MASARYKOVA UNIVERZITA

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Brno 2009

Blanka Maňáková

MASARYKOVA UNIVERZITA

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

VÝZKUMNÉ CENTRUM PRO CHEMII ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ
A EKOTOXIKOLOGII

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

KOVY A JEJICH BIODOSTUPNOST

FORMY ARSENU A FOSFORU V ČISTÍRENSKÝCH KALECH

Brno 2009 Blanka Maňáková

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně na základě pokynů a rad svého vedoucího, s využitím zázemí pracoviště a uvedené literatury.

V Brně dne 27. května 2009

.....

Blanka Maňáková

Na tomto místě bych ráda poděkovala Mgr. Jiřímu Machátovi, Ph.D., vedoucímu mé bakalářské práce, za cenné připomínky a odborné rady poskytnuté při zpracování daného tématu. Dále bych chtěla poděkovat Mgr. Janu Kutovi za jeho velkou trpělivost a odbornou pomoc. Děkuji také RNDr. Jakubu Hofmanovi, Ph.D. za poskytnutí vzorků pro analýzu. Můj dík patří i mým rodičům, mému příteli a přátelům za veškerou podporu a pomoc.

OBSAH

1 Úvod a cíl práce 6
2 Teoretická část 7
2.1 Základní pojmy 7
2.1.1 Biodostupnost a mobilita polutantů 7
2.1.2 Kaly a odkaliště 8
2.2 Arsen a fosfor 8
2.2.1 Stabilita a toxicita specií As a P 8
2.2.2 Biodostupnost a mobilita As a P 9
2.3 Metody stanovení arsenu a fosforu 11
2.3.1 Stanovení celkového obsahu As a P 11
2.3.2 Frakcionační analýza 12
2.3.2.1 Jednokroková extrakce 12
2.3.2.2 Sekvenční extrakce 13
2.3.3 Speciační techniky 13
2.3.3.1 Separační metody 14
2.3.3.2 Detekční techniky 14
2.4 ICP-MS 15
2.4.1 Princip 15
2.4.2 Interference 16
2.4.3 Spojení HPLC-ICP-MS 17
3 Experimentální část 18
3.1 Použité chemikálie 18
3.2 Přístroje a pomůcky 18
3.3 Popis a základní charakteristika vzorku 18
3.3.1 Vzorky kalů 18
3.3.2 Stanovení pH 19
3.3.3 Stanovení sušiny 19
3.3.4 Celkový a organický uhlík 19
3.4 Stanovení As a P v kalech 19
3.4.1 Celkový obsah 19
3.4.2 Extrahovatelné podíly 21
3.4.3 Stanovení specií As 21
4 Výsledky a diskuze: 23
4.1 Úvod 23
4.2 Charakterizace vzorku 24
4.3 Metodika stanovení koncentrace As a P v roztoku vzorku pomocí ICP-MS 25
4.4 Extrahovatelné podíly 28
4.5 Specie 30
4.6 Zhodnocení výsledků 34
5 Závěr 36
6 Použité symboly a zkratky 38
7 Použitá literatura 39

1 Úvod a cíl práce

Průmyslová výroba je významnou součástí života člověka a rozvoje společnosti. V dnešní době je produkováno velké množství průmyslových výrobků každodenní potřeby, které je však spojeno s řadou odpadních produktů. Příkladem odpadů jsou kaly, v nichž se koncentruje většina nežádoucích složek z procesu čištění odpadních vod. V odkalištích se tak mohou koncentrovat těžké kovy a toxické látky, jejichž úniky většinou vedou k ekologickým problémům.

Konkrétním příkladem mohou být odpadní vody z výroby kyseliny fosforečné, které obsahují velké množství fosfátů. Čištěním těchto vod vzniká čistírenský kal, jehož hlavní složkou je fosforečnan vápenatý. Tyto kaly však obsahují i řadu nečistot a to převážně těžkých kovů, které mají často už v malých množstvích toxické účinky. Vzhledem k chemické podobnosti prvků můžeme očekávat, že zvýšené množství fosforečnanů znamená rovněž vyšší obsah arsenu. Problém tedy nastává s likvidací takového typu odpadu.

Jednou z možností využití kalu může být aplikace na zemědělskou půdu. Modelování chování toxických prvků v půdách je ale problémové. Celkový obsah prvku neposkytuje žádnou informaci o zastoupení specií či síle jejich vazby v kalu. Laboratorními experimenty rovněž dosáhneme pouze předpokládané biodostupnosti, která závisí na složení půdy i kalu, a může se proto jejich vzájemnou interakcí měnit. Pro určení jednotlivých biodostupných podílů se využívají různé extrakční postupy, které se volí podle typu frakce, která má být za daných podmínek uvolněna. Toxicita prvku pak závisí na vlastnostech jeho specií v této frakci. Pro rozlišení jednotlivých forem se používají různé separační metody s prvkově selektivní detekcí. Takto získaný soubor informací může poskytnout určitou představu o budoucím vlivu aplikovaného kalu na rostliny a živočichy, jejichž život je spojen s půdou.

Cílem této práce je provedení analýzy vzorků kalů z výroby fosfátů. Jedná se o stanovení celkových obsahů arsenu a fosforu, jejich biodostupných podílů a v nich zastoupených specií. Získané výsledky by mohly být nápomocny při hodnocení kalů s ohledem na jejich aplikovatelnost na zemědělskou půdu.

2 Teoretická část

2.1 Základní pojmy

2.1.1 Biodostupnost a mobilita polutantů

Z pohledu studia látek v životním prostředí je pojem biodostupnost spojen se schopností látky interagovat s živým organismem. Evropské centrum pro ekotoxikologii a toxikologii látek (ECOTOC, 2002) definuje biodostupnost jako schopnost látky interagovat s vnitřním systémem organismu. Ruby a spol. (1996) označují biodostupnou část jako množství látky, která je přijímána z půdy desorpčními procesy za fyziologických podmínek, které ji zapojují do oběhového sytému v těle. Biodostupnost tedy udává míru interakce látky s živým organismem. Závisí na formě dané látky, matrici a typu organismu, se kterým přijde do styku. Čím více bude látka schopná přecházet do půdního roztoku, tím více bude mobilnější v prostředí a její potenciální biodostupnost větší (Price, 2005). Aby byly prvky pro rostlinu přístupné, musí být přítomny v půdním roztoku ve formě volných disociovaných iontů nebo rozpustných organických i anorganických komplexů (Tlustoš, 2007). Celková koncentrace prvku v ekosystému nemusí nezbytně představovat její biologickou dostupnost nebo potenciální toxicitu. Swartz a spol. (2001) se domnívají, že příjem kovu rostlinou není lineárně závislý na jeho koncentraci v půdě, nýbrž závisí na přístupnosti kovu dané rostlině. Pro organismy je důležitá dosažitelnost (tj. momentální a potenciální dostupnost) látky v určitém množství za daný časový interval a daných podmínek. Dostupnost látek úzce souvisí s jejich mobilitou.

Chemickou látku označujeme jako mobilní, pokud má schopnost pronikat do různých složek životního prostředí. O tom, jestli je prvek v půdě mobilní nebo ne, rozhoduje forma prvku a vlastnosti půdy: sorpční kapacita, obsah půdní organické hmoty, hydrochemické podmínky – pH a vlhkost (Száková, 2007) a dále zrnitost půdy, redoxní potenciál, přítomnost huminových látek a jílů, hydratovaných oxidů a hydroxidů Fe, Al a Mn (Cullen, 1989) i činnost mikroorganismů. Látka s výraznou mobilitou se může rozptýlit na velkou vzdálenost, schopnost jejího transportu je ale velkou měrou ovlivněna sorpcí na půdní částice.

Sorpce je obecný pojem pro adsorpci a absorpci a označuje schopnost látky vázat se na pevné částice půd a sedimentů. Mluvíme-li o adsorpci, jedná se o vazbu látky na povrch částic. Absorpce představuje průnik látky do vnitřních pórů částic. Proces sorpce může být řízen mechanicky, fyzikálně či chemicky a závisí na charakteru matrice, pH prostředí, vlastnostech a náboji látky. Jednotlivé ionty jsou poutány různými silami podle typu interakce

(např. iontovými nebo kovalentními vazbami, Van der Waalsovými silami). Chemickou sorpcí mohou vznikat sloučeniny méně rozpustné a tedy více chráněné proti vyplavení (European Commission, 2003). V alkalických a neutrálních půdách jsou kovy silněji poutány a jejich přístupné množství je menší než u půd kyselých (Tlustoš, 2007). Z toho vyplývá, že hodnota pH prostředí má vliv na hustotu náboje na povrchu půdních částic a ovlivňuje adsorpci kationtů kovů. Takto mohou být tvorbou komplexů poutány nejen polutanty, ale i živiny využívané pro postupný příjem rostlinami. Jednotlivé typy půd se liší svojí sorpční kapacitou a mezi výrazné sorbenty patří jíly, huminové kyseliny, oxidy a hydroxidy hliníku, železa a manganu.

2.1.2 Kaly a odkaliště

Kal je vodní suspenze jemných pevných částic. Z čistíren odpadních vod vystupuje kal stabilizovaný a většinou ve formě velmi zředěné vodné suspenze, u níž se dále zvyšuje podíl sušiny (obsah vody však je i na konci tohoto procesu 70-80 hm. %). Anorganické a organické látky mohou být v kalech zastoupeny přibližně ve stejném poměru (Hartman, 2008), obecně to ale závisí na technologii čištění a zdroji odpadní vody. Koncentrace kalů se vyjadřuje jako obsah sušiny kalu a uvádí se v jednotkách $g.l^{-1}$ nebo %. Složení a obsah látek v sušině závisí především na charakteru znečištění odpadních vod a na čistírenských procesech, kterým byla daná odpadní voda podrobena, tj. mechanické, biologické a fyzikálně-chemické čištění (Dohányos, 2006). Získané kaly se většinou deponují v odkalištích.

Odkaliště je přírodní nebo uměle vytvořený prostor na zemském povrchu sloužící pro trvalé nebo dočasné uskladnění převážně hydraulicky ukládaného kalu (ČSN 75 3310).

Pokud upravené čistírenské kaly obsahují vysoké množství živin, organických látek a fosforu ve formě fosforečnanů, mohou být využity v zemědělství jako hnojiva. Z důvodu zvýšené koncentrace toxických látek je předchozí úprava kalu nezbytná a vede k rozkladu či imobilizaci těchto nebezpečných látek. Pokud by k úpravě nedošlo, rostliny by je přijímaly v rozpuštěné formě z půdního roztoku.

2.2 Arsen a fosfor

2.2.1 Stabilita a toxicita specií As a P

Stabilitu vazeb rizikových látek v kalech ovlivňuje řada faktorů - především původ kalu, hodnota pH, oxidačně-redukční podmínky, vlhkost a proces předúpravy (Száková,

2001). Po aplikaci kalu na půdy se arsen i fosfor vyskytují ve formě organických i anorganických sloučenin. Z anorganických forem fosforu převládá výskyt orthofosforečnanů a polyfosforečnanů (tj. hydrolyzovatelné fosforečnany). Určení forem prvků je tedy nezbytné pro posouzení jejich toxicity a chování v životním prostředí.

Chemická specie je forma prvku definovaná svým izotopickým složením, elektronovým nebo oxidačním stavem, resp. strukturou molekuly nebo komplexu (IUPAC, 2000). Jednotlivé formy specií mají své typické vlastnosti: toxicitu, biodostupnost, chemickou reaktivitu, mobilitu v životním prostředí, perzistenci apod.

