

## Měď a sloučeniny (jako Cu)

Měď se v půdě vyskytuje ve formě iontů  $\text{Cu}^{2+}$  a v komplexech. Malé množství Cu se vyskytuje v půdní vodě (0,01 mg/kg). Měď je vázána prostřednictvím kationtové výměny a adsorpce. Měď může být v půdách vázána na organické a minerální látky a vytváří formy:

- vodorozpustnou (méně než 1 % celkového obsahu, s klesajícím pH podíl výrazně klesá, v alkalické oblasti přechází na nerozpustné karbonáty), výměnná (do 3 % celkového obsahu).
- Sorbovaná na organickou hmotu a anorganické složky půd, hlavně oxidy Fe a Mn (15 – 50 % celkové Cu).
- Okludovanou v oxidech a hydroxidech Fe a Mn (až 40 %  $\text{Cu}_{\text{celk.}}$ )
- Reziduální, iontově vázaná v krystalové struktuře silikátů (25 % u lehkých půd, u těžkých půd až 90 % celkového obsahu Cu).

## Extrakční metody

### Standardizované metody rozkladu/extrakce

- **ISO 11466: 1995** Soil quality – Extraction of trace elements soluble in aqua regia.
- **ISO 14869 – 1:2001** Dissolution for the determination of total element content – Part 1: Dissolution with hydrofluoric acid and perchloric acid. *Potvrzená standardizovaná evropská metodika.*
- **ISO 14869 – 2:2002** Dissolution for the determination of total element content – Part 2: Dissolution by alkaline fusion. *Potvrzená standardizovaná evropská metodika.*
- **ISO 14870:2001** Soil quality – Extraction of total element content by buffered DTPA solution. *Potvrzená standardizovaná evropská metodika.*
- **ISO 19730:2008** Soil quality – Extraction of trace elements from soil using ammonium nitrate solution. *Potvrzená standardizovaná evropská metodika.*
- **ISO/CD 12940** Microwave assisted extraction of aqua regia soluble fraction for the determination of trace and major elements. *Zahájeno zpracování metodiky v EU.*
- **EN 13346:2000** Characterisation of sludges – Determination of trace elements and phosphorus – aqua regia extraction methods.

### **ISO 11466:1995 Soil quality – Extraction of trace elements soluble in aqua regia**

Specifikuje metodu pro extrakci vzorků půd nebo podobných materiálů, které obsahují < 20 % organického uhlíku. Materiály s obsahem TOC > 20 % vyžadují rozklad s následným přidavkem  $\text{HNO}_3$ . Výsledkem postupu je příprava roztoku pro určení obsahu stopových prvků vhodnou analytickou instrumentální technikou – atomovou absorpční spektrometrií (AAS).

### **ISO 14869 – 2:2002 Dissolution for the determination of total element content – Part 2: Dissolution by alkaline fusion**

Metoda zaměřená na rozklad vzorků alkalickým tavením. Používá se pro stanovení celkového obsahu v půdách pro tyto prvky: Na, K, Mg, Ca, Ti, Mn, Fe, Al, Si. Přehled prvků není vyčerpávající, postup může být použit i pro ostatní prvky za následujících podmínek:

- Netěkají při tavení
- $w > (3d \cdot V/m)$

kde

w = obsah prvku vyjádřený v mg/kg

d = detekční limit v mg/l pro prvek a uvažovanou analytickou metodu stanovení

V = objem finálního roztoku s rozpuštěným prvkem (v litrech),

M = hmotnost analyzovaného vzorku (kg)

Podmínkou použití metody je, že obsah prvků není ovlivňován vysokou koncentrací solí v roztoku určeném k analýze. Tavení používané v této metodě je vhodné pro široký rozsah materiálů, mezi které lze zařadit i půdní vzorky.

### **ISO 19730:2008 Soil quality – Extraction of trace elements from soil using ammonium nitrate solution**

Popisuje metodu extrakce stopových prvků z půd použitím roztoku 1 M  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ .

### **U.S. EPA 6010 Trace elements in solution by ICP AES. Official Name: Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectroscopy (ICP – AES)**

Vzorky po odběru je vhodné umístit do borosilikátového skla nebo polyethylenu, polypropylenu či teflonu a zalít směsí 1:1 kyselina dusičná:voda nebo směsí 1:1 kyselina chlorovodíková:voda. Takto upravené vzorky lze skladovat maximálně 6 měsíců. Pro analýzu je nutné mít alespoň 2 g vzorku. Vzorek půdy se umístí do kónické baňky a přidá se 10 ml směsi 1:1 kyseliny dusičné, promíchá se a přikryje se hodinovým sklem. Vzorek se refluxuje 10 – 15 min. bez vaření, ochladí se a přidá se 5 ml koncentrované kyseliny dusičné a refluxuje se dalších 30 min. Poslední krok se opakuje, a pak se roztok odpaří vařením na objem 5 ml. Poté se vzorek ochladí a přidají se 2 ml vody a 3 ml 30% peroxidu vodíku v 1 ml alikvotech, vzorek se zahřívá během přidávků, dokud neustane šumění. Ke vzorku se přidá 5 ml koncentrované kyseliny chlorovodíkové a 10 ml vody a baňka se vloží na vařič (varnou desku) a zahřívá se dalších 15 min. Vzorek po ochlazení se zředí na objem 100 ml a centrifuguje se nebo filtruje. Čirý (vyjasněný) extrakt se poté použije pro analýzu na ICP – AES.

