

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

---

Studijní program: Chemie

Obor: Analytická chemie



**Mgr. Marcela Rybínová**

**UV-FOTOCHEMICKÉ GENEROVÁNÍ TĚKAVÝCH  
SLOUČENIN SELENU PRO POTŘEBY ULTRASTOPOVÉ  
ANALÝZY METODOU AAS**

UV-photochemical generation of volatile selenium compounds  
for ultratrace analysis by AAS

Disertační práce

Vedoucí disertační práce: Doc. RNDr. Petr Rychlovský, CSc.

Praha 2016

Disertační práce byla vypracována na Katedře analytické chemie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze (Hlavova 2030/8, 128 43, Praha 2), v týmu spektrometrických metod.

Finančně byla disertační práce podporována z následujících projektů Univerzity Karlovy v Praze: GAUK 228214, UNCE 204025/2012 a SVV (265201, 267215, 260084, 260205, 260317). Dále byla práce podporována Grantovou agenturou ČR (č. projektu: P206/14-23532S).

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem tuto disertační práci zpracovala samostatně pod vedením školitele Doc. RNDr. Petra Rychlovského, CSc. a konzultanta RNDr. Václava Červeného, Ph.D. a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

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

V Praze dne 5. srpna 2016.

.....  
Podpis

## **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala svému školiteli Doc. RNDr. Petru Rychlovskému, CSc. za odborné vedení, cenné rady a připomínky. Poděkování patří také konzultantovi RNDr. Václavu Červenému, Ph.D. za jeho ochotu a trpělivost zejména při řešení technických problémů spojených s vlastním výzkumem. Dále děkuji všem kolegům z týmu spektrometrických metod za jejich vstřícnost při spolupráci a za vytvoření příjemného pracovního kolektivu. Jmenovitě děkuji RNDr. Jakubu Hraníčkoví, Ph.D., Mgr. Elišce Novákové, Mgr. Ondřeji Linhartovi, Mgr. Alžbětě Kolorosové a všem dalším spolupracovníkům. Poděkování patří také RNDr. Stanislavu Musilovi, Ph.D. z Laboratoře stopové prvkové analýzy Ústavu analytické chemie AV ČR, v.v.i. za jeho pomoc při experimentech s radioindikátory a při následném sepisování příslušné odborné publikace.

V neposlední řadě děkuji své nejbližší rodině za bezmeznou podporu a trpělivost v průběhu celého studia. Ač nechemického vzdělání, byli především rodiče mým největším rádcem a učitelem. Bez nich by tato práce nikdy nevznikla. Děkuji.

## Prohlášení o autorství

Jako zástupce spoluautorů prohlašuji, že se Mgr. Marcela Rybínová podílela na níže uvedených publikovaných pracích měrou uvedenou v závorkách:

1. Rybínová M., Červený V., Hraníček J., Rychlovský P.: UV-fotochemické generování těkavých sloučenin pro potřeby atomových spektrometrických metod. Chem. Listy 109, 930–937 (2015). (podíl: 85 %)

2. Rybínová M., Červený V., Rychlovský P.: UV-photochemical vapour generation with *in situ* trapping in a graphite tube atomizer for ultratrace determination of selenium. J. Anal. At. Spectrom., 30, 1752–1763 (2015). (podíl: 90 %)

3. Rybínová M., Červený V., Hraníček J., Rychlovský P.: UV-photochemical vapor generation with quartz furnace atomic absorption spectrometry for simple and sensitive determination of selenium in dietary supplements. Microchem. J. 124, 584–593 (2016). (podíl: 85 %)

4. Rybínová M., Musil S., Červený V., Vobecký M., Rychlovský, P.: UV-photochemical vapor generation of selenium for atomic absorption spectrometry: optimization and <sup>75</sup>Se radiotracer efficiency study. Manuskript byl přijat 5.8.2016 k publikování v časopisu Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy (DOI: 10.1016/j.sab.2016.08.009). (podíl: 45 %)

.....  
RNDr. Václav Červený, Ph.D.

.....  
Doc. RNDr. Petr Rychlovský, CSc.

## **Předmětová hesla**

Analytická chemie, spektrometrie

## **Klíčová slova**

Atomová absorpční spektrometrie, UV-fotochemické generování, těkavá sloučenina, selen, UV-fotoreaktor, účinnost generování, radioaktivní indikátor, *in situ* záchyt, interference, potravinové doplňky, chemické generování

## **Subject words**

Analytical chemistry, spectrometry

## **Key words**

Atomic absorption spectrometry, UV-photochemical generation, volatile compound, selenium, UV-photoreactor, generation efficiency, radioactive indicator, *in situ* trapping, interferences, dietary supplements, chemical generation

## Abstrakt

Disertační práce se zabývá studiem UV-fotochemického generování těkavých sloučenin (UV-PVG) ve spojení s atomovou absorpční spektrometrií (AAS). S využitím modelového analytu selenu (Se(IV)) byla provedena celá řada experimentů přispívajících k rozšíření dosavadních poznatků o dané problematice.

V první fázi výzkumu byla sestavena aparatura pro UV-PVG v režimu kontinuální průtokové analýzy propojená s detekcí AAS se zevně vyhřívaným křemenným atomizátorem. Důraz byl kladen na konstrukci generátoru těkavých sloučenin neboli na UV-fotoreaktor, kdy byly jako reakční cívky využity teflonové hadičky a křemenné trubičky různých rozměrů. Po kompletaci aparatury následovala optimalizace pracovních podmínek (především koncentrace a druh fotochemického činidla i dalších činidel zvyšujících analytický signál; průtoková rychlost nosného plynu a vodíku; průtoková rychlost vzorku) a určeny byly základní analytické charakteristiky stanovení selenu navrženou metodou. Z výsledků vyplynulo, že teflonové reakční cívky velmi dobře konkurují těm křemenným. Správnost metody byla úspěšně potvrzena analýzou certifikovaného referenčního materiálu, praktická využitelnost byla ověřována analýzou vzorků s různorodou maticí. Stanovován byl obsah selenu ve vzorcích pitných vod a ve vybraných potravinových doplňcích. Za účelem zjištění celkové účinnosti UV-PVG byla provedena série experimentů s radioaktivním indikátorem  $^{75}\text{Se}$ . Kromě převodu analytu na těkavé sloučeniny bylo danou metodou možné sledovat distribuci analytu do jednotlivých částí aparatury. Dalšího snížení mezí detekce a citlivostí bylo dosaženo propojením UV-PVG s *in situ* záchytem těkavých sloučenin v grafitové kyvetě před vlastní elektrotermickou atomizací. Provedena byla také interferenční studie, kdy byl zkoumán vliv vybraných minerálních kyselin a solí, přechodných kovů nebo ostatních hydridotvorných prvků na stanovení selenu.

Pro srovnání byla značná část experimentů uskutečněna s využitím tradičního chemického generování těkavých sloučenin s tetrahydridoboritanem sodným jako redukčním činidlem. Analytické charakteristiky získané za zoptimalizovaných pracovních podmínek či dosažené účinnosti jasně ukázaly, že je UV-PVG plně alternativní ke konvenčnímu přístupu ke generování těkavých sloučenin. Jako hlavní nedostatek se na současné úrovni poznání jeví celkově nižší odolnost vůči interferenčním vlivům.

## Abstract

This thesis deals with the study of UV-photochemical generation of volatile compounds (UV-PVG) in connection with atomic absorption spectrometry (AAS). Selenium (Se(IV)) was selected as a model analyte and many experiments were carried out to expand the current sum of knowledge of the topic.

The study was commenced by assembling the UV-PVG apparatus in the continuous flow mode. The detection method used was AAS with externally heated quartz furnace atomizer. The focus of the first step of the study was on the construction of the volatile compounds generator (UV-photoreactor) with emphasis on the material used; tubes made of teflon or quartz of different diameters were tested. The construction of the apparatus was followed by optimization of the reaction conditions (the type and concentration of the photochemical agent and other agents, which increase the analytical signal; the carrier gas and the auxiliary hydrogen gas flow rate; the sample flow rate). Eventually, the analytical figures of merit of the selenium determination using the proposed method were found. The results showed that teflon reaction tubes are a good competitor to those made of quartz. The accuracy of the method has been successfully verified by analysis of certified reference material and its applicability has been further tested on analysis of samples in various matrices; selenium was determined in samples of drinking water and selected dietary supplements. Series of experiments using radiotracer  $^{75}\text{Se}$  have been carried out to estimate the overall efficiency of the conversion of the analyte to the volatile compound. Moreover, it was possible to observe the distribution of the analyte in the apparatus. Further improvement of sensitivity and the limits of detection was achieved by combining the UV-PVG with *in situ* collection of the generated volatile compound in a graphite furnace prior to its electrothermal atomization. Another set of experiments carried out was an interference study addressing the effects of selected inorganic acids and salts, transition metals and other hydride forming elements on the determination of selenium.

For comparison, many experiments were performed using traditional chemical generation with sodium borohydride as a reducing agent. The figures of merit and the efficiency achieved with the optimized conditions clearly show that UV-PVG is fully comparable alternative to the conventional approach to the generation of volatile compounds. The main disadvantage at the current state of its research lies in the lower tolerance of UV-PVG to interference effects.

# OBSAH

<b>1 ÚVOD .....</b>	<b>13</b>
<b>2 TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>16</b>
<b>2.1 Atomová absorpční spektrometrie pro potřeby (ultra)stopové prvkové analýzy</b>	<b>16</b>
<b>2.2 Problematika generování těkavých sloučenin.....</b>	<b>19</b>
<b>2.3 UV-fotochemické generování těkavých sloučenin .....</b>	<b>23</b>
2.3.1 Od počátků do současnosti .....	23
2.3.2 Experimentální uspořádání .....	24
2.3.2.1 Průtokové uspořádání .....	24
2.3.2.2 Dávkové uspořádání .....	27
2.3.2.3 Kolekce těkavých sloučenin .....	29
2.3.3 Generátor těkavých sloučenin (UV-fotoreaktor) .....	31
2.3.4 Pracovní podmínky.....	33
2.3.4.1 Doba ozařování.....	33
2.3.4.2 Fotochemická činidla.....	34
2.3.4.3 Nosný plyn a vodík.....	35
2.3.4.4 Využití fotokatalyzátorů .....	36
2.3.5 Účinnost UV-fotochemického generování .....	36
2.3.6 Interference .....	39
2.3.6.1 Úvod do problematiky .....	39
2.3.6.2 Interference při UV-fotochemickém generování .....	40
2.3.7 Reakční mechanismus .....	42
2.3.7.1 Reakční mechanismus bez fotokatalyzátorů.....	42
2.3.7.2 Reakční mechanismus s fotokatalyzátory.....	43
2.3.8 Stanovení selenu s využitím UV-fotochemického generování.....	44
<b>3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST .....</b>	<b>46</b>
<b>3.1 Chemikálie.....</b>	<b>46</b>
<b>3.2 Praktické vzorky .....</b>	<b>48</b>
3.2.1 Potravinové doplňky.....	48
3.2.2 Vzorky vod .....	50
<b>3.3 Přístroje a zařízení .....</b>	<b>51</b>
3.3.1 Atomový absorpční spektrometr a jeho příslušenství.....	51
3.3.2 UV-fotoreaktor .....	51
3.3.3 Měření radioaktivity .....	55
3.3.4 Dávkovací zařízení při <i>in situ</i> záchytu.....	55



3.3.5 Ostatní přístroje a zařízení.....	56
<b>3.4 Experimentální uspořádání a pracovní postupy.....</b>	<b>59</b>
3.4.1 UV-fotochemické generování v kombinaci s QF-AAS.....	59
3.4.2 Experimenty s radioaktivním indikátorem <sup>75</sup> Se.....	60
3.4.3 UV-fotochemické generování v kombinaci s GF-AAS.....	62
3.4.4 Chemické generování.....	65
3.4.5 Zpracování naměřených dat.....	66
<b>4 VÝSLEDKOVÁ ČÁST A DISKUZE .....</b>	<b>70</b>
<b>4.1 Konstrukce UV-fotoreaktoru .....</b>	<b>70</b>
4.1.1 Zdroj UV-záření .....	70
4.1.2 Reakční cívka .....	71
<b>4.2 Kompletace aparatury .....</b>	<b>78</b>
<b>4.3 Optimalizace experimentálních podmínek.....</b>	<b>79</b>
4.3.1 UV-fotochemické generování těkavých sloučenin selenu.....	80
4.3.1.1 Fotochemické činidlo.....	80
4.3.1.2 Doba ozařování.....	82
4.3.1.3 Průtoková rychlost nosného plynu.....	83
4.3.1.4 Průtoková rychlost vodíku.....	85
4.3.1.5 Kombinovaná optimalizace průtokových rychlostí plynů.....	87
4.3.1.6 Průtoková rychlost vzorku.....	88
4.3.1.7 Vliv přídavku kyseliny dusičné a dalších činidel .....	90
4.3.1.8 Doplňující experimenty .....	95
4.3.1.9 Souhrnné tabulky - optimalizace .....	96
4.3.2 Chemické generování těkavých sloučenin selenu .....	97
4.3.2.1 Průtoková rychlost nosného plynu.....	97
4.3.2.2 Koncentrace a průtoková rychlost redukčního činidla .....	98
4.3.2.3 Koncentrace kyseliny chlorovodíkové, průtoková rychlost vzorku .....	100
4.3.2.4 Délka reakční cívky.....	101
4.3.2.5 Souhrnná tabulka - optimalizace .....	102
<b>4.4 Základní analytické charakteristiky .....</b>	<b>103</b>
4.4.1 UV-fotochemické generování těkavých sloučenin selenu.....	103
4.4.2 Chemické generování těkavých sloučenin selenu .....	108
<b>4.5 Analýza certifikovaného referenčního materiálu .....</b>	<b>111</b>
<b>4.6 Účinnost generování těkavých sloučenin selenu .....</b>	<b>113</b>
4.6.1 Odhad účinnosti na základě porovnání citlivostí.....	113

4.6.2 Experimenty s radioaktivním indikátorem <sup>75</sup> Se.....	114
4.6.2.1 Maximální dosažitelná účinnost generování těkavých sloučenin.....	115
4.6.2.2 Účinnost UV-fotochemického generování těkavých sloučenin.....	116
4.6.2.3 Účinnost chemického generování těkavých sloučenin .....	120
4.6.3 Možné zvýšení účinnosti UV-fotochemického generování.....	122
4.6.3.1 Měření frakce analytu v odpadním roztoku po UV-PVG.....	122
4.6.3.2 Dodatečný experiment s radioaktivním indikátorem <sup>75</sup> Se .....	123
<b>4.7 Stanovení selenu v praktických vzorcích.....</b>	<b>124</b>
4.7.1 Vzorky vod .....	124
4.7.2 Potravinové doplňky.....	126
4.7.2.1 Optimalizace, základní analytické charakteristiky .....	127
4.7.2.2 Příprava vzorků pro analýzu.....	128
4.7.2.3 Dosažené výsledky .....	130
<b>4.8 Spojení UV-PVG s <i>in situ</i> záchytem těkavých sloučenin v grafitové kyvetě.....</b>	<b>135</b>
4.8.1 Ověření optimálních podmínek generování těkavých sloučenin.....	135
4.8.2 Optimalizace experimentálních podmínek při <i>in situ</i> záchytu .....	137
4.8.2.1 Poloha zaváděcí kapiláry vůči dnu grafitové kyvety.....	137
4.8.2.2 Teplota grafitové kyvety v průběhu záchytu .....	138
4.8.2.3 Doba trvání záchytu těkavých sloučenin .....	139
4.8.2.4 Atomizační teplota.....	140
4.8.2.5 Souhrnná tabulka – teplotní program .....	141
4.8.3 Základní analytické charakteristiky .....	142
4.8.4 Porovnání s přímým zaváděním kapalného vzorku do grafitové kyvety.....	146
<b>4.9 Interferenční studie .....</b>	<b>148</b>
4.9.1 Minerální kyseliny a jejich soli .....	149
4.9.2 Přechnodné kovy .....	153
4.9.3 Hydridotvorné prvky .....	157
4.9.4 Shrnutí – interference při UV-fotochemickém generování .....	158
<b>5 ZÁVĚR.....</b>	<b>160</b>
<b>6 POUŽITÁ LITERATURA .....</b>	<b>164</b>
<b>7 SEZNAM PŘÍLOH .....</b>	<b>179</b>
<b>Příloha 1.....</b>	<b>180</b>
<b>Příloha 2.....</b>	<b>195</b>
<b>Příloha 3.....</b>	<b>220</b>
<b>Příloha 4.....</b>	<b>230</b>

## Seznam použitých zkratek a symbolů

### Zkratky

AAS	atomová absorpční spektrometrie (spektrometr)
AES	atomová emisní spektrometrie
AFS	atomová fluorescenční spektrometrie
CVG	chemické generování těkavých sloučenin
CVG/GF-AAS	spojení chemického generování těkavých sloučenin s atomovou absorpční spektrometrií s grafitovým atomizátorem
CVG/QF-AAS	spojení chemického generování těkavých sloučenin s atomovou absorpční spektrometrií s křemenným atomizátorem
ECVG	elektrochemické generování těkavých sloučenin
ET-AAS	atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací
GF-AAS	atomová absorpční spektrometrie s grafitovým atomizátorem
GC-MS	plynová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
ICP	indukčně vázané plazma
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ICP-OES	optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
LED	dioda emitující světlo
LDR	lineární dynamický rozsah
LOD	mez detekce
LOQ	mez stanovitelnosti
MIP-OES	optická emisní spektrometrie s mikrovlnně indukovaným plazmatem
MS	hmotnostní spektrometrie
QF-AAS	atomová absorpční spektrometrie s křemenným atomizátorem
RSD	relativní směrodatná odchylka
SRM	standardní referenční materiál
UV	ultrafialové (UV-záření)
UV-PVG	UV-fotochemické generování těkavých sloučenin
UV-PVG/GF-AAS	spojení UV-fotochemického generování těkavých sloučenin s atomovou absorpční spektrometrií s grafitovým atomizátorem
UV-PVG/QF-AAS	spojení UV-fotochemického generování těkavých sloučenin s atomovou absorpční spektrometrií s křemenným atomizátorem

## Symbols

$c_{\text{Se(IV)}}$	hmotnostní koncentrace seleničitých iontů
$c_{\text{činidlo}}$	molární koncentrace fotochemického činidla
$c_{\text{HCl}}$	molární koncentrace kyseliny chlorovodíkové
$c_{\text{HCOOH}}$	molární koncentrace kyseliny mravenčí
$c_{\text{CH}_3\text{COOH}}$	molární koncentrace kyseliny octové
$c_{\text{HNO}_3}$	molární koncentrace kyseliny dusičné
$c_{\text{NO}_3^-}$	molární koncentrace dusičnanových aniontů
$d_{\text{kap}}$	vzdálenost dávkovací kapiláry ode dna grafitové květy
i.d.	vnitřní průměr (z angl. <i>inner diameter</i> )
keV	kiloelektrovolt
$l_{\text{cívka}}$	délka reakční cívky
$M\Omega \text{ cm}$	megaohm na centimetr
o.d.	vnější průměr (z angl. <i>outer diameter</i> )
$Q_{\text{NaBH}_4}$	průtoková rychlost redukčního činidla $\text{NaBH}_4$
$Q_{\text{vz}}$	průtoková rychlost vzorku
$Q_{\text{Ar}}$	průtoková rychlost nosného plynu (argonu)
$Q_{\text{H}_2}$	průtoková rychlost vodíku
$T_{\text{atom}}$	atomizační teplota
$T_{\text{záchyt}}$	teplota při záchytu
$t_{\text{záchyt}}$	doba trvání záchytu
$w_{\text{NaBH}_4}$	hmotnostní obsah (hmotnostní procento) $\text{NaBH}_4$ v roztoku
$\sigma$	směrodatná odchylka

# 1 ÚVOD

Disertační práce shrnuje výsledky několikaletého výzkumu (2011 – 2015), jehož hlavním cílem bylo zavést dynamicky se rozvíjející techniku UV-fotochemického generování těkavých sloučenin do prostředí laboratoře spektrometrických metod (Katedra analytické chemie, PřF UK) a prověřit její konkurenceschopnost mezi ostatními technikami generování těkavých sloučenin. Do té doby měla laboratoř dlouhodobé zkušenosti s elektrochemickým a tradičním chemickým generováním těkavých sloučenin, které se v kombinaci s atomovou absorpční spektrometrií osvědčily zejména pro potřeby stopové a ultrastopové prvkové analýzy.

Z obecného pohledu patří generování těkavých sloučenin již několik dekad mezi oblíbené techniky zavádění vzorku v atomové spektrometrii. Jejich princip spočívá v převedení netěkavých prekurzorů (kondenzovaná fáze) na těkavé či částečně těkavé sloučeniny (plynná fáze). Uživatelskou popularitu si tyto techniky získaly díky řadě výhod, které jejich využívání přináší. V porovnání s konvenčním dávkováním vzorků v kapalně fázi to je zejména omezení vlivu interferencí v důsledku odseparování rušivé matrice vzorku či vysoká transportní účinnost analytu do detektoru. Na druhou stranu je třeba podotknout, že i stávající techniky generování těkavých sloučenin vykazují jisté nedostatky a proto je potřeba neustále je rozvíjet a hledat jejich nové alternativy.

UV-fotochemické generování těkavých sloučenin může v oblasti analytické chemie zaujmout pro svou nenáročnost co se instrumentace či (s)potřeby chemikálií týče. V kombinaci s metodami atomové spektrometrie je pro celou řadu analytů dosahováno nízkých mezí detekce a vysokých citlivostí stanovení. Technika je využívána ke generování těkavých sloučenin tzv. hydridotvorných prvků nebo ke generování studených par rtuti. Generovány byly také těkavé formy některých přechodných kovů i nekovů.

Jako modelový prvek byl pro disertační práci vybrán selen, konkrétně ve formě hydridotvorného seleničitanu (Se(IV)). K detekci UV-fotochemicky vygenerovaných těkavých sloučenin byla během výzkumu využívána atomová absorpční spektrometrie, povětšinou se zevně vyhřívaným křemenným atomizátorem.

Dodejme, že od započetí studie v roce 2011 bylo na Katedře analytické chemie PřF UK obhájeno několik bakalářských a diplomových prací, které se věnovaly využití

techniky UV-fotochemického generování za účelem stanovení selenu, rtuti nebo arsenu. Na několika pracích se autorka disertační práce podílela jako konzultant. V předkládané práci uváděné výsledky jsou nezávislé na již prezentovaných výsledcích ostatních studentů.

## Cíle disertační práce

Hlavním cílem disertační práce bylo implementovat do laboratoře spektrometrických metod UV-fotochemické generování těkavých sloučenin a obohatit tím doposud využívanou škálu technik zavádění vzorku o novou alternativu. Záměrem bylo využít nejen poznatků z literatury, ale především pokusit se přispět k dalšímu rozvoji techniky. Vytýčeno bylo několik dílčích cílů:

- 1.) Sestavit aparaturu pro UV-fotochemické generování těkavých sloučenin v průtokovém uspořádání a propojit ji s atomovou absorpční spektrometrií se zevně vyhřívaným křemenným atomizátorem (UV-PVG/QF-AAS).
- 2.) Blíže se zaměřit na možná konstrukční řešení generátoru těkavých sloučenin.
- 3.) Optimalizovat experimentální podmínky pro modelový analyt selen a určit základní analytické charakteristiky stanovení selenu.
- 4.) Ověřit správnost navržené metody analýzou certifikovaného referenčního materiálu a vyzkoušet ji za účelem analýzy vybraných reálných vzorků (vzorky vod, potravinové doplňky).
- 5.) Zjistit účinnost UV-fotochemického generování těkavých sloučenin selenu zejména na základě experimentů s radioaktivním indikátorem  $^{75}\text{Se}$ .
- 6.) Pokusit se snížit meze detekce a zvýšit citlivost stanovení selenu prostřednictvím *in situ* záchytu vygenerovaných těkavých sloučenin v grafitové kyvetě atomového absorpčního spektrometru (UV-PVG/GF-AAS) před vlastní elektrotermickou atomizací.
- 7.) Provést interferenční studii – sledovat vliv vybraných minerálních kyselin a solí, přechodných kovů nebo ostatních hydridotvorných prvků na stanovení selenu navrženou metodou.

- 8.) Provést celkové porovnání s tradičním chemickým generováním založeným na reakci s redukčním činidlem tetrahydridoboritanem sodným (porovnání základních analytických charakteristik, účinností či porovnání odolnosti vůči interferencím).

## Pojetí disertační práce

Disertační práce má klasické členění. Opírá se zejména o čtyři články, které byly publikovány (nebo v případě jednoho z článků přijaty k publikování) v odborných impaktovaných vědeckých časopisech s chemickou tematikou – především z oblasti analytické chemie a atomové spektrometrie. Tři články byly zaměřeny na praktický výzkum, jedna publikace byla pojata jako přehledný referát mapující dosavadní poznatky o UV-fotochemickém generování těžkých sloučenin pro potřeby atomových spektrometrických metod. Tento referát posloužil jako podklad pro **Teoretickou část** disertační práce. Do teoretické části byly navíc přidány další rozšiřující informace, které se v článku neobjevily. Některé informace ze souhrnného referátu byly naopak vynechány nebo poupraveny tak, aby zapadaly do kontextu dané práce. V **Experimentální části** je uveden soupis používaných chemikálií a přístrojů, popsány jsou použité postupy měření (postupy při generování těžkých sloučenin, při experimentech s radioaktivním indikátorem selenu, popis zpracování naměřených dat apod.). Jednotlivé kapitoly **Výsledkové a diskuzní části** disertační práce jsou koncipovány jako výtahy z publikací orientovaných na praktický výzkum. Kapitola je rozšířena také o nepublikovaná data. V **Závěru** jsou shrnuty dosažené výsledky a zhodnoceny vytyčené cíle disertační práce. Publikované články v plném znění jsou součástí **Příloh**.

## 2 TEORETICKÁ ČÁST

### 2.1 Atomová absorpční spektrometrie pro potřeby (ultra)stopové prvkové analýzy

**Stopová a ultrastopová prvková analýza** představují významné odvětví analytické chemie, se kterým se v běžném životě setkáváme téměř na každém kroku. Příslušné analýzy se provádějí v potravinářství, ve farmaceutickém průmyslu, v lékařství, při kontrole kvality životního prostředí a v mnoha dalších oblastech spojených s lidskou činností. Není třeba zdůrazňovat, že jsou na metody (ultra)stopové prvkové analýzy kladeny značné nároky. Očekávána je vysoká citlivost stanovení, potažmo nízké meze detekce přibližně v řádech desítek a stovek  $\mu\text{g l}^{-1}$  (stopová analýza), jednotek  $\mu\text{g l}^{-1}$  či ještě nižší hodnoty (ultrastopová analýza). Požadavky se vztahují také na spolehlivost (preciznost a pravdivost naměřených dat, robustnost měřicího systému apod.) a selektivitu těchto metod, či na možnost automatizace analytických postupů.

Mezi nejvýznamnější analytické přístupy využívané pro (ultra)stopovou prvkovou analýzu patří spektrometrické metody. Řadí se mezi ně atomová absorpční spektrometrie (AAS), atomová fluorescenční spektrometrie (AFS), různé varianty optické emisní spektrometrie (zejména OES s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES), s mikrovlnně indukovaným plazmatem (MIP-OES)), hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) a další metody (neutronová aktivační analýza, metody laserové a rentgenové spektrometrie). Přestože se v posledních letech do popředí zájmu dostávají zejména ty ze jmenovaných metod, které využívají jako budící zdroj indukčně vázané plazma, své uplatnění stále nachází i atomová absorpční spektrometrie. Vyniká především relativně snadným konstrukčním uspořádáním a tím i nižšími pořizovacími a provozními náklady.

Dle způsobu provedení atomizace rozlišujeme několik variant AAS<sup>1</sup>. Při stanovení vyšších obsahů analytu ve vzorku se dobře uplatňuje **atomizace v plameni**. Pro (ultra)stopovou analýzu se volí zejména **elektrotermická atomizace** nebo atomizace **v křemenných atomizátorech**. Pokud je při (ultra)stopové analýze k zavádění vzorku do atomizátoru využita některá z technik generování těkavých sloučenin, aplikovat lze oba zmíněné způsoby atomizace; častější je atomizace v křemenných atomizátorech. Pro přímé zavádění kapalných vzorků se používá elektrotermická atomizace.



- **Elektrotermická atomizace**

Při elektrotermické atomizaci (ET-AAS) je oproti atomizaci v plameni dosahováno o několik řádů vyšších citlivostí, je to však metoda časově i finančně náročnější. Hlavní součástí těchto atomizátorů je miniaturní odporově vyhřívaná kyveta, která bývá obvykle zhotovená z grafitu (odtud také vychází často užívaná zkratka GF-AAS z angl. *graphite furnace*; GF-AAS je tedy jednou z variant ET-AAS). Kyvety mohou být vyrobeny i z jiných materiálů jako například z wolframu<sup>2</sup>. Při přímém zavádění kapalných vzorků se do kyvety dávkuje velmi malé množství vzorku přibližně v desítkách mikrolitrů, k atomizaci dochází ohřevem kyvety průchodem elektrického proudu. Dle několikafázového programu je kyveta postupně zahřívána až na teploty okolo 2 500 °C.

Pokud elektrotermické atomizaci předchází generování těkavých sloučenin, volena bývá varianta kolekčního uspořádání. Z celého objemu vzorku generované těkavé sloučeniny jsou nejprve zachytávány přímo v kyvetě a až poté je zachycená forma analytu při vysokých teplotách uvolněna a atomizována (více viz. **2.3.2.3 Kolekce těkavých sloučenin**).

- **Atomizace v křemenných atomizátorech**

Generování těkavých sloučenin bývá nejčastěji kombinováno s atomizací v křemenných atomizátorech. Přínosem tohoto přístupu je zejména omezení interferenčních vlivů v důsledku odseparování matrice vzorku při generování. Plusem jsou i dosahované citlivosti a meze detekce, které jsou srovnatelné s ET-AAS. Za jisté úskalí lze naopak považovat poměrně nízkou využitelnost limitovanou počtem prvků, které lze snadno a účinně převést na těkavou sloučeninu.

Rozlišujeme několik typů atomizátorů. Typické je zejména využití zevně vyhřívaných křemenných atomizátorů (v této práci budou označovány jako QF-AAS z angl. *quartz furnace*), jejichž ohřev zajišťují odporově vyhřívané pícky. Dalším příkladem křemenných atomizátorů je multiplaménkový křemenný atomizátor (multiatomizátor) či atomizátor typu plamínek v trubici. Konstrukčně se jedná o T-trubice, jejichž atomizační rameno je umístěno v optické ose atomového absorpčního spektrometru. Těkavé sloučeniny jsou v křemenných trubicích atomizovány reakcemi s vodíkovými radikály vznikajícími při reakci kyslíku s vodíkem (radikálový

mechanismus). Kyslík je dle typu atomizátoru zaváděn buď přímo do atomizátoru nebo je jeho potřeba pokryta stopami z reagentů, nosného plynu či je přítomen jako nečistota okolí. Vodík se dle zvoleného způsobu generování těkavých sloučenin uvolňuje přímo při generování (např. rozkladem činidla redukujícího analyt na těkavou sloučeninu<sup>3</sup>) nebo je zaváděn samostatně z tlakové lahve<sup>4</sup>.

*Poznámka:* Těkavé sloučeniny mohou být účinně atomizovány také prostřednictvím plamenných atomizátorů. Příkladem je atomizace v miniaturním difuzním plaménku<sup>5</sup> nebo v plaménku chráněném plynovou maskou (z angl. *flame in gas shield*)<sup>6</sup>. Relativní novinkou v oblasti atomizace těkavých sloučenin je využití dielektrického bariérového výboje (z angl. *dielectric barrier discharge*)<sup>7</sup>; dielektrický bariérový výboj je příkladem netermálního plazmatu provozovaného za atmosférického tlaku.

## 2.2 Problematika generování těkavých sloučenin

Generování těkavých sloučenin patří již několik desítek let mezi široce a úspěšně využívané techniky zavádění vzorku v atomové spektrometrii. Počátky generování v kombinaci s atomovou spektrometrií sahají na přelom šedesátých a sedmdesátých let 20. století<sup>8</sup>. Vznik kovalentních hydridů v důsledku reakce některých prvků čtvrté, páté a šesté skupiny periodické tabulky s atomárním vodíkem je nicméně znám již více než sto sedmdesát let (např. Marshova zkouška)<sup>1</sup>. Princip generování spočívá v přeměně netěkavých prekurzorů na těkavé či částečně těkavé sloučeniny, čímž dochází k převedení analytu z kondenzované fáze do fáze plynné<sup>9</sup>.

Jak již bylo naznačeno, velkým přínosem generačních technik je především omezení interferenčních vlivů v důsledku odseparování stanovovaného prvku od matrice vzorku. Předností je také vysoká transportní účinnost, kdy je stanovovaný prvek ve formě těkavé sloučeniny přiváděn do atomizátoru v podstatě kvantitativně; to je značný rozdíl oproti účinnosti pneumatických zmlžovačů (přibližně 1 – 5 %) užívaných při přímém zavádění kapalných vzorků do spektroskopického zdroje. Kladem je v některých případech značná selektivita stanovení umožňující, často pouze na základě změny reakčních podmínek, odlišit u vybraných prvků jednotlivé jejich specie (tzv. selektivní generování). Dosahováno je vysokých citlivostí a nízkých mezí detekce, které je možné dále zlepšit zařazením prekoncentračního kroku<sup>9–11</sup>.

Nejčastěji generovanými těkavými sloučeninami jsou binární hydridy arsenu, selenu, antimonu, bismutu, telluru, germania, cínu či olova (tzv. hydridotvorné prvky)<sup>3</sup>. Publikovány byly také práce zaměřené na generování hydridů india a thalia<sup>12</sup>. Speciálním avšak běžným případem je generování studených par rtuti<sup>13</sup>; generována je elementární rtuť Hg(0), která má za laboratorní teploty poměrně vysokou tenzi páry<sup>14</sup>. Studené páry byly generovány také v souvislosti s kadmíem<sup>15,16</sup>, i když v případě tohoto analytu není otázka těkavých produktů zcela vyjasněna<sup>9,17,18</sup>. Mezi další analyticky užitečné těkavé sloučeniny patří např. alkyl-substituované formy hydridů, karbonyly, alkyly či cheláty<sup>9</sup>. Poměrně nedávno byly generovány těkavé sloučeniny stříbra<sup>19</sup>, zlata<sup>20</sup>, a dalších přechodných a vzácných kovů<sup>21,22</sup>; u těchto prvků jsou pravděpodobně generovány shluky nanočástic<sup>23</sup>.

Generování těkavých sloučenin je možné kombinovat s libovolnými metodami atomové spektrometrie. Vedle atomové absorpční spektrometrie (QF-AAS, ET-AAS)<sup>24–28</sup>

je využívána atomová fluorescenční spektrometrie (AFS)<sup>29–32</sup> nebo metody založené na plazmových budících zdrojích (ICP-MS, ICP-OES, MIP-OES)<sup>33–36</sup>.

Ke generování těkavých sloučenin lze přistupovat několika způsoby. Nejrozšířenější je technika chemického generování (CVG), alternativními přístupy jsou zejména elektrochemické generování (ECVG) a nověji také UV-fotochemické generování těkavých sloučenin (UV-PVG).

- **Chemické generování**

Při chemickém generování vznikají těkavé sloučeniny v důsledku reakce analytu s redukčním činidlem. Nejčastěji se uplatňuje generování hydridů založené na redukci tetrahydridoboritanem sodným (orientačně 0,1 – 3,0% NaBH<sub>4</sub>); z důvodu stabilizace se NaBH<sub>4</sub> připravuje v prostředí hydroxidu sodného nebo draselného (přibližně 0,05 – 2,0% NaOH nebo KOH)<sup>3</sup>. Reakce většinou probíhá v kyselém prostředí, používá se především kyselina chlorovodíková v širokém koncentračním rozmezí (orientačně od 0,1 do 7,0 mol l<sup>-1</sup> HCl). Kyselina může být do aparatury čerpána samostatným kanálem nebo může být přímo součástí analyzovaného vzorku (off-line mísení).

Pokud jde o mechanismus vzniku těkavých sloučenin, navrženo bylo několik teorií. V současné době je přijímána teorie přenosu vodíku (tzv. *hydrogen transfer theory*) zformulovaná v roce 2004 D' Ulivem a kol.<sup>37,38</sup>. Podle této teorie dochází v kyselém prostředí k postupné hydrolýze tetrahydridoboritanu na kyselinu boritou, přičemž jakýkoliv z meziproductů hydrolýzy může reagovat s analytem za tvorby příslušného hydridu (přenos vodíku). Popsaný sled reakcí je spojen s vývinem značného množství vodíku (množství převyšující potřebu k redukci analytu), který usnadňuje uvolnění hydridu analytu z reakční směsi do plynné fáze. Spolu s nosným plynem se vodík dále podílí na transportu vygenerovaných těkavých sloučenin do detektoru. Zároveň je nápomocný při jejich atomizaci v některých typech atomizátorů (např. při atomizaci v zevně vyhřívaných křemenných atomizátorech)<sup>3,39–41</sup>.

Přes svou dlouholetou uživatelskou oblibu vykazuje chemické generování jisté nedostatky. Přetrvává náchylnost k určitým typům interferencí, které obvykle zhoršují citlivost a reprodukovatelnost stanovení a mohou vést k nesprávným analytickým výsledkům. Tyto interference jsou způsobeny hlavně některými přechodnými kovy (více viz. **2.3.6 Interference**).

Další nevýhodou je závislost chemického generování hydridů na oxidačním stavu stanovovaného prvku. Jako příklad může posloužit generování hydridu selenu, arsenu, antimonu a telluru. Zatímco jsou těkavé hydridy úspěšně generovány ze Se(IV), As(III), Te(IV) nebo Sb(III), vyšší mocenství těchto prvků není chemickému generování přístupné. Pro takové analyty je potřeba zařadit předredukční krok, který však výrazně prodlužuje dobu trvání analýzy. Konkrétně předredukce As(V) a Sb(V) je založena na reakci s L-cysteinem<sup>42,43</sup> či jodidem sodným v kyselém prostředí<sup>44,45</sup>. Pro předredukci Te(VI) a Se(VI) je nejčastěji voleno povaření analytu s kyselinou chlorovodíkovou<sup>46,47</sup>; např. třicetiminutové povaření analytu v 6 mol l<sup>-1</sup> HCl při teplotě okolo 90 °C<sup>48</sup>.

V neposlední řadě je redukční činidlo NaBH<sub>4</sub> relativně drahé a nestabilní, pro opakované použití je nutné uchovávat ho ve zmrazeném stavu. Díky tomu, že ho lze připravit pouze v omezené čistotě, stává se samo potenciálním zdrojem kontaminací<sup>49,50</sup>.

#### • Elektrochemické generování

Jednu z alternativ k chemickému generování omezující používání chemických činidel při formování těkavých hydridů představuje elektrochemické generování. Místo redukčního činidla je při něm redukce provedena prostřednictvím elektrického proudu pouze v prostředí velmi čistých minerálních kyselin<sup>51</sup>; využívána je tedy redukční síla elektronů. Hydridy se tvoří v elektrolytické cele, konkrétně na povrchu katody nebo v její bezprostřední blízkosti.

Kromě toho, že odpadá možnost kontaminace analyzovaného vzorku redukčním činidlem, přináší tento způsob generování i další výhody. Jmenujme například relativní osvobození od závislosti na oxidačním stavu stanovovaného prvku při vhodném výběru materiálu katody<sup>52-55</sup>. Přetrvávají však komplikace související s interferencemi<sup>54</sup>. Na jedné straně sice odpadají interference způsobené použitím chemického redukčního činidla, na druhé straně jsou ale možné interference vyplývající z konkurence dějů probíhajících na elektrodách. Nejzávažnější jsou interference, které mají příčinu v modifikaci katodového povrchu<sup>56,57</sup>.

- **UV-fotochemické generování**

Poměrně novým přístupem ke generování těkavých sloučenin je UV-fotochemické generování těkavých sloučenin (UV-PVG; z angl. *UV-photochemical vapour generation*). Těkavé sloučeniny jsou v tomto případě generovány v důsledku působení UV-záření na kapalný vzorek obsahující analyt. Klíčovou roli přitom vedle UV-záření zastávají některé organické látky, především karboxylové kyseliny s nízkou molární molekulovou hmotností<sup>4,58,59</sup>. S využitím fotokatalyzátorů je možné generovat těkavé sloučeniny i z vyšších mocností některých prvků. Za pozitivum může být označeno i použití relativně jednoduchých a k životnímu prostředí šetrných chemikálií<sup>60,61</sup>.

V následujícím oddílu teoretické části disertační práce bude UV-PVG popsáno šířeji. Největší prostor bude věnován UV-fotochemickému generování těkavých sloučenin selenu, který byl pro disertační práci vybrán jako modelový prvek.

## 2.3 UV-fotochemické generování těkavých sloučenin

### 2.3.1 Od počátků do současnosti

Za průkopnické práce týkající se přímého UV-fotochemického generování jakožto alternativy k tradičnímu chemickému nebo elektrochemickému generování jsou obvykle považovány studie Gua a kol. (pod vedením prof. Sturgeona) z roku 2003. UV-PVG bylo v těchto pracích využito jako technika zavádění vzorku při stanovení selenu ve vodných roztocích atomovou absorpční spektrometrií<sup>4,58,59</sup>. UV-indukovaným redukcím sloučenin selenu se sice již dříve věnovalo několik autorů<sup>62–68</sup>, ale teprve výše jmenovaný tým zveřejnil hodnotné příspěvky na téma přímé UV-fotochemické generování a jeho využití v oblasti analytické chemie. Vzápětí po selenu byly generovány těkavé sloučeniny dalších prvků<sup>49,69,70</sup>.

Doposud bylo pravděpodobně nejvíce článků o UV-PVG publikováno právě v souvislosti se selenem<sup>31,71–73</sup> (více viz. **2.3.8 Stanovení selenu s využitím UV-fotochemického generování**) a také se rtuť<sup>74–77</sup>; aktuálním tématem je využití UV-PVG ke speciální analýze anorganických i organických specií selenu<sup>35,78–80</sup> i rtuť<sup>81–84</sup>. S různými výsledky UV-PVG posloužilo také k produkci těkavých sloučenin typických hydridotvorných prvků (As, Sb, Bi, Te, Sn, Pb)<sup>49,70,85–91</sup> nebo i Cd<sup>86,92,93</sup>. Dále byly studovány možnosti generování těkavých sloučenin přechodných kovů (Ni<sup>69,94,95</sup>, Co<sup>87,96,97</sup> a Fe<sup>98–100</sup>), kdy v důsledku spolupůsobení UV-záření a organických činidel vznikaly těkavé karbonyly. Pozornost byla věnována i nekovům, hlavně jód<sup>101,102</sup> a nejnověji také bromu<sup>103</sup>. Zatím jen výjimečně byla technika UV-PVG vyzkoušena za účelem generování těkavých forem (nanočástic) vzácných kovů (Ag, Au, Rh, Pd, Pt)<sup>49</sup>.

Více informací o stanovovaných analytech (zejména o často studované rtuť) je uvedeno v **Příloze 1** (kapitola „**7. Stanovované analyty**“). Součástí přílohy („**Tabulka I**“) jsou mimo jiné příklady mezi detekce, které byly dosaženy pro selen a další prvky při využití UV-PVG jako techniky zavádění vzorku. Samostatná tabulka je věnována rtuť („**Tabulka II**“). Obě tabulky shrnují údaje z prací publikovaných přibližně mezi roky 2010 – 2015, starší data jsou dostupná například v přehledném referátu Yin a kol.<sup>61</sup>

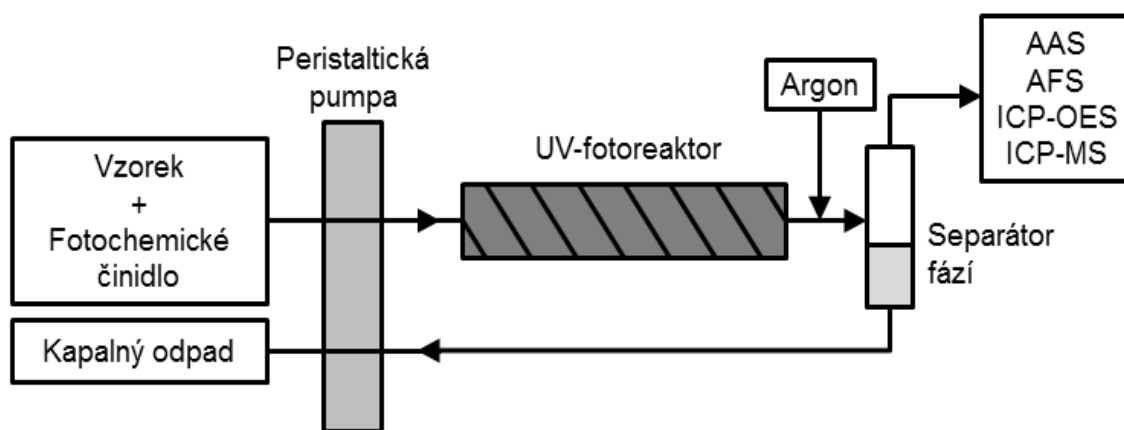
## 2.3.2 Experimentální uspořádání

K UV-fotochemickému generování lze využít obdobné experimentální přístupy jako při chemickém či elektrochemickém generování. Znamená to, že se využívají jak techniky přímého přenosu (vygenerované těkavé sloučeniny jsou ihned vedeny nosným plynem do detekčního systému), tak techniky spojené s kolekcí (těkavé sloučeniny jsou před samotným detekčním krokem po určitou dobu zachytávány v různých částech aparatury). Prakticky je přednost dávana spíše režimu kontinuální průtokové analýzy<sup>4,97</sup> nebo průtokové injekční analýzy<sup>94,104</sup>. Méně je využívána varianta dávkového uspořádání<sup>49,71</sup>. Kolekční techniky se zatím uplatnily zejména při pokusech zaměřených na identifikaci těkavých specií (kolekce vymrazováním)<sup>4,69</sup>. Za účelem zvýšení citlivosti stanovení byly těkavé sloučeniny některých analytů shromažďovány přímo v atomizátoru (*in situ* záchyt)<sup>94,105,106</sup>.

### 2.3.2.1 Průtokové uspořádání

Aparatura v průtokovém uspořádání sestává z několika hlavních součástí, kterými jsou: generátor těkavých sloučenin, separátor fází, tlaková lahev s nosným plynem (případně s dalšími pomocnými plyny), průtokový systém a spojovací materiál. Příklad jednoduchého konstrukčního řešení aparatury v průtokovém uspořádání je schematicky znázorněn na **Obr. 2.1**. Vzorek (s přidaným fotochemickým činidlem) je čerpán multikanálovou peristaltickou pumpou do UV-fotoreaktoru, kde dochází v důsledku UV-ozáření ke vzniku těkavých sloučenin analytu. Reakční směs je dále odváděna do separátoru fází, kde se odděluje plynná a kapalná fáze. Přebytečná kapalina je ze separátoru fází odváděna do odpadu, plynná fáze je unášena proudem nosného plynu do atomizátoru (QF-AAS<sup>4,59,72</sup>, ET-AAS<sup>77,94,106</sup>, AFS<sup>31,78,86</sup>) nebo do ionizačního/budícího zdroje (ICP-MS<sup>31,78,79</sup>, ICP-OES<sup>87,99,107</sup>).





**Obr. 2.1 Schématické znázornění aparatury pro UV-fotochemické generování těkavých sloučenin v průtokovém uspořádání**

- **Generátor těkavých sloučenin (UV-fotoreaktor)**

Základem aparatury pro UV-fotochemické generování je generátor těkavých sloučenin neboli UV-fotoreaktor. V průtokovém uspořádání je nejčastěji složen ze rtuťové UV-výbojky, k jejímuž povrchu je přichycena (např. omotáním) reakční cívka. Různé konstrukční typy UV-fotoreaktorů jsou popsány v samostatném oddílu této kapitoly (**2.3.3 Generátor těkavých sloučenin (UV-fotoreaktor)**).

- **Nosný plyn a vodík**

Jako nosný plyn se při UV-PVG používá některý z inertních plynů, ve většině případů argon. Při pokusech zahrnujících kolekci vymrazováním bylo využito také helium<sup>4,69</sup>. Do aparatury se zavádí buď na výstupu z UV-fotoreaktoru – před separátor fází nebo přímo do něj. Možné je též zavádění do proudu kapalného vzorku ještě před UV-fotoreaktorem, případně do obou poloh současně (před/za UV-fotoreaktorem). Nosný plyn má významný vliv na proces separace plyn-kapalina a na následný transport vygenerovaných těkavých sloučenin do detektoru, může ovlivňovat také atomizační proces<sup>4,87</sup>. Dále může minimalizovat sorpci na vnitřním povrchu transportních trubic a zmíněna byla i jeho funkce spojená s udržováním reakční teploty (resp. ochlazování křemenné dávkovací kapiláry při *in situ* záchytu<sup>94</sup>).

Na rozdíl od chemického nebo elektrochemického generování těkavých sloučenin nevzniká při UV-PVG dostatečné množství vodíku. U některých způsobů atomizace je však jeho přítomnost vyžadována. Fakticky je vodík nezbytný pro kompletní atomizaci v zevně vyhřívaném křemenném atomizátoru. Při CVG se potřebný vodík uvolňuje rozkladem redukčního činidla  $\text{NaBH}_4$ ; při ECVG se většinou uvolňuje redukcí minerální kyseliny na katodě. V případě UV-PVG je nutné vodík do aparatury zavádět ze zásobníku. Většinou se zavádí do proudu nosného plynu před vstupem do křemenného atomizátoru, tedy až za separátor fází.

Nelze opomenout, že ve spojení s některými detekčními technikami může být nedostatečná produkce vodíku při UV-PVG považována spíše za výhodu. Nadbytečný vodík totiž může snižovat stabilitu plazmatu u ICP zdrojů<sup>89</sup>.

- **Separátor fází**

Důležitou roli při generování těkavých sloučenin sehrává separátor fází, v němž dochází k oddělení stanovovaného analytu ve formě těkavých sloučenin od matrice vzorku. Většina autorů zabývajících se UV-PVG nezmiňuje, jaký konkrétní typ byl zvolen pro jejich práci. V principu je možné použít separátory různých tvarů, velikostí a provedení. Obecně se rozdělují do tří skupin, na separátory hydrostatické, s nuceným odtahem a membránové<sup>3</sup>.

Konstrukčně nejjednodušším typem je **hydrostatický separátor fází** fungující na bázi sifonu (princip spojených nádob). Nevýhodou tohoto separátoru je nízká schopnost vykompenzovat případný přetlak v aparatuře. Díky poměrně velkému mrtvému objemu a jím způsobené disperzi navíc není vhodný pro generování v režimu průtokové injekční analýzy. Uvedené problémy jsou eliminovány při použití **separátoru fází s nuceným odtahem**. Jedná se o uzavřenou nádobku (se třemi vstupy), ve které nedochází k samovolnému přepadu kapaliny do odpadu, nýbrž je nutné kapalinu řízeně odčerpávat. K tomu je zapotřebí zapojení přídatné peristaltické pumpy, případně je možné použít další kanál peristaltické pumpy sloužící primárně k čerpání vzorku do UV-fotoreaktoru; ve druhém případě je poměrně obtížné zkoordinovat průtokové rychlosti čerpání kapalného vzorku/odpadní kapaliny. Třetí možností jsou **membránové separátory fází**, které však nejsou příliš rozšířené. Složeny bývají například ze dvou v sobě umístěných trubiček. Vnitřní trubička je tvořena mikroporézní semipermeabilní membránou

propustnou pouze pro plyny. Plyny tedy difundují do vnější trubičky, zatímco kapalina zůstává ve vnitřní trubičce a následně odchází do odpadu. Výhoda těchto separátorů spočívá v zamezení průniku jemného aerosolu do plynné fáze. Nevýhodou je naopak omezená životnost membrán a také nízká reprodukovatelnost.

- **Průtokový a spojovací systém**

Jednotlivé součásti aparatury jsou propojeny do jednoho průtokového celku prostřednictvím nejrůznějších hadiček a spojek. Transport vzorku do UV-fotoreaktoru je realizován pomocí peristaltického čerpadla a příslušných čerpacích hadiček. Při kontinuální průtokové analýze může být jedním kanálem čerpán analyzovaný vzorek a druhým fotochemické činidlo. Častěji je však volena varianta, kdy je analyzovaný vzorek s fotochemickým činidlem smísen ještě před samotným zavedením do aparatury (off-line). Při průtokové injekční analýze bývá vzorek injektován do proudu nosiče (fotochemické činidlo) dávkovacím ventilem s dávkovací smyčkou příslušného objemu.

