

UNIVERZITA KARLOVA

Přírodovědecká fakulta

---

Studijní program: Klinická a Toxikologická analýza



Michal Plodík

STANOVENÍ ZINKU, KADMIA A NIKLU VE VZORCÍCH LISTŮ POMOCÍ  
HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE S INDUKČNĚ VÁZANÝM PLAZMATEM

Determination of zinc, cadmium, and nickel in leaves by inductively coupled  
plasma-mass spectrometry

Bakalářská práce

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

Konzultantka: RNDr. Eliška Nováková, Ph.D.

Praha, 2021

Tato bakalářská práce vznikla v rámci řešení projektů Grantové agentury Univerzity Karlovy (projekty č. 1626218 a 297121)

## Prohlášení

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

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

V Praze, 18.08.2021

Michal Plodík

## Poděkování

Nejdříve bych chtěl poděkovat vedoucímu mé práce RNDr. Jakubovi Hraníčkoví, Ph.D. za odborné vedení práce a cenné rady, které mi pomohly tuto práci zkompletovat. Mé poděkování také patří konzultantce RNDr. Elišce Novákové za trpělivost a ochotu při experimentální části práce. Děkuji Mgr. Tereze Krajzingrové za poskytnutí vzorků biologického materiálu a kolegovi Matěji Plecháčovi za spolupráci v laboratoři.

## **Abstrakt**

Práce je zaměřena na analýzu obsahu těžkých kovů zinku, kadmia a niklu v listech různých druhů stromů. Vzorky byly odebrány z různých lokalit na území České republiky. Pro analýzu byla použita hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, která je dostatečně citlivá pro předpokládané nízké koncentrace vybraných kovů. Pro stanovení koncentrace byla klíčová příprava vzorků pro mikrovlnný rozklad v koncentrované kyselině dusičné. Naměřené koncentrace sledovaných kovů se lišily nejen mezi lokalitami a jednotlivými rostlinnými druhy, ale také v rámci jedné lokality. Použitá metoda ICP-MS prokázala dostatečnou citlivost i u prvků s přirozeně nízkou koncentrací v životním prostředí, což bylo v této práci kadmium.

## **Klíčová slova**

Těžké kovy, mikrovlnný rozklad, hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, listy, zinek, kadmium, nikl

# Obsah

<b>Seznam zkratek a symbolů.....</b>	<b>6</b>
<b>1. Úvod .....</b>	<b>7</b>
1.1. Cíle práce .....	7
<b>2. Teoretická část .....</b>	<b>8</b>
2.1. Mikrovlnný rozklad .....	8
2.2. ICP-MS.....	9
2.3. Těžké kovy v rostlinách .....	11
2.4. Zinek .....	12
2.5. Nikl .....	13
2.6. Kadmium .....	15
2.7. Stanovení prvků.....	17
<b>3. Experimentální část .....</b>	<b>19</b>
3.1. Přístroje a parametry .....	19
3.2. Chemikálie.....	19
3.3. Vzorky .....	19
3.4. Postup rozkladu .....	22
3.5. Analýza.....	23
<b>4. Výsledky a Diskuse .....</b>	<b>25</b>
4.1. Výsledky .....	25
4.2. Diskuse.....	31
<b>5. Závěr.....</b>	<b>35</b>
<b>Seznam použité literatury .....</b>	<b>36</b>

## Seznam zkratk a symbolů

ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
IR	infračervené záření
m/z	poměr hmotnost/náboj
ICP	indukčně vázané plazma
RF	radiofrekvenční zdroj
ŽP	životní prostředí
d.w.	sušina
AAS	atomová absorpční spektrometrie
ČZU	Česká zemědělská univerzita v Praze

# 1. Úvod

## 1.1. Cíle práce

Jedním z projevů zvýšené přítomnosti těžkých kovů v životním prostředí jako důsledku lidské činnosti je stoupající koncentrace kovů v biologických materiálech. Z hlediska jejich toxicity pro člověka se jedná o důležitý vstup do potravního řetězce, což představuje velká zdravotní rizika. Různé druhy rostlin mají různou schopnost akumulace i eliminace prvků, a to v závislosti na půdních a klimatických podmínkách.

Znečištění atmosféry se projevuje kontaminací zelených částí rostlin atmosférickým spadem. Hlavním antropogenním zdrojem jsou chemické látky používané v zemědělství, znečištění odpady nebo těžký průmysl. Do nadzemních částí rostlin se dostávají díky biologickým cyklům a na rozdíl od organických látek tyto prvky nedegradují, ale ukládají se v rostlinách.

Cílem práce bylo stanovit obsah kadmia, niklu a zinku v listech různých druhů dřevin. Tyto prvky byly vybrány s ohledem na jejich potenciální riziko pro organismy. Vzorky byly odebrány z lokalit s výskytem sýkory koňadry, která je součástí projektu spojeného s touto prací. Vzorky byly shromážděny z různých lokalit na území ČR a zastupují běžně se vyskytující přirozené dřeviny. Vzorky byly odebírány v době vegetačního růstu od května do července.

Metodou dostatečně citlivou pro stanovení vybraných prvků v listové hmotě je hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. ICP-MS je velmi rozšířenou ultrastopovou analytickou metodou, která se běžně používá ke kvalitativní, kvantitativní i semikvantitativní analýze. Její výhodou je vysoká citlivost i u velmi malých vzorků a široké rozmezí měřených koncentrací. Hmotnostní spektra prvků jsou specifická pro daný prvek a ve srovnání s optickou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem jednoduchá.

Pro experimentální fázi bylo vybráno 53 vzorků, u nichž byl před vlastní analýzou proveden mikrovlnný rozklad za přítomnosti kyseliny dusičné. Téměř u všech vzorků byla následně stanovena přítomnost všech tří sledovaných kovů.

## 2. Teoretická část

### 2.1. Mikrovlnný rozklad

#### ***Principy metody***

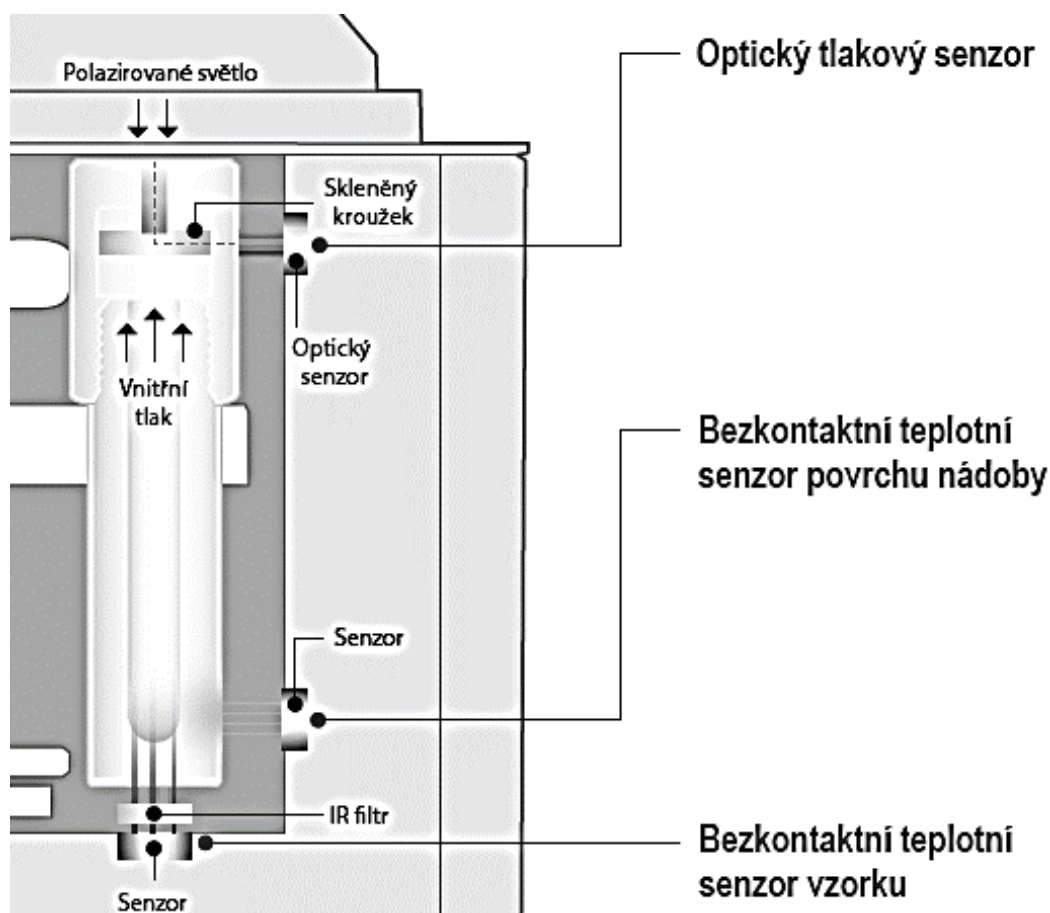
Principem mikrovlnného rozkladu je ohřev vzorku pomocí mikrovlnného záření generovaného magnetronem. Magnetron produkuje záření o frekvenci 2 450 MHz, která je vhodná pro absorpci vzorkem. Absorpcí mikrovlnného záření látkou (molekulami látky) se zvyšuje její teplota. Nádoby pro mikrovlnný rozklad jsou vyrobeny z vhodného materiálu, který zajistí izolaci vzorku od okolí a zároveň neabsorbuje či neodráží mikrovlnné záření. Vlastnosti záření umožňují ohřev pouze rozkladné směsi kyselin a vzorku na rozdíl od stěn nádobek, ve kterých se vzorek nachází. Vzorek je tedy rozložen pomocí vysoké teploty, rozkladných směsí kyselin a u některých zařízeních proces probíhá za zvýšeného tlaku [1].

#### ***Využití metody***

Mikrovlnný rozklad je spolehlivou metodou rozkladu široké škály matic. Komerční zařízení umožňují rozklady vzorků z průmyslového, farmaceutického, potravinářského či životního prostředí. Příkladem rozložitelných matic jsou potraviny, nápoje, biologický materiál (části rostlin, půda), minerály, kosmetika, organické materiály či kovy a další průmyslové materiály. Výběrem vhodného materiálu nádob, specifických rozkladných směsí a úpravou teplotního programu (intenzita záření, čas...) lze dosáhnout ideálních podmínek pro rozklady velmi rozdílných matic [2].