### **U.S. EPA method 3050 B Acid digestion of sediments, sludges and soils**

Metoda zahrnuje 2 postupy rozkladu vzorků. Jeden postup je určen pro FLAA nebo ICP – AES a druhý postup pro použití grafitové pece GFAA nebo ICP – MS. Metody se vzájemně liší použitím HCl. Pro ICP – AES a FLAA je při rozkladu přidávána HCl. Tento typ rozkladu neumožňuje tzv. „celkový rozklad vzorku“, při digesci v kyselém prostředí nedochází k rozpouštění silikátů, křemen a některých oxidů, ale postup zahrnuje environmentálně významný podíl stopových prvků. FLA/ICP – AES umožňuje stanovit v extraktu následující prvky: Al, Sb, Ba, Be, Cd, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, V, Mg, Mn, Mo, Ni, K, Ag, Na, Tl, V, Zn. Metoda GFAA/ICP – MS umožňuje stanovit As, Be, Cd, Cr, Co, Fe, Pb, Mo, Se a Tl. 1 – 2 g vzorku se rozkládají ve směsi  $\text{HNO}_3$  a  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Pro rozklad ICP – AES/FAA je po rozkladu přidávána HCl, vzorek je refluxován. Po ukončení rozkladu je vzorek zfiltrován a filtrát promývá, nejprve horkou HCl a následně horkou vodou. Filtrát je doplněn na končený objem 100 ml.

### **U.S. EPA method 3051:1994 Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils**

Postup je vhodný pro mikrovlnný rozklad/extrakci v kyselinách pro kaly, sedimenty, půdy a oleje u následujících prvků: Al, Sb, As, B, Be, Cd, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Mg, Mn, Hg, Mo, Ni, Se, Ag, Na, Sr, V a Zn. Reprezentativní vzorek o hmotnosti 0,5g je extrahován v 10 ml konc.  $\text{HNO}_3$  po dobu 10 minut při teplotě 175 °C, výkon mikrovlnného zařízení 574 W. Vzorek s kyselinou se vloží do nádoby z fluorokarbonu, nádobka se zašroubuje a zahřívá se v mikrovlnné peci. Po ochlazení se obsah nádoby zfiltruje nebo centrifuguje. Roztok se doplní na požadovaný objem a analyzuje se vhodnou analytickou technickou (FAAS, GFAAS, ICP – AES). Rozklad v  $\text{HNO}_3$  poskytuje informace o celkovém obsahu prvků „v kyselém extraktu“, v tomto případě rozkladu nejsou rozloženy silikáty, křemen a některé oxidy železa, které mohou vázat sledované prvky.

### **U.S. EPA method 3051A:1994 Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soils and oils**

Postup metody je shodný s metodou 3051 s tím, že se může používat rozklad/extrakce ve směsi kyselin:  $\text{HNO}_3$  a HCl. Přídavek HCl je nutný při stanovení Cr. HCl může ovlivnit mez detekce u

některých prvků. 5 g vzorku se rozkládá ve směsi kyselin (9 ml konc. HNO<sub>3</sub> a 3 ml konc. HCl) po dobu 10 minut v mikrovlnném zařízení. Postup je stejný jako v případě metody 3051.

### **U.S. EPA method 3052:1994** Microwave assisted acid digestion of siliceous and organically based matrices

Jedná se o **celkový rozklad**, který se používá při analýze popílků, půd, sedimentů a kalů. Metoda je vhodná pro stanovení následujících prvků: Al, Sb, As, B, Be, Cd, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Mg, Mn, Hg, Mo, Ni, Se, Ag, Na, Sr, V a Zn. Rozložený vzorek může být analyzován FLAA, CVAA, GFAA, ICP – AES, ICP – MS. Celkový rozklad silikátů je umožněn přidavkem HF. K 0,5 g vzorku se přidá 9 ml HNO<sub>3</sub> a 3 ml HF, vzorek se zahřívá v mikrovlnném zařízení při teplotě 180 °C ± 5 °C po dobu 15 minut. Alternativně se může přidávat HCl a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Po ochlazení a filtraci je vzorek doplněn na požadovaný objem a analyzován.

