

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Lada Juránková

VYUŽITÍ ATOMOVÉ ABSORPČNÍ SPEKTROMETRIE PRO
STANOVENÍ VYBRANÝCH PRVKŮ Z OBLASTI
POTENCIÁLNÍ EKOLOGICKÉ ZÁTĚŽE

Application of Atomic Absorption Spectrometry for
Determination of Selected Elements from Potantial Ecological
Burden Area

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Jakub Hraníček, Ph.D.

Praha 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

Jsem si vědoma toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 25.5.2015

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat RNDr. Jakubu Hraníčkoví, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky, které mi pomohly zpracovat tuto bakalářskou práci. Dále bych ráda poděkovala RNDr. Václavu Procházkovi, Ph.D. za dodání vzorků a také konzultantovi Doc. RNDr. Petru Rychlovskému, CSc.

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá stanovením vybraných prvků (Fe, Mn, Zn, Cr, Na, K, Mg a Ca) v místě potenciální ekologické zátěže pomocí plamenové atomové absorpční spektrometrie. Potenciální ekologickou zátěž představují pneumatiky použité jako stavení materiál i jako prostředí pro růst okrasných i konzumních rostlin. Analyty byly stanovovány ve vzorcích rostlinného původu.

Tyto vzorky byly nejprve vysušeny v laboratorní elektrické sušárně. Navážené množství vysušeného vzorku (asi 0.2 g) bylo rozloženo s přídavkem kyseliny dusičné a peroxidu vodíku v mikrovlnném rozkladném zařízení. Před vlastním měřením byla provedena optimalizace metody stanovení konkrétního prvku, resp. optimalizace výšky paprsku nad hořákem, která byla pro většinu prvků zvolena 8 mm. Dále byly zjištěny pro každý prvek zvlášť základní charakteristiky metody. Mezi tyto charakteristiky patří mimo jiné i mez detekce, která pro tyto prvky Fe, Mn, Zn, Cr, K, Ca, Mg a Na činila 0,05; 0,01; 0,08; 0,21; 0,02; 0,01; 0,01; 0,01 mg L⁻¹ v tomto pořadí. Rovněž byla pro jednotlivé prvky provedena měření pro zjištění meze stanovitelnosti, citlivosti a opakovatelnosti.

Velká pozornost byla věnována obsahu zinku ve studovaném materiálu v souvislosti s možnou kontaminací z okolního prostředí. Zvýšený obsah zinku (v koncentračním rozmezí 150-200 mg kg⁻¹) byl skutečně pozorován. Z výsledků dalších analýz však jednoznačně nevyplývá souvislost mezi vysokým obsahem zinku v pneumatikách (kolem 1 %). Vysoký obsah zinku v analyzovaných vzorcích pravděpodobně souvisí s celkovou vysokou koncentrací tohoto prvku v okolním prostředí (půdě).

Klíčová slova

Atomová absorpční spektrometrie, plamenová atomizace, sušení, mineralizace, železo, mangan, zinek, sodík, draslík, vápník, hořčík, chrom

Abstract

This work is focused on the determination of selected (chemical) elements (Fe, Mn, Zn, Cr, Na, K, Mg and Ca) in a potential ecological burden area using flame atomic absorption spectrometry as a detection technique. A potential ecological burden is represented by tires which are used as a construction material or as an environment surrounding for growing decorative and consumable plants. Analytes were determined in plant origin samples.

Firstly, the samples were dried in a laboratory electric dryer. The weighted amount of a dried sample (approximately 0.2 g) was digested inside a microwave decomposition device with an addition of nitric acid and hydrogen peroxide.

An optimization of experimental parameters was done for each of the elements before sample measuring. A burner height was optimized and 8 mm height was chosen as a optimum for most elements. Under the optimum condition basic characteristics were measured for each element separately. These characteristics included limits of detection that were: 0.05; 0.01; 0.08; 0.21; 0.02; 0.01; 0.01; 0.01 mg L⁻¹ for the following elements: Fe, Mn, Zn, Cr, K, Ca, Mg and Na, respectively. The limits of quantification, sensitivity and repeatability were determined for each element as well.

A significant attention was paid to the content of zinc in the studied materials due to the possible contamination from the surrounding environment. A higher content of zinc was determined (between 150-200 mg kg⁻¹). Although, the results of further analysis showed no connection between high content of zinc in tires (about 1%) and the determined amount of zinc in the samples. A high concentration of zinc in the analyzed samples is probably related to the overall high concentration of this element in the surrounding environment, such as soil.

Keywords

Atomic absorption spectrometry, flame atomization, drying, mineralization, iron, manganese, zinc, sodium, potassium, calcium, magnesium, chromium

Obsah

1. ÚVOD	8
1.1. Cíl bakalářské práce	8
2. TEORETICKÁ ČÁST.....	10
2.1. Atomová absorpční spektrometrie	10
2.1.1. Princip metody.....	10
2.1.2. Základní vztahy	10
2.1.3. Instrumentace.....	11
2.1.4. Interference	15
2.2. Analytické využití.....	16
2.2.1. Stanovované prvky	16
2.3. Předchozí experimenty	18
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	23
3.1. Použité přístroje a zařízení.....	23
3.2. Použité chemikálie	23
3.3. Analyzované vzorky	24
3.4. Pracovní postup.....	26
3.4.1. Příprava kalibračních roztoků.....	26
3.4.2. Příprava vzorků k analýze	27
3.5. Statistické zpracování výsledků.....	28
4. VÝSLEDKOVÁ ČÁST A DISKUZE	29
4.1. Hmotnost vzorků.....	29
4.2. Optimalizace výšky paprsku	30
4.3. Kalibrační závislosti	31
4.4. Základní charakteristiky stanovení prvků.....	37
4.5. Výsledné koncentrace analytů ve vzorcích.....	38
5. ZÁVĚR.....	41
6. LITERATURA.....	42

Seznam zkratk a symbolů

AAS	atomová absorpční spektrometrie	
F-AAS	plamenová atomová absorpční spektrometrie	
ETA-AAS	atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací	
HG-AAS	atomová absorpční spektrometrie s atomizací pomocí generování hydridů	
HLC	výbojka s dutou katodou (hollow cathode lamp)	
LOD	mez detekce	
LOQ	mez stanovitelnosti	
SD	směrodatná odchylka měření	
RSD	relativní směrodatná odchylka	
R	rozpětí	
A	absorbance	
c	rychlost světla ve vakuu	(299 792 458 m s ⁻¹)
n	počet měření	
h	Planckova konstanta	(6,626176 · 10 ⁻³⁴ J s)
κ	molární absorpční koeficient	(m ²)
N	počet volných atomů v základním energetickém stavu v jednotce objemu	
l	tloušťka absorbujícího prostředí	(cm)
ν	frekvence záření	(Hz)
E	energie	(J)
Φ ₀	původní tok záření	
Φ	tok záření po absorpci	
λ	vlnová délka	(nm)
ν _{ac}	průtok acetylenu	(L hod ⁻¹)
ν _{vz}	průtok vzduchu	(L hod ⁻¹)
ν _{ox·dus}	průtok oxidu dusného	(L hod ⁻¹)
I	napájecí proud výbojky	(mA)
Δλ	šířka spektrálního intervalu	(nm)
h	výška paprsku nad hořákem	(mm)

1. ÚVOD

Předkládaná bakalářská práce je věnována stanovení vybraných prvků metodou atomové absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací. Pomocí této techniky lze díky její vysoké selektivitě stanovit obsah prvků v různorodých vzorcích bez předchozí separace. Předností plamenové atomizace je relativně vysoká tolerance k celé řadě interferujících látek. Její použití je však vhodné pro stanovení prvků o koncentracích na úrovni desetin či jednotek ppm (miligramy na litr nebo na kilogram vzorku).

Vzorky analyzované v této bakalářské práci pocházely ze stavby tzv. Zeměloďky Anděl v zahrádkářské kolonii v Praze, kde bylo využito velké množství pneumatik vyplněných hlínou jako stavebního prvku. Horninové podloží tvoří ordovické prachovce a droby, na nichž lze očekávat přirozeně kyselé půdy s nízkým obsahem většiny sledovaných kovů s možnou výjimkou Ca (jako výplň pneumatik byl použit pouze místní materiál). Podle mapování z 90. let [1] jsou v této části Prahy obsahy sledovaných stopových kovů ve svrchních 20 cm půdy zhruba trojnásobné oproti neznečištěnému okolí Prahy. Velké množství pneumatik bylo použito ke zpevnění svahu, konstrukci schodiště a cestiček a rovněž jako "květináče", v nichž se pěstují okrasné, ale i konzumní rostliny. Kvůli vysokému obsahu mnoha rizikových látek v pneumatikách bylo rozhodnuto o provedení několika analýz odebrané vody a rostoucí biomasy. V této bakalářské práci byla pozornost zaměřena na zastoupení vybraných prvků, tedy na prvkovou analýzu. Velká pozornost byla věnována koncentraci zinku v analyzovaných vzorcích vzhledem k jeho významnému obsahu v pneumatikách. V případě, že by výsledky nasvědčovaly významné kontaminaci, ve výzkumu by bylo nutné pokračovat a případně jej rozšířit o další složky prostředí jako sledované látky.

1.1. Cíl bakalářské práce

Hlavním cílem předkládané bakalářské práce bylo navázat na již provedené analýzy rizikových analytů ve výše uvedené oblasti a rozšířit poznatky o množství vybraných prvků (konkrétně železa, manganu, zinku, sodíku, draslíku, vápníku, hořčíku a chromu) nacházejících se ve vzorcích převážně rostlinného původu. Nezbytnou součástí práce bylo vysušení a rozložení rostlinných vzorků, tedy převedení

stanovovaných analytů do roztoku. Posledním cílem bakalářské práce bylo vyhodnocení kontaminace rostlin z prostředí stavby a v kladném případě zhodnotit její rozsah.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie je metoda založená na absorpci vhodného elektromagnetického záření atomy v plynném stavu. Tato metoda se využívá ke stanovení prvků látek v roztoku [2].

2.1.1. Princip metody

Při AAS se sleduje absorbance, což je veličina úměrná úbytku elektromagnetického záření vyvolaného volnými atomy v plynném stavu. Atomy lze získat procesem zvaný atomizace. Podle způsobu atomizace dělíme metodu na F-AAS (plamenová atomová absorpční spektrometrie), ETA-AAS (atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací) a HG-AAS (atomová absorpční spektrometrie s atomizací pomocí generování hydridů) [3].