#### ***Výhody metody***

Mezi největší výhody mikrovlnného rozkladu patří přenos energie bez přímého kontaktu. Vzorek se zahřívá pomocí absorpce mikrovlnného záření, které prochází skrz nádobu, ve které je uzavřen. Další výhodou je možnost přesné a velmi rychlé regulace intenzity záření na rozdíl od konvenčního způsobu ohřevu, který je hůře regulovatelný díky tepelné kapacitě topných těles [1].



Obrázek 2-1: Schéma nádoby v zařízení pro mikrovlnný rozklad

## 2.2. ICP-MS

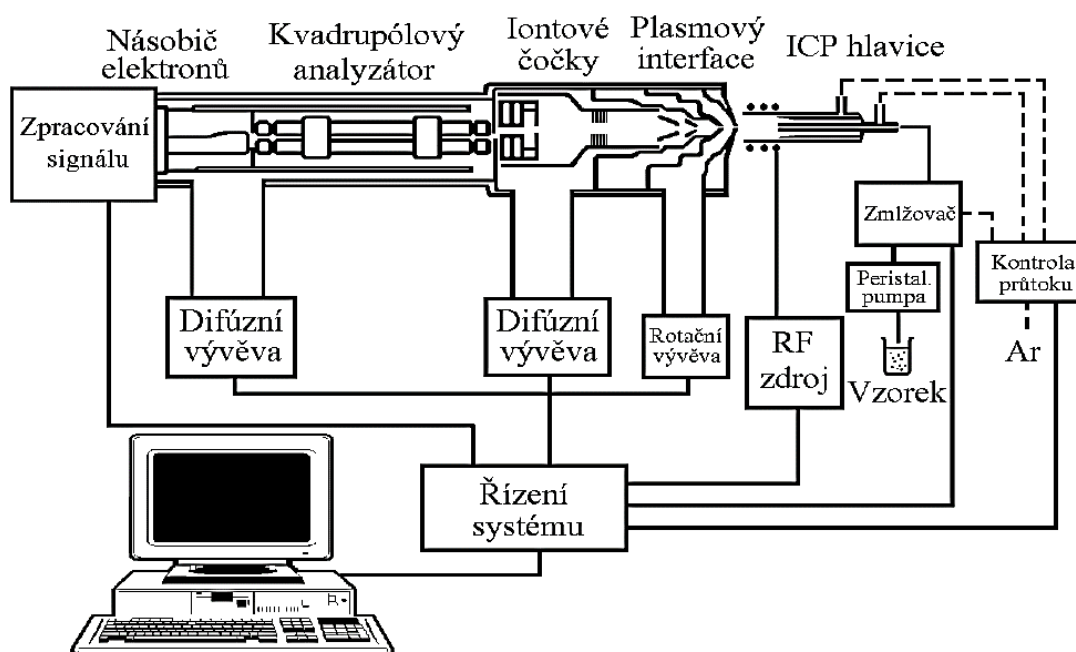
Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem je analytickou metodou sloužící pro identifikace a stanovení prvkového složení vzorků. Hmotnostní spektrometr je přístroj schopný převést analyty v kapalném skupenství na ionty v plynném skupenství, rozdělit je na základě poměru hmotnosti a náboje  $m/z$ , detegovat je a zobrazit výsledek v podobě hmotnostního spektra [3]. Do komerční sféry se rozšířil již v 80. letech, kdy první přístroj (ELAN<sup>®</sup> 250) byl představen v roce 1983 na konferenci analytické chemie a aplikované spektroskopie v Pittsburghu (Pittcon) [4].

Původním účelem bylo využití v geologických a ekologických laboratořích. V dnešní době má však výrazně širší využití při analýzách vod, organických materiálů z životního prostředí, metalurgii, potravinářství a v oblastech medicíny či armády [5,6].

## Principy metody

ICP-MS je metoda ionizace vzorku pomocí indukčně vázaného plazmatu s využitím hmotnostního spektrometru jako detektoru ionizovaných atomů [7].

Analyzovaný vzorek je ve formě aerosolu v nosném inertním plynu unášen do hlavice ICP (vysokotepelný zdroj iontů), kde se při teplotách v rozmezí 6000 – 10000 K odpařují rozpouštědla a analyzovatelné částice vzorku jsou atomizovány a zároveň ionizovány. Důsledkem vysoké teploty plazmatu je destrukce vazeb bez ohledu na jejich chemickou podstatu a díky vlastnostem ICP dochází primárně k ionizaci částic do prvního stupně [5,8]. V této formě vstupují ionty přes iontové čočky ve vakuovaném prostoru do připojeného hmotnostního spektrometru. Zde jsou následně pomocí hmotnostního analyzátoru, např. kvadrupólového analyzátoru, rozděleny podle poměru  $m/z$ . Následně ionty budí signál na detektoru umožňujícím převést proud iontů na elektrický signál (Faradayova klec, elektronásobiče scintilační detektory), signál je následně zesílen a je změřena jeho velikost [8].



Obrázek 2-2: ICP-MS spektrometr s kvadrupólovým filtrem [8]

## Využití

ICP-MS je velmi citlivá metoda pro stanovení a analýzu jednotlivých prvků v maticích a to, jak stanovení obsahu jednotlivých prvků, tak zastoupení izotopů daných prvků.

Metodu lze použít pro široké pole kovalentně vázaných prvků, koordinačně vázaných kovů či organokovových sloučenin. Při použití vhodného dávkování vzorku lze ICP-MS použít téměř pro všechny formy skupenství, od plynných látek dávkovaných přímo, přes látky kapalné či pevné v kapalinách rozpuštěné po látky v pevném stavu [9].

### **Výhody metody**

Mezi přednosti ICP-MS patří velmi rychlá analýza a zároveň velmi nízké detekční limity v porovnání s ostatními metodami. U některých prvků např. lze stanovovat koncentrace v oblastech kolem ppt. ICP-MS také poskytuje téměř kompletní více prvkovou analýzu, dokáže selektovat jednotlivé prvky a určovat zastoupení jejich izotopů. Oproti ostatním technikám atomové spektrometrie umožňuje ICP-MS ve velmi krátkém čase (min) stanovovat vedle sebe stopové koncentrace prvků společně s prvky tvořícími matrice, tedy s prvky o řádově vyšší koncentraci [8,10].

### **2.3. Těžké kovy v rostlinách**

Kovy a jejich různé formy tvoří nedílnou součást prostředí, ve kterém se rostliny vyskytují. Těžké kovy stejně jako ostatní prvky můžeme rozdělit na esenciální (pro rostlinu potřebné k životu) a neesenciální (pro rostlinu nepotřebné a často i toxické). Rostliny si dokázaly evolučně vyvinout cesty, kterými jsou schopny přijímat těžké kovy ze svého okolí a získat tak živiny potřebné k dalšímu vývoji a růstu. Některé vlastnosti těchto kovů např. schopnost tvořit komplexy s chelatačními činidly jsou však shodné pro kovy esenciální i neesenciální. Proto dochází ke kompetici mezi těmito skupinami kovů při vstřebávání a výsledkem je nejen příjem kovů esenciálních ale zároveň příjem kovů neesenciálních [11].

Kovy, které rostlina přijme, přičemž hlavní cestou je příjem skrze kořenový systém a minoritně také nadzemní části rostliny (listy, kůra), využívá na potřebné procesy, které zajistí její další rozvoj a přežití. V případě neesenciálních kovů, které rostlina nevyužívá dochází k zpětnému vylučování a v závislosti na druhu rostliny také k jejich ukládání ve všech částech rostliny.

Ukládání těžkých kovů v rostlinách je možné využít po analytickém stanovení jako určitý ukazatel přítomnosti a kontaminace okolního prostředí rostliny. Publikované výzkumy ukazují, že koncentrace kovů v rostlině není úměrná koncentraci kovů v okolním prostředí. Důvodem jsou rozdílné míry vstřebávání a ukládání. Lze však

porovnávat koncentrace kovů u stejných či podobných rostlin v časovém horizontu nebo v různých lokacích, a tím tak získat přehled o rozdílné kontaminaci [12].

## 2.4. Zinek

První důkazy využití zinku člověkem pochází z doby cca 3000 př.n.l.. Naopak první zmínky o možné toxicitě zinku pocházejí až z 18. stol., kdy byly pozorovány případy akutních otrav pracovníků s mosazí [13].

### **Chemické a fyzikální vlastnosti**

Tabulka 2.1 Zinek jeho izotopy, převzato a upraveno dle [14]

Izotop	Relativní atomová hmotnost	molární zastoupení %
<sup>64</sup> Zn	63,929	48,27
<sup>66</sup> Zn	65,926	27,98
<sup>67</sup> Zn	66,927	4,10
<sup>68</sup> Zn	67,925	19,02
<sup>70</sup> Zn	69,925	0,63

Zinek se vyskytuje v 6 izotopech viz **Tabulka 2.1**. Čistý zinek je relativně měkký bílo-stříbrný kov. Ochotně reaguje s anorganickými (oxidy, sírany, fosfáty) i organickými sloučeninami a tvoří výhradně dvojmocné kationty. Zinek je velmi dobře rozpustný ve slabých kyselinách. Organokovové sloučeniny přirozeně nevytváří a jejich zdrojem je tedy pouze lidská činnost [13,15].

### **Výskyt v ŽP**

Elementární zinek se v přírodě nalézá jen velmi vzácně. Většina využívaného zinku pochází z jeho rud tvořených hlavně sulfidy (sfalerit, wurtzit, marmatit). Do vzduchu je zinek uvolňován hlavně antropogenním vlivem při metalurgických procesech (zpracování olova, výroba mosazí), dále pak při těžbě, tavení či slévání a v neposlední řadě při spalování uhlí a dalších fosilních paliv. Světová produkce v roce 1994 činila 7 089 000 tun tohoto kovu [13,15].

V půdě je zinek poměrně běžným prvkem, průměrná koncentrace zinku v nekontaminované půdě je 10-300 ppm. Koncentrace v zemědělských plodinách pak dosahuje hodnot 15-200 ppm [16]. Ukládání zinku do půdy je dominantním procesem jak

antropogenní kontaminace životního prostředí zinkem, tak přirozeného cyklu tohoto prvku. Do vody se zinek dostává především vymýváním půdy, výjimečně pak přímou kontaminací z průmyslových oblastí. Zinek je ve vodě distribuován převážně v absorbované či vysrážené formě, z tohoto důvodu je koncentrace zinku v sedimentech často až řádově vyšší než ve vodě [15].