## **Nestandardizované metody extrakce/rozkladu**

### **Extrakce mědi podle Zhang et al., 2008**

Technika vychází z modifikované metodiky Soil Science Society of China pro stanovení mobilní mědi v půdách, která vychází z procedury DTPA od Lindsay a Norwell (1978). 5 g na vzduchu usušeného vzorku se smíchá s 50 ml směsi DTPA – CaCl<sub>2</sub> – TEA. Suspenze se třepe 120 min, při rychlosti 210 rpm, poté se filtruje. Výluh se použije pro analýzu.

### **Extrakce mědi podle López – García et al., 1999**

Tato metodika popisuje přípravu vzorků půdy pro analýzu AAS – ETTAS. Půdní vzorky jsou 15 min. mlety na jemný prášek. 25 – 100 mg prášku se smíchá s 25 ml 50% koncentrované kyseliny fluorovodíkové v plastové nádobce, suspenze se míchá na magnetické třepačce. Pak se vzniklý kašovitý vzorek použije pro analýzu. Touto technikou lze společně s mědí extrahovat i kobalt a nikl. Další metodiky pro přípravu kašovitých vzorků jsou popsány v kapitole Metody pro stanovení těžkých kovů.

### **Extrakce mědi podle Casper et al., 2004**

Půdní vzorky jsou usušeny na vzduchu (Branvold et al., 1995), pomlety a prosítovány na velikost zrn menší než 2 mm. Poté jsou pomlety na velikost zrn < 100 μm a usušeny při 45 °C přes noc. Po usušení jsou vzorky digestovány podle metodiky Thomspson a Wood (1982) kyselinou dusičnou a chloristou. Digestát se použije pro stanovení mědi, zároveň s mědí lze v extraktu stanovit arsen. Extrakty jsou vhodné pro analýzu ICP – AES.

## **Metody stanovení**

Měď v půdách lze stanovit mnohými metodami, k nejčastěji využívaným patří atomová absorpční spektrometrie, která je finančně náročná na provoz. Plamenová atomová absorpční spektrometrie (FAAS) je velice přesnou metodou, ale pro stanovení obsahu těžkých kovů v environmentálních vzorcích nemá dostatek citlivosti, komplexní matrice způsobují interference. Interference v rámci FAAS lze odstranit buď zakoncentrováním vzorku a separací matrice nebo spojením techniky FAAS s FI (toková injekce). První varianta (zkoncentrování a separace matrice) je časově náročná, spotřebována jsou poměrně velká množství činidel a rozpouštědel. Naopak online spojení s FI, omezuje spotřebu činidel, zjednodušuje a zrychluje celý proces.

K nejjednodušším a nejlevnějším metodám pro stanovení mědi patří voltametrie, která redukuje čas analýzy, nepotřebuje velké množství vzorku pro stanovení žádaného prvku a redukuje náklady. Citlivost voltametričeských technik se zlepšuje díky novým modifikovaným

elektrodám a mikroelektrodám. Mikroelektrody jsou definovány jako elektrody, ve kterých je přinejmenším jedna z jejich dimenzí v rozsahu  $\mu\text{m}$  nebo je to elektroda s minimálně jednou dimenzí menší než difúzní délka analytu. Výhodou mikroelektrod je vyšší citlivost, která pochází ze zvýšení transportu hmoty na těchto malých elektrodách. Takové elektrody mají hemisférické difúzní vrstvy, které umožňují mnohem rychlejší difúzi elektroaktivních substancí. Senzory zlepšují čas odezvy (je rychlejší), zvyšuje se citlivost a odpověď (odezva) na jednotku plochy elektrody.

Spektrofotometrické metody zahrnují velkou škálu nejrůznějších činidel a barviv pro stanovení mědi. Mezi nejznámější metody patří dithizonová metoda (Marczenko, 1986), dithiokarbamátová metoda, kuproinová metoda, kuprizonová. Všechny tyto spektrofotometrické metody vyžadují extrakční procedury, ve kterých se používají toxická a zdraví škodlivá rozpouštědla (chloroform, tetrachlormethan isopentanol apod.). Všeobecně pro stanovení mědi lze využít fenoly, aminy, karbazony, karbamáty, oximy, thiaminy, karbonohydraziny výše zmíněné azokomponenty.

### ***Standardizované metody***

**ČSN EN 15390** prosinec 2007: Charakterizace odpadů a půd – Stanovení elementárního složení metodou rentgenové fluorescence