2.1.2. Základní vztahy

Energie atomů v různých stavech jsou dány výskytem elektronů v určitých energetických hladinách. Při pohlcení elektromagnetického záření dochází k přechodu elektronu mezi energetickými hladinami. Při tomto přechodu atom absorbuje či emituje foton, jehož energie se rovná přírůstku či úbytku energie atomu podle Planckova vztahu:

$$\Delta E = E_I - E_0 = h\nu = \frac{c}{\lambda}$$

h	Planckova konstanta ($h = 6,626 \cdot 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}$)
ν	frekvence záření (Hz)
c	rychlost světla ve vakuu ($c = 2,9979 \cdot 10^8 \text{ m s}^{-1}$)
λ	vlnová délka charakteristická pro daný prvek (nm)

Pokud jsou atomy prvku ozařovány fotony o určité energii, které jsou schopny absorbovat, platí Lambert-Beerův zákon ve tvaru:

$$\Phi = \Phi_0 \cdot e^{-\kappa \cdot l \cdot N}$$

κ	monochromatický absorpční koeficient
N	počet volných atomů v základním energetickém stavu v jednotce objemu
l	tloušťka absorbujícího prostředí
Φ	tok záření po absorpci
Φ_0	tok vstupujícího záření

2.1.3. Instrumentace

Atomový absorpční spektrometr se skládá ze čtyř částí: zdroje primárního záření, absorpčního prostředí s volnými atomy v plynném stavu, monochromátoru a detektoru. Ze zdroje záření vystupují jednotlivé emisní čáry prvku, procházejí absorpčním prostředím, kde je volnými atomy absorbováno záření o určité vlnové délce. Tato emisní čára je izolována monochromátorem. Detektor poté zaznamenává zeslabení toku původního záření [3].

Zdroje záření

V AAS se používají čárové zdroje záření, které emitují primární záření o vysoké zářivé energii soustředěné do úzkého spektrálního intervalu. Mezi další předpoklady patří stabilita zdroje, životnost a cena. V praxi jsou nejčastěji využívány výbojky s dutou katodou, bezelektrodové výbojky a zdroje na bázi laseru [4].

Výbojky s dutou katodou

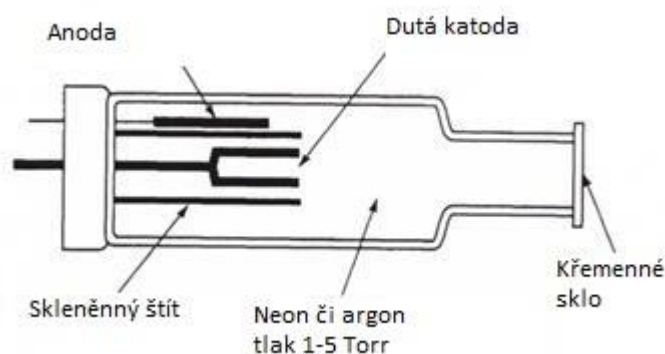
Výbojky s dutou katodou (HCL-hollow cathode lamps) emitují čárové spektrum s pološířkou čar $\leq 0,002$ nm. Jsou vyrobeny z optického skla se zatavenými elektrodami [4]. Výstupní okénka jsou vyrobena z materiálu, který propouští určitou emisní

čáru. Z optického křemene pro vlnovou délku menší než 240 nm, z UV skla pro větší než 240 nm a z optických skel pro λ nad 300 nm. Výbojka je evakuována a vyplněna plynem (monoatomický neon či argon) na tlak 100-500 Pa.

Součástí výbojky je dutá katoda, která obsahuje stanovovaný prvek a její vnitřní průměr je 5-12 mm [5].

Dutá katoda může být zhotovena z čistého materiálu stanovovaného prvku nebo se použije nosič, což je dutý váleček sestrojený z prvku s chudým emisním spektrem jako je hliník či měď. Dovnitř válečku se vloží folie kovu nebo je na nosič nanesen práškový kov pomocí sinitrace [4].

Výbojka je napájena proudem několika jednotek miliampérů a na její elektrody je vloženo napětí 200-600 V. Díky tomuto napětí dojde k ionizaci vzácného plynu srážkami s urychlenými elektrony. Kationty vzácného plynu bombardují povrch katody, ze kterého vyraží atomy kovu. Dochází k tzv. katodickému rozprašování. Atomy daného kovu jsou excitovány srážkami s ionty a elektrony plazmatu a po vyzáření fotonu přejdou zpět do základního stavu [3].



Obr.2.1.: Výbojka s dutou katodou

Bezelektrodové výbojky

Bezelektrodové výbojky jsou opět skleněné baňky naplněné vzácným plynem. Uvnitř výbojky je zatavena elektroda se stanovovaným prvkem. Vznik záření je umožněn díky generátoru v radiofrekvenčním poli.

Atomizátor

Atomizátor slouží k převedení vzorku do volných atomů v plynném stavu. Mezi jeho předpoklady patří dostatečná teplota (2 000-3 000°C) pro to, aby došlo k atomizaci, ale ne příliš vysoká, aby se zamezilo výraznější excitaci atomů [2].

Používá se plamenová technika, elektrotermická či technika generování těkavých sloučenin.

Plamenové atomizátory

Při metodě F-AAS (AAS s plamenovou atomizací) je plamen tvořen směsí paliva a okysličovadla. Jako palivo je používán acetylen a jako okysličovadlo vzduch ($T_{\max} = 2\,500\text{ K}$) či oxid dusný ($T_{\max} = 2\,900\text{ K}$). Při metodě AAS se nejčastěji využívá tzv. laminárních předmíchaných plamenů, což znamená, že je do hořáku vedena již promíchaná směs paliva a okysličovadla [3].

F-AAS je vhodná pro stanovení vyšších koncentrací analytu ve vzorku, neboť dochází k naředění vzorku spalnými plyny, a proto se využije jen jeho malá část. Mezi hlavní výhody této metody patří zejména nízké náklady na její provedení.

Elektrotermická atomizace

Při ETA-AAS dochází na rozdíl od plamenové atomizace k absorpci primárního záření atomy z celého objemu vzorku. Díky tomu vzniká mnohem větší koncentrace volných atomů v plynném stavu. Další výhodou této metody je dávkování velmi malého množství vzorku (10-40 μl). Používají se grafitové kyvety, neboť je za potřeby materiál, který odolá velmi vysokým teplotám [3].

Oproti F-AAS je dosaženo větší citlivosti měření a snížení detekčního limitu, ale vzrůstá pravděpodobnost interference matrice, protože se do kyvety dávkuje celý objem vzorku. Je proto nutné použít korekce pozadí [6].

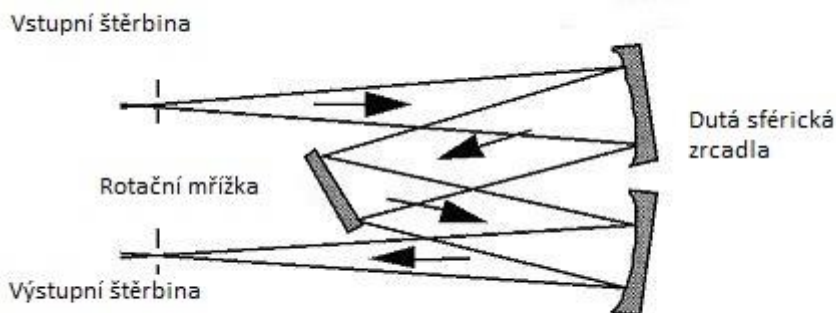
Generování těkavých sloučenin

Technika generování těkavých sloučenin je široce užívaná metoda k určení stopového či ultrastopového množství analytu [7].

Při technice generování a atomizace těkavých sloučenin je nejprve analyt převeden chemickou reakcí na těkavou sloučeninu, nejčastěji hydrid. Tato sloučenina se oddělí od kapalné matrice vzorku a je dále atomizována v křemenném atomizátoru [3]. V oddělení analytu od matrice tkví hlavní výhoda této metody, protože se tak zamezí vlivu matrice při atomizaci, narozdíl od ETA-AAS.

Disperzní systém

Monochromátor slouží k izolaci spektrálního intervalu, který obsahuje příslušnou absorpční rezonanční čáru stanovovaného prvku [3]. Nejčastěji se používají mřížky v rozsahu vlnových délek 190 až 900 nm [8]. Téměř vždy se využívá uspořádání Czerny-Turner (viz Obr. 2.2). Používají se difrakční mřížky s počtem vrypů 1 200 až 2 400 nm. Není potřeba, aby rozlišovací schopnost monochromátoru byla vysoká, neboť má tuto funkci již zdroj primárního záření. Velikost intervalu vlnové délky se nastaví velikostí vstupní štěrby monochromátoru. V AAS se nejčastěji využívají intervaly od 0,2 až 2 nm [4].



Obr. 2.2.: Konstrukce monochromátoru Czerny-Turner

Dalším způsobem jsou dnes již málo využívané hranoly, které rozkládají polychromatické záření na základě lomu světla na monochromatické záření o různých vlnových délkách.

Detektory

Jako detektor se nejčastěji využívá fotonásobič. Fotonásobič se skládá z fotokatody, anody a soustavy dynod (9-13). Při dopadu fotonů na katodu, se z ní uvolní elektrony, které jsou urychlovány elektrickým polem a přitahovány dynodou. Když elektron dopadne na dynodu, vyrazí z ní několik sekundárních elektronů. Takto je díky soustavě dynod zvyšován proud mezi katodou a anodou [4,5]. Mezi hlavní výhody fotonásobiče patří jeho vysoká citlivost a velmi nízká časová konstanta ($10^{-8} - 10^{-9}$ s) [3]. Linearita odezvy je 5-6 řádů. Fotonásobič je proto vhodný k rychlým analýzám v širokém rozsahu intenzit [4].

2.1.4. Interference

Inteference představuje rušivý vliv, způsobený dalšími látkami, které vzorek obsahuje. V atomové absorpční spektrometrii jako inteferenci považujeme vliv, který způsobí systematickou odchylku signálu. Inteference dělíme na spektrální a nespektrální.

Spektrální interference

Ke spektrálním interferencím dochází při nedokonalé izolaci spektrální čáry od záření. Těmto rušivým vlivům se můžeme vyhnout tím, že zvolíme jiné spektrální čáry pro analýzu nebo korekci pozadí.

Nespektrální interference

K nespektrálním interferencím dochází při samotné analýze. Jsou způsobeny vlastnostmi analyzovaného roztoku a rušivými prvky matrice. Při plamenové atomizaci dochází hlavně k rušivým vlivům v důsledku transportu. Také sem patří interference způsobené vypařováním. V plynné fázi interference ovlivňují disociaci a ionizaci. Ionizačním interferencím lze zabránit přidáním tzv. ionizačního pufru, což je snadno ionizovatelný prvek, např. cesium při stanovení vápníku [3].

2.2. Analytické využití

2.2.1. Stanovované prvky

V této bakalářské práci byla pozornost věnována stanovení osmi prvků. Jedná se o železo, mangan, zinek, draslík, sodík, vápník, hořčík a chrom. Zvýšená koncentrace těchto prvků může mít škodlivý vliv na životní prostředí i člověka.

Zinek

Zinek je z hlediska životního prostředí esenciální prvek. Přesto je čím dál rozšířenější nedostatek tohoto prvku, který se projevuje potraty, dermatitidou a dalšími těžkými nemocemi. V nedávném průzkumu WHO bylo prokázáno, že většina indické populace trpí nedostatkem zinku, celkové populace asi z 20 %. Zinek je jako doplněk stravy využíván k léčbě pneumonie a ke zlepšení hojení ran [9].

