

Stanovení těžkých kovů ve vybraných rostlinných materiálech

Bc. Ivana Saitzová

Diplomová práce 2014



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav analýzy a chemie potravin

akademický rok: 2013/2014

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Ivana Saitzová**
Osobní číslo: **T12843**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Stanovení těžkých kovů ve vybraných rostlinných materiálech**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Vypracujte literární rešerši k problematice přítomnosti těžkých kovů v rostlinných materiálech.
2. Zaměřte se na výskyt olova, arsenu, rtuti, kadmia a chromu a popište analytické techniky pro jejich stanovení.

II. Praktická část

1. Vypracujte a optimalizujte metodu pro identifikaci olova, arsenu, rtuti, kadmia a chromu v modelových vzorcích na bázi rostlinného materiálu pomocí techniky atomové absorpční spektroskopie.
2. Získané poznatky přehledně zpracujte a diskutujte s dostupnými literárními zdroji.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

1. ARAS, N.K.; ATAMAN, O. Y. Trace Element Analysis of Food and Diet. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 2006. ISBN 9780854045761
2. ONG, S. K.; SURAMPALLI, R. Y., BHANDARI, A.; CHAMPAGNE, P.; TYAGI, R.D. LO, I. Natural processes and systems for hazardous waste treatment. Reston: American Society of Civil Engineers, 2008. ISBN 978078440939-8
3. Časopisecké a knižní zdroje dostupné prostřednictvím knihovny UTB ve Zlíně.

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Vladimír Sedlařík, Ph.D.

Centrum polymerních materiálů

Datum zadání diplomové práce:

10. února 2014

Termín odevzdání diplomové práce:

2. května 2014

Ve Zlíně dne 10. února 2014


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




Ing. Jiří Mlček, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 1.5.2014

.....
Saitzová Ivana

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělčně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zaměřuje na zmapování současného stavu poznání v oblasti výskytu těžkých kovů v environmentu a metod jejich stanovení. Majoritní pozornost je věnována metodě atomové absorpční spektroskopie (AAS). V rámci experimentální části je popisována sorpční kapacita tří biosorbentů (sušených a mikronizovaných letorostů révy vinné, jablečné vlákniny a dřevní moučky) na tři kovy (zinek, olovo a měď). Zároveň je sledována kinetika sorpce biosorbenty rostlinného původu v kapalném prostředí.

Klíčová slova: těžké kovy, atomová absorpční spektrometrie, sorpce, biosorbenty

ABSTRACT

The submitted diploma thesis is aimed on mapping of up-to-date state of knowledge concerning the presence of heavy metals in the environment and on the methods of their determination. Major attention is then paid to the method of atomic absorption spectroscopy (AAS). The Experimental part is devoted to sorption capacity of three biosorbents (dried and micronized of annual wine shoots, apple fibre and wood wool) and three metals (zinc, lead, and copper). Simultaneously, the sorption kinetics by biosorbents of plant origin in liquids is monitored.

Key words: heavy metals, atomic absorption spectroscopy, sorption, biosorbents

Já, Bc. Ivana Saitzová prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně, pod odborným dohledem doc. Ing. Vladimíra Sedlaříka, Ph.D. Veškerou použitou literaturu cituji na konci práce.

Souhlasím s tím, aby má práce byla zpřístupněna v knihovně Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně.

Ve Zlíně dne 2. 5. 2014

.....

Bc. Ivana Saitzová

Ráda bych touto cestou poděkovala především svému vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Vladimíru Sedlaříkovi, Ph.D. za jeho toleranci, cenné rady a připomínky a zejména za množství času, který mi byl ochoten věnovat při práci v laboratořích a při konzultacích během zpracování této diplomové práce.

ÚVOD.....	9
1 TĚŽKÉ KOVY A JEJICH TOXICITA	11
2 METODY ANALYTICKÉHO STANOVENÍ TĚŽKÝCH KOVŮ	23
3 SORPCE VYBRANÝCH TĚŽKÝCH KOVŮ NA ROSTLINNÉ MATERIÁLY	40
4 CÍL PRÁCE	44
5 POUŽITÝ MATERIÁL A METODY	45
6 VÝSLEDKY A DISKUZE	48
7 ZÁVĚR.....	57
8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	59
9 CITACE POUŽITÝCH OBRÁZKŮ	64
10 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	65
11 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ	66
12 SEZNAM POUŽITÝCH GRAFŮ	67
13 SEZNAM POUŽITÝCH TABULEK	68

ÚVOD

Cílem mé diplomové práce bylo vypracování literární rešerše v oblasti environmentální chemie a toxikologie těžkých kovů, se zaměřením na možnosti jejich analytického stanovení metodou Atomové absorpční spektrometrie (AAS). V experimentální části práce jsem se poté zaměřila na využití Atomové absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací ke sledování kinetiky sorpce těžkých kovů na vybrané typy biosorbentů.

Těžké kovy jako olovo, rtuť nebo kadmium, jsou významnou skupinou anorganických polutantů, které mají velký význam z pohledu environmentální chemie a toxikologie. Tyto kovy (ať už v elementární podobě nebo ve sloučeninách) byly uvolňovány do životního prostředí v průběhu mnoha desítek let a mnohdy způsobily rozsáhlá průmyslová znečištění. Jednou z nejznámějších průmyslových havárií, která se v minulosti stala, byla otrava více než tisíce lidí v japonské zátocě Minamata. V průběhu 50. let minulého století byla tato oblast silně kontaminována sloučeninami rtuti, což vedlo k velkému množství vážných otrav [1].

Za zmínku také stojí nechvalně známé tetraethylolovo, které bylo po dlouhou dobu používáno jako antidetonační přísada do motorových benzínů [2]. Nebezpečnost těžkých kovů také spočívá v jejich schopnosti kumulovat se v živých organismem a jejich perzistenci v životním prostředí [3].

Do popředí zájmu toxikologů a analytických chemiků se dnes dostávají i kovy (a polokovy) méně toxické než olovo, rtuť nebo kadmium, avšak využívané ve větším průmyslovém měřítku. Jsou to především prvky jako měď, hliník, chrom, selen, antimon a další, které nacházejí využití při výrobě elektroniky [4]. Není třeba zdůrazňovat důležitost sledování těchto anorganických antropogenních polutantů v životním prostředí. Analytická chemie nám nabízí mnoho mocných nástrojů pro jejich detekci a stanovení. Atomová absorpční spektrometrie (AAS), kterou jsem si pro svou diplomovou práci vybrala, je jednou z těch nejvyužívanějších a zároveň nejcitlivějších. Detekční limity AAS dnes umožňují stanovení i velice nízkých koncentrací těžkých kovů a to v nejrůznějších matricích. Atomová absorpční spektrometrie bývá také využívána pro sledování změn v koncentraci některých přirozeně se vyskytujících (stopových) prvků v lidském těle nebo pro sledování obsahu stopových prvků v potravinových doplncích. Využití této analytické metody je široké a má velký význam pro mnoho oblastí lidské činnosti [5].

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 TĚŽKÉ KOVY A JEJICH TOXICITA

Těžké kovy jsou v literatuře definovány podle různých kritérií. Jsou to především *protonové číslo*, *hustota* (vyšší než $5 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$) a *toxicita*. Některé prvky, které se mezi těžké kovy řadí, přesto všechna tato kritéria nespĺňují. Obvykle tak jsou definovány pouze svou hustotou a především toxicitou. Za typické těžké kovy jsou běžně považovány olovo, rtuť, kadmium, arzen, měď, chrom a kobalt. V životním prostředí se mohou nalézat ve formě elementární nebo formě anorganických či organických sloučenin [6]. V elementární formě a ve formě omezeně rozpustných komplexních sloučenin bývají (až na výjimky) málo nebezpečné. V případě jejich anorganických (iontových) sloučenin je pak podstatná jejich rozpustnost ve vodě [7]. Učebnicovým příkladem může být nerozpustný síran barnatý, který je netoxický a v lékařství je často používán jako kontrastní látka při rentgenovém vyšetření žaludku, zatímco jiné barnaté soli (např. rozpustný dusičnan barnatý), jsou vysoce toxické. Dobře rozpustné (iontové) sloučeniny těžkých kovů jsou všeobecně považovány za toxické nebo vysoce toxické [8,9]. Stejně tak jsou vysoce toxické organické deriváty těžkých kovů, zvláště pak alkylované organokovy, jakými jsou dimethylrtuť nebo tetraethylolovo [9]. Vysoká toxicita těchto organokovů je dána především jejich lipofilitou a značnou těkavostí, která jim umožňuje snadný průchod do organismu přes kůži a sliznice. Za zmínku také stojí organické deriváty arzenu, které byly pro svou toxicitu zneužívány v průběhu první a druhé světové války jako bojové otravné látky dráždivé a zpuchýřující [10]. Některé těžké kovy ze skupiny aktinoidů jsou i radioaktivní (např. uran, americium nebo plutonium). Živé organismy mají schopnost těžké kovy kumulovat (bioakumulace) a dále transformovat (biotransformace). V důsledku toho tak mohou být elementární těžké kovy metabolizovány na jejich toxicitější sloučeniny (např. elementární rtuť je transformována na vysoce toxické biomethylované metabolity) [11]. Toxicita těžkých kovů spočívá především v jejich velké afinitě k sulfhydrylovým skupinám (-SH skupiny) v molekulách proteinů. Navázání těžkého kovu na tuto skupinu (případně na -NH₂ skupinu nebo -COOH skupinu) v enzymech vede k jejich ireverzibilní inhibici. Všechny těžké kovy se také při vyšších koncentracích váží na buněčné stěny mikroorganismů kde vytváří nespecifické struktury, často brzdící růst i dělení [9]. Dále katalyzují reakce, při nichž vznikají volné radikály, které způsobují oxidativní stres a následné poškození DNA. Ve tkáních mohou nahrazovat různé esenciální kovy (např. Pb²⁺ ionty mohou v kostech nahrazovat ionty vápníku) [12].

V následujících kapitolách budou popsány vlastnosti vybraných těžkých kovů resp. jejich sloučenin a to se zaměřením na toxikologické charakteristiky a charakteristiky environmentální, tedy především pak jejich schopnost kumulace v živých organismech a schopnost následné biotransformace. Tyto charakteristiky jsou nutnou informací pro každého analytického chemika, který se detekcí či stanovením těchto látek v životním prostředí zabývá. Poslední kapitola teoretické části práce bude zaměřena na sledování kinetiky sorpce vybraných těžkých kovů na vybrané druhy biosorbentů.

a) Olovo

Olovo (Pb, Plumbum) je typický těžký kov. V zemské kůře je zastoupeno v poměrně malém množství, přesto je však jeho obsah větší než by se mohlo zdát z jeho postavení v periodické tabulce prvků. Důvodem je fakt, že izotopy olova jsou konečným produktem radioaktivních rozpadových řad uranu a thoria a obsah olova v zemské kůře se tak postupně zvyšuje. Elementární olovo se v přírodě vyskytuje pouze vzácně. Nejčastěji se vyskytuje chemicky vázané, ve formě sulfidu olovnatého (PbS, galenit) nebo ve formě síranu a uhličitanu (PbSO₄, PbCO₃). Olovo se také vyskytuje jako doprovodný prvek v rudách dalších kovů. Jeho výroba je založena na oxidaci (pražení) sulfidu olovnatého a následné redukci takto vzniklého oxidu olovnatého koksem. Elementární olovo je poměrně inertní prvek, v kompaktním stavu se na vlhkém vzduchu příliš nemění, pouze zvolna ztrácí lesk a tvoří se na něm šedobílá vrstva oxidů, hydroxidů a uhličitanů. Ve sloučeninách vystupuje nejčastěji v oxidačním stupni II a IV, přičemž olovnaté sloučeniny jsou chemicky stabilní, zatímco sloučeniny olovičité mají oxidační účinky. Největší použití elementárního olova je při výrobě akumulátorů. Velký význam mají také jeho slitiny, které oproti čistému olovu vykazují lepší fyzikálně-chemické vlastnosti. Kromě výroby akumulátorů je stále používáno při výrobě střeliva, při výrobě stínění proti účinkům ionizujícího záření a v elektrotechnice. Ze sloučenin olova, které našly velké uplatnění, jsou to sloučeniny nerozpustné ve vodě. Suřík (Pb₃O₄, oxid olovnato-olovičitý) našel uplatnění jako nerozpustný červený pigment při nátěrech střech a oxid olovičitý (PbO₂) byl jako oxidační činidlo používán při výrobě zápalek. Samotné elementární olovo, které je ve vodě (při neutrálním pH) nerozpustné, našlo dříve uplatnění při výrobě vodovodního potrubí. Dnes se pro tyto účely používat nesmí [6,8].

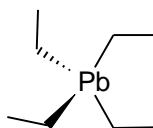
Toxicita:

Intoxikace sloučeninami olova (zvláště pak rozpustnými olovnatými solemi) způsobuje celou řadu zdravotních problémů. Za hlavní cílový orgán se považuje nervový systém, jehož poškození u dětí vede ke kognitivním poruchám a nežádoucím behaviorálním projevům [14]. Neurotoxické účinky olova se považují za nejvýznamnější [9]. Tento toxický účinek je spojován se schopností olova imitovat a inhibovat procesy, které jsou závislé na přítomnosti vápenatých iontů a také schopností olova interagovat s buněčnými proteiny. S největší pravděpodobností sehraává kritickou roli nahrazení vápenatých iontů ionty olovnatými, resp. touto cestou zprostředkovaná interference olova s rolí vápníku v neuronech. Olovo inhibuje synaptickou transmissi tím, že blokuje napětím regulovaný vápníkový kanál, čímž inhibuje vstup vápníku do buňky a uvolňování neurotransmiterů [9,15].

Systémové účinky pak zahrnují poškození gastrointestinálního traktu (GIT), poškození sluchu, anémii a případně hypertenzi. Toxicita sloučeninami olova se projevuje poruchami vývoje a nežádoucími účinky na reprodukční systém. Také byly popsány jeho genotoxické a karcinogenní účinky [9]. Hlavními zdroji pro kontaminaci prostředí se v minulosti staly olovnatý benzín, používání olovnatých pigmentů, výroba keramiky, pájení za použití olovnatých pájek a výroba resp. likvidace olovnatých baterií. V řadě zemí existují oblasti s extrémně vysokou úrovní znečištění životního prostředí způsobenou olovenými hutěmi a některými dalšími průmyslovými provozy. Sloučeniny olova mohou do organismu vstupovat požitím a inhalací. U organických derivátů olova je možná intoxikace inhalačně a přes kůži [16-18].

Tetraethylolovo

Tetraethylolovo, zobrazeno na obrázku č. 1, patří mezi organické deriváty olova (tzv. organokovové sloučeniny olova).



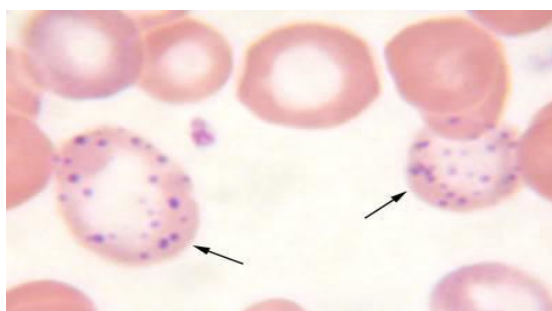
1

Obrázek č. 1: Tetraethylolovo 1

Za normálních podmínek se jedná o bezbarvou a těkavou kapalinu, dobře rozpustnou v tucích. Snadno proniká kůží a velice dobře se vstřebává v plicích. Průmyslově bylo tetraethylolovo vyráběno reakcí chlorethanu se slitinou olova a sodíku a největší uplatnění našlo jako antidekonační přísada do motorových benzínů, kde také zvyšoval oktanové číslo. Pro tyto účely byl kombinován s 1,2-dichlorethanem resp. 1,2-dibrommethanem a distribuován pod názvem Ethyl fluid. Přísada těchto halogenderivátů měla za cíl odstranit vzniklé oxidy olova ve formě těkavých halogenidů. Toto efektivní řešení však vedlo k výraznému zvýšení emisí olovnatých iontů do prostředí [2,19].