### **Využití zinku**

Kovový zinek se nejčastěji používá jako ochranná vrstva pro ostatní kovy náchylné k oxidaci nebo jako součást mosazi (slitina Cu a Zn). Příměsi zinku se využívají k zvýšení odolnosti železa a oceli [13]. Sloučeniny zinku jsou přidávány do cementu, gumy, pigmentů, lepidel, ochranných nátěrů dřeva a dalších fungicidů či rodenticidů. Schopnost iontového zinku srážet proteiny je využívána v aktivních složkách antiperspirantů, styptik (léky zabraňující krvácení), či adstringentů (látky stahující tkáň) [16,17].

### **Toxicita**

Při orálním požití většího množství zinečnatých solí (+200 mg) se otrava projevuje nevolností, zvracením a průjmem. Chlorid zinečnatý může způsobovat popálení jícnu a žaludku. Inhalace solí způsobuje podráždění dýchacích cest [17].

Škodlivost zinku, respektive problémy spojené se zinkem jsou spojovány hlavně s jeho nedostatečnou suplementací. Nejčastějšími projevy jsou růstové poruchy nebo oddálená sexuální vyspělost. Pro toxicitu po opakované dávce jsou cílovými orgány plíce, ledviny a imunitní systém [17].

## **2.5. Nikl**

Objev niklu jako samostatného prvku je datován k roku 1754. V širším měřítku se komerčně vyrábí a využívá teprve posledních 100 let. Hodnocení toxických vlastností a první restrikce na použití niklu pochází z 20.století [18].

### **Chemické a fyzikální vlastnosti**

*Tabulka 2.2 Nikl a jeho izotopy, převzato a upraveno dle [14]*

<b>Izotop</b>	<b>Relativní atomová hmotnost</b>	<b>molární zastoupení %</b>
<sup>58</sup> Ni	57,935	68,08
<sup>60</sup> Ni	59,931	26,22

<b>Izotop</b>	<b>Relativní atomová hmotnost</b>	<b>molární zastoupení %</b>
<sup>61</sup> Ni	60,931	1,14
<sup>62</sup> Ni	61,928	3,63
<sup>64</sup> Ni	63,928	0,93

Nikl se vyskytuje v 5 izotopech viz. **Tabulka 2.2**. Jako čistý prvek je nikl modro-šedý kov, je relativně dobrý vodič tepla i proudu a má ferromagnetické vlastnosti. Čistý kov je odolný vůči korozi a je rozpustný ve zředěných oxidujících kyselinách. Samotný nikl, jeho oxidy či sulfidy jsou ve vodě téměř nerozpustné. Rozpustnost solí je ovlivněna silou kyselin, soli niklu a silných kyselin jsou ve vodě dobře rozpustné, soli slabých anorganických kyselin jsou nerozpustné [19,20].

### **Výskyt v ŽP**

Elementární nikl se v přírodě nenalézá, zdrojem jsou jeho rudy (garnierit, pyrrhotin), tvořené hlavně oxidy a sulfidy. Koncentrace niklu je i v těchto rudách poměrně nízká a nikl se tedy těží a získává jako jeden z vedlejších produktů z rud obsahující hojněji zastoupené prvky jako železo či měď [18].

Nikl tvoří 3 % zemské kůry, v půdě je tedy běžně přítomný. Jeho průměrné koncentrace v půdě se pohybují mezi 10-100 ppm d.w.. V oblastech zpracování kovů se koncentrace niklu v půdě mohou pohybovat v rozmezí až 24 000 – 53 000 ppm d.w. [20]. Průměrná koncentrace v zemědělských plodinách se pohybuje kolem 1 ppm d.w. [21]. Přírodním zdrojem niklu obsaženého ve vodě je rozklad hornin a částečná sorpce z atmosféry. Kontaminace vod se objevuje převážně v průmyslových oblastech. Specifickým zdrojem znečištění vody niklem, je jeho vymývání do pitné vody z povrchů ošetřených právě vrstvou niklu [18].

### **Využití niklu**

Většina vyprodukovaného niklu se využívá na výrobu nerezové oceli, chirurgické oceli, slitin či na výrobu litin. Tento prvek najdeme v předmětech domácí potřeby i v průmyslových strojích, elektronice či v mincích. Mezi další způsoby využití sloučenin niklu patří pokovování, moření, výroba baterií, katalyzátorů či elektronických součástek [18].

## **Toxicita**

Orální expozice velkému množství síranu nikelnatého vede k zástavám srdce. Expozice menšímu množství vyvolává gastrointestinální problémy a u jedinců velmi citlivých na nikl vyvolává kontakt s niklem vznik dermatitidy [18].

Inhalace větších koncentrací niklu poškozuje stěny plicních sklípků a způsobuje edémy v alveolárních prostorech. Karbonyl niklu se po inhalaci velmi dobře vstřebává a je vysoce toxický. Chloridy a sírany se projevují toxickým efektem v plicích kde způsobují krvácení do plic a u expozice chloridy se výrazně snižuje aktivita plicních makrofágů [17].

Chronická toxicita se projevuje zvláště v případech inhalace, kdy při pravidelné expozici dochází ke karcinogenním mutacím v celém dýchacím ústrojí [17]. Obecně se chronická toxicita niklu projevuje nejčastěji změnami a poruchami dýchacího ústrojí, ledvin a kůže [18].

## **2.6. Kadmium**

Kadmium bylo jako prvek objeveno v roce 1817 jako jedna ze složek zkondenzovaných par při zpracování rudy zinku. Od roku 1840 existují důkazy o použití sulfidů kadmia jako barevných pigmentů [22,23].

### **Chemické a fyzikální vlastnosti**

*Tabulka 2.3 Kadmium a jeho izotopy, převzato a upraveno dle [14]*

<b>Izotop</b>	<b>Relativní atomová hmotnost</b>	<b>molární zastoupení %</b>
<sup>106</sup> Cd	105,906	1,26
<sup>108</sup> Cd	107,904	0,89
<sup>110</sup> Cd	109,903	12,49
<sup>111</sup> Cd	110,904	12,80
<sup>112</sup> Cd	111,903	24,13
<sup>113</sup> Cd	112,904	12,22
<sup>114</sup> Cd	113,903	28,73
<sup>116</sup> Cd	115,905	7,49

Kadmium se vyskytuje v 8 izotopech viz **Tabulka 2.3** a jako čistý prvek je stříbro-bílý měkký kov. V periodické tabulce se nachází ve skupině spolu se zinkem a rtutí. Právě zinek je vlastnostmi velmi podobný kadmiu a často se tyto dva kovy nachází v prostředí vedle sebe. Za normálních podmínek tvoří dvojmocné kationty. Chemické vlastnosti kadmia jsou velmi podobné vlastnostem zinku. Samotné kadmium je ve vodě nerozpustné ale tvoří ve vodě rozpustné soli (chloridy) naopak nerozpustný je oxid kademnatý [19,22,24].

### **Výskyt v ŽP**

Kadmium se v přírodě v elementární formě téměř nevyskytuje. Přírodním zdrojem kadmia jsou převážně rudy, ve kterých je často přítomno spolu se zinkem díky podobným chemickým vlastnostem.

Kadmium je přirozenou součástí zemské kůry. V půdě se hromadí jako důsledek sorpce kadmia z atmosféry a hydrosféry. Koncentrace kadmia v nekontaminované půdě je oproti většině ostatních těžkých kovů malá 0,01-0,7 ppm. Průměrná koncentrace kadmia v zemědělských plodinách se díky ukládání pohybuje v rozmezí 0,2-0,8 ppm. Ve vodních zdrojích je koncentrace obvykle nízká s hodnotami pod 1 µg/l. Oproti ostatním těžkým kovům má ve vodě kadmium větší mobilitu. Kadmium v čisté vodě tvoří hydratované ionty  $\text{Cd}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$ , naopak v znečištěných vodách se kadmium váže na větší částice, se kterými následně tvoří součást sedimentu [16,19,22,24].

Speciálním zdrojem kontaminace vody může být vymývání galvanizovaného potrubí či jiných součástí starších vodovodních systémů. Do atmosféry se kadmium dostává převážně jako výsledek spalování fosilních paliv či olejů a jako součást cigaretového kouře [24].

### **Využití kadmia**

Oproti zinku vytváří kadmium odolnější ochrannou vrstvu při pokovování. Přidáním kadmia do slitin se zvyšuje mechanická a teplotní odolnost výsledné slitiny. Mezi další příklady využití patří výroba nikl-kadmiových baterií či svářecích elektrod [22,24].

### **Toxicita**

Akutní toxicita je velmi závislá na způsobu expozice organismu. Nejčastějším způsobem expozice je inhalace. Vdechováním vysokých koncentrací dochází k chemické

pneumonitidě a k tvorbě plicních edémů. U nízkých koncentrací dochází k podráždění dýchacích cest s projevy kašle ale bolestí hrudi [17].

Chronická toxicita kadmia se projevuje především změnami dýchacího ústrojí a opakované expozice vedou k toxickým účinkům na ledviny.

## **2.7. Stanovení prvků**

Volba metod pro stanovení kovů v biologických materiálech se odvíjí podle požadované citlivosti. Pro stanovení můžeme využít atomovou absorpční spektrometrii, která je častou volbou pro svoji přesnost a nízkou finanční náročnost. V případě vyšších nároků na citlivost lze použít metodu ICP-MS, která je citlivější a lze jí současně stanovit větší množství prvků ve stopových a ultrastopových koncentracích.

Problémem při stanovování některých kovů je velmi často jejich všudypřítomná koncentrace v okolním prostředí, což může vést ke zkresleným hodnotám stanovení. Jednou z nejčastějších chyb, která tedy ovlivňuje stanovení je špatný postup při odebrání vzorků a jejich následná kontaminace při skladování, stabilizaci nebo přípravě k analýze.

### ***Stanovení zinku***

Zinek je v okolním prostředí hojně zastoupen, při jeho kvantifikaci je nutno eliminovat všechny možnosti kontaminace vzorku. Zinek je také často přítomen v materiálech používaných na odběry, skladování a analýzu. Většinu materiálů je tedy vhodné vyčistit kyselinami a používat ochranné pomůcky bez obsahu zinku.

Pro stanovení koncentrací zinku v biologických materiálech jsou tradiční metody jako titrace nebo gravimetrie nedostatečně přesné. Při použití spektrometrických metod se přesnost i citlivost výrazně zvyšuje, avšak tyto metody jsou velmi náchylné na interference [25].

