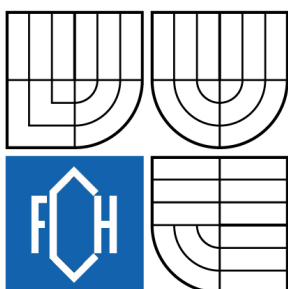


VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ
FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

SPECIAČNÍ A FRAKČIONAČNÍ ANALÝZA KOVŮ V ZEMĚDĚLSKÝCH PŮDÁCH

SPECIATION AND FRACTIONATION ANALYSIS OF METALS IN AGRICULTURAL SOILS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

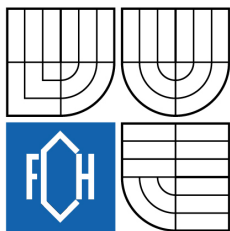
AUTOR PRÁCE
AUTHOR

PETR LEPAŘ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

Ing. PAVEL DIVIŠ, Ph.D.

BRNO 2009



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0357/2008	Akademický rok: 2008/2009
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Petr Lepař	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (B2901)	
Studijní obor:	Biotechnologie (2810R001)	
Vedoucí bakalářské práce:	Ing. Pavel Diviš, Ph.D.	
Konzultanti bakalářské práce:		

Název bakalářské práce:

Speciační a frakcionační analýza kovů v zemědělských půdách

Zadání bakalářské práce:

Zpracovat literární rešerši o analytických technikách a postupech používaných k speciační a frakcionační analýze kovů v půdách.

Termín odevzdání bakalářské práce: 29.5.2009

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Petr Lepař
Student(ka)

Ing. Pavel Diviš, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.12.2008

doc. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce pojednává o postupech a analytických technikách spojených se speciální analýzou a frakcionací kovů v zemědělských půdách. V první části jsou definovány základní pojmy týkající se speciace, frakcionace, půd a prvků v ní obsažených. V následujících kapitolách jsou popsány postupy shrnující odběr vzorků a jeho úpravu včetně popisu některých používaných extrakčních metod za účelem frakcionace a speciální analýzy. Poslední kapitola je věnována výčtu některých separačních technik a instrumentálních metod používaných pro účely speciace a frakcionace.

ABSTRACT

This bachelor thesis deals with the procedures and analytical techniques associated with speciation analysis and fractionation of metals in agricultural soils. The first part defines the basic concepts related to speciation, fractionation, soils and elements contained within it. The following chapters describe procedures of samples withdrawal and its adjustment including a description of some methods used for the purpose of extraction, fractionation and speciation analysis. The last chapter is devoted to listing of some separation techniques and instrumental methods used for the purposes of speciation and fractionation.

KLÍČOVÁ SLOVA

Speciace, frakcionace, kovy, půda.

KEYWORDS

Speciation, fractionation, metals, soil.

LEPAŘ, P. *Speciační a frakcionační analýza kovů v zemědělských půdách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 34 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Pavel Diviš, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citoval. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování:

Chtěl bych poděkovat Ing. Pavlu Divišovi, Ph.D. za cenné odborné rady a ochotnou pomoc při zpracování mé bakalářské práce.

OBSAH:

1	ÚVOD	6
2	DEFINICE SPECIACE.....	7
3	DEFINICE FRAKCIONACE.....	7
4	PŮDA A PRVKY V NÍ OBSAŽENÉ	7
4.1	MAKROELEMENTY PŮDY.....	8
4.2	MIKROELEMENTY PŮDY	8
4.3	BIODOSTUPNOST	8
4.3.1	<i>Faktory ovlivňující biodostupnost v půdách.....</i>	<i>9</i>
4.3.2	<i>Faktory ovlivňující rozdělení kovů v půdách.....</i>	<i>10</i>
5	TOXIKOLOGICKY VÝZNAMNÉ PRVKY V ZEMĚDĚLSKÝCH PŮDÁCH	10
5.1	ŽELEZO	10
5.2	MANGAN.....	11
5.3	CHRÓM	11
5.4	KADMIUM	11
5.5	MĚĎ.....	12
5.6	NIKL	12
5.7	OLOVO	12
5.8	RTUŤ.....	13
5.9	ZINEK.....	13
6	VZORKOVÁNÍ PŮDY	13
7	ÚPRAVA VZORKU	15
7.1	SÍTOVÁNÍ	15
7.2	KVARTACE.....	15
7.3	MINERALIZACE	15
7.3.1	<i>Metody rozkladu na suché cestě</i>	<i>15</i>
7.3.2	<i>Metoda rozkladu na mokré cestě</i>	<i>16</i>
8	SPECIAČNÍ ANALÝZA A FRAKCIONACE.....	17
8.1	METODY SPECIAČNÍ ANALÝZY A FRAKCIONACE	17
8.2	FRAKČIONAČNÍ ANALÝZA KOVŮ	18
8.2.1	<i>Jednokroková extrakce</i>	<i>20</i>
8.2.2	<i>Sekvenční extrakce.....</i>	<i>21</i>
8.2.2.1	<i>Iontově výměnný podíl</i>	<i>21</i>
8.2.2.2	<i>Podíl vázaný na uhličitany</i>	<i>22</i>
8.2.2.3	<i>Podíl vázaný na oxidy železa a manganu</i>	<i>23</i>
8.2.2.4	<i>Podíl vázaný na organické látky a sulfidy</i>	<i>26</i>
8.2.2.5	<i>Zbytkový podíl.....</i>	<i>28</i>
8.3	SPECIAČNÍ ANALÝZA KOVŮ.....	28
9	ZÁVĚR	30
10	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	31
11	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	34

1 ÚVOD

Během posledních několika let opakovaně docházelo ke kontaminaci zemědělských půd kovy a to používáním různých ochranných prostředků, častým hnojením půd umělými hnojivy a také vyvážením kalů z čistíren odpadních vod na pole a louky. Nebezpečí obsahu kovů v těchto ekosystémech je v současnosti hodnoceno na bázi celkového obsahu kovů v pevné fázi půd. Řada studií však prokázala, že celkový obsah kovů v pevné fázi přímo neurčuje toxické efekty na organismy žijící v půdách a na rostliny. Tyto rozpory plynou z faktu, že biodostupnost kovů v půdách značně závisí na rozdílech ve struktuře půdy, např. na koncentraci jílu, písku, organické hmoty apod. V posledních letech se značně zvýšil zájem o tzv. frakcionační analýzu půd. Frakcionační analýza poskytuje cenné informace o fyzikálních vlastnostech kovů přítomných v půdě, o tom v jaké fázi jsou přítomny a jak silná je jejich vazba na částice v půdách. Společně s frakcionační analýzou se v důsledku vývoje nových analytických metod začala rozvíjet i speciační analýza. Pomocí speciační analýzy je možné rozlišit konkrétní chemickou formu, ve které se studovaný prvek nachází. Fakt že různá sloučenina téhož prvku se může značně lišit ve svých toxických vlastnostech je známý. Na toxicitu však může mít vliv i řada jiných faktorů, např. oxidační stav prvku. Čím více informací jsme tedy schopni získat o rozložení a chemických formách kovů v půdním systému, tím lépe jsme schopni předvídat potenciální rizika kontaminace a lépe odhadovat dostupnost kovů nejen pro biotu ale i pro člověka, neboť právě člověk je na vrcholu potravního řetězce a řada potravin konzumovaných člověkem je s půdou úzce spojena.

Tato bakalářská práce je literární rešerší a seznamuje čtenáře s frakcionační a speciační analýzou půd. Jsou zde diskutovány postupy a činidla používané ve frakcionační analýze a nastíněny jsou i analytické techniky používané pro speciační analýzu

2 DEFINICE SPECIACE

Vzhledem k různé toxicitě a různým vlastnostem rozdílných sloučenin téhož kovu vznikl požadavek na stanovení konkrétních chemických forem kovů. Takovéto stanovení je označováno jako speciační analýza a přítomnost různých forem kovů ve sledovaných systému je označována jako speciace kovů [1], [2]. Přesnou formulaci všech pojmů uvádí Mezinárodní unie pro čistou a aplikovanou chemii následovně [3]:

- a) Chemické specie. Chemický prvek: specifická forma prvku definovaná jako jeho izotopové složení, elektronový nebo oxidační stav a/nebo komplexní nebo molekulová struktura.
- b) Speciační analýza. Analytická chemie: analytické činnosti na identifikaci a/nebo kvantifikaci jedné nebo více jednotlivých chemických specií ve vzorku.
- c) Speciace prvku; speciace. Rozdělení prvku na definované chemické specie v systému.

3 DEFINICE FRAKCIONACE

K frakcionaci bývá přikročeno, nelze-li provést prvkovou speciací [1].

Dle IUPACu je frakcionace definována jako proces klasifikace analytu nebo skupiny analytů v určitém vzorku podle fyzikálních (např. velikost, rozpustnost) nebo chemických (např. typ vazby, reaktivita) vlastností [3].

4 PŮDA A PRVKY V NÍ OBSAŽENÉ

Pedosféra (půda) tvoří nejsvrchnější část litosféry a představuje pro živé organismy přímý i zprostředkovaný zdroj živin, protože na její kvalitě závisí růst a vývoj rostlin, které stojí na počátku potravního řetězce [4].

Jednou ze zvláštností půdy je omezená možnost migrace látek v ní obsažených, což vede v případě soustavného znečišťování k hromadění škodlivin a následnému znehodnocení půdy, které se ale projeví ve větším měřítku až po dlouhé době [2].

Pro rozvoj živých organismů musí být v půdě nutně přítomny prvky, které nazýváme makroelementy a také mikroelementy. Některé z těchto prvků jsou pro život nezbytné (esenciální), jiné mohou mít škodlivý vliv a ty se označují jako neesenciální a podle účinku na organismy se dále mohou označit za toxické, mutagenní či karcinogenní [4]. Průměrné složení půd je shrnuto v tabulce 4–1 [5].

Tab. 4–1: Průměrné složení půd; převzato z [5].

Prvek	Zastoupení v %	Prvek	Zastoupení v %	Prvek	Zastoupení v %
Kyslík	49,0	Sodík	1,1	Mangan	0,08
Křemík	33,0	Hořčík	0,8	Síra	0,04
Hliník	6,7	Draslík	1,8	Uhlík	1,40
Železo	3,2	Titan	0,5	Dusík	0,20
Vápník	2,0	Fosfor	0,08	Měď	0,002

4.1 Makroelementy půdy

Makroelementy jsou v zemské kůře zastoupeny více jak jedním váhovým procentem. Patří mezi ně 8 prvků uvedených v tabulce 4–2. Tyto prvky tvoří dohromady 97,85 % zemské kůry. Podstatná část z tohoto množství připadá na kyslík a křemík (75 %), ostatní prvky jsou zastoupeny v jednotkách procent [5].

Tab. 4–2: Procentuální zastoupení makroelementů v půdě; převzato z [5].

Prvek	Zastoupení v %	Prvek	Zastoupení v %
O	49,52	Ca	3,39
Si	25,75	Na	2,64
Al	7,51	K	2,4
Fe	4,7	Mg	1,94

4.2 Mikroelementy půdy

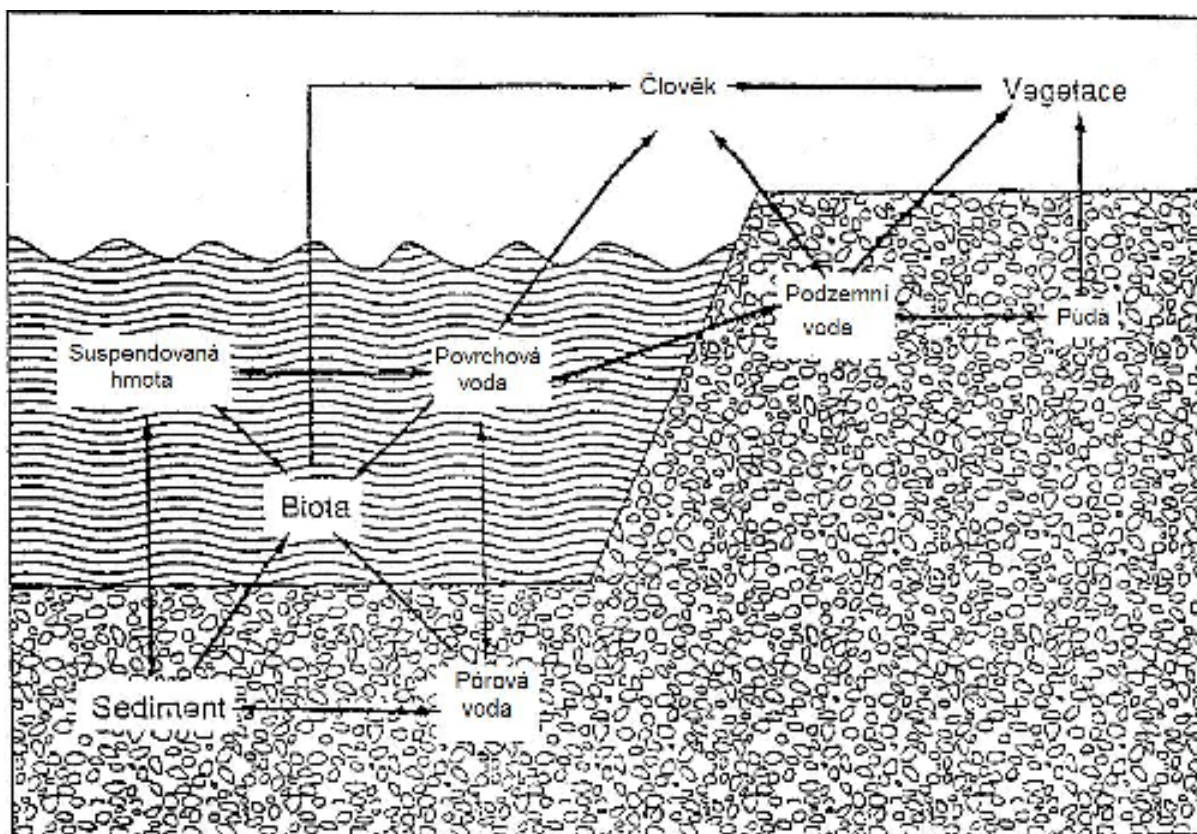
Mikroelementy bývají též označovány jako stopové prvky. Jsou to všechny ostatní prvky, zastoupené v zemské kůře méně než 1 % váhovým. Z hlediska biochemie můžeme tyto prvky dělit na biogenní a biochemicky neznáme. Zastoupení biogenních prvků je zobrazeno v tabulce 4–3. Většina organismů je na zastoupení mikroelementů velmi citlivá, větší množství může ale mít i toxické účinky [5].