Akumulace a biotransformace:

Do ovzduší se olovo dostává především ve formě popílku a to jednak spalováním fosilních paliv a dříve také jako důsledek užívání olovnatých benzínů [2]. Může být deponováno na povrchu listů nebo přecházet do půdy, kde pak může být vlivem kyselých dešťů ionizováno a snáze tak procházet kořenovým systémem do rostlin. U kořenové a listové zeleniny bývá obvykle obsah olova vyšší. U živočišných organismů bývá deponováno především v detoxifikačních orgánech (játra, ledviny) [20], v případě intoxikace organickými (lipofilními) deriváty olova pak i v tukové tkáni [2,9]. Při dlouhodobé expozici bývá zvýšen obsah olova v kostech a zubech. Aerosol obsahující částice olova působí také jako alergen a může vyvolat otoky plic [9,21]. Většina olova (více než 90 %) z aerosolů deponovaných v plicích prostupuje do krevního oběhu. Krevním řečištěm přechází olovo do kostí, kde se usazuje a vylučuje se jen částečně. Hladina olova v krvi bývá označována jako *plumbémie* a její sledování slouží k diagnostice akutní nebo chronické intoxikace olovem [22]. Na obrázku č. 2 je patrné typické bazofilní tečkování erytrocytů při vyšetření krevního obrazu [23].



Obrázek č.: 2: Bazofilní tečkování erytrocytů při intoxikaci sloučeninami olova

b) Rtuť

Rtuť (Hg, Mercury) je toxický těžký kov, který se za normálních podmínek nachází v kapalném skupenství [21]. V zemské kůře se v elementární formě vyskytuje pouze zřídka. Častější je její výskyt ve formě sulfidu rtuťnatého - cinabaritu (HgS , rumělka), ze kterého se také vyrábí [6]. Přestože je elementární rtuť klasifikována jako látka vysoce toxická, její nebezpečnost spočívá především v její těkavosti a tvorbě toxických par. Páry rtuti jsou nebezpečné z hlediska dlouhodobé inhalační expozice, která vede k vážnému a nevratnému poškození nervového systému [9]. I přes tato možná rizika se rtuť používá k přípravě amalgámů (slitiny rtuti) v zubním lékařství, v elektrotechnice, k výrobě některých druhů výbojek, v polarografii, při výrobě hydroxidu sodného a chloru amalgamovým procesem a také jako náplň teploměrů a tlakoměrů [21]. V anorganických sloučeninách může vystupovat v oxidačním stavu I (jako dimerní kation Hg_2^{2+}) nebo II (Hg^{2+}). Zatímco např. chlorid rtuťný (Hg_2Cl_2 , kalomel) je díky své omezené rozpustnosti jen málo nebezpečný (v dřívějších dobách byl dokonce využíván jako projímadlo), rozpustný chlorid rtuťnatý (HgCl_2 , sublimát) patří mezi látky vysoce toxické [6,9]. Za zmínku také stojí fulminát rtuťnatý ($\text{Hg}(\text{ONC})_2$, třaskavá rtuť), který se dříve používal jako třaskavina do pyrotechnických rozbušek [24].

Toxicita:

V metabolismu a v toxickém působení elementární rtuti a jejích sloučenin existují významné rozdíly [9]. Elementární rtuť, která do těla pronikne v podobě par, je v organismu rychle oxidována na rtuťnaté ionty (Hg^{2+}). Při masivní expozici parám kovové rtuti nebo aerosolu dochází k akutnímu poškození dýchacích cest (vzniká toxický edém plic) [21]. Po požití rozpustných anorganických solí jsou typické příznaky poškození gastrointestinálního traktu (bolesti, zvracení, průjem s příměsí krve, šok) a po několikadenní latenci projevy ledvinové dysfunkce s příznaky kolitidy a stomatitidy [9,21].

Při chronickém působení je cílovým orgánem poškození mozek. Chronická otrava anorganickými sloučeninami rtuti je dnes málo pravděpodobná, protože pro svou toxicitu byly v západních zemích z chemického průmyslu vytlačeny [3]. Z dlouhodobého hlediska jsou však rizikové páry elementární rtuti a její alkylované deriváty [9]. Příznaky otravy parami rtuti a methylovanými deriváty se zpočátku podobají neurastenickému syndromu (slabost, únava, bolest hlavy, závratě, nechutenství, pokles hmotnosti, poruchy trávení). Tento stav bývá někdy označován jako *mikromerkurialismus*. Později se objevuje jemné

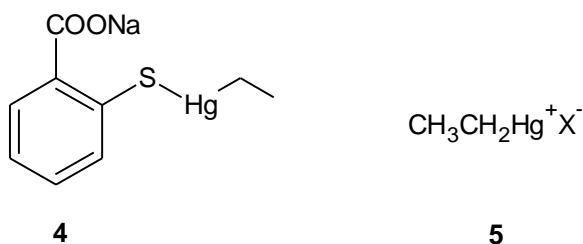
svalové chvění přerušované hrubším třesem, třes je intenzivního charakteru tzn. je horší při zaměření se na předmět, postihuje prsty, rty, jazyk a oční víčka [3,22]. Typická je také změna v chování postiženého (výbušnost nebo deprese a ztráta paměti) [22].

Organické deriváty rtuti:

Pod pojmem organické deriváty rtuti rozumíme organokovové sloučeniny rtuti, tedy sloučeniny kde je atom rtuti s atomem uhlíku vázán kovalentní vazbou. Z toxikologického hlediska jsou *alkylované* deriváty rtuti toxičtější než *arylderiváty* [3,9]. Zvláště toxické jsou pak methylované formy jako je methylrtuť (2) a dimethylrtuť (3) [25]. Zatímco methylrtuť je aktivně transportována přes hematoencefalickou bariéru na nosiči pro velké neutrální aminokyseliny (komplex který methylrtuť vytváří s aminokyselinou cysteinem je stereochemicky podobný molekule methioninu, která je pro tento nosič přirozeným substrátem), ethylrtuť (5) nemá oproti methylrtuti kumulativní účinky a je z těla vylučována rychleji. Ethylrtuť je detekována jako metabolit při užívání antiseptika Thiomersalu (Merthiolátu) (4), který je přidáván do vakcín. Dnes se s methylderiváty rtuti setkáváme pouze jako s metabolity. Jejich použití ve formě pesticidů, je přísně zakázáno [26].



Obrázek č. 3: Chemický vzorec methylrtuti 2 a dimethylrtuti 3



X = reprezentuje libovolný anion (např. Cl⁻, OH⁻ apod.)

Obrázek č. 4: Chemický vzorec antiseptika Thiomersalu (Merthiolátu) 4 a jeho metabolitu ethylrtuti 5

Akumulace a biotransformace:

Ke vzniku nebezpečných methylovaných derivátů rtuti dochází v rámci tzv. *geochemického cyklu rtuti* [27]. Páry elementární rtuti (ať už uvolněné ze zemské kůry nebo antropogenního původu) stoupají do atmosféry, kde dochází k jejich oxidaci na rtuťnaté ionty, které jsou dobře rozpustné ve vodě. S deštěm poté kontaminují povrch a činností mikroorganismů jsou methylovány. Tyto biomethylované produkty pak vstupují do potravinového řetězce. Na vrcholu řetězce stojí živočichové, kteří se živí rybami, včetně člověka. Podél tohoto potravinového řetězce dochází k procesu jejich bioakumulace, jejich koncentrace se postupně zvyšuje a na vrcholu řetězce dosahuje hodnot, které řádově milionkrát převyšují koncentraci methylrtuti v okolní vodě [3]. Obecně platí, že ryby obsahují tím více methylrtuti, čím jsou větší a čím déle žijí. Z mořských ryb obsahují nejvíce rtuti žralok, mečoun, platýz, tuňák a makrela, ze sladkovodních štika a okoun [26]. Methylrtuť z ryb by mohla představovat potenciální zdravotní problém u populací, pro které ryby tvoří hlavní složku potravy (např. obyvatelé ostrovních států, domorodé kmeny indiánů v oblasti severoamerických Velkých jezer a v povodí Amazonky) nebo v oblastech, kde ryby obsahují zvýšenou koncentraci methylrtuti v důsledku kontaminace životního prostředí rtutí [26,27].

c) Kadmium

Kadmium (Cd, Cadmium) je měkký, lehce tavitelný, ale značně toxický těžký kov bíle stříbrné barvy [6]. V zemské kůře je jeho výskyt poměrně vzácný a většinou doprovází rudy zinku a někdy i rudy olova, z nichž se také získává. Na vzduchu je kovové kadmium relativně stálé a do ovzduší přechází ve formě těkavých sloučenin až při teplotě 480 °C (např. při pájení, kdy je využito pájky na bázi slitin kadmia) [7]. Ve sloučeninách se vyskytuje pouze v oxidačním stavu II (resp. sloučeniny, ve kterých vystupuje kation Cd^+ jsou velice nestálé). Dnes je jeho použití omezováno. Dříve našlo elementární kadmium uplatnění jako antikorozi ochrana jiných kovů, ve slitinách při výrobě pájek a v elektrotechnice (některé akumulátory). Uplatnění také nalézá v jaderné energetice (kadmiové tyče jako regulátory toku neutronů v jaderných reaktorech). Z jeho sloučenin je nejvýznamnější žlutý pigment sulfid kademnatý (CdS) [6,28].

Do prostředí je kadmium uvolňováno především při spalování fosilních paliv a jako součást exhalace hutí. Ohroženi jsou také kuřáci (i pasivní kuřáci) neboť jeho výskyt v cigaretovém kouři je značný [28].

Toxicita:

Toxicita kadmia je spojována se vzájemnou podobností kademnatých iontů s ionty zinečnatými. Kadmium tak může vstupovat do mnoha enzymatických reakcí a imitovat v nich zinek. Příkladem je zablokování *inzulinového cyklu*. Kadmium je typicky kumulativní jed a karcinogen [21]. Z organismu je vylučováno velice pomalu a hromadí se v ledvinách a játrech. Ovlivňuje metabolismus vápníku a může vyvolat osteoporózu [28]. Typická je také jeho kumulace v prostatě [9].

d) Chróm

Chróm (Cr, Chromium) je bílý, lesklý, velmi tvrdý avšak křehký kov. V přírodě se vyskytuje např. ve formě chromanu olovnatého nebo minerálu chromitu ($\text{FeO} \cdot \text{Cr}_2\text{O}_3$), ze kterého je také redukcí koksem průmyslově vyráběn. Produktem je slitina chrómu a železa (tzv. ferrochrom). Čistý chróm se vyrábí aluminotermicky z oxidu chromitého. Malá množství chrómu přispívají k zabarvení některých drahokamů (např. smaragd, rubín). Největší podíl chrómu je při výrobě slitin, legování oceli a výrobě pigmentů [6,7].

Chromité soli našly použití jako pigmenty a na rozdíl od sloučenin šestimocného chrómu nejsou zdravotně rizikové. Jejich obsah v organismu je důležitý pro správný metabolismus cukrů a tuků a některé potravinové doplňky na bázi chrómu tlumí chuť na sladké potraviny [29]. Naproti tomu sloučeniny šestimocného chrómu jsou karcinogenní. Jejich inhalace vede k poškození dýchacích cest (perforace nosní přepážky, bronchitida) a u dlouhodobé expozice přes kůži může dojít ke vzniku zánětů, ekzémů a vředů [9].

e) Kobalt

Kobalt (Co, Cobaltum) je feromagnetický, tvrdý kov. Použití našel v metalurgii pro zlepšování vlastností slitin a při barvení skla a keramiky. Kobalt není v Zemské kůře zastoupen v příliš velkém množství. Většinou doprovází niklové rudy a rudy mědi nebo olova, ze kterých také bývá izolován [6]. Častý je jeho výskyt ve formě rudy *kobaltitu*

(CoAsS). Přestože má kobalt určitý biogenní význam – a to především jako součást vitamínu B12, jeho větší příjem může vést ke zdravotním obtížím [30]. Za zmínku také stojí radioaktivní izotop kobaltu – kobalt 60 (^{60}Co), který je využíván jako zdroj gama záření [9].

f) Zinek

Zinek je měkký, lehce tavitelný kov. V přírodě je obsažen ve formě mnoha rud, ze kterých se získává pražením (oxidací) a následnou redukcí vzniklého oxidu zinečnatého koksem. Největšího použití dosáhl při výrobě slitin (např. mosaz) a při výrobě pigmentů (např. známý bílý pigment zinková běloba, který je součástí bílých barviv) [6]. Z biologického hlediska patří zinek mezi prvky stopové a má velký význam pro správné fungování organismu.

Jeho přítomnost v těle podmiňuje správné fungování řady enzymatických systémů – především *systému inzulínového*. Nedostatečný příjem zinku v potravě vede k celé řadě obtíží, jako jsou úbytek na váze, pomalé hojení ran, smyslové poruchy a zhoršování paměti. Zinek je také důležitý pro správný vývoj pohlavních orgánů u mužů. Chemická podobnost zinku s kadmíem může vést k jeho nahrazování tímto toxickým kovem, což má za následek mnoho negativních projevů [9].

g) Měď

Měď (Cu, Cuprum) je ušlechtilý kov červenohnědé barvy. Je velice dobře tepelně vodivá a má malý elektrický odpor. Mechanicky se dobře zpracovává a je odolná proti korozi. Největší použití mědi je v elektrotechnice a při výrobě slitin. V přírodě se nachází ve formě mnoha rud, ze kterých se vyrábí pražením (převedením na oxidy) a následně redukcí. Pro elektrotechnické účely se měď čistí elektrolyticky [6]. Zatímco elementární měď toxická není, její rozpustné sloučeniny jsou považovány přinejmenším za látky zdraví škodlivé, některé pak i za látky toxické [21]. S metabolismem mědi souvisí genetické onemocnění Wilsonova choroba [9,15]. V důsledku defektu enzymu *ceruloplazminu*, který je v organismu zodpovědný za transport mědi, dochází k poruše jejího metabolismu. Měď není z těla vylučována a hromadí se především v játrech a v mozku. Nejčastějším projevem onemocnění je jeho neurologická forma (třes, zhoršení řeči, zhoršená mimika, poruchy

koordinace). V pokročilých stádiích je nemoc doprovázena změnami chování, depresemi a psychózou. V důsledku poškození jater se může vytvořit hepatální ikterus a projevy portální hypertenze. Pokud není choroba léčena, může vést až k jaternímu selhání. Depozicí mědi jsou také postiženy další orgány jako ledviny, srdce, endokrinní žlázy a oči (typický je tzv. Kayser-Fleischerův prsteneček) [9].

h) Beryllium

Beryllium (Be, Beryllium) je šedý kov o značně vysoké teplotě tání. Díky své značné reaktivitě se v přírodě nevyskytuje v elementární podobě, ale pouze ve formě sloučenin. Nejdůležitějším minerálem s obsahem beryllia je aluminosilikát *beryl*. Beryllium je součástí některých drahých kamenů, jakými jsou *smaragd* a *akvamarín*. Mimořádně důležitou vlastností kovového beryllia je jeho propustnost pro RTG záření a neutrony.

V jaderné technice bývá používáno ke konstrukci neutronových zrcadel a jako součást moderátorových tyčí v jaderných reaktorech. Kovové beryllium i jeho sloučeniny jsou mimořádně toxické a podezřelé karcinogeny [6, 9].

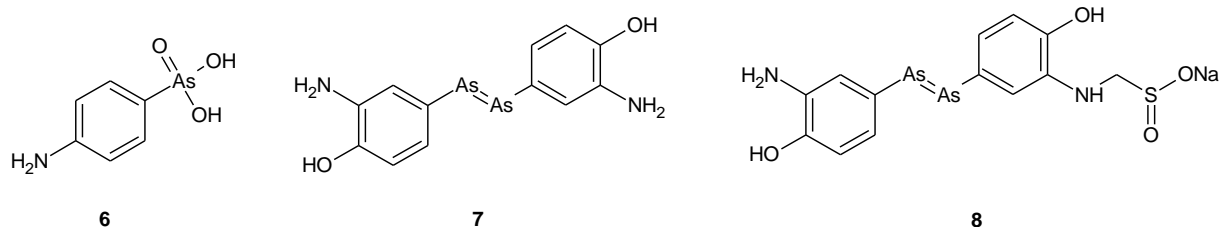
i) Arsen

Arsen (As, Arsenicum) bývá řazen mezi těžké kovy, ale svým charakterem patří mezi polokovy. Přestože je znám jako prvek jedovatý, samotný obzvláště nebezpečný není. Toxické jsou až jeho rozpustné metabolity (především oxid arsenitý), které vznikají v těle po jeho požití. V zemské kůře se vyskytuje např. ve formě arsenopyritu (FeAsS). Nerozpustné sloučeniny arsenu byly používány jako pigmenty (např. žlutý sulfid arsenitý, As_2S_3). Dnes se arsen používá v metalurgii a pro výrobu polovodičů. Historicky neznámější sloučeninou arsenu je vysoce toxický oxid arsenitý (As_2O_3 , arsenik, utrejch), ale toxické, karcinogenní a mutagenní jsou všechny rozpustné sloučeniny arsenu [6, 9].