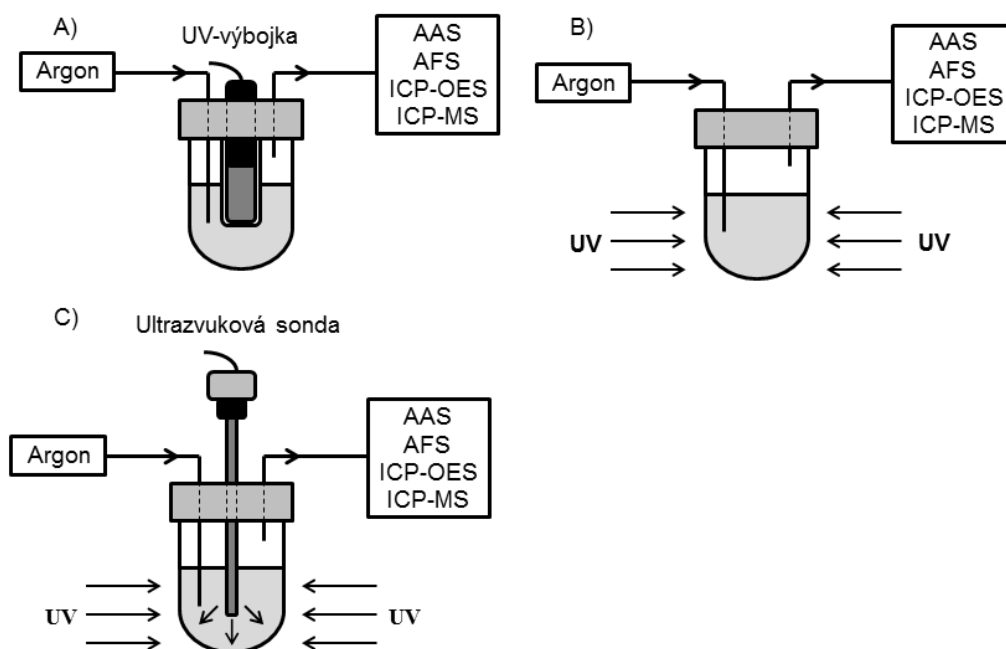
V souvislosti s průtokovým uspořádáním techniky stojí za zmínku využití UV-PVG jako interface mezi kapalinovou chromatografií a některou z metod atomové spektrometrie. V tomto uspořádání je UV-fotoreaktor napojen na výstup z chromatografické kolony, vygenerované těkavé sloučeniny jsou ze separátoru fázi transportovány do zvoleného detekčního systému. Tzv. postkolonová derivatizace byla využita v řadě prací zaměřených na on-line speciální analýzu selenu<sup>35,79</sup> či rtuť<sup>81,83</sup>.

Správný výběr spojovacího materiálu může celkem výrazně ovlivnit účinnost generování těkavých sloučenin. Nežádoucí jsou samozřejmě takové materiály, na nichž se vygenerované těkavé sloučeniny výraznou měrou sorbují, nebo ty které jsou propustné pro plyny. Jako spojovací materiál jsou obvykle voleny hadičky a spojky z teflonu, případně z Tygonu. Nevhodný je naopak např. silikonový plast nebo polypropylen. Z důvodu minimalizace ztrát během transportu těkavých sloučenin je žádoucí, aby bylo spojovací vedení co možná nejkratší, bez zbytečných napojení.

### **2.3.2.2 Dávkové uspořádání**

UV-fotochemické generování v dávkovém uspořádání je v literatuře popsáno méně často než průtokové uspořádání techniky. UV-fotochemický reaktor je tvořen

skleněnými nebo křemennými reakčními nádobkami, do nichž se vkládá vzorek; těkavé sloučeniny jsou generovány jednorázově z celého objemu vzorku umístěného v reakční nádobce. Zdroj UV-záření bývá umístěn přímo v těchto nádobkách<sup>49,70,105</sup> (**Obr. 2.2 A**) nebo může ozařování probíhat z vně umístěného zdroje<sup>71,108–110</sup> (**Obr. 2.2 B**). Pokud je UV-výbojka vkládána přímo do reakční nádobky, bývá chráněna před přímým stykem s kapalným médiem. Tato ochrana spočívá např. v umístění výbojky do ochranného křemenného pouzdra před jejím ponořením do roztoku<sup>70</sup>. V některých studiích bývají s výhodou propojovány účinky UV-záření s účinky vyvolanými ultrazvukem (urychluje transport těkavých sloučenin z kapalně do plynné fáze). V takových případech bývá součástí dávkového generátoru i ultrazvuková sonda<sup>108–110</sup> (**Obr. 2.2 C**).



**Obr. 2.2 Schématické znázornění aparatury pro UV-fotochemické generování těkavých sloučenin v dávkovém uspořádání**

*Umístění zdroje UV-záření: A) Uvnitř reakční nádobky, B) Vně reakční nádobky, C) Vně reakční nádobky + uvnitř nádobky se vzorkem je navíc umístěna ultrazvuková sonda*

Dávkový fotoreaktor slouží nejen ke generování těkavých sloučenin, současně funguje jako separátor fází. Jak je patrné ze základního uspořádání aparatury na **Obr. 2.2**, uvolněné těkavé produkty jsou do detektoru transportovány proudem nosného plynu

argonu. K detekci mohou být voleny obdobné způsoby, jaké byly uvedeny pro průtokové uspořádání.

### 2.3.2.3 Kolekce těkavých sloučenin

Kolekční techniky se využívají především za účelem zvýšení citlivosti a s ní souvisejícím snížením mezí detekce. Prakticky bývají těkavé sloučeniny analytu v průběhu generování zachytávány a tím prekoncentrovány v rozmanitých kolekčních zařízeních; těkavé sloučeniny jsou generovány z celého objemu vzorku a až poté dochází k uvolnění a atomizaci příslušné formy analytu. Obecně lze kolekci uskutečnit několika způsoby. Možný je např. záchyt v absorpčním médiu, tlaková prekoncentrace, kolekce vymrazováním, záchyt v atomizátoru<sup>3</sup>. V souvislosti s UV-PVG byly využity zejména dvě posledně jmenované kolekční techniky.

- **Kolekce v atomizátoru**

Těkavé sloučeniny mohou být zachytávány v různých částech atomizátoru. Pokud je kolekce provedena v té jeho části, která je přímo umístěná v optické ose detektoru, hovoří se o *in situ* záchytu. Při méně rozšířeném způsobu jsou těkavé sloučeniny zachytávány mimo vlastní atomizační prostor, např. v přívodním rameni upraveného křemenného atomizátoru<sup>111,112</sup>.

Při UV-fotochemickém generování (v dávkovém i průtokovém uspořádání) byl prekoncentrační krok uskutečněn především prostřednictvím *in situ* záchytu těkavých sloučenin, při stanovení vybraných analytů metodou ET-AAS. Při tomto přístupu jsou vygenerované těkavé sloučeniny na výstupu ze separátoru fází prostřednictvím dávkovací kapiláry zaváděny do předehřátého atomizátoru. Teplota při záchytu se obvykle pohybuje přibližně mezi 200 – 600 °C (např. pro rtuť postačují teploty nižší). Po ukončení generování se kapilára vysune a zachycená forma analytu je v dalším kroku za vysoké teploty (okolo 2 000 °C) odpařena a atomizována.

Konkrétně se popsaná kolekční technika uplatnila při stanovení selenu<sup>113</sup>, niklu<sup>94</sup> nebo rtuti<sup>77,105,106</sup>. Jako kolekční zařízení a současně i atomizátor byla při UV-PVG volena odporově vyhřívaná grafitová kyveta (GF-AAS). Kvůli zvýšení účinnosti záchytu byl v některých případech vnitřní povrch kyvety modifikován. K modifikaci byly využity buď trvalé kovové modifikátory (jednou vytvořený povlak je stálý i po několika stovkách

atomizačních cyklů)<sup>113</sup> nebo modifikátory jednorázové (nutnost aplikace před každou analýzou)<sup>105,106</sup>. Zástupcem tzv. permanentních modifikátorů je například iridium (teplota tání: 2 410 °C, teplota varu: 4 527 °C), opakované dávkování vyžaduje teplotně méně stabilní palladium (teplota tání: 1 552 °C, teplota varu: 2 927 °C) a další prvky ze skupiny platinových kovů. K úpravě vnitřního povrchu grafitové kyvety se osvědčily také vysoce stabilní zlaté nanotičinky (nanočástice tyčinkovitého tvaru)<sup>77</sup>. Kromě kvality povrchu modifikátoru se účinnost záchytu odvíjí i od geometrie vnitřního povrchu kyvety. Klíčová je také kolekční teplota nebo průtokové rychlosti nosného plynu. Svou roli hraje také poloha zaváděcí kapiláry při záchytu a další faktory.

Vedle zlepšení citlivosti přináší *in situ* záchyt ve srovnání s přímou atomizací i některé další výhody. Za přednost je považována eliminace vlivu kinetiky uvolňování těkavých sloučenin ze separátoru fází, omezení atomizačních interferencí či redukce vlivu fluktuací průtoku nosného plynu na získaný signál. Navíc je relativně snadné proces záchytu zautomatizovat<sup>114,115</sup>.

- **Kolekce vymrazováním**

Při kolekci vymrazováním je záchyt prováděn v pastech realizovaných trubicemi ve tvaru písmene „U“. První past (nemusí být zařazena) bývá ponořena např. do suchého ledu (−78 °C) s acetonem/methanolem a slouží především k odstranění vodních par ze separátoru fází. Ve druhé pasti ponořené do kapalného dusíku (−196 °C) jsou zachytávány těkavé sloučeniny. Nosný plyn (voleno bývá helium) prochází U-trubicemi volně, aniž by docházelo k jeho kondenzaci. Po ukončení kolekce je hlavní U-trubice vyjmuta z chladicího média a vytemperována/zahřáta. Uvolněná plynná fáze je transportována do detektoru. Unášena může být nosným plynem nebo je odebírána injekční stříkačkou a až následně vstříkována do příslušného detektoru.

Obecně se kolekce vymrazováním uplatňuje např. při speciální analýze, kdy se jednotlivé specie uvolňují postupně, v závislosti na jejich bodu varu<sup>116</sup>. V souvislosti s UV-PVG se tato technika prosadila zatím hlavně za účelem identifikace těkavých sloučenin metodami GC-MS nebo ICP-MS<sup>4,69,70,96</sup>. Konkrétní příklady identifikovaných těkavých sloučenin jsou uvedeny v **Příloze 1 („Tabulka IV“)**.

### 2.3.3 Generátor těkavých sloučenin (UV-fotoreaktor)

Jako základ UV-fotoreaktoru se používají především rtuťové UV-výbojky s různým tlakem uvnitř trubice a různým výkonem (nizkotlaké výbojky<sup>4,72</sup>, vysokotlaké výbojky<sup>74,117</sup> apod.), v jejichž emisním spektru je dominantní vlnová délka 253,7 nm odpovídající rezonanční čáře rtuti. Výbojky se liší i rozměrově. Dosahovat mohou délky desítek centimetrů nebo se naopak jedná o tzv. „tužkové“ výbojky (z angl. *pen lamp*) o velikosti pouze několika centimetrů, které se uplatňují zejména u dávkových reaktorů<sup>49,105</sup>. Různorodost se týká i tvarů výbojek. Kromě běžných výbojek trubicovitého typu byly využity např. ploché mřížkové (z angl. *grid lamp*)<sup>98,99</sup> nebo spirálové výbojky<sup>87,92</sup>. Popsáno bylo též použití LED diod jako zdrojů UV-záření<sup>118,119</sup>.

Druhou nezbytnou součástí generátoru představuje reakční cívka. V průtokovém uspořádání je obvykle navinutá kolem zdroje UV-záření, k povrchu výbojky bývá upevněna i jiným způsobem. Zhotovuje se z teflonu<sup>4,72</sup> nebo z křemene<sup>31,104</sup>, tedy z materiálů vzájemně se lišících propustností pro UV-záření. Přestože je intenzita UV-záření prošlého stěnou teflonové reakční cívky oproti té křemenné výrazně zeslabena, energie přeneseného záření je stále dostatečná, aby mohla být účinně využita ke generování těkavých sloučenin některých prvků<sup>59</sup>. Zatímco teflonové hadičky stačí jednoduše omotat okolo zdroje UV-záření, u křemenných trubiček je většinou nutná jejich odborná úprava na požadovaný tvar.

Ve snaze dosáhnout co možná nejlepších výsledků byl UV-fotoreaktor různě upravován a zdokonalován. Představeno bylo několik konstrukčních typů, které se od základní varianty lišily pouze drobnými úpravami; některé varianty však přinesly poměrně výraznou obměnu generátoru těkavých sloučenin:

- Několik autorů pracovalo s **vodou chlazeným reaktorem**<sup>74,86,120</sup>. Vodní lázeň sloužila ke stabilizaci reakční teploty a její využití vedlo také ke zlepšení opakovatelnosti měření. V některých pracích byl tento UV-fotoreaktor vylepšen o spojení s kondenzátorem<sup>31</sup>, který při zvyšování teploty zabraňoval ztrátám vody z reaktoru a podílel se tak na udržování stálého reakčního prostředí.
- Za účelem zvýšení účinnosti zavedení vzorku v ICP-MS byla představena **modifikovaná mlžná komora**<sup>101,102,121</sup>. V tomto případě nelze přímo hovořit o úpravě UV-fotoreaktoru, ale spíše o úpravě aparatury pro klasické ICP-MS zmlžování. Běžným zmlžováním kapalného vzorku vytvořený aerosol byl vystaven

účinkům UV-záření, které bylo emitováno ze rtuťové výbojky umístěné uvnitř komory.

- Za zmínku stojí také **integrovaný reaktor propojující účinky mikrovlnného záření s účinky UV-záření**<sup>122</sup>. Mikrovlnné pole v tomto uspořádání působilo na vzorek a současně budilo v bezelektrodové UV-výbojce ultrafialové záření.
- Představen byl i **UV-fotoreaktor sestavený z ploché mřížkové výbojky**<sup>98,99</sup> a na ní umístěné reakční trubice z křemene. Z důvodu zvýšení efektivity byla reakční trubice vyrobena tak, aby přesně kopírovala geometrii mřížky; trubice tedy obkreslovala z hlediska záření nejefektivnější zónu výbojky.
- Zajímavý fotoreaktor byl využit při UV-PVG selenu s fotokatalyzátory. Jeho základ tvořila na míru vyrobená **nízkotlaká rtuťová výbojka s centrálním kanálem**<sup>78</sup>, kterým proudil vzorek. Uvnitř tohoto kanálku bylo ještě fixováno skleněné vlákno modifikované příslušným fotokatalyzátorem.
- Představen byl i **průtokový fotochemický reaktor schopný vystavit vzorky UV-záření o vlnové délce 185 nm**<sup>89-91</sup>. Také v tomto uspořádání proudil vzorek křemennou trubicí (vnitřní objem okolo 800  $\mu$ l) umístěnou uvnitř nízkotlaké rtuťové výbojky (podél její centrální osy), takže byl účinně a rovnoměrně ozařován ze všech směrů.
- Zásadní obměnu UV-fotoreaktoru přinesl **tenkovrstvý reaktor** (z angl. *thin-film reactor*)<sup>87,92</sup> plnící současně funkci generátoru těkavých specií a separátoru fází. Základem byla ve svislé poloze umístěná křemenná tyč, jejíž povrch byl modifikován vytvořením vrypů podobných např. závitům u šroubu. Na povrch tyče byl pumpován vzorek, čímž se vytvářel tenký film kapaliny. Oproti hladkému povrchu se díky vrypům prodloužila doba, po kterou se vzorek zdržoval v reaktoru. Tenký film kapaliny zároveň umožňoval rychlý únik vygenerovaných těkavých produktů. Popsaná tyč byla umístěna uprostřed křemenné trubice, skrz kterou proudil nosný plyn právě zajišťující oddělení fází a následný rychlý transport vygenerovaných produktů do detektoru. Nezbytná součást reaktoru, zdroj UV-záření, byl v tomto případě omotán kolem vrchní křemenné trubice.
- UV-fotochemickému generování těkavých sloučenin se nevyhnul ani trend posledních let spočívající v miniaturizaci experimentálního systému. Miniaturizace obecně přináší mnoho výhod: výrazně snižuje spotřebu vzorku, zkracuje dobu



analýzy, redukuje spotřebu činidel, umožňuje snadnou přenositelnost, možnost paralelních analýz či možnost vzájemné integrace a spojování systémů. V souvislosti s UV-PVG byla popsána **mikrofluidní zařízení na bázi polymethylmetakrylátového substrátu**<sup>79,80</sup>. Vzorek v tomto systému neproudil reakční cívkou nýbrž laserem vytvořeným reakčním kanálkem v desce vyrobené z uvedeného substrátu<sup>80</sup>.

### 2.3.4 Pracovní podmínky

Pro dosažení maximální citlivosti stanovení daného analytu je nutné optimalizovat experimentální podmínky použitého systému. V případě UV-PVG je pozornost upírána především k době ozařování vzorku resp. k délce reakční cívky, klíčové je též složení a koncentrace fotochemického činidla (napomáhá redukci analytu na těkavou sloučeninu) nebo průtokové rychlosti použitých plynů. Je zřejmé, že se optimální podmínky liší dle analytu, použité aparatury pro generování i způsobu detekce a nelze je tak zcela paušalizovat.

#### 2.3.4.1 Doba ozařování

Optimální doba ozařování se odvíjí od použitého UV-fotoreaktoru; souvisí se zdrojem záření, materiálem či rozměry reakční cívky. Závisí též na samotném analytu a jeho koncentraci nebo na použitém fotochemickém činidle a jeho koncentraci. Dalším podstatným faktorem je rychlost čerpání vzorku, která se obvykle pohybuje v jednotkách  $\text{ml min}^{-1}$ . V případě zavádění nosného plynu před UV-fotoreaktor může být doba ozařování ovlivněna také jeho průtokovou rychlostí.

V závislosti na použitém materiálu je volena různá délka reakční cívky. Pro reakční cívku z teflonu se volí délka zhruba v jednotkách metrů zajišťující ozařování trvající desítky sekund až několik minut<sup>4,35,72,73</sup>. Pro křemen v některých případech postačila kratší cívka a ozařování pouze několikasekundové<sup>31,117</sup>. Delší ozařování bývá vyžadováno pro dávkový způsob generování<sup>71,105</sup>. Obecně platí, že zatímco krátké ozařování by mohlo mít za následek nedostatečnou syntézu těkavých produktů, příliš dlouhé by, naopak, mohlo vést ke ztrátám těkavých sloučenin analytu v důsledku následných rozkladných reakcí<sup>4,31</sup>.

Pokud se jedná o konkrétní stanovované analyty, poměrně lehce je při UV-PVG redukovatelná např. rtuť, pro kterou za určitých podmínek dostačuje jen pár sekund dlouhé ozařování<sup>87,117,120</sup>. Celkem snadno vznikají i těkavé sloučeniny jódu<sup>49,87,101</sup>. Guo a kol.<sup>49</sup> v dávkovém uspořádání generoval těkavé sloučeniny z některých konvenčních hydridotvorných prvků a zjistil, že lehkost s jakou vybrané ionty podléhají generování těkavých sloučenin, klesá v pořadí: Te(IV), Sb(III), As(III) a Bi(III). Podobně také zjistil, že podmínky pro generování těkavých sloučenin selenu přibližně odpovídají podmínkám pro arsen. V souvislosti s fotochemickými činidly se ukázalo, že použití složitějších organických kyselin vyžaduje delší dobu ozařování<sup>49,86</sup>. Toto zjištění naznačuje, že kinetika takových reakcí je pomalejší anebo, že vzniklé těkavé sloučeniny jsou méně těkavé, případně ve vodě rozpustnější.

#### 2.3.4.2 Fotochemická činidla

Účinnost UV-fotochemického generování těkavých sloučenin je významně závislá na typu a koncentraci přidávaných fotochemických činidel, jejichž UV-ozařováním pravděpodobně vznikají reaktivní volné radikály řídící proces redukce analytu; slouží tedy jako donory elektronů (více viz. **2.3.7 Reakční mechanismus**). Nejčastěji jsou využívány karboxylové kyseliny s nízkou molární molekulovou hmotností, zejména kyselina mravenčí a octová<sup>4,71,79,99</sup>. S různými účinnostmi byly vyzkoušeny i mnohé jiné kyseliny jako je kyselina propionová, kyselina malonová<sup>31,49,58,118</sup> a další (máselná, šťavelová, citronová, ethylendiamintetraoctová)<sup>70,71,120</sup>. K daným účelům posloužily i některé alkoholy (např. methanol, ethanol) nebo aldehydy (formaldehyd, acetaldehyd)<sup>31,117,118,120</sup>. Ve spojitosti se rtuťí se můžeme setkat s využitím merkptoethanolu<sup>84,123</sup> i některých jiných činidel<sup>75,124</sup>.

Pro různé stanovované analyty se hodí různé kyseliny, také rozmezí používaných koncentrací je odlišné. Zůstane-li pozornost upřena na kyselinu mravenčí a octovou, Zheng a kol.<sup>87</sup> na základě experimentů s tenkovrstvým UV-fotoreaktorem uvádí, že kyselina octová se lépe hodí ke generování těkavých sloučenin hydridotvorných prvků (testován As(III), Sb(III), Bi(III), Se(IV), Te(VI)) a jódu, zatímco kyselina mravenčí je vhodnější pro generování těkavých specií Fe(II)/Fe(III), Co(II) nebo Ni(II). Tento postulat byl částečně potvrzen i v další publikaci autora<sup>86</sup>, kdy byla kyselina octová opět označena za výhodnější pro generování těkavých forem arsenu, antimonu a bismutu, jen

pro tellur se lépe hodila kyselina mravenčí. Mezi ostatními autory panuje shoda nad použitím kyseliny octové pro jód, kyselina mravenčí se zase nejlépe uplatňuje za účelem UV-PVG přechodných kovů železa, kobaltu nebo niklu. Pro často studovaný selen nejsou výsledky jednoznačné, používají se obě zmiňované kyseliny. Stejně tak je tomu u rtuti, kdy bývá vysoké účinnosti generování dosaženo reakcí s kyselinou mravenčí i octovou (přednost je dávana spíše kyselině mravenčí).

Jako obtížnější se jeví zhodnocení koncentrací použitých organických činidel, které jsou mimo jiné ovlivněny koncentrací stanovovaných analytů v roztoku. Jak již bylo předesláno, UV-indukovaným rozkladem organických kyselin pravděpodobně vznikají radikály nezbytné k redukci analytu na těkavé sloučeniny. Dostatečné množství těchto radikálů je získáno pouze tehdy, je-li v reakční směsi přítomna kyselina o dostatečně vysoké koncentraci. Nadbytek organické kyseliny naopak účinnost snižuje. Docházet k tomu může v důsledku kompetitivních reakcí jako je zvýšená rekombinace radikálů nebo formování nových organických sloučenin z těchto radikálů<sup>86</sup>. Pokles analytického signálu při vysokých koncentracích organických kyselin byl přičítán také intenzivní absorpci UV-záření těmito kyselinami, která měla za následek omezenou hloubku průniku UV-záření analyzovaným roztokem<sup>125</sup>.

#### 2.3.4.3 Nosný plyn a vodík

Funkce nosného plynu a vodíku byla objasněna při popisu aparatury pro UV-PVG (**2.3.2.1 Průtokové uspořádání**). Zmíněno bylo také to, že jako nosný plyn se zpravidla využívá argon. Pokud je UV-PVG kombinováno s AAS, volí se jeho průtokové rychlosti přibližně v desítkách  $\text{ml min}^{-1}$ , v případě ostatních způsobů detekce to bývají stovky  $\text{ml min}^{-1}$ . Stejně jako pro ostatní techniky generování platí, že příliš velký průtok nosného plynu sice obvykle vede ke snížení šumu signálu, zároveň má ale ředící účinky a snižuje citlivost stanovení daného prvku<sup>51</sup>. V souvislosti s nosným plynem je ještě vhodné podotknout, že optimální průtok je rozdílný pro krok generování a krok detekční. Výsledná hodnota je kompromisem požadavků v obou krocích.

Za účelem úspěšného průběhu atomizace v křemenném atomizátoru (při QF-AAS) se do proudu nosného plynu přidává malé množství vodíku. Opět se jedná především o jednotky až desítky  $\text{ml min}^{-1}$ . Většinou platí, že v konkrétním systému je

průtok vodíku výrazně nižší oproti průtoku argonu. Doplnování vodíku je spojeno s UV-PVG selenu i dalších prvků<sup>86,95,97</sup>. Naopak jeho přídavek není opodstatněný při generování studené páry rtuti, protože vzniklý produkt má monoatomickou povahu a už ho tedy není třeba atomizovat.

#### 2.3.4.4 Využití fotokatalyzátorů

Především v souvislosti se speciální analýzou selenu za asistence UV-PVG bývají využívány polovodičové fotokatalyzátory, nejčastěji oxid titaničitý ( $\text{TiO}_2$ )<sup>31,35,79,80,126</sup>. Jejich funkce spočívá hlavně ve zpřístupnění hydridově neaktivních specií selenu UV-PVG. Těkavé sloučeniny tak mohou být generovány nejen z hydridotvorného Se(IV), ale i ze Se(VI) a dalších specií. Oxid titaničitý může být k analyzovaným vzorkům přidáván ve formě suspenze (on-line mísení v aparatuře) nebo může být na vnitřních površích reakčních cívek vytvořen tenký film nano- $\text{TiO}_2$ . Vedle samotného oxidu titaničitého byl vyzkoušen i nanočásticemi vzácných kovů modifikovaný  $\text{TiO}_2$  (např. Ag- $\text{TiO}_2$ ) nebo  $\text{ZrO}_2$ <sup>78</sup>.

V případě ostatních hydridotvorných prvků bylo zjištěno, že účinnosti UV-PVG As(III), Sb(III), Bi(III) a Te(IV) v přítomnosti fotokatalyzátoru oxidu titaničitého zlepšeny nebyly, v některých případech dokonce nepatrně klesly. Účinnost nebyla zvýšena ani pro As(V) nebo Sb(V), tedy specie, které jsou generování hydridů obecně méně přístupné. Ukázalo se však, že stejně jako pro Se(VI) může přídavek fotokatalyzátoru podstatně napomoci UV-PVG hydridově neaktivního Te(VI)<sup>86</sup>. S různými výsledky bylo studováno také spojení UV-PVG rtuti a  $\text{TiO}_2$ <sup>74,76,81,110</sup>.

#### 2.3.5 Účinnost UV-fotochemického generování

Celková účinnost generování informuje o tom, jaký podíl z původního množství analytu (kapalný vzorek před generováním) se v podobě těkavých sloučenin dostává do atomizátoru/budícího/ionizačního zdroje. Definována je jako součin účinností dílčích procesů generování, mezi které je řazena konverze analytu na těkavé sloučeniny, jejich uvolnění do plynné fáze (separace plyn-kapalina) a následný transport do detektoru. Samozřejmě je žádoucí, aby byla při generování dosahována co možná nejvyšší účinnost. Toho lze mimo jiné dosáhnout vhodným konstrukčním řešením aparatury (důležitý je typ

UV-fotoreaktoru, separátoru fází, spojovacího materiálu apod.) a důkladnou optimalizací experimentálních podmínek. Na celkovou účinnost generování těkavých sloučenin analytu může mít vliv také jeho koncentrace nebo oxidační stav. Rozdílná účinnost generování těkavých sloučenin z různých oxidačních stavů analytu bývá využita k tzv. selektivnímu generování, jedné z možností speciální analýzy<sup>31,126</sup>.

K hodnocení účinnosti UV-fotochemického generování těkavých sloučenin lze přistupovat několika způsoby. Jednotlivé varianty se liší dle náročnosti provedení, mají různou vypovídací hodnotu a jsou různě objektivní.

- **Porovnání s chemickým generováním těkavých sloučenin**

Za účelem odhadu účinnosti UV-PVG je nejčastěji využíván způsob založený na porovnání analytických signálů nebo citlivostí (vyjádřeny směrnici kalibračních křivek) získaných při UV-fotochemickém a konvenčním chemickém generování těkavých sloučenin<sup>4,58,78</sup>. Vychází se přitom z předpokladu, že dílčí účinnosti pro tvorbu, separaci plyn-kapalina a transport těkavé sloučeniny jsou při chemickém generování v podstatě kvantitativní (100%), a proto může být daný přístup ke generování použit jako relativní měřítko účinnosti<sup>4</sup>.

Jedná se o způsob jednoduchý, má však svá úskalí. Měla by být dodržena podmínka obdobných experimentálních podmínek pro oba typy generování. To znamená, že by se za určitou časovou jednotku mělo do generačního zařízení dostat stejné látkové množství analytu. Také podmínky atomizace/ionizace by měly být shodné. Je zřejmé, že tento přístup nepřináší údaje o absolutní hodnotě účinnosti, ale pouze údaje o relativní účinnosti vztažené k chemickému generování.

- **Měření frakce analytu v odpadu**

Při druhém způsobu určování účinnosti se porovnávají relativní koncentrace analytu ve vstupním roztoku (před UV-ozářováním) a v odpadním roztoku (kapalná frakce po UV-PVG); výsledná účinnost je určována z rozdílu<sup>87,97</sup>. Koncentrace ve vstupním/odpadním roztoku přitom bývají zjišťovány nejrozličnějšími analytickými metodami (využívá se například CVG). Stejně jako u předchozího způsobu odhadu účinnosti nejsou zohledněny případné transportní ztráty analytu v aparatuře.

- **Porovnání s přímým zaváděním kapalných vzorků**

Pokud je technika UV-fotochemického generování spojena s *in situ* záchytem vygenerovaných těkavých sloučenin v elektrotermickém atomizátoru atomového absorpčního spektrometru, může být pro odhad účinnosti generování zvolena další možná varianta. Založena je na porovnání směrníc kalibračních křivek (popřípadě analytických signálů stejných výchozích množství analytu) získaných při experimentech využívajících výše zmíněnou kolekční techniku a při konvenčním zavádění kapalného vzorku přímo do kyvety. Přímé zavádění kapalného vzorku je přitom považováno za 100% (celý nadávkovaný objem je naráz atomizován)<sup>94,113</sup>. V daném případě je určována účinnost UV-PVG včetně záchytu v grafitové kyvetě; atomizační krok není zahrnut, protože by měl být shodný pro oba porovnávané způsoby. Opět nejsou zohledněny případné ztráty analytu během transportní fáze.

Podobně je možné provádět porovnání s **přímým zaváděním kapalných vzorků do pneumatických zmlžovačů**<sup>98</sup>. Účinnost zmlžování je však obtížně definovatelná (obvykle se uvádí v jednotkách procent) a proto je i poněkud problematické odhadnout tímto způsobem účinnost UV-PVG.

- **Využití radioaktivních indikátorů**

Při nejobjektivnějším způsobu využívajícím radioaktivně značenou sloučeninu analytu (radioaktivní indikátor či zkráceně radioindikátor) je účinnost určována na základě porovnání radioaktivity příslušného radioaktivního indikátoru změřené v roztoku (před generováním) s aktivitou téhož indikátoru ve formě vygenerovaných těkavých sloučenin zachycených na vhodném sorbentu. Je zřejmé, že aby bylo možné metodu využít, radioaktivní indikátor se musí vyskytovat ve stejné formě, v jaké se nachází analyt.

Na rozdíl od ostatních popsaných variant je touto metodou možné zmapovat distribuci příslušného radioizotopu (a tím pádem i studovaného analytu) – kromě frakce analytu převedené na těkavé sloučeniny je možné určit frakci analytu přecházející do kapalného odpadu či frakci ulpívající na různých površích aparatury<sup>127,128</sup>. Jisté omezení představuje finanční i časová náročnost experimentů, zapotřebí je také speciální instrumentace. Práce s radioaktivním materiálem vyžaduje zvláštní odbornou způsobilost a vykonávána bývá na specializovaných pracovištích.

Je obtížné porovnávat účinnosti generování publikované různými autory bez znalosti přesných experimentálních podmínek a způsobů za jakých byly definovány. Alespoň pro představu jsou v **Příloze 1 („Tabulka III“)** ukázány některé publikované účinnosti zjištěné pro různé analyty. V **Příloze 2 („Table 4“)** jsou shrnuty účinnosti dosažené pouze pro selen.

## 2.3.6 Interference

### 2.3.6.1 Úvod do problematiky

V atomové absorpční spektrometrii rozlišujeme dva druhy interferencí, a sice interference **spektrální a nespektrální**. **Spektrální** interference jsou způsobeny především absorpcí primárního záření částicemi jinými, než jsou volné atomy analytu. Vzhledem k odseparování rušivé matrice od analytu nepředstavují při generování těkavých sloučenin zásadní problém, spojeny bývají s přímým dávkováním kapalných vzorků.

Při generování těkavých sloučenin jsou významnější interference **nespektrální**, které se mohou projevit během všech fází generování. Pokud k rušivým vlivům dochází při tvorbě těkavých sloučenin či při jejich uvolnění z roztoku do plynné fáze, hovoří se souhrnně o interferencích **v kapalně fázi**. Svůj původ mají ve změně rychlosti uvolnění těkavé sloučeniny z kapalně fáze nebo v poklesu účinnosti uvolnění těkavé sloučeniny. Způsobeny jsou nejrůznějšími částicemi v kapalném vzorku (složky matrice), které jsou oproti samotnému analytu obvykle přítomny ve velkém nadbytku. K potlačení vlivu interferencí matrice je možné využít ředění vzorku, metodu standardního přídatku či různá maskovací činidla (např. kyselina ethylendiamintetraoctová – EDTA, thiomocovina). Interferent může být odstraněn již v průběhu předúpravy vzorku, k čemuž se volí různé separační metody<sup>3</sup>.

Interference mohou vznikat i **v plynně fázi** během transportu do atomizátoru nebo přímo v něm. Zapříčiněny jsou například dalšími těkavými sloučeninami vygenerovanými spolu s těkavými sloučeninami analytu nebo aerosolem vznikajícím v generátoru těkavých sloučenin. K jejich omezení může přispět rychlý a účinný transport do atomizátoru, správná volba atomizátoru apod. Problematiku interferencí při chemickém generování hydridů velmi podrobně zmapovali Dědina a Tsalev<sup>3</sup>.

Při tradičním chemickém generování těkavých sloučenin bývají nejčastěji studovány interference způsobené anorganickými sloučeninami rozpuštěnými v kapalném vzorku. Patří mezi ně zejména interference způsobené ionty přechodných a vzácných kovů (Ni, Co, Cu, Fe, Ag...) nebo interference vyplívající z přítomnosti iontů ostatních hydridotvorných prvků ve vzorku. Do třetí skupiny jsou řazeny interferenty typu silných oxidačních činidel. Objasnění mechanismu vzniku interferencí při chemickém generování bylo věnováno mnoho publikací<sup>129–135</sup>.

V souvislosti s přechodnými a vzácnými kovy jsou při CVG za nejzávažnější považovány interference typu hydrid-produkt<sup>3,131</sup>. Podle tohoto mechanismu je vygenerovaný hydrid analytu zachytáván/rozkládán částicemi vznikajícími reakcí interferujícího iontu kovu s redukčním činidlem; redukovanou částicí (produktem) může být např. elementární forma kovu, sraženina nebo koloid. Potvrzeny byly i interference typu hydrid-iont, tedy reakce hydridu analytu s iontem interferentu za vzniku nerozpustných sloučenin nebo stálých komplexů<sup>136</sup>. Navržen byl i možný rozklad/konkurenční spotřeba redukčního činidla způsobený přechodnými kovy<sup>133</sup>.

Připomeňme, že při elektrochemickém generování sice odpadají interference spojené s konkurenční spotřebou redukčního činidla, možné jsou však interference vyplývající z konkurence dějů probíhajících na elektrodách. Závažné jsou zejména interference, jejichž podstata je založena na modifikaci katodového povrchu (depozice interferujících přechodných prvků na katodě)<sup>56,57</sup>. Modifikací povrchu katody se mění její vlastnosti a může dojít ke změně účinnosti elektrochemické reakce. Tato modifikace katody je ireverzibilní<sup>51</sup>.

### 2.3.6.2 Interference při UV-fotochemickém generování

Tolerance vůči potenciálním interferentům byla zkoumána i v souvislosti s UV-PVG. Studován byl interferenční vliv přechodných kovů, vzácných kovů i nekovů na stanovení selenu<sup>4,31,71,72</sup>, ostatních hydridotvorných prvků<sup>86,91</sup>, přechodných kovů<sup>94,97,99</sup> nebo rtuti<sup>74,108,118,120</sup>. Podle dostupných informací však zatím nebyla publikována žádná samostatná studie, která by byla zaměřena přímo na interference při UV-PVG (jejich vznik, mechanismus apod.).

Nebylo by účelné detailně popisovat závěry jednotlivých autorů, které se liší v závislosti na studovaném analytu, fotochemickém činidle i použité aparatuře pro



UV-PVG. Velmi zjednodušeně může být konstatováno následující: V určitých ohledech se UV-fotochemické generování (v porovnání s chemickým generováním) jeví jako méně náchylné k některým typům interferencí, což je například přičítáno nižší redukční schopnosti nízkomolekulárních organických sloučenin oproti  $\text{NaBH}_4$ <sup>31,86</sup>. V jistých případech však závažné interference přetrvávají. Opět jsou významné interference způsobené přechodnými kovy, menší vliv byl většinou zaznamenán v souvislosti s interferencemi vyplývajícími z přítomnosti hydridotvorných prvků<sup>4,71,72</sup>. Zvláštní postavení při UV-PVG zauímají interference způsobené minerálními kyselinami a jejich solemi; tato problematika je ve stručnosti probírána níže.

Mechanismy interferencí se pravděpodobně do značné míry shodují s těmi při CVG. Pokud bude na vznik těkavých sloučenin při UV-PVG nahlíženo jako na proces řízený redukujícími radikály (viz. **2.3.7 Reakční mechanismus**), interferující ionty by mohly soutěžit se stanovovaným analytem právě o tyto radikály<sup>99</sup>. Dá se také očekávat, že by se redukované formy interferentů mohly spolusrážet s meziprodukty generovanými během UV-PVG vybraných analytů<sup>97</sup>.

- **Vliv minerálních kyselin**

Při konvenčním chemickém a elektrochemickém generování jsou jako reakční médium využívány některé minerální kyseliny. Patří mezi ně zejména kyselina chlorovodíková, kyselina sírová či kyselina dusičná. Mimoto se tyto kyseliny často uplatňují také při uchovávání a úpravách vzorků (oxidační a solubilizační činidla apod.). Je tedy logické, že byl vliv minerálních kyselin a/nebo jejich solí na účinnost UV-PVG studován celou řadou autorů<sup>4,31,94,95,99</sup>.

Na základě publikovaných výsledků lze obecně konstatovat, že UV-PVG vykazuje poměrně nízkou odolnost vůči minerálním kyselinám. O něco vyšší tolerance byla v některých případech zjištěna tehdy, pokud byly součástí analyzovaných vzorků soli odvozené od těchto kyselin. To by znamenalo, že kromě příslušných aniontů by výkyvy analytického signálu při UV-PVG mohly být částečně přičítány také změně pH<sup>99,118</sup>. Výsledky však nejsou jednoznačné, podle některých autorů byl stejný trend pozorován pro kyseliny i odvozené soli<sup>94</sup>.

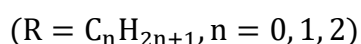
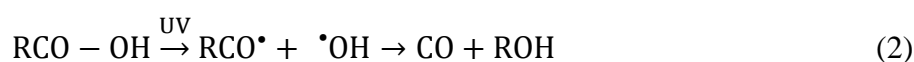
Patrně největší vliv na účinnost UV-PVG byl pozorován v souvislosti s kyselinou dusičnou a dusičnany. Většinou již koncentrace okolo 50 – 100 mmol l<sup>-1</sup> vedly

k výraznému potlačení analytického signálu<sup>94,99</sup>. Analytický signál však nutně nevykazoval pouze klesající tendenci. Konkrétně pro selen bylo zjištěno, že nízké koncentrace kyseliny dusičné/dusičnanů (přibližně okolo 10 – 30 mmol l<sup>-1</sup>) mohou způsobit výrazný nárůst účinnosti generování<sup>4,31</sup>. Tento fenomén platil pouze při UV-PVG s kyselinou mravenčí (nikoliv s kyselinou octovou) a nebyl pozorován v kontextu s ostatními hydridotvornými prvky<sup>86</sup>, přechodnými kovy Ni<sup>94,95</sup>, Fe<sup>99</sup> či se Hg<sup>108,118</sup>.

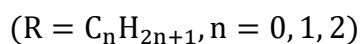
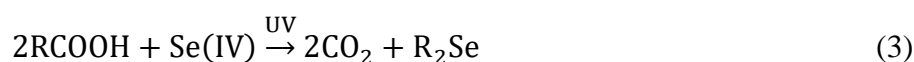
## 2.3.7 Reakční mechanismus

### 2.3.7.1 Reakční mechanismus bez fotokatalyzátorů

Reakční mechanismus vzniku UV-fotochemicky generovaných těkavých sloučenin je stále předmětem diskuzí díky složité povaze fotoreakcí. Navržen byl sled reakcí vedoucích k produkci těkavých sloučenin selenu. V tomto konceptu<sup>4,58,59</sup> se předpokládá, že v důsledku fotolytického rozkladu alifatických organických kyselin (fotochemická činidla) vznikají reaktivní volné radikály, které mají teoreticky schopnost redukovat sledovaný analyt (Se(IV)) právě až za vzniku těkavých sloučenin. Jak je patrné z rovnic (1) a (2), rozklad organických kyselin může probíhat dvěma způsoby za vzniku různých radikálů a koncových reakčních produktů.



Je-li jako fotochemické činidlo využita kyselina mravenčí, seleničité ionty jsou postupně redukovány na amorfní Se(0) a následně na selenovodík (SeH<sub>2</sub>) a selenokarbonyl (SeCO) (souhrnné reakce ukazuje rovnice (3), (4)). Podle Gua a kol.<sup>4</sup> vzniká popsaným způsobem přibližně 60 – 70 % SeH<sub>2</sub> a 30 – 40 % SeCO.



Při použití organických kyselin s delším uhlíkovým řetězcem se snižuje pravděpodobnost reakce (2) a jako produkty vznikají různé alkylované sloučeniny. Např. při použití kyseliny octové a malonové vzniká  $(\text{CH}_3)_2\text{Se}$  a při použití kyseliny propionové je generován  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_2\text{Se}$ .

Radikálový mechanismus byl zmíněn i v souvislosti s arsenem<sup>70</sup>, niklem<sup>69,95</sup>, rtuť<sup>74,75</sup> nebo jódem<sup>137</sup>. Navrženy však byly i alternativní mechanismy vzniku těkavých sloučenin při UV-PVG. Jiný možný mechanismus zaměřený na generování těkavých sloučenin selenu navrhl na základě teoretických kalkulací Takatani a kol.<sup>138</sup> Základní představa tohoto návrhu vychází z předpokladu, že UV-fotolýzou karboxylových kyselin s nízkou molární molekulovou hmotností nevznikají volné radikály, nýbrž z energetického hlediska výhodnější CO (rozkladem HCOOH) a  $\text{CH}_2\text{CO}$  (rozkladem  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ). Tyto sloučeniny pak postupně řídí proces redukce seleničitých iontů. V souladu s těmito poznatky se zdá být i návrh Bendla a kol.<sup>139</sup> týkající se rtuť. Také ve spojení s niklem<sup>69</sup> bylo diskutováno, že k produkci  $\text{Ni}(\text{CO})_4$  mohou případně vést i jiné cesty.

### 2.3.7.2 Reakční mechanismus s fotokatalyzátory

Odlišný je mechanismus generování, při kterém je využíván fotokatalyzátor, obvykle oxid titaničitý. Fotokatalytická funkce  $\text{TiO}_2$  souvisí s jeho polovodičovým charakterem<sup>68</sup>. UV-PVG s katalyzátorem  $\text{TiO}_2$  se nejčastěji uplatňuje při stanoveních selenu. Pro selen platí, že specíe  $\text{Se}(\text{VI})$  nebo  $\text{Se}(\text{IV})$  mohou za určitých podmínek absorbovat z fotokatalyzátoru uvolněný elektron (k jeho uvolnění dochází dodáním dostatečně velké energie záření) a tím se redukovat na elementární selen  $\text{Se}(0)$ . Organické ionty (např.  $\text{HCOO}^-$ ) mohou být na povrchu  $\text{TiO}_2$  naopak oxidovány. UV/ $\text{TiO}_2$  adsorpčně-redukční proces selenu (nejen) v prostředí HCOOH studoval detailně Tan a kol.<sup>65,67,68</sup>. Po vyčerpání iontů Se z roztoku se elementární selen  $\text{Se}(0)$  dále redukuje na selenovodík. Tuto následnou redukci vysvětlil Kikuchi a Sakamoto<sup>64</sup> na základě modelu akumulace elektronů na povrchu částic  $\text{TiO}_2$ . Fotoredukce  $\text{Se}(\text{VI})$  se stříbrem modifikovaným  $\text{TiO}_2$  ( $\text{Ag-TiO}_2$ ) byla také studována<sup>66</sup>.

Různé spekulace na téma reakčního mechanismu UV-PVG pro různé analyty jsou shrnuty v samostatné publikaci Sturgeona a Grinbergové<sup>140</sup>.

### 2.3.8 Stanovení selenu s využitím UV-fotochemického generování

Selen se stal modelovým analytem v počátečních studiích zaměřených na přímé UV-PVG v atomové spektrometrii<sup>4,58,59</sup> a pozornost mu je věnována i v současné době. Předmětem zájmu je z několika důvodů. Jednak je to jeden ze zástupců klasických hydridotvorných prvků, je to také zajímavý a důležitý prvek pro lidský organismus. Na jedné straně se jedná o esenciální stopový prvek (např. tvoří nepostradatelnou součást některých enzymů chránících buňky před škodlivými volnými radikály) a jeho nedostatek může vést k nejrůznějším obtížím včetně vypadávání vlasů a nehtů, k poruchám nervového systému či poruchám zažívání. Na druhé straně může být pro člověka toxický<sup>141</sup>. Hranice rozlišující oba stavy je přitom poměrně úzká<sup>142,143</sup>, a proto je nutné věnovat stanovení selenu v (ultra)stopových koncentracích zvýšenou pozornost.

Toxicita selenu závisí nejen na množství, ale také na chemické formě, ve které se nachází ve sloučeninách; například Se(IV) je toxičtější než Se(VI)<sup>144</sup>. Také z toho důvodu se UV-PVG prosadilo při řešení aktuálního a atraktivního tématu jakým je speciální analýza. Realizována byla buď s předchozí chromatografickou separací<sup>35,78–80</sup> (postkolonová derivatizace) nebo bez ní, pouhou úpravou experimentálních podmínek (selektivní generování)<sup>31,126</sup>. Provedena byla speciální analýza anorganických (Se(IV), Se(VI)) i organických (hlavně selenocystein a selenomethionin) specií selenu. Při speciacích byla vyžadována přítomnost fotokatalyzátoru, obvykle TiO<sub>2</sub>. Popsány byly i další efektivní způsoby UV-PVG založené na bázi jiných nano-polovodičů<sup>78</sup>.

Za účelem prekoncentrace a s ní souvisejícím zvýšením citlivosti bylo UV-PVG propojeno se záchytem vygenerovaných těkavých specií a s následnou elektrotermickou atomizací<sup>71</sup>. Oproti *in situ* záchytu popsaném v **2.3.2.3 Kolekce těkavých sloučenin** byla uplatněna tzv. mikroextrakce jednou kapkou (*single-drop microextraction*). V dávkovém uspořádání generované těkavé sloučeniny selenu byly zachytávány do kapky vodného roztoku s obsahem palladia; injekční stříkačka s palladiem byla vsunuta přes septum do volného prostoru nad roztokem. Po dosažení rovnováhy byla kapka nasáta zpět do stříkačky a následně vstříknuta do grafitové kyvety AAS. Kolekční technika se uplatnila také v kombinaci s ICP-MS. V tomto případě byly vygenerované těkavé sloučeniny selenu před vstříknutím do plazmového zdroje nejprve shromažďovány ve skleněné komoře<sup>73</sup>.

Uvedeny by mohly být i další aplikace využívající UV-PVG ke stanovení selenu. Za účelem prodloužení doby, po kterou byla zóna vzorku vystavena UV-záření, byla využita automatizovaná průtoková injekční analýza se zastaveným tokem (z angl. *flow-injection/stopped-flow*)<sup>72</sup>. Popsáno bylo propojení účinků UV-fotolýzy s ultrazvukovou nebulizací<sup>145</sup>; ultrazvukovou nebulizací formovaný aerosol byl UV-ozařován za vzniku těkavých sloučenin. Vyzkoušeny byly různé typy UV-fotoreaktorů, včetně miniaturizovaných zařízení<sup>79,80</sup>.

Vedle standardních roztoků selenu byly analýze podrobeny i některé praktické vzorky. Jednalo se hlavně o stanovení selenu v přírodních vodách<sup>4,35,72,73,79,80</sup>, v minerálních vodách nebo doplňcích stravy (jedlá kamenná sůl, kvasnice)<sup>31,78</sup>. Popsáno bylo stanovení selenu (spolu s Ni a Fe) v biologických tkáních metodou izotopové zředovací hmotnostní spektrometrie<sup>98</sup>.

Dosahované meze detekce se liší s ohledem na použitý UV-fotoreaktor, závisí též na experimentálních podmínkách či zvoleném detektoru. Pro představu může být uvedeno, že pro selen se pohybují přibližně v jednotkách až stovkách  $\text{ng l}^{-1}$ . Nízké meze detekce ( $20 \text{ ng l}^{-1}$ ) byly získány např. při výše popsaném stanovení selenu metodou UV-PVG/ET-AAS<sup>71</sup>. Dobrých výsledků dosáhl Shih a kol.<sup>79,80</sup>; v publikacích uvedené sloupcové grafy ukazují, že při UV-PVG s fotokatalyzátorem  $\text{TiO}_2$  bylo pro Se(IV) a Se(VI) dosaženo vyšších signálů než při konvenčním chemickém generování. Zheng a kol.<sup>31</sup> uvádí přehledné srovnání hodnot získaných při stanovení selenu UV-PVG a CVG s detekcí AFS a ICP-MS. V jiných studiích autora a jeho spolupracovníků<sup>87,98</sup> je vyzdviženo, že LOD i citlivosti byly při využití UV-PVG mnohonásobně (více jak o 100 %) vylepšeny oproti konvenčnímu zmlžování roztoků. Součástí práce Li a kol.<sup>78</sup> je porovnání LOD dosažených při postkolonové speciální analýze s využitím UV-PVG s hodnotami získanými v jiných systémech zahrnujících HPLC a generování těkavých sloučenin jako interface; přehled obsahuje meze detekce pro anorganické i organické specie selenu.

V Příloze 1 („Tabulka I“) jsou pro ucelenější představu zaznamenány příklady mezi detekce, které byly dosaženy pro selen stanovený s využitím UV-PVG v kombinaci s různými detektory.

## 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 3.1 Chemikálie

- Jako modelový analyt byl pro studii využit **selen** ve formě iontů seleničitých (Se(IV)). Základní standardní roztok o koncentraci  $1\ 000\ \text{mg l}^{-1}$  byl připravován rozpuštěním příslušného množství  $\text{Na}_2\text{SeO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (p.a.; Sigma Aldrich, USA) v deionizované vodě. Obdobným způsobem byl z  $\text{Na}_2\text{SeO}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$  (99,999%; Sigma Aldrich, USA) připravován standardní roztok Se(VI), který byl využit při analýze reálných vzorků.
- **Deionizovaná voda** připravená zařízením Milli Q<sub>PLUS</sub> (18,2 M $\Omega$  cm; Millipore, USA) byla používána k přípravě/ředění všech roztoků.
- **UV-fotochemické generování**
  - Jako optimální **fotochemické činidlo** byla pro studii vybrána kyselina mravenčí. Požadovaná koncentrace činidla byla připravena ředěním  $\geq 98\%$  HCOOH (puriss. p.a.; Sigma Aldrich, USA). Dále byla k daným účelům testována kyselina octová ( $\geq 99,8\%$ , puriss. p.a.; Sigma Aldrich, USA).
  - Kvůli zvýšení analytického signálu bylo do analyzovaných roztoků s obsahem selenu v některých případech (vedle fotochemického činidla) přidáváno malé množství (většinou jednotky  $\text{mmol l}^{-1}$ ) 65% kyseliny dusičné. Ze stejného důvodu byl testován také vliv dusičnanu sodného a peroxidu vodíku (vše Suprapur; Merck, Německo).
- **Chemické generování**
  - Jako **redukční činidlo** byl používán 0,5% roztok  $\text{NaBH}_4$  (hmotnostní obsah  $\text{NaBH}_4$  v roztoku) připravený z pevné substance ( $\geq 99\%$ , kvalita pro stanovení hydridů AAS; Sigma Aldrich, USA). Činidlo bylo připravováno každý den čerstvé a bylo stabilizováno 0,4% roztokem NaOH (hmotnostní %) (p.a.; Lach-Ner, ČR).
  - Analyzované roztoky s obsahem analytu byly připravovány v prostředí  $1,0\ \text{mol l}^{-1}$  HCl (připraveno z 30% HCl, Suprapur; Merck, Německo).
- Jako **nosný plyn** byl během všech experimentů používán argon o čistotě 4.8. Vodík o čistotě 5.0 napomáhal atomizaci UV-fotochemicky vygenerovaných těkavých sloučenin v křemenném atomizátoru (oba plyny z Linde Gas, ČR).

