



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE A TECHNOLOGIE OCHRANY ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

INSTITUTE OF CHEMISTRY AND TECHNOLOGY OF ENVIRONMENTAL PROTECTION

SPECIAČNÍ ANALÝZA ARSENU V ENVIRONMENTÁLNÍCH VZORCÍCH

SPECIATION ANALYSIS OF ARSENIC COMPOUNDS IN ENVIRONMENTAL SAMPLES

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Lukáš Pakosta

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Mgr. Michaela Vašinová Galiová, Ph.D.

BRNO 2024

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1881/2022 Akademický rok: 2023/24
Ústav: Ústav chemie a technologie ochrany
životního prostředí
Student: **Lukáš Pakosta**
Studijní program: Chemie a technologie ochrany
životního prostředí
Studijní obor: bez specializace
Vedoucí práce: **doc. Mgr. Michaela Vašinová
Galiová, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Speciační analýza arsenu v environmentálních vzorcích

Zadání bakalářské práce:

- Vypracovat rešerši zahrnující vlastnosti a chování sloučenin arsenu v životním prostředí, popis specií arsenu a extrakčních technik pro jejich izolaci ze vzorků životního prostředí včetně analytických metod používaných pro jejich stanovení.
- Vypracovat metodiku pro izolaci specií arsenu ze vzorků půd a rostlinného materiálu.
- Provést HPLC–ICP–MS analýzu reálných vzorků.

Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2024:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Lukáš Pakosta
student

doc. Mgr. Michaela Vašinová
Galiová, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Jozef Krajčovič, Ph.D.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2024

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Arsen je toxický prvek, který se vyskytuje v různých speciích, jež mají odlišné environmentální a zdravotní dopady. Přítomnost arsenu v životním prostředí, zejména ve vodě a půdě, představuje vážné riziko pro lidské zdraví. V rámci této bakalářské práce byla optimalizována doba a teplota extrakce arsenu a arsenových specií ve vzorcích půdy a bioty. Za účelem separace arsenových specií bylo použito vysokoúčinné kapalinové chromatografie a stanovením obsahu arsenových specií a celkového obsahu arsenu bylo využito hmotnostního spektrometru s trojitým hmotnostním analyzátor s indukčně vázaným plazmatem. Na základě provedeného experimentu byly optimální podmínky aplikovány na vzorky půdy a bioty z parku Lužánky.

ABSTRACT

Arsenic is a toxic element that exists in various species, each having different environmental and health impacts. The presence of arsenic in the environment, especially in water and soil, poses a serious risk to human health. In this bachelor's thesis, the time and temperature for the extraction of arsenic and arsenic species in soil and biota samples were optimized. For the separation of arsenic species, high-performance liquid chromatography was used, and the determination of arsenic species content and total arsenic content was carried out using a triple quadrupole mass spectrometer with inductively coupled plasma. Based on the conducted experiment, the optimal conditions were applied to soil and biota samples from Lužánky Park.

KLÍČOVÁ SLOVA

Arsen, toxicita, arsenové spiecie, půda, biota, HPLC, ICP-QQQ-MS, trojitý hmotnostní analyzátor

KEYWORDS

Arsenic, toxicity, arsenic species, soil, biota, HPLC, ICP-QQQ-MS, triple quad analysis

PAKOSTA, Lukáš. *Speciační analýza arsenu v environmentálních vzorcích*. Brno, 2024. Dostupné také z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/148829>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie a technologie ochrany životního prostředí. Vedoucí práce Michaela Vašinová Galiová.

PROHLÁŠENÍ

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

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěl poděkovat své vedoucí doc. Mgr. Michaela Vašinové Galiové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, připomínky, trpělivost, ochotu a vstřícnost. Též bych rád poděkoval konzultantce Mgr. Romaně Michalicové a Mgr. Jitce Hegrové, Ph.D. za odborné rady v oblasti speciační analýzy. Mé díky patří i za jejich trpělivost a pomoc během extrakce vzorků a analýzy vzorků v laboratoři. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat své rodině za obrovskou podporu během celého studia.

OBSAH

1	Úvod	4
2	Teoretická část.....	5
2.1	Arsen.....	5
2.1.1	Charakteristika arsenu	6
2.1.2	Toxicita z pohledu historie	9
2.1.3	Toxicita.....	10
2.1.4	Spécie arsenu.....	10
2.1.5	Arsen v životním prostředí	12
2.1.6	Legislativa	13
2.2	Analytické metody.....	14
2.2.1	Extrakce arsenu	14
2.2.2	Separční techniky.....	17
2.2.3	Detekční techniky	19
3	Experimentální část	27
3.1	Použité chemikálie a certifikované referenční materiály	27
3.2	Použité pomůcky a přístroje	27
3.3	Vzorky	29
3.3.1	Prosévání a mletí	30
3.3.2	Extrakce vzorků pro stanovení arsenových specií a celkového arsenu	31
3.3.3	Příprava vzorků na analýzu	32
3.1	Příprava analytické techniky na měření arsenových specií a celkového obsahu arsenu	32
3.1.1	Stanovení celkového obsahu arsenu.....	32
3.1.2	Separace a stanovení arsenových specií	34
3.1.3	Retenční časy specií	34
4	Výsledky a diskuse	37
4.1	Optimalizace doby extrakce	37
4.1.1	Vzorky půdy	37
4.1.2	Vzorky bioty	38
4.2	Optimalizace teploty extrakce	40
4.2.1	Vzorky půdy	40
4.2.2	Vzorky bioty	41
4.3	Vzorky z Lužánek.....	43
4.3.1	Vzorky půdy	43

4.3.2	Vzorky jehličí	44
5	Závěr.....	46
6	Seznam použitých zkratk a symbolů	47
7	Bibliografie.....	48

1 Úvod

Arsen je prvek, který je známý svými toxickými účinky. Z pohledu legislativy je potřeba předcházet přímému nebo nepřímému ublížení na zdraví. Arsen byl zařazen Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny jako látka do skupiny A, u kterých byly prokázány karcinogenní účinky na základě epidemiologických studií u lidské populace. Na koncentrace a obsahy arsenu jsou kladena vysoká kritéria, která musí být kontrolována. Jeho toxicita je závislá na specii, ve které se vyskytuje. Anorganické spécie jsou mnohokrát toxičtější než spécie organické.

Za účelem separace jednotlivých arsenových specií může být využita vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High-performance liquid chromatography, HPLC). Na stanovení separovaných arsenových specií a celkového arsenu lze využít hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem a trojitým hmotnostním analyzátozem (Inductively Coupled Plasma-triple quadrupole-Mass Spectrometry, ICP-QQQ-MS). Hmotnostní spektrometr je analytická metoda, která má v současnosti přední postavení, jelikož povoluje kvantitativní stanovení prvků a jejich izotopů.

Cílem této bakalářské práce bylo zpracování literární rešerše týkající se problematiky arsenu, arsenových specií, extrakce arsenových specií a využití HPLC a ICP-QQQ-MS v této oblasti. Dále provedení optimalizace doby a teploty extrakce pro arsenové spécie a celkový obsah arsenu ve vzorcích půdy a bioty. Stanovení obsahů arsenových specií bylo provedeno pomocí HPLC-ICP-QQQ-MS a stanovení celkového obsahu arsenu pomocí ICP-QQQ-MS. Optimální podmínky extrakce byly následně aplikovány na vzorky půdy a jehličí tisu (*Taxus Baccata*) z parku Lužánky.

2 Teoretická část

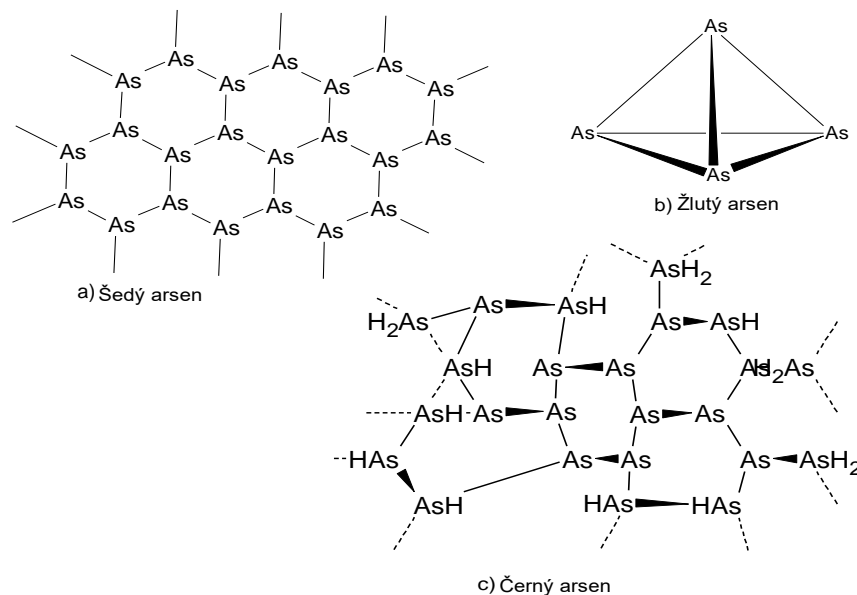
2.1 Arsen

Arsen je polokovový prvek, který se nachází ve vesmíru přirozeně. Na Zemi se vyskytuje ve všech třech skupenstvích a většinou je obsažen v zemské kůře. Řadí se s antimonem, bismutem, dusíkem a fosforem do VB skupiny periodické tabulky prvků. Má pouze jediný stabilní izotop ^{75}As . Kromě tohoto izotopu má arsen i radioaktivní izotopy jako jsou např. ^{74}As , ^{77}As . Jejich poločas rozpadu se pohybuje řádově mezi hodinami až několika dny, tudíž jsou brány jako nestabilní izotopy. [1] [2]

Allotropické modifikace jsou jedním z podstatných faktorů, který nám napovídá, v jaké formě se bude arsen vyskytovat. První a zároveň nejstabilnější je stříbrošedá forma (α -forma, Obr. 1 a), která má vysokou hustotu a kovový lesk. Její atomy se k sobě vážou kovalentní vazbou a tvoří nerovnoměrné hexagonální tvary. Tato forma je využívána jako příměs do olovněných baterií, výměníků tepla nebo při výrobě bronzů. [3]

Druhou modifikací je žlutý arsen, který má prostorovou strukturu. Ta je tvořena čtyřmi atomy arsenu, které jsou uspořádány do pravidelného čtyřstěnu (Obr. 1 b). Na slunečním světle není stálá a rozpadá se na stabilnější α -formu. Dříve byla využívána jako insekticid, fungicid a herbicid. [1] [3]

Poslední modifikací je černý arsen s amorfni strukturou. V přírodě se přirozeně nevyskytuje a aktuálně nemá v oblasti průmyslu žádné využití. Ve výzkumu jsou zkoumány její elektrické vlastnosti pro fotovoltaiku, protože vykazuje vysokou elektronovou a tepelnou vodivost. Její syntéza je ale velice náročná s nízkým výtěžkem (Obr. 1 c)). [3] [4]



Obr. 1: Allotropické modifikace arsenu

2.1.1 Charakteristika arsenu

Arsen má hustotu $5,73 \text{ g/cm}^3$ a bod tání při teplotě $817 \text{ }^\circ\text{C}$. Ve sloučeninách se vyskytuje v oxidačních stavech jako arsenid (As^{-3}), arsenitan (As^{+3}) a arseničnan (As^{+5}). Jeho rozpustnost je vyšší ve vodě než v organických rozpouštědlech, přesto se nejlépe rozpouští v koncentrované HNO_3 a lučavce královské. Při reakci arsenu s HNO_3 vzniká H_3AsO_4 [3] [5] [6]

Sloučeniny nebo ryzí podobu je možno nalézt ve všech sférách Země. Jeho mobilita je zajištěna díky atmosféře a hydrosféře. Mezi zástupce přírodních zdrojů jsou řazeny lesní požáry, biologické, chemické a geologické procesy jako např. sopečná činnost a půdní eroze. [1] [7]

Litosféra má znatelný obsah arsenu v horninách a minerálech. Jeho celkové množství v zemské kůře se pohybuje okolo $4,01 \times 10^{15} \text{ kg}$, což z něj dělá 47. nejvíce vyskytovaný prvek. Ve svrchních vrstvách je průměrný obsah $1,8 \text{ mg/kg}$, ale byl naměřen obsah kolem $5,7 \text{ mg/kg}$. Arsen je podle mnoho publikací součástí 245 minerálů, přičemž *Bowell et al.* [8] se dopočítali až na 568 minerálů. Těženým minerálem je arsenopyrit (FeAsS) [9], který se vyskytuje v ložiscích sulfidických rud (Obr. 2). Mezi další velmi významné těžené minerály patří enargit (Cu_3AsS_4) a orpiment (As_2S_3). [10]

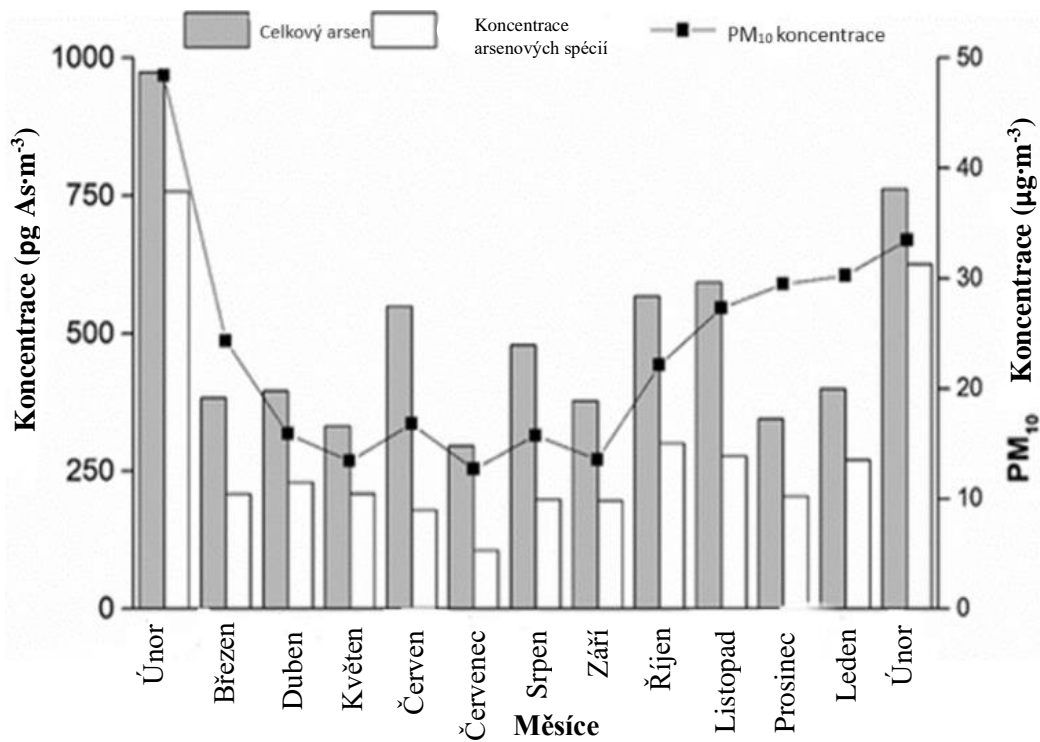


Obr. 2: Minerál Arsenopyrit [4]

Horniny z geologického původu jsou děleny na magmatické, metamorfni a sedimentární. V horninách magmatického původu bývá obsah většinou nízký a v rozsahu $0,5\text{--}5,8 \text{ mg/kg}$. Horniny typu metamorfniho mají obsah pod 5 mg/kg , avšak u typu peletického může obsah dosahovat až 18 mg/kg . [7]

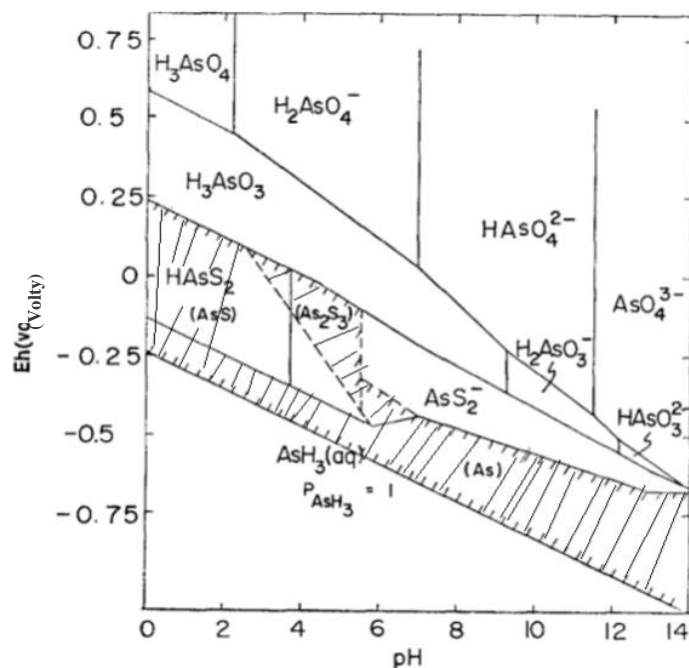
Hodnota arsenu v atmosféře je nestálá, přesto se jeho obsah pohybuje mezi $800\text{--}1740 \text{ tunami}$. Arsen zůstává v atmosféře mezi 7 až 10 dny. Hlavním médiem jeho mobility jsou prachové částice. Typickým přírodním zdrojem je sopečná činnost, která je hlavním faktorem uvolnění arsenu do atmosféry ve formě H_3AsO_3 . [11]

Tanda et al. [12] pozorovali množství a kolísavost arsenu v atmosféře během různých ročních období. Zároveň porovnávali výtěžnost speciální analýzy ($\text{MA}+\text{DMA}+\text{TMAO}+\text{H}_3\text{AsO}_4$) v porovnání s celkovým arsenem (Obr. 3). [13]



Obr. 3: Stanovení celkové koncentrace arsenu (šedé) a koncentrace spékii (bílé) arsenu ve vzorcích PM₁₀ z města Graz [14]

Pro hydrosféru vykazuje arsen pozoruhodnou chemii, která zahrnuje mnoho různých typů reakcí (oxidačně-redukční, výměnné a adsorpční). Ve vodním prostředí se arsen může nacházet v molekulách ve třech oxidačních stavech (+5, +3, -3) nebo v jeho ryzi formě. Všechny možné anorganické molekuly jsou zobrazeny na Obr. 4 známém jako Eh-pH diagram. Tento Eh-pH diagram má celkovou koncentraci arsenu v systému 10^{-5} mol/l, koncentraci síry 10^{-3} mol/l a je měřen při 25 °C. Na ose x jsou vyneseny hodnoty pH na ose y hodnoty potenciálů Eh.



Obr. 4: Eh-pH diagram při 25 °C při celkové koncentraci arsenu 10^{-5} mol/l a celkové koncentraci síry 10^{-3} mol/l [25]

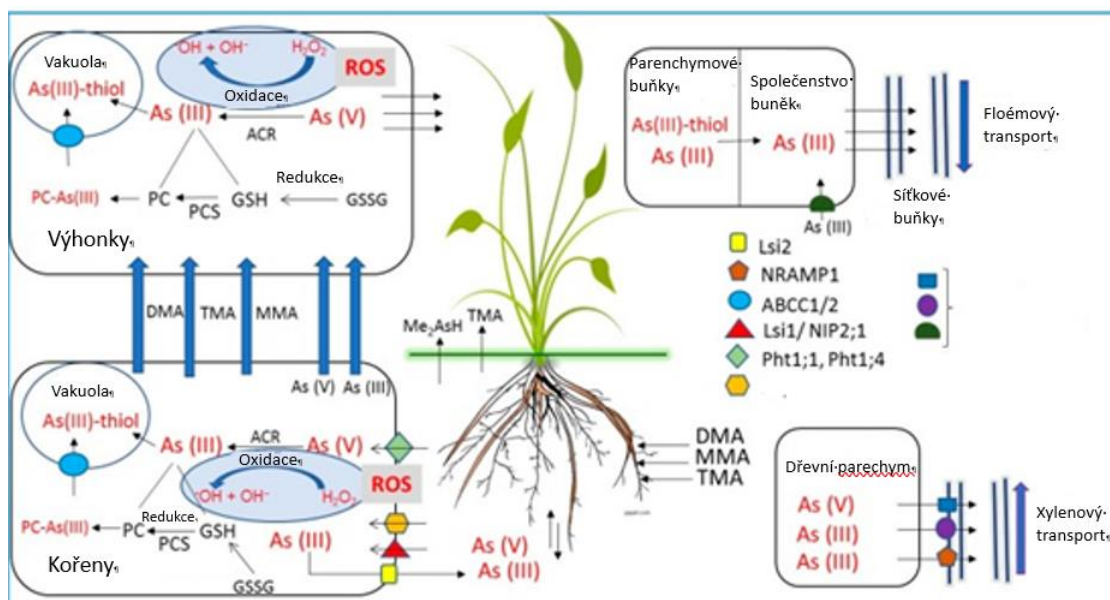
Sloučeniny s rozpustností nižší než $10^{-5,3}$ mol/l jsou v diagramu znázorněny šrafovanou oblastí. Mezi tyto sloučeniny se řadí i minerály jako orpiment (As_2S_3) a realgar (AsS). Ryzí arsen je stabilní v celé škále pH, tudíž jeho stabilita se odvíjí od hodnoty potenciálu. U nižších pH bude ryzí arsen stabilní okolo -0,1 V.