Organické deriváty arsenu

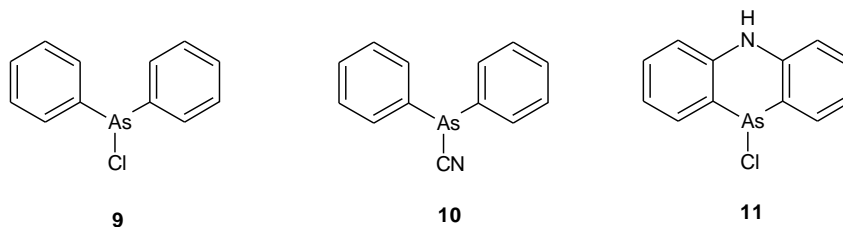
Přestože jsou dnes rozpustné sloučeniny arsenu považovány za jedovaté, v minulosti našlo několik preparátů lékařské využití. Byl to zejména Atoxyl (6), Salvarsan (7) a Neosalvarsan (8), jejichž struktura je uvedena na obrázku č. 5, které byly aktivní proti

některým bakteriálním a protozoárním onemocněním. Salvarsan a Neosalvarsan byly užívány při léčbě syfilis [9, 28].



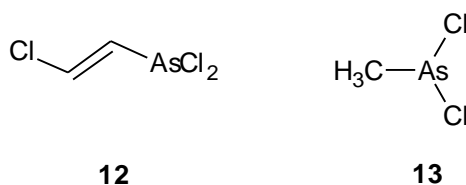
Obrázek č. 5: Chemický vzorec léčiva Atoxylu 6, Salvarsanu 7 a Neosalvarsanu 8

Mnoho organických derivátů arsenu bylo v průběhu první a druhé světové války používáno jako bojové otravné látky [9]. Z pohledu vojenské toxikologie se jednalo o otravné látky dráždivé (sternity), které především napadaly horní a dolní cesty dýchací a jejich primární účinek neměl být pro postiženého letální [10,31]. Struktura těchto derivátů arsenu s názvy Clark I (9), Clark II (10) a látka Adamsit (11), řadí se mezi sternity, je uvedena na obrázku č. 6 [10,32].



Obrázek č. 6: Chemický vzorec otravné látky Clark I 9, Clark II 10 a Adamsitu 11

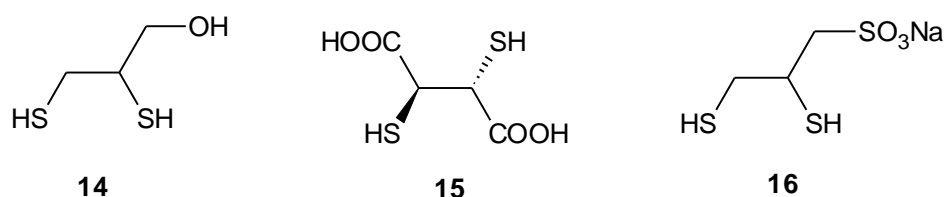
Druhou skupinou otravných látky na bázi arsenu byly otravné látky zpuchýřující. Zástupcem mohou být látka Lewisit (12) a methyldichlorarsin (13), které mají účinky podobné yperitu (obrázek č. 7) [10].



Obrázek č. 7: Chemický vzorec Lewisitu 12 a methyldichlorarsinu 13

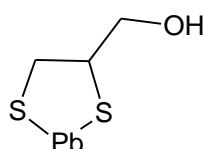
Antidota těžkých kovů

Těžké kovy vykazují značnou afinitu k sulfhydrylovým skupinám. Toho je využito i při léčbě otrav těžkými kovy. Antidota obsahují volné -SH skupiny, které tak mohou těžké kovy vyvázat [31]. Velmi účinné antidotum je dimerkaptopropanol (14), DMSA (15) (dimerkaptojantarová kyselina) a 2,3-dimerkaptopropansulfonová kyselina (16). Chemické vzorce těchto antidot ukazuje obrázek č. 8. V případě intoxikace olovem je možné použít i CaNa_2EDTA 17 [32].



Obrázek č. 8: Chemické vzorce antidot těžkých kovů

Vzniklé komplexy těžkých kovů jsou polární a mohou tak být snáze eliminovány z organismu. Následující obrázek (obrázek č. 9) zjednodušeně ukazuje strukturu komplexu olova s dimerkaptopropanolem. Kromě „normální“ kovalentní vazby mezi atomy síry a atomem těžkého kovu se může uplatňovat i vazba koordinačně kovalentní [32].



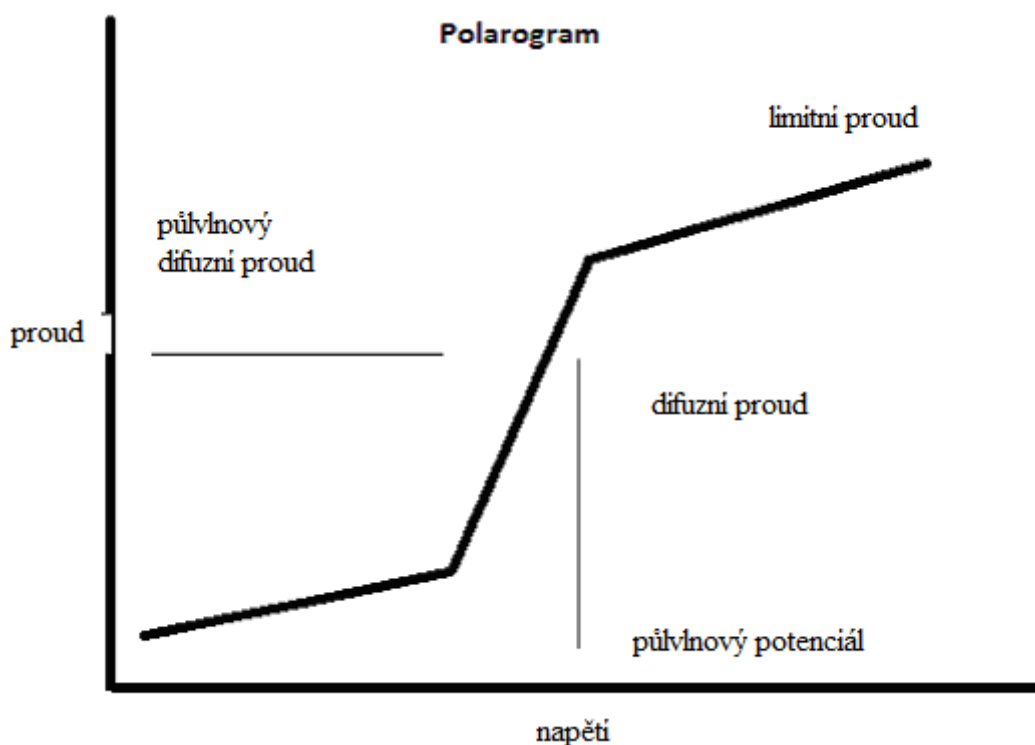
Obrázek č. 9: Struktura komplexu olova s dimerkaptopropanolem

2 METODY ANALYTICKÉHO STANOVENÍ TĚŽKÝCH KOVŮ

Analytické instrumentální metody nám umožňují důkaz a přesné stanovení obsahu těžkých kovů v nejrůznějších vzorcích. Tyto metody nacházejí uplatnění při analýzách toxikologických a forenzních, při sledování kontaminace životního prostředí těžkými kovy nebo při analýze potravin a potravinových doplňků. Za nejvýznamnější analytické instrumentální metody, použitelné pro stanovení obsahu těžkých kovů, jsou dnes považovány metody **spektrální**, z nichž jsou to především optická emisní spektrometrie (OES), optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) [33], hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) [34], rentgenová fluorescenční spektrometrie (XRF) [35] a především **atomová absorpční spektrometrie** [35, 36] (AAS), kterou jsem si pro svou diplomovou práci vybrala. Z elektrochemických metod zde dominuje voltametrie (resp. polarografie) [37].

a) Voltametrie a polarografie

Voltametrie a polarografie patří mezi elektrochemické instrumentální metody, použitelné pro stanovení obsahu těžkých kovů. Za objev polarografie byla roku 1959 udělena profesoru Jaroslavu Heyrovskému Nobelova cena za chemii [38]. Princip této metody spočívá v měření závislosti procházejícího elektrického proudu (I) na měnícím se napětí (U) u dvojice elektrod, které jsou ponořeny do měřeného roztoku, ve kterém probíhá elektrolýza. Systém se skládá ze dvou elektrod, z elektrody pracovní (polarizovatelné) a elektrody referenční (nepolarizovatelné) [39]. Protože stanovovaná látka musí být schopná redukce nebo oxidace na polarizovatelné elektrodě, jsou tyto metody zvláště vhodné pro stanovení obsahu mnoha kovů. V případě polarografie je pracovní elektrodou rtuťová kapková elektroda u voltametrie pak stacionární (visící) rtuťová elektroda nebo elektrody z jiných materiálů (Pt, Au, C) [40]. Jako referenční elektrody se používají elektrody II. druhu - tedy nejčastěji elektroda argentschloridová nebo kalomelová [39]. V systému bývá také zapojena pomocná elektroda, která je většinou zhotovena z platiny nebo uhlíku. Výsledkem měření je voltamogram (polarogram), zobrazený na obrázku č. 10, který vyjadřuje závislost proudu (tzv. limitní difúzní proud) na měnícím se vloženém napětí. Kvalitativním znakem této závislosti je hodnota rozkladného napětí (tzv. půlvlnový potenciál), které je charakteristické pro daný analyt. Velkost difúzního proudu je pak znakem kvantitativním [37, 39].



Obrázek č. 10: DC-Voltamogram, Polarogram

Voltametrie v tomto uspořádání bývá označována jako DC-voltametrie (*direct current voltametrie*). Jinou alternativou je voltametrie cyklická, kdy se na pracovní elektrodu vkládají cyklické pulzy. Dnes se dává přednost technikám pulzním, tedy normální pulzní voltametrii (NP-voltametrie) a diferenčně pulzní voltametrii (DP-voltametrie). Diferenčně pulzní voltametrie je mnohem citlivější metodou než klasická voltametrie. Napětí vkládané mezi polarizovatelnou a srovnávací elektrodu se mění po malých přírůstcích pro každou novou kapku. Na konci každého přírůstku napětí je vložen obdélníkový napěťový impuls. Proud je měřen vždy před začátkem pulsu a před jeho koncem a je zjištěn rozdíl mezi těmito proudy. Výsledkem je závislost rozdílu tohoto proudu na vkládaném napětí. Spojením DP-voltametrie se stripping voltametrií pak mluvíme o diferenčně pulzní stripping voltametrii (DPSV), která dokáže konkurovat i nejmodernějším spektrálním technikám a to jak z pohledu možnosti dosáhnout mimořádně nízkých mezí detekce, tak z hlediska potřebné selektivity u stanovení jednotlivých iontů v nejrozmanitějších typech vzorků [41]. DPSV patří k technikám používaným pro stopovou a ultrastopovou analýzu těžkých kovů [42].

b) Optická emisní spektrometrie (OES)

Optická emisní spektrometrie (dříve označována také jako atomová emisní spektrometrie, AES) je analytická spektrální metoda měřící vlnovou délku (resp. frekvenci) záření atomů a iontů v excitovaném stavu. Záření emitované excitovanými atomy nebo ionty v plynném (v případě ICP-OES i plazmatickém) stavu je polychromatické a nespojitě (čárové). Skládá se z různých, přesně vymezených vlnových délek, které daný prvek charakterizují. Kvalitativním znakem je přítomnost charakteristických vlnových délek (resp. frekvencí) nalezených v získaném spektru. Znakem kvantitativním je pak intenzita záření (intenzita čar) těchto vlnových délek. Matematicky vyjádřil závislost mezi energií záření, jeho frekvencí a vlnovou délkou německý fyzik Max von Planck (rovnice 1-3) [33].

$$E = h \cdot \nu \quad (1)$$

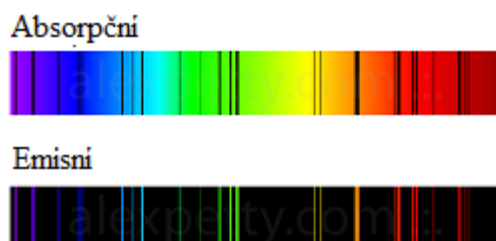
$$E = h \cdot \frac{c}{\lambda} \quad (2)$$

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad (3)$$

Kde **E** je energie záření [J], **ν** je frekvence (kmitočet) [Hz], **λ** vyjadřuje vlnovou délku [m], **c** je rychlost světla ve vakuu ($c = 2.9979 \cdot 10^8 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$) a **h** vyjadřuje Planckovu konstantu ($6.626 \cdot 10^{-34} \text{ J}\cdot\text{s}^{-1}$).

Energie záření je kvantována a emise či absorpce záření určité vlnové délky souvisí s přechody elektronů v elektronových obalech atomů. V případě OES se jedná o (kvantované) přechody valenčních elektronů daného prvku. Z *Kirchhoffova zákona* víme, že volné atomy v plynném stavu absorbují záření těch vlnových délek, které sami vyzařují [35]. Při absorpci kvanta záření ve viditelné nebo UV oblasti dojde k přechodu valenčních elektronů ze základní energetické hladiny do energetické hladiny vyšší. Tento excitovaný stav je pro daný atom nestabilní a elektrony přechází zpět na energetickou hladinu nižší (nebo základní). Rozdíl energie je vyzářen ve formě kvanta záření (fotonu) určité vlnové délky. Emisní spektra daného prvku v plynném stavu mají tvar čar charakteristické barvy

na tmavém pozadí, zatímco spektrům absorpčním právě tyto konkrétní barvy (vlnové délky), ve spektru jinak spojitém, chybí [43]. Následující obrázek (obrázek č. 11) ukazuje srovnání emisního a absorpčního spektra kadmia [33].



Obrázek č. 11: Srovnání emisního a absorpčního spektra kadmia [Obr. 11]

V optické emisní spektrometrii se používají různé zdroje excitační energie, které vzorek nejprve dokonale vaporizují, následně atomizují a volné atomy a ionty v plynném stavu excitují do vyšších energetických hladin. Následně je měřeno emisní spektrum prvku. Tyto zdroje energie rozdělujeme na **plamenové** a **elektrické**. *Plamen* se jako excitační zdroj používá ve spektroskopické metodě nazývané *emisní plamenová spektrometrie*.

Z elektrických zdrojů je nejcitlivější, ale málo reprodukovatelný *stejnoseměrný elektrický oblouk*. Nejreprodukovatelnějším, ale přitom málo citlivým excitačním zdrojem je *elektrická jiskra* [44]. Dalšími zdroji buzení mohou být *řízený oblouk*, *doutnavý výboj*, *aerosolové buzení* nebo *plazmová excitace*, o které bude pojednáno v další kapitole.

Nejjednodušší z těchto technik - emisní plamenová spektrometrie našla uplatnění především při analýze alkalických kovů a kovů alkalických zemin, které jsou lehce atomizovatelné. Pro stanovení těžkých kovů vhodná není. Z emisních technik zaujímají přední místo techniky plazmové spektrometrie, tedy techniky, u kterých je jako budící zdroj používá plazma. Plazma je často označována jako čtvrté skupenství hmoty a je tvořena směsí kladně nabitých iontů, elektronů a elektricky neutrálních částic o velmi vysoké teplotě (6000 K) [45]. V praxi se využívá buď *kapacitní mikrovlnná plazma* (CMP), *mikrovlnná plazma indukčně vázaná* (MIP) nebo nejčastěji *vysokofrekvenční plazma indukčně vázaná* (ICP) [46].

c) Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES)

Indukčně vázané plazma (*Inductively Coupled Plasma, ICP*) vzniká v plazmové hlavici (plazmovém hořáku) přenosem vysokofrekvenčního proudu do proudu plynu a první ionizační impuls se plynu dodává z Teslova induktoru [47]. Vzniklý ionizovaný plyn začne v prostoru indukční cívky fungovat jako sekundární zkratová strana transformátoru. Vzniklý sekundární vysokofrekvenční proud zahřeje proudící plyn na teplotu, kdy přejde na dobře vodivé plama, které se dále samo udržuje indukovaným vysokofrekvenčním proudem. Jako plazmový plyn se používá snadno ionizovatelný argon [46].

