Průnik antimonu do potravního řetězce člověka

Radek Janovský

Bakalářská práce
2009

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav potravinářského inženýrství
akademický rok: 2008/2009

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Radek JANOVSKÝ**
Studijní program:	**B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor:	**Chemie a technologie potravin**
Téma práce:	**PRŮNIK ANTIMONU DO POTRAVNÍHO ŘĚTĚZCE ČLOVĚKA**

Zásady pro vypracování:

Vlastnosti antimonu

Toxicita

Zdroje antimonu

Metody stanovení

Rozsah práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] REMY H., Anorganická chemie 1., Státní nakladatelství technické literatury, Praha 1961.
[2] http://www.knihovna.utb.cz/czech/databaze/new/.
[3] S. Amereih, T. Meisel, E. Kahr, W. Wegscheider, Speciation analysis of inorganic antimony in soil using HPLC-ID-ICP-MS, 2005.
[4] Zhefeng Fan, Speciation Analysis of Antimony (III) and Antimony (V) by Flame Atomic Absorption Spectrometry After Separation, 2005.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.**
Ústav potravinářského inženýrství

Datum zadání bakalářské práce: **25. února 2009**

Termín odevzdání bakalářské práce: **31. května 2009**

Ve Zlíně dne 31. května 2009

L.S.

doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan

prof. Ing. Ignác Hoza, CSc.
vedoucí katedry

ABSTRAKT

Cílem práce je shrnout vlastnosti, výskyt a průmyslové využití antimonu, jakož i metody jeho stanovení. Z vlastností je důraz kladen především na toxicitu. Výskyt se týká hlavně oblastí, z kterých antimon proniká do potravního řetězce člověka, tj. automobilový průmysl, voda, půda a vzduch. Kapitola metody stanovení antimonu shrnuje základní metody pro jeho stanovení v různých druzích vzorků. Popsány jsou tři hlavní metody, a sice molekulová ultrafialová viditelná spektrofotometrie, atomová absorpční a fluorescenční spektrometrie a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Smyslem této práce je shrnout dostupné informace o antimonu a popsat hlavní metody jeho stanovení.

Klíčová slova: antimon, stanovení, vlastnosti, toxicita, UV-VIS, AAS, ICP-MS

ABSTRACT

The aim of the work is summarize properties, occurrence and industrial use of antimony as well as methods for its determination. From properties emphasis lay on toxicity. Occurrance is mainly about arreas from which antimony infiltrates human food chain, i.e. road traffic, water, soil and air. The chapter metody stanovení antimonu summarize basic methods for its determination from different types of samples. Three main methods are described, namely ultraviolet visible spectrometry, atomic absorption and fluorescence spectrometry and inductively coupled plasma mass spectometry.

Keywords: antimony, determination, properties, toxicity, UV-VIS, AAS, ICP-MS

Poděkování

Tato práce by nevznikla nebýt trpělivého odborného vedení doc.Ing.Miroslava Fišery, CSc. Dále bych chtěl poděkovat všem zaměstnancům „pátého patra“, tzn. zaměstnancům ústavu biochemie a analýzy potravin a ústavu technologie a mikrobiologie potravin. Nemalý dík patří i mé rodině, která mě podporuje jak materiálně, tak psychicky. A nakonec patří dík i mým spolubydlícím, kamarádům a spolužákům, se kterými jsem snášel slasti i strasti studentského života.

Prohlašuji, že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků, je-li to uvedeno na základě licenční smlouvy, budu uveden jako spoluautor.

Ve Zlíně

.....

Podpis studenta

OBSAH

ÚVOD....8

1ANTIMON....9

1.1Vlastnosti a využití....10

1.2Toxicita 11

1.2.1Karcinogenita....11

1.2.2Teratogenita....12

1.3 Zdroje průniku antimonu do životního prostředí....12

1.3.1 Automobilový průmysl....12

1.3.2 Výskyt ve vodě....13

1.3.3 Výskyt v sedimentech a v půdě....13

2METODY STANOVENÍ ANTIMONU....14

2.1Stanovení celkového obsahu antimonu....14

2.2Stanovení jednotlivých forem antimonu....15

2.2.1Speciační analýza....15

2.2.2Metody stanovení forem antimonu....15

2.3SPEKTROFOTOMETRIE V UV-VIS OBLASTI....16

2.3.1Princip metody....16

2.3.2Měřící zařízení....17

2.3.3Interference....19

2.3.3.1Spektrální interference....19

2.3.3.2Nespekterální interference....19

2.3.4Stanovení antimonu....20

2.4ATOMOVÁ ABSORPČNÍ A ATOMOVÁ FLUORESCENČNÍ SPEKTROMETRIE 21

2.4.1Princip metody....22

2.4.2Atomový absorpční spektrometr....23

2.4.3Atomový fluorescenční spektrometr....24

2.4.4Generace hydridů....24

2.4.5Interference....25

2.4.5.1Spektrální interference....25

2.4.5.2Nespektrální interference....25

2.4.6Typy atomizace....26

2.4.6.1AAS s plamenovou atomizací....26

2.4.6.2 AAS s elektrotermickou atomizací....27

2.5HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE S INDUKČNĚ VÁZANÝM PLAZMATEM27

2.5.1Princip metody....28

2.5.2ICP-MS spektrometr....28

2.5.3Interference....30

2.5.4Stanovení antimonu....31

2.5.4.1 Příprava vzorku....31

2.5.4.2Dělící metody....32

ZÁVĚR....34

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY....35

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK....37

SEZNAM OBRÁZKŮ....38

SEZNAM TABULEK....39

ÚVOD

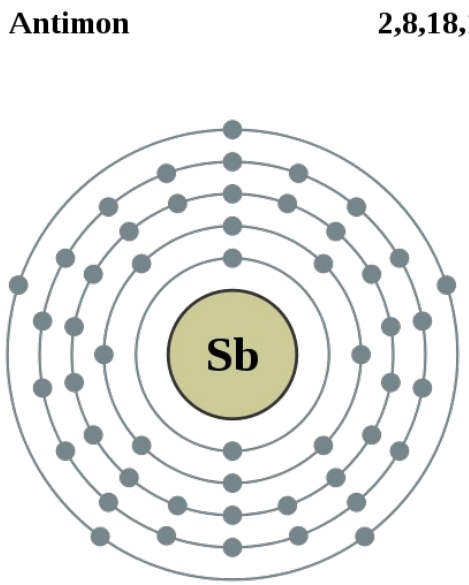
Antimon (Sb) je polokov, který pro své vlastnosti používali lidé už od doby bronzové. Kontaminování životního prostředí antimonem a s tím spojený průnik do potravního řetězce člověka, má tak velmi dlouhou tradici. V současné době je antimon a jeho sloučeniny využíván v mnoha průmyslových odvětvích. K výrobě slitin pro výrobu brzdových destiček, jako katalyzátor při výrobě PET lahví a oxidační dehydrogenaci olefínů, jako keramické kalidlo, ohnivzdorný retardér při výrobě textilu nebo třeba samozhášecí přísada při výrobě polymerů. Můžeme ho najít i v léčivech proti tropickým nemocem způsobovaných prvoky (trypanozomóza, leishmanióza, aj.). Činnost člověka ale není jediným zdrojem, odkud antimon do životního prostředí proniká. Příkladem přírodních zdrojů antimonu budiž vulkanická činnost, zvětrávání hornin nebo odnos půdy. Vzhledem k chemicko-toxikologické povaze podobné arzenu a výše uvedenému výskytu a použití, se antimonu jako kontaminantu, věnuje stále více pozornosti.

Antimon je potenciálně toxický prvek. Jeho toxicita, podobně jako je tomu u jiných toxických prvků, závisí na oxidačním stavu. Nejvíce se vyskytuje v oxidačních stavech III a V. Oxidační stav III je zhruba 10krát toxičtější než oxidační stav V. Vystavení se antimonu může způsobovat poškození buněk a orgánů, zvláště pak srdce, plic, jater a ledvin. Přesný mechanismus není dobře objasněn. Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) shledala oxid antimonitý na základě experimentů na zvířatech jako karcinogenní.

Ve srovnání s jinými prvky, jako např. As, Pb a Hg je pohyb Sb a jeho osud v životním prostředí mnohem méně znám. Protože stanovení celkového obsahu antimonu nám nepodává mnoho informací o jeho osudu v životním prostředí ani o jeho toxicitě, je důležitá i speciační analýza. Vzorky také většinou neobsahují vysoké koncentrace Sb, a proto je potřeba pro stanovení celkového obsahu antimonu i jeho forem, volit takové metody a postupy, které zajistí spolehlivé výsledky.

1 ANTIMON

Antimon má atomovou hmotnost 121.76 g/mol a atomové číslo 51, bod tání 630.5°C a teplotu varu 1635°C. V Periodické tabulce je umístěn ve skupině 5a mezi arzenem a bismutem a může se vyskytovat ve čtyřech oxidačních stavech (0, −III, +III a +V). Nejběžnější a nejstabilnější je +III stav. Navíc kromě stabilních izotopů o atomových hmotnostech 121 a 123, existují i radioaktivní izotopy s atomovými hmotnostmi 120, 122, 124, 125, 127, 129 a 132. Antimon se vyskytuje v zemské kůře v zastoupení 0,2 – 0,3 mg/kg. Je obsažen ve více než 100 minerálech, ale získává se hlavně z rudy antimonitu (Sb_2S_3), která obsahuje až 72% Sb.



