsahují: 0; 0,5; 1,0; 1,5 a 2,0 mg P ve 100 ml, což odpovídá: 0; 50; 100; 150 a 200 mg fosforu na 1 kg půdy.

4.2. Vlastní provedení

Do odměrných baněk na 25 ml se pipetuje 1 ml půdního extraktu, slepého pokusu nebo roztoku pro kalibraci a doplní po značku vybarvovacím molybdenovým činidlem. Dvě hodiny po promíchání se roztoky měří na spektrofotometru při vlnové délce 750 nm proti vodě v kyvetě o optické délce 10-20 mm. Při překročení rozsahu kalibrační křivky je třeba extrakt zředit vyluhovacím roztokem a postup opakovat.

5. Výpočet obsahu

Obsah fosforu v mg na kg půdy se zjistí z kalibračního grafu, který je v celém rozsahu měřených koncentrací zpravidla lineární. Výsledky se udávají na celá čísla v mg kg⁻¹ P.

IV. Použitá literatura

1. Zbírál J., Honsa I. a kol.: Jednotné pracovní postupy. Analýza půd I. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Brno (2010).

Analýza biologického materiálu

Suchý rozklad vzorku. Analýza obilovin

I. Úvodní část

1. Klasický suchý rozklad

Převážná většina analytických měřících technik vyžaduje vzorek v kapalně fázi s odstraněnou organickou osnovou. Rozklad biologického materiálu tak spočívá v destrukci organické matrice na vodu a oxidy, ale také v převedení sledovaných prvků na takovou formu, která je analyzovatelná běžnými instrumentálními metodami. Nejstarší metodou rozkladu biologických vzorků je klasický suchý rozklad. Jde o rozklad na vzduchu, v otevřeném systému a při atmosférickém tlaku. Skládá se ze čtyř kroků: sušení, zuhelnění, zpopelnění a loužení popela, tj. převedení nespalitelného podílu do roztoku. První tři fáze mohou být provedeny v jednom zařízení, v teplotně programovatelné muflové peci, nebo v různých zařízeních. K sušení lze použít laboratorní horkovzdušnou sušárnu, lyofilizátor, ale také topnou desku. Vlastní spalování se může provádět nad plynovým kahanem, v elektrické kelímkové nebo muflové peci. Zuhelnění je vystavení vzorku teplotám 200-400 °C. Je to nejkritičtější část klasického suchého rozkladu. Lze použít buď velmi pozvolný nárůst teploty nebo rychlejší nárůst s časovými prodlevami. Zpopelnění se nejčastěji provádí při teplotách 450-500 °C. Konečné teploty je dosaženo pozvolným nárůstem a zpopelňuje se obvykle 10-16 hod. K loužení popela se nejčastěji používá zředěných kyselin HCl a HNO₃. Účinnost loužení lze zvýšit zahříváním vzorku, aplikací malého množství koncentrované kyseliny v první fázi loužení, mícháním tyčinkou a nejlépe v ultrazvukové lázni. Při klasickém suchém rozkladu se často zařazuje ke zvýšení účinnosti rozkladu přidavek pomocných činidel s oxidačními schopnostmi, jako HNO₃ a Mg(NO₃)₂. Pomocné činidlo tak může urychlit oxidaci, podpořit tvorbu stabilních sloučenin analytu, zabránit jeho ztrátě, potlačit interakci složek popela se stěnami reakční nádoby nebo jen zvýšit množství popela. Nejčastěji se používá oxid hořečnatý, dusičnan hořečnatý, kyselina sírová nebo síran draselný. Jejich aplikace je před zahájením zuhelnění, např. několik ml 10% vodného roztoku Mg(NO₃)₂, nebo po skončeném spalování, např. 1 ml konc. HNO₃ [1,2].

2. Rozklad v nízkoteplotním kyslíkovém plazmatu

Při mineralizaci na suché cestě zpopelněním na vzduchu při teplotách kolem 500 °C je možné zpracovávat i relativně velké navážky vzorku, ale proces je časově náročný a hrozí kontaminace vzorku a ztráty analytu vytěkáním. Jednou z možností mineralizace na suché cestě, odstraňující některé uvedené nevýhody zpopelnění v muflové peci, je použití kyslíkového plazmatu generovaného ve vysokofrekvenčním výboji za sníženého tlaku [3,4].

Plazmata za sníženého tlaku (tlak pod 10 kPa) jsou díky nízké srážkové frekvenci elektronů s těžkými částicemi plazmatu neizotermní, tj. soubory jednotlivých částic (atomy, ionty, elektrony) mají rozdílnou teplotu. V nízkoteplotním vysokofrekvenčním (10-50 MHz) plazmatu vytvořeném v kyslíku za tlaku 100-1000 Pa dosahuje teplota elektronů až 20 000 °C při teplotě neutrálních atomů a molekul 100-300 °C a iontů kolem 1000 °C. Ve výboji vzniká velké množství excitovaných molekul kyslíku, atomárního kyslíku v základním stavu, excitovaných atomů kyslíku a jeho iontů. Vysoká je také koncentrace molekul a atomů kyslíku v metastabilních stavech s vysokým energetickým obsahem (přes 10 eV). Zářivá deexcitace metastabilních stavů molekuly O₂* má malou pravděpodobnost a projevuje se žlutozelenou fluorescencí plynu odváděného do vývěvy. Excitované molekuly, atomy a příp. ionty kyslíku reagují přímo s uhlíkem molekul povrchu vzorku na CO₂. Podobně reaguje

kyslík s dalšími atomy (S, P, H,..) obsaženými v molekulách povrchu vzorku. Destrukci molekul urychluje „bombardování“ povrchu vzorku rychlými elektrony a ionty [3,4].

Jak bylo uvedeno, spalování probíhá pouze na povrchu materiálu, a tedy i v dutinách porézních materiálů, do kterých mohou difundovat metastabilní molekuly a atomy kyslíku. Naopak materiály, které tvoří na svém povrchu sklovitou vrstvu natavením, např. cukry, se mineralizují velmi obtížně. Problémy mohou být u vzorků s malým obsahem popela, např. při spalování celulosy, grafitu nebo aktivního uhlí. Pak je nutné přidat ke vzorku např. síran sodný nebo dusičnan hořečnatý [3,4].

Protože aktivní částice jsou schopny difundovat hluboko do vzorku kapilárními póry, které mineralizaci rozšiřují, dochází k dokonalému spalování např. obilok pšenice nebo semen smrku či borovice i bez jejich rozdrčení. Čistě bílý popel zůstává ve tvaru původních zrn a je dobře rozpustný ve zředěných kyselinách. Dobře se mineralizují i vzorky živočišných tkání pokud byly vysušeny lyofilizací nebo vakuově [3,4].

Příkladem zařízení pro tento typ rozkladu je přístroj firmy Plazma International Corporation IP 1101, Kalifornie. Výkon generátoru, pracujícího na frekvenci 13,5 MHz, je 1500 W. Vysokofrekvenční energie je vedena na elektrody šesti paralelních válcových komor o průměru 8 cm a délce 15 cm. Přívod kyslíku je přes jehlový ventil a průtokoměr, maximálně 1 l min⁻¹. Pracovní tlak v rozsahu 10-500 Pa zajišťuje olejová rotační vývěva. Vzorek se v tenké vrstvě rozprostírá na skleněné spalovací lodičce o rozměrech 6x12 cm. Po zapálení výboje v kyslíku je jeho barva purpurová, za asi 30 s přejde pozvolna na modrobílou, způsobenou emisí CO₂. Ukončené spalování vzorku je indikováno změnou barvy výboje na purpurovou, danou emisí O₂. Spalování trvá 3 až 5 hodin [3,4].

3. Další způsoby suchého rozkladu

Dalším způsobem suchého rozkladu je spalování v kyslíku za vysokého tlaku (analogie kalorimetrické bomby). Zde hrozí nebezpečí kontaminace korozí zařízení. Určitou modifikací uzavřeného systému je mineralizace daná kombinací suchého rozkladu při 300-400 °C se zaváděním superoxidační směsi plynů O₂, O₃ a NO_x nad spalovaný vzorek. Vedlejším produktem procesu je kyselina dusičná, kterou je možné použít k loužení vzniklého popela [1,2].

4. Obiloviny

Z rostlinných materiálů jsou nejvýznamnějším zdrojem proteinů pro výživu člověka obiloviny, v první řadě pšenice. Obsah proteinů u vnějších částí obilného zrna je výrazně vyšší než u vnitřní části. Proto obsah proteinů v mouce značně závisí na stupni jejího vymletí a také na druhu, odrůdě rostliny a dalších faktorech. Tmavé celozrnné mouky mají vyšší obsah proteinů než bílé. Rozdíl bývá až 4%. Pšeničná mouka obsahuje obvykle 7-13%, ale také až 15% bílkovin [5]. Základní chemické složení obilovin je uvedeno v tab. 1.

Tab. 1. Základní chemické složení obilovin (%) [5]

obilovina	voda	proteiny	lipidy	škrob	minerální látky
pšenice	13,2	11,7	2,2	59,2	1,5
žito	13,7	11,6	1,7	52,4	1,9
ječmen	11,7	10,6	2,1	52,2	2,3
oves	13,0	12,6	5,7	40,1	2,9
rýže	13,1	7,4	2,4	70,4	1,2
kukuřice	12,5	9,2	3,8	62,6	1,3

Rostlinná pletiva obsahují proměnlivá množství minerálních složek. U rostlin je obsah minerálních látek závislý na obsahu prvků v půdě, na vlastnostech půdy, způsobu a míře hnojení, na klimatických podmínkách, na stupni zralosti plodiny aj. [6]. Obsah minerálních prvků v pšenici, pšeničné mouce a rýži v mg kg^{-1} je uveden v tab.2.

Tab. 2. Obsah minerálních prvků v pšenici, pšeničné mouce a rýži v mg kg^{-1} [6]

prvek	pšenice	pšeničná mouka	rýže loupaná
sodík	80	20-30	60
draslík	3500-5000	1100-1300	1000
vápník	230-500	130-260	50-110
hořčík	700-1500	210-1300	260-430
fosfor	3000-4100	1000-3500	770-1200
chlor	670	360-480	60-270
síra	1300-1500	1300-1400	690-860
jod	0,024-0,043	0,017-0,025	-
fluor	0,2-0,9	0,1-1,4	0,3-0,6
bor	0,7-1,4	0,3-2,0	0,7-0,8
křemík	20-190	30-70	30-90
železo	33-66	12-25	6,0-23
zinek	26-38	8-36	10-15
měď	4,0-14	2,0-6,5	0,6-2,8
mangan	35-49	7,3-36	5,3-15
nikl	0,05-0,89	<0,01-0,3	0,1
kobalt	0,007-0,089	0,005-0,09	0,01-0,02
molybden	0,1-0,8	0,1-0,3	0,1-0,3
chrom	0,007-0,06	0,01-0,03	0,01-0,03
hliník	4-14	4-14	5-6
olovo	0,02-0,65	0,004-0,05	0,003-0,08
kadmium	0,02-0,35	0,01-0,09	0,004-0,14
rtuť	0,0001-0,006	0,002-0,004	0,002-0,008
arsen	0,005-0,29	0,01-0,17	0,04-0,31
selen	-	0,016	0,024-0,034

Celkový obsah chromu v lidském těle je asi 5 mg. Za průměrnou denní dietární dávku chromu se považuje množství 50-200 μg . Uváděné intervaly koncentrací chromu v biologických materiálech jsou široké, např. 0,003-0,16 mg kg^{-1} ve vepřových játrech, 0,002-0,23 mg kg^{-1} v rybách, 0,001-0,13 mg kg^{-1} v mrkvi, 0,005-20 mg kg^{-1} v cibuli, 0,01-0,12 mg kg^{-1} ve špenátu, 0,01-0,13 mg kg^{-1} v sýrech a 0,001-0,03 mg kg^{-1} v zelí. U potravin, které při své výrobě a skladování přicházejí do styku s kovovými materiály (např. s nerez ocelí) může být původně velmi nízký obsah na úrovni $\mu\text{g kg}^{-1}$ podstatně zvýšen kontaminací. Bohatým zdrojem biologicky využitelného chromu jsou pivovarské kvasnice. Toxické účinky chromitých solí se projevují až při vysokých dávkách. Mnohem toxickejší jsou sloučeniny šestimocného chromu. Způsobují poruchy růstu a poškození jater a ledvin [6].

5. Úprava vzorků obilovin

Úprava těchto vzorků závisí na druhu obiloviny. Dle požadované analýzy se vzorek pomele na šrot nebo v případě pšenice na mouku. Mouka se připravuje pouze ze vzorků

pšenice. U ječmene, žita, ova a kukuřice se připravuje šrot. Podle druhu analyzované obiloviny se vybírá mlýnek. Pomleté vzorky se uchovávají v plastových nádobách [7].

II. Rozklad obilovin spalováním v muflové peci

1. Princip

Navážka upraveného vzorku obilovin se spaluje v muflové peci při 500 °C za postupného zvyšování teploty. Popel se převede kyselinou dusičnou a chlorovodíkovou do roztoku.

2. Přístroje a pomůcky

- Elektrická muflová pec
- Spalovací porcelánové misky

3. Chemikálie a roztoky

- konc. HNO₃
- 2 mol l⁻¹ HNO₃
- 6 mol l⁻¹ HCl
- Hydroxid sodný p.a., 1 mol l⁻¹

4. Pracovní postup

Do porcelánové misky se naváží 5-10 g zhomogenizovaného vzorku (mouky, šrotu) s přesností ± 0,001 g a miska se vloží do studené muflové pece, kde se spaluje podle následujícího teplotního a časového režimu: teplota/nárůst/trvání 300 °C/2 hod/1 hod a 500 °C/2 hod/12 hod. Pokud není popel bílý, přidá se po vychladnutí misky 1 ml deionizované vody a 1 ml konc. HNO₃. Miska se umístí na topnou desku nebo na síťku nad kahanem a zahřívá při zapnutém odtahu digestoře až do odpaření do sucha. Po úplném odpaření do sucha se miska vloží do vychladlé pece a vzorky se zahřívají podle teplotního a časového programu: teplota/nárůst/trvání – 300 °C/1 hod/1 hod a 500 °C/1 hod/2 hod [8,9].

Získaný popel v misce se po ochlazení opatrně zaleje 2 ml 2 mol l⁻¹ HNO₃ a 3 ml 6 mol l⁻¹ HCl, miska se přikryje hodinovým sklem a nechá projít varem nad kahanem se síťkou. Vyluhuje se za občasného promíchání až do rozpuštění popela. Hodinové sklo se sejme a kondenzát se opláchne deionizovanou vodou zpět do misky. Celý obsah misky se kvantitativně převede do 100 ml kádinky a zneutralizuje 1 mol l⁻¹ NaOH. Současně s mineralizátem se připraví slepý vzorek [8,9].

III. Spektrofotometrické stanovení chromu 1,5 – difenylkarbazidem

1. Princip

Chrom ve vzorku se předběžně oxiduje bromnanem na Cr(VI). Ten ve formě Cr₂O₇²⁻ reaguje s 1,5-difenylkarbazidem v kyselém prostředí za vzniku červenofialového komplexu Cr(III) s 1,5-difenylkarbazonem, který vzniká oxidací činidla a proměřuje se spektrofotometricky. Optimální acidita pro stanovení je pH=1.

2. Přístroje a pomůcky

- Spektrofotometr
- Odměrné baňky 50 ml
- Mikropipeta

3. Chemikálie

- Dichroman draselný, p.a.
- Difenykarbazid - ethanolový roztok 0,25 %: 0,25 g difenykarbazidu a 4 g anhydridu kyseliny ftalové se rozpustí v ethanolu a doplní do 100 ml. Roztok se přefiltruje, přechovává v hnědé láhvi v ledničce a je stálý 2 dny.
- Bromid draselný p.a., 10% roztok
- Chlornan sodný, 0,05 mol l⁻¹
- Fenol p.a., 1,2% roztok
- 2 mol l⁻¹ H₂SO₄
- Standardní roztok 1,000 g l⁻¹ Cr (VI): 2,829 g předsušeného dichromanu draselného se rozpustí v destilované vodě, přidá se 20 ml HNO₃ a roztok se doplní vodou do 1000 ml.
- Pracovní roztok se upravuje na koncentraci 10 µg ml⁻¹ Cr.