Tab. 4–3: Procentuální zastoupení mikroelementů v půdě; převzato z [5].

Prvek	Zastoupení v %	Prvek	Zastoupení v %
H	0,880	Zn	0,020
Cl	0,188	Co	0,004
P	0,120	Cu	0,003
C	0,087	B	0,001
Mn	0,080	Mo	0,001
S	0,048	Br	0,0006
N	0,030	Ga	0,0005
F	0,027	I	0,00003

4.3 Biodostupnost

Biodostupné frakce kovů představují část z celkového množství, které je dostupné pro včlenění do fauny a flóry. Nejvýznamnější kovy dle U.S. Environmental Protection Agency (EPA) jsou Al, As, Be, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni, Pb, Se a Sb. Méně významné kovy pak jsou Ag, Ba, Co, Mn, Mo, Na, Ti, V a Zn. Významné kovy byly vybrány z důvodu zvýšeného zdravotního rizika pro člověka. Všechny tyto kovy mohou být rozptýleny v povrchových a podzemních vodách, v půdách a pórových vodách sedimentů jak je zobrazeno v obrázku 4–4 [6].



Obrázek 4–4: Vztahy mezi kovy, člověkem a životním prostředím; převzato z [6]

Obecně je biodostupnost celkovou funkcí mnoha faktorů, mezi které se řadí celková koncentrace a chemická forma kovů, mineralogie, pH, redox potenciál, teplota, celkový obsah organické hmoty a suspendovaných částic, objem vody a rychlost toku. Mnohé ze zmíněných faktorů jsou proměnné v čase (roční období) a vzájemně mezi sebou souvisí [6].

4.3.1 Faktory ovlivňující biodostupnost v půdách

Do potravního řetězce se stopové prvky z půdy dostávají přes rostliny. Do rostlin se prvky dostávají transportem přes kořeny, průchodem membránami epidermálních buněk kořenů, následným transportem prvků z epidermálních buněk do xylému. Z xylému jsou prvky dále přenášeny do výhonků, listů a také zásobních tkání [6].

Po absorpci rostlinami jsou kovy dostupné býložravcům a následně přes potravní řetězec člověku. Transportu z půdy ke kořenům je limitujícím krokem při vstupu těchto prvků do potravního řetězce. Tento krok je obvykle závislý na koncentracích prvků v půdních roztocích, které jsou regulovány fyzikálními a chemickými podmínkami [6].

Mobilita a dostupnost prvků v půdách je také spojená s půdními typy, které jsou silně ovlivňovány klimatem.

Druhy rostlin, relativní hojnost a dostupnost nezbytných prvků regulují rychlost absorpce kovů, protože např. velké množství nepostradatelných biodostupných živin může snižovat příjem neesenciálních prvků, jako jsou arsen a kadmium. Biodostupnost může také souviset s aktuálními koncentracemi ostatních látek [6].

4.3.2 Faktory ovlivňující rozdělení kovů v půdách

Po uvolnění do vodného prostředí, ale před absorpcí organismy, jsou kovy rozděleny mezi pevnou a kapalnou fázi. V každé z nich dochází k dalšímu dělení mezi ligandy, které je určováno jejich koncentracemi a silou vazby kov-ligand [6]. V půdě mohou být kovy rozděleny do šesti frakcí [7]:

- a) Rozpuštěná frakce – skládající se z kovových kationů, hydratovaných iontů a z uhličitánových komplexů.
- b) Vyměnitelná frakce – tvořená kovy vázanými na koloidní nebo pevné částice.
- c) Uhličitánová frakce – je tvořena kovy asociovanými s uhličitany v naplavených horninách a půdách. Je citlivá ke změnám pH.
- d) Frakce železnato-manganatých oxidů – sestává z kovů adsorbovaných na částice oxidů. Ty jsou výbornými adsorbéry kovů a jsou termodynamicky nestabilní za bezkyslíkatých podmínek
- e) Organická frakce – je složena z kovů vázaných na různé formy organické hmoty (např. živé organismy, detrit apod.). Za oxidačních podmínek může být organická hmota degradována, což vede k uvolňování rozpustných stopových kovů.
- f) Residuální frakce – tvořená převážně z primárních a sekundárních minerálů, u kterých jsou v krystalové struktuře vázány kovy normálně biotě nedostupné.

Rozdělení kovů do uvedených frakcí je ovlivňováno především změnou pH, redoxním potenciálem, obsahem organické hmoty a dalšími faktory. Hodnota pH ovlivňuje např. rozpustnost hydroxidů kovů (roste s klesajícím pH), která zapříčiní potenciální dostupnost pro včlenění do biologických procesů. Množství adsorbovaných kovů může také ovlivnit koncentrace Mg^{2+} , Ca^{2+} a jiných iontů, které s kovy pak soutěží o adsorpční místa a tím se mohou snižovat množství adsorbovaných kovů [6].

Adsorpce kovů na povrch nerozpuštěných látek také značně závisí na velikosti částic. Malé částice mohou poskytnout větší možnost adsorpce než částice velké, pokud mají větší poměry mezi plochou a povrchem vztaženém na hmotu [6].

5 TOXIKOLOGICKY VÝZNAMNÉ PRVKY V ZEMĚDĚLSKÝCH PŮDÁCH

5.1 Železo

Největší část je vázána v krystalových mřížkách různých primárních a sekundárních minerálů. Z primárních jsou to např.: augit, biolit, amfibol, olivín aj.; ze sekundárních montmorillonit, illit a vermikulit. Vysoký podíl železa je také v oxidované formě (goethit, hematit, magnetit, limonit). Dále ve formě siřníku, hydroxidů, karbonátů, fosforečnanů a dalších [8].

Minerály obsahující železo se v půdě rozkládají působením vzdušného kyslíku a železitých bakterií, přičemž je Fe^{2+} oxidováno na Fe^{3+} . Podíl Fe^{2+} a Fe^{3+} v půdním roztoku je závislý na pH a mění se v závislosti na redoxpotenciálu půdy. Při pH 3 se vysráží $Fe(OH)_3$, kdežto

$\text{Fe}(\text{OH})_2$ se sráží až při neutrální reakci. Nízká hodnot redox potenciálu může vést až k toxickým koncentracím pro rostliny [8].

Je to také mnohostranně biologicky významný prvek, v lidském organismu důležitý pro krvetvorbu a přenos kyslíku. Denní dávka pro člověka činí přibližně 20 mg [9].

5.2 Mangan

V půdě se vyskytuje jako Mn^{2+} , Mn^{3+} a Mn^{4+} . Nachází se v primárních minerálech, ve formě různých amorfních nebo krystalických bezvodých či hydratovaných oxidů (MnO_2 , $\text{MnO}_2 \cdot n \text{H}_2\text{O}$, Mn_2O_3 , $\text{Mn}(\text{OH})_2$) [8].

V organické formě je zastoupen v půdě v malém množství (org. zbytky, organická hnojiva).

Sloučeniny obsahují mangan Mn^{3+} a Mn^{4+} mohou být redukovány na Mn^{2+} a převedeny do rozpustné nebo výměnné formy. Redukovatelnost ovlivňuje hlavně vlhkost, teplota, redoxpotenciál, pH půdy a nasycenost půdního roztoku CO_2 . Vápnění upravuje pH a tím snižuje i obsah vodorozpustných forem manganu v půdním roztoku [8].

5.3 Chróm

Je esenciální stopový prvek, zasahující do metabolismu cukrů a tuků. Hlavním zdrojem výskytu v životním prostředí je metalurgický průmysl, dalšími jsou pak kožedělný průmysl, výroba barev a impregnace dřeva. V půdě se množství chrómu obvykle pohybuje v rozmezí 10 až 100 mg/kg [9], [10].

Z toxikologického hlediska jsou významné hlavně sloučeniny Cr^{6+} (v závislosti na pH se vyskytuje ve formě chromanu nebo dichromanu), které mají oxidační účinek, kdy rozpustné sloučeniny mají mutagenní a karcinogenní vlastnosti. Antidotem je kyselina askorbová, která redukcí převádí na netoxické sloučeniny Cr^{2+} a Cr^{3+} , které jsou prakticky netoxické [9], [10].

Ve většině zemin se Cr^{3+} vyskytuje ve formě oxidu nebo hydroxidu chromitého. Mezi významné sloučeniny patří oxid chromový (CrO_3), který má účinky rozpustných solí Cr^{6+} . Letální dávka per os je 1 až 2 g pro člověka. Chlorid chromylu (CrO_2Cl_2) je karcinogen. Chromany (CrO_4^{2-}) mají účinky rozpustných solí Cr^{6+} , vstřebávají se i pokožkou, jsou méně toxické než dichromany ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), jsou silně karcinogenní. Smrtelná dávka $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ per os je cca 2 g pro dospělého člověka. Hexakarbonyl chromu ($\text{Cr}(\text{CO})_6$) je vysoce toxická látka, značně těká, uvolňuje CO [9], [10].

5.4 Kadmium

Ve sloučeninách se vyskytuje v oxidačním čísle II a mají silný sklon k tvorbě komplexů. V přírodě se vyskytuje jako příměs zinečnatých rud, jako jsou kalamín a zinkové blejno [13].

Ve vodě je v případě kyselého a neutrálního prostředí ve formě hydratovaných kademnatých iontů. Ty mohou snadno tvořit chlorokomplexy (CdCl^+ , CdCl_2 , CdCl_3^-). V alkalickém prostředí je naopak možno najít formy CdOH^+ , $\text{Cd}(\text{OH})_2$ a CdCO_3 [11].

V povrchových vodách může být koncentrace rozpuštěného kadmia ovlivněna procesy adsorpce a desorpce kadmia na sedimentech, přičemž sorpční síla závisí na obsahu huminových látek [13].

Je velmi toxický, zvláště pak pro zárodečné buňky a proto je často příčinou neplodnosti. Zdrojem kadmia v životním prostředí jsou metalurgický průmysl, výroba pigmentů a elektrotechnický průmysl. V půdě se vyskytuje v množství pohybujícím se v rozmezí 0,01–15 mg·kg⁻¹. V zeminách a podzemních vodách se převážně vyskytuje v oxidačním stavu Cd²⁺ [12],[9], [10].

5.5 Měď

Měď se ve sloučeninách vyskytuje hlavně v oxidačních stavech I a II. Nejstálější jsou sloučeniny měďnaté. V přírodě se vyskytuje v malém množství jako čistý kov, nejčastěji pak ve formě sulfidu, oxidu a uhličitanu. Hlavními rudami jsou chalkopyrit CuFeS₂ (kyz měděný), chalkozin Cu₂S (leštěnec měděný), kuprit Cu₂O a malachit Cu(OH)₂·CuCO₃. Snadno také tvoří komplexy díky výrazným komplexotvorným schopnostem v oxidačním stupni II [13].