- K ověření správnosti zoptimalizovaných metod byl použit **standardní referenční materiál** SRM 1643e (NIST, USA). Obsah selenu v SRM byl  $11,97 \pm 0,14 \mu\text{g l}^{-1}$ .
- **Radioaktivní indikátor**  $^{75}\text{Se}$  byl připraven ozařováním terčového materiálu tepelnými neutrony v jaderném reaktoru LWR-15 (Ústav jaderné fyziky, AV ČR). Terčovým materiálem byl Se(VI) obohacený o přírodní izotop  $^{74}\text{Se}$  (0,9 %). Radioaktivní indikátor  $^{75}\text{Se(IV)}$  byl získán po redukci koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou. Koncentrace selenu v zásobním roztoku uchovávaném v  $1 \text{ mol l}^{-1}$  HCl byla přibližně  $2 \text{ mg l}^{-1}$ . Více o přípravě radioaktivního indikátoru je uvedeno v **Příloze 2 („2.2  $^{75}\text{Se}$  radiotracer“)**.
- Při experimentech zahrnujících *in situ* záchyt těkavých sloučenin v grafitové kyvetě byl vnitřní povrch kyvety modifikován roztokem **iridia** o koncentraci  $1\,000 \text{ mg l}^{-1}$ . Roztok byl připraven z pevného  $(\text{NH}_4)_3\text{IrCl}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$  ( $\geq 99,99\%$ ; Sigma Aldrich, USA).
- **Interferenční studie**
  - Studován byl interferenční vliv ostatních hydridotvorných prvků (As(III), Sb(III), Pb(II)), přechodných kovů a vzácných kovů (Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), Cd(II), Cr(III), Mn(II), Ag(I)) na stanovení selenu. Roztoky o požadovaných koncentracích byly připraveny ředěním standardních roztoků o koncentraci  $1,000 \pm 0,002 \text{ g l}^{-1}$  (jednoduché vodné kalibrační roztoky ASTASOL na úrovni certifikovaného referenčního materiálu; Analytika, ČR).
  - Dále byl sledován vliv minerálních kyselin a příslušných solí na stanovení selenu. Požadované koncentrace  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , HCl,  $\text{H}_3\text{PO}_4$  byly připraveny z koncentrovaných kyselin o vysoké čistotě (Suprapur; Merck, Německo). Roztoky interferujících aniontů (síranů, chloridů a fosforečnanů) byly získány z pevných substancí s obsahem sodného kationtu (Suprapur; Merck, Německo).
- K **čištění** křemenného atomizátoru posloužila koncentrovaná kyselina fluorovodíková (Analpur S.D.; Analytika, Praha, ČR). Při čištění aparatury se dále uplatnila kyselina dusičná (65%, p.a.; Merck, Německo). Při experimentech s radioaktivním indikátorem  $^{75}\text{Se}$  byla za účelem vyloužení zbytkového analytu z aparatury využívána lučavka královská připravená smísením koncentrované kyseliny dusičné a kyseliny chlorovodíkové v objemovém poměru 1:3 (Suprapur; Merck, Německo).

## 3.2 Praktické vzorky

### 3.2.1 Potravinové doplňky

Celkem pět preparátů od různých výrobců (zakoupeno ve volném prodeji lékáren) obsahovalo Se(IV) nebo Se(VI). Doplňky byly ve formě tablet, pouze jeden měl podobu kapslí. Vzorky jsou v této práci označovány písmeny A – E. Složení jednotlivých preparátů bylo dle příbalových letáků následující:

- Vzorek A: seleničitan sodný (50  $\mu\text{g}/\text{tableta}$ ), vitamín E (3  $\text{mg}/\text{tableta}$ ), sorbitol (plnidlo), stearan hořečnatý (plnidlo), mátové aroma.
- Vzorek B: seleničitan sodný (50  $\mu\text{g}/\text{tableta}$ ), glukonan zinečnatý (109  $\text{mg}/\text{tableta}$ ), mikrokrystalická celulóza (89  $\text{mg}/\text{tableta}$ ; plnidlo), stearan hořečnatý (6  $\text{mg}/\text{tableta}$ ; kluzká látka).
- Vzorek C: seleničitan sodný (30  $\mu\text{g}/\text{tableta}$ ), sorbitol, dextróza, mikrokrystalická celulóza, laktát zinečnatý (15  $\text{mg}$  zinku/tableta), stearan hořečnatý.
- Vzorek D: selenan sodný (100  $\mu\text{g}/\text{tableta}$ ), fosforečnan vápenatý (plnidlo), celulóza (emulgátor), karboxymethylcelulóza (stabilizátor), šelak (lešticí látka), stearan hořečnatý a kyselina stearová (zvlhčovadla), oxid křemičitý (protispékavá látka).
- Vzorek E: selenan sodný (50  $\mu\text{g}/\text{kapsle}$ ), sojový olej, palmový olej, kokosový olej a včelí vosk (nosič), želatina, glukonan zinečnatý, DL-alfa-tokoferol acetát, glycerol (zahušťovadlo), sojový lecitin (emulgátor), barvivo E 172.

Při přípravě vzorků pro analýzu byly k různým účelům využívány: 65%  $\text{HNO}_3$ , 30%  $\text{HCl}$ , 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Suprapur; Merck, Německo). Tyto chemikálie posloužily jako extrakční činidla, k předredukci Se(VI) či k mikrovláčně asistované digesci. Detailní popis úpravy vzorků před analýzou je popsán v Příloze 3 („2.4.1 Sample pre-treatment“), níže je uveden stručný přehled.

#### • Vzorky s obsahem Se(IV)

Tablety byly postupně rozpouštěny v deionizované vodě, v 0,5  $\text{mol l}^{-1}$   $\text{HNO}_3$  nebo v 50,0  $\text{mmol l}^{-1}$   $\text{HCl}$ . Všechny experimenty byly opakovány dvakrát, tudíž bylo z každého balení potravinových doplňků analyzováno celkem šest tablet.



Náhodně vybrané tablety byly zváženy, rozdrceny na prášek, který byl opět zvážen. Prášek byl převeden do odměrné baňky, která byla doplněna po rysku příslušným extrakčním činidlem. V dalším kroku byl vzorek podroben ultrazvukem asistované extrakci po dobu 30 minut (teplota lázně 40 °C). Po vyjmutí z ultrazvukové lázně byly vzorky zfiltrány, aby se oddělila jejich nerozpuštěná část. Vzorky byly analyzovány metodou UV-PVG/QF-AAS poté, co bylo k filtrátu přidáno příslušné množství kyseliny mravenčí, a vzorek v odměrné baňce byl doplněn deionizovanou vodou po rysku. Do některých baněk byl navíc přidáván standardní roztok Se(IV), protože obsah analytu ve vzorcích byl určován metodou standardního přídatku; analyzované roztoky obsahovaly 0,0; 1,0; 2,0 nebo 5,0  $\mu\text{g l}^{-1}$  standardu Se(IV).

Vezme-li se v úvahu výrobcem deklarované množství selenu v tabletách, po popsáních úpravách obsahovaly analyzované roztoky přibližně 5  $\mu\text{g l}^{-1}$  Se(IV) (vzorek A, B) nebo 3  $\mu\text{g l}^{-1}$  Se(IV) (vzorek C). Koncentrace kyseliny mravenčí byla ve všech vzorcích 0,5 mol  $\text{l}^{-1}$ . Pokud byly tablety rozpouštěny v 0,5 mol  $\text{l}^{-1}$   $\text{HNO}_3$ , konečná koncentrace kyseliny v analyzovaných roztocích činila 5,0 mmol  $\text{l}^{-1}$  (při této koncentraci byly v rámci optimalizační studie naměřeny nejvyšší absorbance). A podobně, koncentrace kyseliny chlorovodíkové ve výsledných roztocích určených pro analýzu činila 0,5 mmol  $\text{l}^{-1}$ .

- **Vzorky s obsahem Se(VI)**

Úprava vzorků D, E vyžadovala zařazení předredukčního kroku zajišťujícího přeměnu hydridově neaktivního Se(VI) na generování přístupnější Se(IV).

Jedna tableta vzorku D byla zvážena, rozdrcena a vzniklý prášek byl opět zvážen; vzorek E nebyl drcen, protože byl ve formě kapslí. Následovalo rozpuštění prášku/kapsle v deionizované vodě. Poté byly vzorky vystaveny ultrazvukem asistované extrakci a zfiltrány stejným způsobem jako při přípravě vzorků A – C. V dalším kroku byl filtrát smísen s takovým množstvím koncentrované kyseliny chlorovodíkové, aby odměrné baňky po doplnění deionizovanou vodou obsahovaly 6,0 mol  $\text{l}^{-1}$  HCl. Takto připravené vzorky byly zahřívány ve vodní lázni (teplota byla udržována v rozmezí 90 – 95 °C) po dobu 60 min za účelem konverze Se(VI) na Se(IV). Po ochlazení na laboratorní teplotu byly připraveny finální vzorky pro analýzu metodou UV-PVG/QF-

AAS; analyzované vzorky obsahovaly asi  $5 \mu\text{g l}^{-1}$  Se(IV) (s ohledem na deklarované množství),  $0,5 \text{ mol l}^{-1}$  HCOOH a  $0,0 - 5,0 \mu\text{g l}^{-1}$  standardu Se(IV).

Pouze vzorek E byl navíc vystaven mikrovlnnému rozkladu. Jedna kapsle byla vložena do rozkladné nádoby, přidáno bylo 5 ml koncentrované kyseliny dusičné a 2 ml 30% peroxidu vodíku. Vzorek byl vložen do mikrovlnného rozkladného zařízení a podroben tří fázovému programu: 1.) 35% intenzita mikrovlnného záření, 10 min; 2.) 50% intenzita mikrovlnného záření, 5 min; 3.) 100% intenzita mikrovlnného záření, 5 min. Výsledný homogenní roztok byl odpařen do sucha. Odparek byl následně rozpuštěn v  $6,0 \text{ mol l}^{-1}$  HCl a vzniklý roztok byl zahříván ve vodní lázni ( $90 - 95 \text{ }^\circ\text{C}$ , 60 min). Vzorek po předredukci byl dále upravován stejným způsobem jaký byl uveden výše.

### 3.2.2 Vzorky vod

Vzorky vod byly odebrány do plastových nádobek, před analýzou nebyla provedena žádná jejich stabilizace či filtrace.

- Vzorky pitné vody: studniční voda (odběrné místo Košík, ČR), kohoutková voda (Praha, ČR) a balená neperlivá pramenitá voda (Pepsico, ČR).
- Vzorky říční vody: říční voda odebraná na dvou místech z řeky Vltavy (Praha, ČR).

### 3.3 Přístroje a zařízení

#### 3.3.1 Atomový absorpční spektrometr a jeho příslušenství

Vygenerované těkavé sloučeniny byly při experimentech detekovány atomovým absorpčním spektrometrem Unicam 939 Solaar (Unicam, UK). Ke korekci nesespecifické absorpce posloužila ve všech případech deuteriová výbojka (Cathodeon, UK).

Jako zdroj primárního elektromagnetického záření byla povětšinou využívána výbojka s dutou katodou pro selen (Heraeus, UK). Napájecí proud výbojky byl 10 mA, šířka spektrálního intervalu činila 0,5 nm. Záření bylo detekováno na charakteristické vlnové délce 196,0 nm. Během některých experimentů (při analýze potravinových doplňků) se jako zdroj záření uplatnila selenová výbojka s velmi vysokou intenzitou záření při zachování nebo i snížení pološířky emitované čáry, tzv. superlampa (Photron, Austrálie). Napájecí proud výbojky byl 15 mA a žhavicí proud (zesílení) 22 mA. Při práci s touto výbojkou bylo nutné připojit ke spektrometru přídatný napájecí zdroj (Photron, Austrálie).

K atomizaci těkavých sloučenin byl používán především zevně vyhřívaný křemenný atomizátor ve tvaru písmene „T“. Atomizátor měl délku atomizačního ramene 160 mm a vnitřní průměr trubice činil 13 mm. Uprostřed zúžená část trubice o délce 50 mm měla vnitřní průměr 6 mm. Do středu zúžené části bylo nataveno přívodní rameno o délce 75 mm a vnitřním průměru 4 mm. Atomizátor byl vyhříván elektrickou vyhřívací jednotkou EHA 10 (RMI, ČR) na 950 °C.

Pokud bylo UV-fotochemické generování těkavých sloučenin kombinováno s *in situ* záchytem, byla atomizace prováděna v grafitovém atomizátoru GF 90 (Unicam, UK). Těkavé sloučeniny byly zachytávány na vnitřním povrchu grafitové květy s prodlouženou životností (katalogové číslo: 9423 393 95041; Unicam, UK).

#### 3.3.2 UV-fotoreaktor

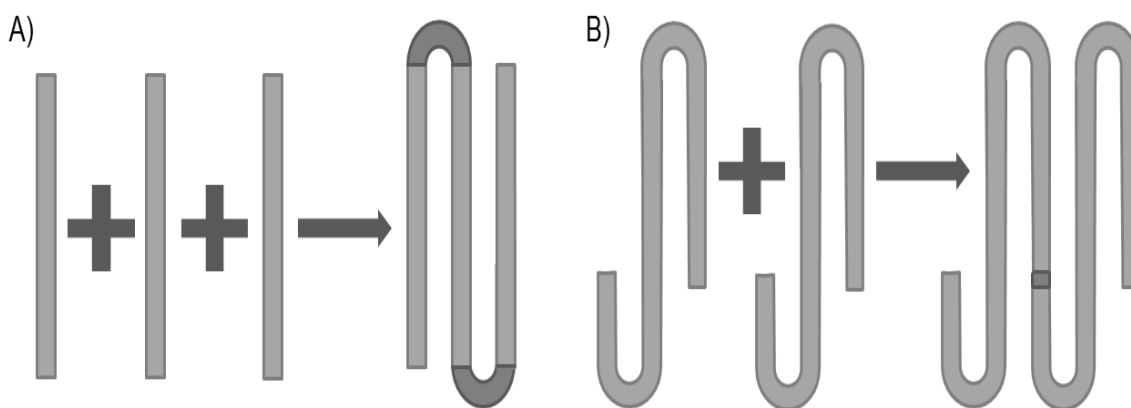
Při UV-fotochemickém generování byly těkavé sloučeniny selenu generovány v průtokovém UV-fotoreaktoru složeném ze zdroje UV-záření a z reakční cívky přichycené k jeho povrchu.

- **Zdroj UV-záření**

Zdrojem UV-záření byla nízkotlaká rtuťová UV-výbojka trubicovitého typu, v jejímž emisním spektru byla dominantní vlnová délka 253,7 nm odpovídající emisní čáře rtuti (20 W; Ushio, Japonsko). Rozměry výbojky byly následující: 610 mm x 152 mm x 108 mm. Výbojka byla umístěna v napájecím zdroji (Upland, USA), jehož stěny byly pro efektivnější využití UV-záření opatřeny zrcadlovou odrazovou plochou. Z důvodu ochrany pokožky a zraku před přímým UV-zářením bylo v laboratoři zhotoveno víko, kterým byl zdroj překryt. Víko opatřené chladicími otvory bylo vyrobeno z tvrdého kartonu obaleného hliníkovou fólií (UV-záření tak bylo odráženo i od této plochy). Vedle popsané UV-výbojky byla k daným účelům testována ještě druhá UV-výbojka o stejném výkonu 20 W (Ushio, Japonsko), avšak s dominantní vlnovou délkou 365,0 nm.

- **Reakční cívka**

Reakční cívka byla zhotovena z teflonu nebo z křemene. Konkrétně byly využity dva druhy teflonových hadiček o rozměrech 1,0 mm i.d./2,0 mm o.d. (Supelco, USA) a 1,0 mm i.d./1,4 mm o.d. (Flexon NC; ČR), a dva druhy křemenných trubiček o rozměrech 2,0 mm i.d./4,0 mm o.d. (Goodfellow, UK) a 0,5 mm i.d./2,0 mm o.d. (Heraeus, Německo). Teflonové hadičky byly okolo UV-výbojky omotány přímo, křemenné trubičky byly pospojovány do „hadovitého“ tvaru a přichyceny k povrchu výbojky běžnou stahovací kabelovou páskou. Prvotní pokusy byly prováděny s 570 mm dlouhými křemennými trubičkami, které byly na koncích pospojovány kousky Tygonových hadiček o délce cca 5 cm (podle nákresu na **Obr. 3.1 A**). Poté co byly na základě změřených absorbancí (detekce QF-AAS) zjištěny přibližné optimální délky křemenných reakčních cívek, bylo přikročeno k další úpravě tohoto materiálu. Rovné trubičky byly odborně zohýbány (případně zkráceny) do tvaru písmene „S“ a spojeny kousky Tygonových hadiček tak, aby mezi nimi vznikl minimální mrtvý objem; mezera mezi trubičkami nepřesáhla 2 mm (viz. nákres na **Obr. 3.1 B**). Vytvořený „had“ byl rovnoměrně rozprostřen po povrchu rtuťové výbojky a zafixován. Nejednalo se tedy o reakční cívku v pravém slova smyslu (křemenné trubičky nebyly navinuty okolo rtuťové výbojky přímo), přesto bude pro potřeby této práce pojem reakční cívka používán i v souvislosti s UV-fotoreaktorem zhotoveným z křemenných trubic.



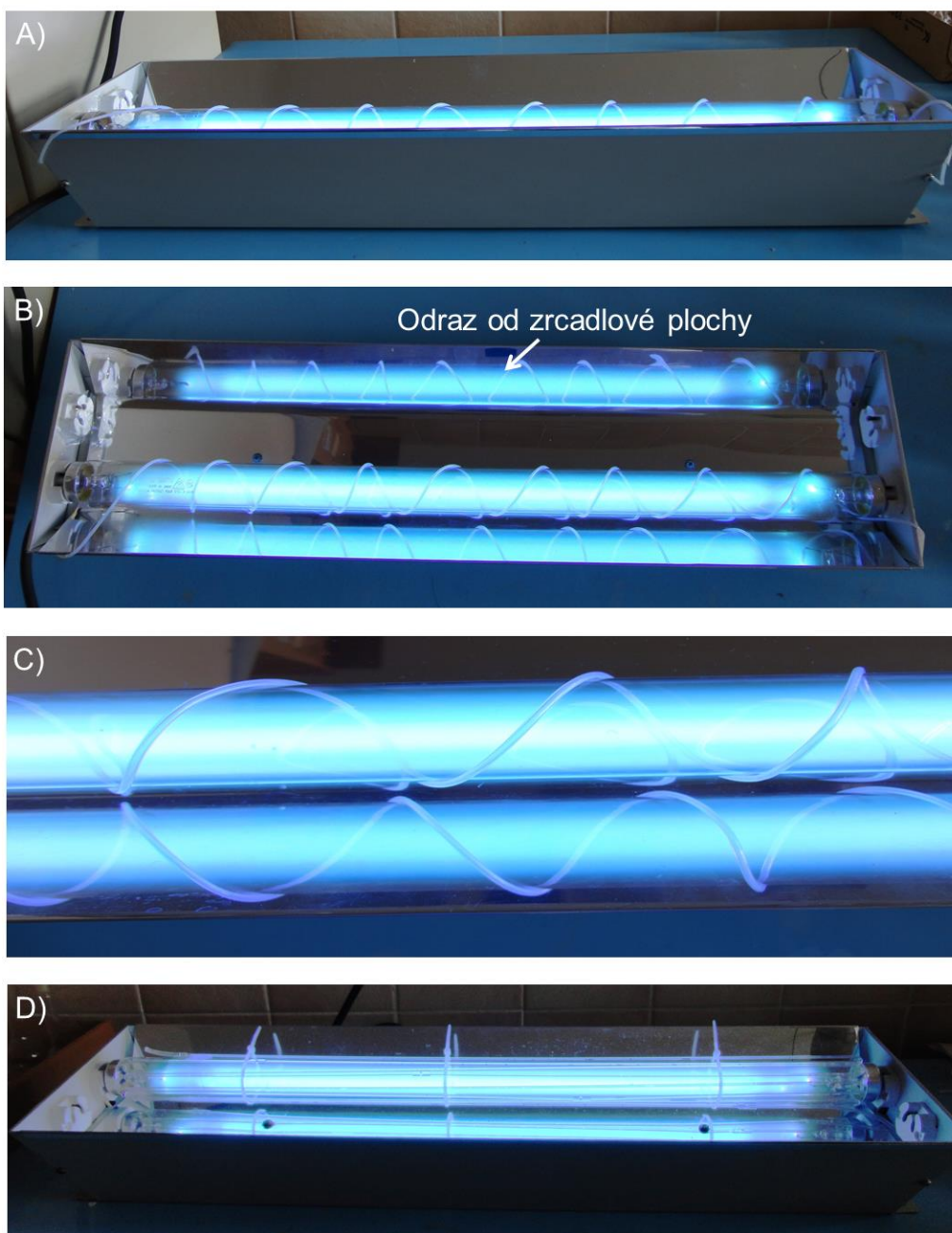
**Obr. 3.1** Náznak propojení křemenných trubiček za účelem zhotovení reakční cívky pro potřeby UV-fotochemického generování

*A) Předběžná úprava: rovné křemenné trubičky byly na koncích pospojovány Tygonovými hadičkami; B) Konečná úprava: zohýbané křemenné trubičky byly pospojovány Tygonovými hadičkami tak, aby mezera mezi jednotlivými trubičkami byla minimální*

Pro lepší představu je na **Obr. 3.2** ukázáno několik fotografií UV-fotoreaktoru (bez ochranného víka), na kterých je mimo jiné dobře viditelný napájecí zdroj s odrazovými plochami. Jednotlivé reakční cívky a potažmo i UV-fotoreaktory budou v této práci pro zjednodušení označovány dle použitého materiálu a rozměrů jako:

- **Teflon I** (1,0 mm i.d./2,0 mm o.d.)
- **Teflon II** (1,0 mm i.d./1,4 mm o.d.)
- **Křemen I** (2,0 mm i.d./4,0 mm o.d.)
- **Křemen II** (0,5 mm i.d./2,0 mm o.d.)

*Poznámka: (1) U Teflonu II je potřeba rozlišovat, zda byl při UV-PVG použit v souvislosti s fotochemickým činidlem kyselinou mravenčí či kyselinou octovou. Důvodem je odlišná délka této reakční cívky; v případě kyseliny octové byl používán podstatně delší Teflon II (viz. **4.1.2 Reakční cívka**). Nelze tedy automaticky spojovat název „Teflon II“ s délkou reakční cívky, ale pouze s jejím vnitřním/vnějším průměrem. Ostatní reakční cívky byly používány pouze ve spojení s kyselinou mravenčí. Teflon s označením Teflon II byl (jako materiál reakční cívky) využit také při srovnávacím CVG. (2) V disertační práci je používáno slovní spojení vnitřní průměr reakční cívky. Pod tímto pojmem máme na mysli vnitřní průměr teflonové/křemenné trubice, ze které je reakční cívka vinuta.*



### Obr. 3.2 UV-fotoreaktor

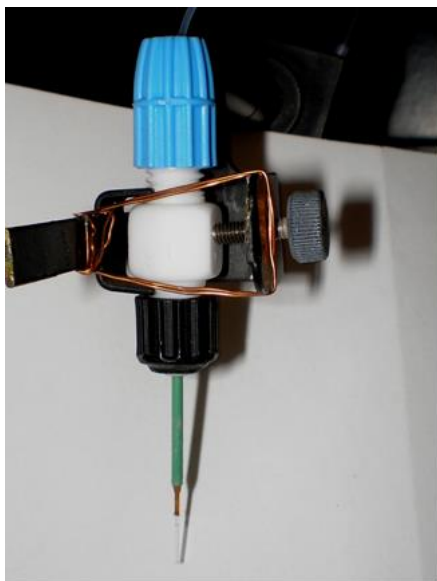
Využívaný UV-fotoreaktor byl složen z nízkotlaké rtuťové UV-výbojky (20 W, 253,7 nm), k jejímuž povrchu byla přichycena reakční cívka. Umístěn byl v napájecím zdroji, který měl stěny opatřené zrcadlovou plochou. **A)** Pohled z boku; **B)** Pohled z vrchu; **C)** Zvětšený výřez UV-výbojky (i s odrazem od zrcadlové plochy), okolo které je omotána teflonová reakční cívka; **D)** Varianta UV-fotoreaktoru s křemennou reakční cívkou: „hadovitě“ poskládané křemenné kapiláry byly přichyceny k povrchu UV-výbojky kabelovou stahovací páskou

### 3.3.3 Měření radioaktivity

Při experimentech s radioaktivním indikátorem  $^{75}\text{Se}$  byl k měření radioaktivity používán gama spektrometr Minaxi Auto-Gamma 5000 (Packard Instrument Co., USA) vybavený polovodičovým detektorem studnicového typu zhotoveným z monokrystalu  $\text{NaI(Tl)}$ . Rozsah měřených energií gama záření byl na analyzátoru nastaven v intervalu 60 – 467 keV, měření probíhalo po dobu 120 s. Měření radioaktivity bylo provedeno vyškoleným personálem v radiochemické laboratoři (Ústav analytické chemie AV ČR, v.v.i.), která disponuje příslušnými oprávněními provádět experimenty s radioaktivním materiálem.

### 3.3.4 Dávkovací zařízení při *in situ* záchytu

Během experimentů zahrnujících kolekci v grafitové kyvetě byly těkavé sloučeniny selenu do tohoto typu atomizátoru zaváděny pomocí zjednodušené obdoby zařízení dříve používaného v laboratoři spektrometrických metod<sup>114</sup>. Základem byla křemenná kapilára s nemodifikovaným vnitřním povrchem o vnitřním průměru 0,53 mm a délce 40 mm (Supelco, USA). V dolní části byla kapilára zbavena polyimidového obalu v délce 5 – 7 mm tak, aby se zabránilo natavení tohoto materiálu při zasunutí kapiláry do zahřáté grafitové kyvety; kapilára byla na několik sekund ponořena do vroucí kyseliny sírové a následně opláchnuta ethanolem a deionizovanou vodou. Opačný konec kapiláry byl v délce cca 25 mm zasunut a připevněn do plastové PEEK kapiláry o vnitřním průměru 0,77 mm (Supelco, USA). Takto upravená kapilára byla fixována v teflonovém konektoru umístěném v dávkovacím rameni autosampleru GF 90 (**Obr. 3.3**). Z druhé strany konektoru byla upevněna Teflonová kapilára o vnitřním průměru 0,5 mm, přivádějící těkavé sloučeniny ze separátoru fází. Mezi separátor fází a konektor byl ještě umístěn prepínací solenoidový ventil (Cole-Parmer, USA) umožňující dle potřeby usměrňovat tok plynné fáze do dávkovacího zařízení nebo do odpadu.

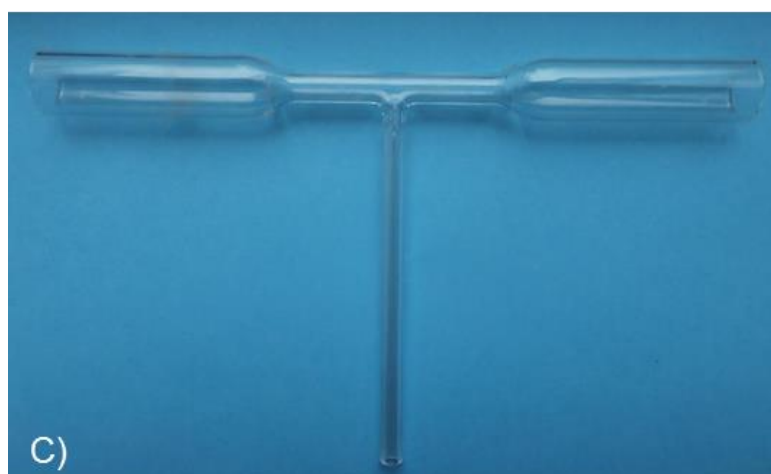
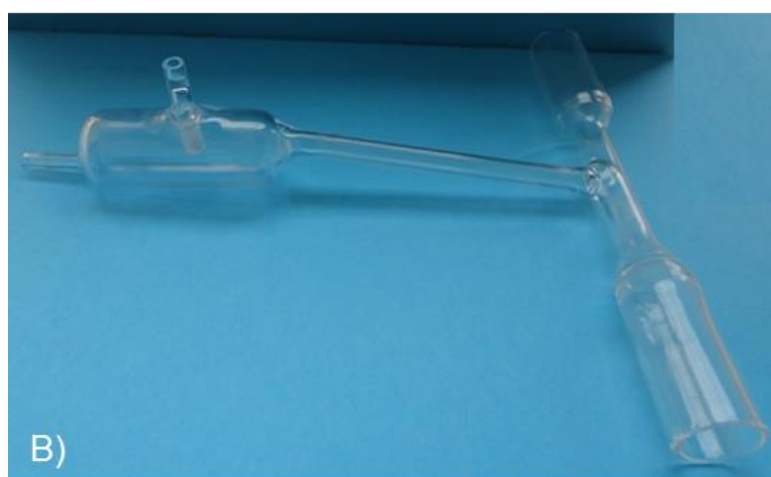


**Obr. 3.3** Zaváděcí kapilára těkavých sloučenin selenu využívaná při *in situ* záchytu

### 3.3.5 Ostatní přístroje a zařízení

- **Peristaltické pumpy:** Kapalné vzorky byly čerpány programovatelnou peristaltickou pumpou MasterFlex s osmi-kanálovou hlavou Ismatec (Cole-Parmer, USA). Odpadní kapaliny byly transportovány čtyř-kanálovou peristaltickou pumpou – Stavebnicové čerpadlo SC4 (ČSAV, ČR).
- **Regulátory průtoku plynů:** Rotametr s vyměnitelnými průtokovými trubicemi (Cole-Parmer, USA) byl použit k regulaci průtokové rychlosti nosného plynu. Průtok vodíku byl řízen digitálním regulátorem průtoku (průtok do  $50,0 \text{ ml min}^{-1}$ ; Cole-Parmer, USA).
- **Separátor fází:** Využit byl na míru zhotovený křemenný separátor fází s nuceným odtahem o vnitřním objemu 25 ml (**Obr. 3.4 A**). Zkoušena byla také varianta separátoru fází přímo propojeného s přívodním ramenem křemenného atomizátoru v jeden celek (**Obr. 3.4 B**). Tento druhý separátor měl objem přibližně 15 ml, délka spojovacího křemenného ramene byla 7 cm. Část suplující atomizátor byla rozměrově o něco menší než samostatný křemenný atomizátor používaný pro většinu experimentů (příslušný atomizátor byl popsán výše, ukázán je na **Obr. 3.4 C**). Délka atomizačního ramene činila 120 mm a vnitřní průměr trubice byl 10 mm. Uprostřed zúžená část o délce 50 mm měla vnitřní průměr 5 mm.





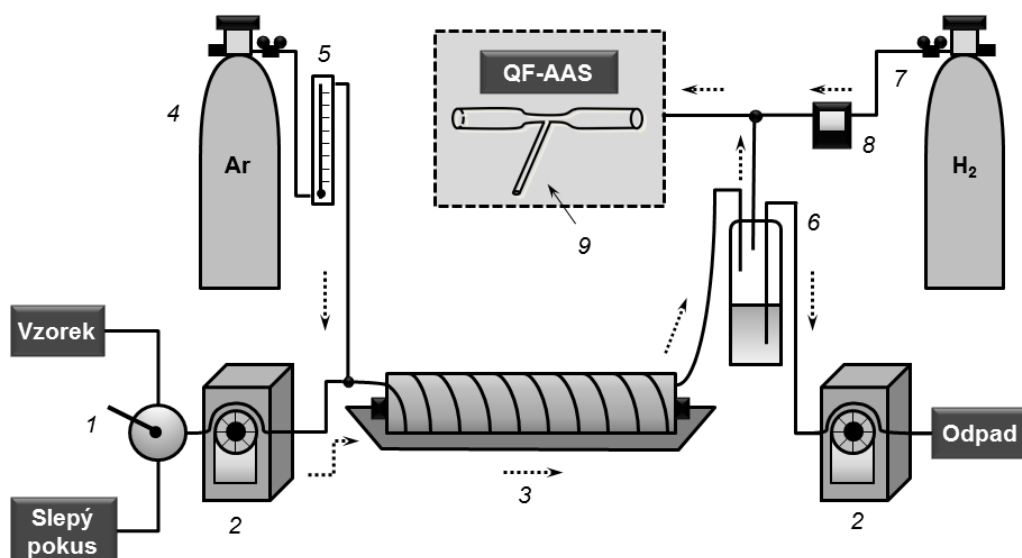
**Obr. 3.4** Separátor fází s nuceným odtažením (A); separátor fází s nuceným odtažením spojený s atomizátorem v jeden celek (B) a samostatný křemenný atomizátor (C)

- **Přepínací ventil:** Přepínání mezi pumpováním vzorku a slepého pokusu bylo realizováno manuálně ovládaným dvoucestným ventilem (P-lab, ČR).
- **Čerpací a spojovací hadičky** z Tygonu, teflonové spojovací hadičky a spojovací materiál (různé rozměry; Supelco, USA).
- **Přístroje a zařízení při analýze reálných vzorků**
  - Ultrazvuková lázeň Elmasonic S, E 30 H (ELMA, Německo) vybavená elektronicky regulovaným topením a časovým spínačem.
  - Mikrovlnné rozkladné zařízení MDS 2000 (CEM, USA).
  - Injekční filtry o průměru 47 mm s membránou z regenerované celulózy o velikosti pórů 0,2  $\mu\text{m}$  (Whatman, UK).
- **Molekulový absorpční spektrofotometr:** Propustnosti různých teflonových hadiček a křemenných trubiček pro UV-záření byly zjišťovány pomocí molekulového absorpčního spektrometru umožňujícího měřit absorbance až do hodnoty šest absorbančních jednotek (Pye-Unicam PU 8800; Unicam UK). K měření byly využity průtokové kyvety s velmi malým vnitřním objemem i průměrem vstupního otvoru (8  $\mu\text{l}$ ; 178.713-QS; Hellma USA). Při měření byla příslušná podélně rozříznutá/zbroušená hadička/trubička vždy fixována na okénko průtokové kyvety s velmi malým vnitřním objemem i průměrem vstupního otvoru. Spektrofotometr byl vynulován na samotnou průtokovou kyvetu bez hadičky/trubičky, následovalo měření s hadičkou/trubičkou. Odpovídající hodnota transmitance byla odečtena při vlnové délce 253,7 nm.
- **Skenovacím elektronovým mikroskopem** (JSM-6380LV; JEOL, USA) byla mapována struktura vnitřního povrchu reakčních cívek.
- **pH metr** (AD 1000; Adwa, Maďarsko).

### 3.4 Experimentální uspořádání a pracovní postupy

#### 3.4.1 UV-fotochemické generování v kombinaci s QF-AAS

UV-fotochemické generování těkavých sloučenin bylo prováděno v režimu kontinuální průtokové analýzy. Před samotnou analýzou byly kapalné vzorky s obsahem selenu off-line míseny s fotochemickým činidlem, v některých případech byla přidávána další činidla (např. kvůli zvýšení analytického signálu byla většina pokusů uskutečněna také s přidavkem kyseliny dusičné). Vzorky/slepé pokusy byly peristaltickou pumpou čerpány do UV-fotoreaktoru, kde byly v důsledku působení UV-záření generovány těkavé sloučeniny selenu. Přepínání mezi pumpováním vzorku a slepého pokusu bylo realizováno manuálně ovládaným dvoucestným ventilem. Reakční směs obohacená o těkavé sloučeniny byla na výstupu z UV-fotoreaktoru transportována proudem nosného plynu do separátoru fází s nuceným odtahem, kde se oddělovala kapalná a plynná fáze. Zatímco přebytečná kapalina byla řízeně odčerpávána druhou peristaltickou pumpou do odpadu, plynná fáze byla proudem nosného argonu unášena do křemenného atomizátoru zevně vyhřívaného na 950 °C. Za účelem efektivní atomizace bylo do atomizátoru zaváděno malé množství vodíku. Nosný plyn byl obvykle zaváděn do proudu kapalného vzorku před vstupem do UV-fotoreaktoru; testováno bylo také jeho zavádění za UV-fotoreaktor či do obou poloh současně. Schéma příslušné aparatury je načrtnuto na **Obr. 3.5**.

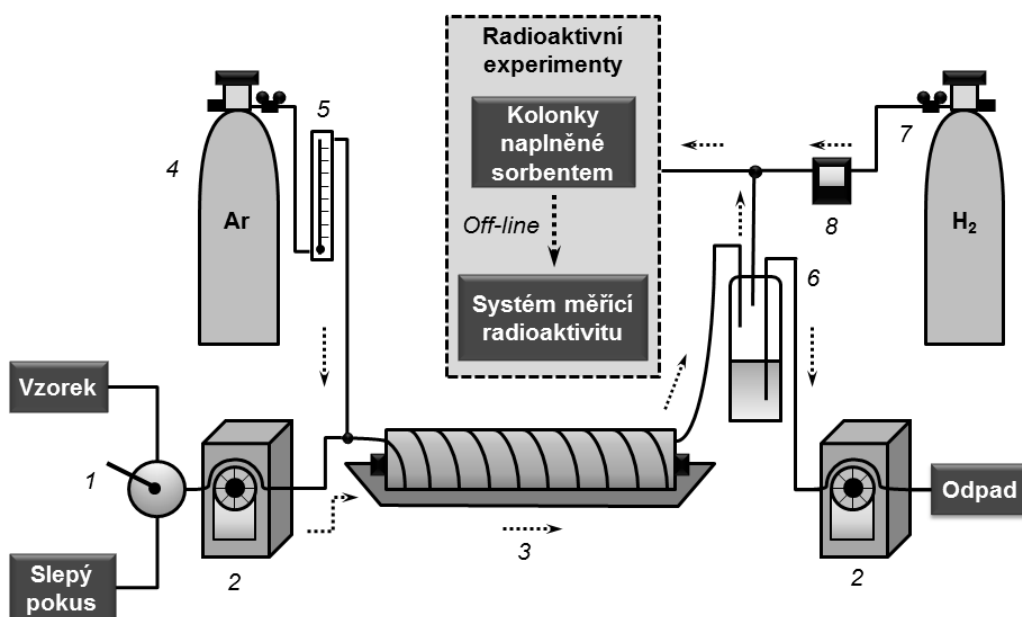


**Obr. 3.5** Schéma aparatury pro UV-PVG/QF-AAS

1 – dvoucestný přepínací ventil; 2 – peristaltická pumpa; 3 – UV-fotoreaktor; 4 – tlaková lahev s nosným plynem; 5 – rotametr; 6 – separátor fází s nuceným odtahem; 7 – tlaková lahev s vodíkem; 8 – digitální regulátor průtoku plynů; 9 – křemenný atomizátor

### 3.4.2 Experimenty s radioaktivním indikátorem $^{75}\text{Se}$

Při určování celkové účinnosti UV-PVG na základě experimentů s radioaktivním indikátorem  $^{75}\text{Se}$  byla využita stejná aparatura jako pro kontinuální generování popsaná v souvislosti s UV-PVG/QF-AAS. Na výstupu ze separátoru fází však nebyl umístěn křemenný atomizátor, nýbrž dvě sériově zapojené plastové kolonky naplněné granulovaným aktivním uhlím. Poté co byly na kolonkách sorbovány těkavé sloučeniny, byla off-line zjišťována aktivita těchto kolonek. Schéma experimentálního uspořádání je naznačeno na **Obr. 3.6**.



**Obr. 3.6** Schéma experimentálního uspořádání při pokusech s radioaktivním indikátorem  $^{75}\text{Se}$

1 – dvoucestný přepínací ventil; 2 – peristaltická pumpa; 3 – UV-fotoreaktor; 4 – tlaková lahev s nosným plynem; 5 – rotametr; 6 – separátor fází s nuceným odtahem; 7 – tlaková lahev s vodíkem; 8 – digitální regulátor průtoku plynů

- **Pracovní postup při experimentech s radioaktivním indikátorem  $^{75}\text{Se}$**

Experimenty s radioindikátorem  $^{75}\text{Se}$  sestávaly z několika kroků. Nejprve byl do aparatury pro UV-PVG kontinuálně čerpán vzorek obsahující  $10,0 \mu\text{g l}^{-1}$  neaktivního standardu Se(IV) připravený v prostředí kyseliny mravenčí (nebo v prostředí kyseliny mravenčí a kyseliny dusičné). Tento krok byl zařazen kvůli zajištění ustáleného stavu a případně také kvůli nasycení všech vnitřních povrchů aparatury. Po 20 min byla čerpací hadička ponořena do nádoby s 10 ml vzorku, který obsahoval místo neaktivního standardu radioaktivní indikátor  $^{75}\text{Se}$  o koncentraci přibližně  $10 \mu\text{g l}^{-1}$ ; opět bylo přidáno fotochemické činidlo nezbytné pro úspěšný průběh generování a v některých pokusech také kyselina dusičná. Současně s čerpáním tohoto vzorku byl započat záchyt plynné fáze na kolonkách naplněných aktivním uhlím, který pokračoval během celého pokusu. Po vyčerpání veškerého roztoku bylo obnoveno čerpání vzorku s neaktivním selenem. Po 10 min byl opět čerpán vzorek s obohaceným selenem, kolonky s aktivním uhlím byly

vyměněny za nové; výměna s neaktivním/aktivním selenem poté proběhla ještě jednou (měření bylo provedeno celkem třikrát). Následně byl do systému čerpán slepý pokus (10 min) a nakonec deionizovaná voda (3 min). Po dobu trvání celého pokusu byl do připravených měřících nádobek jímán kapalný odpad odčerpávaný ze separátoru fází.

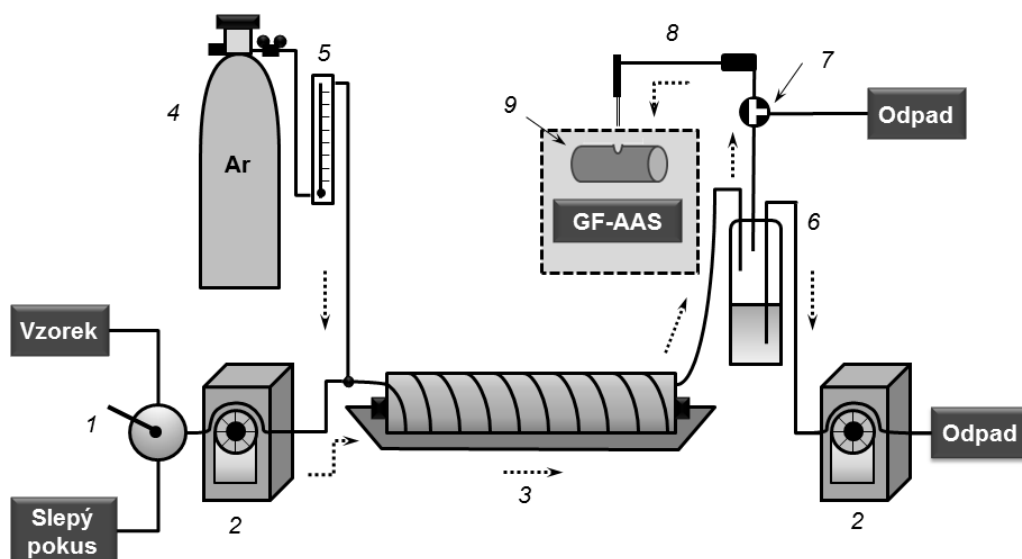
Po skončení generování byly celé kolonky naplněné aktivním uhlím umístěny do měřících nádobek a gama spektrometrem byla zjišťována jejich aktivita. Měřena byla také aktivita odpadních roztoků po generování a aktivita jednotlivých součástí aparatury, které přišly do styku s radioindikátorem selenu (např. čerpací hadičky, spojovací hadičky). Díky svým rozměrům nebylo možné do měřících nádobek umístit separátor fází a reakční cívky. Z toho důvodu nebyla aktivita těchto komponent aparatury měřena přímo, ale ve vyluzích získaných na základě opakovaného výplachu (minimálně trojnásobného) lučavkou královskou. Aktivity prázdných měřících nádobek byly zjišťovány před každou sérií experimentů a naměřené hodnoty byly odečítány od hodnot příslušejících plným nádobkám (nádobky s kolonkami, s kapalným odpadem apod.).

Experimenty byly hodnoceny následujícím způsobem: Vstupní aktivita kapalného vzorku s obsahem radioaktivního indikátoru  $^{75}\text{Se}$  (roztok před generováním), byla považována za 100 % a byla zjišťována na začátku každého pokusu. Účinnost UV-PVG byla určena na základě frakce analytu (% podíl ze vstupní aktivity) zachycené na kolonkách a na hadičkách spojujících separátor fází s kolonkami. Obdobně byly ke vstupní aktivitě vztahovány aktivity zjištěné v kapalném odpadu a v jednotlivých částech aparatury. Detailní popis experimentů s radioindikátorem je popsán v **Příloze 2 („2.4 Procedure and conventions“)**.

### 3.4.3 UV-fotochemické generování v kombinaci s GF-AAS

Aparatura propojující UV-fotochemické generování s *in situ* záchytem vygenerovaných těkavých sloučenin v grafitové kyvetě (UV-PVG/GF-AAS) je znázorněna na **Obr. 3.7**. Jak je z obrázku zřejmé, aparatura je do značné míry shodná s uspořádáním při UV-PVG/QF-AAS; UV-PVG bylo opět realizováno v průtokovém módu, rozdíl je patrný až od okamžiku, kdy plynná fáze opouští separátor fází. Plynná fáze byla v tomto uspořádání vedena do solenoidového ventilu, odkud mohla být podle potřeby směřována buď do grafitové kyvety elektrotermického atomizátoru nebo

do odpadu. Nosný plyn obohacený o těkavé sloučeniny byl do grafitové kyvety zaváděn prostřednictvím automaticky ovládaného dávkovacího zařízení, na jehož konci se nacházela speciálně upravená křemenná dávkovací kapilára; dávkovací rameno bylo řízeno pomocí programu vyvinutého v grafickém programovacím prostředí Labview 7.1 (National Instruments, USA).



**Obr. 3.7** Schéma aparatury pro UV-PVG/GF-AAS

1 – dvoucestný přepínací ventil; 2 – peristaltická pumpa; 3 – UV-fotoreaktor; 4 – tlaková lahev s nosným plynem; 5 – rotametr; 6 – separátor fází s nuceným odtahem; 7 – solenoidový ventil; 8 – automaticky ovládané dávkovací rameno; 9 – grafitová kyveta

Grafitová kyveta byla v průběhu experimentu postupně zahřívána průchodem elektrického proudu dle optimalizovaného teplotního programu (viz. **Tabulka 4.15** v **4.8.2.5 Souhrnná tabulka – teplotní program**). Aby se zabránilo přístupu kyslíku ze vzduchu k rozžhavenému grafitu a volným atomům analytu, probíhal elektrický ohřev kyvety v atmosféře velmi čistého ochranného plynu (argon o průtoku  $1 \text{ l min}^{-1}$ ). Během experimentů nebylo nutné do aparatury zavádět vodík; atomizace probíhala jiným mechanismem než v křemenném atomizátoru.

- **Modifikace vnitřního povrchu grafitové kyvety při *in situ* záchytu**

Pro větší účinnost záchytu byl vnitřní povrch grafitové kyvety pokryt (modifikován) vrstvou iridia. Postup modifikace kyvety byl následující. Do grafitové kyvety bylo automaticky nadávkováno 40  $\mu\text{l}$  zásobního roztoku iridia o koncentraci 1 000  $\text{mg l}^{-1}$ . Poté byl spuštěn teplotní program shrnutý v **Tabulce 3.1**. Několika fázový program zahrnoval pozvolné sušení nadávkovaného roztoku, pyrolýzu a čistící kroky. Celá procedura byla opakována pětkrát, takže bylo do kyvety postupně nadávkováno 200  $\mu\text{l}$  iridia. Povlak vytvořený na vnitřním povrchu kyvety byl stálý a nebylo nutné ho obnovovat; celkově bylo s jednou modifikací uskutečněno více než tisíc atomizačních cyklů.

**Tabulka 3.1** Teplotní program pro modifikaci vnitřního povrchu grafitové kyvety při *in situ* záchytu těkavých sloučenin; vnitřní povrch byl modifikován iridiem

Fáze	Teplota ( $^{\circ}\text{C}$ )	Trvání fáze (s)	Nárůst ( $^{\circ}\text{C s}^{-1}$ )	Průtok ochranného argonu ( $\text{l min}^{-1}$ )
1	90	40	5	1
2	110	40	1	1
3	130	40	1	1
4	1 200	25	300	1
5	2 100	10	500	0
6	2 100	5	–	0

- **Přímé dávkování kapalného vzorku do grafitové kyvety**

Při přímém zavádění kapalného vzorku do grafitové kyvety (tedy bez zařazení generování) bylo automaticky ovládaným ramenem dávkováno vždy 20  $\mu\text{l}$  vzorku. Po vysunutí dávkovací kapiláry byl spuštěn teplotní program uvedený v **Tabulce 3.2**.



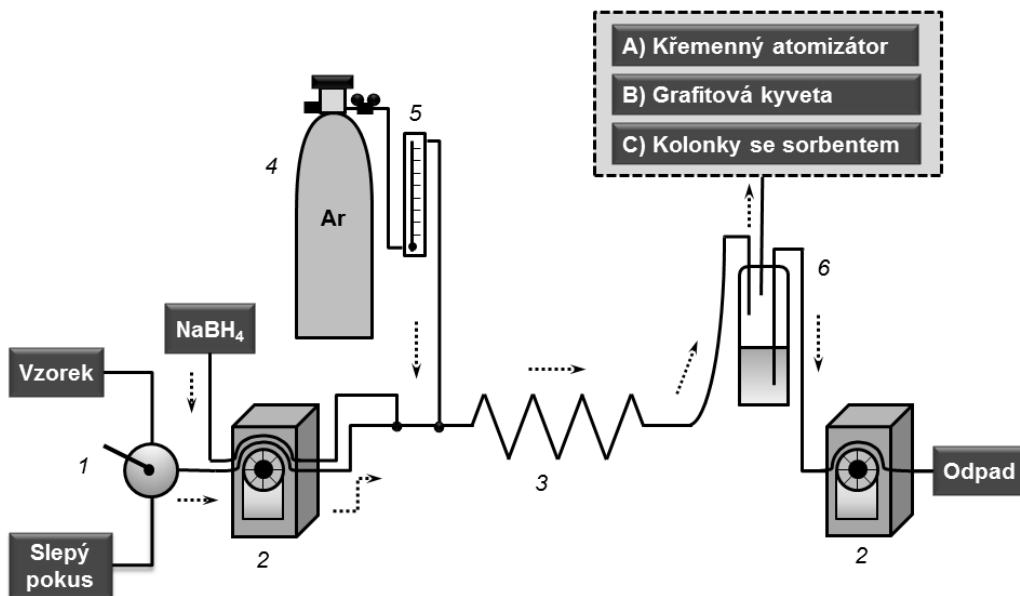
**Tabulka 3.2** Teplotní program pro přímé dávkování kapalných vzorků do grafitové kyvety

Fáze	Teplota (°C)	Trvání fáze (s)	Nárůst (°C s <sup>-1</sup> )	Průtok ochranného argonu (l min <sup>-1</sup> )
1	160	12	10	2
2	1 000	10	100	2
3	1 000	1	–	0
4	2 000	3	–	0
5	2 000	1,5	–	3
6	2 200	3	–	3

### 3.4.4 Chemické generování

Jako srovnávací byla pro značnou část experimentů využita technika chemického generování těkavých sloučenin v průtokovém uspořádání. Jak je patrné z **Obr. 3.8**, největší rozdíl oproti aparatuře využívané při UV-PVG spočíval v nahrazení UV-fotoreaktoru. Redukční reakce spojená s generováním selenovodíku probíhala v tomto případě v teflonové reakční cívce, do níž byly jedním kanálem čerpány ionty seleničité připravené v kyselině chlorovodíkové, druhým kanálem pak redukční činidlo NaBH<sub>4</sub> stabilizované hydroxidem sodným. Nosný plyn, argon, byl zaváděn několik centimetrů (cca 5 cm) za T-spojku, v níž se vzájemně mísil okyselený vzorek s redukčním činidlem. Vodík nebylo nutné přidávat; dostatečné množství se uvolňovalo při reakci s NaBH<sub>4</sub>. Dle konkrétních pokusů (shodně jako při UV-PVG) byla plynná fáze na výstupu ze separátoru fází transportována do křemenného atomizátoru, grafitové kyvety nebo byla sorbována na kolonkách naplněných aktivním uhlím.

Doplňme, že za účelem zjištění maximální účinnosti generování těkavých sloučenin byla využita také varianta chemického generování v dávkovém uspořádání. Popis aparatury je k dohledání v **Příloze 2 („2.3.3 Batch CVG“)**.