### ***Stanovení kadmia***

Při stanovování kadmia je velmi důležité dbát na správné zacházení se vzorkem a minimalizovat kontaminace vzniklé předchozím odběrem. Techniky pro stanovení kadmia ve vzorku se liší s ohledem na požadovanou přesnost a formy kadmia. Nejčastěji se kadmium stanovuje jako celková koncentrace prvku ve vzorku. Metodami pro stanovení kadmia jsou nejčastěji atomová absorpční spektrometrie, ICP-MS, elektrochemické metody či rentgenová fluorescenční spektrometrie [24].

### ***Stanovení niklu***

Vzhledem k přítomnosti niklu v laboratorním vybavení, skladovacích nádobách a částečně i konstrukcích budov, ze kterých se může uvolňovat do vzduchu, je u velmi citlivých metod těžké eliminovat kontaminaci.

Mezi nejpoužívanější metody pro stanovení niklu patří AAS a voltametrie. ICP-MS je metodou, která nachází využití při stanovení nízkých koncentrací niklu a často při souběžném stanovení spolu s dalšími prvky v jedné matrici [20].

## 3. Experimentální část

### 3.1. Přístroje a parametry

Hmotnostní spektrometr Agilent 7900 ICP-MS se zmlžovačem MicroMist (Agilent Technologies, USA) a kvadrupólovým hmotnostním analyzátozem

Rozkladné zařízení Speedwave Xpert, rozkladné patrony DAP60 (Berghof, Německo)  
Analytické váhy (Sartorius, Česká republika)

Sušárny (Memmert UM 400 a Memmert UNB 400, Německo)

Zdroj deionizované vody o vodivosti  $0,055 \mu\text{Scm}^{-1}$  MilliQplus (Millipore, USA)

### 3.2. Chemikálie

Kyselina dusičná ( $\geq 65\%$ ), semiconductor grade, šarže H3320 (Honeywell, Německo)

Peroxid vodíku ( $\geq 30\%$ ), p.a., šarže 13160305 (Analytika, Česká republika)

Certifikovaný referenční materiál ASTASOL AN9094MFN-250 (As, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Mo, Ni, P, Pb, Sb, Se, Sn, Sr, Ti, Tl, V, Zn; koncentrace všech prvků 100 mg/l), čistota 99,98 %, šarže 0004 (Analytika, Česká republika)

Certifikovaný referenční materiál ASTASOL AN9022(1FN) (Ge  $1\,000 \pm 2$  mg/l), čistota 99,99 %, šarže 0001 (Analytika, Česká republika)

Certifikovaný referenční materiál ASTASOL AN9059(1C) (Te  $1\,000 \pm 2$  mg/l), čistota 99,999 %, šarže 0002 (Analytika, Česká republika)

Certifikovaný referenční materiál ASTASOL INTMIX01-250 (Bi, In, Sc, Tb, Y 10 mg/l), čistota 99,99 %, šarže 1014 (Analytika, Česká republika)

### 3.3. Vzorky

#### **Charakteristika vzorků**

Vzorky použité pro stanovení obsahu těžkých kovů (zinek, nikl, kadmium) byly listy stromů odebrané na různých místech české republiky. Druhy stromů, ze kterých jednotlivé vzorky pocházejí jsou uvedeny v **Tabulce 3.1**. Jednotlivé vzorky byly odebrány do plastových uzavíratelných sáčků a před samotným stanovením skladovány v mrazáku při teplotě  $-6\text{ }^\circ\text{C}$ .

Tabulka 3.1 Seznam analyzovaných vzorků, druhy stromů, jejich lokalita a datum sběru.

Vzorek	Lokalita	Strom	Datum odběru
2018-CA-L01	Praha - Kobylisy	dub zimní	jaro 2018
2018-CA-L02		buk lesní	
2018-CA-L03		javor klen	
2018-CA-L04		habr obecný	
2018-CA-L05		dub zimní	
2018-CA-L06		lípa srdčitá	
2018-CB-L01	Brno - Řečkovice	dub zimní	29.5.2018
2018-CB-L02		javor babyka	
2018-CB-L03		bez černý	
2018-CC-L01	Doubravice nad Svitavou	dub letní	30.5.2018
2018-CC-L02		třešeň ptáčníce	
2018-CC-L03		javor babyka	
2018-CD-L01	Liberec – přehrada Harcov	dub letní	31.5.2018
2018-CD-L02		buk lesní	
2018-CD-L03		javor klen	
2018-CE-L01	Sýkořice – Dřevíč	buk lesní	2.6. 2018
2018-CE-L02		habr obecný	
2018-CE-L03		dub zimní	
2018-CF-L01	Kladno – Dubí	javor babyka	3.6. 2018
2018-CF-L02		lípa velkolistá	
2018-CF-L03		javor klen	
2018-CG-L01	Praha – Petřín	lípa velkolistá	4.6. 2018
2018-CG-L02		javor mléčný	
2018-CG-L03		javor babyka	
2018-CH-L01	Desná – Riedlova hrobka	buk lesní	5.6. 2018
2018-CH-L02		bez černý	
2018-CH-L03		buk lesní	
2018-CI-L01	Krompach	buk lesní	6.6. 2018
2018-CI-L02		lípa srdčitá	
2018-CI-L03		jasan ztepilý	
2018-CI-L04		javor klen	
2018-CI-L05		javor klen	
2018-CI-L06		javor klen	
2018-CJ-L01	Kokořínsko – Truskavna	buk lesní	7.6. 2018
2018-CJ-L02		dub letní	
2018-CK-L01	Bohumín – Skřečoň	buk lesní	11.6. 2018
2018-CK-L02		lípa srdčitá	
2018-CK-L03		dub zimní	
2018-CK-L04		habr obecný	
2018-CK-L05		javor mléč	
2018-CK-L06		lípa velkolistá	
2018-CL-L01	Ostrava	javor mléč	12.6. 2018
2018-CL-L02		javor mléč	

Vzorek	Lokalita	Strom	Datum odběru
2018-CL-L03		lípa velkolistá	
2018-CL-L04		javor klen	
2018-CL-L05		javor klen	
2018-CL-L06		bez černý	
2018-CM-L01	Vysoká	habr obecný	13.6. 2018
2018-CM-L02		javor babyka	
2018-CM-L03		hloh	
2018-CM-L04		lípa velkolistá	
2018-CM-L05		dub letní	
2018-CM-L06		habr obecný	

### ***Původ vzorků***

Jednotlivé vzorky listů byly odebrány z celého území české republiky, kdy z každého místa byly odebrány listy z více druhů stromů. Jednotlivá místa představovala části lesa nebo parku a žádný strom tak nestál samostatně v otevřeném prostředí. Přesné souřadnice jednotlivých míst jsou uvedeny v **Tabulce 3.2**. Datum odběru vzorků z jednotlivých míst uvádí **Tabulka 3.1**.

*Tabulka 3.2 Přesné lokality odběrů jednotlivých vzorků*

Lokalita	GPS_N	GPS_E/W
Praha – Kobylisy	50°08'13.3"N	14°27'43.5"E
Brno – Řečkovice	49°14'46.645"N	16°33'22.198"E
Doubrovce nad Svitavou	49°26'36.122"N	16°36'48.924"E
Liberec – přehrada Harcov	50°46'04.4"N	15°04'31.5"E
Sýkořice – Dřevíč	50°1'19.099"N	13°58'45.859"E
Kladno – Dubí	50°9'45.138"N	14°9'0.246"E
Praha – Petřín	50°04'44.8"N	14°23'54.5"E
Desná – Riedlova hrobka	50°45'36.0"N	15°19'8.442"E
Krompach	50°49'32.987"N	14°41'9.894"E
Kokořínsko – Truskavna	50°26'16.5"N	14°33'00.1"E
Bohumín – Skřečoň	49°54'34.4"N	18°23'56.1"E
Ostrava	49°50'15.6"N	18°18'43.8"E
Vysoká	49°33'31.292"N	17°52'45.425"E

### **3.4. Postup rozkladu**

#### ***Sušení vzorků***

Pro stanovení přesné koncentrace kovů v listech bylo potřeba nejprve listy vysušit. Před samotným sušením pomocí horkého vzduchu, byly vzorky ponechány 10 minut při laboratorní teplotě, aby došlo k pozvolnému ohřátí ze skladovací teploty  $-6\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Sušení probíhalo s využitím dvou sušáren, kdy do každé sušárny bylo vloženo celkem 6 vzorků. Jednotlivé vzorky se sušily na filtračních papírech do stavu nulového úbytku hmotnosti za konstantní teploty  $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Doba sušení byla stanovena na minimálně 3 hodiny. Po této době již u prvních 6 vzorků nedocházelo k úbytku hmotnosti.

#### ***Příprava na rozklad***

Před rozkladným procesem bylo potřeba vysušené vzorky jednotlivých listů rozmělnit na menší kousky. Jednotlivé vzorky listů byly po vysušení ručně rozmělněny pomocí čistého filtračního papíru na drobné kousky, které byly následně přespány do 50 ml plastových centrifugačních zkumavek.

#### ***Rozklad***

Samotný rozklad byl proveden pomocí mikrovlnného rozkladného zařízení. První částí rozkladu bylo smíchání jednotlivých navážek v rozmezí  $0,15 - 0,20\text{ g}$  vzorku s rozkladnou kyselinou, kterou bylo 6 ml 65%  $\text{HNO}_3$ . Jednotlivé vzorky byly váženy na analytických vahách metodou úbytku hmotnosti, tedy celá zkumavka s rozmělněným vzorkem byla zvážena a následně bylo odebráno tolik vzorku, aby výsledná hmotnost zkumavky byla o  $0,15 - 0,20\text{ g}$  menší. Takto navážené vzorky byly rovnou převedeny do PTFE patron pro rozklad a po přidání  $\text{HNO}_3$  byla tato směs ponechána 12 hodin v digestoři. Důvodem pro tento krok bylo nadměrné množství plynů vznikající při prvotních spontánních reakcí kyseliny s listy. Vznikající bubliny zpočátku často zvedaly kousky listů z rozkladné směsi a u některých vzorků bylo nutné listy opět vrátit do kapaliny na dně patrony. Po uběhnutí této doby, kdy vzorek reagoval s přidanou kyselinou a již nehrozily další spontánní reakce, byly do rozkladných patron přidány další 2 ml 65%  $\text{HNO}_3$ .

Připravené patrony se vzorkem v rozkladné kyselině byly vloženy do rozkladného zařízení. Samotné zařízení obsahuje předdefinované programy, které jsou určeny pro konkrétní typy vzorků. Nami zvolený program byl určený pro rozklad listů „vegetables/leaves“ (viz. **Tabulka 3.3**). Program rozkladu obsahuje tři kroky, které uvádí **Tabulka 3.3**.