Jedním podstatným zdrojem arsenu v hydrosféře jsou tzv. geotermální zdroje. Jedním z příkladů je geotermální pramen v Mexiku, u kterého bylo stanoveno množství arsenu na 73 600 $\mu\text{g/l}$. [7] [15]

Pro oceány je arsen 22. nejvíce četný prvek. Jeho průměrná koncentrace se pohybuje okolo 1,5 $\mu\text{g/l}$. V Tichém a Atlantickém oceánu se pohybuje koncentrace v rozsahu 1–1,8 $\mu\text{g/l}$. V jižní části Austrálie byla naměřena hodnota i 3,1 $\mu\text{g/l}$. [16]

Arsen se díky atmosféře, hydrosféře a pedosféře dostává do biosféry. Pro rostliny a živočichy je toxickým prvkem. Do rostlin vstupuje především v anorganické formě, a to H_3AsO_3 nebo H_3AsO_4 . H_3AsO_3 jako analog fosforu používá stejné transportéry pro překonání plazmatické membrány u kořenových buněk. (Obr. 5) [17] [18]

Přítomnost arsenu může ovlivnit růst nebo produktivitu buněk kvůli celé řadě morfologických, fyziologických a biologických změn. Jeho nejnebezpečnějším biochemickým účinkem je produkce reaktivních forem kyslíku jako superoxidový radikál (O_2^-), hydroxylový radikál (OH^\cdot) nebo peroxid vodíku (H_2O_2). Zmíněné formy kyslíku mohou způsobit poškození lipidů, proteinů, sacharidů a DNA. Zároveň je tvorba těchto radikálů spojena s přeměnou z H_3AsO_4 na H_3AsO_3 . [18] [19]



Obr. 5: Vstřebávání, transport a detoxikace As v rostlinách [31]

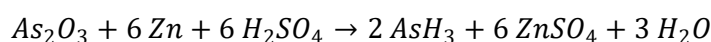
2.1.2 Toxicita z pohledu historie

Vlastnosti a toxicita arsenu jsou známými už od starověku. Po mnoho staletí byla využívána sloučenina oxidu arsenitého (As_2O_3) triviálním názvem tzv. arsenik. Tato sloučenina se dodnes považuje za nejslavnější jed. [20] [21]

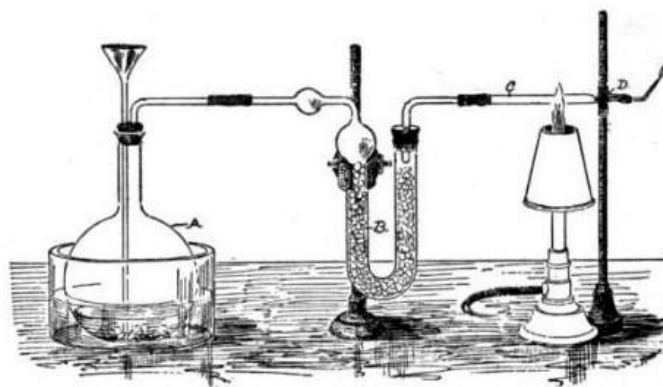
První účinky byly známy už ve staré Číně a díky tažením Alexandra Velikého se tyto znalosti dostaly do Evropy. Znalosti o jeho účinku byly využívány při boji o moc nebo odstranění nepřizpůsobivých osob. Nejznámější podavačkou a znalkyní byla egyptská královna Kleopatra, která byla schopna podat arsenik různými způsoby. [20] [21]

Pro traviče byl středověk nazýván „Zlatým věkem“. V období renesance byly jedy hojně využívány v Itálii nebo Španělsku. Jedy byly přidávány do krémů, korzetů, jídla nebo i na meče či kordy. [21] [22]

Do roku 1836 však lidé nebyli schopni určit, zda člověk byl usmrčen otravou arsenikem nebo ne. V této době chemik James Marsh přišel s metodou pro určení arsenu ve vzorku, která se nazývá Marshova zkouška (Obr. 6). Při této metodě se vzorek smíchá s kyselinou sírovou a zinkem (Rovnice 1). Směs je přivedena k varu a vznikající páry arsanu (AsH_3) vytvoří arsenové zrcátko (černý povlak na sklíčku). [20] [23]



Rovnice 1: Reakce oxidu arsenitého s kyselinou sírovou a zinkem (Marshova zkouška)



Obr. 6: Aparatura k provedení Marshallově testu, při němž vzniká arsenové zrcátko [24]

2.1.3 Toxicita

Arsen, díky svým toxickým a karcinogenním vlastnostem, byl zařazen Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny („International Agency for Research on Cancer“ zkráceně IARC) jako látka skupiny A. U látek skupiny A byly prokázány karcinogenní účinky na základě epidemiologických studií u lidské populace. Do této skupiny se řadí také například saze, dehet, nikl, chrom anebo radium. [1] [25] [26]

Toxicita arsenu je závislá na jeho formě, koncentraci a času. Míra její toxicity se vyjadřuje pomocí tzv. „smrtné dávky“ (LD – letal dose) nebo „smrtné koncentrace“ (LC– letal concentration). Smrtná koncentrace oxidu arsenitého je 20 mg/kg lidského těla. Průměrnému muži (84 kg) by tedy stačilo pouze 1,680 g k otravě a usmrcení. Dále plynný arsan (AsH_3), což je nejtoxičtější plynná sloučenina arsenu, má smrtelnou dávku 250 mg/m³ čili 34,5 mg/kg. Nejnižší LD má arsenitan sodný a to 7,6 mg/kg. Oproti tomu trimethylarsen oxid TMAO má LD rovnou 8000 mg/kg. [1] [3] [27]

Člověk je přirozeně vystavován určité koncentraci arsenu denně. V antropogenně nezatížené oblasti vdechne v rozmezí 20–200 ng/den, zatímco ve městech bez průmyslového zatížení 400–600 ng/den. Arsen se také nachází v nízkých koncentracích v potravinách jako je např. rýže, mořské plody, maso nebo cereálie. Maximální koncentrace arsenu v požitých potravinách by měla činit 9,9 µg/den pro člověka ve věku od 25 do 30 let. [1] [25]

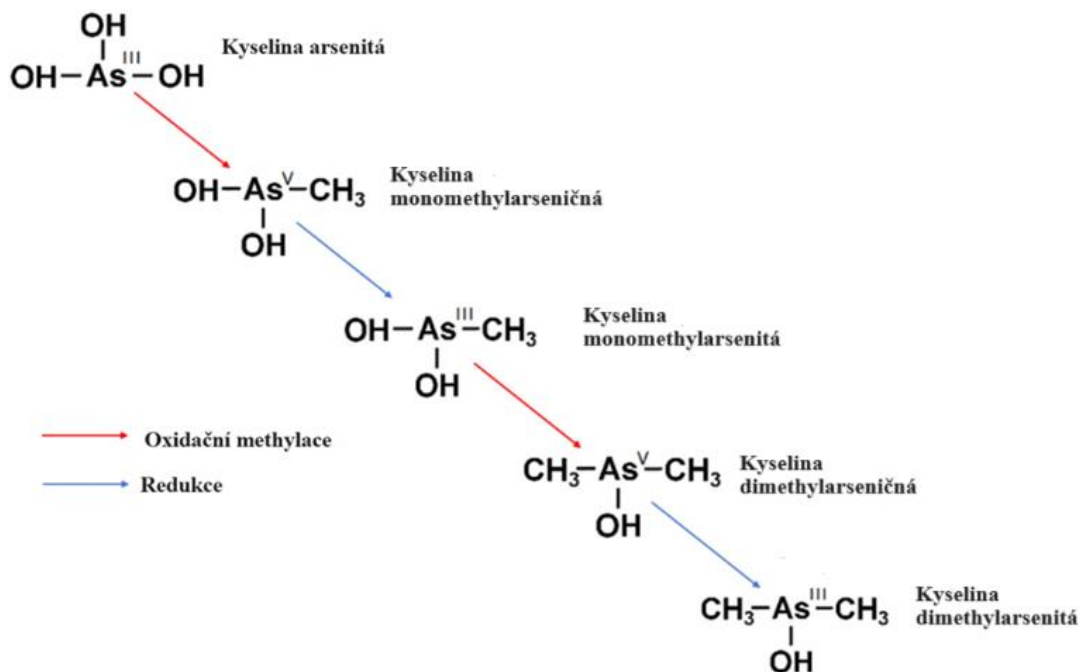
Samotné toxické účinky arsenu na tělo jsou takové, že se váže na hemoglobin, plazmatický protein a na leukocyty. Následně je distribuován do jater, ledvin, plic, sleziny a střev. Arsen způsobuje mnohé problémy jako deaktivaci enzymů a při delší expozici může vést až k rakovině plic, kůže a jater. [1] [25] [26] [28] [28]

2.1.4 Spécie arsenu

Arsen, jako jeden z prvků, se může vyskytovat v různých speciích. Jednotlivé spécie se od sebe liší fyzikálně-chemickým chováním, toxicitou, biologickou dostupností a biotransformací. Na základě toho, že v přírodních systémech se vyskytuje více než 20 arsenových specií, je podstatná jejich identifikace a kvantifikace. Jejich stabilita je závislá na teplotě, pH a dalších faktorech. [1]

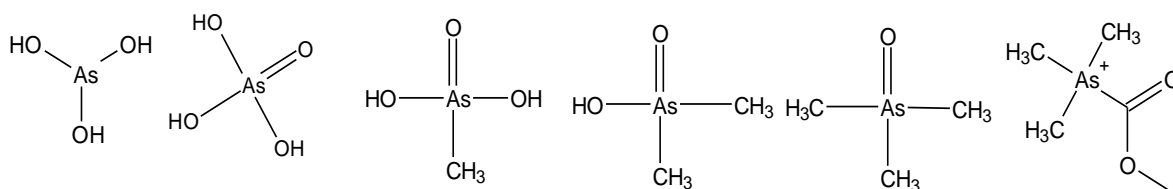
Arsenové spécie se mohou dělit na anorganické a organické, přičemž anorganické jsou mnohokrát toxičtější než formy organické. Anorganická kyselina arsenitá (H_3AsO_3)

je toxičtější než kyselina arseničná (H_3AsO_4) a zároveň lépe vstřebatelná do organismu. [29]. Pro organické formy je typické, že vznikají biologickou katalýzou v terestrických nebo mořských organismech. Mechanismus methylace anorganických kyselin je popsán Challengerových schématem (Obr. 7), kde na kyselinu arsenitovou je navázána methylová skupina a oxidována na kyselinu monomethylarseničnou. Ten je následně redukován na kyselinu monomethylarsenitovou. [30] [31] [32]



Obr. 7: Challengerovo schéma oxidační methylace a redukce arsenových specií [32]

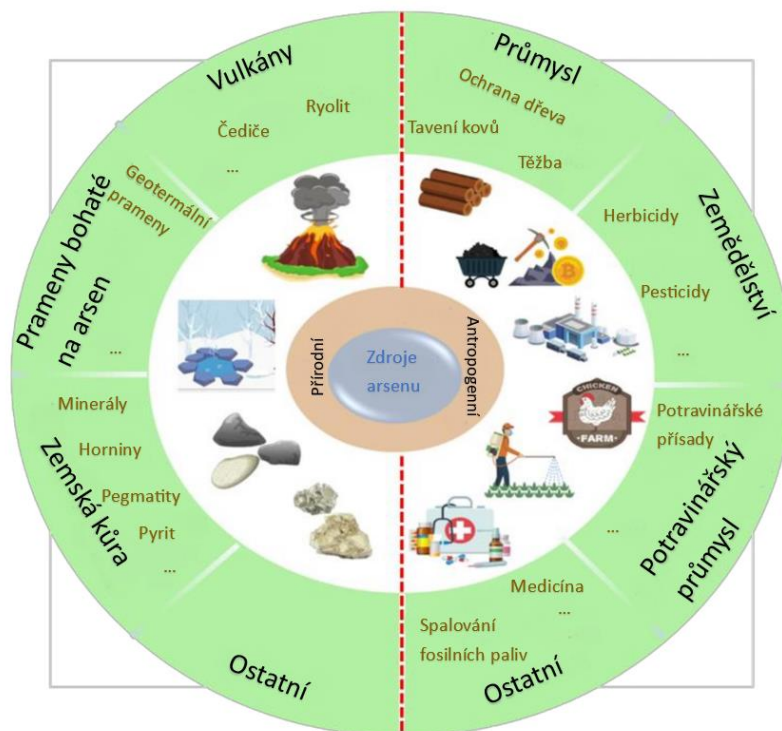
Mezi důležité specié pro tuto bakalářskou práci patří H_3AsO_3 (dále As^{+3}), kyselinu monomethylarsenitovou (MMA), kyselinu dimethylarsenitovou (DMA), trimethylarsen oxid (TMAO) a H_3AsO_4 (dále As^{+5}) (Obr. 8). Důležité je zmínit arsenobetain (AsB), který byl identifikován, a především nalezen v mořských sedimentech a mořské biotě. Je však považován za relativně neškodný, protože není lidským organismem metabolizován a je vylučován nezměněný. [30] [31] [32]



Obr. 8: Arsenové specié zleva: kyselina arsenitá dále jako As^{+3} (H_3AsO_3), kyselina arseničná dále jako As^{+5} (H_3AsO_4), kyselina monomethylarseničná (MMA), kyselina dimethylarseničná (DMA), trimethylarsen oxid (TMAO) a arsenobetain (AsB)

2.1.5 Arsen v životním prostředí

Arsenové zdroje se dělí na přírodní a antropogenní (Obr. 9). Mezi antropogenní zdroje je řazeno využití pesticidů, tavení a těžba kovů, spalování fosilních paliv a ochrana dřeva. [7]



Obr. 9: Přírodní a antropogenní zdroje arsenu [7]

Jedním z antropogenních zdrojů je spalování uhlí a jeho těžba. Uhlí má vysoký obsah arsenu, který může dosahovat až na 35 g/kg. [33] Fosilní paliva se využívají v domácnostech a tepelných elektrárnách. Při jejich spalování dochází k vzniku molekul As_4O_6 , které se vyskytují především v polétavém popílku. [11] [34] RANFT et. al. [35] měřili anorganický a organický arsen (As^{+3} , As^{+5} , MMA, DMA) v oblasti města Prievidza. V této oblasti se nachází tepelná elektrárna využívající uhlí jako zdroj energie. V dané oblasti byly odebrány vzorky půdy a moči obyvatel. Oba typy vzorků měli zvýšený obsah arsenu. Bylo přihlíženo i na vzdálenost odběru vzorku od elektrárny (do 5 km, 6–10 km, >10 km). Zde data naznačují i klesající závislost od zdroje znečištění. [7] [35]

Pro ovzduší je hlavním antropogenním zdrojem znečištění arsenem tavení rud mědi, niklu, olova a zinku. Za rok se díky tomu uvolní až 62 000 tun ročně do ovzduší, přičemž téměř 80 % tvoří tavení mědi. [1]

Jeden z antropogenních zdrojů arsenu je i potravinářský průmysl. Sloučenina arsenu roxarson je využívána jako přísada do krmiv u chovu kuřat za cílem přírůstku hmotnosti. Bohužel dochází k zvýšení obsahu arsenu v kuřatech a v jejich exkrementech. [7]

2.1.6 Legislativa

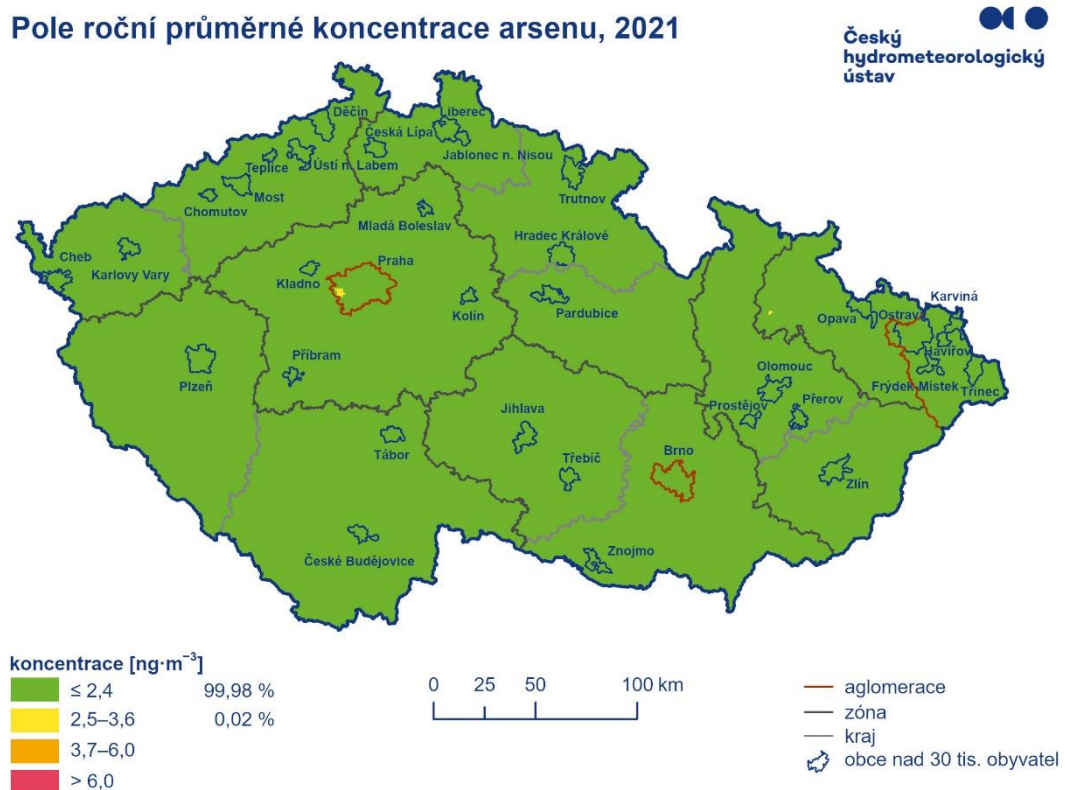
Z pohledu legislativy je potřeba předcházet přímému nebo nepřímému ublížení na zdraví nebezpečnými látkami. Látky jsou rozděleny do různých kategorií nebezpečnosti jako jsou mutageny zárodečných buněk, karcinogeny, látky toxické pro reprodukci nebo látky senzibilizující kůži atd. Pro Českou republiku jsou látky monitorovány Státním zdravotnickým ústavem (SZÚ). [36]

O kontrolu arsenu v České republice se stará Ministerstvo zdravotnictví (potravin), Český hydrometeorologický ústav (monitoring ovzduší), Státní zdravotní ústav (voda) a Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (půdy). [36]

2.1.6.1 Kvalita ovzduší

Při měření ovzduší jsou pozorovány buďto molekuly specifické nebo podle velikostí. Částice různých velikostí se usazují v různých částech dýchacího ústrojí, kde mohou způsobovat různé zdravotní komplikace. Částice menší jak $10\ \mu\text{m}$ (PM_{10}) jako spaliny spalovacích procesů, organické látky nebo sloučeniny těžkých kovů jsou schopné se usadit v průduškách a způsobit zdravotní komplikace. V celkovém obsahu PM_{10} je imisní limit $40\ \mu\text{g}/\text{m}^3$ a pro arsen je $6\ \text{ng}/\text{m}^3$. Ta je průměrovaná za 1 kalendářní rok. $\text{PM}_{2.5}$ nebo PM_1 jsou schopné se dostat přes plicní sklípky až do krevního oběhu. Ty jsou pro člověka zdravotně nejnebezpečnější. Pro $\text{PM}_{2.5}$ je roční imisní limit stanoven na $20\ \mu\text{g}/\text{m}^3$. [36] [37]

Tyto imisní limity jsou měřeny po celém území České republiky díky Českému hydrometeorologickému ústavu (ČHMÚ), který naměřená data zpracovává a sdílí na svém webu (Obr. 10). [36]



Obr. 10: Průměrné znečištění ovzduší arsenem na území České republiky roku 2021 [38]

2.1.6.2 Voda

Při analýze dělíme vodu podle její jakosti neboli jaké splňuje hygienické limity s ohledem na výskyt kontaminantů. Kontaminanty se dělí do několika druhů, přičemž jejich základní rozdělení je dle ukazatelů na mikrobiologické a biologické (*Escherichia coli*), fyzikální (barva, zákal), chemické (těžké kovy) a organoleptické (chuť, pach). [39]

Arsen má pro pitnou vodu nejvyšší mezní hodnotu (NMH), a to 10 µg/l. Pro pramenité a kojenecké balené vody je NMH rovna 5 µg/l. V Spojených státech amerických je NMH 10 ng/l. Při stanovení koncentrace v podzemních vodách je důležité přihlížet na geologické podloží. Koncentrace arsenu ve vodě bude závislá na ložiscích různých minerálů, které mohou navyšovat naše přirozené pozadí. Hodnota indikátoru znečištění je však 45 ng/l. [39]

2.1.6.3 Půda

Koncentrace arsenu závisí na podloží půdy, cirkulaci vody v půdě a taktéž na ekosystému, ve kterém se nachází. Pokud jsou tyto podmínky brány v potaz, mohou být stanoveny preventivní limity v zemědělské půdě. Indikační hodnota po extrakci lučavkou královskou (směs HCl: HNO₃ v poměru 3:1) je 40 mg/kg sušiny a pro dusičnan amonný (NH₄NO₃) je 1 mg/kg sušiny. [40]

2.1.6.4 Potraviny

Potraviny prochází kontrolou, aby nedocházelo i bez úpravy k ublížení na zdraví. Pro státy z Evropské unie jsou stanoveny nejvyšší možné hodnoty Evropským úřadem pro bezpečnost obyvatel. [41]. [42]