Analyzovaný vzorek je účinkem plazmatu ihned atomizován. Plazma excituje elektrony atomů (a iontů) vzorku do vyšších energetických hladin. Tento excitovaný stav je stavem metastabilním a atomy rychle přecházejí zpět do stavu základního, přičemž emitují záření konkrétní vlnové délky [47]. Emitované záření je poté vedeno na velmi výkonný monochromátor, který jej rozdělí podle jednotlivých vlnových délek. Záření nakonec dopadá na citlivý detektor, který jeho intenzitu převede na elektrický signál. Vlnová délka záření charakterizuje daný prvek, zatímco intenzita signálu odpovídá jeho množství v analyzovaném roztoku. Tato technika umožňuje analyzovat téměř všechny prvky periodické tabulky prvků, které je možno převést do roztoku. Detekční limity se pohybují v rozmezí jednotek ppb až po stovky ppm [45]. Obrázek č. 12 ukazuje plazmový hořák.



Obrázek č. 12: ICP - plazmový hořák [Obr. 12]

d) Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (*Inductively Coupled Plasma -Mass Spectrometry*, ICP-MS) je analytická spektrální technika kombinující indukčně vázané plazma (ICP) jako zdroj kladně nabitých částic (např. Na^+ , Pb^+) a hmotnostní spektrometrii (MS), která tyto částice detekuje. V plazmovém hořáku vzniká díky radiofrekvenčnímu generátoru ($\nu = 27$ nebo 40 MHz) a indukční cívce v proudu argonu plazma o teplotě $6\,000 - 10\,000$ K [34]. Pomocí inertního plynu (Ar) a zmlžovače je do argonového plazmatu přiváděn rozpuštěný vzorek ve formě aerosolu. Za těchto podmínek se použité rozpouštědlo okamžitě odpaří, chemické vazby mezi atomy v molekulách disociují a jednotlivé atomy jsou ionizovány na kladně nabitě ionty [45]. Ty dále přecházejí do hmotnostního spektrometru (nejčastěji kvadrupólu), kde jsou následně analyzovány. Vznik samotného plazmatu je podmíněn fluktuacemi elektrického pole v prostředí indukční cívky. Oscilacemi v elektromagnetickém poli v prostředí argonu dochází ke kolizím jednotlivých částic, elektronů a iontů, které tvoří vlastní plazma. Výkon plazmového zdroje se pohybuje kolem 1300 W, ale může být modifikován [34]. Indukčně vázané plazma je velmi vhodným zdrojem iontů a je schopno ionizovat většinu prvků, tedy především těch, které mají nízké hodnoty ionizačních potenciálů (především kovové prvky). Prvky, které mají vyšší hodnotu ionizačního potenciálu než argon, za těchto podmínek analyzovat nelze [36].

Detekční limity ICP MS jsou vzhledem k ostatním spektrálním metodám (AAS, ICP OES) velmi nízké [34]. I když jsou pro mineralizaci tuhého vzorku brány v potaz interferenční vlivy, matriční efekty a změny ve stabilitě signálu přístroje, dosahuje se pomocí ICP MS velmi dobrých výsledků. Detekční limity se u řady těžkých kovů v reálných podmínkách pohybují v $\text{ng}\cdot\text{l}^{-1}$ a u řady ostatních v desetinách $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$. ICP MS předčí řadu metod svým dynamickým rozsahem, který může pokrýt více než 4 řády [34].

e) Rentgenová fluorescenční spektroskopie (XRF)

RTG fluorescence je další ze spektrálních metod, která je použitelná pro stopová a ultrastopová stanovení těžkých kovů [36]. Počátky této analytické metody se datují k začátku 20. století a první komerčně využitelný prototyp takového spektrometru byl vyroben v padesátých letech. Zdrojem primárního záření je rentgenka. Jedná se o výbojku,

kteřá emituje RTG záření určitých vlnových délek. Interakcí RTG záření se vzorkem dochází k „vyrazení“ subvalenčního elektronů z jeho (základní) energetické hladiny. V další fázi dochází k přesunu elektronu z vyšší energetické hladiny na tuto hladinu nižší a emisi sekundárního (rentgenového) záření, které je charakteristické pro všechny prvky a které je měřeno. U některých typů přístrojů je namísto RTG záření používáno záření vyšších energií, tedy záření které vzniká jako důsledek radioaktivního rozpadu některých radioizotopů. Použití rentgenové fluorescenční spektrometrie je velmi široké a zasahuje nejen do oblastí analytické chemie a toxikologie, ale i geochemie a metalurgie [48]. RTG fluorescencí je možné detekovat velkou část prvků periodické tabulky prvků. Za atmosférického tlaku je možná detekce prvků od hliníku po uran. Významná je také rychlá detekce beryllia [49]. Obrázek č. 13 ukazuje RTG fluorescenční spektrometr.



Obrázek č. 13: RTG fluorescenční spektrometr [Obr. 13]

f) Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) je jednoznačně nejrozšířenější metodou anorganické prvkové analýzy. Patří mezi relativně běžné analytické laboratorní metody. AAS měří úbytek monochromatického záření, jako důsledek jeho absorpce atomy prvků v základním stavu. AAS bývá nejčastěji používána pro stanovení obsahu těžkých kovů v nejrůznějších vzorcích [33]. Kovy, které jsou obsaženy v předloženém vzorku v nejrůznější formě, jsou nejprve mineralizovány a převedeny na kationy. Následně je provedena evaporace a jejich atomizace, přičemž volné atomy kovu v základním stavu absorbují monochromatickému záření charakteristické vlnové délky (viz. Kirchhoffův zákon) [36]. Absorpce záření je nejčastěji měřena proti referenčnímu paprsku (u dvou

paprskových spektrometrů) a je mírou obsahu kovu v předloženém vzorku. Každý kov je měřen při určité (charakteristické) vlnové délce [45].

Instrumentace v AAS

- preanalytická část - mineralizace vzorku
- zdroj primárního záření
- atomizátor - produkuje volné atomy a je zároveň absorpčním prostředím
- monochromátor
- detektor
- zpracování signálu, výpočetní systém

Mineralizace vzorku

Mineralizace vzorku se nejčastěji provádí směsí koncentrované kyseliny dusičné a peroxidu vodíku v mikrovlnném reaktoru. Použité nádoby bývají z teflonu nebo polyethylenu. Je možné ji provést jak v otevřeném systému, tak v systému uzavřeném, který je vhodnější, protože zabraňuje ztrátám kovů (zvláště těžkých kovů) ve formě těkavých organometalických sloučenin. Použité mikrovlnné záření o frekvenci 2.45 GHz ($\lambda = 12$ cm) zahřívá vzorek, ale primárně nezahříván stěny reakční nádoby. Teplota mineralizace tak nebývá vyšší než 240 °C a čas potřebný k úplné mineralizaci vzorku bývá 25 minut [50].

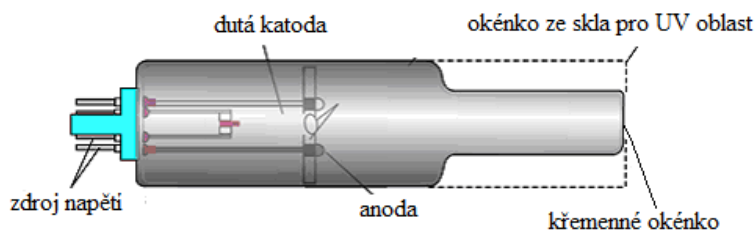
Zdroj primárního záření

V AAS se výhradně uplatňují čárové zdroje záření, které emitují intenzivní zářivou energii soustředěnou do úzkých spektrálních intervalů, využitelných pro charakteristickou absorpci záření. V běžné praxi se zatím prosadily tři typy čárových zdrojů, a to: *výbojky s dutou katodou, bezelektrodové výbojky a superlampy* [45].

a) Výbojky s dutou katodou (Hollow cathode lamp, HCL)

Tyto výbojky jsou nejpoužívanějším zdrojem primárního čárového záření. Emitují úzké čáry (pološířka 0.002 nm), které nejsou ovlivněny samoabsorpcí [33]. Výbojka s dutou katodou je evakuovaná skleněná baňka, která je naplněna vzácným plynem (neonem nebo argonem) na nízký tlak (100-200 Pa). Výstupní okénko je vyrobeno z materiálu, který propouští záření příslušné vlnové délky, která je při měření použita. Pro UV oblast (resp. do vlnové délky 240 nm) je tímto materiálem optický křemen; nad vlnovou délku 240 nm to může být některý ze speciálních optických druhů skla a pro oblast nad 300 nm se používá běžné optické sklo [36]. Uvnitř výbojky je umístěna dutá katoda, která je vyrobena buď z velmi čistého materiálu prvku, který má být stanovován nebo je použit tzv. nosič. Nosič je dutý váleček z materiálu, který má *chudé emisní spektrum* (tím může být např. hliník nebo měď). Do vnitřní dutiny nosiče je vložena fólie kovu nebo je na nosič příslušný prvek nanesen metodou práškové *sintrace*. Tyto technologie našly uplatnění pro stanovení vzácných a drahých kovů [35]. Výbojka s dutou katodou je zobrazena na obrázku č. 14.

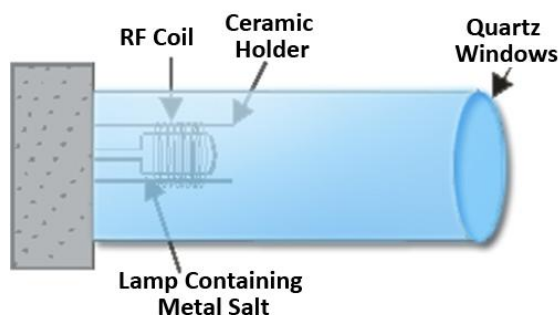
Nad katodou je umístěna anoda z těžkotavitelného materiálu (Zr, W, Ta), případně další pomocná elektroda. Na výbojku je vloženo napětí 200 - 600 V a žhavicí proudy od 3 mA do 25 mA. Princip funkce výbojky je založen na tvorbě doutnavého výboje v dutině katody. V důsledku vloženého napětí dochází ke srážkám elektronů s atomy plnicího plynu, ty jsou ionizovány a jako kladně nabitě ionty jsou přitahovány k záporně nabitě elektrodě (katodě). Zároveň jsou v elektrickém poli urychlovány a při dopadu na dno katody jsou vyráženy volné atomy materiálu katody do prostoru. Tento jev se označuje jako *katodické rozprašování*. U snadno těkavých prvků (např. rtuť) dochází i k termickému vypařování. Volné atomy jsou dále excitovány srážkami s ionty a elektrony a při následné deexcitaci emitují záření charakteristické vlnové délky - typické pro daný materiál katody [35].



Obrázek č.14 Výbojka s dutou katodou [Obr. 14]

b) Bezelektrokové výbojky (Electrodeless discharge lamp, EDL)

Velkou výhodou tohoto typu výbojek je až o řád vyšší intenzita emitovaného primárního záření [33]. Vyšší intenzita záření je nutná hlavně v oblasti spektra pod 220 nm, kde se výrazně projevuje absorpce záření vzduchem, atomizačním prostředím a samotnými komponentami přístroje. V této oblasti mají hlavní rezonanční čáry především Pb, Se a As. Samotná výbojka je křemenná banička válcovitého tvaru, ve které se nachází směs čistého prvku a jeho těkavé sloučeniny (tou bývá nejčastěji jodid) [51]. Banička je naplněna vzácným plynem (Ar, Ne, He) na tlak 30 - 300 Pa a je umístěna do podle cívky radiofrekvenčního generátoru. Uvnitř výbojky dochází k vytvoření stabilního prstencového výboje, který je lokalizován po stěnách výbojky (záření tak prochází zanedbatelnou vrstvou atomové páry uvnitř výbojky a samoabsorpce je minimální) [35]. Bezelektroková výbojka je zachycena na obrázku č. 15.



Obrázek č. 15: Bezelektroková výbojka [Obr. 15]

c) Superlamps

U superlamp dochází k obdobnému mechanismu excitace jako u výbojky HCL mezi cylindrickou katodou a anodou umístěnou pod ní. V tomto případě je však z opačné strany vnitřní prostor katody bombardován elektrony z *emitoru elektronů*, což způsobuje homogenní buzení v celém objemu cylindrické katody [51]. Malá pravděpodobnost výskytu atomů kovu v základním stavu výrazně snižuje míru samoabsorpce. Superlamps produkují emisní čárová spektra o stejné nebo menší pološířce než HCL, ale intenzita záření je 5-75 krát vyšší. Hlavní předností superlamp jsou nižší pořizovací náklady než u EDL, životnost delší než u HCL a zejména vyšší linearita kalibrací pro některé prvky [35].

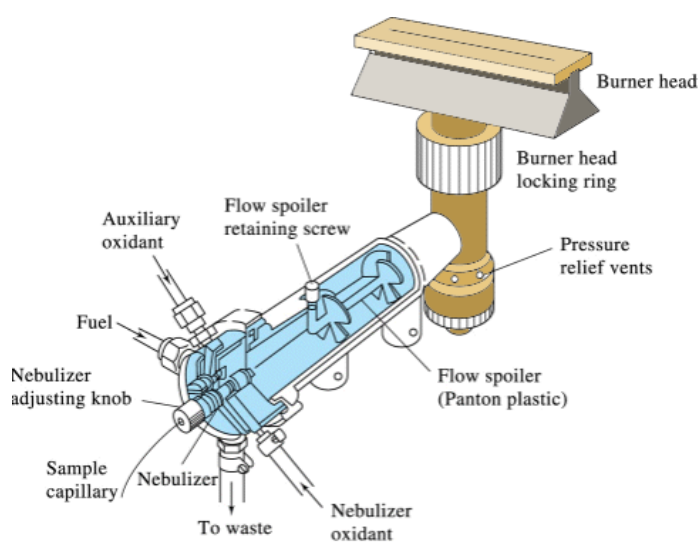
Atomizátor

Atomizátor má v AAS funkci zdroje a rezervoáru volných atomů. Zároveň také slouží i jako absorpční prostředí [54].

a) AAS s atomizací v plameni (*Flame Atomization AAS, FA AAS*)

Tato metoda je nejstarším druhem atomizačních technik, které se v AAS používají [39]. Princip spočívá v převedení roztoku na aerosol ve zmlžovači a zavádění tohoto aerosolu do plamene, ve kterém dochází k atomizaci [36].

Vzorek se ve zmlžovači zmlží a dále je takto vzniklý aerosol smíchán se směsí oxidačního činidla a paliva. Výsledná směs bývá ještě promíchána (spoilerem) a poté je vedena do hořáku tak, aby bylo zachováno laminární proudění. Rychlost proudění štěrbinou hořáku bývá 2-3 krát vyšší než je rychlost hoření. Pro zmlžování vzorku se používají pneumatické zmlžovače, v případě viskózních kapalin pak zmlžovač vysokotlaký. Ten je také používán v případě spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie s AAS (HPLC-AAS) [35]. Hořáky jsou konstruovány jako štěrbinové, u novějších spektrometrů pouze s jednou štěrbinou a jsou vyrobeny z nerezů nebo z titanu. Jako palivo je používán acetylen (ethyn), ve speciálních případech to může být propan/butan nebo vodík. Oxidačním činidlem je vzduch nebo oxid dusný [35]. Hořák používaný v AAS je zobrazen na obrázku č. 16.



Obrázek č. 16: Hořák používaný v AAS [Obr. 16]

V závislosti na typu plamene jsou používány různé typy hořáků. Pro plamen acetylen-vzduch má hořák délku štěrbinu 100 mm, pro acetylen - oxid dusný pak jen 50 mm [52]. Používají se také hořáky univerzální, které mají délku štěrbinu 50 mm. Zvýšení citlivosti lehce atomizovatelných prvků lze dosáhnout s použitím tzv. koncentračních trubic (STAT). V této trubici je na spodní straně vybroušena širší mezera než na horní výstupní straně. Plamen je tak "vtlačován" do trubice, čímž se prodlouží absorpční dráha pro snadno těkavé prvky [35].

