

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Katedra fyzikální chemie



Stanovení stříbra v přírodním materiálu

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vypracoval:

Jan Kolařík

Vedoucí bakalářské práce:

doc. RNDr. Libor Kvítek, CSc.

Olomouc 2010

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením doc. RNDr. Libora Kvítka, CSc. s použitím uvedené literatury. Práce byla vypracována na Katedře fyzikální chemie PřF Univerzity Palackého v Olomouci.

V Olomouci dne

.....

Jan Kolařík

Poděkování

Děkuji svému vedoucímu bakalářské práce panu doc. RNDr. Liboru Kvítkovi, CSc. za odborné vedení, cenné rady a připomínky.

Souhrn

Cílem práce bylo optimalizovat metodiku mineralizace přírodního materiálu rostlinného charakteru s ohledem na možnost přesného stanovení množství stříbra v takovém vzorku. Pro mineralizaci bylo použito mokrého rozkladu pomocí kyseliny dusičné a její směsi s peroxidem vodíku. Stanovení stříbra po mineralizaci rostlinného vzorku bylo prováděno na plamenném absorpčním spektrometru. Optimalizace metody byla prováděna na vzorcích rostlin pěstovaných na substrátu bez přídavku stříbra s definovaným přídavkem stanovovaného prvku během mineralizačního procesu. Metoda poté byla aplikovaná na reálné vzorky rostlin, které byly pěstovány v médiu obsahujícím různé formy stříbra. Byly testovány rostliny pěstovány v médiu s iontovým a s koloidním stříbrem. Množství stříbra ve vzorcích se měřilo na AAS metodou kalibrační křivky.

Obsah

Úvod	7
Teoretická část	8
1 Znečištění těžkými kovy	9
2 Rozklad přírodního materiálu.....	11
2.1 Klasifikace metod rozkladů	11
2.1.1 Suchý rozklad.....	13
2.1.2 Mokvý rozklad.....	14
2.1.3 Ostatní metody rozkladu.....	17
3 Metody stanovení stříbra	18
3.1 Klasické metody	18
3.1.1 Gravimetrie.....	18
3.1.2 Volumetrie	19
3.2 Optické metody	20
3.2.1 Absorpční spektrometrie.....	20
3.2.2 Emisní spektrometrie	22
3.3 Elektroanalytické metody	23
3.3.1 Potenciometrie.....	24
3.3.2 Voltametrie a polarografie	24
3.3.3 Elektrogravimetrie a coulometrie.....	25
3.3.4 Elektroanalytické titrace.....	26
Experimentální část.....	28
4 Použité chemikálie a vybavení.....	29
4.1 Chemikálie.....	29
4.2 Přístroje a zařízení	29
5 Pracovní postup	30
5.1 Mineralizace	30
5.2 Stanovení stříbra	32

6	Výsledky a diskuze	33
6.1	Mineralizace	33
6.2	Stanovení stříbra	34
7	Závěr	39
8	Použitá literatura	40

Úvod

Problém se znečištěním životního prostředí těžkými kovy představuje jednu z největších zátěží dalšího rozvoje lidské společnosti na počátku 21. století. Lidé k němu svou činností přispěli velkou měrou. Především z oblastí průmyslu a zemědělství se v minulosti do životního prostředí dostávalo velké množství toxických kovů.

Dnes je dalším rizikovým zdrojem toxických kovů rychle se rozvíjející oblast nanotechnologie. Vývoj nanotechnologie zaznamenal v posledním desetiletí obrovský nárůst, spojený zejména se specifickými fyzikálně-chemickými vlastnostmi nanočástic. Mezi těmito nanomateriály se v mnoha oblastech, jako je textil, výrobky pro osobní péči, kosmetika, nádoby pro uchování potravin a vody, barvy a v neposlední řadě v potravinářských doplncích, uplatňují nanočástice stříbra pro své antibakteriální účinky.¹

Pro analýzu výskytu znečištění a pro jeho účinky na životní prostředí je potřeba znát metody a postupy pro kvantitativní stanovení těžkých kovů v přírodním materiálu.

Cílem práce bylo optimalizovat metodu vhodnou k rozkladu rostlinného materiálu pro kvantitativní stanovení stříbra. Pro tento účel bylo využito mokrého rozkladu rostlinného materiálu. Stanovení obsahu stříbra bylo prováděno na atomovém absorpčním spektrometru. Práce pojednává o metodách rozkladu přírodního materiálu a dále o metodách, kterými lze stříbro kvantitativně stanovit.

Teoretická část

1 Znečištění těžkými kovy

Ze všech známých kovů lze pouze některé považovat za esenciální a škodlivé jsou prakticky všechny při vyšších koncentracích. Naproti tomu u mnoha kovů jsou známy pouze negativní účinky a tyto kovy jsou považovány za toxické. Mezi toxické kovy se řadí Ag, Cd, Sn, Au, Hg, Tl, Pb, Al, As, Ni, Zn. Tyto kovy se v přírodě vyskytují ve formě volného kovu nebo ve sloučeninách, komplexech s anorganickými nebo organickými ligandy. Působením člověka je životní prostředí těmito toxickými kovy více a více znečišťováno. Zdrojem znečištění je zemědělská a průmyslová činnost, konkrétně z oblastí těžby, metalurgie, textilního průmyslu, výroby barev a plastů, automobilového průmyslu, zemědělství ale také odpadní vody z aglomerací. Průmyslově vyspělé země mají dnes již regulace emise toxických látek, nicméně mnoho míst zůstává stále kontaminovaných těžkými kovy z dřívějších dob. Existuje proto snaha dekontaminovat tyto lokality, ovšem současné technologie odstranění těžkých kovů z půdy jsou nesmírně časově a finančně náročné. V poslední době se využívá tzv. fytořemediace, což je metoda, která využívá rostlin k detoxikaci. Bylo zjištěno, že některé druhy rostlin mají velkou schopnost akumulovat toxiny. To přináší obrovský potenciál pro tzv. zelenou technologii k odstranění toxických látek z životního prostředí.^{2,3}

V případě stříbra je hlavním zdrojem znečištění průmyslová těžba, metalurgie, fotografický průmysl a odpadní vody. Také stále větší popularita využití stříbra pro jeho antibakteriální účinky v materiálech běžné denní potřeby představuje další zdroj znečištění životního prostředí stříbrem. Schéma znečištění životního prostředí stříbrem je znázorněno na obrázku 1.

2 Rozklad přírodního materiálu

Před samotným stanovením prvku v požadovaném vzorku je zapotřebí upravit jej do podoby, ve které bude analyzován. Každý z postupů přípravy má své výhody i nevýhody. V případě převádění vzorku do roztoku je problémem zředování, možná kontaminace chemickými činidly apod. Analýza vzorku v pevném stavu tyto problémy nemá. Ovšem analýzy pevných vzorků představují jen malou část analýz. Většina analytických metod vyžaduje, aby vzorek byl v kapalném stavu. To má hned několik výhod, jako jsou homogenita připraveného vzorku, snadná kalibrace, pohodlná manipulace s roztokem apod.

Při stanovování anorganických prvků v organickém materiálu se využívá široká škála rozkladných postupů. Zároveň nelze doporučit nějaký univerzální postup. Vlastnosti materiálu závisí na jeho původu (rostlinný, živočišný, potravinářský atd.) a na obsahu prvků. Výběr metody rozkladu neboli mineralizace závisí na cíli analýzy. Důležitým úkolem je zbavit se organické osnovy. Je zapotřebí rozložit organické molekuly na menší fragmenty a nakonec až na prvky. U jednotlivých měřících technik se stupeň odstranění organické osnovy mění. U tzv. nedestruktivních metod (např. neutronová aktivační analýza, röntgenová fluorescenční spektrometrie) se pracuje přímo s původním vzorkem. Nebo stačí pouze odstranit vodu (vysušit). V případě tzv. destruktivních metod, jako je např. metoda AAS, jsou nároky na odstranění organické osnovy relativně malé. Nejnáročnější jsou elektrochemické metody, u kterých je požadavek na odstranění organické osnovy největší. Metody jsou velmi citlivé a i malé zbytky ovlivňují správnost analýzy. Jak již bylo řečeno, je třeba vzorek rozložit a zbavit se organických molekul tvořených uhlíkem, vodíkem, dusíkem a sírou. Během rozkladu se uhlík uvolňuje jako CO_2 , vodík ve formě vody, dusík jako jeho oxidy a síra jako SO_2 .^{5,6}

2.1 Klasifikace metod rozkladů

O metodách rozkladu organických vzorků bylo již napsáno mnoho. Také mechanismů a postupů rozkladu je dnes známo celá řada. Jedním z autorů, který komplexně sepsal publikaci o rozkladech v analytické chemii, je R. Bock. Mechanismy jednotlivých metod lze rozdělit do několika základních skupin. Jednak metody rozkladu na suché cestě, dále metody rozkladu na mokré cestě a potom ostatní metody rozkladu. Jednotlivé skupiny se pak dále dělí

v závislosti od aplikace tepla a tlaku, od použitých činidel a použitého zařízení.⁷ Podrobnější dělení je rozepsáno v tabulce I.