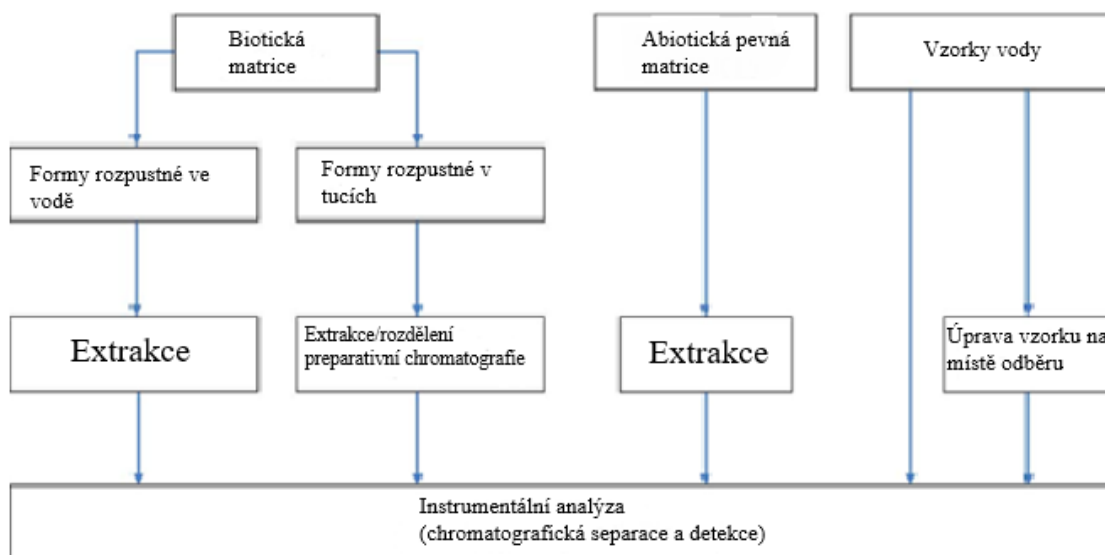
Arsen se v potravinách může kumulovat. Typické potraviny, ve kterých se kumuluje, jsou mořské plody a rýže. Pro rýži je povolená mez stanovena na 0,2 mg/kg a u kávy 1 mg/kg. Mořské ryby mají nejvyšší stanovenou mez na 5 mg/kg a sladkovodní na 1 mg/kg. Nejvyšší nárok je na mléko, které má NMH rovnou 0,05 mg/kg. [41] [43]

2.2 Analytické metody

Všechny zmíněné mezní hodnoty arsenu musí být monitorovány a kontrolovány, aby nedošlo k jejich překročení. Toho se docílí různými metodami, které jsou schopné stanovit celkové množství arsenu nebo pouze jeho spécie. K tomu se využívají různé separační techniky ve spojení s vhodnými detekčními technikami. [44]

2.2.1 Extrakce arsenu

První a zároveň nejcitlivější krok v analýze je extrakce analytu z matrice. Při speciální analýze se musí zamezit přeměnám specií jako oxidace, redukce nebo možná degradace. Podmínky maximálně účinné extrakce jsou závislé na speciálních postupech pro danou matrici. Matrice můžeme rozdělit na biotické (listy, jehličí), abiotické (půda, minerály, ovzduší) a vzorky vody (Obr. 11). [44]



Obr. 11: Schéma postupů pro speciální analýzu v různých maticích [44]

2.2.1.1 Biotické matrice

Pro arsen se jedná se o matrice různých biologických typů jako jsou tkáně, krev, moč, jehličí, listí atd. Dále se dělí na spécie na rozpustné ve vodě a v tucích. [44]

Spécie rozpustné ve vodě

Mezi spécie rozpustné ve vodě se řadí anorganické kyseliny H_3AsO_3 a H_3AsO_4 a jejich soli. Pro jejich samotnou extrakci se dá využít několika procesů. Nejčastěji využívané jsou však třepání, ultrazvuk nebo jejich kombinace. Taktéž může být využito konvekčního ohřevu. Konvekční ohřev poskytuje vysokou účinnost extrakce pro různé typy vzorků (řasy, ryby, korýši, terestrické rostliny). [44] [45]

Nejvíce využívaná extrakční činidla jsou voda a methanol. Ty byly testovány v různých poměrech a v závislosti na povaze matrice. Mezi výhody extrakce methanolem se řadí dobrá odpařitelnost a schopnost extrahovat i sloučeniny neobsahující arsen. Naopak nevýhodou je slabá rozpustitelnost anorganického arsenu v methanolu, a proto je využíván zřídka samostatně. Oproti tomu voda je schopna extrahovat velké množství arsenových specií, které jsou polární a ve vodě rozpustné. Voda je tedy velmi účinná pro tento typ specií. Také mohou být použity jiné extrakční roztoky jako anorganické kyseliny, a to především H_3PO_4 a HNO_3 . [44]

ORANI *et.al.* [46] optimalizovali extrakci pomocí H_3PO_4 v rozmezí 0,1–1 mol/l, přičemž k porovnání sloužila extrakce voda/methanol (poměr 9:1). Extrakce probíhaly na mořských houbách ze Středozemního moře, přičemž bylo zjištěno, že kyselina fosforečná měla účinnost 81 % a voda s methanolem měla účinnost 86 %. 1 mol/l H_3PO_4 má však vyšší relativní směrodatnou odchylku oproti voda/methanol a to o 11 %. [44] [46]

Whaley-Martin *et. al.* [47] a jeho tým zkoumali extrakci, která byla vícestupňová. V prvním kroku bylo přidáno extrakční činidlo a to buď 9:1 MeOH/ H_2O , 1:1 MeOH/ H_2O nebo H_2O . Vzorky s extrakčním činidlem byly centrifugovány třikrát po dobu 30 minut na 3000 rpm. Poté byl odpařen methanol při teplotě 60 °C

a vysokém tlaku, která byl na začátku 200 MPa a na konci 100 MPa. Sediment byl rozložen ve vodě, které je lepší médium pro instrumentální analýzu. Díky tomu došlo ke snížení detekčních limitů. [47]

Spécie rozpustné v tucích

Extrakce analytů pro analýzu je v tomto případě složitější než u vodou rozpustných sloučenin. Základní izolace specií je pomocí rozdílných pH rozpouštědla nebo také extrakce pevnou fází při neutrálních nebo kyselých podmínkách. [48]

Vzhledem k povaze specií je využíváno organických rozpouštědel jako je hexan, heptan, směs dichlormethanu s methanolem a mnoho dalších. Volba optimálního rozpouštědla je závislá na jeho polaritě. Často následuje odpaření extrakčního rozpouštědla za účelem dosažení vhodného média pro instrumentální analýzu. [48]

García-Salgado et al. [49] klasifikováno až 11 různých arsenolipidů ve vzorcích řas. Extrakce byla provedena za stálého třepání extrakční směsi chloroformu s methanolem (poměr 2:1). Následně byl extrakt promyt NaHCO_3 (1 % hm.) za účelem odstranění arsenových sloučenin rozpustných ve vodě. Po tomto kroku byl vzorek odpařen a znovu rozpuštěn v 1 ml směsi chloroformu s methanolem (poměr 1:1). Čištění směsi bylo provedeno pomocí silikagelu za použití methanolu, který obsahoval 1 % amoniaku. [44] [49].

2.2.1.2 Abiotické složky

Jedná se o složky, které jsou neživou složkou v ekosystémech jako jsou minerály, horniny, půda, voda a atmosféra. [42]

Extrakce těchto složek většinou probíhá pomocí třepání, ultrazvuku nebo mikrovlnného ohřevu. Také se zde využívají kombinace těchto metod. Nejvíce využívaná je extrakce pomocí mikrovlnného ohřevu nebo třepání. Pro abiotické složky nebývá uplatněn ultrazvuk. U pevných látek je problémem extrakční činidlo. Anorganické a organické kyseliny zde zlepšují efektivitu extrakce. Nejčastěji používané kyseliny jsou H_3PO_4 , HNO_3 a HCl . Také jsou aplikovány organické kyseliny jako kyselina askorbová (0,1–1 mol/l). [42]

Yin et. al. [50] sledovali $\text{PM}_{2,5}$ a jejich extrakci provedli pomocí 10 ml HNO_3 , ve které byly filtry nechány přes noc. Vzorky byly poté ohřívány topnou deskou na teplotu v rozmezí 160–180 °C po dobu 2 hodin. Tento krok byl zopakován nejdříve s 10 ml koncentrované HCl a poté s 5 ml HCl . Tento krok byl proveden z důvodu odstranění zbytků HNO_3 . Následně byl ohřev proveden v 15ml směsi 1:1 voda/ HCl . Zbytek byl centrifugován 3 minuty na 5 000 rpm. Sraženina byla několikrát promyta horkou deionizovanou vodou k zajištění kvantitativního přenosu vzorku ze zkumavky. Vzorek byl dolit miliQ vodou na 50 ml. Známé objemy roztoků byly zahřívány na 75 °C po dobu 45 minut s 10 ml 25 % roztoku KI a 15 ml roztoku 25 % kyseliny askorbové, která byla přidána kvůli přeměně As^{+5} na As^{+3} . Konečný roztok byl zředěn miliQ vodou na 50 ml. Stanovení arsenu bylo pomocí metody tékavých hydridů. [51].

Vzorky vody

Analytická speciace arsenu ve vzorcích vody nevyžaduje náročné přípravy. Většinou se vzorky pouze přefiltrují přes 0,45 μm nebo 0,2 μm filtry. Tento krok slouží

k odstranění suspendovaných částic. Také může být využito okyselení vzorku před analýzou. [44]

Huang et al. [52] zkoumali rozdíl v prekoncentračním procesu dešťových, půdních a říčních vod. Prekoncentrační krok byl proveden buďto vypařením extrakčního činidla během proplachování dusíkem nebo zmrazením na teplotu $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ a následnou lyofilizací zkoncentrován na 1 ml. Při použití lyofilizace byla výtěžnost výrazně nižší a docházelo ke změně sloučenin. Při proplachování dusíkem byla hlídána teplota vzorku na $60\text{ }^{\circ}\text{C}$, díky čemuž byla vyšší výtěžnost u vzorků methanol/voda (poměr 9:1) oproti samotným vodným roztokům. Rozdíl výtěžnosti se pohyboval okolo 20 %. Taktéž byla kontrolována a měněna teplota ve vodní lázni a to na 25, 30 a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Bylo dokázáno, že nižší teplota může minimalizovat riziko degradace nebo transformace organických molekul a přechod As^{+3} na As^{+5} .

2.2.2 Separální techniky

Dalším podstatným krokem při speciální analýze je využití správné separální techniky. Separální techniky jsou takové, které jsou schopny separovat od sebe jednotlivé spíce. Nejvíce využívané techniky jsou chromatografické separace, mezi kterými je nejvíce využívána vysokoúčinná kapaliná chromatografie (HPLC) díky své kompatibilitě a účinnosti. Dalšími využívanými separálními technikami jsou plynová chromatografie (GC) a kapilární elektroforéza (CE). [53]

2.2.2.1 Plynová chromatografie

V plynové chromatografii jsou složky vzorku separovány na základě distribuce mezi plynnou mobilní fází a kapalnou nebo pevnou stacionární fází. Vzorek je nejdříve odpařen a následně dávkován na kolonu. Eluce je provedena tokem inertní plynné mobilní fáze kolonou. U této chromatografické metody mobilní fáze nereaguje s analytem a její funkcí je pouze unášení molekul. [53] [54]

Tato chromatografická metoda byla využita Janine et al. [55], kteří měřili arsenové spíce v rybách (DMA, MMA, As^{+3} , As^{+5}). Jako detektor byl využit hmotnostní spektrometr. Derivatizační postup, který proběhl před samotnou analýzou, začal okyselením vzorku na pH 2 a následným přidáním ethylthioglykolát (TGE). Nádoby byly třepány nejméně dvě minuty. Následně bylo přidáno 10 ml roztoku hexachlorbenzenu v cyklohexanu. Po dalších dvou minutách třepání došlo k přidání 1 ml organické reakční směsi a následně proběhla analýza pomocí GC-MS. Využitím TGE měla metoda největší výtěžnost rozmezí 60–130 %. [53]

2.2.2.2 Kapilární elektroforéza

Kapilární elektroforéza je typ separace, která využívá schopnosti nabitých částic pohybovat se v elektrickém poli. Separace je prováděna pomocí kapiláry, kterou protéká vysoký stejnosměrný elektrický proud, díky kterému dochází k mobilitě spící. Metoda je tedy závislá na spící analytu s elektromagnetickým polem kapiláry. Výhody metody jsou nízké náklady, šetrnost k životnímu prostředí, rychlá analýza, jednoduchá úprava vzorku a nízká spotřeba vzorku. [53]

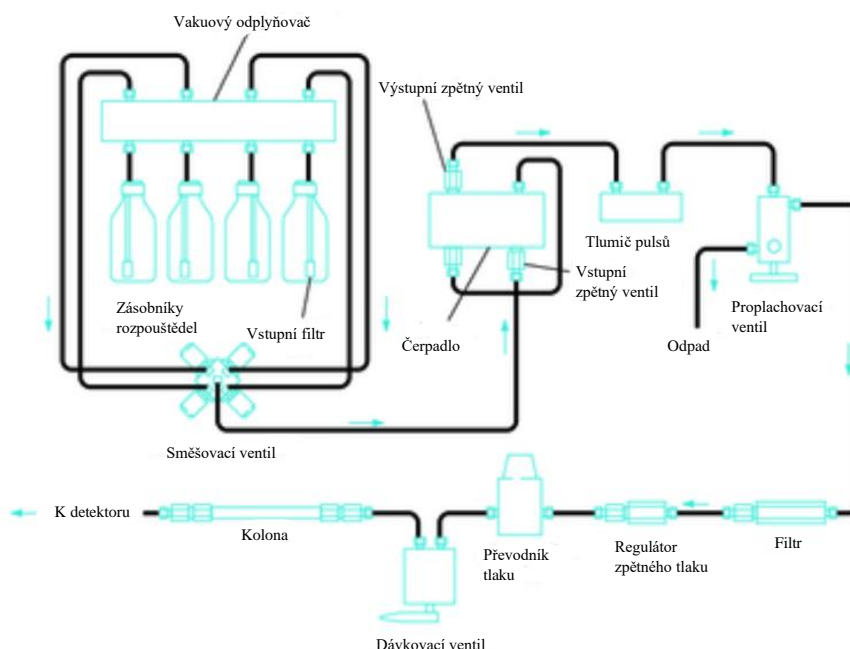
Při analýze spící prvku se setkává metoda s dvěma problémy. Prvním je morfologie prvku, která zhoršuje citlivost detekčního zařízení a nemusí vyhovovat analýze. Druhým problémem může být matrice, která znemožní přímou analýzu díky své

struktúře. Je tedy možné, že matrice mohou nevratně adsorbovat na kapiláře, co má za následek změnu jejich vlastností. Tyto problémy se dají vyřešit předúpravou vzorku, čímž se ale metoda stává náročnější oproti jiným variantám. [53]

Van Holderbeke et.al. [56] testovali spojení CE s UV detektorem a také s hmotnostním spektrometrem. Kapilární elektroforéza byla schopna separovat šest specií arsenu (As^{+5} , MMA, DMA, As^{+3} , AsB a arsenocholin). Při využití hmotnostního spektrometru bylo možné stanovení koncentrace v rozsahu 1–2 $\mu\text{g/l}$.

2.2.2.3 Vysokoučinná kapalinová chromatografie

V kapalinové chromatografii je mobilní fází kapalina, do které je dávkován kapalný vzorek. Stacionární fází je pevná látka s malými částicemi. Separace se může aplikovat na nejrůznější anorganické, organické i biologické materiály. Přístroje pro HPLC jsou vybavené zásobníky mobilní fáze. Na začátku systému jsou součástky jako vstupní filtr a vakuový odplyňovač na odstranění rozpuštěných plynů a prachu z kapaliny. Za čerpadlem kapalina protéká přes součástku na tlumení pulzů, aby kapalina protékala rovnoměrně. Poté kapalina prochází přes proplachovací ventil, regulátor zpětného tlaku, převodník na požadovaný tlak. Mobilní fáze se v dávkovacím ventilu smísí se vzorkem a pokračují dál v systému na kolonu a následně na detektor. (Obr. 12) [54]



Obr. 12: Diagram základních částí HPLC [54]

Pro HPLC jsou dva typy čerpadel, a to lineární a reciproční. Lineární čerpadla poskytují bezpulzní tok, který je snadné kontrolovat. Jejich nevýhodou je malá kapacita a složitá výměna rozpouštědla. Reciproční čerpadla obsahují malý píst v malé válcové komoře, do které je nasávána a následně vytlačována kapalina. Pohyb pístu vytváří pulzy, které musí být tlumeny, jinak se by projevíly na chromatogramu v množství šumu. V moderních přístrojích je využito duálních hlav nebo eliptických vačků, které pulzy minimalizují. Jejich výhodou je malý vnitřní objem (35–150 μl) a vysoký vstupní tlak (70 MPa). Pro dávkování vzorku do systému je využíváno

dávkovacích smyček. Dávkovací smyčky jsou schopné dávkovat vzorek od 1–100 μl . Reprodukovatelnost objemu nástřiků s dávkovací smyčkou jsou desetiny procent. Mnoho HPLC přístrojů využívá autosamplery s automatickým dávkovačem, díky kterým mohou nástřikovat různé objemy vzorků z vialek. [54]

Jednou z částí HPLC je i předkolona, která má za úkol ochránit náplň analytické kolony. Umisťuje se mezi dávkovací zařízení a analytickou kolonu. Stacionární fáze je stejná jako u analytické kolony. Jejím účelem je zabránit nečistotám, aby vstoupily do analytické kolony a kontaminovaly ji. Pravidelná výměna předkolony pomáhá k prodloužení životnosti analytické kolony. [54]

Kolony pro HPLC jsou zpravidla vyrobeny z nerezové oceli, trubice ze skla nebo z plastů. Většina kolon má délku v rozmezí 5 až 25 cm a vnitřní průměr od 3–5 mm. Částice náplně jsou velké 3 μm nebo 5 μm . Využívá se dvou typů náplně, a to pelikulární nebo porézní částice. Pelikulární částice jsou sférické neporézní ze skla nebo polymeru s typickým průměrem 30–40 μm . Pelikulární částice byly vytlačeny částicemi porézními, které mají velikost 3–10 μm , kdy materiálem nejčastěji bývá silikagel. Částice mohou být též tvořeny z alumina. Nejčastěji využívaný silikagel je často pokryt tenkým organickým filmem, který je chemicky nebo fyzikálně navázán na povrch částic. [54]

Pro analýzu specií arsenu jsou nejužívanější analytické kolony: PRP-X100 (stacionární fází je sorpční polystyren divinylbenzen/chlorid trimethylamonný) využívána při iontově-výměnné chromatografii (IEC), Zorbax 300-SCX (stacionární kyselina sulfonová vázaná na silikagel) využívána na kation-výměnnou chromatografii, Dionex IonPac AS16 IC (stacionární fází je ethylvinyl benzen a divinyl benzen) využívána pro iontově-výměnnou chromatografii. [54]

Módy HPLC jsou často klasifikovány pomocí stacionární fáze nebo mechanismu, který využívají na separaci. Podle těchto kritérií můžeme HPLC rozdělit na: rozdělovací, adsorpční, iontově výměnou (IEC), vylučovací (SEC), afinitní a chirální chromatografii. [54]

IEC funguje na principu rozdílné výměnné adsorpci analytu s funkční skupinou stacionární fáze. V závislosti na náboji částice analytu se dělí chromatografie na aniont-výměnnou (záporné částice) nebo kationt-výměnnou (kladné částice). Aniont-výměnnou chromatografií s využitím kolony PRP-X100 a mobilní fází $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ (pH 6) mohou být od sebe dobře separovány As^{+3} , As^{+5} , MMA a DMA a TMAO z biotických matric. Též může být použita mobilní fáze NH_4CO_4 (pH 9,3). [53]

MORIARTY et. al. [57] využili kolonu Hamilton PRP-X100, kdy vzorkem byly různé druhy hmyzu, vzorky půdy a rostlin. Vzorky byly extrahovány pomocí 70 % HNO_3 . Mobilní fází byl pyridin 20 mmol/dm³ (pH 6), přičemž bylo možné analyzovat 6 různých specií a As^{+3} , As^{+5} , MMA, DMA, TMAO a AsB. [53]

2.2.3 Detekční techniky

Detekční techniky jsou používané pro kvalifikaci a kvantifikaci analytu. Nároky na metodu jsou, aby měla nízké meze detekce a zároveň vysokou citlivost vůči analytu. Mezi detekční techniky používané pro speciální analýzu arsenu jsou atomová absorpční spektrometrie (AAS), atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným

plazmatem (ICP-AES), hmotností spektrometr s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS). [54]

2.2.3.1 Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie využívá jako měřitelnou vlastnost absorpci prvku, který pohlcuje zářené elektrony. Úbytek primárního záření je dán koncentrací prvku. Základními částmi pro AAS jsou zdroj záření, atomizátor, monochromátor a detektor. Jako zdroje záření jsou využívány výbojky s dutou katodou, díky kterým může být měřeno více jak 60 prvků. Nejčastěji v AAS je jako atomizátor využíván laminární předmíchaný plamen, který dosahuje 3000 K. Při této teplotě se většina prvků nachází v základním energetickém stavu. Za plamenem se nachází monochromátor, který bývá využit k izolaci vhodné vlnové délky záření. Zvolená vlnová délka pokračuje do detektoru, kterým může být např. fotonásobič s fotokatodou. [54]

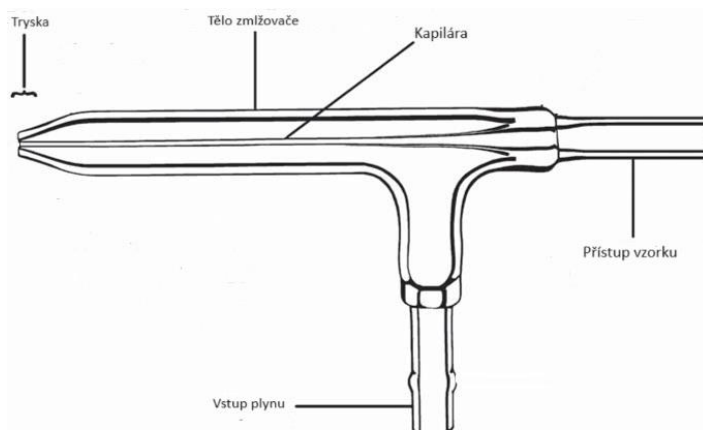
Pozornost si zasluhuje také technika generování těkavých specií do plazmového výboje. Tato metoda slouží pro stanovení prvků 14.–16. skupiny periodické soustavy po jejich přeměně na těkavé hydridy. [54] [58]