Plamen není homogenní, ale skládá se z několika výrazně ohraničených oblastí. Těsně nad štěrbinou hořáku je tenká přehřívací zóna (0.01-0.1 mm), ve které se plyny zahřívají na zápalnou teplotu. Na tuto zónu navazuje primární reakční zóna, ve které dochází k hoření a komplikovaným radikálovým reakcím, které jsou zdrojem intenzivní molekulární emise. Šířka této zóny je 0.1 mm. Na primární zónu navazuje mezireakční zóna. V této zóně jsou výrazné redukční podmínky, proto bývá tato zóna využívána při analýze prvků tvořících termicky stabilní oxidy. Nad touto zónou je sekundární zóna. Z analytického hlediska je nejčastěji využívána oblast mezireakční zóny, případně oblast těsně nad touto zónou [35].

b) AAS s elektrotermickou atomizací (Electrothermal atomization AAS, ETA-AAS)

V tomto případě je atomizátor (podélně uchycená trubička s dávkovacím otvorem uprostřed) vyhříván na potřebnou teplotu pomocí elektrického proudu (odporově vyhřívání atomizátory, kapacitně vyhřívání atomizátory nebo atomizátory vyhřívání elektromagnetickou indukcí). Měřící paprsek pak prochází skrz atomizátor. Jako materiál atomizátoru se používají různé modifikace grafitu (atomizační teplota až 3 000 °C) nebo těžkotavitelné kovy (Ta, Mo, Pt a W). Atomizátor je v průběhu měření (resp. vyhřívání) chráněn inertní atmosférou z velice čistého argonu případně z (levnějšího) dusíku. U kovových atomizátorů se jako inertní atmosféra osvědčila směs argonu a vodíku [53].

Původně byly elektrotermické atomizátory vyráběny z velice čistého polykrystalického elektrografitu, který je dostatečně chemicky a mechanicky odolný. Jeho nevýhodou je však značná porozita jeho povrchu a schopnost vytvářet s některými prvky, při teplotách atomizace, stabilní a jen málo těkavé karbidy. Některé z těchto karbidů mohou být natolik stabilní, že znemožňují stanovení příslušných kovů (Ti, Zr, Hf, Ta, W).

Další možnou komplikací jsou tzv. paměťové efekty, které jsou způsobeny nedokonalým odpařením prvku nebo jeho sloučeniny (např. právě málo těkavého karbidu) v průběhu jednoho atomizačního cyklu. Další nevýhodou grafitových atomizátorů je jejich schopnost podléhat oxidaci, rozrušování jejich povrchu v důsledku expanze plynů adsorbovaných v pórech a také problémy spojené s omezením maximální rychlosti ohřevu. Pro zlepšení vlastností elektrografitu se jeho povrch potahuje tenkou vrstvou pyrolytického uhlíku, který je neporézní a podstatně méně reaktivní. Další možnostmi jsou ELC atomizátory (Extended Lifetime Cuvete), které obsahují silnou vrstvu pyrolytického uhlíku a TPC atomizátory (Total Pyrolytical Cuvete), které jsou z pyrolytického uhlíku vyrobeny celé. V některých případech je možné použít elektrografitické atomizátory, jejichž povrch je upraven karbidováním [35, 55].

Většinu negativních vlastností grafitových atomizátorů je možné odstranit použitím wolframových atomizátorů. Jejich hlavními přednostmi jsou: vysoká teplota tání wolframu ($m_p = 3\,410\text{ °C}$), zabránění tvorby karbidů, odstranění paměťových efektů, schopnost neadsorbovat plyny a především vysoká rychlost ohřevu. Naopak jejich určitým nedostatkem je destrukce povrchu v důsledku tvorby karbidu wolframu reakcí wolframu s organickými látkami přítomnými v matrici vzorku [55]. Grafitové ETA-atomizátory jsou zobrazeny na obrázku č. 17.



Obrázek č. 17: Grafitový atomizátor používaný pro ETA-AAS [Obr. 17]

Běžně se v elektrotermických atomizátorech analyzují kapalné vzorky nebo dobře homogenizovatelné suspenze, které je možné dávkovat stejným způsobem jako kapaliny. Dávkované objemy se pohybují od 5 do 100 μl , v závislosti na typu atomizátoru a

dávkované kapalině. Dávkování možné provádět mikropipetou ručně, ale většina komerčně dostupných ETA AAS je vybavena automatickými dávkovači. Speciální technikou dávkování vzorku do ETA je tzv. *aerosolová depozice*. Vzorek je v tomto případě zmlžován ve zmlžovači, který je identický se zamlžovačem používaným pro plamennou techniku a vzniklý aerosol je přiváděn po přesně definované dobu do vyhřátého atomizátoru. Zde se převádí na suchý aerosol, který se deponuje na stěnách atomizátoru. Touto technikou je možné zvýšit citlivost stanovení a snížit vliv nespecifické absorpce. Zatímco v případě atomizace v plameni byla kritickým parametrem pouze oblast plamene, ve které k atomizaci dochází, u elektrotermické atomizace má analytik větší možnost pracovat s teplotou a samotný analytický proces při elektrotermické atomizaci má několik fází. Těmito fázemi jsou [35]:

- fáze sušení

Nadávkový vzorek je vždy potřeba dokonale vysušit. Teplota sušení se obvykle volí 5-10 °C nad teplotou varu použitého rozpouštědla. Rychlost ohřevu se volí pomocí vizuálního sledování kapky vzorku v atomizátoru během fáze sušení.

- fáze termické úpravy

Hlavním cílem této fáze je přeměna matrice vzorku (termickým procesem) nebo její odstranění, ovšem bez ztráty analyzovaného prvku. Maximální použitelná teplota se v tomto kroku určuje z tzv. *rozkladné křivky*. V tomto případě se opakovaně analyzuje standard daného prvku za podmínek, kdy jsou všechny parametry teplotního programu ponechány konstantní a postupně se zvyšuje pouze teplota termické úpravy. Od určité hodnoty teploty pak zaznamenáme v průběhu měření pokles absorbance, který je způsoben ztrátami analytu právě ve fázi termické úpravy. Jako optimální volíme takovou teplotu, která je o 50-100°C nižší než je zlom na rozkladné křivce. Fáze termické úpravy bývá často rozdělena do několika (různě dlouhých) teplotních kroků v závislosti na matrici analyzovaného vzorku [56].

- fáze atomizace

V tomto případě se optimální teplota určuje z tzv. *atomizační křivky*, která se získá obdobným způsobem jako rozkladná křivka, proměnným faktorem je ale teplota atomizace. Doba atomizace se volí taková, aby s jejím prodlužováním již nedocházelo ke

změnám plochy píku. U kovových atomizátorů je také nutné optimalizovat rychlost atomizace, která se určí z *křivky rychlostní* [57].

- fáze čištění

Tento krok by měl zaručit dokonalé odpaření vzorku, který zde může zůstat z předchozího kroku.

Oproti plamenové atomizaci je v případě elektrotermické atomizace třeba brát v potaz interakci analytu s materiálem atomizátoru. Jak již bylo zmíněno, situace může být značně komplikovaná v případě grafitových atomizátorů. Povrch grafitu je za vysokých teplot vysoce reaktivní, takže je pravděpodobná celá řada reakcí s analytem a složkami matrice vzorku. Jedná se především o chemisorpci a tvorbu termicky stabilních sloučenin. V případě kovových atomizátorů je situace podstatně jednodušší a jediným nebezpečím je tvorba intermetalických sloučenin [35,57].

Modifikátory matrice

Jako modifikátory matrice označujeme látky, které jsou schopny ovlivnit průběh termické úpravy nebo vlastní atomizační mechanismus. Modifikátor může stabilizovat analyt v atomizátoru do vyšších teplot. Tím je možné použít vyšší teplotu termické úpravy a odstranit tak méně těkavé složky matrice. Tento typ modifikátoru bývá často označován jako *stabilizátor* [58]. Druhou možností může být situace, kdy modifikátor reaguje s analytem za vzniku těkavější sloučeniny. Třetí možností je situace, kdy modifikátor reaguje přednostně jen s interferentem za vzniku buď těkavější nebo naopak méně těkavé a termicky stabilní sloučeniny [35]. Dnes jsou moderní spektrometry vybaveny autosamplery, které umožňují automatické dávkování modifikátoru do atomizátoru. Velkého významu dosáhly metody založené na generování těkavých sloučenin, které se snadno oddělí od vzorku (matrice) a následná atomizace probíhá již snadno v plynné fázi. Kromě snadné separace analytu od matrice je také jejich výhodou zakoncentrování analytu v absorpčním prostředí [58]. To vede ke zvýšení citlivosti stanovení a v některých případech k potlačení interference matrice. Z metod založených na generování těkavých sloučenin je nejvýznamnější metoda generování těkavých hydridů.

Hydridová AAS

Hydridová AAS – neboli AAS využívající generování těkavých hydridů, je nejrozšířenější metodou AAS, využívající generování těkavých sloučenin. V analytické praxi se používá pro stanovení As, Sb, Se, Sn, Te, Bi, Ge a **Pb**. K převedení analytu na plynný hydrid se používá reakce s **tetrahydridoboritanem sodným** (NaBH_4) v kyselém prostředí. Tetrahydridoboritan sodný je do reakce přidáván v mnoha molárním přebytku, takže kromě tvorby těkavého hydridu je konkurenční reakcí jeho rozklad na boritan sodný a vodík [53]. U kationů kovů ve vyšších oxidačních stavech se někdy provádí tzv. „předredukce“, kdy je před vlastní analýzou analyt (kation kovu) ve vzorku redukován na nižší oxidační stupeň. Jako redukční činidlo se pro tyto účely používá hydroxylamin nebo cystein [35]. Běžně jsou pak prováděny tři způsoby generování hydridů, které se liší náročností aparatury a možností automatizace. Jedná se o *dávkové uspořádání*, *kontinuální generování* a tzv. *dávkování do proudu* [35]. K transportu těkavého hydridu do atomizátoru se používá argon nebo dusík. Vlastní atomizace pak může probíhat jak v uspořádání FA, tak v uspořádání ETA [58].

Metoda studených par

Tato metoda našla praktické uplatnění pro stanovení obsahu rtuti. Využívá se zde toho, že rtuť má dostatečnou tenzi par i za laboratorní teploty, takže je možné přímo měřit absorpci odpovídající její koncentraci. Moderní přístroje takto měří koncentraci elementární rtuti (par rtuti) přímo v ovzduší [45]. V laboratorních podmínkách je nejprve třeba rtuť přítomnou ve vzorku v jiné než elementární formě, řádně mineralizovat, tedy převést na rtuťnaté ionty a ty následně redukovat na rtuť elementární [35].

Optický systém v AAS

Úkolem optického systému je vést paprsek záření ze zdroje skrz absorpční prostředí (tedy plamen nebo elektrotermický atomizátor) do disperzního prvku, který izoluje určitou oblast vlnových délek (spektrální interval), a po výstupu z disperzního prvku fokusovat záření na detektor [45]. Optické systému obsahují čočky, zrcadla, rotační zrcadlové sektory a polopropustná zrcadla. Jako disperzní prvky se používají **monochromátory** a jako

detektory záření fotonásobiče [52]. Atomové absorpční spektrometry bývají konstruovány jako jednopaprskové, tak i dvoupruskový [35].

3 SORPCE VYBRANÝCH TĚŽKÝCH KOVŮ NA ROSTLINNÉ MATERIÁLY

Některé organismy mají schopnost sorpce a kumulace toxických látek, které pak mohou přímo využívat ke svému metabolismu nebo je pouze hromadit. Tyto dva jevy se označují jako *biosorpce* a *bioakumulace* [59].

Bioakumulace je proces, kdy se látka nejprve naváže na buněčnou stěnu organismu a poté se do něj vstřebává za současné spotřeby energie. Bioakumulace závisí na metabolismu buňky a jejím prostřednictvím se organismy vyrovnávají s přítomností těžkých kovů v prostředí a dosahují tak rezistence vůči jejich působení. Některé organismy kumulují těžké kovy ve značném množství, ale jejich přítomnost v organismu je nijak neohrožuje. Naproti tomu biosorpce je schopnost “neživých“ částí buněk (vláknitých struktur, buněčné stěny, ligninu, látek polyfenolového charakteru apod.) vázat těžké kovy z okolního prostředí a koncentrovat je. Tento jev není závislý na metabolismu, proto funguje i u inaktivované biomasy. Biosorpci můžeme chápat jako navázání iontu kovu na sorbent, tedy na specifickou molekulární strukturu organismu. Mechanismus sorpce bývá podobný jako u iontoměničů a biomasu schopnou sorpce můžeme označit jako typ iontoměniče „biologického původu“. Biosorpce bývá často využívána k čištění kontaminovaných vod s nízkým obsahem kovů (větší ložiska kontaminace bývají většinou asanována anorganickými sorbenty, ze kterých mohou být sorbované kovy zpětně uvolněny) [60].

Výhodou biosorpce je, že se jedná o velmi rychlý proces, který trvá od několika minut až po desítky hodin. Tento proces je nezávislý na metabolismu organismu a tedy i na jeho fyziologických potřebách. Na rozdíl od bioakumulace zde odpadá problém s různými metabolity, které by živé organismy vylučovaly do prostředí [61]. Jak již bylo zmíněno dříve, produkce toxických metabolitů může být značný problém např. u kumulace rtuti, kterou některé organismy dále uvolňují do prostředí ve formě biomethylovaných sloučenin [26]. Použití biomasy umožňuje pracovat v jakémkoliv prostředí bez ohledu na fyzikální podmínky jako je pH, teplota a nebo koncentrace kovu, popř. přítomnost jiných polutantů. Samotná míra biosorpce je však na fyzikálních podmínkách závislá a některé faktory ji snižují [62].

Nejen rostliny, ale i bakterie, vláknité houby, sinice a kvasinky vykazují značnou míru sorpce a kumulace těžkých kovů. Vyšší rostliny a zejména některé vodní rostliny jsou známy pro svou schopnost kumulovat značná množství kovových iontů [62,63]. Kupříkladu druh *Azolla filiculoides* velmi účinně sorbuje z roztoku ionty olova, chromu,

mědi, kadmia, ale i uranu a bývá užívána k remediaci vodních toků. Rostlina *Lemna minor* sorbuje ionty zinku, manganu, mědi a arsenu a bývá užívána k indikaci znečištění vodních toků. Biomasa vykazující zvýšený obsah pektinů ve velké míře sorbuje ionty kadmia, olova a niklu (v literatuře jsou udávány hodnoty až 128 mg Cd a 225 mg Pb na 1 g suché biomasy) [63].

Z odpadové biomasy sorpčními vlastnostmi vyniká především sláma, zbytky z papíren, obsahující lignin a piliny. Vynikajícím sorbentem těžkých kovů jsou také skořápky a pecky, které výborně sorbují měď, zinek, olovo a sloučeniny trojmocného a šestimocného chromu [64].

Účinnost vazby kovu na biomasu je vyjádřena **biosorpční izotermou**, kterou lze jednoduše experimentálně stanovit. V roztoku o přesně definovaném objemu a koncentraci určitého těžkého kovu se suspenduje biosorbent o přesně definované hmotnosti. Suspenze je protřepávána za konstantní teploty až do dosažení „sorpční rovnováhy“. Obsah vzorku je zfiltrován a ve filtrátu je stanovena zbytková koncentrace těžkého kovu. Ze získaných hodnot je vypočtena míra schopnosti biomasy vázat daný kov. Míra této sorpce je za dané teploty konstantní (izotermní závislost). Matematicky je tato rovnováha vyjádřena následujícím vztahem [65]:

$$q = V \cdot (C_i - C_f) / m \quad (4)$$

Kde q vyjadřuje sorpční kapacitu, C_i je počáteční koncentrace roztoku kovu [mg/l], C_f vyjadřuje koncentraci roztoku po skončení procesu sorpce [mg/l], pomocí V je vyjadřován celkový objem roztoku [l] a m je hmotnost použité biomasy [mg].

Hodnota C_f závisí na použitém objemu biomasy. Změnou hmotnosti použité biomasy získáme hodnoty „ q “, které v grafu vynášíme proti hodnotám C_f . Získaná biosorpční izoterma charakterizuje každý sorbent. Strmost křivky vypovídá o afinitě kovu k typu použité biomasy [65].