Tab. I: *Přehled metod rozkladu používaných v prvkové analýze biologických materiálů*⁸

1. Suchý rozklad
 - 1.1. Vysokoteplotní suchý rozklad
 - 1.1.1. Muflová pec
 - 1.1.2. Proud vzduchu/kyslíku v zahřáté trubici
 - 1.1.3. Nádoba s kyslíkem při atmosférickém tlaku
 - 1.1.4. Spalování v kyslíkovodíkovém plameni v uzavřeném a chlazeném systému
 - 1.1.5. Spalování ve vysokotlaké bombě
 - 1.1.6. Proud plynu při vysokém tlaku a teplotě
 - 1.2. Nízkoteplotní suchý rozklad
 - 1.2.1. Radiofrekvenční plazma
 - 1.2.2. Mikrovlnná plazma
 - 1.2.3. Nízká teplota, vysoký tlak
2. Mokrý rozklad
 - 2.1. Vysokoteplotní mokrý rozklad
 - 2.1.1. Oxidující minerální kyseliny při normálním tlaku
 - 2.1.2. Peroxid vodíku při normálním tlaku
 - 2.2. Nízkoteplotní mokrý rozklad
 - 2.2.1. OH radikály z Fentonova činidla $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$
 - 2.2.2. Mokrý rozklad v mikrovlnné troubě
3. Ostatní techniky rozkladu
 - 3.1. Oxidační tavení
 - 3.2. Oxidace parami
 - 3.3. Redukční rozklad
 - 3.3.1. Vodík při vysoké teplotě
 - 3.3.2. Jiná činidla
 - 3.4. Rozklad halogeny
 - 3.5. Enzymový/hydrolytický rozklad
 - 3.6. Rozklad zářením

Jednodušeji lze metody rozdělit na klasické a moderní. Klasické metody jsou instrumentálně jednoduché. U moderních metod se pracuje s moderní technikou a za podmínek kdy je dosahováno efektivnější mineralizace.

2.1.1 Suchý rozklad

Suchý rozklad patří k nejstarším známým postupům rozkladu organického materiálu. Byl využíván již v době předalchymistické. Principem suchého rozkladu je spálení, resp. zpopelnění organického materiálu. Většina organických látek se teplem rozkládá mezi 300-700 °C. Ale rozklad nemusí být při těchto teplotách úplný. O totálním rozkladu lze hovořit až při 800 °C, či dokonce 1 050 °C. Proces rozkladu lze rozdělit do čtyř základních kroků – sušení, zuhelnění, zpopelnění a loužení popela. Během sušení je vzorek zbaven vody. Obvyklé teploty při sušení se pohybují kolem 60 - 120 °C. Při zuhelnatění je vzorek vystaven teplotám 200 - 400 °C. Tento krok rozkladu je nejkritičtější. Aby rozklad probíhal plynule a bez exotermních reakcí, je nutné zvyšovat teplotu pozvolna. Proces zpopelnění se provádí při teplotách v rozmezí 450 – 550 °C. Opět je nutné pozvolné zahřívání. Před zpopelněním se do vzorku přidává tzv. pomocné činidlo. K tomuto účelu se používá většinou kyselina dusičná nebo dusičnan hořečnatý. K loužení se používá především minerálních kyselin (HNO₃, HCl, H₂SO₄) a také pufrů.

Postupů suchého rozkladu je dnes spousta. Lze je provádět v otevřeném či uzavřeném systému, při vysoké nebo nízké teplotě, za nízkého nebo vysokého tlaku, a pracovat můžeme ve statickém nebo dynamickém režimu.^{5,6}

Klasické metody suchého rozkladu (zpopelnění) pracují v otevřeném nebo polozavřeném systému za normálního tlaku. Tento postup patří k nejstarším používaným postupům k rozkladu organické a biologické hmoty. Nevýhodou této metody je možný únik těkavějších prvků (As, Cd, Hg, Pb, Se apod.), časová náročnost a možná kontaminace. Přesto se dodnes hojně využívá z důvodu jednoduchosti a ekonomické výhodnosti. Proces sušení se provádí na varné desce, v sušárně, pod infračervenou lampou nebo v lyofilizátoru. Rozklad je časově velmi náročný (10 – 16 hodin).

Moderní metody suchého rozkladu pracují v polozavřeném, častěji však v uzavřeném systému. Ke zvýšení účinnosti suchého rozkladu byla vyvinuta řada postupů. Často místo na vzduchu v kyslíku či směsi oxidačních plynů, a to za mírně zvýšeného nebo zvýšeného tlaku. Tyto metody pak umožňují provádět rozklad za nižších teplot, což snižuje nebezpečí ztráty některých prvků. Jednou z metod v moderních postupech je suchý rozklad podle Schönigera, který prováděl rozklad v uzavřené baňce naplněné kyslíkem. Tuto metodu

aplikoval na stanovení halogenidů, síry a fosforu. Dnes již se touto metodou v upravené verzi stanovují další prvky. Dodnes je tato metoda používána, a to hlavně z důvodů ekonomické nenáročnosti a jednoduchosti. Dalšími metodami jsou například rozklad v kyslíko-vodíkovém plameni podle Wickbolda, rozklad v kyslíkovém plameni, směsí oxidů nebo v nízkotlakové kyslíkové plazmě.⁶

2.1.2 Mokrý rozklad

Rozklad mokrou cestou je založen na oxidaci organického materiálu minerální kyselinou. To buďto v samotné kyselině nebo v kombinaci s oxidačními činidly (H_2O_2 , KI apod.) případně katalyzátorem (např. Fe^{2+}). Míra rozkladu je závislá nejen na druhu oxidačních činidel a rozkládané látky, ale také na teplotě. Ta je dána teplotou varu používané kyseliny a většinou není příliš vysoká. Proto je potřeba provádět rozklad za zvýšeného tlaku. Nejčastěji se používá kyselina dusičná samotná nebo častěji ve směsi s další kyselinou, jako je H_2SO_4 , HClO_4 a taky H_2O_2 a KClO_3 . Kyselina dusičná má vysoké oxidační účinky a navíc vytváří dobře rozpustné soli se stanovovanými analyty. Také je snadno dostupná ve vysoké čistotě, což je výhodou pro stopovou analýzu. Použití samotné kyseliny není však výhodné kvůli jejímu nízkému bodu varu (67% kyselina dusičná má b.v. $121,7\text{ }^\circ\text{C}$), proto se nejčastěji používají směsi. Podrobnější rozpis jednotlivých oxidačních činidel k rozkladu organické matrice je v tabulce II.

Použití kyseliny chloristé je doprovázeno přísnými bezpečnostními podmínkami. V mnohých případech může dojít k explozi. Přestože někteří autoři uvádějí bezpečné postupy využití této kyseliny, je třeba myslet i na to, že se vypařená kyselina může usadit například v digestoři a při dalších experimentech explozivně reagovat. Pokud je to tedy možné, nahrazujeme ji jinými činidly.

Tab. II: Činidla aplikované při rozkladu organických materiálů⁸

Činidla	Materiál	Poznámky
H ₂ SO ₄ +HNO ₃	Rostlinný	Nejčastěji používaný; možná ztráta As, Se, Hg apod.
H ₂ SO ₄ +H ₂ O ₂	Rostlinný	Ztráty Pb absorpcí na CaSO ₄ ; ztráta Ge, As, Ru, Se
HNO ₃	Biologický	Teplota rozkladu 350 °C; vznik rozpustných nitrátů
HNO ₃ +H ₂ O ₂	Biologický	Rychlá metoda pro malé vzorky při nízké teplotě
HClO ₄	Biologický	Katalyzátory (NH ₄) ₂ MoO ₄ apod.
H ₂ SO ₄ +HClO ₄	Biologický	Pro malé vzorky; nebezpečí výbuchu
HNO ₃ + HClO ₄	Uhlovodíky (žádné tuky)	méně explozivní; žádné ztráty olova
H ₂ SO ₄ +HNO ₃ + HClO ₄	Univerzální	Při kontrole teploty bez problémů; ztráta As, Sb, Hg, Fe apod.
HCl+KClO ₃	Biologický	Nevhodné pro stopovou analýzu
H ₂ O ₂ +Fe ²⁺	Univerzální	Teplota nižší než 100 °C
HNO ₃ +HClO ₃	Biologický	Žádné riziko exploze
HNO ₃ +HF	Silikáty a organické	Vysoký obsah Si (rostlinný materiál)
HNO ₃ +HF+HCl	Silikáty a organické	Vysoký obsah Si a Fe