Pro měření arsenu je atomová spektrometrie spojena metodou generování hydridů, kdy analyt reaguje s NABH_4 . Generování hydridů bylo využito i v článku [59], kde byla využita atomová absorpční spektrometrie s kontinuálním generováním hydridů s vysokým rozlišením (HR-CS-HG-AAS). Tato metoda nabízí až výtěžnost 98 % a stanovuje koncentrace $\mu\text{g/l}$. Také je možná speciální analýza. [60]

2.2.3.2 Atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

Atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-AES) je založena na vlastnosti emise excitovaných atomů a iontů. Záření vzniká jejich zářivou deexcitací. Emisní spektrum je čárového charakteru a jsou zaznamenány spektrální čáry, které odpovídají jednotlivým přechodům. Základní součástky pro AES jsou budící zdroj ICP, disperzní zařízení a detektor. Metoda je schopna změřit až 70 prvků a stanovit množství v rozsahu mg/l – $\mu\text{g/l}$. [54]

Vzorek je vnášen do plazmatu ve formě aerosolu nebo par pomocí proudu argonu o průtoku 1 l/min středovou trubicí (centrální kanálek). Vzorek může být vnášen ve všech třech skupenstvích. Pro kapaliny je využíváno zmlžovače, který funguje na principu Venturiho efektu. Výsledný aerosol vzniká strháváním kapaliny z konce kapilár. Nejrozšířenějším typem zmlžovače je tzv. koncentrický zmlžovač. Příkladem může být zmlžovač Meinhardova typu (Obr. 13). Dalším běžně používaným typem je pravoúhlý zmlžovač, ve kterém je vzorek vůči argonu přiváděn v úhlu 90° a jeho přívod je často zajišťován peristaltickým čerpadlem. Aerosol je unášen do mlžné komory, kde se odstraní částice o velikosti několika mikrometrů, které by mohly způsobit interference. Nejvyužívanější komora je dle Scotta, odkud částice pokračují do plazmatu. [54]

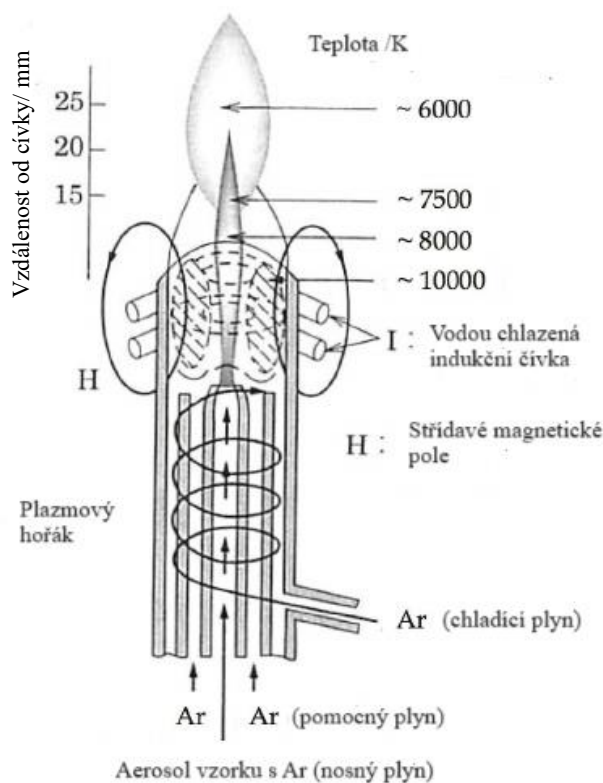


Obr. 13: Meinhardův koncentrický zmlžovač [61]

Indukčně vázané plazma

Plazma je částečně ionizovaný plyn schopný vést elektrický proud díky významné koncentraci ionizovaných atomů plynu a elektronů. Typické plazma má velmi intenzivně bílé zářivé neprůhledné jádro, za kterým se nachází chvost připomínající plamen. Nejčastěji je využíváno argonového plazma, ve kterém jsou vodivými částicemi kladně nabitě ionty argonu a elektrony. Po vzniku dostatku kationtů argonu se stabilizuje plazma na určité teplotě, která může dosahovat až 10 000 K, tedy teploty třikrát vyšší než s plamenovým atomizátorem. [54] [62]

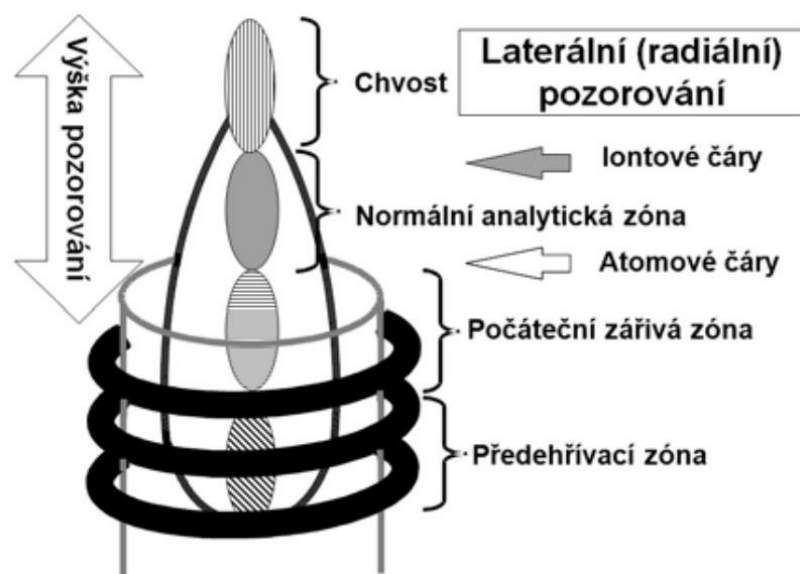
Plazmová hlavice pro atomizaci a ionizaci vzorku je sestavena ze tří koncentrických křemenných trubic, ve kterých proudí argon průtokem od 11–17 litrů za minutu, přičemž každou trubicí proudí jiné množství. Nejširší trubice má průměr přibližně 2,5 cm (Obr. 14). Na vrcholu této trubice je ovinuto několik závitů chlazené cívky, kterou je přiváděn střídavý proud z vysokofrekvenčního generátoru o frekvenci 27,012 nebo 40,68 MHz a výkonem 0,5–2 kW. Proud v cívce indukuje proměnné magnetické pole, které dodává energii pro udržení plazmového výboje. Na začátku Teslův transformátor iniciuje jiskrovým výbojem ionizaci ICP. Vzniklé nabitě částice v proudícím argonu se pohybují uvnitř cívky v uzavřených kruhových drahách. Odpor iontů a elektronů vůči pohybu náboje způsobuje ohmický ohřev plazmatu na vysokou teplotu. [54] [62]



Obr. 14: Indukčně vázaný plazmový výboj [63]

Plazma dosahuje takové teploty, že by se křemenná trubice při kontaktu roztavila, a proto musí být plazma od křemenné trubice izolováno. Izolace je dosaženo díky proudu argonu ve vnější trubici. Velký průtok argonu tedy nejen chladí křemenné trubice, ale zároveň stabilizuje radiální polohu plazmového výboje a brání kontaktu s trubicí. [54] [62]

Topografie výboje ICP se rozlišuje na dvě zásadní odlišné oblasti, a to na indukční zónu a analytický kanál (Obr. 15). V indukční zóně dochází k přenosu energie elektromagnetického pole cívky do plazmatu. V analytickém kanále je soustředěn vzorek transportovaný nosným plynem. Analytický kanál se dělí podle prostorového rozdělení intenzity emise čar na předehřívací zónu, počáteční zářivou zónu, analytickou zónu a chvost výboje. V analytické zóně dochází k excitaci iontů, kde zároveň excitační teplota nabývá maximálních hodnot. Energetické podmínky v analytické zóně jsou dostatečné na disociaci stabilních sloučenin, čímž jsou potlačeny chemické interference. [62]



Obr. 15: Zóny analytického kanálu ICP

Emisní spektra v radiální geometrii jsou měřena v normální analytické zóně, kde teploty dosahují 5000–6000 K. V této zóně sestává pozadí především z čar Ar, emisních pásů OH a dalších molekulových pásů dle složení plazmového plynu, okolního prostředí a zmlžovaných roztoků. V této zóně emitují ionty některých prvků (např. Ca^+ , Cd^+ , Cr^+ , Mn^+). Ve chvostu teplota klesá na 3000 K, kde bývají stanovovány snadno excitovatelné prvky, např. alkalické kovy. [54]

Poté, co vzorek přejde přes atomizátor, je detekována emise axiálně nebo radiálně. Radiální geometrie odpovídá pozorování z 90° k ose výboje, zatímco v axiální geometrii je výboj pozorován přímě. Axiální geometrie se využívá spíše v hmotnostních spektrometrech, avšak se rozšiřuje i v spektrometrii emisní. Zatímco axiální geometrie umožňuje dosáhnout nižšího bodu detekce, radiální geometrie nabízí lepší stabilitu signálu a preciznost. [54]

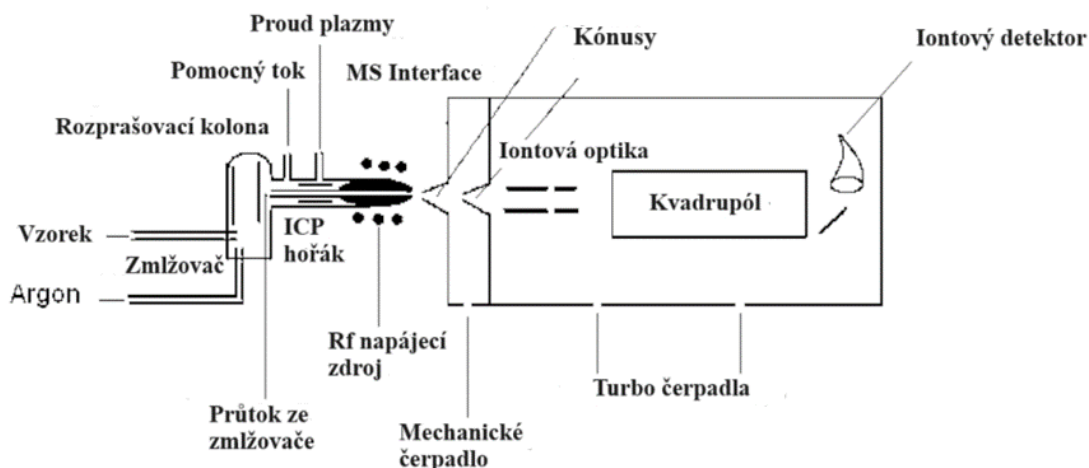
Emitované vlnové délky jsou vybrány pomocí monochromátoru nebo polychromátoru. Záření na výstupu je převedeno na elektrický signál jedním nebo více převodníky anebo soustavou detektorů (např. plošný polovodičový detektor). Výsledné elektrické signály jsou vyhodnoceny počítačem. [54]

Fernandez et.al. [64] byli schopni zlepšit detekční limity, selektivitu a přesnost pro ICP-AES pomocí bromid didodecyldimethylamonného. Ta pomohla při vzniku hydridové formy AsH_3 . Technika generování hydridů napomáhá rychlému a přesnému stanovení arsenu. Pro speciální analýzu bývá využito micelární chromatografie.

2.2.3.3 Hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS)

Hmotnostní spektrometrie je výkonná a všestranná analytická metoda, která je schopna multielementární analýzy s extrémně vysokou citlivostí a širokým lineárním dynamickým rozsahem. Je schopna kvantifikovat téměř 70 prvků a díky ICP stanovit vzorky ve všech skupenstvích. Její detekční limity jsou pro kapaliny v rozmezí $\mu\text{g/l}$ – ng/l . [58]

V hmotnostní spektrometrii vstupují vzorky do evakuovaných částí hmotnostního spektrometru dávkovacím systémem (Obr. 16). Účelem dávkovacích systémů je dávkovat malé množství vzorku do ICP, kde je vzorek ionizován. Vzniklé ionty prochází přes kónusy, kde se po průchodu dostávají do vakua o tlaku 10^{-4} Pa. Důvodem je omezení množství srážen v hmotnostním analyzátoru. Vakuum je vytvořeno olejovou vývěvou a turbomolekulárním pumpou. Po vstupu do vakua ionty směřují k iontové optice, která vytváří kolineární proud iontů, ze kterého jsou separovány fotony, elektroneutrální částice a část iontů, které by mohly zvyšovat pozadí detektoru. Kolineární proud iontů pokračuje do analyzátoru, ve kterém se rozdělí jednotlivé ionty podle jejich poměru hmotnosti a náboji neboli m/z . Ionty o určité m/z dopadají až na detektor. [54] [58]



Obr. 16: Blokové schéma ICP-MS [65]

Způsoby vnášení vzorků do ICP-MS

Nejrozšířenější technikou je vnášení kapalných vzorků, zpravidla vodných roztoků, prostřednictvím zmlžení vzorku. Vnášení pevného vzorku je možné využitím vhodné techniky pro tvorbu suchého aerosolu vzorku (laserová ablace). Plynné vzorky lze zavést přímo do plazmového výboje pomocí nosného plynu. [54] [58]

Jednou z metod je princip techniky generování těkavých hydridů využívá tvorby těkavých sloučenin a jejich vedení ve formě plynné fáze. Činidlem bývá NaBH_4 a redukce probíhá v kyselém prostředí, a to nejčastěji v HCl . Díky této metodě odpadá využití zmlžovače. Metoda nabízí zvýšenou citlivost. [54] [58]

Jednou z výhod metody je zvýšení citlivosti. Zvýšení citlivosti je závislé na přestupu těkavých látek do plynné fáze. Pokud přesun probíhá dostatečně rychle a kvantitativně, zvyšuje se jeho účinnost ionizace téměř na 100 %. [54] [58]

Po vnesení vzorku pokračuje dál v systému, do indukčně vázaného plazmatu. Ten je popsán v kapitole ICP-AES. Ionizované vzorky prochází přes kónusy a iontovou optiku na hmotnostní analyzátoři. [54]

Hmotnostní analyzátoři

Ideální analyzátor by měl být schopný rozlišit velmi malé rozdíly hmotnosti iontů a zároveň by měl propouštět velké množství příslušných iontů, aby jejich dopad na detektor vyvolal měřitelný signál. Tyto dva požadavky nejsou úplně kompatibilní, a proto hmotností analyzátorů představují kompromis mezi citlivostí a rozlišením. Nejčastěji využívaným je kvadrupólový (Q) analyzátor, dalším je průletový analyzátor (TOF-time of flight) nebo statické sektorové analyzátorů (SF, HR). [54]

Statické sektorové analyzátorů

V magnetickém sektorovém analyzátoru dochází k separaci iontů na základě zakřivení jejich trajektorií v magnetickém poli, přičemž trajektorie iontu závisí na m/z . Intenzita magnetického pole je postupně měněna v určitém rozsahu, čímž na detektor dopadají ionty o postupně se zvyšující m/z . Samostatně se ale nevyužívá v ICP. [54]

Průletový analyzátor

Průletový analyzátor (*time of flight*) představuje další princip separace m/z . Iontům je dodána dostatečná kinetická energie, přičemž následně částice vstupují do trubice, kde nepůsobí žádné pole. Částice o stejné počáteční kinetické energii se budou lišit dobou průletu. Ta je nepřímo závislá na hmotnosti neboli ionty s nejmenší m/z dolétnou na detektor dříve než ionty s větším m/z . Průletové analyzátorů jsou jednoduché a robustní. [54]

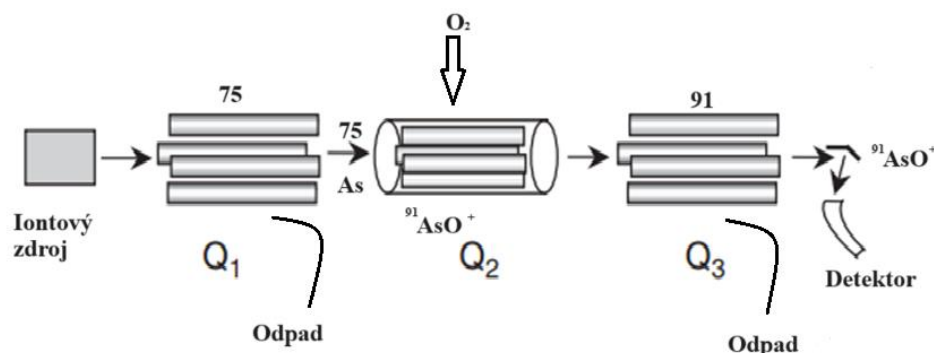
Kvadrupólové analyzátorů

Kvadrupólový analyzátor (*quadrupole mass analyzer*) je složen ze čtyř nebo více tyčí kruhového nebo hyperbolického průřezu uspořádaných tak, aby protilehlé tyče měly stejný náboj, čímž vzniká proměnné elektrické pole. Kvadrupólové hmotnostní analyzátorů fungují jako filtry při zvolení kombinaci stejnosměrného a střídavého napájecího proudu, který dovoluje průchod pouze iontům o určitém poměru m/z . Princip je založen na pohybu iontů v elektrickém poli. Vhodným nastavením napětí se ionty o určitém m/z ocitnou na stabilní dráze a projdou kvadrupólem k detektoru, zatímco ostatní ionty nejsou analyzátořem propuštěny. [54]

Trojité kvadrupólový analyzátor (QQQ)

Trojité kvadrupól je složitým analytickým nástrojem, který našel své využití v různých vědeckých sférách jako chemie, biochemie nebo farmacie. Termín označuje dva kvadrupólové analyzátorů (Q_1 , Q_3) a jednu kolizně reakční celu (Obr. 17). Jeho obrovskou výhodou je citlivost a přesnost, čehož se využívá při kvantifikaci jednotlivých specií u monoizotopických prvků jako je arsen. [66]

Trojité kvadrupólový analyzátor pracuje na sérii vzájemně propojených principů, které umožňují přesnou a selektivní analýzu. Vzniklé ionty jsou po ionizaci směřovány do Q_1 . Ten funguje jako hmotností filtr čili umožňuje průchod pouze iontům s konkrétní m/z ($^{75}\text{As}^+$), přičemž zbytek neprojde. Propuštěná hmota je závislá na elektrickém potenciálu elektrod. Selektované ionty pokračují do kolizní cely. Ta je promývána nízkomolekulárním plynem (He , O_2). Ten naráží do iontů a mění jejich hmotnost (např $^{75}\text{As}^+$ na $^{91}\text{AsO}^+$). Zreagované ionty procházejí do Q_3 , který funguje jako hmotností filtr stejně jako Q_1 ($^{91}\text{AsO}^+$). Ionty s pouze určitou m/z prochází až na detektor [66]



Obr. 17: Schéma trojitého kvadrupólu pro arsenovou speciaci [67]

Detektory

Nejpoužívanějšími detektory pro hmotnostní spektrometr jsou násobiče elektronů. Katoda násobiče elektronů po dopadu iontů nebo elektronu o vysoké energii emituje elektron, který je urychlován systémem dynod. Násobiče mohou obsahovat až 20 dynod, signál tak může být zesílen až 10^7 -krát. Kromě násobičů s diskrétními dynodami existují i násobiče s kontinuální dynodou. Ty jsou vyrobeny ze skla dopovaného olovem, mají zakřivený tvar a vložený potenciál o velikosti 1,8–2,0 kV. Dopad iontů na katodu má za výsledek vyražení elektronu, který vyráží další elektrony. [68]

Dalším používaným detektorem je Faradayův pohár, který není citlivý a je potřeba dostatečný iontový tok. Výhodou jsou však stabilní spektra. Pro detekci více rozlišných prvků se využívá tzv. mikrokanálová destička nebo plošné uspořádání miniaturizovaných Faradayových detektorů. [68]

3 Experimentální část

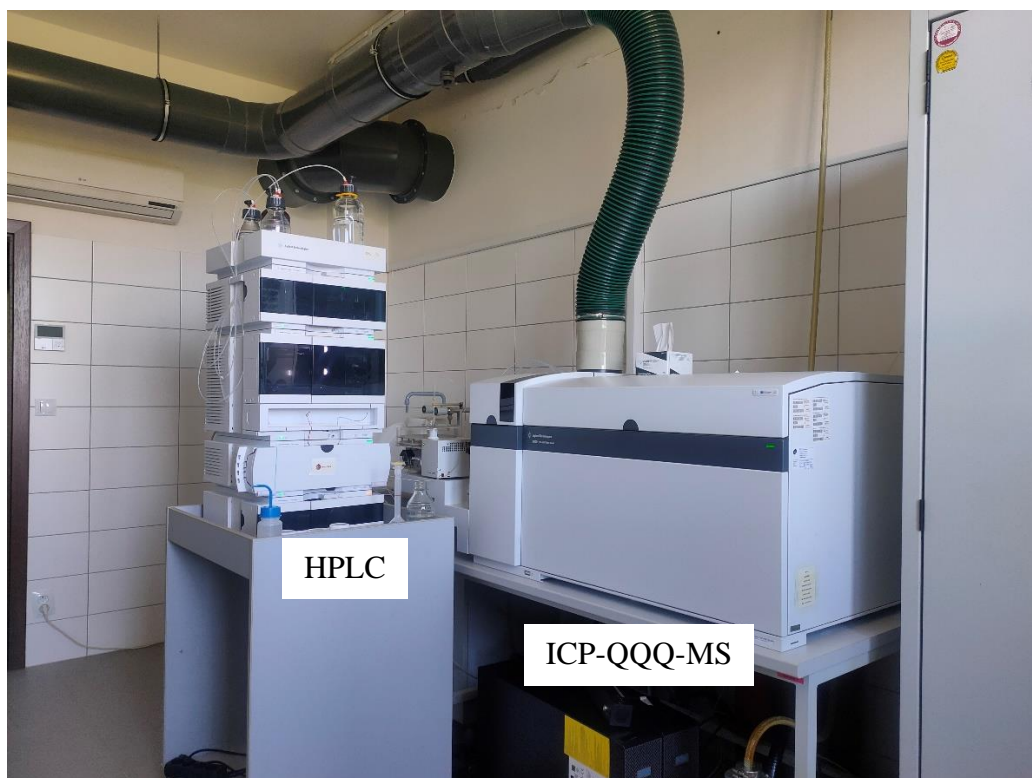
3.1 Použité chemikálie a certifikované referenční materiály