**Obr. 3.8 Schéma aparatury pro chemické generování těkavých sloučenin**

1 – dvoucestný přepínací ventil; 2 – peristaltická pumpa; 3 – reakční cívka; 4 – tlaková lahev s nosným plynem; 5 – rotametr; 6 – separátor fází s nuceným odtahem

Aparatura pro chemické generování byla kombinována s atomizací těkavých sloučenin v zevně vyhřívaném křemenném atomizátoru AAS (A), se záchytem těkavých sloučenin v grafitové kyvetě při elektrotermické atomizaci v AAS (B), nebo byla při experimentech s radioaktivním indikátorem  $^{75}\text{Se}$  na výstupu ze separátoru fází propojena s kolonkami naplněnými aktivním uhlím (C)

### 3.4.5 Zpracování naměřených dat

Na výstupu z AAS detektoru byla po každém měření získána informace vyjádřená ve formě bezrozměrné veličiny absorbance (příp. ve formě integrované absorbance v sekundách). Příslušné hodnoty byly odečítány z grafického záznamu, který byl součástí ovládacího softwaru přístroje Solaar 939.

Při generování těkavých sloučenin (UV-fotochemickém i chemickém) v kombinaci s atomovou absorpční spektrometrií s křemenným atomizátorem byly vyhodnocovány absorbance v ustáleném stavu, které byly zaznamenávány přibližně 120 s poté, co byl v měřicím okně registrován signál odlišitelný od slepého pokusu (vzorek s nulovou koncentrací analytu). V případě, kdy bylo ke stanovení selenu

využíváno generování těkavých sloučenin s následnou elektrotermickou atomizací, byla zaznamenávána výška píku (absorbance) i plocha píku (integrovaná absorbance).

Po každém změřeném vzorku byla zjišťována absorbance slepého pokusu, která byla od absorbance (příp. integrované absorbance) vzorku odečítána. Za optimální byla u jednotlivých studovaných parametrů považována taková hodnota, při které byla dosažena maximální absorbance, sledována byla též celková kvalita analytického signálu. Nebude-li uvedeno jinak, měření byla za stejných podmínek opakována třikrát. V grafech vynesené body jsou **aritmetickými průměry** z naměřených hodnot. Odpovídající **směrodatné odchylky** jsou vyjádřeny jako chybové úsečky; vypočteny byly pomocí tabulkového procesoru Microsoft Excel 2010.

Naměřená data byla zpracována softwarem Microsoft Excel 2010 (Microsoft Corporation, USA). Veškeré grafy byly vytvářeny v programu Microcal Origin 6.0 Profesional (Microcal Software Inc., USA).

- **Kalibrace**

Za účelem definice vztahu mezi velikostí měřeného signálu (absorbance resp. integrované absorbance) a složením analyzovaných vzorků (koncentrace selenu) byla za optimálních experimentálních podmínek provedena kalibrace. Za tímto účelem byla postupně zjišťována odezva na sérii standardních roztoků o vzrůstající koncentraci selenu a z naměřených hodnot byla sestrojena kalibrační závislost. Regresní analýzou lineární závislosti (metoda nejmenšího součtu čtverců) byly určeny koeficienty **a**, **b** charakterizující regresní přímku vyjádřenou rovnicí:

$$y = a + bx \quad (5)$$

kde  $y$  je odezva přístroje (závisle proměnná),  $x$  v daném případě představuje hmotnostní koncentraci analytu (nezávisle proměnná). Koeficient **a** vyjadřuje tzv. intercept neboli vertikální posun přímky při nulové hodnotě nezávisle proměnné; koeficient **b** představuje směrnici – sklon regresní přímky.

Při zjišťování obsahu selenu v potravinových doplňcích a ve vzorcích vod byla využita kalibrace metodou standardního přídatku, při níž byly standardy selenu přidávány přímo do vzorků s neznámou koncentrací analytu. Volena byla vícebodová

kalibrace (tři přídávky). Metodou lineární regrese byly opět určeny parametry kalibrační rovnice  $a$ ,  $b$  a byla vypočítána hledaná koncentrace. K ověření správnosti navržené metody UV-PVG/GF-AAS byla analyzována říční voda, k hodnocení návratnosti byla volena metoda jednoho standardního přídávku.

- **Základní analytické charakteristiky**

Z rovnic regresních přímek byly určeny základní analytické charakteristiky optimalizovaných metod<sup>146,147</sup>:

**Citlivost metody** (dána podílem změny měřené odezvy přístroje a odpovídající změny koncentrace sledovaného analytu) byla určena jako směrnice kalibrační závislosti, tedy z koeficientu „ $b$ “, který byl popsán výše. Čím byla číselná hodnota směrnice větší, tím byla metoda citlivější, neboť měřitelnou odezvu vyvolal menší přírůstek koncentrace. V případě stanovení selenu metodou UV-PVG/GF-AAS byla citlivost měření vyjadřována také jako charakteristická hmotnost. Charakteristická hmotnost je taková hmotnost analytu, která při měření vyvolá 1% absorpci. Nebo ekvivalentně, která poskytne definovanou absorbančí 0,0044, respektive 0,0044 s v případě vyhodnocování plochy píku.

**Mez detekce** (nejmenší koncentrace analytu ve vzorku, která může být danou analytickou metodou detekována) byla zjišťována následujícím způsobem. Za optimálních podmínek pro UV-PVG/QF-AAS (resp. pro CVG/QF-AAS) byl desetkrát, co nejtěsněji za sebou, změřen signál vzorku o malé (ale ještě detekovatelné) koncentraci selenu; volena byla koncentrace, pro niž byla změřená absorbance jasně odlišitelná od šumu základní linie. Naměřené absorbance byly na základě rovnice kalibrační přímky (z kalibrační křivky sestavené v oboru nízkých koncentrací analytu) přepočteny na koncentrace a z nich byla vypočtena směrodatná odchylka. Mez detekce byla určena jako trojnásobek směrodatné odchylky ( $LOD = 3\sigma$ ). Obdobně byla jako desetinásobek směrodatné odchylky ( $LOD = 10\sigma$ ) určena **mez stanovitelnosti**, vyjadřující nejmenší koncentraci analytu ve vzorku, která může být danou analytickou metodou ještě stanovena s přijatelnou přesností.

V případě využití GF-AAS byly hodnoty LOD a LOQ zjišťovány na základě směrodatné odchylky ( $3\sigma$ ,  $10\sigma$ ) z koncentrací nulového vzorku (slepého pokusu). Navíc byly určovány také absolutní meze detekce a stanovitelnosti vyjádřené nikoliv

v jednotkách hmotnostní koncentrace ( $\text{ng l}^{-1}$ ), ale v jednotkách hmotnosti (pg). Při jejich určování byla brána v potaz průtoková rychlost vzorku a doba kolekce analytu v grafitové kyvetě.

**Opakovatelnost** byla pro potřeby disertační práce vyjadřována jako relativní směrodatná odchylka (RSD, %). Pro její výpočet bylo nutné desetkrát za sebou analyzovat vzorek o stejné koncentraci analytu, volena byla koncentrace z lineární části kalibrační křivky. Změřené absorbance byly přepočteny na koncentrace a těchto hodnot byl spočítán aritmetický průměr. Opakovatelnost byla určena jako podíl příslušné směrodatné odchylky a aritmetického průměru z deseti opakování. Pro získání opakovatelnosti v % byla ještě hodnota vynásobena stokrát.

## 4 VÝSLEDKOVÁ ČÁST A DISKUZE

Jednotlivé podkapitoly shrnují nejdůležitější informace publikované v odborných časopisech (**Přílohy 2 - 4**). Na úvod jsou uvedeny informace, k jakému článku se příslušná podkapitola vztahuje (není pravidlem). Některé podkapitoly obsahují data z více článků najednou, uveden je ten hlavní. Kapitola je rozšířena o dosud nepublikovaná data.

### 4.1 Konstrukce UV-fotoreaktoru

---

- *Podkapitola shrnuje především informace z článku, který má v seznamu příloh číslo: 2*
  - *Název článku: UV-photochemical vapor generation of selenium for atomic absorption spectrometry: optimization and <sup>75</sup>Se radiotracer efficiency study*
  - *Název časopisu: Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*
- 

V prvotní fázi praktického výzkumu bylo nutné sestavit aparaturu pro UV-fotochemické generování těkavých sloučenin a propojit ji s atomovým absorpčním spektrometrem se zevně vyhřívaným křemenným atomizátorem (UV-PVG/QF-AAS). Jednu z nejdůležitějších součástí aparatury pro UV-PVG představuje UV-fotoreaktor neboli generátor těkavých sloučenin. Právě konstrukci „jádra“ aparatury byla věnována zvýšená pozornost. V teoretické části disertační práce byly představeny rozmanité typy UV-fotoreaktorů (viz. **2.3.3 Generátor těkavých sloučenin (UV-fotoreaktor)**), pro potřeby této práce byla zvolena asi nejjednodušší, avšak efektivní a hojně rozšířená varianta. Její podstatou je běžně dostupný zdroj UV-záření a reakční cívka přichycená k jeho vnějšímu povrchu.

#### 4.1.1 Zdroj UV-záření

Jako zdroj UV-záření se uplatnila nízkotlaká rtuťová UV-výbojka trubicovitého typu, která je v laboratořích či nemocnicích běžně využívána jako účinný nástroj ke sterilizacím a k dalším sanitárním aplikacím. Popsána byla již v příslušném oddílu experimentální části (viz. **3.3.2 UV-fotoreaktor**). Dodejme jen, že napájecí zdroj byl uzpůsoben k současnému použití dvou UV-výbojek najednou (to je zřejmé i z **Obr. 3.2**),

prakticky však byla využívána pouze jedna výbojka. Varianta s oběma UV-výbojkami byla též zkoušena, kdy k povrchu jedné z nich byla přichycena reakční cívka (pracováno bylo s Teflonem II), druhá sloužila pouze jako přídatný zdroj UV-záření. Dosažené analytické signály naznačily, že zapojení druhé výbojky nemá na výsledky významný vliv a to pravděpodobně díky značnému rozptylu UV-záření (emitovaného přídatnou výbojkou) ještě před průnikem skrz materiál reakční cívky; rozdíl v absorbancích při zapojení jedné/obou výbojek nepřesáhl 10 %.

Pokud se ještě týká použitých UV-výbojek, testována byla také UV-výbojka emitující záření o vlnové délce 365,0 nm, emise při 253,7 nm byla potlačena (přesněji vyjádřeno, stěna výbojky vlnovou délkou 253,7 nm nepropouštěla). UV-fotoreaktor využívající tento zdroj UV-záření se však neosvědčil. Pro různé délky reakční cívky a různé experimentální podmínky se nepodařilo získat žádný analytický signál. Tím se potvrdilo, že o účinnosti UV-PVG selenu rozhoduje právě vlnová délka 253,7 nm.

#### 4.1.2 Reakční cívka

Jako reakční cívky byly využity dva druhy teflonových hadiček (**Teflon I**, **Teflon II**) a dva druhy křemenných trubiček (**Křemen I**, **Křemen II**) lišící se svými rozměry, tj. měly odlišné vnitřní průměry, tloušťky stěn a rozdílná byla i jejich celková délka (ta byla optimalizována pro každou cívku samostatně, jak je popsáno níže). Různé varianty reakčních cívek byly zkoušeny zejména proto, aby se s navrženým uspořádáním UV-fotoreaktoru ověřilo, jak v konkurenci křemene ob stojí pro UV-záření obecně méně propustný teflon. Vycházelo se přitom z jednoduché úvahy, že větší přísun UV-záření (více fotonů dopadajících na kapalný vzorek) by mohl vést k produkci většího množství reaktivních volných radikálů. V konečném důsledku by pak UV-PVG mohlo probíhat s větší účinností.

*Poznámka:* V disertační práci bylo na vznik těkavých sloučenin selenu při UV-PVG nahlíženo v souladu s nejrozšířenější teorií (vznik těkavých sloučenin v důsledku redukce Se(IV) volnými radikály formovanými v důsledku UV-fotolytického rozkladu organických kyselin<sup>4</sup>).

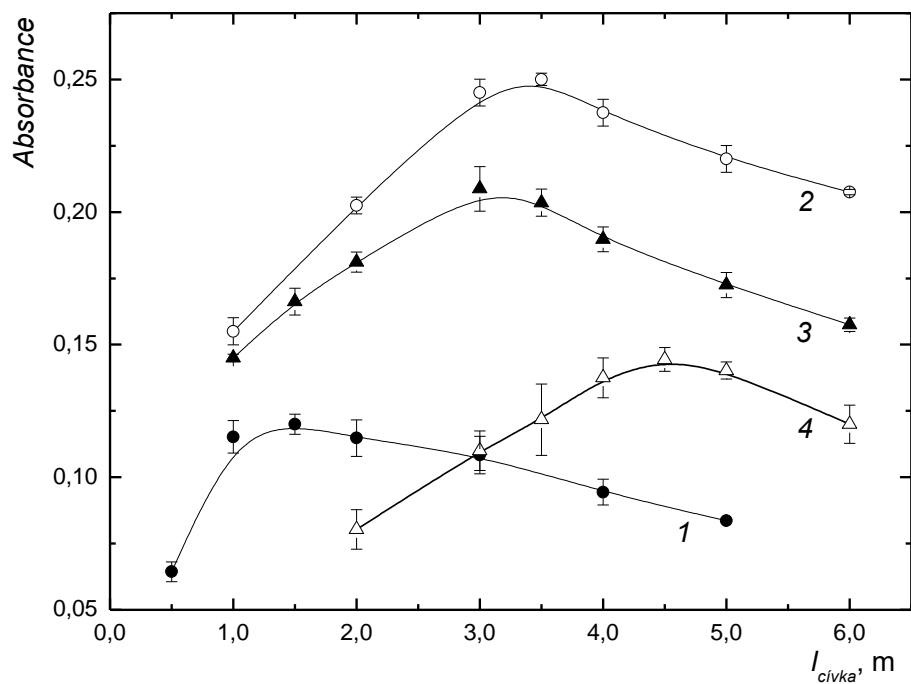
Již bylo předesláno, že teflonové hadičky byly okolo UV-výbojky omotány přímo, zohýbané křemenné trubičky byly pospojovány do „hadovitého“ tvaru (viz. **Obr. 3.1**) a přichyceny k povrchu UV-výbojky běžnou stahovací páskou. Zmíněná úprava křemenných trubiček byla vybrána z několika důvodů. Za prvé, popsaná cívka dobře přiléhala k povrchu rtuťové UV-výbojky (po upevnění stahovací páskou), což se ukázalo být jako podstatné při práci s teflonovými hadičkami. Pokud totiž hadičky nebyly omotány natěsno, analytický signál selenu byl výrazně nižší. Za druhé, při předběžné optimalizaci délky reakční trubice bylo zjištěno, že nejvyšší absorbance byly pozorovány s využitím křemenné reakční cívky o celkové délce několika metrů a upravovat křemenné trubice např. na tři metry dlouhou spirálu by bylo velmi obtížné. V neposlední řadě bylo s navrženým uspořádáním možné přidávat/ubírat počet trubiček a podle potřeby tak libovolně měnit délku reakční cívky.

- **Délka reakční cívky**

UV-PVG je označováno za kompetitivní proces mezi UV-fotochemickou syntézou a dekompozicí, a proto bylo potřeba nalézt kompromisní délku reakční cívky, při které byly za využití detekce QF-AAS dosahovány maximální absorbance. Pokud byla jako fotochemické činidlo volena kyselina mravenčí, optimální délka reakčních cívek se pohybovala od 1,5 m do 4,5 m. Jak je patrné z **Obr. 4.1**, nejdelší reakční cívka byla zapotřebí pro UV-fotoreaktor Křemen II složený z křemenné trubičky s nejmenším vnitřním průměrem ze všech testovaných variant. Naopak nejkratší cívka optimálně postačila pro Teflon I.

V samostatném grafu (**Obr. 4.2**) je zobrazena závislost analytického signálu na délce reakční cívky s využitím druhého testovaného fotochemického činidla, kterým byla kyselina octová. Optimálně byla pro studovaný Teflon II zapotřebí několikanásobně delší reakční cívka než v případě kyseliny mravenčí. Žádná odezva detektoru nebyla zaznamenána až do délky cívky 6,0 m, nejvyšší signály odpovídaly délce 11,0 – 15,0 m; pro další měření byla vybrána reakční cívka o délce 13,0 m. Jak bylo diskutováno v teoretické části práce, potřeba podstatně delší cívky pravděpodobně souvisí se složitější strukturou kyseliny octové. Lze se domnívat, že UV-fotolytický rozklad kyseliny octové za vzniku reaktivních radikálů potřebných pro redukci analytu je pozvolnější (pomalejší reakční kinetika).





**Obr. 4.1** Vliv délky reakční cívky na analytický signál Se(IV)

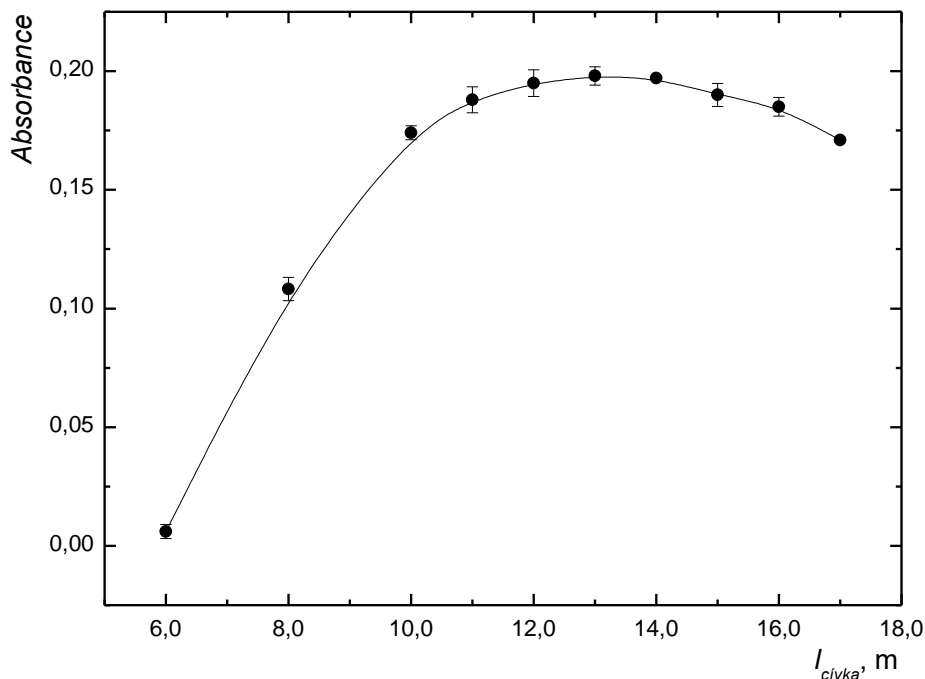
Selen byl stanovován metodou UV-PVG/QF-AAS s využitím fotochemického činidla kyseliny mravenčí a různých typů UV-fotoreaktoru;  $c_{\text{Se(IV)}} = 5,0 \mu\text{g l}^{-1}$

Teflon I (1):  $c_{\text{HCOOH}} = 0,7 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 12 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

Teflon II (2):  $c_{\text{HCOOH}} = 0,5 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 13 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

Křemen I (3):  $c_{\text{HCOOH}} = 0,7 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 15 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

Křemen II (4):  $c_{\text{HCOOH}} = 0,7 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 3,0 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 8 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$



**Obr. 4.2** Vliv délky reakční cívky na analytický signál Se(IV)

Selen byl stanovován metodou UV-PVG/QF-AAS s využitím fotochemického činidla kyseliny octové a UV-fotoreaktoru Teflon II;  $c_{Se(IV)} = 10,0 \mu g l^{-1}$

$c_{CH_3COOH} = 0,9 mol l^{-1}$ ;  $Q_{vz} = 2,8 ml min^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 25 ml min^{-1}$ ;  $Q_{H_2} = 2,0 ml min^{-1}$

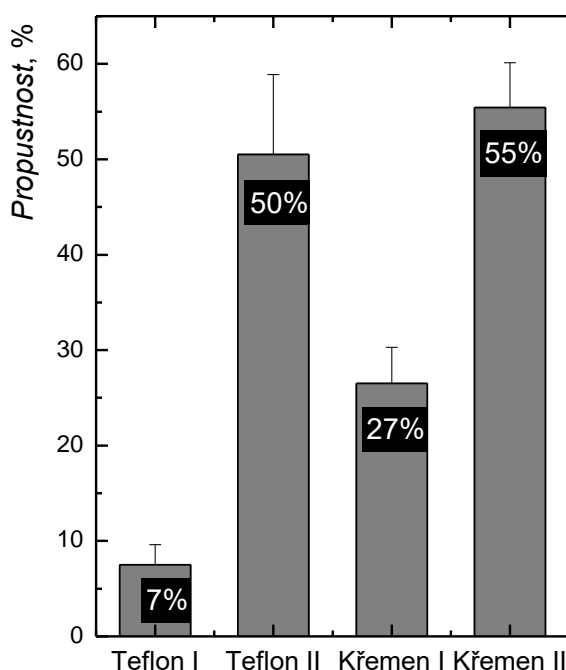
- **Propustnost materiálů reakčních cívek pro UV-záření**

S využitím molekulového absorpčního spektrofotometru byly zjišťovány propustnosti používaných teflonových a křemenných cívek. Výsledky experimentů jsou shrnuty v grafu (**Obr. 4.3**). Uvedené hodnoty jsou spíše orientační, protože nelze vyloučit, že bylo měření částečně ovlivněno odrazem záření či jeho rozptylem na měrných plochách jednotlivých materiálů.

Dle očekávání byl sice křemen oproti teflonu obecně více propustný pro UV-záření, významnou roli však sehrála tloušťka stěn jednotlivých materiálů. Z dosažených hodnot vyplynulo, že nejvyšší propustnost okolo 55% vykazoval Křemen II (tloušťka stěny 0,75 mm), srovnatelná propustnost (přibližně o 5% menší) byla zjištěna pro Teflon II (tloušťka stěny 0,2 mm). Téměř o polovinu méně propouštěl dopadající

UV-záření Křemen I (tloušťka stěny 1,0 mm) a konečně propustnost Teflonu I (tloušťka stěny 0,5 mm) nedosahovala ani 10 %.

Podle změřených propustností se na první pohled získané optimální délky reakčních cívek ukázané na **Obr. 4.1** zdají být poněkud nelogické. Například, že pro Teflon I postačila kratší reakční cívka než pro podstatně propustnější Teflon II. Je však třeba zohlednit, že kromě propustnosti reakčních cívek mohou naměřené signály ovlivnit i další faktory.



**Obr. 4.3 Propustnosti materiálů reakčních cívek pro UV-záření**

*Propustnosti byly zjišťovány za využití molekulové absorpční spektrometrie*

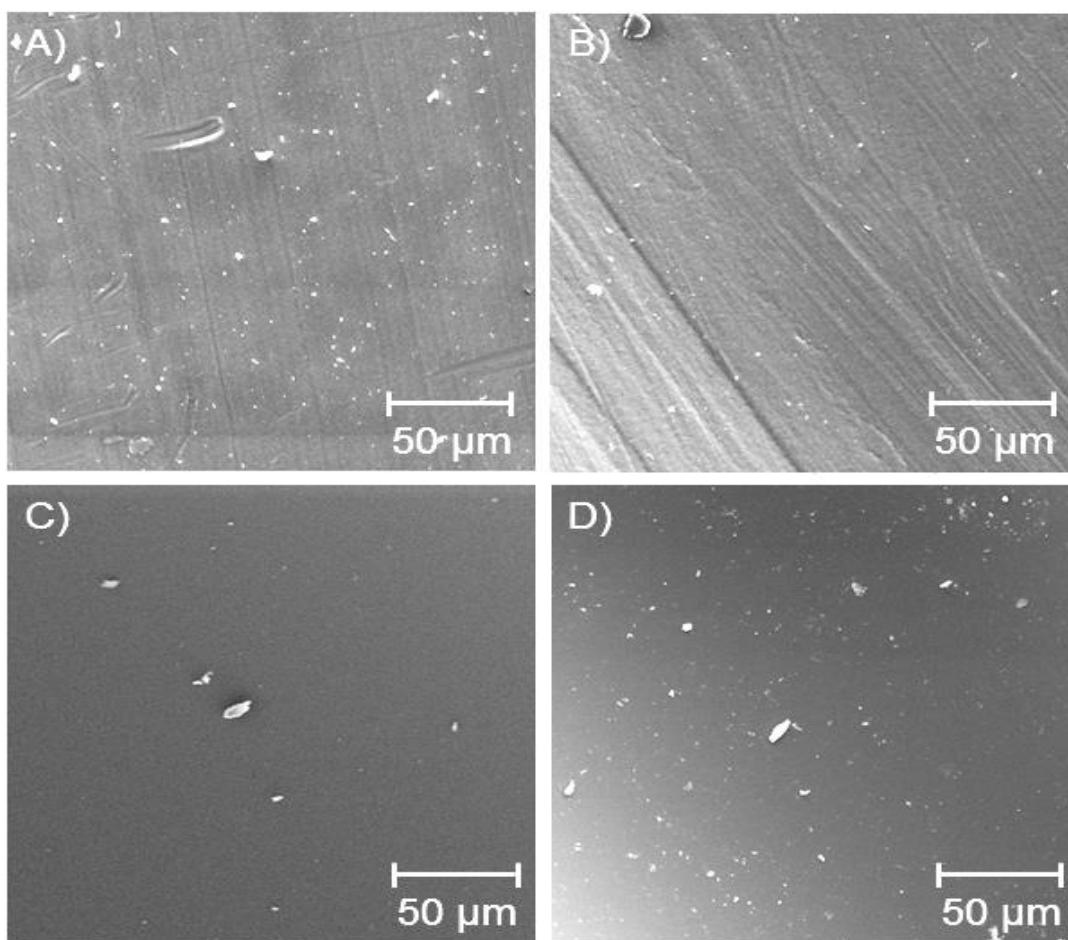
*Teflon I (1,0 mm i.d./2,0 mm o.d.); Teflon II (1,0 mm i.d./1,4 mm o.d.); Křemen I (2,0 mm i.d./4,0 mm o.d.); Křemen II (0,5 mm i.d./2,0 mm o.d.)*

- **Další parametry ovlivňující UV-PVG selenu**

Vedle klíčových parametrů jako je materiál reakčních cívek a jejich rozměry (vnitřní a vnější průměr, délka cívek) ovlivňuje velikost analytického signálu bezpochyby také průtoková rychlost vzorku skrz cívku nebo průtoková rychlost argonu (pokud je zaváděn před UV-fotoreaktor stejně jako v této práci). Nelze však opomenout ani celkovou geometrii jednotlivých UV-fotoreaktorů. Pod tímto pojmem máme na mysli

způsob omotání nebo přichycení reakční cívky ke rtuťové UV-výbojce (včetně těsnosti jejího přiléhání k UV-výbojce), různé tvary cívky apod. Právě popsanému nasvědčují i výsledky jednoduchého pokusu, při němž bylo UV-PVG realizováno buď klasicky s teflonovou hadičkou omotanou kolem UV-výbojky, nebo byla poskládána do „hadovitého“ tvaru a přichycena kabelovými páskami podobně jako tomu bylo u křemenných trubiček. Ve druhém případě byla opakovaně dosahována o více jak 10 % nižší absorbance.

Určitou roli mohou sehrát i další faktory související s materiálem/rozměry jednotlivých reakčních cívek. Jmenována může být např. různá teplota vzorku, různá tloušťka vrstvy roztoku absorbujícího UV-záření, rozdílné vnitřní povrchy cívek (rozdílný makroskopický povrch, odlišnosti v sorpci/uvolnění těkavých sloučenin z vnitřních povrchů apod.). Na **Obr. 4.4** jsou pro ilustraci ukázány snímky mapující strukturu vnitřního povrchu jednotlivých materiálů reakčních cívek, které byly pořízeny skenovacím elektronovým mikroskopem. Na základě ukázaných obrázků nelze vyvozovat konkrétní závěry o možném vlivu na účinnost generování, protože všechny materiály měly relativně hladký povrch. Vnitřní povrch obou typů křemene byl dle očekávání v porovnání s teflonem o něco hladší, nejvýraznější strukturu povrchu a tím i největší makroskopický povrch byl zjištěn u Teflonu II.



**Obr. 4.4 Snímky vnitřního povrchu reakčních cívek**

*Snímky byly pořízeny skenovacím elektronovým mikroskopem*

**A)** Teflon I (1,0 mm i.d./2,0 mm o.d.); **B)** Teflon II (1,0 mm i.d./1,4 mm o.d.); **C)** Křemen I (2,0 mm i.d./4,0 mm o.d.); **D)** Křemen II (0,5 mm i.d./2,0 mm o.d.)

## 4.2 Kompletace aparatury

Pro studii bylo zvoleno uspořádání techniky UV-PVG v režimu kontinuální průtokové analýzy. Konstrukční řešení aparatury je popsáno v experimentální části disertační práce. Jen velmi stručně uvedme několik doplňujících údajů. Kromě separátoru fází s nuceným odtahem, který byl přes Tygonovou hadičku spojen s křemenným atomizátorem, byla dále zkoušena varianta separátoru fází spojeného s atomizátorem do jednoho pevného celku (viz. **Obr. 3.4 B**). Část tohoto zařízení zastupující separátor fází i ta část doplňující atomizátor byly rozměrově menší než v případě použití dvou oddělených komponent aparatury. Spojené křemenné zařízení bylo testováno s cílem možného vylepšení základních analytických charakteristik stanovení selenu. Teoreticky by totiž mohly být omezeny případné ztráty těkavých sloučenin při jejich transportu ze separátoru fází do atomizátoru. Menší objem separátoru fází by při kontinuálním způsobu generování neměl mít významný vliv na výšku měřeného signálu, ovlivnit by mohl spíše rychlost poklesu signálu (potvrdilo se).

Prakticky použití spojeného zařízení vylepšení základních analytických charakteristik nepřineslo. Meze detekce a citlivosti zůstaly za zoptimalizovaných experimentálních podmínek přibližně na stejné úrovni a opakovatelnost se dokonce mírně zhoršila. Ukázalo se tedy, že odstranění nadbytečných spojů, zmenšení vnitřního objemu separátoru fází či kratší (a z jiného materiálu zhotovená) transportní trubice neměly významný vliv na dosažené výsledky. Ke zlepšení hodnot by možná mohlo přispět prodloužení atomizačního ramene křemenného atomizátoru, a tedy prodloužení délky absorpčního prostředí v optické ose atomového absorpčního spektrometru; oproti původnímu křemennému atomizátoru bylo atomizační rameno o několik centimetrů kratší.

Pro další experimenty byla upřednostněna varianta, kdy byly separátor fází a křemenný atomizátor samostatnými funkčními jednotkami propojenými Tygonovou hadičkou. Délka Tygonové hadičky byla zvolena pokud možno co nejkratší (asi 20 cm), aby bylo minimalizováno možné riziko ztrát těkavých sloučenin.

### 4.3 Optimalizace experimentálních podmínek

---

- *Podkapitola shrnuje především informace z článku, který má v seznamu příloh číslo: 2*
  - *Název článku:* UV-photochemical vapor generation of selenium for atomic absorption spectrometry: optimization and <sup>75</sup>Se radiotracer efficiency study
  - *Název časopisu:* Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy
- 

Po sestavení aparatury bylo přikročeno k optimalizaci experimentálních parametrů kombinované metody UV-PVG/QF-AAS. Optimalizační studie s modelovým Se(IV) byla provedena pro všechny čtyři typy UV-fotoreaktorů (Teflon I, II a Křemen I, II). Optimalizovány byly průtokové rychlosti použitých plynů (argon, vodík), průtoková rychlost vzorku, druh a koncentrace fotochemického činidla. Doba setrvání vzorku v generátoru těkavých sloučenin, čili doba ozařování, přímo studována nebyla. Praktičtější bylo sledovat změnu absorbance v závislosti na měnící se délce reakční cívky (viz. **4.1 Konstrukce UV-fotoreaktoru**). V případě, kdy byla za účelem zvýšení analytického signálu k analyzovaným roztokům přidávána kyselina dusičná, byla optimalizována také její koncentrace; většina experimentů byla prováděna jak s přídavkem kyseliny dusičné, tak bez něj. Kromě kyseliny dusičné byl zjišťován vliv přídavku dalších činidel na analytický signál. Navíc byly provedeny doplňující experimenty; například byl zkoumán možný vliv teploty reakční směsi na analytickou odezvu detektoru.

Pokud jde o parametry ovlivňující atomizační proces v zevně vyhřívaném křemenném atomizátoru, vedle průtokové rychlosti vodíku (nezbytný pro úspěšnou atomizaci těkavých sloučenin) byl studován vliv teploty atomizátoru na analytický signál selenu. Zkoušeny byly teploty mezi 850 a 1 000 °C, vyšší hodnoty nebyly voleny s ohledem na tepelnou odolnost křemene. V celém studovaném rozsahu teplot byl signál stálý, pro veškeré pokusy byla ponechána v laboratoři obvykle preferovaná teplota 950 °C.

Značná část informací prezentovaných v následující kapitole byla popsána v **Příloze 2**. Zde je uveden ucelený výtah doplněný o další nepublikovaná data. Zejména použití kyseliny octové pro potřeby UV-PVG bylo v článcích zmíněno jen okrajově. Pozornost je věnovaná také tradičnímu chemickému generování těkavých sloučenin selenu, které bylo taktéž optimalizováno, a které pro potřeby této práce posloužilo jako

srovnávací technika. V případě CVG byla optimalizována koncentrace a průtokové rychlosti redukčního činidla tetrahydridoboritanu sodného, průtokové rychlosti nosného plynu a vzorku či koncentrace kyseliny chlorovodíkové (reakční médium).

Koncentrace standardního roztoku Se(IV) pro optimalizační studii činila v závislosti na jednotlivých pokusech  $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$  nebo  $10,0 \mu\text{g l}^{-1}$ . Analytické signály byly zaznamenávány v ovládacím softwaru použitého spektrometru. Měřeny byly absorbance v ustáleném stavu. Po každém změřeném vzorku byla zjišťována absorbance slepého pokusu, která byla od absorbance vzorku odečítána. Podrobný popis zpracování naměřených dat je uveden v samostatném oddílu **3.4.5 Zpracování naměřených dat**.

### **4.3.1 UV-fotochemické generování těkavých sloučenin selenu**

V rámci optimalizace byla nejprve provedena předběžná studie. To znamená, že níže prezentované závislosti znázorňující vliv jednotlivých experimentálních parametrů na analytický signál selenu byly měřeny za takových výchozích pracovních podmínek, které se již optimálnímu stavu do značné míry přibližovaly. Konkrétní podmínky měření jsou vždy shrnuty v legendě u obrázků s příslušnými naměřenými závislostmi.

#### **4.3.1.1 Fotochemické činidlo**

Pro převod analytu na těkavé sloučeniny je při UV-PVG kromě UV-záření zapotřebí fotochemické činidlo. Pro potřeby disertační práce byla testována kyselina mravenčí a kyselina octová v koncentračním rozmezí od  $0,0 \text{ mol l}^{-1}$  do  $2,0 \text{ mol l}^{-1}$ ; kyseliny byly se standardním roztokem Se(IV) míseny před vlastní analýzou. Zkoušena byla také současná kombinace obou kyselin. Vzájemné mixování kyselin v různých poměrech však nepřispělo k vylepšení analytických signálů oproti stavu, kdy byly obě kyseliny použity odděleně.

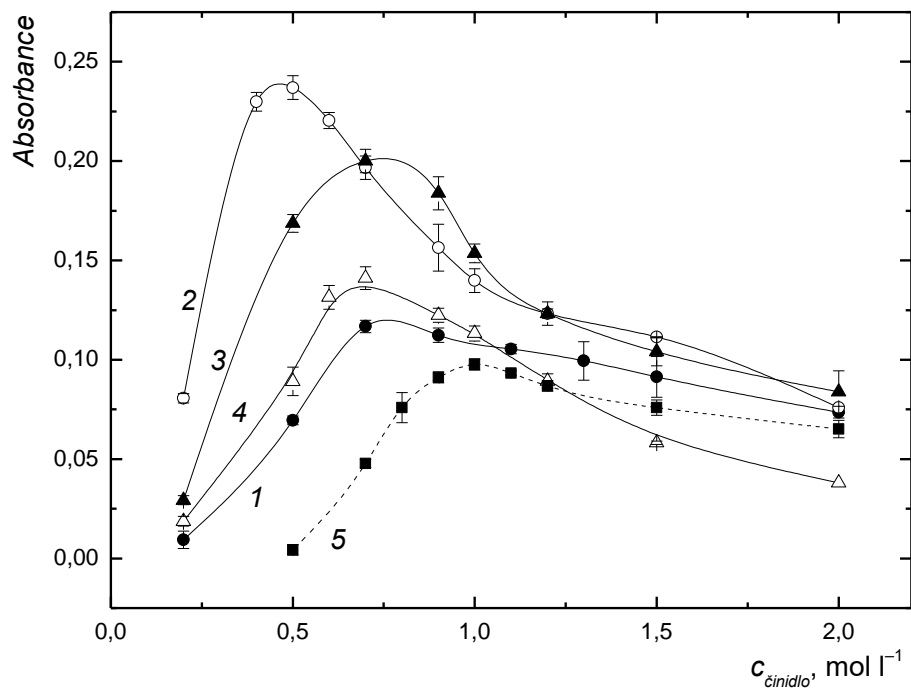
Jako optimální byla po sérii pokusů vybrána kyselina mravenčí o koncentraci  $0,7 \text{ mol l}^{-1}$  (Křemen I, II a Teflon I), respektive  $0,5 \text{ mol l}^{-1}$  pro Teflon II. Vliv koncentrace kyseliny mravenčí na analytický signál je pro jednotlivé typy UV-fotoreaktorů znázorněn na **Obr. 4.5**. Při pokusech s Teflonem I byl intenzivní signál pozorován v poměrně širokém koncentračním rozsahu přibližně mezi  $0,6 - 1,3 \text{ mol l}^{-1}$  HCOOH. U ostatních variant bylo optimum užší, signál výrazně klesal již okolo



koncentrace  $1,0 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCOOH}$ . Nalezené optimální hodnoty jsou v dobré shodě s výsledky některých dalších autorů<sup>4,72</sup>. V grafu nejsou zakresleny body odpovídající nulové koncentraci kyseliny. Jak se dalo očekávat, v případě že byl do UV-fotoreaktoru čerpán pouze standard Se(IV) připravený v deionizované vodě, žádný analytický signál zaznamenan nebyl.

Součástí **Obr. 4.5** je také závislost analytického signálu na koncentraci kyseliny octové změřená s Teflonem II. Z grafu je zřejmé, že podstatně vyšší signály byly zjištěny pro vzorky s obsahem kyseliny mravenčí. Navíc, závislost pro kyselinu octovou odpovídá pokusům s dvakrát vyšší koncentrací selenu ( $10,0 \text{ } \mu\text{g l}^{-1} \text{ Se(IV)}$ ). Zopakujme, že v případě využití kyseliny octové bylo nutné výrazně prodloužit délku reakční cívky. Pokud byla ponechána délka optimální pro UV-PVG s kyselinou mravenčí (3,5 m), nebyla při pokusech s kyselinou octovou pozorována žádná odezva detektoru. S třináctimetrovou reakční cívkou byla nejvyšší absorpance zjištěna při použití  $0,9 \text{ mol l}^{-1} \text{ CH}_3\text{COOH}$ .

Přestože byla jako vhodnější fotochemické činidlo pro UV-PVG selenu vybrána kyselina mravenčí, optimalizační studie byla provedena i pro kyselinu octovou a dosažené výsledky jsou v omezené míře v následujícím textu též uváděny. Příslušné optimalizace byly prováděny pouze s Teflonem II.



**Obr. 4.5 Vliv koncentrace fotochemického činidla na analytický signál Se(IV)**

*Selen byl stanovován metodou UV-PVG/QF-AAS, jako fotochemické činidlo byla využita kyselina mravenčí (1 – 4) nebo kyselina octová (5)*

*Kyselina mravenčí – pokusy byly provedeny s různými UV-fotoreaktory;  $c_{\text{Se(IV)}} = 5,0 \mu\text{g l}^{-1}$*

*Teflon I (1):  $l_{\text{cívka}} = 1,5 \text{ m}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 12 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$*

*Teflon II (2):  $l_{\text{cívka}} = 3,5 \text{ m}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 13 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$*

*Křemen I (3):  $l_{\text{cívka}} = 2,8 \text{ m}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 15 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$*

*Křemen II (4):  $l_{\text{cívka}} = 4,5 \text{ m}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 3,0 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 8 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$*

*Kyselina octová – pokusy byly provedeny s UV-fotoreaktorem Teflon II;  $c_{\text{Se(IV)}} = 10,0 \mu\text{g l}^{-1}$ ;  $l_{\text{cívka}} = 13,0 \text{ m}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 2,8 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 25 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$*

#### 4.3.1.2 Doba ozařování

Jak již bylo zmíněno, doba ozařování vzorku v UV-fotoreaktoru primárně optimalizována nebyla. Odvíjí se od délky reakční cívky, která byla studována v rámci optimalizace UV-fotoreaktoru (viz. **4.1 Konstrukce UV-fotoreaktoru**), závisí také na jejím vnitřním průměru. Dále je významně ovlivněna průtokovou rychlostí vzorku nebo např. průtokovými rychlostmi plynů (při jejich zavádění před UV-fotoreaktor).

Orientačně může být uvedeno, že za optimálních podmínek strávil analyzovaný vzorek v UV-fotoreaktoru Teflon I, Teflon II a Křemen II méně než deset sekund; v případě Teflonu II to bylo o něco více než u Teflonu I a Křemenu I. Téměř půlminutové ozařování bylo nezbytné pro Křemen I. Podstatně delší doba ozařování se může u Křemene I odvíjet od vnitřního průměru cívky, který byl ze všech testovaných možností největší. UV-záření muselo v tomto případě pronikat silnější vrstvou roztoku a je pravděpodobné, že bylo do určité míry absorbováno fotochemickým činidlem. Jistá nelogičnost výsledků pro Teflon I a Teflon II, kdy méně propustný Teflon I vyžadoval při stejných průtokových rychlostech vzorku a stejném vnitřním průměru cívek kratší reakční cívku, už byla zmíněna; a připomenuta bude ještě níže v souvislosti s průtokovou rychlostí vzorku.

Pro praktické účely by z hlediska trvání analýzy nebylo vhodné využití kyseliny octové. Za optimálních podmínek pro UV-PVG by bylo potřeba až několikaminutové UV-ozařování.

#### **4.3.1.3 Průtoková rychlost nosného plynu**

Jako nosný plyn byl pro studii zvolen argon vysoké čistoty. Po sérii experimentů s Teflonem I a fotochemickým činidlem kyselinou mravenčí byl zaváděn do proudu kapalného vzorku před vstupem do UV-fotoreaktoru. Při tomto uspořádání bylo za optimálních průtoků argonu dosahováno podstatně vyšších analytických signálů oproti variantě, kdy byl argon přiváděn až za generátor těkavých sloučenin (před separátor fází). Konkrétně pro Teflon I byl nárůst absorbance přibližně dvojnásobný. Ve zvoleném uspořádání mohl argon přispívat k účinnějšímu převedení těkavých sloučenin z kapalné fáze do fáze plynné či k jejich účinnějšímu transportu z UV-fotoreaktoru.

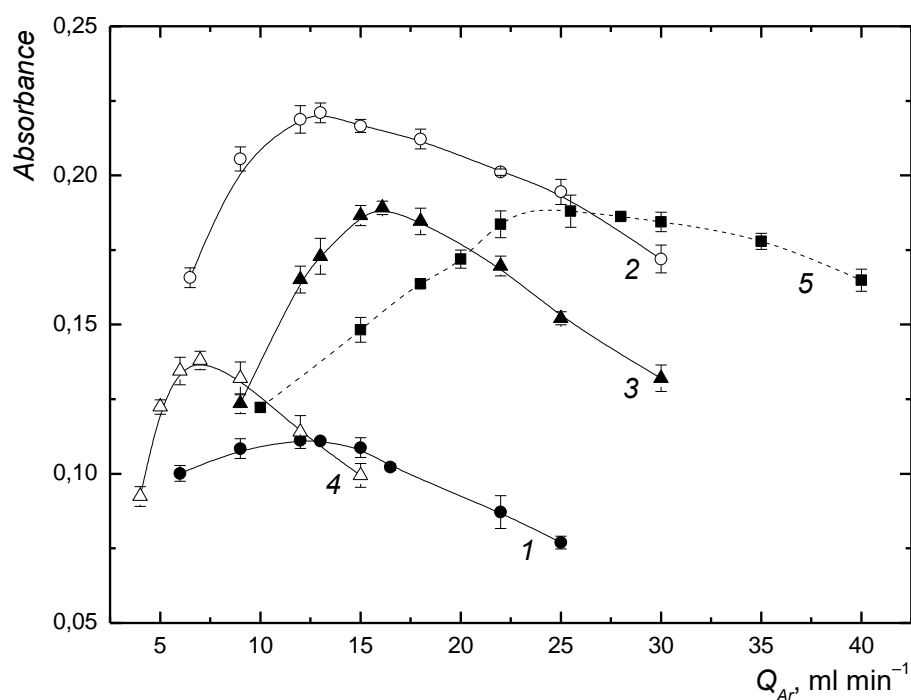
Kromě zavádění před/za UV-fotoreaktor byla dále studována možnost přívodu nosného plynu do obou poloh současně. Pro tyto účely byl do aparatury zapojen druhý regulátor průtoku argonu. Postup při experimentech byl následující. Nejprve byla na prvním regulátoru průtoku plynů nastavena optimální hodnota průtokové rychlosti argonu zjištěná při experimentech se zaváděním argonu pouze před UV-fotoreaktor, a prostřednictvím druhého regulátoru byl postupně měněn přísun argonu do druhé polohy před separátor fází. Analytický signál se tímto krokem nepodařilo zlepšit. Významné rozdíly v dosažených signálech nebyly pozorovány ani v případě, kdy se situace obrátila

(upravován byl přísun argonu před UV-fotoreaktor) nebo když byly zkoušeny různé kombinace průtoků v obou polohách. Na základě naměřených dat byl argon pro další experimenty zaváděn pouze před UV-fotoreaktor.

Průtoková rychlost nosného plynu hrála při optimalizační studii jednu z klíčových rolí. Již relativně malé změny v průtocích vedly k podstatným změnám analytického signálu. Může být uveden jeden konkrétní příklad. Zůstane-li pozornost upřena na UV-PVG s kyselinou mravenčí, pro Teflon II byly maximální signály dosaženy přibližně mezi průtoky 12 – 15 ml min<sup>-1</sup>. Při průtoku 7 ml min<sup>-1</sup> nebo naopak 30 ml min<sup>-1</sup> byla intenzita signálu téměř o 25 % nižší. Optimální průtokové rychlosti nosného plynu pro jednotlivé zkoušené UV-fotoreaktory ukazuje **Obr. 4.6**

Při velmi nízkých průtocích argonu byl pozorován větší šum základní linie a pomalejší nárůst/pokles signálu, což nasvědčuje omezené transportní účinnosti. Dále mohla být při nízkých průtocích argonu zvýšena případná sorpce těkavých sloučenin na různých površích aparatury nebo mohlo docházet k předčasnému zániku vygenerovaných těkavých sloučenin. Naopak příliš vysoké průtoky mohly intenzitu signálu negativně ovlivnit v důsledku zkrácení doby setrvání vzorku v UV-fotoreaktoru. Uvažovat lze též o předčasném vypuzení volných atomů analytu z optické osy spektrometru, i když vzhledem k celkově nízkým průtokovým rychlostem se zdá být tato varianta méně pravděpodobná.

V případě, kdy bylo pracováno s kyselinou octovou, byla optimálně zapotřebí vyšší průtoková rychlost nosného plynu. Také rozsah průtoků, při kterých byl zaznamenán maximální analytický signál, byl o něco širší než v případě kyseliny mravenčí. Odpovídal přibližně 24 – 30 ml min<sup>-1</sup> argonu. Jako optimální pro další měření byla zvolena průtoková rychlost argonu 26 ml min<sup>-1</sup>, pro kterou byl opakovaně dosažen nejvyšší analytický signál ze všech proměřovaných hodnot tohoto parametru. Příslušná optimalizační závislost naměřená pro Teflon II je součástí **Obr. 4.6**. Potřeba vyšších průtoků argonu mohla souviset s odlišnými těkavými produkty generovanými s oběma fotochemickými činidly (viz. **4.3.1.7 Vliv přídavku kyseliny dusičné a dalších činidel**).



**Obr. 4.6** Vliv průtokové rychlosti argonu (nosný plyn) na analytický signál Se(IV)

Selen byl stanovován metodou UV-PVG/QF-AAS, jako fotochemické činidlo byla využita kyselina mravenčí (1 – 4) nebo kyselina octová (5)

Kyselina mravenčí – pokusy byly provedeny s různými UV-fotoreaktory;  $c_{Se(IV)} = 5,0 \mu\text{g l}^{-1}$

Teflon I (1):  $l_{cívka} = 1,5 \text{ m}$ ;  $c_{HCOOH} = 0,7 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{vz} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{H_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

Teflon II (2):  $l_{cívka} = 3,5 \text{ m}$ ;  $c_{HCOOH} = 0,5 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{vz} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{H_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

Křemen I (3):  $l_{cívka} = 2,8 \text{ m}$ ;  $c_{HCOOH} = 0,7 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{vz} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{H_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

Křemen II (4):  $l_{cívka} = 4,5 \text{ m}$ ;  $c_{HCOOH} = 0,7 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{vz} = 3,0 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{H_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

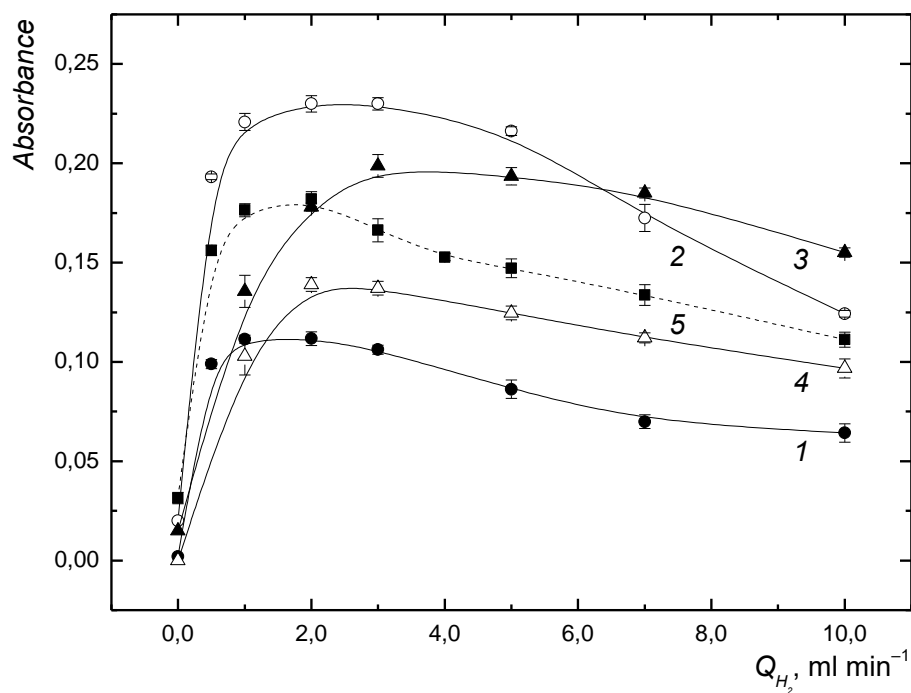
Kyselina octová – pokusy byly provedeny s UV-fotoreaktorem Teflon II;  $c_{Se(IV)} = 10,0 \mu\text{g l}^{-1}$ ;

$l_{cívka} = 13,0 \text{ m}$ ;  $c_{CH_3COOH} = 0,9 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{vz} = 2,8 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{H_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

#### 4.3.1.4 Průtoková rychlost vodíku

Nejprve bylo ověřeno, že při UV-PVG nevzniká dostatečné množství vodíku, který je nezbytný při atomizaci v zevně vyhřívaném křemenném atomizátoru. Pokud vodík do atomizátoru zaváděn nebyl, analytický signál selenu byl velmi nízký nebo dokonce nulový. Stačilo však ze zásobníku přidat přibližně  $0,5 \text{ ml min}^{-1}$  a absorbance prudce vzrostla. Ze závislosti na **Obr. 4.7** lze vyčíst, že při UV-PVG s kyselinou

mravenčí se pro všechny testované UV-fotoreaktory nejvyšší signály pohybovaly přibližně mezi 1,0 – 5,0 ml min<sup>-1</sup>, poté signál pozvolna klesal. Pro další experimenty bylo nadále pracováno s průtokovou rychlostí vodíku 2,0 ml min<sup>-1</sup> (Teflon I, II a Křemen I) nebo 3,0 ml min<sup>-1</sup> (Křemen II). Obdobná závislost byla naměřena i pro kyselinu octovou (optimum 2,0 ml min<sup>-1</sup> vodíku).