Ve vodách se vyskytují kromě Cu²⁺ iontu, především hydroxokomplexy [CuOH]⁺, [Cu(OH)₂(aq)]⁰, [Cu(OH)₃]⁻, [Cu(OH)₄]²⁻, uhličitanové komplexy [CuCO₃(aq)]⁰, [Cu(CO₃)₂(aq)]²⁻, [Cu(CO₃)OH]⁻, [Cu(CO₃)(OH)₂]²⁻ a v některých případech také hydrogenuhličitany [CuHCO₃]⁺. Při pH nad 10 se tvoří také trihydroxo a tetrahydroxoměďnatany. Stabilní jsou aminokomplexy [Cu(NH₃)]²⁺ až [Cu(NH₃)₅]²⁺ a kyanokomplexy [Cu(CN)₂]⁻ i [Cu(CN)₄]³⁻. Měď tvoří dále stabilní fosfatokomplexy [CuH₂PO₄]⁺ a [CuHPO₄]⁰. S organickými látkami vytváří velmi stabilní komplexy [13].

Zdrojem mědi v životním prostředí je hlavně elektrotechnický průmysl a výroba slitin [10]. Typická koncentrace v půdě je asi 20 µg·g⁻¹. Vyšší koncentrace se mohou objevit např. v lokalitách, kde se používají pesticidy s obsahem mědi [2].

5.6 Nikl

Nejčastěji se vyskytuje v oxidačním stavu II, maximální oxidační stav je IV. V přírodě se nikl vyskytuje především ve formě rud (např. garnierit (Ni,Mg)₆Si₄O₁₀(OH)₈, limonit (Fe,Ni)O(OH)·nH₂O, pantlandit (Ni,Fe)₉S₈, nikelin NiAs, smaltin (Ni,Co,Fe)As₂ a gersdorfit NiAsS) [13].

Ve vodě se nikl vyskytuje ve formě iontu Ni²⁺, v alkalickém prostředí také ve formě hydroxokomplexů [NiOH]⁺ až [Ni(OH)₄]²⁻, karbonatokomplexu [NiCO₃(aq)]⁰ a sulfatokomplexu [NiSO₄(aq)]⁰. Rozpuštěnost niklu ve vodě je limitována uhličitanem NiCO₃(s), hydroxidem Ni(OH)₂(s) nebo sulfidem NiS(s). Při pH 5–9 se nikl sorbuje na oxidy železa a manganu nebo tvoří komplexní sloučeniny s anorganickými ligandy [13].

V organismu se vyskytuje pouze ve stopách a není známa jeho přesná biologická funkce. Z toxikologického hlediska je však významný jed. U sulfidu NiS, oxidu NiO a tetrakarbonyl niklu [Ni(CO)₄] je podezření na karcinogenitu. Tetrakarbonyl niklu ([Ni(CO)₄]) je mimořádně toxický [9].

5.7 Olovo

V sloučeninách se olovo vyskytuje nejčastěji jako dvojmocné. Jako čtyřmocné je mnohem méně stálé. V organokovových sloučeninách se vyskytuje pouze v oxidačním čísle IV [13].

Jako nejrozšířenější těžký kov se vyskytuje v půdě i vodách. Nejdůležitější rudy obsahující olovo jsou galenit PbS, cerusit PbCO₃ a anglesit PbSO₄ [13]. V půdě se olovo vyskytuje ve třech oxidačních stavech Pb⁰, Pb²⁺, a Pb⁴⁺ [12], [10].

Je to jedovatá látka, která se kumuluje v kostech. V posledních desetiletích zamořuje životní prostředí přes průmyslové sloučeniny (hutní průmysl, výroba olovnatého skla, energetika) [9]. Typická koncentrace v půdě se pohybuje kolem $20 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ a v blízkosti frekventovaných komunikací může dosahovat přes $600 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ [2]. Rozpustné soli olova jsou vysoce toxické [9].

5.8 Rtuť

Je jed inhibující enzymy obsahující sulfhydrylové skupiny. Toxické vlastnosti jsou závislé na chemickém složení a formě příjmu [9]. Zdroji rtuti v prostředí jsou zpracování rud, elektrotechnický průmysl, elektrochemické výroby, spalování uhlí a výroba ochranných přípravků pro zemědělství [10]. Typické koncentrace v půdě se pohybují kolem $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ [2]. V půdě se může vyskytovat v oxidačních stavech Hg^0 , Hg_2^{2+} a Hg^{2+} . Ochotně tvoří komplexy s organickými složkami zeminy, proto jen málo zůstává ve formě volných iontů. U kovů neobvyklé je těkání rtuti, které je zodpovědné za její šíření složkami životního prostředí [10].

Ve vodě se vyskytuje ve slabě kyselém prostředí ve formě dvojmocné anorganické rtuti jako chlorokomplexy (HgCl^+ , HgCl_2 a HgCl_3^-) za přítomnosti chloridových iontů. Ionty Hg^{2+} při $\text{pH} = 2 - 6$ hydrolyzují na HgOH^+ a $\text{Hg}(\text{OH})_2$. V alkalickém prostředí se rtuť vyskytuje hlavně ve formě $\text{Hg}(\text{OH})_2$, v neutrálním pak jako HgOHCl . Dále se může vyskytovat v organické formě a to jako CH_3HgOH [11].

5.9 Zinek

V přírodě se vyskytuje ve formě rud, mezi nejdůležitější patří sfalerit ZnS , zinkit ZnO , smithsonit ZnCO_3 (kalamín), willemmit ZnSiO_4 a hemimorfít $\text{Zn}_2(\text{OH})_2\text{SiO}_3$ [13].

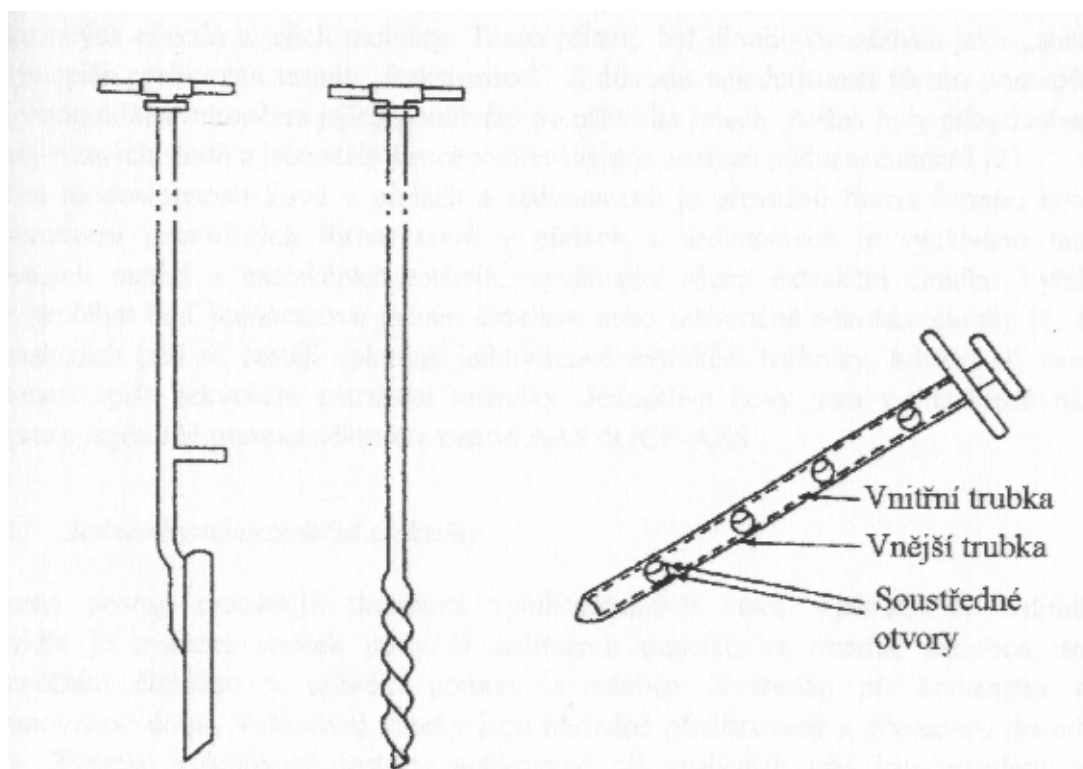
Ve vodě se zinek vyskytuje jako jednoduchý ion Zn^{2+} , ve formě hydroxokomplexů $[\text{Zn}(\text{OH})]^+$, $[\text{Zn}(\text{OH})_2(\text{aq})]^0$, $[\text{Zn}(\text{OH})_3]^-$, $[\text{Zn}(\text{OH})_4]^{2-}$ a uhličitanových komplexů $[\text{Zn}(\text{CO}_3)(\text{aq})]^0$, $[\text{Zn}(\text{CO}_3)_2]^{2-}$, $[\text{ZnHCO}_3]^+$. V případě vysoké koncentrace síranů také ve formě sulfatokomplexu $[\text{ZnSO}_4]^0$. S organickými látkami ve vodách tvoří komplexy. Rozpustnost zinku ve vodě je omezena rozpustností $\text{ZnCO}_3(\text{s})$ a $\text{Zn}_5(\text{OH})_6(\text{CO}_3)_2(\text{s})$. Stabilita těchto sloučenin je závislá na hodnotě pH a na koncentraci veškerého oxidu uhličitého [13].

Pro člověka je esenciálním prvkem a jeho nedostatek může zapříčinit špatné hojení ran, případně malý vzrůst nebo opožděnou pubertu [9].

6 VZORKOVÁNÍ PŮDY

Půda je specifická značně omezenou migrací složek. Z toho důvodu je vzorkování půdy problém, protože stanovení analytu probíhá v heterogenní matrici, kde může být analyt distribuován nerovnoměrně jak horizontálně, tak vertikálně. Velikost a počet vzorků a také výběr vzorkovacích míst, tak rozhodují o finálně stanovené koncentraci analytu [2]. Hlavní zásadou při vzorkování půd je fakt, že odběr půd musí mít ve zkoumaném úseku přibližně stejné chemické a fyzikální vlastnosti jako ostatní půda přítomná ve zkoumané části. Vzorek obsahuje pouze malé množství v porovnání se zkoumanou částí půdy. Proto je třeba odběr provádět velmi pečlivě tak, aby co nejvíce vyjadřoval průměr celého bloku. [4]. Při vzorkování neznámého místa je nutné provést orientační vzorkování pro získání základní informace o heterogenitě vzorků. Lze tedy odebrat více vzorků a provést předběžnou analýzu

u několika z nich. V případě heterogenity je nutné analyzovat i ostatní odebrané vzorky, v opačném případě je možné vzorky z analýzy vyřadit [2].



Obrázek 6–1: Sondy pro odběr půdy; převzato z [2].

Vzorky při vzorkování jsou většinou odebírány sondovací pedologickou tyčí potřebné délky. Jeden průměrný vzorek je tvořen minimálně ze 30 vpichů. Na obr. 6–1 jsou znázorněny sondy jako např. upravený rýč (obr. 6–1, vlevo), spirálový vrták (obr. 6–1, uprostřed), trubkový vzorkovač (obr. 6–1, vpravo). Hloubka vzorkování se odvíjí od druhu a způsobu obdělávání půdy. Normální hloubka se pohybuje mezi 15 až 25 cm. Množství vzorku odebraného v terénu se může lišit v závislosti na podmínkách, jedná se o poměrně velká množství základního neupraveného vzorku půdy, které se pohybuje v rozmezí 0,5 až 1 kg vzorku. V terénu se poté tyto vzorky je-li potřeba rozdrtit, poté dokonale promísí. Z nich získaný řádně označený laboratorní vzorek se odesílá do laboratoře k dalšímu zpracování. Řádné označení by mělo obsahovat následující atributy [2], [4]:

- 1) jméno toho, kdo vzorek odebral
- 2) datum
- 3) označení místa odběru
- 4) velikost, popř. typ vrtáku nebo trubky
- 5) hloubku odběru
- 6) popis typu půdy
- 7) hloubku hladiny spodní vody (pokud je známa).

Popis dále může obsahovat dodatečné informace týkající se např. teploty, srážek, způsobu obdělání pole atd. [2].

Při vzorkování se kromě znalosti charakteristiky pozemku vyžaduje i účast odpovědné osoby, která by měl rozhodovat o hustotě a místech odběru jednotlivých dílčích vzorků [4].

7 ÚPRAVA VZORKU

7.1 Sítování

V laboratoři je vzorek půdy zbaven hrubých nečistot (kameny, dřevo, tráva), usušen a přesit. Sítování probíhá obvykle na sítích s hrubostí ok 2 mm. Laboratorní vzorek je nutné následně rozdělit na několik analytických vzorků. Jeden z nich je usušen do konstantní hmotnosti pro získání údaje sloužícího k přepočítání výsledků na suchou půdu. Dělení terénního vzorku na menší části přináší do konečného výsledku nejistoty, a proto by měl být zjištěn rozptyl výsledků způsobený těmito děleními [2].

7.2 Kvartace

Přesítování a hrubých nečistot zbavený vzorek se vysype na kuželovitou hromadu. Vrchol se rozdělí na 4 kvarty okolo osy kužele. Dva protilehlé kvadranty jsou brány jako vzorek v kvartaci a v ní se pokračuje stejným způsobem do té doby, než se dosáhne váhy potřebné pro chemickou analýzu nebo další úpravu vzorku [2], [4].