- Kyslík (čistota 5.0, SIAD, Praha, Česká republika)
- Argon (čistota 5.0 SIAD, Praha, Česká republika)
- Kyselina dusičná (min. 65 %, čistota p.a., přečištěna podvarovou destilací, Analytika spol. s. r. o., Česká republika)
- Kyselina fosforečná (85 %, čistota 99,99 %, Sigma-Aldrich s.r.o., USA)
- Amoniak (20–22 %, čistota 99,99 %, Analytika spol. s. r. o., Česká republika)
- Peroxid vodíku (30–32 %, čistota 99,99 %, Analytika spol. s. r. o., Česká republika)
- Vodný kalibrační roztok India ($1 \pm 0,002$ g/l, v 2 % HNO_3 , In 99,999 %, Analytika spol. s. r. o., Česká republika)
- Vodný kalibrační roztok Lutecia ($1 \pm 0,002$ g/l, v 2 % HNO_3 , Lu_2O_3 99,995 %, Analytika spol. s. r. o., Česká republika)
- Vodný kalibrační roztok Terbia ($1 \pm 0,002$ g/l, v 2 % HNO_3 , Tb_4O_7 99,998 %, Analytika spol. s. r. o., Česká republika)
- Vodný kalibrační roztok Germania ($1 \pm 0,002$ g/l, v 5 % HNO_3 +1 % HF, Ge 99,99 %, Analytika spol. s. r. o., Česká republika)
- Vodný kalibrační roztok Arsenu ($1 \pm 0,002$ g/l, v 2 % HNO_3 , As 99,99 %, Analytika spol. s. r. o., Česká republika)
- Referenční materiál stopových prvků ve vodě (As $7,02 \pm 0,55$ $\mu\text{g/l}$, Enviroment and Climate Change Canada, Kanada)
- Referenční materiál říční vody (As $0,57 \pm 0,08$ $\mu\text{g/l}$, National Research Council Canada, Kanada)
- Standard kyseliny arseničné pro ICP (H_3AsO_4 $1 \pm 0,003$ g/l, v 2 % HCl, Sigma-Aldrich s. r. o., USA)
- Standard kyseliny arsenité pro ICP (HAsO_2 $1 \pm 0,004$ g/l, v H_2O , Sigma-Aldrich s. r. o., USA)
- Standard hexahydrátu methylarsenu disodného pro ICP ($\text{CH}_3\text{As}(\text{O})(\text{OH})_2$ $1 \pm 0,026$ g/l v H_2O , Chemservices Inc., Spojené státy americké)
- Standard trimethylarsen oxid pro ICP (TMAO $1 \pm <\text{LOD}5$ g/l, v H_2O , Toronto research chemicals Inc., Kanada)
- Standard kyseliny dimethylarsenové pro ICP ($(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2\text{H}$ $1 \pm 0,005$ g/l, v H_2O , Chemservices Inc., Spojené státy americké)
- Ladicí roztok pro ICP-MS, tuning solution (10 mg/l Ce, Co, Li, Mg, Tl, Y, Agilent Technologies, Spojené státy americké)
- MiliQ voda z přístroje Simplicity UV2 (Merck Millipore, Spojené státy americké)

3.2 Použité pomůcky a přístroje

- Sterilní plastové zkumavky s víčky (polypropylen, Wuxi NEST Biotechnology co., Čína)
- Stříkačkové jednorázové filtry (0,2 μm , Millex, Německo)
- Stříkačkové jednorázové filtry (0,45 μm , Roth, Německo)
- Jednokanálové pipety o různých objemech (Eppendorf, Německo)

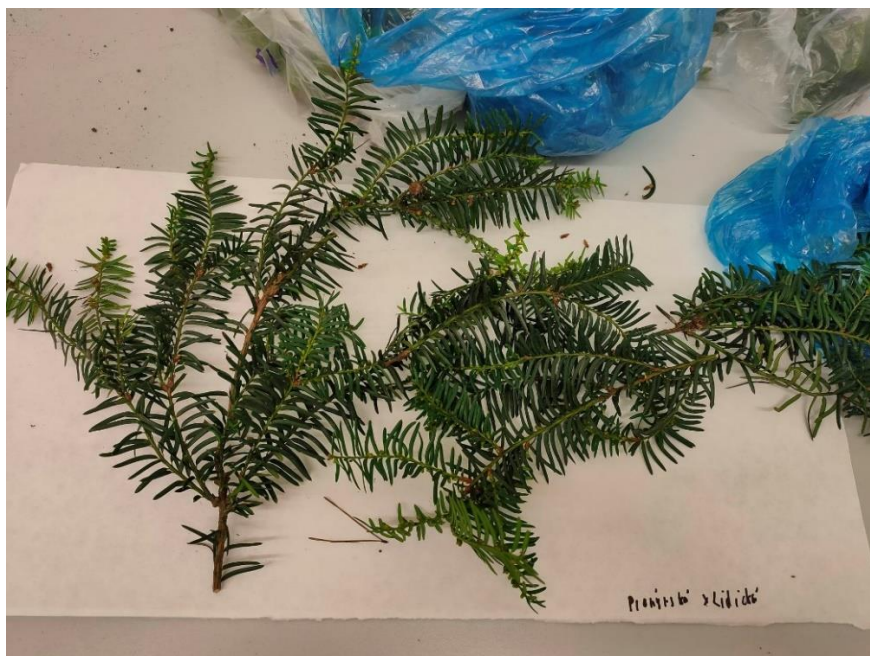
- Injekční stříkačky 10 ml (Henke-Sass Wolf GmbH, Německo)
- Vialky pro HPLC (Agilent Technologies, Inc., Spojené státy americké)
- Analytické váhy Mettler Toledo AT200 (přesnost od 0,1 mg, Mettler–Toledo s. r. o., Ohio, Spojené státy americké)
- pH metr Orion 4 Star (Thermo scientific s.r. o., Brno)
- Centrifuga UNIVERSAL 320 R (Hettich, Severní Amerika)
- Ultrazvuk Elmasonic P 30 H s ohřevem (Elmasonic P s. r. o., Turnov)
- Simplicity UV2 (Merck Millipore, Spojené státy americké)
- Distillacid BSB939-IR (Berghof systems s.r.o., Německo)
- Retsch AS 200 (Retsch s.r.o., Německo)
- Retsch ZM 200 (Retsch s.r.o., Německo)
- Agilent 1260 Infinity II HPLC (Agilent Technologies, Inc., USA) – Vysoce účinná kapalinová chromatografie (Obr. 18), která je plně kompatibilní s ICP hmotnostním spektrometrem Agilent 8800 triple quadrupole včetně softwaru (program MassHunter 4.4). HPLC je využívána pro kapalinové vzorky, které nasává kvartérní pumpa o průtoku až 5 ml/min. Smíšená mobilní fáze se dostává k nástřiku vzorku. Vzorky jsou odebírány unikátní dvojitou jehlou od firmy Agilent, díky které je možné střídat vstřikovací kanálky. Vzorky byly v 1,5 ml vialkách a objem nástřiku byl nastaven na 100 μ l při teplotě 40 °C. Nástřik vzorku do mobilní fáze pokračuje na předkolonu Hamilton PRP-X100 za kterou je stejnojmenná kolona. Separované složky vzorku jsou následně transportovány do ICP hmotnostního spektrometru.
- Autosampler Agilent G31160B (Agilent Technologies, Inc., USA), který je plně automatický a má 86 pozic pro zkumavky o objemu 6 ml.
- Hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem a trojitým kvadrupólem (Agilent 8800 Triple Quadrupole ICP-MS, Agilent Technologies, Inc., USA) (Obr. 18) může být využit pro speciální analýzu, izotopovou a multielementární analýzu. Jako nosný plyn je použit argon a v kolizní cele je využito kyslíku. Zmlžený vzorek pokračuje pomocí peristaltické pumpy s nastavitelnou rychlostí toku do plazmatu. Plazma je tvořeno RF generátorem, které pracuje o frekvenci 27,12 MHz, čímž mohou být zavedeny i organické matrice bez narušení stability plazmatu. Sampler je vyroben z platiny a je jednoduše přístupný během každodenní údržby. Skimmer je vyroben z platiny a nabízí ideální kombinaci tolerance vůči matici a vysokou citlivost. Iontová optika je tvořena extrakčními a mimoosovými čočkami. Následně první kvadrupól (Q_1) je vysokofrekvenční kvadrupól umístěný před reakční celou, který funguje jako filtr pro prolétající ionty. Ionty o určité m/z pokračují do reakční cely (Octopole reaction cell). Reakční cely je zaplněna reakčním plynem, který reaguje s prošlými ionty z prvního Q_1 a mění jejich hmotnost. Zreagované ionty pokračují na Q_2 , kde prochází pouze $^{91}\text{AsO}^+$ a dostávají se na detektor, kterým je elektronásobič. Ten pracuje v pulsním a analogovém módu. Vakuum je zajištěno průtokovými čerpadly a rotačním čerpadlem.



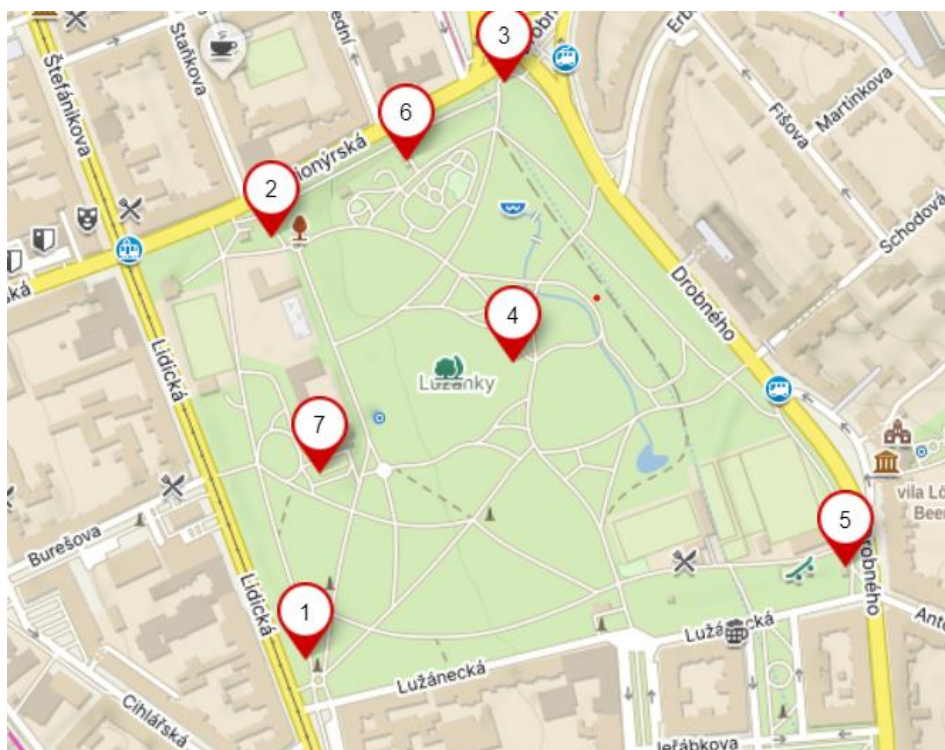
Obr. 18: Agilent 1260 Infinity II HPLC a Agilent 8800 ICP-MS v centru dopravního výzkumu Autor: Lukáš Pakosta

3.3 Vzorky

Všechny vzorky analyzované v této bakalářské práci byly odebrány v parku Lužánky. Jejich odběr proběhl pod odborným dohledem Mgr. Jitky Hegrové, Ph.D. Ze vzorků půdy byly odstraněny žížaly, zbytky rostlin, kusy plastů a střepy a poté byly homogenizovány pomocí kvartace a připraveny na převoz. Odběr půdy probíhal podle normy ČSN EN ISO 10012. Vzorky jehličí tisu (*Taxus baccata*) (Obr. 19) a jejich odběr proběhl na stejných místech jako půdy. Po odběru byly vzorky převezeny do laboratoře. Místa odběrů vzorků jsou značena na Obr. 20. Vzorek bioty z pozice 6 a vzorek půdy z pozice 7 byly použity na optimalizaci teploty a doby extrakce. Vzorky z míst 1 až 5 na mapě byly podrobeny extrakci za optimálních podmínek.



Obr. 19: Vzorek jehličí tisu z místa odběru 2



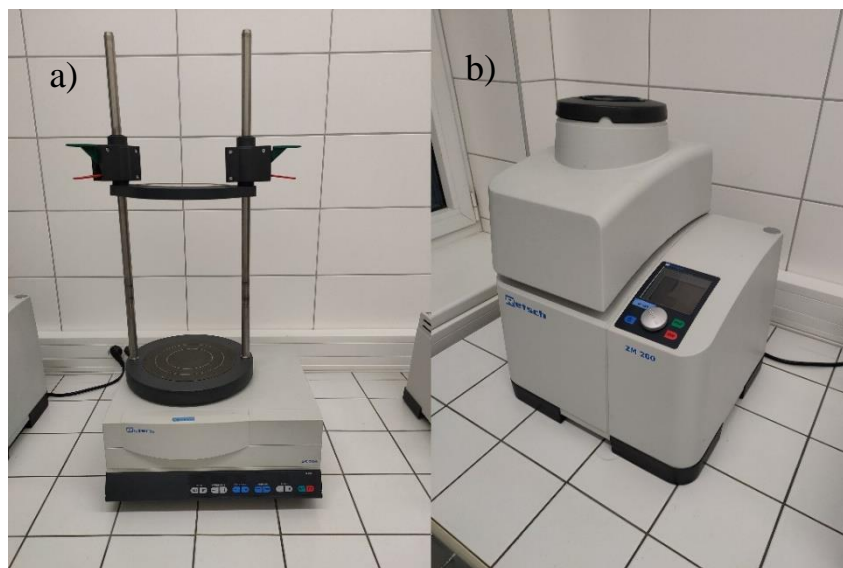
Obr. 20: Mapa odběrů vzorků půdy a jehličí tisu v parku Lužánky

3.3.1 Prosévání a mletí

V laboratoři byly vzorky půdy sušeny za laboratorní teploty dobu 2 dní. Na prosévače Retsch AS 200 (Obr. 21a)) byly vzorky prosévány po dobu 2 minut přes síto o velikosti 2 mm. Odebíraná frakce byla o velikosti <2 mm. Po každém vzorku bylo síto vyčištěno štětcem a připraveno na prosévání dalšího vzorku.

Jehličí tisu bylo otrháno z větví a sušeno po dobu 2 dní při laboratorní teplotě. Pomocí střížného mlýnu ZM 200 Retsch (Obr. 21 b)) bylo jehličí rozmělněno po dobu

1 minuty na velikost cca 40 μm a rychlost otáček byla 12000 rpm. Po každém vzorku byl mlýn rozebrán a jednotlivé části vyčištěny v miliQ vodě a vysušeny pomocí buničiny. Tento čistící proces byl proveden před všemi vzorky. Po prosévání a mletí byly vzorky připraveny na extrakci.



Obr. 21: a) Prosévačka Retsch As 200, b) Střížný mlýn Retsch ZM 200

3.3.2 Extrakce vzorků pro stanovení arsenových specií a celkového arsenu

Extrakce za účelem stanovení arsenových specií a celkového arsenu byla provedena pomocí ultrazvuku ElmaSonic P30 v Centru dopravního výzkumu pod vedením Mgr. Romany Michalicové. Jako extrakční činidlo byla využita miliQ voda z důvodu stanovení specií rozpustných ve vodě. Vzorky byly váženy do uzavíratelných plastových zkumavek na analytických vahách Mettler Toledo AT200, kde všechny vzorky měly navážené množství okolo 1 g s přesností na 0,1 mg. Ke každému vzorku bylo následně přidáno 5 ml miliQ vody.

Tímto způsobem bylo zpracováno 7 vzorků půdy a 7 vzorků bioty. Na alikvotních podílech vzorku půdy z místa 7 (Obr. 20) a bioty z místa 6 (Obr. 20) byla optimalizována teplota a doba extrakce. U optimalizace doby extrakce byla teplota extrakce konstantní, nastavena na 60 °C a testovány doby extrakce 10 minut, 30 minut, 1 hodina, 2 hodiny a 3 hodiny v případě půdy a 5 minut, 10 minut, 20 minut, 40 minut a 80 minut u vzorku bioty. Za účelem optimalizace teploty extrakce byla doba extrakce 60 minut pro půdu a 80 minut pro biotu. Teploty extrakcí u vzorku půdy byly nastaveny na 50 °C, 60 °C, 70 °C a 80 °C a vzorku bioty na 50 °C, 60 °C, 70 °C a 80 °C.

Po optimalizaci byly podmínky aplikovány při extrakci ostatních vzorků půd a bioty, a to doba extrakce 3 hodiny při 80 °C u půd a doba extrakce 80 minut při teplotě 60 °C u bioty.

Všechny vzorky po extrakci byly centrifugovány pomocí centrifugy UNIVERSAL 320 R a to na 4000 rpm po dobu 20 minut a při teplotě 20 °C. Po centrifugaci byla miliQ voda s vzorkem filtrována přes 0,45 μm filtry a následně přes 0,2 μm filtry.

Objem přefiltrovaného vzorku se pohyboval v rozmezí 1,2–3,5 ml. Vzorky byly uchovávány v chladu z důvodu zamezení možným degradacím nebo přeměnám.

3.3.3 Příprava vzorků na analýzu

Pro separaci a stanovení arsenových specií pomocí jednobáňové pipety byly vzorky dávkovány do skleněných vialek. Alikvoty extraktů byly dávkovány do dvou vialek, přičemž do jedné bylo dávkováno 500 μ l vzorku a do druhé bylo dávkováno 450 μ l vzorku a 50 μ l peroxidu vodíku z důvodu překryvu retenčního času As^{+3} a TMAO. Za tímto účelem bylo nutné provést oxidaci As^{+3} na As^{+5} , který má delší retenční čas (Obr. 23).

Pro stanovení celkového obsahu arsenu byly extrakty kvantitativně převedeny jednobáňovou pipetou a doplněny miliQ vodou na 5 ml.

3.1 Příprava analytické techniky na měření arsenových specií a celkového obsahu arsenu

Za cílem separace jednotlivých arsenových specií byla použita HPLC a účelem stanovení obsahu arsenových specií a celkového obsahu arsenu byl použit ICP-QQQ-MS.

3.1.1 Stanovení celkového obsahu arsenu

Za účelem stanovení celkového obsahu arsenu byl využit pouze hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem v režimu jednoduchého kvadrupólového systému s kolizně-reakční celou. Před samotnou analýzou byl ICP-QQQ-MS naladěn pomocí tuning solution (10 mg/l Ce, Co, Li, Mg, Tl, Y) o koncentraci 1 μ g/l (Tabulka 1). Optimalizace je uskutečňována pro nízké střední a vysoké relativní atomové hmotnosti a je sledována odezva přístroje. Poté byly naladěny parametry pro samotný As (Tabulka 2). Stabilita detektoru byla kontrolována pomocí interního standardu (vodní standardy Germania). Byl také nastavený trojitý kvadrupól, kdy byl využit pouze první kvadrupól. Byl nastaven integrační čas na 0,3 s a detekovány prvky (^{74}Ge , ^{75}As).

Tabulka 1: Kontrolní hodnota intenzity (counts/s) a stability (RSD) signálu pro $^{89}\text{Y}^{+}$

Izotop	Counts/s	RSD [%]
$^{89}\text{Y}^{+}$	41390	2

Tabulka 2: Parametry ICP-QQQ-MS pro měření celkového obsahu arsenu

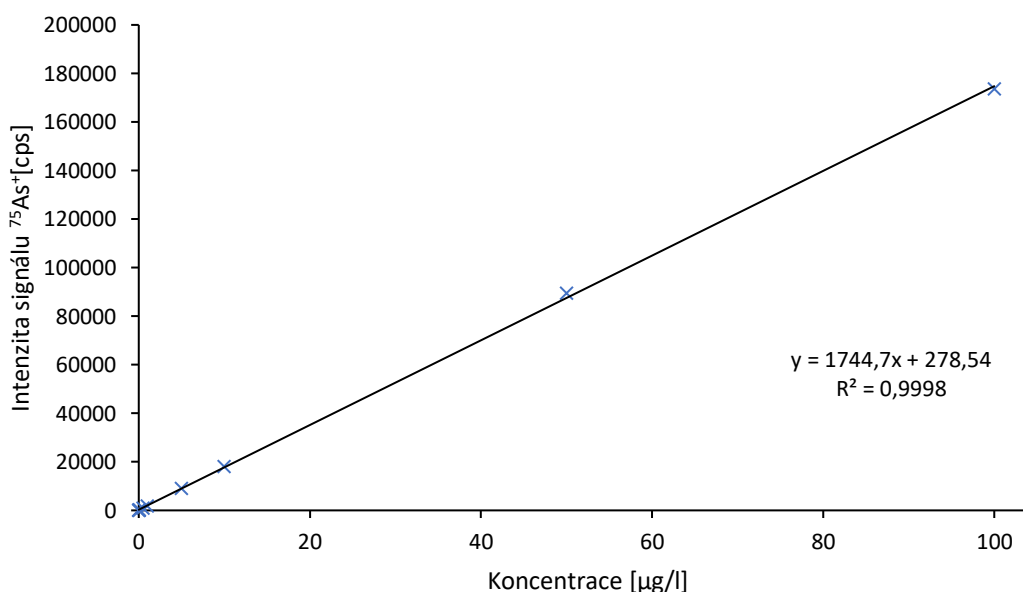
Parametry ICP-MS	Hodnota
Typ analýzy	Single quad
Oxidy (156/140) [%]	0,86
Dvakrát nabité ionty (70/140) [%]	0,85
Příkon [W]	1550
Hloubka vzorkování [mm]	10,0
Průtok zmlžovacího plynu [l/min]	1,07
Průtok He CRC [ml/min]	4
Doba měření m/z 75 [s]	0,3

3.1.1.1 Kalibrace a měření celkového arsenu

Kalibrační řada byla složena z 10 kalibračních roztoků o různých koncentracích. Koncentrační řada byla připravena ředěním standardního roztoku As ($1 \pm 0,002$ g/l, v 2 % HNO₃). Bylo připraveno 10 kalibračních roztoků o stoupající koncentraci: 0; 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 50; 100 µg/l prvku As. Kalibrační závislost byla v celém rozsahu lineární a korelační koeficient dosahoval hodnoty $R^2=0,9998$. (Obr. 22). LOD byl vypočítán pomocí Rovnice 2 a stanoven $^{75}\text{As}^+$ LOD=83,6 ng/l.