Toxicita sloučenin As v půdě závisí na míře jejich sorpce na půdní částice. Můžeme tedy předpokládat, že čím je tato vazba slabší, tím jsou sloučeniny rozpustnější a přístupnější rostlinám. Arsen je stálý v oxidačním stupni As^{III-}, As^{III} a As^{V}. Sulfid arsenitý je prakticky nerozpustný minerál auripigent. Arsenocholin (AsC) a arsenobetain (AsB) jsou netoxické, stejně tak i kovový As (v organismu ale dochází k jeho přeměně na toxické látky). Arsen vázaný na organické látky je většinou méně toxický než anorganicky vázaný. Nejtoxičtější formou je As^{III} (IRZ, 2008), který je stabilní v zásaditých půdách. Je rozpustnější, tedy mobilnější a toxičtější než As^{V} (Tlustoš, 2007). U rostlin se toxicita arsenu projevuje plasmolýzou pletiv kořenů a žloutnutím listů vedoucím až k nekróze špiček a okrajů listů (O´Neill, 1990) a redukci růstu. U lidí má arsen karcinogenní účinky, způsobuje rakovinu kůže a plic, při akutní expozici poškozuje nervový systém, játra, ledviny a žaludek.

Fosfor je biogenní prvek, který je v určitých koncentracích nezbytný k růstu rostlin. Přítomnost větších koncentrací fosforu v půdě má za následek lokální problémy týkající se vodních ploch. Nárůst koncentrace fosforečnanů vede k eutrofizaci vod tzn. obohacení prostředí živinami. Během růstu organismy ve vodním prostředí sníží obsah fosforu za spotřeby kyslíku obsaženého ve vodě, což má za následek snížení kvality vody. Vnějším ukazatelem tohoto procesu je přemnožení sinic a řas.

2.2.2 Biodostupnost a mobilita As a P

Arsen a fosfor tvoří chemicky velmi podobné sloučeniny se srovnatelnými disociačními konstantami i rozpustností solí. Pokud se tyto dvě látky vyskytují v půdě společně, dochází mezi nimi k soupeření o sorpční místa na půdních částicích. Výsledkem je vyšší přístupnost arsenu a tím i vyšší obsahy v rostlinách (Soudek, 2006). Předpokládá se, že As^{V} může nahrazovat fosfor v řadě biochemických reakcí tzn. že je mezi nimi antagonický vztah. Pokud je přístupnost fosforu v půdě nízká, mají rostliny schopnost vyměšování

karboxylových kyselin a mění tím lokálně pH, čímž dojde k uvolnění fosforu z půdy. Současně s ním může být uvolňován také arsen z oxidů a hydroxidů železa.

Některé druhy kapradin (např. Pteris vittata) mají schopnost působit jako akumulátory a hyperakumulátory arsenu. Jejich schopnost příjmu As je tak velká, že koncentrace v těchto rostlinách může překročit koncentrace v půdě, tzn. že biokoncentrační faktor je větší než 1 (Soudek, 2006).

Z pohledu zpřístupnění fosforu pro rostliny je důležité zamezit chemisorpci, během které mohou vznikat málo rozpustné sraženiny s fosforem pevně vázaným a těžce přístupným. Velmi významné jsou v půdě organické sloučeniny. Jejich vazba s fosfátem je velmi energeticky bohatá, málo stabilní a fosfor je z ní rostlinami dobře přijímán (Richter, 1994)

Mobilita arsenu v půdě je závislá na jeho specii, ale obecně je velice nízká v porovnání s jinými mobilními prvky jako je Zn nebo Cd (Száková, 2007), přesto byl i při takové mobilitě prokázán přenos do rostlin. Arsen je v půdách přítomen především v anorganických formách. V oxidačních nebo slabě redukčních podmínkách převažují arsenitan a arseničnan, zatímco v silně redukčních podmínkách se vyskytují As^{III} a As^{0} (Hudson-Edwards, 2004). Arsen může být vázán ve formě nejrůznějších sulfidů (arsenopyrit FeAsS, lölingit $FeAs_2$) a komplexů ($As(OH)_3$, $As(OH)^{4-}$, AsO_4^{3-}), ze kterých se může po uvolnění opět oxidovat na As^{V} a znovu se srážet s oxidy nebo hydroxidy Fe, Al a Mn.

V přítomnosti Fe a Al vznikají arsenitany a arseničnany těchto kovů, které jsou zejména v kyselých půdách málo rozpustné. Jestliže se v půdě vyskytnou podmínky pro redukci As^{V}, vzniká díky nízkému redoxnímu potenciálu As^{III}, který je mobilnější a přechází do půdní vody (Száková, 2007).

Fosfor se v životním prostředí vyskytuje nejčastěji v nejvyšším oxidačním stavu jako sůl kyseliny orthofosforečné PO_4^{3-}. V alkalických a neutrálních půdách je fosfor vázán ve formě fosforečnanu. Se zvyšujícím se pH roste jeho sorpce na vápník a tedy i obsah vápenatých fosfátů. Jejich rozpustnost klesá v řadě: hydrogenfosforečnan vápenatý > oktokalciumfosfát > hydroxylapatit > karbonátapatit > fluorapatit (Richter, 1994). V kyselých půdách dochází ke srážení kyseliny orthofosforečné s oxidy nebo hydroxidy železa a hliníku. Vznikají tak málo rozpustné sloučeniny (např. variscit $Al(OH)_2.H_2PO_4$, fosfosiderit $Fe(OH)_2.H_2PO_4$). Fosfor může být v půdě poután různě pevně v závislosti na druhu sorpce: chemisorpce vede ke vzniku méně rozpustných fosfátů, fyzikálně-chemická adsorpce poutá fosfátové ionty na povrch částic jílů a biologická sorpce imobilizuje látky v důsledku činnosti mikroorganismů (Richter, 1994).

Mobilita arsenu i fosforu je tedy závislá na půdních reakcích a sorpční kapacitě půdy. Vazba na jílové minerály a oxidy Al a Fe způsobuje menší mobilitu těchto látek a tedy i menší dostupnost. U půd s menším obsahem jílů je tomu naopak. Všechny tyto faktory může přídavek čistírenského kalu do půd ovlivnit a změnit půdní reakce.

Arsen se ale do půd nedostává pouze v důsledku antropogenních činností. Je součástí i mnoha přírodních minerálů a nejčastěji se vyskytuje se sírou ve formě sulfidů. Arsen se také vyskytuje ve spojitosti s barevnými a vzácnými kovy (Au, Ag) a vede k možnostem jeho využití jako geologický vyhledávací ukazatel. Naneštěstí důsledkem tohoto spojení je emise plynů a částic (zejména pak arsenopyrit FeAsS a As_2O_3) během těžebních operací a tavení (Cullen, 1989). Arsen se také nachází ve fosilních palivech, především v hnědém uhlí, které vykazuje vysoké obsahy arsenu po celém světě (Száková, 2007).

Fosfor se vyskytuje ve všech magmatických horninách v různých formách apatitu ve spojení s fluorem a chlorem. V menší míře se vyskytují fosforečnany železa s příměsí hliníku a manganu.

2.3 Metody stanovení arsenu a fosforu

2.3.1 Stanovení celkového obsahu As a P

V praxi je pro stanovení As a P v půdách nebo kalech často využíván suchý i mokrý rozklad, možné postupy zobrazuje tabulka č.1.

Suchý rozklad se provádí v otevřených nádobkách za běžného tlaku a je vhodný zejména pro vzorky s vysokým obsahem organických látek. Vzorek zahříváme s tzv. pomocných činidlem za účelem zvýšení účinnosti oxidace organické matrice a zamezení ztrát analytu. Teplota na začátku rozkladu by měla stoupat jen pozvolna na 500 až 600 °C. Popel se následně louží buď ve vodě nebo ve zředěných kyselinách.

Mokrý rozklad se provádí například směsí kyselin H_2SO_4 + HNO_3 + $HClO_4$ a analyt přechází do roztoku. Kyselina chloristá je velmi účinným oxidačním činidlem, přidává se však do reakční směsi až ve chvíli, kdy je už většina organických látek rozložena kyselinou dusičnou. Pro stanovení obsahu prvků ve vzorku se také využívá roztok 2 $mol.l^{-1}$ HNO_3 nebo lučavky královské (směs HCl : HNO_3 v poměru 3:1) za varu. Tyto silné kyseliny však nezajišťují rozklad těžko rozložitelných silikátových forem, pokud jsou přítomné ve vzorku.

Pro stanovení koncentrace analytu v připraveném roztoku vzorku lze využít například atomovou absorpční spektrometrii s atomizací v plameni, elektrotermickou atomizací nebo

s technikou generování hydridu pro As. Zde nejprve kvantitativně převedeme všechen přítomný As na As^{III}. Ten reaguje s tetrahydridoboritanem sodným ($NaBH_4$) v kyselém prostředí na plynný AsH_3, který je veden do atomizátoru a měří se absorbance při vlnové délce 193,7 nm. Dále lze pro oba prvky využít optickou emisní či hmotnostní spektrometrii s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES, ICP-MS), v případě fosforu jsou běžné spektrofotometrické metody.

Tabulka č.1: Suchý a mokrý rozklad čistírenských kalů (Száková, 1994).

Metoda	Materiál	Objem [ml]	Použité kyseliny	Teplota [°C]	Výsledný objem [ml]
Mokrý rozklad	Čistírenský kal	50	30 ml H_2SO_4 + 50 ml HNO_3	120	100
		50	100 ml HNO_3 + 10 ml H_2O_2	*	100
		50	30 ml HNO_3 + 30 ml HNO_3 + $HClO_4$	210	100
Metoda	Materiál	Objem [ml]	Pomocné činidlo	Cílová teplota [°C]	Loužení popela
Suchý rozklad	Čistírenský kal	50	*	450 + dopálení s HNO_3	100 ml H_2O

* neuvedeno

2.3.2 Frakcionační analýza

2.3.2.1 Jednokroková extrakce

Celková koncentrace prvků ve vzorku není dobrým ukazatelem jejich biodostupnosti nebo potenciálního rizika. A proto se biodostupnost předpovídá pomocí množství, které se vyextrahuje buď sekvenčními nebo jednokrokovými extrakcemi. Univerzální jednokroková extrakční metoda neexistuje. Konkrétní metody volíme vždy s ohledem na daný analyt, vlastnosti vzorku a matrice. Příklady jednokrokových extrakčních činidel shrnuje tabulka č.2.

Tabulka č. 2: Nejčastěji využívané extrakční metody (Rauret, 1998).

Kyselá extrakce	HNO_3 2 mol.l^{-1}, lučavka královská, HCl 1 mol.l^{-1}
Chelatační činidla	EDTA 0,05 mol.l^{-1}
Pufrované solné roztoky	CH_3COONH_4 (pH 7, pH 4,8) 0,1 mol.l^{-1}
Nepufrované solné roztoky	$CaCl_2$ 0,01 mol.l^{-1}, $CaCl_2$ 0,05 mol.l^{-1}, $NaNO_3$ 0,1 mol.l^{-1}, NH_4NO_3 1 mol.l^{-1}

2.3.2.2 Sekvenční extrakce

Sekvenční extrakce poskytuje detailní informace o rozdělení prvků mezi jednotlivé složky půdy a pevnosti jejich vazeb. Často uvažované podíly jsou tyto: vyměnitelná frakce (labilní), frakce vázaná na uhličitany, hydroxidy železa a manganu a reziduální podíl (většinou vázaným v silikátové matrici, která je těžko rozložitelná). Sekvenční analýza je založena na volbě po sobě následujících extrakčních činidlech a zahrnuje 3-7 kroků. Vybrané sekvenční extrakce zobrazuje následující tabulka č.3.

Tabulka č.3: Sekvenční extrakce stopových prvků ze vzorků půd a sedimentů (Rauret, 1998).