Proces rozkladu organické hmoty pomocí minerálních kyselin lze rozdělit do dvou kroků. V prvním kroku dochází ke karbonizaci, během které směs hnědne až černá. Dále dochází ve směsi k oxidaci, při které dochází k dokončení rozkladu a k uvolnění C, H a N ve formě CO₂, H₂O a NO₂ apod. Také dojde k vyčeření roztoku. Roztok může mít zbarvení způsobené obsahem např. Fe³⁺, Cu²⁺ nebo Cr³⁺. Po ukončení mineralizace je možné upravit

vzorek na potřebnou koncentraci zakoncentrováním roztoku odpařením vody popřípadě oddělením kyseliny. Pracovat můžeme v systému otevřeném, polozavřeném anebo uzavřeném. Práce v otevřeném systému přináší spoustu rizik. Jednak je tu riziko kontaminace vzorku zvnějška, možná ztráta těkavých látek a velká spotřeba reakčních činidel. Nejvýhodnější je pracovat v uzavřeném systému, kde eliminujeme tyto problémy. Účinnost mokrého rozkladu lze zvýšit také zvýšením tlaku. Teploty varu některých mineralizačních činidel nejsou dostatečně vysoké a nemusí tedy dojít k efektivnímu rozkladu. Pokud pracujeme za zvýšeného či vysokého tlaku, teploty varu se zvyšují. S růstem teploty a tlaku se zvyšuje také oxidační schopnost činidla. Například pokud provádíme mineralizaci samotnou kyselinou dusičnou, je pro úplný rozklad potřeba pracovat při teplotách okolo 300°C, což vyžaduje pracovat při tlacích kolem 8MPa.

Klasický mokrý rozklad je chápán jako rozklad organického materiálu v minerální kyselině. Zahřívání roztoku je klasickým konvenčním ohřevem. Zde je zdrojem tepla elektrické tělísko. Například topná deska, písková lázeň, horkovzdušná sušárna nebo IČ lampa. Tento způsob je ovšem energeticky a časově náročný a je třeba počítat s časem potřebným k rozehrátí a ochlazení celé aparatury.

Pokud využijeme k rozkladu samotnou kyselinu dusičnou, musíme počítat s tím, že zbytkový obsah uhlíku je až 20%. To pro řadu metod ke stanovení není přípustné. K účinnějšímu rozkladu se používají směsi, jak již bylo uvedené. Aplikace směsi HNO_3 a HClO_4 při zachování poměru 3:7 je poměrně bezpečné. Je také dobré nechat proběhnout reakci se samotnou HNO_3 , a potom teprve přidat HClO_4 . Přesto není riziko exploze zcela vyloučeno. Proto se nahrazuje HClO_4 peroxidem vodíku. Někteří autoři uvádějí, že oxidační schopnost této směsi je srovnatelná. Jako jednou z neúčinnějších směsí v klasických postupech se uvádí směs $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$ popř. + katalyzátor. Rozklad touto směsí se blíží 100%. Záleží ovšem na povaze vzorku. Žádný z postupů není zcela univerzální.

V moderních postupech se pracuje převážně v uzavřeném systému a za zvýšeného či vysokého tlaku, což má spousty výhod, jak už bylo uvedené. Tyto metody pracují s dynamickým režimem, kdy řídíme teplotu v závislosti na čase. K účinnějšímu rozkladu se využívá mikrovlnných vln. To přináší hned několik výhod. Jednou je zkrácení času mineralizace. Doba rozkladu se zkracuje z několika hodin na desítky minut. To nám

samozřejmě umožní pracovat rychleji a analyzovat více vzorků. Největší výhodou je účinnější rozrušení organické matrice. Firma 2Theta uvádí u svých mineralizátorů zbytkový obsah uhlíku ve vzorku pod 2%.⁹ Účinnost těchto mineralizátorů je dána přímou absorpcí energie vzorkem. Nedochozí tedy ke ztrátám a zpoždění vedením tepla. Ohřev urychluje pohyb polárních částic ve vzorku způsobený mikrovlnným polem.⁵⁻⁷

Jednou z neúčinnějších metod v mokřím rozkladu organických vzorků, je vysokotlaká mineralizace HPA (High Pressure Asher), kde se pracuje za vysokých teplot a tlaků. Na trhu se prodávají přístroje komerčně vyráběné např. firmou Anton Paar, u kterých je dosažitelná teplota až 320 °C a tlak 13 MPa. Práce v těchto přístrojích zaručuje totální rozklad bez kontaminace a ztráty látek.¹⁰

2.1.3 *Ostatní metody rozkladu*

Všechny popsané metody rozkladu se daly zařadit mezi nejčastěji používané metody. Je ovšem řada dalších metod, které jsou méně využívány. K rozkladu organické matrice se využívá např. enzymatických reakcí a fotolýza UV zářením. Ačkoliv se tyto metody moc nevyužívají, mají své přednosti. Například enzymovým rozkladem je možné rozložit velké množství vzorku (v řádech kil), jeho nevýhodou je ovšem časová náročnost.⁵ Své uplatnění našla metoda fotolýzy. Rozklad spočívá v působení UV záření a pomocného činidla (např. H₂O₂). Fotolýzou lze rozložit malé množství organických látek ve vzorku. Proto se metoda nejčastěji používá k analýze vody nebo k vyrušení zbytkového uhlíku po některé z klasických metod (např. mokřím rozklad). Získáme tedy vzorek bez organické osnovy a jsou tedy tyto vzorky vhodné pro analýzu na elektroanalytických přístrojích (např. voltametrie). Dnes jsou na trhu UV mineralizátory např. od firmy Metrohm (705 UV digester), které jsou plně automatizované.¹¹

3 Metody stanovení stříbra

Úkolem analytických metod je kvantitativně stanovit zkoumanou látku ve vzorku. Analytické metody v kvantitativní analýze mohou být rozděleny na metody běžné laboratorní, jako je vážková a odměrná analýza, a metody instrumentální, kam řadíme spektrometrické a elektroanalytické metody. Obsah stanovované látky je možno stanovit jednak přímo (gravimetrie, volumetrie) nebo nepřímo, kde je zapotřebí standardů. Metody srovnávání se standardem je možné provádět jednak metodou kalibrační křivky, jednak metodou standardního přídatku. Metoda kalibrační křivky je založena na vytvoření série standardů stanovované látky. U metody standardního přídatku je do vzorku přidán standard o známém množství a koncentraci a proměřen je samotný vzorek (x) a vzorek s přídatkem standardu (s). Koncentrace stanovované látky se vypočítá podle rovnice [1].¹²

$$c_x = c_s \frac{S_x V_s}{\Delta S V_x} \quad [1]$$

c_x a c_s jsou koncentrace vzorků, V_s a V_x jsou objemy, S_x je naměřený signál pro samotný vzorek a ΔS je rozdíl v signále vzorku s a x

3.1 Klasické metody

Mezi klasické laboratorní metody se řadí ty, u nichž se využívá běžné vybavení analytické laboratoře. Jejich hlavní předností je jednoduchost, nenáročnost a nízká cena. Proto jsou stále hojně využívány k běžné analýze. Příkladem jsou vážkové (gravimetrické) a odměrné (volumetrické) metody.

3.1.1 Gravimetrie

Tato kvantitativní metoda je založena na vysrážení stanovované složky z roztoku na málo rozpustnou sloučeninu, která se sušením nebo žíháním převede na definovanou sloučeninu a potom se váží. Jsou případy, kdy se látka vysráží přímo na vážitelnou formu (např. AgCl, BaSO₄). Ve většině případů tomu ale tak není. Je tedy zapotřebí vysráženou sloučeninu převést na vážitelnou formu. Nejčastěji sušením a žíháním. Z navážky vzorku a váhy sloučeniny (formy k vážení) vypočítáme na základě stechiometrických vztahů procentový obsah hledané složky. Gravimetrie je tzv. definitní

metoda, to je metoda, u které je přímá návaznost mezi naměřenou hodnotou a základní jednotkou SI soustavy (mol, kg). Má největší význam jako kontrolní a stanovovací metoda při validacích. Jako metoda k ověření jiných metod a standardů. Při stanovování stříbra se využívá sraženin stříbra (např. sulfidy, halogenidy, komplexy). Velký význam mají organická činidla, jejichž málo rozpustné komplexy se vyznačují značnou selektivitou. Také jejich vysoká molekulová hmotnost umožňuje stanovit malé množství zkoumané látky. Pro stanovení stříbra se proto používá např. 8-chinolinol (oxin).^{13,14}