Rovnice 2: Rovnice pro výpočet LOD

$$LoD = \frac{3 \cdot \text{směr. odchylka šumu}}{\text{směrnice kalibrační křivky}}$$



Obr. 22: Kalibrační závislost pro stanovení celkového obsahu As

3.1.1.2 Vyhodnocení signálu a zhodnocení dat

Po skončení měření byly výsledné signály představující intenzitu izotopů arsenu na čase zpracovávány pomocí programu Mass hunter 4.4 (Agilent Technologies Inc., USA). Program poskytuje výpočet koncentrací celkového arsenu z plochy píku. Stanovení koncentrace celkového arsenu bylo provedeno ve 14 vzorcích. Po měření celkového arsenu byl vytvořen soubor obsahující koncentrace arsenu.

3.1.2 Separace a stanovení arsenových specií

Za účelem separace arsenových specií byla jako mobilní fáze zvolena $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ o pH 6 a koncentraci 20 mmol/l. Použitá předkolona a kolona byla značky Hamilton PRP-X100. Kolona je schopna separovat specié TMAO+As⁺³, DMA, MMA, As⁺⁵. [69] [70] Nastavené parametry HPLC jsou uvedeny v Tabulka 3. Po propláchnutí celé soustavy HPLC mobilní fází a zkontrolování technických parametrů (tlak, průtok) byl přístroj připraven na propojení s ICP-QQQ-MS.

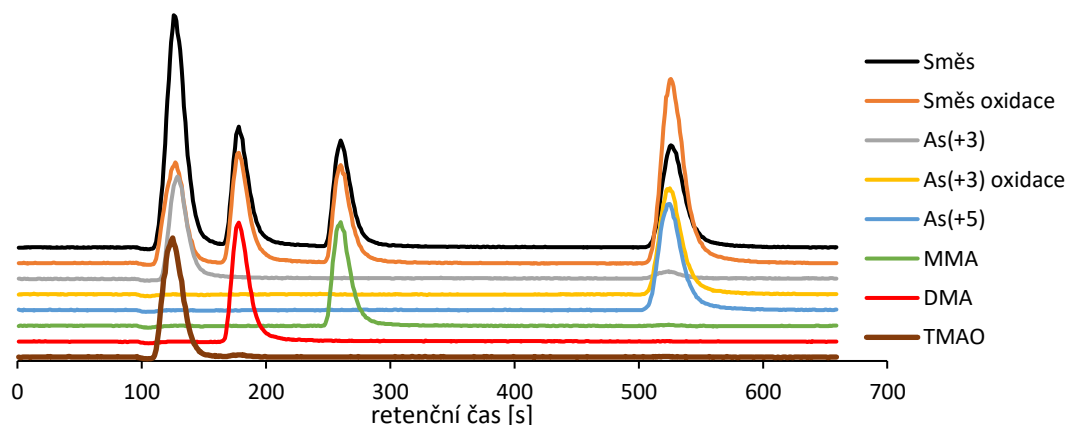
Tabulka 3: Parametry HPLC

Parametry HPLC	Hodnota
Průtok mobilní fáze [ml/min]	1,5
Vstříkovaný objem vzorku[μl]	100
Rozsah pracovního tlaku [bar]	0–350
Doba analýzy [min]	15
Teplota [$^{\circ}\text{C}$]	40

Před stanovením jednotlivých specií byl ICP-QQQ-MS laděn stejným způsobem jako v případě stanovení celkového obsahu arsenu. Samotné stanovení bylo provedeno využitím obou hmotnostních filtrů a kolizní reakční cely. První hmotnostní filtr byl nastaven na $^{75}\text{As}^+$, kolizní reakční cely byla naplněna molekulami O_2 a druhý hmotnostní filtr $^{91}\text{AsO}^+$ (Obr. 17).

3.1.3 Retenční časy specií

Na základě retenčních časů jsou identifikovány jednotlivé specié. Vybranými speciemi byli H_3AsO_3 (As⁺³), DMA, MMA, TMAO a H_3AsO_4 (As⁺⁵). Při využití předkolony Hamilton PRP-X100, kolony Hamilton PRP-X100 a mobilní fáze 20 mmol/l fosfát ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, pH 6) byli arsenové specié detekovány ve specifických retenčních časech. Analýza retenčních časů byla provedena pomocí standardních roztoků specií, které byly měřeny samostatně a následně ve směsi. Pro směs standardů a standard As⁺³ byl vyzkoušen přídavek peroxidu vodíku z důvodu možnému stanovení specií As⁺³ a TMAO. Všechny pozorované přesuny a retenční časy jednotlivých píků jsou vyobrazeny na obrázku (Obr. 23). Výsledné retenční časy jsou v souladu s literaturou. [69]

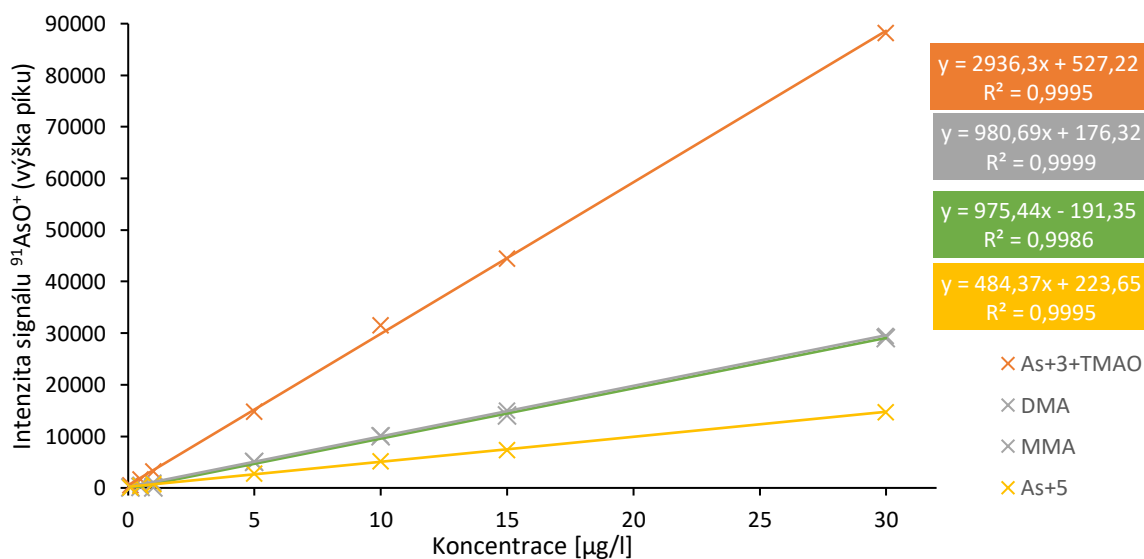


Obr. 23: Retenční časy jednotlivých specií arsenu a směsi specií

V biotických vzorcích se mohou mimo vybrané specié vyskytovat také arsenobetainy které mohou ovlivňovat a částečně zkreslovat měření specií a celkového arsenu. Jejich měření ale nebylo cílem této bakalářské práce.

3.1.3.1 Kalibrace a měření HPLC-ICP-QQQ-MS

Kalibrační řada se skládala z 7 kalibračních roztoků, přičemž byla připravena z vodných kalibračních roztoků: As^{+3} ($1 \pm 0,004$ g/l, v H_2O), TMAO ($1 \pm 0,05$ g/l, v H_2O), DMA ($1 \pm 0,005$ g/l), MMA ($1 \pm 0,026$ g/l v H_2O) a As^{+5} ($1 \pm 0,003$ g/l, v 2 % HCl). Koncentrační řada byla složena z roztoků o koncentraci As ve formách specií 0,1; 0,5; 1; 5; 10; 15; 30 $\mu\text{g/l}$. Za kalibrační řadou následoval kontrolní oxidovaný kalibrační roztok. Hodnoty koncentrace a intenzity signálů byly vyneseny v grafu (Obr. 24). Pro každou kalibrační závislost byla vypočítána rovnice regrese kalibrační přímky, koeficient R^2 a hodnoty limity detekce přístroje.



Obr. 24: Kalibrační závislosti použité pro stanovení koncentrace arsenových specií v biotě a půdě

Vypočtené LOD pro každou specií jsou v Tabulka 4.

Tabulka 4: Hodnota LOD jednotlivých arsenových specií

Spécie	LOD [$\mu\text{g/l}$]
As^{+3}	0,10
TMAO	0,07
DMA	0,47
MA	0,50
As^{+5}	0,96

3.1.3.2 Vyhodnocení signálu a zhodnocení dat

Po skončení měření byly výsledné signály představující intenzitu izotopů arsenu na čase zpracovávány pomocí programu Mass hunter 4.4 (Agilent Technologies Inc., USA). Program poskytuje na základě vypočtení plochy píku koncentrace jednotlivých specií. Pro jednotlivé spiecie byla přepočítána koncentrace oxidovaných vzorků přes faktor zředění. Pro TMAO a As^{+3} bylo provedeno odečtení koncentrací mezi vzorkem a jeho oxidovanou formou, čímž mohly být stanoveny obsahy specií TMAO a As^{+3} . Získané obsahy byly porovnány s obsahy získanými při analýze celkového arsenu.

4 Výsledky a diskuse

Cílem této bakalářské práce byla optimalizace doby a teploty extrakce arsenových specií a celkového obsahu arsenu ve vzorcích půdy a bioty. Stanovené optimální podmínky byly použity na extrakci vzorků půdy a jehličí tisu (*Taxus Baccata*) z parku Lužánky. Vzorky byly extrahovány pomocí miliQ vody v ultrazvuku. Po extrakci vzorků proběhla separace specií a jejich analýza pomocí metody HPLC-ICP-QQQ-MS a ICP-QQQ-MS v přípravě stanovení celkového obsahu arsenu.

4.1 Optimalizace doby extrakce

Cílem optimalizace doby extrakce bylo maximalizovat extrakční účinnost pro vybrané arsenové speciie (As^{+3} , DMA MMA, TMAO a As^{+5}) a také získat maximální výtěžnost pro celkové množství arsenu.

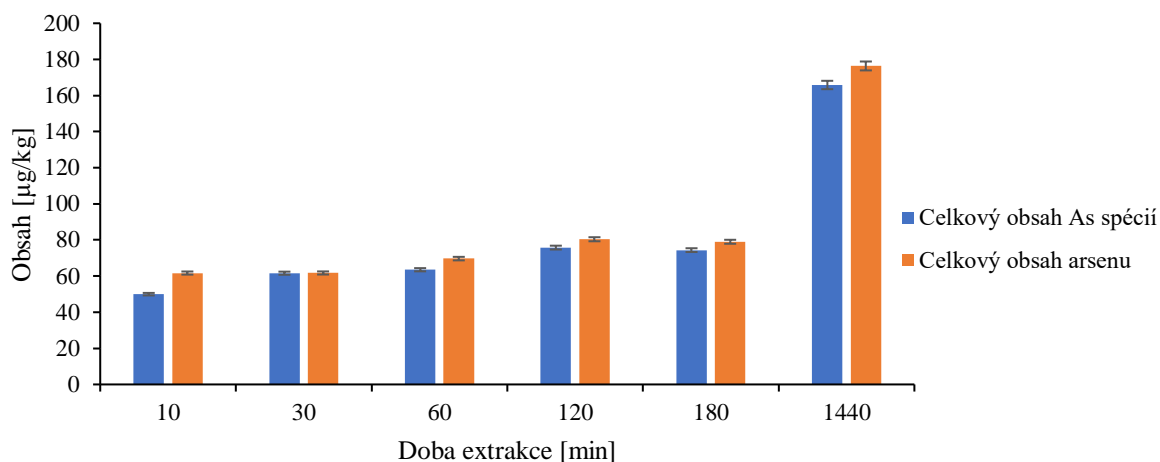
4.1.1 Vzorky půdy

Optimalizace doby extrakce půdy byla provedena za konstantní teploty 60 °C a délka extrakce byla 10, 30, 60, 120, 180 minut. Nejvíce extrahovaných arsenových specií bylo detekováno v případě doby extrakce 60, 120 a 180 minut, a to As^{+3} , TMAO a As^{+5} . V časech 10 a 30 a 1440 minut byla detekována pouze As^{+5} a ostatní speciie byly pod limitem detekce. V žádné době extrakce nebyly detekovány speciie DMA a MMA. Důvodem může být velmi nízký obsah jednotlivých specií ve vzorcích půd, ale také nestabilita organických arsenových specií a oxidace As^{+3} na As^{+5} [71] V závislosti na době extrakce vzrůstá obsah As^{+5} , kromě doby extrakce 180 minut, kde došlo k mírnému poklesu obsahu (Tabulka 5).

Tabulka 5: Obsah arsenových specií ve vzorcích půdy v závislosti na délce doby extrakce

Obsah arsenových specií [$\mu\text{g} / \text{kg}$] směrodatné odchylky vypočtené na základě opakovaného měření (n=3)					
Doba extrakce: [min]	As^{+3}	TMAO	DMA	MMA	As^{+5}
10	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	49,98 ± 0,75
30	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	61,59 ± 0,92
60	1,643 ± 0,025	1,530 ± 0,023	<LOD	<LOD	62,12 ± 0,93
120	5,663 ± 0,085	1,926 ± 0,029	<LOD	<LOD	68,2 ± 1,0
180	13,31 ± 0,20	1,705 ± 0,026	<LOD	<LOD	59,36 ± 0,89
1440	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	165,8 ± 2,50

Celkový obsah arsenu je téměř shodný s hodnotami součtu obsahu jednotlivých specií (Obr. 25). Extrakty pro stanovení specií a celkového obsahu arsenu byly připraveny stejným způsobem, což vypovídá o eliminaci kontaminace a ztrát během procesu zpracování vzorku k analýze vedoucí k výtěžnosti téměř 100 % (Obr. 25).



Obr. 25: Celkový obsah arsenových specií a celkový obsah arsenu ve vzorku půdy č. 7 při různých dobách extrakce

Pro optimalizaci doby extrakce byly vypočítány výtěžnosti (Tabulka 6) jako podíl součtu obsahů arsenových specií a celkového obsahu arsenu. Nejvyšší výtěžnost byla stanovena pro dobu extrakce 30 minut. Doby extrakce 120 a 180 minut byly svojí výtěžností totožné a schopné extrahovat o 25 % více obsahu arsenových specií a celkového arsenu oproti době extrakce 30 minut. Kahakachchi et. al. [72] provedli extrakci vzorků půdy obohacených o 0,4 mg/l arsenových standardních roztoků (As^{+3} , DMA, MMA a As^{+5}). Extrakce byla provedena v miliQ vodě pomocí třepání za laboratorní teploty po dobu 24 hodin. Výtěžnost obsahu arsenových specií vůči obsahu celkového arsenu získaného mikrovlnným rozkladem byla stanovena na 40 %.

Tabulka 6: Výtěžnost optimalizace doby extrakce pro vzorky půdy

Doba extrakce: [min]	Výtěžnost [%]
10	81
30	100
60	91
120	94
180	94
1440	94

Jako optimální doba extrakce pro vzorky půdy byla stanovena doba 180 minut z důvodu vysoké výtěžnosti, detekovaného obsahu arsenových specií a celkového obsahu arsenu.

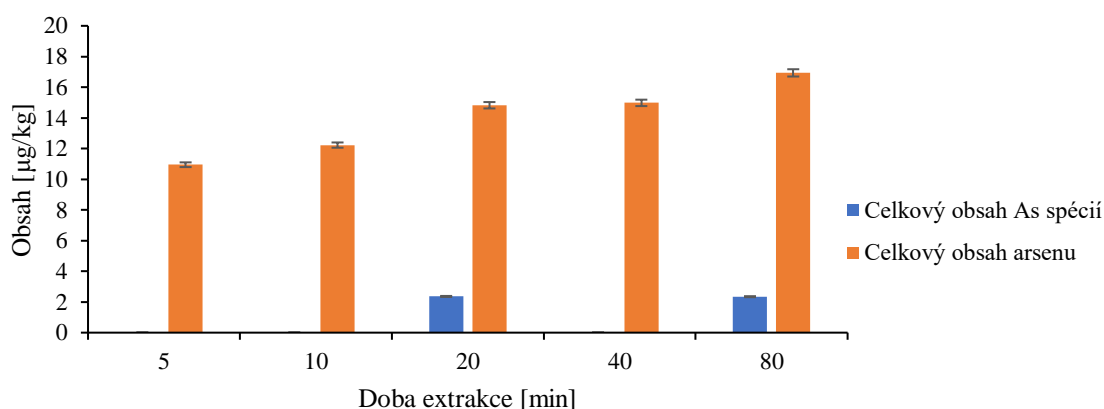
4.1.2 Vzorky bioty

Optimalizace doby extrakce bioty byla také provedena za konstantní teploty 60 °C, avšak doba extrakce byla 5, 10, 20, 40 a 80 minut. V časech 20 a 80 minut byla detekována pouze spécie DMA a zbylé byly pod limitem detekce. V ostatních extrakčních časech nebyly detekovány žádné ze sledovaných specií. Důvodem může být nízký obsah arsenových specií ve vzorcích bioty. Detekovaný obsah spécie DMA pro extrakční doby 20 a 80 minut dosahují téměř limitu detekce. (Tabulka 7)

Tabulka 7: Obsah arsenových specií ve vzorcích bioty v závislosti na délce doby extrakce

Obsah [$\mu\text{g}/\text{kg}$]					
Doba extrakce: [min]	As^{+3}	TMAO	DMA	MMA	As^{+5}
5	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
10	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
20	<LOD	<LOD	$2,351 \pm 0,035$	<LOD	<LOD
40	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
80	<LOD	<LOD	$2,349 \pm 0,035$	<LOD	<LOD

Celkový obsah arsenu není shodný s hodnotami součtu obsahů specií z důvodu stanovení nízkých obsahů jednotlivých specií. Z důvodu nízkého extrahovaného obsahu arsenu byli arsenové specié pod limitem detekce. Důvody nestanovení mohli být i chyba při měření nebo přítomna jiná specié, která nebyla analyzována. Obsah celkového obsahu arsenu narůstá s dobou extrakce. (Obr. 26)



Obr. 26: Celkový obsah arsenových specií a celkový obsah arsenu ve vzorku bioty č. 6 při různých dobách extrakce

Pro optimalizaci doby extrakce bioty byla vypočítána výtěžnost, která nabírá hodnot pouze pro dobu extrakce 20 a 80 minut. Hodnota výtěžnosti, z důvodu nízkých detekovaných obsahů specií, byla maximálně spočítána na 20 %. (Tabulka 8)

Pizzaro et. al. [73] měřili účinnost extrakce arsenových specií k celkovému obsahu arsenu ve vzorcích rýže. Extrakce prováděli v miliQ vodě při $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ po dobu 10 hodin. Naměřená výtěžnost pro DMA byla stanovena na 48 % a pro celkový obsah arsenu dosahovala 98 %.

Tabulka 8 Výtěžnost optimalizace doby extrakce vzorků bioty

Doba extrakce: [min]	Výtěžnost [%]
5	0
10	0
20	20
40	0
80	14

Jako optimální doba extrakce vzorků bioty byla stanovena doba 80 minut z důvodu vysokého obsahu celkového arsenu a detekované specií DMA.

4.2 Optimalizace teploty extrakce

Cílem optimalizace teploty extrakce bylo opět maximalizovat extrakční účinnost pro vybrané arsenové specií (As^{+3} , DMA MMA, TMAO a As^{+5}) a také získat maximální výtěžnost pro celkový množství arsenu.