Metoda	1	2	3	4	5
Tessier et al.	$MgCl_2$ 1 mol.l^{-1} pH 7	NaOAC 1mol.l^{-1} pH 5	$HN_2OH.HCl$ 0,04 mol.l^{-1} 25% HOAc	H_2O_2 8,8 mol.l^{-1} HNO_3/NH_4OAc	$HF/HClO_4$
frakce	iontově výměnná	uhličitanová	Fe a Mn oxidy	organická hmota a sulfidy	residuál silikátové fáze
Förstner	NaOAc 1 mol.l^{-1} pH 5	$NH_2OH.HCl$ 0,1 mol.l^{-1}	NH_4Ox/Hox 0,1 mol.l^{-1} pH 3 ve tmě	H_2O_2 8,8 mol.l^{-1} pH 7 NH_4OAc	HNO_3
frakce	výměnná a uhličitanová	jednoduše redukovatelná	středně redukovatelná	organická hmota a sulfidy	residuál silikátové fáze
Meguellati	$BaCl_2$ 1 mol.l^{-1} pH 7	HNO3 + H_2O_2 8,8 mol.l^{-1}	NaOAc 1 mol.l^{-1} pH 5	NH_2OH,HCl 0,1 mol.l^{-1} 25% HOAc	HF/HCl
frakce	výměnná	organická fáze a sulfidy	uhličitanová	Fe a Mn oxidy	residuál silikátové fáze

Kromě těchto postupů existuje celá řada dalších metod, které dokáží v půdách podrobněji rozlišit různě vázané formy kovů - např. vazby na rozpustné nebo nerozpustné organické látky, na amorfní nebo krystalické oxidy železa či oxidy manganu.

2.3.3 Speciační techniky

Veškeré frakcionace jsou pouze skupinová stanovení prvku, který se v půdě váže na její určitý podíl. Poskytují jen omezenou informaci o zastoupení specií v takto uvolněné frakci. Jestliže se chceme zaměřit na stanovení jednotlivých forem prvku, využíváme speciační techniky, které většinou zahrnují kombinaci chromatografické separace se spektrometrickou detekcí. Při separaci dochází většinou k převedení analytu do roztoku, které musí proběhnout zcela kvantitativně a nesmí nastat změna forem přítomných prvků. Při práci

s přírodními vzorky je u detekčních technik vyžadována nízká mez detekce, robustnost a přesnost, protože většina stanovovaných analytů je přítomna ve stopových množstvích. Níže jsou uvedeny příklady pro separaci a detekci specií arsenu. Fosfor se ve většině případů vyskytuje ve formě fosforečnanu, takže z hlediska speciační analýzy není příliš zajímavý.

2.3.3.1 Separační metody

Burguera (1997) označuje za často využívané metody pro separaci tyto: iontově-výměnná chromatografie (IEC), plynová chromatografie (GC), vysoce účinná kapalinová chromatografie (HPLC), kapilární zónová elektroforéza (CZE) a superkritická fluidní chromatografie (SFC).

GC: Nabízí vynikající separaci těkavých forem arsenu, ale využití této separace je relativně malé. Důvodem je to, že většina přírodních vzorků neobsahuje takové specie arsenu, které by byly selektivně převeditelné na těkavou formu (Francesconi, 2004).

CZE: Poskytuje dobrou separaci As^{III}, As^{V}, MMA, DMA, AsC i AsB. Princip metody spočívá ve srovnání migračních časů specií s jejich standardy. Omezení CE metod tedy závisí na využití dostatečně čistých standardů a vzorků s jednoduchou matricí ke snížení matričních efektů (Gong, 2002).

HPLC: Je nejčastěji využívanou metodou (Gong 2002) a používá se v těchto obměnách:

Chromatografie iontových párů je separační metoda, která využívá tvorby iontových asociátů mezi separovanými speciemi a opačně nabitým iontem. Např. tetrabutylamoniový ion je párový kation pro separaci As^{III}, As^{V}, DMA, MMA. Vzniklé iontové páry jsou neutrální a zadržují se na nepolární fázi kolony. Tím vykazují vyšší retenční časy oproti látkám nesoucí náboj. Eluce jednotlivých forem závisí na použité reverzní fázi kolony, na koncentraci iontově párových reagentů, rychlosti toku, iontové síle a pH mobilní fáze.

Iontově výměnná chromatografie využívá rozdílné výměnné adsorpce nabitých analytů na povrch iontového měniče. Aniontová výměna dovoluje separovat As^{III}, As^{V}, MMA a DMA, kationtová výměna pak arsenocholin a arsenobetain.

2.3.3.2 Detekční techniky

K rozlišení a kvantifikaci jednotlivých specií arsenu v přírodních a biologických vzorcích je potřeba vysoce citlivých detektorů. Atomová spektrometrie nabízí nejvyšší citlivost detekce, proto existuje řada technik, kombinující spektrometrii s chromatografickými separačními metodami (Francesconi, 2004):

AAS: Plamenová AAS má obecně poměrně nízkou citlivost. Může být ale spojena přímo s HPLC, protože je slučitelná se složením mobilní fáze i s jejím průtokem.

AES: Kombinací této techniky s prvkově selektivním detektorem ICP dosáhneme multielementárního měření prvků a také snadnějšího propojení se separační technikou HPLC. Pro detekci jednotlivých forem arsenu se toto spojení HPLC-AES-ICP velmi často používá.

AFS: Technika vysoce citlivá pro stanovení arsenu. Může být vhodnou alternativou pro hmotnostní spektrometrii i díky nízkým provozním nákladům. Je vhodná především pro vzorky, které obsahují formy arsenu snadno převeditelné na těkavé hydridy.

ICP-MS: Robustní a vysoce citlivá technika, vhodná pro analýzu extrakčních roztoků. Tato metoda je využitelná pro stanovení všech forem As. Interference snižuje kolizně-reakční cela a specie se určují porovnáním retenčních časů se zvolenými standardy (nedostupnost standardů je však hlavním omezením všech speciačních technik).

Burgera (1997) uvádí další často využívané techniky detekce arsenu: UV fotoelektronovou spektrometrii (UPS), elektrochemické metody, atomovou absorpční spektrometrii (AAS) často spojenou s generováním hydridů (HG-AAS) v kontinuálním průtokovém nebo FIA systému, atomovou absorpční spektrometrii s elektrotermickou atomizací (ETAAS), rentgenovou spektrometrii, neutronovou aktivační analýzu (NAA), kapilární elektroforézu (CE) a další.

Velmi výhodná je on-line kombinace separačních technik (např. HPLC) s vysoce citlivými detekčními technikami (např. ICP-AES nebo AAS). Tato spojení nabízí dobře separované formy arsenu a nízké detekční limity.

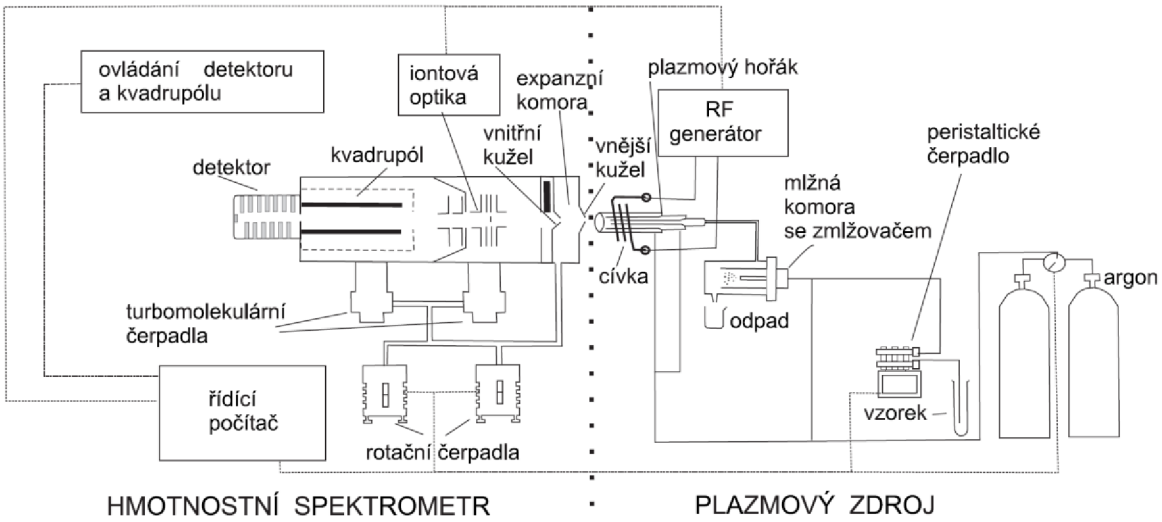
2.4 ICP-MS

2.4.1 Princip

ICP-MS je analytická separační technika a slouží ke stanovení stopových množství prvků, kombinuje ICP (indukčně vázané plazma) a MS (hmotnostní spektrometrii). Principem této metody je tvorba kladně nabitých iontů, jejichž zdrojem je ICP, a jejich následná detekce v hmotnostním detektoru.

Stanovení je založeno na tvorbě aerosolu z kapalného (popř. pevného) vzorku v mlžné komoře, který je dále veden do argonového plazmatu. Plazmový hořák se nachází v prostředí

atmosférického tlaku, a proto aby mohl být zajištěn přenos iontů k hmotnostnímu detektoru v prostředí vysokého vakua, je nutnou součástí expanzní komora. Ionty následně projdou iontovou optikou, ve které dochází k zostření paprsku a pohlcení volných fotonů, a dostanou se do kvadrupólu, kde se rozdělí podle poměru hmotnosti a náboje. Ionty, které projdou přes kvadrupól, dopadají na detektor, kde je měřen jejich signál. Tento signál může být následně zesilován pomocí elektronového násobiče a dále zpracováván. Schéma IPC-MS je uvedeno na obrázku č.1. Jako výsledek získáváme hmotnostní spektrum, které může být ovlivněno řadou interferencí, pokud nebudeme tyto vlivy předem eliminovat.



Obrázek č.1: Schéma hmotnostního spektrometru s indukčně vázaným plazmatem (Mihaljevič, 2004).

2.4.2 Interference

Spektrální interference jsou spojeny s ionty, které vznikají ve velkém množství jako součást plazmatu. Aby nedocházelo k velké zátěži detektoru, jsou jejich atomové hmotnosti z detekce vynechány (např. $^{40}Ar^{+}$, $^{40}Ar^{40}Ar^{+}$ nebo $^{40}Ar^{16}O^{+}$). Tím ovšem z měření vynecháváme stanovení látek o této hmotnosti (v tomto případě i blízké izotopy ^{39}K, ^{41}Ca a ^{56}Fe). Dále mohou nastat:

1. interference dvou izotopů (např. interferent $^{58}Fe^{+}$ a analyt $^{58}Ni^{+}$), která se koriguje měřením signálu dalšího izotopu (^{56}Fe) a na základě přírodního zastoupení dopočítáme korekční faktor pro interferující izotop (Mihaljevič, 2004).
2. interference v přítomnosti dvakrát nabitých iontů, které se projevují tak, že se v hmotnostním spektru objevují na poloviční hmotnosti (např. $^{140}Ce^{++}$ na pozici iontu $^{70}Zn^{+}$).

3. překryvy polyatomických iontů, které vznikají spojením iontů nosného plynu a matrice do větších polyatomických částic (např. $^{75}As^{+}$ s iontem $^{40}Ar^{35}Cl^{+}$), signál tedy pochází z více zdrojů a tyto látky interferují.

Obecně se spektrální interference minimalizují vhodným nastavením iontové optiky, kolizní cely a zmlžovače.

Nespektrální interference jsou spojeny se změnami ionizační rovnováhy v plazmatu, které vyvolávají prvky matrice. Pokud pracujeme s matricí, která obsahuje izotopově těžké prvky, bude výsledný signál izotopově lehkého analytu potlačen. Jestliže budou přítomny dva prvky, které jsou si hmotnostně blízké, s odlišným ionizačním potenciálem, bude větší potlačení signálu způsobovat prvek s nižším ionizačním potenciálem. Pro potlačení nespektrálních interferencí se využívá měření vzorků s metodou přídavku standardu, vnitřního standardu nebo izotopového ředění (Mihaljevič, 2004).