Obr. 1.: elektronový obal atomu antimonu

V popílku ze spaloven a v suspendovaných složkách ze spalování uhlí bylo nalezeno až 270 ± 140 μg/g antimonu. Atmosférické koncentrace antimonu jsou 0,6 ng/m^3 ve venkovských oblastech, 15-8236 ng/m^3 v městech na severu USA, v rozsahu od 160 do 8340 ng/m^3 v Evropě a 110 až 2700 ng/m^3 na dalších místech světa. Koncentrace antimonu ve sladké a slané vodě je asi 0,2 mg/m^3, a koncentrace až do 100 mg/kg můžeme nalézt v

rostlinách. Játra, jako příklad pro živočišnou tkáň, obsahují kolem 0,002 mg/kg. Obsah antimonu se zvyšuje s věkem. Chemicko-toxikologické charakteristické vlastnosti antimonu se podobají arzenu. [1,2]

1.1 Vlastnosti a využití

Antimon znali již staré národy. Vzhledem k tomu, že může rozpustit mnoho jiných kovů včetně zlata, byl používán pro čištění zlata od mědi a stříbra až do 18. století. Zkoumání rašeliny ve Švýcarsku odhalilo významné obohacování antimonem sahající až do Římských dob. Světové rezervy antimonu jsou více než 2 miliony tun a jsou umístěný hlavně v Bolívii, Číně, Rusku, Jižní Africe a Mexiku. Aktuální světová produkce antimonu je asi 140 000 tun ročně. Antimon je používán v polovodičích pro výrobu infračervených detektorů, diod a Hall - effect zařízení (využívají se v různých senzorech jako rotační snímače otáček, snímače spotřeby tekutin nebo snímače tlaku). Přítomnost antimonu zvyšuje tvrdost a mechanickou sílu vedení. Baterie, ložiskové kovy, ruční zbraně, svítící střely a pláště kabelů jsou hlavními produkty obsahující antimon. Rovněž se využívá jako katalyzátor při výrobě PET lahví a pro výrobu slitin na produkci brzdových destiček. Oxid antimonitý (Sb_2O_3), má mnoho použití. Např. jako ohnivzdorný retardér textilního zboží, novin, plastů a lepidel; jako malířské barvivo, keramické kalidlo, katalyzátor. Oxid antimoničitý (tetrametr) (Sb_4O_8) je užívaný jako oxidační katalyzátor, zvláště pro oxidační dehydrogenaci olefinů.

Po mnoho let, byl antimon průmyslově používán pro výrobu slitin. V nynější době je antimon používán ve velkém množství jako samozhášecí přísada při výrobě polymerů. V roce 1999 byla spotřeba antimonu v USA 36 480 tun a odhadovaná distribuce použití antimonu byla následující: samozhášecí přísady, 55%; doprava, včetně baterií, 18%; chemikálie, 10%; keramika a sklenice, 7%; a další, 10%.

Antimon je používán v určitých terapeutických látkách proti významnějším tropickým nemocem, ačkoli v posledních letech je stále více nahrazován jinými látkami. Je stále používán pro léčbu několika tropických nemocí, způsobovaných prvoky, jako schistosomiáza, askariáza, trypanozomóza a bilharziáza. Pentostam a glucantime, léčiva obsahující pětimocný antimon, jsou široce užívány pro léčbu leishmaniózy (parazitární onemocnění). Sloučeniny antimonu se kdysi využívali pro léčbu syfilis. [3]

1.2 Toxicita

Obecně nejsou sloučeniny antimonu příliš toxické. Jsou méně toxické než sloučeniny arzenu, ale více toxické než sloučeniny bismutu. Stiban (SbH_3), vysoce toxický plyn, je výjimka a může vznikat, když se vodík dostane do kontaktu s kovovým antimonem. Například v přebitých bateriích, během svařování, pájení nebo leptání. V oxidačním stupni III, který je obecně více toxický než oxidační stav V, se toxické efekty sloučenin antimonu se podobají odpovídajícím sloučeninám arzenu. Vystavení se antimonu může způsobovat poškození buněk a orgánů, zvláště pak srdce, plic, jater a ledvin. Přesný mechanismus není dobře objasněn. Toxické účinky jsou viditelné u psů po přijímání 4 mg/kg vínanu antimonito draselného z potravy. U koček a králíků se takové účinky projevují po 10 mg/kg. dávka větší než 100 mg/kg je smrtící. Koně, krávy a ovce se zdají být odolnější než králíci.

U člověka byla intoxikace pozorovaná po inhalaci průmyslových prachů, požití kontaminované dešťové vody, nebo po nadměrném příjmu léků obsahujících antimon. Tyto případy jsou v rozvinutých zemích vzácné a v několika případech mohou být přisuzovány jiným kovům vyskytujících se ve znečišťující látce. Pokud se člověk dostane do kontaktu s vysokými koncentracemi solí antimonu, může se vyskytnout podráždění kůže a sliznic. Při požití mohou sloučeniny antimonu způsobit gastrointestinální poruchy a zvracení. Srdeční toxicita je pravděpodobně hlavní příčina smrti u pacientů léčených léky obsahujících antimon. Na druhé straně jsou sloučeniny antimonu obecně špatně absorbovatelné (asi 15%), nehromadí se v těle a jsou relativně dobře vylučovány. Vínan antimonito-draselný (dříve nazývaný dávivý zubní kámen; $C_8H_4K_{12}O_{12}Sb_2 \cdot 3H_2O$) byl užíván (a někdy zneužíván) na začátku tohoto století a může způsobit, jako vedlejší účinek, poškození jater a srdce. Dávka 0,1 g zubního dávivého kamene může u některých jedinců způsobit smrt. Dnes jsou tyto trojmocné sloučeniny antimonu zřídka užívány. Pětimocné sloučeniny antimonu, jako glukonát antimonično-sodný ($C_6H_8NaO_7Sb$) a meglumin antimonitý ($C_7H_{18}NO_8Sb$), ačkoli méně toxické než trojmocné, mohou rovněž poškozovat srdce a ledviny. [2]

1.2.1 Karcinogenita

V některých studiích, které zahrnovali laboratorní zvířata a zaměstnance hutí bylo zjištěno, že inhalace určitých sloučenin antimonu způsobuje plicní nádory. Nutno podotknout, že pokusná zvířata stejně jako pracovníci, byli současně vystaveni dalším sloučeninám, zvláště vysoce karcinogennímu arzenu. V jednom z experimentálních výzkumů, byly samice krys vystaveny 1,6 a 4,3 mg/m^3 komerčního oxidu antimonitého (obsahující 0,02% arzenu). Bylo pozorováno zvýšení výskytu plicních nádorů, včetně

karcinomů, zvláště ve skupině, která byla vystavena vyšší dávce. Další inhalační studie užívala 45 mg/m^3 oxidu antimonitého (také obsahující 0,04% arzenu a až 3% titanu) nebo 36- 40 mg/m^3 komerční rudy (obsahující navíc Sb_2S_3 (46% antimonu). Zvířata trpěla plicní fibrózou, hyperplaziemi a metaplaziemi. Ale jen samice, nikoli samci krys. Takový rozdíl vnímavosti mezi pohlavími je pozoruhodným, ale ne jedinečný a byl nalezen například u inhalace sazí. Zdá se, že nejsou dostupné žádné informace o karcinogenitě antimonu u člověka, spojené s orálním užitím a žádný nárůst rakoviny nebyl pozorován ani u krys nebo myší krmených 0,262 nebo 0,35 mg antimonu/kg/den. Nebyla nalezena žádná informace o tom, že by antimon způsoboval rakovinu u člověka či u zvířat po kontaktu s kůží. Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) shledala na základě experimentů na krysách a myších, že pro uznání karcinogenity oxidu antimonitého byly důkazy dostatečné a pro síran antimonitý byl karcinogenní efekt shledán jako omezený. Není ovšem jisté, zda se antimon podílel na vzniku rakoviny u laboratorních zvířat a u člověka, protože látka, které byli vystaveni obsahovala další substance, zvláště pak arzen.[1]

1.2.2 Teratogenita

K dispozici není mnoho studií, které by se zabývaly potencionální teratogenitou sloučenin antimonu. Pozdější studie u myší ani u krys neprokázaly fetální toxicitu, po dávce asi 50 mg Sb/kg tělesné hmotnosti antimonu dextran glykosidu podanému mezi 8 a 14 dnem těhotenství. Antimon zřejmě neproniká placentou. Další ruská studie používala inhalaci 250 mg/m^3 oxidu antimonitého, po 4 h denně, v době 1,5 - 2 měsíců před pářením. Bylo pozorováno snížení počtu těhotenství u postižených zvířat z 10/10 na 16/24. Žádná změna v početnosti vrhu nebo v hmotnosti plodu však nebyla pozorována. [1]

1.3 Zdroje průniku antimonu do životního prostředí

1.3.1 Automobilový průmysl

Komponenta brzdových destiček, která se zdá s toxikologického hlediska zvláště problematická, je antimon (Sb). Brzdové destičky jsou matrice polymeru sestávající se z vláken, plniče a modifikátorů (tuhá maziva, elastomery), držené pohromadě pojivem. V produkci je aktuálně používáno přibližně 150 sloučenin a jedna destička se obvykle sestává z více než deseti sloučenin. Sb je užívaný ve formě Sb_2S_3. Slouží jako mazadlo k redukci kmitů a zlepšuje stabilitu tření. Sb přítomný v brzdových obloženích osobních vozidel, se tak ve zvýšené míře dostává do životního prostředí, což souvisí se zvyšující se

automobilovou dopravou. Společnosti vyrábějící brzdové destičky aktuálně vyvíjejí brzdová obložení neobsahující antimon, která byla poprvé uvedena na trh asi před 3 roky.[4]

1.3.2 Výskyt ve vodě

Přítomnost antimonu v podzemních vodách je převážně důsledek zvětrávání skalních masivů, odnosu půdy a lidské činnosti. Typické koncentrace rozpuštěného antimonu ve neznečištěných vodách jsou menší než 1μg/l. V blízkosti antropogenních zdrojů, mohou koncentrace dosahovat 100krát vyšší úrovně. Antimon je ve značných koncentracích přítomen v usazeninách z horkých pramenů a v geotermálních vodách. Byly nalezeny koncentrace v rozsahu od 500 mg/l až do 10 m/m%. Koncentrace antimonu v oceánech je asi 200 ng/l.