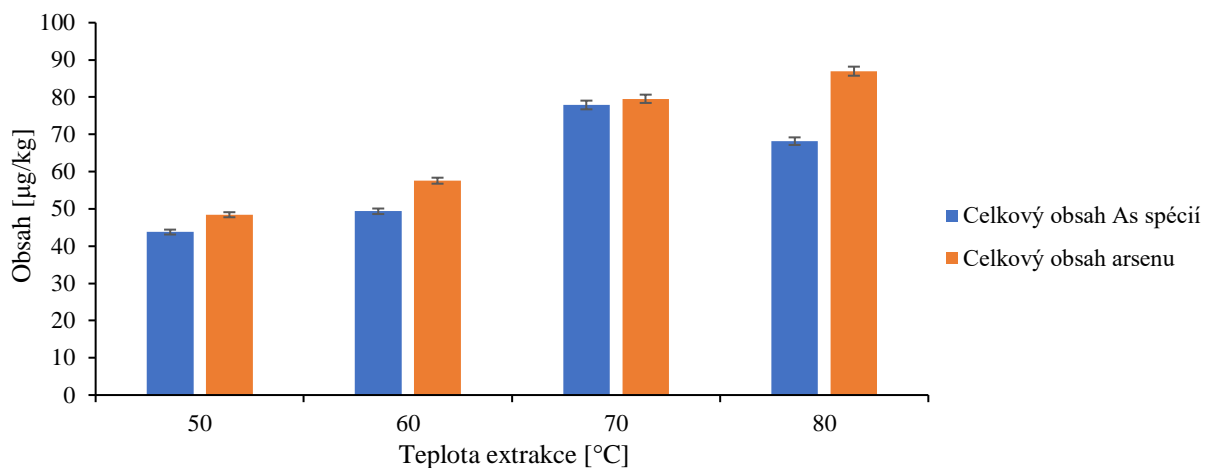
4.2.1 Vzorky půdy

Optimalizace teploty extrakce půdy byla provedena za konstantní doby 60 minut a extrakční teplota byla 50, 60, 70 a 80 °C. Nejvíce extrahovaných arsenových specií bylo detekováno v případě teploty extrakce 60, 70 a 80 °C. Při teplotě 50 °C byla detekována As^{+3} , As^{+5} a ostatní specií byly pod limitem detekce. V žádné teplotě extrakce nebyla detekována specií MMA. Důvodem může být velmi nízký obsah specií ve vzorcích půd. Při vyšších teplotách extrakce klesá obsah specií As^{+3} . Pro teplotu extrakce 80 °C byl stanoven nižší obsah specií As^{+5} z důvodu možných ztrát (Tabulka 9). [74]

Tabulka 9: Obsah arsenových specií ve vzorcích půdy v závislosti na teplotě extrakce

Obsah [$\mu g/kg$]					
Teplota extrakce: [°C]	As^{+3}	TMAO	DMA	MMA	As^{+5}
50	9,16±0,14	<LOD	<LOD	<LOD	34,31 ± 0,52
60	14,39± 0,22	<LOD	3,195±0,048	<LOD	46,19 ± 0,69
70	1,462 ± 0,022	2,047 ± 0,031	<LOD	<LOD	76,03 ± 1,44
80	0,2764 ± 0,0041	2,021 ± 0,030	<LOD	<LOD	65,88 ± 0,99

Obsahy celkového arsenu a součty obsahu jednotlivých specií je téměř totožný. Extrakty pro stanovení arsenových specií a celkového arsenu byly připraveny stejně, čímž byly eliminovány kontaminace a ztráty během procesu zpracování. Výtěžnosti se blížili téměř k 100 % (Obr. 27).



Obr. 27: Celkový obsah arsenových specií a celkový obsah arsenu ve vzorku půdy č. 7 při různých teplotách extrakce

Nejvyšší výtěžnost byla stanovena při teplotě extrakce 70 °C (Tabulka 10). Teploty extrakce 50 a 60 °C dosahovaly výtěžnosti 90 %, přičemž nejnižší byla stanovena pro teplotu 80 °C. Důvodem může být mírný pokles obsahu specií As^{+5} .

Jako optimální teplota extrakce pro vzorky půdy byla stanovena teplota extrakce 70 °C, z důvodu stanovení velkého obsahu detekovaných arsenových specií a obsahu celkového arsenu. Pro vzorky půdy byla vybrána teplota extrakce 80 °C.

Tabulka 10: Výtěžnost optimalizace teploty extrakce vzorků půdy

Teplota extrakce: [°C]	Výtěžnost [%]
50	90
60	86
70	98
80	78

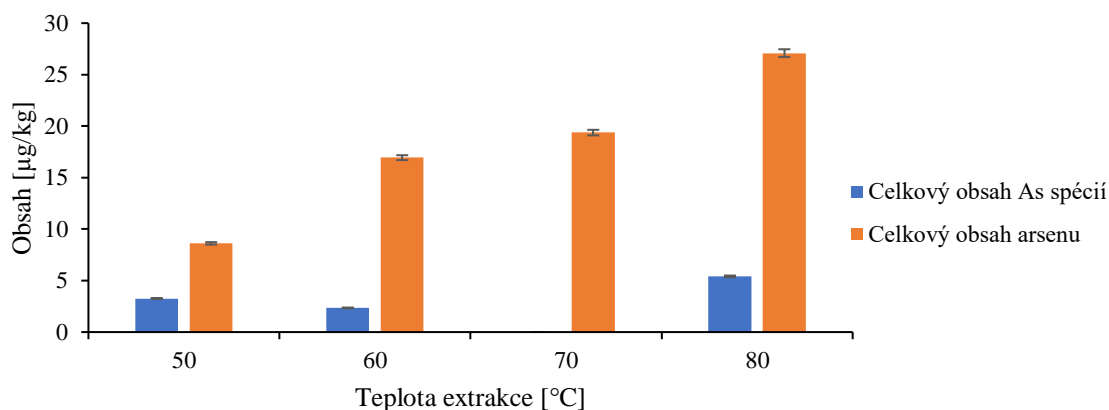
4.2.2 Vzorky bioty

Optimalizace teploty extrakce bioty byla provedena za konstantní doby 80 minut a extrakční teplota byla 50, 60, 70 a 80 °C. Extrahované arsenové specií byly detekovány v případě teploty extrakce 50, 60 a 80 °C. Při teplotě 50 °C a 60 °C byla detekována pouze specií DMA a při teplotě 80 °C specií As^{+3} . Ostatní specií byly pod limitem detekce. Při žádné teplotě extrakce nebyla detekována specií MMA a TMAO. Důvodem může být velmi nízký obsah specií ve vzorcích bioty (Tabulka 11).

Tabulka 11: Obsah extrahovaných arsenových specií ze vzorků bioty v teplotní závislosti

Obsah [$\mu\text{g}/\text{kg}$]					
Teplota extrakce: [$^{\circ}\text{C}$]	As^{+3}	TMAO	DMA	MMA	As^{+5}
50	<LOD	<LOD	$3,258 \pm 0,049$	<LOD	<LOD
60	<LOD	<LOD	$2,344 \pm 0,035$	<LOD	<LOD
70	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
80	$5,950 \pm 0,089$	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

Celkový obsah arsenu však není shodný s hodnotami součtu obsahů specií z důvodu stanovení nízkých obsahů jednotlivých specií. Důvodem bylo nestanovení obsahů arsenových specií, které byly pod limitem detekce, chyba při měření nebo přítomnost jiné speciie. Obsah celkového obsahu arsenu narůstá s teplotou extrakce (Obr. 26).



Obr. 28: Celkový obsah arsenových specií a celkový obsah arsenu ve vzorku bioty č. 6 při různých teplotách extrakce

Pro optimalizaci doby extrakce bioty byla vypočítána výtěžnost, která nabírá hodnot pouze pro teploty extrakce 50, 60 a 80 $^{\circ}\text{C}$. Hodnoty výtěžnosti, z důvodu nízkých detekovaných obsahů specií, byla maximálně spočítána na 38 % (Tabulka 12). Teplota extrakce pro stanovení obsahu arsenových specií a obsahu celkového arsenu byla vybrána extrakční teplota 60 $^{\circ}\text{C}$.

Tabulka 12: Výtěžnost optimalizace teploty extrakce u vzorků bioty

Teplota extrakce: [$^{\circ}\text{C}$]	Výtěžnost [%]
50	38
60	14
70	0
80	20

4.3 Vzorky z Lužánek

Cílem extrakce vzorků z Lužánek byla aplikace vybrané doby a teploty extrakce pro vybrané arsenové spíše (As^{+3} , DMA MMA, TMAO a As^{+5}) a stanovit obsahy jednotlivých arsenových specií a celkový obsah arsenu.

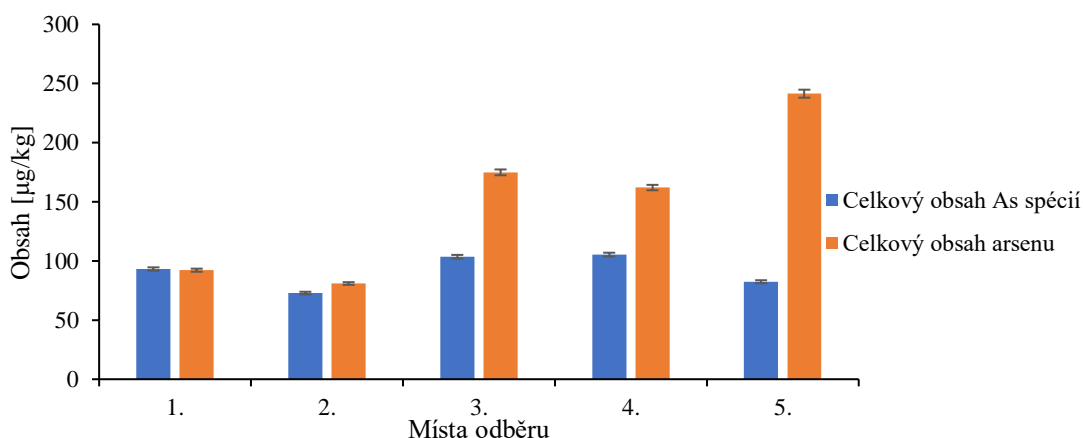
4.3.1 Vzorky půdy

Extrakti vzorků půdy z Lužánek byla provedena za optimálních podmínek, a to při teplotě extrakce 80 °C a době 180 minut. Pro vzorek z místa 1 byla spíše DMA pod limitem detekce. Ve zbylých vzorcích byly detekovány všechny spíše, přičemž nejvyšší obsah byl stanoven pro As^{+5} . Obsahy spíše MMA pohybovali kolem limitu detekce (Tabulka 13).

Tabulka 13: Obsah extrahovaných arsenových specií ze vzorků půd z parku Lužánky

Označení míst odběru	Obsah [$\mu\text{g}/\text{kg}$]				
	As^{+3}	TMAO	DMA	MMA	As^{+5}
1.	2,071±0,031	3,485 ± 0,052	<LOD	2,422 ± 0,036	85,2 ± 1,3
2.	3,660 ± 0,055	2,982 ± 0,045	2,921±0,044	2,468 ± 0,037	62,93 ± 0,94
3.	3,403 ± 0,051	3,704 ± 0,056	3,572±0,054	2,613 ± 0,039	90,3 ± 1,4
4.	1,981 ± 0,030	6,86 ± 0,10	3,076±0,046	2,437 ± 0,037	95,0 ± 1,4
5.	3,005 ± 0,045	7,71 ± 0,12	2,789±0,042	2,508 ± 0,038	68,4 ± 1,0

Celkový obsah arsenu je většinou shodný s hodnotami součtu obsahu jednotlivých specií (Obr. 29). Obsah celkového obsahu arsenu je především značně ovlivněn specií As^{+5} . U vzorků 3, 4 a 5 je viditelný rozdíl mezi součtem obsahu arsenových specií a celkového obsahu arsenu. Tento rozdíl je možno způsoben přítomností jiné spíše.



Obr. 29: Celkový obsah arsenových specií a celkový obsah arsenu ve vzorcích půdy z míst 1 až 5 z parku Lužánky

Výtěžnost byla v rozmezí od 34–101 % (Tabulka 14). Obsahy arsenových specií a celkového obsahu arsenu jsou pro vzorky půd z Lužánek extrahované za optimální podmínek poměrně nízké v porovnání s [72]. Autoři prováděli extrakti

třepáním za laboratorní teploty po dobu 24 hodin. Ve vzorcích naměřili téměř 1000x vyšší obsah arsenových specií oproti stanovených v této práci. Obsahy arsenu jsou v půdách z parku v Lužánky nízký a pro lidské zdraví neohrožující.

Tabulka 14: Výtěžnost extrakčních vzorků půdy z parku Lužánky

Označení míst odběru z mapy	Výtěžnost [%]
1.	99
2.	90
3.	59
4.	65
5.	34

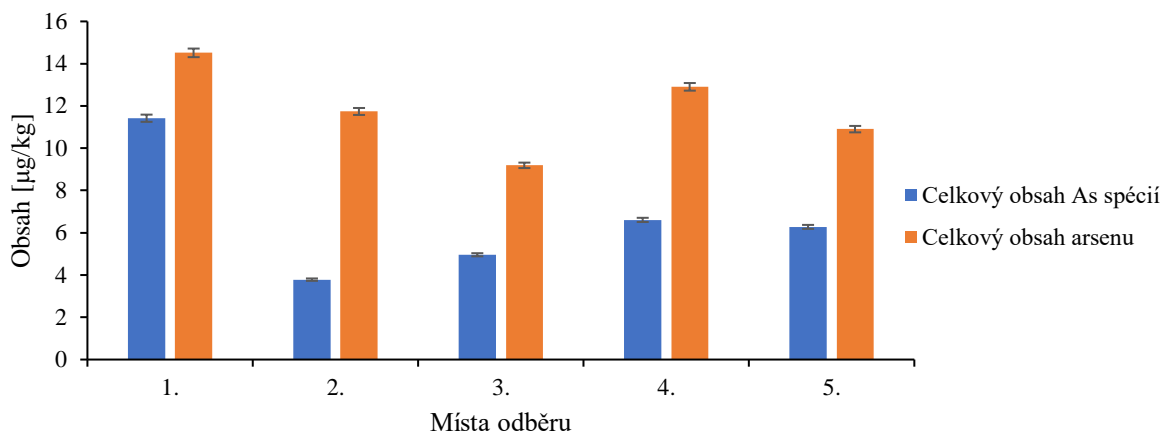
4.3.2 Vzorky jehličí

U vzorků jehličí z Lužánek byla provedena extrakce za optimálních podmínek, a to při teplotě extrakce 60 °C a době 80 minut. V žádném ze vzorků nebyly detekovány spécie MMA a As⁺⁵. Ve vzorcích z místa 2 a 3 nebyla detekována spécie DMA, protože obsah byl pod limitem detekce. Pro vzorky z místa 2 a 4 nebyla detekována spécie As⁺³. Ve vzorcích bioty byly obecně stanoveny velmi nízké obsahy arsenových specií (Tabulka 15). Při srovnání s literaturou [75], kde byla provedena extrakce arsenových specií za pomoci třepání při 45 rpm a laboratorní teploty po dobu 16 hodin. Byly stanoveny obsahy arsenových specií až 10x vyšší než v této práci, přičemž byla detekována i spécie As⁺⁵.

Tabulka 15: Obsah extrahovaných arsenových specií ze vzorků bioty z parku Lužánky

Označení míst odběru	Obsah [μg/kg]				
	As ⁺³	TMAO	DMA	MMA	As ⁺⁵
1.	6,230±0,093	2,962 ± 0,044	2,779 ± 0,042	<LOD	<LOD
2.	<LOD	3,781 ± 0,057	<LOD	<LOD	<LOD
3.	3,352 ± 0,050	1,606 ± 0,024	<LOD	<LOD	<LOD
4.	<LOD	3,966 ± 0,059	2,389 ± 0,035	<LOD	<LOD
5.	3,036 ± 0,046	1,638 ± 0,025	2,605 ± 0,039	<LOD	<LOD

Celkový obsah arsenu byl opět většinou neshodný s hodnotami součtu obsahu jednotlivých specií z možné přítomnosti nestanovované spécie (Obr. 30).



Obr. 30: Celkový obsah arsenových specií a celkový obsah arsenu ve vzorcích bioty z míst 1 až 5 z parku Lužánky

Výtěžnost byla v rozmezí od 32–79 % (Tabulka 16). Průměrná hodnota výtěžnosti pro vzorky bioty byla 55 %. Výtěžnost extrakce bioty není tak úspěšná jako u extrakce vzorků půdy. KHOKIATTIWONG et.al. [76] extrahovali miliQ vodou v ultrazvuku po dobu 1,5 hodiny u mořských rostlin. Autoři stanovili obsahy arsenových specií (As^{+3} , DMA, MA a As^{+3}) a výtěžnost se pohybovala v rozmezí 37–94 %. Stanovené celkové obsahy arsenu v rozmezí 110–570 ng/kg, což jsou obsahy téměř 10x vyšší než ve vzorcích stanovovaných v této práci. U keře tisu (*Taxus baccata*) je možné zadržení atomů arsenu v kořenovém systému a možné translokace v systému. [77] Stanovené obsahy arsenu a arsenových specií jsou nízké a nejsou pro člověka ohrožující.

Tabulka 16: Výtěžnost extrahovaných vzorků bioty z parku Lužánky

Označení míst odběru	Výtěžnost [%]
1.	79
2.	32
3.	54
4.	51
5.	58

5 Závěr

V experimentální části byla provedena optimalizace doby a teploty extrakce pro stanovení obsahů arsenových specií a obsahu celkového arsenu pro vzorky půdy a bioty. Vybrané podmínky byly použity na vzorky půdy a jehličí tisu (*Taxus baccata*) z parku Lužánky. Arsenové spécie byly extrahovány miliQ vodou a extrakce byla provedena v ultrazvukové vaně. Za účelem separace arsenových specií bylo využito vysokoúčinné kapalinové chromatografie a za účelem stanovení obsahu arsenu a arsenových specií byl využit hmotnostní spektrometr s trojitým kvadrupólem a indukčně vázaným plazmatem.

Optimalizace doby extrakce byla provedena při konstantní teplotě 60 °C. Pro vzorky půdy byla stanovena jako optimální doba extrakce 180 minut z důvodu vysoké výtěžnosti arsenových specií a obsahu celkového arsenu. Vzorek 1440 minut měl vyšší výtěžnost celkového arsenu, ale vzorek obsahoval pouze jedinou extrahovanou specií As^{+5} z důvodu možné degradace sloučenin. [71] Pro vzorky bioty byla stanovena doba extrakce na 80 minut. U vzorků bioty nebyly stanoveny obsahy arsenových specií. Důvodem může být nízký obsah celkového arsenu a vysoké meze detekce pro speciální analýzu.

Optimalizace teploty extrakce byla založena na rozdílné teplotě při konstantním čase. Doba extrakce pro vzorky půdy byla 60 minut a pro biotu 80 minut. Optimální teplota extrakce pro vzorky půdy byla stanovena na 70 °C z důvodu vysoké výtěžnosti. Pro vzorky půdy z Lužánek byla použita teplota 80 °C. U vzorků bioty byly stanoveny nízké obsahy arsenových specií. Důvodem může být nízký obsah celkového arsenu ve vzorku, vysoké limity detekce nebo chyba při měření. Pro extrakci vzorků bioty byla vybrána teplota 60 °C.

Za účelem stanovení obsahu arsenových specií a celkového obsahu arsenu byly vzorky půdy extrahovány při teplotě 80 °C a době 180 minut a vzorky jehličí tisu při teplotě 60 °C a doby 80 minut. U vzorků půdy se obsah arsenu pohyboval v rozmezí 80–250 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a výtěžnost v rozmezí 34–99 %. Celkový obsah arsenu ve vzorcích půdy je nejvíce závislý na obsahu arsenové spécie As^{+5} , která tvoří majoritu obsahu. Průměrný obsah celkového arsenu ve svrchních vrstvách litosféry je 2,5 mg/kg , tudíž obsah arsenu ve vzorcích z parku Lužánky je 10x nižší. Z pohledu legislativy je indikační hodnotou 1 mg/kg pro extrakci provedenou NH_4NO_3 a při jejímž překročení může být ohrožena zdravotní nezávadnost. Stanovené obsahy jsou téměř 4x menší, tudíž půda v parku Lužánky je zdravotně nezávadná. U vzorků bioty byl obsah stanoven v rozmezí 4–14 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a výtěžnost v rozmezí 32–79 %. Obsah celkového arsenu je zde především ovlivněn spéciemi TMAO a As^{+3} . As^{+5} byl pod limitem detekce z důvodu možné přeměny na As^{+3} . Průměrný obsah arsenu v rostlinách bývá okolo 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$, přičemž v této práci byly stanoveny 10x nižší obsahy. Obsah arsenu v biotě z parku Lužánky je tedy velice nízká a životu neohrožující. [18]

6 Seznam použitých zkratk a symbolů

LD	smrtelná dávka
LC	smrtelná koncentrace
TMAO	trimethylarsen oxid
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
SZÚ	Státní zdravotnický ústav
PM _x	Částice menší než
ČHMÚ	Český hydrometeorologický ústav
NMH	Nejvyšší mezní hodnota
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
CE	Kapilární elektroforéza
GC	Plynová chromatografie
TGE	Ethylthioglykolát
MMA	Kyselina monomethylarseničná
DMA	Kyselina dimethylarseničná
AB	Arsenobetain
LOD	limit detekce
AAS	Atomová absorpční spektrometrie
ICP-AES	Atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ICP-MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
HR-CS-HG-AAS	atomová absorpční spektrometrie s kontinuálním generováním hydridů s vysokým rozlišením
m/z	hmotnost ku náboji
Q	kvadrupólový analyzátor
QQQ	trojitý kvadrupólový analyzátor