7.3 Mineralizace

Mineralizace je technika používaná pro převod vzorku z pevné do kapalné fáze. Většina analytických technik používaných k analýze jsou totiž tzv. roztokovými technikami. Během rozkladu dochází odstraněním organické matrice k dosažení vhodnější konzistence, snížení viskozity a hlavně zvýšení homogenity. Dle postupu se dají mineralizační metody rozdělit na tři skupiny [14]:

- a) Metody rozkladu na suché cestě
- b) Metody rozkladu na mokré cestě
- c) Ostatní metody rozkladu (např. enzymový rozklad, UV fotolýza)

7.3.1 Metody rozkladu na suché cestě

Obecně se jedná o rozklad v otevřeném systému a při atmosférickém tlaku. Jednotlivé kroky rozkladu sestávají ze sušení (např. v sušárně), zuhelnatění (teplota se pohybuje v rozmezí 200 až 400 °C), zpopelnění (teploty v rozmezí 450 až 500 °C po dobu 10 až 16 hodin) a loužení popela (nejčastěji za použití minerálních kyselin jako HCl nebo HNO₃). Pro zvýšení účinnosti je dobré vložit roztok s popelem do ultrazvukové lázně. Tyto procesy je možné podpořit přidávkou pomocného činidla, které má zvýšit celkovou účinnost rozkladu. Bod, ve kterém by se toto činidlo mělo použít, není jednoznačně určen, protože každá varianta má své výhody i nedostatky. Jednou možností je aplikace po vysušení vzorku před zahájením zuhelnatění a druhou možností je aplikace po skončení zpopelnění. Většinou se používají látky s oxidačními schopnostmi (např. HNO₃, Mg(NO₃)₂). V některých případech může pomocné činidlo zastat více úloh, mezi které může například patřit převod analytu do méně těkavé formy (např. převod Pb pomocí H₂SO₄ nebo K₂SO₄). Koncentrace jednotlivých

kyselin a délky různých kroků se v odborné literatuře liší, každá publikace poskytuje mírně odlišné návody [15], [14].

7.3.2 Metoda rozkladu na mokré cestě

Jedná se o rozkladnou metodu, při které jsou použity koncentrované minerální kyseliny za zvýšené teploty a atmosférického tlaku. Celý proces je možno popsat dvěma kroky. V prvním kroku dochází k rozrušení struktury matrice kyselou hydrolýzou a v druhém kroku k následné oxidaci meziprojektu. Rychlost reakce je úměrná reakční teplotě, která je omezena teplotou varu směsi oxidačních činidel. Lze ji také ovlivnit přidávkem katalyzátoru (např. sloučeniny V nebo Mo). Jako oxidační činidlo se může použít buď HNO_3 nebo směsi jako jsou $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$, $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$, $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$, $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$. Z těchto kombinací směsí jsou nejúčinnější ty, kde je použita HClO_4 , která s sebou ale přináší nebezpečí výbuchu při nedodržení přísných pravidel bezpečné práce s touto kyselinou. Celkový přehled je shrnut v tabulce 7–1, která pojednává o vhodnosti činidel pro jednotlivé matrice [14].

Tab. 7–1: Shrnutí činidel pro rozklad na mokré cestě; převzato z [14].

Činidlo	Matrice	Poznámky
$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HNO}_3$	Univerzální	nejčastěji používané; možná těkavost Se, Hg, As, Ge atd.
$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$	Univerzální	ztráty Pb koprecipitací s CaSCH ; ztráty Ge, As, Ru, Hg, Se a mnoha dalších prvků
HNO_3	Biologické materiály	HNO_3 se snadno čistí, rozpustné nitráty kovů, neúplný rozklad
$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	Biologické materiály	rychlá metoda rozkladu pro malé vzorky
HClO_4	Biologické materiály	nebezpečí exploze
$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HClO}_4$	Univerzální	vhodná pro malé vzorky, nebezpečí exploze
$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HClO}_4 + \text{HNO}_3$	Univerzální	s přísnou kontrolou teploty bez problémů; As, Sb, Hg, Fe aj. těkají
$\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$	Biologické materiály	méně explozivní, žádné ztráty Pb
$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}$	Biologické materiály (ne tuky a oleje)	rozklad OH radikály, nízká teplota rozkladu (100°C), tudíž malé nebezpečí vytékání prvků, vhodné pro velké vzorky
$\text{HClO}_3 + \text{HNO}_3$	Biologické materiály	velký oxidační potenciál, žádné riziko exploze, žádné ztráty těkavých prvků jako Hg, As, Se, I
$\text{HNO}_3 + \text{HCl}$		lučavka královská

Průběh mokrého rozkladu může být buď v otevřeném systému, nebo v uzavřeném systému. V uzavřeném systému je rozklad účinnější, protože dochází k minimálním ztrátám těkavých prvků. Je možné zamezit kontaminaci z vnějších zdrojů, dále dochází k menší spotřebě reakčních činidel a také lze dosáhnout vyšších teplot v uzavřeném systému a zároveň vyšších tlaků. K zahřívání média se používá konvenční ohřev (elektrické zdroje tepla s termostatem) a mikrovlnný ohřev, který v dnešní době převládá, protože nedochází k primárnímu ohřevu nádob, ale ohřev nastává přímo ve směsi rozkládaného materiálu. Mezi další výhody mikrovlnného ohřevu patří zkrácení doby rozkladu vzorků, úspora kyselin a energie potřebné na rozklad, zkrácení působení okolního prostředí na vzorek a snížení kontaminace vzorku

díky nižší spotřebě činidel. U otevřeného systému je používán chladič, díky kterému dochází do jisté míry k snížení spotřeby reakční směsi a tím zefektivnění metody [14].

8 SPECIAČNÍ ANALÝZA A FRAKCIONACE

8.1 Metody speciální analýzy a frakcionace

V dnešní době se používá množství separačních a prekoncentračních technik a postupů (centrifugaci a ultracentrifugaci, filtraci a ultrafiltraci a další), klasické metody založené na kinetické nebo vazebné diskriminaci iontů (jednoduchá a sekvenční extrakce, extrakce pomocí mikrovlnného záření (MAE) a teploty zákalu micelárních roztoků (CPE), extrakce tuhou fází (SPE), iontovou výměnu, techniku difuzního gradientu v tenkém filmu (DGT) a další), iontovou chromatografií a elektroseparační metody (gelová elektroforéza (GE), kapilární zónová elektroforéza (CZE) a izotachoforéza (ITP)). Seznam vybraných metod je zobrazen v tabulce 8–1 [1].

Vzrůstá obliba separační techniky s pevným sorbentem. Jedná se většinou o extrakci tuhou fází (SPE) nebo techniku difuzního gradientu v tenkém filmu (DGT) s použitím vhodného ionexu. Často používanými ionexy jsou katexové a anexové ve vysokotlaké kapalinové chromatografii (HPLC) a středotlaké kapalinové chromatografii (FPLC), gelové ionexy v gelové permeační chromatografii (SEC) a chelatační ionex, např. Chelex, Spheron a iontosorb v iontové výměně. Jako další techniky s možností on-line zapojení s detektorem se používají technika spojitě průtokové analýzy (CFA) nebo průtokové injekční analýzy (FIA) [1].

K vyhodnocení výsledků se může používat i počítačového modelování. Jedná se o výpočtové metody s využitím chemických rovnovážných modelů, pomocí nichž se dá předpovědět distribuce různých forem v roztoku. Použití výpočetních programů (např. HALTAFALL, SOLGASWATER, ALCHEMI, MINEQL+, GEOCHEM-PC, SOILEQ, SC DATABASE) vyžaduje znalost hodnoty rovnovážných konstant sloučenin přítomných ve zkoumaném roztoku, které zohledňují jejich možné vzájemné reakce při dané teplotě, iontové síle, pH a dosažení rovnovážného stavu [1].

Vzhledem k variabilitě postupů a metod není mnohdy možné výsledky získané odlišnými analytickými metodami v různých laboratořích porovnat mezi sebou. Z toho důvodu nelze ověřit správnost výsledků, k čemuž přispívá i nedostatek certifikovaných komerčních referenčních materiálů (RM) pro tyto účely [1].

Z výše popsaných problémů pak vyplívá, že je důležité vypracovat rychlou, spolehlivou a jednoduchou metodiku pro stanovení specií, která by měla být standardizovatelná, aby se pro ni mohly pro dané analyty připravit vhodné RM [1].

Tab. 8–1: Vybrané separační techniky používané v současnosti na speciální analýzu a frakcionaci; převzato z [1].

Separační a prekoncentrační techniky	Metody založené na kinetické nebo vazebné diskriminaci iontů
Filtrace a ultrafiltrace	Metoda jednokrokové a sekvenční extrakce
Centrifugace a ultracentrifugace	Mikrovlnná extrakce (MAE)
Dialýza	Extrakce pomocí teploty zákalu micelárných roztoků (CPE)
Gelová permeační chromatografie (SEC)	Extrakce tuhou fází (SPE)
Chromatografické a elektroseparační metody	Iontová výměna
Vysokotlaká kapalinová chromatografie (HPLC)	Technika difuzního gradientu v tenkém filmu (DGT)
Středotlaká kapalinová chromatografie (FPLC)	Procedury založené na reakcích s komplexotvornými činidly
Iontově výměnná chromatografie (IEC)	Průtoková injekční analýza (FIA)
Chromatografie s obrácenými fázemi (RPC)	Spojité průtokové analýzy (CFA)
Afinitní chromatografie na imobilizovaných kovových iontech (IMAC)	Potenciometrické stanovení iontovoselektivní elektrodou (ISE)
Gelová elektroforéza (GE)	
Kapilární zónová elektroforéza (CZE)	
Izotachoforéza (ITP)	

8.2 Frakcionační analýza kovů

Jedná se o metody, které se dnes používají pro určení distribuce prvků v jednotlivých frakcích půdy. Jednotlivé postupy jsou neustále vyvíjeny a modifikovány. Stručný přehled postupů je shrnut v tabulce 8–2. Každá modifikace přináší jisté výhody oproti původní variantě, ale také tato variabilita v důsledku vedla k nepřehlednému systému a špatně reprodukovatelným výsledkům. Proto evropská komise ve svém programu nazvaném EC Standards, Measurement and Testing Programme, formálně BCR (Bureau Community of Reference) nechala vyvinout schémata, podle kterých se postupuje a které je nutné pro dosažení správných výsledků dodržet v plné míře. Dále BCR popsala tři druhy půd, které slouží jako referenční materiál [16].

Tab. 8–2: Vybraná representativní schémata sekvenčních extrakcí používaných v rozmezí let 1973 až 2000; převzato z [17].

Rok	Schéma	A	B	C	D	E	F	G
1973	MacLaren and Crawford	CaCl ₂	HOAc	—	K ₄ P ₂ O ₇	NH ₄ Ox/HOx	—	DCB
1977	Gibbs	MgCl ₂	—	—	NaOCl/ DCB ^C	—	—	DCB ^B
1977	Engler <i>et al.</i>	NH ₄ OAc	—	NH ₂ OH·HCl	—	—	H ₂ O ₂ / NH ₄ OAc	DCB
1979	Tessier <i>et al.</i>	MgCl ₂	NaOAc	—	—	NH ₂ OH·HCl / HOAc	H ₂ O ₂ / NH ₄ OAc	—
1983	Meguellati <i>et al.</i>	BaCl ₂	NaOAc ^C	—	—	NH ₂ OH·HCl / HOAcD	H ₂ O ₂ / NH ₄ OAc ^B	—
1983	Shuman	Mg(NO ₃) ₂	—	NH ₂ OH·HCl ^C	NaOCl ^B	NH ₄ Ox/HOx	—	—
1984	Salomons and Förtsner	NH ₄ OAc	NaOAc	NH ₂ OH·HCl	—	NH ₄ Ox/HOx	H ₂ O ₂ / NH ₄ OAc	—
1986	Miller <i>et al.</i>	Ca(NO ₃) ₂ / Pb(NO ₃) ₂	HOAc/ Ca(NO ₃) ₂	NH ₂ OH·HCl	K ₄ P ₂ O ₇	NH ₄ Ox/HOx	—	NH ₄ Ox/ HOx
1990	Elliot <i>et al.</i>	MgCl ₂	NaOAc	—	Na ₄ P ₂ O ₇ ^D	NH ₄ Ox/HOx ^C	—	—
1993	Ure <i>et al.</i> (BCR)	—	HOAc	NH ₂ OH·HCl	—	—	H ₂ O ₂ / NH ₄ OAc	—
1995	Krishnamurti <i>et al.</i>	Mg(NO ₃) ₂	NaOAc	NH ₂ OH·HCl ^D	Na ₄ P ₂ O ₇ ^C	NH ₄ Ox ^F	H ₂ O ₂ / Mg(NO ₃) ₂ ^E	NH ₄ Ox/ AA
1995	Campanella <i>et al.</i>	—	NH ₄ OAc	NH ₂ OH·HCl / HOAc	—	—	HCl ^C / NaOH ^D / HNO ₃ ^E	—
1999	Sahuquillo <i>et al.</i> (Modified BCR) ^b	—	HOAc	NH ₂ OH·HCl ^b	—	—	H ₂ O ₂ / NH ₄ OAc	—

Text k tabulce 8–2, převzato z [17]:

V případě pořadí jiného než jak je uvedeno v tabulce je pořadí upraveno písmenem v horním indexu. Jednotlivé fáze jsou: A, výměnná; B, rozpustná v kyselinách; C, lehce redukovatelná (Mn oxidy); D, lehce oxidovatelná; E, středně redukovatelná (amorfni Fe oxidy); F, oxidovatelné oxidy a sulfidy; G, slabě redukovatelná (krystalické oxidy Fe). Reziduální frakce není v tabulce zahrnuta. ^bToto schéma se odlišuje od schématu popsaného v literatuře [18] hlavně v použitých koncentracích hydroxylamin hydrochloridu.