Intoxikace zinkem je méně častá. Dochází k ní především při inhalaci oxidů zinku, které vznikají při průmyslových procesech [10]. V hutní oblasti v Hezhangu v Číně bylo analyzováno množství vybraných těžkých kovů. Vysoké koncentrace prvků byly naměřeny i v půdě nedaleko ležícího kukuřičného pole. Koncentrace zinku stanovovaná v kukuřici z tohoto pole dosahovala až $260\text{--}16\,000\text{ mg kg}^{-1}$. Lze proto předpokládat riziko pro zdraví člověka díky přenosu kontaminace z půdy do zemědělských plodin [11]. Tato skutečnost je velmi podstatná při sledování kontaminace rostlinného materiálu zinkem v této práci. Pro stanovení stopových množství zinku ve vzorcích byla vyvinuta řada specifických metod. Jako příklad neatomové metody lze uvést molekulovou spektrofotometrii. V této metodě se ion zinku sorbuje na 1-(2-Pyridylazo)-2-naftol modifikovaný organobentonitem (PAN-O-bentonit). Limit detekce s použitím této metody činí $0,031\text{ ug L}^{-1}$ [12]. Existuje řada univerzálních návodů na stanovení zinku pomocí plamenové atomové absorpční spektrofotometrie s detekčním limitem kolem 0,01 ppm.

Chrom

Z těžkých kovů patří chrom mezi hlavní polutanty životního prostředí. Představuje riziko pro faunu i floru a doba jeho odbourávání je poměrně dlouhá [13]. Chrom se vyskytuje převážně trojmocný. Mnohem nebezpečnější je však jeho

šestimocná forma, která často způsobuje akutní i dlouhodobé nežádoucí účinky. Cr (VI) způsobuje hlavně různé alergické reakce kůže. Některé sloučeniny Cr (VI) patří mezi silné karcinogeny a mutageny [10]. Výrazné eliminace interferencí při stanovení chromu jde docílit použitím plynů acetylen-oxid dusný [14]. V Turecku byl chrom úspěšně stanoven v rostlinných a bylinných vzorcích metodou AAS po předchozí prekoncentraci v pevné fázi pomocí nanotubic. Detekční limity dosahovaly $4,08 \mu\text{g L}^{-1}$ [15]. Při stanovení koncentrace chromu ve vodě lze využít toho, že Cr (VI) i Cr (III) tvoří komplexy, které lze následně extrahovat pomocí kapalinové mikroextrakce a následně stanovit metodou F-AAS. Takto bylo dosaženo limitů detekce pro Cr (VI); Cr (III): 0,07; $0,08 \mu\text{g L}^{-1}$ [16].

Železo

Železo je nejhojnější přechodný kov a šestý nejrozšířenější prvek v zemské kůře. Tento prvek je pro člověka nebezpečný kvůli jeho schopnosti katalyzovat tvorbu radikálů, které poškozují buňky [10].

V Sýrii byla provedena analýza čajových lístků pomocí mikrovlnného rozkladu za použití směsi kyseliny dusičné a chloristé. Stanoveno bylo metodou F-AAS pět prvků včetně železa. Naměřené koncentrace se pohybovaly v intervalu $74,8\text{--}854,9 \mu\text{g g}^{-1}$ [17]. Ve výzkumu F. Tokaye a S. Bagdat byl stanoven obsah trojmocného železa v kapalných jedlých olejích. Po předchozí extrakci byla pomocí F-AAS stanovena koncentrace Fe (III) $67,3 \text{ ng g}^{-1}$ [18].

Mangan

Mangan může do lidského těla vstupovat inhalací nebo jeho požitím. Jeho biologický poločas v lidském těle je 2-5 týdnů. Mangan prochází bariérou krev-mozek a v mozku dochází k jeho akumulaci, kde je biologický čas výrazně delší [10].

Ve městě Huangxing v Číně, známého pro výrobu síranu manganatého, došlo k úniku manganu do odpadních vod. Kontaminace manganem se šířila do podzemních i povrchových vod, což způsobilo rizikové znečištění. Stanovené koncentrace manganu v pozemních vodách byly v rozmezí $0,02 \text{ až } 122,5 \text{ mg L}^{-1}$. Ve vodě z rybníku ležícího v tomto regionu bylo naměřeno až $2,48 \text{ mg L}^{-1}$ manganu [19].

Hořčík

Hořčík je naprosto nezbytný ion pro lidské tělo. Po draslíku je to druhý nejvýznamnější vnitrobuněčný kationt. Hořčík se zapojuje do více než 600 enzymatických reakcí. Nedostatek tohoto prvku v lidském těle ovlivňuje mozek, kosterní svaly a srdce [20]. Hořčík se ve formě různých sloučenin využívá k výrobě léků. Jeho toxicita pro lidský organismus je oproti jiným kovům poměrně malá [21].

Sodík

Sodné ionty jsou důležité pro dosažení homeostázy lidského těla. Doporučená denní dávka sodíku (<500 mg) v potravě je značně nižší než jeho průměrný příjem (>3 200 mg). Nadměrný příjem sodíku zvyšuje riziko hypertenze. Nedávné preklinické a klinické studie dokázaly, že i bez projevu hypertenze dochází zvýšeným příjmem sodíku k ohrožení orgánů, zejména srdce, mozku, ledvin a cév [22].

Draslík

V posledních letech došlo k poklesu průměrné denní dávky draslíku (70 mmol/den), přestože má pozitivní vliv na lidské zdraví. Epidemiologické a klinické studie dokázaly, že draslík snižuje krevní tlak i riziko kardiovaskulárních chorob. Zvýšený příjem draslíku rovněž snižuje vylučování vápníku močí, čímž snižuje riziko ledvinových kamenů [23].

Vápník

Vápník je nezbytný pro život živočichů i rostlin. Majoritní přísun vápníku je zajištěn potravou, která je obvykle bohatá na tento prvek. Odhadovaná denní dávka vápníku u člověka je až 2 000-3 000 mg/den [24]. Dlouhodobý deficit vápníku či vitamínu D může mít za následek vysoký krevní tlak, řidnutí kostí až vznik rakoviny tlustého střeva [25].

2.3. Předchozí experimenty

Tato bakalářská práce navazuje na výsledky několika stanovení, které byly provedeny před zadáním této práce. Stanovení byla provedena za účelem porovnání

obsahu vybraných prvků v různých vzorcích lišících se především místem odběru.

Porovnání obsahu vybraných prvků se provádělo za účelem zjištění možného rizika kontaminace analyzovaných vzorků zinkem (která by nasvědčovala také kontaminaci dalšími, zejména organickými, látkami) z přítomných pneumatik. Byla provedena analýza kovů v 9 vzorcích vody a 8 vzorcích biomasy (tyto dílčí výsledky jsou shrnuty v neveřejném hodnocení), z toho 2 vzorky vody byly analyzovány v akreditovaných laboratořích ALS (zde byl stanoven větší počet prvků). Ostatní vzorky byly analyzovány na katedře analytické chemie PřF UK. Přehled uvedených vzorků je uveden v Tab. 2.1 a 2.3, výsledky analýz pak v Tab. 2.2 a 2.4. Nejvýrazněji by se možná kontaminace z pneumatik měla projevit na obsahu zinku v biomase, případně ve vzorcích povrchové vody. Obsah zinku je skutečně vysoký ve vzorcích vody, která byla odebrána přímo z uložených pneumatik a rovněž v ojedinělém vzorku vody z povrchu biomasy, ale už ne v podzemní vodě. Vysoké hodnoty však byly zjištěny v biomase. Zatím však není jasné, zda jde o vliv místních pneumatik, nebo se projevuje spíše znečištění lokality z různých zdrojů. Proto byly odebrány další vzorky biomasy, zejména pro určení vlivu pneumatik přímým srovnáním.

V Tab. 2.2 jsou uvedeny výsledky analýz vzorků biomasy provedené v červnu 2014. Jedná se vždy o rostliny v "květináčích" z pneumatik, tedy o vzorky s nejvyšší pravděpodobností kontaminace. Vzorky byly odebrány v termínu 25. 2. až 25. 4. 2014. A na jejich odběru a analýzách se podíleli: Jaroslav Tlapa, Ilona Podlahová, Pavel Ptáček a Marek Cihlár.

Tab. 2.1 - Popis vzorků analyzované biomasy

Vz. č.	Popis vzorku	navážka (g)
1	balkánská brokolice - list 2	0,3221
2	neurčený stonek	0,0695
3	rozmarýn - listí umyté destilovanou vodou	0,3288
4	neurčená dřevina - pahýl kmínku (vedle rozmarýnu)	0,3949
5	rozmarýn - stonek	0,3722
6	balkánská brokolice - list 1	0,1760
7	šťável kyselý (vedle brokolice)	0,0503
8	rozmarýn - list (nemytý)	0,1856

Tab. 2.2 – Výsledky analýzy vzorků biomasy (ve vztahu k Tab. 2.1)

Vz. č.	Obsah v mg/kg v nedokonale usušených vzorcích					
	Fe	Mn	Zn	Ca	Mg	Na
1	288,5	24,8	105,7	22 940	2 220	2 626
2	147,3	36,5	408,3	1 020	15,20	810,0
3	545,8	20,8	148,0	9 306	2 401	485,0
4	365,6	61,2	127,3	10 200	826,4	895,4
5	234,2	11,5	121,3	938,3	14,00	271,0
6	249,4	74,2	334,8	29 680	1 840	5 475
7	177,0	3,10	145,1	522,2	31,50	144,4
8	164,0	49,6	179,4	9 168	2 208	1 823

Výše uvedené vzorky byly mineralizovány v mikrovlnném zařízení v prostředí peroxidu vodíku a kyseliny dusičné.

Z tab. 2.2 je na první pohled patrný vysoký obsah zinku v analyzovaných vzorcích biomasy. Proto byl tento prvek dále sledován stále s nejvyšší prioritou. Podle různých zdrojů lze odhadnout, že v gumě používané pro výrobu pneumatik je asi kolem 1 hmot. % tohoto prvku. Další otázkou je složení oceli použité na konstrukci kostry pneumatiky. Ta ale zaujímá jen malé procento hmotnosti celé pneumatiky. Výsledky zastoupení jednotlivých prvků se mohou měnit podle typu pneumatiky a výrobce. Vzhledem k tomu, že jde o různé typy a značně nehomogenní materiál, ojedinělé analýzy konkrétních vzorků by zřejmě neposkytly dostatečnou odpověď.

V analyzovaných vzorcích jsou dále patrné významné rozdíly v zastoupení hořčíku (vyskytují se extrémně nízké hodnoty). Příčiny těchto rozdílů lze spatřovat např. v různém „zdravotním“ stavu rostlin (zde se nejvíce projevuje rozdíl mezi zdravou, poraněnou nebo odumírající rostlinou). V Tab. 2.4 jsou uvedeny výsledky analýz vzorků vody. Ve vzorcích bylo analyzováno celkem šest prvků. Vzorky vody byly odebírány podle přirozené cesty vody od dešťových srážek přes různé povrchy až k podzemní vodě. Vzorky byly odebrány až na výjimky v květnu 2014. Vzorky měřené na AAS byly před analýzou přefiltrovány přes žlutý laboratorní filtr Filtrak 389 (velikost pórů 3,4 mikrometru) a dále nijak neupravovány (jde tedy o vodu i s pevnými

částicemi); vzorky měřené v Als global byly před analýzou (OES) přefiltrovány přes jemnější filtr a poté okyseleny.