Tato evropská norma určuje postup pro kvantitativní stanovení koncentrací hlavních a stopových prvků v homogenních pevných odpadech, půdách a půdě podobných materiálech energiově disperzní rentgenovou fluorescenční spektrometrií (EDXRF) nebo vlnově disperzní rentgenovou fluorescenční spektrometrií (WDXRF) s použitím kalibračních standardů s odpovídajícími maticemi. Tato evropská norma se může použít pro následující prvky: Na, Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Br, Rb, Sr, Y, Zr, Nb, Mo, Ag, Cd, Sn, Sb, Te, I, Cs, Ba, Ta, W, Hg, Tl, Pb, Bi, Th a U. V závislosti na prvku a použitém přístroji se mohou stanovit koncentrace mezi přibližně 0,0001 % a 100 %. Rentgenová fluorescenční spektrometrie je rychlá a spolehlivá metoda pro kvantitativní analýzu celkového obsahu určitých prvků v různých maticích. Kvalita získaných výsledků je velmi závislá na typu použitého přístroje, např. bench top nebo vysoké výkonnosti energiově disperzních nebo vlnově disperzních přístrojů. Při výběru speciálního přístroje se má vzít v úvahu několik faktorů, jako jsou analyzované matrice, stanovované prvky, požadované meze detekce a čas měření. Kvalita výsledku závisí na stanovovaném prvku a na prostředí matrice. Vzhledem k širokému rozsahu složení matic a nedostatku vhodných referenčních materiálů v případě nehomogenních matic jako jsou odpady, je obtížné všeobecně provést kalibraci s odpovídajícími maticemi referenčních materiálů.

**ISO 11047:1998** Soil quality – Determination of cadmium, chromium, cobalt, copper, lead, manganese, nickel and zinc. Flame and electrothermal atomic absorption spectrometric methods. Zavedená standardizovaná metoda.

**ISO 22036:2008** Soil quality – Determination of trace elements in extracts of soil by inductively coupled plasma – atomic emission spectrometry (ICP – AES).

Metoda popisuje stanovení stopových prvků pro rozkladu nebo extrakci půd metodou ICP – AES pro 34 prvků. Metoda je použitelná pro extrakty získané použitím lučavky královské podle metodiky ISO 11466, nebo pomocí DTPA (kyseliny diethylenetriamin pentaoctové) nebo po celkovém rozkladu v kyselinách podle metody ISO 14869 – 1 nebo alkalickým tavením ISO 14869 – 2.

**U.S. EPA Method 6020:1994** Inductively coupled plasma – mass spectrometry

Stanovení stopových prvků ve vodách, extraktech odpadů a po rozkladu vzorků. Metoda umožňuje stanovení obsahu prvků, který je vyloužitelný v kyselém prostředí, případně mohou být analyzovány celkové obsahy prvků při použití metody extrakce 3051. Metoda je vhodná pro stanovení 66 prvků.

### **U.S. EPA 7010:2008** Graphite Furnace Atomic Absorption (GFAA)

Metodika je aplikovatelná pro stanovení mědi v půdách, kalech, sedimentech, průmyslových odpadech, v odpadech a ve vzorcích vod. Vzorky před stanovením vyžadují digesci. Po digesci je alikvot umístěn do grafitové pece, kde je vysušen, spálen a atomizován. V technice interferuje matrice vzorku – objevují se chemické interference, které se musí řešit modifikací matrice. Během analytického stanovení mědi je vyžadována přítomnost korekčního systému. Rozsah metody 5 – 100 µg/l, mez detekce 1 µg/l. Úprava vzorků pro stanovení je dána metodou U.S. EPA 6010.

### **U.S. EPA 7000B:2008** Flame Atomic Absorption Spectrophotometry

Metodika je aplikovatelná pro stanovení mědi v půdách, kalech, sedimentech, průmyslových odpadech, v odpadech a ve vzorcích vod. Vzorky před stanovením vyžadují digesci. V technice interferuje matrice vzorku – objevují se chemické interference, které se musí řešit modifikací matrice. Během analytického stanovení mědi je vyžadována přítomnost korekčního systému. Rozsah metody 5 – 100 µg/l, mez detekce 1 µg/l. Úprava vzorků pro stanovení je dána metodou U.S. EPA 6010.

### **U.S. EPA method 200.8** Determination of trace elements in waters and wastes by inductively coupled plasma – mass spectrometry

Metoda je používána pro stanovení prvků ve vodách, sedimentech a půdách. U vzorku půd se vyžaduje nejprve extrakce ve směsi kyselin HNO<sub>3</sub> a HCl, centrifugace a následné stanovení metodou ICP/MS.

### **U.S. EPA method 6200:2005** Field portable X – ray fluorescence spectrometry

Přenosný RTG – fluorescenční spektrometr umožňuje nedestruktivní stanovení 26 prvků v půdách. Metoda optimalizuje podmínky pro stanovení ex situ a in situ v laboratoři po homogenizaci a prosátí vzorku.