*Tabulka 3.3 Rozkladný program „vegetables/leaves“ (upravená tabulka ze softwaru přístroje)*

Krok	T[°C]	t <sub>1</sub> [min]	t <sub>2</sub> [min]	P [%]
1	170	5	10	90
2	200	1	15	90
3	50	1	10	0

t<sub>1</sub> – doba pro dosažení teploty T, t<sub>2</sub> – doba udržování teploty T, P – maximální výkon magnetronu

Po dokončení rozkladného procesu byly patrony ponechány dalších cca 30 minut, kdy došlo k poklesu vnitřní teploty a snížení tlaku. Po této době byly jednotlivé patrony otevřeny v digestoři (důvodem byl únik vzniklých plyných oxidů dusíku). Kapalný vzorek byl následně převeden do čistých 50ml plastových zkumavek. Patrona byla 2x propláchnuta deionizovanou vodou, aby došlo k důkladnému převedení vzorku do zkumavek a následně byla zkumavka doplněna deionizovanou vodou na celkový objem 50 ml.

Nádoby použité na rozklad byly mezi rozklady vyčištěny pomocí 5% HNO<sub>3</sub>, která byla v nádobkách ponechána 12 hodin. Následně byly nádoby vypláchnuty deionizovanou vodou, vysušeny a použity na další rozklad.

### 3.5. Analýza

#### **Kalibrace**

Před samotnou analýzou vzorků bylo provedeno kalibrační měření roztoků, připravených ze zásobního roztoku certifikovaného referenčního materiálu AN9094MFN-250. Ředěním tohoto certifikovaného roztoku byla připravena sada roztoků o koncentracích 0; 0,5; 1,0; 5,0; 25; 50; 100 a 400 µg/l, které byly využity pro vytvoření kalibrační závislosti. Jejich koncentrace byly vybrány tak, aby rozmezí kalibrace plně pokrývalo očekávané hodnoty u měřených vzorků. Dále byl kombinací tří certifikovaných referenčních materiálů (uvedené

v kapitole 3.2.) připraven směsný roztok interních standardů (Bi, In, Sc, Tb, Y, Ge a Te) o koncentraci 100 µg/l pro jednotlivé prvky.

### **Analýza**

Analýza proběhla na hmotnostním spektrometru s indukčně vázaným plazmatem. Přístroj byl vybavený automatickým dávkovačem, který využívá 15ml zkumavky pro analýzu vzorků a 50ml zkumavky pro kalibrační a pracovní roztoky. Vzorky tedy byly přelity z původních 50ml zkumavek do nových 15ml zkumavek a následně vloženy do automatického dávkovače.

Před zahájením samotné analýzy vzorků bylo provedeno ladění přístroje a změřeny kalibrační závislosti proměřením kalibračních roztoků. Získané kalibrační závislosti byly využity programem přístroje k vypočtení koncentrace jednotlivých prvků ve vzorcích. Následně proběhla analýza všech 53 vzorků. Měření probíhalo ve dvou módech, a to v héliovém módu a v módu bez kolizního plynu za podmínek uvedených v **Tabulce 3.4**. Odezva spektrometru byla automaticky přepočítána na koncentraci kovu ve vzorku, a to v jednotkách µg/l.

*Tabulka 3.4 Podmínky ICP-MS*

Průtok argonu v plazmatu [l/min]	15
Průtok argonu zmlžovačem [l/min]	1,07
Teplota mlžné komory [°C]	2
Otáčky peristaltické pumpy zmlžovače [RPS]	0,1
Průtok helia kolizní celou [ml/min]	4,3
Mód detekce	pulsní/analogový
Měřené izotopy	<sup>60</sup> Ni, <sup>66</sup> Zn, <sup>111</sup> Cd

## 4. Výsledky a Diskuse

Přehled naměřených a vypočtených výsledků je uveden v kapitole 4.1. Vyhodnocení dosažených dat, jejich vzájemné porovnání a korelace s daty v literatuře jsou v kapitole 4.2. diskutovány.

### 4.1. Výsledky

Koncentrace byly stanoveny na základě měření koncentrace vybraného jednoho izotopu pro každý z prvků. Pro tyto izotopy byla naměřena kalibrační sada výsledků a stanovena kalibrační křivka závislosti koncentrace prvků v roztoku ( $\mu\text{g/l}$ ) a odezvy detektoru (pulsy/s). Všechna měření probíhala ve dvou módech, a to v héliovém módu a v módu bez kolizního plynu. Bylo zvaženo riziko izobarických polyatomických interferencí. Pro nejkritičtější prvek – Cd tyto interference příliš pravděpodobné nebyly (v úvahu připadaly addukty  $^{95}\text{Mo}^{16}\text{O}^+$ ,  $^{94}\text{Zr}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$ ,  $^{39}\text{K}_2^{16}\text{O}_2^1\text{H}^+$ ). Pro Ni připadaly v úvahu polyatomické interference  $^{44}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$  a  $^{43}\text{Ca}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$  kvůli předpokládanému vysokému zastoupení Ca. Při stanovení Zn by připadaly v úvahu interference  $^{34}\text{S}^{16}\text{O}^{2+}$ ,  $^{33}\text{S}^{16}\text{O}^{21}\text{H}^+$ ,  $^{32}\text{S}^{16}\text{O}^{18}\text{O}^+$ ,  $^{32}\text{S}^{17}\text{O}^{2+}$ ,  $^{33}\text{S}^{16}\text{O}^{17}\text{O}^+$  [26]. Vysoký obsah síry ve vzorcích ovšem očekáván nebyl. Porovnáním koncentrací naměřených přístrojem v He módu a módu bez kolizního plynu také nebyly pozorovány významné odchylky. Na základě přesnějších výsledků a vyšší citlivosti z kalibračních roztoků byla vybrána pro veškerá měření data z módu bez kolizního plynu.

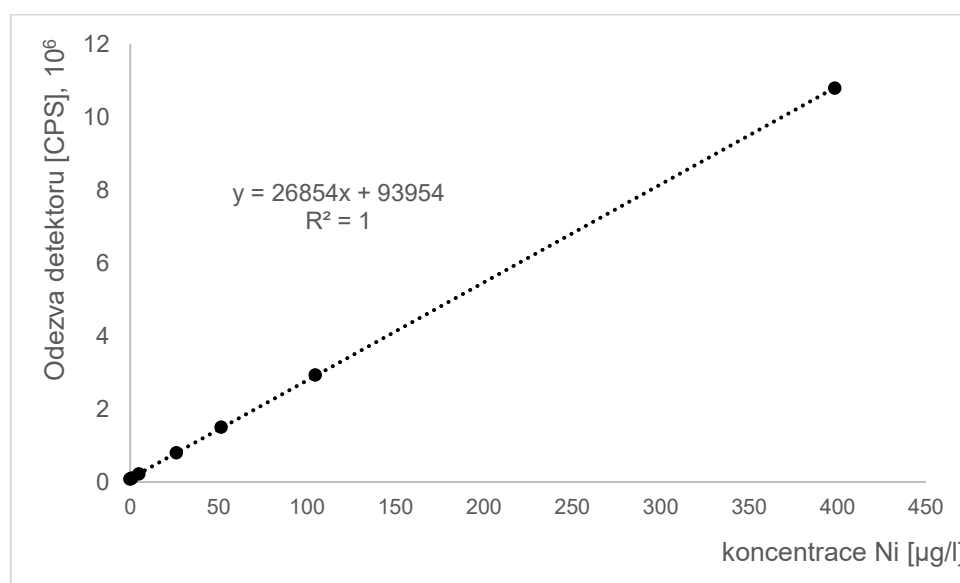
Pro kalibrační měření bylo použito 8 připravených roztoků referenčního materiálu AN9094MFN-250 (viz. 3.5. Analýza, Kalibrace).

**Tabulka 4.1** a následně **obrázek 4-1** ukazují výsledné hodnoty kalibračního měření pro nikl, při využití stanovené koncentrace izotopu  $^{60}\text{Ni}$  v módu bez kolizního plynu.

*Tabulka 4.1 Koncentrace niklu dle ICP-MS v připravených kalibračních roztocích*

Roztok č.	Koncentrace dle izotopu $^{60}\text{Ni}$ [ $\mu\text{g/l}$ ]	Odezva detektoru [CPS]
1	0	81690,15
2	0,488	94034,73
3	0,94	105026,41
4	4,974	223216,36
5	26,165	800936,84

Roztok č.	Koncentrace dle izotopu $^{60}\text{Ni}$ [ $\mu\text{g/l}$ ]	Odezva detektoru [CPS]
6	51,578	1502345,71
7	104,702	2931827,98
8	398,555	10786724,01

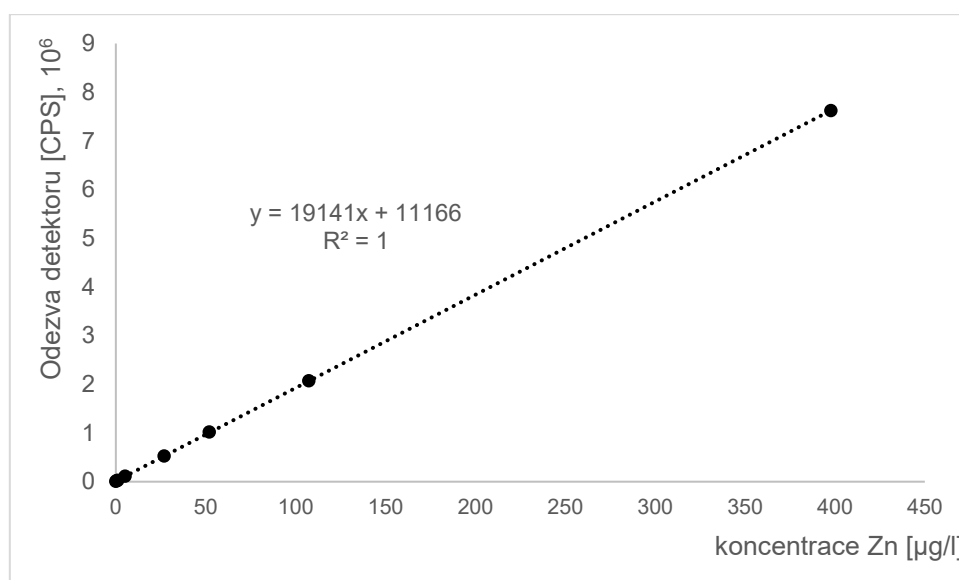


Obrázek 4-1: Graf kalibrační závislosti odezvy ICP-MS na koncentraci niklu

**Tabulka 4.2** a následně **obrázek 4-2** ukazují výsledné hodnoty kalibračního měření pro zinek, při využití stanovené koncentrace izotopu  $^{88}\text{Zn}$  v módu bez kolizního plynu.