Celkové koncentrace antimonu ve vodných a pevných vzorcích prostředí mohou být stanovovány běžnými analytickými metodami.[3]

1.3.3 Výskyt v sedimentech a v půdě

Zastoupení antimonu v usazeninách a v půdě se pohybují kolem několika μg/g. Vyšší zastoupení přímo souvisí s antropogenními zdroji, hlavně s blízkostí hutí. Rovněž byly hlášeny zvýšené koncentrace v usazeninách blízko výtoků odpadních vod a zařízení, kde se vyrábějí hnojiva. O pohybu antimonu v půdách se toho bohužel neví mnoho. Podle Toxic Release inventory (USEPA, 1998), se do půdy a vody v USA (v letech 1987 až 1993), uvolnilo 5,5 milionu kg antimonu a jeho sloučenin. Z toho téměř naprostá většina do půdy (půda: 5 456 079 kg, voda: 150 029 kg). Těch málo dat, která jsou k dispozici, poukazuje na kumulaci antimonu ve vrchních vrstvách půdy. Koncentrace se potom snižuje s hloubkou. To signalizuje, že zdroj antimonu je nejspíše atmosférický a v atmosféře nereaktivní. Antimon ve znečištěných půdách je většinou nepohyblivý. Není vyloučeno, že velká část antimonu v kontaminovaných půdách, je uložena v nereaktivní formě. Na druhé straně se nezdá, že antimon z kontaminovaných půd proniká do organismu. U obsahu antimonu v bezobratlých a v rejscích, kteří se jimi živí, nebyl pozorován žádný výrazný nárůst.

Vysoké koncentrace antimonu v sulfidových rudách, jsou obecně spřažené s vysokými koncentracemi arsenu a výskyt antimonu v půdě je svázána i se zlatem. To potvrzuje chalkofilní povahu tohoto prvku.[3]

2 METODY STANOVENÍ ANTIMONU

2.1 Stanovení celkového obsahu antimonu

V posledních třech dekádách byly k identifikaci a stanovení antimonu navrhovány četné analytické metody a experimentální přístupy, jejichž cílem bylo získání spolehlivých dat a správných výsledků. Atomové spektrometrické metody založené na absorpci záření v plameni (FAAS), v elektrotermickém atomizátoru (ETAAS), na atomové fluorescenci (AFS) a optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES) a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS), byly a jsou ve velké míře užívány pro stanovení Sb v různých druzích vzorků. I přes množství výhod analytických metod využívajících plazmový zdroj k excitaci iontů, je někdy jejich schopnost stanovení pro určení velmi nízkých úrovní Sb nedostatečná. V této souvislosti můžeme zmínit, že pro stanovení antimonu byla značně využívána online prekoncentrace, která používá specifických pohlcovadel a biosorbentů. [5]

Zavádění antimonu v plynné formě do měřícího systému, se ukázalo jako užitečný nástroj ke značné minimalizaci problémů souvisejících s interferencí matrice a také ke značnému zlepšení citlivosti měření. To je důvod, proč se technika generování hydridů (dále jen HG – hydrid generation) v kombinaci s rozmanitostí atomových a na plazmě založených technik, staly důležitou metodou pro stanovení Sb ve stopovém a ultrastopovém množství. Navzdory známým výhodám je HG ovlivněná různým druhem interferencí v kapalné a plynné fázi. Pro zmírnění či řešení tohoto problému, musí být fyzikální a chemické generační podmínky opatrně optimalizovány nebo musí být zváženo použití komplexotvorných nebo maskujících činidel.

Rostoucí pozornosti se dostalo atomové fluorescenční spektrometrii spojené s HG. Především pro stanovení Sb ve stopovém množství, vzhledem k její vysoké citlivosti, širokému rozsahu (4–6 řádů), jednoduchosti a velmi nízké pořizovací ceně. Hranice odhalení antimonu je srovnatelná s technikou ICP-MS. Hlavní výhodou fluorescence ve srovnání s měřením pomocí absorpce, je větší dosažitelná citlivost, protože signál fluorescence má velmi nízké pozadí.

Méně běžné metody (které však nejsou předmětem této práce), užívané spolu nebo v kombinaci s prekoncentrací či HG, pro celkové stanovení antimonu jsou: Atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP AES), neutronová aktivační analýza (NAA), rentgenová fluorescenční spektrometrie (XRF), laser indukovaná fluorescence a

elektroanalytické metody jako anodická rozpouštěcí voltametrie (ASV), katodická rozpouštěcí voltametrie (CSV), diferenční pulsní polarografie (DPP). Důležitého pokroku u atomových spektrometrických metod bylo dosaženo zlepšením přístrojů stejně jako použitím nových metod pro přípravu vzorků. [5]

2.2 Stanovení jednotlivých forem antimonu

2.2.1 Speciační analýza

Význam chemických forem prvků a vznik prvkové speciační analýzy na stopových hladinách byl předpovězen před více než dvaceti lety. V průběhu let se toto odvětví neustále vyvíjelo, ve snaze vyrovnat se s neustále se zvyšující poptávkou po kompletních informacích o specifické sloučenině (chemické složce). Od doby, kdy jsou chemické formy (složky) zodpovědné za toxicitu, pohyblivost a tím pádem za různý enviromentální dopad uvažovaného kovu nebo prvku, neustále roste význam této oblasti.

Je zřejmé, že zájem o vznik speciační analýzy byl zpočátku hnán zájmy o životní prostředí: organokovové sloučeniny Pb, Hg nebo Sn jsou uvolňovány do atmosféry, voda, usazeniny a jejich toxicita představuje vážnou hrozbu živým organismům (a lidskému zdraví). Hybridní metody, ve kterých je spojeno výkonné oddělování hledaných složek se specifickým detektorem prvků (hlavně atomové detektory) se jeví jako nejvhodnější pro speciační analýzu.

Využití těchto metod bylo brzy rozšířeno na určování stopových prvků v biologických materiálech ve všech možných živých organismech. V živých organismech byly pro daný prvek následkem metabolismu objeveny četné neznámé sloučeniny (například neidentifikované chromatografické signály obsahující určitý prvek). Mnoho složek bylo objeveno používáním ICP-MS, vzhledem k její extrémní citlivosti spojené s vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC). Důvodem, proč má metoda HPLC-ICP-MS největší potenciál pro stanovení složek v biologickém materiálu, je převážně kapalná a polární povaha biologických tekutin.[6]

2.2.2 Metody stanovení forem antimonu

Vznik speciační analýzy se stal nezbytným nástrojem pro studování biogeochemie a potenciálních toxických hledisek antimonu stejně jako pro regulační účely. Všechny tyto problémy vedly k vývoji postupů a technik, které zahrnují spojení separace s citlivým a přesným elementárním specifickým stanovením. [5]

Četné analytické metody separace a stanovení, byly navrhovány k tomu, aby identifikovaly a stanovovaly jednotlivé formy Sb. Klasické metody byly založené na stanovení Sb(III), přičemž Sb(V) se vypočítal jako rozdíl mezi celkovým Sb a Sb(III). [5]

Plynová chromatografie (GC) a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) jsou zvláště vhodné pro analýzu různě vázaných forem Sb. Obzvláště HPLC vykazuje ohromnou flexibilitu a může být užívána pro oddělení netěkavých a termolabilních sloučenin. GC spojená s hmotnostní spektrometrií (GC–MS), poskytuje užitečné informace o molekulové nestabilitě jednotlivých forem Sb. GC byla připojena k ICP-MS, aby se zvýšila citlivost u studia nestálých sloučenin antimonu. Nízkoteplotní GC spojená s ICP-MS byla užívána pro identifikaci nestálých sloučenin antimonu v plynech a kondenzátech z domácího odpadu. [5]

Mezi nejslibnějšími kombinovanými přístupy, je pro studium jednotlivých forem nejvíce užíváno spojení HPLC s ICP-OES nebo ICP-MS. Toto spojení nám poskytuje výhodu výkonné dělící metody, charakterizované vysokou mírou selektivity společně se simultánní multielementální identifikační schopností, prvkovou specifitou a širokým dynamickým rozsahem metod, využívajících k ionizaci plazmový zdroj. [5]

2.3 SPEKTROFOTOMETRIE V UV-VIS OBLASTI

Molekulová ultrafialová viditelná spektrometrie nebo molekulová ultrafialová viditelná spektrofotometrie (UV-VIS nebo UV/VIS) zahrnuje spektroskopii fotonů v ultrafialové a viditelné oblasti. Absorpce viditelného světla molekulami látek přímo ovlivňuje jejich barvu. V této oblasti elektromagnetického záření podstupují molekuly elektronové přechody. Tato metoda je doplňkovou metodou k molekulové fluorescenční spektroskopii.

2.3.1 Princip metody

Ultrafialové a viditelné záření tvoří malý úsek z oblasti elektromagnetického vlnění v rozmezí 10 až 1000 nm. Ultrafialové a viditelné záření je, díky své kratší vlnové délce, energeticky účinnější než záření infračervené, a proto se jeho absorpcí excituje elektronový systém, resp. valenční elektrony atomu nebo molekuly. Absorpcí elektromagnetického záření se zvyšuje celková energie atomu nebo molekuly a tyto se dostávají ze svého

základního stavu o energii E_0 do stavu excitovaného s energií E_1. Podle kvantové teorie záření je každý monochromatický paprsek vlnové délky λ nebo odpovídající frekvence v tok fotonů, tj. kvant energie o hodnotě

$$\Delta E = hv = \frac{hc}{\lambda}$$

kde h je Planckova konstanta. Energie ΔE, kterou atom nebo molekula přijme při přechodu do excitovaného stavu

$$\Delta E = E_1 - E_0$$

Je rovna energii absorbovaných fotonů. Je tedy možné vypočítat vlnovou délku příslušné absorpce, známe-li velikost energetických přechodů uvnitř molekul nebo naopak je možno podle změřené vlnové délky vypočítat hodnotu ΔE.

Absorpce ultrafialového a viditelného záření je výsledkem interakce záření – molekula (atom). Sledujeme ji na *absorpčním spektru*, tzn. na grafu závislosti absorbanci na vlnové délce záření.