Z environmentálního hlediska je významná biosorpce těžkých kovů **vlákninou** a jejími složkami – tedy zejména **celulosou**, **hemicelulosou**, **ligninem** a **pektiny**. Z literatury je známo [66], že hemicelulosa a pektiny vykazují vyšší schopnost sorpce těžkých kovů než celulosa a lignin. Sorpční kapacita těchto komponent závisí na jejich

chemické struktuře. Na druhou stranu každá z uvedených komponent má jinou schopnost sorbovat různé kovy **selektivně**. Tabulka č. 1 ukazuje „míru selektivity“ sorpce těžkých kovů různými rostlinnými komponentami [66].

Tabulka č. 1: Sorpce těžkých kovů rostlinnými komponentami [66]

Kov	Rostlinné komponenty
Měď	pektiny > hemicelulosa > celulosa > lignin > polyfenoly
Kadmium	pektiny > polyfenoly z černého jeřábu > lignin z jablka > celulosa z černého jeřábu, hrušky a šípku > hemicelulosa z hrušky, jablka a šípku > lignin z černého jeřábku, jablka a šípku > celulosa z jablka
Olovo	polyfenoly > pektiny > hemicelulosa > celulosa > lignin
Zinek	pektiny > hemicelulosa z hrušky > celulosa z černého jeřábu a hrušky > hemicelulosa z černého jeřábu, jablka a šípku > celulosa z jablka a šípku > lignin

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Experimentální část práce je zaměřena na stanovení sorpční účinnosti a její kinetiky tří biosorbentů (vysušené a mikronizované letorosty vinné révy, jablečné vlákniny a dřevní moučky) pro tři kovy (zinek, olovo a měď). Pro vyhodnocení výše zmíněných charakteristik bylo použito metody **atomové absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací (FA – AAS)**.

5 POUŽITÝ MATERIÁL A METODY

a) Použitý materiál

Pro vypracování cílů experimentální části této diplomové práce byly použity následující chemikálie v uvedené čistotě a uvedených výrobců:

Destilovaná voda (UTB, Zlín)

Síran měďnatý – bezvodý, p.a. (Lach-NER s.r.o.)

Dusičnan olovnatý – bezvodý, p.a. (Penta)

Dusičnan zinečnatý – hexahdrát, p.a. (Penta)

Kyselina dusičná – 65 %, p.a. (Penta)

Acetylen (Messer)

Vzduch (UTB, Zlín)

Standardy pro kalibraci AAS (Zn, Pb, Cu) byly zakoupeny od firmy Sigma Aldrich.

b) Použitá zařízení

Sítový analyzátor (Fritsch)

Analytické váhy (Denver Instrument SI 64)

Třepací inkubátor (GZF 3033)

Inkubátor (MEMMERT INB 400 531)

Mikropipety (Eppendorf)

Sada PE zkumavek pro AAS

PTFE mikrofitry (0.45 μm)

Běžné laboratorní sklo a spotřební materiál

Atomový absorpční spektrometr – s použitím plamenové atomizace (FA-AAS, Agilent AAS Duo 240 FS / 24 OZ), s použitím směsi acetylen : vzduch (průtok **vzduchu**: 13.50 l/min; průtok **acetylenu**: 2.0 l/min). Dávkování vzorku – kontinuální, Zdrojem primárního záření byla výbojka s dutou katodou pro daný prvek (HCL, Varranty).



Obrázek č. 18: Atomový absorpční spektrometr FA-AAS, Agilent AAS Duo 240 FS / 24 OZ (UTB, Zlín)

c) Aktivní sorpční komponenty (biosorbenty):

V této práci byly použity tři typy biosorbentů, které jsou představeny v tabulce č. 2. V dalším textu bude použito označení uvedených tabulce (V, P, DM).

Tabulka č. 2: Použité typy biosorbentů

Označení	Charakteristika	Původ
V	Mikronizované letorosty vinné révy, odrůda Veltlínské zelené	Vlastní příprava
P	Jablečná vláknina	Komerčně dostupný výrobek pod názvem Pektafit, výrobce Ing. Petr Jedek, Zlín
DM	Dřevní moučka ze smrkového dřeva	Vlastní příprava

d) Použité metody

Biosorbenty (V, P a DM) byly před vlastním experimentem standardizovány na rozměr. Příslušná část biosorbentů (10 g) byla podrobena síťové analýze za použití sít o velikosti ok 32, 45, 75 a 125 μm . Doba analýzy byla nastavena na 10 min.

Sušina biosorbentů byla stanovena při teplotě 105 °C. Vzorky byly sušeny do konstantní hmotnosti.

Kalibrace AAS byla provedena pomocí sady roztoků ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ a CuSO_4) o známé koncentraci. Kalibrační křivky byly vyhotoveny jak pro roztoky pro přímě stanovení, tak i pro vzorky mineralizované v prostředí HNO_3 (za použití mikrovlnného mineralizátoru).

Kinetika sorpce byla sledována v rektorech o objemu 250 ml, do kterých byly odváženy jednotlivé biosorbenty (V, P nebo DM) a to tak, aby při celkovém objemu náplně reaktoru 100 ml byla jejich koncentrace 0,25 % (hm./obj.). Do reaktorů byly vneseny soli zkoumaných kovů, v takových hmotnostech, aby koncentrace kovů na začátku pokusu byla přibližně 0,4 mmol/l. Z reaktoru byly v určených časových intervalech – na počátku přidání soli kovu, a dále každou hodinu (0, 1, 2, 3, 4 a 5 hod) odebírány vzorky o objemu 1 ml pro AAS analýzu. Před vlastním experimentem byly biosorbenty sušeny při teplotě 60°C po dobu 2 hodin.

Po ukončení experimentu byla zbylá suspenze zfiltrována přes filtrační papír (zelená páska) a filtrační koláč byl následně promyt 20 ml demineralizované vody. Filtrát, kapalina z oplachu i vlastní filtrační koláč byly následně také podrobeny AAS analýze.

Všechny pokusy byly provedeny 3krát vedle sebe. Dále prezentované výsledky představují aritmetické průměry doplněné o hodnotu směrodatné odchylky.

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

a) Analýza vzorků biosorbentů pomocí síťové analýzy a stanovení sušiny

Síťová analýza vedla k oddělení hrubších částic předem jemně rozmělněného biosorbentu od částic menších. Pro další experimenty byla použita frakce o velikosti (průměr) částic pod 125 μm . a nad 32 μm . Hmotnostní poměry jednotlivých frakcí zastoupených v biosorbentech jsou uvedeny v Tabulce č. 3.

Tabulka č. 3: Zastoupení jednotlivých frakcí částic v biosorbentech – vyjádřeno v hm. %

Průměr částic [μm]/biosorbentů	V	P	DM
75-124	68,0	68,1	68,1
74-45	26,9	31,5	30,7
44-32	5,0	0,4	1,2

Jak je patrné z tabulky č. 3, nejvyšší zastoupení má ve všech biosorbentech frakce s průměrem od 75 do 124 μm (68 hm %), následovaná frakcí 74 - 45 μm (do 32 hm. %). Zcela minoritně je zastoupena nejmenší frakce částic o průměrech pod 44 μm (do 5 hm %).

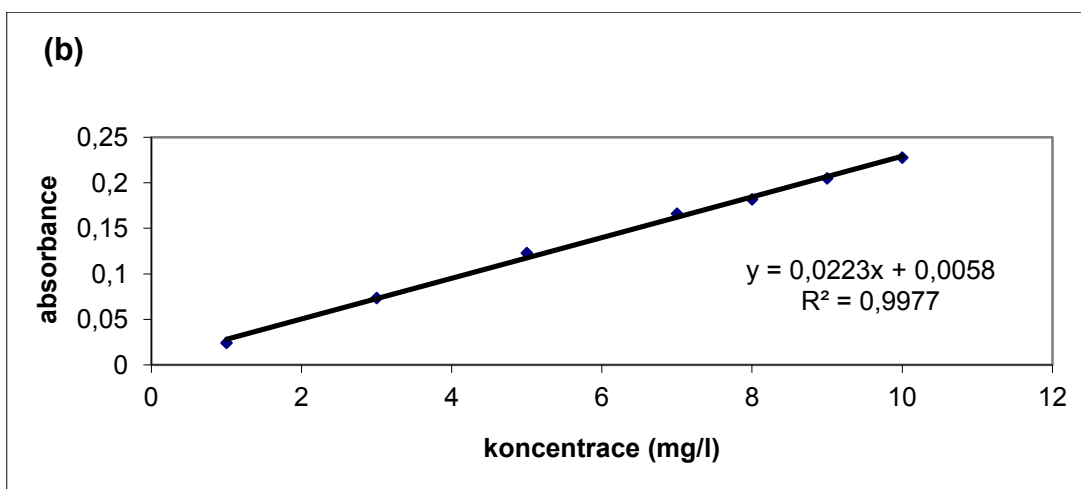
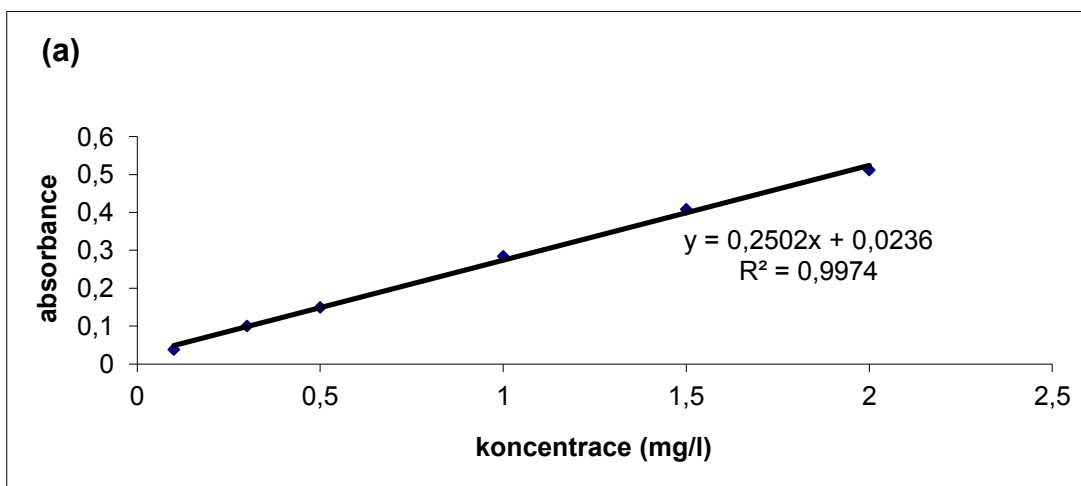
Stanovení sušiny biosorbentů je uvedeno v následující tabulce č. 4. Ve všech případech byla průměrná hodnota sušiny nad 90 %.

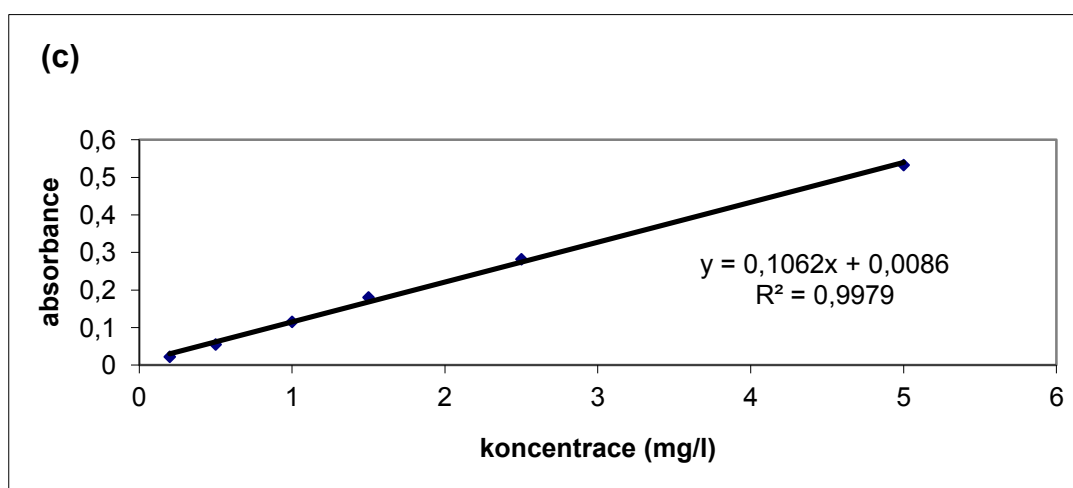
Tabulka č. 4: Sušina biosorbentů (105 °C, sušeno do konstantní hmotnosti)

Biosorbent	Průměrná sušina [%]
V	93,89
P	92,15
DM	90,99

b) Kalibrace AAS

Byly připraveny kalibrační roztoky solí ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$, $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ a CuSO_4) o známé koncentraci jednotlivých kovů. Výsledkem měření jsou pak kalibrační křivky uvedené v grafu č. 1.

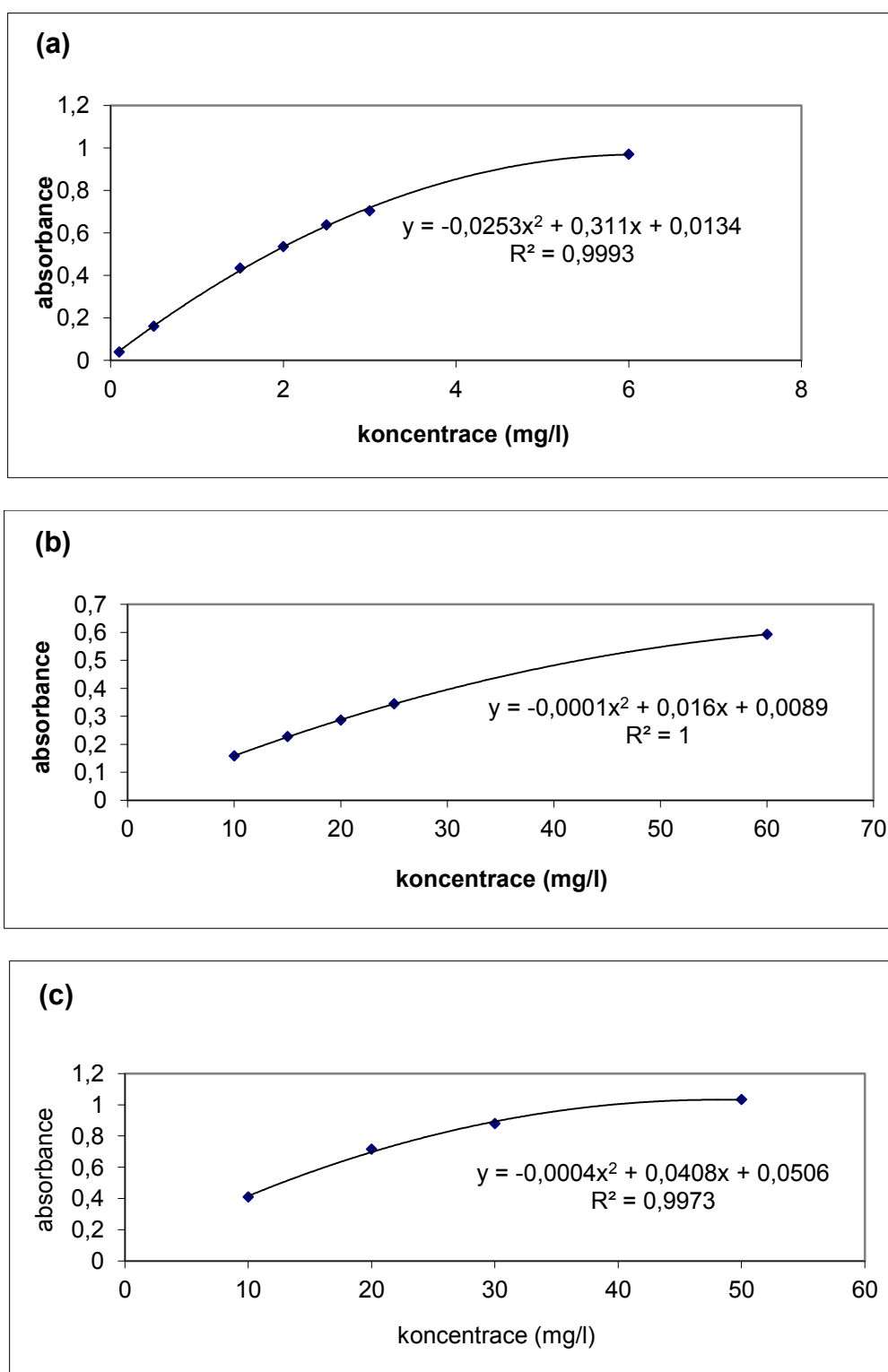




Graf č. 1: Kalibrační závislosti pro AAS stanovení (a) Zn, (b) Pb a (c) Cu – přímá atomizace vodných roztoků v plameni

Z grafu č. 1 je patrná, pro vodné roztoky přímo atomizované v plameni, lineární závislost odezvy detektoru AAS na koncentraci kalibračního roztoku. Koeficient determinace (R^2) je vždy vyšší než 0,99.