**Obr. 4.7** Vliv průtokové rychlosti vodíku na analytický signál Se(IV)

Selen byl stanovován metodou UV-PVG/QF-AAS, jako fotochemické činidlo byla využita kyselina mravenčí (1 – 4) nebo kyselina octová (5)

Kyselina mravenčí – pokusy byly provedeny s různými UV-fotoreaktory;  $c_{Se(IV)} = 5,0 \mu\text{g l}^{-1}$

Teflon I (1):  $l_{cívka} = 1,5 \text{ m}$ ;  $c_{HCOOH} = 0,7 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{vz} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 12 \text{ ml min}^{-1}$

Teflon II (2):  $l_{cívka} = 3,5 \text{ m}$ ;  $c_{HCOOH} = 0,5 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{vz} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 13 \text{ ml min}^{-1}$

Křemen I (3):  $l_{cívka} = 2,8 \text{ m}$ ;  $c_{HCOOH} = 0,7 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{vz} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 16 \text{ ml min}^{-1}$

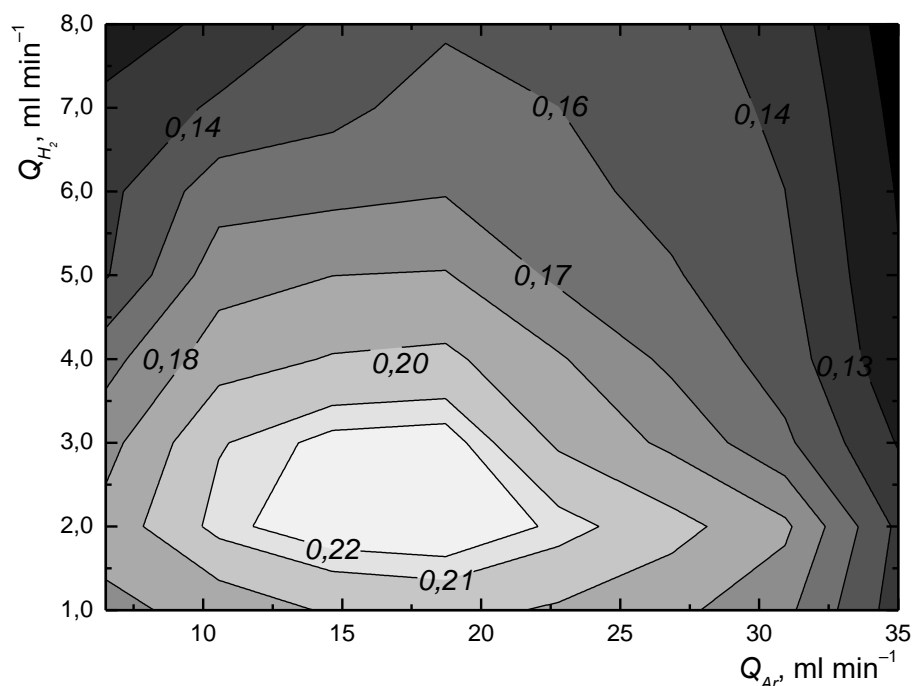
Křemen II (4):  $l_{cívka} = 4,5 \text{ m}$ ;  $c_{HCOOH} = 0,7 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{vz} = 3,0 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 7 \text{ ml min}^{-1}$

Kyselina octová – pokusy byly provedeny s UV-fotoreaktorem Teflon II;  $c_{Se(IV)} = 10,0 \mu\text{g l}^{-1}$ ;

$l_{cívka} = 13,0 \text{ m}$ ;  $c_{CH_3COOH} = 0,9 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{vz} = 2,8 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 25 \text{ ml min}^{-1}$

#### 4.3.1.5 Kombinovaná optimalizace průtokových rychlostí plynů

Průtokové rychlosti argonu a vodíku měly zásadní vliv na výsledné AAS signály. V předchozích experimentech byly provedeny dvě samostatné optimalizace, kdy byl průtok jednoho z plynů konstantní a druhý byl optimalizován. V doplňujícím pokusu s Teflonem II byla sledována vzájemná závislost průtokové rychlosti argonu a vodíku ve vztahu k jedné závislé proměnné veličině (absorbance). Získaná závislost je ukázána na **Obr. 4.8**.



**Obr. 4.8** Kombinovaná závislost průtokové rychlosti argonu (nosný plyn) a vodíku na analytický signál Se(IV)

*Selen byl stanovován metodou UV-PVG/QF-AAS s využitím fotochemického činidla kyseliny mravenčí a UV-fotoreaktoru Teflon II;  $c_{\text{Se(IV)}} = 5,0 \mu\text{g l}^{-1}$ ;  $l_{\text{cívka}} = 3,5 \text{ m}$ ;  $c_{\text{HCOOH}} = 0,5 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$*

Z **Obr. 4.8** je zřejmé, že optimální hodnota průtokové rychlosti vodíku zůstala totožná ( $2,0 \text{ ml min}^{-1}$ ) pro všechny testované průtokové rychlosti argonu. To znamená, že ve sledovaném rozmezí hodnot není závislá na průtokové rychlosti nosného argonu.

Uvedené zjištění usnadňuje optimalizační proces. Teoreticky by neměla nastat situace, že při změně průtokové rychlosti argonu (ve zde studovaném rozmezí) bude nutné znovu optimalizovat i průtokovou rychlost vodíku. Pokud jde o optimální průtokové rychlosti nosného plynu, závěry nejsou tak jednoznačné. Se změnou průtoku vodíku se optimální rozpětí průtoků argonu částečně pohybovalo, avšak změny v naměřených absorbancích nebyly výrazné. S určitým zjednodušením lze říci, že nezávislost mezi oběma parametry je oboustranná.

#### 4.3.1.6 Průtoková rychlost vzorku

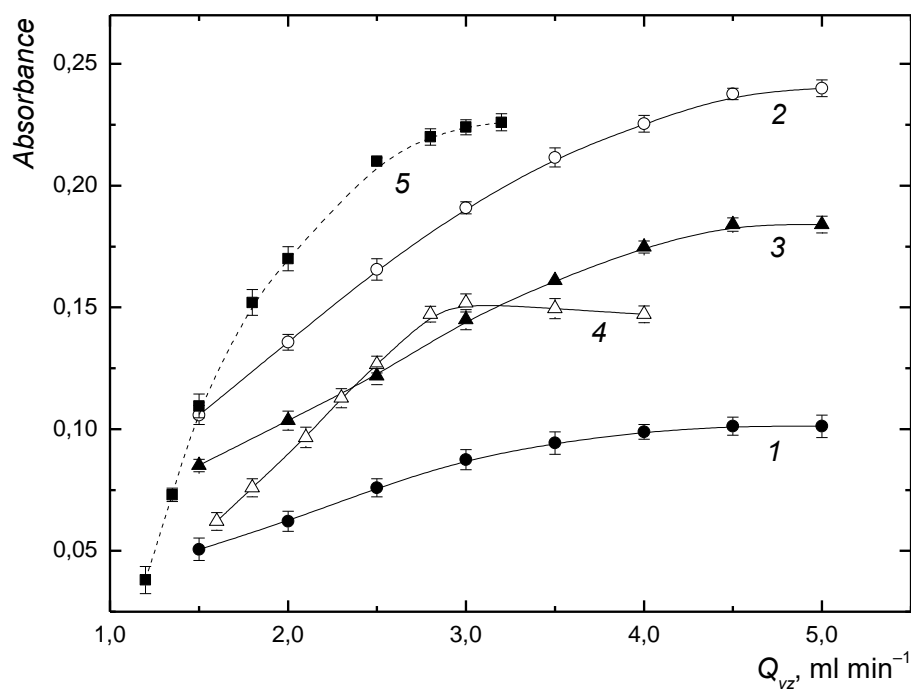
Dalším optimalizovaným parametrem byla průtoková rychlost vzorku, čili rychlost, jakou byly do aparatury čerpány ionty seleničité připravené v kyselině mravenčí nebo octové. Jak se dalo očekávat, s rostoucí rychlostí čerpání vzorku signál rostl. Důvodem bylo zvyšující se látkové množství analytu přiváděné za stejnou časovou jednotku do generátoru těkavých sloučenin. Z naměřených závislostí na **Obr. 4.9** je patrné, že při experimentech s kyselinou mravenčí signál v podstatě lineárně rostl přibližně do průtokové rychlosti  $4,0 - 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ . Při vyšších hodnotách průtoků už byl nárůst jen minimální, závislost se zakřivovala směrem k ose x. To se týkalo UV-fotoreaktorů Teflon I, Teflon II a Křemen I. Pro Křemen II signál strmě rostl do průtokové rychlosti vzorku okolo  $2,8 \text{ ml min}^{-1}$ . Pro oba typy Teflonu a Křemen I byla pro další měření vybrána průtoková rychlost vzorku  $4,5 \text{ ml min}^{-1}$ , pro Křemen II to bylo  $3,0 \text{ ml min}^{-1}$ . Pokud bychom chtěli získat pro všechny UV-fotoreaktory stejné optimální průtokové rychlosti (praktické pro porovnání účinností UV-PVG s jednotlivými UV-fotoreaktory), bylo by třeba upravit délku reakční cívky Křemen II. Pro průtokovou rychlost  $4,5 \text{ ml min}^{-1}$  by však byla, teoreticky, zapotřebí délka přesahující  $5,0 \text{ m}$ , a s takto dlouhou křemennou cívkou by se hůře manipulovalo.

Při experimentech s kyselinou octovou (Teflon II), byla jako optimální zvolena stejná průtoková rychlost vzorku jako pro Křemen II s kyselinou mravenčí, čili  $3,0 \text{ ml min}^{-1}$ .

Zakřivení jednotlivých závislostí při překročení průtokových rychlostí vzorku nad určitou hodnotu může souviset např. se zkrácením doby setrvání vzorku v UV-fotoreaktoru (nedostatečné UV-ozařování vzorku). Tím se opět dostáváme k problematice délky reakčních cívek u Teflonu I a II. Pokud by byla pro málo propustný



Teflon I zapotřebí delší doba ozařování vzorku (jak by odpovídalo logice – menší propustnost znamená při stejném vnitřním průměru delší dobu ozařování), projevilo by se to i na průtokové rychlosti vzorku. Byla by nižší než v případě Teflonu II vykazujícímu lepší propustnost pro UV-zářeni. Optimální průtokové rychlosti však byly shodné a tudíž se potvrdilo, že na účinnost generování mají vliv i další faktory.



**Obr. 4.9 Vliv průtokové rychlosti vzorku na analytický signál Se(IV)**

Selen byl stanovován metodou UV-PVG/QF-AAS, jako fotochemické činidlo byla využita kyselina mravenčí (1 – 4) nebo kyselina octová (5)

Kyselina mravenčí – pokusy byly provedeny s různými UV-fotoreaktory;  $c_{Se(IV)} = 5,0 \mu\text{g l}^{-1}$

Teflon I (1):  $l_{cívka} = 1,5 \text{ m}$ ;  $c_{HCOOH} = 0,7 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 12 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{H_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

Teflon II (2):  $l_{cívka} = 3,5 \text{ m}$ ;  $c_{HCOOH} = 0,5 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 13 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{H_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

Křemen I (3):  $l_{cívka} = 2,8 \text{ m}$ ;  $c_{HCOOH} = 0,7 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 16 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{H_2} = 3,0 \text{ ml min}^{-1}$

Křemen II (4):  $l_{cívka} = 4,5 \text{ m}$ ;  $c_{HCOOH} = 0,7 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 7 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{H_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

Kyselina octová – pokusy byly provedeny s UV-fotoreaktorem Teflon II;  $c_{Se(IV)} = 10,0 \mu\text{g l}^{-1}$ ;

$l_{cívka} = 13,0 \text{ m}$ ;  $c_{CH_3COOH} = 0,9 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 25 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{H_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

#### 4.3.1.7 Vliv přídavku kyseliny dusičné a dalších činidel

- **Kyselina dusičná a dusičnan sodný**

V návaznosti na zjištění některých autorů, týkající se možného zvýšení analytického signálu selenu v důsledku přídavku kyseliny dusičné ke vzorkům<sup>4,31,58,59</sup>, byl po optimalizaci základních experimentálních parametrů sledován vliv této kyseliny na stanovení selenu metodou UV-PVG/QF-AAS. Kromě kyseliny dusičné byl ze stejných důvodů vyšetřován vliv dusičnanu sodného a vliv peroxidu vodíku. Doplňme, že vliv dalších minerálních kyselin a solí na stanovení selenu byl také studován, dosažené výsledky jsou uvedeny v podkapitole **4.9 Interferenční studie**.

Nejprve bylo ověřeno, že při UV-PVG s kyselinou mravenčí způsobuje přídavek kyseliny dusičné do analyzovaného roztoku podstatné zvýšení analytického signálu selenu. Je však potřeba zdůraznit, že ono zvýšení bylo pozorováno pouze v úzkém koncentračním rozmezí kyseliny dusičné a již malé odchylky od optimální hodnoty vedly k výrazným změnám signálu. Opět může být uveden konkrétní příklad pro UV-fotoreaktor Teflon II. Zatímco přídavek 5,0 mmol l<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> (při této koncentraci kyseliny dusičné byly naměřeny nejvyšší absorbance) měl za následek přibližně dvojnásobné zvýšení signálu, při koncentraci 15,0 mmol l<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> byl signál zhruba na stejné úrovni jako při nulovém přídavku kyseliny a při 20,0 mmol l<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> již vykazoval méně než čtvrtinu původní intenzity (cca 20 %).

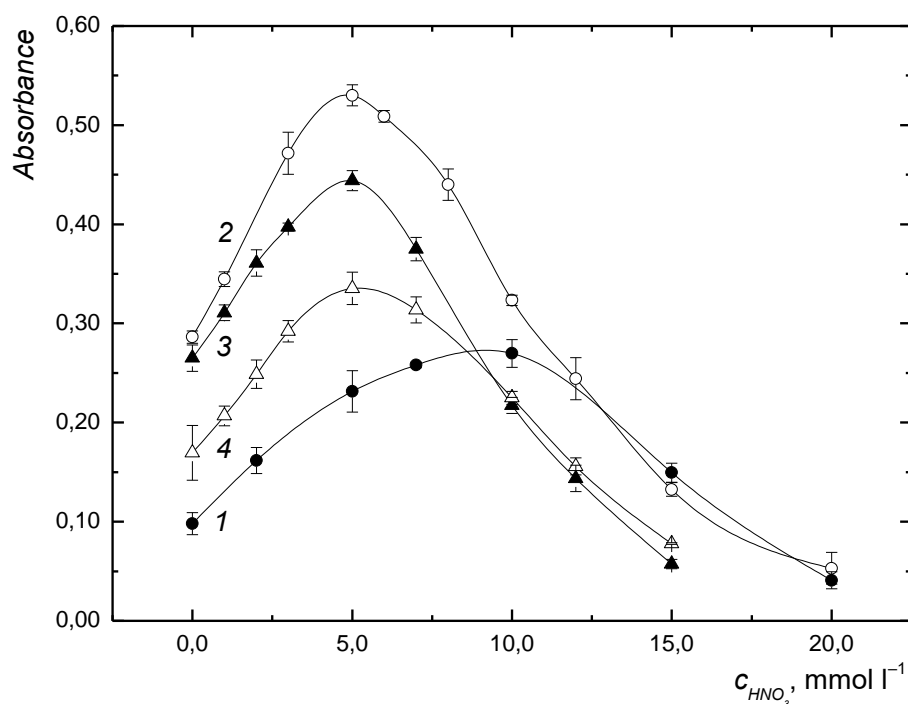
Za předpokladu, že bude přijata teorie o vzniku těkavých sloučenin v důsledku redukce analytu volnými radikály, kyselina dusičná by mohla ovlivňovat produkci těchto radikálů vznikajících UV-fotolytickým rozkladem kyseliny mravenčí nebo by mohla ovlivnit poměr, v jakém jednotlivé radikály vznikají. Přesněji vyjádřeno, mohla by ovlivnit produkci/poměr radikálů, které se přímo podílí na redukci Se(IV). Navíc, těkavé produkty se při UV-PVG (s fotochemickým činidlem kyselinou mravenčí) bez/s přídavkem kyseliny dusičné liší. Podle Gua a kol.<sup>4</sup> rozkladem kyseliny dusičné vznikají hydroxylové radikály, které reagují s vodíkovými radikály produkovanými UV-indukovaným rozkladem kyseliny mravenčí. Tím je potlačen vznik selenovodíku, protože právě radikály vodíku jsou zodpovědné za produkci této těkavé sloučeniny; v případě UV-PVG s kyselinou dusičnou je tedy pravděpodobně formován pouze selenokarbonyl. Lze očekávat, že selenokarbonyl a selenovodík mají odlišné vlastnosti,

liší se svou stabilitou, mohou vykazovat různé chování při styku s povrchem aparatury, případně mohou být různě atomizovány.

V souvislosti s atomizací v křemenném atomizátoru by se také dalo uvažovat, že by přidaná kyselina dusičná mohla částečně ovlivnit samotný atomizační proces. Teoreticky by mohla přispět ke zvýšenému výskytu kyslíkových radikálů v atomizátoru. Ty jsou pro atomizaci v křemenných atomizátorech nepostradatelné, protože jejich reakcí s vodíkem vznikají vodíkové radikály nezbytné pro úspěšný průběh atomizace. Vlivem přídavku kyseliny dusičné by tedy mohlo vznikat i více vodíkových radikálů a v konečném důsledku by se v optické ose spektrometru mohla nacházet vyšší okamžitá koncentrace volných atomů selenu. Pro ověření této nepodložené teorie by bylo vhodné vyzkoušet jiný typ atomizátoru. Ideální by byl multiatomizátor, do kterého je možné zavádět kontrolované množství kyslíku. Tento konstrukční typ atomizátoru bohužel nebyl v průběhu vypracování disertační práce k dispozici.

Na **Obr. 4.10** jsou graficky znázorněny naměřené závislosti absorbance na přídavku kyseliny dusičné pro všechny čtyři UV-fotoreaktory. Prakticky byl sledován vliv přídavku v koncentračním rozmezí 0,0 – 100,0 mmol l<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>, z důvodu velmi nízkých absorbancí získaných pro koncentrace nad 20,0 mmol l<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> je v grafu ukázané rozmezí užší (0,0 – 20,0 mmol l<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>). Pro Teflon I byla jako optimální koncentrace kyseliny dusičné pro další experimenty určena 10,0 mmol l<sup>-1</sup>, pro ostatní testované varianty byla shodně vybrána koncentrace 5,0 mmol l<sup>-1</sup>. Při optimální koncentraci kyseliny dusičné byla intenzita signálu zvýšena přibližně dvakrát, u Teflonu I byl nárůst téměř trojnásobný.

Pokud jde o fotochemické činidlo kyselinu octovou, jakýkoliv přídavek kyseliny dusičné do reakční směsi obsahující 10,0 μg l<sup>-1</sup> Se(IV) a 0,9 mol l<sup>-1</sup> CH<sub>3</sub>COOH vedl k výraznému poklesu absorbance. Byla-li např. do vzorku přidána 5,0 mmol l<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub>, signál poklesl přibližně o 50 % oproti nulovému přídavku. Při přídavku 20,0 mmol l<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> již nebyl pozorován žádný signál.



**Obr. 4.10** Vliv koncentrace kyseliny dusičné na analytický signál Se(IV)

Selen byl stanovován metodou UV-PVG/QF-AAS s využitím fotochemického činidla kyseliny mravenčí a různých typů UV-fotoreaktoru;  $c_{\text{Se(IV)}} = 5,0 \mu\text{g l}^{-1}$

Teflon I (1):  $l_{\text{cívka}} = 1,5 \text{ m}$ ;  $c_{\text{HCOOH}} = 0,7 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 12 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

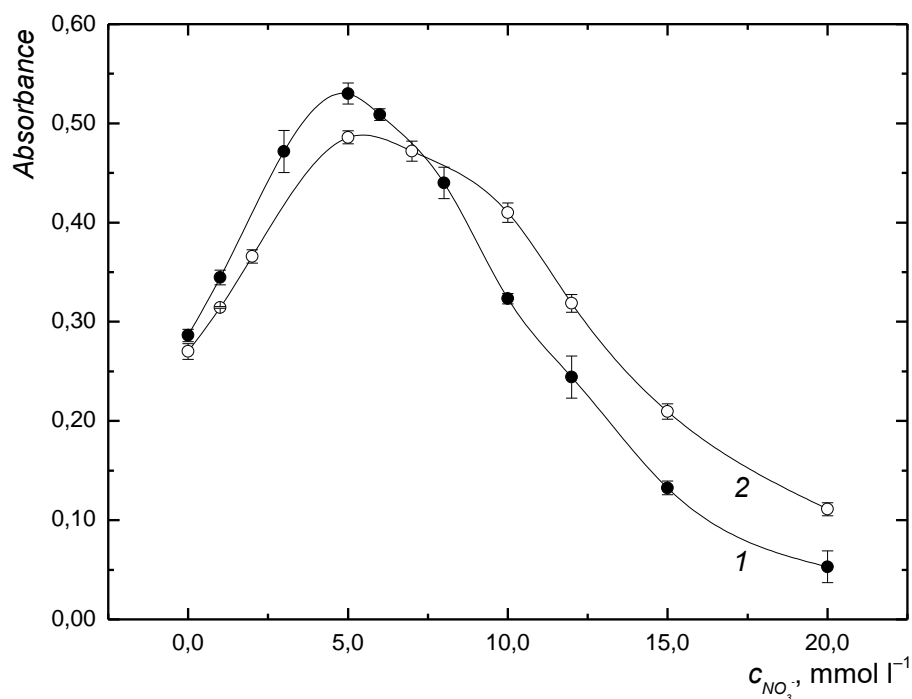
Teflon II (2):  $l_{\text{cívka}} = 3,5 \text{ m}$ ;  $c_{\text{HCOOH}} = 0,5 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 13 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

Křemen I (3):  $l_{\text{cívka}} = 2,8 \text{ m}$ ;  $c_{\text{HCOOH}} = 0,7 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 16 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

Křemen II (4):  $l_{\text{cívka}} = 4,5 \text{ m}$ ;  $c_{\text{HCOOH}} = 0,7 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 3,0 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 7 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

Pro Teflon II byl dále zjišťován vliv dusičnanu sodného na analytický signál Se(IV). Jak ukazuje **Obr. 4.11**, naměřená závislost měla obdobný průběh jako v případě pokusů s kyselinou dusičnou (křivka je pro porovnání též součástí obrázku). To naznačuje, že za změny signálu byl primárně zodpovědný dusičnanový aniont spíše než případná změna pH; změna pH vlivem přidavku kyseliny dusičné/dusičnanů ve

sledovaném koncentračním rozmezí byla oproti měření pouze s kyselinou mravenčí minimální. Pro představu uvedme, že pH roztoku obsahujícího  $10,0 \mu\text{g l}^{-1}$  Se(IV) v  $0,7 \text{ mol l}^{-1}$  HCOOH s přidavkem  $10,0 \text{ mmol l}^{-1}$  HNO<sub>3</sub> bylo rovno asi 1,80, zatímco bez přidavku kyseliny dusičné se pH rovnalo 1,96. Výrazné výkyvy nebyly zjištěny ani vlivem přidávaných dusičnanů.



**Obr. 4.11 Vliv koncentrace kyseliny dusičné (1) a dusičnanu sodného (2) na analytický signál Se(IV)**

*Selen byl stanovován metodou UV-PVG/QF-AAS s využitím fotochemického činidla kyseliny mravenčí a UV-fotoreaktoru Teflon II;  $c_{\text{Se(IV)}} = 5,0 \mu\text{g l}^{-1}$ ;  $l_{\text{cívka}} = 3,5 \text{ m}$ ;  $c_{\text{HCOOH}} = 0,5 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 13 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$*

Pro vzorky s přidavkem kyseliny dusičné byly znovu optimalizovány základní experimentální parametry UV-PVG selenu. Optimalizace byly provedeny pro všechny čtyři typy UV-fotoreaktorů, s fotochemickým činidlem kyselinou mravenčí. Z úsporných důvodů jednotlivé naměřené závislosti v disertační práci popisovány nejsou. Navíc byl jejich průběh velmi podobný, jako v případě UV-PVG bez přidavku kyseliny dusičné. Na

stejných hodnotách většinou zůstala i optima testovaných parametrů. Rozdíl byl pozorován pouze u průtokové rychlosti nosného plynu, kdy byly pro všechny UV-fotoreaktory optimálně zapotřebí o něco nižší průtoky než při generování bez kyseliny dusičné. Také nárůst analytického signálu (náběhová hrana) byl pozvolnější, pokud bylo generování realizováno s kyselinou dusičnou ve vzorcích. To může opět svědčit o vzniku různých reakčních produktů. U některých UV-fotoreaktorů byly drobné změny také v optimálních průtokových rychlostech vodíku.

Pokračující pokusy s kyselinou dusičnou byly prováděny s cílem prozkoumat, jak budou v důsledku přidavku této kyseliny ovlivněny základní analytické charakteristiky stanovení selenu metodou UV-PVG/QF-AAS či jak bude ovlivněna odolnost vůči potenciálním interferentům. Další záměr spočíval v objasnění vlivu této kyseliny na celkovou účinnost UV-PVG selenu.

*Poznámka:* Na kyselinu dusičnou bylo při vývoji metody nahlíženo jako na činidlo zvyšující analytický signál selenu při jeho stanovení metodou UV-PVG/QF-AAS. Na druhou stranu je dobré si uvědomit, že vzhledem k omezené odolnosti metody vůči této kyselině by při rutinních analýzách některých praktických vzorků její přítomnost mohla být spíše překážkou a významným interferentem. Není třeba připomínat, že je kyselina dusičná o relativně vysoké koncentraci často využívána ke stabilizaci či úpravám vzorků před analýzou apod.

#### • Peroxid vodíku

V dalším experimentu byl studován vliv přidavku peroxidu vodíku na dosažené absorbance. Jak totiž bylo publikováno<sup>4</sup>, i jeho přídavek může v určitém koncentračním rozmezí významnou měrou přispět k nárůstu analytického signálu při UV-PVG s kyselinou mravenčí. Nárůst absorbance vlivem přidaného peroxidu vodíku byl potvrzen. Maximální, téměř konstantní, signály byly dosaženy při přidavku 20,0 – 100,0 mmol l<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> do analyzovaných vzorků; při 200,0 mmol l<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> byl signál nulový. Nárůst absorbancí však nebyl tak výrazný, jako u kyseliny dusičné. Při optimálních koncentracích obou činidel byly pro peroxid vodíku zaznamenány o 40 % nižší signály. S peroxidem vodíku již dále nebylo pracováno.

#### 4.3.1.8 Doplnující experimenty

Výstupem doplňujících experimentů nebyla optimální hodnota určitého parametru. Cílem bylo vysledovat, jakou roli sehrává při UV-PVG selenu **teplota**. Konkrétně bylo zjišťováno, zda a jak se s časem mění analytický signál selenu v důsledku přirozeného zahřívání rtuťové UV-výbojky během jejího používání. Prakticky byla opakovaně v rozmezí šesti hodin zaznamenávána odezva detektoru na stále stejný vzorek ( $10,0 \mu\text{g l}^{-1}$  Se(IV) v  $0,5 \text{ mol l}^{-1}$  HCOOH). První měření s Teflonem II, bylo provedeno deset minut po zapnutí UV-výbojky, ostatní následovala vždy po jedné hodině. Naměřené absorbance byly po celou dobu poměrně stálé, kolísání se pohybovalo v rozmezí  $\pm 8 \%$  od výchozí hodnoty. Navíc nebyl pozorován jasně rostoucí/klesající trend. Prakticky to znamenalo, že vliv byl zanedbatelný a nebylo nutné striktně udržovat teplotu UV-fotoreaktoru např. za využití chladicího systému, který byl použit některými autory<sup>74,86,120</sup>.

V dalším pokusu byl zkoušen vliv různé teploty vzorku ( $10,0 \mu\text{g l}^{-1}$  Se(IV) v  $0,5 \text{ mol l}^{-1}$  HCOOH) při jeho čerpání do aparatury na analytický signál. Vzorek připravený ve větším množství byl rozdělen na sedm částí. Jedna jeho část byla zchlazena na teplotu  $10 \text{ }^\circ\text{C}$ , další alikvoty byly postupně zahřívány na teplotu  $30 - 70 \text{ }^\circ\text{C}$  s krokem  $10 \text{ }^\circ\text{C}$ . Poslední část vzorku nebyla tepelně upravována, ponechána byla teplota daná okolní teplotou laboratoře (přibližně  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ ). Vzorky byly měřeny postupně od těch s nejnižší teplotou. Vzorek laboratorní teploty byl měřen po každé analýze vzorku o jiné, než právě laboratorní teplotě. Výsledky pokusu byly následující: Pro chlazený vzorek a vzorek laboratorní teploty byly opakovaně změřeny přibližně stejné absorbance ( $\pm 6 \%$ ). S rostoucí teplotou se signál postupně zvyšoval, pro vzorek o teplotě  $70 \text{ }^\circ\text{C}$  byla intenzita signálu zvýšena průměrně zhruba o  $20 \%$  oproti vzorku laboratorní teploty. Platilo také, že signál nezahříváného vzorku zůstával téměř na stejné hodnotě, ať byla jeho analýza provedena v kterékoliv fázi celého pokusu; to znamená, ať byl měřen po vzorku o teplotě  $10 \text{ }^\circ\text{C}$  nebo třeba  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ . Dosažené výsledky tedy ukázaly, že má teplota analyzovaného vzorku jistý vliv na proces UV-PVG; na rozdíl od prvního pokusu, kdy se pravděpodobně z důvodu krátkého setrvání v reakční cívce vzorek nestačil od UV-výbojky ohřát. S rostoucí teplotou mohlo docházet k rychlejšímu uvolňování těkavých sloučenin či ke zvýšení transportní účinnosti v důsledku změny kinetiky. Pro další experimenty z praktického hlediska nebylo uvažováno o možném zahřívání reakční

směsi před analýzou. Mimo jiné z důvodu možného zkrácení životnosti některých součástí aparatury (čerpacích hadiček, spojovacího materiálu apod.).

#### 4.3.1.9 Souhrnné tabulky - optimalizace

Pro přehlednost jsou ve dvou tabulkách shrnuty optimální hodnoty základních studovaných parametrů. V **Tabulce 4.1** jsou zrekapitulovány hodnoty příslušející UV-PVG s fotochemickým činidlem kyselinou mravenčí. Hodnoty se vztahují k pokusům se všemi čtyřmi UV-fotoreaktory. U některých parametrů jsou uvedeny dvě optimální hodnoty (před/za lomítkem). Případné hodnoty za lomítkem se vztahují k případům, kdy byly těkavé sloučeniny selenu generovány s využitím kyseliny dusičné. Obsah **Tabulky 4.2** odpovídá UV-PVG s kyselinou octovou. Tato optimalizace byla provedena jen s Teflonem II.

**Tabulka 4.1** Optimální pracovní podmínky pro stanovení selenu metodou UV-PVG/QF-AAS s kyselinou mravenčí jako fotochemickým činidlem<sup>a</sup>

Typ UV-fotoreaktoru	Teflon I	Teflon II	Křemen I	Křemen II
Vnitřní/vnější průměr r. cívky (mm)	1,0/2,0	1,0/1,4	2,0/4,0	0,5/2,0
Délka reakční cívky (m)	1,5	3,5	2,8	4,5
Koncentrace HCOOH (mol l <sup>-1</sup> )	0,7	0,5	0,7	0,7
Průtoková rychlost argonu (ml min <sup>-1</sup> )	12/9	13/11	16/12	7/5
Průtoková rychlost vodíku (ml min <sup>-1</sup> )	2,0/3,0	2,0	3,0/4,0	2,0
Průtoková rychlost vzorku (ml min <sup>-1</sup> )	4,5	4,5	4,5	3,0
Koncentrace HNO <sub>3</sub> (mmol l <sup>-1</sup> )	10,0	5,0	5,0	5,0

<sup>a</sup> Hodnoty před/za lomítkem odpovídají stanovení selenu bez/s přidavkem HNO<sub>3</sub> do analyzovaných vzorků; kde není lomítko uvedeno, byly hodnoty stejné jako při generování pouze s HCOOH



**Tabulka 4.2** Optimální pracovní podmínky pro stanovení selenu metodou UV-PVG/QF-AAS s kyselinou octovou jako fotochemickým činidlem

Typ UV-fotoreaktoru	Teflon II
Vnitřní/vnější průměr reakční cívky (mm)	1,0/1,4
Délka reakční cívky (m)	13,0
Koncentrace CH <sub>3</sub> COOH (mol l <sup>-1</sup> )	0,9
Průtoková rychlost argonu (ml min <sup>-1</sup> )	26
Průtoková rychlost vodíku (ml min <sup>-1</sup> )	2,0
Průtoková rychlost vzorku (ml min <sup>-1</sup> )	3,0

### 4.3.2 Chemické generování těkavých sloučenin selenu

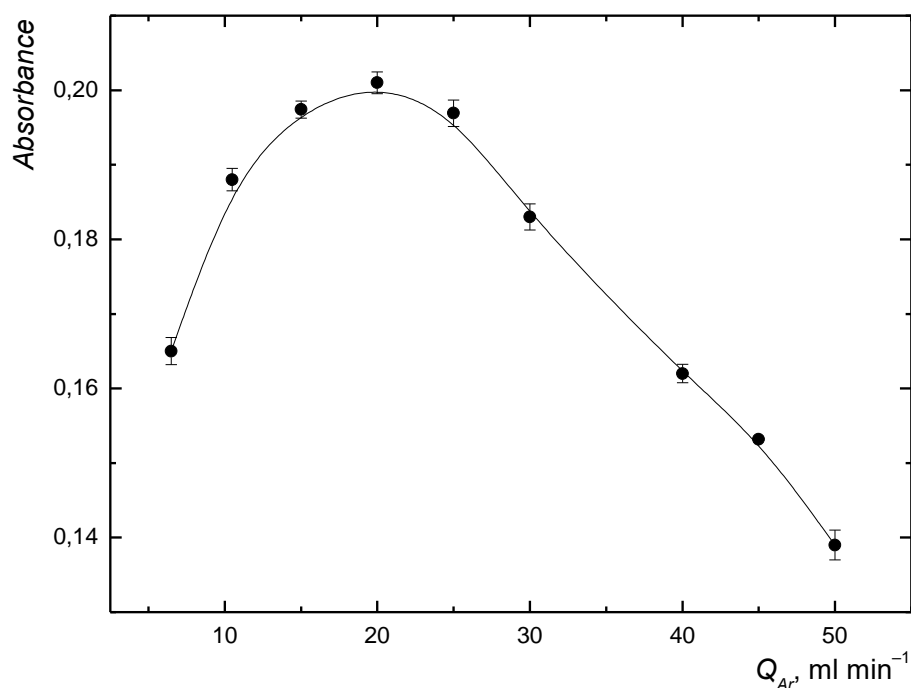
Samostatná optimalizace byla provedena pro srovnávací metodu CVG/QF-AAS, základní výsledky jsou shrnuty níže. Opět bylo pracováno v režimu kontinuální průtokové analýzy, koncentrace standardu Se(IV) činila 5,0 µg l<sup>-1</sup>. Stejně jako při UV-PVG byla nejprve provedena předběžná optimalizační studie.

#### 4.3.2.1 Průtoková rychlost nosného plynu

Jako nosný plyn byl znovu využit argon. Zaváděn byl několik centimetrů za spoj, v němž se mísil okyselený vzorek s redukčním činidlem. Zkoušena byla také varianta, kdy byly zaměněny pozice zavádění redukčního činidla a nosného plynu, avšak lepších výsledků (vyšší absorbance) bylo dosahováno s prvním navrženým uspořádáním. Jak ukazuje **Obr. 4.12**, optimální průtoková rychlost činila 20 ml min<sup>-1</sup>.

Potřeba vyššího průtoku argonu při CVG by mohla mít několik příčin. Souviset by mohla například s rozdílným složením plynné fáze oproti UV-PVG (rozdílné těkavé produkty, různé množství vodíku). Také by mohla nastat situace, že by se vzhledem k bouřlivějšímu průběhu reakce (ve srovnání s UV-PVG) mohlo ze separátoru fází dostávat více nežádoucího aerosolu vodní páry do transportní hadičky směřující do křemenného atomizátoru. Ve výsledku by mohlo dojít k omezenému transportu těkavých sloučenin do atomizátoru, pro jehož kompenzaci by byla potřeba právě vyšší průtoková rychlost argonu.

V návaznosti na průtokovou rychlost nosného plynu může být připomenuto, že na rozdíl od UV-PVG nebylo při chemickém generování nutné optimalizovat průtokovou rychlost vodíku. Dostatečné množství tohoto plynu pro atomizaci v křemenném atomizátoru je uvolňováno rozkladem redukčního činidla a přídatný vodík není zapotřebí. To bylo ověřeno i experimentálně, kdy jakýkoliv přírůstek vodíku ze zásobníku (zkoušeno bylo 0,5 – 10,0 ml min<sup>-1</sup> vodíku) nevedl k vylepšení analytického signálu selenu. Naopak, signál s rostoucím přísunem vodíku postupně klesal.



**Obr. 4.12** Vliv průtokové rychlosti argonu na analytický signál Se(IV)

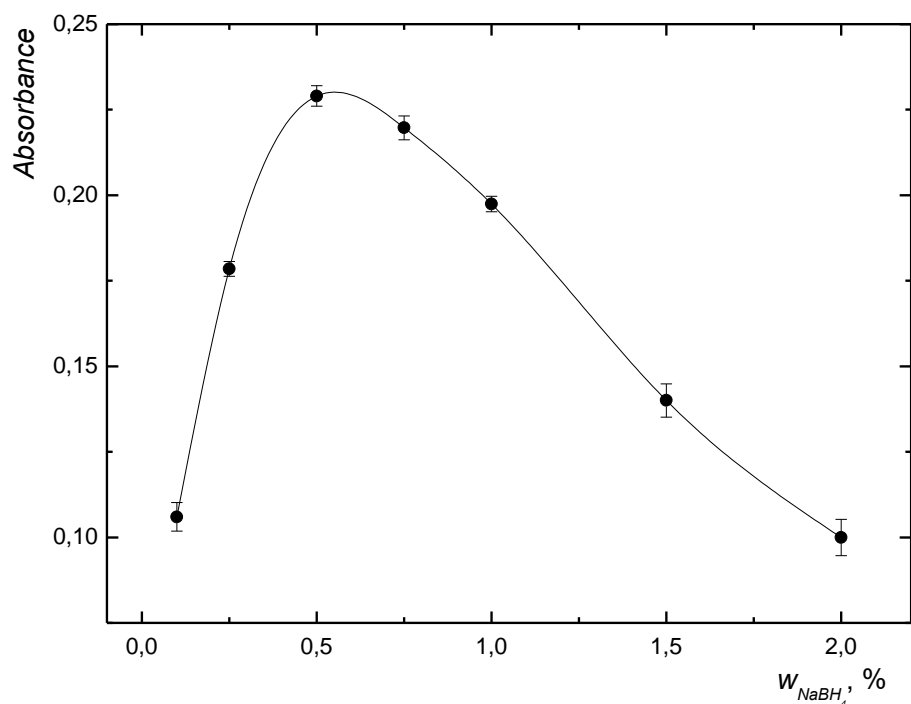
*Selen byl stanovován metodou CVG/QF-AAS;  $c_{Se(IV)} = 5,0 \mu\text{g l}^{-1}$*

*$w_{NaBH_4} = 0,5 \%$ ;  $Q_{NaBH_4} = 0,7 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $c_{HCl} = 1,0 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{vz} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$*

#### 4.3.2.2 Koncentrace a průtoková rychlost redukčního činidla

Místo koncentrace fotochemického činidla byla při CVG optimalizována koncentrace redukčního činidla tetrahydridboritanu sodného, který byl z důvodu stabilizace připravován v 0,4% NaOH (hmotnostní %). Získaná závislost na **Obr. 4.13** ukazuje, že nejvyšší analytické signály byly získány při generování s 0,5% NaBH<sub>4</sub>

(hmotnostní %); tato koncentrace byla použita jako optimální pro další měření. Pokud se koncentrace činidla pohybovala mimo rozmezí 0,5 – 1,0% NaBH<sub>4</sub>, signál počal významněji klesat.

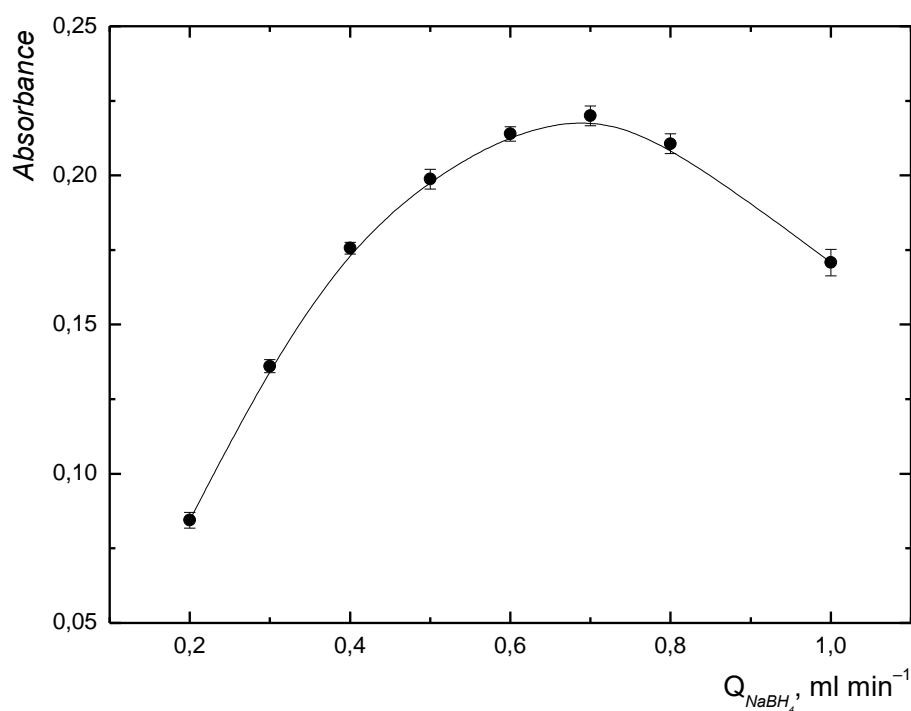


**Obr. 4.13** Vliv koncentrace redukčního činidla tetrahydridoboritanu sodného na analytický signál Se(IV)

*Selen byl stanovován metodou CVG/QF-AAS;  $c_{\text{Se(IV)}} = 5,0 \mu\text{g l}^{-1}$*

*$Q_{\text{NaBH}_4} = 0,7 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $c_{\text{HCl}} = 1,0 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 20 \text{ ml min}^{-1}$*

V dalším kroku bylo nutné optimalizovat průtokovou rychlost redukčního činidla, které bylo do aparatury přiváděno samostatným kanálem. Jak demonstruje **Obr. 4.14**, s rostoucím průtokem redukčního činidla signál lineárně rostl až do průtokové rychlosti 0,6 ml min<sup>-1</sup>. Maximální analytický signál byl pozorován při průtoku 0,7 ml min<sup>-1</sup> NaBH<sub>4</sub> (vybráno jako optimum), další zvyšování průtoku již vedlo k poklesu analytického signálu.



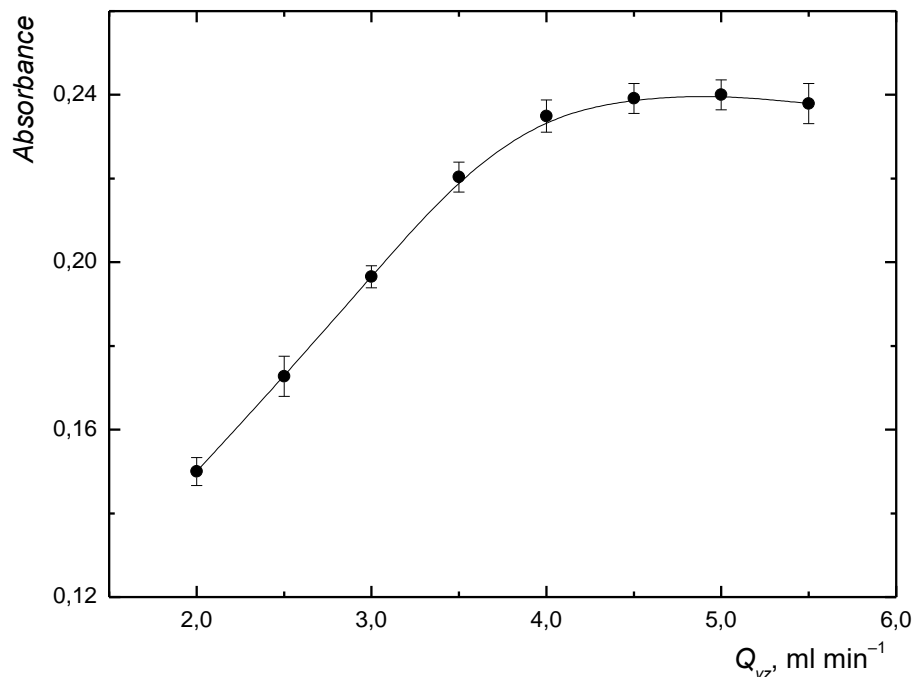
**Obr. 4.14** Vliv průtokové rychlosti redukčního činidla tetrahydridoboritanu sodného na analytický signál Se(IV)

*Selen byl stanovován metodou CVG/QF-AAS;  $c_{Se(IV)} = 5,0 \mu\text{g l}^{-1}$*

*$w_{NaBH_4} = 0,5 \%$ ;  $c_{HCl} = 1,0 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{vz} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 20 \text{ ml min}^{-1}$*

#### 4.3.2.3 Koncentrace kyseliny chlorovodíkové, průtoková rychlost vzorku

Chemické generování hydridů selenu probíhá v kyselém prostředí, pro potřeby této práce byla zvolena kyselina chlorovodíková mísená s analytem před vlastní analýzou. V celém proměřovaném rozsahu koncentrací mezi  $0,25 - 6,0 \text{ mol l}^{-1}$  byl naměřený signál selenu stálý, pro následnou analýzu byla zvolena  $1,0 \text{ mol l}^{-1}$  HCl. Kyselina chlorovodíková, a tedy i vzorek, byl do aparatury čerpán průtokovou rychlostí  $4,5 \text{ ml min}^{-1}$ , stejně jako při UV-PVG s většinou z testovaných UV-fotoreaktorů. Naměřená závislost zobrazující vliv průtokové rychlosti vzorku na analytický signál v ustáleném stavu je ukázána na **Obr. 4.15**.



**Obr. 4.15 Vliv průtokové rychlosti vzorku na analytický signál Se(IV)**

*Selen byl stanovován metodou CVG/QF-AAS;  $c_{Se(IV)} = 5,0 \mu\text{g l}^{-1}$*

*$w_{NaBH_4} = 0,5 \%$ ;  $Q_{NaBH_4} = 0,7 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $c_{HCl} = 1,0 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 20 \text{ ml min}^{-1}$*

#### 4.3.2.4 Délka reakční cívky

Posledním optimalizovaným parametrem byla délka reakční cívky (Teflon II). Ukázalo se, že na rozdíl od UV-PVG, nemá tento parametr při chemickém generování těkavých sloučenin významný vliv na dosahované signály. Téměř neměnná intenzita byla pozorována v celém rozsahu testovaných délek mezi 20 – 150 cm. Pro další měření bylo pracováno s doposud upřednostňovanou délkou reakční cívky 80 cm.

#### 4.3.2.5 Souhrnná tabulka - optimalizace

V **Tabulce 4.3** jsou shrnuty podmínky pro CVG s tetrahydridoboritanem sodným, které byly vybrány jako optimální pro následné experimenty.

**Tabulka 4.3** Optimální pracovní podmínky pro stanovení selenu metodou CVG/QF-AAS

Parametr	Hodnota
Délka reakční cívky (m)	0,8
Koncentrace NaBH <sub>4</sub> (hmot. %)	0,5
Průtoková rychlost NaBH <sub>4</sub> (ml min <sup>-1</sup> )	0,7
Koncentrace HCl (mol l <sup>-1</sup> )	1,0
Průtoková rychlost vzorku (ml min <sup>-1</sup> )	4,5
Průtoková rychlost argonu (ml min <sup>-1</sup> )	20

## 4.4 Základní analytické charakteristiky

---

- *Podkapitola shrnuje především informace z článku, který má v seznamu příloh číslo: 2*
  - *Název článku:* UV-photochemical vapor generation of selenium for atomic absorption spectrometry: optimization and <sup>75</sup>Se radiotracer efficiency study
  - *Název časopisu:* Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy
- 

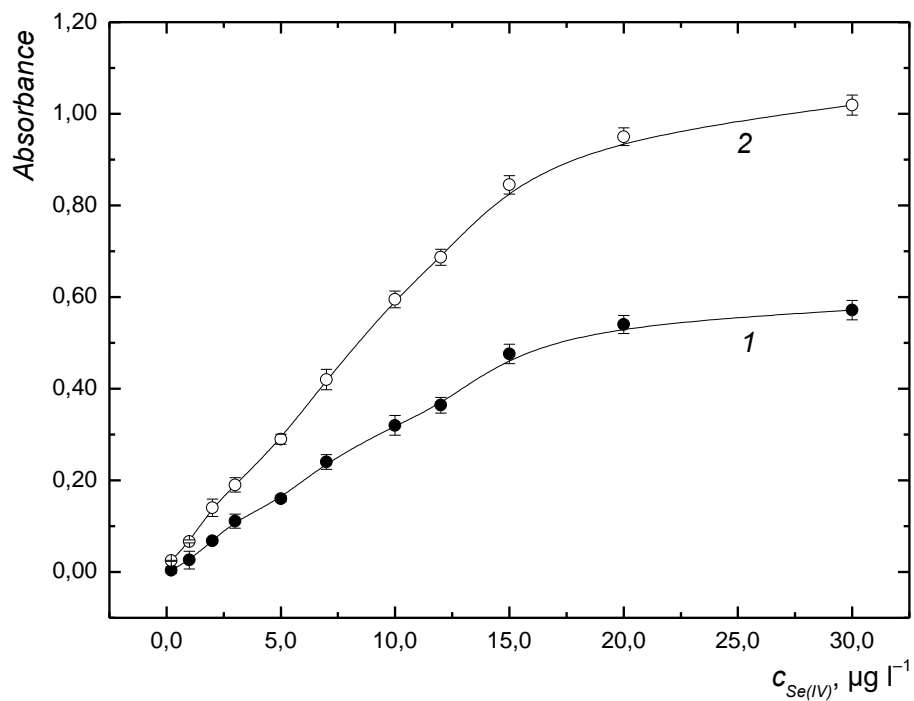
### 4.4.1 UV-fotochemické generování těkavých sloučenin selenu

Za optimálních pracovních podmínek (**Tabulka 4.1** a **Tabulka 4.2**) byla provedena kalibrace. Pokud byla jako fotochemické činidlo využita kyselina mravenčí, proměřovány byly roztoky bez/s přidavkem kyseliny dusičné a měření byla provedena pro všechny čtyři typy UV-fotoreaktorů (Teflon I, II a Křemen I, II). Pokud bylo pracováno s kyselinou octovou, kyselina dusičná do žádných kalibračních roztoků přidávána nebyla a měření byla provedena pouze s Teflonem II.

- **Kyselina mravenčí jako fotochemické činidlo**

Z naměřených absorbancí v ustáleném stavu byly sestrojeny kalibrační křivky, které byly ve všech studovaných případech lineární do koncentrace 15,0 µg l<sup>-1</sup> Se(IV); při vyšších koncentracích se křivky ohýbaly směrem k ose x. To mohlo souviset se snižující se účinností UV-PVG v důsledku nedostatečného UV-ozařování kalibračních roztoků o vyšší koncentraci Se(IV). Další možné vysvětlení odklonu od linearit by se mohlo odvíjet od předpokladu, že s rostoucí koncentrací Se(IV) v analyzovaných roztocích může docházet se zvýšenou pravděpodobností k vzájemným reakcím volných atomů selenu v zevně vyhřívaném křemenném atomizátoru. Jinak vyjádřeno, vznikají odchylky od přímé úměry mezi množstvím analytu přiváděného do UV-fotoreaktoru a mezi množstvím volných atomů analytu přítomných v obláčku vodíkových radikálů, ve kterém probíhá atomizace<sup>1</sup>.

Z důvodu velkého množství získaných kalibračních křivek (křivky pro všechny typy UV-fotoreaktorů, bez/s kyselinou dusičnou ve vzorcích) je na **Obr. 4.16** pro ukázkou znázorněna kalibrační závislost v celém proměřovaném koncentračním rozmezí Se(IV) pouze pro Teflon II. Jedna křivka odpovídá UV-PVG bez kyseliny dusičné, druhá se vztahuje k experimentům s touto kyselinou. V dalším grafu (**Obr. 4.17**) jsou ukázány pouze lineární části obou kalibračních křivek.