Zákon Lambertův-Beerův udává vztah mezi absorbovaným zářivým tokem, tloušťkou absorbujícího prostředí a jeho koncentrací. Absorpce zářivého toku tedy není podmíněna jen tloušťkou absorbující vrstvy, ale závisí též na množství složky nebo složek, tj. na jejich koncentraci *c*. Vztah mezi tloušťkou vrstvy (*l*), koncentrací absorbující složky a velikostí absorpce definuje spojený Lambertův-Beerův zákon

$$A = \varepsilon c l$$

kde ε je molární absorpční koeficient, který v rozsahu platnosti zákona je pro danou látku konstantou nezávislou na koncentraci *c* za podmínky, že se nemění vlnová délka světelného toku a teplota. Platnost Lambertova-Beerova zákona je nutným předpokladem pro jakákoli spektrofotometrická nebo fotometrická měření. Nejčastěji se ověřuje vynesením funkční závislosti $A = f(c)$ při l = konst. Tento vztah se nazývá kalibrační křivka.

2.3.2 Měřící zařízení

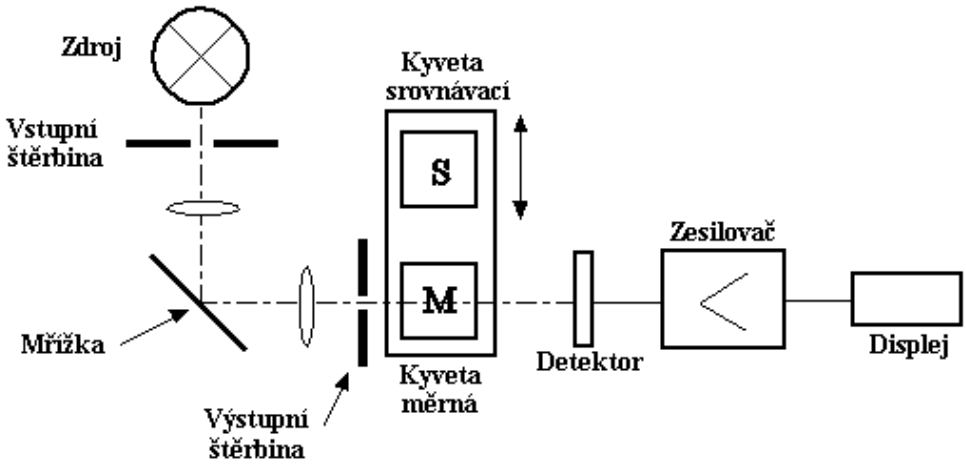
Každý fotometr nebo spektrofotometr se skládá z řady základním prvků (obr.3). Jsou to zdroj zářivé energie, monochromátor (mřížka), kyveta, detektor zářivé energie a fotonásobič nebo jiný zesilovač. Pro přesné vedení světelného toku je přístroj vybaven pomocnou optikou, kterou tvoří zpravidla soustava čoček, hranoly, zrcadla, atp.

Jako zdroj slouží nejčastěji vhodná žárovka s wolframovým vláknem nebo výbojka. Žárovky a halogenové žárovky poskytují záření o spojitém spektru ve viditelné a infračervené oblasti, nelze je však použít pro měření v UV oblasti. Pro UV oblast (180 – 400 nm) se používají vodíkové nebo deuteriové výbojky. Deuteriové spojité záření má dvojnásobnou až trojnásobnou intenzitu, a proto je dnes více používáno. Spojité ultrafialové záření dává též xenonová výbojka. Abychom získali záření určité vlnové délky(monochromatické), prochází světelný tok monochromátorem, tj. lámavými hranoly nebo mřížkou v kombinaci se štěrbinami a odrazovými zrcadly jako pomocnými prostředky pro vedení světelného toku. Nakláněním mřížky lze pak plynule měnit vlnovou délku. Rozsah vlnových délek, které z monochromátoru vycházejí, určuje štěrbina.

Dalším prvkem soustavy, do kterého míří monochromatické světlo, je kyveta, která se vkládá mezi monochromátor a detektor záření. Nejjednodušší jsou kyvety válcové, ale pro přesnější měření se používají kyvety hranaté, které mají konstantní vzdálenost i tloušťku dvou planparalelních stěn. Kyveta musí samozřejmě propouštět světlo požadované vlnové délky. Běžně se vyrábějí ze skla, pro UV záření však musejí být křemenné.

Světlo ze vzorku dopadá na detektor v podobě fotonek a fotoelektrických násobičů. V rozsahu ultrafialové a viditelné části spektra se používají dvě fotonky, tzv. modrá fotonka pro UV a viditelnou oblast do 600 nm a nad 600 nm cesiová, tzv. červená fotonka. Intenzita se vyhodnotí pomocí systému převodníků, srovná se s intenzitou světla procházejícího slepým vzorkem, a tím se získá absorbance. [12]

Kromě tzv. jednopaprskových fotometrů, v nichž se nejprve měří slepý vzorek a pak se do stejné optické dráhy vkládá měřený vzorek, se používají i tzv. *dvoupaprskové fotometry*, které jsou vybaveny dvěma detektory a umožňují měřit slepý i měřený vzorek současně ve dvou optických drahách.



Obr. 2.: zjednodušené schéma fotometru

2.3.3 Interference

2.3.3.1 Spektrální interference

Interference jsou v kvalitativní a kvantitativní analýze, prováděné pomocí UV-VIS spektrometrie, poměrně častým jevem. Jako interferent působí kontaminující látka, která nám dává stejný absorpční signál stejné vlnové délky nebo rozsahu vlnových délek, jako analyt. V případě kvalitativní analýzy se interference projeví jako odlišné absorpční spektrum, což v případě, že nevíme o přítomnosti kontaminantu, vede ke špatným výsledkům. V případě kvantitativní analýzy se nepřesnost projevuje jako vyšší absorbance, než jakou bychom naměřili bez kontaminantu. Absorbance je aditivní, tudíž se přičítá k absorpčnímu signálu analytu a vede k pozitivní chybě. Tyto problémy se dají vyřešit vhodnou dělící technikou (např. HPLC), pomocí které odstraníme interferent ze vzorku.

2.3.3.2 Nespekterální interference

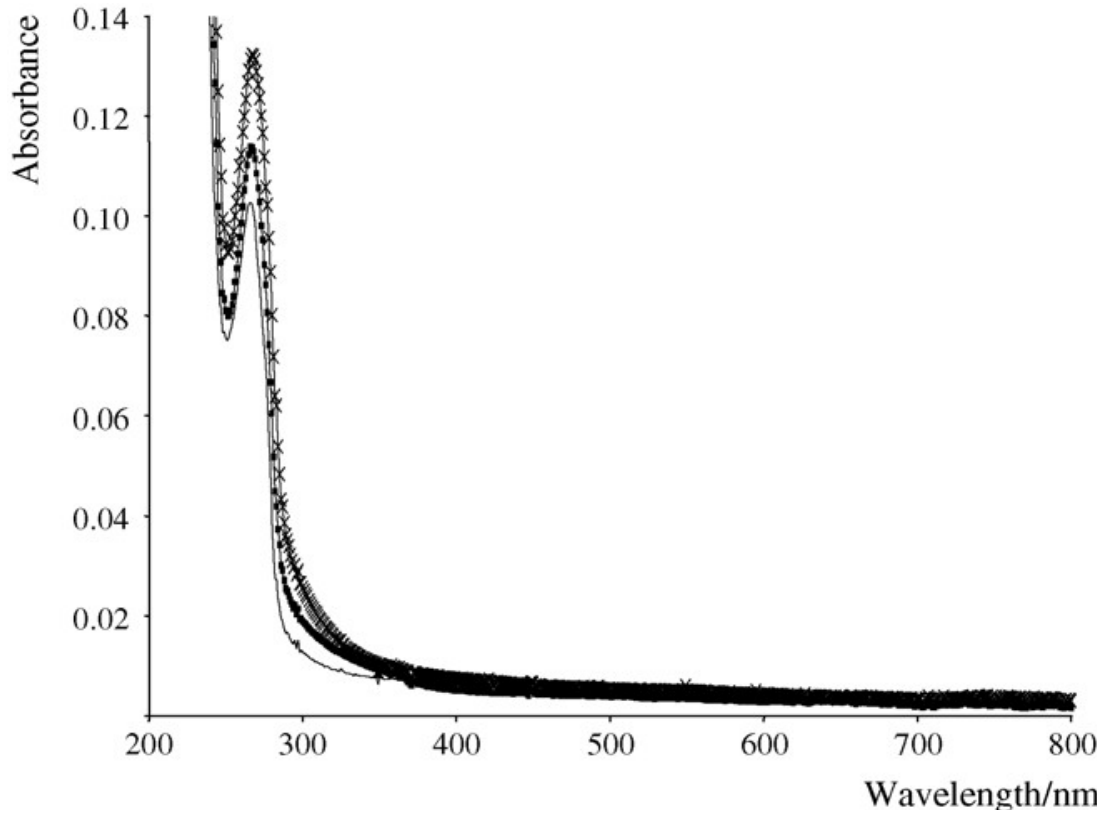
Nelineárnost kalibrační křivky je způsobena odchylkami od Lambertova-Beerova zákona. Tato chyba se nejčastěji vyskytuje při vysokých koncentracích analytu. Tyto odchylky mohou být jak chemického, tak instrumentálního charakteru. Instrumentální odchylku způsobuje nepřesnost přístroje při extrémně nízkých nebo vysokých hodnotách transmitace – tzn. při hodnotách blížících se 0% T nebo 100% T. Chemické odchylky se vyskytují, pokud vysoká nebo nízká koncentrace analytu způsobuje posun chemické rovnováhy v roztoku a tím přímo nebo nepřímo ovlivňuje absorbanci. K odstranění této chyby je nutné pracovat v oboru užších koncentrací (např. naředěním neznámého vzorku).[13]

2.3.4 Stanovení antimonu

Pro stanovení antimonu se využívá reakcí s nejen anorganickými, ale hlavně organickými činidly. Za anorganických činidel se používá kyselin a jejich aniontů. Pro antimon se používá I^-. Mnohem více se používá činidel organických. Z thiosloučenin je to thiomočovina, z trifenylmethanových barviv např.: brompyrogallolová červeň, pyrokatechinová violeť a methythymolová modř, což jsou činidla sloužící též jako komplexometrické indikátory. Z flavonových barviv lze použít kvercetin a použít se může i derivát fluoronu, fenylfluoron. Z dále používaných komplexotvorných činidel lze uvést např. pyrogallol.