4. Pracovní postup

a) Sestrojení kalibrační křivky

Do sady 50 ml odměrných baněk se odměří 0 – 1,5 ml pracovního roztoku o koncentraci 10 µg ml⁻¹ Cr(VI). Přidá se 30 ml redestilované vody, 2,5 ml 2 mol l⁻¹ H₂SO₄ a 1 ml 0,25% ethanolového roztoku difenykarbazidu. Po každém přídávku se obsah promíchá, stejně tak po doplnění vodou na 50 ml. Po 10 minutách se proměří absorbance proti vodě při vlnové délce 540 nm [10].

b) Vlastní provedení

K mineralizátu ve 100 ml kádince se přidá 0,5 ml 10% roztoku bromidu draselného, 0,5 ml 0,05 mol l⁻¹ NaClO a roztok se 3 minuty vaří. Objem roztoku by neměl přesáhnout 30 ml, v případě potřeby se roztok pozvolna odpaří na tento objem. Horký roztok se zfiltruje do 50 ml odměrné baňky, filtr se promyje několika mililitry horké vody a přidá se 2,5 ml 1,2% roztoku fenolu. K vychladlému roztoku se přidá 2,5 ml 2 mol l⁻¹ H₂SO₄, 1 ml 0,25% roztoku difenykarbazidu, obsah baňky se doplní po značku vodou, promíchá a po 10 minutách se proměří absorbance roztoku při vlnové délce 540 nm. Stejně se postupuje u slepého pokusu [10].

5. Výpočet

Obsah chromu c_{Cr} v mg kg⁻¹ se vypočítá podle vztahu

$$c_{Cr} = m_{Cr} / m_v,$$

kde m_{Cr} je hmotnost chromu v 50 ml měřeného roztoku v µg a m_v hmotnost vzorku v g.

IV. Použitá literatura

1. Mader P., Čurdová E.: Chem. Listy 91, 227 (1997).
2. Mader P., Kolihová D.: Rozklady rostlinných materiálů pro atomovou spektrometrii. Sborník přednášek semináře Zpracování vzorků pro atomovou spektrometrii II, str. 34-38, Radějov, 13.-16.5.1996.
3. Otruba V., Kalášek J.: Chem. Listy 97, 64 (1993).
4. Otruba V.: Mineralizace v nízkotlakém kyslíkovém plazmatu. Sborník přednášek semináře Zpracování vzorků pro atomovou spektrometrii II, str. 51-54, Radějov, 13.-16.5.1996.
5. Velíšek J.: Chemie potravin 1. OSSIS Tábor (1999).
6. Velíšek J.: Chemie potravin 2. OSSIS Tábor (1999).
7. Kolektiv: Jednotné pracovní postupy. Úprava vzorků krmiv a rostlinného materiálu. ÚKZÚZ, Brno (2008).

8. Zbírál a kol.: Jednotné pracovní postupy. Analýza rostlinného materiálu. ÚKZÚZ, Brno (2005).
9. Koplík R.: Laboratoř analýzy potravin a přírodních produktů. Stanovení minerálních látek. VŠCHT Praha.
10. Javorský P. a kol.: Chemické rozbor v zemědělských laboratořích. MZVŽ.1988.

Mokřý rozklad. Stanovení kovů ve vlasech

I. Úvodní část

1. *Expozice kovy*

Lidé a obecně živočichové potřebují ke správné funkci těla kromě kyslíku, vody, bílkovin, vitamínů apod. také dostatečný přísun nerostných látek a stopových prvků. Potravní návyky a environmentální podmínky mohou ovlivňovat hladiny těchto prvků ve tkáních a biologických tekutinách a tím i následně jejich účast v biochemických reakcích a na biochemických mechanismech. Některé kovy a jejich sloučeniny jsou nezbytné pro lidské zdraví (např. Fe, Zn), přestože jsou potenciálně škodlivé pokud jsou konzumovány ve velkém množství. Řada esenciálních prvků je klíčovou součástí metaloenzymů nebo jsou spojené s rozhodujícími biologickými funkcemi, jako transport kyslíku nebo hormonální aktivita. Na druhé straně mnoho neesenciálních prvků je tak rozšířeno v prostředí, že jsou snadno detekovány ve tkáních a tekutinách lidského těla. Některé jsou relativně příznivé, ale jiné takové jako Pb, Cd, Hg a As jsou dosti toxické, dokonce při stopových koncentracích. Sledování úlohy esenciálních prvků a posuzování expozice jednotlivců toxickými prvky má význam pro lidské zdraví. Esenciální prvky jsou ty, které vyžaduje organismus k udržování jeho normálních fyziologických funkcí [1].

2. *Materiály k analýze*

Většina metod používaných ke sledování nedostatku stopových prvků nebo k odhadu expozice toxickými prvky spoléhá na analýzu vzorků krve, séra, plasmy a/nebo moči. Avšak výběr vhodného vzorku závisí na několika faktorech, jako je vhodnost a invazivnost odběru vzorků, a možnosti jejich kontaminace [1]. Prvky, které jsou pro organismus toxické, např. těžké kovy (kadmium), se kumulují v orgánech jako ledviny nebo játra. Použití těchto vzorků je však problematické. V klinické praxi lze použít biopsii, ale u divokých zvířat to není reálné, znamenalo by to usmrcení živočichů [2].

Byla proto zkoumána možnost netradičních neinvazivních odběrů vzorků slin, vlasů a nehtů. Právě vlas je biologický vzorek, který lze snadno a neinvazivně odebrat, odběr je levný, vzorek snadno uskladnitelný a transportovatelný do laboratoře k analýze. Tyto vlastnosti dělají vlasy atraktivním materiálem pro biomonitorování [3]. Vlasy jsou důležitou složkou vylučovacího metabolismu a tím i vhodným typem vzorku, který lze použít k určení stupně kontaminace živočichů. Proto jsou vlasy využívány jako vhodné vzorky u lidí i u divokých zvířat [2].

Tyto přednosti vedou k rozšířenému použití vzorků vlasů pro analýzu stopových prvků k posouzení ohrožení přírody a lidí různými kontaminanty přítomnými v prostředí nebo na pracovišti. Avšak využití výsledků analýzy vlasů má určitou hranici danou např. výskytem exogenních kontaminantů. Jejich zdrojem mohou být usazeniny kožního mazu, potu, zbytky znečištěného vzduchu nebo kosmetických či farmaceutických produktů [1]. Projevuje se vliv stáří, pohlaví a místo bydliště či pobytu [4]. Další omezení jsou nedostatečná znalost kinetiky stopových prvků začleněných do vlasů a nedostatek epidemiologických dat k podpoře předpovědi ohledně vlivů na zdraví podle specifické koncentrace prvku ve vlasech. Použití analýzy vlasů ve zdravotnických studiích roste se sledováním korelace hladin prvků v těchto vzorcích s těmi nalezenými v krvi nebo plazmě [1].

3. *Sledování obsahu prvků ve vlasech a korelace s různými parametry*

Ačkoliv někteří jednotlivci jsou vystaveni toxickým prvkům zejména na pracovišti, pro většinu lidí hlavní cestou expozice toxickými prvky je strava. Informace týkající se příjmu potravy je důležitá pro posouzení zdravotních rizik. V posledních letech je snaha použít lidské

vlasý jako detektor stopových prvků k odhadu environmentálních expozičních hladin a posouzení nutričního stavu, stejně jako prostředek k určení nemocí [5-7]. Zkoumá se využití znalosti hladin prvků ve vlasech k posouzení nemocí, metabolických poruch, ale prvky jsou přítomny ve vlasech v širokém rozmezí koncentrací [8].

U mladé dospělé populace ve Španělsku byly analyzovány vlasý a současně byl sledován potravní vstup. Významné rozdíly v obsahu prvků ve vlasech byly získány mezi muži a ženami stejného stáří. Žádná korelace však nebyla nalezena mezi příjmem stopových prvků a odpovídajícími hladinami ve vlasech. Z toho je možné usoudit, že vlasý mají omezené použití pro odhad nutričního stavu esenciálních a toxických prvků [9].

Při sledování vlivu požívání čaje, čaje s citronem, kávy a mléka na minerální složení vlasů 80 studentek Wroclavské univerzity bylo zjištěno, že použití citronu významně zvýšilo obsah Fe a Cr ve vlasech, zatímco pití mléka vedlo ke zvýšení obsahu arsenu [10].

Provedením analýz krvi, moči a vlasů studentů lékařství v Rakousku bylo zjištěno, že určité genetické dispozice jsou spojeny s metabolismem olova a rtuti. Zátěž olovem a rtutí v této populaci Rakouska byla nízká. Ve vlasech bylo nalezeno 0,08-22,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ Pb (medián 0,66 $\mu\text{g g}^{-1}$ Pb, n=189) a 0,003-3,69 $\mu\text{g g}^{-1}$ Hg (medián 0,202 $\mu\text{g g}^{-1}$ Hg, n=306). Negenetické indicie hladiny olova byly konzumace vína, konzumace drůbeže, výška a váha studentů, léky. Rozhodujícím činitelem pro expozici rtutí byla konzumace ryb a mořských potravin, chronická nemoc, výška a váha studentů, počet amalgamových výplní. Genetická dispozice měla slabší vliv na zátěž těla olovem a rtutí než negenetické faktory. Obsah olova v moči a rtuť ve vlasech se jeví jako vhodná data geneticky modifikovaného metabolismu kovu [11].

Průměrný obsah Cd ve vlasech Japonců byl 5,01 $\mu\text{g g}^{-1}$. Tato hodnota je vyšší než u obyvatel jiných zemí, jako Pakistán 0,38 $\mu\text{g g}^{-1}$, Libye 0,53 $\mu\text{g g}^{-1}$, Polsko 0,13 $\mu\text{g g}^{-1}$ a Korea 0,053 $\mu\text{g g}^{-1}$. Obsah Cd v prostředí je však v Japonsku vyšší než v jiných zemích. Obsahy Cd jsou vyšší v japonské stravě a klinických materiálech jako ledviny a výkaly. To vede k předpokladu, že vysoký obsah Cd ve vlasech lidí je ovlivněn japonským prostředím a stravou [2].

Průměrný obsah Cd ve vlasech makaků japonských (*Macaca fuscata*) byl 3,05 $\mu\text{g g}^{-1}$ (n=45). Přestože tato hodnota je nižší než u lidí, je vyšší než u živočichů žijících na jiných územích, jako ježek západní v Evropě (*Erinaceus europaeus*, 0,04 $\mu\text{g g}^{-1}$) nebo sob polární v Rusku (*Rangifer tarandus*, 0,63 $\mu\text{g g}^{-1}$). U lemura (*Lemur catta*) na Madagaskaru byl obsah Cd nízký (pod limitem detekce). Vysoké obsahy jsou tak ovlivněny prostředím. Studie naznačuje, že monitorování může být prováděno použitím vzorků vlasů japonských makaků. I u nich však záleží, v které oblasti Japonska žijí [2].

Pokud jde o rtuť, bylo zjištěno, že její obsah ve vlasech pozitivně koreluje s obsahem rtuti v krvi [12]. Byly publikovány střední hodnoty obsahu rtuti ve vlasech 3,25 $\mu\text{g g}^{-1}$ (v rozsahu 0,50–12,2 $\mu\text{g g}^{-1}$) [13] a 4,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ (v rozsahu 1,4–15,0 $\mu\text{g g}^{-1}$) [14]. Vyšší hodnoty Hg byly přisuzovány příjmu rtuti z mořských produktů [15]. Byla také prokázána pozitivní korelace mezi obsahem rtuti ve vlasech a příjmem potravy u lidí 35 zemí. Při měření obsahu rtuti ve vlasech a v krvi byly nalezeny průměrné hodnoty 5,09 $\mu\text{g g}^{-1}$ a 0,0109 $\mu\text{g ml}^{-1}$ [12]. Ve dvou případech smrtelné otravy iontovou rtutí byly zjištěny koncentrace v krvi 2,95 and 11,7 $\mu\text{g ml}^{-1}$ [16], měření Hg ve vlasech však nebylo provedeno. V případě nepříliš vysoké intoxikace rtutí byly uvedeny hodnoty 200 - 800 $\mu\text{g g}^{-1}$ [17].

Koncentrace Fe, Cu, Mn, Zn, Pb, Ni a Ca ve vlasech učňů - mužů (15-19 let) ze severního Portugalska vystavených nízkým dávkám (14 hod týdně) par od obloukového sváření oceli byly sledovány po 2 roky učňovských let k hodnocení vlivu expozice. Výsledky byly srovnány s těmi od kontrolní skupiny stejného věku, pohlaví a geografického prostoru. Významné sezónní změny a to vyšší hladiny v létě byly pozorovány u vlasů učňů pro Mn, Cu, Pb a Ni, u kontrolní skupiny též u Zn a Ca [18]. Tyto změny byly pozorovány i dříve, např. u dospělých jedinců byly nalezeny vyšší koncentrace Cd a Pb ve vlasech v létě, podobně

koncentrace Cu v létě a zimě, a vyšší koncentrace Zn v zimě [19]. Avšak u dětí 3-7 let byly nalezeny koncentrace Cu a Pb vyšší v zimě [20].

Průměrné koncentrace kovů ve vlasech učňů (a také kontrolní skupiny) byly řádově podobné. To značí, že žádný zřetelný vliv expozice při nízkých dávkách se neprojevuje na koncentraci kovů ve vlasech. Nicméně průměrné koncentrace Fe, Ca, Cu, Ni a Zn ve vlasech byly významně nižší u učňů než u kontrolních subjektů. Zejména u Fe a Ca to bylo neočekávané, protože jejich endogenní a exogenní začlenění se předpokládalo. Nízká hladina Fe byla však také nalezena v krvi. Na druhé straně koncentrace Cu byla nižší ve vlasech učňů, ale vyšší v krvi. Průměrné koncentrace Mn byly podobné u vlasů z obou skupin navzdory množství v parách při sváření. Výsledky naznačují, že když jsou subjekty exponovány současně různými polutanty, některé z nich vedou ve vlasech ke snížení koncentrace jiných. Proto koncentrace prvků ve vlasech se nezdá být dobrým indikátorem při nízké expozici z povolání [18].

Hladiny zkoumaných prvků ve vlasech u Brazílské dospělé populace byly 0,05 – 6,7 $\mu\text{g g}^{-1}$ Mn, 0,02 – 37,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cu, 0,02 – 30,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ Pb a 0,9 – 12,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ Sr. Mezi hladinami prvků ve vlasech a krvi byla nalezena slabá korelace. Vlasy tu nebyly vhodným materiálem pro hodnocení deficitu Cu, Mn a Sr nebo expozice Pb [1].

Výsledky některých studií naznačují, že obsah kovů ve vlasech lze použít k diagnóze některých běžných nemocí. Bylo zjištěno, že ve vlasech jednotlivců trpících infekcemi dýchacích cest a astmatem byl vyšší obsah Zr, ve vlasech lidí sužovaných závratěmi byl nižší obsah Ca, La a Sr, a ve vlasech lidí trpících migrénou byl obsah W vyšší než ve vlasech zdravých lidí. Hladina K ve vlasech nervózních lidí byla 3x vyšší než ve vlasech lidí bez potíží s nervozitou. Jednotlivci stěžující si na ztrátu vlasů měli sníženou hladinu Cu ve vlasech. U jednotlivců s lupy a lámavými nehty byl obsah Ca a La ve vlasech vyšší než ve vlasech lidí bez těchto potíží [21].

4. Spolehlivost analýzy vlasů

Změny v prvkovém složení vlasů jsou dosti vysoké. Hodně faktorů týkajících se jednotlivých charakteristik ovlivňuje hladinu prvků ve vlasech. Každý jedinec žije v odlišném prostředí, má rozdílnou stravu a životní návyky a následkem toho se podrobuje odlišným hladinám expozice. Biomonitorovací studie poskytují informace okolo expozice různými prvky. Avšak nedostatek kontrolovaných podmínek, tak jako těch v laboratorních experimentech může vycházet v mnoha zmatečných závěrech. Z těchto důvodů všechny studie vyžadují velké populace a použití statistických metod v rozpracování výsledků [21].