Tab. 2.3 – Popis analyzovaných vzorků vody

označení	místo analýzy	charakterizace vzorku
0	veřejná data VÚV	srážky s prašným spadem - Podbaba r. 2012 *
C	AAS KACH	Dešťová voda z 29.5. (s prašným spadem zvl. lokálního původu)
ZL 3	Als global	louže v plachtě na střeše, březen (více prachu a hlíny) *
G	AAS KACH	voda na povrchu listů (kapky na listech balkánské brokolice - viz též analýzy biomasy - po dešti 25.4.)
E	AAS KACH	Guma 2 (odběr stříkačkou z povrchu pneu 2., 13. a 17.5. - déšť)
F	AAS KACH	Guma 3 (odběr kapek z povrchu pneu 29.5.)
ZL 1	Als global	Guma 1 - louže v nevyplněné pneumatice, odběr 16.3. (existovala víceméně celou zimu) *
B	AAS KACH	PV1 - hluboká louže na „náměstí“ (směs podzemní, dešťové aj. vody), odběr 17.5.
A	AAS KACH	Podzemní 29.5. - odtok z pozemku (odběr přes hrubý „filtr“)
D	AAS KACH	Podzemní 21.5. - odtok z pozemku (i hrubá „filtrace“ až po odběru – v nádobě plaval hmyz aj.)

* měřeno více prvků

Tab. 2.4 – Výsledky analýzy vzorků vody (ve vztahu k Tab. 2.3),
koncentrace jsou uvedeny v $\mu\text{g ml}^{-1}$ (mg L^{-1})

Označení	Fe	Mn	Zn	Ca	Mg	Na	Mg/Zn
0	0,197	0,0103	0,029	1,478	0,187	0,489	6,4
C	0,39	<0,02	0,11	0,7	0,1	0,4	0,9
ZL 3	0,0099	0,00156	0,0426	25,5	1,14	9,59	26,76
G	0,2	<0,02	0,86	8,7	0,7	5,5	0,8
E	<0,05	<0,02	1,3	25,7	2,4	16,8	1,8
F	<0,05	<0,02	1,19	36,7	5,5	35,5	4,6
ZL 1	0,51	0,104	0,652	63,3	9,5	10	14,57
B	2,47	<0,02	0,14	4,3	0,7	2,2	5,0
A	1,79	<0,02	0,25	14,9	1,5	3,2	6,0
D	0,2	<0,02	0,12	35,8	1,7	13,5	14,2

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1. Použité přístroje a zařízení

Stanovení vybraných prvků technikou atomové absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací bylo provedeno s následujícími přístroji a vybavením:

- atomový absorpční spektrometr AAspektrometr AAS 3 (Carl Zeiss, Jena, Německo)
- výbojka s dutou katodou pro stanovení následujících prvků: Fe, Mn, Zn, K, Ca, Na, Cr, Mg (Varian Techtron, Austrálie), konkrétní použité parametry jsou uvedeny v Tab. 3.1.
- laboratorní elektrická sušárna UNB 400 (Memmert, Německo)
- mikrovlnné rozkladné zařízení MDS-2000 (CEM Corporation, USA)
- analytické váhy (Sartorius, Česká republika)

Tab. 3.1 Použité parametry při měření prvků

Prvek	Fe	Mn	Zn	Na	K	Ca	Mg	Cr
Vlnová délka [nm]	283,3	279,5	213,9	589	766,5	422,7	285,2	358,9
Šířka spektr. intervalu [nm]	0,2	0,2	0,5	0,5	1	0,5	0,5	0,2
Napájecí proud [mA]	10	10	5	10	10	10	10	10

Jako palivo pro plamenovou atomizaci AAS spektrometru byl použit acetylen (rozpuštěný, čistý UN 1001, Linde Technoplyn, Praha), jako oxidant byl použit vzduch (stlačený UN 1002, Linde Technoplyn, Praha) nebo oxid dusný (pro medicínální účely UN 1070, Linde Technoplyn, Praha). Průtok acetyleny byl nastaven na 60 L hod^{-1} a průtok vzduchu na 70 L hod^{-1} . Při měření vápníku bylo využito oxidu dusného, jehož průtok byl 70 L hod^{-1}

3.2. Použité chemikálie

Pro přípravu kalibračních roztoků byly použity tyto standardní roztoky a chemikálie:

- standardní roztoky Fe, Mn, Mg, Cr a Zn o koncentraci $1,000 \pm 0,002 \text{ g.L}^{-1}$ (CertiPUR, Merck spol. s.r.o., Německo)
- standardní roztoky Na a Ca o koncentraci $1,000 \pm 0,002 \text{ g L}^{-1}$ (Astatol, Analytika spol. s.r.o., Česká republika)
- standardní roztok K o koncentraci $0,999 \pm 0,005 \text{ g L}^{-1}$ (CertiPUR, Merck spol. s.r.o., Německo)
- Dusičnan cesný (min. čistoty 99,999 % Sigma Aldrich, Německo)
- Oxid lanthanitý, p.a. (Lachner, Česká republika)
- Chlorid draselný, p.a. (Lachner, Česká republika)
- 8-hydroxychinolin, p.a. (Lachner, Česká republika)
- kyselina dusičná 65%, p.a. (Lachner, Česká republika)
- peroxid vodíku 30%, p.a. (Lachner, Česká republika)

Pro ředění všech roztoků byla používána deionizovaná voda připravená zařízením Milli Q_{PLUS} firmy Millipore, USA.

3.3. Analyzované vzorky

Vzorky (biomasa, voda) analyzované v rámci této bakalářské práce pocházejí z místa popsaného v úvodu této práce. Pro účely této práce byl vzorkován materiál s vysokou pravděpodobností kontaminace a porovnán s materiálem s nižší pravděpodobností kontaminace.

První sada vzorků (Tab. 3.2) pochází z míst s nejvyšší pravděpodobností kontaminace. Jedná se o rostliny rostoucí volně v hlíně uvnitř pneumatik a v jejich těsném okolí. V Tab. 3.2 je uvedena u každého vzorku pravděpodobnost kontaminace.

Dalším vzorkem byl rostlinný detrit (v Tab. 3.1 je tento vzorek označen jako B2-6). Tento vzorek byl analyzován z důvodu nepřímého stanovení aspoň poměrů kovů v biomase na základě srovnání filtrovaného a nefiltrovaného vzorku vody s rostlinnou drtí. Vzorek byl odebrán z dutiny (v horní části "kmene" - patrně po odlomení větve) v keři balkánské brokolice, z nějž byla již dříve při dešti odebrána voda na analýzu (viz Tab. 2.4). Rostlina byla na jaře značně poškozena hmyzem a odumřela většina listů.

Analýza byla provedena dvěma způsoby: 1. jako filtrovaný a neokyselený vzorek, 2. jako okyselený vzorek bez filtrace.

Tab. 3.1 Seznam a popis první sady vzorků (odběr 9.7.2014)

Číslo vzorku	Popis místa odběru	Riziko kontaminace
B2-1	tráva uvnitř pneumatiky	vysoké
B2-2	jahodník (pod pneumatikami cca 1 m)	vysoké
B2-3	lilek brambor v pneumatice	střední
B2-4	lilek brambor mimo pneumatiku*	nízké
B2-5	jahodník – min. 4 m od nejbližší pneumatiky	nízké
B2-6	filtrovaná voda bez kyseliny, totálně rozpuštěná, dutina	střední

* (vzorky lilku pocházejí ze zahrady na Vinohradech)

Druhá sada vzorků se skládá z listů šťavele kyselého. Lokalita těchto vzorků byla mezi pneumatikami nebo blízko od nich. Bližší popis je uveden v Tab 3.2.

Tab. 3.2 Seznam a popis druhé sady vzorků (odběr 8.8.2014), šťavel kyselý

číslo vzorku	popis lokality	riziko kontaminace
B3-1	daleko 6 m horizontálně od pneu (2 m nad)	nízké-střední
B3-2	v pneu bez omítky	vysoké
B3-3-2	(10 cm) mezi pneu/(20cm) nad pneu (květináč)	střední-vysoké
B3-3-3	10 cm od pneu	střední-vysoké
B3-6-1	rostoucí pod pneumatik. (dole), kont. s vodou	střední-vysoké
B3-6-2	rostoucí pod pneumatik. (nahore)	střední-vysoké
B3-4-1	v pneu částečně omítnuté	střední-vysoké
B3-4-2	v pneu s omítkou	střední-vysoké

3.4. Pracovní postup

Nejprve byla optimalizována výška paprsku nad hranou hořáku u AAS spektrometru. Poté byly připraveny kalibrační roztoky, pomocí nichž byly zjištěny základní charakteristiky pro stanovení jednotlivých prvků. Při takto nastavených charakteristikách byly stanovovány analyty ve vzorcích, které byly předem vysušeny, rozloženy a převedeny do roztoku.

3.4.1. Příprava kalibračních roztoků

Kalibrační roztoky byly připraveny vždy ze standardního zásobního roztoku o koncentraci $1\,000\text{ mg L}^{-1}$ v 50ml odměrných baňkách. Odpipetované množství standardního roztoku bylo doplněno po rysku deionizovanou vodou. Z důvodu potlačení interferencí případně ionizace stanovovaného prvku byly k níže uvedeným roztokům přidány přídavky vhodných reakčních činidel. Použité koncentrace kalibračních roztoků jsou uvedeny v Tab 3.3.

Tab. 3.3 Koncentrace kalibračních roztoků v jednotkách mg L^{-1}

Prvek	Roztok I.	Roztok II.	Roztok III.	Roztok IV.	Roztok V.	Roztok VI.
Fe	0,50	1,00	2,50	5,00	10,0	20,0
Mn	0,50	1,00	2,50	5,00	10,0	20,0
Zn	0,25	0,50	1,00	2,50	5,00	10,0
Na	0,25	0,50	1,00	2,50	5,00	10,0
K	0,10	0,25	0,50	1,00	2,50	5,00
Ca	0,25	0,50	1,00	2,50	5,00	10,0
Mg	0,05	0,10	0,25	0,50	1,00	2,50
Cr	0,50	1,00	2,50	5,00	10,0	20,0

Ke kalibračním roztokům pro stanovení sodíku a draslíku bylo přidáno 0,2 ml roztoku A na 10 ml kalibračního roztoku. Roztok A byl připraven rozpuštěním $1,83\text{ g CsNO}_3$ v 25 ml deionizované vody. Do kalibračních roztoků pro stanovení vápníku bylo

přidáno 0,4 ml roztoku KCl (opět na 10 ml kalibračního roztoku), který byl připraven rozpuštěním 18,8 g KCl ve 200 ml neionizované vody. Ke kalibračním roztokům pro stanovení hořčíku bylo přidáno 0,2 ml roztoku A a 0,2 ml roztoku B (obojí na 10 ml kalibračního roztoku). Roztok B byl připraven rozpuštěním 0,59 g La_2O_3 a 0,25 g 8-hydroxychinolinu ve 25 ml zředěné HCl (1:1). Přidavky roztoku KCl a roztoku A a B byly provedeny vždy před provedením analýzy. Vzorky byly řádně promíchány.