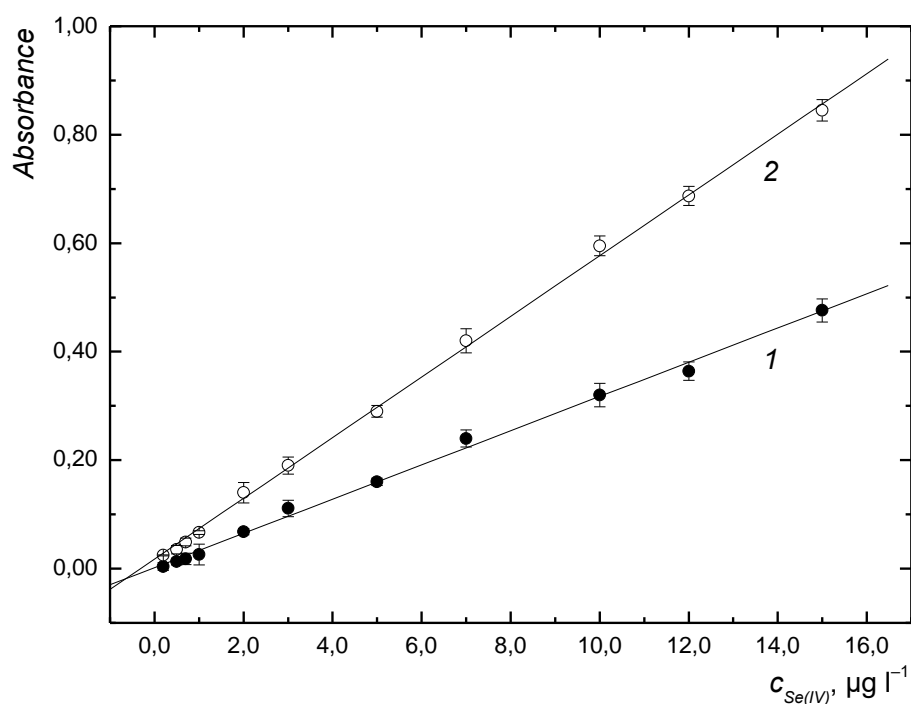


**Obr. 4.16 Kalibrační závislosti – stanovení selenu metodou UV-PVG/QF-AAS s fotochemickým činidlem kyselinou mravenčí**

*Pracováno bylo s UV-fotoreaktorem Teflon II; měření byla prováděna pouze v přítomnosti  $0,5 \text{ mol l}^{-1} \text{HCOOH}$  (1) nebo byla do kalibračních roztoků navíc přidána  $5,0 \text{ mmol l}^{-1} \text{HNO}_3$  (2)*

*$l_{\text{cívka}} = 3,5 \text{ m}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 13 \text{ ml min}^{-1}$  (1) nebo  $Q_{\text{Ar}} = 11 \text{ ml min}^{-1}$  (2)*





**Obr. 4.17** Lineární části kalibračních závislostí – stanovení selenu metodou UV-PVG/QF-AAS s fotochemickým činidlem kyselinou mravenčí

Pracováno bylo s UV-fotoreaktorem Teflon II; měření byla prováděna pouze v přítomnosti  $0,5 \text{ mol l}^{-1} \text{HCOOH}$  (1) nebo byla do kalibračních roztoků navíc přidána  $5,0 \text{ mmol l}^{-1} \text{HNO}_3$  (2);

$l_{cívka} = 3,5 \text{ m}$ ;  $Q_{vz} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{H_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 13 \text{ ml min}^{-1}$  (1) nebo  $Q_{Ar} = 11 \text{ ml min}^{-1}$  (2)

Základní analytické charakteristiky stanovení selenu kombinovanou metodou UV-PVG/QF-AAS určené z regresních rovnic kalibračních závislostí sestrojených v oboru nízkých koncentrací analytu jsou uvedeny v **Tabulce 4.4**. V tabulce jsou opět shrnuty charakteristiky dosažené pro všechny testované UV-fotoreaktory, bez/s přidavkem kyseliny dusičné do analyzovaných kalibračních roztoků. Dle očekávání byly pro všechny typy UV-fotoreaktorů nižší meze detekce dosaženy tehdy, pokud byla při generování využívána kyselina dusičná; hodnoty byly přibližně 1,5 – 3krát nižší oproti stavu bez přidavku této kyseliny. Pro vzorky bez kyseliny dusičné se meze detekce pro

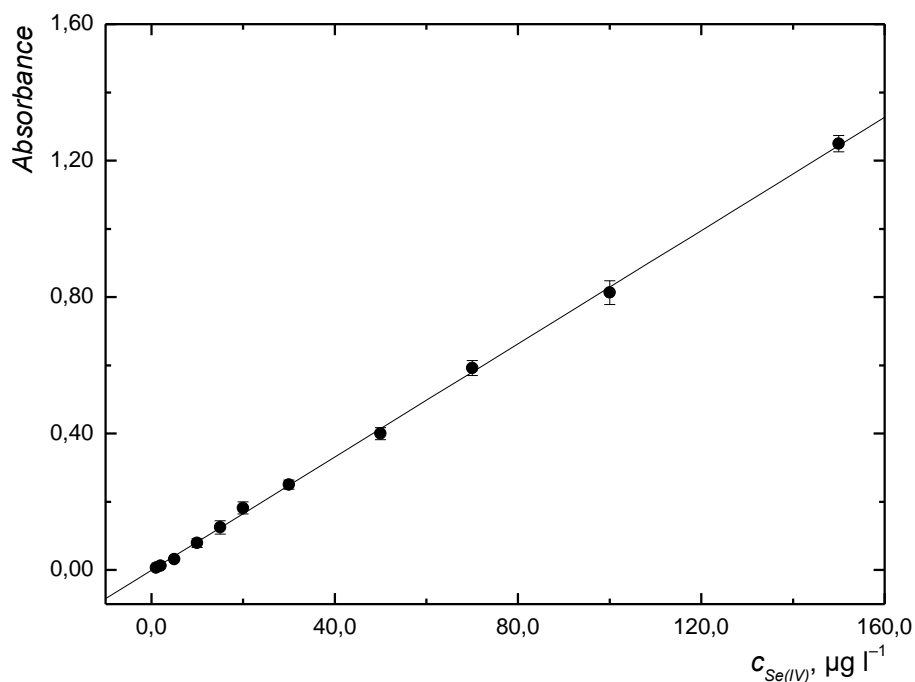
Se(IV) pohybovaly v rozmezí 46 – 102 ng l<sup>-1</sup>, přídavek této kyseliny vedl ke snížení hodnot na 27 – 44 ng l<sup>-1</sup>. Také citlivosti byly lepší, pokud byly analyzovány kalibrační roztoky s přidanou kyselinou dusičnou. Opakovatelnost byla celkově na dobré úrovni, v žádném z uvedených případů nepřesáhla 2,4 % (měřeno pro 5,0 µg l<sup>-1</sup> Se(IV)). Nejnižší hodnoty meze detekce/meze stanovitelnosti a nejvyšší citlivosti (bez i s přidavkem kyseliny dusičné) byly získány pro Teflon II.

**Tabulka 4.4** Základní analytické charakteristiky dosažené pro selen metodou UV-PVG/QF-AAS s fotochemickým činidlem kyselinou mravenčí

Typ UV-fotoreaktoru	Teflon I		Teflon II		Křemen I		Křemen II	
	Ne	Ano	Ne	Ano	Ne	Ano	Ne	Ano
LOD (ng l <sup>-1</sup> )	102	36	46	27	48	33	81	44
LOQ (ng l <sup>-1</sup> )	341	121	153	89	160	111	271	147
Citlivost (10 <sup>-6</sup> l ng <sup>-1</sup> )	16	43	32	54	30	47	19	35
RSD (%)	0,8	1,6	1,5	1,4	1,1	1,9	2,4	2,2
LDR do (µg l <sup>-1</sup> ) (LOQ – do)	15	15	15	15	15	15	15	15

- **Kyselina octová jako fotochemické činidlo**

Základní analytické charakteristiky byly určovány i v případě, kdy byla jako fotochemické činidlo využita kyselina octová. Výsledky dosažené za optimálních podmínek pro Teflon II jsou shrnuty v **Tabulce 4.5**. Z uvedených hodnot je zřejmé, že mez detekce/mez stanovitelnosti je několikanásobně vyšší oproti UV-PVG s kyselinou mravenčí. Výrazně horší je citlivost vyjádřená jako směrnice kalibrační křivky a o něco horší je i opakovatelnost. Lineární dynamický rozsah byl naopak rozšířen až do 150,0 µg l<sup>-1</sup> Se(IV). Měření byla provedena do koncentrace 500,0 µg l<sup>-1</sup>, na **Obr. 4.18** je ukázána pouze lineární část kalibrační křivky.



**Obr. 4.18** Lineární část kalibrační závislosti – stanovení selenu metodou UV-PVG/QF-AAS s fotochemickým čidlem kyselinou octovou

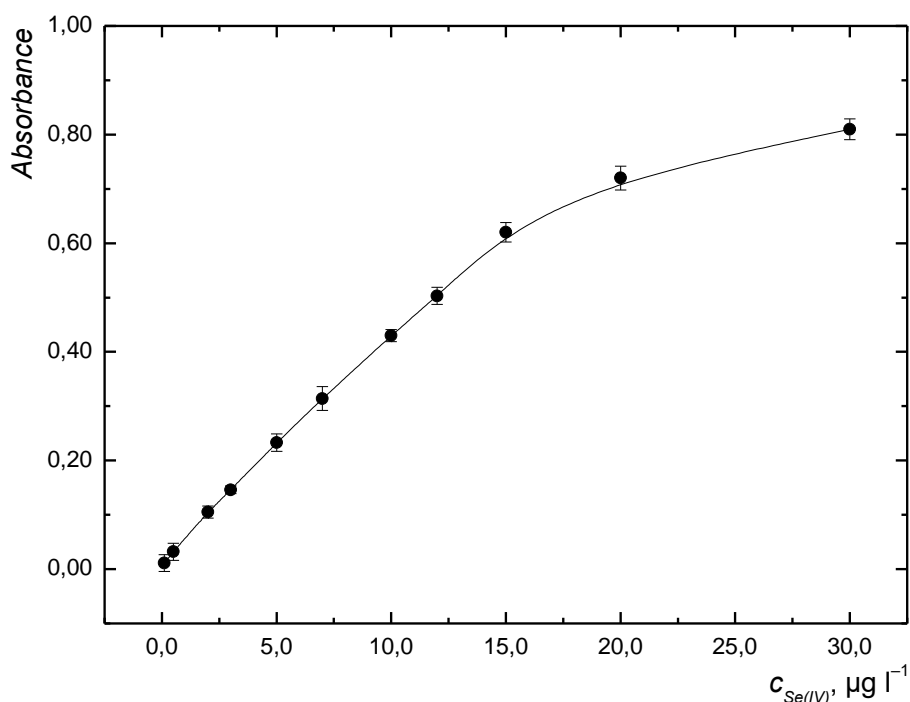
Pracováno bylo s UV-fotoreaktorem Teflon II;  $l_{\text{cívka}} = 13,0 \text{ m}$ ;  $c_{\text{CH}_3\text{COOH}} = 0,9 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 2,8 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 25 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{H}_2} = 2,0 \text{ ml min}^{-1}$

**Tabulka 4.5** Základní analytické charakteristiky dosažené pro selen metodou UV-PVG/QF-AAS s fotochemickým čidlem kyselinou octovou a UV-fotoreaktorem Teflon II

Parametr	Hodnota
LOD ( $\text{ng l}^{-1}$ )	237
LOQ ( $\text{ng l}^{-1}$ )	790
Citlivost ( $10^{-6} \text{ l ng}^{-1}$ )	8
RSD (%)	2,8
LDR do ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) (LOQ – do)	150

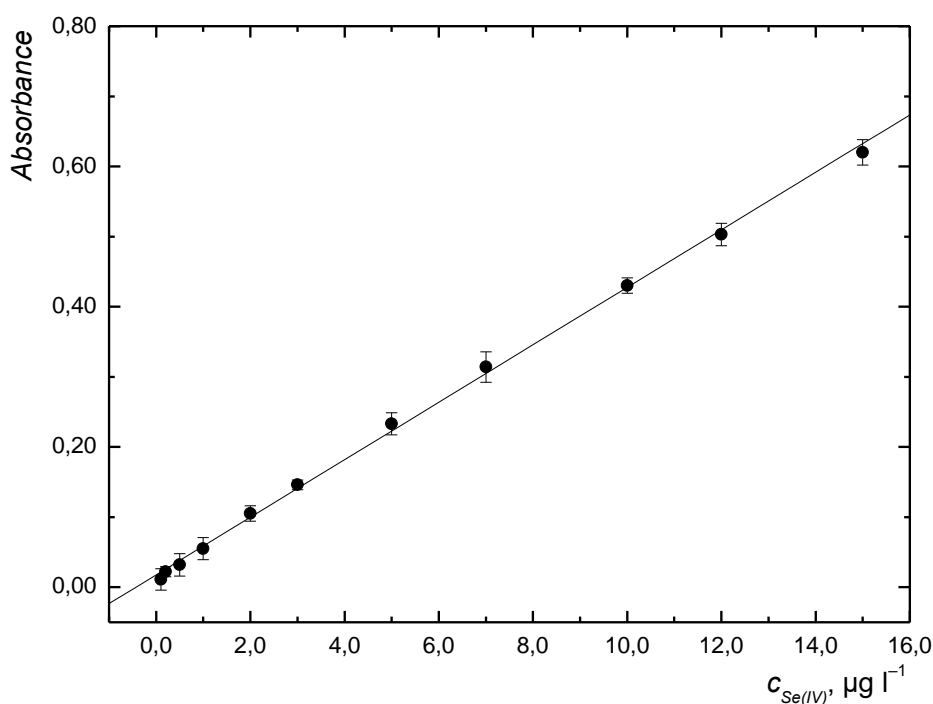
#### 4.4.2 Chemické generování těkavých sloučenin selenu

Podobně jako v případě UV-PVG byla za optimálních experimentálních podmínek (**Tabulka 4.3**) proměřena kalibrační závislost a určeny základní analytické charakteristiky stanovení selenu kombinovanou metodou CVG/QF-AAS. Celá kalibrační křivka je ukázána na **Obr. 4.19**, v dalším grafu (**Obr. 4.20**) je pouze její lineární část; lineární dynamický rozsah byl stejně jako při UV-PVG do  $15,0 \mu\text{g l}^{-1} \text{Se(IV)}$ .



**Obr. 4.19** Kalibrační závislost – stanovení selenu metodou CVG/QF-AAS

$w_{\text{NaBH}_4} = 0,5 \%$ ;  $Q_{\text{NaBH}_4} = 0,7 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $c_{\text{HCl}} = 1,0 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 20 \text{ ml min}^{-1}$



**Obr. 4.20** Lineární část kalibrační závislosti – stanovení selenu metodou CVG/QF-AAS

$w_{\text{NaBH}_4} = 0,5 \%$ ;  $Q_{\text{NaBH}_4} = 0,7 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $c_{\text{HCl}} = 1,0 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 20 \text{ ml min}^{-1}$

Dosažené analytické charakteristiky jsou shrnuty v samostatné **Tabulce 4.6**. Hodnoty jsou srovnatelné s těmi, které byly získány při UV-PVG/QF-AAS s kyselinou mravenčí a lepší než při experimentech s kyselinou octovou. Opět stojí za vyzdvižení velmi dobrá opakovatelnost 1,5 % (měřeno pro  $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$  Se(IV)).

Při chemickém generování s  $\text{NaBH}_4$  byly pozorovány o něco vyšší odezvy na slepý pokus, což pravděpodobně souvisí s omezenou čistotou redukčního činidla. Ve výsledku se zvýšené absorbance změřené pro slepý pokus projevily na dosažených mezích detekce a stanovitelnosti. Platilo totiž, že ačkoliv byla citlivost CVG oproti UV-PVG s některými typy UV-fotoreaktorů vyšší, a daly by se tedy očekávat lepší LOD/LOQ, prakticky tomu tak nebylo.

**Tabulka 4.6** Základní analytické charakteristiky dosažené pro selen metodou CVG/QF-AAS

Parametr	Hodnota
LOD ( $\text{ng l}^{-1}$ )	50
LOQ ( $\text{ng l}^{-1}$ )	165
Citlivost ( $10^{-6} \text{ l ng}^{-1}$ )	41
RSD (%)	1,5
LDR ( $\mu\text{g l}^{-1}$ ) (LOQ – do)	15

## 4.5 Analýza certifikovaného referenčního materiálu

Za účelem ověření správnosti navržené metody UV-PVG/QF-AAS byla provedena analýza certifikovaného referenčního materiálu (SRM NIST 1643e;  $11,97 \pm 0,14 \mu\text{g l}^{-1}$  selenu). Konkrétní forma selenu nebyla v doprovodném certifikátu uvedena, s ohledem na zjištění některých autorů bylo předpokládáno, že se jedná o Se(IV)<sup>79,80</sup>. SRM simuloval základní složení sladké vody („Trace elements in fresh water“). Kromě selenu v něm bylo obsaženo dalších dvacet osm prvků různých koncentrací, z důvodu stabilizace byl materiál připraven v  $0,8 \text{ mol l}^{-1} \text{ HNO}_3$ .

Vysoká koncentrace kyseliny dusičné byla pro zamýšlenou analýzu nežádoucí. Pro připomenutí, při stanovení selenu metodou UV-PVG/QF-AAS již přítomnost  $20,0 \text{ mmol l}^{-1} \text{ HNO}_3$  (viz. **4.3.1.7 Vliv přídavku kyseliny dusičné a dalších činidel**) ve vzorcích vedla k výraznému potlačení analytického signálu. K eliminaci vlivu kyseliny dusičné byl SRM odpařen téměř do sucha. Odparek byl následně naředěn deionizovanou vodou na původní objem vzorku (před odpařováním). Před měřením bylo přidáno příslušné množství koncentrované kyseliny mravenčí tak, aby výsledný roztok pro analýzu obsahoval  $0,5 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCOOH}$ . Standardní referenční materiál byl analyzován za optimálních experimentálních podmínek pro UV-PVG/QF-AAS s Teflonem II. Jak ukazují hodnoty v **Tabulce 4.7**, dosaženo bylo dobré shody mezi certifikovanou a experimentálně zjištěnou hodnotou. Potvrdilo se tedy, že metoda UV-PVG/QF-AAS poskytuje správné výsledky a uplatnění by mohla nalézt (díky velmi nízké mezi detekce) třeba právě pro analýzu vzorků vod.

V předchozím experimentu byla před analýzou ze SRM odpařena kyselina dusičná. Na druhou stranu bylo při optimalizační studii zjištěno, určité množství kyseliny dusičné ve vzorku může být pro stanovení selenu metodou UV-PVG/QF-AAS výhodné. Aby byla ověřena správnost stanovení selenu i v případě UV-PVG s optimálním přídavkem kyseliny dusičné do vzorku, proveden byl další pokus. Prakticky byl SRM stejně jako v prvním případě odpařen, k odparku bylo přidáno příslušné množství deionizované vody a kyseliny mravenčí. Navíc byla tentokrát přidána i kyselina dusičná. Protože bylo pracováno s Teflonem II, přidáno bylo takové množství kyseliny, aby roztok pro analýzu obsahoval  $5,0 \text{ mmol l}^{-1} \text{ HNO}_3$  (optimální koncentrace). Jak je zřejmé z hodnot v **Tabulce 4.7**, i v tomto případě byla zjištěná hodnota v přijatelné shodě s tou certifikovanou.

**Tabulka 4.7** Analýza standardního referenčního materiálu metodou UV-PVG/QF-AAS

SRM NIST 1643e	Obsah selenu v SRM ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )
Certifikováno	$11,97 \pm 0,14$
Zjištěno (analýza bez $\text{HNO}_3$ )	$11,42 \pm 0,40$
Zjištěno (analýza s $\text{HNO}_3$ )	$11,33 \pm 0,44$



## 4.6 Účinnost generování těkavých sloučenin selenu

---

- *Podkapitola shrnuje především informace z článku, který má v seznamu příloh číslo: 2*
  - *Název článku:* UV-photochemical vapor generation of selenium for atomic absorption spectrometry: optimization and <sup>75</sup>Se radiotracer efficiency study
  - *Název časopisu:* Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy
- 

Pro hrubý odhad účinnosti UV-fotochemického generování těkavých sloučenin selenu byl zvolen jednoduchý a často používaný způsob založený na porovnání citlivostí stanovení selenu metodami UV-PVG/QF-AAS a CVG/QF-AAS (CVG jako referenční metoda). Jako objektivnější způsob kvantifikace účinnosti (UV-PVG i CVG) byla v dalším kroku provedena série experimentů s radioaktivním indikátorem selenu. V případě UV-PVG bylo pracováno se všemi optimalizovanými UV-fotoreaktory, jako fotochemické činidlo byla využívána kyselina mravenčí. Pokusy s radioindikátorem byly prováděny v úzké spolupráci s Laboratoří stopové prvkové analýzy Ústavu analytické chemie AV ČR, v.v.i. (RNDr. Stanislav Musil, Ph.D.). Pokud je nám dobře známo, žádný z autorů zatím k problematice zjišťování účinnosti UV-PVG nepřístupoval obdobným způsobem. Alespoň pro představu je součástí **Přílohy 2** tabulka („**Table 4**“), ve které jsou uvedeny hodnoty účinností UV-PVG selenu dosažené alternativními přístupy; publikované účinnosti UV-PVG se pohybují v širokém rozmezí přibližně od 10 % do 90 %.

### 4.6.1 Odhad účinnosti na základě porovnání citlivostí

V teoretické části disertační práce (**2.3.5 Účinnost UV-fotochemického generování**) bylo diskutováno, že chemické generování může posloužit jako relativní měřítko účinnosti, protože jeho dílčí účinnosti pro tvorbu, separaci plyn-kapalina a transport těkavé sloučeniny jsou považovány v podstatě za kvantitativní. Pokud však byla citlivost CVG vyjádřena jako směrnice kalibrační křivky pokládána za 100 %, pro UV-PVG selenu byla v několika případech dosažena dokonce vyšší účinnost oproti srovnávací metodě. Z **Tabulky 4.8** je patrné, že se relativní účinnosti vztažené ke srovnávacímu přístupu pro UV-PVG bez kyseliny dusičné pohybovaly mezi 39 – 78 %; vyšších účinností mezi 85 – 131 % bylo dosaženo pro vzorky s optimálním přídatkem

kyseliny dusičné. Srovnání však není zcela relevantní, protože bylo provedeno za optimálních pracovních podmínek pro oba typy generování a nebyla dodržena podmínka stejného látkového množství analytu na vstupu do UV-fotoreaktoru; odlišné byly průtokové rychlosti nosného plynu a u Křemene II i průtoková rychlost vzorku. Stejně nebyly ani podmínky atomizace (různý přísun nosného plynu a vodíku do atomizátoru). Tento způsob zjišťování účinnosti byl brán pouze jako orientační.

**Tabulka 4.8** Účinnost UV-fotochemického generování těkavých sloučenin selenu odhadnutá na základě porovnání s chemickým generováním

*Porovnány byly citlivosti vyjádřené jako směrnice kalibračních křivek*

Způsob generování	UV-fotoreaktor	Citlivost ( $10^{-6} \text{ l } \mu\text{g}^{-1}$ )	Účinnost (%)
<b>Chemické generování</b>	---	<b>41</b>	<b>100</b>
UV-fotochemické generování (bez $\text{HNO}_3$ )	Teflon I	16	39
	Teflon II	32	78
	Křemen I	30	73
	Křemen II	19	46
UV-fotochemické generování (s $\text{HNO}_3$ )	Teflon I	43	105
	Teflon II	54	131
	Křemen I	47	115
	Křemen II	35	85

#### 4.6.2 Experimenty s radioaktivním indikátorem $^{75}\text{Se}$

Jak již bylo několikrát předesláno, všeobecně je přijímáno, že účinnost chemického generování je 100 %. Při experimentech s radioaktivním indikátorem  $^{75}\text{Se}$ , však byly řadou autorů dosaženy podstatně nižší hodnoty. Např. Dočekal a kol.<sup>2,148</sup> zjistil  $78 \pm 2\%$  a  $53 \pm 2\%$  účinnost CVG s použitím komerčně dostupného radioindikátoru. Podobné účinnosti (mezi 61 a 75 %) byly publikovány Hraníčkem a kol.<sup>128</sup> z obohaceného  $^{74}\text{Se}$  terčového materiálu. Naproti tomu Dědina a kol.<sup>149</sup> dosáhl s využitím komerčního  $^{75}\text{Se}$  radioaktivního indikátoru účinnost okolo 95 %. Nekonzistentní výsledky mohou souviset s odlišnými přístupy k přípravě indikátoru či k jejich

uchování<sup>150</sup>. Navíc bylo zjištěno, že <sup>75</sup>Se(IV) uchovávaný v kyselině chlorovodíkové (běžný postup) může být poměrně rychle oxidován na hydridově neaktivní <sup>75</sup>Se(VI)<sup>151</sup>.

Pro potřeby této práce byl <sup>75</sup>Se radioindikátor připraven aktivací Se(VI) obohaceného o přírodní izotop <sup>74</sup>Se. Na <sup>75</sup>Se(IV) byl redukován reakcí s koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou. Díky vysoké koncentraci selenu a vysoké radioaktivitě byl zásobní roztok dále naředěn a uchováván v 1,0 mol l<sup>-1</sup> HCl; relativně nízká koncentrace kyseliny chlorovodíkové byla volena z důvodu omezené odolnosti UV-PVG selenu vůči této kyselině (viz. **4.9 Interferenční studie**). Jak se prokázalo při dodatečném experimentu založeném na speciaci <sup>75</sup>Se s využitím papírové chromatografie (pokus je popsán v **Příloze 2 – „3.4.2 Speciation of <sup>75</sup>Se radiotracer”**), pouze 89 % <sup>75</sup>Se bylo nalezeno v zóně odpovídající Se(IV), zbytek odpovídal neiontové formě analytu (pravděpodobně Se(0)) a Se(VI). Ukázalo se tedy, že v rámci studie využívaný <sup>75</sup>Se(IV) je částečně přeměňován na specie nevhodné ke generování těkavých sloučenin, a že by nebylo správné považovat účinnost CVG s tímto radioindikátorem za 100%. Z toho důvodu byla nejprve určena maximální dosažitelná účinnost generování těkavých sloučenin.

#### **4.6.2.1 Maximální dosažitelná účinnost generování těkavých sloučenin**

Nejvyšší možná účinnost generování dosažitelná s radioindikátorem použitým v této disertační práci byla určena prostřednictvím chemického generování v dávkovém uspořádání. Generování bylo uskutečněno za léty prověřených pracovních podmínek shrnutých v **Příloze 2 („2.3.3 Batch CVG”)**. Prakticky byly vygenerované těkavé sloučeniny na výstupu z dávkového generátoru zachytávány na kolonkách naplněných aktivním uhlím (sorbent). Po ukončení generování byla měřena aktivita těchto kolonek, která byla vztažena ke vstupní aktivitě (100 %) roztoku před generováním.

V rozmezí několika týdnů byla podle popsaného způsobu opakovaně zjišťována účinnost CVG v dávkovém módu, dosažené hodnoty jsou shrnuty v **Tabulce 4.9**. Dle očekávání se ani v jenom případě účinnost nepřibližovala 100 %. Za účelem ověření, zda se analyt nedetekovaný v plynné fázi (nezachycený na kolonkách) nesorbuje na vnitřním povrchu dávkového generátoru, byla z generátoru vždy po skončení generování důkladně odsáta kapalná fáze a změřena její aktivita. Odhalena byla pouze minimální sorpce (méně než 5 %).

Účinnosti dosažené pro CVG v dávkovém uspořádání byly použity ke korekci hodnot zjištěných při UV-PVG. To znamená, že účinnost UV-PVG vyčíslená na základě frakce radioindikátoru nalezené v plynné fázi (na kolonkách) byla vztažena k hodnotám odpovídajícím CVG v dávkovém uspořádání.

**Tabulka 4.9** Maximální dosažitelná účinnost generování těkavých sloučenin zjištěná při pokusech s radioaktivním indikátorem  $^{75}\text{Se}$

*Hodnoty byly určeny na základě chemického generování v dávkovém uspořádání*

Číslo pokusu	1	2	3	4	5	6
Účinnost (%)	$76,6 \pm 0,9$	$82,4 \pm 0,7$	$80,1 \pm 3,3$	$83,8 \pm 0,8$	$79,0 \pm 0,8$	$83,6 \pm 2,2$

#### 4.6.2.2 Účinnost UV-fotochemického generování těkavých sloučenin

Experimenty s radioindikátorem  $^{75}\text{Se}$  byly provedeny pro všechny typy UV-fotoreaktorů, těkavé sloučeniny byly generovány dle optimálních podmínek shrnutých v **Tabulce 4.1**. Zjišťovány byly frakce analytu (% vstupní aktivity) adsorbované na dvou sériově zapojených kolonkách naplněných aktivním uhlím. Žádná aktivita přitom nebyla zaznamenána na druhé kolonce, což svědčí o dobré sorpční schopnosti aktivního uhlí. Pro získání celkové účinnosti UV-PVG selenu byly frakce analytu na kolonkách vztaženy k maximální dosažitelné účinnosti určené před jednotlivými sériemi experimentů; konkrétně k  $76,6 \pm 0,9$  % (Teflon I, Křemen I, Křemen II) nebo k  $79,0 \pm 0,8$  % (Teflon II). Po ukončení generování byla celá aparatura rozebrána a změřena byla aktivita jednotlivých jejích částí (měřena byla i aktivita kapalného odpadu). Tím bylo možné odhalit potenciální ztráty analytu v jednotlivých částech aparatury a otestovat vhodnost materiálů používaných k její konstrukci (materiál reakční cívky, materiál hadiček sloužících k vedení těkavých sloučenin apod.).

Dosažené výsledky jsou shrnuty v **Tabulce 4.10 A** (hodnoty pro UV-PVG bez kyseliny dusičné) a v **Tabulce 4.10 B** (hodnoty pro UV-PVG s přídáním kyseliny dusičnou). Množství analytu zjištěné v plynné fázi je uvedeno v řádku označeném „Plynná fáze“. Pod daným označením je zahrnuta nejen frakce analytu zjištěná na kolonkách, ale také frakce zjištěná v Tygonových hadičkách spojujících separátor fází s kolonkami. Ve většině případů aktivita této spojovací hadičky nepřesáhla 0,1 %

celkové vstupní aktivity. Lze tedy konstatovat, že se zde nesorbval v podstatě žádný těkavý produkt a že byl Tygon vyhovujícím spojovacím materiálem pro dané účely; stejná hadička byla při experimentech s neaktivním selenem využívána k transportu těkavé sloučeniny selenu mezi separátorem fází a křemenným atomizátorem při UV-PVG/QF-AAS.

V tabulkách jsou dále uvedeny frakce radioaktivního analytu nalezené v kapalném odpadu a v jednotlivých částech aparatury: V řádku „Kapalný odpad“ je uveden % podíl ze vstupní aktivity změřený v kapalném odpadu v průběhu/po generování s radioindikátorem selenu. Samostatně je vyčleněno („Odpadní hadičky“) množství radioaktivního analytu nalezené v Tygonových hadičkách transportujících odpadní kapalinu ze separátoru fází. Dále je uvedena frakce radioaktivního analytu odpovídající separátoru fází („Separátor fází“) a generátoru těkavých sloučenin („Reakční cívka“). Příslušné aktivity přitom nebyly díky rozměrům těchto komponent aparatury měřeny přímo v měřicích nádobkách, nýbrž byly zjišťovány ve vyluzích získaných opakovaným výplachem separátoru/reakční cívky lučavkou královskou a deionizovanou vodou. Pojem „Ostatní hadičky“ shrnuje aktivitu čerpací Tygonové hadičky (včetně spojek) přivádějící kapalný vzorek do UV-fotoreaktoru a aktivitu teflonové hadičky spojující separátor fází s generátorem těkavých sloučenin. „Součet aktivit“ je dán součtem aktivit nalezených v plynné fázi, v kapalném odpadu a na všech površích aparatury, které přišly do styku s radioindikátorem. V posledním řádku tabulky je uvedena celková účinnost generování dosažená po přepočtu na maximální možnou účinnost generování těkavých sloučenin; tyto hodnoty byly brány jako směrodatné při hodnocení účinnosti UV-PVG.

**Tabulka 4.10** Frakce radioaktivního indikátoru  $^{75}\text{Se}$  nalezené v jednotlivých fázích a částech aparatury po UV-fotochemickém generování těkavých sloučenin selenu<sup>a</sup>

**A) UV-fotochemické generování bez kyseliny dusičné**

UV-fotoreaktor	Teflon I	Teflon II	Křemen I	Křemen II
Frakce analytu (%)				
Plynná fáze	16,3 ± 0,3	44,6 ± 1,6	42,2 ± 1,8	42,1 ± 3,8
Kapalný odpad	77,5 ± 1,9	45,3 ± 0,9	47,1 ± 0,5	46,0 ± 5,2
Odpadní hadičky	3,0	3,7 ± 0,1	0,7	3,6
Reakční cívka	0,6	0,3	5,8 ± 0,1	0,5
Separátor fází	1,2	2,8 ± 0,1	0,9	3,6
Ostatní hadičky	0,2	0,8	2,3	1,8
Součet aktivit	98,8 ± 0,5	97,5 ± 0,6	99,0 ± 0,4	97,6 ± 0,4
<b>Účinnost generování</b>	<b>21,3 ± 0,5</b>	<b>56,5 ± 2,2</b>	<b>55,1 ± 2,4</b>	<b>54,9 ± 5,1</b>

**B) UV-fotochemické generování s přidáním kyseliny dusičnou**

UV-fotoreaktor	Teflon I	Teflon II	Křemen I	Křemen II
Frakce analytu (%)				
Plynná fáze	44,2 ± 2,6	47,8 ± 0,5	51,4 ± 0,5	47,4 ± 1,3
Kapalný odpad	52,2 ± 0,7	50,0 ± 1,3	41,7 ± 1,8	50,0 ± 0,8
Odpadní hadičky	1,6	0,7	1,7	2,2
Reakční cívka	0,1	0,0	1,0	0,7
Separátor fází	0,4	0,0	0,5	0,1
Ostatní hadičky	0,2	0,0	0,3	0,5
Součet aktivit	98,7 ± 0,5	98,5 ± 0,7	96,6 ± 0,4	100,9 ± 0,5
<b>Účinnost generování</b>	<b>57,7 ± 3,4</b>	<b>60,5 ± 1,0</b>	<b>67,1 ± 1,0</b>	<b>61,8 ± 1,8</b>

<sup>a</sup> Hodnoty v řádce „Plynná fáze“ a „Kapalný odpad“ jsou aritmetickými průměry ze tří měření ± směrodatná odchylka měření. Nejistoty v ostatních řádcích byly vypočítány dle Kragtena<sup>152</sup>; nejistoty pod 0,05 % nejsou zaznamenány. V posledním řádku tabulky je uvedena celková účinnost UV-PVG získaná po korekci na maximální dosažitelnou účinnost generování (76,6 % pro Teflon I, Křemen I, II nebo 79,0 % pro Teflon II).

Jak je patrné z hodnot v tabulkách (**Tabulka 4.10 A** a **Tabulka 4.10 B**), pokud bylo UV-PVG realizováno pouze s použitím fotochemického činidla, celkové účinnosti se pohybovaly mezi 21,3 – 56,5 %. Průměrně vyšší účinnosti (57,7 – 67,1 %) byly zaznamenány při UV-PVG s navíc přidanou kyselinou dusičnou. Největší rozdíl v účinnostech mezi vzorky bez/s kyselinou dusičnou byl zaznamenán pro Teflon I, u něhož se hodnoty lišily více než dvojnásobně (cca 2,6krát). Takto významný nárůst poměrně dobře korespondoval s výsledky experimentů s neaktivním selenem (např. podobný rozdíl jako mezi LOD/LOQ dosaženými při UV-PVG/QF-AAS; viz. **Tabulka 4.4**). U ostatních cívek (Teflon II, Křemen I, II) nebyl nárůst účinnosti v důsledku přidavku kyseliny dusičné tak výrazný, pohyboval se mezi 4,1 – 12,0 %. To mohlo částečně souviset s kyselinou chlorovodíkovou, ve které byl radioindikátor <sup>75</sup>Se uchovávan. Přestože v proměřovaných roztocích byla přítomna pouze 5,0 mmol l<sup>-1</sup> HCl nelze vyloučit, že do určité míry neovlivnila dosažené účinnosti UV-PVG a to především u vzorků bez HNO<sub>3</sub> – pro vzorky bez kyseliny dusičné byl pozorován výraznější nárůst signálu vlivem přidání kyseliny chlorovodíkové (podrobněji viz. **Příloha 2**).

Z porovnání údajů v obou tabulkách je dále zřejmé, že průměrně méně radioindikátoru selenu zůstávalo zachyceno v aparatuře tehdy, pokud byla do analyzovaných vzorků přidávána kyselina dusičná. To by mohlo souviset s vymývacími schopnostmi této kyseliny nebo s rozdílnými produkty generovanými bez/s kyselinou dusičnou; zatímco při UV-PVG s fotochemickým činidlem kyselinou mravenčí je generován selenovodík i selenokarbonyl, přídavek kyseliny dusičné potlačuje vznik selenovodíku a generován je pouze selenokarbonyl<sup>4</sup>. Dle úvahy o rozdílných produktech by se tedy selenokarbonyl zachytával v aparatuře méně než selenovodík.

Pokud jde o materiál cívky UV-fotoreaktoru, nelze jednoznačně rozhodnout, zda se více analytu sorbovalo v teflonových nebo křemenných reakčních cívkách. Ve většině případů byla ve výluzích nalezena frakce analytu do 1 % bez ohledu na použitý materiál reakční cívky; výjimkou byl Křemen I, u kterého byla oproti ostatním případům nalezena poměrně vysoká aktivita 5,8 %. Opět platilo, že byly průměrně nižší aktivity zaznamenány po UV-PVG s kyselinou dusičnou.

Stejně tak jako se z hlediska inertnosti osvědčily materiály použité ke konstrukci UV-fotoreaktoru (materiál reakční cívky), osvědčily se i ostatní materiály, ze kterých byl zhotoven spojovací materiál (Tygon, teflon). Nebylo zjištěno, že by na některém

z používaných materiálů docházelo k výrazné sorpci radioaktivního indikátoru selenu (těkavých sloučenin případně jejich rozkladných produktů).

Celkový součet aktivit  $^{75}\text{Se}$  radioaktivního indikátoru byl v dobré shodě se vstupní aktivitou, což znamená, že nebyly pozorovány významné ztráty radioaktivity během experimentů; ve všech případech bylo nalezeno minimálně 96,6 % vstupní aktivity.

#### 4.6.2.3 Účinnost chemického generování těkavých sloučenin

V dalším kroku byla zjišťována účinnost chemického generování v průtokovém uspořádání za podmínek, které byly optimalizovány speciálně pro tuto studii (**Tabulka 4.3**). Na základě měření aktivit (změřeno třikrát) bylo na kolonkách, a tedy v plynné fázi, nalezeno pouze  $35,1 \pm 0,5$  % vstupní aktivity; po korekci na maximální dosažitelnou účinnost danou chemickým generováním v dávkovém uspořádání činila celková účinnost CVG v průtokovém módu  $44,4 \pm 0,8$  %. Více údajů o distribuci analytu je možné vyčíst z **Tabulky 4.11**. Z hodnot je zřejmé, že oproti UV-PVG byla v aparatuře pro CVG nalezena podstatně větší frakce radioindikátoru. To by mohlo potvrzovat teorii o odlišné sorpci různých těkavých sloučenin na vnitřním povrchu aparatury; při CVG je generován pouze selenovodík. Více radioaktivního analytu sorbovaného v systému by mohlo mít částečně vliv i na celkově nižší dosaženou účinnost generování ve srovnání s UV-PVG.

Vzhledem k poměrně nízké účinnosti CVG v kontinuálním uspořádání byl proveden doplňující pokus s upravenými pracovními podmínkami, za kterých byl reakcí s tetrahydridoboritanem sodným generován selenovodík. Výrazně vyšší účinnost byla dosažena tehdy, pokud byla při kontinuálním generování zvýšena koncentrace redukčního činidla z 0,5%  $\text{NaBH}_4$  na 2%  $\text{NaBH}_4$  a zároveň byla navýšena průtoková rychlost argonu z  $20 \text{ ml min}^{-1}$  na  $50 \text{ ml min}^{-1}$ . Za těchto podmínek činil podíl analytu v plynné fázi  $72,9 \pm 0,9$  %, což po korekci odpovídalo celkové účinnosti 86,9 % (korekce na účinnost 83,8 %). Opět platilo, že se v aparatuře sorbovalo více radioaktivního analytu než při UV-PVG; bližší údaje jsou uvedeny v **Tabulce 4.11**.



**Tabulka 4.11** Frakce radioaktivního indikátoru  $^{75}\text{Se}$  nalezené v jednotlivých fázích a částech aparatury po chemickém generování těkavých sloučenin selenu v průtokovém uspořádání<sup>a</sup>

Podmínky chemického generování	0,5% NaBH <sub>4</sub> 20 ml min <sup>-1</sup> Ar	2,0% NaBH <sub>4</sub> 50 ml min <sup>-1</sup> Ar
Frakce analytu (%)		
Plynná fáze	35,1 ± 1,5	72,9 ± 0,9
Kapalný odpad	35,3 ± 0,4	10,1 ± 0,2
Odpadní hadičky	16,9 ± 0,2	7,0 ± 0,1
Reakční cívka	3,0 ± 0,1	1,4 ± 0,1
Separátor fází	4,0 ± 0,1	6,5 ± 0,1
Ostatní hadičky	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,1
Součet aktivit	96,0 ± 0,6	99,6 ± 0,8
<b>Účinnost generování</b>	<b>44,4 ± 0,8</b>	<b>86,9 ± 1,3</b>

<sup>a</sup> Hodnoty v řádce „Plynná fáze“ a „Kapalný odpad“ jsou aritmetickými průměry ze tří měření ± směrodatná odchylka měření. Nejistoty v ostatních řádcích byly vypočítány dle Kragtena<sup>152</sup>. V posledním řádku tabulky je uvedena celková účinnost CVG získaná po korekci na maximální dosažitelnou účinnost generování (79,0 % pro CVG s 0,5% NaBH<sub>4</sub> nebo 83,8 % pro CVG s 2,0% NaBH<sub>4</sub>).

Nutno podotknout, že ačkoliv byla za pozměněných podmínek dosažena vyšší účinnost CVG, takové podmínky nebyly zcela vyhovující pro stanovení selenu metodou CVG/QF-AAS. Analytický signál měřený v ustáleném stavu byl nižší než v případě, kdy bylo generování prováděno za optimálních podmínek shrnutých v **Tabulce 4.3**. Navíc byl signál více zatížen šumem a také jeho opakovatelnost se zhoršila. Horší opakovatelnost signálu při pokusech s koncentrovanějším NaBH<sub>4</sub> mohla souviset s bouřlivějším průběhem reakce, jehož důsledkem mohl být nepravidelný přísun vygenerovaného selenovodíku do křemenného atomizátoru. Zjištěné výsledky ukazují, že podmínky pro dosažení maximální citlivosti (a také nejlepší opakovatelnosti) při CVG/QF-AAS pravděpodobně nekorespondují s podmínkami, při nichž je dosahováno maximální účinnosti generování.

### 4.6.3 Možné zvýšení účinnosti UV-fotochemického generování

Aby byl potvrzen či vyvrácen výše uvedený předpoklad o možných rozdílech v experimentálních podmínkách (podmínky pro dosažení maximální citlivosti a účinnosti generování) také v souvislosti s UV-PVG, byly provedeny další doplňující pokusy. Zjišťován byl rozdíl ve frakcích analytu nalezených ve vstupním roztoku (před generováním) a v odpadním roztoku (po generování); frakce selenu v odpadních roztocích byly určovány metodou CVG/QF-AAS.

#### 4.6.3.1 Měření frakce analytu v odpadním roztoku po UV-PVG

UV-fotochemicky byly za různých podmínek generovány těkavé sloučeniny selenu, které byly zaváděny do křemenného atomizátoru a detekovány AAS. Ke generování byla využita reakční cívka Teflon II. Pracováno bylo s neaktivním standardem o koncentraci  $10,0 \mu\text{g l}^{-1}$  Se(IV), který byl připraven v kyselině mravenčí; do analyzovaných roztoků byla navíc přidávána kyselina dusičná. Po každé úpravě některého z experimentálních parametrů byly zaznamenávány analytické signály a do připravených skleněných baněk byl jímán kapalný odpad po generování odčerpávaný ze separátoru fází. Ihned po ukončení UV-PVG/QF-AAS byly metodou CVG/QF-AAS zjišťovány frakce analytu (nezreagovaný podíl analytu) v nashromážděných odpadních roztocích. Nižší absorbance získané metodou CVG/QF-AAS přitom logicky znamenaly, že při UV-PVG zreagovalo více Se(IV) na těkavé sloučeniny a tudíž i účinnost UV-PVG byla vyšší. Tímto způsobem bylo možné jednoduše zjistit, zda se nejvíce Se(IV) přeměnilo na těkavé sloučeniny za optimálních podmínek nalezených metodou UV-PVG/QF-AAS, anebo za rozdílných pracovních podmínek. Před vlastní realizací popsanych experimentů bylo ověřeno, že stanovení selenu metodou CVG/QF-AAS není ovlivněno přítomností kyseliny mravenčí v analyzovaných vzorcích.

Jak se ukázalo, předpoklad o odlišnostech v pracovních podmínkách byl správný. Klíčový byl průtok nosného plynu a rychlost čerpání vzorku do UV-fotoreaktoru. V souvislosti s průtokovou rychlostí argonu bylo zjištěno, že zatímco při UV-PVG/QF-AAS byl nejvyšší analytický signál změřen při průtoku  $11 \text{ ml min}^{-1}$ , pro dosažení maximální účinnosti byl vhodnější průtok  $6 \text{ ml min}^{-1}$ . Při této průtokové rychlosti argonu byl ale analytický signál selenu u metody UV-PVG/QF-AAS nižší, měl zhoršenou opakovatelnost a především byl podstatně více zatížen šumem. Pro průtokovou rychlost

vzorku platilo, že by k dosažení vyšší účinnosti mohlo přispět snížení průtoku o  $1,0 \text{ ml min}^{-1}$  (změny v absorbancích ale nebyly významné). U ostatních testovaných parametrů (průtoková rychlost vodíku, délka reakční cívky, koncentrace kyseliny mravenčí a kyseliny dusičné) se optima shodovala s hodnotami v **Tabulce 4.1**.

Protože bylo při experimentech s radioaktivním indikátorem ověřeno, že chemické generování selenovodíku neprobíhá se 100% účinností (především CVG v kontinuálním uspořádání), nebylo dost dobře možné na základě porovnání frakce analytu ve vstupním/odpadním roztoku procentuálně vyčíslit účinnost UV-PVG (jedna z potenciálních metod odhadu účinnosti generování).

Doplňme, že ke zjišťování obsahu selenu v odpadních roztocích by bylo příhodnější použít jinou metodu než CVG/QF-AAS. Pro dané účely by se hodila například AAS s přímým zaváděním kapalného vzorku do kyvety (ET-AAS). Protože byl ale v průběhu vypracování disertační práce k dispozici pouze jeden atomový absorpční spektrometr, bylo by prakticky velmi obtížné opakovaně měnit jeho uspořádání (křemenný atomizátor vs. grafitová kyveta).

#### **4.6.3.2 Dodatečný experiment s radioaktivním indikátorem $^{75}\text{Se}$**

Za upravených pracovních podmínek pro UV-PVG s Teflonem II (nižší průtoková rychlost argonu a vzorku) byl znovu proveden experiment s radioindikátorem selenu. Celkovou účinnost se tímto krokem podařilo zvýšit o více než 12 %. Distribuce radioaktivního analytu byla následující: v plynné fázi bylo nalezeno  $57,5 \pm 0,6 \%$  vstupní aktivity,  $36,0 \pm 0,8 \%$  bylo zjištěno v odpadu (odpadní kapalina a odpadní hadičky) a  $0,9 \pm 0,1 \%$  na ostatních vnitřních površích aparatury, které se dostaly do styku s radioindikátorem selenu. Po korekci na maximální dosažitelnou účinnost (79,0 %) byla hodnota účinnosti UV-PVG selenu posunuta na 72,8 %. Platí tedy, že stejně jako v případě CVG v kontinuálním uspořádání bylo i nyní dokázáno, že se pracovní podmínky vedoucí k dosažení maximální citlivosti a účinnosti generování těkavých sloučenin mohou rozcházet.

## 4.7 Stanovení selenu v praktických vzorcích

---

- *Podkapitola shrnuje především informace z článku, který má v seznamu příloh číslo: 3*
  - *Název článku:* UV-photochemical vapor generation with quartz furnace atomic absorption spectrometry for simple and sensitive determination of selenium in dietary supplements
  - *Název časopisu:* Microchemical Journal
- 

Další experimenty byly provedeny za účelem ověření aplikovatelnosti kombinované metody UV-PVG/QF-AAS pro rutinní analýzu. Pro získání ucelenější představy o možném praktickém využití vyvinuté metody byly vybrány dva typy vzorků s různorodou matricí. Nejprve byl obsah selenu stanovován ve vzorcích pitných vod, následovala analýza potravinových doplňků s obsahem selenu. Zatímco stanovení selenu v potravinových doplncích bylo popsáno v samostatné publikaci (**Příloha 3**), analýza pitných vod je stručně zrekapitulována pouze v této části disertační práce.

### 4.7.1 Vzorky vod

Analýze byla podrobena pitná kohoutková voda, balená minerální voda a studniční voda. Obsah analytu byl v těchto vzorcích stanovován metodou standardního přídávku. UV-PVG selenu probíhalo za dříve optimalizovaných podmínek pro UV-fotoreaktor Teflon II (**Tabulka 4.1**). Vzorky nebyly před vlastní analýzou stabilizovány nebo filtrovány, pouze bylo přidáno definované množství kyseliny mravenčí, příslušný přídavek standardu selenu (voleny byly tři přídávky o koncentracích 0,5; 0,7; 1,0  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) a v některých případech také kyselina dusičná (stanovení bylo prováděno jak s kyselinou dusičnou, tak bez ní).

Zjištěný obsah Se(IV) v jednotlivých vzorcích je ukázán v **Tabulce 4.12**. Nalezeny byly hodnoty kolísající v okolí meze stanovitelnosti určené pro selen metodou UV-PVG/QF-AAS. U některých vzorků byl navíc zaznamenán značný rozdíl mezi obsahy stanovenými při generování bez/s přídavkem kyseliny dusičné. Ukázalo se tedy, že (pravděpodobně díky nízkému obsahu Se(IV) v analyzovaných vodách) navržená metoda není pro podobný typ vzorků optimální. Za nevýhodu lze v tomto případě považovat tu skutečnost, že je metoda omezená právě jen na stanovení Se(IV).

Ve vodě jsou totiž primárně přítomny jiné formy selenu (hlavně selenidy) a obsah samotného Se(IV) je nízký. Žádné kroky zajišťující převedení případných dalších forem selenu na Se(IV) voleny nebyly. Cílem tohoto stanovení nebylo zjistit celkový obsah selenu (nebo provést speciální analýzu), ale vyzkoušet danou metodu právě za účelem stanovení Se(IV) v pitných vodách.

*Poznámka:* Pro zajímavost může být doplněno, že ve vyhlášce o pitné vodě (vyhláška č. 83/2014 Sb.) je pro obsah selenu uvedena nejvyšší mezní hodnota  $10 \mu\text{g l}^{-1}$  (nejvyšší mezní hodnota je ukazatelem jakosti pitné vody, při překročení této hodnoty je vyloučeno použití vody jako pitné)<sup>153</sup>. Teoreticky by tedy metoda UV-PVG/QF-AAS mohla být dostatečně citlivá pro analýzu vod bohatších na obsah selenu (za současného předpokladu, že by se selen v pitné vodě vyskytoval převážně ve formě Se(IV)), stejně tak jako se osvědčila při analýze SRM (obsahoval více než  $12 \mu\text{g l}^{-1}$  selenu). Uplatnění by metoda mohla nalézt např. při rozboru průmyslových vod (odpadní vody chemického, hutnického či sklářského průmyslu), ve kterých by se dal očekávat vyšší výskyt Se(IV).

**Tabulka 4.12** Obsah Se(IV) ve vzorcích pitných vod zjištěný metodou UV-PVG/QF-AAS

	UV-PVG bez HNO <sub>3</sub>	UV-PVG s HNO <sub>3</sub>
	Obsah Se(IV) (ng l <sup>-1</sup> )	Obsah Se(IV) (ng l <sup>-1</sup> )
Kohoutková voda	149 ± 38 (< LOQ)	67 ± 24 (< LOQ)
Balená minerální voda	240 ± 51	286 ± 61
Studniční voda	113 ± 42 (< LOQ)	211 ± 66
LOQ <sup>a</sup>	153	89

<sup>a</sup>Mez stanovitelnosti pro Se(IV) určená metodou UV-PVG/QF-AAS

#### 4.7.2 Potravinové doplňky

Větší prostor byl při analýze reálných vzorků věnován stanovení selenu v potravinových doplncích. Pokud je nám dobře známo, žádný z autorů se zatím stanovení selenu ve vzorcích podobného typu prostřednictvím zavádění vzorku technikou UV-PVG nezabýval. Pouze Li a kol.<sup>78</sup> stanovoval selen ve vzorku selenem obohacených kvasnic (detekce ICP-MS, AFS). Tyto kvasnice jsou v některých typech potravinových doplňků využívány jako zdroj organického selenu (obsahují hlavně selenomethionin nebo např. methylselenocystein).