V literatuře je často zdůrazňováno, že interpretace získaných dat je obtížná, protože je nedostatek referenčních hodnot. Tato mezera je postupně zaplňována. Např. byly získány referenční hodnoty pro americkou, korejskou či italskou populaci. Avšak tyto hodnoty se mohou lišit, protože byly použity různé analytické metody. Také v Polsku byly sledovány referenční hodnoty pro polské studenty. Byly získány následující rozsahy 733–4047 $\mu\text{g g}^{-1}$ Ca, 8,51–35,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cu, 22,9–115 $\mu\text{g g}^{-1}$ K, 0,158–1,042 $\mu\text{g g}^{-1}$ La, 1,05–9,46 $\mu\text{g g}^{-1}$ Sr, 0,043–0,788 $\mu\text{g g}^{-1}$ Zr [21].

Minerální analýza lidských vlasů může být považována za nástroj předpovědi mnoha onemocnění. Vlasy jsou ve středu pozornosti vzhledem k jejich jedinečné možnosti ukázat zpětně informace o výživě a expozici jednotlivců. Mnoho stopových prvků se kumuluje ve vlasech v hladinách přinejmenším 10x vyšších než v krevním séru nebo moči [21].

To je však nutné zdůraznit, že existuje spor okolo použití vlasů jako indikátoru environmentální expozice i zdravotního stavu. Před analýzou vlasů by měla být zvážena oprávněnost použití tohoto nástroje pro hodnocení expozice nebo účinku na zdraví. Je potřeba určit referenční rozsahy, lépe porozumět biologickým změnám v růstu vlasů s věkem, pohlavím, rasou a národností [21].

5. Odběr vzorků

Odběr a příprava vzorků zaujímají při analýzách nezanedbatelné místo. Špatně odebraný vzorek, případně znečištěný během přípravy, nebo naopak neuvažování o možnosti ztrát analytu sorpcí na stěny nádob nebo při rozkladech zcela znehodnotí následnou snahu o správné stanovení. Je nutné před vlastním měřením znát historii vzorku od odběru až k finálnímu zpracování, neboť sebepřesnější měření kontaminovaných vzorků nemá smysl. Problémem odběru klinických materiálů a přípravy vzorků k analýze se zabývá i IUPAC, Commission of Toxicology, která vypracovala studii, týkající se daných problémů, a která má sloužit jako doporučení pro získání kvalitních výsledků.

Vzorky vlasů se odebírají do PE sáčků nebo nádobek. Papírové obálky nejsou vhodné pro možnou kontaminaci vzorku ze složek lepidla a slin. Pro odběr se doporučují vlasy z temene a to těsně od hlavy do vzdálenosti přibližně 2,5 cm. Kadeř vlasů může být sepnutá na spodu a uchována v označeném sáčku [1]. Byly popsány odběry 0,25 g vlasů 2,5 cm od pokožky z 5 nebo 6 ploch na zadní části hlavy [8] a vlasy pouze 2 cm těsně u kůže na temeni hlavy [18]. Vlasy byly stříhány 5 cm dlouhé také bezprostředně po čtyřech postupných mytích vlasů s Johnson Baby šamponem a sušení. Pro stříhání vlasů byly použity nové chirurgické nůžky z nerezové oceli. Šampon byl vybrán pro jeho složení, z kovových kationtů byly přítomny pouze ionty Na^+ [21]. Vzorky vlasů umyté šamponem byly rozloženy bez dalších mycích kroků. Kyseliny nebo organická rozpouštědla používaná při extrakci exogenních kontaminantů k jejich odstranění jsou na druhé straně také zdrojem kontaminací [21]. U dlouhých vlasů je možné stříhat celé prameny až k pokožce, u kratších vlasů rovnoměrně po celé hlavě. Protože vlas vyrostne přibližně o 12 mm za měsíc, při ustříhnutí vlasů, např. o délce 6 cm a zbytku na hlavě dlouhém také 6 cm, vypovídá analýza o 5-ti měsíčním období, které skončilo před půl rokem.

Kosmetická barviva a barvy na vlasy jsou jedním z prostředků znečištění těžkými kovy. Výsledky ukazují, že barvení vlasů může měnit obsah těžkých kovů v nich, ale stupeň vlivu je odlišný pro různé prvky. Obsahy Mn, Fe, Ni, Cu, Cd a Sb v barvených vlasech byly vyšší než v nebarvených, ale obsahy As, Cr, Zn, Ag, Pb a Hg byly nižší. Příčinou je, že barvy na vlasy obsahují více Mn, Fe, Ni, Cu, Cd a Sb, ale méně As, Cr, Zn, Ag, Pb a Hg a barvení vlasů může potlačovat metabolismus a vylučování As, Cr, Zn, Ag, Pb a Hg z lidského těla [22]. Stříhání vlasů k analýze je vhodné ne dříve než 10 týdnů od provedení zkrášlujících procedur.

6. Úprava vzorků vlasů

Před vlastním stanovením se provádí mytí podle doporučení WHO a IAEA (aceton, 3x demineralizovaná voda, aceton) a sušení v bezprašném prostředí. Mytí vlasů se provádí z důvodu odstranění exogenní kontaminace. U některých prvků je však zabudování nečistot z vnějšího prostředí do matrice natolik pevné, že je nelze mytím odstranit. V tomto případě pak není možné odlišit endogenní a exogenní původ. Porovnání různých způsobů mytí je uvedeno v tab. 1. Z této tabulky je zřejmé, že rozdíly mezi různými postupy mytí nejsou podstatné. U Cu, Hg, Se a Zn se vliv mytí projevil jen nepatrně, což svědčí právě o vazbě mezi exogenním kontaminantem a vlasem.

Vzorky vlasů jsou často rozřezány na 1 cm délky, omyty před analýzou, např. podle postupu s acetonem, vodou a acetonem [23], následně vysušeny a z každého vzorku 1 cm vlasů je naváženo pro analýzu 20 mg [1]. Vlasy byly také myty 16 hod za míchání v 75 ml 1% (w/v) laurylsulfátu, pak byly odfiltrovány, promyty několikrát vodou, sušeny 24 hod při 100 °C, váženy a uzavřeny do malých polyethylenových nádobek [18]. V laboratoři lze vlasy rozstříhat a umýt podle modifikované metody International Atomic Energy Agency (IAEA) [24]. Vlasy jsou prvně rozstříhány na kousky přibližně 0,3 cm a promíchány pro získání podvzorků. Po rozstříhání je každý vzorek vlasů 4x promýván 1:200 (v/v) zředěným Tritonem

X-100. Potom jsou vzorky promyty acetonem a nechány k usušení. Pak následuje 3x promytí deionizovanou vodou, 2x acetonem a osušení. Vzorky jsou pak dosušeny v peci při 75 °C [8].

Tab.1: Srovnání různých postupů mytí vlasů pro odstranění exogenní kontaminace ($\mu\text{g g}^{-1}$) [25].

Prvek	Nemyté	A/V/V/V/A	DT/V	E/V/A	TR/V
As	0,28	0,03	0,04	0,07	0,02
Cu	21,4	19,9	20,6	21,5	22,2
Pb	4,94	0,38	0,44	0,49	0,41
Hg	2,36	2,37	2,32	2,40	2,21
Se	1,21	1,03	1,08	1,01	0,98
Zn	220	209	197	217	207
Al	23,8	9,34	6,21	6,99	7,80
Co	6,70	0,13	0,11	0,13	0,12

A – aceton, V – demineralizovaná voda, DT – detergent, E – ether, TR – Triton X - 100

7. Rozklad vzorků vlasů

Při analýze vlasů se vychází většinou z mineralizátů, přičemž nejčastěji se k jejich rozkladu používá kyselina dusičná, případně její směs s kyselinou chloristou, peroxidem vodíku nebo kyselinou sírovou. Samostatnou kapitolou je stanovení rtuti, kde se s výhodou může použít přímého navažování vzorků a následné analýzy pomocí analyzátoru AMA 254. Příprava vlasů pro stanovení prvků je kritická část postupu analýzy.

Otevřený rozklad vyžaduje často kombinaci kyselin a zahřívání (na topné desce). Reprodukovatelný rozklad je též závislý na šikovnosti či dovednosti obsluhy. Kyseliny používané pro otevřený rozklad nemusí být ideální např. pro ICP-MS stanovení prvků. Kyseliny mohou obsahovat měřené prvky (S v H_2SO_4), nebo přispívají k rušivým hmotám (např. Cl z HClO_4 může tvořit $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}$, která ruší s ^{51}V).

Pro mineralizaci vzorků vlasů bylo 0,3 g vzorku rozloženo v mikrovlnném zařízení ve 2,5 ml konc. HNO_3 a po rozkladu byl vzorek zředěn vodou na 20 ml [18]. Při uzavřeném mikrovlnném systému byl vzorek rozkládán např. při 150 °C a tlaku 9 atm a digesce byla úplná. Výkon byl však limitován počtem autoklávů v mikrovlnném systému.

Byla navržena metoda mikrovlnné digesce za atmosferického tlaku a za nízké teploty (APLTMD) při použití 0,2 g vlasů a 3 ml konc. HNO_3 . K promytému vzorku vlasů v 50 ml polypropylenové centrifugační zkumavce byly přidány 3 ml koncentrované HNO_3 , zkumavka byla uzavřena víčkem s otvorem 0,3 cm. Pak byla umístěna do mikrovlnného zařízení a směs byla zahřáta na 115 °C. Výhodou použití mikrovln je jejich schopnost ohřívat vzorek přímo. Jak byl vzorek zahříván ve spodní části zkumavky na 115 °C, horní část zůstala relativně chladná. Zkumavky byly uzavřené a tím byly minimalizovány ztráty HNO_3 . Byly umístěny ve 4 koncentrických řadách (52 vzorků) v talíři, který během vyhřívacího programu nepřetržitě rotoval. Tím bylo minimalizováno kolísání ohřevu. Po rozkladu, ochlazení, přidání vnitřního standardu (pro ICP-MS) byl vzorek zředěn na 50 ml. Tento způsob rozkladu umožňuje analýzu velkého množství vzorků za den a metoda může být upravena pro navážky vzorků 0,08-0,3 g. Výhodou APLTMD je nižší kontaminace a manipulace se vzorkem, vyšší přesnost, spolehlivost a četnost vzorků [8].

8. Metody stanovení prvků ve vlasech

8.1. AAS

K analýze vlasů se využívá často atomová absorpční spektrometrie. Vzhledem k obsahu prvků ve vlasech se využívá jak plamenové, tak elektrotermické AAS. Plamenová AAS byla použita pro stanovení Ca a Zn, AAS s elektrotermickou atomizací pro stanovení Cu, Fe, Ni, Cr, Pb a Mn [18]. Atomovou absorpční spektrometrií byl stanoven též obsah kadmia [2].

8.2. ICP-MS a ICP-OES

ICP-MS je metoda často používaná k měření vzhledem k multiprvkovému charakteru, velké citlivosti a schopnosti stanovit velký rozsah koncentrací. Analýza vlasů vyžaduje podobně jako u AAS a ICP-OES vzorek v kapalném stavu. Rozložený vzorek je kyselý a toto prostředí stabilizuje prvky v roztoku. Kapalným vzorkem pak obsahuje prvky v chemické formě, která je snadno a reprodukovatelně atomizována a ionizována [8]. V tab.2 jsou uvedeny používané vnitřní standardy.

Obsah 39 prvků (Ag, Al, As, B, Ba, Bi, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cu, Fe, Hg, K, La, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Pt, Rb, S, Sb, Se, Si, Sn, Sr, Ti, Tl, V, W, Y, Zn, Zr) ve vlasech byl určen pomocí ICP-OES (makroprvky) a ICP-MS (mikroelementy a toxické prvky). Obsah As, Co, Cd, Cr, Mn, Ni, Pb a V byl určen ICP-MS, Hg pomocí AMA-254 a zbývající prvky ICP-OES. 0,5 g vzorku vlasů bylo solubilizováno 5 ml koncentrované kyseliny dusičné a rozloženo v mikrovlnném zařízení. Po mineralizaci byly vzorky zředěny ultračistou deionizovanou vodou na 50 ml. Vzorky pak byly analyzovány přímo ICP-OES na obsah makroprvků a po 10-násobném zředění ICP-MS na obsah mikroelementů, toxických prvků a jiných stopových prvků [21]. Pomocí ICP-MS byl po rozkladu vzorků vlasů metodou APLTMD stanoven obsah Li, Be, B, Na, Mg, Al, P, S, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ge, As, Se, Rb, Sr, Zr, Mo, Pd, Ag, Cd, Sn, Sb, I, Cs, Ba, Pt, Au, Hg, Tl, Pb, Bi, Th a U [8].

Stopové prvky ve vlasech byly určeny ICP-MS podle postupu, kdy 20 mg vlasů bylo naváženo do 15 ml baňky, byl přidán 1 ml 25% TMAH (tetramethylamonium hydroxid) a směs ponechána při pokojové teplotě přes noc [26]. Objem byl doplněn na 10 ml 1% HNO₃. Jako vnitřní standard bylo použito rhodium v koncentraci 10 µg l⁻¹. Potom byly vzorky přímo analyzovány ICP-MS [1].

Tab.2. Používané vnitřní standardy při stanovení analytů ve vlasech pomocí ICP-MS [8]

Vnitřní standard	Analyt
Sc 45	Li, Be, B, Na, Mg, Al, P, K, Ca, Cr, Ti, V, Mn
Ga 71	Co, Ni, Ca, Zn, Ge, As, Se, Rb, Sr, Zr, Mo
In 115	Pd, Ag, Cd, Sn, Sb, I, Cs
Lu 175	Ba, W, Pt, Au, Hg, Tl, Pb, Bi, Th, U
Nb 93	U, S

8.3. Neutronová aktivační analýza

Pro stanovení stopových koncentrací různých prvků ve vlasech se používá také neutronová aktivační analýza, která využívá toho, že při ozáření vzorku neutrony vznikají radioaktivní jádra, a to reakcemi těchto částic s jádry atomů. Ta se pak přeměňují rozpadem beta na dceřiná jádra, která nemusí být v základním stavu, ale ve stavu excitovaném. Excitované jádro se pak zbavuje energie vyzářením fotonu záření gama s jednoznačně danou energií. Pomocí detektoru gama záření tak lze velice přesně identifikovat i velmi malá

množství vzniklých radioaktivních jader. Neutronová aktivační analýza byla metodou, která byla použita např. při analýze stopových koncentrací prvků a zejména rtuti ve vousech Tycho Braha [27].

Mezi dánskými historiky se objevovaly spekulace, že se mohl Tycho Brahe otrávit rtutí. Při vyzvednutí ostatků Tycho Braha v roce 1901 byly odebrány také vzorky vousů astronoma. Jejich část se v roce 1991 dostala do Dánska a dánští vědci našli ve vzorcích rtuť. V roce 2009 požádali Dánové o novou exhumaci ostatků, v listopadu 2010 proběhlo otevření hrobky v Týnském chrámu v Praze, v antropologických laboratořích Národního muzea byla otevřena cínová rakev s ostatky a byly odebrány drobné vzorky, hlavně vousy, vlasy a kosti, které měly být podrobeny analýze [27].

Vousy byly nejprve jednotlivě mechanicky očištěny od nečistot. Pak bylo nutné najít pomocí mikroskopu ty se zachovaným kořínkem. Ten slouží k identifikaci počátku a konce vousu či vlasu. Díky jejich růstu se dá určit, kdy byl zkoumaný člověk vystaven vlivu daného prvku, tedy rtuti. Vous o celkové délce asi dva centimetry byl rozřezán na části o délce pět milimetrů. Potom byl každý kousek umýván 10 min v acetonu, následně v redestilované vodě a pak ještě v acetonu. Rozřezané kousky z 20–25 vousů vážících 200–300 μg byly zataveny do čistých ampulí. Vzorky v ampulích byly 20 hod ozářovány neutrony v reaktoru. Po ozáření byly ampule očištěny v lučavce královské, omyty vodou, ochlazeny v kapalném dusíku a rozbity. Vzorky spolu se střípky byly rozloženy ve 4 ml 1:1 zředěné HNO_3 v teflonovém autoklávu s mikrovlnným ohřevem. Po separaci křemenných střípků byl objem doplněn na 10 ml. Z prostředí $1 \text{ mol l}^{-1} \text{HNO}_3$ byla rtuť (^{203}Hg) vyextrahována diethyldithiokarbamátem niklu do chloroformu. Tato frakce byla analyzována detektorem. Ke stanovení byla použita radiochemická neutronová aktivační analýza (RNAA) [27].