2.4.3 Spojení HPLC-ICP-MS

Interface ICP-MS detektoru a HPLC je relativně jednoduchý. ICP-MS je určeno především pro analýzu kapalných vzorků a spojení kolonky HPLC s rozprašovačem proto nepřináší mnoho problémů. Typický průtok analytu kolonkou je 1 $ml.min^{-1}$ a je odpovídající toku běžně využívaného v pneumatickém zmlžovači ICP. Základním předpokladem této techniky je, že mobilní fáze využitá v HPLC musí být kompatibilní s detekčním systémem. Je nutné zvolit takovou mobilní fázi, ve které je analyt dostatečně stabilní a která je velmi dobře zplynitelná po vstupu do plazmatu (hromadění pevných solí často způsobuje zanášení kónů a čoček vnitřní optiky). Z tohoto důvodu je výhodné využití mobilní fáze tvořené amonnými soli organických kyselin (B´Hymer, 2004). On-line spojení ICP-MS s HPLC je výhodné z hlediska vysoké citlivosti, víceprvkové analýze, velkému dynamickému rozsahu a měření izotopových poměrů, které nabízí ICP-MS (Gong, 2002).

3 Experimentální část

3.1 Použité chemikálie

1. Ultračistá voda (Millipore Simplicity 185)
2. Standardní roztoky Astasol® (P, As, Ge, Sc), Analytika Praha o koncentraci (1,000±0,002) $g.l^{-1}$.
3. $NaAsO_2$ p.a., Penta (M = 129,91), obsah AsIII ≥ 99 %
4. $CH_3Na_2AsO_3.6H_2O$ p.a., Supelco (M = 214,03), obsah MMA ≥ 98,4 %
5. $(CH_3)_2Na_2AsO_2.3H_2O$ p.a., Fluka (M = 291,90), obsah DMA ≥ 98 %
6. $Na_2HAsO_4.7H_2O$ p.a., Fluka (M = 312,02), obsah AsV ≥ 98,5 %
7. HNO_3 p.a., Merck, podvarově destilovaná v PTFE zařízení (Berghof, Německo)
8. Kyselina octová, dusičnan amonný, octan amonný, chlorid vápenatý, všechny o čistotě p.a., Merck

3.2 Přístroje a pomůcky

1. Analytické váhy AE 240 (Mettler Toledo, Švýcarsko)
2. Centrifuga EBA 20 (Hettich, Německo)
3. HPLC Agilent 1100series (Agilent Technologies, Japonsko)
4. ICP-MS Agilent 7500ce (Agilent Technologies, Japonsko)
5. Kolona Hamilton PRP-X100 (Hamilton, USA)
6. Třepačka GFL 3006

3.3 Popis a základní charakteristika vzorku

3.3.1 Vzorky kalů

Pro analýzu byly využity dva vzorky kalů, které pochází z čistírny odpadních vod z provozu zpracovávajícího fosfáty. Vzorek KAL1 je bílý kal pocházející z přibližně 30 let starého odkaliště, které je zcela plné. Vzorek KAL2 je filtrační koláč žluté barvy asi 1 rok starý. Byl odebrán z kontejneru, kde padá kal přímo z kalolisu z čištění odpadních a podzemních vod.

Odběr vzorků a jejich úprava nebyly prováděny v rámci bakalářské práce, ale zajistili je odborní pracovníci. Vzorky kalů byly po odběru vysušeny na vzduchu a v laboratoři

pomlety na kulovém mlýnu. Takto upravené vzorky byly použity pro stanovení celkových i extrahovaných obsahů sledovaných prvků.

3.3.2 Stanovení pH

Stanovení pH bylo provedeno ve vodném výluhu vzorků kalů pH metrem UB-10 (Denver) se skleněnou elektrodou. Naváženo bylo 0,1 g vzorku kalu a přidalo se 10 ml vody. Směs se nechala v PE zkumavce protřepat na třepačce po dobu 10 minut a po odstředění byla změřena hodnota pH výluhu.

3.3.3 Stanovení sušiny

Pro stanovení obsahu sušiny byl navážen 1,0 g vzorku kalu a sušen v sušárně při 105°C po dobu 3 hodin. Po vychladnutí byl vzorek znovu zvážen a obsah sušiny určen z rozdílu hmotností.

3.3.4 Celkový a organický uhlík

Obsah celkového uhlíku TC (z anglického Total Carbon) a celkového organického uhlíku TOC (Total Organic Carbon) byl stanoven na elementárním analyzátoru LiquiToc II (Elementar Analysensysteme GmbH, Německo). Pro stanovení celkového uhlíku byl mletý vzorek analyzován bez úprav, stanovení TOC předcházela úprava vzorku přídavkem kyseliny chlorovodíkové a vysušení. Vzorek se spálil v proudu kyslíku a vyžíhal, vzniklý CO_2 se měřil IR spektroskopií.

3.4 Stanovení As a P v kalech

3.4.1 Celkový obsah

Každá analýza se prováděla třikrát pro zjištění opakovatelnosti výsledků využitých metod. Celkový obsah As a P byl stanoven po rozkladu vzorku koncentrovanou HNO_3 za tepla. Bylo naváženo 0,1 g vzorku kalu do 25 ml kádinky a přidány 2 ml HNO_3. Kádinka byla přikryta hodinovým sklíčkem a zahřívána na elektrickém vařiči do úplného rozložení vzorku. Získaný roztok se kvantitativně převedl do 100 ml odměrné baňky a doplnil deionizovanou vodou po značku. Takto upravené roztoky byly připraveny k měření.

Koncentrace analytu byla stanovena na ICP-MS. Pracovní parametry přístrojů ICP-MS jsou uvedeny v tabulce č.4. Během měření byla použita kolizně-reakční cela, která eliminuje vliv případných spektrálních interferencí. Pro kvantitativní vyhodnocení se využilo metody

vnitřního standardu. Pro arsen bylo zvoleno Ge a pro fosfor se zvolilo Sc. Měřeno však bylo také bez vnitřního standardu a metodou přídavku standardu. Všechny získané koncentrace pak byly přepočítány na jednotlivé navážky vzorku. Vyhodnocení analýz se provedlo softwarem dodávaným k těmto přístrojům a následně pomocí Microsoft Office Excel 2003.

Tabulka č.4: Pracovní parametry ICP-MS.

ICP-MS				
Příkon do plazmatu	1500 W			
Typ zmlžovače	MicroMist (koncentrický)			
Typ komory	Scottova (sklo)			
Průtok vzorku	0,4 $ml.min^{-1}$			
Průtok vnitřního standardu	0,125 $ml.min^{-1}$			
Průtok nosného plynu (Ar)	0,9 $l.min^{-1}$			
Průtok make-up (Ar)	0,2 $l.min^{-1}$			
Průtok kolizního plynu (He)	5,5 $ml.min^{-1}$			
Počet opakování	5			
Měřený signál	^{31}P	^{45}Sc	^{72}Ge	^{75}As
Integrační doba [s]	1	0,3	0,3	0,5

Kalibrační roztoky byly připraveny ředěním zásobních standardních roztoků As a P. Kalibrační řada arsenu byla sestavena pro koncentrace: 0; 10; 100 a 500 $\mu g.l^{-1}$. Kalibrační řadu fosforu tvořily koncentrace: 0; 3; 10 a 50 $mg.l^{-1}$. Ke každému roztoku kalibrační řady bylo pipetováno 0,5 ml HNO_3 a roztoky doplněny v 25 ml odměrných baňkách deionizovanou vodou po značku. Kalibrační řady tak byly připraveny k měření.

Jako vnitřní standardy byly použity roztoky germania a skandia o koncentracích 200 $\mu g.l^{-1}$. Tyto prvky se přidávaly do toku vzorků i kalibračních roztoků v měřícím přístroji za využití T-kusu a dalšího kanálu peristaltické pumpy.

Pro přídavek standardu bylo pipetováno 4,90 ml vzorku, 50 µl standardního roztoku As (c = 10 $mg.l^{-1}$) a 50 µl standardního roztoku P (c = 1 $g.l^{-1}$). Tímto postupem jsme získali přídavek o koncentraci 100 $\mu g.l^{-1}$ As a 10 $mg.l^{-1}$ P. Stejným způsobem se zpracovaly a proměřily oba vzorky.

3.4.2 Extrahovatelné podíly

Uvedené postupy jsme převzali z *Jednotných pracovních postupů ÚKZÚZ (Zbíral, 2004)* určených pro analýzu půd a následně upravili pro naše potřeby. Pro stanovení extrahovaných podílů jednokrokovými extrakcemi byla připravena 3 činidla následujícím způsobem:

- *0,01 mol.l^{-1} $CaCl_2$* – naváží se 0,11 g dihydrátu chloridu vápenatého ($CaCl_2.2H_2O$) a ve 100 ml odměrné baňky se doplní deionizovanou vodou po značku.
- *0,1 mol.l^{-1} NH_4Ac* – naváží se 0,77 g octanu amonného a ve 100 ml odměrné baňce se doplní deionizovanou vodou po značku.
- *1 mol.l^{-1} NH_4NO_3* – naváží se 8,01 g dusičnanu amonného a ve 100 ml odměrné baňce se doplní deionizovanou vodou po značku.

Vzorky kalů byly navažovány do PE zkumavek a extrahovány do jednotlivých činidel za laboratorní teploty. Navážky vzorků a objemy použitých činidel shrnuje tabulka č.5.

Tabulka č.5: Použité extrakční postupy:

Extrakční činidlo	Poměr kal/činidlo [g] : [ml]	Extrakční doba [h]
1 mol.l^{-1} NH_4NO_3	0,4 : 10	2
0,1 mol.l^{-1} HN_4Ac	0,1 : 10	5
0,01 mol.l^{-1} $CaCl_2$	0,1 : 10	2

Po ukončení extrakce na mechanické třepačce se všechny vzorky odstředěny při 3000 otáčkách po dobu 10 minut, získané extrakty se následně přefiltrovaly přes membránový filtr (0,45 μm). Obsah arsenu a fosforu byl stanoven metodou ICP-MS (parametry měření jsou uvedeny v tabulce č.4).

3.4.3 Stanovení specií As

Specie arsenu byly stanoveny metodou HPLC v kombinaci s ICP-MS. Separace jsme provedli na koloně se silně bazický anexem. Příprava vzorku probíhala stejně jako výluh do NH_4Ac (viz podkapitola 3.4.2 Extrahovatelné podíly).

Jako mobilní fáze byl využit 40 mmol.l^{-1} octan amonný. Bylo pipetováno 1,14 ml kyseliny octové a roztok doplněn deionizovanou vodou na objem 500 ml. Hodnota pH 6,0 se

upravila roztokem amoniaku (zředěným v poměru 1:1 demi vodou). Pracovní parametry HPLC jsou uvedeny v tabulce č.6.

Tabulka č.6: Pracovní parametry HPLC.

HPLC				
Stacionární fáze	Styren-DVB, kvartérní amoniová sůl			
Kolona	Hamilton PRP-X100			
Předkolona	Hamilton PRP-X100			
Mobilní fáze	40 mM CH_3COONH_4 (pH=6)			
Průtok mobilní fáze	0,8 $ml.min^{-1}$			
Dávkovaný objem	50µl			
Počet opakování	1			
Teplota	25°C			
Měřený signál	^{31}P	^{35}Cl	^{75}As	^{85}Rb
Integrační doba t [s]	0,2	0,1	0,5	0,1

Kalibrační roztoky pro As^{III}, As^{V}, MMA a DMA byly připraveny ze zásobních standardních roztoků jednotlivých chemických sloučenin o koncentraci arsenu asi 1 $g.l^{-1}$. Navážky a zvolené chemikálie jsou uvedeny v následující tabulce č.7. Navážka chemikálie byla rozpuštěna ve vodě a doplněna na objem 25 ml. Získané koncentrace se přepočítaly podle navážky. Následně se pipetovalo z každého standardního roztoku určité množství do 25 ml odměrné baňky. Tím se vytvořil směsný roztok, který obsahoval výslednou koncentraci každé specie 10 $mg.l^{-1}$ a doplnil se deionizovanou vodou po značku. Z tohoto roztoku jsme vytvořili dalším ředěním řadu kalibračních roztoků, obsahující koncentrace As: 0, 1, 5 a 10 $\mu g.l^{-1}$ v 10 ml odměrných baňkách, doplněných 0,1 $mol.l^{-1}$ NH_4Ac po značku.