3.1.2 Volumetrie

Volumetrická analýza (titrace) je kvantitativní metoda založená na měření objemu odměrného činidla, potřebného k zreagování veškeré stanovované složky (ekvivalenční bod). Odměrné činidlo je látka o známé koncentraci (titr), která reaguje se stanovovanou látkou, a to podle známé stechiometrie. Využívají se takové reakce, které probíhají dostatečně rychle, kvantitativně a dají se stechiometricky vyjádřit. Dosažení bodu ekvivalence se zjišťuje vhodnou indikací. Buď vizuálně, nebo instrumentálními metodami. Vizuelní změny mohou být zřejmé změnou barvy nebo vysrážením sraženiny (zákal). V některých případech je změna patrná při samotné reakci titrované látky s titračním činidlem, jindy je ovšem zapotřebí přidat indikátor, který indikuje bod ekvivalence. Titrační křivka je grafické znázornění průběhu titrace a je na ní patrný bod ekvivalence. Titrace je možné rozdělit na základě principu reakce, která probíhá během titrace, na neutralizační, srážecí, komplexometrické a oxidačně-redukční. Ke stanovení stříbra se využívá titrací srážecích a oxidačně-redukčních. Srážecí titrace jsou založeny na vyloučení stanovované látky ve formě málo rozpustného produktu. Ke stanovení stříbra se používá argentometrie. Redoxní titrace využívají přenosu elektronů mezi látkami a prvek mění svůj oxidační stav. Stříbro lze stanovit reduktometrií, kdy se titruje chromnatými solemi a stříbro se redukuje $\text{Ag}^+ \rightarrow \text{Ag}$. Titrace se provádí ve 2-20% H_2SO_4 za zvýšené teploty.^{13,14}

3.2 Optické metody

Optické metody jsou metody založené na interakci vzorku s elektromagnetickým zářením. Metody se rozdělují na nespektrální metody, u kterých nedochází k výměně energie mezi zářením a látkou, a spektrální, kdy dochází ke vzájemné výměně energie. Mezi první skupinu se řadí refraktometrie, polarimetrie, nefelometrie a turbidimetrie. Nespektrální metody nejsou pro stanovení těžkých kovů v rostlinném materiálu vhodné. Spektrální metody dělíme na emisní a absorpční.

Důležitým faktorem pro spektrální metody jsou vlastnosti použitého elektromagnetického záření. Elektromagnetické záření má jak korpuskulární, tak vlnový charakter a obsahuje elektrickou a magnetickou složku, které jsou na sebe kolmé. Záření můžeme charakterizovat veličinami popisující vlnový charakter - frekvence (f), vlnová délka (λ) a vlastnosti fotonu - energie (ε), zářivý tok (Φ), intenzita záření (I). Vztah mezi frekvencí a vlnovou délkou stanovuje rovnice [2].

$$\lambda = \frac{c}{f} \quad [2]$$

c vyjadřuje rychlost světla ve vakuu ($2,9979 \cdot 10^8 \text{ m.s}^{-1}$)

Energie fotonu je nepřímo závislá na frekvenci a pro její výpočet potřebujeme znát Planckovu konstantu (h) jak je patrné v rovnici [3].

$$\varepsilon = h f = h \frac{c}{\lambda} \quad [3]$$

Pro kvantitativní stanovení prvku ve vzorku jde o nalezení vztahu mezi koncentrací a spektrální veličinou. Z nalezeného vztahu je možné sestavit kalibrační závislost a stanovit požadovanou složku. Které veličiny jsou směrodatné, je závislé od použité metody.¹⁶

3.2.1 Absorpční spektrometrie

Sleduje se pohlcení (absorpce) záření vzorkem. Míra absorpce je závislá na celkovém počtu částic, které interagují se svazkem paprsků o určité vlnové délce. Prochází-li záření absorpčním prostředím, pak je tok záření Φ po průchodu zeslaben na $\Phi - d\Phi$. Zářivý tok je definován jako rychlost přenosu zářivé energie.

$$\Phi_e = \frac{d\varepsilon}{dt} \quad [4]$$

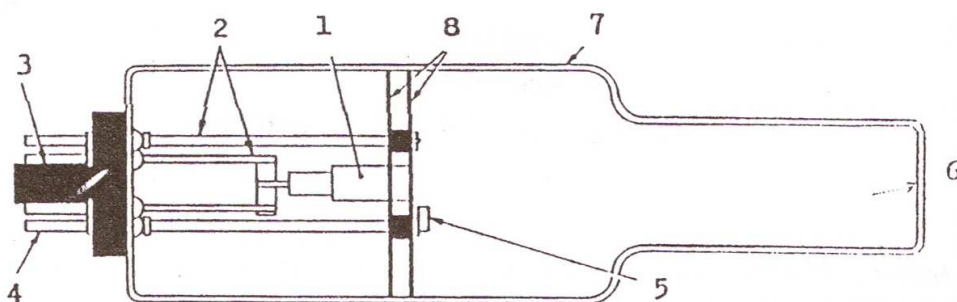
Pro stanovení koncentrace látky se využívá absorbance A , která je úměrná koncentraci látky. Tento vztah upravuje rovnice [5], tzv. Lambertův-Beerův zákon.

$$A_\lambda = a_\lambda lc \quad [5]$$

a_λ je molární absorpční koeficient (konstanta pro danou látku za určitých podmínek a vlnové délce), l je tloušťka absorbující vrstvy a c je látková koncentrace

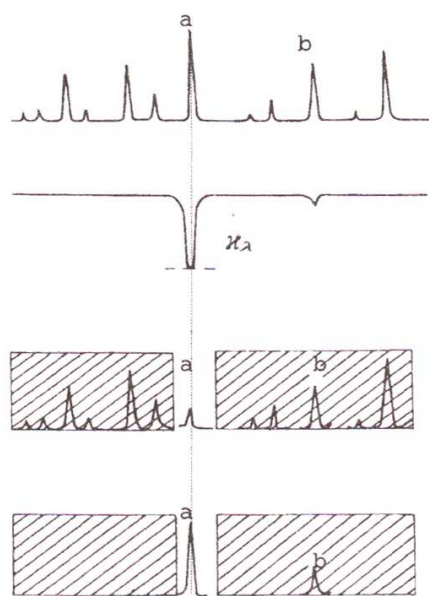
Na aplikaci Lambertova-Beerova zákona je založena absorpční spektrometrie.

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) je metoda založena na absorpci záření volnými atomy v plynném stavu, které vznikají atomizací vzorku. Základem metody je atomizace, která se provádí plamenovým nebo elektrotermickým atomizátorem. Zdrojem záření je u AAS výbojka s dutou katodou (obr. 2), tedy čárový zdroj záření. Katoda výbojky je tvořena kovem, který je stanovován. Tyto výbojky jsou pro více jak 60 prvků.



Obr. 2: Výbojka s dutou katodou. 1- katoda, 2- nosník, 3,4- patice, 5- anoda, 6- křemenné okénko, 7- skleněný obal výbojky, 8- stínění¹⁹

Pro některé prvky se používá tzv. bezelektrodová výbojka nebo oblouková výbojka (např. pro Na, K, Rb, Cs, Tl, Hg). Princip odečtu absorbovaného záření je znázorněno na obrázku 3.¹³



Emisní spektrum výbojky s dutou katodou, na ose y je spektrální tok pro vlnovou délku λ , $\Phi_{\lambda,0}$

Absorpční spektrum stanoveného kovu; spektrum je chudší než spektrum emisní, neboť se uplatňují pouze rezonanční čáry; na ose y je absorpční koeficient κ_{λ}

Část spektra vymezená nastavením štěrbin monochromátoru; spektrální tok (osa y) je zeslaben na Φ_{λ}

Zobrazení spektra v absorbanční škále, $A_{\lambda} = \log(\Phi_{\lambda,0}/\Phi_{\lambda})$

Obr. 3: Atomové absorpční spektrum¹³

Hodnota absorbance může být ovlivněna dvěma druhy interference. Jednak spektrální interferencí, způsobené překryvem absorpce nebo emisí některých složek. A dále chemickou interferencí, která způsobují chemické procesy během atomizace.