Další metodou, která byla využita k analýze ostatků Tycho Braha, byla metoda PIXE (Proton Induced X-ray Emission). V té se využívá svazek urychlených protonů, které při průletu ionizují atomy ve vzorku. Místa po vyražených elektronech zaplňují elektrony z vnějších slupek elektronového obalu a vyzařují při přeskoku charakteristické rentgenové záření. Každý prvek má charakteristickou energii tohoto záření a lze jej tak identifikovat. Při použití velice úzkého svazku protonů např. o průměru 1,5 μm je možné sledovat detailní rozložení rtuti nebo dalších prvků ve vousu či vlasu. S touto μPIXE metodou lze rozlišit případné povrchové znečištění vzorku. Dva prameny vlasů dekontaminovaných pouze mechanicky byly analyzovány tímto způsobem [27].

V částech vzorků vlasů Tycho Brahe byly nalezeny koncentrace rtuti od 2,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ do 16,4 $\mu\text{g g}^{-1}$, v objemnějších vzorcích vlasů 10,7 $\mu\text{g g}^{-1}$ and 10,6 $\mu\text{g g}^{-1}$. Výsledky metody μPIXE byly v rozsahu $<3 \mu\text{g g}^{-1}$ pro 0,5 mm vous u kořínku vousu a 8,2 $\mu\text{g g}^{-1}$ u konečku, 3,1–7,6 $\mu\text{g g}^{-1}$ pro 0–2,5 mm od kořínku, a 6,1–11,9 $\mu\text{g g}^{-1}$ pro 10–15 mm od kořínku [27]. Většina hodnot obsahu rtuti ve vlasech Tycho Braha tak leží v normálním rozsahu. Vzhledem k předpokládanému růstu vlasů 10 mm za měsíc [28], odebrané vousy odpovídaly přibližně 2 měsíčnímu stáří, tedy 2 měsíce před smrtí. Podle výsledků analýzy se zatížení rtutí snížilo zejména 2 týdny před smrtí [27]. Podle [27] je tedy zřejmé, že se Tycho Brahe rtutí neotrávil. Podle autorů je nejpravděpodobnějším vysvětlením výsledků předchozích dánských analýz, že textilie v hrobu byly nasyceny rtutí pro balzamování a to mohlo způsobit povrchové znečištění vzorků [27].

II. Analýza vzorků vlasů

1. Úvod

Vzorek vlasů je před vlastním stanovením třeba zbavit exogenní kontaminace a převést do roztoku. Vzorek se rozkládá v otevřeném systému za použití koncentrované

kyseliny dusičné a peroxidu vodíku. Při rozkladu dochází k oxidaci organické hmoty až na oxid uhličitý, případně jiné vodou rozpustné organické sloučeniny.

2. Chemikálie

- Aceton
- Demineralizovaná voda
- Kyselina dusičná konc., p.a.
- Peroxid vodíku konc., p. a.
- Standardní roztok $0,5 \text{ g l}^{-1}$ Zn: 0,500 g kovového zinku se rozpustí v minimálním objemu HCl (1+1) a zředí na 1 l pomocí 1% (v/v) HCl.
- Standardní roztok Cd a In o koncentraci $1,000 \text{ g l}^{-1}$

3. Postup pro promývání vzorků vlasů

K odstranění exogenních kovů a prachu z povrchu vlasů se použije jako promývací medium aceton a demineralizovaná voda v pořadí aceton, 3x demineralizovaná voda, aceton. V každém rozpouštědle se nechají vlasy louhovat 10 minut za občasného promíchání. Po promytí v posledním rozpouštědle se nechají vlasy vysušit na filtračním papíře za laboratorní teploty mimo dosah veškerých chemikálií (mimo pracovní plochy v digestoři).

4. Postup pro rozklad vzorků vlasů

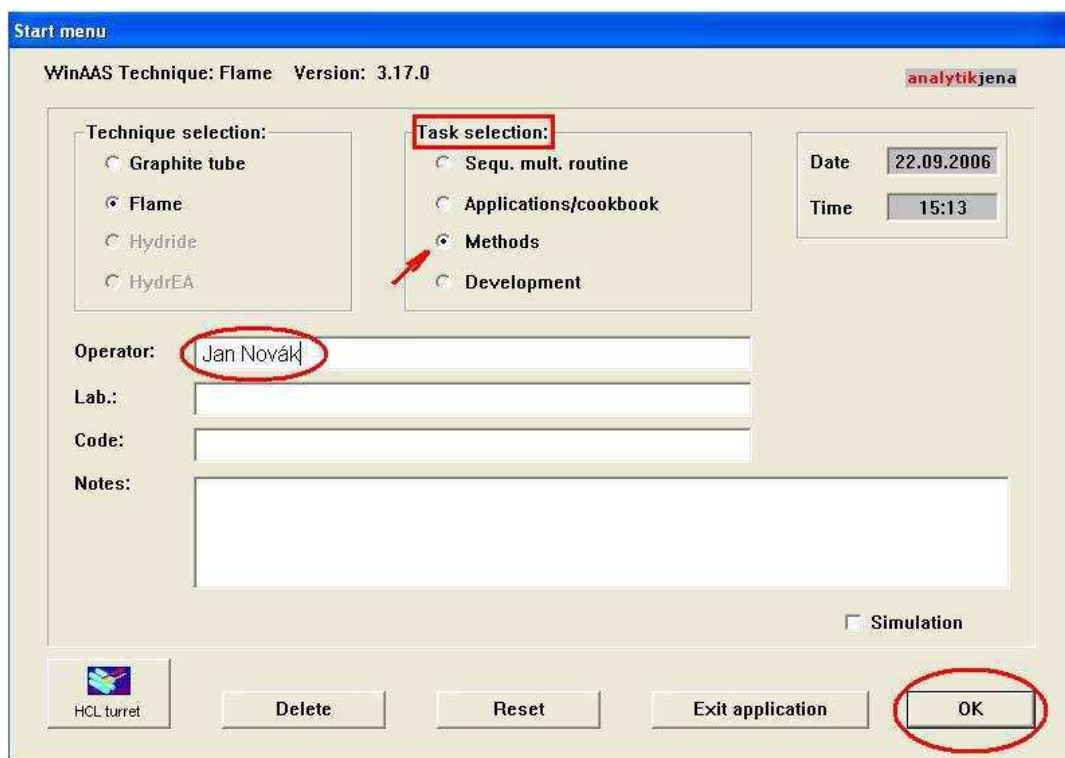
K analýze se do 150 ml kádinky naváží 0,5 g vzorku. Vzorek se mírně ovlhčí destilovanou vodou a přidá se 5 ml konc. HNO_3 . Kádinka se přikryje hodinovým sklíčkem a roztok se na topné desce přivede k mírnému varu. Po rozložení se přidají 2 ml H_2O_2 . Po krátkém povaření se opláchne hodinové sklíčko a roztok se nechá vychladnout. Roztok se po vychladnutí kvantitativně převede do 100 ml odměrné baňky a doplní destilovanou vodou po rysku. Poté se roztok přefiltruje přes suchý filtr se střední hustotou pórů do 100 ml PE lahvičky. Zároveň se stejným způsobem provádí slepá stanovení.

5. Stanovení obsahu Zn ve vlasech metodou FAAS

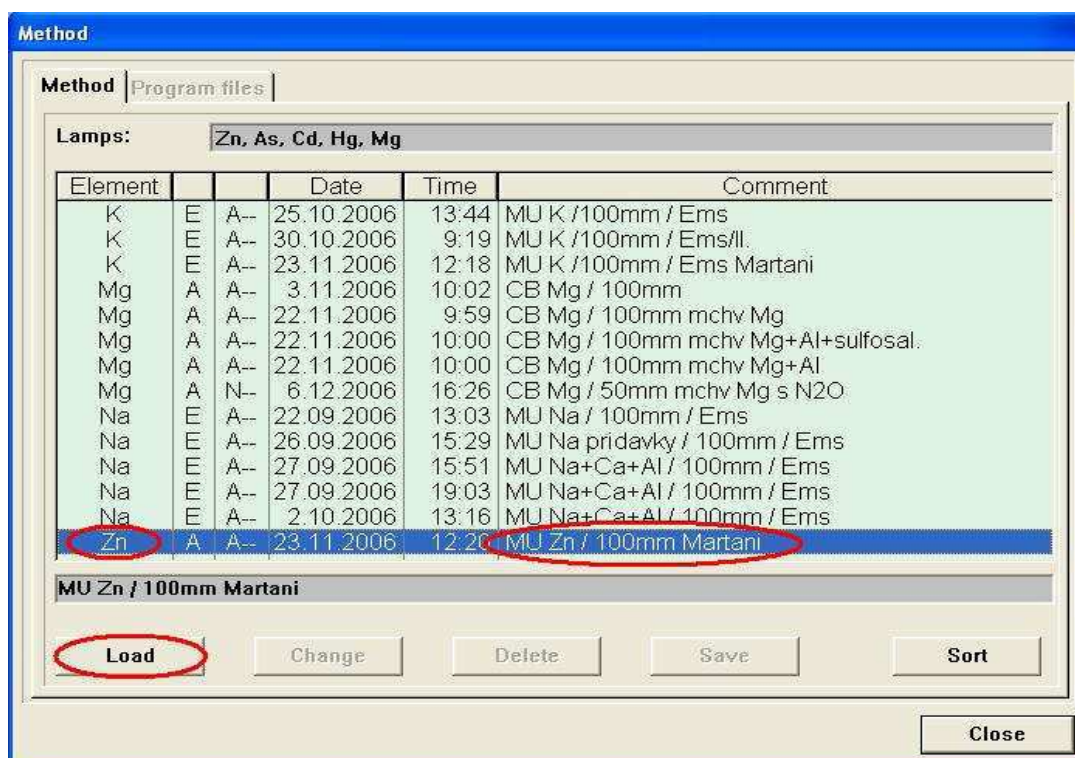
Obsah Zn se stanoví plamenovou atomovou absorpční spektrometrií (FAAS) na rezonanční čáře 213,9 nm s propouštěným spektrálním intervalem 0,7 nm. Kalibrační roztoky obsahují 0; 0,25; 0,5; 0,75 a 1 mg l^{-1} Zn. Obsah Zn se vyhodnotí z kalibrační křivky.

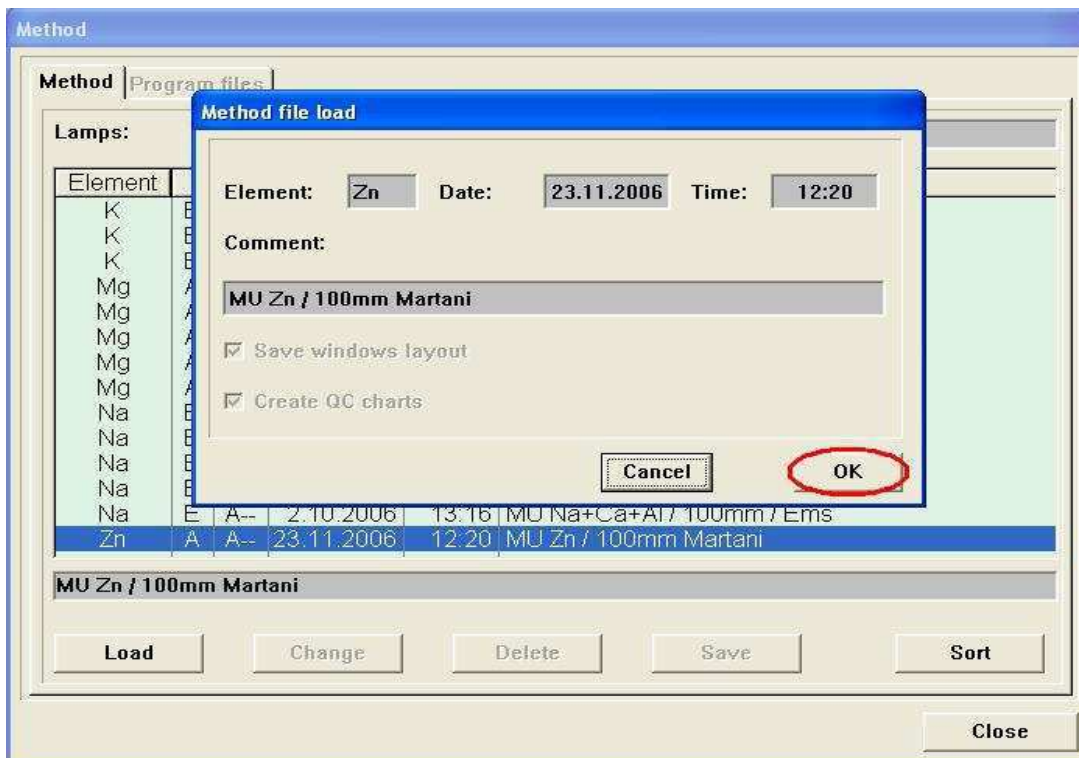
Návod pro obsluhu AA spektrometru novAA 300

1. Po spuštění počítače se přihlásíte do počítače jako "Student", spustíte program WinAAS pomocí ikony na ploše.
2. Zapněte přístroj novAA 300, kompresor a otevřete ventil acetylenové láhve (pokud si nejste jisti, požádejte o pomoc vedoucího cvičení).
3. Pak napíšete své jméno do kolonky "Operator" např. Jan Novák a zvolíte v oblasti "Task selection:" možnost "Methods". Pak klikněte na OK. (viz obr. níže)

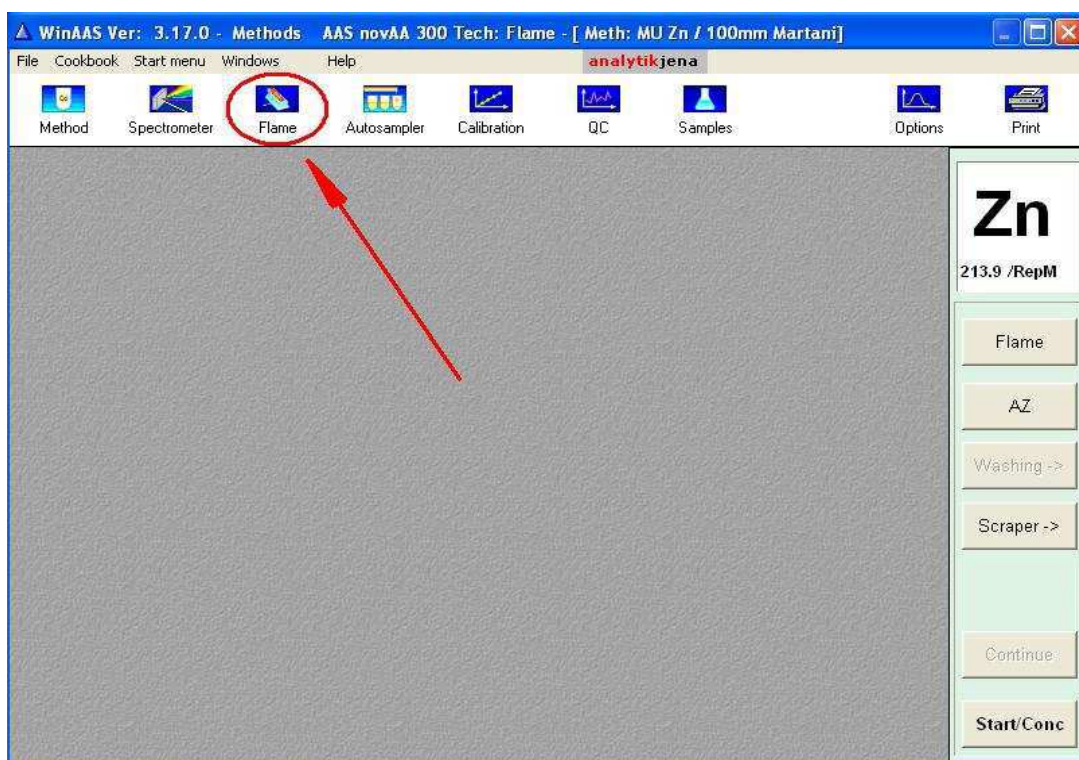


4. Otevře se vám nabídka “Method” a zde si zvolíte požadovanou metodu. Zvolte metodu označenou jako “MU Zn / 100mm Martani”. Metoda se načte buď dvojklikem myši na vámi požadovanou položku v nabídce nebo označením dané metody (modře posvíceno) a kliknutím na tlačítko “Load”, otevře se vám nové okno a zde potvrdíte volbu klikem myši na OK. (viz obrázky níže). Pozn.: obrázek (vlevo) zde uvedený je jen orientační, množství metod uvedených v nabídce se může měnit, proto si prosím před volbou metody pečlivě přečtete její název.