Tabulka č.7: Vypočítaná hmotnost jednotlivých specií As pro vytvoření směsného roztoku pro kalibraci.

Specie	Vzorec	M [$g.mol^{-1}$]	Navážka [g]
As^{III}	$NaAsO_2$	129,91	0,0434
As^{V}	$Na_2HAsO_4.7H_2O$	312,02	0,1041
MMA	$CH_3Na_2AsO_3.6H_2O$	214,03	0,0714
DMA	$(CH_3)_2Na_2AsO_2.3H_2O$	291,9	0,0940

4 Výsledky a diskuze:

4.1 Úvod

V práci jsou analyzovány dva vzorky čistírenských kalů, které pochází z odkališť spojených s průmyslovou výrobou zaměřenou na zpracování fosfátových hornin (zejména na bázi apatitu). Kal vzniká na dekontaminační stanici (DS-ČOV, prototyp ČKD) jako vedlejší produkt čistění vod, které je založeno na kombinovaném srážení pomocí síranu železitého (předsrážení, flokulace) a hydroxidu vápenatého (dosrážení do formy kalového mraku). Původ těchto vod je především ze sanačního čerpání podzemních vod, které se váže na tzv. starou ekologickou zátěž. Filtrační koláč je odvodňován na kalolisu, který je součástí provozu ČOV. Průměrná produkce čerstvého kalu je cca 20 tun za 3 dny provozu ČOV. Tyto kaly jsou tedy tvořeny převážně fosfosádrovcem a v současnosti jsou deponovány na podnikovém odkališti, kolem kterého byla vybudována podzemní těsnící stěna, aby se zamezilo dalšímu znečištění podzemních vod.

Fosfátové horniny v sobě koncentrovaly různě velké podíly příměsí toxických látek, které se následně dostaly do podzemních vod a ty se teď při srážení fosforečnanů dostávají do filtračního koláče (problematický je zejména obsah arsenu). Takto upraveného kalu vzniká denně velké množství a je nutné ho deponovat na dostatečně velkých odkalištích. Protože produkce kalu je obrovská, odkaliště se brzy zaplní. Jednou z možností jak se tomuto problému vyhnout, je využít kaly v zemědělství jako hnojivo. Tuto možnost podporují relativně vysoké obsahy vápníku a fosforu, přítomné toxické látky by však musely být předem odstraněny nebo by musela být snížena jejich biodostupnost.

Naším cílem bylo charakterizovat vzorky kalů, tzn. získat informace o celkovém obsahu arsenu a fosforu, jejich biodostupných podílech prostřednictvím jednokrokových extrakcí a zastoupení specií arsenu v extrahovatelném podílu. Pro stanovení celkového a extrahovatelného podílu arsenu i fosforu byla využita metoda ICP-MS. Po úplném rozkladu vzorku v kyselině dusičné získáme roztok, který představuje celkové koncentrace prvků ve vzorku. Biodostupné podíly modelujeme extrakcí vzorku do tří činidel, která se často používají k hodnocení půd. V jednom z těchto extraktů provedeme stanovení specií arsenu metodou HPLC-ICP-MS, protože toxicita a biodostupnost a následně i mobilita jednotlivých specií arsenu se liší. Tím bychom mohli zjistit, jak potenciálně nebezpečná by byla přímá aplikace kalu do půdy a případně jak a čím snížit biodostupnost arsenu z kalu.

4.2 Charakterizace vzorku

Během stanovení arsenu a fosforu jsme se také zaměřili na základní charakteristiku obou vzorků, protože ta může mít vliv na zastoupené specie a případně také na výsledky stanovení. Pro základní charakterizaci vzorků jsme se zaměřili především na stanovení: hodnoty pH výluhu, sušiny, obsahu TC a TOC. Rutinní analýzou na ICP-MS byl stanoven obsah také dalších majoritních a minoritních prvků (tabulka č.8). Základní vlastnosti v jsou uvedeny v tabulce č.9.

Tabulka č.8: Obsahy majoritních a minoritních prvků.

Analyt	Jednotky	Obsah analytu	
		KAL1	KAL2
Na	[mg.kg^{-1}]	230	1100
Mg		130	17700
Al		600	2300
K		280	250
Ca		370000	274000
Ti		310	150
Mn		<4	570
Fe		590	127000
V		5,9	9,0
Cr		0,4	3,9
Co		<0,1	8,1
Ni		0,26	20,5
Cu		11,9	8,9
Zn		13,4	92,6
Sr		14400	276
Mo		<0,1	<0,1
Cd		<0,1	<0,1
Sb		<0,1	<0,1
Ba		500	39,1
Pb		3,38	2,09

Tabulka č.9: Souhrn vlastností vzorků kalů.

Vlastnosti vzorku	Jednotky	KAL1	KAL2
pH výluhu		6,18	11,3
TOC	[%]	0,505	2,84
TC	[%]	0,562	4,64
Sušina	[%]	84	97
Barva		bílá	žlutá

Vzorek KAL2 má vysoké pH, které odpovídá prakticky čistému vápnu. Má rovněž vyšší obsahy TC i TOC (v jednotkách procent) nejspíše v důsledku čistění odpadních vod. Vzorek KAL1 odebraný z laguny je prakticky neutrální. Jeho obsahy TC a TOC jsou relativně nízké v porovnání s druhým vzorkem. Z majoritních prvků obsahují oba vzorky velké množství vápníku, ve vzorku KAL2 je také velký obsah hořčíku (zřejmě z používaného vápence k čištění vod). Stejný důvod bude mít i přítomnost vysokého obsahu železa, protože se v procesu čištění využívá železitá sůl. Bylo stanoveno i množství sušiny v obou vzorcích. Výsledky získané během celé analýzy nebyly na sušiny přepočítávány.

4.3 Metodika stanovení koncentrace As a P v roztoku vzorku pomocí ICP-MS

Pro stanovení celkového obsahu byl zvolen rozklad vzorku v koncentrované kyselině dusičné. Přídavek této kyseliny ke vzorku vzorek zcela rozpustí a v roztoku stanovíme koncentraci arsenu i fosforu metodou ICP-MS. Ve vzorku je vedle těchto dvou analytů i velké množství matričních prvků, které mohou signál analytů ovlivnit a vnést chybu do výsledků. Proto je třeba zvolit správnou metodu kvantifikace a ověřit spolehlivost výsledků. Vznikající spektrální interference jsme schopni eliminovat použitím kolizní cely. Nespektrální interference však zůstávají přítomné a jsou tři možnosti jejich eliminace:

- metoda kalibrační křivky
- metoda kalibrační křivky s vnitřním standardem
- metoda přídavku standardu

Metoda přídavku standardu poskytuje výsledky nejméně ovlivněné nespektrálními interferencemi, ale je pracná. Využili jsme ji pouze pro získání hodnot, se kterými budeme srovnávat výsledky při hledání vhodného vnitřního standardu. Metoda kalibrační křivky nemusí být pro vzorky s vysokou koncentrací matrice vhodná, protože výsledky jsou silně

ovlivněny přítomnou matricí. Nejvhodnější je tedy metoda kalibrační křivky s využitím vnitřního standardu. Dále jsem se zaměřili na nalezení vhodného vnitřního standardu a ověření správnosti jím získaných výsledků.

V roztoku mineralizátu byl obsah As a P kvantifikován metodou přídavku standardu. Tyto výsledky jsme považovali za referenční, protože nejsou ovlivněny nespektrálními interferencemi. Dále byla provedena stanovení obsahu obou analytů metodou kalibrační křivky (KK) bez vnitřního standardu. Získané výsledky jsou uvedeny v tabulce č.11.

Pro rutinní analýzy vzorků metodou ICP-MS se využívá metoda kalibrační křivky s vnitřním standardem (IS). Prvek zvolený za vnitřní standard by měl mít s analytem podobnou atomovou hmotnost a ionizační energii. V případě arsenu a fosforu je výběr vhodných vnitřních standardů problematický, vzhledem k vysokým hodnotám ionizační energie (viz tabulka č.10). Proto jsme nejprve ověřili vhodnost navržených vnitřních standardů a to tím, že jsme stanovili obsah analytů s jejich využitím a výsledky srovnali s výsledky, získanými metodou přídavku standardu. Výsledky stanovení jsou uvedeny v tabulce č.11.

Tabulka č.10: Vlastnosti analytů a zvolených vnitřních standardů.

	M [g.mol^{-1}]	I ionizační potenciál [eV]		M [g.mol^{-1}]	I ionizační potenciál [eV]
As	74,992	9,81	Ge	72,61	7,90
P	30,974	10,49	Sc	44,956	6,56

Tabulka č.11: Souhrnná tabulka se všemi výsledky kvantifikace As a P v kalech.

analyt	As [mg.kg^{-1}]		P [mg.kg^{-1}]	
KAL1	Průměr	SD	Průměr	SD
KK	42	3	11000	1000
IS/Ge	16,44	0,06	4400	200
IS/Sc	21,9	0,4	7400	200
PST	25,9	0,7	7200	200
KAL2	Průměr	SD	Průměr	SD
KK	65	2	55000	3000
IS/Ge	42,6	0,5	36000	1000
IS/Sc	34,0	0,4	32900	700
PST	42,3	0,2	34900	400

Srovnáme-li výsledky stanovení obou prvků metodou kalibrační křivky s výsledky metody přídavku standardu, pak je vidět, že výsledky jsou u vzorku KAL1 silně

nadhodnoceny, a to až o desítky procent. Z toho plyne, že matrice v našem případě značně ovlivňuje signál a metoda kalibrační křivky bez jakékoli eliminace jejího vlivu není vhodná pro kvantifikaci.

Srovnáním výsledků kalibrační křivky s vnitřním standardem, kterým je Ge i Sc pro oba analyty, poskytuje pro vzorek KAL2 využití zvolených standardů srovnatelné hodnoty. V případě vzorku KAL1 je metoda kalibrační křivky s vnitřním standardem Sc pro P odpovídající, ale při aplikaci Ge jako vnitřního standardu jsou As i P významně podhodnoceny a to o 40%. Z toho důvodu jsme zkusili aplikovat Sc jako vnitřní standard také pro arsen, přestože se v prvních ionizačních energiích značně liší. Získané výsledky se více přiblížily referenčním hodnotám, přesto jsou stále podhodnoceny a to pro KAL1 o 15% a KAL2 o 20%. Protože metoda přídavku standardu je referenční a poskytuje tudíž správný výsledek, musíme se zaměřit na důvod tak malých výtěžků. Jednou z možností může být vliv matrice, ta je však u obou vzorků prakticky stejná. Vzhledem k tomu, že u vzorku KAL2 jsme získali srovnatelné výtěžky při využití Ge jako vnitřního standardu, můžeme tento vliv vyloučit. Další možností je, že vzorek KAL1 obsahuje určité množství germania. To by znamenalo, že jeho využití jako vnitřní standard je nevhodné, protože základní podmínkou je, aby nebyl ve vzorku obsažen. Pokud tedy je germanium ve vzorku přítomno, bude jeho signál vyšší, tím pádem bude poměr As/Ge nižší a získaný výsledek bude nižší. Pro potvrzení předpokladu jeho výskytu ve vzorku KAL1, bylo provedeno orientační stanovení prvků přítomných v obou vzorcích Mgr. Janem Kutou. Z výsledků analýzy jsme zjistili, že vzorek KAL1 obsahoval 10 $mg.kg^{-1}$ Ge, což znamená koncentraci v roztoku vzorku 10 $\mu g.l^{-1}$.Tato koncentrace je ve srovnání s koncentrací Ge, použitou jako vnitřní standard, poměrně významná a projevuje se to tedy výrazným snížením výsledku stanovení. Vzorek KAL2 obsahoval také Ge, ale řádově nižší obsahu (1 $mg.kg^{-1}$), takže se to na výsledku tak neprojevilo. Z toho tedy plyne, že Ge je sice vhodný vnitřní standard pro As a P, ale ve vzorku je bohužel přítomno v příliš vysoké koncentraci, takže vnáší do výsledku chybu. Na základě zjištěných skutečností je potřeba hledat jiný vnitřní standard, a nebo použít pro kvantifikaci metodu přídavku standardu. Nadále jsme se rozhodli počítat s hodnotami, které jsme pro celkový obsah získali metodou přídavku standardu. Při kvantifikaci As a P v extraktech můžeme germanium jako vnitřní standard použít, protože jeho koncentrace v extraktu bude podstatně nižší, než v roztoku v HNO_3. Skandium pro své odlišné vlastnosti nemusí být v případě arsenu vhodnou volbou. Proto jsme dále použili Ge pro As a Sc pro P jako vnitřní standardy.