*Tabulka 4.2 Koncentrace zinku dle ICP-MS v připravených kalibračních roztocích*

Roztok č.	Koncentrace dle izotopu $^{66}\text{Zn}$ [ $\mu\text{g/l}$ ]	Odezva detektoru [CPS]
1	0	7488,97
2	0,63	19701,38
3	1,072	28563,75
4	5,195	109307,55
5	26,96	527575,53
6	52,05	1017563,42
7	107,418	2070665,13
8	397,764	7622610,72

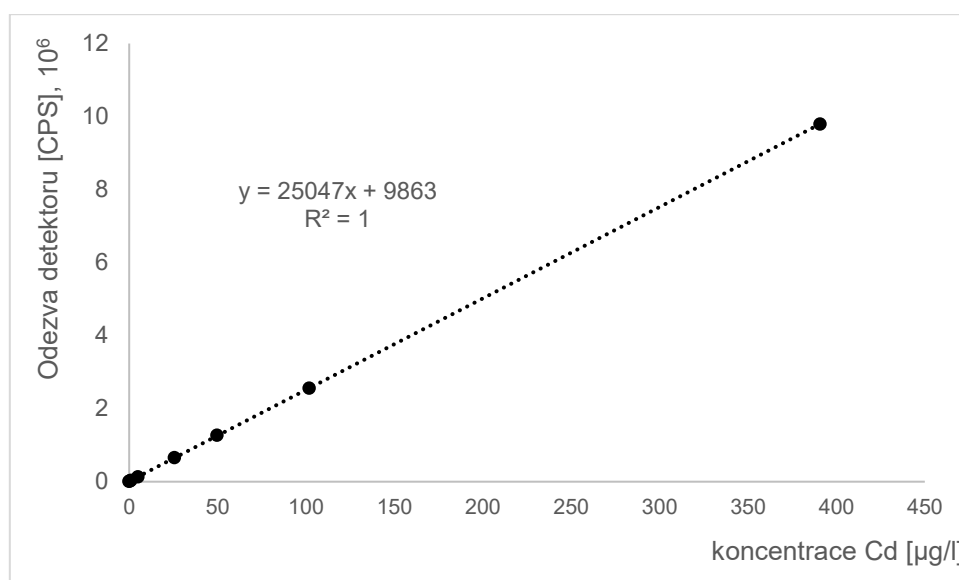


Obrázek 4-2: Graf kalibrační závislosti odezvy ICP-MS na koncentraci zinku

**Tabulka 4.3** a následně **obrázek 4-3** ukazují výsledné hodnoty kalibračního měření pro kadmium, při využití stanovené koncentrace izotopu  $^{111}\text{Cd}$  v módu bez kolizního plynu.

*Tabulka 4.3 Koncentrace kadmia dle ICP-MS v připravených kalibračních roztocích*

Roztok č.	Koncentrace dle izotopu $^{111}\text{Cd}$ [ $\mu\text{g/l}$ ]	Odezva detektoru [CPS]
1	0	5261,34
2	0,499	17927,39
3	1,018	31395,99
4	4,952	132209,36
5	25,669	653206,07
6	49,67	1266883,06
7	101,811	2563900,37
8	390,854	9796822,26



Obrázek 4-3: Graf kalibrační závislosti odezvy ICP-MS na koncentraci kadmia

Po získání kalibračních závislostí proběhlo vlastní měření vzorků, kde výsledné hodnoty pro jednotlivé vzorky ukazují tabulky: **Tabulka 4.5** (nikl), **Tabulka 4.6** (zinek) a **Tabulka 4.7** (kadmium). Koncentrace jednotlivých kovů v sušině byly získány na základě přepočtu pro jejich navážky uvedené v **Tabulce 4.4**.

*Tabulka 4.4 Jednotlivé navážky vzorků pro rozklad a následné stanovení pomocí ICP-MS*

Vzorek	Navážka vzorku [g]	Vzorek	Navážka vzorku [g]
2018-CA-L01	0,1602	2018-CI-L01	0,1523
2018-CA-L02	0,1652	2018-CI-L02	0,1468
2018-CA-L03	0,1549	2018-CI-L03	0,1672
2018-CA-L04	0,2045	2018-CI-L04	0,1944
2018-CA-L05	0,1757	2018-CI-L05	0,1672
2018-CA-L06	0,1690	2018-CI-L06	0,1780
2018-CB-L01	0,1473	2018-CJ-L01	0,1693
2018-CB-L02	0,1732	2018-CJ-L02	0,1704
2018-CB-L03	0,1933	2018-CK-L01	0,1665
2018-CC-L01	0,1680	2018-CK-L02	0,1883
2018-CC-L02	0,1810	2018-CK-L03	0,1590
2018-CC-L03	0,1691	2018-CK-L04	0,1561
2018-CD-L01	0,1779	2018-CK-L05	0,1761
2018-CD-L02	0,1482	2018-CK-L06	0,1669
2018-CD-L03	0,1729	2018-CL-L01	0,1884
2018-CE-L01	0,1633	2018-CL-L02	0,1669

Vzorek	Navážka vzorku [g]	Vzorek	Navážka vzorku [g]
2018-CE-L02	0,1713	2018-CL-L03	0,1844
2018-CE-L03	0,1749	2018-CL-L04	0,1518
2018-CF-L01	0,1766	2018-CL-L05	0,1989
2018-CF-L02	0,1512	2018-CL-L06	0,1714
2018-CF-L03	0,2050	2018-CM-L01	0,1525
2018-CG-L01	0,1801	2018-CM-L02	0,1674
2018-CG-L02	0,1858	2018-CM-L03	0,2056
2018-CG-L03	0,1543	2018-CM-L04	0,1735
2018-CH-L01	0,1911	2018-CM-L05	0,1962
2018-CH-L02	0,2013	2018-CM-L06	0,1658
2018-CH-L03	0,1596		

Tabulka 4.5 Koncentrace *niklu* ve vzorcích stanovené pomocí ICP-MS

Vzorek	C(Ni) [µg/l]	RSD(Ni) [%]	c(Ni) [µg/g]	Vzorek	C(Ni) [µg/l]	RSD(Ni) [%]	c(Ni) [µg/g]
2018-CA-L01	14,92	0,90	4,66±0,042	2018-CI-L01	5,85	1,30	1,92±0,025
2018-CA-L02	13,28	0,90	4,02±0,036	2018-CI-L02	1,92	0,50	0,65±0,003
2018-CA-L03	3,52	1,80	1,14±0,020	2018-CI-L03	11,61	0,90	3,47±0,031
2018-CA-L04	12,98	0,80	3,17±0,025	2018-CI-L04	2,32	13,70	0,60±0,082
2018-CA-L05	10,69	2,10	3,04±0,064	2018-CI-L05	<0.000	-	-
2018-CA-L06	19,97	2,80	5,91±0,165	2018-CI-L06	6,56	2,10	1,84±0,039
2018-CB-L01	4,13	3,00	1,40±0,042	2018-CJ-L01	3,22	3,70	0,95±0,035
2018-CB-L02	6,04	1,30	1,74±0,023	2018-CJ-L02	1,86	2,40	0,55±0,013
2018-CB-L03	14,89	1,30	3,85±0,050	2018-CK-L01	14,06	0,90	4,22±0,038
2018-CC-L01	7,41	9,50	2,20±0,209	2018-CK-L02	18,12	2,10	4,81±0,101
2018-CC-L02	9,22	2,10	2,55±0,053	2018-CK-L03	4,93	2,40	1,55±0,037
2018-CC-L03	9,31	4,40	2,75±0,121	2018-CK-L04	7,08	4,60	2,27±0,104
2018-CD-L01	4,46	1,30	1,25±0,016	2018-CK-L05	4,12	1,70	1,17±0,020
2018-CD-L02	7,23	8,50	2,44±0,207	2018-CK-L06	20,44	1,90	6,12±0,116
2018-CD-L03	3,21	3,60	0,93±0,033	2018-CL-L01	7,76	1,30	2,06±0,027
2018-CE-L01	16,45	0,40	5,04±0,020	2018-CL-L02	10,56	1,80	3,16±0,057
2018-CE-L02	12,64	11,10	3,69±0,410	2018-CL-L03	2,82	0,90	0,76±0,007
2018-CE-L03	17,34	0,80	4,96±0,040	2018-CL-L04	4,74	1,40	1,56±0,022
2018-CF-L01	3,31	1,30	0,94±0,012	2018-CL-L05	4,10	25,10	1,03±0,259
2018-CF-L02	<0.000	-	-	2018-CL-L06	<0.000	-	-
2018-CF-L03	1,01	16,00	0,25±0,039	2018-CM-L01	11,56	0,90	3,79±0,034
2018-CG-L01	0,34	20,90	0,09±0,020	2018-CM-L02	2,85	3,50	0,85±0,030
2018-CG-L02	1,16	6,70	0,31±0,021	2018-CM-L03	3,52	5,10	0,86±0,044
2018-CG-L03	0,40	17,70	0,13±0,023	2018-CM-L04	14,51	0,90	4,18±0,038
2018-CH-L01	<0.000	-	-	2018-CM-L05	4,86	3,10	1,24±0,038
2018-CH-L02	1,38	19,20	0,34±0,066	2018-CM-L06	4,86	8,00	1,47±0,117
2018-CH-L03	2,84	3,70	0,89±0,033				