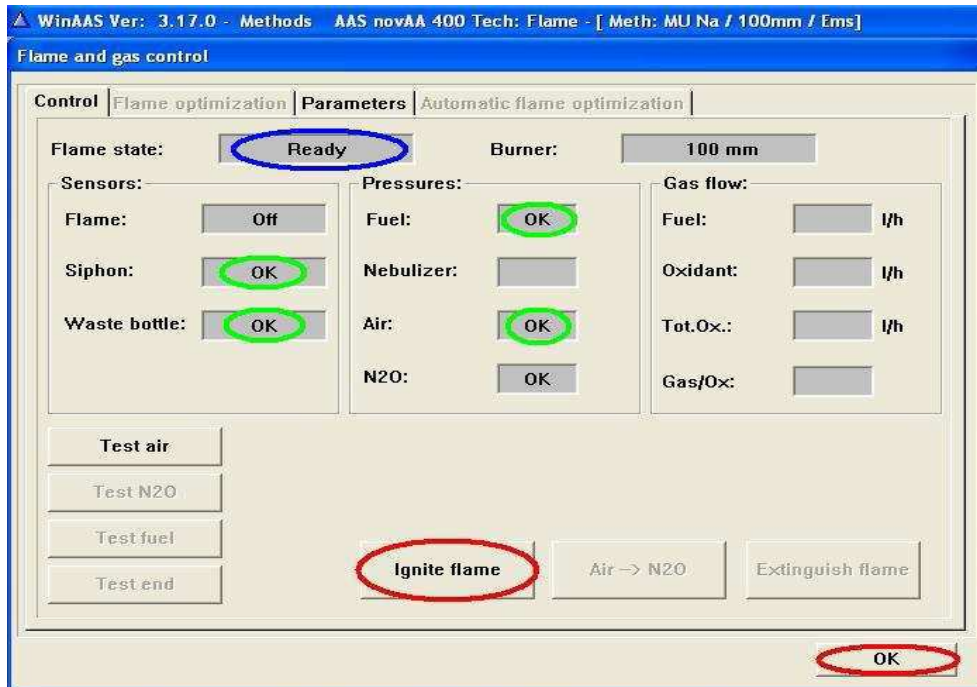




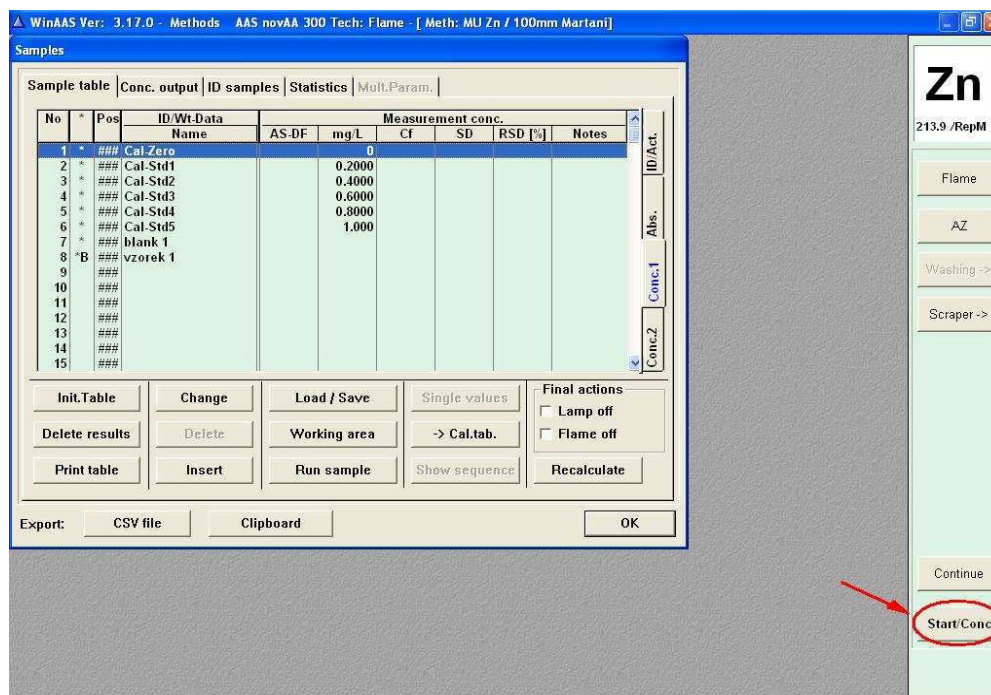
5. Nastavení hořáku pod úhel 0°: Pro nastavení hořáku požádejte o pomoc vedoucího cvičení.
6. V horní liště zvolte položku "Flame".



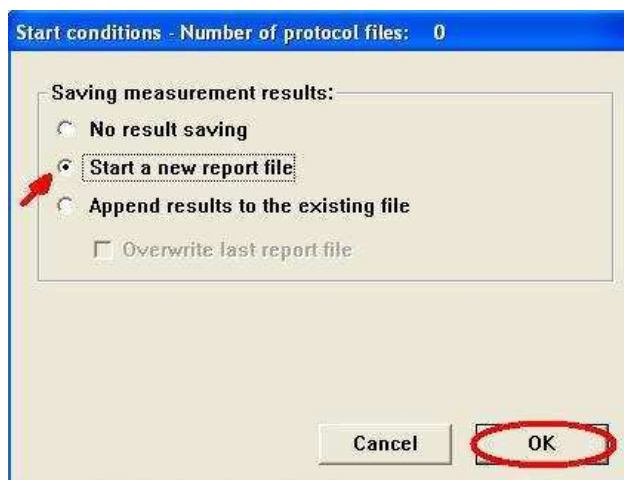
- Otevře se vám nové okno pod názvem “Flame and gas control”, pak klikněte na záložku “Control“ a zkontrolujte, zda je v poli “Flame state” zobrazeno Ready, pak zkontrolujte pole “Siphon, Waste bottle, Fuel a Air” zda je u nich zobrazeno OK. Pokud je vše v pořádku klikněte na tlačítko “Ignite flame”, tím dojde k zapálení plamene. Ihned dejte nasávat kapilárou zmlžovače destilovanou vodu. Pak klikněte na OK. (viz obr. níže).



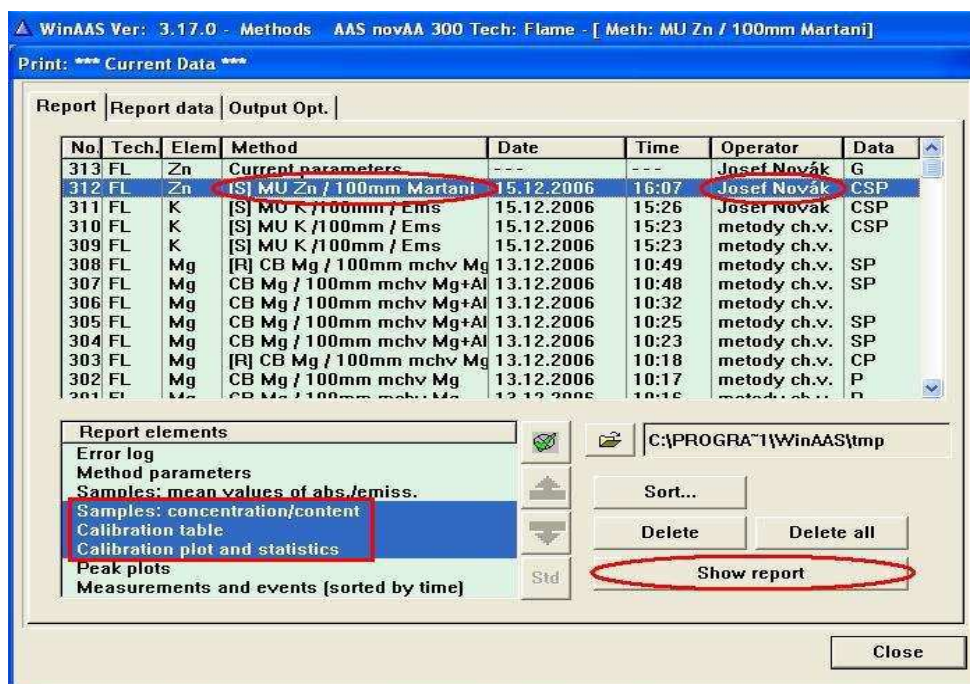
- Teď jste opět v nabídce jako v bodě 6 (horní obrázek), ale zvolíte položku “Samples”. Otevře se vám okno pod označením “Samples” a zde jsou již připraveny k měření jednotlivé roztoky (kalibrační, modelové a neznámý vzorek). Klikněte na tlačítko “Start/Conc” v pravém spodním rohu obrazovky (viz obr. níže). Tím jste spustili analýzu.



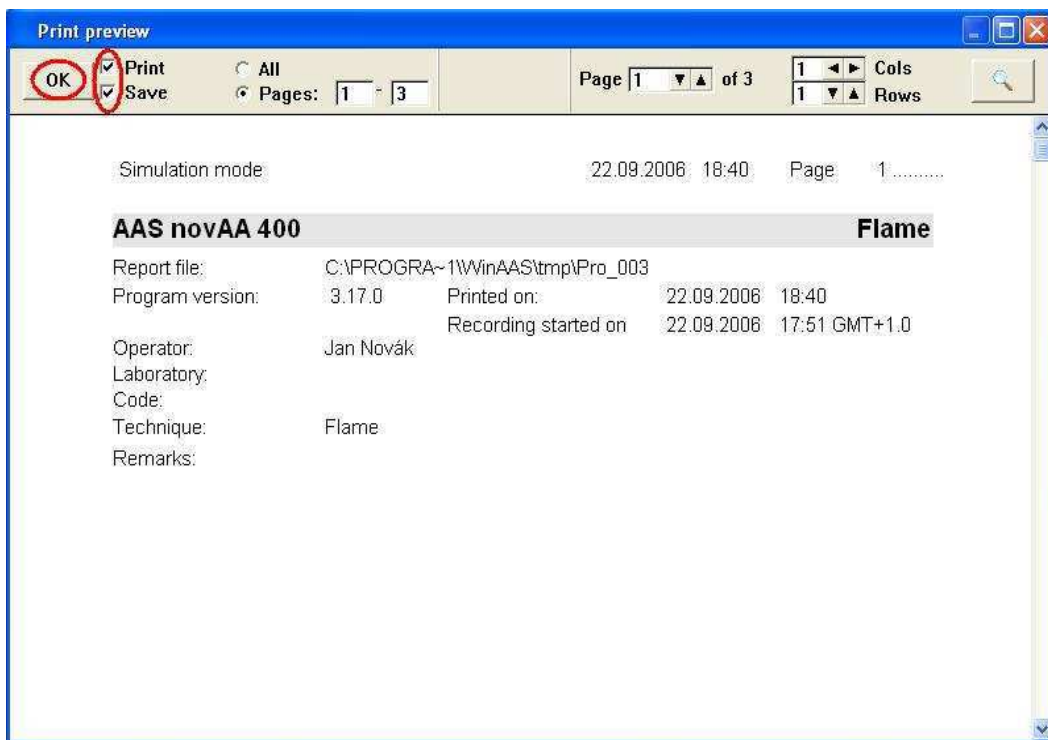
- Teď se na obrazovce objeví okno pod názvem “Start conditions” a zde zvolíte možnost “Start a new report file” a stisknete OK (viz obr. níže).



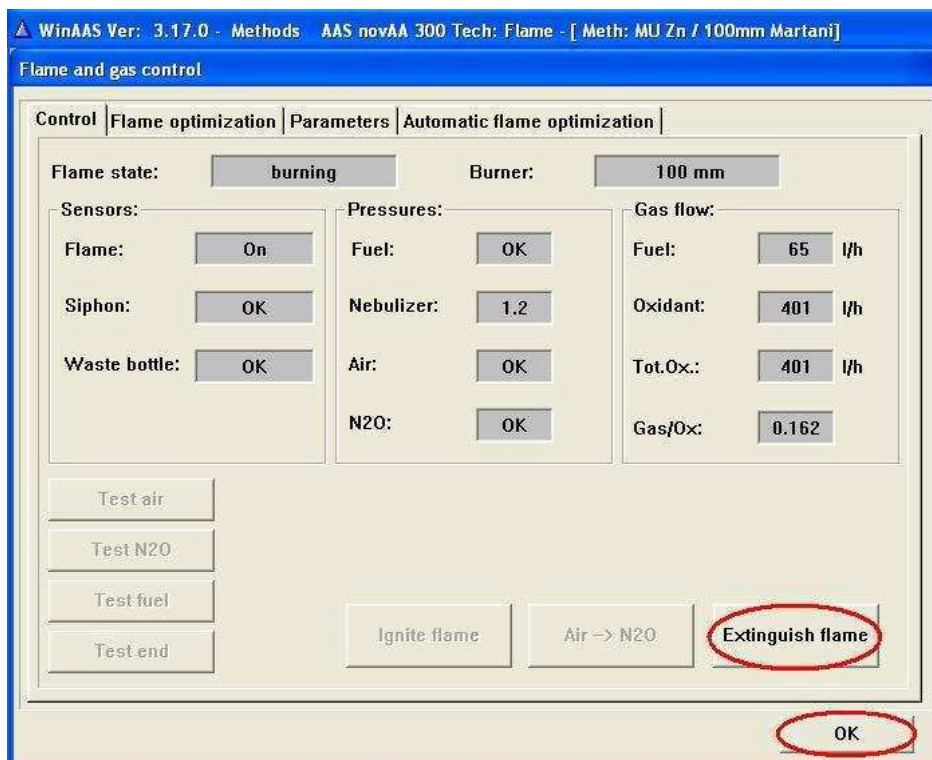
- Teď se na obrazovce budou postupně zobrazovat okna, která vás provedou celou analýzou. Nejprve se objeví okno s nápisem “Dip into wash solution!” dejte tedy nasávat destilovanou vodu, pak se objeví okno s nápisem “Dip into Cal-Zero - 0 mg/l” a dejte zmlžovat roztok o koncentraci 0 mg l⁻¹ Zn. Tímto způsobem pokračujte dále až do změření kalibračních roztoků, blanku a neznámého vzorku. Po skončení měření zmáčkněte klávesu ESC, tím zavřete všechny zobrazené grafy a v okně “Samples” klikněte na OK.
- V následujícím kroku si vytisknete a uložíte vámi změřená data. Po skončeném měření se znovu nalézáte v nabídce jako v bodě 6 (horní obrázek). Zvolte ikonu “Print”. Zobrazí se vám následující okno (viz obr. níže). Nejprve vyberte vámi změřená data tzn. pro měření zinku to je MU Zn / 100 mm Martani, kde jako Operator bude vaše jméno tedy v našem případě Jan Novák. V “Report elements” vyberte “Samples: concentration/content, Calibration table, Calibration plot and statistics” a klikněte na “Show report”.



- Teď si zprávu můžete projít, uložit a vytisknout. Zatrhněte políčka “Print“ a ”Save“ v levém horním okraji okna a klikněte na OK (viz obr. níže) a v následujícím okně klikněte na “Close“



- Teď jste se opět dostali do nabídky z bodu 6 (horní obrázek), zvolíte “Flame“ a jste v okně “Flame and gas control“, klikněte na tlačítko “Extinguish flame“, tím dojde k zhasnutí plamene. Zavřete okno pomocí tlačítka OK.