3.4.2. Příprava vzorků k analýze

Pevné vzorky (tj. všechny mimo vzorek B2-6) byly nejprve zváženy na analytických vahách s přesností na 0,1 mg. Poté byly vysušeny v laboratorní elektrické sušárně. Nastavení procesu sušení je uvedeno v Tab. 3.4.

Tab. 3.4 Nastavení procesu sušení

Sušení	Teplota [°C]	Čas [min]
1.	65	60
2.	70	60
3.	75	240

Vysušené vzorky byly opět zváženy a k přesně naváženému množství bylo přidáno 5,0 ml 65% HNO_3 a 2,0 ml 30% H_2O_2 . Následně byly vzorky rozloženy v mikrovlnném rozkladném zařízení MDS-2000. Nastavení procesu rozkladu je uvedeno v Tab. 3.5. Rozložené vzorky byly doplněny v 25ml odměrných baňkách po rysku destilovanou vodou a řádně promíchány. Vzorek B2-6 byl stanoven dvakrát, a to jednou okyselen kyselin dusičnou a podruhé neokyselený. Pokaždé byl odebrán 1,0 ml vzorku a doplněn po rysku destilovanou vodou a po 1 hodině přefiltrován.

Tab. 3.5 Nastavení mikrovlnného rozkladného zařízení MDS-2000

Část	Program	Čas [min]	Tlak [atm]
I.	Program I.	10	2,7
II.	Program I.	10	4,1
III.	Program I.	10	6,1
IV.	Program I.	10	8,2

Ředění vzorků

Všechny vzorky byly doplněny do 25ml odměrných baněk destilovanou vodou. Pro stanovení některých prvků bylo potřeba vzorky naředit. Pro stanovení sodíku byly vzorky naředěny 10×, pro stanovení draslíku 100×. Všechny vzorky pro stanovení vápníku a hořčíku byly naředěny 10×, až na vzorky B2-2, B2-3, B2-4 a B2-5, které bylo potřeba naředit 100×. Ředění 10× probíhalo vždy tak, že byl odebrán 1,0 ml vzorku a byl doplněn do 10ml odměrné baňky destilovanou vodou. Ředění 100× bylo provedeno stejným způsobem, s tím rozdílem, že odebraný 1,0 ml vzorku byl již 10× zředěný.

3.5. Statistické zpracování výsledků

Nezbytnou součástí každé analýzy je určit s jakou přesností byla určena hodnota zjišťované koncentrace. Výsledky opakovaných měření je nutné zpracovat vhodným statistickým postupem.

Každé měření v rámci této práce bylo prováděno třikrát. Z naměřených výsledků byl jako střední hodnota použit medián, což byla hodnota uprostřed. Při sudém počtu měření by byla hodnota mediánu průměr dvou prostředních hodnot a při měření, kdy $n > 7$ je mediánem aritmetický průměr. K odhadu směrodatné odchylky bylo využito vztahu:

$$s = k_n \cdot R$$

kde je k_n tabelovaná hodnota a R rozpětí souboru všech výsledků, které zjistíme ze vztahu:

$$R = x_{\max} - x_{\min}$$

Vypočtené směrodatné odchylky jsou v grafu uvedeny jako chybové úsečky. Interval spolehlivosti poté udává, že skutečná hodnota leží s určitou pravděpodobností uvnitř stanoveného intervalu [26].

Mez detekce (LOD) byla určena jako trojnásobek směrodatné odchylky šumového signálu. Mez stanovení (LOQ) lze vypočítat jako desetinásobek směrodatné odchylky šumového signálu.

4. VÝSLEDKOVÁ ČÁST A DISKUZE

V rámci experimentální činnosti byla nejprve provedena optimalizace experimentálních podmínek pro stanovení konkrétních prvků. Za nalezených optimálních podmínek byla provedena kalibrace a následně i samotná měření.

4.1. Hmotnost vzorků

Původní vzorky byly naváženy s přesností na 0,1 mg. Poté byly vysušeny v laboratorní sušičce a opět naváženy s přesností na 0,1 mg. Tab 4.1 uvádí hmotnosti původních a vysušených vzorků a vypočítané procento vody v původních vzorcích.

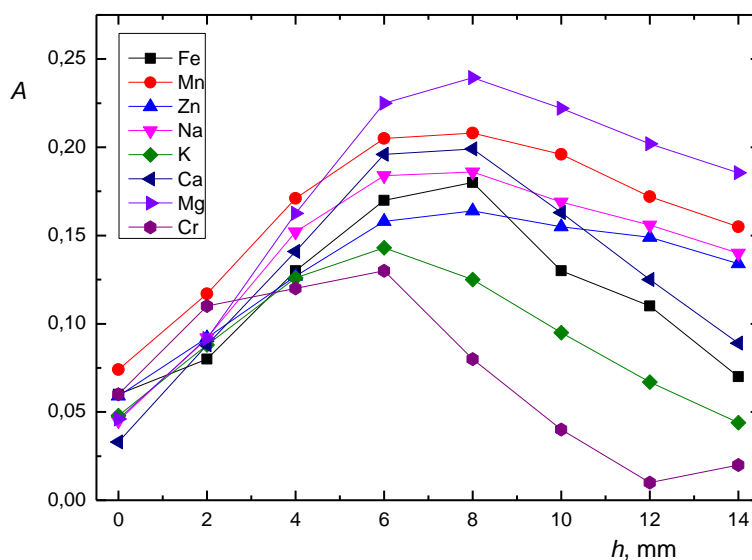
Tab. 4.1 Procentuální obsah vody odstraněný během procesu sušení.

číslo vzorku	m vzorku-původní [g]	m vzorku-vysušený [g]	Procento vody v původních vzorcích [%]
B2-1	0,2573	0,2551	0,86
B2-2	0,2646	0,2606	1,51
B2-3	0,2994	0,2967	0,90
B2-4	0,2634	0,2613	0,80
B2-5	0,2746	0,2694	1,90
B2-6	-	-	-
B3-1	0,0848	0,0353	58,37
B3-2	0,2741	0,0479	82,52
B3-3-2	0,2334	0,0417	82,13
B3-3-3	0,2812	0,0441	84,32
B3-6-1	0,2603	0,0389	85,06
B3-6-2	0,2766	0,0432	84,38
B3-4-1	0,2402	0,0566	76,44
B3-4-2	0,2549	0,0501	80,35

Jak je z tabulky patrné, první sada vzorků byla dodána prakticky vysušená. V ostatních případech byl sušící krok nepostradatelnou součástí analýzy, nebo větší část hmotnosti původních vzorků druhé sady odpovídala přítomné vodě.

4.2. Optimalizace výšky paprsku

Nejprve byla změřena závislost absorbančního signálu na výšce, ve které prochází paprsek nad hranou hořáku, tzv. plamenový profil (viz Obr. 4.1). Výška, při níž byl naměřen nejvyšší signál, byla použita pro vlastní měření, čímž byla zajištěna optimální citlivost pro stanovení. Tab. 4.2 uvádí koncentrace příslušných roztoků použitých pro tuto optimalizaci. Pomocí těchto roztoků byla proměřena oblast výšky paprsku nad hranou hořáku od 0 do 14 mm a ze získané závislosti byla vybrána optimální výška pro každý stanovovaný prvek.



Obr. 4.1: Závislost signálu na výšce paprsku nad hranou hořáku

$c_{\text{Fe}} = 1,0 \text{ mg L}^{-1}$, $c_{\text{Mn}} = 2,5 \text{ mg L}^{-1}$, $c_{\text{Zn}} = 0,5 \text{ mg L}^{-1}$, $c_{\text{Na}} = 0,5 \text{ mg L}^{-1}$, $c_{\text{K}} = 0,5 \text{ mg L}^{-1}$,
 $c_{\text{Ca}} = 5 \text{ mg L}^{-1}$, $c_{\text{Mg}} = 0,5 \text{ mg L}^{-1}$, $c_{\text{Cr}} = 2,5 \text{ mg L}^{-1}$;
 $I = 10 \text{ mA}$ (pro stanovení Fe, Mn, Na, K, Ca, Mg, Cr), $I = 5 \text{ mA}$ (pro stanovení Zn);
 $v_{\text{ac}} = 60 \text{ mL min}^{-1}$, $v_{\text{vz}} = 70 \text{ mL min}^{-1}$

Tab. 4.2 Koncentrace roztoků použitých pro optimalizaci a vybraná optimální hodnota

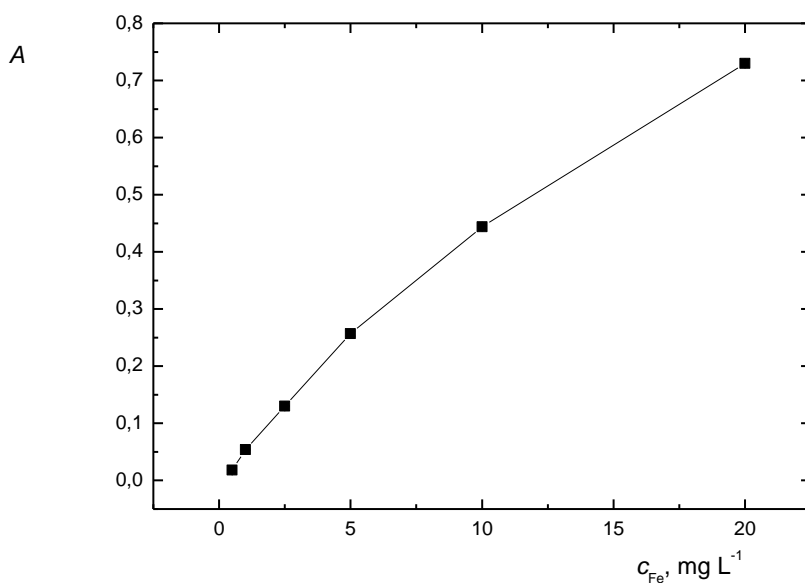
Prvek	Fe	Mn	Zn	Na	K	Ca	Mg	Cr
Koncentrace roztoku [mg L^{-1}]	1	2,5	0,5	0,5	0,5	5	0,5	2,5
Optimální výška paprsku [mm]	8	8	8	8	6	8	8	6

4.3. Kalibrační závislosti

Při nastavené optimální výšce paprsku nad hranou hořáku, šířce spektrálního intervalu, vlnové délce a napájecího proudu výbojky byly proměřeny kalibrační roztoky jednotlivých prvků. Jejich koncentrace jsou uvedeny v Tab 3.1. Z naměřených signálů byla sestrojena kalibrační závislost, tedy závislost koncentrace daného analytu (prvku) na absorbanci (viz Obr. 4.2 až 4.9). Pokud není uvedeno jinak, byl pro všechny měření použit jako oxidant vzduch o průtoku 70 L hod^{-1} a jako palivo acetylen o průtoku 60 L hod^{-1} .

Stanovení železa

Na Obr 4.2 je znázorněna kalibrační závislost železa, která byla sestrojena proměřením kalibračních roztoků v rozmezí $0,5\text{-}20 \text{ mg L}^{-1}$. Získaná závislost je lineární v rozmezí koncentrací $1,0\text{-}10 \text{ mg L}^{-1}$.