3.2.2 Emisní spektrometrie

Principem atomové emisní spektrometrie (AES) je sledování emise záření volnými atomy v plynném stavu. Dodáním energie (kinetické, tepelné) jsou atomy převedeny do vyššího energetického stavu a při zpětném přechodu je energie vyzářena ve formě fotonu. Zdroj záření tedy nese informaci o složení. Zkoumaná veličina je přímá odezva detektoru. Vztah mezi intenzitou záření vlnové délky a koncentrací upravuje Lomakinův vztah v rovnici [6].^{12, 13, 14}

$$I = ac^b \tag{6}$$

Obvykle uváděny v logaritmické podobě.

$$\log I = b \log c + \log a \tag{7}$$

b popisuje samoabsorpci, faktor *a* popisuje vztah mezi koncentrací prvku ve vzorku a výboji

3.3 Elektroanalytické metody

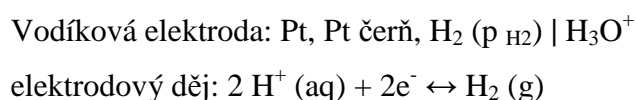
Elektroanalytické metody využívají elektrochemických (redoxních) reakcí na rozhraní roztok-elektroda (potenciometrie, voltmetrie, elektrogravimetrie) nebo elektrických vlastností roztoku mezi elektrodami (konduktometrie, dielektrometrie). Měření se provádí na elektrochemickém článku, což je soustava, ve které je analyzovaný roztok v kontaktu s elektrodami. Elektrody zprostředkují propojení s měřicím přístrojem a je tedy možné sledovat některou z elektrických veličin, jako je potenciál (E), proud (I), vodivost (G), náboj (Q), kapacita (C) apod. Pro vysvětlení elektrochemických metod je třeba popsat základní veličiny a vztahy v elektrochemii. Proud je SI veličinou a jeho jednotkou je ampér (A). Jeden ampér je takový proud, který při průtoku dvěma rovnoběžnými přímkovými vodiči, nekonečně dlouhými, zanedbatelného průměru, ve vzájemné vzdálenosti jednoho metru, vyvolá mezi těmito vodiči sílu rovnou $2 \cdot 10^{-7}$ newtonu. Náboj je definován jako množství elektřiny prošlé za jednotku času při stálém proudu jednoho ampéru. Jednotkou je coulomb (C). Vztah mezi proudem a nábojem znázorňuje rovnice [8].

$$I = \frac{\Delta Q}{\Delta t} \quad [8]$$

Jednotkou napětí je volt (V). Jeden volt při stálém proudu dává výkon jeden watt. Další jednotky se dají odvodit s předchozích. Například odpor, jehož jednotkou je ohm (Ω), udává schopnost vodičů vést elektřinu, je definován rovnicí [9]

$$R = \frac{U}{I} \quad [9]$$

Elektrochemický článek je soustava elektrod a elektrolytu. Elektroda (poločlánek) je soustava alespoň dvou fází, schopných vést elektřinu. Jedna z fází je vodičem první třídy a druhá vodičem druhé třídy. Elektrody prvního druhu tvoří prvek a jeho ion v roztoku (např. zinková, stříbrná, vodíková, chlorová, apod.). Skladba elektrody se znázorňuje schematicky. Například pro vodíkovou elektrodu je schéma následující:



Elektrody druhého druhu tvoří kov pokrytý solí a ponořený do roztoku aniontu této soli (např. argentchloridová, kalomelová, merkurosulfátová, antimonová, apod.). Dále jsou elektrody redoxní, tvořeny ušlechtilým kovem ponořeným do roztoku s oxidovanou a redukovanou

formou redoxního systému. Elektrody iontově-selektivní (ISE), které pracují na rozdíl od předchozích typů elektrod na principu výměnné rovnováhy.

3.3.1 Potenciometrie

Je založena na měření rovnovážného napětí galvanického článku. Základem je měření potenciálu elektrody. Ten se spočítá podle Nernstovy rovnice [10].

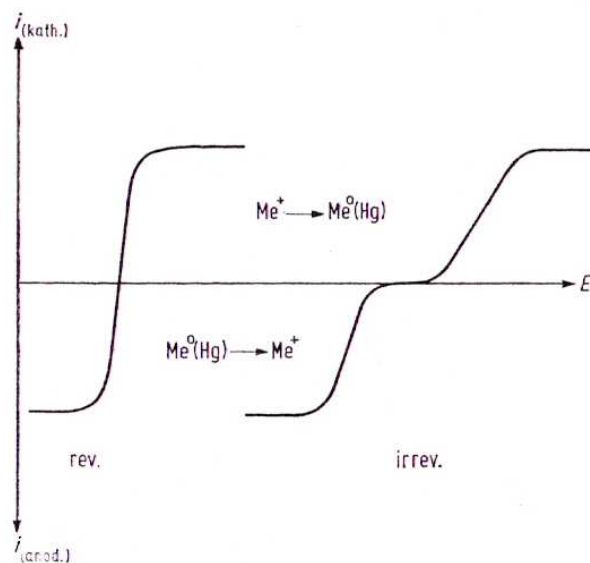
$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{red}}{a_{ox}} \quad [10]$$

R je molární plynová konstanta $8,314 \text{ J.K}^{-1}\text{mol}^{-1}$, T je termodynamická teplota, F Faradayova konstanta $96\,487 \text{ C.mol}^{-1}$, a je aktivita iontu, E^0 standardní elektrodový potenciál

Pokud je zjišťována koncentrace stanovovaného iontu přímo pomocí měrné a srovnávací elektrody, jedná se o přímou potenciometrii. V případě nepřímé potenciometrie se jedná o titraci a sleduje se závislost napětí na objemu odměrného činidla.^{12,13,14}

3.3.2 Voltametrie a polarografie

Obě tyto metody jsou založeny na sledování změn procházejícího proudu při měnícím se napětí. Měrná elektroda je polarizovatelná a srovnávací je nepolarizovatelná. Elektroda je polarizovatelná, pokud je její potenciál silně ovlivněn procházejícím proudem. Ve voltametii se používá stacionární polarizovatelná elektroda, zatímco v polarografii se používá odkapávající rtuťová kapková elektroda. Běžně se používá klasická polarografie, diferenčně pulzní polarografie a voltametrie (mnohem citlivější) a rozpouštěcí voltametrie. Dále také modifikace předchozích metod jako adsorpční rozpouštěcí voltametrie a potenciometrická rozpouštěcí analýza. Průběh analýzy se znázorňuje na polarografické křivce (I - E křivka). Její průběh je možné vidět na obrázku 4.



Obr. 4: *I-E* křivky. Anodicko-katodická reverzibilní, anodická ireverzibilní a katodická ireverzibilní¹⁸

Kvantitativní analýza se provádí vždy metodou srovnávací. Pokud jsou zachovány stejné podmínky při měření pro vzorek i standard, je přesnost metody běžně kolem 0,5%. Použitím polarometrických titrací je možná přesnost až 0,1%.^{17,14}

3.3.3 Elektrogravimetrie a coulometrie

Jedná se o metody založené na úplné přeměně stanovované látky na jinou oxidační formu. Využívá se dvou způsobů elektrolytického vyloučení. Jednak za stálého proudu (galvanostaticky) nebo při konstantním potenciálu (potenciostaticky). Výhodou druhé metody je, že se může pracovat s potenciálem vhodným pro vyloučení daného kovu. Nehrozí tedy vyloučení vodíku nebo jiného kovu. Dnes má větší uplatnění coulometrie před elektrogravimetrií. Vztah mezi látkou přeměněnou na elektrodě a množstvím elektřiny prošlé soustavou lze vyjádřit Faradayovým zákonem, který vystihuje rovnice [11].

$$m = \frac{QM_r}{zF} \quad [11]$$

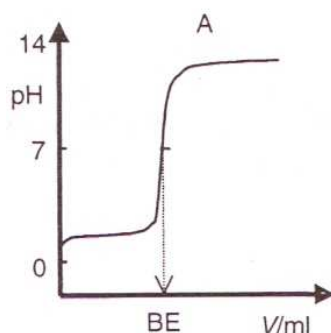
Q je elektrický náboj, M_r molární hmotnost, z je počet elektronů vyměněných při elektrodovém ději a F je Faradayova konstanta

Principem elektrogravimetrie je vyloučení látky z roztoku v nerozpustné formě na elektrodě působením stejnosměrného proudu. Když se vyloučí všechna látka, zjistí se váhový přírůstek elektrody. V coulometrii se měří náboj potřebný ke kvantitativní přeměně látky. K zjištění množství se tedy opět využije Faradayova zákona.^{12,14}

3.3.4 Elektroanalytické titrace

Jedná se v podstatě o klasické volumetrické titrace, kdy je sledovaná veličina závislá na objemu přidaného odměrného činidla. K určení bodu ekvivalence se ovšem využívá elektroanalytických metod. Pro stanovení stříbra se hodí titrace potenciometrická, polarometrická a coulometrická.

Potenciometrické titrace patří k nejvíce používaným. Výhodou je přesnost a to, že nevadí zabarvení či zákal roztoku. Sleduje se změna potenciálu na objemu odměrného roztoku. Titrační přímky mají klasický esovitý tvar (obr 5).