- Opět se dostanete na známou nabídku z bodu 6 (horní obrázek). Tentokrát ale neklikáte na žádnou z ikon, ale klikněte v horní liště na Start menu, vyskočí na vás okno a v něm zvolte Yes. Tímto krokem jste se dostali na začátek celého měření jak je popsáno v bodě 3.
- Aplikaci zavřete zmáčknutím tlačítka Exit application.

6. Stanovení obsahu Cd ve vlasech metodou ICP-MS

Obsah Cd se stanoví hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem. Stanovení Cd bude provedeno metodou kalibrační přímky s korekcí na vnitřní standard. Pro měření se použije izotop ^{111}Cd a jako vnitřní standard izotop ^{115}In . Z důvodu přítomnosti možných spektrálních interferencí (např. $^{39}\text{K}_2^{16}\text{O}_2^{1}\text{H}^+$) bude použita pro odstranění interferencí kolizní cela s průtokem helia $5,5 \text{ ml min}^{-1}$.

Kalibrační roztoky se připraví v koncentracích 0; 0,25; 0,5; 0,75 a $1 \mu\text{g l}^{-1}$ Cd. Kalibrační roztoky by měly obsahovat stejnou koncentraci HNO_3 jako roztoky vzorků. Roztok vnitřního standardu se připraví o koncentraci $200 \mu\text{g l}^{-1}$ In v 2% HNO_3 a bude přimícháván ke vzorkům a standardům v průběhu měření pomocí peristaltického čerpadla.

7. Vyjadřování výsledků

Obsah Zn a Cd ve vzorku se uvádí v $\mu\text{g g}^{-1}$.

III. Použitá literatura

1. Rodrigues J.L., Batista B.L., Nunes J.A., Passos C.J.S., Barbosa Jr. F.: Science of the total environment: 405, 370-376 (2008).
2. Mochizuki M., Anahara R., Mano T., Nakayama Y., Kobori M., Omi T, Matsuoka S., Ueda F.: Bull Environ Contam Toxicol 89, 577–579 (2012).
3. Barbosa Jr. F., Tanus-Santos J.E., Geriach R.F., Parsons P.J.: Environ Health Perspect: 113, 1669–1674 (2005).
4. Beneš B., Sladká J., Spěváčková V., Šmíd J.: Cent. Eur. J. Publ. Health 4, 184–186 (2003).
5. Sanna E., Liguori A., Palmas L., Soro M.R., Floris G.: Ecotoxicol. Environ. Saf. 55, 293–299 (2003).
6. Dunicz-Sokolowska A., Radomska K., Dlugaszek M. Graczyk A.: Magnes. Res. 19, 35–45 (2006).
7. Dunicz-Sokolowska A., Graczyk, A., Radomska K., Dlugaszek M., Wlazlak E., Surkont G.: Magnes. Res. 19, 167–179 (2006).
8. Puchyr R.F., Bass D.A., Gajewski R., Calvin M., Marquardt W., Urek K., Druyan M.E., Quig D.: Biological Trace Element Research 62, 167-182 (1998).
9. González-Muñoz M.J., Peña A., Meseguer I.: Food and Chemical Toxicology 46, 3048–3052 (2008).
10. Wolowiec P., Saeid A., Mikulewicz M., Chojnacka K.: Przemysl chemiczny 91, 1078-1082 (2012).
11. Gundacker C., Wittmann K.J., Kukuckova M., Komarnicki G.: Environmental research 109, 786-796 (2009).
12. Foo S. C., Khoo N. Y., Heng A., Chua L. H., Chia S. E., Ong C. N., Ngim C.H., Jeyaratnam J.: International Archives of Occupational and Environmental Health, 65, 583–586. (1993).
13. Iyengar V., Woittiez J., Clinical Chemistry, 34, 474–481 (1988).
14. Baselt, R. C.: Disposition of toxic drugs and chemicals in man, Biomedical Publications, Seal Beach, CA, (2011).
15. Airey, D.: Environmental Health Perspectives, 31, 303–316 (1983).

16. Triunfante P., Soares M. E., Santos S., Tavares S., Carmo H., Bastos M.L.: *Forensic Science International*, 184, 1–6 (2009).
17. Gerstner H.B., Huff J.E.: *Journal of Toxicology and Environment Health*, 2, 491–526 (1977).
18. Teresa M., Vasconcelos S.D., Tavares H.M.F.: *The Science of the Total Environment* 205, 189-199 (1997).
19. Wilhelm M., Ohnesorge F.K.: *Sci. Total Environ.* 92, 199-206 (1990).
20. Wilhelm M., Hafner D., Lombeck I., Ohnesorge F.K.: *Sci. Total Environ.* 10, 199-207 (1991).
21. Michalak I., Chojnacka K., Saeid A.: *Chin. Sci. Bull.* 57, 3460-3465 (2012).
22. Wei Z.L., Rui Y.K., Shen L.: *Spectroscopy and spectral analysis* 28, 2187-2188 (2008).
23. Ohmori S.: *J Radioanal Nucl Chem*: 84, 451–459 (1984).
24. Ryabukin Y.S., IAEA report, IAEA/RL/50, Vienna (1978).
25. Spěváčková V.: Odběry klinických vzorků. Sborník přednášek ze semináře Anorganická analýza životním prostředím. Komorní Lhotka, 64-70, 1997.
26. Rodrigues J.L., Nunes J.A., Batista B.L., Souza S.S., Barbosa F.: *J Anal Atom Spect.* 23, 992–996 (2008).
27. Rasmussen K.L., Kučera J., Skytte L., Kameník J., Havránek V., Smolík J., Velemínský P., Lynnerup N., Bruzek J., Vellej J.: *Archaeometry* (2012).
28. Benner, B.A. Jr, Levin, B.C.: Hair and human identification, in *Hair in toxicology: an important bio-monitor* (ed. D. J. Tobin), Ch. 5, 104–124, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, (2005).

Mokrý rozklad v autoklávu. Analýza mléka

I. Úvodní část

1. Mokrý rozklad

Rozklad na mokré cestě se provádí často v HNO_3 nebo ve směsi minerálních kyselin (především HNO_3 , H_2SO_4 , HClO_4), někdy doplněných H_2O_2 , za zvýšené teploty při atmosférickém tlaku. Podstatou mokrého rozkladu je oxidace vzorku. Biologická matrice je oxidována příslušnými činidly. Nejprve dochází k rozrušení struktury matrice kyselou hydrolyzou a následně k oxidaci vzniklých produktů. Rozklad probíhá za nižších teplot než u suchého rozkladu, protože maximální teplota je určena teplotou varu činidel. Nejúčinnější je HClO_4 za vyšších teplot. Při práci s kyselinou chloristou je však třeba upozornit na rizika. Nebezpečí exploze se objevuje např. při rozkladu příliš velké navážky vzorku nebo při přehřátí reakční směsi. Práce s touto kyselinou vyžaduje respektování pravidel bezpečné práce s ní, páry se mohou usazovat v odtahu a na stěnách digestoře a k explozi může dojít po čase i při běžné práci v laboratoři [1].

Kyselina dusičná je častým a mnohdy nevhodnějším činidlem pro rozklad vzorků, ale také prostředím pro měření. Koncentrovaná HNO_3 je silným oxidačním činidlem, které uvolňuje stopové prvky z mnoha materiálů a vytváří rozpustné dusičnany. Azeotropní směs HNO_3 s vodou má teplotu varu $122\text{ }^\circ\text{C}$, což způsobuje při otevřeném rozkladu dlouhou dobu rozkladu. Proto se přidávají silná oxidační činidla jako H_2O_2 nebo HClO_4 . Oxidační vlastnosti HNO_3 se projevují při zředění do koncentrace asi 2 mol l^{-1} . HNO_3 se považuje za nejlepší kyselé prostředí pro měření pomocí ICP-MS. Lze ji také získat o vysoké čistotě a je tak vhodným prostředím pro ultrastopovou analýzu [2]. Azeotropní směs kyseliny chloristé ($72,4\% \text{ HClO}_4$) s vodou má teplotu varu $203\text{ }^\circ\text{C}$ a horká je natolik silné oxidační činidlo, že může explozivně reagovat s organickými sloučeninami. Zředěná nebo chladná již tyto výbušné vlastnosti tolik neprojevuje. Z těchto důvodů je nejlepší biologické vzorky, např. tkáně, předrozložit pouze s HNO_3 nebo použít jen směs HNO_3 s HClO_4 , aby se odstranily reaktivní látky ještě před oxidací s HClO_4 . Vzorky s vyšším obsahem tuku nebo olejů by se neměly oxidovat HClO_4 ani její směsí [2].

Kvalitní postupy pro rozklad mnoha biologických materiálů spočívají ve směsi HNO_3 a HClO_4 . Pro rostlinné vzorky s vysokým obsahem křemíku je užitečná kyselina fluorovodíková. Používá se v kombinaci s HNO_3 nebo se směsí HNO_3 a H_2O_2 nebo HClO_4 . Vypuštění HClO_4 vede ke značnému poklesu účinnosti rozkladu. To se kompenzuje buď přidáním katalyzátoru nebo se pracuje pouze s HNO_3 , avšak za zvýšeného tlaku [1,3]. Tepelný zdroj i rozkladné nádoby (zkumavky, kádinky, baňky) jsou z hlediska tvaru, velikosti a materiálu voleny tak, aby byl zajištěn rychlý a rovnoměrný přestup tepla. Reakční nádoby jsou z teflonu nebo křemenného skla, zdrojem tepla např. topné desky nebo mikrovlnné záření. Volbou navážky, činidel, jejich množství a vhodným teplotním režimem je možné dosáhnout téměř dokonalého rozkladu organické matrice vzorku. Teplotní program rozkladu vychází z teplot varu použitých kyselin a z reaktivity látek obsažených ve vzorku. Pro různé materiály je třeba modifikovat navážku. Provedení rozkladu s kontrolovaným a pozvolným teplotním režimem je zpravidla mnohem bezpečnější než klasický způsob ohřevu nad plamenem. I zde je však nutná nejvyšší opatrnost, zvláště při rozkladu vzorků směsí obsahující kyselinu chloristou (směs $\text{HNO}_3+\text{H}_2\text{SO}_4+\text{HClO}_4$ je bezpečnější, než směs $\text{HNO}_3+\text{HClO}_4$) [4].

Rozklad se může provádět v otevřeném nebo v uzavřeném systému, s konvenčním nebo mikrovlnným ohřevem. Mokrý rozklad v otevřeném systému pro mineralizaci biologického materiálu používá klasické nádoby (kádinky, Erlenmeyerovy a Kjeldahlovy

baňky s kulatým dnem). Nádobky jsou křemenné nebo skleněné. Při konvenčním ohřevu se využívá jako zdroj tepla elektricky vyhřívaná písková lázeň, kovový vyhřívaný blok, topná deska, topné hnízdo (vše často s termostatem) a IČ lampa. Ohřev reakční směsi probíhá konvekcí nebo radiací. Výhodou tohoto způsobu rozkladu je jednoduchá manipulace při přidávku činidel a použití většího množství vzorku. Nevýhodou je možná kontaminace vzorku, ztráta analytu a velká spotřeba činidel. K mineralizaci biologických materiálů v otevřeném systému se jako zdroj energie pro rozklad vzorku využívá též mikrovlnné pole. Tato zařízení pak mohou automaticky zpracovávat vzorek o navážce 0,2-2,0 g sušiny během 20-50 min a kontinuálně přidávat činidla v průběhu mineralizace [1].

Někdy se používá též rozklad v otevřeném systému prováděný pod zpětným chladičem. Tento způsob vede ke snížení spotřeby reakčních činidel a možných ztrát analytu. Mokrý rozklad v nádobkách pod zpětným chladičem využívající moderního způsobu ohřevu pomocí mikrovlnného zařízení umožňuje vyšší navážky vzorku a to až několik gramů [1,5].

2. Rozklad v autoklávu

Obsah uhlíku po rozkladu biologických vzorků v otevřeném systému se pohybuje v rozmezí 2-46%. Účinnost rozkladu je závislá na teplotě a vysoká teplota je podmíněna prací v uzavřeném systému, kde vzrůstá tlak. Pro destrukci v uzavřeném systému se používá autokláv. Úplné destrukce organické matrice při použití 65% HNO_3 se dosáhne až při teplotě vyšší než 280 °C. Dosažení tak vysoké teploty při mokřím rozkladu je umožněno zvýšeným tlakem. Tlakový rozklad je rozklad prováděný v uzavřeném systému, tj. v uzavíratelných teflonových nebo křemenných reakčních nádobkách umístěných ve vnějším plášti. Mechanická odolnost teflonu je někdy podpořena pláštěm z nerez oceli. Pro tyto autoklávy ovšem nelze použít k ohřevu mikrovln, protože kov odráží mikrovlnné záření. Rozklad za vysoké teploty (300 °C) v uzavřeném systému lze provádět v křemenných nádobkách umístěných do bloku vyhřívaného konvenčním způsobem podle zvoleného teplotně-časového programu pod tlakem až 14 MPa [1,3].

Navážka vzorku zpravidla odpovídá množství 0,2-0,5 g sušiny. Mineralizačním činidlem bývá většinou jen HNO_3 , případně směs $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$. Rozklad v uzavřeném systému je obecně mnohem výhodnější než mokrý rozklad v otevřeném systému, protože zabraňuje ztrátám těkavých prvků (selenu, arsenu, rtuti, cínu), vnější kontaminaci vzorků a snižuje spotřebu činidel. Může však dojít ke kontaminaci zevnitř zařízení, např. při tlakovém rozkladu v autoklávu s ocelovým pláštěm může pronikat do teflonové vnitřní nádoby Fe, Co, Ni, Cu, Cr a Mo, což je nutno brát v úvahu ve stopové analýze. Vzhledem k menší navážce vzorku se tyto postupy používají zejména ve spojení s vysoce citlivými analytickými metodami, jako jsou AAS s elektrotermickou atomizací, ICP spektrometrie, případně metody anodické rozpouštěcí voltametrie. Aplikace plamenové AAS je většinou možná jen pro stanovení prvků zastoupených ve vyšších koncentracích (např. Na, K, Mg, Ca, Fe, Zn, Cu) [1]. Při ohřevu kyseliny chloristé v uzavřené nádobě, např. na 240 °C, její tlak prudce naroste na $6 \cdot 10^5$ Pa. Nádoba však zůstane pod tlakem i po jejím ochlazení, protože došlo k jejímu nevratnému rozkladu za vzniku plynných produktů. Manipulace s nádobou je pak po ochlazení nebezpečná. Při rozkladu vzorků s mikrovlnným ohřevem se nedoporučuje používat koncentrovanou kyselinu chloristou [6,7].