## ***Nestandardizované metody***

### **Elektrochemické metody**

#### **Stanovení mědi voltametriky podle Beni et al., 2005**

Většina voltametričtých metod využívá rtuťové elektrody. S použitím těchto elektrod se objevuje velké množství problémů, které jsou spojeny především s její toxicitou. Z těchto důvodů se také často využívají polykrystalické zlaté elektrody. Použití elektrod z vzácných kovů pro stripovací voltametrii vyplývá v depozici redukovaného analytu kovu jako pevné látky na povrchu elektrody. Toto může způsobovat multipík na voltamogramech. Pečlivý výběr experimentálních parametrů umožňuje depozici pouze monovrstvy nebo subsvrstvy kovu, která je označována jako podpotenciálová depozice (UPD). Beni et al. (2005) pro stanovení mědi využil novou modifikaci voltametrie – jedná se o kombinaci schůdkové voltametrie a diferenciací pulsní voltametrie se stripováním nebo cyklickým voltametričtým módem, který poskytuje dobrou flexibilitu, využití a rychlou analýzu. Přístroj se skládá z elektronického hardwaru, tří-elektrodové elektrochemické cely (buňky) a z osobního počítače. Hardware obsahuje analogické a digitální části, které jsou napojeny ze dvou zdrojů. Analogová část poskytuje potenstatickou kontrolu aplikovaného stimulačního signálu (voltametričtá křivka) a měření proudu. Digitální část se skládá z ADuC812 mikrokontroly (analogové zařízení) a z digitálního rozhraní pro kontrolu hardwaru, poskytuje spojení s počítačem prostřednictvím RS232 komunikačního portu. Analýzy vzorků půdy jsou vykonávány za následujících podmínek: Rozsah proudu ± 2,5 nA až ± 50µA, rozsah potenciálu -1,5 až +1,5 V, přesnost měření z hlediska hodnoty proudu < 100 pA, přesnost měření z hlediska potenciálu < 3 mV. Elektrochemická buňka se skládá z elektrody zlaté (disk, 2 mm) nebo skleněno-uhlíkové (disk 3 mm), která slouží jako pracovní a z referenční elektrody Ag/AgCl (3M KCl) a z platinové. Důležitým krokem pro stanovení obsahu mědi je extrakce. Extrakce byla provedena pomocí techniky popsané Quevauviller et al., 1993. Suché vzorky půdy (1g) se smíchají s 40 ml 0,11M octové kyseliny v polypropylenové tubě a směs se třepe

16 hod. při teplotě 22 °C. Extrakt se poté separuje centrifugací (20 min, 3000 – 4000 rpm). V kapalné frakci je poté voltametricky stanovena koncentrace mědi: 2 – 2,5 ml vzorku se transferuje do skleněné komůrky (buňky). Další voltametrické stanovení mědi je popsáno Beni et al., (2004) a Berdeque et al., (2007).

## **Metody atomové absorpce**

### **Stanovení mědi pomoc plamenové absorpční spektrometrie online spojené s injektáží (FI – FAAS) podle Ma et al., 1994**

Koncentrace těžkých kovů (např. mědi) je někdy v environmentálních vzorcích po digesci příliš nízká pro stanovení FAAS a příliš vysoká pro stanovení s GFAAS, proto je vhodné použít FI – FAAS. Spojení FI – FAAS zlepšuje citlivost stanovení mědi. FI online kapalná extrakce může probíhat pomocí mikrokolonové iontové nebo chelatační absorpce, sorbentové extrakce na kolonách obsahujících reverzně-fázově vázaný křemík s organickými hydrofóbními skupinami. Systém může být zlepšen za pomoci kónických mikrokolon eluovaných v opačném směru ke vzorku pro minimalizaci disperze eluovaných komplexů nebo uvedením vzdušných segmentů před a po eluci (pro zabránění smíchání eluentu s roztokem vzorku). Tato technika jako chelatační agent využívá diethyldithiokarbamát (DDC), který umožňuje separaci prvků první a druhé hlavní periodické skupiny, které jsou přítomné ve vysokých koncentracích, od stopových prvků. Interferující prvky (např. vápník interferuje při stanovení kadmia) mohou být eliminovány při použití kolony CPG – 8Q (skleněná kolona naplněná 8-quinolinolem, která funguje jako chelatační agent). Pro stanovení těžkých kovů v biologických vzorcích je doporučována kolona naplněná DDDC – diethylamonium-N,N-diethyldithiokarbamát, který funguje jako kompletační agent. Interferující prvky (Fe) se eliminují zvýšením acidity vzorku. Kritickou podmínkou pro extrakci na sorbent je pH směsi a roztoku vzorku. Optimální pH je různé pro jednotlivé těžké kovy. Extrakce těžkých kovů v podmínkách kyselin (tedy při nízkém pH) je vhodná, kyselé médium zabraňuje hydrolyze a poskytuje vysokou selektivitu. V průběhu extrakce kapalina – kapalina je DDDC v prostředí při pH < 4 v organické fázi a při pH > 8 je ve vodné fázi. Navíc toto činidlo je nestabilní v kyselých roztocích.