Obecně lze rozdělit extrakci na dva typy a to jednokrokovou a sekvenční. Více specifickou se metoda stává v případě použití sekvenční varianty. Jednotlivé metody jsou omezeny na určené skupiny prvků a také na typ půdy (křemičitá, uhličitá aj.) [16].

8.2.1 Jednokroková extrakce

Pro tuto metodu se používá velké spektrum látek, které zahrnuje silné kyseliny, jako jsou lučavka královská, kyselina dusičná nebo kyselina chlorovodíková, neutrální roztoky solí (hlavně CaCl_2 nebo NaNO_3). Mezi další často používaná extrakční činidla patří roztoky solí s pufrům nebo komplexotvorná činidla, díky jejich schopnosti tvořit stabilní komplexy rozpustné ve vodě pro široké spektrum kationů. Hydroxid sodný je užíván ke stanovení vlivu rozpuštěného organického uhlíku ve spojitosti s těžkými kovy v půdě. Obvyklé jednokrokové extrakce jsou v tabulce 8–3 [16].

Tab. 8–3: Nejpoužívanější jednokrokové extrakce; převzato z [16]

Skupina	Typ a koncentrace roztoku	Skupina	Typ a koncentrace roztoku
Kyselá extrakce	HNO_3 0,43-2 mol/l	Chelatační činidlo	EDTA 0,01-0,05 mol/l
	Aqua regia		pro různá pH
	HCl 0,1-1 mol/l		DTPA 0,005 mol/l + TEA
	CH_3COOH 0,1 mol/l		0,1 mol/l
	Melich 1:		CaCl_2 0,01 mol/l
	HCl 0,05 mol/l + H_2SO_4		Melich 3:
	0,0125 mol/l		CH_3COOH 0,02 mol/l
Roztok soli bez pufru	CaCl_2 0,1 mol/l		NH_4F 0,015 mol/l
	CaCl_2 0,05 mol/l		HNO_3 0,013 mol/l
	CaCl_2 0,01 mol/l		EDTA 0,001 mol/l
	NaNO_3 0,1 mol/l	Roztok soli s pufrům	NH_4 -acetát, kyselina octová
	NH_4NO_3 1 mol/l		pufr pH = 7; 1 mol/l
	AlCl_3 0,3 mol/l		NH_4 -acetát, kyselina octová
	BaCl_2 0,1 mol/l		pufr pH = 4,8; 1 mol/l

Příklady užití vybraných činidel, převzato z [19]:

- aqua regia – pro zjištění rizika možnosti rozšíření do zemědělské půdy;
- EDTA, DTPA, kyselina octová – studium mobility stop kovů, transfer mezi půdou a rostlinami, studium fyzikálně chemických procesů;
- Slabé extrakční činidla (např. chlorid vápenatý) – studium příjmu kovů rostlinami, studium úrodnosti, hodnocení rizik;
- Dusičnan sodný – hodnocení rizik a vyhodnocení víceúčelovosti půd

8.2.2 Sekvenční extrakce

Nejčastěji používaný postup je podle Tessiera et al. Tento postup umožňuje rozlišení pěti frakcí. Postup extrakce je znázorněn v tabulce 8–4. S jeho použitím nebo užitím mírně modifikované verze byla získána data o distribuci řady prvků. Existuje i řada dalších podobných procedur, které rozlišují podobné kategorie vazeb kovů v půdách a umožňují podrobnější rozlišení, např. vazby na amorfní a krystalické oxidy železa, na oxidy manganu, vazby na rozpustné a nerozpustné organické látky [11]. Další možný a široce užívaným je postup dle BCR. Tento tříkrokový postup je znázorněn v tabulce 8–5 [20].

Tab. 8–4: Sekvenční extrakce stopových prvků půd podle Tessiera; převzato z [11]

Krok	Izolovaná frakce	Extrakční činidlo
1	Iontově výměnný podíl	1 mol/l MgCl_2 , pH = 7
2	Podíl vázaný na uhličitany	1 mol/l NaOAc + HOAc , pH = 5
3	Podíl vázaný na oxidy Mn a Fe	0,04 mol/l $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ v 25 % HOAc
4	Podíl vázaný na organické látky a sulfidy	30 % H_2O_2 + HNO_3 , pH = 2 / NH_4OAc
5	Zbytkový podíl (vázaný v silikátové matici)	rozklad HF + HClO_4 (2:1)

Tab. 8–5: Sekvenční extrakce stopových prvků půd podle BCR pro 1 gram vzorku; převzato z [20]

Krok	Izolovaná frakce	Činidlo	Objem (ml)	Teplota (°C)	Délka extrakce
1	Podíl vázaný na uhličitany	0,11 mol/l CH_3COOH	40	22±5	Třepání 16 h.
2	Podíl vázaný na oxidy Mn a Fe	0,5 mol/l $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ okyselene 2 mol/l HNO_3	40	22±5	Třepání 16 h.
3	Podíl vázaný na organické látky a sulfidy	8,8 mol/l H_2O_2	10	22±5	Vyluhování 1 h.
				85±2	Vyluhování 1 h.
		1 mol/l NH_4OAc (pH=2)	10 50	85±2 22±5	Vyluhování 1 h. Třepání 16 h.

8.2.2.1 Iontově výměnný podíl

Kovy extrahované v této fázi zahrnují slabě sorbované specie kovů, zejména těch, které jsou drženy na povrchu půd relativně slabými elektrostatickými interakcemi a ty, které mohou být uvolněny iontově výměnnými procesy. Činidla používaná pro tento účel jsou elektrolyty ve vodném roztoku, jako soli silné kyseliny a zásady nebo soli slabých kyselin a zásady s pH 7 (znázorněno v tabulce 8–6) [21],[20].

Nejpopulárnější činidlo je MgCl_2 1 mol/l, které kombinuje spíše silné Mg^{2+} ionexové kapacity se slabou komplexotvornou schopností Cl^- . Toto činidlo neatakuje organickou hmotu, křemičitany nebo sulfidy kovů. Během extrakce tímto činidlem bylo zpozorováno

slabé rozpouštění uhličitánů (2–3 %), které ale mohlo být způsobeno zkrácením extrakčního času. Dále bylo zjištěno nadhodnocení vyměnitelné frakce, a to zejména v případě Cd. Komplex Cd tvořený s chloridovými ionty je stabilní při vysokých koncentracích chloridů. Během extrakce bylo také zjištěno snížení pH, což vede k částečnému rozpouštění frakce uhličitánů a oxidů manganu. Další používanou extrakcí pro stanovení iontově výměnného podílu kovů je extrakce s octany (zejména octanem amonným). Kovové komplexy tvořené s ionty octanu jsou mírně stabilnější než chloridové komplexy, což podporuje výměnu a snižuje re-adsorpci nebo srážení extrahovaných kovů. Vzhledem k pufrací stabilizaci roztoku se možnost změny pH snižuje, ale uhličitánové frakce mohou být atakovány. Aby se zabránilo těmto problémům, někteří autoři snižují koncentraci činidla na 0,01 mol/l [20], [21].

Tab. 8–6: Činidla používaná pro iontově výměnný podíl; převzato z [20]

Činidlo	Koncentrace	pH	Činidlo	Koncentrace	pH
MgCl ₂	1 mol/l	7	CaCl ₂	0,1 mol/l	7
CH ₃ COONH ₄	1 mol/l	7		0,01 mol/l	7
	1 mol/l	8	KNO ₃	1 mol/l	7
	0,01 mol/l	7	Ca(NO ₃) ₂	0,1 mol/l	7
BaCl ₂	1 mol/l	7	NH ₄ Cl	1 mol/l	7
Mg(NO ₃) ₂	1 mol/l	7	NH ₄ NO ₃	1 mol/l	7
	0,5 mol/l	7			

8.2.2.2 Podíl vázaný na uhličitany

Tato frakce je citlivá na změny pH. Uvolnění kovů je dosaženo skrz rozpuštění frakce pevného materiálu při pH téměř 5 [20].

Většinou se používá pufovaná kyselina octová nebo roztok octanu sodného. Přehled užívaných činidel je znázorněn v tabulce 8–7. Kovové frakce izolované při těchto podmínkách mohou být přítomny jako spolu srážené s uhličitánovými minerály, ale také jako specificky sorbované na některých místech povrchu jílu, organické hmoty a oxyhydroxidů Fe/Mn. Toto činidlo je dobře přizpůsobeno k rozpouštění uhličitánů vápenatých, ale rozpouštění dolomitu není úplné. Navíc snížení pH ze 7 (pH na extrakci roztoku použité v prvním kroku) na 5 by uvolnilo zbývající specificky adsorbované stopové ionty kovů, které unikly při extrakce v předchozím kroku [21],[20].

Velká část z celkového množství manganu je často nalezena v extraktu kyseliny octové, případně octanu sodného. Tessier et al.[22] ve studiu na sedimentech zjistil, že Fe a Mn nalezené v této druhé frakci byly v redukovaném stavu, a proto nebyly získány z částečného ataku oxidů Fe/Mn. Podle Xiao-Quan, Bin [23] a Arunachalam et al. [24], Mn extrahovaný tímto činidlem mohl pocházet z rozpuštěných uhličitánů Mg/Ca, kde Mn²⁺ se mohou nahradit za Mg²⁺ stejně jako Ca²⁺ v uhličitánových minerálech, tím spíše pro Mg v dolomitu než Ca v kalcitu. Je možná i specifická adsorpce Mn na povrchu kalcitu. V průběhu extrakce bylo v některých případech pozorováno částečné rozpuštění pyrhotinu (FeS), stejně jako sulfidu olovnatého [20].

Provozní podmínky definované v Tessierově schématu jsou přijatelné pro nízký obsah uhličitánů v půdě. Neúplné rozpuštění této fáze bylo pozorováno v případě sedimentů s vysokým obsahem uhličitánu (16 % CaCO₃). Proto rozpuštění uhličitánu pokračuje v průběhu následujícího kroku schéma, což vede k nadhodnocení třetí (redukovatelné) frakce.

Ve skutečnosti je účinnost rozpouštění uhličitanů závislá na několika parametrech vzorku: velikost zrna, charakter uhličitanů a velikosti vzorku. S cílem získat poměrně vysoké procento rozpuštění (90 %) se doporučuje použít minimální poměr pevné látky ku kapalné (1:25) a přizpůsobit jej podle počátečního obsahu uhličitanu v materiálu. Ma a Uren [25] ve své práci raději použili více koncentrovaný roztok octanu sodného (0,5 mol/l) při pH 4,74. Pickering [26] ve své práci doporučuje častou úpravu pH během extrakce a nárůst v době ataku. Nepufrovaný roztok kyseliny octové byl také použit k rozpouštění uhličitanové frakce, avšak je méně specifický a může atakovat křemičitany [20].

Ve zvláštních případech bylo použito kyseliny ethylendiamin tetraoctové. Vzhledem ke svým komplexotvorným schopnostem je toto činidlo méně specifické než kyselina octová nebo roztok octanu a je schopno extrahovat více ionty kovů, které byly vázány na organickou hmotu. Jeho použití obvykle předchází oxidace organické hmoty [20].

Tab. 8–7: Činidla používaná pro podíl vázaný na uhličitan; převzato z [20]

Činidlo	pH	Činidlo	pH
1 mol/l CH ₃ COONa	5	CH ₃ COOH bez pufru	
okyseleno pomocí CH ₃ COOH	4,74	0,1 mol/l	
EDTA		0,5 mol/l	
0,05 mol/l EDTA		1 mol/l	2,34

8.2.2.3 Podíl vázaný na oxidy železa a manganu

Kontrolováním pH činidla může být dosaženo rozpuštění některých nebo všech fází oxidů kovů. Nejúspěšnější činidla pro hodnocení celkového množství kovových iontů spojené s oxidy železa a manganu obsahují redukční činidlo a ligand schopný udržet uvolněné ionty v rozpuštěné formě. Účinnost činidla je určena jeho redukčním potenciálem a jeho schopnosti atakovat různé krystalické formy oxyhydroxidů Fe a Mn. Toto rozpouštění může být v jednom, dvou nebo třech krocích, oddělující amorfni nebo krystalické oxidy Mn a Fe. Nejčastěji používaná činidla jsou hydroxylamin, kyseliny šťavelové a dithioničitan [21],[20].