Pokud jsou v médiu současně přítomny Sb(III) a Sb(V) ionty, je jejich současné stanovení v jedné jediné fázi použitím UV-vis spektrometrie, problematické. Jejich signály se překrývají, což znemožňuje jejich rozpoznání. Zcela nejběžnějším řešením problému překrývajících se signálů, jsou matematické postupy (s úspěchem lze použít regresní metody, např. PLSC kalibrace).

Pro Sb(III) se proměřují vlnové délky v oblasti mezi 220 nm a 290 nm a pro Sb(V) potom mezi 220 nm a 320 nm (viz. Obr.5)



Obr. 3.: UV–vis spektrum: (—), 10^{-4} mol.dm^{-3} Sb(III); (■),10^{-4} mol.dm^{-3} Sb(V); (×), 5×10^{-5} mol.dm^{-3} Sb(III) a 5×10^{-5} Sb(V). pH = 2 (Brittnův–Robinsonův pufr); [pyrogallol] = 2×10^{-4} mol.dm^{-3}. [14]

2.4 ATOMOVÁ ABSORPČNÍ A ATOMOVÁ FLUORESCENČNÍ SPEKTROMETRIE

Atomová absorpční spektrometrie a atomová fluorescenční spektrometrie (AAS a AFS) jsou spektrometrické analytické metody sloužící ke stanovení obsahu stopových i významných koncentrací jednotlivých prvků v analyzovaném roztoku. Lze jimi analyzovat přes 60 prvků periodické tabulky s citlivostí od setin do stovek mg/kg. Největší rozmach zaznamenaly tyto metody v 60. – 80. letech 20. století, kdy patřily k nejcitlivějším a nejvíce užívaným instrumentálním analytickým metodám.

2.4.1 Princip metody

Podstatou metody je absorpce vhodného elektromagnetického záření volnými atomy v plynném stavu. Při absorpci záření nastává excitace elektronu.

Pro absorpci platí Lambertův-Beerův zákon, který pro čárové spektrum nabývá tvaru

$$I = I_0 e^{-\chi n l}$$

kde I_0 a I je intenzita čáry před průchodem a po průchodu absorbující vrstvou tloušťky l, χ - atomový absorpční koeficient charakteristický pro danou čáru a n – počet volných atomů daného prvku v jednotce objemu (cm^3). Ze zeslabení procházejícího paprsku lze tedy při neměnícím se χ a l usuzovat na koncentraci atomů n.

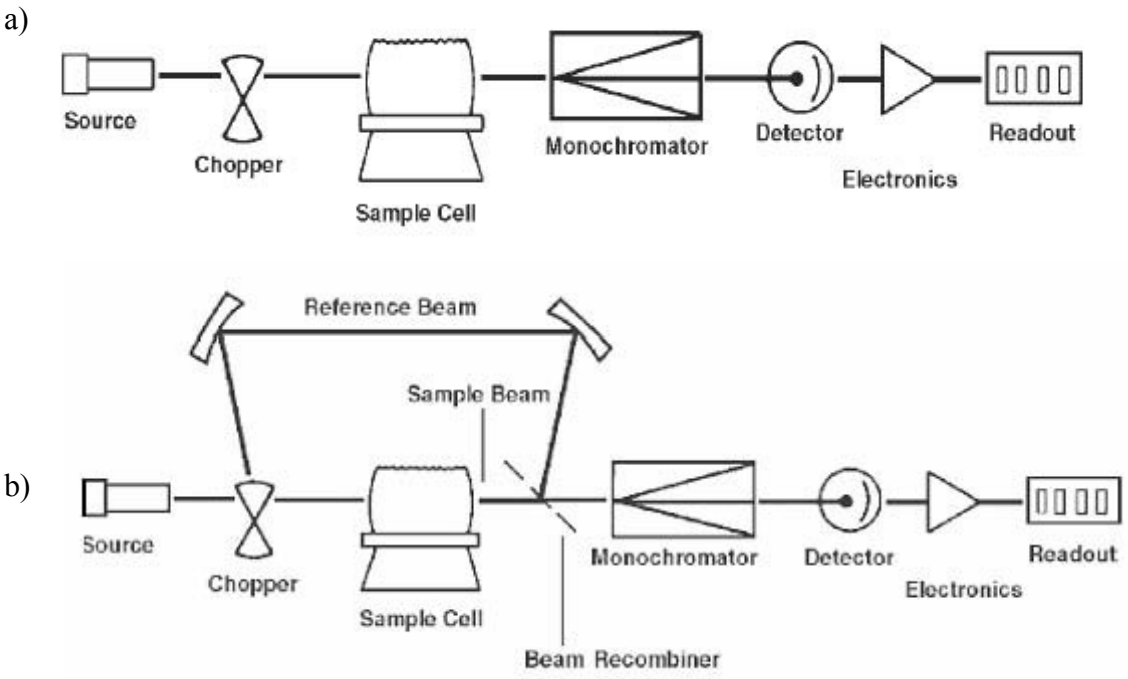
Absorpcí světelného kvanta přechází atom do excitovaného stavu. Takto nabytou energii buď opět vyzáří ve formě *fluorescenčního záření* nebo ji srážkami s okolními částicemi ztrácí. V tom případě se budící energie přemění na jiné formy energie, např. rotační, translační, atp. Podíl fotonů, které jsou reemitovány jako fluorescence z celkového počtu fotonů absorbovaných za jednotku času, se nazývá *kvantová účinnost fluorescence* a značí se Y. Jelikož fluorescenční záření je vyzařováno všemi směry, je měřený signál závislý i na pozorovaném prostorovém úhlu Ω. Intenzita fluorescenční čáry má tedy tvar

$$I_F = \frac{\Omega \cdot Y}{4\pi} \cdot (I_0 - I) = \frac{\Omega \cdot Y}{4\pi} \cdot I_0 \cdot \left(1 - e^{-\chi n l}\right)$$

V *atomové absorpční spetrometrii* (AAS) se tedy měří zeslabení paprsku po průchodu analytickým prostředím, zatímco v *atomové fluorescenční spetrometrii* (AFS) se měří fluorescenční záření obvykle kolmo k excitujícímu paprsku. [12]

2.4.2 Atomový absorpční spektrometr

Na obrázku č.6 jsou znázorněna jednoduchá schémata dvou typů atomových absorpčních spektrometrů. Jednopaprskový, který měří sekvenčně nejprve neabsorbovanou čáru a pak absorbovanou (a) a dvoupaprskový, který porovnává dva paprsky, kdy jeden jde přes absorbující prostředí a druhý, srovnávací, jde mimo (b)[9]. Záření vydávané zdrojem (většinou výbojka s dutou katodou - HCL nebo méně často bezelektrodová výbojka - EDL) je elektronicky nebo použitím vrtulky (rotační kovový disk) přizpůsobeno a přerušovaně projde skrz atomizátor (plamenový nebo elektrotermický), který slouží k převedení vzorku do stavu volných atomů. Jeho teplota by měla být dostatečná k atomizaci, ale nižší než je třeba k excitaci atomů. Potřebná teplota je kolem 2000 až 3000°C [9]. Spektrální čára (nebo čára užívaná pro analýzu) je vybrána monochromátorem, jehož základní součástí je mřížka a detektorem převedena na elektronický signál (fotonásobič s napojený na vyhodnocovací zařízení). Zařízení obsahuje také mnoho optických součástí (čočky, zrcadla, atd.), které záření udělují směr a mnoho elektronických obvodů pro zpracování signálu (vyhodnocovací zařízení, elektrotermický atomizátor, autosampler, atd.).[10,11]

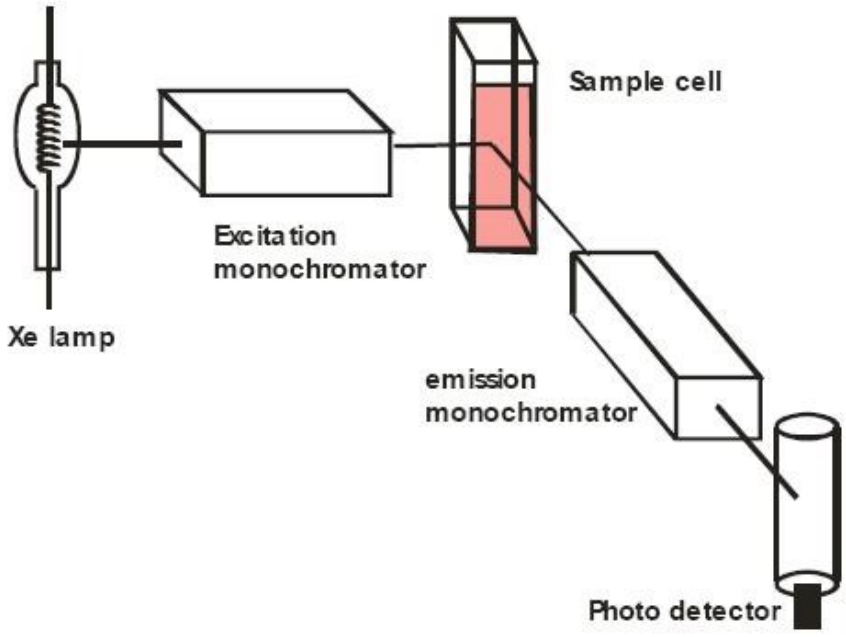


Obr. 4.: diagram jednopaprskového a dvoupaprskového spektrometru

2.4.3 Atomový fluorescenční spektrometr

Atomový fluorescenční spektrometr má stejné součásti jako absorpční, ale v jiném uspořádání, neboť se místo zeslabení paprsku měří fluorescenční záření vyvolané absorpcí primárního paprsku. Zdroj záření je umístěn mimo optickou osu přístroje, obvykle kolmo k absorpčnímu prostředí. Jelikož fluorescenční signál je úměrný prostorovému úhlu měřeného záření, je pro velkou citlivost stanovení nutný přístroj s velkou světelností. Pro AAS není rozhodující světelnost přístroje, a proto obvykle nejsou monochromátory atomových absorpčním spektrometrů pro AFS vhodné.