Úprava vzorků půd (navážka 1 g) pro stanovení probíhá digescí v teflonové nádobce s 5 ml kyseliny dusičné a se 4 ml kyseliny fluorovodíkové. Uzavřená digesční nádobka se zahřívá na mírném plameni (nebo na varné desce), dokud vzorek nezačne dýmat. Poté se ochladí a přidají se 4 ml kyseliny chloristé na gram vzorku a směs se zahřívá při 150 °C po dobu 8 hod., během tohoto dojde k odpaření. Zbývající rezidua byla rozpuštěna ve směsi: 0,5 ml kyselina dusičná a 0,25 ml kyselina chlorovodíková s 5 ml vody a rozředěna na 50 ml vodou. Stanovení mědi proběhlo s přidavkem 0,05M kyseliny citrónové (maskující činidlo pro ionty železa) na Perkin – Elmer spektrometru s příslušným pracujícím programem pro FI. Pro kompletační agent a vzorek byly využity tuby Tygon pumpy a pro organické rozpouštědlo byla využita pumpa s rezistentním silikonem. Všechny ostatní hadice jsou vyrobeny z PTFE. Kónické extrakční kolony se naplní oktadecyl křemíkem s funkční skupinou (C18), který je navázán na silikagel (velikost částic 40 – 63 μm). Rozprašovací kapiláry jsou krátké, pro zabránění usazování (adsorpci) komplexů na stěny. Rozprašovací kapiláry jsou připojeny k FIAS ventilem k rozprašovači také velmi krátkým spojením, pro minimalizaci disperze eluovaného komplexu. Jako světelný zdroj slouží výbojka s dutou katodou.

### **Stanovení mědi pomocí atomové emisní spektrometrie s induktivně vázanou plasmou (ICP – AES) podle Schramel et al., 2000**

Stanovení mědi v půdách pomocí ICP – AES je velmi vhodnou metodou. Půdní vzorky pro analýzu jsou usušeny na vzduchu, homogenizovány a upraveny na velikost zrn 1 mm, poté byly vzorky uskladněny v polyethylenových nádobách při -20 °C před vlastní extrakční procedurou. Výluh mědi z půdy pro stanovení celkového obsahu mědi byl proveden podle modifikované německé normy DIN z roku 1984, pro digesci kalů a sedimentů lučavkou královskou. 1000 mg půdy se umístí do 100 ml baňky s kulatým dnem, přidá se několik mililitrů vody a vytvoří se kaše. Ke kaši se přidá kyselina dusičná (2,5 ml) a kyselina chlorovodíková (7,5 ml). Baňka se opatrně protřepe, nechá se přes noc stát při pokojové teplotě, a pak se destiluje po dobu 2 hod. Po destilaci se roztok filtruje a transferuje se do

100 ml odměrné baňky. Rezidua na filtračním papíru se promyjí 10% kyselinou dusičnou a doplní se na objem 100 ml vodou.

Extrakti mědi pro stanovení jejího celkového obsahu je možné provést pomocí lučavky královské. Jednotlivé formy mědi, u nichž se stanovuje biodostupnost pro rostliny jsou extrahovány obvykle pomocí sekvenční procedury, která využívá pro extrakci více rozpouštědel: 0,05M EDTA, 0,43M octová kyselina, deionizovaná voda, dusičnan amonný, chlorid vápenatý. Roztoky EDTA a kyseliny octové se nejčastěji používají pro stanovení biodostupnosti prvků pro živé organismy a dusičnan amonný a chlorid vápenatý se používají pro stanovení mobilních forem mědi v půdě.

## Metody molekulové absorpční spektrometrie

### Stanovení mědi s Cu-diethyldithiokarbamátem- $\beta$ -cyklodextrinem podle Li et al., 1993

Cyklodextrin je cyklický, neredukující oligosacharid, který obsahuje šest, sedm nebo osm glukopyranosových jednotek. Cyklodextriny jsou ve vodě rozpustné, neboť všechny volné hydroxylové skupiny mají na vnější straně kruhu. Povaha a struktura cyklodextrinu jim umožňuje interagovat s malými molekulami, které mají vhodnou velikost pro tvorbu inkluzních komplexů. Qi et al. testoval možnost využití cyklodextrinů pro spektrofotometrickou analýzu. Cyklodextriny napomáhají rozpouštět komplexy kovů nebo zvyšují citlivost komplexů k tvorbě inkluzních komplexů. Diethyldithiokarbamát za přítomnosti cyklodextrinů vytváří inkluzní komplex Cu(II)-DDTC- $\beta$ -CD v přítomnosti amoniaku (komplex vzniká pouze v alkalickém prostředí).