• Hydroxylamin

Jedná se o redukční činidlo ($E^\circ = -1,87 \text{ V}$) a jeho schopnost rozpouštění různých oxidů kovů závisí na pH, koncentraci, délce extrakce a teplotě. Chao [27] poukázal na to, že:

1. délka třepání a koncentrace výrazně neovlivňují rozpouštění oxidů Mn, které je poměrně rychlé;
2. rozpouštění oxidů Fe závisí na stejných faktorech, a je zvýhodněno zvýšením koncentrace činidla a dobou třepání;
3. snížení pH (např. s kyselinou dusičnou) upřednostňuje útok na oxidy železa.

Z těchto výsledků je možné sestavit metodu umožňující diferenciaci různých oxyhydroxidů (znázorněno v tabulce 8–8). Používání 0,1 mol/l hydroxylaminového roztoku připraveného v 0,01 mol/l kyselině dusičné (pH 2) může selektivně rozpustit oxidy Mn během 30 minut při minimalizaci extrakce železa (méně než 5 %). Aby bylo možné rozlišovat různé druhy oxidů Fe, je teplý roztok hydroxylaminu obvykle používán při pH 2, délka extrakce se pohybuje mezi 30 minutami a 6 hodinami. Kyselina octová (25 % v/v) nebo 0,25 mol/l kyseliny chlorovodíkové nahrazuje kyselinu dusičnou, aby se zabránilo problémům s resorpcí. V tomto případě se využívají komplexotvorné vlastnosti chloridových nebo octanových iontů [20].

Chao a Zhou tvrdí, že se rozpustí všechny amorfnní oxidy železa a zároveň dochází k minimalizaci ataku krystalické fáze (méně než 1 %) s použitím 0,25 mol/l roztoku hydroxylaminu v 0,25 mol/l HCl [28]. Naproti tomu jiní autoři raději preferují použití hydroxylaminu v roztoku kyseliny octové (25 % v/v). Bylo tak dosaženo vyššího extrakčního výnosu, než se získalo s $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ v kyselině dusičné [20].

Simultánní extrakce oxidů Fe a Mn může být dosažena použitím 0,02 mol/l nebo 0,04 mol/l roztoku hydroxylaminu připraveného v 25 % obj. kyseliny octové, při vysoké teplotě (96–100 °C). Tessier et al. [22] demonstroval na sedimentech, že celkový rozklad na redukovatelné železné frakce byl dosažen v 6 hodinách. Nicméně, tento protokol byl považován za nedostatečný pro extrakci železa, zejména v případě materiálů s vysokým obsahem Fe, pro které je navíc doporučen specifický krok. Celkového rozpuštění oxidů Mn, amorfnních oxidů Fe a části krystalických oxidů Fe bylo dosaženo v případě, že u znečištěné půdy bylo sníženo pH v roztoku výluhu (pH 1,7), zvýšena koncentrace $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (0,25 mol/l) a zdvojnásobením poměru pevné podílu ku kapalnému [20].

Tab. 8–8: Extrakce hydroxylaminem; převzato z [20]

Koncentrace	Činidlo	pH	T(°C)	Doba	Typ oxidu
0,04 mol/l	HOAc 25% v/v	2	96 80	6 h.	Mn, Fe
0,25 mol/l	HOAc 25% v/v	1,7	96	6 h.	Amorfnní Mn, Fe některé krystalické oxidy Fe
0,5 mol/l	HOAc 0,5 mol/l		20	24 h.	Lehce redukovatelné oxidy Fe a Mn
0,1 mol/l	HNO_3 0,01 mol/l	2	20	30 min.	Mn
0,04 mol/l	HOAc 25% v/v		20		Mn
0,1 mol/l	HNO_3 0,01 mol/l	2	25	45 min.	Lehce redukovatelné oxidy, uhličitany Fe a Mn
0,1 mol/l	HOAc 25% v/v		20 98	4 h. 1 h.	Fe, Mn oxidy
0,04 mol/l	HOAc 25% v/v	2	100	3H	Mírně redukovatelné Fe
0,1 mol/l		2	20	30 min	oxidy Mn
0,04 mol/l	HOAc 25% v/v	2	96	6H	oxidy Fe
0,25 mol/l	HCl 0,25 mol/l		50	30 min	Amorfnní oxidy Fe
0,25 mol/l	HCl 0,25 mol/l		50	40 min	Amorfnní oxidy Fe

• Oxalát / pufrovaný roztok kyseliny šťavelové

Původně bylo toto činidlo používáno na očištění půdních vzorků odstraněním železa, hliníku a oxidů křemíku. Později několik autorů používá tento postup pro charakterizaci fáze železa. Toto činidlo působí prostřednictvím své vysoké železo-komplexotvorné kapacita a nízkého redukčního potenciálu ($E^\circ = -0,38 \text{ V}$) [20].

Pro přednostní odstranění oxidů manganu je k extrakci používáno 0,2 mol/l kyseliny šťavelové nebo 0,2 mol/l roztoku šťavelanu (možnosti a způsob užití shrnuty v tabulce 8–9) při pokojové teplotě a v temnu. Za těchto podmínek se toto činidlo chová specificky pro amorfnní fázi železa s nízkým stupněm krystalinity. Podle Stanjeka a Xeidlera [29] jsou rozpustnosti oxidů železa v roztoku šťavelanu závislé na povaze a koncentraci povrchových hydroxylových skupin, a tak se snižuje stupeň krystalinity. Přestože termodynamicky je to možné, redukčním rozpouštění Fe^{3+} (hydr)oxidů šťavelanem není při nedostatku světla rychlé. V normálních podmínkách roztok šťavelanu tvoří komplex $\text{Fe}_2(\text{C}_2\text{O}_4)_3$ [20].

První krok zahrnujícím formování vnitřní sféry komplexu je rychlý. Tento krok je kineticky omezen a závisí na koncentraci oxalátu a typu oxidu. V rozmezí pH mezi 2–3 je

pufrovací účinek vysoký a udržuje konstantní pH během celého experimentu. Pokud je pH šťavelanu vyšší než 4,2, pH při extrakci již není stabilní a obsah extrahovaného železa se snižuje. Protože šťavelan je citlivý na světlo, byl využit UV katalytický efekt k urychlení útoku krystalizovaných oxidů železa [20].

Shuman [30] navrhl další krok po extrakci z amorfních oxidů Fe. Navrhovaná činidla spojují v sobě účinky Tammova činidla, teplotu a doplňující redukční sloučeniny (kyselina askorbová). Toto činidlo, adsorbované na vodnatý povrch oxidu, tvoří na povrchu komplexu Fe^{3+} ionty. Rychlost rozpuštění závisí na povrchové koncentraci iontů askorbátu a zvyšuje se, když pH klesá. Poté askorbát vymění elektrony s Fe^{3+} ionty, čímž se vytvoří povrchová vazba FeO , která je více labilní než Fe_2O_3 , a proto se snadněji odštěpí od povrchu. Za těchto podmínek je atak srovnatelný jako u dithioničitanu. Jednou z hlavních nevýhod Tammova činidla je tvorba velmi stabilních komplexů s hliníkem. Hydratované oxidy Al jsou extrahovány současně s hydroxidy železa a není možné rozlišit kovy spojené s oxidy Al od těchto spojených s oxidy Fe. Přítomnost komplexu $\text{Fe}(\text{C}_2\text{O}_4)$ v roztoku může působit jako katalyzátor a podpořit redukci Fe^{3+} iontů. To zapříčiní extrakci železa z organického komplexu. V důsledku toho nejsou činidla považována za specifická pro amorfní oxidy železa a tato frakce se nazývá šťavelanová. Nakonec, i když tvoří stabilní komplexy s většinou druhů kovových specií, může také v omezeném množství tvořit soli rozpustných šťavelanů (Ca, Pb), které mohou vést k malému navrácení olova do roztoku [20].

Tab. 8–9: Extrakce šťavelanem; převzato z [20]

Koncentrace	Medium	pH	T (°C)	Doba	Oxidy
$\text{NH}_4\text{C}_2\text{O}_4$ 0,2 mol/l $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,2 mol/l	tma	3	20	4 h.	Amorfní oxidy Fe
	tma	3,3	20		Amorfní Fe, Al a oxid křemičitý
	UV	3,3	60		Oxidy Fe
		3	20	24 h.	Slabě redukovatelné Fe and Mn
$\text{NH}_4\text{C}_2\text{O}_4$ 0,2 mol/l $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,2 mol/l Kys. askorbová 0,1 mol/l		3	97	30 min.	Krystalické oxidy Fe
$\text{NH}_4\text{C}_2\text{O}_4$ 0,2 mol/l (na úpravu pH)	tma	3,3	20	4 h.	Amorfní Fe
$\text{NH}_4\text{C}_2\text{O}_4$ 0,2 mol/l Kys. askorbová 0,1 mol/l		3,3	100	30 min.	Krystalické oxidy Fe
$\text{NH}_4\text{C}_2\text{O}_4$ 0,175 mol/l $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ 0,1 mol/l		3,25	20	15 h. máčení 2 h.	Oxidy Fe a Al
	tma	3,25	20	4h.	Amorfní Fe a Al
		3,25	100	30 min	Krystalické oxidy Fe a Al
	tma		20	4 h.	Oxidy Fe

Dithioničitan sodný ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$)

Dithioničitan sodný je silné redukční činidlo ($E^\circ = -1,12 \text{ V}$), které může rozpustit i dobře-krystalizované oxidy Fe v rozmezí pH 7–8. Aby se předešlo srážení FeS , je nutné přidat silný ligand. Extrakční roztok je pak pufrován kvůli stabilizaci pH a oxidačního potenciálu během celé extrakce [20].

Nejvíce populární metoda byla navržena Mehrem a Jacksonem [31]. Využívá roztok citrátu sodného nebo dithioničitanu sodného s přidavkem NaHCO_3 k úpravě pH na 7,3, při vysoké

teplotě (80 °C). Extrakční čas je 15 min. a úprava se opakuje jednou nebo dvakrát, podle obsahu extrahovatelného železa [20].

Podle McKeagua a Daya [32], kteří odzkoušeli metodu Mehra a Jacksona, se hodnoty dithioničitanem extrahovaného železa blíží kombinovanému obsahu amorfního a krystalického oxidu železa. Roztok šťavelanu je účinnější extraktant pro amorfní formy Al. Jeho využití pro frakcionaci stopových prvků však není bez problémů. Komerční soli dithioničitanů mohou být kontaminovány zinkem, a proto je nutné přečištění komplexu. I přes jisté nedostatky toto činidlo zůstává velmi užitečné pro hodnocení celkové reaktivní frakce Fe v pedologii a někteří autoři ho i nadále používají pro frakcionační studie [20].

8.2.2.4 Podíl vázaný na organické látky a sulfidy

Stopové prvky mohou být začleněny do mnoha forem organické hmoty včetně živých organismů, organického obalu na anorganických částicích a biotického detritu. V půdách je organický obsah složen především ze složitých polymerních materiálů známých jako huminové látky a v menší míře i z jiných produktů, jako jsou sacharidy, bílkoviny, peptidy, aminokyseliny, tuky, vosky a pryskyřice [21],[20].

Vlivem oxidačních podmínek bývá tento organický materiál degradován, což vede k uvolňování sorbovaných kovů. Oxidační činidla jako H_2O_2 ($E^\circ = 1,77\text{V}$) nebo NaClO ($E^\circ = 0,90\text{V}$) jsou často používány ve frakcionačních studiích s cílem extrahovat frakci spojenou s organickou hmotou. Přehled jednotlivých činidel je znázorněn v tabulce 8–10. Některá oxidační činidla také současně oxidují přítomné sulfidy, proto je tento krok častěji nazýván oxidační frakce [21],[20].

• Peroxid vodíku

Peroxidu vodíku se obvykle používá v roztoku zředěné kyseliny dusičné, aby se zabránilo vyplachování kovů hydroxidy Fe při vyšším pH. Oxidační proces je podporován několika hodinovým zahříváním. Během extrakce dochází k důležité adsorpci uvolněných kovů a tento krok je následován extrakcí s mírně komplexotvornými činidly, jako NH_4OAc v kyselině dusičné [20].

Přestože oxidace pomocí H_2O_2 je široce používána, byla často kritizována. Za daných podmínek H_2O_2 zcela nerozruší organickou hmotu a sulfidy jsou částečně rozpuštěné, proto tento krok nelze považovat za specifický pro kovy spojené s organickou hmotou. Během oxidace a v průběhu rozkladu organické hmoty je navíc produkována kyselina šťavelová, která je schopna rozpouštět oxidy železa a způsobit srážení mírně rozpustných šťavelanů [20].