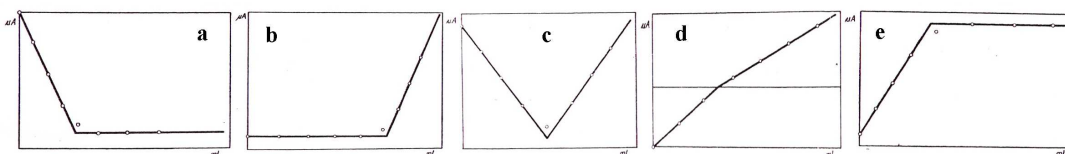


Obr. 5: Graf neutralizační potenciometrické titrace¹²

Důležitým faktorem správného stanovení je výběr indikační elektrody. Pro titrace neutralizační se používá skleněná elektroda, pro srážecí stříbrná (v argentometrii) nebo ISE, pro komplexometrické se používá ISE elektroda a v případě redoxních titrací platinová redoxní elektroda.^{12,14}

Principem **polarometrické titrace** je sledování změn intenzity proudu procházejícího mezi indikační a srovnávací elektrodou při stálém napětí, v závislosti na objemu odměrného roztoku. Bod ekvivalence se stanovuje jako průsečík dvou přímek. Stačí, aby alespoň jedna

z látek – titrovaná nebo odměrný roztok, poskytoval polarograficky difúzní proud. Průběh titrace se pak znázorňuje podle grafů na obrázku 6. V případě *a* je látka polarograficky redukovatelná titrována látkou neredukovatelnou. V grafu *b* je tomu naopak. Graf *c* znázorňuje případ, kdy je polarograficky redukovatelná jak látka titrovaná, tak odměrný roztok. Dále jsou případy (např. redoxní titrace), kdy titrovaná látka poskytuje anodický limitní proud a odměrný roztok katodický proud (graf *d*). Pokud se polarograficky projevuje produkt reakce, pak je grafické znázornění patrné na grafu *e*.



Obr. 6: Průběh polarometrických titrací¹⁵

Výhodami polarometrických titrací jsou přesnost a možnost měřit velmi zředěné roztoky (10^{-4}M i méně), rychlost titrace a fakt, že cizí elektrolyty neruší stanovení. U srážecích titrací je možné stanovit značně rozpustné sraženiny a to za podmínek, kdy potenciometrické a vizuální titrace selhávají. Pro stanovení stříbra jsou využívány komplexy stříbrných iontů s anorganickými nebo organickými látkami, nebo sraženiny nejčastěji stříbrných halogenidů.¹⁵

Coulometrická titrace se provádí za konstantního proudu, který označujeme jako generační. Stanovovaná látka reaguje elektrolyticky přímo na elektrodě (primární titrace), nebo častěji s účinnou látkou, která je generovaná elektrolýzou na elektrodě (sekundární titrace). Určení bodu ekvivalence se stanovuje buď klasicky vizuálně, nebo instrumentálními metodami (potenciometricky, voltametricky).^{12,14}

Experimentální část

4 Použité chemikálie a vybavení

4.1 Chemikálie

K mineralizaci byly použity následující chemikálie:

- **Kyselina dusičná** – HNO_3 (p.a., vodný roztok, min. 65% (v/v), Lachner)
- **Peroxid vodíku** – H_2O_2 (p.a., vodný roztok, min. 30% (v/v), Penta)
- **Síran železnatý heptahdrát** – $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (p.a., Lachema)
- **Kyselina sírová** – H_2SO_4 (p.a., vodný roztok, min. 96% (v/v), Lachner)
- **Dusičnan stříbrný** – AgNO_3 (p.a., safina)
- **Destilovaná voda**

4.2 Přístroje a zařízení

Pro mineralizaci bylo použito mineralizátoru KSMA Behrlabor-technic GmSH (obr.7). Ten pracuje na principu ohřevu mineralizačního roztoku pod zpětným chladičem. Množství stříbra ve vzorku bylo stanoveno plamenovým atomovým absorpčním spektrometrem Model 3300, Perkin Elmer.



Obr. 7: Mineralizátory od firmy Behrlabor-technic

5 Pracovní postup

Obsah stříbra byl stanovován ve vzorku hrachu setého - *Pisum sativum* (obr.8). Pro tento materiál bylo potřeba určit optimální mineralizační směs a její množství. Bylo testováno několik směsí a postupně snižováno jejich množství nutné pro úplnou mineralizaci vzorku. Tato úplná mineralizace byla pozorována vizuálně na základě vymizení viditelných stop mineralizovaného přírodního materiálu.



Obr. 8: *Hrách setý (Pisum sativum)*

5.1 Mineralizace

K optimalizaci mineralizace bylo použito 14 denních rostlin hrachu setého. Tento hrách byl pěstován na skelném vlákně a zaléván vodou bez přídavku stříbra. Sloužil pouze k optimalizaci mineralizace jako modelový vzorek. Navážka jednoho vzorku byla 0,1g rostliny v suchém stavu (sušina). Mineralizovaná byla celá rostlina - kořen, stonek, list. K naváženému vzorku rostliny byl přidán standardní přídavek Ag. Standardní roztok stříbra byl připraven z dusičnanu stříbrného jako zásobní roztok o koncentraci 100mg l^{-1} Ag. Poté

byla přidána mineralizační směs. Byla použita směs tvořená z $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$ (10% FeSO_4). Dále směs $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ v poměru 3:2. A směs $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$ také v poměru 3:2. Mineralizační směs se vzorkem a přidaným stříbrem byla zahřívána v mineralizátoru. Mineralizace se prováděla 3 hodiny. První mineralizace byla prováděna v 50ml mineralizační směsi a poté se množství snižovalo na 25ml, 10ml až na 5ml. Modelové vzorky k optimalizaci metody a mineralizační směsi, které byly analyzovány, jsou uvedeny v tabulce III.

Tab. III: Čísla modelových vzorků a mineralizačních směsí

číslo	vzorek	mineralizační směs	objem směsi (ml)
1.	celá rostl.	$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$	25
2.	celá rostl.	$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	50
3.	celá rostl.	$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	25
4.	celá rostl.	$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	10
5.	celá rostl.	$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	5
6.	celá rostl.	$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	5
7.	celá rostl.	$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$	5
8.	celá rostl.	$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$	5

Jakmile byla metoda optimalizována, byly mineralizovány reálné vzorky. Byly analyzovány rostliny pěstované jak ve vodě, tak v iontovém a koloidním stříbře o koncentraci 25mg l^{-1} . Stáří rostlin bylo 10 dní a tyto rostliny byly vystaveny systému s obsahem stříbra od počátku. Dále byly analyzovány vzorky rostlin pěstované hydroponicky 10 dní ve vodě a pak 5 dní v 10mg l^{-1} roztoku Ag iontovém a koloidním. Byly analyzovány odděleně kořeny a nadzemní část. Reálné vzorky použité k analýze jsou popsány v tabulce IV.

Tab. IV: Čísla reálných vzorků a mineralizačních směsí

číslo	vzorek	mineralizační směs	objem směsi (ml)
9.	H ₂ O-nadzemní	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5
10.	H ₂ O-kořen	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5
11.	Ag- nadzemní	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5
12.	Ag-kořen	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5
13.	Ag ⁺ - nadzemní	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5
14.	Ag ⁺ -kořen	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5
15.	H ₂ O- nadzemní	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5
16.	H ₂ O-kořen	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5
17.	Ag- nadzemní	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5
18.	Ag-kořen	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5
19.	Ag ⁺ - nadzemní	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5
20.	Ag ⁺ -kořen	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5

5.2 Stanovení stříbra

Kvantitativní stanovení bylo prováděno na spektrometru AAS metodou kalibrační křivky. Byly sestaveny dvě kalibrační křivky. Jednak v rozsahu 2,00; 1,50; 1,00; 0,50; 0,25 mg l⁻¹Ag. Vzhledem k očekávaným obsahům stříbra v rostlinném materiálu byla sestavena i druhá kalibrační křivka pro zachycení menších koncentrací. Ta byla v rozsahu 1,00; 0,75; 0,50; 0,25; 0,10 mg l⁻¹Ag. Standardy byly tvořeny mineralizační směsí s přidavkem stříbra podle daných koncentrací. Nejprve byly proměřeny kalibrační roztoky, sestrojeny kalibrační křivky a poté analyzovány vlastní mineralizované vzorky.