7 Bibliografie

- [1] BISSEN, Monique a Fritz FRIMMEL. Arsenic — a Review. Part I: Occurrence, Toxicity, Speciation, Mobility. *Acta hydrochimica et hydrobiologica*. **31**(1), 9-18. ISSN 03234320. Dostupné z: doi:10.1002/aheh.200390025
- [2] *Live Chart of Nuclides* [online]. Brookhaven National Laboratory: National Nuclear Data Center, 2023 [cit. 2023-04-27]. Dostupné z: <https://www.nndc.bnl.gov/>
- [3] GREENWOOD, N.N. a A. EARNSHAW. *Chemistry of elements*. Second. U.K.: Oxford: Butterworth-Heinemann, 1997. ISBN 978-0750633659.
- [4] FEDOTOVA, J. A. Electric properties of black arsenic. *Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*. 2022, **66**(1), 26-34. ISSN 2524-2431. Dostupné z: doi:10.29235/1561-8323-2022-66-1-26-34
- [5] *Arsenic: Medical and Biologic Effects of Environmental Pollutants*. National research, 1977. ISBN 9780309026041.
- [6] Arsenic. In: *Chemicool* [online]. Massachusetts Institute of Technology: Chemicool.com, 2012 [cit. 2023-04-28]. Dostupné z: <https://www.chemicool.com/elements/arsenic.html>
- [7] WANG, Ningxin, Zijun YE, Liping HUANG, Chushu ZHANG, Yunxue GUO a Wei ZHANG. Arsenic Occurrence and Cycling in the Aquatic Environment: A Comparison between Freshwater and Seawater. *Water*. 2023, **15**(1). ISSN 2073-4441. Dostupné z: doi:10.3390/w15010147
- [8] BOWELL, R., C. ALPERS, H. JAMIESON, D. NORDSTROM a J. MAJZLAN. The Environmental Geochemistry of Arsenic -- An Overview --. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*. 2014, **79**(1), 1-16. ISSN 1529-6466. Dostupné z: doi:10.2138/rmg.2014.79.1
- [9] *Arsenopyrite* [online]. In: . [cit. 2023-02-24].
- [10] HU, Zhaochu a Shan GAO. Upper crustal abundances of trace elements: A revision and update. *Chemical Geology*. 2008, **253**(3-4), 205-221. ISSN 00092541. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemgeo.2008.05.010
- [11] LÓPEZ, Dina, Jochen BUNDSCHUH, Peter BIRKLE, Maria ARMIENTA, Luis CUMBAL, Ondra SRACEK, Lorena CORNEJO a Mauricio ORMACHEA. Arsenic in volcanic geothermal fluids of Latin America. *Science of The Total Environment*. 2012, **429**, 57-75. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2011.08.043
- [12] TANDA, Stefan, Katharina GINGL, Roman LIČBINSKÝ, Jitka HEGROVÁ a Walter GOESSLER. *Occurrence, Seasonal Variation, and Size Resolved*

- Distribution of Arsenic Species in Atmospheric Particulate Matter in an Urban Area in Southeastern Austria* [online]. 2020, **54**(9), 5532-5539 [cit. 2023-12-26]. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/acs.est.9b07707
- [13] MASUDA, Harue. Arsenic cycling in the Earth's crust and hydrosphere: interaction between naturally occurring arsenic and human activities. *Progress in Earth and Planetary Science* [online]. 2018, **5**(1) [cit. 2024-04-30]. ISSN 2197-4284. Dostupné z: doi:10.1186/s40645-018-0224-3
- [14] Determined total arsenic concentrations and sum of species (MA+DMA+TMAO+total inorg. As as AsV) in daily PM10 samples combined with PM10 concentrations as monthly averages. In: <https://pubs.acs.org/journal/esthag> [online]. 2020 [cit. 2023-12-26]. Dostupné z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.9b07707>
- [15] MAHER, W.A., S. FOSTER, F. KRIKOWA, E. DUNCAN, A. ST JOHN, K. HUG a J.W. MOREAU. Thio arsenic species measurements in marine organisms and geothermal waters. *Microchemical Journal* [online]. 2013, **111**, 82-90 [cit. 2023-12-27]. ISSN 0026265X. Dostupné z: doi:10.1016/j.microc.2012.12.008
- [16] NEFF, Jerry M. Arsenic in the Ocean. *Bioaccumulation in Marine Organisms* [online]. Elsevier, 2002, 57-78 [cit. 2024-04-26]. ISBN 9780080437163. Dostupné z: doi:10.1016/B978-008043716-3/50004-X
- [17] LI, Yongfang, Feng YE, Anwei WANG, Da WANG, Boyi YANG, Quanmei ZHENG, Guifan SUN a Xinghua GAO. Chronic Arsenic Poisoning Probably Caused by Arsenic-Based Pesticides: Findings from an Investigation Study of a Household. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2016, **13**(1). ISSN 1660-4601. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph13010133
- [18] ABBAS, Ghulam, Behzad MURTAZA, Irshad BIBI et al. Arsenic Uptake, Toxicity, Detoxification, and Speciation in Plants: Physiological, Biochemical, and Molecular Aspects. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2018, **15**(1). ISSN 1660-4601. Dostupné z: doi:10.3390/ijerph15010059
- [19] TALUKDAR, Dibyendu. Arsenic-induced changes in growth and antioxidant metabolism of fenugreek. *Russian Journal of Plant Physiology*. 2013, **60**(5), 652-660. ISSN 1021-4437. Dostupné z: doi:10.1134/S1021443713050130
- [20] HOUDEK, František. Král jedů. In: *Vesmír* [online]. Na Florenci 3, 110 00 Praha 1: František Houdek, 2017 [cit. 2023-02-26]. Dostupné z: <https://vesmir.cz/cz/online-clanky/2017/02/kral-jedu.html>
- [21] HUGHES, Michael, Barbara BECK, Yu CHEN, Ari LEWIS a David THOMAS. Arsenic Exposure and Toxicology: A Historical Perspective. *Toxicological Sciences*. 2011, **123**(2), 305-332. ISSN 1096-6080. Dostupné z: doi:10.1093/toxsci/kfr184

- [22] ECO, Umberto. *Jméno říže*. Vydání desáté, v Argu druhé. Praha: Argo, 2016. ISBN 978-80-257-1692-2.
- [23] VAHIDNIA, A., G.B. VAN DER VOET a F.A. DE WOLFF. *Arsenic neurotoxicity — A review*. 2007, **26**(10), 823-832. ISSN 0960-3271. Dostupné z: doi:10.1177/0960327107084539
- [24] MCMUIGAN, Hugh. Apparatus for the Marsh test. In: *Wikipedia: the free encyclopedia* [online]. San Francisco (CA): Wikimedia Foundation, 2001 [cit. 2023-04-30]. Dostupné z: https://en.wikipedia.org/wiki/Marsh_test#/media/File:Marsh_test_apparatus.jpg
- [25] *Air quality guidelines for Europe, 2nd edition*. 2nd ed. Copenhagen: ©World Health Organization 2000, 2000. ISBN 9789289013581.
- [26] WU, MEEI-MAAN, TSUNG-LI KUO, YI-HAN HWANG a CHIEN-JEN CHEN. DOSE-RESPONSE RELATION BETWEEN ARSENIC CONCENTRATION IN WELL WATER AND MORTALITY FROM CANCERS AND VASCULAR DISEASES. *American Journal of Epidemiology*. 1989, **130**(6), 1123-1132. ISSN 1476-6256. Dostupné z: doi:10.1093/oxfordjournals.aje.a115439
- [27] INNS, R.H., J.E. BRIGHT a T.C. MARRS. Comparative acute systemic toxicity of sodium arsenite and dichloro(2-chlorovinyl)arsine in rabbits. *Toxicology* [online]. 1988, **51**(2-3), 213-222 [cit. 2024-01-11]. ISSN 0300483X. Dostupné z: doi:10.1016/0300-483X(88)90151-5
- [28] ARGOS, Maria, Tara KALRA, Paul RATHOUZ et al. Arsenic exposure from drinking water, and all-cause and chronic-disease mortalities in Bangladesh (HEALS): a prospective cohort study. *The Lancet*. 2010, **376**(9737), 252-258. ISSN 01406736. Dostupné z: doi:10.1016/S0140-6736(10)60481-3
- [29] BYEON, Eunjin, Hye-Min KANG, Cheolho YOON a Jae-Seong LEE. Toxicity mechanisms of arsenic compounds in aquatic organisms. *Aquatic Toxicology* [online]. 2021, **237** [cit. 2024-02-22]. ISSN 0166445X. Dostupné z: doi:10.1016/j.aquatox.2021.105901
- [30] RONKART, Sébastien, Vincent LAURENT, Philippe CARBONNELLE, Nicolas MABON, Alfred COPIN a Jean-Paul BARTHÉLEMY. Speciation of five arsenic species (arsenite, arsenate, MMAAV, DMAAV and AsBet) in different kind of water by HPLC-ICP-MS. *Chemosphere*. 2007, **66**(4), 738-745. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2006.07.056
- [31] TAO, S.S.-H. a P.M. BOLGER. Toxic Metals: Arsenic. *Encyclopedia of Food Safety* [online]. Elsevier, 2014, 342-345 [cit. 2024-02-22]. ISBN 9780123786135. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-378612-8.00201-8
- [32] STÝBLO, Miroslav, Abhishek VENKATRATNAM, Rebecca C. FRY a David J. THOMAS. Origins, fate, and actions of methylated trivalent metabolites of

- inorganic arsenic: progress and prospects. *Archives of Toxicology* [online]. 2021, **95**(5), 1547-1572 [cit. 2024-05-13]. ISSN 0340-5761. Dostupné z: doi:10.1007/s00204-021-03028-w
- [33] SMEDLEY, P.L a D.G KINNIBURGH. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*. 2002, **17**(5), 517-568. ISSN 08832927. Dostupné z: doi:10.1016/S0883-2927(02)00018-5
- [34] TOMIYASU, Takashi, Misato NAKAGAWA, Hitoshi KODAMATANI a Ryo KANZAKI. The influence of submarine volcano on seasonal changes in arsenic in the waters of Kagoshima Bay, southwestern Japan. *Environmental Earth Sciences*. 2021, **80**(8). ISSN 1866-6280. Dostupné z: doi:10.1007/s12665-021-09619-1
- [35] RANFT, Ulrich, Peter MISKOVIC, Beate PESCH et al. Association between arsenic exposure from a coal-burning power plant and urinary arsenic concentrations in Prievidza District, Slovakia. *Environmental Health Perspectives*. 2003, **111**(7), 889-894. ISSN 0091-6765. Dostupné z: doi:10.1289/ehp.5838
- [36] Arsen. In: *Arnika* [online]. Seifertova 327/85, Praha 3, 130 00: Arnika (centrála Praha), 2001 [cit. 2023-02-26]. Dostupné z: <https://arnika.org/toxicke-latky/databaze-latek/arsen>
- [37] ČESKÁ REPUBLIKA. Zákon o ochraně ovzduší. In: *142/2022*. 2012, ročník 2012, číslo 201, s. 104.
- [38] Pole 24hodinové průměrné koncentrace PM10, 21. 10. 2018. In: *Český hydrometeorologický ústav* [online]. Praha-Komořany: Český hydrometeorologický ústav, 2018 [cit. 2023-02-26]. Dostupné z: https://www.chmi.cz/files/portal/docs/uoco/mes_zpravy/RIJEN_2018.pdf
- [39] *Vyhláška č. 275/2004 Sb.: Vyhláška o požadavcích na jakost a zdravotní nezávadnost balených vod a o způsobu jejich úpravy*. In: . Palackého náměstí 375/4; Praha 2, Nové Město; 128 01 Praha 28: Ministerstvo zdravotnictví, 2004, ročník 2004, číslo 275. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2004-275>
- [40] ČESKÁ REPUBLIKA. *Vyhláška č. 153/2016 Sb.: Vyhláška o stanovení podrobností ochrany kvality zemědělské půdy a o změně vyhlášky č. 13/1994 Sb., kterou se upravují některé podrobnosti ochrany zemědělského půdního fondu*. In: . Vršovická 1442/65, Praha 10, 100 10: Ministerstvo životního prostředí, 2016, ročník 2016, číslo 153. Dostupné také z: <https://www.zakonyprolidi.cz/cs/2016-153/zneni-20191115>
- [41] *Vyhláška č. 53/2002 Sb.: Vyhláška Ministerstva zdravotnictví, kterou se stanoví chemické požadavky na zdravotní nezávadnost jednotlivých druhů potravin a potravinových surovin, podmínky použití látek přídatných, pomocných a*

- potravních doplňků*. In: . 2002: Ministerstvo zdravotnictví, ročník 2002, číslo 53.
- [42] *Commission Regulation (EC) No 1881/2006 of 19 December 2006 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs*. In: . Luxembourg: Official Journal of the European Union, 2006, ročník 2006, L 364. Dostupné také z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1881&from=EN>
- [43] *Salmonella* [online]. European food safety authority, 2019 [cit. 2023-04-23]. Dostupné z: <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/salmonella>
- [44] ARDINI, Francisco, Greta DAN a Marco GROTTI. Arsenic speciation analysis of environmental samples. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2020, **35**(2), 215-237. ISSN 0267-9477. Dostupné z: doi:10.1039/C9JA00333A
- [45] *Arsenic*. ISSN 9780309026048. Dostupné z: doi:10.17226/9003
- [46] ORANI, Anna, Aurélie BARATS, Wendy ZITTE, Christine MORROW a Olivier THOMAS. Comparative study on the bioaccumulation and biotransformation of arsenic by some northeastern Atlantic and northwestern Mediterranean sponges. *Chemosphere*. 2018, **201**, 826-839. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2018.03.078
- [47] WHALEY-MARTIN, K.J., I. KOCH a K.J. REIMER. Arsenic species extraction of biological marine samples (*Periwinkles*, *Littorina littorea*) from a highly contaminated site. *Talanta*. 2012, **88**, 187-192. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2011.10.030
- [48] ARDINI, Francisco, Greta DAN a Marco GROTTI. Arsenic speciation analysis of environmental samples. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2020, **35**(2), 215-237. ISSN 0267-9477. Dostupné z: doi:10.1039/C9JA00333A
- [49] GARCÍA-SALGADO, Sara, Georg RABER, Reingard RAML, Christoph MAGNES a Kevin FRANCESCONI. Arsenosugar phospholipids and arsenic hydrocarbons in two species of brown macroalgae. *Environmental Chemistry*. 2012, **9**(1). ISSN 1448-2517. Dostupné z: doi:10.1071/EN11164
- [50] YIN, Xixiang, Lihong WANG, Xiongjun YU, Shiyong DU, Huaichen ZHANG a Zhanchao ZHANG. Arsenic Accumulation and Speciation of PM_{2.5} and Relevant Health Risk Assessment in Jinan, China. *Polish Journal of Environmental Studies*. 2017, **26**(2), 949-954. ISSN 1230-1485. Dostupné z: doi:10.15244/pjoes/66714
- [51] SINGH, Nahar, Sippy CHAUHAN, Khem SINGH et al. Determination of arsenic and mercury metals in suspended particulate matter by flame/flameless atomic absorption spectrometer. *Atmospheric Pollution Research*. 2010, **1**(2), 112-117. ISSN 13091042. Dostupné z: doi:10.5094/APR.2010.014
- [52] HUANG, Jen-How a Gunter ILGEN. Blank values, adsorption, pre-concentration,

- and sample preservation for arsenic speciation of environmental water samples. *Analytica Chimica Acta*. 2004, **512**(1), 1-10. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2004.02.043
- [53] HU, Bin, Beibei CHEN, Man HE, Kai NAN, Yan XU a Chi XU. Separation methods applied to arsenic speciation. *Arsenic Speciation in Algae*. Elsevier, 2019, 89-144. Comprehensive Analytical Chemistry. ISBN 9780444642646. Dostupné z: doi:10.1016/bs.coac.2019.04.001
- [54] SKOOG, Douglas, Donald WEST, F. HOLLER a Stanley CROUCH. *Analytická chemie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2019. ISBN 978-80-7592-043-0.
- [55] RICHTER, Janine, Susanne LISCHKA a Christian PIECHOTTA. Analysis of arsenic species in fish after derivatization by GC–MS. *Talanta*. 2012, **101**, 524-529. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2012.10.021
- [56] VAN HOLDERBEKE, Mirja, Yining ZHAO, Frank VANHAECKE, Luc MOENS, Richard DAMS a Pat SANDRA. Speciation of six arsenic compounds using capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* [online]. 2018, **14**(2), 229-234 [cit. 2024-05-01]. ISSN 02679477. Dostupné z: doi:10.1039/a807480a
- [57] MORIARTY, Maeve, Iris KOCH, Robert GORDON a Kenneth REIMER. *Arsenic Speciation of Terrestrial Invertebrates*. 2009, **43**(13), 4818-4823. ISSN 0013-936X. Dostupné z: doi:10.1021/es900086r
- [58] *Kurz ICP spektrometrie*. Brno: Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, [200-]-. ISBN 978-80-903732-8-0.
- [59] HESSE, Stefan, Thomas RISTAU a Jürgen W. EINAX. Chemical vapor generation by coupling high-pressure liquid flow injection to high-resolution continuum source hydride generation atomic absorption spectrometry for determination of arsenic. *Microchemical Journal* [online]. 2015, **123**, 42-50 [cit. 2024-05-01]. ISSN 0026265X. Dostupné z: doi:10.1016/j.microc.2015.04.023
- [60] HERNÁNDEZ-ZAVALA, Araceli, Tomáš MATOUŠEK, Zuzana DROBNÁ et al. Speciation analysis of arsenic in biological matrices by automated hydride generation-cryotrapping-atomic absorption spectrometry with multiple microflame quartz tube atomizer (multiatomizer). *J. Anal. At. Spectrom* [online]. 2008, **23**(3), 342-351 [cit. 2024-05-16]. ISSN 0267-9477. Dostupné z: doi:10.1039/B706144G
- [61] THOMAS, Robert J. *Measuring Heavy Metal Contaminants in Cannabis and Hemp* [online]. [cit. 2024-03-24]. Dostupné z: doi:10.1201/9781003004158
- [62] *Kurz ICP spektrometrie*. 1. Brno: Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, [200-]-. ISBN 978-80-903732-8-0.

- [63] UEMOTO, Michihisa. Instrumental Chemical Analysis of Magnesium and Magnesium Alloys. *Magnesium Alloys - Corrosion and Surface Treatments* [online]. InTech, 2011 [cit. 2024-03-30]. ISBN 978-953-307-972-1. Dostupné z: doi:10.5772/13727
- [64] FERNANDEZ, B.Aizpun, C.Valdes-Hevia Y TEMPRANO, M.R.Fernandez DE LA CAMPA, A. SANZ-MEDEL a P. NEIL. Determination of arsenic by inductively-coupled plasma atomic emission spectrometry enhanced by hydride generation from organized media. *Talanta* [online]. 1992, **39**(11), 1517-1523 [cit. 2024-05-04]. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/0039-9140(92)80135-Z
- [65] BRIMA, Eid, Richard JENKINS a Parvez HARIS. Understanding arsenic metabolism through spectroscopic determination of arsenic in human urine. *Spectroscopy* [online]. 2006, **20**(3), 125-151 [cit. 2024-03-31]. ISSN 0712-4813. Dostupné z: doi:10.1155/2006/759046
- [66] Triple Quadrupole Mass Spectrometry - Principles and Operation. In: *Danaher* [online]. 2018 [cit. 2024-04-05]. Dostupné z: <https://lifesciences.danaher.com/us/en/products/mass-spectrometers/topics/principles-and-operation-of-triple-quadrupole-mass-spectrometers.html>
- [67] Tandem Mass Spectrometry. *Fundamentals of Contemporary Mass Spectrometry*. Hoboken, NJ, USA, 2007, 119-150. ISBN 9780470118498. Dostupné z: doi:10.1002/9780470118498.ch4
- [68] Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. In: *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze* [online]. 2010 [cit. 2024-04-05]. Dostupné z: https://old.vscht.cz/anl/josef/LabAtom/Navod_ICP-MS_2010.pdf
- [69] KIRBY, Jason, William MAHER, Michael ELLWOOD a Frank KRIKOWA. Arsenic Species Determination in Biological Tissues by HPLC - ICP - MS and HPLC - HG - ICP - MS. *Australian Journal of Chemistry* [online]. 2004, **57**(10) [cit. 2024-04-16]. ISSN 0004-9425. Dostupné z: doi:10.1071/CH04094
- [70] REID, Michael S., Karen S. HOY, Jordan R.M. SCHOFIELD, Jagdeesh S. UPPAL, Yanwen LIN, Xiufen LU, Hanyong PENG a X. Chris LE. Arsenic speciation analysis: A review with an emphasis on chromatographic separations. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. 2020, **123**(3) [cit. 2024-05-15]. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2019.115770
- [71] LIU, G.J., X.R. ZHANG, J. JAIN, J.W. TALLEY a C.R. NEAL. Stability of inorganic arsenic species in simulated raw waters with the presence of NOM. *Water Supply* [online]. 2006, **6**(6), 175-182 [cit. 2024-05-17]. ISSN 1606-9749. Dostupné z: doi:10.2166/ws.2006.954
- [72] KAHAKACHCHI, Chethaka, Peter C. UDEN a Julian F. TYSON. Extraction of arsenic species from spiked soils and standard reference materials. *The Analyst* [online]. 2004, **129**(8) [cit. 2024-05-18]. ISSN 0003-2654. Dostupné z:

doi:10.1039/b406050d

- [73] PIZARRO, I, M GÓMEZ, C CÁMARA a M.A PALACIOS. Arsenic speciation in environmental and biological samples. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2003, **495**(1-2), 85-98 [cit. 2024-05-18]. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2003.08.009
- [74] Arsenic acid. In: *National Library of medicine* [online]. 2008 [cit. 2024-05-18]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Arsenic-acid#section=Effects-of-Short-Term-Exposure>
- [75] RUIZ-CHANCHO, Maria José, José Fermín LÓPEZ-SÁNCHEZ, Ernst SCHMEISSER, Walter GOESSLER, Kevin A. FRANCESCONI a R. RUBIO. Arsenic speciation in plants growing in arsenic-contaminated sites. *Chemosphere* [online]. 2008, **71**(8), 1522-1530 [cit. 2024-05-18]. ISSN 00456535. Dostupné z: doi:10.1016/j.chemosphere.2007.11.054
- [76] KHOKIATTIWONG, Somkiat, Narumol KORNKANITNAN, Walter GOESSLER, Sabine KOKARNIG a Kevin A. FRANCESCONI. Arsenic compounds in tropical marine ecosystems: similarities between mangrove forest and coral reef. *Environmental Chemistry* [online]. 2009, **6**(3) [cit. 2024-05-19]. ISSN 1448-2517. Dostupné z: doi:10.1071/EN09009
- [77] PATEL, Khageshwar Singh, Piyush Kant PANDEY, Pablo MARTÍN-RAMOS, Warren T. CORNS, Simge VAROL, Prosun BHATTACHARYA a Yanbei ZHU. A review on arsenic in the environment: bio-accumulation, remediation, and disposal. *RSC Advances* [online]. 2023, **13**(22), 14914-14929 [cit. 2024-05-19]. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/D3RA02018E