Tabulka 4.6 Koncentrace **zinku** ve vzorcích stanovené pomocí ICP-MS

Vzorek	C(Zn) [µg/l]	RSD(Zn) [%]	c(Zn) [µg/g]	Vzorek	C(Zn) [µg/l]	RSD(Zn) [%]	c(Zn) [µg/g]
2018-CA-L01	97,29	1,20	30,37±0,364	2018-CI-L01	107,57	0,40	35,32±0,141
2018-CA-L02	108,87	0,20	32,95±0,066	2018-CI-L02	108,56	1,20	36,97±0,444
2018-CA-L03	167,16	0,30	53,96±0,162	2018-CI-L03	258,15	1,00	77,20±0,772
2018-CA-L04	131,93	1,10	32,26±0,355	2018-CI-L04	282,44	6,40	72,64±4,649
2018-CA-L05	106,87	1,70	30,41±0,517	2018-CI-L05	216,68	3,10	64,80±2,009
2018-CA-L06	98,48	2,20	29,14±0,641	2018-CI-L06	196,06	3,30	55,07±1,817
2018-CB-L01	76,02	0,50	25,80±0,129	2018-CJ-L01	83,60	4,00	24,69±0,988
2018-CB-L02	260,26	1,90	75,13±1,428	2018-CJ-L02	69,86	3,60	20,50±0,738
2018-CB-L03	293,50	1,20	75,92±0,911	2018-CK-L01	216,72	3,50	65,08±2,278
2018-CC-L01	126,64	0,90	37,69±0,339	2018-CK-L02	195,87	2,70	52,01±1,404
2018-CC-L02	174,07	2,70	48,08±1,298	2018-CK-L03	112,50	7,00	35,38±2,476
2018-CC-L03	96,47	2,00	28,52±0,570	2018-CK-L04	161,15	2,60	51,62±1,342
2018-CD-L01	146,48	1,20	41,17±0,494	2018-CK-L05	354,39	2,10	100,62±2,113
2018-CD-L02	126,33	7,70	42,62±3,282	2018-CK-L06	94,31	2,20	28,25±0,622
2018-CD-L03	266,66	1,50	77,11±1,157	2018-CL-L01	576,54	3,20	153,01±4,896
2018-CE-L01	142,24	2,80	43,55±1,219	2018-CL-L02	515,15	2,60	154,33±4,013
2018-CE-L02	140,51	6,30	41,01±2,584	2018-CL-L03	171,04	2,80	46,38±1,299
2018-CE-L03	89,93	2,70	25,71±0,694	2018-CL-L04	385,94	0,80	127,12±1,017
2018-CF-L01	369,98	2,70	104,75±2,828	2018-CL-L05	304,75	15,50	76,61±11,874
2018-CF-L02	96,23	1,40	31,82±0,445	2018-CL-L06	97,29	2,30	28,38±0,653
2018-CF-L03	226,36	1,80	55,21±0,994	2018-CM-L01	150,46	2,40	49,33±1,184
2018-CG-L01	121,93	1,00	33,85±0,338	2018-CM-L02	219,27	1,60	65,49±1,048
2018-CG-L02	132,13	2,50	35,56±0,889	2018-CM-L03	241,41	5,50	58,71±3,229
2018-CG-L03	126,43	2,20	40,97±0,901	2018-CM-L04	159,99	3,70	46,11±1,706
2018-CH-L01	149,07	1,10	39,00±0,429	2018-CM-L05	95,95	0,90	24,45±0,220
2018-CH-L02	485,49	6,80	120,59±8,200	2018-CM-L06	148,10	6,00	44,66±2,680
2018-CH-L03	126,71	0,90	39,70±0,357				

Tabulka 4.7 Koncentrace **kadmia** ve vzorcích stanovené pomocí ICP-MS

Vzorek	C(Cd) [µg/l]	RSD(Cd) [%]	c(Cd) [µg/g]	Vzorek	C(Cd) [µg/l]	RSD(Cd) [%]	c(Cd) [µg/g]
2018-CA-L01	0,32	5,30	0,10±0,005	2018-CI-L01	0,45	2,30	0,15±0,003
2018-CA-L02	0,35	1,50	0,10±0,002	2018-CI-L02	1,53	6,00	0,52±0,031
2018-CA-L03	0,83	5,30	0,27±0,014	2018-CI-L03	0,09	17,40	0,03±0,005
2018-CA-L04	0,53	2,60	0,13±0,003	2018-CI-L04	0,71	8,50	0,18±0,016
2018-CA-L05	0,32	6,40	0,09±0,006	2018-CI-L05	0,36	3,40	0,11±0,004
2018-CA-L06	0,64	5,30	0,19±0,010	2018-CI-L06	0,39	5,10	0,11±0,006
2018-CB-L01	0,27	3,30	0,09±0,003	2018-CJ-L01	0,19	14,20	0,06±0,008
2018-CB-L02	2,99	1,60	0,86±0,014	2018-CJ-L02	0,12	8,80	0,04±0,003
2018-CB-L03	0,52	3,50	0,14±0,005	2018-CK-L01	2,08	1,50	0,63±0,009
2018-CC-L01	0,33	7,50	0,10±0,007	2018-CK-L02	2,81	3,50	0,74±0,026
2018-CC-L02	0,11	17,00	0,03±0,005	2018-CK-L03	0,43	7,60	0,13±0,010

Vzorek	C(Cd) [µg/l]	RSD(Cd) [%]	c(Cd) [µg/g]	Vzorek	C(Cd) [µg/l]	RSD(Cd) [%]	c(Cd) [µg/g]
2018-CC-L03	0,24	7,20	0,07±0,005	2018-CK-L04	1,25	3,50	0,40±0,014
2018-CD-L01	0,27	4,60	0,08±0,003	2018-CK-L05	2,49	2,70	0,71±0,019
2018-CD-L02	0,55	4,10	0,19±0,008	2018-CK-L06	0,84	2,00	0,25±0,005
2018-CD-L03	0,69	4,70	0,20±0,009	2018-CL-L01	3,54	3,10	0,94±0,029
2018-CE-L01	1,19	2,70	0,37±0,010	2018-CL-L02	4,99	2,00	1,50±0,030
2018-CE-L02	0,31	3,70	0,09±0,003	2018-CL-L03	0,34	4,80	0,09±0,004
2018-CE-L03	0,32	11,80	0,09±0,011	2018-CL-L04	0,52	11,30	0,17±0,019
2018-CF-L01	1,18	6,30	0,33±0,021	2018-CL-L05	0,20	29,10	0,05±0,014
2018-CF-L02	0,19	8,40	0,06±0,005	2018-CL-L06	0,05	16,90	0,01±0,002
2018-CF-L03	0,29	15,50	0,07±0,011	2018-CM-L01	1,05	2,70	0,34±0,009
2018-CG-L01	0,13	15,10	0,04±0,006	2018-CM-L02	0,78	4,00	0,23±0,009
2018-CG-L02	0,07	15,20	0,02±0,003	2018-CM-L03	0,45	3,80	0,11±0,004
2018-CG-L03	0,19	2,70	0,06±0,002	2018-CM-L04	0,61	7,10	0,17±0,012
2018-CH-L01	11,89	0,60	3,11±0,019	2018-CM-L05	0,35	9,00	0,09±0,008
2018-CH-L02	5,00	8,30	1,24±0,103	2018-CM-L06	0,14	6,30	0,04±0,003
2018-CH-L03	8,66	1,10	2,71±0,030				

Tabulka 4.8 Rozptyl koncentrace kovů stanovených v listech.

Prvek	Minimální koncentrace [µg/g]	Maximální koncentrace [µg/g]
Nikl	0,09±0,020	6,12±0,116
Zinek	24,45±0,220	153,01±4,896
Kadmium	0,01±0,002	3,11±0,019

Pro eliminaci možné kontaminace vzorků, byly současně měřeny hodnoty pro slepý pokus, kterým byla kyselina dusičná podrobená stejnému rozkladnému programu a operacím jako vzorky. Koncentrace analytů byla však ve slepém pokusu zanedbatelná v porovnání s koncentracemi analytů ve vzorcích.

## 4.2. Diskuse

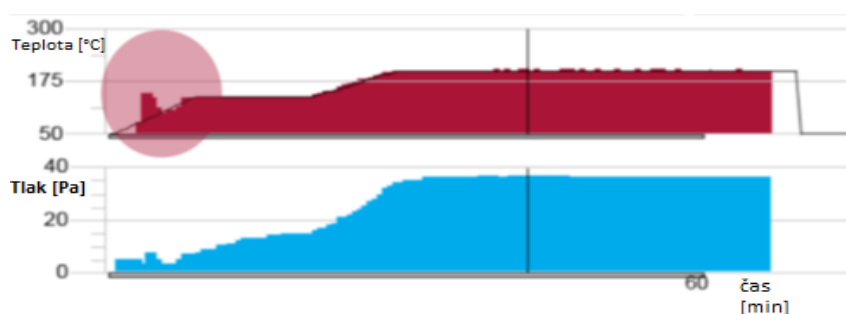
Odběr vzorků nebyl součástí této práce. Vzorky listů byly odebrány pracovníky ČZU, uchovávány při teplotě -6 °C a dodány k analýze v mraženém stavu. Zvolená analytická metoda vyžadovala použití dokonale vysušených vzorků. Přítomnost vody by mohla narušit rozklad vzorků a následně i analýzu. Dále by znemožňovala přepočítání koncentrace kovů ve vzorku na navážku vzorku, ten musí být proveden na navážku suché hmotnosti. V první fázi byla optimalizována teplota a délka sušení vzorků před rozkladem. Na

základě prvotních experimentů byla stanovena doba sušení na 3 hodiny při teplotě 90°C. Po této době již vzorky nevykazovaly změnu hmotnosti vzniklou odpařováním vody.

Mikrovltný rozklad se běžně provádí za přítomnosti chemických látek. Nejprve byla použita kombinace 6 ml kyseliny dusičné a 2 ml peroxidu vodíku. Rozkladné patrony byly ponechány 1 hodinu v digestoři kvůli možné prudké reakci. Po této době bylo zjištěno, že vzorek nebyl dostatečně smáčen použitými chemikáliemi v patroně respektive, že se nenacházel u dna patrony. Reakcí peroxidu vodíku vznikl v patronách plyn ve formě bublin, které vytlačovaly vzorek nad rozkladnou směs kapalin. Takto nedostatečně ponořený vzorek by nebylo možno podrobit rozkladu, protože by došlo k jeho spálení a pravděpodobně k poškození rozkladných patron.

Pro zlepšení rozkladu, tedy zamezení vzniku velkého množství plynu, byla použita pouze kyselina dusičná a také byla snížena navážka vzorků z původních maximálních 0,3 g na výsledných max 0,2 g. Vzorek byl umístěn do digestoře 12 hodin před plánovaným mikrovltným rozkladem a zalit 6 ml kyseliny dusičné. Po proběhnutí předrozkladu byl celkový objem kyseliny v patroně doplněn na 8 ml a vzorky byly vloženy do mikrovltného rozkladného zařízení.

Rozklad probíhal podle přednastavených parametrů určených výrobcem. Zvolený program, který výrobce nabízí je koncipován pro ideální proces rozkladu rostlinných matric. Na ilustračním **obrázku 4-4** lze pozorovat průběh rozkladného procesu, kde horní křivka představuje postupný nárůst teploty a spodní křivka postupné zvyšování tlaku v rozkladných patronách. Tyto dvě hodnoty jsou přednastavené rozkladným programem a průběžně kontrolovány pomocí jedné speciální rozkladné patrony s čidly.