Ohřev může být realizován konvekcí nebo absorpcí mikrovlnné energie. Konvenční ohřev např. v horkovzdušné sušárně je energeticky i časově náročný, protože se nejprve zahřívá nerezový plášť, pak stěny vlastní nádoby a nakonec vzorek. Po ukončení rozkladu se musí počítat s dobou pro chlazení celého systému. Nevýhody přímého vyhřívání odstraňuje mikrovlnný způsob ohřevu reakční směsi. Mikrovlnné záření se generuje magnetronem a v analytické chemii se používá povolená frekvence 2450 MHz. V praxi se využívá dvou typů mikrovlnných zařízení. U přístrojů s rozptýleným polem mikrovlnné energie je množství

energie místně proměnné, takže mikrovlnná pec je vybavena rotorem s reakčními nádobkami. Rotace během rozkladu zajistí stejnoměrnou dodávku energie do všech nádobek. Druhým typem jsou přístroje s fokusovaným mikrovlnným polem, u kterých se energie přivádí pomocí speciálního vlnovodu přímo do místa, kde dochází k rozkladu vzorku. Tento systém přenosu energie umožňuje výrazně zvýšit teplotu mineralizace při celkové úspoře energie. Nádoby používané v mikrovlnných rozkladných zařízeních musí být z takového materiálu, který zajistí nízkou ztrátu mikrovlnné energie. Podle interakce s mikrovlnným zářením rozdělujeme látky do několika skupin, a to na látky odrážející mikrovlnné záření (kovy), látky propouštějící mikrovlnné záření (různé plasty, křemen a sklo) a látky pohlcující mikrovlnné záření (zejména voda a roztoky kyselin), kde interakcí hmoty a mikrovlnného záření vzniká teplo. Nádoby používané v mikrovlnných rozkladných systémech musí být z materiálu s vysokou propustností mikrovlnného záření, jako jsou fluoroplasty (polytetrafluorethylen - PTFE, chemicky modifikovaný PTFE - PFA, perfluorethylenpropylen - FEP), tavený křemen a sklo. Při výběru materiálu pro rozkladné nádoby se musí pečlivě zvážit jejich chemická a tepelná odolnost (PTFE a PFA až do 250 °C, FEP až do 200 °C, křemenné sklo se používá do 300 °C) [1,5]. Vlivem absorpce mikrovlnné energie dochází k ohřevu rozkladné směsi kyselin a vzorku mnohem rychleji a účinněji. Stěny nádobek se primárně nezahřívají, ale ohřev nastává interakcí záření a molekul vzorku. Mikrovlnný tlakový rozklad vzorků je tedy ve srovnání s mineralizací za atmosferického tlaku podstatně rychlejší. V některých případech lze vzorek rozložit a zchladit na laboratorní teplotu již za 20 minut. Některé typy mikrovlnných tlakových mineralizátorů umožňují kombinovat rozklad za atmosferického a zvýšeného tlaku. Účinnost tlakového mikrovlnného rozkladu je dostatečná pro analýzu získaných mineralizátů metodami atomové spektrometrie [4].

Při aplikaci spektroskopických metod je pro rozklad organické osnovy vzorku vhodná HNO_3 . Za normálního tlaku však samotná vzorek úplně nerozloží a oxidační účinek se zvyšuje přidávkem H_2O_2 . I tak nedochází k úplnému rozkladu, ale k solubilizaci a obsah zbytkového uhlíku je $>5\%$. Tímto postupem je možné některé analyty s dobrou spolehlivostí stanovit pomocí AAS nebo ICP-OES. Při rozkladu živočišných vzorků musí být rozklad co nejdokonalejší, protože některé kovy vytváří s organickými sloučeninami silné komplexy, které mohou vést k rušivým vlivům např. při použití hydridové techniky. Peroxid vodíku je možné přidávat i při rozkladu za zvýšeného nebo vysokého tlaku, potom obsah zbytkového uhlíku je nižší (do 2%). Dobrých výsledků s asi 3% zbytkového uhlíku lze při zvýšeném či vysokém tlaku dosáhnout i při použití samotné HNO_3 . Směs konc. HNO_3 a H_2O_2 s malým přídatkem HCl je možné použít na rozklad biologických vzorků či potravin. Organickou matici dobře rozkládá směs HNO_3 s přídatkem H_2SO_4 dokonce i za normálního tlaku. Použití H_2SO_4 je však nežádoucí při stanovení prvků ICP-OES a ICP-MS v důsledku rušivých vlivů transportu a ET-AAS z důvodu vlivu matrice [6].

Tlakový rozklad s konvenčním nebo mikrovlnným ohřevem je vhodný jako součást analytického postupu pro stanovení prvků plamenovou i bezplamenovou AAS, ICP-OES a ICP-MS. Tlakové rozklady prováděné kyselinou dusičnou v teflonových nádobkách, pokud nejsou doplněny o další úpravu mineralizátu např. rozkladem s HClO_4 , nejsou vhodné pro voltametrická stanovení kovů. Pro voltametrická měření se doporučuje zpracovávat biologický vzorek tlakovým rozkladem v křemenných nádobkách za vysoké teploty (nad 280 °C), což umožní úplné odstranění organické osnovy vzorku [1].

3. Mléko

Mléko a mléčné výrobky představují základní potraviny pro výživu obyvatelstva včetně kojenců a dětí díky svým nutričním hodnotám. Stejně jako ostatní potraviny živočišného původu má vysokou výživovou hodnotu. Mléko je zdrojem velmi kvalitních bílkovin (3,3 %), které mají ve srovnání s bílkovinami masa výhodu, že mají velmi nízký

obsah purinových bází. Základní složkou mléka je voda, jejíž obsah se podle původu mléka pohybuje v poměrně širokém rozmezí. V kravském mléce bývá 87-91% vody [8]. Obsah tuku mlékárensky neupraveného mléka je v průměru 4 %. Mléčný tuk má vysoký obsah nasycených mastných kyselin, ale přesto je poměrně dobře stravitelný, protože podstatnou část tvoří mastné kyseliny s krátkým a středním uhlíkovým řetězcem. Příznivé účinky mají mléčné fosfolipidy. Mléko obsahuje cholesterol, jehož množství závisí na obsahu tuku ve výrobku. Obsah cholesterolu v nízkotučných výrobcích je nízký (v odstředěném mléce pouze 18 mg kg⁻¹), v másle naopak vysoký (2,5 g kg⁻¹). Ze sacharidů obsahuje mléko téměř výlučně laktosu (4,7%), která je příčinou trávicích potíží u lidí s laktosovou intolerancí (onemocnění, kdy organismu chybí v tenkém střevě enzym laktáza, který štěpí tento mléčný cukr). Z dalších živin je mléko zdrojem řady vitaminů - A, D a karotenů (obsah těchto vitaminů je v odstředěném mléce velmi nízký), vitaminů skupiny B (zvláště riboflavinu) a minerálních látek, zejména vápníku, dále zinku a jodu. Mléko je na vápník bohaté a navíc jeho využitelnost je z mléka podstatně vyšší než z rostlinných zdrojů, a proto jsou mléko a mléčné výrobky jako zdroj vápníku nenahraditelné. Navíc obsahují laktosu a aminokyseliny, které využitelnost vápníku zvyšují.

Celosvětově je nejvíce využíváno mléko kravské. V rozvinutých zemích tvoří 98% vyrobeného mléka, v rozvojových zemích pouze 2/3. Zbývající část tvoří mléka jiného původu (kozí, ovčí, buvolí, velbloudí) [9]. Základní chemické složení mléka kravského, kozího, ovčího, kobyliho a tuleního v porovnání s lidským mlékem je uvedeno v tab.1.

Tab.1. Složení mléka různého původu (v %, průměrné hodnoty) [10-12]

druh mléka	voda	proteiny	tuk	sacharidy	minerální látky
kravské	87,5	3,2	3,9	4,6	0,7
kozí	86,9	3,2	4,5	4,3	0,8
ovčí	79,8	4,6	7,2	4,8	0,9
kobyli	89,8	2,0	1,5	6,2	0,4
tulení	34,0	12,0	4,0	neobsahuje	0,5
lidské	86,5	1,6	4,5	7,1	0,2

Lidé, kteří ze zdravotních důvodů nemohou konzumovat kravské mléko, často vyhledávají kozí mléko. Množství bílkovin a energetická hodnota kozího a kravského mléka jsou přibližně stejné, kozí mléko je však v porovnání s kravským mlékem lépe stravitelné, neboť má odlišné bílkovinné složení a jemnější rozptýlení tuku. Velmi významné je využití kozího mléka při léčbě zažívacích potíží, hovoří se i o protirakovinných účincích kozího mléka. Kozí mléko hraje i velmi důležitou roli ve výživě dětí, které jsou alergické na kravské mléko. Obsahuje vysoce hodnotné bílkoviny (kasein, albumin, globulin), velmi hodnotné a lehce stravitelné tuky, minerální soli Ca, K, Mg, Na, P, stopové prvky Cu, Zn, Mn, Ti, Cr, relativně málo Fe, vitamíny A, B₁, B₂, B₁₂, C, D, E, kyselinu listovou, osm enzymů (především čerstvě nadojené mléko). Obsah některých minerálních látek v kravském a mateřském mléce je uveden v tab.2 [13].

3. Analýza mléka

Rozhodující pro obsah kontaminujících chemických prvků v mléce není jen množství imisí v dané oblasti, ale vedle krmiva pravděpodobně též geologická stavba podloží v dané lokalitě. Proto jsou i hladiny analytů v mléce velmi proměnlivé. Mléko může obsahovat různá množství kovů.

Kovy jsou uvolňovány do prostředí lidskou činností a z geologického pozadí. Do půdy se dostávají z hnojiv nebo atmosferickou depozicí, ale také přírodním zvětráváním hornin.

Část kovů je z půdy odebírána rostlinami. Přezvýkavci jsou pak exponováni při pastvě, ale také polknutím půdy z povrchové vrstvy, která obsahuje vyšší koncentrace kovů. Kovy jsou distribuovány krví přes metaloproteiny do rozličných tkání a vykazují změny v závislosti na různých faktorech jako druh a stáří jedince, forma kovu, fyziologie aj. Cesty k vylučování jsou moč, výkaly a mléko. Přenos minerálů do mléka je vysoce proměnlivý, částečně pro faktory vztahované k vylučování prsní žlázou (stav tvorby mléka). Zatímco některé kovy jsou v nízkých dávkách esenciální (Cu, Zn), jiné jsou toxické (Cd, Pb) [14].

Tab.2. Obsah minerálních prvků v kravském a mateřském mléce [13]

mléko	kravské plnotučné	mateřské
prvek	mg kg ⁻¹	mg kg ⁻¹
vápník	1100-1300	250-310
hořčík	110-140	20
sodík	480-500	160
draslík	1550-1600	530
fosfor	870-980	130-160
chlor	900-980	860
síra	290-330	100-160
zinek	3,4-4,7	1,2
železo	0,35-0,80	0,3-0,7
měď	0,05-0,2	0,26-0,4
molybden	0,01-0,07	0,002-0,01
mangan	0,03-0,09	0,006-0,03
kobalt	0,0004-0,0011	0,0001
nikl	<0,003-0,03	0,001-0,01
chrom	0,002-0,02	0,0003
selen	0,003	0,006-0,028
jod	0,016-0,75	0,06-0,18
fluor	0,08-0,1	0,016-0,04
bor	0,02-0,2	0,06-0,08
křemík	<2-3	0,7
olovo	0,001-0,002	0,0004-0,002
kadmium	<0,0001-0,001	0,0001-0,0006
rtuť	<0,001	0,0003-0,001
arsen	<0,001-0,003	<0,001
hliník	0,011-0,035	0,004-0,03

Řada prací se zabývá kvantifikací obsahu kovů v mléce a mléčných produktech. Pro stanovení kovů se nejčastěji používá plamenová atomová absorpční spektrometrie, atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.

Mikrovlňný rozklad kombinovaný s plamenovou AAS byl použit pro stanovení zinku a mědi v sušeném mléce. Použitá teplota rozkladu byla 110 °C, doba rozkladu 21 min a objem konc. HNO₃ 4 ml [15]. Mléko a sýr byly lyofilizovány a následně 2-3 g vzorků spáleny. Popel byl rozpuštěn ve 3 ml konc. HNO₃ a před měřením bylo přidáno 15 ml čisté vody. ETAAS byla použita pro stanovení Cd a Pb, plamenová AAS pro stanovení Zn a Cu

[14]. Vzorek kravského mléka o hmotnosti 0,5 g byl také rozložen 5 ml konc. HNO_3 na topné desce zahříváním při 80 °C po dobu 2-3 hod do vzniku čirého roztoku. Přebytek kyseliny byl potom odpařen do vlhkého odparku. Po ochlazení byl odparek rozpuštěn a doplněn do 25 ml 0,2 mol l^{-1} HNO_3 a roztok přefiltrován přes 0,45 mm filtr do polyethylenové nádoby. Stanovení kovů (Fe, Cu, Zn, Pb, Cd) bylo provedeno plamenovou AAS [16]. Prvky v kravském mléce byly stanoveny plamenovou AAS také po rozkladu vzorku v elektrické peci při 450 °C [12]. Vzorek kravského mléka byl také vysušen při 95 °C a spálen při 450 °C s nárůstem teploty < 50 °C hod^{-1} . K popelu bylo přidáno 5 ml 6 mol l^{-1} HCl a pak roztok odpařen do sucha. Zbytek byl rozpuštěn v 0,1 mol l^{-1} HNO_3 a analyzován pomocí ICP-MS [17]. Vzorky buvolího mléka byly rozkládány ve směsi HNO_3 a HClO_4 (4:1). Pro stanovení Cu, Co, Mn, Zn a Fe pomocí AAS byl rozložený vzorek zředěn destilovanou vodou [18].

V oblasti Comté v pohoří Jura, Francie byly sledovány hladiny Cd, Pb, Zn a Cu v kravském mléce a jeho produktech [14]. Koncentrace prvků byly určeny AAS v 61 vzorcích syrového mléka a v 21 vzorcích sýrů. U surových mléčných vzorků byl pouze obsah Zn vždy nalezen v koncentracích nad limit detekce. Obsah Cd, Pb a Cu byl obvykle (93% pro Cd, 97% pro Pb, 98% pro Cu) pod mezí detekce. U sýrů obsahy Cd, Cu, Pb a Zn byly vyšší než v mléce. Srážení mléka pravděpodobně vede ke zkoncentrování způsobenému afinitou kovů ke kaseinu a tuku. Zatímco koncentrace kovů (vztážená na suchou váhu) v surovém mléce byly velmi nízké (0,34–1,01 ng g^{-1} Cd, 0,009–0,126 $\mu\text{g g}^{-1}$ Pb, 0,28–1,71 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cu - počáteční hodnoty udávají polovinu hodnoty detekčního limitu a 20,6–31,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ Zn), koncentrace v sýrech byly významně vyšší (0,68–11,4 ng g^{-1} Cd, 0,02–0,92 $\mu\text{g g}^{-1}$ Pb, 5,35–21,3 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cu, 33,7–63,4 $\mu\text{g g}^{-1}$ Zn). Vyšší koncentrace Cu byly dány pravděpodobně použitím měděného kotle. Detekční limity stanovení prvků byly pro mléko 0,67 ng g^{-1} Cd, 0,02 $\mu\text{g g}^{-1}$ Pb, 0,56 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cu, 0,14 $\mu\text{g g}^{-1}$ Zn, pro sýr 0,42 ng g^{-1} Cd, 0,01 $\mu\text{g g}^{-1}$ Pb, 0,02 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cu a 0,08 $\mu\text{g g}^{-1}$ Zn [14].

U kravského mléka z El-Qaliubiya guverniov v Egyptě bylo analyzováno 100 vzorků od 20 krav a byly nalezeny průměrné koncentrace 16,4 $\mu\text{g g}^{-1}$ Fe, 10,8 $\mu\text{g g}^{-1}$ Zn, 4,40 $\mu\text{g g}^{-1}$ Pb, 2,84 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cu a 0,29 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cd. Koncentrace byly vyšší než doporučené mezinárodní mlékařskou federací [16]. V jižní Podlasi, Polsko bylo analyzováno 90 vzorků kravského mléka pomocí AAS. Průměrné koncentrace v čerstvém mléce byly 173 ± 84 $\mu\text{g kg}^{-1}$ Fe, 3,6 ± 0,9 mg kg^{-1} Zn, 27 ± 17 $\mu\text{g kg}^{-1}$ Mn a 40 ± 23 $\mu\text{g kg}^{-1}$ Cu. Nebyl nalezen žádný vztah mezi stářím krav a koncentrací Zn, Mn a Cu [12]. 144 vzorků kravského mléka bylo analyzováno na obsah těžkých kovů v oblasti Tekkekoy (doprava, průmysl, zemědělství), Samsun, Turecko [17]. Obsahy Cu, Fe, Zn, Cr, Ni, Cd, As a Pb byly určeny pomocí ICP-MS. Byly zjištěny průměrné koncentrace 1,13 mg kg^{-1} Cu, 0,44 mg kg^{-1} Fe, 12,9 mg kg^{-1} Zn, 0,032 mg kg^{-1} Cr, 0,48 mg kg^{-1} Ni, 0,006 mg kg^{-1} Cd, 0,003 mg kg^{-1} As a 0,04 mg kg^{-1} Pb. Obsahy mědi byly mezi 0,62–1,89 mg kg^{-1} , železa 0,12–0,64 mg kg^{-1} , zinku 11,60–14,91 mg kg^{-1} , chromu 0,013–0,075 mg kg^{-1} , niklu 0,31–1,13 mg kg^{-1} , kadmia 0,001–0,013 mg kg^{-1} , arsenu 0,001–0,007 mg kg^{-1} a olova 0,028–0,068 mg kg^{-1} . Vyšší hladiny Cu, Pb a Cd byly zjištěny v letním období [17].