4.4 Extrahovatelné podíly

Celkový obsah As se v kalech pohybuje v desítkách $mg.kg^{-1}$, což je hodnota srovnatelná s limitní hodnotou, kterou povoluje vyhláška (382/2001 Sb.). Přípustné obsahy vybraných prvků uvádí tabulka č.12.

Tabulka č.12: Maximální přípustné obsahy prvků v kalech ($mg.kg^{-1}$ sušiny).

Prvek	As	Cr	Cd	Cu	Ni	Pb	Hg	Zn
Obsah [$mg.kg^{-1}$]	30	200	5	500	100	200	4	2500

Získaný celkový obsah arsenu v kalu však nevypovídá o jeho biodostupném podílu. Abychom tento podíl zjistili, extrahovali jsme vzorky kalů činidly, které se používají pro stanovení labilní frakce prvků při hodnocení kvality půd. Byly provedeny tři jednokrokové extrakce za použití činidel: 0,01 $mol.l^{-1}$ $CaCl_2$, 0,1 $mol.l^{-1}$ NH_4Ac, 1 $mol.l^{-1}$ NH_4NO_3. Tyto roztoky se řadí do skupiny činidel neutrálních solí a jsou schopné uvolnit z kalů jen slabě vázané frakce arsenu a fosforu. Extrakce proto probíhaly za mírných chemických podmínek a získané podíly přestavují snadno biodostupné množství.

Pro kvantifikaci analytů v extraktech jsme využili metody kalibrační křivky s vnitřním standardem a získané koncentrace následně přepočítali na navážky vzorku. Obsahy arsenu a fosforu v extrahovatelných podílech uvádí tabulka č.13. Zastoupení analytů v těchto podílech se nachází v rozmezí 0,05 – 1,91 % pro As a 0,06 – 0,70 % pro P z jejich celkového obsahu. Získané frakce jsou velmi malé a u řady naměřených hodnot se pohybovaly na hranici meze detekce přístroje ICP-MS, uvedené v tabulce č.14. Tyto malé koncentrace analytů pak měly vliv na zvýšení nejistoty jejich stanovení.

Tabulka č.13: Extrahované podíly arsenu a fosforu.

Vzorek	Analyt	1M NH_4NO_3		Podíl* [%]	0,1M NH_4Ac		Podíl* [%]	0,01M $CaCl_2$		Podíl* [%]
		Obsah [$mg.kg^{-1}$]	SD [$mg.kg^{-1}$]		Obsah [$mg.kg^{-1}$]	SD [$mg.kg^{-1}$]		Obsah [$mg.kg^{-1}$]	SD [$mg.kg^{-1}$]	
KAL1	As	0,07	0,01	0,41	0,31	0,01	1,91	0,13	0,07	0,81
	P	39	1	0,53	48	7	0,65	52	3	0,70
KAL2	As	0,13	0,01	0,32	0,15	0,03	0,36	0,02	0,01	0,05
	P	19	3	0,06	123	6	0,37	19	7	0,06

* Podíl z celkového obsahu

Tabulka č.14: Mez detekce pro stanovované analyty.

Extrakční roztok	As		P	
	LOD [μg.l^{-1}]	LOD [mg.kg^{-1}]	LOD [mg.l^{-1}]	LOD [mg.kg^{-1}]
1M NH_4NO_3	0,02	0,0004	0,005	0,1
0,1M NH_4Ac	0,02	0,002	0,005	0,5
0,01M $CaCl_2$	0,02	0,002	0,005	0,5

Extrahované podíly ze vzorků kalů jsou rozdílné jak pro jednotlivé vzorky, tak pro různá činidla i analyty. Přestože jsou oba vzorky velmi podobné svým složením, liší se výrazně v hodnotě pH. Vzorek KAL2 poskytuje silně alkalickou reakci a ovlivňuje tak průběh extrakce. Vzhledem k jeho pH bude reagovat s oběmi amonnými solemi za vzniku volného amoniaku a tím výrazně změní extrakční sílu činidla. Vzorek KAL1 je neutrální a na pH extrakčního činidla vliv prakticky nemá.

Jednotlivá činidla poskytují různé extrahovatelné podíly, které závisí na komplexační síle anionu, na schopnosti jeho výměny s aniony ve vzorku a na rozpustnosti matrice v činidle. Zásadité pH vzorku KAL2 má i tady zásadní vliv na získané podíly.

Určité rozdíly jsou i mezi extrahovatelnými podíly arsenu a fosforu. Vzhledem k chemické podobnosti arseničnanu a fosforečnanu pravděpodobně dojde při extrakci k soutěžení těchto dvou iontů o vazebná místa na matrici kalu. Dá se předpokládat, že při ustavení rovnováhy závisí extrahovatelnost arsenu na obsahu fosforu v matrici (čím více bude fosforu vázaného v matrici, tím méně arsenu se bude extrahovat). Tento předpoklad se však neshoduje s našimi výsledky, zřejmě díky všem zmíněným efektům a zejména vlivem vysokého pH.

Srovnáním extrahovatelných podílů u vzorků kalů je vidět, že ve vzorku KAL1 je tento podíl vyšší. Můžeme tedy říci, že pH vzorků má vliv na rozpustnost obou analytů. Rozpustnost fosforečnanu vápenatého klesá s rostoucím pH v řadě dihydrogenfosforečnan – monohydrogenfosforečnan – fosforečnan. Stejné chování můžeme předpokládat rovněž u arseničnanu vápenatého. Extrahovatelné podíly arsenu i fosforu úzce souvisí s vlastnostmi jednotlivých vzorků kalů. Vzhledem k tomu, že se extrahují pouze malé podíly, můžeme předpokládat, že arsen i fosfor jsou ve vzorku za podmínek extrakce relativně pevně vázány na tuhou matrici. Další z možností je, že námi využitá extrakční činidla, která byla původně vyvinuta pro extrakci prvků vázaných v půdě ve formě dvojmocných kationtů, nemusí být vždy aplikovatelná pro prvky tvořící jiné typy vazeb.

Slabá extrakční činidla simulují příjem kořenovým systémem rostlin. Jejich využití je velmi vhodné proto, abychom mohli dále kvantifikovat a charakterizovat jednotlivá chemická

individua, protože taková separace vyžaduje čistě fyzikální postup, který zajistí neměnnost původních specií. Z použitých roztoků jsme pro toto stanovení využili roztok 0,1M NH_4Ac. Pro fosfor je analytického hlediska výhodné využití jak 0,1M NH_4Ac tak i 0,01M $CaCl_2$. Volba 0,1M NH_4Ac je výhodná také z toho důvodu, že se vyhneme možným spektrálním interferencím v technice HPLC-ICP-MS, které by mohly vzniknout z roztoku chloridu vápenatého (ion $ArCl^+$ ruší stanovení arsenu). Dusičnan amonný zase ruší separaci, protože dusičnany jsou mnohem silněji poutány k anexu, než anion mobilní fáze.

4.5 Specie

Jako vhodný separační a detekční systém byla zvolena metoda HPLC-ICP-MS pro svou citlivost a velmi dobrou separaci specií. Ve vzorku jsme očekávali čtyři nejjednodušší formy arsenu a to As^V, As^{III}, MMA a DMA.

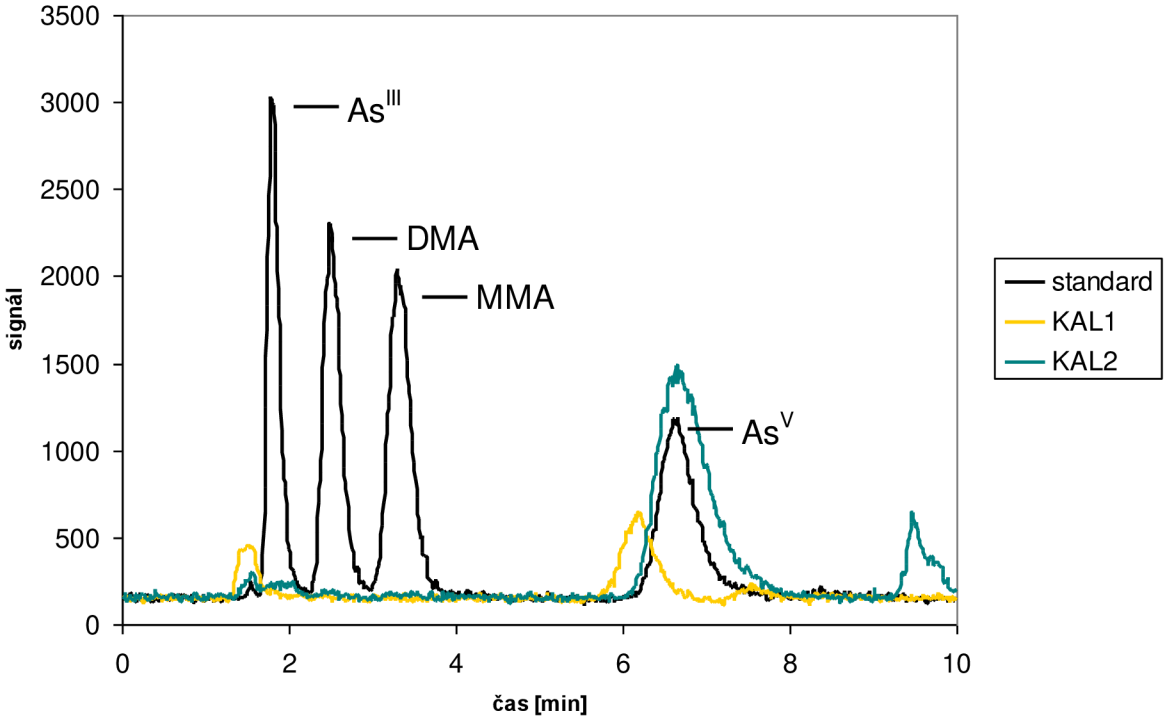
Každá z těchto forem má charakteristický retenční čas tzn. dobu, která uplyne od nástřiku vzorku na kolonu až po dosažení maxima jeho eluční křivky. Porovnání retenčních časů standardů se vzorky jsme proto využili k identifikaci specií arsenu (tabulka č.15). Srovnání specií fosforu s odpovídajícími standardy nebylo provedeno, protože se předpokládala převažující přítomnost fosforečnanů.

Tabulka č.15: Získané retenční časy pro standardy a vzorek.