Obrázek 4-4: Ilustrační graf průběhu rozkladného procesu v zařízení Speedwave Xpert [2]

Rozkladem vznikl homogenní roztok, který byl vhodný pro analýzu pomocí ICP-MS. Analýza byla provedena v jednom kroku pro všechny vzorky s využitím automatického dávkovače. Výstupem byl soubor dat obsahující naměřené hodnoty koncentrací stanovovaného zinku, kadmia a niklu v roztoku vzorku. Současně s měřením těchto prvků probíhalo měření vápníku, mědi a olova pro druhou bakalářskou práci kolegy Plecháče [27]. Po přepočtení získaných hodnot na navážky jednotlivých vzorků jsou výsledné koncentrace uvedeny v jednotkách  $\mu\text{g/g}$ . Hodnoty udávají koncentrace kovů v navážce vysušených listů, odebraných z lokalit uvedených v **tabulce 3.2**.

Kovy kadmium a zinek byly stanoveny ve všech vzorcích. Nikl nebyl nalezen ve vzorcích 2018-CI-L05, 2018-CF-L02, 2018-CL-L06, 2018-CH-L01; v těchto případech byla koncentrace niklu nulová nebo pod detekčním limitem použitého přístroje pro ICP-MS. Průměrná koncentrace kadmia ve vzorcích byla nejmenší ve srovnání s koncentrací niklu a zinku. Koncentrace zinku byla naopak řádově vyšší, a to z důvodu významného podílu tohoto prvku v biochemických pochodech v rostlinách. S tímto faktem souvisí i větší příjem zinku do rostliny, a tím i vyšší koncentrací v listech.

Ze souboru analyzovaných vzorků nelze přesněji vyvodit souvislosti mezi jednotlivými koncentracemi a místy sběru. Vzorky nejsou v lokalitách odebrány z druhově stejných stromů a z informací získaných z jiných studií [11,21] jsou koncentrace látek v rostlinách silně ovlivněny právě druhem rostliny. Některé studie [12] ukazují na podstatné rozdíly v naměřených koncentracích v případech, kdy se vzorky před měřením omyjí vodou, a naopak, pokud se vzorky neomyjí. U vzorků, které jsou před stanovením omyty, jsou výsledné koncentrace výrazně nižší než u vzorků bez omytí. Dodané informace k jednotlivým vzorkům neobsahují údaje o intenzitě srážek v dané lokalitě před samotným sběrem. Vzorky určené pro stanovení nebyly před analýzou omyty na základě dohody se zadavatelem práce.

Zvláštním případem je zvýšená koncentrace kovů ve vzorcích z lokality Desná, kde blízko místa odběru fungovala a stále funguje firma vyrábějící kovové šperky. V dané lokalitě je koncentrace kadmia o jeden, až dva řády vyšší než u ostatních vzorků. Mírně vyšší byly také koncentrace kovů u vzorků z lokality Ostrava. Kovy, které jsou uvolněny do atmosféry během těžby či průmyslových procesů, jsou sorbovány na prachové částice.

Prachové částice se usazují na listech stromů a mohou tak zvyšovat naměřenou koncentraci a zároveň je část kovů absorbována rostlinou.

Naměřené koncentrace kovů lze hodnotit i v rámci jednotlivých druhů stromů. Vzhledem k malému počtu vzorků a nerovnoměrnému zastoupení jednotlivých druhů nelze výsledné koncentrace považovat za charakteristické pro určitý druh ve všech lokalitách. Zvýšená koncentrace zinku a kadmia je častá u druhů javoru, důvodem může být jejich časté vysazování v urbanizovaných lokalitách, kde se dá očekávat vyšší kontaminace přírodního prostředí než v lokalitách mimo město.

Naměřené koncentrace jednotlivých kovů se řádově shodují s koncentracemi získanými z jiných studií [12,28] prováděných na podobných matricích.

Získaná data lze považovat za přesná a odpovídající skutečnosti. Můžeme tedy konstatovat, že mikrovlnný rozklad spojený s následnou analýzou pomocí ICP-MS je vhodná metoda pro stanovování prvků v listech stromů, což bylo hlavním cílem této práce. Nejvíce náchylnými částmi metodiky jsou samotný sběr vzorků a následná příprava na rozklad. Během těchto dvou kroků může nejnanežněji dojít ke kontaminacím vzorků a zároveň je zde i největší možnost lidské chyby.

Tato práce by mohla poukázat na možné využití opadavých dřevin jako ukazatelů každoroční kontaminace přírodního prostředí v urbanizovaných oblastech. V rámci rozsáhlejší studie by bylo vhodné opakovaně odebírat více vzorků dřevin stejného druhu ve všech lokalitách. Nutností je sledovat intenzitu srážek v dané lokalitě před odběrem vzorku. Při rozsáhlejším monitoringu více druhů dřevin by naopak výsledky mohly ukázat na rozdílnou schopnost rostlin kovy absorbovat a ukládat.

## 5. Závěr

Cílem práce bylo stanovit koncentrace vybraných těžkých kovů v rostlinném materiálu (listy stromů) z různých lokalit na území ČR. Experimentálně bylo analyzováno celkem 53 vzorků různých druhů dřevin. Pro stanovení obsahu zinku, niklu a kadmia byla použita hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Vzorky byly před analýzou vysoušeny při teplotě 90 °C a následně homogenizovány. Rozložení bylo provedeno za přítomnosti kyseliny dusičné v mikrovlnném rozkladném zařízení. Všechny rozložené vzorky byly analyzovány ICP-MS a u všech vzorků byly naměřeny koncentrace sledovaných prvků. Nejvyšší koncentrace byly naměřeny u zinku, rozmezím hodnot 24,65 až 154,33 µg/g. U kadmia byly naměřeny nejnižší koncentrace naopak rozptýl naměřených hodnot byl širší (viz. **Tabulka 4.8**). Cíle práce byly splněny.

Výsledky práce ukazují, že použitá úprava vzorků a následná analýza metodou ICP-MS je vhodná a citlivá pro stanovení vybraných prvků i při velmi nízkých koncentracích.

Vzhledem k malému souboru vzorků nebyla pozorována výrazná závislost mezi naměřenými koncentracemi prvků a lokalitami odběrů, případně i druhy stromů.

## Seznam použité literatury

[1] Mader, P.; Čurdová, E.: *METODY ROZKLADU BIOLOGICKÝCH MATERIÁLŮ PRO STANOVENÍ STOPOVÝCH PRVKŮ\**, 1997.

[2] Products, B.; Gmbh, I.: Speedwave Microwave digestion for all requirements speed wave microwave digestion. *Manuál k přístroji Speedwave Xpert*.

[3] Crouch, S.R.; Holler, F.J.; West, D.M. *et al.*: *Analytická chemie*. 1st ed. Praha: VŠCHT, 2019.

[4] Jeanely Hunt, MS, M.: Celebrating 25 Years of Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry. (2008), navštíveno 5.6.2021.

[5] Ammann, A.A.: Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS): A versatile tool. *Journal of Mass Spectrometry* (2007); **42**, 419–27.

[6] Mihaljevič, M.; Strnad, L.; Šebek, O.: Využití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem v geochemii. *Chemické Listy* (2004); **98**, 123–30.

[7] Wilschefski, S.; Baxter, M.: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry: Introduction to Analytical Aspects. *Clinical Biochemist Reviews* (2019); **40**, 115–33.

[8] Otruba, V. ed: Kurz ICP spektrometrie. *Sborník: Kurz ICP Spektrometrie*. Univerzitní kampus Bohunice, Kamenice 5, Brno: Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, 2011, 310.

[9] K, J.; J, B.: *ICP-MS a Možnosti Jejího Využití v Analýze Vzorků Ze Životního Prostředí, Polutanty v Ekosystému I*. Praha, 1996.

[10] Mestek, O.: Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. (2010), 33.

[11] Raskin, I.; Kumar, P.N.; Dushenkov, S. *et al.*: Bioconcentration of heavy metals by plants. *Current Opinion in Biotechnology* (1994); **5**, 285–90.

[12] Gratani, L.; Crescente, M.F.; Varone, L.: Long-term monitoring of metal pollution by urban trees. *Atmospheric Environment* (2008); **42**, 8273–7.

- [13] Barceloux, D.G.: Zinc. *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology* (1999); **37**, 279–92.
- [14] De Laeter, J.R.; Böhlke, J.K.; De Bièvre, P. *et al.*: *Atomic Weights of the Elements: Review 2000.*, 2003.
- [15] Simon-Hettich, by B.; Wibbertmann, A.; Food Authority, Z. *et al.*: Environmental Health Criteria 221 ZINC First draft prepared. *World Health Organization Geneva* (2001).
- [16] Draghici, C.; Jelescu, C.; Dima, C. *et al.*: Heavy Metals Determination in Environmental and Biological Samples. *NATO Science for Peace and Security Series C: Environmental Security* (2011); **1**, 145–58.
- [17] Harbison, R.D.; Bourgeois, M.M.; Johnson, G.T.: *Hamilton and Hardy's Industrial Toxicology: Sixth Edition.* wiley, 2015.
- [18] Barceloux, D.G.: Nickel. *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology* (1999); **37**, 239–58.
- [19] Hooser, S.B.: Cadmium. (2021), 422–6.
- [20] Environmental Health Criteria 108 Nickel. (1991).
- [21] Nagajyoti, P.C.; Lee, • K D; Sreekanth, • T V M: Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. , DOI: 10.1007/s10311-010-0297-8.
- [22] Monika Krmenčíková: Kadmiu a jeho potencionální vliv na organismus. (2007).
- [23] Cadmium: An Illusive Presence | Dartmouth Toxic Metals.
- [24] Environmental Health Criteria 134 Cadmium. (1992).
- [25] Cherian, Lata; Gupta, V.K.: Spectrophotometric determination of zinc using 4-carboxyphenyldiazoaminoazobenzene and its application in complex materials. *Chemia Analytyczna* (1992); **37**, 69–72.
- [26] May, T.W.; Wiedmeyer, R.H.; Survey, U.S.G. *et al.*: A Table of Polyatomic Interferences in ICP-MS. (1998); **19**, 150–5.

[27] Plecháč, M.: Tanovení vápníku, mědi a olova ve vzorcích listů pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. (2021).

[28] Alaimo, M.G.; Varrica, D.: Recognition of Trace Element Contamination Using *Ficus macrophylla* Leaves in Urban Environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health* (2020); **17**, DOI: 10.3390/IJERPH17030881.