V případě kalibrace pro vzorky, které před analýzou podstupují mikrovlnnou mineralizaci tomu tak však není. Graf č. 2 znázorňuje kalibrační závislosti, které mohou být proloženy polynomem druhého stupně, kde R^2 se pak blíží 1. Diskriminanty proložených ($D = b^2 - 4ac$) polynomických závislostí jsou pak následující: 0,0981 (Zn), 0,0003 (Pb) a 0,0017 (Cu).



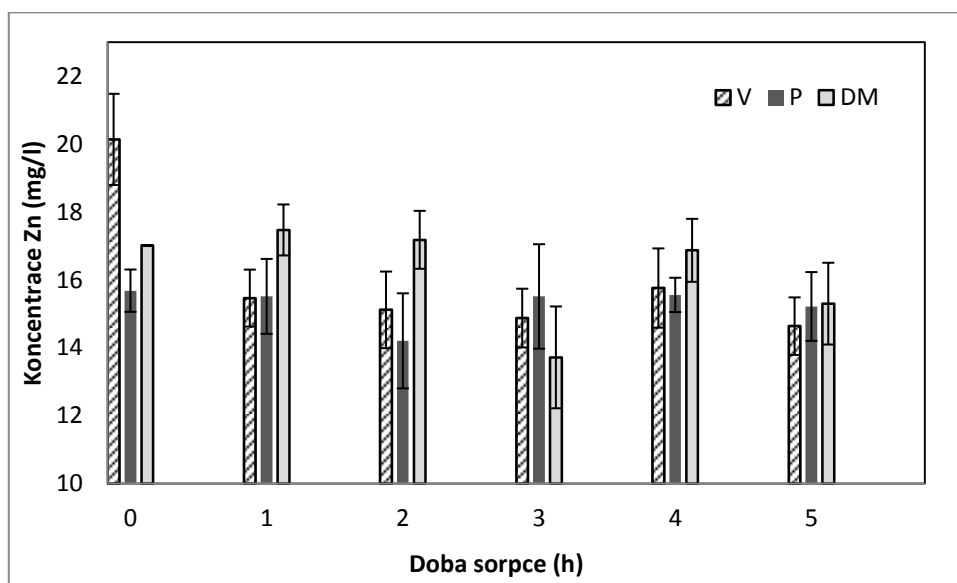
Graf č. 2: Kalibrační závislosti pro AAS stanovení (a) Zn, (b) Pb a (c) Cu – mikrovlnná mineralizace

c) Kinetika sorpce

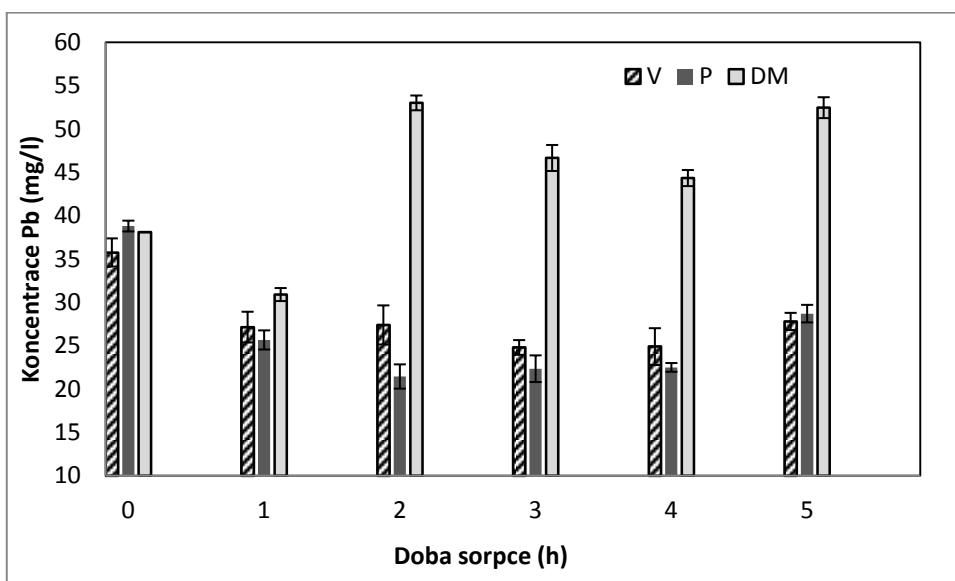
Časové průběhy koncentračních změn jednotlivých kovů v reaktorech, obsahujících různé biosorbenty, jsou znázorněny na grafech č. 3 až 5. V případě biosorbentu „V“ (letorosty révy vinné) je zřejmý pokles koncentrace sledovaného kovu v reaktoru během první hodiny experimentu (Zn a Pb). Podobný trend lze vypočítat pro „P“ (jablečná vláknina), a to převážně v případě sorpce Pb, jak ukazuje graf č. 4. Zde se projevuje i pozitivní efekt „DM“ (dřevní moučka) na snížení obsahu Pb. Toto zjištění je v souladu s publikovanými daty [66].

Zajímavý efekt byl pozorován pro „DM“ – sorpce Pb, kdy po 2 hodinách experimentu došlo k významnému zvýšení Pb v reaktoru. To lze vysvětlit možným navázáním Pb na „DM“ v počátku experimentu a jeho následném uvolnění (desorpci) po určitém čase, v tomto případě po 2 hodinách. U jiných biosorbentů nebyl tento jev pozorován. Porovnáme-li teoretickou koncentraci kovů s koncentrací stanovenou v čase 0 hodin zjistíme, že v případě Pb a Cu se hodnoty značně liší, což by podporovalo hypotézu okamžité sorpce. Na druhou stranu Zn se jeví jako ne příliš aktivní v tomto ohledu. Porovnání skutečných koncentrací kovů a stanovených v čase 0h je uvedeno v tabulce č. 5.

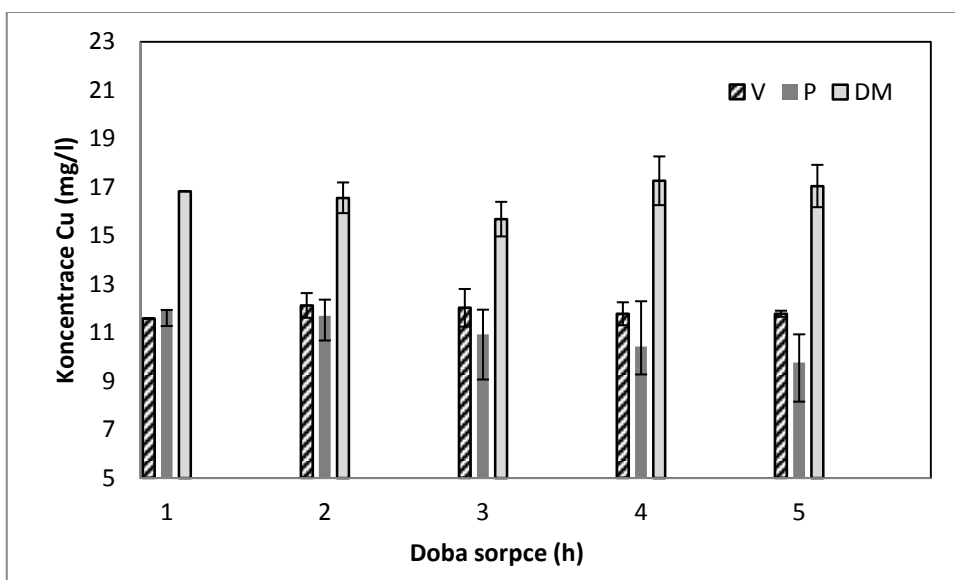
V případě Cu nebyla stanovena koncentrace v reaktoru v čase 0 hodin, výsledky tedy nejsou dále diskutovány.



Graf č. 3: Změna koncentrace Zn v čase experimentu



Graf č. 4: Změna koncentrace Pb v čase experimentu



Graf č. 5 Změna koncentrace Cu v čase experimentu

Tabulka č. 5 : Porovnání skutečných koncentrací Zn a Pb stanovených hodnot v čase 0 hodin

Zn		
Biosorbent	Skutečná koncentrace [mg/l]	Stanovená v čase 0 h [mg/l]
V	25,015	20,133
P	26,949	15,679
DM	25,674	17,008
Pb		
V	84,039	35,750
P	84,290	38,800
DM	84,227	38,100

Výsledky ukazují, že sorpce kovů na zkoumané látky dosahuje limitních – maximálně možných z pohledu efektivity sorpce - hodnot do 1 hodiny. Porovnáním skutečné koncentrace kovů a koncentrace stanovené v čase 1 hodiny od počátku sorpce lze stanovit hodnotu sorpční kapacity q , dle rovnice č. 4, jak je uvedeno v tabulce č. 6.

Výsledky ukazují, že zkoumané biosorbenty vykazují nejvyšší hodnoty sorpční kapacity q pro Pb. V rámci q pro jednotlivé kovy byla kapacita zkoumaných látek následující:

Zn: P>V>DM

Pb: P>V>DM

Cu: V>P>DM

Nicméně rozdíly mezi jednotlivými biosorbenty nejsou signifikantní.

Tabulka č. 6: Sorpční kapacity V, P a DM vypočtené z hodnot známých koncentrací kovů a hodnot stanovených po 1 hodině experimentu

Zn			
Biosorbent	Skutečná koncentrace [mg/l]	Stanovená v čase 1 h [mg/l]	q
V	25,015	15,460	3,82
P	26,949	15,511	4,58
DM	25,674	17,467	3,28
Pb			
V	84,039	27,150	22,76
P	84,290	25,667	23,45
DM	84,227	30,900	21,33
Cu			
V	27,580	11,573	6,40
P	26,558	11,927	5,85
DM	25,722	16,827	3,56

d) bilance kovů

Pro ověření hypotézy účinnosti sorpce, tedy sorpční kapacity q jednotlivých biosorbentů, je nutno provést bilanci, kde se porovná skutečné (přidané) množství kovu (S) do reaktoru s množstvím stanoveným v:

- kapalně fázi po ukončení experimentu - po 5 hodinách - ve filtrátu - (K5)
- kapalně fázi pocházející z oplachu - promytí filtračního koláče - (O)
- tuhé fázi - analýza promytého filtračního koláče – mikrovlnný rozklad - (F)

Porovnání skutečných a stanovených hodnot koncentrací kovů je uvedeno v tabulce č. 7.

Tabulka č.7: Porovnání skutečných a stanovených (K5, O, F) hodnot koncentrací kovů

Zn					
Biosorbent	Skučná koncentrace (S) [mg/l]	Stanovená v čase 5 h (K5) [mg/l]	Koncentrace v oplachu (O) [mg/l]	Koncentrace ve filtračním koláči (F) [mg/l]	K5+O+F [mg/l]
V	25,015	14,635	1,246	7,408	23,289
P	26,949	15,214	1,246	9,050	25,510
DM	25,674	15,297	2,031	7,408	24,736
Pb					
V	84,039	27,800	3,000	40,133	70,933
P	84,290	28,700	3,133	40,807	72,640
DM	84,227	52,450	4,800	16,850	74,100
Cu					
V	27,580	11,770	2,547	10,499	24,816
P	26,558	9,760	1,850	10,345	21,955
DM	25,722	17,040	2,800	4,568	24,408

Teoreticky by pak mělo platit že:

$$S = K5 + O + F \quad (5)$$

V důsledku nepřesností při přípravě vzorků (vážení, manipulaci s chemikáliemi, přítomnost vody v chemikáliích) nebylo dosaženo 100 % výtěžku. Ztráty jsou největší v případě Pb (do 15 %). U ostatních dvou kovů (Zn, Cu) byly ztráty do 10 %.

7 ZÁVĚR

Primárním cílem předložené diplomové práce bylo sledování kinetiky sorpce vybraných těžkých kovů na vybrané druhy biosorbentů a následně pak určení hodnot sorpční kapacity těchto biosorbentů. Měření bylo provedeno metodou atomové absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací (FA-AAS) a sledovanými kovy byly zinek, olovo a měď. Jako sorbenty byly vybrány letorosty révy vinné, jablečná vláknina (ve formě komerčně dostupného přípravku Pektafit[®]) a dřevní moučka ze smrkového dřeva. Pro vlastní měření byly použity homogenizované frakce biosorbentů o definované velikosti částic. Sorpčními komponentami všech těchto sorbentů jsou celulóza, hemicelulóza a lignin, u kterých byla jejich sorpční aktivita pro některé těžké kovy dříve prokázána a vzájemně porovnána [66].

Všechny tři biosorbenty vykazují zvýšenou míru sorpce olova (Pb) v průběhu první hodiny měření. Sorpce tohoto kovu po první hodině měření je jen o málo vyšší než sorpce okamžitá (tedy při smíchání sorbentu s roztokem soli kovu) a dále se zásadně nemění. Zajímavý efekt byl pozorován v případě sorpce olova (Pb) dřevní moučkou, kdy po dvou hodinách experimentu došlo k významnému zvýšení obsahu kovu v reaktoru. To lze vysvětlit možným navázáním tohoto kovu na tento sorbent v počátku experimentu a jeho následném uvolnění (desorpci) po dvou hodinách. U jiných biosorbentů nebyl tento jev pozorován.

Zajímavý efekt byl také pozorován v případě sorpce zinku (Zn) letorosty révy vinné. Okamžitá sorpce tohoto kovu byla velmi malá a významnějších hodnot dosáhla až po jedné hodině měření, kdy se dále její hodnota výrazně neměnila. Sorpce zinku (Zn) jablečnou vlákninou a dřevní moučkou byla přibližně stejná a v závislosti na čase nevykazovala významnější rozdíly.

V případě mědi (Cu) nebyla stanovena koncentrace v reaktoru na začátku měření (tedy v čase 0 h). Z naměřených hodnot lze konstatovat, že míra sorpce tohoto kovu letorosty révy vinné a jablečnou vlákninou je přibližně stejná a dosahuje vyšších hodnot oproti sorpci dřevní moučkou. Velikost sorpce mědi (Cu) všemi sorbenty nevykazuje významnější rozdíly v závislosti na čase.

Jablečná vláknina a letorosty révy vinné vykazují vyšší hodnoty **sorpční kapacity** než dřevní moučka a to pro všechny tři kovy. Nicméně rozdíly v hodnotách sorpční kapacity mezi jednotlivými biosorbenty nejsou zcela zásadní.

8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] CAVANAGH, J.B. The Pathology of Minamata Disease. *Brain*. 2000, roč. 123, č. 1, s. 195-196.
- [2] SEYFERTH, Dietmar. The Rise and Fall of Tetraethyllead. 2. *Organometallics*. 2003, roč. 22, č. 25, s. 5153-5378.
- [3] WEISS, Bernard. Why Methylmercury Remains a Conundrum 50 Years after Minamata. *Toxicological Sciences*. 2007, roč. 97, č. 2, s. 223-225.
- [4] VLASOV, Y.G. a E.A. BYCHKOV. Ionic and Electronic Conductivity in the Copper-Silver-Arsenic-Selenium Glasses. *Solid State Ionics*. 1984, roč. 14, č. 4, s. 329-335.
- [5] CANTLE, John Edward. *Atomic Absorption Spectrometry*. 2. vydání. New York: Elsevier Scientific Publishing Company, 1982. ISBN 978-0444420152.
- [6] GAŽO, Ján. A KOLEKTIV. *Všeobecná a anorganická chemia*. 1. vydání. Bratislava: Alfa, 1974.
- [7] MIESSLER, Gary L. a Donald A. TARR. *Inorganic Chemistry*. 4. vydání. New Jersey: Prentice Hall, 2010. ISBN 978-0136128663.
- [8] HOLLEMAN, Arnold F. a Egon WIBERG. *Inorganic Chemistry*. 1. anglické vydání. San Diego: Academic Press Inc., 2001. ISBN 978-0123526519.
- [9] RIEDL, Ota a Vladimír VONDRÁČEK. *Klinická toxikologie*. 5. přepracované vydání. Praha: Avicenum, 1980.
- [10] TOMEČEK, Ivan a Jiří MATOUŠEK. *Analýza bojových otravných látek*. Praha: SNP, 1961.
- [11] JUWARKAR, Asha A. a Santosh K. YADAV. *Bioremediation Technology: Recent Advances: Bioaccumulation and Biotransformation of Heavy Metals*. New York: SPRINGER, 2010, s. 266-284. ISBN 978-90-481-3677-3.
- [12] FLORA, S.J.S., Megha MITTAL a Ashish MEHTA. Heavy Metal Induced Oxidative Stress and Its Possible Reversal by Chelation Therapy. *Indian Journal of Medical Research*. 2008, roč. 128, s. 501-523.
- [13] Agency for Toxic Substances and Disease Registry, *Toxicological profile for lead*, U.S. Department of Health and Human Services, Atlanta, GA, 1993.
- [14] LIDSKY, T.I. a J.S. SCHNEIDER. Lead Neurotoxicity in Children: Basic Mechanisms and Clinical Correlates. *Brain*. 2003, roč. 126, č. 1, s. 5-19.