Z tohoto hlediska jsou výhodnější filtrové přístroje, popř. přístroje bez spektrální izolace měřeného záření nějakým optickým prvkem, tzv. bezdisperzní AF spektrometry. Selektivita AFS je dána použitým primárním zdrojem, který je schopen excitovat pouze atomy sledovaného prvku.



Obr. 5.: schéma fluorescenčního spektrometru

2.4.4 Generace hydridů

Sb může být převeden v hydridovém generátoru na těkavé hydridy. Na vzorek se v něm působí tetrahydridoboritanem sodným ($NaBH_4$) v kyselém prostředí. Při reakci se vyvíjejí příslušné hydridy kovu, v našem případě Sb, které unáší proud inertního plynu (Ar, N_2) do atomizátoru [9]. Tato technika je známá jako AAS s generací hydridů (HG AAS). Je

většinou bez interferencí, protože analyty ve formě hydridu jsou odděleny od roztoku vzorku a matrice není v absorpční komůrce přítomná. K tomu, aby došlo ke zkoncentrování analytických elementů, jsou plynné hydridy chytány různými pastmi, ještě před dosažením rozprašovače. Hydridy, uvolněné z kapalné dusíkové pasti, jsou zhuštěny mrazením. Během kroku, kdy jsou hydridy chytány do pastí, je analyt koncentrován a nadměrný vodík vytvořený v generátoru je odstraněn. Zachycené (zmražené) hydridy jsou pak v atomizátoru tepelně rozloženy. Teplota musí být vybrána tak, aby se hydrid rozložil teplem na atomární páru.[10]

2.4.5 Interference

Kvantitativní vyjádření pomocí AAS je založené na srovnání absorbance pro analyt ve standardu s absorbancí pro vzorek za předpokladu, že jejich citlivosti jsou stejné. To znamená, že stejné koncentrace analytu ve standardu a ve vzorku způsobí stejnou absorbanci. To je nutná podmínka pro přesnost, která ale většinou nemůže být poskytnuta kvůli interferencím. Interference je klesající nebo rostoucí efekt matice na citlivost analytu. Interference jsou rozdělené na dvě hlavní skupiny totiž spektrální a nespektrální interference.

2.4.5.1 Spektrální interference

Jsou způsobeny nedokonalou izolací absorpčního signálu analytu a interferentu. Překryv absorpčních linií čárových atomových spekter je v AAS dosti vzácný. Záření primárního zdroje však může při průchodu absorpčním prostředím zeslabeno nejen volnými atomy analytu, ale i tzv. nespecifickou absorpcí, která je způsobena rozptylem záření na nevypařených částicích aerosolu a molekulovou absorpcí. Zatímco rozptyl se projevuje nejvíce v oblasti krátkých vlnových délek (do 250 nm), má absorpce molekulami širokopásmový charakter a projevuje se v celé využitelné oblasti spektra. Nespecifická absorpce se přičítá k signálu analytu a vyvolává vždy pozitivní chybu. Korekce neselektivní absorpce se nejčastěji provádí pomocí zdroje kontinuálního záření, kterým bývá v ultrafialové oblasti (do 350 nm) deuteriová výbojka a ve viditelné oblasti halogenová žárovka s wolframovým vláknem.[11]

2.4.5.2 Nespektrální interference

Zahrnují ostatní jevy, např. rušivý vliv transportu vzorku do plamene (změny v rychlosti sání a účinnosti zmlžování ovlivněné různým povrchovým napětím, hustotou a viskozitou vzorků), rušivý vliv vypařování kondenzované fáze vznikem sloučenin s odlišnou těkavostí

a interference v plynné fázi, dané posunem disociační a ionizační rovnováhy a změnami prostorového rozložení volných atomů v plameni. Nespektrální rušivé vlivy nejsou aditivní, mohou tedy vyvolat jak kladné tak záporné chyby a náhodně může dojít i k jejich vzájemné eliminaci.[11]

2.4.6 Typy atomizace

2.4.6.1 AAS s plamenovou atomizací

Název FAAS (plamenová atomová absorpční spektrometrie) označuje metodu, při níž je v atomizátoru použit plamen. Tzv. plamenový atomizátor pracuje na principu pneumatického zmlžování nebo ultrazvukového rozprašování roztoku vzorku. Aerosol vzorku je vnášen plynem do plamene, kde se atomizuje. Plamen je dlouhý 10 až 12 cm, aby absorpční dráha byla co nejdelší. Podle druhů paliva se dosahuje různých teplot. V průběhu vývoje metody AAS se objevila řada kombinací spalovaného a oxidačního plynu. Příklady kombinací jsou propan – vzduch (2100°C) nebo acetylen – oxid dusný (2900°). [9] Zároveň hořáky pro spalování uvedených plynů mají v současné době standardní délku 100 a 50 mm, jsou však vždy nastavitelné z hlediska pozice průchodu měřeného světla různou oblastí plamene. Je to proto, že plamen vykazuje značně rozdílné fyzikální vlastnosti především z hlediska lokální teploty, ale i oxidačních schopností – můžeme zde nalézt zóny s výrazně redukčními nebo naopak oxidačními schopnostmi.

Palivo	Oxidovadlo	Teplota/(°C)
Propan	Vzduch	1 900
Acetylen	Vzduch	2 300
Acetylen	Kyslík	3 100
Acetylen	Oxid dusný	3 000
Vodík	Kyslík	2 600

Tab. 1.: teploty plamene při různém složení směsi

2.4.6.2 AAS s elektrotermickou atomizací

Využití techniky bezplamenné atomizace přináší zvýšení citlivosti stanovení až o několik řádů oproti plameni, je však nutno vyřešit řadu problémů spojených nespecifickou absorpcí světla způsobenou nerozloženými zbytky matrice vzorku a dalšími fyzikálními jevy.

Vlastní atomizátor je tvořen dutým válečkem o délce 30 – 50 mm a vnitřním průměru kolem 5 mm, který je vyhříván elektrickým proudem. Vzorek je vnášen pomocí mikropipety (5 až 50µl). na vnitřní stěnu trubice. Během vývoje metody byly prováděny experimenty s různými materiály pro výrobu atomizátorů (např. kovový wolfram), ale v současné se době se používá prakticky výlučně grafit, který má na povrchu vrstvu pyrolytického grafitu s vysokou mechanickou a termickou stabilitou. Materiál kyvety je chráněn před shořením v atmosférickém kyslíku proudem argonu, který ji obtéká zvenčí i uvnitř a odstraňuje tak současně z vnitřního prostoru zbytky po pyrolýze matrice. Při elektrickém zahřátí dojde v trubici k odpaření a atomizaci vzorku. Analytický signál je získáván průchodem světla vnitřním prostorem kyvety ve směru její podélné osy a měřením rozdílu absorpce světla zvolené vlnové délky před atomizací vzorku a v intervalu, kdy jsou atomy analyzovaného prvku odpařeny vysoko teplotou do vnitřního prostoru kyvety.[8, 10]

2.5 HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE S INDUKČNĚ VÁZANÝM PLAZMATEM

Analytická metoda ICP-MS (Inductively coupled plasma mass spectrometry – hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plasmatem) vznikla na základě práce Graye a Hooka. V roce 1980 vznikla první publikace o ICP-MS a v roce 1983 byl Kanadskou firmou Sciex použit první ICP-MS spektrometr. V relativně krátkém čase se tato metoda stala oblíbenou pro stanovení prvků ve stopových a ultrastopových množstvích ve všech typech matrice, potravin nevyjímaje.

Za úspěchem ICP-MS stojí řada žádaných vlastností. Jsou to především vysoká citlivost měření, schopnost stanovení velkého množství prvků, velká rozlišovací schopnost a

schopnost rozlišovat mezi izotopy. Během let se tato metoda stala důležitou pro stanovení toxických prvků v potravinách.

2.5.1 Princip metody

Vzorek analytu převedený do roztoku je pomocí zmlžovače přeměněn na aerosol, který je proudem argonu veden do plazmového nosiče, kde je vysokofrekvenčním magnetickým polem udržováno argonové plazma o teplotě 6000 – 10 000 K.

Při takto vysoké teplotě je rozpouštědlo odpařeno a chemické vazby v molekulách zaniknou. Volné atomy analytu se ionizují ($M \rightarrow M^+ + e^-$). I když ICP pracuje za atmosférického tlaku, hmotnostní spektrometr vyžaduje tlak několikanásobně nižší. Proto jsou ionty unášeny proudem plynu do přechodové komory, kde je tlak zhruba 0,01 Torru. V další části zařízení klesá tlak až na řádově 10^{-6} torru a ionty se dostávají do kvadrupólového detektory. Tam jsou ionty analytu odděleny od ostatních iontů. Dopadem iontu na povrch detektoru se vytváří elektrický pulz, který je zesilovačem zesílen a je změřena jeho intenzita. Intenzita elektrického signálu koresponduje s počtem iontů analytu přítomných ve vzorku. Stanovení množství prvku je uskutečněno porovnáním signálu se standardem.

2.5.2 ICP-MS spektrometr

Při většině běžných měření se analýza provádí z roztoku vzorku. V případě antimonu se může využít i technika generace hydridů, která je popsána v předchozí kapitole. Pro převedení do plazmatu je třeba nejprve roztok zmlžit. Pro přivedení roztoku do zmlžovače (nebulizer) se používá nejčastěji peristaltické pumpy. Vytvoření aerosolu probíhá ve zmlžovači, z něhož vychází jemně dispergovaná mlha, která je přenášena do plazmatu. Je potřeba zmínit, že kvalita analýzy je velmi ovlivněna kvalitou a homogenitou aerosolu.

Převedení atomů vzorku na ionty M^+ uskutečňuje argonové plazma (ionizovaný plyn). Plazma pracuje s výkonem mezi 0,75 až 1,6 kW na frekvenci 40,68 MHz, za atmosférického tlaku. Některé RF generátory pracují na frekvenci 27,12 MHz a dosahují vyšších úrovní energie (až 2 kW). [15] Tento výkon je předáván proudu argonu pomocí cívky, která musí být chlazena, aby nedošlo k jejímu poškození, vlivem vysokých teplot.