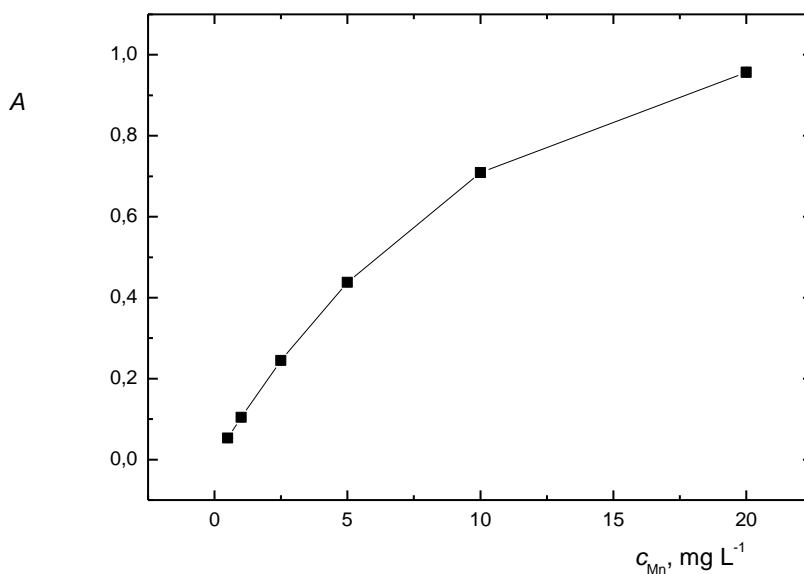


Obr.4.2.: Kalibrační křivka železa

$h = 8 \text{ mm}$, $\lambda = 283,3 \text{ nm}$, $\Delta\lambda = 0,2 \text{ nm}$, $I = 10 \text{ mA}$, $v_{\text{ac}} = 60 \text{ L hod}^{-1}$, $v_{\text{vz}} = 70 \text{ L hod}^{-1}$

Stanovení manganu

Pro sestavení kalibrační závislosti pro stanovení manganu (Obr. 4.3.) byly proměřeny roztoky o koncentracích od 0,5 do 20 mg L⁻¹. Lineární část grafu byla od 0,5 do 2,5 mg L⁻¹. Oproti kalibrační přímce železa lze pozorovat výraznější zakřivení v oblasti vyšších koncentrací. Jak je patrné z uvedené závislosti, stanovení manganu je přibližně 2x citlivější než v případě stanovení železa.

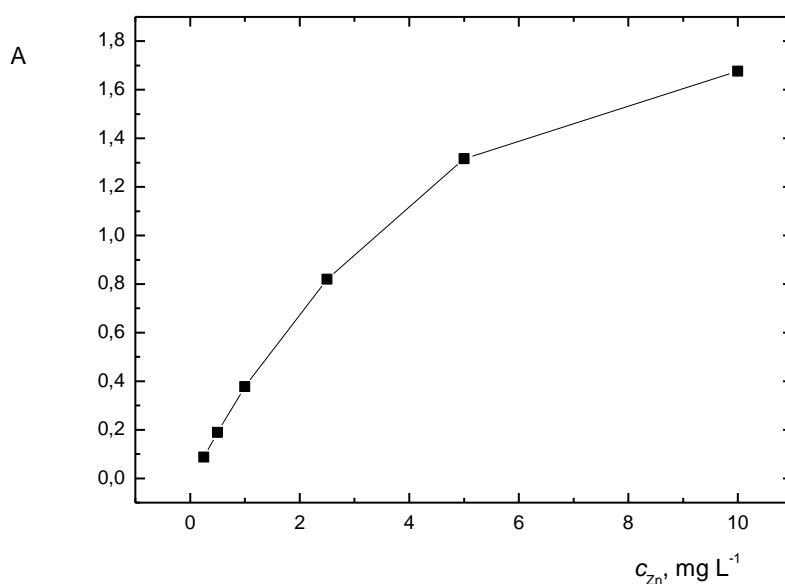


Obr. 4.3.: Kalibrační křivka manganu

$h = 8 \text{ mm}$, $\lambda = 279,5 \text{ nm}$, $\Delta\lambda = 0,2 \text{ nm}$, $I = 10 \text{ mA}$, $v_{ac} = 60 \text{ L hod}^{-1}$, $v_{vz} = 70 \text{ L hod}^{-1}$

Stanovení zinku

Kalibrační roztoky byly vybrány v rozmezí koncentrací 0,25-10 mg L⁻¹. Přímka byla značně nelineární. Vypočtený lineární dynamický rozsah byl do hodnoty koncentrace 1,0 mg L⁻¹. Uvedená kalibrační křivka je zobrazena na Obr. 4.4.



Obr. 4.4.: Kalibrační křivka zinku

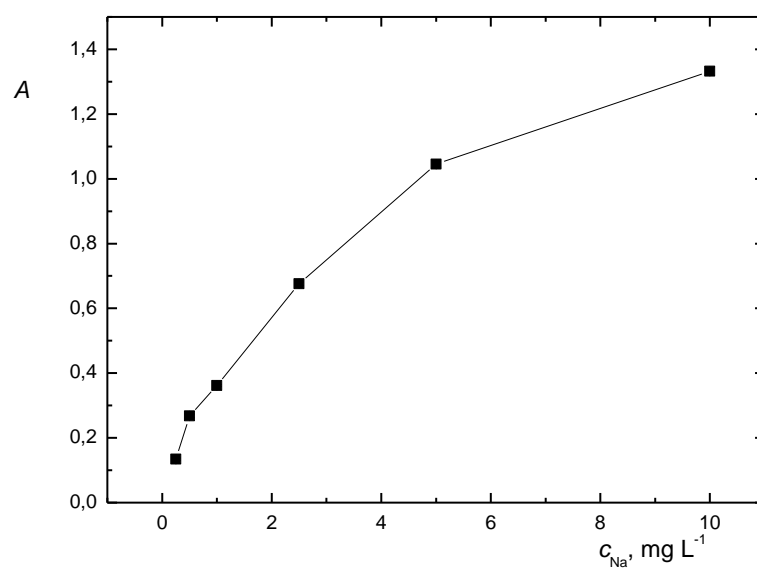
$h = 8 \text{ mm}$, $\lambda = 213,9 \text{ nm}$, $\Delta\lambda = 0,5 \text{ nm}$, $I = 5 \text{ mA}$, $v_{ac} = 60 \text{ L hod}^{-1}$, $v_{vz} = 70 \text{ L hod}^{-1}$

Stanovení sodíku

Pro sestavení kalibrační závislosti pro stanovení sodíku (Obr. 4.5.) byly použity roztoky o koncentracích $0,25\text{--}10 \text{ mg L}^{-1}$. Do všech roztoků bylo přidáno $0,2 \text{ ml}$ roztoku A, tedy roztoku Cs působící jako ionizační pufr k potlačení ionizace atomů sodíku. Popis přípravy tohoto roztoku je uveden v kapitole 3.

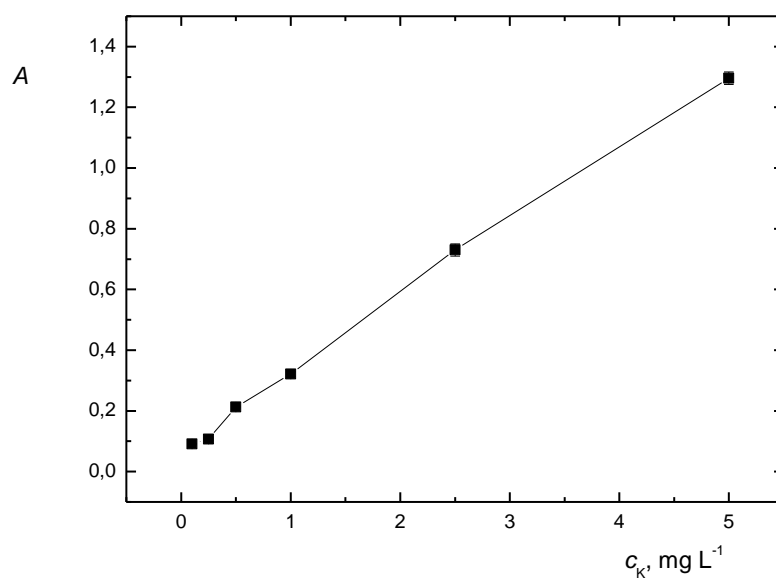
Stanovení draslíku

Kalibrační závislost stanovení draslíku (Obr. 4.6.) vznikla z proměření kalibračních roztoků o koncentracích $0,1\text{--}5,0 \text{ mg L}^{-1}$. Ke všem roztokům bylo jako při stanovení sodíku přidáno $0,2 \text{ ml}$ roztoku A, a to ze stejného důvodu jako v případě stanovení sodíku. Tato naměřená závislost byla, na rozdíl od kalibrační závislosti sodíku, lineární téměř v celém svém rozsahu.



Obr. 4.5.: Kalibrační křivka sodíku

$h = 8 \text{ mm}$, $\lambda = 589,0 \text{ nm}$, $\Delta\lambda = 0,5 \text{ nm}$, $I = 10 \text{ mA}$, $v_{ac} = 60 \text{ L hod}^{-1}$, $v_{vz} = 70 \text{ L hod}^{-1}$

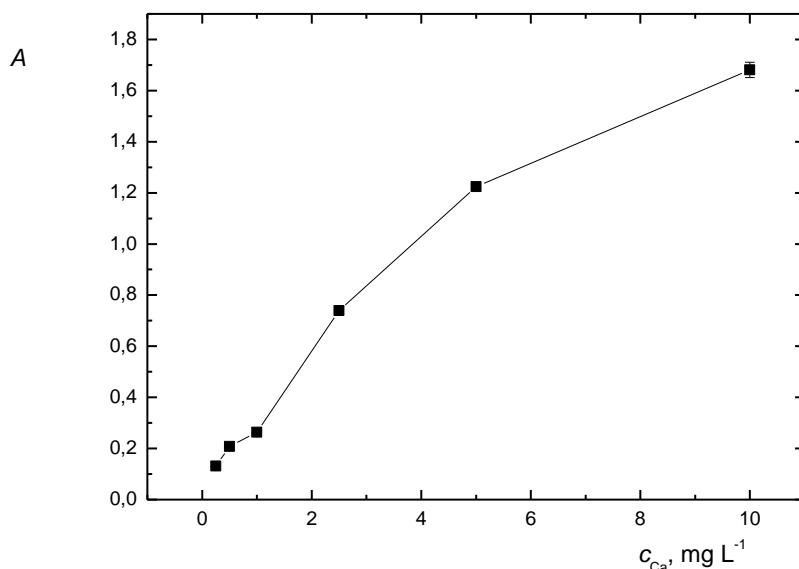


Obr.: 4.6 Kalibrační křivka draslíku

$h = 6 \text{ mm}$, $\lambda = 766,5 \text{ nm}$, $\Delta\lambda = 1 \text{ nm}$, $I = 10 \text{ mA}$, $v_{ac} = 60 \text{ L hod}^{-1}$, $v_{vz} = 70 \text{ L hod}^{-1}$

Stanovení vápníku

Pro stanovení vápníku byl kromě vzduchu jako oxidantu a acetylenu jako paliva použit i oxid dusný o průtoku 70 L hod^{-1} . Kalibrační závislost (Obr. 4.7.) byla sestrojena z roztoků o koncentracích $0,25\text{--}10 \text{ mg L}^{-1}$. Ke všem roztokům bylo přidáno $0,4 \text{ ml}$ roztoku KCl, jeho příprava je uvedena v kapitole 3.