- [15] LÜLLMAN, Heinz, Klaus MOHR a Martin WEHLING. *Farmakologie a toxikologie*. Praha: Grada, 2004. ISBN 80-247-0836-1.
- [16] MURRAY, Lindsay, Frank DALY, Mark LITTLE a Mike CADOGAN. *Toxicology Handbook*. 2. vydání. Austrálie: Elsevier, 2011. ISBN 978-0729539395.
- [17] ROSE, John. *Environmental Toxicology: Current Developments*. Amsterdam: Taylor and Francis, 2005. ISBN 90-5699-140-X.
- [18] BELLINGER, D., A. LEVITON, E. ALLRED a M. RABINOWITZ. Prenatal and Postnatal Lead Exposure and Behavioural Problems in School-Aged Children. *Environmental Research*. 1994, roč. 66, č. 1, 12 - 30.
- [19] BELLINGER, D., A. LEVITON, J. SLOMAN. Antecedents and Correlates of Improved Cognitive Performance in Children Exposed in Utero to Low Levels of Lead. *Environmental Health Perspectives*. 1990, roč. 89, č. 1, 5 - 11.
- [20] KESSEL, I. a J.T. O'CONNOR. *Getting the Lead Out: The Complete Resource on How to Prevent and Cope with Lead Poisoning*. New York: Plenum Publishing, 1997.
- [21] MARHOLD, Josef V. *Přehled průmyslové toxikologie*. Praha: SZdNL, 1964.
- [22] PELCLOVÁ, D. ET AL. *Nemoci z povolání a intoxikace*. 2. vydání. Praha: Karolinum, 2006. [23] VALENTINE, W.N., D.E. PAGLIA, K. FINK a G. MADOKORO. Lead Poisoning: Association with Hemolytic Anemia, Basophilic Stippling, Erythrocyte Pyrimidine 5'-Nucleotidase Deficiency, and Intraerythrocytic Accumulation of Pyrimidines. *Journal of Clinical Investigation*. 1976, roč. 58, č. 4, 926-32.
- [23] URBANSKI, T. *Chemie a technologie výbušnin (I-III)*. Praha: SNTL, 1958.
- [24] CLARKSON, T.W. The Toxicology of Mercury. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 1997, roč. 34, č. 4, 369-403.
- [25] URBAN, P. Aktuální problémy neurotoxicity rtuťi. *Neurologie pro praxi*. 2006, roč. 5, 251-253.
- [26] SELIN, N.E. Global Biogeochemical Cycling of Mercury: A Review. *Annual Review in Environmental Resolution*. 2009, roč. 34, č. 1, 43-63.
- [27] NORDBERG, Gunnar F., Bruce A. FOWLER, Monica NORDBERG a Lars.T. FRIBERG. *Handbook on the Toxicology of Metals*. 3. vydání, Burlington: Academic Press, 2007. ISBN 978-0-12-369413-4.

-
- [28] RYAN, G.J., N.S. WANKO a A.R. ROMAN, C.B. LOOK. Chromium as Adjunctive Treatment for Type 2 Diabetes. *Annals of Pharmacotherapy*. 2003, roč. 37, č. 6, 876-85.
- [29] VOET, Donald a Judith G. VOET. *Biochemistry*. 4. Vydání. New York: Wiley & Sons, 2010. ISBN 978-0470570951.
- [30] PATOČKA, Jiří. *Vojenská toxikologie*. Praha: Grada Publishing a.s., 2004. ISBN 8024706083.
- [31] APOSHIAN, V. DMSA and DMPS – Water Soluble Antidotes for Heavy Metal Poisoning. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 1983, roč. 23, č. 1, 193-213.
- [32] GAUGLITZ, Gunter a Tuan VO-DINH, T. *Handbook of Spectroscopy*. New York: Wiley & Sons, 2003. ISBN 978-3527297825.
- [33] MIHALJEVIČ, M., L. STRNAD a O. ŠEBEK, O. Využití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem v geochemii, *Chemické Listy*. 2004, roč. 98, 123-130.
- [34] ČERNOHORSKÝ, Pavel a Pavel JANDERA. *Atomová spektroskopie*. Pardubice: UPCE, 1997. ISBN 807194114X.
- [35] STUŽKA, Václav. *Analytická atomová optická spektrometrie*. Olomouc: UP, 2000. ISBN 8070674032.
- [36] BAREK, Jiří, František OPEKAR a Karel ŠTULÍK. *Elektroanalytická chemie*. Praha: Karolinum, 2005. ISBN 8024611465.
- [37] KVÍTEK, Martin, Ondřej ZAHRADNÍČEK a Tomáš ŘÍZEK. *Průkopníci vědy a techniky v českých zemích*. Praha: Fragment, 1994. ISBN 8072008137.
- [38] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. Ostrava: Nakladatelství Pavel Klouda, 2003. ISBN 8086369072.
- [39] VOLF, Radko a Milan KARLÍK. *Elektroanalytické metody*. Praha: VŠCHT, 1993. ISBN 8070801913.
- [40] ZUTSHI, Kamala. *Introduction to Polarography and Allied Techniques*. 2. vydání, New Delhi: New Age International Pvt Ltd Publishers, 2006. ISBN 978-8122417913.
- [41] REICHLOVÁ, T., Diferenční pulzní voltametrie pro detekci metallothioneinu: bakalářská práce. Brno: FEKT VUT, Brno, 2011.

- [42] NĚMCOVÁ, Irena, Ludmila ČERMÁKOVÁ a Petr RYCHLOVSKÝ. *Spektrometrické analytické metody I.* Praha: Karolinum, 2004. ISBN 802460776X.
- [43] TKACHENKO, Nikolai V. *Optical spectroscopy: Methods and Instrumentation.* Oxford: Elsevier, 2006. ISBN 978-0-444-52126-2.
- [44] FLANAGAN, Robert J. *Fundamentals of Analytical Toxicology.* New York: Wiley & Sons, 2007. ISBN 978-0-470-31934-5.
- [45] KANICKÝ, Viktor, Vítězslav OTRUBA, Lumír SOMMER a Jiří TOMAN. *Optická emisní spektrometrie v indukčně vázaném plazmatu a vysokoteplotních plamenech.* Praha: Academia, 1992. ISBN 80-200-0215-4.
- [46] MOORE, G.L. *Introduction to Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry.* New York: Elsevier, 2012. ISBN 978-0-444-43029-8.
- [47] JENKINS, Ron. *X-Ray Fluorescence Spectrometry.* 2. vydání, New York: Wiley & Son, 1999. ISBN 0471836753.
- [48] ZAWISZA, B. Determination of Beryllium by Using X-ray Fluorescence Spectrometry, *Analytical Chemistry.* 2008, roč. 80, č. 5, 1696-1701.
- [49] MADER, P. a E. ČURDOVÁ. Metody rozkladu biologických materiálů pro stanovení stopových prvků. *Chemické Listy,* 1997, roč. 91, 227-236.
- [50] LAJUNEN, Lauri H.J. a P. PERÄMÄKI. *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission.* 2. vydání, Londýn: Royal Society of Chemistry, 2004. ISBN 0-85404-624-0.
- [51] KOMÁREK, Josef. *Atomová absorpční spektrometrie.* Brno: Masarykova Univerzita, 2000. ISBN 802102500X.
- [52] WELZ, Bernhard a Michael STERLING, M. *Atomic Absorption Spektrometry.* Weinheim: Wiley, 2008. ISBN 3527611681.
- [53] EBDON, Les, E.H. EVANS, A. FISHER a S.J. HILL. *An Introduction to Analytical Atomic Spectrometry.* New York: Wiley & Sons, 2008. ISBN 0-471-974-18-8
- [54] SCHLEMMER, Gerhard a Bernard RADZIUK. *Analytical Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry: A Laboratory Guide.* Basel: Springer, 1999. ISBN 0-8176-5770-3.
- [55] PUNGOR, Erno a G.A. HORVAI. *Practical Guide to Instrumental Analysis.* Boca Raton: CRC Press, 1994. ISBN 0-8493-8681-0.

-
- [56] DĚDINA, JIŘÍ. A KOLELTIV. *Vybrané metody analytické atomové spektrometrie*. Praha: 1987.
- [57] SEILER, Hans, Astrid SIGEL a Helmut SIGEL. *Handbook on Metals in Clinical and Analytical Chemistry*. CRC Press, 1994. ISBN 0824790944.
- [58] DAS, N., R. VIMALA, a P. KARTHIKA. Biosorption of heavy metals—An overview. *Indian Journal of Biotechnology*. 2008, roč. 7, 159-169.
- [59] Horáková, Dana. *Bioremediace*. Brno: Masarykova Univerzita, 2006.
- [60] ALEXANDER, Martin. *Biodegradation and Bioremediation*. New York: Academic Press, 1999. ISBN 978-0120498611.
- [61] AHLUWALIA, S.S., a D. GOYAL. Microbial and Plant Derived Biomass for Removal of Heavy Metals from Wastewater. *Bioresource Technology*. 2007, roč. 98, 2243-2257.
- [62] SELA, M. J. GARTY, a E. TEL-OR. The Accumulation and the Effect of Heavy Metals on the Water Fern *Azolla Filiculoides*. *New Phytology*. 1989, roč. 112, 7-12.
- [63] SHUKLA, S.R. a R.S. PAI. Adsorption of Cu(II), Ni(II) and Zn(II) on Modified Jute Fibres. *Bioresource Technology*. 2005, roč. 96, 1430 -1438.
- [64] HORÁKOVÁ, Danuška. *Bioremediace*. Brno: Elportal, 2007. ISBN 1802-128X
- [65] NAWIRSKA, A. Binding of Heavy Metals to Pomace fibers. *Food Chemistry*. 2005, roč. 90, 395-400.

9 CITACE POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

- [Obr. 11] Kadmium - spektrum [online],
<http://www.alexpetty.com>. [2014-04-30]. Dostupný z www:
< <http://www.alexpetty.com/wp-content/uploads/2011/07/Figure-48.-The-light-signature-of-Cadmium.png> >
- [Obr. 12] ICP-plazmový hořák [online],
<http://www.wcaslab.com>. [2014-04-30]. Dostupný z www:
< http://www.wcaslab.com/gif/ICP-OES_torch.jpg >
- [Obr. 13] RTG fluorescenční spektrometr [online],
<http://www.chempoint.cz>. [2014-04-30]. Dostupný z www:
< <http://www.chempoint.cz/data/imgs/00534m.jpg> >
- [Obr. 14] Výbojka s dutou katodou [online],
<http://www.expertsmind.com>, [2014-04-30]. Dostupný z www:
http://www.expertsmind.com/CMSImages/1168_Hollow%20cathode%20lamp.png
- [Obr. 15] Bezelektroková výbojka [online],
<http://i1.wp.com/lab-training.com>, [2014-04-30]. Dostupný z www:
< <http://i1.wp.com/lab-training.com/wp-content/uploads/2013/05/Electrodeless-Discharge-Lamp-copy.jpg> >
- [Obr. 16] Hořák používaný v AAS [online],
<http://faculty.sdmiramar.edu>, [2014-04-30]. Dostupný z www:
http://faculty.sdmiramar.edu/fgarces/LabMatters/Instruments/AA/Pic_AAS/nebulizer.gi
- [Obr. 17] Grafitový atomizátor používaný pro ETA-AAS [online],
<http://www.virial.ru>, [2014-04-30]. Dostupný z www:
< http://www.virial.ru/upload/iblock/d4a/Kuveti_AAS_1.jpg >

10 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AAS	atomová absorpční spektrometrie
CMP	kapacitní mikrovlnná plazma
DM	dřevní moučka
DMSA	dimerkaptojantarová kyselina
DPSV	diferenčně pulzní stripping voltametrie
EDL	bezelektrodová výbojka
ETA	elektrotermická atomizace
FA	plamenová atomizace
HCL	výbojka s dutou katodou
HPLC	vysokoučinná kapalinová chromatografie
ICP	indukčně vázané plazma
MIP	mikrovlnná plazma indukčně vázaná
MS	hmotnostní spektrometrie
OES	optická emisní spektrometrie
P	Pektafit
PE	Polyethylen
PTFE	Polytetrafluorethylen (TEFLON)
V	letorosty révy vinné
XRF	RTG fluorescence

11 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

- Obrázek č. 1 Tetraethylolovo 1
- Obrázek č. 2 Bazofilní tečkování erytrocytů při intoxikaci sloučeninami olova
- Obrázek č. 3 Chemický vzorec methylrtuti 2 a dimethylrtuti 3
- Obrázek č. 4 Chemický vzorec antiseptika Thiomersalu (Merthiolátu) 4 a jeho metabolitu ethylrtuti 5
- Obrázek č. 5 Chemický vzorec léčiva Atoxylu 6, Salvarsanu 7 a Neosalvarsanu 8
- Obrázek č. 6 Chemický vzorec otravné látky Clark I 9, Clark II 10 a Adamsitu 11
- Obrázek č. 7 Chemický vzorec Lewisitu 12 a methyldichlorarsinu 13
- Obrázek č. 8 Chemické vzorce antidot těžkých kovů
- Obrázek č. 9 Struktura komplexu olova s dimerkaptopropanolem
- Obrázek č. 10 DC-Voltamogram, Polarogram
- Obrázek č. 11 Srovnání emisního a absorpčního spektra kadmia.
- Obrázek č. 12 ICP - plazmový hořák
- Obrázek č. 13 RTG fluorescenční spektrometr.
- Obrázek č. 14 Výbojka s dutou katodou
- Obrázek č. 15 Bezelektrodová výbojka
- Obrázek č. 16 Hořák používaný v AAS
- Obrázek č. 17 Grafitový atomizátor používaný pro ETA-AAS
- Obrázek č. 18 Atomový absorpční spektrometr FA-AAS, Agilent AAS
Duo 240 FS / 24 OZ (UTB, Zlín)

12 SEZNAM POUŽITÝCH GRAFŮ

Graf č. 1 Kalibrační závislosti pro AAS stanovení (a) Zn, (b) Pb a (c) Cu
přímá atomizace vodných roztoků v plameni.

Graf č. 2 Kalibrační závislosti pro AAS stanovení (a) Zn, (b) Pb a (c) Cu
mikrovltná mineralizace

Graf č. 3 Změna koncentrace Zn v čase experimentu

Graf č. 4 Změna koncentrace Pb v čase experimentu

Graf č. 5 Změna koncentrace Cu v čase experimentu

13 SEZNAM POUŽITÝCH TABULEK

Tabulka č. 1 Sorpce těžkých kovů rostlinnými komponentami

Tabulka č. 2 Použité typy biosorbentů

Tabulka č. 3 Zastoupení jednotlivých frakcí částic v biosorbentech – vyjádřeno v hm. %

Tabulka č. 4 Sušina biosorbentů (105 °C, sušeno do konstantní hmotnosti)

Tabulka č. 5 Porovnání skutečných koncentrací Zn a Pb stanovených hodnot v čase 0 hodin

Tabulka č. 6 Sorpční kapacity V, P a DM vypočtené z hodnot známých koncentrací kovů a hodnot stanovených po 1 hodině experimentu

Tabulka č.7 Porovnání skutečných a stanovených (K5, O, F) hodnot koncentrací kovů