Vzorky (navážka 1 g) se před analýzou spálí v peci při 550 °C. Rezidua se rozpustí v 10 ml kyseliny fluorovodíkové, směs se zahřívá a postupně se odpaří. Po ochlazení se přidá 10 kapek 1M hydroxidu sodného, odpaří se znova do sucha, poté se rezidua smočí ve vodě a transferují do 50 ml odměrné baňky, pH roztoku se upraví na hodnotu 1 pomocí 1M hydroxidu sodného a rozředí se po značku vodou. 2 x 10 ml filtrátu se transferuje do dvou 25 ml baněk. Do obou baněk se přidá roztok amoniaku (7,5M) pro vysrážení železa, po vysrážení se přidají 2 ml 2M citronanu amonného, 5 ml  $8,8 \times 10^{-3}$ M cyklodextrinu. A pouze do jedné baňky se přidá 0,011M DDTC, poté se obě baňky naředí po značku vodou, promíchají a měří se absorbance. Sraženina železa, která vzniká po přidání citronanu amonného neovlivňuje stanovení. V případě že vzorek v posledním ředění není ihned čirý, tak se musí ponechat vyjasnit, cca 10 min. stáním. Citronan amonný maskuje ionty  $Al^{3+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ti^{4+}$ ,  $Mn^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$ . V případě vysokých koncentrací niklu, je možné jako maskující činidlo použít 1,10-fenantrolin (0,01M).

### Stanovení mědi 1-(pyridyl-(2)-azo)-naftolem-(2)) v přítomnosti TX-100 a n,n'-difenylbenzamidinu podle Thakur et al., 1999

Jedná se o jednoduchou, citlivou spektrofotometrickou detekci pro stanovení mědi, založena je na tvorbě červeného komplexu mědi (II) s 1-(pyridyl-(2)-azo)-naftolem-(2)) – PAN, TX – 100 a n,n'-difenylbenzamidinem (DPBA) při pH = 7,8 – 9,4, s maximem při vlnové délce 520 nm. Detekční limit metody je 2 ng/ml.

### Test přítomnosti mědi v půdě

0,1 – 1 g vzorku o velikosti zrn 200 mesh se smíchá s 0,5 – 2 ml horké 0,1M kyseliny dusičné (30 – 60 °C). Směs se protřepe a vzorek se nechá vyloužit. 2 – 3 kapky výluhu se odeberou, smíchají se s 0,2 – 0,5 ml pufru a pH se upraví na 8,5 a přidají se 2 – 3 kapky PAN, DPBA a vodného roztoku TX – 100 (TRITON X – 100). Přítomnost mědi se projeví vznikem červeného zbarvení. Vzorek půdy (0,1 – 0,5 g) se digestuje se směsí kyselina dusičná a chlorovodíková (3:1), poté se vzorek neutralizuje hydroxidem amonným (1:8) a nadbytek se odstraní varem. Roztok se přefiltruje a rozředí se na objem 10 ml vodou. Alikvot z výše připraveného roztoku obsahující 6  $\mu$ g Cu(II) je dán do 125 ml separační nádoby, přidá se 0,7 ml TX – 100 (Triton X – 100) a 1 ml roztoku PAN a pH se upraví na  $8,5 \pm 0,2$  tlumivým roztokem v celkovém objemu 10 ml. Roztok se protřepává po dobu 2 min. s roztokem 2 x 2 ml DPBA v chloroformu. Vodná a organická fáze se oddělí. Vodná fáze se promyje 1 ml chloroformu, fáze se spojí a přidají se 2 g síranu sodného (vysušeny při 105 °C). Oddělí se organická fáze, která se

doplní na 10 ml chloroformem a měří se absorbance při 520 nm. Technika byla otestována pro vzorky půdy, prachu a pro orientační důkaz přítomnosti mědi v půdách v terénu.

### **Stanovení mědi pomocí dithizonové metody podle Marczenko, 1986**

V kyselém médiu, které obsahuje nadbytek dithizonu, tvoří ionty mědi (II) fialový dithizonát, který je rozpustný v polárních rozpouštědlech (tetrachlormethan a chloroform). V alkalickém prostředí se vytváří méně intenzivní žluto-hnědé zbarvení, může být také tvořeno v neutrálním nebo kyselém médiu, ve kterém je nedostatek dithizonu. Molární absorptivita komplexu měď – dithizonát je  $4,52 \times 10^4$  při  $\lambda = 550$  nm. Dithizon musí být pro kvantitativní tvorbu komplexu s mědí intenzivně třepán, neboť tvorba komplexu je pomalá. Vyšší koncentrace dithizonátu v organickém rozpouštědle a snížená acidita urychlují extrakci. Rychlost extrakce je nejvyšší při pH = 1. S dithizonem reagují vzácné kovy (Au, Pd, Pt, Ag apod.), které se extrahují společně s mědí, pro oddělení kovů se používá jodid draselný, pouze pro oddělení stříbra je nutné použít roztok obsahující chloridy. Vzácné kovy kromě paladia tvoří žluto-oranžové dithizonáty, rychlost jejich vzniku je větší než v případě mědi.