Obr. 4.7.: Kalibrační křivka vápníku

$h = 8 \text{ mm}$, $\lambda = 422,7 \text{ nm}$, $\Delta\lambda = 0,5 \text{ nm}$, $I = 10 \text{ mA}$, $v_{\text{ac}} = 60 \text{ L hod}^{-1}$, $v_{\text{vz}} = 70 \text{ L hod}^{-1}$,
 $v_{\text{ox.dus}} = 70 \text{ L hod}^{-1}$

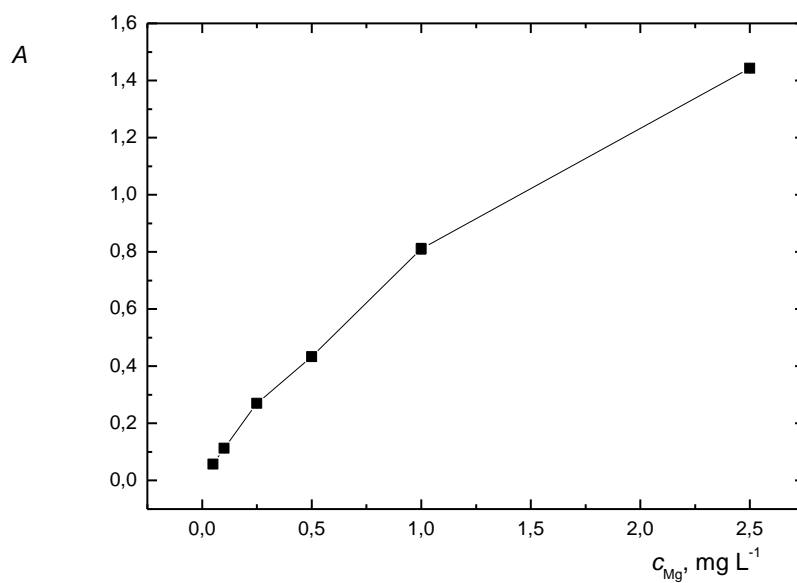
Stanovení hořčíku

Pro sestrojení kalibrační závislosti pro stanovení hořčíku byly vybrány roztoky z rozmezí koncentrací $0,5\text{--}2,5 \text{ mg L}^{-1}$. Ke všem kalibračním roztokům bylo přidáno $0,2 \text{ ml}$ roztoku A. Dále bylo ke všem roztokům přidáno $0,2 \text{ ml}$ roztoku B. Kalibrační závislost je znázorněna na Obr. 4.8.

Stanovení chromu

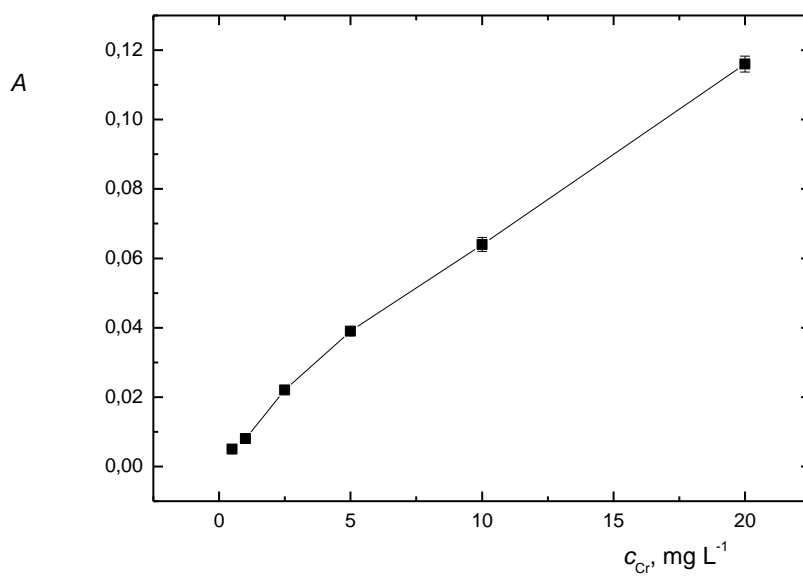
Pro kalibrační závislost na stanovení chromu byly vybrány kalibrační roztoky o koncentracích mezi $0,5\text{--}20 \text{ mg L}^{-1}$. Křivka byla lineární ve velkém rozsahu. K roztokům nebylo potřeba přidat roztoky pro zamezení interferencí. V případě rizika

interferencí lze při stanovení chromu využít oxidu dusného. Kalibrační závislost chromu znázorňuje Obr. 4.9.



Obr. 4.8.: Kalibrační křivka hořčíku

$h = 8 \text{ mm}$, $\lambda = 285,2 \text{ nm}$, $\Delta\lambda = 0,5 \text{ nm}$, $I = 10 \text{ mA}$, $v_{\text{ac}} = 60 \text{ L hod}^{-1}$, $v_{\text{vz}} = 70 \text{ L hod}^{-1}$



Obr. 4.9.: Kalibrační křivka chromu

$h = 6 \text{ mm}$, $\lambda = 358,9 \text{ nm}$, $\Delta\lambda = 0,2 \text{ nm}$, $I = 10 \text{ mA}$, $v_{\text{ac}} = 60 \text{ L hod}^{-1}$, $v_{\text{vz}} = 70 \text{ L hod}^{-1}$

4.4. Základní charakteristiky stanovení prvků

Za podmínek uvedených v Tab. 3.1 byly změřeny kalibrační závislosti vybraných prvků metodou atomové absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací a také byly zjištěny základní charakteristiky těchto stanovení. Tyto charakteristiky jsou uvedeny v Tab. 4.3 a 4.4. Nejhorší meze detekce a meze stanovitelnosti bylo dosaženo při stanovení chromu. Naopak nejvyšší citlivosti bylo za podmínek daného stanovení získáno při stanovení alkalických kovů, kovů alkalických zemin a zinku. Lineární dynamický rozsah dosáhl nejvyšší hodnoty u stanovení chromu a železa.

Tab 4.3 Základní charakteristiky stanovovaných prvků

Charakteristika	Fe	Mn	Zn	Cr
Mez detekce (3σ) [mg L^{-1}]	0,05	0,01	0,08	0,21
Mez stanovitelnosti (10σ) [mg L^{-1}]	0,17	0,03	0,29	0,70
Citlivost [L mg^{-1}]	0,0431	0,0955	0,376	0,006
Opakovatelnost [%]	1,0 ^a	1,0 ^b	1,3 ^c	1,7 ^d
Korelační koeficient	0,9933	0,9997	1,000	0,9880
Lineární dynamický rozsah [mg L^{-1}]	10	2,5	1,0	20

Tab 4.3 Základní charakteristiky stanovovaných prvků (pokračování)

Charakteristika	K	Ca	Mg	Na
Mez detekce (3σ) [mg L^{-1}]	0,02	0,01	0,01	0,01
Mez stanovitelnosti (10σ) [mg L^{-1}]	0,05	0,16	0,01	0,03
Citlivost [L mg^{-1}]	0,3022	0,2699	0,8371	0,536
Opakovatelnost [%]	2,4 ^e	1,0 ^f	1,2 ^g	0,9 ^h
Korelační koeficient	0,9652	0,9817	0,9846	1,000
Lineární dynamický rozsah [mg L^{-1}]	2,5	2,5	1,0	0,5

^a pro $5,00 \text{ mg L}^{-1}$, ^b pro $2,50 \text{ mg L}^{-1}$, ^c pro $1,00 \text{ mg L}^{-1}$, ^d pro $20,0 \text{ mg L}^{-1}$, ^e pro $0,50 \text{ mg L}^{-1}$, ^f pro $5,00 \text{ mg L}^{-1}$, ^g pro $0,25 \text{ mg L}^{-1}$, ^h pro $0,50 \text{ mg L}^{-1}$

4.5. Výsledné koncentrace analytů ve vzorcích

V další části práce byly zoptimalizované a charakterizované metody stanovení vybraných prvků aplikovány na stanovení uvedených reálných vzorků připravených rozkladem vzorků rostlinného původu. Všechny vzorky byly proměřeny celkem třikrát a výsledek stanovení byl vyjádřen ve formě mediánu. Ten byl dosazen do rovnice kalibrační přímky, z níž se vypočítala koncentrace v mg L^{-1} (Tab. 4.5). Koncentrace byla poté i přepočtena na navážku vzorku na mg kg^{-1} (Tab. 4.6). Hlavní pozornost byla zaměřena na obsah zinku v analyzovaných vzorcích.

Tab. 4.5 Koncentrace analytů v mg L^{-1}

(uvedené koncentrace analytů jsou naměřeny s relativní směrodatnou odchylkou $< 3 \%$)

číslo vzorku	Koncentrace analytů v $[\text{mg L}^{-1}]$							
	Fe	Mn	Zn	Na	K	Ca	Mg	Cr
B2-1	0,39	<LOD	0,32	2,87	133	22,6	4,87	<LOD
B2-2	4,90	0,65	0,44	0,80	116	56,9	20,4	<LOD
B2-3	2,32	0,70	0,60	2,26	211	39,0	22,7	<LOD
B2-4	2,04	0,49	0,50	2,48	226	49,9	21,8	<LOD
B2-5	1,51	1,53	0,44	1,04	88,3	42,3	21,2	<LOD
B2-6	<LOD	<LOD	2,13	95,6	1610	64,4	110	<LOD
B2-6(k)*	<LOD	<LOD	2,99	103	1050	94,0	115	<LOD
B3-1	0,23	<LOD	0,29	1,36	51,1	4,65	4,00	<LOD
B3-2	0,29	0,030	0,24	1,77	73,4	8,65	9,84	<LOD
B3-3-2	0,37	<LOD	0,29	2,95	28,3	6,72	10,2	<LOD
B3-3-3	0,35	0,060	0,33	1,14	55,2	4,65	7,40	<LOD
B3-6-1	0,33	<LOD	0,27	1,31	62,6	6,91	9,14	<LOD
B3-6-2	0,49	<LOD	0,28	2,26	63,0	6,72	7,45	<LOD
B3-4-1	0,65	0,10	0,28	1,36	91,7	12,4	12,0	<LOD
B3-4-2	0,19	0,070	0,31	1,34	88,7	9,43	7,90	<LOD

*okyselený vzorek, způsob přípravy viz kapitola 3

Tab. 4.6 Koncentrace analytů v mg kg⁻¹

(uvedené koncentrace analytů jsou naměřeny s relativní směrodatnou odchylkou < 3 %)

č. vzorku	Koncentrace analytu [mg kg ⁻¹]							
	Fe	Mn	Zn	Na	K	Ca	Mg	Cr
B2-1	38,2	<LOD	31,0	282	13 100	2210	4770	<LOD
B2-2	466	62,7	41,8	77,0	11 100	7660	2710	<LOD
B2-3	195	58,6	50,2	190	17 800	7760	4570	<LOD
B2-4	196	46,5	47,6	237	21 600	5440	3490	<LOD
B2-5	140	142	40,5	97,0	8 200	3830	2890	<LOD
B3-1	165	<LOD	207	965	36 200	3290	2830	<LOD
B3-2	152	13,1	128	925	38 300	4520	5140	<LOD
B3-3-2	222	<LOD	172	1 770	17000	4030	6140	<LOD
B3-3-3	199	32,1	189	645	31 300	2640	4200	<LOD
B3-6-1	213	<LOD	171	839	40 200	4440	5870	<LOD
B3-6-2	283	<LOD	163	1 310	36 500	3890	4310	<LOD
B3-4-1	285	43,5	126	602	40 500	5490	5280	<LOD
B3-4-2	96,3	33,4	157	670	44 300	4710	3940	<LOD

Z výsledků experimentů, které jsou shrnuty v Tab. 4.6 je možno vyvodit několik předpokladů.