Pro analýzu byly vybrány na českém trhu běžně dostupné preparáty. Konkrétně byl selen stanovován v pěti typech doplňků stravy (A – E), jejichž součástí byl anorganický selen ve formě seleničitanů (A – C) či selenanů (D, E). Testovány byly doplňky obsahující jeden stopový prvek (selen) nebo obsahovaly kombinaci selenu s dalšími minerály jako je zinek či vitamín E. Součástí všech preparátů byly navíc různé pomocné látky (plnidla, pojiva atd.) anorganického i organického původu. Složení testovaných potravinových doplňků je popsáno v experimentální části disertační práce (**3.2.1 Potravinové doplňky**). Deklarovaný obsah Se v doplncích se pohyboval mezi 30 – 100 µg na jednu tabletu/kapsli, doporučená denní dávka selenu je v České republice 55 µg/den<sup>154</sup>.

*Poznámka:* Přestože diskuze na téma konzumace potravinových doplňků není předmětem této práce, stojí za povšimnutí, že se na českém trhu běžně objevují preparáty, které při doporučené konzumaci jedné tablety denně převyšují doporučenou denní dávku selenu téměř dvojnásobně (i když jistě nelze předpokládat, že lidský organismus veškerý selen z tablet vstřebá). Selen sice patří mezi esenciální stopové prvky nezbytné pro správné fungování organismu, jeho nadbytek však může lidské zdraví ovlivnit negativně. Jak již bylo navíc zmíněno, hranice mezi esencialitou a toxicitou je u tohoto prvku poměrně úzká. Na druhou stranu ale také platí, že se Česká republika řadí mezi země, kde je prokázán nižší příjem selenu potravou; právě potrava je hlavním zdrojem tohoto prvku pro populaci. Je to dáno složením geologického podloží (snížená dostupnost selenu z půdy).

Pravidelná konzumace potravinových doplňků s obsahem selenu může, dle jejich producentů, přispět k udržení normálního stavu vlasů, nehtů, k normální činnosti štítné žlázy a imunitního systému, k normální spermatogenezi, k ochraně buněk před oxidativním stresem apod. Nadměrná suplementace u osob, kteří již mají adekvátní příjem selenu, však může zvýšit riziko vzniku diabetu 2. typu a vést může i dalším zdravotním komplikacím<sup>141</sup>.

Stručně by se dalo shrnout, že ačkoliv mohou být potravinové doplňky pro lidský organismus prospěšné (osoby s denním příjmem cca pod  $<40 \mu\text{g}/\text{den}$ )<sup>155</sup>, jejich konzumace by měla být opodstatněná a neměla by podléhat aktuálním trendům a všudypřítomnému komerčnímu tlaku. Pestrá a vyvážená strava by u zdravých jedinců pravděpodobně měla zajistit dostatečnou hladinu selenu.

#### 4.7.2.1 Optimalizace, základní analytické charakteristiky

Před vlastní analýzou reálných vzorků byly ověřeny experimentální podmínky pro stanovení selenu metodou UV-PVG/QF-AAS, protože oproti optimalizaci popsané v podkapitole **4.3 Optimalizace experimentálních podmínek** byla jako zdroj primárního záření v AAS použita tzv. superlampa (selenová výbojka s velmi vysokou intenzitou záření). Pracováno bylo opět s UV-fotoreaktorem Teflon II a experimentálně bylo ověřeno, že se optimální podmínky shodují s těmi, které byly zjištěny při předchozích pokusech s výbojkou s dutou katodou (**Tabulka 4.1**). To se dalo očekávat, protože výměna výbojky se týkala nikoliv procesu zavádění vzorku (tedy UV-PVG), ale až detekčního kroku (QF-AAS).

Záměrem výměny zdroje primárního záření v AAS byla snaha o možné snížení meze detekce a stanovitelnosti či případné zvýšení lineárního dynamického rozsahu. Základní charakteristiky dosažené pro selen s použitím superlampy jsou shrnuty v **Tabulce 4.13**; pro rychlé porovnání jsou ještě jednou uvedeny hodnoty získané při práci s výbojkou s dutou katodou. Zamýšleného snížení LOD a LOQ bylo docíleno, avšak zlepšení nebylo výrazné (v tom smyslu, že se např. nejednalo o řádové zlepšení hodnot). Lineární dynamický rozsah zůstal nezměněn. Opakovatelnost vyjádřená jako % RSD byla opět dobrá. Také analýza SRM NIST 1643e dopadla úspěšně. Oproti deklarovanému obsahu  $11,97 \pm 0,14 \mu\text{g l}^{-1}$  bylo metodou UV-PVG/QF-AAS nalezeno  $11,41 \pm 0,31 \mu\text{g l}^{-1}$  Se(IV) (UV-PVG bez  $\text{HNO}_3$ ) a  $11,28 \pm 0,46 \mu\text{g l}^{-1}$  Se(IV) (UV-PVG s  $\text{HNO}_3$ ).

**Tabulka 4.13** Základní analytické charakteristiky dosažené pro selen stanovený metodou UV-PVG/QF-AAS se superlampou nebo s výbojkou s dutou katodou jako zdrojem primárního záření v AAS

Zdroj záření v AAS	Superlampa		Výbojka s dutou katodou	
Přídavek HNO <sub>3</sub>	NE	ANO	NE	ANO
LOD (ng l <sup>-1</sup> )	40	22	46	27
LOQ (ng l <sup>-1</sup> )	134	73	153	89
Citlivost (10 <sup>-6</sup> l ng <sup>-1</sup> )	36	70	32	54
LDR (μg l <sup>-1</sup> )	LOQ – 15	LOQ – 15	LOQ – 15	LOQ – 15
RSD (%)	1,8	1,7	1,5	1,4

#### 4.7.2.2 Příprava vzorků pro analýzu

Základním požadavkem bylo upravit vzorky co nejjednodušším způsobem (minimum operací se vzorkem, použití omezeného množství chemikálií...), nikoliv však na úkor dosažených výsledků. Z důvodu rozdílné schopnosti tvořit těkavé sloučeniny bylo při přípravě vzorků samostatně přistupováno k preparátům obsahujícím seleničitany a selenany; pro vzorky se Se(VI) bylo nutné zařadit předredukční krok. Protože byly pro analýzu vybrány doplňky stravy s obsahem ve vodě rozpustných specií selenu, byly při úpravách vzorků vynechány složitější postupy jako např. enzymatická hydrolýza nebo mikrovlnná digesce (druhý postup byl použit pouze k úpravě jednoho vzorku). Podrobnější popis přípravy vzorků je shrnut v experimentální části disertační práce (**3.2.1 Potravinové doplňky**).

- **Vzorky s obsahem Se(IV)**

Vzorky obsahující Se(IV) byly připravovány celkem třemi způsoby, respektive byly rozpouštěny ve třech různých médiích. Ve všech případech byla využita ultrazvukem asistovaná extrakce (30 min, 40 °C). Nejprve byla pro rozpouštění zvolena deionizovaná voda jako základní rozpouštědlo. Následovala extrakce v prostředí 0,5 mol l<sup>-1</sup> HNO<sub>3</sub> a v prostředí 50,0 mmol l<sup>-1</sup> HCl. Kyselina chlorovodíková byla pro dané účely vybrána proto, aby bylo alespoň přibližně simulováno prostředí lidského žaludku (pH = 1 – 2). Vzorky byly před provedením vlastního stanovení selenu filtrovány



(oddělení nerozpustné složky preparátu), několikanásobně zředěny (v potaz byl brán teoretický obsah selenu v tabletách a LDR navržené metody), přidáno bylo příslušné množství kyseliny mravenčí a standardu Se(IV).

- **Vzorky s obsahem Se(VI)**

Preparáty D, E byly rozpouštěny pouze v deionizované vodě, která se osvědčila u vzorků s obsahem Se(IV). Navíc byl přidán předredukční krok zajišťující přeměnu selenanů na generování těkavých sloučenin přístupné seleničitany. K předredukci byla zvolena metoda, která je k podobným účelům běžně využívána při chemickém generování těkavých sloučenin. Jednalo se o povaření roztoku v kyselině chlorovodíkové; povařen byl přefiltrovaný vzorek získaný po ultrazvukem asistované extrakci v deionizované vodě. Pro dané účely byla zkoušena 2,0 – 6,0 mol l<sup>-1</sup> HCl a doba povaření 30 – 120 min. Jako optimální bylo vybráno šedesát minut trvající zahřívání vzorků (90 – 95 °C) v 6,0 mol l<sup>-1</sup> HCl. Vzhledem ke značnému ředění, obsahovaly všechny výsledné analyzované roztoky (i po přidavku standardního přídávku) kyselinu chlorovodíkovou v takovém koncentračním rozmezí, ve kterém byl signál selenu v podstatě stálý (odolnost vůči HCl je probírána v **4. 9 Interferenční studie**). Pouze vzorek E byl navíc vystaven mikrovlnnému rozkladu v přítomnosti koncentrované kyseliny dusičné a peroxidu vodíku. Tato procedura byla zvolena z důvodu neuspokojivých výsledků získaných při úpravě vzorku pouze na základě jeho rozpouštění v deionizované vodě.

Pokud jde o standardní přídávky selenu, k analyzovaným vzorkům byl přidáván Se(VI) redukován na Se(IV) za stejných podmínek, za kterých byly na seleničitany v reálných vzorcích převáděny selenany. Aby byla ověřena účinnost předredukce pro různé koncentrace Se(VI), byly postupně redukovány standardní roztoky o koncentraci 1,0; 5,0; 10,0 mg l<sup>-1</sup> Se(VI). Po předredukci byly z těchto roztoků připraveny kalibrační roztoky, které byly po přidavku fotochemického činidla proměřeny metodou UV-PVG/QF-AAS. Zkonstruovány byly kalibrační křivky a jejich směrnice měly srovnatelnou hodnotu (odchylky do 5%). Tato hodnota navíc dobře korespondovala se směrnici odpovídající stanovení Se(IV) navrhovanou metodou. Tím se prokázalo, že je zvolený předredukční krok stejně účinný pro různé výchozí koncentrace Se(VI).

### 4.7.2.3 Dosažené výsledky

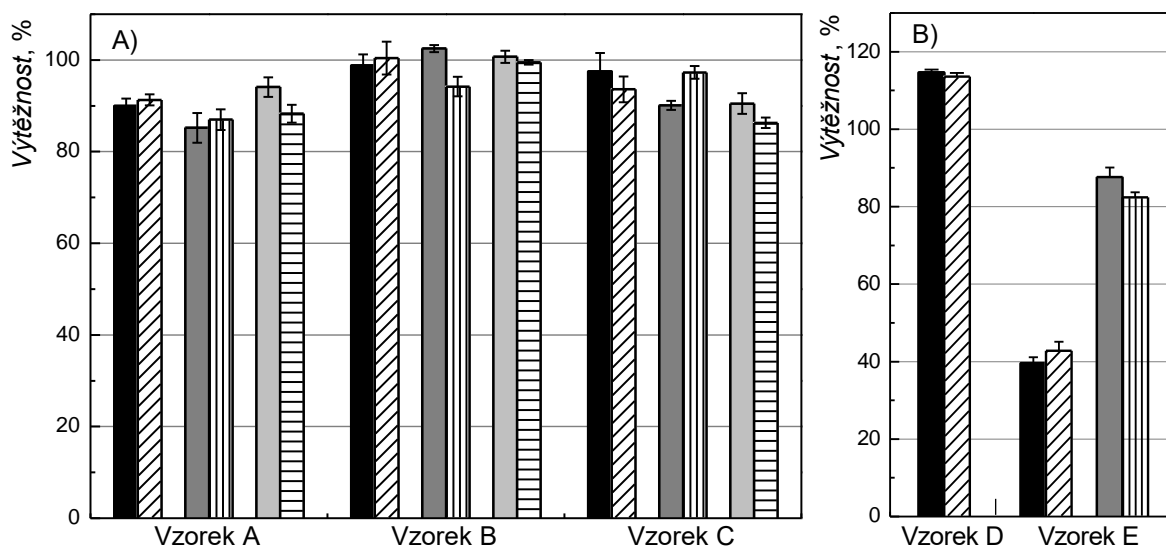
Tablety s obsahem Se(IV) byly připravovány celkem ve třech extrakčních činidlech a stanovení bylo provedeno duplikátně (stanovení I, stanovení II). To znamená, že z každého zakoupeného balení potravinových doplňků bylo analyzováno celkem šest náhodně vybraných tablet. Vzorky s obsahem Se(VI) byly rozpouštěny pouze v deionizované vodě, takže analyzovány byly dvě tablety/kapsle z jednoho balení. U vzorku E byly další dvě kapsle analyzovány z důvodu dodatečného zařazení mikrovlákného rozkladu. Upřednostněn byl způsob určování obsahu selenu metodou standardního přídatku, protože oproti odečtu z kalibračních křivek sestrojených na základě proměňování standardních roztoků selenu bylo dosaženo vyšších výtěžností; to mohlo souviset s rozdílnou maticí reálných vzorků a kalibračních roztoků. Nalezené obsahy selenu v jednotlivých preparátech včetně procentuální shody s deklarovanými obsahy jsou uvedeny v **Tabulce 4.14**. Zjištěné hodnoty jsou aritmetickými průměry ze tří opakování. Pro rychlou orientaci jsou na **Obr. 4.21** ukázány sloupcové grafy znázorňující procentuální výtěžnosti dosažené pro vzorky s obsahem Se(IV) i Se(VI).

*Poznámka:* Při porovnávání zjištěných a deklarovaných obsahů selenu v potravinových doplncích bylo předpokládáno, že hodnoty uváděné výrobcí odpovídají skutečnosti. Nabízí se však otázka, do jaké míry lze na tyto hodnoty spoléhat. Na přebalech byl uváděn vždy pouze průměrný obsah selenu v tabletě/kapsli, další údaje o nejistotách chyběly. Tím, že nejsou potravinové doplňky řazeny mezi léčiva, nepodléhají tak striktním kontrolám jako právě léky. Navíc, pro minerální látky obsažené v doplncích stravy jsou, dle nařízení Evropského parlamentu a Rady, přípustné odchylky v obsahu až do výše +45/–20 % (včetně nejistoty měření) oproti průměrným deklarovaným obsahům<sup>156</sup>.

**Tabulka 4.14** Obsah selenu v potravinových doplňcích zjištěný metodou UV-PVG/QF-AAS včetně porovnání s deklarovaným obsahem selenu

*Vzorky jsou označeny písmeny A – E, za písmenem je uvedeno číslo stanovení*

Vzorek	Extrakční činidlo	Obsah selenu ( $\mu\text{g}$ /tableta nebo kapsle)		Výtěžnost (%)
		Deklarováno	Zjištěno	
A, I	H <sub>2</sub> O	50	45,0 ± 0,8	90,0 ± 1,6
A, II	H <sub>2</sub> O	50	45,7 ± 0,6	91,3 ± 1,2
A, I	HNO <sub>3</sub>	50	42,6 ± 1,6	85,2 ± 3,2
A, II	HNO <sub>3</sub>	50	43,5 ± 1,1	87,0 ± 2,6
A, I	HCl	50	47,1 ± 1,1	94,1 ± 2,1
A, II	HCl	50	44,2 ± 1,0	88,3 ± 1,9
B, I	H <sub>2</sub> O	50	49,4 ± 1,2	98,8 ± 2,4
B, II	H <sub>2</sub> O	50	50,2 ± 1,9	100,4 ± 3,8
B, I	HNO <sub>3</sub>	50	51,3 ± 0,4	102,5 ± 0,8
B, II	HNO <sub>3</sub>	50	47,1 ± 1,1	94,2 ± 2,1
B, I	HCl	50	50,4 ± 0,7	100,7 ± 1,3
B, II	HCl	50	49,8 ± 0,3	99,5 ± 0,5
C, I	H <sub>2</sub> O	30	29,3 ± 1,2	97,5 ± 4,0
C, II	H <sub>2</sub> O	30	28,1 ± 0,8	93,6 ± 2,8
C, I	HNO <sub>3</sub>	30	27,0 ± 0,3	90,1 ± 1,0
C, II	HNO <sub>3</sub>	30	29,2 ± 0,4	97,3 ± 1,4
C, I	HCl	30	27,2 ± 0,7	90,5 ± 2,2
C, II	HCl	30	25,9 ± 0,3	86,3 ± 1,2
D, I	H <sub>2</sub> O	100	114,7 ± 0,7	114,7 ± 0,7
D, II	H <sub>2</sub> O	100	113,6 ± 0,9	113,6 ± 0,9
E, I	H <sub>2</sub> O	50	19,8 ± 0,8	39,6 ± 1,5
E, II	H <sub>2</sub> O	50	21,4 ± 1,1	42,8 ± 2,3
E, I	HNO <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	50	43,8 ± 1,3	87,6 ± 2,5
E, II	HNO <sub>3</sub> + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	50	41,2 ± 0,7	82,4 ± 1,3



**Obr. 4.21 Výtěžnosti selenu u jednotlivých testovaných potravinových doplňků**

Hodnoty jsou vztaheny k obsahům deklarovaným výrobcí potravinových doplňků (100 %);

**A)** Vzorky s obsahem Se(IV); **B)** Vzorky s obsahem Se(VI)

Jednotlivé sloupce odpovídají využití různých extrakčních činidel:

H<sub>2</sub>O: I ■■■■ II ▨▨▨▨; HNO<sub>3</sub> (A, B, C) nebo HNO<sub>3</sub> + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (E): I ■■■■ II ▨▨▨▨; HCl: I ■■■■ II ▨▨▨▨  
I – První stanovení; II – Druhé stanovení

#### • Vzorky s obsahem Se(IV)

Z výsledků uvedených v **Tabulce 4.14** mohou být vyvozeny následující závěry. Za prvé, ve všech vzorcích bylo zjištěno minimálně 85 % z množství Se(IV) uváděného na přebalech testovaných doplňků stravy. Bez ohledu na použité extrakční činidlo, nejlepší shoda s deklarovaným obsahem byla dosažena pro vzorek B (výtěžnosti se pohybovaly od  $94,2 \pm 2,1$  % do  $102,5 \pm 0,8$  %). Za druhé, nalezené obsahy Se(IV) se v závislosti na použitém extrakčním činidle významně nelišily. To naznačuje, že deionizovaná voda je dostačující pro dané účely; pro vzorky A – C bylo pouhým rozpouštěním tablet v deionizované vodě (za asistence ultrazvuku) dosaženo minimálně 90% shody oproti výrobcí uváděným množství. Za třetí, rozdíly ve výtěžnostech získaných v rámci jednoho extrakčního postupu u jednotlivých přípravků (stanovení I, stanovení II u každého doplňku stravy) nepřesáhly 10 %. A konečně, opakovatelnost měření v rámci každé jedné konkrétní tablety (opakováno třikrát) dosahovala dobré úrovně; směrodatné odchylky se pohybovaly od 0,5 % do 4,0 %.

Z uvedených výsledků vyplývá, že pro případná další měření vzorků s podobným složením by nadále postačilo rozpouštět vzorky pouze v deionizované vodě, čímž by navíc mohly být eliminovány možné komplikace související s použitím dalších (nadbytečných) chemikálií.

- **Vzorky s obsahem Se(VI)**

Výtěžnosti odpovídající vzorkům D a E jsou rozporuplné. Na jedné straně může být za pozitivní aspekt analýzy považována dobrá shoda mezi hodnotami dosaženými při stanovení I, II (u obou analyzovaných vzorků), na druhé straně jsou zjištěné obsahy selenu, oproti preparátům A – C, více vzdálené hodnotám uváděným výrobcí. Zatímco pro vzorek D byly u obou stanovení získány výtěžnosti přesahující 100 % (přibližně o 15 %), u vzorku E shoda nedosáhla ani 50 %. Vyšší hodnoty u vzorku D by mohly mimo jiné souviset s nepřesnými údaji poskytnutými výrobcí daných tablet (jak bylo diskutováno, určité odchylky jsou přípustné), v případě vzorku E bylo třeba hledat i jiná možná vysvětlení nesouladu mezi zjištěnými a deklarovány obsahy selenu. Nízké výtěžnosti by například mohly souviset s nedostatečnou předredukcí Se(VI) na Se(IV). Toto vysvětlení se zdá být málo pravděpodobné, protože vzorky D, E byly předredukovány za stejných podmínek. Navíc, jak bylo demonstrováno výše, obdobná předredukcce byla provedena také pro standardní roztoky s různými koncentracemi Se(VI), dokonce podstatně vyššími než jakou teoreticky osahoval vzorek E; předredukováno bylo i 10,0 mg l<sup>-1</sup> Se(VI).

Dále se nabízela souvislost s formou vzorku. Preparáty A – D byly distribuovány jako tablety a pouze vzorek E byl ve formě kapslí. Po provedení ultrazvukem asistované extrakce vznikla vazká kapalina silně přiléhající ke stěnám odměrné baňky, kterou bylo obtížné zfiltrvat. Viditelné změny v konzistenci vzorku nebyly pozorovány ani při jeho delším setrvání (60 nebo 90 minut) v ultrazvukové lázni. Právě ve fázi přípravy vzorku tedy mohlo docházet k případným ztrátám analytu. Z toho důvodu byla provedena ještě další varianta předúpravy vzorku. Konkrétně byla zkoušena mikrovlnná digesce před vlastní předredukcí vzorku E. Jak se ukázalo, domněnka o nedostatečné předúpravě byla správná. Výtěžnost se tímto krokem podařilo zvýšit z původních cca 40 % na více než 80 %. Pro vzorek E tedy pouhé rozpouštění v deionizované vodě nebylo dostatečné.

Dodejme, že o něco jednodušší předúprava vzorků s obsahem Se(VI) by stačila v tom případě, pokud by byly těkavé sloučeniny selenu generovány v přítomnosti polovodičových fotokatalyzátorů (např.  $\text{TiO}_2$ ). Jelikož hlavní funkce fotokatalyzátorů spočívá především ve zpřístupnění hydridově neaktivních specií selenu UV-fotochemickému generování, jeho využití by umožnilo vypustit poměrně časově náročnou off-line předredukci s kyselinou chlorovodíkovou. Možnost využití oxidu titaničitého nebo jiných fotokatalyzátorů v souvislosti se stanovením selenu technikou UV-PVG pro potřeby této disertační práce studována nebyla. V laboratoři spektrometrických metod se daným tématem dlouhodobě zabývá Mgr. Eliška Nováková v rámci zpracování své disertační práce.

Celkově lze z dosažených výsledků pro vzorky A – E usuzovat, že se metoda UV-PVG/QF-AAS za účelem stanovení selenu v potravinových doplncích osvědčila, a že je vhodná pro analýzu vzorků podobného typu. Aby toto tvrzení bylo úplné, bylo by samozřejmě nutné analyzovat podstatně větší počet vzorků.

## 4.8 Spojení UV-PVG s *in situ* záchytem těkavých sloučenin v grafitové kyvetě

- 
- *Podkapitola shrnuje především informace z článku, který má v seznamu příloh číslo: 4*
  - *Název článku:* UV-photochemical vapour generation with *in-situ* trapping in a graphite tube atomizer for ultratrace determination of selenium
  - *Název časopisu:* Journal of Analytical Atomic Spectrometry
- 

Propojení UV-fotochemického generování s *in situ* záchytem těkavých sloučenin a následnou atomizací v grafitové kyvetě atomového absorpčního spektrometru (UV-PVG/GF-AAS) bylo realizováno za účelem možného vylepšení mezí detekce a citlivostí oproti hodnotám dosaženým při UV-PVG s on-line atomizací v křemenném atomizátoru. Kromě optimalizace pracovních parametrů a určení základních analytických charakteristik byly v rámci studie prováděny další experimenty včetně porovnání navržené metody s přímým zaváděním kapalných vzorků do grafitové kyvety (jedna z metod odhadu účinnosti). Opět bylo provedeno také porovnání s referenčním chemickým generováním (CVG/GF-AAS). Analyzován byl certifikovaný referenční materiál či byl studován vliv případných interferentů na stanovení selenu metodou UV-PVG/GF-AAS. Údaje týkající se odolnosti metody vůči interferencím jsou k dohledání v **Příloze 4 („3.2 Effect of concomitants“)**, v omezené míře jsou probírány také v podkapitole **4.9 Interferenční studie**.

### 4.8.1 Ověření optimálních podmínek generování těkavých sloučenin

V první řadě byly ověřeny experimentální podmínky týkající se UV-fotochemického generování těkavých sloučenin, které byly navrženy při optimalizaci metody UV-PVG/QF-AAS. Těkavé sloučeniny byly generovány v UV-fotoreaktoru Teflon II, generování bylo opět prováděno v režimu kontinuální průtokové analýzy bez/s přídavkem kyseliny dusičné. Během optimalizační studie bylo pracováno se standardním roztokem Se(IV) o koncentraci  $0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ .

Jak se dalo předpokládat, měřené závislosti měly obdobný průběh jako při experimentech s QF-AAS detekcí a optimální hodnoty jednotlivých testovaných parametrů zůstaly téměř nezměněny. Zaznamenávány byly výšky i plochy píků. Lepší

opakovatelnost byla zjištěna, pokud byly hodnoceny výšky píků. Není-li uvedeno jinak, výškám píků odpovídají i zde ukázané naměřené závislosti. Jako fotochemické činidlo byla ponechána  $0,5 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCOOH}$ . Na stejné hodnotě  $4,5 \text{ ml min}^{-1}$  zůstala také průtoková rychlost, jakou byl do UV-fotoreaktoru čerpán vzorek. Veškerá měření byla prováděna jak s přidavkem  $5,0 \text{ mmol l}^{-1} \text{ HNO}_3$ , tak bez něj. Obdobně jako při optimalizaci s křemenným atomizátorem vedl přidavek kyseliny dusičné k podstatnému zvýšení analytického signálu (zde přibližně k jednomu a půl násobnému). Nárůst signálu byl opět pozorován pouze v úzkém koncentračním rozmezí, totéž platilo i pro dusičnany.

V souvislosti s nosným plynem bylo potvrzeno, že již malé změny v průtoku argonu (jednotky  $\text{ml min}^{-1}$ ) vedly k významným změnám výšky/plochy píku. Testováno bylo zavádění argonu před UV-fotoreaktor, za UV-fotoreaktor nebo do obou poloh současně, přičemž signály byly ve všech třech případech srovnatelné. Ponecháno bylo doposud upřednostňované zavádění argonu před UV-fotoreaktor. Optimální hodnoty zůstaly na stejné úrovni ( $13 \text{ ml min}^{-1}$  při UV-PVG) nebo mírně klesly při měřeních s kyselinou dusičnou ( $8 \text{ ml min}^{-1}$  při UV-PVG/GF-AAS oproti  $11 \text{ ml min}^{-1}$  při UV-PVG/QF-AAS).

Pokud jde o vodík, jehož zavádění do aparatury bylo klíčové pro úspěšný průběh atomizace analytu v křemenném atomizátoru, pro atomizaci v grafitové kyvetě nebyl jeho přidavek opodstatněný. Důvodem je odlišný způsob, jakým vznikají volné atomy analytu (v grafitové kyvetě se jedná o termicky řízený proces). Pro ověření nadbytečnosti vodíku v uspořádání s grafitovou kyvetou byla sledována změna analytického signálu v důsledku přívodu tohoto plynu do aparatury; signál byl konstantní v celém studovaném rozsahu průtoků do  $15,0 \text{ ml min}^{-1}$  vodíku. Nabízela se otázka, proč zvyšující se přívod plynů (argon + vodík) do grafitové kyvety nad optimální hodnotu danou průtokovou rychlostí argonu nevedl k poklesu signálu selenu. Vysvětlení může být několik. Například, vodík se mohl sorbovat na povrchu iridia (platinové kovy jsou obecně schopny absorbovat velké množství molekulárního vodíku). Nižší molekulová hmotnost vodíku a jeho nižší transportní schopnost (a tedy i omezená schopnost předčasně vypuzovat analyt z kyvety) by mohly být další příčinou.

Přesné podmínky generování těkavých sloučenin využívané ke stanovení selenu metodou UV-PVG/GF-AAS včetně popisu naměřených optimalizačních závislostí jsou součástí **Přílohy 4**. Jsou zde uvedeny také údaje týkající se CVG, které byly, až na



průtokovou rychlost nosného plynu, přejaty z optimalizační studie zaměřené na stanovení selenu metodou CVG/QF-AAS. Vliv průtokové rychlosti argonu na analytický signál selenu byl studován znovu, optimálně byl zapotřebí podstatně vyšší průtok než při experimentech s křemenným atomizátorem. Jako optimální byla vybrána průtoková rychlost  $60 \text{ ml min}^{-1}$ . Potřebný vyšší průtok nosného plynu může souviset s dynamikou záchytu analytu na modifikovaném povrchu grafitového atomizátoru.

#### **4.8.2 Optimalizace experimentálních podmínek při *in situ* záchytu**

Druhá část optimalizace souvisela s procesy probíhajícími v grafitové kyvetě modifikované stálým iridiovým povlakem (modifikace je popsána v oddílu **3.4.3 UV-fotochemické generování v kombinaci s GF-AAS**). Bylo nutné sestavit několika fázový teplotní program zahrnující proces záchytu těkavých sloučenin, následnou volatilizaci a atomizaci. Jednotlivé experimentální parametry byly optimalizovány samostatně pro UV-PVG (bez/s kyselinou dusičnou) i pro CVG.

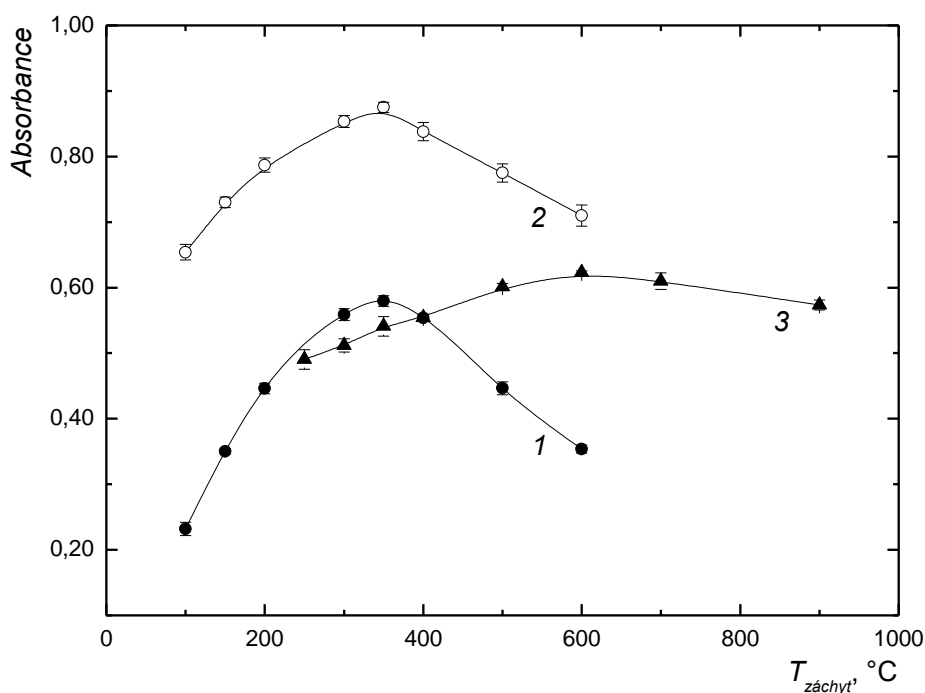
##### **4.8.2.1 Poloha zaváděcí kapiláry vůči dnu grafitové kyvety**

Těkavé sloučeniny byly do grafitové kyvety zaváděny prostřednictvím automaticky ovládaného dávkovacího zařízení, což vedlo nejen k přesnému časování jednotlivých kroků při dávkování, ale také ke značnému usnadnění manipulace s tímto zařízením. Na konec dávkovacího ramene připevněná křemenná kapilára (viz. **3.3.4 Dávkovací zařízení při *in situ* záchytu**) byla automaticky zasouvána do dávkovacího otvoru grafitové kyvety za účelem záchytu těkavých sloučenin; před zahájením atomizačního kroku byla kapilára opět vysunuta. Experimentálně bylo ověřeno, že poloha kapiláry při zavádění těkavé formy analytu nemá významný vliv na účinnost záchytu, pokud se ovšem nejednalo o krajní polohy. Konkrétně, pokud se ústí kapiláry dotýkalo vnitřní stěny kyvety (dna) nebo pokud byla kapilára zasunována nedostatečně (ústí kapiláry na úrovni dávkovacího otvoru), docházelo ke zhoršení opakovatelnosti naměřeného analytického signálu. Jako optimální byla zvolena vzdálenost přibližně 2 mm ode dna grafitové kyvety.

#### 4.8.2.2 Teplota grafitové kyvety v průběhu záchytu

Je známo, že účinnost kolekce těkavých sloučenin úzce souvisí s teplotou, na kterou je grafitová kyveta ve fázi záchytu vyhřívána. Zatímco při nízkých teplotách by účinnost záchytu mohla být omezena např. z důvodu nedostatečného odstranění případných kapiček aerosolu reakční směsi bránících záchytu, volba příliš vysokých teplot by naopak mohla vést ke ztrátám a/nebo k problémům s přívodní křemennou kapilárou. Docházet by mohlo k předčasnému rozkladu těkavých sloučenin právě již v přívodní kapiláře nebo k omezení životnosti této kapiláry<sup>3,157</sup>.

Při UV-PVG/GF-AAS byl sledován vliv teploty grafitové kyvety v průběhu záchytu těkavých sloučenin v intervalu 100 – 600 °C. Jak je patrné ze závislosti na **Obr. 4.22**, analytický signál rostl přibližně do teploty 300 – 400 °C, při vyšších teplotách postupně klesal. Pro další měření bez/s kyselinou dusičnou byla vybrána teplota 350 °C. V případě, kdy byly v kyvetě kumulovány těkavé sloučeniny formované na základě redukce analytu tetrahydridoboritanem sodným, bylo optimálně zapotřebí kyvetu vyhřívát na mnohem vyšší teplotu než při záchytu těkavých sloučenin generovaných UV-fotochemicky (závislost pro CVG je též součástí **Obr. 4.22**). Nejvyšší signály byly pozorovány při teplotě 500 – 700 °C, jako optimální byla zvolena teplota 600 °C. Nesoulad v teplotách mohl souviset s rozdílnými průtokovými rychlostmi nosného plynu. Podstatně vyšší průtok argonu při CVG mohl způsobovat ochlazování grafitové kyvety, které pak bylo, teoreticky, nutné kompenzovat právě jejím intenzivnějším ohřevem. K ochlazení kyvety mohl přispívat také vodík uvolňovaný rozkladem redukčního činidla během CVG; tepelná vodivost vodíku je více jak desetinásobně vyšší oproti argonu. Další možné vysvětlení by mohlo souviset s odlišnými těkavými produkty generovanými při UV-PVG a CVG, které by mohly být zachytávány/rozkládány za odlišných teplotních podmínek.



**Obr. 4.22** Vliv teploty grafitové květy na analytický signál Se(IV) v průběhu *in situ* záchytu těkavých sloučenin

Selen byl stanovován metodou UV-PVG/GF-AAS (1, 2) nebo metodou CVG/GF-AAS (3)

Obě metody:  $c_{Se(IV)} = 0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ ;  $d_{kap} = 2,0 \text{ mm}$ ;  $T_{atom} = 2\,000 \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $t_{záchyty} = 60 \text{ s}$

UV-PVG/GF-AAS: pracováno bylo s UV-fotoreaktorem Teflon II a měření byla prováděna pouze v přítomnosti fotochemického činidla  $0,5 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCOOH}$  (1) nebo byla do analyzovaných roztoků navíc přidána  $5,0 \text{ mmol l}^{-1} \text{ HNO}_3$  (2)

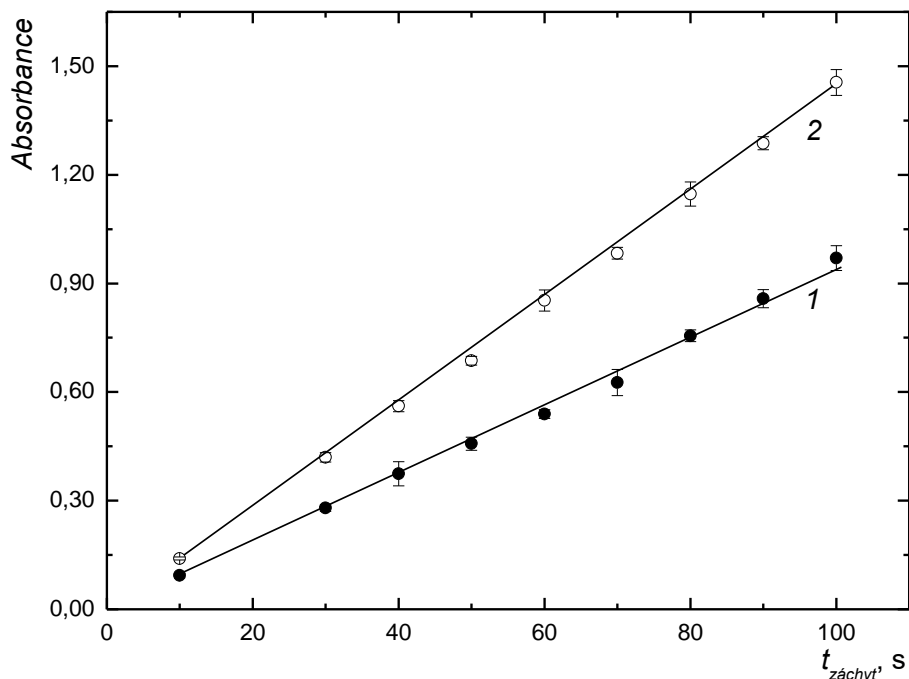
$l_{cívka} = 3,5 \text{ m}$ ;  $Q_{vz} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 13 \text{ ml min}^{-1}$  (1) nebo  $Q_{Ar} = 8 \text{ ml min}^{-1}$  (2)

CVG/GF-AAS:  $w_{NaBH_4} = 0,5 \%$ ;  $Q_{NaBH_4} = 0,7 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $c_{HCl} = 1,0 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{vz} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 60 \text{ ml min}^{-1}$

#### 4.8.2.3 Doba trvání záchytu těkavých sloučenin

S prodlužující se dobou záchytu analytický signál v podstatě lineárně roste. Čím déle totiž byly těkavé produkty kumulovány, tím více volných atomů bylo uvolněno při následné atomizaci a tím vyšší byly také výsledné signály. Při výběru optimální doby záchytu byla brána v potaz nejen dosažená citlivost, ale také časová náročnost analýzy. Jako dostačující byl zvolen 60 s trvající záchyt (UV-PVG i CVG). Závislost analytického

signálu na době, po kterou byly v grafitové kyvetě kumulovány UV-fotochemicky vygenerované těkavé sloučeniny, je ukázána na **Obr. 4.23** (křivka pro CVG není pro přehlednost součástí obrázku, téměř by se překrývala s křivkou 1).



**Obr. 4.23** Vliv doby trvání záchytu těkavých sloučenin na analytický signál Se(IV)

Selen byl stanovován metodou UV-PVG/GF-AAS; pracováno bylo s UV-fotoreaktorem Teflon II; měření byla prováděna pouze v přítomnosti fotochemického činidla  $0,5 \text{ mol l}^{-1}$  HCOOH (1) nebo byla do analyzovaných roztoků navíc přidána  $5,0 \text{ mmol l}^{-1}$  HNO<sub>3</sub> (2)

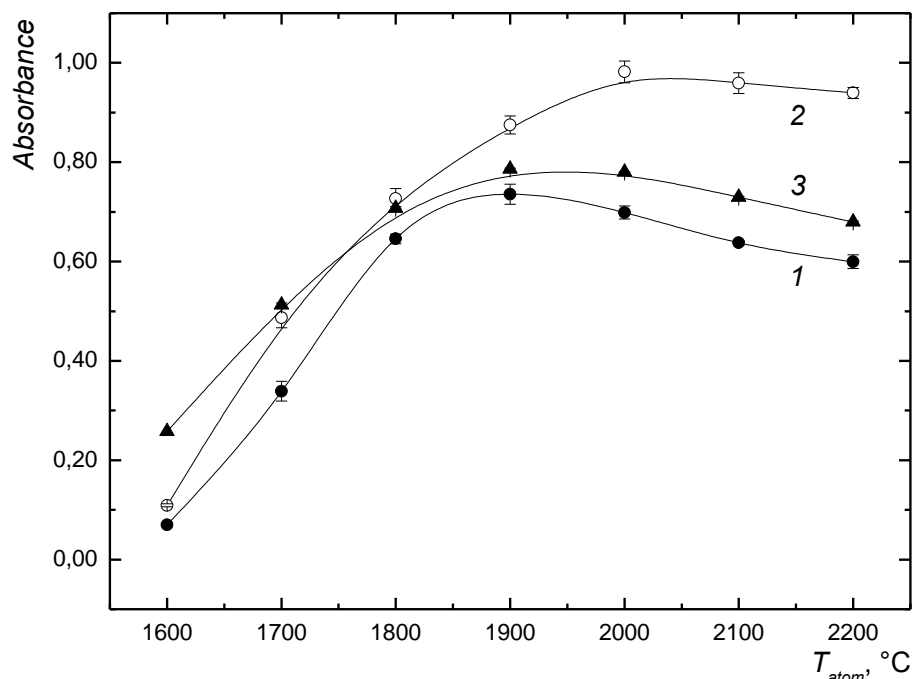
$c_{\text{Se(IV)}} = 0,5 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ ;  $d_{\text{kap}} = 2,0 \text{ mm}$ ;  $T_{\text{atom}} = 2\,000 \text{ } ^\circ\text{C}$ ;  $T_{\text{zachyt}} = 350 \text{ } ^\circ\text{C}$

$l_{\text{cívka}} = 3,5 \text{ m}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 13 \text{ ml min}^{-1}$  (1) nebo  $Q_{\text{Ar}} = 8 \text{ ml min}^{-1}$  (2)

#### 4.8.2.4 Atomizační teplota

Při výběru vhodné atomizační teploty bylo nutné vyvarovat se příliš vysokých teplot, které by mohly vést k narušení iridiového povlaku grafitové kyvety. Zkoušena byla postupně teplota  $1\,500 - 2\,300 \text{ } ^\circ\text{C}$ . Ze závislosti na **Obr. 4.24** lze vyčíst, že při stanovení selenu metodou UV-PVG/GF-AAS s kyselinou dusičnou byly nejvyšší analytické signály zaznamenány tehdy, pokud byla kyveta při atomizaci odporově vyhřívána na  $2\,000 \text{ } ^\circ\text{C}$ . Stejná teplota byla vybrána jako optimální i pro analýzu vzorků

s přidavkem kyseliny dusičné, ačkoliv o něco vyšší signály (do 5 %) byly zjištěny při teplotě 1 900 °C. Vyšší teplota byla zvolena z důvodu lepší opakovatelnosti analytického signálu a nižší hodnotě slepého pokusu. Také pro CVG byla zvolena atomizační teplota 2 000 °C.



**Obr. 4.24 Vliv atomizační teploty na analytický signál Se(IV)**

Selen byl stanovován metodou UV-PVG/GF-AAS (1, 2) nebo metodou CVG/GF-AAS (3)

Obě metody:  $c_{Se(IV)} = 0,5 \mu\text{g l}^{-1}$ ;  $d_{kap} = 2,0 \text{ mm}$ ;  $t_{záchyt} = 60 \text{ s}$

UV-PVG/GF-AAS: pracováno bylo s UV-fotoreaktorem Teflon II; měření byla prováděna pouze v přítomnosti fotochemického činidla  $0,5 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCOOH}$  (1) nebo byla do analyzovaných roztoků navíc přidána  $5,0 \text{ mmol l}^{-1} \text{ HNO}_3$  (2);  $T_{záchyt} = 350 \text{ °C}$ ;  $l_{cívka} = 3,5 \text{ m}$ ;  $Q_{vz} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 13 \text{ ml min}^{-1}$  (1) nebo  $Q_{Ar} = 8 \text{ ml min}^{-1}$  (2)

CVG/GF-AAS:  $T_{záchyt} = 600 \text{ °C}$ ;  $w_{NaBH_4} = 0,5 \%$ ;  $Q_{NaBH_4} = 0,7 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $c_{HCl} = 1,0 \text{ mol l}^{-1}$ ;  $Q_{vz} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{Ar} = 60 \text{ ml min}^{-1}$

#### 4.8.2.5 Souhrnná tabulka – teplotní program

Optimální teplotní program používaný při *in situ* záchytu těkavých sloučenin v grafitové kyvetě atomového absorpčního spektrometru je shrnut v **Tabulce 4.15**.

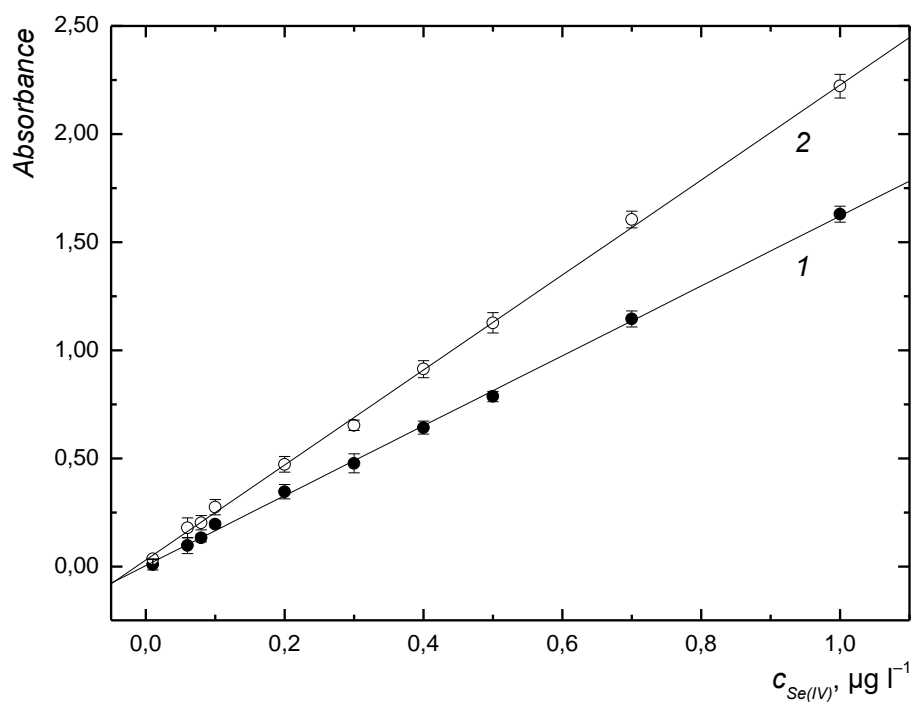
V tabulce jsou uvedeny hodnoty pro záchyt těkavých sloučenin generovaných UV-fotochemicky i chemicky. V posledním sloupci tabulky jsou zaznamenány průtokové rychlosti argonu, který byl používán k vytvoření ochranné atmosféry zamezující přístupu kyslíku ze vzduchu k rozžhavenému grafitu (ochrana před shořením kyvety); ve 2. – 3. fázi teplotního programu byl přísun argonu nulový, aby nedocházelo k nechtěnému předčasnému vypuzení těkavých sloučenin z grafitové kyvety ještě před vlastní atomizací.

**Tabulka 4.15** Optimální teplotní program pro *in situ* záchyt těkavých sloučenin selenu v grafitové kyvetě atomového absorpčního spektrometru

Fáze	Procedura	Teplota (°C)		Trvání fáze (s)	Průtok argonu (l min <sup>-1</sup> )
		UV-PVG	CVG		
1	Zasunutí kapiláry	350	600	5	1
2	Záchyt	350	600	60	0
3	Vysunutí kapiláry	350	600	5	0
4	Atomizace	2 000	2 000	3	0
5	Atomizace	2 000	2 000	2	1
6	Čištění	2 200	2 200	2	3

#### 4.8.3 Základní analytické charakteristiky

Za optimálních pracovních podmínek byla provedena kalibrace. Při UV-PVG i CVG byly kalibrační křivky lineární do koncentrace 1,0 µg l<sup>-1</sup> Se(IV) a to bez ohledu na to, zda byly vyhodnocovány výšky či plochy píků. Při vyšších koncentracích selenu již výrazně klesala opakovatelnost signálu pravděpodobně z důvodu příliš vysokých absorbancí; u výšek píků značně převyšovala hodnotu 2. Kalibrační křivky odpovídající stanovení selenu metodou UV-PVG/GF-AAS bez/s kyselinou dusičnou jsou ukázány na **Obr. 4.25** (hodnoceny výšky píků) a **Obr. 4.26** (hodnoceny plochy píků); v grafu z praktických důvodů opět chybí křivky odpovídající CVG, protože by se téměř kryly s křivkami příslušejícími UV-PVG bez přidané kyseliny dusičné.

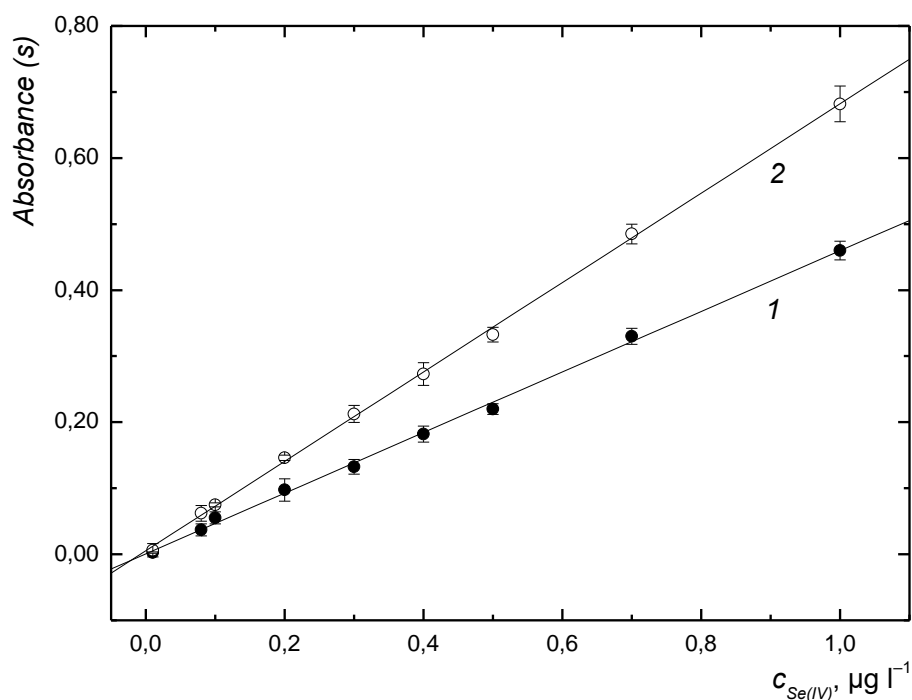


**Obr. 4.25 Kalibrační závislost – stanovení selenu metodou UV-PVG/GF-AAS (hodnoceny výšky píků)**

*Selen byl stanovován metodou UV-PVG/GF-AAS; pracováno bylo s UV-fotoreaktorem Teflon II; měření byla prováděna pouze v přítomnosti fotochemického činidla  $0,5 \text{ mol l}^{-1}$  HCOOH (1) nebo byla do kalibračních roztoků navíc přidána  $5,0 \text{ mmol l}^{-1}$  HNO<sub>3</sub> (2)*

*$d_{\text{kap}} = 2,0 \text{ mm}$ ;  $T_{\text{atom}} = 2\,000 \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $T_{\text{záchyt}} = 350 \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $t_{\text{záchyt}} = 60 \text{ s}$*

*$l_{\text{cívka}} = 3,5 \text{ m}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 13 \text{ ml min}^{-1}$  (1) nebo  $Q_{\text{Ar}} = 8 \text{ ml min}^{-1}$  (2)*



**Obr. 4.26 Kalibrační závislost – stanovení selenu metodou UV-PVG/GF-AAS (hodnoceny plochy píků)**

Selen byl stanovován metodou UV-PVG/GF-AAS; pracováno bylo s UV-fotoreaktorem Teflon II; měření byla prováděna pouze v přítomnosti fotochemického činidla  $0,5 \text{ mol l}^{-1}$  HCOOH (1) nebo byla do kalibračních roztoků navíc přidána  $5,0 \text{ mmol l}^{-1}$  HNO<sub>3</sub> (2)

$d_{\text{kap}} = 2,0 \text{ mm}$ ;  $T_{\text{atom}} = 2\,000 \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $T_{\text{záchyt}} = 350 \text{ }^\circ\text{C}$ ;  $t_{\text{záchyt}} = 60 \text{ s}$

$l_{\text{cívka}} = 3,5 \text{ m}$ ;  $Q_{\text{vz}} = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ;  $Q_{\text{Ar}} = 13 \text{ ml min}^{-1}$  (1) nebo  $Q_{\text{Ar}} = 8 \text{ ml min}^{-1}$  (2)

V dalším kroku byly určeny základní analytické charakteristiky stanovení selenu metodou UV-PVG/GF-AAS (s/bez přidavku kyseliny dusičné) a CVG/GF-AAS. Z hodnot shrnutých v **Tabulce 4.16** je zřejmé, že byla pro daný účel vyhodnocována výška píku (absorbance) i plocha píku (integrovaná absorbance); lepších výsledků bylo dosaženo při hodnocení výšky píků. Kromě koncentračních mezí detekce/stanovitelnosti ( $\text{ng l}^{-1}$ ) jsou v tabulce uvedeny absolutní meze detekce/stanovitelnosti (pg) zohledňující průtokovou rychlost vzorku a dobu kolekce těkavých sloučenin v grafitové kyvetě.