Couturas et al. [33] studoval relevantnost výsledků získaných s H_2O_2 okyseleným kyselinou dusičnou pro rozložení organické frakce půd. Bylo zjištěno, že maximální účinnosti bylo dosaženo po 180 minutách s roztokem 2 mol/l H_2O_2 a že rozrušení organické hmoty nebylo významně ovlivněno v důsledku zvýšení hodnoty pH [20].

Peroxid vodíku má také redukční schopnosti a je schopný redukovat MnO_2 při pH menším než 5. Aby se tomuto předešlo, je extrakce pomocí H_2O_2 obvykle umístěna ve frakcionačním schéma po extrakčním kroku zaměřeném na oxidy kovů [20].

Někteří autoři upřednostňují extrakci peroxidem vodíku po rozpuštění oxidů Mn a před rozpuštěním oxidů Fe, protože pozdější krok je více či méně schopný extrahovat kovy v organických komplexech. Jiní se rozhodli oxidovat organické hmoty po iontové výměnné

kroku s cílem rozrušit organický obal částic oxidů železa a usnadnit tak další extrakční kroky. Jouanneau et al. [34] ukázal, že v tomto uspořádání je rozklad organické hmoty indukovan téměř kompletním rozrušením uhličitánů a částečnou solubilizací oxidů Mn [20].

• Chlornan sodný

Použití NaClO jako oxidačního činidla v alkalických podmínkách vede k lepšímu rozrušení organické hmoty a k minimalizaci ataku amorfních složek a jílových minerálů. Přesto však může oxidovat některé oxidy Mn na MnO_4^- ionty. Extrakce obvykle probíhá při pH 8,5 s 0,7 mol/l NaClO, při vysoké teplotě. Vzhledem k tomu, že ionty chlornanu jsou nestabilní ve vodném prostředí a poměrně rychle se rozkládají při vysoké teplotě, je vhodné použít krátké extrakce (15 min. podle Gommyho). Ačkoli někteří autoři používají delší reakční časy, jako například 30 nebo 40 min [20].

Je-li nutné dosáhnout účinného rozrušení organické hmoty, je třeba extrakci opakovat dvakrát nebo třikrát. Tento postup se obvykle používá jako druhý krok ve frakcionačním schématu, po extrakci iontově výměnné fázi. Shuman [35], který svoji metodu optimalizoval pro půdy s nízkým obsahem uhličitany, tak získal dobré výsledky. Jiní ale ukázali, že v případě vápenitých půd je významná část některých uhličitánů rozpuštěna a pH rychle klesá až na 5. To zabráňuje srážení kovových hydroxidů, ale indukuje částečné rozrušení uhličitánů, takže alespoň v případě vápenitých půd by měla být tato extrakce umístěna po uhličitánové fázi [20].

• Ostatní reagenty

$\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (difosforečnanové ionty) podporují disperzi organických koloidů v základním médiu. Difosforečnany se používají v alkalickém pH (≈ 10), které zajišťuje hydroxid sodný. Při tomto pH jsou extrahovány i amorfní oxidy. Hydroxid sodný kromě toho rozpouští nejen organickou hmotu, ale také aluminosilikáty a jíly. Alkalické difosforečnany se používají hlavně pro analýzu materiálů s vysokým obsahem organické hmoty [20].

Tab. 8–10: Činidla užívaná pro podíl vázaný na organické látky a sulfidy; převzato z [20]

Činidla	Postup	Umístění v extrakčním schématu
• H_2O_2 30% pH 2 HNO_3 0,02 mol/l	3 ml H_2O_2 +5 ml HNO_3 85°C po 2 h. 3 ml H_2O_2 85°C po 3 h. chlazení	Po rozrušení oxidů Mn a Fe Po extrakci oxidů Mn Před rozpuštěním oxidů Fe
• H_2O_2 30% pH 2 HNO_3 0,02 mol/l	5 h. při 20°C 1 h. při 98°C	Po iontově výměnném podílu Mezi extrakcí oxidů Mn a Fe
• H_2O_2 30% pH 4,74	5 ml při 85°C dvakrát	Po podílu vázaném na uhličitany Před extrakcí Fe
• NaClO 0.7 mol/l pH 8,5	Vařící lázeň 30 min. 2 extrakce 40 min. na teplém podnosu 15 min při 85°C 3 extrakce	Po iontově výměnném podílu
• NaOH 0,5 mol/l	Třepání 16 h.	Po iontově výměnném podílu Před podílem vázaným na uhličitany
• $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 mol/l, pH 10	24 h. 20 h. 16 h.	Mezi extrakcí oxidů Mn a Fe Před extrakcí oxidů Před extrakcí uhličitánů
• $\text{K}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 mol/l	24h.	Před extrakcí oxidů Mn a Fe

8.2.2.5 Zbytkový podíl

Převážnou část této frakce tvoří primární a sekundární minerály obsahující kovy v krystalické mřížce. Jejeho rozrušení je dosaženo vyluhováním silnými kyselinami, např. HF, HClO₄, HCl a HNO₃ (jednotlivé kombinace shrnuty v tabulce 8–11). Počet asociovaných kovů je vyhodnocován některými autory jako rozdíl mezi celkovou koncentrací a součtem frakcí z kovů extrahovaných během předchozích kroků [20].

Tab. 8–11: Činidla používaná pro zbytkový podíl; převzato z [20]

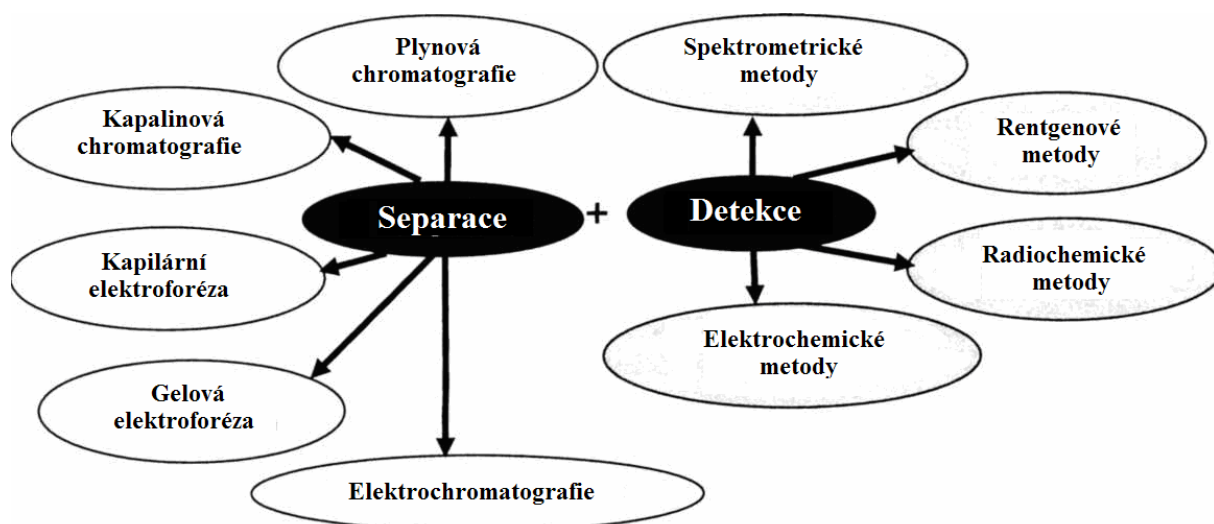
Činidla	Studované vzorky	Činidla	Studované vzorky
HF, HClO ₄	sedimenty	HClO ₄ , HNO ₃	půdy
	sedimenty, půdy	HClO ₄ , HNO ₃ , HF	sedimenty
HF, HNO ₃ , HCl	sedimenty	HF, HNO ₃	kaly
	půdy	H ₂ SO ₄ , HClO ₄ , HNO ₃ , HF	půdy
HNO ₃ , HCl	půdy	HNO ₃	sedimenty
	kaly		půdy
	odpady		kaly
HNO ₃ , H ₂ O ₂	sedimenty		

8.3 Speciační analýza kovů

Speciační analýza je definována jako stanovení koncentrací jednotlivých fyzikálně chemických forem prvku, jejich součet tvoří celkovou koncentraci prvku ve vzorku. Další význam slova speciace může také znamenat formu, ve které se prvek ve vzorku vyskytuje, tedy fyzikálně-chemický stav prvku.[36]

Problémem při speciační analýze může být změna chemických forem prvků během procesu odběru vzorku a jeho skladování a následné analýze. Forma kovu je totiž značně závislá na mnoha faktorech, jakými jsou např. přítomnost mikroorganismů ve vzorku, množství rozpuštěných a nerozpuštěných látek, pH, teplota, redoxní potenciál apod. Z těchto důvodů je výhodné používat techniky pracující *in situ*, které tyto problémy obcházejí. Nejčastěji jsou k těmto účelům používány iontové selektivní elektrody, či různé voltametrické techniky [1]. Během posledního desetiletí se také začala hojně používat technika difúzního gradientu v tenkém filmu (DGT).

K rozvoji speciační analýzy značně přispívá vývoj a zdokonalování instrumentálních metod. Spojením separačních technik, nejčastěji HPLC, IC a GC s optickou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem s technikami atomové fluorescenční či atomové spektrometrie [1] se dosahuje stále nižších mezí detekce. Analytické techniky používané pro separaci a následnou detekci různých forem kovů jsou schematicky znázorněny na obrázku 9–1.



Obrázek 9–1: Nejčastěji využívané spojení separačních a detekčních technik v speciální analýze; převzato z [1].

Při použití výše zmíněných analytických metod je třeba měřené formy kovů převést do roztoku, se kterým se dále pracuje.

To je možné uskutečnit pouze v případě, kdy jde převést pevnou látku bez ztráty nebo poškození informací o specii, což se většinou velmi náročně a neobejde se bez chyb [1].

Způsobem jak se tomu vyhnout je přímé stanovení v pevné látce. Vhodnou technikou pro ně může být např. rentgenová absorpční spektroskopie jemných struktur (X-ray absorption fine structure spectroscopy – XAFS), která má ale mnohé omezení jako např. dostupnost synchrotroního zdroje záření a nedostatečná důkazuschopnost. Jinou také využívanou technikou je rentgenová Ramanova spektroskopie (X-Ray Raman Spectroscopy) [1].

Mezi další techniky se řadí elektronová mikroskopie a rtg. mikroskopické techniky s využitím synchrotroního rtg. záření. Tyto techniky mohou být využívány k získávání informací o vlastnostech částic (struktura, oxidační formy matricových prvků). Využitím uvedených technik lze sledovat mobilitu, biologický příjem [1].

9 ZÁVĚR

Na počátku jsou vymezeny základní pojmy jako speciační analýza a frakcionace. Jejich vymezení je potřebné, protože i přes velké množství publikovaných prací na toto téma je v mnohých znát, že se definicemi dle IUPACu neřídí a zaměňují frakcionaci za speciační analýzu.

V případě, kdy chceme provádět speciační analýzu a frakcionaci je nutné držet se předepsaných schémat a mít znalosti o zkoumaném prostředí. Proto je dobré předem věnovat pozornost obecným charakteristikám půd a biodostupnosti, která určuje schopnost kovů začlenit se do fauny a flóry a umožňuje tak kovům vstupovat do potravních řetězců. U vybraných kovů je pak důležité vědět, v jakých formách se mohou v půdě nacházet, protože některé formy jsou neškodné, zato jiné svou mobilitou a toxicitou velmi nebezpečné. Jako příklad lze uvést chrom, který se v půdě vyskytuje v oxidačním stupni III a VI. Z čehož forma v oxidačním stupni III je neškodná, ale oxidační stupeň VI je velmi nebezpečný svou toxicitou.

Po zvládnutí teoretické problematiky je možné přistoupit k jednotlivým krokům předepsaného schématu. S výjimkou metod *in situ* je nutné odebrat patřičným způsobem vzorek a připravit ho až do stádia vhodného k samotné analýze. Cesta mezi odebraným vzorkem a vzorkem použitelným pro analýzu je mnohdy složitá. Hned po odebrání vzorku je nutné postupovat tak, aby nedošlo k narušení chemických rovnováh. Po dopravení vzorku do laboratoře je prováděno síťování za účelem zbavení větších pevných nečistot, kvartace a mineralizace v případech, kdy je před dalším postupem půdu nutné převést do kapalného stavu.

Při dodržení všech předepsaných postupů je pak možné přistoupit k poslední části, která se věnuje samostatné frakcionační a speciační analýze.

U frakcionace je hlavní důraz kladen na cesty použité pro extrakci kovů z jednotlivých frakcí. Existují dvě cesty, jednokroková a sekvenční. V odborné literatuře se u přesnější sekvenční extrakce vychází ze dvou základních proudů, kterými jsou Tessiera et al. [22] a liberálnější BCR [20], která byla vytvořena, aby vnesla do frakcionační analýzy řád, ale zároveň zachovala jistou míru volnosti. U obou však platí, že pro dosažení optimálních výsledků je nutné se pevně držet schématu. V současné době má frakcionační analýza ještě značné nedostatky, které se týkají chybějících referenčních materiálů, což vede k obtížné validaci výsledků.