6 Výsledky a diskuze

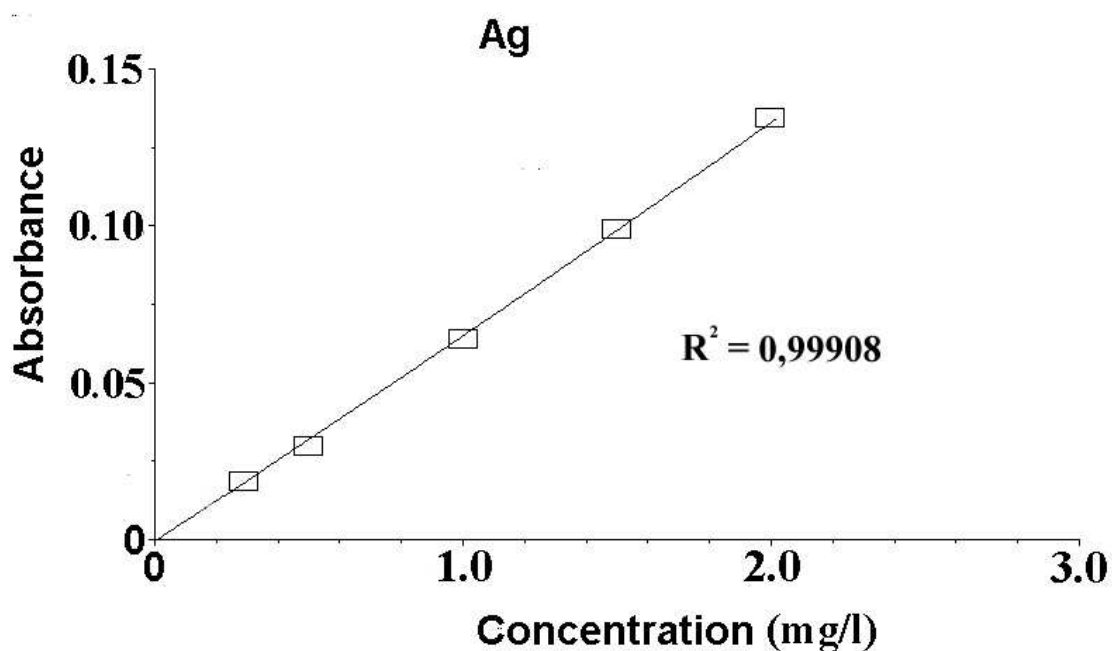
6.1 Mineralizace

Na počátku mineralizace se vzorky po spuštění zahřívání rychle zpěnily a hlavní část těla rostliny byla rozložena. U vzorku č.1, kdy bylo použito 25ml mineralizační směsi o složení $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$, byl roztok po celou dobu mineralizace čirý. Po ukončení zůstaly v roztoku zbytky nerozložené organické hmoty (bílá šupina). Z důvodu špatné účinnosti mineralizace nebylo proto s touto mineralizační směsí již dále pracováno. Vzorek č.2, kdy bylo použito 50ml reakční směsi o složení $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$, nejdříve zežloutl a potom se v průběhu mineralizace začal odbarvovat. Výsledný roztok byl čirý a bez viditelných zbytků organické hmoty. Tento pozitivní výsledek vedl k dalšímu vývoji mineralizačního postupu s touto mineralizační směsí snižováním jejího množství při konstantní navážce mineralizovaného materiálu. U vzorků č. 3 bylo použito 25ml mineralizační směsi ($\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$) a průběh mineralizace probíhal jako u vzorku č.2. Výsledný roztok byl čirý a bez viditelných zbytků. U vzorku č.4 byla použita stejná mineralizační směs jako u předchozího vzorku a průběh mineralizace byl obdobný, i když použito bylo v tomto případě pouze 10 ml mineralizační směsi. Výsledný roztok byl čirý, bez viditelných zbytků přírodního materiálu. Vzorky č.5 a 6, kdy bylo použito pouze 5ml mineralizační směsi ($\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$), byly po ukončení mineralizace jemně nažloutlé a byly patrné jemné zbytky organické hmoty. Protože zbytky v roztocích byly minimální a nejednalo se o velké množství, jako tomu bylo v případě vzorku č.1, byla tato metoda dále aplikována na reálné vzorky. U vzorků č.7 a 8, kdy bylo použito 5ml mineralizační směsi o složení $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$, došlo téměř ihned k uvolňování oranžovo-hnědého plynu. Roztok měl žluté zabarvení a nebyly viditelné žádné zbytky organické hmoty.

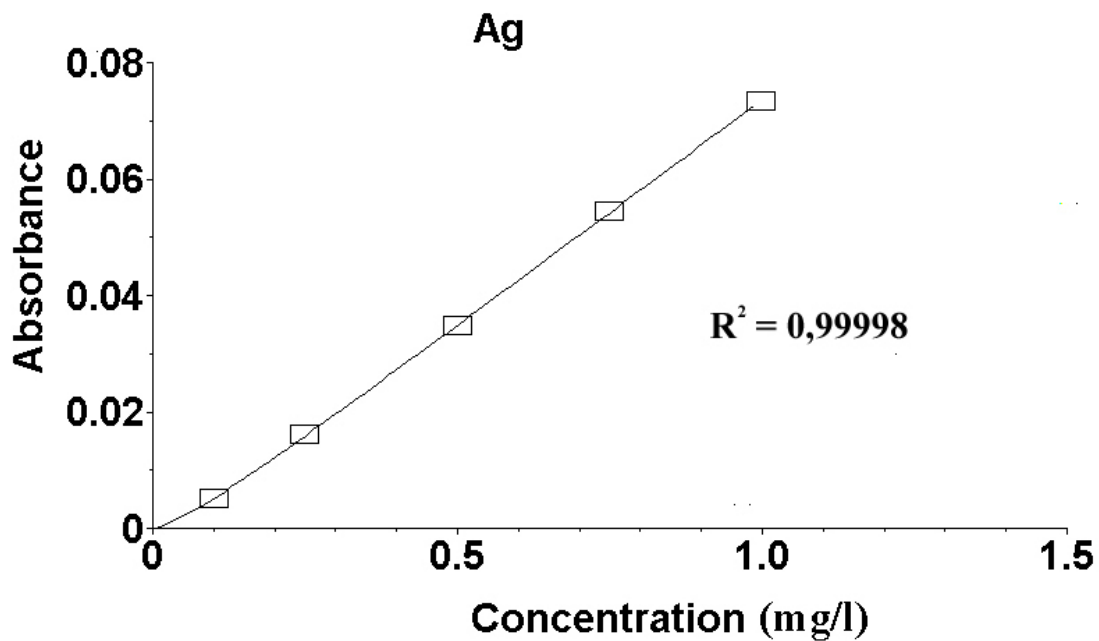
Analýza reálných vzorků rostlin byla prováděná stejnou metodou jako u vzorků č.5 a 6. Použito bylo 5ml mineralizační směsi o složení $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$. Roztoky po ukončení mineralizace měly žluté zabarvení. U vzorků kořene nebyly patrné žádné zbytky organické hmoty. V případě mineralizace nadzemní části rostliny zbyly po ukončení mineralizace jemné zbytky (bílá šupina), které svědčily o ne zcela dokonalém rozkladu přírodního materiálu.

6.2 Stanovení stříbra

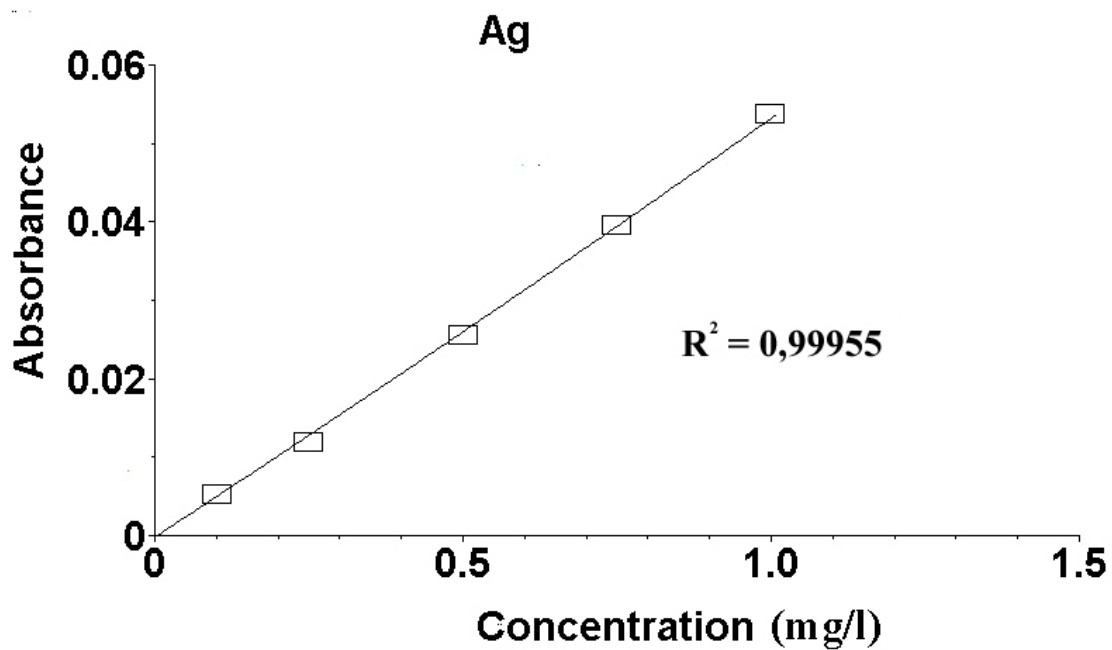
Před vlastním stanovením obsahu stříbra metodou AAS v reálných vzorcích byla provedena kalibrace přístroje za pomoci definované řady standardů připravených ze zásobního roztoku AgNO_3 a směsi používané k mineralizaci, $\text{HNO}_3+\text{H}_2\text{O}_2$ a $\text{HNO}_3+\text{H}_2\text{SO}_4$. Kalibrační křivky jsou znázorněny v grafech na obrázcích 9, 10 a 11. Tyto kalibrační závislosti byly použity následně ke stanovení obsahu stříbra v reálných vzorcích.