Při analýze 496 vzorků buvolího mléka z oblasti Haryana v Indii byly nalezeny střední hodnoty koncentrací 0,381±0,032 $\mu\text{g g}^{-1}$ Cu, 3,05±0,23 $\mu\text{g g}^{-1}$ Fe, 3,57±0,27 $\mu\text{g g}^{-1}$ Zn, 0,56±0,11 $\mu\text{g g}^{-1}$ Mn a 0,029±0,019 $\mu\text{g g}^{-1}$ Co [18].

Podle vyhlášky č. 298/1997 Sb jsou limitní hodnoty (nejvyšší přípustné množství) v mg kg^{-1} kontaminujících chemických prvků v mléce 0,4 mg kg^{-1} Cu, 0,01 mg kg^{-1} Cd, 0,02 mg kg^{-1} Pb a 10,0 mg kg^{-1} Zn.

II. Mineralizace mléka v autoklávu

1. Princip

Navážka vzorku se oxiduje směsí kyseliny dusičné a peroxidem vodíku v uzavřeném systému. Materiál k analýze se umístí spolu s kyselinou dusičnou a peroxidem vodíku do nádoby z PTFE, uzavře víkem a utěsní v ocelovém plášti. Celý autokláv se vloží do horkovzdušné sušárny a zahřívá. V uzavřeném autoklávu vzniká zahřátím jeho obsahu tlak, který urychluje rozklad vzorku. Teplota během rozkladu je udržována na zvolené hodnotě. Výsledkem je čirý roztok vhodný po zředění k analýze metodami atomové spektrometrie.

2. Využití

Laboratorní autokláv je vhodný k rozkladu těžce rozpustných látek, jako jsou biologické materiály, včetně kostí. Tento rozklad většinou předchází stanovení prvků citlivými metodami. Velkou předností autoklávu je využití při stanovení snadno těkavých prvků, např. Se, Hg, Sn aj., protože nedochází ke ztrátám odpařováním [19].

Protože tlakovým rozkladem lze mineralizovat jen poměrně malé navážky, u některých vzorků je vhodné před rozkladem provést homogenizaci nebo alespoň upravit velikost částic materiálu. Homogenizace však nesmí způsobit kontaminaci materiálu stanovovaným prvkem, např. mletí nožovým mlýnem nebo homogenizace v nožovém mixéru může vnést do vzorku stopová množství chromu, vanadu, niklu, molybdenu a železa [4].

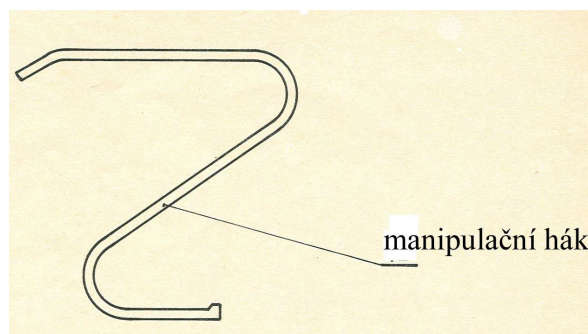
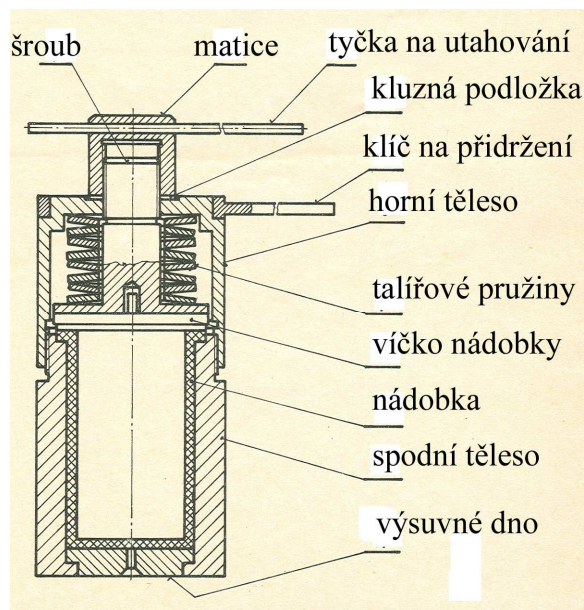
Kompaktní tuhé materiály (např. pečivo, čokoláda, sýry, živočišné tkáně, ovoce a zelenina) je vhodné předem nakrájet na plátky nebo kostky plastovým nožem nebo nastrohat s použitím skleněného struhadla, aby bylo možné z materiálu odvážit dávku asi 0,5-3 g. Odvažované nebo odměřované množství vzorku se volí podle tab. 3. U vzorků s vyšším obsahem sušiny nebo vyšším obsahem tuku se volí menší navážka. Překročení doporučené maximální navážky může vést během rozkladu k prudkému nárůstu tlaku [4].

Tab. 3 Doporučená maximální množství vzorků pro tlakový rozklad [4]

Typ materiálu	Maximální hmotnost nebo objem vzorku
Obiloviny (obilné zrna, vločky, mouky)	0,5 g
Pečivo (bez přidaného tuku)	0,8 – 1 g
Ořechy, olejnatá semena	0,4 g
Luštěniny	0,5 g
Ovoce (kromě avokáda)	1,5 – 2 g
Zelenina	2 – 3 g
Koření	0,4 g
Kakao, čokoláda	0,4 g
Mléko plnotučné	5 ml
Sýry	1 – 2 g
Vaječná hmota	1,5 – 2 g
Tuky	0,2 – 0,3 g
Maso, uzeniny, vnitřnosti, ryby	0,8 g

3. Pomůcky a přístroje

- Laboratorní autokláv ZA-1 [11]. Tlaková nádoba o průměru 7 cm a výšce 17 cm má hmotnost 2,8 kg. Objem reakční nádoby je 100 ml (obr.1).



Obr.1. Laboratorní autokláv ZA-1 [19].

- Tyčka a klíč jsou pomocné nástroje, kterými se utahuje nebo povoluje matice na šroubu a tím stlačuje nebo uvolňuje soustava osmi talířových pružin. Háček je určen k vyjmutí autoklávu z horkovzdušné sušárny [19].
- Autokláv nesmí být zahříván nad teplotu 200 °C. Nesmí se ohřívat na vařiči, kahanem a pod. Ohříváč musí být komorového typu, vybavený regulací teploty a kontrolním teploměrem, nejlépe horkovzdušná sušárna. Před otevřením autoklávu se musí náplň ochladit na teplotu v laboratoři. Doba samovolného ochlazení je minimálně 2 hod [19].
- Po skončení analýzy se vnitřní části nádoby omyjí destilovanou vodou a 30% HNO₃. Před dalším použitím se nádoba propláchne destilovanou vodou, příp. 10% roztokem kyseliny citronové, dále redestilovanou vodou a vysuší se. Po skončení pracovního cyklu doporučuje výrobce vyšroubovat matici a autokláv rozdělat na jednotlivé díly, omýt mýdlem v teplé vodě a osušit. Kovové díly, zejména závity a pružiny se pak ošetří silikonovým olejem [19].
- Atomový absorpční spektrometr AANov 300.
- Veškeré nádobí musí být čištěno běžným mytím v destilované vodě a dekontaminováno loužením ve zředěném roztoku HNO₃ (1:10) po dobu minimálně 24 hodin. Doporučená doba loužení je tři týdny. Vyloužené nádobí je umyto deionizovanou vodou, usušeno a do použití by mělo být uschováno v uzavřených plastových sáčkách.

4. Pracovní postup

4.1. Sestavení autoklávu

Pružiny se navléknou na šroub, potom se nasadí horní těleso s podložkou a našroubuje se matice. Ta se dotáhne rukou bez použití nástrojů. Tím je nastavena počáteční poloha matice před stlačením pružiny. Tyčkou a klíčem se podle stupnice na tělese a rysky na matici, matice utáhne o 1 otáčku po směru hodinových ručiček [19].

Do mineralizační nádoby se nadávkuje 6 ml konc. HNO₃ a přidá 0,5 g sušeného mléka nebo 4 ml polotučného mléka. Směs se opatrně promíchá krouživým pohybem nádoby. Přidají se 2 ml 30% H₂O₂ a směs se opět opatrně promíchá. Reakční nádoba se vloží do spodního tělesa, které je opatřeno výsuvným dnem. Nádoba se zakryje víčkem a na spodní těleso se našroubuje a rukou dotáhne komplet tělesa horního. Horní matice se

klíčem a tyčkou povolí, tím přitlačí pružiny víčko na nádobku a autokláv je připraven k ohřevu [19].

4.2. Mineralizace a demontáž autoklávu

Sestavený autokláv se vloží do studené sušárny na které se nastaví teplota 160 °C a nechá se reagovat 3 hodiny. Po ukončení mineralizace se autokláv vyjme pomocí háku nebo tyčky a nechá se vychladnout. Po důkladném vychladnutí se horní matice utáhne. Horní těleso se vyšroubuje a zatlačením na výsuvné dno se vyjme reakční nádobka. Je-li autokláv nedostatečně ochlazen, může při utahování matice nastat únik digesčních zplodin. Proto je nutné otvírat autokláv v digestoři a otvor na boku horního tělesa mít na odvrácené straně směrem do digestoře [19].

Nadzdvihnutím víčka nádoby se uvolní část plynných produktů. Uvnitř nádoby je možné pozorovat hnědě zbarvený nitrosní plyn, který se nechá dostatečně odkouřit. Po sejmutí víčka se jeho vnitřní část opláchne proudem deionizované vody ze stříčky pomocí nálevky do odměrné baňky o objemu 50 ml. Stejným způsobem se do odměrné baňky převede kvantitativně i obsah nádoby. Odměrná baňka se doplní deionizovanou vodou po značku a obsah se promíchá. Potom se obsah filtruje do polyethylenové lahvičky.

III. Stanovení mědi a zinku v mléce atomovou absorpční spektrometrií

1. Použitelnost metody

Metoda je vhodná pro stanovení mědi a zinku v potravinách a matricích biologického původu.

2. Princip metody

Mineralizát vzorku je zmlžován do plamene C_2H_2 -vzduch a je měřena absorpce záření volnými atomy mědi a zinku na rezonančních čarách 324,7 nm a 213,9 nm. Koncentrace prvků v analyzovaných roztocích se určují z naměřených absorbancí metodou kalibrační křivky.

Výchozími vzorky jsou mineralizáty připravené tlakovým rozkladem v HNO_3 a H_2O_2 . V případě stanovení mědi bývá jejich ředění nezbytné jen u vzorků s jejím vysokým obsahem (játra, některé houby, čaj), zvláště pokud byla mineralizována větší navážka. Potom se roztoky vzorků před měřením ředí pětkrát až desetkrát. Roztoky slepých vzorků se nikdy neředí.

3. Chemikálie

- Standardní roztok Cu^{2+} o koncentraci 1,000 g l^{-1} v prostředí 0,5 mol l^{-1} HNO_3
- Standardní roztok Zn^{2+} o koncentraci 1,000 g l^{-1} v prostředí 0,5 mol l^{-1} HNO_3
- Zásobní roztok k přípravě kalibračních roztoků pro AAS o koncentraci Cu^{2+} a Zn^{2+} 100 mg l^{-1} se připraví odpipetováním 10 ml standardních roztoků 1,000 g l^{-1} Cu^{2+} a Zn^{2+} do 100 ml odměrné baňky, okyselením 1 ml 65% HNO_3 a doplněním deionizovanou vodou po značku. Baňka se uzavře zátkou, její obsah se promíchá a přelije do 100 ml PE lahvičky se šroubovacím uzávěrem.
- 1,5 mol l^{-1} HNO_3 se připraví ředěním koncentrované kyseliny deionizovanou vodou.

4. Pracovní postup

Jednotlivé kalibrační roztoky se připravují ze zásobních roztoků iontů kovů. Kalibrační roztoky obsahují 0; 0,25; 0,5; 0,75 a 1 mg l^{-1} Zn a 0; 0,5; 1,0; 1,5 a 2 mg l^{-1} Cu v prostředí 1,5 mol l^{-1} HNO_3 .

Obsah zinku a mědi se stanoví plamenovou atomovou absorpční spektrometrií (FAAS). Návod pro obsluhu AA spektrometru novAA 300 a postup při stanovení Zn je

uveden v úloze stanovení zinku ve vlasech. Při stanovení Cu se postupuje podobně s metodou pro měď.

5. Zpracování výsledků

Vyhodnocení koncentrace zinku a mědi ve vzorcích se provede z naměřených kalibračních křivek.

Obsah prvku ve vzorku (m) v mg kg^{-1} se vypočte ze vztahu

$$m = (c - c_0) V / m_v,$$

kde c je hmotnostní koncentrace prvku v roztoku vzorku v $\mu\text{g ml}^{-1}$, c_0 průměrná hmotnostní koncentrace prvku v sérii slepých vzorků v $\mu\text{g ml}^{-1}$, V objem mineralizátu v ml a m_v navážka vzorku v g. Z výsledků paralelně provedených analýz téhož vzorku se vypočítá aritmetický průměr, případně odhad směrodatné odchylky.

IV. Použitá literatura

1. Mader P., Čurdová E.: Chem. Listy 91, 227 (1997).
2. Bendl J.: Příprava vzorků pro ICP-MS. Sborník přednášek semináře Zpracování vzorků pro atomovou spektrometrii II, str. 25-28, Radějov, 13-16.5.1996.
3. Mader P., Kolihová D.: Rozklady rostlinných materiálů pro atomovou spektrometrii. Sborník přednášek semináře Zpracování vzorků pro atomovou spektrometrii II, str.34-38, Radějov, 13-16.5.1996.
4. Koplík R.: Laboratoř analýzy potravin a přírodních produktů. Stanovení minerálních látek. VŠCHT Praha.
5. Čurdová E., Koplík R.: Rozklady biologických materiálů. Anorganická analýza v životním prostředí. Sborník přednášek ze semináře v Komorní Lhotce. 2 THETA. 97-103 (1997).
6. Krakovská E.: Příprava vzoriek pre metódy atómovej spektroskopie. Anorganická analýza v životním prostředí. Sborník přednášek ze semináře v Komorní Lhotce. 2 THETA. 77-87 (1997).
7. Krakovská E.: Rozpúšťanie a rozklad vzoriek v mikrovlnných zariadeniach. Sborník přednášek semináře Zpracování vzorků pro atomovou spektrometrii II, str.9-24, Radějov, 13-16.5.1996.
8. Velíšek J.: Chemie potravin 1. OSSIS Tábor (1999).
9. Gajdůšek S.: Laktologie. MZLU Brno (2003).
10. Ingr I.: Zpracování zemědělských produktů. MZLU Brno (2003).
11. Poustka J.: Analýza mléka a mléčných výrobků. VŠCHT Praha.
12. Górska A., Oprzadek K.: Acta Vet. Brno 80, 203–206 (2011).
13. Velíšek J.: Chemie potravin 2. OSSIS Tábor (1999).
14. Maas S., Lucot E., Gimbert F., Crini N., Badot P.-M.: Food Chemistry 129, 7–12 (2011).
15. Khajeh M.: Journal of the Brazilian Chemical Society 23, 1704-1710 (2012).
16. Malhat F., Hagag M., Saber A., Fayz A.E. : Bull. Environ. Contam. Toxicol. 88, 611–613 (2012).
17. Temiz H., Soyulu A.: International J. Dairy Technology 65, 516-522 (2012).
18. Guha A, Gera S., Sharma A.: Asian-Aust. J. Anim. Sci.: 25, 353 - 360 (2012).
19. Laboratorní zařízení k tlakovému rozkladu vzorků ZA-1. JZD „Pokrok“ Zahnašovice, okr. Kroměříž.