Roztok, obsahující méně než 20 µg mědi po odstranění vzácných kovů, podstupuje úpravu pH na hodnotu menší nebo rovnu 1, pomocí amoniaku. Poté se roztok transferuje do separační nálevky a extrahuje se část dithizonového roztoku v tetrachlormethanu (1 ml 0,002% dithizonu odpovídá 2,5 µg mědi), při extrakci dochází ke změně barvy roztoku. Poté oddělíme vodnou a organickou vrstvu, třepáním s amoniakem. Fialovou část extraktu s dithizonem rozpustíme v tetrachlormethanu v 25 ml odměrné baňce a měříme absorbanci při 550 nm.

### **Stanovení mědi (Cu I) s kuproinem podle Marczenko, 1986**

Kuproin (2,2'-biquinolyl), neokuproin (2,9-dimethyl-1,10-fenantrolin) a bathokuproin (2,9-dimethyl-4,7-difenyl-1,10-fenantrolin) reagují s ionty Cu(I) tvorbou kationtových komplexů. Pentylalkohol a n-hexanol jsou vhodnými extrakčními činidly pro komplex mědi. Do roztoku se musí přidávat redukující agent (NH<sub>2</sub>OH.HCl), pH se upraví na hodnotu 4 – 7. Molární absorptivita Cu(I) je  $6,4 \times 10^3$ . Ve stanovení interferují ionty Cr(III), Cu(II) a citronany. K extrakci je možné použít také methanol a chloroform, komplexy kuproinu jsou dobře rozpustné i ve směsi dimethylformamid – voda. Neokuproin slouží pro stanovení Cu(I), pro stanovení jej doporučil Smith a McCurdy (1952), neokuproin reaguje s Cu(I) v rozsahu pH = 5 – 10, vytváří oranžový komplex. Při extrakci Cu(I) s isoamylalkoholem může být Fe(III) určeno ve vodné fázi přidáním 1,10-fenantrolinu. Bathokuproin slouží pro stanovení Cu(I), je dvakrát citlivější než kuproinová a neokuproinová metoda. Molární absorptivita je  $1,42 \times 10^4$  při 479 nm. Cu(I)-bathokuproinový komplex je tvořen při rozsahu pH = 4 – 8 a může být extrahován s pentylalkoholem nebo n-hexanolem. K okyselenému roztoku, který obsahuje méně než 150 µg mědi se přidá 0,2 g NH<sub>2</sub>OH.HCl, pH se upraví amoniakem na hodnotu 3 a přidá se 5 ml octanového pufru. Roztok se umístí do separační nádoby a třepe se 3 min. se 2 – 3 částmi kuproinového roztoku. Oddělí se barevná část, rozředí se isopentylalkoholem na 25 ml a měří se při  $\lambda = 546$  nm.

### **Stanovení mědi (Cu II) kuprizonovou metodou**

Kuprizon (bis-cyklohexanon-oxylyldihydrazon) reaguje s Cu(II) v mírně alkalickém médiu (roztok amoniakální roztok citronanu) za vzniku modrého ve vodě rozpustného komplexu, který je základem spektrotometrického stanovení. Optimální pH pro reakci je mezi 8 – 9. Molární absorptivita je  $1,6 \times 10^4$  při 600 nm. Interference způsobují ionty Ni, Co, Fe, Cr a Zn.

K roztoku v 25 ml odměrné baňce, který obsahuje méně než 10 µg mědi se přidá 1 – 2 ml 10% roztoku citronanu amonného a roztok se upraví na pH = 8 – 9. Poté se přidají 3 ml kuprizonového činidla, směs se rozředí po značku vodou a po 10 min. se provede měření při  $\lambda = 600$  nm.

### **Literatura**

Li S., Li S., Chen A., 1993. Spectrophotometric determination of trace copper with a Cu-Diethyldithiocarbamate-β-cyclodextrin colour system, Talanta, Vol.40, No.7, 1085-1090 pp.



López –García I., Sánchez-Merlos M., Hernández-Córdoba M., 1997. Arsenic and antimony in soils and sediments by graphite furnace atomic absorption spectrometry with slurry sampling, *Spectrochimica Acta Part B* 52, 437-443 pp.

Ma R., van Mol W. and Adams F., 1994. Determination of cadmium, copper and lead in environmental samples. An evaluation of flow injection on-line sorbent extraction for flame atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta* 285, 33-43 pp.

Marczenko Z., 1983 in: Marczenko Z., 1986. Separation and spectrophotometric determination of elements, John Wiley & Sons, New York, 678 pp.

Marczenko Z., 1984 in: Marczenko Z., 1986. Separation and spectrophotometric determination of elements, John Wiley & Sons, New York, 678 pp.

Schramel O., Michalke B., Kettrup A., 2000. Study of copper distribution in contaminated soils of hop fields by single and sequential extraction procedures, *The Science of the Total Environment* 263, 11-22 pp.

Zhuang Z., Wang X., Yang P., Yang C., Huang B., 1994. *J.Anal.At.Spectrom.*9, 779.