Obr 9: Kalibrační křivka pro směs $\text{HNO}_3+\text{H}_2\text{O}_2$ v rozsahu 0,25-2,00 mg/l Ag



Obr. 10: Kalibrační křivka pro směs $HNO_3+H_2O_2$ v rozsahu 0,1-1,0 mg/l Ag



Obr. 11: Kalibrační křivka pro směs $HNO_3+H_2SO_4$ v rozsahu 0,1-1,0mg/l Ag

Po ukončení mineralizace byl vzorek ochlazen na laboratorní teplotu a bez další úpravy byl tento vzorek použit ke stanovení metodou AAS. Tabulka V představuje modelové vzorky rostlin, tabulka VI vzorky rostlin pěstovaných 10 dní a vystaveny médiu s obsahem Ag iontového a koloidního o koncentraci 25mg/l. Tabulka VII pak prezentuje výsledky získané se vzorků rostlin vystavených 5 dní médiu s obsahem 10mg/l Ag iontového a koloidního.

Tab. V: Zjištěné obsahy stříbra v modelových vzorcích za využití metody AAS

číslo	vzorek	přídavek Ag (mg/l)	mineralizační směs	objem směsi (ml)	zředění (ml)	stanovená koncentrace (mg/l)
1.	celá rostl.	0,20	H ₂ O ₂ + Fe ²⁺	25	50	0,202
2.	celá rostl.	0,10	HNO ₃ +H ₂ O ₂	50	100	0,087
3.	celá rostl.	0,05	HNO ₃ +H ₂ O ₂	25	50	0,059
4.	celá rostl.	0,04	HNO ₃ +H ₂ O ₂	10	25	0,046
5.	celá rostl.	0,20	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5	10	0,219
6.	celá rostl.	0,20	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5	10	0,176
7.	celá rostl.	0,20	HNO ₃ +H ₂ SO ₄	5	10	0,096
8.	celá rostl.	0,20	HNO ₃ +H ₂ SO ₄	5	10	0,142

Tab. VI: Zjištěné obsahy stříbra v reálných vzorcích rostlin vystavené médiu s obsahem Ag o koncentraci 25mg/l

číslo	vzorek	část rostliny	mineralizační směs	objem směsi (ml)	zředění (ml)	stanovená koncentrace (mg/l)
9.	H ₂ O	nadzemní	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5	10	0,010
10.	H ₂ O	kořen	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5	10	0,015
11.	Ag	nadzemní	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5	10	0,061
12.	Ag	kořen	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5	10	0,155
13.	Ag ⁺	nadzemní	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5	10	0,083
14.	Ag ⁺	kořen	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5	10	0,363

Tab. VII: Zjištěné obsahy stříbra v reálných vzorcích rostlin vystavené médiu s obsahem Ag o koncentraci 10mg/l

číslo	vzorek	část rostliny	mineralizační směs	objem směsi (ml)	zředění (ml)	stanovená koncentrace (mg/l)
15.	H ₂ O	nadzemní	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5	10	0,000
16.	H ₂ O	kořen	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5	10	0,010
17.	Ag	nadzemní	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5	10	0,000
18.	Ag	kořen	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5	10	0,302
19.	Ag ⁺	nadzemní	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5	10	0,000
20.	Ag ⁺	kořen	HNO ₃ +H ₂ O ₂	5	10	0,289

Analýzou vzorků pěstovaných bez přídavku stříbra, pouze v čisté vodě, bylo přesto stanoveno nepatrné množství stříbra. Ovšem zjištěné hodnoty jsou tak nízké, že se pohybují na samotné mezi stanovitelnosti stříbra touto metodou, proto jejich spolehlivost je velmi nízká. Analýza reálných vzorků rostlinného materiálu ukázala, že rostlina je schopna lépe akumulovat stříbro v iontové formě než koloidní. Dále je patrné, že se stříbro kumuluje ve větší míře v kořenech, zatímco nadzemní část rostliny obsahuje stříbra minimální množství. Tyto výsledky naznačují, že použití nanočásticové formy stříbra v praxi může přinášet nižší nebezpečí příjmu tohoto kovu živými organismy, než je tomu u iontové formy stříbra.

7 Závěr

Předložená bakalářská práce prezentuje výsledky experimentální práce zaměřené na optimalizaci metodiky mineralizace přírodního rostlinného materiálu, kterým byl hrách setý, s cílem stanovení množství stříbra v tomto vzorku metodou AAS. Pro mineralizaci bylo použito mokrého rozkladu pomocí kyseliny dusičné ve směsi s peroxidem vodíku. Stanovení stříbra se provádělo následně metodou FA-AAS.

K optimalizaci bylo použito třech různých mineralizačních směsí. Jako první byla použita směs $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$. Ta nebyla dostatečně účinná a po ukončení mineralizace byly vidět zbytky nerozložené organické hmoty. Nebylo proto s touto mineralizační směsí dále pracováno. Druhou směsí byla $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$ (3:2). Ta se ukázala jako dostatečně účinná. Výsledné roztoky po ukončení mineralizace neobsahovaly viditelné zbytky organické hmoty. Při snížení množství mineralizační směsi na 5ml se v roztocích objevovaly nepatrné zbytky. Stále však byla metoda považována za dostačující s ohledem na fakt, že tyto zbytky organické hmoty nesnižovali výtěžnost metody z pohledu stanovovaného prvku. Odchylka stanovení od skutečné hodnoty přidaného množství Ag pak byla u modelových vzorků do 15%. Tuto odchylku je vzhledem k jednoduchosti použité metody zpracování vzorku přírodního materiálu možné považovat za přijatelnou. Poslední byla testována směs $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$ (3:2). Ta vykazovala dokonalé rozložení bez jakýchkoliv viditelných zbytků a bylo by možné považovat tuto směs za ideální, měření na AAS však ukázaly velké ztráty stanovovaného prvku (Ag), které činily až 50%. Tyto ztráty byly způsobeny pravděpodobně přítomnou H_2SO_4 . Dá se předpokládat, že vznikaly během mineralizace málo rozpustné sírany a sulfany stříbra, což mělo za následek tak velké ztráty Ag. Nebylo proto možné tuto směs aplikovat na reálné vzorky.

Použitá metoda mineralizace nevedla v případě nadzemní části rostliny k úplnému rozložení rostlinného materiálu. Použitá mineralizační metoda tak není zcela optimální pro přesná stanovení a je tedy zapotřebí vyzkoušet další mineralizační směsi a hledat účinnější postupy. Další možností je využití jiných mineralizačních podmínek, jako je práce za zvýšeného tlaku, anebo využití mikrovlnné mineralizace, která poskytuje efektivnější rozklad.

8 Použitá literatura

1. Navarro E., Piccapietra F., Wagner B., Marcony F., Kaegi R., Odzak N., Sigg L., Behra R.: *Environ. Sci. Technol.* 42, 8959–8964 (2008).
2. Sun Y., Zhou Q., Liu W., An J., Xu Z., Wang L.: *Journal of Hazardous Materials* 165, 1023–1028 (2009).
3. Gardea-Torresdey J.L., Peralta-Videa J.R., Montes M., de la Rosa G., Corral-Diaz B.: *Bioresource Technology* 92, 229–235 (2004).
4. Křížková S., Adam V., Kizek R.: *Chem. Listy* 103, 559–568 (2009).
5. Mader P., Čurdová E.: *Chem. Listy* 91, 227–236 (1997).
6. Krakovská E., Kuss H-M.: *Rozklady v analytické chemii současný stav a trendy*. VIENALA, Košice 2001.
7. Száková J., Mader P.: *Chem. Listy* 98, 388–395 (2004).
8. Sansoni B., Panday V. K.: *Analytical Techniques for Heavy Metals in Biological Fluids* (Facchetti S., ed.), str. 91. Elsevier, Amsterdam 1981.
9. www.2theta.cz (12.5.2010)
10. www.anthon-paar.cz (12.5.2010)
11. www.metrohm.com (12.5.2010)
12. Klouda P.: *Moderní analytické metody*. nakladatelství Pavel Klouda, Ostrava 2003.
13. Volka K., a kol.: *Analytická chemie II*. VŠCHT v Praze, Praha 1995.
14. Zýka J., a kol.: *Analytické příručka*. SNTL, Praha 1972.
15. Zýka J., Doležal J.: *Polarometrické titrace*. SNTL, Praha 1961.
16. Bekárek V., Fryšová I.: *Optické metody v chemické analýze*. UP v Olomouci, Olomouc 2005.
17. Heyrovský J., Zuman P.: *Úvod do praktické polarografie*. Československá akademie věd, Praha 1964.
18. Neeb R.: *Inverse polarographie und voltammetrie*, Akademie-Verlag, Berlin 1969.
19. Stučka V.: *Analytická atomová optická spektrometrie*. UP v Olomouci, Olomouc 2000.