Sady vzorků B2 a B3 se při porovnání obsahu jednotlivých kovů výrazně neliší, kromě zinku. Koncentrace zinku v sadě vzorků B2 je přibližně stejná, není vysoká a liší se jenom nepatrně. Z toho lze usoudit, že skutečně nedochází k významné kontaminaci zinkem z přítomných pneumatik. Podobný závěr lze učinit i u sady vzorků B3 porovnáním zastoupení koncentrace zinku a polohou místa růstu rostliny. Zde dokonce nejvyšší koncentrace zinku byla zjištěna v místě nejvíce vzdáleném od nejbližší pneumatiky. Nicméně u sady vzorků B3 byl opět prokázán obecně vysoký obsah zinku v analyzovaném materiálu. Jedná se o vzorky jednoho druhu rostliny umístěného v různé vzdálenosti od zdroje možné kontaminace. Rozdíl v koncentracích zinku u vzorků sady B2 a B3 může být dán rozdílným druhem rostliny a s tím související schopností daného druhu rostliny přijímat tento kov. Např. jahodník obecný je rostlina

preferující spíše kyselé půdy, lze tedy očekávat, že méně přijímá kovy. Pouze jedinou rostlinou, která rostla v materiálu pocházejícího z venkovské (tedy pravděpodobně méně znečištěné) lokality, je lilek.

Nejvýrazněji by se případná kontaminace zinkem z pneumatik měla projevit na obsahu zinku v biomase nacházející se přímo v místě výskytu pneumatik, případně ve vzorcích povrchové vody v blízkosti tohoto místa. Přítomnost vysoké koncentrace zinku je však nepopiratelná. Z výsledků analýz materiálu z různých míst na lokalitě v podstatě vyplývá, že se nejedná o vliv místních pneumatik, ale pravděpodobně se projevuje spíše znečištění lokality z různých zdrojů.

Průkaznější potvrzení kontaminace rostlinné biomasy z pneumatik by bylo možné zjistit na základě měření prvkového složení zeminy a půdy nebo opakované měření rostlinných vzorků v průběhu několika let.

5. ZÁVĚR

V rámci této bakalářské práce byly zjištěny koncentrace stanovovaných prvků (Fe, Mn, Zn, Cr, Na, K, Mg a Ca) v rostlinných vzorcích z ekologicky znečištěné oblasti.

Část práce byla věnována zjištění optimálních hodnot pro vlastní měření vybraných prvků. Nejprve byla provedena optimalizace výšky paprsku nad hořákem, která byla pro většinu prvků určena 8 mm. Dále byly stanoveny meze detekce, meze stanovitelnosti, citlivosti a opakovatelnosti (viz Tab 4.3).

Analyzované vzorky byly nejprve vysušeny v laboratorní elektrické sušárně, poté bylo jejich přesně navážené množství (asi 0,2000 g) rozloženo s přídavkem kyseliny dusičné a peroxidu vodíku v mikrovlnném rozkladném zařízení. Takto upravené vzorky, resp. roztoky byly analyzovány.

Z výsledků analýz jednoznačně vyplývá významně zvýšený obsah zinku v jednotlivých vzorcích, především ve vzorcích šťavele, což nebývá obvyklé. Z uvedených analýz, s přihlédnutím k místu odběru vzorků lze však předběžně vyloučit jako majoritní zdroj kontaminace zinkem dříve uvažované pneumatiky. Pravděpodobným zdrojem kontaminace jsou lokální zdroje znečištění a relativně vysoký obsah zinku v okolní půdě v místě odběru vzorků.

6. LITERATURA

1. Ďuriš, M.: *Stopové prvky v půdách Hlavního města Prahy*. – Výzk. ústav Rostl. výr., Praha, 35 s (2005)
2. Klouda, P.: *Moderní analytické metody*. 2. upr. a dopl. vyd. Ostrava, Nakladatelství Pavel Klouda 2003.
3. Rychlovský, P.: *Spektrometrické analytické metody I*. 1. vyd. Praha, Karolinum 1997.
4. Černohorský, T., Jandera P.: *Atomová spektrometrie*. Univerzita Pardubice 1997.
5. Komárek, J.: *Atomová absorpční spektrometrie*. 1. vyd. Brno, Masarykova univerzita 2000.
6. Ursínyová, M.; Hladíková, V., Stanovenie selénu v sére metódou atómovej absorpčnej spektrometrie s elektrotermickou atomizáciou, *Chemické listy* **92**, 495-498, (1998)
7. Dědina J.; Tsalev D.L., *Hydride generation atomic absorption spectrometry*. Wiley, Chichester 1995.
8. Hejtmánek, M.; Koliňová, D.; Musil, J.; Rubeška, I.; Sychra, V.: *Atomová absorpční spektrometrie*. vyd. Praha, Ediční středisko VŠCHT 1979.
9. Bimola Devi, Ch.; Nandakishore, Th.; Sangeeta, N.; Basar, G.; Omita Devi, N.; Sungdirenla, J.; Amuba Singh, M.: Zinc in Human health, *Journal of Dental and Medical Sciences* **13**:7 (2014)
10. Nordberh, G. F. *Handbook on the toxicology of metals*. 3rd ed. Editor Gunnar F. Nordberg. Amsterdam: Elsevier 2007.

11. Bi, X.; Feng, X.; Yang, Y.; Qiu, G.; Li, G.; Li, F.; Liu, T.; Fu, Z.; Jin, Z. Environmental contamination of heavy metals from zinc smelting areas in Hezhang County, western Guizhou, China. *Environment International* **32**:7, 883-890 (2006)
12. Wang, Y.; Ren, G.J.; Zhang, D.: Determination of Trace Zinc in Water by Flame Atomic Absorption Spectrometry After Preconcentration by Modified Organobentonite with 1-(2-Pyridylazo)-2-naphthol. *Asian journal of chemistry* **26**:14, 4442-4444 (2014)
13. Choppala, G.; Bolan, N.; Park, J.H.: Chromium Contamination and Its Risk Management in Complex Environmental Settings. *Advances in Agronomy* **120**, 129-172 (2013)
14. Aljec, R.; Čop, M.; Štupar, J. Interferences in the determination of chromium in plant materials and soil samples by flame atomic absorption spectrometry. *The Analyst* **113**:4, 585-590 (1988)
15. Soylak, M.; Unsal, Y. E.: Chromium and iron determinations in food and herbal plant samples by atomic absorption spectrometry after solid phase extraction on single-walled carbon nanotubes (SWCNTs) disk, *Food and chemical toxicology* **48**:6, 1511-1515 (2010)
16. Hemmatkhah, P.; Bidari, A.; Jafarvand. S.; Hosseini, M.R.M.; Assadi, Y.: Speciation of chromium in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction and flame atomic absorption spektrometry. *Microchimica Acta* **166**:1-2, 69-75 (2009)
17. Antali, S; Sarkis, N.; Al-Check, A.M.: Determination of Copper, Iron, Manganese, Nickel and Zinc in Tea Leaf Consumed in Syria by Flame Atomic Absorption Spectrometry after Microwave Digestion., *Asian journal of chemistry* **23**, 3268-3272 (2011)

18. Tokay, F.; Bagdat, S.: Determination of Iron and Copper in Edible Oils by Flame Atomic Absorption Spectrometry After Liquid-Liquid Extraction. *Journal of the american oil chemists society* **92**:3, 317-322 (2015)
19. Zeng, G.; Liang, J.; Guo, S.; Shi, L.; Xiang, L.; Li, X.; Du, Ch.: Spatial analysis of human health risk associated with ingesting manganese in Huangxing Town, Middle China. *Chemosphere* **77**:3, 368-375 (2009)
20. de Baaij, J. H. F.; Hoenderop, J. G. J.; Bindels, R. J. M. Magnesium in Man: Implications for Health and Disease. *Physiological Reviews* **95**:1, 1-46 (2015)
21. Vojtěch, D.; Knotek, V.; Čapek, J.; Kubásek, J.: Hořčík - Kov pro medicínu i pro skladování vodíku. *Chemické listy* **105**, 678-683 (2011)
22. Farquhar, W.B.; Edwards, D.G.; Jurkowitz, C.T.; Weintraub, W.S.: Dietary Sodium and Health. *Journal of the American College of Cardiology* **65**:10, 1042-1050 (2015)
23. He, F.J.; MacGregor, A.: Beneficial effects of potassium on human health. *Physiologia Plantarum* **133**:4, 725-735 (2008)
24. Heaney, R.P.; Bargerlux, M.J.: Low-calcium intake – The culprit in many chronic diseases. *Journal of dairy science* **77**:5, 1155-1160 (1994)
25. Heaney, R.P.; Bargerlux, M.J.: The role of calcium intake in preventing bone fragility, hypertension, and certain cancers. *Journal of nutrition*. **124**:8, 1406-1411 (1994)
26. Opekar, F.: *Základní analytická chemie*. 1. vyd. Praha, Karolinum 2003.

Příloha 1

Fotografie analyzovaných vzorků

a) před sušením



Foto 1: vzorek B2-2



Foto 2: vzorek B3-1



Foto 3: vzorek B2-3

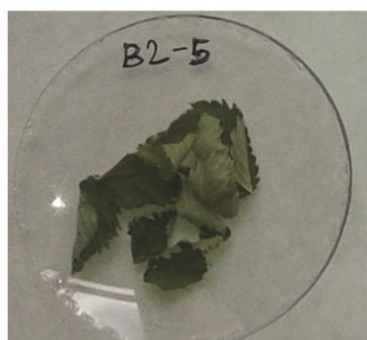


Foto 4: vzorek B2-5



Foto 5: vzorek B3-6-1



Foto 6: vzorek B3-4-2



Foto 7: vzorek B3-3-2

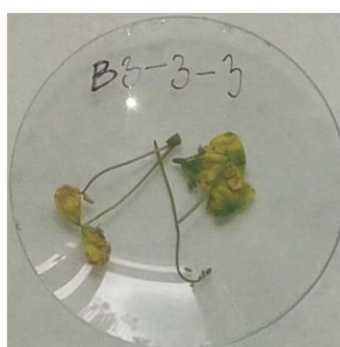


Foto 8: vzorek B3-3-3



Foto 9: vzorek B3-4-1

b) po sušení



Foto 10: vzorek B3-3-2



Foto 11: vzorek B3-3-3



Foto 12: vzorek B3-4-1