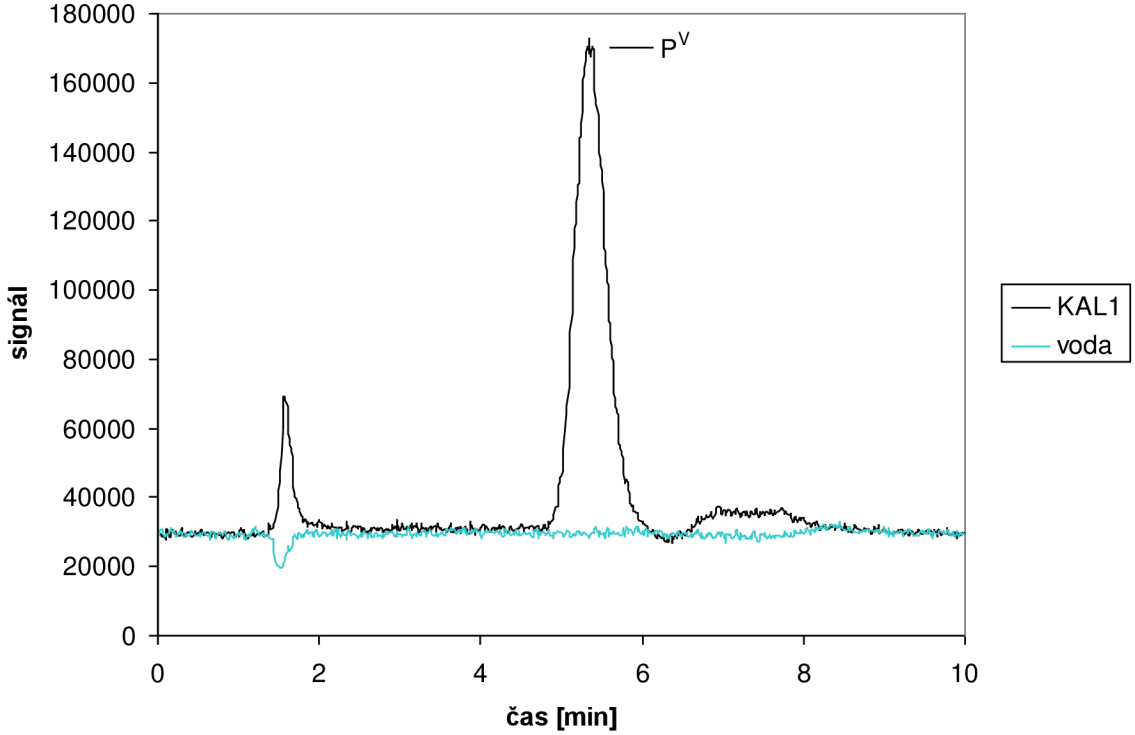
	Specie	t_R [min]	SD
Standardy	As^{III}	1,81	0,01
	DMA	2,51	0,01
	MMA	3,32	0,02
	As^V	6,66	0,02
Vzorek	As^{III}	2,0	0,1
	As^V	6,4	0,2
	As_{N1}	7,6	0,1
	As_{N2}	9,43	0,09

Retenční časy forem As^{III} a As^V přítomných ve vzorku se přesně neshodují s jejich standardy. Důvod je zřejmě ten, že pH vzorků před analýzou nebylo nijak upraveno a proto byly podmínky separace během analýzy vzorku KAL2 mírně pozměněny, jelikož se po tomto stanovení projevila změna u retenčních časů všech dále analyzovaných roztoků (včetně přídavků standardů). Přesto můžeme přítomnost obou forem považovat za prokázanou (viz

obrázek č.2) i bez opakování stanovení s upravenou hodnotou pH mobilní fáze. Přítomnost fosforu byla potvrzena v obou vzorcích a to v převažující formě fosforečnanu (obrázek č.3).



Obrázek č.2: Chromatogram jednotlivých forem As ve vzorcích v porovnání se standardy.



Obrázek č.3: Chromatogram formy fosforu přítomné ve vzorku KAL1.

Detekce zájmových prvků byla provedena bez využití kolizní cely. Kromě signálu ^{75}As byly proměřeny i ^{31}P, ^{35}Cl a ^{85}Rb. Izotop ^{35}Cl se měřil proto, aby se zjistilo, zda měření neovlivňují spektrální interference (vznikem sloučeniny $^{35}Cl^{40}Ar$, která interferuje s ^{75}As). Mrtvý čas byl stanoven měřením ^{85}Rb, protože rubidný kation není na koloně prakticky vůbec zadržován (t_R = 1,439 min). Jak již bylo uvedeno výše, ^{31}P byl proměřen jen orientačně bez bližšího studia jeho specií.

Kombinací ICP-MS s HPLC jsme získali jako výstup analýzy chromatogram, jehož plochy píků byly zintegrovány pomocí příslušného softwaru. Pro další vyhodnocení byla využila metoda kalibrační křivky a sestrojeny kalibrační grafy pro jednotlivé standardy (směrnice jsou uvedeny v tabulce č.16), z nichž byly vypočítány obsahy jednotlivých forem arsenu. Meze detekce (LOD) pro jednotlivé specie arsenu jsou uvedeny v tabulce č.16. a byly spočítány z výšky píku a šumu základní linie.

Tabulka č.16: Směrnice kalibračních závislostí a mez detekce pro specie arsenu.

Specie	Směrnice	SD	LOD [$\mu g.l^{-1}$]	LOD [$\mu g.kg^{-1}$]
As^{III}	320000	4000	0,01	1
DMA	353000	6000	0,02	2
MMA	353000	2000	0,02	2
As^{V}	297000	6000	0,04	4

Tabulka č.17: Výsledky stanovení specií arsenu.

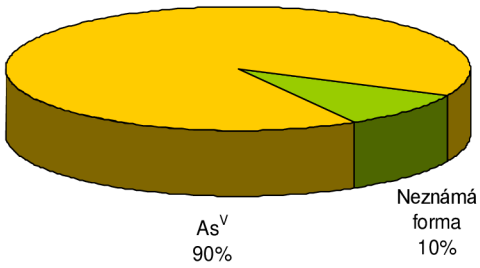
Vzorek	NH_4Ac		Formy arsenu						Výtěžnost [%]	SD [%]
			As^{III}		As^{V}		Neznámá forma			
	Obsah [$mg.kg^{-1}$]	SD [$mg.kg^{-1}$]	Obsah [$mg.kg^{-1}$]	SD [$mg.kg^{-1}$]	Obsah [$mg.kg^{-1}$]	SD [$mg.kg^{-1}$]	Obsah [$mg.kg^{-1}$]	SD [$mg.kg^{-1}$]		
KAL1	0,063	0,006	<0,0001	-	0,046	0,002	0,0049	0,0007	82	9
KAL2	0,23	0,004	0,0061	0,0005	0,194	0,003	0,025	0,002	98	2

Ze závislosti plochy píku na koncentraci se vypočítaly obsahy forem, jejichž přítomnost byla ve vzorku potvrzena, a následně se přepočítaly na navážku. Bylo zjištěno i nezanedbatelné množství neznámé formy arsenu, která je pravděpodobně pro oba vzorky identická, ale retenční časy jsou opět ovlivněny pH extraktu. Retenční časy neznámých forem byly pro první vzorek 7,6 min a pro druhý vzorek 9,43 min. Tyto specie však nemůžeme identifikovat, protože nebyly k dispozici srovnávací standardy. Pro vyhodnocení jejich obsahu

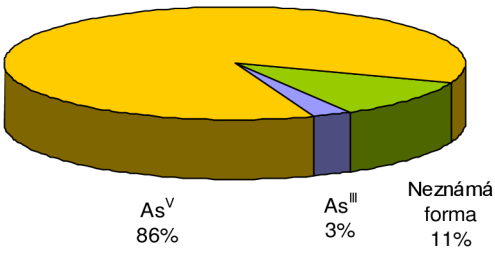
byl využit průměr směrnic kalibračních křivek. Tabulka č.17 udává získané obsahy všech specií v porovnání s obsahem arsenu v extraktu NH_4Ac.

Abychom zjistili chromatografickou výtěžnost specií, provedeme jejich součet a následné srovnání s obsahem arsenu, který by stanoven v extraktu 0,1 $mol.l^{-1}$ NH_4Ac. Celkový výtěžek As pro KAL2 je téměř 100%, kdežto u vzorku KAL1 je výtěžek jen málo přes 80%. Nižší hodnota u vzorku KAL1 je způsobena příliš nízkou koncentrací specií a tedy i vysokou chybou jejich stanovení. Významně přispívá k nejistotě směrodatná odchylka u obsahu arsenu v extraktu octanu, která je téměř 10%.

Vzorek KAL1 obsahuje téměř výhradně arseničnan a jen 10% arsenu tvoří neznámá forma. To může znamenat, že dlouholetým skladováním a vlivem oxidačních podmínek v laguně přešel veškerý případně přítomný arsenitan na formu As^V. Oproti tomu KAL2, který pochází přímo z kalolisu, má vedle As^V a neznámé formy také malé množství As^{III} (nejspíše v důsledku jeho přítomnosti přímo v odpadních vodách). S obsahem As^{III} může mít rovněž souvislost zvýšený obsah TOC v tomto vzorku. Přítomnost As^{III} však nelze vyloučit ani u vzorku KAL1, protože arsenitan je velmi citlivý k oxidaci, například vzdušným kyslíkem, a mohlo tak dojít ke změně specií As během přípravy vzorku, byť bylo použito slabé extrakční činidlo, které by nemělo mít na přítomné specie vliv. Oba vzorky mají relativně významné zastoupení neznámé formy. Jako pravděpodobná se jeví možnost přítomnosti thioanalogů sloučenin As, které mají vyšší retenci na anexové koloně. Tyto mohou vznikat reakcí sulfanu a dalších sloučenin síry se sloučeninami As, což by mohlo poukazovat na redukční podmínky v uskladněném kalu.



Obrázek č.4: Zastoupení jednotlivých specií arsenu ve vzorku KAL1.



Obrázek č.5: Zastoupení jednotlivých specií arsenu ve vzorku KAL2.

4.6 Zhodnocení výsledků

Výsledky analýzy vzorku ukázaly, že vzorek KAL1, který je dlouhodobě skladován v laguně, má téměř neutrální pH, vyšší zastoupení Ca (po přepočtu na sušinu asi 44%), Sr a Ba v porovnání se vzorkem KAL2. Ten má vyšší obsah ostatních těžkých kovů a také hořčíku a zejména fosforu. U prvního vzorku tvoří obsah organického uhlíku většinu přítomného uhlíku. V porovnání se vzorkem KAL2 je však obsah celkového uhlíku asi o řád nižší. Obsah organického uhlíku tvoří ve druhém vzorku přibližně polovinu z celkového obsahu uhlíku. Velmi výrazný rozdíl je i v pH vodného výluhu vzorků kalů, která je pro první vzorek prakticky neutrální, kdežto u druhého vzorku dosahuje hodnoty pH 11. Tato vysoká hodnota je dána využitím vápna během procesu čištění odpadní vody.

Při studiu vhodné metody pro kvantifikaci obsahu arsenu a fosforu ve vzorcích bylo zjištěno, že vzorky obsahují významné množství germania, a tudíž tento prvek je z pohledu využití jako vnitřní standard pro ICP-MS měření problematický. Pro spolehlivou kvantifikaci obou prvků jsme využili metodu přídavku standardu, jako alternativa vnitřního standardu pro fosfor se jeví vhodné skandium. Pro arsen bylo také ověřeno, ale neposkytovalo spolehlivé výsledky.

Celkové obsahy As v obou vzorcích jsou řádově srovnatelné (26 a 42 $mg.kg^{-1}$), významně se však liší v obsahu fosforu (7,2 a 35 $g.kg^{-1}$). Zřejmý důsledek toho, že každý z kalů vznikl v jiné době a z jinak znečištěné vody. Vzorek KAL2 je tedy potenciálně z pohledu obsahu (žádoucího) fosforu vhodný k aplikaci do půdy, nicméně obsah arsenu překračuje hodnoty 30 $mg.kg^{-1}$ povolené vyhláškou (382/2001 Sb.). Extrahovatelné podíly do činidel, které mají modelovat bezprostředně biodostupnou frakci, byly u obou vzorků pro As i P většinou v desetinách procent celkového obsahu. Hodnoty závisí na použitém činidle a zejména na faktu, že vzorek KAL2 má silně alkalickou reakci, která účinnost extrakce silně ovlivní. To se projevilo i při stanovení specií ve výluhu do 0,1M NH_4Ac, kde změna pH vedla ke změně retenčního času většiny specií arsenu. U obou vzorků byl významně zastoupen arseničnan, asi 1/10 obsahu extrahovatelného arsenu je ve formě neznámé specie a vzorek KAL2 obsahoval také malé množství trojmocného arsenu. Zde je možná souvislost s přítomností arsenitanu v odpadních vodách.