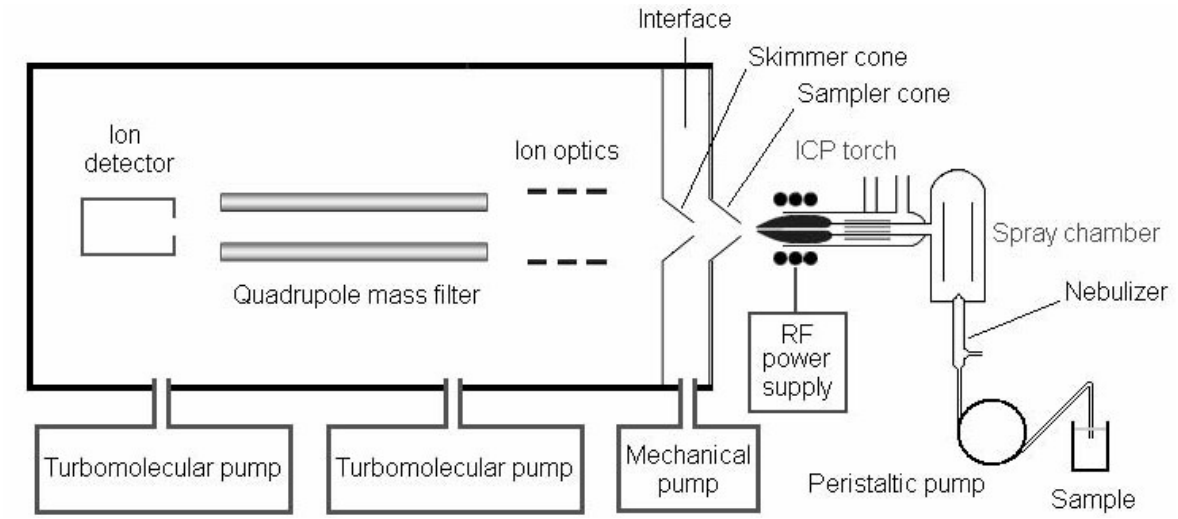
Analýza iontů je prováděna ve hmotnostním spektrometru, za podmínek vysokého vakua. Do tohoto prostředí se ionty dostávají dvěma kónusy. Za prvním kónusem (Sampler cone) do meziprostoru (interface), kde je tlak několik setin torru. Za druhým kónusem (Skimmer

cone) je tlak asi 10^{-6} torru. Velké zmenšení tlaku po průchodu prvním kónusem má za následek obrovskou expanzi plynu plazmy, které se říká nadzvuková expanze a molekuly plynu při ní dosahují nadzvukových rychlostí.

Ihned po průchodu do vakua se odstraňují neionizované částice a fotony vyzářené plazmou, neboť mají nežádoucí efekt na výsledek měření. Vzhledem k tomu, že jsou elektricky neutrální a neovlivňuje je magnetické pole magnetické optiky (Ion optics), mohou být zastaveny jednoduchou překážkou, kterou může být např. kovový terčík a odstraněny turbomolekulární pumpou. Oproti tomu elektricky nabité částice jsou magnetickou optikou a jí vytvořeným magnetickým polem nasměrovány tak, že překážku prostě obletí a směřují dále do kvadrupólu. Směrování iontů je podobné jako směrovaní světelného paprsku u optické spektrometrie, ale místo optických čoček a zrcadel se používá elektromagnetického pole.

Nejběžnějším typem hmotnostního spektrometru sloužícímu pro oddělení iontů o různé hmotnosti, je přístroj obsahující kvadrupólový separátor (k separaci iontů slouží i další typy hmotnostních spektrometrů – time-of-flight analyzátor a magnetic sector analyzátor, které ale nebudou v této práci popsány). Kvadrupólový separátor je soustava čtyř kovových tyčí o délce 30 – 40 cm a průměru asi 10 mm, na které se postupně vkládá elektrické napětí složené ze stejnosměrné složky a vysokofrekvenční střídavé složky tak, aby dvě protilehlé tyče měly vždy stejnou polaritu. Působením takto generovaného elektromagnetického pole se ionty, vstupující do kvadrupólu, rozkmitají a za určitých známých podmínek lze docílit toho, že kvadrupólem proletí pouze částice o definované hmotě a dopadne na detektor. [7]

Ionty vystupující z kvadrupólu narážejí na detektor a vytvářejí tak měřitelný elektrický signál. Aktivní povrch detektoru uvolní elektron po každém zásahu iontem. Dopadem pozitivně nabitého iontu Me^{+} dojde k vypuzení velkého počtu tzv. sekundárních elektronů, které jsou dále směrovány elektrickým polem k dalším elektrodám a znovu zesilovány, až je na výstupu detektoru získán měřitelný elektrický proud.[16] Kalibrace přístroje probíhá proměřováním standardních roztoků o známé koncentraci analyzovaných prvků a na základě velikosti signálů těchto standardů jsou vypočteny koncentrace měřených prvků v analyzovaných vzorcích. [7]



Obr. 6.: Schéma ICP-MS spektrometru

2.5.3 Interference

Hlavním problémem spojeným s technikou ICP-MS jsou pravděpodobně spektrální interference. Tyto interference jsou způsobeny izobary, dvojnásobně nabitými ionty a polyatomickými ionty – jako například oxidy (MO^+), hydroxidy (MOH^+), sloučeniny argonu (ArM^+) – které mají stejný poměr hmotnosti a náboje (m/z) jako stanovovaný nuklid.

Izobarické překryvy se dají snadno předpovídat a dá se jim předcházet volbou alternativních izotopů nebo použitím matematických korekcí (rovnic), sestavených na základě relativního výskytu izotopu v přírodě.

Dvojnásobně nabité ionty se vytvářejí pouze u prvků s nízkou hodnotou druhé ionizační energie (E_{ion}). Celkově ale nepředstavují při stanovení antimonu závažný problém.

Polyatomické ionty vznikají při zmlžování čisté vody. Převážně se vytvářejí z Ar, O, H a N atomů, přítomných v plazmě, vstupujícím vzduchu nebo v roztoku. Většina polyatomických iontů se skládá ze dvou komponent, a protože ^{40}Ar je nejtěžším nuklidem přítomným ve větší koncentraci, vyskytují se většinou v $m/z \leq 81$ (antimon má $m/z \approx 121$).

Vzorky se ale většinou nerozpouští ve vodě, nýbrž v kyselině. Použití kyseliny se projevuje na srovnávacím spektru. Pokud je použita kyselina dusičná, zvýší se v plazmě pouze koncentrace dusíku. Ten je v plazmě přítomen vždy a vynáší relativně malé signálové odezvy v spektru nulovacího roztoku v důsledku své vysoké E_{ion} (14,53 eV). HNO_3 je proto ideální kyselinou pro ICP-MS a výsledná interference může být jednoduše opravena.

Další omezující faktor pro použití ICP-MS je obsah solí v analyzovaném vzorku. Důvody jsou jednak fyzické nanášení zbytků solí na povrch vstupních kónů a následném zmenšování jejich průměru (*blokování kónu*) a dále změna fyzikálních podmínek v argonovém plazmatu, kdy v přítomnosti velkého množství solí dochází energetickým posunům a následně ke generaci rozdílného množství iontů měřených prvků ve vzorku a kalibračním roztoku. Nejvíce se to týká mořské vody, krve a krevní plazmy, atp. Řešením je dostatečné ředění vzorku.[15]

2.5.4 Stanovení antimonu

2.5.4.1 Příprava vzorku

Pro stanovení antimonu z pevných vzorků (např. z jídla či atmosférického aerosolu) je potřeba vzorek rozpustit. Mikrovlnná mineralizace použitá spolu s HNO_3, zpravidla v kombinaci s H_2O_2, je rozšířená metoda pro úpravu vzorků jídla. Hlavními výhodami tohoto postupu jsou rychlost mineralizace (díky vysoké teplotě a tlaku), zmenšení rizika kontaminace vzorku, minimalizace množství použité kyseliny a odpaření těkavých složek. Z kyselin vhodných pro rozpuštění vzorku je nejvhodnější HNO_3, která jak už bylo zmíněno způsobuje minimální interference. Může se použít společně s H_2O_2 a HCl, což zlepšuje výsledky mineralizace.

Kyselina sírová a chlorovodíková není vhodná pro přípravu vzorků při použití ICP-MS. Cl a S vyvolávají nežádoucí interference. Navíc H_2SO_4 nemůže být použita pokud přístroj obsahuje kóny z niklu (kvůli tvorbě solí a ucpávání otvoru kónu). Možné je také použít kombinace kyselin a dosáhnout tak lepších výsledků mineralizace.