U speciační analýzy je kladen důraz na techniky používané pro separaci a detekci jednotlivých specií, protože přesnost jejich určení je úměrná druhu instrumentální metody pro stanovení použité. S vývojem jednotlivých detekčních a separačních metod se meze detekce snižují. Dále se klade důraz na přesun celého měření směrem k samotné půdě, protože tím odpadá problém s nestabilitou odebraných vzorků. Druhou stranou pak je cenová dostupnost takovýchto metod. Proto je dnes požadavek získat přesnou, ale zároveň cenově dostupnou metodu, kterou by bylo možno měřit *in situ*.

Cílem práce bylo zpracovat literární rešerši o technikách používaných pro speciační a frakcionační analýzu ve vztahu k zemědělským půdám. V práci byly proto shrnuty výše uvedené kroky schématu předepsaného pro jednotlivé analýzy.

10 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KUBOVÁ, Jana, et al. Špeciácia, špeciálna analýza a frakcionácia chemických prvkov v životnom prostredí. Bratislava: Univerzita Komenského v Bratislave, 2008. 224 s. ISBN 978-80-223-2540-0.
- [2] POPL, Milan, FÄHNRIICH, Jan. Analytická chemie životního prostředí. 4. přeprac. vyd. Praha : [s.n.], 1999. 218 s. ISBN 80-7080-336-3.
- [3] TEMPLETON, Douglas M., et al. Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches. Pure Appl. Chem [online]. 2000, vol. 72, no. 8 [cit. 2009-04-06], s. 1453-1470. Dostupný z WWW: <<http://www.iupac.org/publications/pac/2000/7208/7208templeton.html>>.
- [4] JENÍK, J. Ekoanalýza. 1. vyd. Pardubice: VŠCHT, 94. 113 s. ISBN 80-85113-68-6.
- [5] JANDÁK, J., PRAX, A., POKORNÝ, E. Půdoznalství. 1. vyd. Brno : [s.n.], 2001. 142 s. Komise AF MZLU v Brně. ISBN 80-7157-559-3.
- [6] JOHN, David A., LEVENTHAL, Joel S.. Bioavailability of metals [online]. 1995 [cit. 2009-04-11]. Dostupný z WWW: <<http://pubs.usgs.gov/of/1995/ofr-95-0831/CHAP2.pdf>>.
- [7] TESSIER, A., CAMPBELL, P. G. C., BISSON, M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. Analytical Chemistry [online]. 1979, vol. 51, no. 7 [cit. 2009-04-11], s. 844-851. Dostupný z WWW: <<http://pubs.acs.org/>>.
- [8] RICHTER, Rostislav, HLUŠEK, Jaroslav. Výživa a hnojení rostlin (I. obecná část). 1. vyd. Brno: Vysoká škola zemědělská v Brně, 1994. Dostupný z WWW: <http://www.agrokrom.cz/texty/hnojeni/skripta_richter/seznam_vyziva_a_hnojeni_rostlin_skriptum_cast.pdf>.
- [9] PALEČEK, J., LINHART, I., HORÁK, J. Toxikologie a bezpečnost práce v chemii. 1. dotisk vyd. Praha: VŠCHT, 1996. 189 s. ISBN 80-7080-266-9.
- [10] KUBAL, M., BURKHARD, J., BŘEZINA, M.. Dekontaminační technologie [online]. 2002 [cit. 2009-04-11]. Dostupný z WWW: <<http://www.vscht.cz/uchop/CDmartin/index.html>>.
- [11] KOPLÍK, Richard, ČURDOVÁ, Eva, MESTEK, Oto. Specie stopových prvků ve vodách, půdách, sedimentech a biologických materiálech. Chemické listy [online]. 1997, sv. 91 [cit. 2009-04-07], s. 38-47. Dostupný z WWW: <www.chemicke-listy.cz>.
- [12] CIBULKA, J., et al. Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře. Praha: Academia, 1991. 432 s. ISBN 80-200-0401-7.
- [13] ŠEBKOVÁ, Michaela. Koloběh vybraných kovových prvků v životním prostředí. Brno, 2008. 32 s. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická. Vedoucí bakalářské práce prof. RNDr. Hana Dočekalová, CSc.
- [14] MADER, Pavel, ČURDOVÁ, Eva. Metody rozkladu biologických materiálů pro stanovení stopových prvků. Chemické listy [online]. 1997, sv. 91 [cit. 2009-04-07], s. 227-236. Dostupný z WWW: <www.chemicke-listy.cz>.
- [15] AVORSKÝ, Petr, KREČMER, František. Chemické rozbory v zemědělských laboratořích. České Budějovice: [s.n.], 1987. 272 s.

- [16] RAURET, Gemma. Extraction procedures for the determination of heavy metals in contaminated soil and sediment. *Talanta* [online]. 1998, vol. 46 [cit. 2009-04-22], s. 449-455. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [17] FILGUEIRAS, A. V., LAVILLA, I., BENDICHO, C. Chemical sequential extraction for metal partitioning in environmental solid samples. *Journal of environmental monitoring* [online]. 2002, vol. 4 [cit. 2009-05-15], s. 823-857. Dostupný z WWW: <<http://www.rsc.org/Publishing/Journals/EM/article.asp?doi=b207574c>>.
- [18] URE, A.M., QUEVAUVILLER, P., MUNTAU, H., GRIEPINCK, B. Speciation of heavy-metals in soils and sediments - an account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the commission-of-the-european-communities. *International journal of environmental analytical chemistry* [online]. 1993, vol. 51, is. 1-4 [cit. 2009-05-15], s. 135-151. Dostupný z WWW: <<http://apps.isiknowledge.com>>.
- [19] QUEVAUVILLER, Philippe. Operationally defined extraction procedures for soil and sediment analysis. *Trends in analytical chemistry* [online]. 1998, vol. 17, no. 5 [cit. 2009-04-11], s. 289-298. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [20] GLEYZES, Christine, TELLIER, Sylvaine, ASTRUC, Michel. Fractionation studies of trace elements in contaminated soils and sediments: a review of sequential extraction procedures. *Trends in analytical chemistry* [online]. 2002, vol. 21, no. 6+7 [cit. 2009-04-11], s. 451-467. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [21] URE, A.M. Single extraction schemes for soil analysis and related applications. *The Science of the Total Environment* [online]. 1996, vol. 178 [cit. 2009-04-25], s. 3-10. Dostupný z WWW: <www.sciencedirect.com>.
- [22] TESSIER, A., CAMPBELL, P.G.C., BISSON, M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace-metals. *Analytical chemistry* [online]. 1979, vol. 51, is. 7 [cit. 2009-05-15], s. 844-851. Dostupný z WWW: <<http://apps.isiknowledge.com>>.
- [23] XIAO-QUAN, S., BIN, C. Evaluation of sequential extraction for speciation of trace-metals in model soil containing natural minerals and humic-acid. *Analytical chemistry* [online]. 1993, vol. 65, no. 6 [cit. 2009-05-15], s. 802-807. Dostupný z WWW: <<http://apps.isiknowledge.com>>.
- [24] ARUNACHALAM, J., EMONS, H., KRASNODEBSKA, B., MOHL, C. Sequential extraction studies on homogenized forest soil symplex. *Science of the total environment* [online]. 1996, vol. 181, is. 2 [cit. 2009-05-15], s. 147-159. Dostupný z WWW: <<http://apps.isiknowledge.com>>.
- [25] MA, Y.B., UREN, N.C. Application of a new fractionation scheme for heavy metals in soils. *Communications in soil science and plant analysis* [online]. 1995, vol. 26, is. 19-20 [cit. 2009-05-15], s. 3291-3303. Dostupný z WWW: <<http://apps.isiknowledge.com>>.
- [26] PICKERING, W.F. . Metal ion speciation — soils and sediments (a review). *Ore Geology Reviews* [online]. 1986, vol. 1, is. 1 [cit. 2009-05-15], s. 83-146. Dostupný z WWW: <<http://apps.isiknowledge.com>>.
- [27] CHAO, T.T. Selective dissolution of manganese oxides from soils and sediments with acidified hydroxylamine hydrochloride. *Soil science society of America proceedings* [online].

1972, vol. 36, is. 5 [cit. 2009-05-15], s. 764. Dostupný z WWW: <<http://apps.isiknowledge.com>>.

[28] CHAO, T.T., ZHOU, L. Extraction techniques for selective dissolution of amorphous iron oxide from soils and sediments. Soil science society of America journal [online]. 1983, vol. 47, is. 2 [cit. 2009-05-15], s. 225-232. Dostupný z WWW: <<http://apps.isiknowledge.com>>.

[29] STANJEK, H., WEIDLER, P.G. The effect of dry heating on the chemistry, surface area, and oxalate solubility of synthetic 2-line and 6-line ferrihydrites. Clay minerals [online]. 1992, vol. 27 [cit. 2009-05-15], s. 397-412. Dostupný z WWW: <http://www.minersoc.org/pages/Archive-CM/Volume_27/27-4-397.pdf>.

[30] SHUMAN, L.M. . Separating soil iron-oxide and manganese-oxide fractions for micro-element analysis. Science society of America journal [online]. 1982, vol. 46, is. 5 [cit. 2009-05-15], s. 1099-1102. Dostupný z WWW: <<http://apps.isiknowledge.com>>.

[31] MEHRA, O.P., JACKSON, M.L. Iron oxide removal from soils and clays by a dithionite-citrate system buffered with sodium bicarbonate. Clays and clay minerals : Seventh National Conference [online]. 1960, vol. 7 [cit. 2009-05-15], s. 317-327. Dostupný z WWW: <<http://scholar.google.cz>>.

[32] McKEAGUE, J.A., DAY, J.H. Dithionite and oxalate-extractable Fe and Al as aids in differentiating various classes of soils. Canadian journal of soil science [online]. 1966, vol. 46 [cit. 2009-05-15], s. 13-22. Dostupný z WWW: <<http://scholar.google.cz>>.

[33] COUTURAS, S., BOURGEOIS, S., BERMOND, A. A critical study of the use of hydrogen peroxide to determine trace metals bound to soil organic matter. Environmental technology [online]. 2000, vol. 21, is. 1 [cit. 2009-05-15], s. 77-86. Dostupný z WWW: <<http://apps.isiknowledge.com>>.

[34] JOUANNEAU, J.M. , LATOUCHE, C., PAUTRIZEL, F. Critical analysis of sequential extractions through the study of several attack constituent residues. Environmental technology letters [online]. 1983, vol. 4, is. 12 [cit. 2009-05-15], s. 509-514. Dostupný z WWW: <<http://apps.isiknowledge.com>>.

[35] SHUMAN, L.M. Sodium-hypochlorite methods for extracting microelements associated with soil organic-matter. Soil science society of America journal [online]. 1983, vol. 47, is. 4 [cit. 2009-05-15], s. 656-660. Dostupný z WWW: <<http://apps.isiknowledge.com>>.

[36] ŠTEFANIDESOVÁ, Vlasta, TREFILOVÁ, Táňa. Vyluhovatelnost rtuti sekvenční extrakcí. Chemické listy [online]. 2006, roč. 100 [cit. 2009-05-15], s. 906-910. Dostupný z WWW: <www.chemicke-listy.cz>.

11 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

CZE	Kapilární zónová elektroforéza, Capillary zone electrophoresis
DGT	Technika difuzního gradientu v tenkém filmu, Diffusion gradient in thin-film
DTPA	Diethylene-triamine-pentaoctová kyselina, Diethylenetriamene pentaacetate
EDTA	Ethylene-diamin-tetraoctová kyselina, Ethylenediaminetetraacetic acid
IC	Iontová chromatografie
FIA	Průtoková injekční analýza, Flow injection analysis
FPLC	Středotlaká kapalinová chromatografie, Fast protein liquid chromatography
GC	Plynová chromatografie, Gas chromatography
GC-AAS	Plynová chromatografie s atomovou absorpční spektrometrií
GC-MIP-AES	Plynová chromatografie s atomovou emisní spektrometrií s mikrovlnné vázanou plazmou
GE	Gelová elektroforéza, Gel electrophoresis
HPLC	Vysokotlaká kapalinová chromatografie, High pressure liquid chromatography
HPLC-ICP-MS	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií s indukčně vázanou plazmou
ITP	Izotachoforéza, Isotachopheresis
IUPAC	Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii, International Union of Pure and Applied Chemistry
MAE	Mikrovlnná extrakce, Microwave-assisted extraction
RM	Referenční materiál, Reference Material
SEC	Gelová permeační chromatografie, Size-exclusion chromatography
SPE	Extrakce tuhou fází, Solid phase extraction
UV	Ultrafialové záření, Ultraviolet light
v/v	Objem rozpouštěné látky ku objemu rozpouštědla
w/v	Hmotnost rozpouštěné látky ku objemu rozpouštědla
XAFS	X-ray absorption fine structure spectroscopy