Z pohledu další využitelnosti můžeme oba vzorky kalů zhodnotit následovně: celkové obsahy arsenu jsou příliš vysoké na to, aby kaly mohly být aplikovány na půdu jako hnojiva přímo. Vzhledem k tomu, že extrakcemi uvolněné mobilní frakce představují jen zlomek celkového obsahu, znamená to, že celkový obsah nebude uvolněn okamžitě. Mobilní frakci

ale ovlivní složení půdy a naopak, kal může ovlivnit půdní reakci (např. vysokým pH kalu), a tím mobilitu ostatních prvků. Extrahovatelný arsen je přítomen převážně jako arseničnan, což je pozitivní zjištění, protože mobilita As^{V} je nižší než u As^{III} a lépe se váže na půdní minerály, zejména oxidy Fe a Al. Vhodnou úpravou kalu by se tedy dalo docílit snížení koncentrace mobilního arsenu, otázkou ale zůstává, jak se bude kal chovat po aplikaci do půdy. Odpověď bychom mohli nalézt při studiu interakcí kalu s konkrétní půdou.

5 Závěr

Cílem bakalářské práce bylo stanovení obsahu arsenu a fosforu ve vzorcích čistírenských kalů a modelování jejich biodostupnosti pro půdní organismy. Pro stanovení obsahu prvků byla využita metoda hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Pro získání kvalitních výsledků byly porovnány 3 metody kvantifikace, které eliminují vliv zejména nespektrálních interferencí. Ke snížení vlivu případných spektrálních interferencí se využilo kolizní cely. Vzhledem k tomu, že biodostupnost arsenu je závislá na formě, ve které se vyskytuje, byly stanoveny i jeho specie. Separace byla provedena metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie s detekcí ICP-MS.

Nejprve byla provedena základní charakterizace vzorků. Bylo stanoveno pH, obsah sušiny, obsah celkového a organického uhlíku. Pro modelování biodostupnosti se výsledky extrakcí zhodnotily i na základě zjištěného obsahu majoritních a minoritních prvků v obou vzorcích.

Pro zjištění celkového obsahu arsenu a fosforu byla pro přípravu vzorku využita koncentrovaná kyselina dusičná. Získané hodnoty signálu ICP-MS mohou být vyhodnoceny různým způsobem, proto jsme se nejprve zaměřili na hodnoty získaných obsahů a kriticky zhodnotili jejich správnost. Bylo zjištěno, že metoda kalibrační křivky není vhodná pro reálné vzorky průmyslových kalů, protože vysoké obsahy matričních prvků značně nadhodnocují výsledky stanovení. Jako vhodnější se jevilo využití kalibrační křivky s vnitřním standardem. Naším úkolem tedy bylo najít vhodné prvky, využitelné jako vnitřní standardy pro arsen a fosfor, a následně ověřit správnost jimi získaných výsledků. Vzhledem k vysokým prvním ionizačním energiím stanovovaných analytů byl výběr problematický. Proto jsme nejprve ověřili správnost navržených vnitřních standardů, a to germania pro arsen a skandia pro fosfor, srovnáním s hodnotami získanými metodou přídavku standardu, které můžeme považovat za referenční. Srovnání ukázalo, že skandium je vhodným vnitřním standardem pro fosfor, pro arsen je germanium nevhodné, protože je ve vzorku obsaženo.

Biodostupné podíly byly modelovány extrakcí vzorků do tří extrakčních činidel. Zvolili jsme roztoky octanu amonného, dusičnanu amonného a chloridu vápenatého, které dokáží dobře modelovat biodostupnost. Uvolněné podíly představovaly mobilní tzn. snadno uvolnitelné frakce. V našem experimentu se pH vzorků pohybovalo vždy v neutrální až zásadité oblasti a vyluhovatelnost arsenu i fosforu byla malá.

Dalším úkolem bylo zvolit vhodný extrakt pro stanovení specií arsenu. Použili jsme octan amonný, neboť minimálně zatěžoval systém spektrálními interferencemi a poskytl dostatečné množství arsenu pro stanovení specií. V obou vzorcích byla zjištěna převažující

forma arseničnanu a to 85 - 90%, přibližně 10% tvoří neznámá forma. Druhý vzorek obsahoval také nepatrné množství arsenitanu.

Stanovované kaly by mohly být využity jako hnojiva, ale celkové obsahy arsenu překračují limitní hodnoty umožňující jejich přímou aplikaci do půd. Proto je nutné tyto kaly předem dostatečně naředit, například smícháním s kalem, který arsen neobsahuje. Před dalším využitím takto vytvořené směsi je rovněž potřeba provést analýzu její interakce s konkrétní půdou, abychom zjistili, jakým způsobem bude aplikace kalu ovlivňovat půdní vlastnosti. Například změna pH na kyselejší může podporovat uvolňování arsenu a dalších látek z kalu do půdy. V případě vyhovujících výsledků, mohou být kaly v zemědělství využity. Možnost likvidace toxického kalu přináší i využití bioremediačních technik. Tyto techniky jsou založeny na kumulování toxických látek v rostlinách, které se dále zpracovávají jako toxický odpad. Musíme ovšem provést konkrétní studie, abychom nalezli takový druh organismu, který se hodí pro dané prostředí a podmínky.

6 Použité symboly a zkratky

AAS	Atomová absorpční spektrometrie
AES	Atomová emisní spektrometrie
AsB	Arsenobetain
AsC	Arsenocholin
CZE	Kapilární zónová elektroforéza
ČOV	Čistírna odpadních vod
DMA	Dimethylarsen
DS	Dekontaminační stanice
GC	Plynová chromatografie
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
ICP	Indukčně vázané plazma
IR	Infračervená spektroskopie
IS	Vnitřní standard
KK	Kalibrační křivka
LOD	Limit detekce
m/z	Poměr hmotnost/náboj
MMA	Monomethylarsen
MS	Hmotnostní spektrometrie
OES	Optická emisní spektrometrie
PE	Polyethylen
SD	Směrodatná odchylka
SF	Stacionární fáze
TC	Celkový uhlík
TOC	Celkový organický uhlík
UV	Ultrafialový detektor

7 Použitá literatura

B´Hymer, C., Caruso, J. A. (2004): Arsenic and its speciation analysis using high-performance liquid chromatography and inductively coupled plasma ass spektrometry. Journal of Chromatography A 1045/1-2, pp 1-13.

Burguera, M., Burguera, J. L. (1997): Analytical methodology for speciation of arsenic in environmental and biological samples. Talanta 44, pp 1581-1604.

Cullen, W. R., Reimer, K. J. (1989): Arsenic speciation in the environment. Chemical Reviews 89, pp 713-764.

ČSN 75 3310 (Odkaliště). Český normalizační institud, Praha (s účinností od 1. 2. 1992).

Dohányos, M. (2006): Efektivní využití a likvidace čistírenských kalů. Biom.cz [online]. Dostupné z WWW: <http://biom.cz/cz/odborne-clanky/efektivni-vyuziti-a-likvidace cistirenskych-kalu>. ISSN: 1801-2655.

European Centre for Ecotoxicology of Chemicals (2002): Scientific principles of soil hazard assessment of substances; Technical Report No. 84, ISSN 0773634784. pp 24-26.

European Commission 2003. Technical guidance document on risk assessment. Part III. 2nd ed. EUR 20418 EN/3. Luxembourg: Office for Official Publications of the European Commission.

Francesconi, K. A., Kuehnelh, D. (2005): Determination of arsenic species: A critical rewiew of methods and application, 2000-2003. The Analyst 129, pp 373-395.

Gong, Z., Lu, X., Ma, M., Watt, C., Le, X. C. (2002): Arsenic speciation analysis. Talanta 58, pp 77-96.

Hartman, M., Trnka, O. (2008): Těžké kovy v čistírenském kalu a jejich chování při spalování. Chemické listy 102, pp 131-138.

Hudson-Edwards, K. A., Houghton, S. L., Osborn, A.(2004): Extraction and analytisis of arsenic in soil and sediments. Trends in Analytical Chemicstry 23/10-11, pp 745-752.

IRZ: Intergovaný registr znečišťování (2008): Arzen a jeho sloučeniny. Dostupné na WWW:< http://www.irz.cz/latky/arsen_a_sl>

IUPAC 2000: Templeton, D.M., Ariese, F., Cornelis, R., Danielsson, L. G., Muntau, H., Van Leeuwen, H. P., Lobinski, R.: Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, Structural Aspects, and Methodological Approaches (2000): Pure and Applied Chemistry 72/8, pp 1453-1470.

Mihaljevič, M., Strnad, L., Šebek, O. (2004): Využití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem v geochemii. Chemické listy 98, pp 123-130.

O´Neill, P. (1990): v knize: Alloway, B. J. (ed.): Heavy metals in soils. Blackie Academic and Professional, London 1990, p 83.

Price, R. E., and Pichler, T. (2005): Distribution, speciation and bioavailability of arsenic in a shallow-water submarine hydrothermal system, Tutum Bay, Ambitle Island, PNG. Chemical Geology, 224/1-3, pp 122-135.

Rauret, G. (1998): Extraction procedures for the determination of heavy metals in contaminated soil and sediment. Talanta 46, pp 449-455.

Richter, R., Hlušek, J. (1994): Výživa a hnojení rostlin. Vysoká škola zemědělská v Brně. Dostupné na WWW: <http://www.agrokrom.cz/texty/HNOJENI/skripta_Richter/ VR_vlastnosti_ pudy_fosfor.pdf>

Ruby, M. V., Davis, A., Schoof, R., Eberle, S., and Sellstone, C. M. (1996): Estimation of lead and arsenic bioavailability using a physiologically based extraction test. Environmental Science & Technology 30/2, 422-430.

Schwartz, C., Gérarrd, E., Perronnet, K., Morel, J. L. (2001): Measurement of in situ phytoextraction of zink by spontaneous etallophytes growing on a formed smelter site. The Science of Total Environment, 279: pp 215-221.

Soudek, P., Víchová, L., Valenová, Š., Podlipná, R., Malá, J., Vaněk, T. (2006): Arsen a jeho příjem rostlinami. Chemické listy 100, pp 323-329.

Száková, J., Mader, P. (1994): Metody stanovení arsenu v biologickém materiálu. Chemické listy 88, pp 164-176.

Száková, J., Mihaljevič, M., Tlustoš, P. (2007): Mobilita, transformace a základní metody stanovení sloučenin arsenu v půdě a rostlinách. Chemické listy 101, pp 397-405.

Száková, J., Tlustoš, P., Balík, J., Pavlíková, D., Balíková, M. (2001): Použití sekvenčního extrakčního postupu pro posouzení vlivu přídavku upraveného čistírenského kalu na mobilitu Cd a Zn v půdě. Chemické listy 95, pp 645-648.

Tlustoš, P., Száková, J., Šichorová, K., Pavlíková, D., Balík, J. (2007): Rizika kovů v půdě v argoekosystémech ČR. Vědecký výbor fytosanitární a životního prostředí. Praha, 2007.

Vyhláška MŽP č. 382/2001 Sb. o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě. Sbírka zákonů 2001, částka 145 (2001).

Zbíral, J. a kol. (2004): Analýza půd: jednotné pracovní postupy. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Brno 2004. 199 s. ISBN 8086548600.