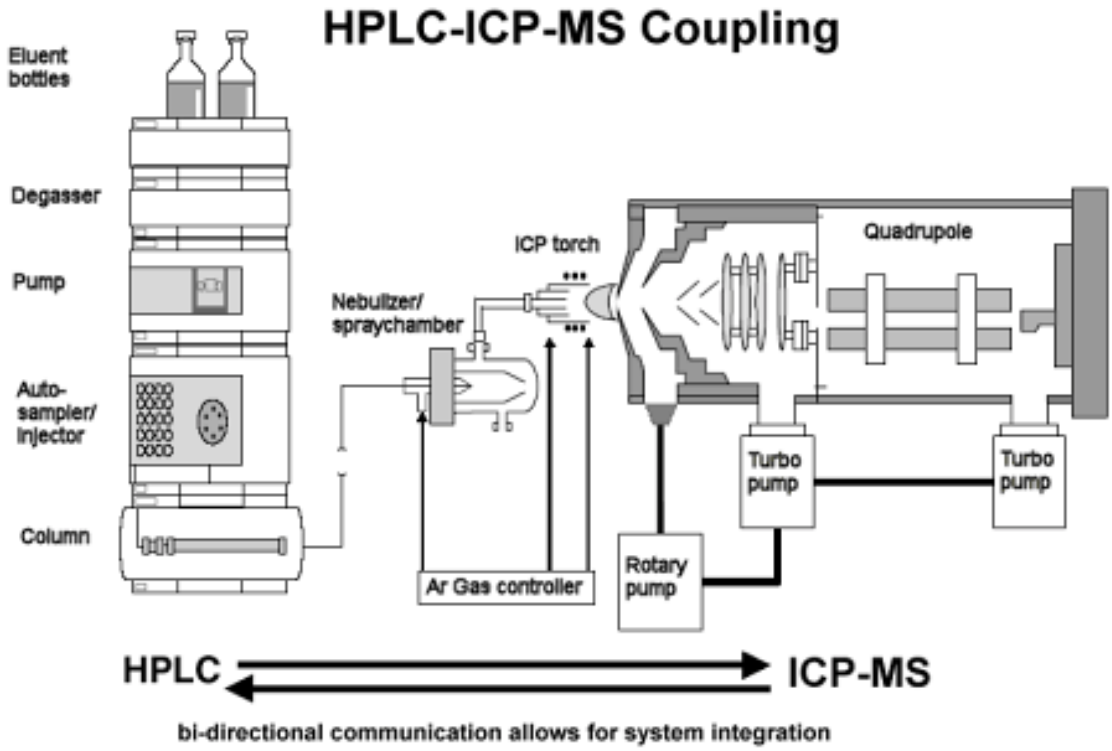
U antimonu můžeme s výhodou zvýšení citlivosti měření použít HG. Je ale potřeba zmínit, že univerzální postup pro přípravu vzorků neexistuje a je potřeba postupovat případ od případu. [16, 5]

2.5.4.2 Dělící metody

Jak už bylo řečeno v předcházejících kapitolách, stanovení celkového obsahu antimonu nám nedává uspokojivé informace o jeho možných účincích. Pro zjištění požadovaných informací, je třeba stanovit chemické formy antimonu, Sb(III) a Sb(V).

ICP-MS jako takové nemůže být použito na stanovení složek jednotlivých prvků neboť prvky jsou rozloženy na atomy a ionizovány argonovým plazmatem. Pokud jsou ale tyto složky odděleny od sebe předtím než vstoupí do plazmatu, může být ICP-MS použita jako vysoce citlivá a účinná metoda pro jejich stanovení.

Pro oddělení jednotlivých složek s využitím ICP-MS jako detektoru je rozhodně nejpoužívanější metodou vysokoúčinná kapalinová chromatografie HPLC. Rychlost toku mobilní fáze v HPLC je stejná jako rychlost toku v běžných zamlžovačích, což činí spojení těchto dvou technik poměrně jednoduchým.



Obr. 7.: Propojení HPLC s ICP-MS

Pro stanovení antimonu metodou HPLC-ICP-MS musíme analyt nejprve extrahovat. K extrakci lze použít např. kyselinu citrónovou. Vzorek se takto obvykle upravuje několikrát a pokaždé se centrifugou odděluje pevná fáze od supernatantu. Ke zvýšení efektivity extrakce se používá ultrazvuku. Extrakt se poté analyzuje. [16, 18]

Problém který se může vyskytnout, je zadržení Sb(III) v koloně (column). Pro vymytí antimonu (SbIII) z kolony je potřeba přidat komplexotvorný reagent. Nejvíce se osvědčila kyselina vinná. [17]

Další ze způsobu oddělení složek antimonu může být extrakce s BPHA (N-benzoyl-N-fenylhydroxylamin. Po přefiltrování vzorku a jeho okyselení kyselinou chlorovodíkovou, se přidá roztok BPHA v chloroformu a 1 minutu se protřepává. Po oddělení vodní fáze (SbV) od organické fáze (SbIII) se vodní fáze stanoví. [18]

ZÁVĚR

Práce napsaná na předchozích stranách je důsledkem zvyšujícího se zájmu o antimon jako o prvek kontaminující životní prostředí a pronikající do potravního řetězce člověka, i o metody jeho stanovení. Stále je ale potřeba ještě mnoho práce a výzkumu týkajících se stanovení celkového obsahu antimonu a jeho forem v různých druzích vzorků.

Stanovovat antimon lze pomocí mnoha spektrometrických metod. Vhodné se jeví atomová absorpční i atomová fluorescenční spektrometrie. Nejvíce dnes používanou metodou je ale hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Hlavními výhodami jsou velké snížení interferencí díky hmotnostnímu spektrometru jako detektoru a schopnost přesného stanovení prvku i ve stopových a ultrastopových množstvích. Nevýhodou je pak především vysoká cena přístroje.

Pro stanovení forem antimonu je třeba použít účinné dělící metody. Jako nejlepší se jeví propojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie s ICP-MS. I tady je však potřeba překonat ještě řadu problémů. Harmonizovat jednotlivé kroky a optimalizovat operační podmínky.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[0] MARLIES, D. B.; MICHELINE, K.; DOMINIQUE, L., Cobalt and antimony: genotoxicity and carcinogenicity, Mutation Research 533 (2003) 135–152. Dostupné na WWW: http://www.sciencedirect.com/

[2] LÉONARD, A.; GERBER, G. B., Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of antimony compounds, Mutation Research 366 (1996) 1-8. Dostupné na WWW: http://www.sciencedirect.com/

[3] FILELLA, M.; BELZILE, N.; YU-WEI, CH., Antimony in the environment: a review focused on natural waters I. Occurrence, Earth-Science Reviews 57 (2002) 125–176. Dostupné na WWW: http://www.sciencedirect.com/

[4] SKERFVING, S.; DOYLE, R.; BRAUNGART, M.; aj., Antimony in brake pads-a carcinogenic component?, Journal of Cleaner Production 13 (2005) 19–31. Dostupné na WWW: http://www.sciencedirect.com/

[5] SMICHOVSKI, P., Antimony in the environment as a global pollutant: A review on analytical methodologies for its determination in atmospheric aerosols, Talanta 75 (2008) 2–14. Dostupné na WWW: http://www.sciencedirect.com/

[6] SANZ-MEDEL, A.; MONTES-BAYON, M.; SANCHEZ, F. L. M., Trace element speciation by ICP-MS in large biomolecules and its potential for proteomics, Anal Bioanal Chem (2003) 377 : 236–247, Springer-Verlag 2003

[7] ICP-MS [online], poslední aktualizace 22.4.2009 11:51, Wikipedie. Dostupné z WWW: http://cs.wikipedia.org/wiki/ICP-MS

[8] Atomová absorpční spektrometrie [online], poslední aktualizace 24. 7. 2009 07:48, Wikipedie. Dostupné z WWW: http://cs.wikipedia.org/wiki/Atomová_absorpční_spektrometrie

[9] KOUDA, P., Moderní analytické metody, nakladatelství Pavel Kouda, 1996.

[10] AKMAN, S.; TOMAN, N.; DEMIRATA-OZTURK, B., Food Toxicants Analysis – Y. Picó (Editor), Chapter 17 - Atomic Absorption Spectroscopy, 2007 Elsevier B.V.

[11] MESEK, O.; KOMÍNKOVÁ, J., Atomová absorpční spektrometrie, aktualizace textu Atomová absorpční spektrometrie; Návody pro laboratorní cvičení z analytické chemie II, KROFTA, J. a kol., VŠCHT Praha, 1997.

[12] ZÝKA, J. a kolektiv, Analytická příručka díl II, SNTL, 1988.

[13] KENKEL, J., Analytical chemistry – refresher manual, CRC press, 1992

[14] GONZÁLES, G. J. M.; RENEDO, D. O.; MARTÍNEZ A. J. M., Simultaneous determination of antimony(III) and antimony(V) by UV–vis spectroscopy and partial least squares method (PLS), Talanta 68 (2005) 67–71. Dostupný na WWW: http://www.sciencedirect.com/

[15] CUBADDA, F., Food Toxicants Analysis – Y. Picó (Editor), Chapter 19 - Inductively coupled plasma mass spektrometry**,** 2007 Elsevier B.V.

[16] The 30-Minute Guide to ICP-MS, Printed in USA, 2001 PerkinElmer, Inc.

[17] LINDEMANN, T.; PRANGE, A.; DANNECKER, W.; NEIDHART, B., Simultaneous determination of arsenic, selenium and antimony species using HPLC/ICP-MS, Fresenius J Anal Chem (1999) 364 : 462–466, Springer-Verlag 1999

[18] GARBOSA, S.; BULSKAA, E.; HULANICKIA, A. a kolektiv, Determination of total antimony and antimony_V/ by inductively coupled plasma mass spectrometry after selective separation of antimony_III/ by solvent extraction with *N*-benzoyl-*N*-phenylhydroxylamineq, Spectrochimica Acta Part B 55 (2000) 795-802.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

UV-VIS	Ultrafialová-viditelná.
AAS	Atomová absorpční spektrometrie.
AFS	Atomová fluorescenční spektrometrie.
ETAAS	Atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací.
FAAS	Atomová absorpční spektrometrie s atomizací v plameni.
ICP-MS	Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.
ICP-OES	Optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.
ICP-AES	Atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.
HPLC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie.
HG	Generace hydridů.
GC	Plynová chromatografie.
HCL	Výbojka s dutou katodou.
EDL	Bezelektrodová výbojka.

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1.: elektronový obal atomu antimonu.....9
Obr. 2.: zjednodušené schéma fotometru.....19
Obr. 3.: UV–vis spektrum: (—), 10−4 mol.dm−3 Sb(III); (),10−4 mol.dm−3 Sb(V); (×), 5×10−5 mol.dm−3 Sb(III) a 5×10−5 Sb(V). pH = 2 (Brittnův–Robinsonův pufr); [pyrogallol] = 2×10−4 mol.dm−3. [14].....21
Obr. 4.: diagram jednopaprskového a dvoupaprskového spektrometru.....23
Obr. 5.: schéma fluorescenčního spektrometru.....24
Obr. 6.: Schéma ICP-MS spektrometru.....30
Obr. 7.: Propojení HPLC s ICP-MS.....32

SEZNAM TABULEK

Tab. 1.: teploty plamene při různém složení směsi.....27