Citlivost je vyjádřena jako směrnice kalibrační křivky, uvedena je také v souvislosti s GF-AAS obvykle upřednostňovaná charakteristická hmotnost (pg).

Celkově nejnižší meze detekce a nejvyšší citlivosti byly dosaženy při UV-PVG/GF-AAS s přidáním kyseliny dusičnou. Podobné výsledky byly získány pro UV-PVG bez kyseliny dusičné a pro CVG. Opakovatelnost nepřesáhla ani v jednom případě hranici 4 %.

**Tabulka 4.16** Základní analytické charakteristiky pro selen stanovený metodami UV-PVG/GF-AAS a CVG/GF-AAS

Parametr	UV-PVG				CVG	
	Bez HNO <sub>3</sub>		S HNO <sub>3</sub>		Výška píku	Plocha píku
	Výška píku	Plocha píku	Výška píku	Plocha píku		
Charakter. hmotnost (pg)	12	43	10	33	13	49
LOD (ng l <sup>-1</sup> )	6	18	4	15	8	19
LOQ (ng l <sup>-1</sup> )	19	60	14	49	28	64
Absolutní LOD (pg)	26	81	18	66	37	86
Absolutní LOQ (pg)	86	270	61	220	124	286
Citlivost (10 <sup>-6</sup> l ng <sup>-1</sup> )	1 616	461	1 989	604	1 556	402
RSD (%)	3,2	3,9	3,0	3,5	2,7	3,9

- **Porovnání s atomizací v křemenném atomizátoru**

Zařazení kolekce těkavých sloučenin prostřednictvím *in situ* záchyty splnilo svůj účel. Meze detekce se tímto krokem podařilo snížit až o jeden řád (při hodnocení výšek píků) ve srovnání s přímou atomizací v křemenném atomizátoru (k porovnání **Tabulka 4.16** a **Tabulka 4.4** – sloupce týkající se Teflonu II). Ještě zřetelnějšímu vylepšení hodnot bránily zejména vyšší hodnoty slepých pokusů při experimentech s grafitovou kyvetou. Tomu nasvědčují i rozdíly v citlivostech, kdy při UV-PVG/GF-AAS byly zjištěny až padesátkrát vyšší hodnoty oproti UV-PVG/QF-AAS. Navíc, další posun směrem k lepším citlivostem by byl možný tehdy, pokud by byla prodloužena kolekce těkavých sloučenin v grafitové kyvetě ze stávajících 60 s. Při *in situ* záchyty těkavých

sloučenin byl zaznamenán pokles opakovatelnosti (z cca 1,5 % na více než 3 %), který také mohl do značné míry negativně ovlivnit dosažené LOD.

- **Porovnání s ostatními autory**

Součástí publikace (**Příloha 4**) je tabulka („**Table 8**“), ve které jsou pro představu ukázány základní analytické charakteristiky dosažené pro selen ostatními autory. Vybráno bylo několik prací, jejichž společným jmenovatelem bylo generování těkavých sloučenin selenu s následným záchytem a atomizací v grafitové kyvetě. Zvoleny byly práce zaměřené většinou na CVG, protože stanovení selenu s využitím techniky UV-PVG bylo v této souvislosti popsáno zatím jen výjimečně. Obecně lze konstatovat, že v porovnání s ostatními přístupy vyznívají dosažené výsledky pozitivně. Tabulka je také doplněna o hodnoty, které byly získány v laboratoři spektrometrických metod (PřF UK) při elektrochemickém generování těkavých sloučenin s následným záchytem v grafitové kyvetě<sup>114</sup>. Měření byla provedena se stejným spektrometrem i typem kyvety, avšak jako modifikátor posloužilo palladium. Nižší meze detekce a vyšší citlivost byly získány s nově navrhovaným způsobem generování, opakovatelnost byla o něco lepší při ECVG.

- **Analýza certifikovaného referenčního materiálu a vzorků vod**

K ověření správnosti navržené metody UV-PVG/GF-AAS byla provedena analýza SRM NIST 1643e a dvou vzorků říčních vod (Vltava, Praha). Dosaženo bylo dobré shody mezi certifikovaným a experimentálně zjištěným obsahem selenu (pro UV-PVG bez/s kyselinou dusičnou). Také u vzorků vod byly získány uspokojivé procentuální návratnosti (91 – 104 %). Souhrnná tabulka s číselnými údaji je součástí **Přílohy 4** („**Table 7**“).

#### **4.8.4 Porovnání s přímým zaváděním kapalného vzorku do grafitové kyvety**

Pro odhad účinnosti UV-PVG bylo provedeno porovnání s přímým zaváděním kapalného vzorku do grafitové kyvety (považováno za 100%). Porovnávány byly směrnice kalibračních křivek. Na osu x byly vynášeny absolutní koncentrace selenu zohledňující dobu záchytu těkavých sloučenin a rychlost čerpání vzorku (UV-PVG/GF-

AAS), nebo dávkovaný objem kapalného vzorku do kyvety (přímé dávkování kapalných vzorků). Na osu y byly vyneseny výšky/plochy píků změřené pro kalibrační roztoky s různým obsahem Se(IV).

Odhadnuté účinnosti UV-PVG i CVG jsou shrnuty v **Tabulce 4.17**. Dle očekávání byly nejvyšší účinnosti dosaženy pro UV-PVG s přidanou kyselinou dusičnou. Celkově nižší účinnosti, avšak větší shoda mezi hodnotami odpovídajícími výškám a plochám píků, byla zjištěna pro UV-PVG bez kyseliny dusičné a pro CVG; hodnoty pro tyto dva experimentální systémy byly srovnatelné.

**Tabulka 4.17** Odhad účinnosti generování těkavých sloučenin na základě porovnání s přímým zaváděním kapalného vzorku do grafitové kyvety

Způsob generování těkavých sloučenin	Účinnost (%)	
	Výška píku	Plocha píku
UV-fotochemické generování (bez HNO <sub>3</sub> )	65 ± 3	68 ± 4
UV-fotochemické generování (s HNO <sub>3</sub> )	80 ± 3	89 ± 5
Chemické generování	63 ± 3	60 ± 3
<b>Přímé dávkování kapalného vzorku</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

Pokud by měly být zde uvedené účinnosti porovnány s hodnotami získanými na základě experimentů s radioindikátorem <sup>75</sup>Se (**4.6.2 Experimenty s radioaktivním indikátorem <sup>75</sup>Se**), mohlo by být pro Teflon II vyřčeno následující: Lepší shody bylo dosaženo pro UV-PVG bez přídavku kyseliny dusičné, kdy byla v této části studie účinnost generování odhadnuta přibližně na 65 % a při experimentech s radioindikátorem selenu to bylo zhruba 10 % méně. Při generování s kyselinou dusičnou byl rozdíl v účinnostech větší; přibližně o 20 % (výšky píku) až 30 % (plochy píku) nižší účinnosti byly určeny při objektivnějším způsobu kvantifikace účinnosti. Také v případě CVG byly nižší účinnosti zjištěny při experimentech s radioindikátorem selenu.

## 4.9 Interferenční studie

Hlavním cílem poslední části disertační práce bylo objasnit, jaký vliv mají na stanovení selenu metodou UV-PVG/QF-AAS různé anorganické ionty. Pro studium byly vybrány zástupci přechodných kovů a ostatních hydridotvorných prvků, čili hlavní interferenty při chemickém generování těkavých sloučenin. Zjišťován byl také vliv minerálních kyselin a příslušných solí na analytický signál selenu.

Pracováno bylo s UV-fotoreaktorem Teflon II, jako fotochemické činidlo byla zvolena kyselina mravenčí o koncentraci  $0,5 \text{ mol l}^{-1}$ . Pokusy byly opět prováděny jak bez kyseliny dusičné, tak s  $5,0 \text{ mmol l}^{-1}$  přídavkem této kyseliny do analyzovaných roztoků. Koncentrace selenu při experimentech činila  $5,0 \text{ } \mu\text{g l}^{-1} \text{ Se(IV)}$ . Měření byla uskutečněna za optimálních experimentálních podmínek shrnutých v **Tablce 4.1**. Pro porovnání byla studie provedena i pro srovnávací CVG; pracováno bylo se stejnou koncentrací standardu Se(IV) jako při UV-PVG, dle pracovních podmínek uvedených v **Tabulce 4.3**.

Prakticky byl nejprve změřen analytický signál pro vzorek s obsahem  $5,0 \text{ } \mu\text{g l}^{-1} \text{ Se(IV)}$  bez přítomnosti interferujících složek, připravený pouze v prostředí fotochemického činidla bez/s přídavkem kyseliny dusičné (UV-PVG); nebo v prostředí kyseliny chlorovodíkové (CVG). Následně byly zaznamenávány odezvy detektoru na vzorky, které navíc obsahovaly i interferent o vzrůstající koncentraci. Po každém vzorku byl změřen signál slepého pokusu, aby se ověřilo, zda nedochází k paměťovému efektu. Ze stejného důvodu byl nakonec pokusu opět proměřen vzorek bez přidaného interferentu. Zmíněný efekt pozorován nebyl, absorbance před/po experimentu nevykazovaly významné odchylky. Toleranční limity (většinou definované jako koncentrační interval interferentu, pro který se analytický signál čistého analytu a analytu s přidaným interferentem liší maximálně o 10%) určovány nebyly. A to zejména kvůli nejednoznačnému průběhu naměřených závislostí u metody UV-PVG/QF-AAS; u většiny testovaných interferentů nebyl pozorován čistě rostoucí nebo klesající charakter naměřených závislostí. Nebylo výjimkou, že signál při nízkých koncentracích některých interferentů významně vzrostl, při vyšších koncentracích klesl na úroveň nulového přídavku a až další zvyšování jeho koncentrace vedlo k intenzivnějšímu poklesu signálu. Místo tolerančních limitů jsou uvedeny přehledné tabulky (**Tabulka 4.18 – 4.21**), ve kterých jsou porovnávány interferenční vlivy vždy pro pět vybraných koncentrací interferentu. Voleny byly povětšinou takové koncentrace, které byly určitým způsobem

důležité pro vývoj naměřených závislostí při UV-PVG; například absorbance při dané koncentraci interferentu výrazně poklesla/vzrostla. Interferenční vlivy jsou v tabulkách vyjádřeny jako procentuální shoda mezi analytickými signály získanými proměřováním vzorků bez interferentů (100 %) a s určitým jejich přídatkem. V tabulkách nejsou uvedeny nejistoty (měření byla pro každou koncentraci interferentu provedena třikrát). Pro všechny uvedené hodnoty ale platí, že směrodatná odchylka nepřesáhla 5 % (procentuální shoda  $\pm 5$  %).

Interferenční studie (s menším počtem testovaných interferentů) byla provedena také v rámci stanovení Se(IV) metodou UV-PVG/GF-AAS, dosažené výsledky jsou k dohledání v **Příloze 4 („Table 5“)** a pouze případné významnější rozdíly mezi výsledky získanými pro oba detekční systémy budou diskutovány v této kapitole.

#### **4.9.1 Minerální kyseliny a jejich soli**

Vliv **kyseliny dusičné a dusičnanů** byl studován již v rámci optimalizační studie (**4.3.1.7 Vliv přídatku kyseliny dusičné a dalších činidel**). Bylo zjištěno, že je UV-PVG selenu značně náchylné k přítomnosti kyseliny dusičné a dusičnanů. Pro potřeby disertační práce byl využit poznatek, že může tato kyselina analytický signál nejen potlačovat, ale v úzkém koncentračním rozmezí může naopak přispět k jeho výraznému zvýšení (podobné závěry platily i pro dusičnany). Následné experimenty potvrdily, že má kyselina dusičná pozitivní vliv na dosažené meze detekce a stanovitelnosti, citlivost i celkovou účinnost UV-PVG selenu.

Kromě kyseliny dusičné byl dále studován vliv dalších minerálních kyselin (HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) a jejich solí (NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) na stanovení selenu metodou UV-PVG/QF-AAS s UV-fotoreaktorem Teflon II. Stručně shrňme, že při zjišťování vlivu **kyseliny chlorovodíkové** byl taktéž zaznamenán nárůst analytického signálu selenu vlivem jejího přídatku k analyzovaným roztokům. Zvýšení nebylo tak výrazné (cca o 30 – 40 %) jako v případě kyseliny dusičné a pozorováno bylo v širším koncentračním rozmezí (5,0 – 50,0 mmol l<sup>-1</sup> HCl). **Kyselina sírová** neměla pozitivní vliv na analytickou odezvu v žádném rozsahu koncentrací, téměř jakýkoliv její přídatek způsoboval pokles signálu (např. téměř 30% pokles absorbance při koncentraci 10,0 mmol l<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Analytický signál nezvyšovala ani **kyselina fosforečná**, tolerance

vůči její přítomnosti však byla oproti kyselině sírové podstatně vyšší (přibližně třetinový pokles byl pozorován mezi  $0,1 \text{ mol l}^{-1}$  až  $1,0 \text{ mol l}^{-1} \text{ H}_3\text{PO}_4$ ).

Vyšší odolnost analytického signálu byla zjištěna vůči přítomnosti testovaných solí. Ve sledovaném koncentračním rozmezí do  $0,5 \text{ mol l}^{-1}$  nebyla pozorována výrazná změna analytického signálu vlivem přidavku **síranů** (signál pozvolna rostl) a **fosforečnanů**. V případě **chloridů** byla absorbance stálá (výkyvy signálu pod 10 % oproti absorbanci odpovídající nulovému přidavku soli) do koncentrace  $0,1 \text{ mol l}^{-1} \text{ NaCl}$ . Částečně odlišné chování bylo zaznamenáno během stanovení selenu metodou UV-PVG/GF-AAS (viz. **Příloha 4, „Fig. 6“**), kdy závislost při nízkých koncentracích chloridu sodného více kopírovala tu, která byla naměřena pro vzorky s přidanou kyselinou chlorovodíkovou; při  $25,0 \text{ mmol l}^{-1} \text{ NaCl}$  signál vzrostl cca o 40 % oproti stavu bez přidané soli.

Vliv přidavku minerálních kyselin a solí byl sledován i ve spojení s chemickým generováním těkavých sloučenin selenu. Kyselina chlorovodíková běžně slouží jako reakční médium při CVG. Pro potřeby této práce byla využívána  $1,0 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCl}$ , ovšem signál selenu byl stálý i při podstatně vyšších koncentracích; sledován byl vliv přidavku až do koncentrace  $6,0 \text{ mol l}^{-1} \text{ HCl}$ . Pokud byly do analyzovaných roztoků s obsahem Se(IV) kromě kyseliny chlorovodíkové navíc přidávány ostatní minerální kyseliny, vlivem přidané kyseliny sírové a kyseliny fosforečné se signál pohyboval na stejné úrovni minimálně do koncentrace  $1,0 \text{ mol l}^{-1}$ . Pro kyselinu dusičnou vykazoval signál konstantní hodnotu do koncentrace  $0,1 \text{ mol l}^{-1}$ . Odolnost vůči přítomnosti studovaných solí byla v porovnání s UV-PVG podstatně vyšší v případě dusičnanů. Se zvyšující se koncentrací chloridů signál selenu postupně rostl (opačné chování oproti UV-PVG), pro sírany a fosforečnany bylo zjištěn přibližně stejný signál v celém studovaném rozsahu koncentrací.

**Tabulka 4.18** a **Tabulka 4.19** přináší srovnání vlivu vybraných minerálních kyselin a solí na analytický signál selenu při UV-PVG a CVG. Pro UV-PVG jsou uvedeny údaje vztahující se ke generování bez/s přidavkem kyseliny dusičné do analyzovaných roztoků. Jak je zřejmé z tabulek, u vzorků s kyselinou dusičnou se projevila celkově nižší odolnost vůči navíc přidaným kyselinám/solím.

**Tabulka 4.18** Vliv minerálních kyselin na stanovení selenu ( $5,0 \mu\text{g l}^{-1} \text{Se(IV)}$ ) metodami UV-PVG/QF-AAS a CVG/QF-AAS

*Vliv je vyjádřen jako procentuální shoda mezi analytickými signály naměřenými pro vzorky s nulovým přídatkem minerální kyseliny (100 %) a pro vzorky s přidanou kyselinou*

Přidaná kyselina	Koncentrace kyseliny ( $10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$ )	Shoda s nulovým přídatkem kyseliny (%)		
		UV-PVG Bez $\text{HNO}_3$	UV-PVG S $\text{HNO}_3$	CVG
$\text{HNO}_3$	5	185	–	105
	10	113	–	103
	15	48	–	103
	20	19	–	103
	50	6	–	104
$\text{HCl}$	10	136	119	–
	50	133	83	–
	100	100	42	–
	250	52	35	101
	500	11	0	98
$\text{H}_2\text{SO}_4$	5	92	94	95
	10	73	45	99
	50	57	6	101
	100	19	0	99
	500	0	0	97
$\text{H}_3\text{PO}_4$	10	96	85	108
	50	84	61	101
	100	74	46	103
	500	73	14	101
	1 000	70	6	101

**Tabulka 4.19** Vliv minerálních solí na stanovení selenu ( $5,0 \mu\text{g l}^{-1} \text{Se(IV)}$ ) metodami UV-PVG/QF-AAS a CVG/QF-AAS

*Vliv je vyjádřen jako procentuální shoda mezi analytickými signály naměřenými pro vzorky s nulovým přídatkem soli (100 %) a pro vzorky s přidanou solí*

Přidaná sůl	Koncentrace soli ( $10^{-3} \text{ mol l}^{-1}$ )	Shoda s nulovým přídatkem soli (%)		
		UV-PVG Bez $\text{HNO}_3$	UV-PVG S $\text{HNO}_3$	CVG
$\text{NaNO}_3$	5	180	40	94
	10	152	16	95
	20	41	6	97
	50	4	0	93
	100	0	0	91
$\text{NaCl}$	10	105	124	98
	50	92	111	104
	100	90	90	123
	250	47	26	144
	500	9	5	158
$\text{Na}_2\text{SO}_4$	10	92	97	92
	50	96	98	108
	100	104	94	108
	250	114	108	96
	500	117	113	92
$\text{Na}_3\text{PO}_4$	10	118	105	118
	50	98	87	120
	100	96	86	114
	250	91	78	102
	500	88	72	103



#### 4.9.2 Přejchodné kovy

Jako jedna z nevýhod chemického generování selenovodíku je často uváděna poměrně nízká tolerance vůči přechodným kovům 8 – 11 skupiny. Problematické jsou hlavně ionty kobaltu, niklu a mědi<sup>4</sup>. Právě vliv Co(II), Ni(II), Cu(II) na stanovení selenu byl sledován v rámci této studie, mimo to byly vybrány další zástupci iontů přechodných kovů: Fe(III), Mn(II), Cr(III), Cd(II), Ag(I).

- **Kobalt, nikl, měď**

Odolnost analytického signálu selenu vůči přítomnosti Co(II), Ni(II) a Cu(II) je zřejmá z **Tabulky 4.20 A**. Nejzávažnějším interferentem z těchto tří přechodných kovů byla při UV-PVG i CVG měď. Při UV-PVG platilo, že i přes počáteční nárůst analytického signálu při nízkých koncentracích, již přidavek 250  $\mu\text{g l}^{-1}$  Cu(II) (tedy poměr koncentrací interferentu a analytu 50:1) vedl k poklesu absorbance na čtvrtinovou hodnotu oproti měření bez Cu(II); při UV-PVG s přidanou kyselinou dusičnou byl pokles signálu ještě významnější. Při CVG vykazoval signál při dané koncentraci 90% shodu s nulovým přídatkem, významnější pokles byl patrný až při vyšších koncentracích Cu(II).

Pokud jde o zbývající dva interferenty, při UV-PVG bez HNO<sub>3</sub> měl přídatvek kobaltnatých iontů v koncentračním rozmezí 500 – 1 000  $\mu\text{g l}^{-1}$  za následek téměř dvojnásobné zvýšení analytického signálu. U Ni(II) nebylo zvýšení signálu tak výrazné (cca 20 %), pozorováno ale bylo v širším koncentračním rozpětí. V případě, že bylo UV-PVG uskutečněno s kyselinou dusičnou, nárůst signálu vlivem přídatku Co(II) nebo Ni(II) pozorován nebyl. Pro referenční CVG platilo, že byly absorbance na stále stejné úrovni (jako při nulovém přídatku) až do koncentrace 5 000  $\mu\text{g l}^{-1}$  Co(II); tolerance vůči přítomnosti Ni(II) byla nižší.

Vliv Co(II), Ni(II) a Cu(II) byl zjišťován také v rámci stanovení selenu metodou UV-PVG/GF-AAS. Vyšší tolerance byla zjištěna pro Co(II) a Cu(II), pro Ni(II) byly dosaženy srovnatelné výsledky. Studie byla provedena s desetkrát nižší koncentrací Se(IV).

- **Další přechodné kovy**

Vliv přítomnosti ostatních testovaných přechodných kovů na analytický signál selenu je shrnut v **Tabulce 4.20 B**. Jak pro UV-PVG (bez/s kyselinou dusičnou), tak i pro CVG byl nejsilnější interferenční efekt pozorován v přítomnosti Ag(I). Přídavek  $100 \mu\text{g l}^{-1}$  Ag(I) potlačoval signál selenu při UV-PVG v podstatě k nule; při CVG byl pokles přibližně 75%.

Další ionty přechodných kovů neměly v koncentračním rozmezí uvedeném v **Tabulce 4.20 B** takřka žádný vliv na změřené absorbance. Právě řečené se však týkalo pouze CVG. Jiná situace platila pro UV-PVG, přičemž rozdílné chování bylo pozorováno pro vzorky bez/s kyselinou dusičnou. V případě, kdy byla ke generování těkavých sloučenin selenu využita kyselina dusičná, analytický signál byl podstatně méně odolný vůči přítomnosti jednotlivých zkoušených iontů. Také bylo vyzorováno, že naměřené závislosti měly pouze klesající charakter; nebyly tedy pozorovány výkyvy signálů (např. přechodný nárůst signálu v určitém rozsahu koncentrací). Pokud byl analyt připraven pouze ve fotochemickém činidle, navíc přidaný Cr(III) a Mn(II) způsoboval nárůst signálu přibližně do koncentrace  $10 \text{ mg l}^{-1}$ , následný pokles při vyšších koncentracích byl výraznější u vzorků s Mn(II). Nárůst signálu nebyl zřejmý u Fe(III) a Cd(II). Signál měl téměř konstantní hodnotu přibližně do  $1 \text{ mg l}^{-1}$  Fe(III) a Cd(II); strmější pokles signálu s rostoucí koncentrací byl zaznamenán během experimentů s Cd(II). Železo bylo jedním z testovaných interferentů také v rámci interferenční studie při stanovení selenu metodou UV-PVG/GF-AAS. V uvedené studii byl pozorován přibližně 20% nárůst signálu v celém rozsahu studovaných koncentrací (až do  $10 \text{ mg l}^{-1}$  Fe(III)).

**Tabulka 4.20** Vliv přechodných kovů na stanovení selenu ( $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$  Se(IV)) metodami UV-PVG/QF-AAS a CVG/QF-AAS

*Vliv je vyjádřen jako procentuální shoda mezi analytickými signály naměřenými pro vzorky s nulovým přídatkem interferentu (100 %) a pro vzorky s přidáním interferentem*

**A) Kobalt, nikl, měď**

Přidaný iont	Koncentrace přidaného iontu ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )	Poměr koncentrací přidaný iont/selen	Shoda s nulovým přídatkem iontu (%)		
			UV-PVG Bez $\text{HNO}_3$	UV-PVG S $\text{HNO}_3$	CVG
Co(II)	50	10:1	97	109	96
	500	100:1	175	83	97
	1 000	200:1	188	63	99
	5 000	1 000:1	40	6	92
	10 000	2 000:1	13	2	75
Ni(II)	50	10:1	97	95	98
	500	100:1	118	96	88
	1 000	200:1	121	95	83
	10 000	2 000:1	127	62	42
	20 000	4 000:1	61	13	18
Cu(II)	10	2:1	165	126	92
	50	10:1	132	63	102
	100	20:1	86	35	103
	250	50:1	25	9	90
	500	100:1	14	3	61

## B) Další přechodné kovy

Přidaný iont	Koncentrace přidaného iontu ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )	Poměr koncentrací přidaný iont/selen	Shoda s nulovým přídatkem iontu (%)		
			UV-PVG	UV-PVG	CVG
			Bez $\text{HNO}_3$	S $\text{HNO}_3$	
Cr(III)	500	100:1	113	56	101
	5 000	1 000:1	141	48	103
	10 000	2 000:1	142	40	100
	20 000	4 000:1	92	15	99
	50 000	10 000:1	20	3	102
Mn(II)	500	100:1	106	75	105
	5 000	1 000:1	133	40	109
	10 000	2 000:1	123	31	105
	20 000	4 000:1	56	11	106
	50 000	10 000:1	12	2	107
Fe(III)	50	10:1	98	91	97
	500	100:1	103	95	99
	1 000	200:1	96	93	99
	10 000	2 000:1	64	18	93
	20 000	4 000:1	12	7	99
Ag(I)	5	1:1	95	28	99
	10	2:1	78	17	88
	20	4:1	59	13	84
	50	10:1	19	3	52
	100	20:1	4	0	25
Cd(II)	5	1:1	91	93	96
	50	10:1	107	60	98
	500	100:1	103	57	99
	1 000	200:1	82	0	104
	5 000	1 000:1	11	0	96

### 4.9.3 Hydridotvorné prvky

Při CVG (nejen) selenu bývají vedle interferencí vyplývajících z přítomnosti přechodných kovů problematické také interference způsobené ostatními hydridotvornými prvky. Projevit se mohou jak ve fázi generování těkavých sloučenin, tak i ve fázi atomizace.

Z údajů uvedených v **Tabulce 4.21** je na první pohled zřejmé, že hydridotvorné prvky způsobovaly významné interference nejen u chemického, ale i UV-fotochemického generování těkavých sloučenin. Pro interferenční studii byl vybrán As(III), Sb(III) a Pb(II). Při UV-PVG potlačovaly ionty arsenu a antimonu analytický signál částečně již při vzájemném poměru koncentrací 1:1. Při CVG byl sice pokles zaznamenán až při vyšších poměrech koncentrací interferent:analyt, avšak klesání bylo celkově strmější.

U olova byla situace trochu odlišná. Pokud byly těkavé sloučeniny selenu generovány reakcí s tetrahydridoboritanem sodným, signál byl v celém sledovaném rozsahu koncentrací až do  $1 \text{ mg l}^{-1}$  Pb(II) (v **Tabulce 4.21** jsou hodnoty jen do  $500 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ ) stále na stejné úrovni. V případě UV-PVG signál postupně klesal a již při  $500 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$  byl takřka nulový. Stejně jako u většiny dalších testovaných interferentů platilo, že při UV-PVG s kyselinou dusičnou signál klesal prudčeji.

Pokud byl sledován vliv As(III) a Sb(III) na signál selenu při UV-PVG/GF-AAS, byla zjištěna vyšší odolnost vůči přítomnosti těchto iontů oproti UV-PVG/QF-AAS.

**Tabulka 4.21** Vliv hydridotvorných prvků na stanovení selenu ( $5,0 \mu\text{g l}^{-1}$  Se(IV)) metodami UV-PVG/QF-AAS a CVG/QF-AAS

*Vliv je vyjádřen jako procentuální shoda mezi analytickými signály naměřenými pro vzorky s nulovým přídatkem interferentu (100 %) a pro vzorky s přidáním interferentem*

Přidaný iont	Koncentrace přidaného iontu ( $\mu\text{g l}^{-1}$ )	Poměr koncentrací přidaný iont/selen	Shoda s nulovým přídatkem iontu (%)		
			UV-PVG Bez $\text{HNO}_3$	UV-PVG S $\text{HNO}_3$	CVG
As(III)	5	1:1	74	76	98
	50	10:1	63	69	71
	100	20:1	60	66	57
	500	100:1	42	26	22
	5 000	1 000:1	8	5	0
Sb(III)	5	1:1	69	75	105
	50	10:1	75	40	103
	250	50:1	69	9	45
	500	100:1	34	0	13
	5 000	1 000:1	2	0	0
Pb(II)	5	1:1	91	63	103
	50	10:1	83	18	104
	100	20:1	56	3	103
	250	50:1	13	0	104
	500	100:1	3	0	99

#### 4.9.4 Shrnutí – interference při UV-fotochemickém generování

Na základě popsaných výsledků lze konstatovat, že v navrženém uspořádání je chemické generování oproti UV-fotochemickému generování těkavých sloučenin celkově odolnější vůči přítomnosti zkoušených interferentů; nejmenší odolnost vykazovalo UV-PVG s přídatkem kyseliny dusičné do analyzovaných roztoků. Pro praktická stanovení by mohla být problematická zejména nízká odolnost vůči minerálním kyselinám, které se často využívají k uchování či úpravám vzorků před analýzou. Výsledky studie nepotvrdily tvrzení některých autorů, že právě vyšší tolerance vůči interferencím představuje jednu z výhod UV-PVG oproti CVG<sup>4,31</sup>. Naopak v souladu

s ostatními autory je poznatek, že řada interferentů způsobuje přechodný nárůst analytického signálu.

Vzhledem ke skutečnosti, že sám mechanismus vzniku těkavých sloučenin při UV-PVG ještě nebyl plně objasněn, lze jen stěží odhadovat, jak k interferencím dochází a proč byly pozorovány výrazné výkyvy signálů vlivem různých přídavků interferentů. Jak bylo naznačeno v teoretické části (**2.3.6.2 Interference při UV-fotochemickém generování**), ve fázi generování by k poklesu signálu analytu mohlo docházet například v důsledku vzájemné konkurence interferujících iontů a analytu o reaktivní radikály vznikající působením UV-záření na fotochemické činidlo. Toto vysvětlení se zdá být celkem logické, protože UV-PVG těkavých karbonylů přechodných kovů nebo těkavých sloučenin ostatních hydridotvorných prvků bylo publikováno řadou autorů. Účinnost redukce Se(IV) by mohla být snížena také v důsledku záchytu či rozkladu těkavých sloučenin analytu redukovanou formou interferentu (analogie k interferencím typu hydrid-produkt při CVG). Podobně by, teoreticky, mohlo docházet ke vzniku málo rozpustné sloučeniny v důsledku reakce iontové formy interferentu s těkavými sloučeninami selenu.

Pokud jde o interference v atomizátoru (atomizace v plynné fázi) dalo by se uvažovat o nedostatečném množství vodíkových radikálů nezbytných pro převod těkavých sloučenin na volné atomy a to opět v důsledku konkurenčního boje těkavých sloučenin analytu a interferentu o tyto radikály. Tomu by nasvědčovalo i zjištění, že v případě stanovení selenu metodou UV-PVG/GF-AAS byla pozorována průměrně vyšší odolnost vůči přítomnosti interferentů. Účinnost atomizace v grafitové kyvetě se totiž neodvíjí od populace vodíkových radikálů, k atomizaci dochází účinkem vysokých teplot. Navíc, vnitřní povrch grafitové kyvety (účinná záchytová plocha) je dostatečně velký, aby nedocházelo ke konkurenci tak jako v malém obláčku vodíkových radikálů.

*Poznámka:* Dalšímu studiu interferencí (více interferentů, možné mechanismy interferencí a jejich aditivnost, možnost eliminace apod.) se v návaznosti na poznatky získané v této práci věnuje Mgr. Eliška Nováková ve své disertační práci.

## 5 ZÁVĚR

Disertační práce se zabývá UV-fotochemickým generováním těkavých sloučenin, které bylo aplikováno jako možná alternativa k doposud zavedeným přístupům ke generování těkavých sloučenin (tj. chemické či elektrochemické generování). Jako modelový analyt byl pro studii zvolen zástupce klasických hydridotvorných prvků selen (Se(IV)), těkavé sloučeniny byly detekovány atomovou absorpční spektrometrií.

V první fázi výzkumu byla sestavena aparatura pro UV-fotochemické generování v režimu kontinuální průtokové analýzy, která byla on-line propojena se zevně vyhřívaným křemenným atomizátorem (detekce QF-AAS). Důraz byl kladen na konstrukci generátoru těkavých sloučenin neboli na UV-fotoreaktor. Testováno bylo několik variant složených z nízkotlaké rtuťové UV-výbojky a k jejímu povrchu upevněné reakční cívky. Jako reakční cívky se uplatnily dva druhy teflonových hadiček a dva druhy křemenných kapilár lišící se svými rozměry (délka, vnitřní/vnější průměr) a způsobem přichycení k výbojce.

Po kompletaci aparatury byly optimalizovány základní pracovní podmínky pro UV-fotochemické generování těkavých sloučenin selenu, mezi které se řadila koncentrace a druh fotochemického činidla, průtoková rychlost nosného plynu či průtoková rychlost vzorku. Optimalizována byla také průtoková rychlost vodíku, který byl nezbytný k účinné atomizaci těkavých sloučenin v křemenném atomizátoru. Za optimálních podmínek byly pro každý typ UV-fotoreaktoru určeny základní analytické charakteristiky stanovení selenu metodou UV-PVG/QF-AAS. Meze detekce se s využitím fotochemického činidla kyseliny mravenčí pohybovaly mezi 46 – 102 ng l<sup>-1</sup>; horší hodnoty byly dosaženy při generování s kyselinou octovou. Ukázalo se, že teflonové reakční cívky v navrženém uspořádání UV-fotoreaktoru velmi dobře konkurují těm křemenným, ačkoliv je křemen obecně (při stejné tloušťce stěn) podstatně lépe propustný pro UV-záření. Spíše než materiál reakční cívky měla na validační parametry vliv kyselina dusičná navíc přidaná do analyzovaných roztoků. Příklad této kyseliny v úzkém koncentračním rozmezí (cca 5,0 – 10,0 mmol l<sup>-1</sup> v závislosti na UV-fotoreaktoru) vedl ke značnému vylepšení mezí detekce a citlivostí stanovení selenu navrženou metodou UV-PVG/QF-AAS s fotochemickým činidlem kyselinou mravenčí. Konkrétně meze detekce se tímto krokem podařilo snížit na 27 – 44 ng l<sup>-1</sup>. K vyzdvižení



je celkově dobrá opakovatelnost měření, která pro žádný testovaný UV-fotoreaktor (bez/s kyselinou dusičnou) nepřesáhla 2,8 %. Správnost navržené metody byla úspěšně ověřena analýzou certifikovaného referenčního materiálu.

Na základě experimentů s radioaktivním indikátorem  $^{75}\text{Se}$  byla pro jednotlivé typy UV-fotoreaktorů zjišťována účinnost UV-fotochemického generování. Opět byly vyšší účinnosti dosaženy v těch případech, kdy byly analyzovány vzorky s přidavkem kyseliny dusičné (21,3 – 56,5 % vs. 57,7 – 67,1 %). Ve většině případů však rozdíly v hodnotách nebyly tak markantní jako u mezí detekce či citlivostí. Kromě převodu analytu na těkavé sloučeniny umožnila metoda sledovat distribuci analytu do jednotlivých částí aparatury. Ukázalo se, že v systému bylo sorbováno relativně málo radioindikátoru. Navíc, pokud byla při generování využita kyselina dusičná, frakce analytu nalezená v aparatuře se ještě snížila. To mohlo souviset např. s vymývacími schopnostmi kyseliny dusičné nebo s rozdílnými těkavými produkty generovanými při UV-PVG bez/s touto kyselinou. Experimentálně bylo prokázáno, že spolu plně nekorespondují pracovní podmínky, za kterých je dosahováno maximálních citlivostí při UVG/QF-AAS a maximálních účinností generování.

Praktická využitelnost navržené metody byla ověřována analýzou vzorků s různorodou matricí. Stanovován byl obsah selenu ve vzorcích pitných vod, kdy byly zjištěny hodnoty kolísající v okolí meze stanovitelnosti metody UV-PVG/QF-AAS. Pozitivnější výsledky přinesla analýza vybraných potravinových doplňků. Vzhledem k charakteru vzorků se osvědčila pouze jejich nenáročná předúprava zahrnující rozpouštění vzorku v deionizované vodě s využitím účinků ultrazvuku. Pro vzorky s obsahem Se(VI) bylo nutné zařadit navíc předredukční krok. Pro čtyři z pěti vzorků byla dosažena minimálně 85% shoda oproti výrobcem deklarovanému množství obsahu selenu.

Přestože byly meze detekce dosažené metodou UV-PVG/QF-AAS nízké, za účelem dalšího možného vylepšení hodnot bylo UV-fotochemické generování propojeno s *in situ* záchytem těkavých sloučenin před vlastní atomizací atomovou absorpční spektrometrií. Pro fázi záchytu a následnou elektrotermickou atomizací byla využita grafitová kyveta, jejíž vnitřní povrch byl modifikován iridiovým povlakem. Proces zavádění těkavých sloučenin do grafitové kyvety byl automatizován. V rámci optimalizace pracovních podmínek byla pozornost věnována sestavení několikafázového

teplotního programu. Jak potvrdily dosažené analytické charakteristiky, záměr zařazení *in situ* záchytu těkavých sloučenin byl správný. Meze detekce se tímto krokem podařilo snížit až o jeden řád, výrazně vzrostly citlivosti. Přibližně 1% pokles byl zaznamenán v souvislosti s opakovatelností. Správnost metody byla opět ověřena analýzou certifikovaného referenčního materiálu a také analýzou dvou vzorků říčních vod. Navržená metoda byla porovnána s přímým zaváděním kapalného vzorku do grafitové kyvety (stanovení selenu bez zařazení generování těkavých sloučenin).

V poslední části disertační práce byla provedena interferenční studie. Zkoumán byl vliv vybraných přechodných kovů a ostatních hydridotvorných prvků na stanovení selenu metodou UV-PVG s QF-AAS či GF-AAS detekcí. Zjišťován byl také účinek minerálních kyselin a příslušných solí. Jak se ukázalo, omezená odolnost vůči interferenčním vlivům je na současné úrovni poznání zřejmě největším nedostatkem UV-fotochemického generování těkavých sloučenin a mohla by být limitujícím faktorem při analýze některých typů reálných vzorků. Vysoká citlivost stanovení by však mohla v mnoha případech umožnit vzorky vhodným způsobem naředit a minimalizovat tak možné komplikace plynoucí z přítomnosti rušivých složek. K omezení vlivu interferentů by mohly být teoreticky využity i další známé způsoby (odpařování, metoda standardního přídatku, maskovací činidla apod.). Pro značnou část zkoumaných interferentů platilo, že v určitém koncentračním rozmezí analytický signál selenu vlivem jejich přídatku podstatně rostl. I tohoto poznatku by se dalo prakticky využít, stejně jako bylo v disertační práci využito účinků kyseliny dusičné.

Pro srovnání byla značná část výše uvedených experimentů provedena též s využitím chemického generování těkavých sloučenin s redukčním činidlem tetrahydridoboritanem sodným. Za zoptimalizovaných pracovních podmínek dosažené analytické charakteristiky jasně ukázaly (pokusy s křemenným i grafitovým atomizátorem), že je UV-fotochemické generování plně alternativní k tradičnímu přístupu ke generování těkavých sloučenin. Zejména při UV-fotochemickém generování s kyselinou dusičnou bylo dosahováno lepších mezí detekce a citlivostí, lineární dynamický rozsah či opakovatelnost zůstaly přibližně zachovány. Porovnatelné byly i účinnosti vyčíslené na základě experimentů s radioaktivním indikátorem selenu; nižší hodnoty odpovídající chemickému generování v průtokovém uspořádání mohly částečně souviset s větším podílem radioaktivního analytu zjištěným v aparatuře po generování.

Za výhodu chemického generování oproti UV-fotochemickému generování může být označena celkově vyšší odolnost vůči studovaným interferentům.

Závěrem lze konstatovat, že se úspěšně podařilo splnit vytyčené cíle disertační práce. Kromě činností obvyklých při zavádění nové metody (optimalizační studie, určení základních analytických charakteristik nebo třeba studium interferencí) byla řešena další témata přispívající k rozvoji studované problematiky. Jmenována může být např. kvantifikace účinnosti s využitím radioindikátoru selenu, aplikace metody UV-PVG/QF-AAS při analýze potravinových doplňků či zautomatizovaný *in situ* záchyt těkavých sloučenin v grafitové kyvetě. O významu disertační práce svědčí fakt, že byly dosažené výsledky publikovány v několika odborných impaktovaných časopisech.

Celkový dojem z UV-fotochemického generování vytvořený na základě celé řady provedených pokusů je takový, že by tento citlivý a nenáročný přístup ke generování těkavých sloučenin mohl zaujmout rovnocenné postavení mezi ostatními způsoby generování (a to nejen v naší laboratoři spektrometrických metod). Vzhledem k omezené odolnosti vůči interferenčním vlivům lze očekávat, že v laboratorní praxi najde tato technika zavádění vzorku uplatnění zejména při analýze vzorků s jednodušší maticí.

## 6 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] Welz, B.; Sperling, M.: *Atomic Absorption Spectrometry*. 3th ed. New York, John Wiley and Sons, 1999.
- [2] Dočekal, B.; Marek, P.: Investigation of in situ trapping of selenium and arsenic hydrides within a tungsten tube atomiser. *J. Anal. At. Spectrom.* **16**, 831–837 (2001).
- [3] Dědina, J.; Tsalev, D.: *Hydride generation atomic absorption spectrometry*. England, John Wiley & Sons, 1995.
- [4] Guo, X.; Sturgeon, R. E.; Mester, Z.; Gardner, G. J.: UV vapor generation for determination of selenium by heated quartz tube atomic absorption spectrometry. *Anal. Chem.* **75**, 2092–2099 (2003).
- [5] Dědina, J.; D'Ulivo, A.; Lampugnani, L.; Matoušek, T.; Zamboni, R.: Selenium hydride atomization, fate of free atoms and spectroscopic temperature in miniature diffusion flame atomizer studied by atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta, Part B* **53**, 1777–1790 (1998).
- [6] D'Ulivo, A.; Dědina, J.; Lampugnani, L.; Matoušek, T.: Mechanism of selenium hydride atomization, fate of free atoms and temperature distribution in an argon shielded, highly fuel-rich, hydrogen–oxygen diffusion micro-flame studied by atomic absorption spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **17**, 253–257 (2002).
- [7] Duben, O.; Boušek, J.; Dědina, J.; Kratzer, J.: Dielectric barrier discharge plasma atomizer for hydride generation atomic absorption spectrometry—Performance evaluation for selenium. *Spectrochim. Acta, Part B* **111**, 57–63 (2015).
- [8] Holak, W.: Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry. *Anal. Chem.* **41**, 1712–1713 (1969).
- [9] Sturgeon, R. E.; Mester, Z.: Analytical applications of volatile metal derivatives. *Appl. Spectrosc.* **56**, 202–213 (2002).
- [10] Sturgeon, R. E.; Guo, X.; Mester, Z.: Chemical vapor generation: are further advances yet possible? *Anal. Bioanal. Chem.* **382**, 881–883 (2005).
- [11] Gil, R. A.; Pacheco, P. H.; Cerutti, S.; Martinez, L. D.: Vapor generation – atomic spectrometric techniques. Expanding frontiers through specific-species preconcentration. A review. *Anal. Chim. Acta* **875**, 7–21 (2015).
- [12] Yan, D.; Yan, Z.; Cheng, G.-S.; Li, A.-M.: Determination of indium and thallium by hydride generation and atomic-absorption spectrometry. *Talanta* **31**, 133–134 (1984).

- [13] Welz, B.; Schubert-Jacobs, M.: Cold vapor atomic absorption spectrometric determination of mercury using sodium tetrahydroborate reduction and collection on gold. *Fresen. Z. Anal. Chem.* **331**, 324–329 (1988).
- [14] Clevenger, W. L.; Smith, B. W.; Winefordner, J. D.: Trace Determination of Mercury: A Review. *Crit. Rev. Anal. Chem.* **27**, 1–26 (2006).
- [15] Infante, H. G.; Fernández Sánchez, M. L.; Sanz-medel, A.: Vesicle-assisted determination of ultratrace amounts of cadmium in urine by electrothermal atomic absorption spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **13**, 899–903 (1998).
- [16] Guo, X.; Guo, X.: Determination of cadmium at ultratrace levels by cold vapor atomic-absorption spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **10**, 987–991 (1995).
- [17] Infante, H. G.; Sánchez, M. L. F.; Sanz-Medel, A.: Ultratrace determination of cadmium by atomic absorption spectrometry using hydride generation with in situ preconcentration in a palladium-coated graphite atomizer. *J. Anal. At. Spectrom.* **11**, 571–575 (1996).
- [18] Matusiewicz, H.; Koprás, M.; Sturgeon, R. E.: Determination of Cadmium in Environmental Samples by Hydride Generation with In Situ Concentration and Atomic Absorption Detection. *Analyst* **122**, 331–336 (1997).
- [19] Matoušek, T.; Sturgeon, R. E.: Chemical vapour generation of silver: reduced palladium as permanent reaction modifier for enhanced performance. *J. Anal. At. Spectrom.* **19**, 1014–1016 (2004).
- [20] Arslan, Y.; Matoušek, T.; Kratzer, J.; Kratzer, J.; Musil, S.; Benada, O.; Vobecký, M.; Ataman, O. Y.; Dědina, J.: Gold volatile compound generation: optimization, efficiency and characterization of the generated form. *J. Anal. At. Spectrom.* **26**, 828–837 (2011).
- [21] Pohl, P.; Prusisz, B.: Chemical vapor generation of noble metals for analytical spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **388**, 753–762 (2007).
- [22] Matoušek, T.: The efficiency of chemical vapour generation of transition and noble metals. *Anal. Bioanal. Chem.* **388**, 763–767 (2007).
- [23] Musil, S.; Kratzer, J.; Vobecký, M.; Hovorka, J.; Benada, O.; Matoušek, T.: Chemical vapor generation of silver for atomic absorption spectrometry with the multiatomizer: Radiotracer efficiency study and characterization of silver species. *Spectrochim. Acta, Part B* **64**, 1240–1247 (2009).

- [24] Hraníček, J.; Červený, V.; Rychlovský, P.: Determination of Ultratrace Selenium and Arsenic in Drinking Water by Electrochemical Hydride Generation Coupled with Quartz Furnace - Atomic Absorption Spectrometry. *Chem. Listy* **104**, 1196–1203.
- [25] Tsalev, D. L.; D'ulivo, A.; Lampugnani, L.; di Marco, M.; Zamboni, R.: Thermally stabilized iridium on an integrated, carbide-coated platform as a permanent modifier for hydride-forming elements in electrothermal atomic absorption spectrometry. Part 1. Optimization studies. *J. Anal. At. Spectrom.* **10**, 1003–1009 (1995).
- [26] Tsalev, D. L.; D'Ulivo, A.; Lampugnani, L.; di Marco, M.; Zamboni, R.: Thermally stabilized iridium on an integrated, carbide-coated platform as a permanent modifier for hydride-forming elements in electrothermal atomic absorption spectrometry. Part 2. Hydride generation and collection, and behaviour of some organoelement species. *J. Anal. At. Spectrom.* **11**, 979–988 (1996).
- [27] Kazi, T. G.; Kolachi, N. F.; Afridi, H. I.; Brahman, K. D.; Shah, F.: Determination of Total Selenium in Pharmaceutical and Herbal Supplements by Hydride Generation and Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry. *J. AOAC Int.* **97**, 1696–1700 (2014).
- [28] Becker, E. M.; Dessuy, M. B.; Boschetti, W.; Vale, M. G. R.; Ferreira, S. L.C.; Welz, B.: Development of an analytical method for the determination of arsenic in gasoline samples by hydride generation–graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta, Part B* **71-72**, 102–106 (2012).
- [29] Zu, W.; Wang, Z.: Ultra-trace determination of methylmercury in seafood by atomic fluorescence spectrometry coupled with electrochemical cold vapor generation. *J. Hazard. Mater.* **304**, 467–473 (2016).
- [30] Chen, M.; Zou, A.; Yu, Y.; He, R.: Hyphenation of flow injection/sequential injection with chemical hydride/vapor generation atomic fluorescence spectrometry. *Talanta* **73**, 599–605 (2007).
- [31] Zheng, C.; Wu, L.; Ma, Q.; Lv, Y.; Hou, X.: Temperature and nano-TiO<sub>2</sub> controlled photochemical vapor generation for inorganic selenium speciation analysis by AFS or ICP-MS without chromatographic separation. *J. Anal. At. Spectrom.* **23**, 514–520 (2008).
- [32] Huang, Y.; Shan, J.; Fan, B.; He, Y.; Xia, S.; Sun, Y.; Lu, J.; Wang, M.; Wang, F.: Determination of inorganic arsenic in rice by solid phase extraction and hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Anal. Methods* **7**, 8896–8900 (2015).

- [33] Pohl, P.; Jamroz, P.: Recent achievements in chemical hydride generation inductively coupled and microwave induced plasmas with optical emission spectrometry detection. *J. Anal. At. Spectrom.* **26**, 1317–1337 (2011).
- [34] Ślachciński, M.: Recent Achievements in Sample Introduction Systems for Use in Chemical Vapor Generation Plasma Optical Emission and Mass Spectrometry: From Macro- to Microanalytics. *Appl. Spectrosc. Rev.* **49**, 271–321 (2013).
- [35] Sun, Y. C.; Chang, Y. C.; Su, C. K.: On-line HPLC-UV/Nano-TiO<sub>2</sub>-ICPMS system for the determination of inorganic selenium species. *Anal. Chem.* **78**, 2640–2645 (2006).
- [36] Bolea, E.; Laborda, F.; Castillo, J. R.; Sturgeon, R. E.: Electrochemical hydride generation for the simultaneous determination of hydride forming elements by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry. *Spectrochim. Acta, Part B* **59**, 505–513 (2004).
- [37] D'Ulivo, A.: Chemical vapor generation by tetrahydroborate(III) and other borane complexes in aqueous media. *Spectrochim. Acta, Part B* **59**, 793–825 (2004).
- [38] D'Ulivo, A.; Onor, M.; Pitzalis, E.: Role of hydroboron intermediates in the mechanism of chemical vapor generation in strongly acidic media. *Anal. Chem.* **76**, 6342–6352 (2004).
- [39] Agterdenbos, J.; Bax, D.: Mechanisms in hydride generation AAS. *Fresen. Z. Anal. Chem.* **323**, 783–787 (1986).
- [40] Bax, D.; Peters, F. F.; Van Noort, J. P. M.; Agterdenbos, J.: The determination of selenium with hydride generation AAS—II. *Spectrochim. Acta, Part B* **41**, 275–282 (1986).
- [41] Agterdenbos, J.; Sri, J. S.: Study of processes in the hydride generation atomic absorption spectrometry of antimony, arsenic and selenium. *Anal. Chim. Acta* **237**, 189–199 (1990).
- [42] Matoušek, T.; Hernández-Zavala, A.; Svoboda, M.; Langrová, L.; Adair, B. M.; Drobná, Z.; Thomas, D. J.; Stýblo, M.; Dědina, J.: Oxidation state specific generation of arsines from methylated arsenicals based on L-cysteine treatment in buffered media for speciation analysis by hydride generation-automated cryotrapping-gas chromatography-atomic absorption spectrometry with the multiatomizer. *Spectrochim. Acta, Part B* **63**, 396–406 (2008).
- [43] Welz, B.; Šucmanová, M.: L-Cysteine as a reducing and releasing agent for the determination of antimony and arsenic using flow injection hydride generation

- atomic absorption spectrometry? Part 1. Optimization of the analytical parameters. *Analyst* **118**, 1417–1423 (1993).
- [44] Rondon, C.; Burguera, J. L.; Burguera, M.; Brunetto, M. R.; Gallignani, M.; Petit de Pena, Y.: Selective determination of antimony(III) and antimony(V) in liver tissue by microwave-assisted mineralization and hydride generation atomic absorption spectrometry. *Fresenius. J. Anal. Chem.* **353**, 133–136 (1995).
- [45] Nielsen, S.; Hansen, E. H.: Determination of As(III) and As(V) by flow injection-hydride generation-atomic absorption spectrometry via on-line reduction of As(V) by KI. *Anal. Chim. Acta* **343**, 5–17 (1997).
- [46] Najafi, N. M.; Tavakoli, H.; Alizadeh, R.; Seidi, S.: Speciation and determination of ultra trace amounts of inorganic tellurium in environmental water samples by dispersive liquid-liquid microextraction and electrothermal atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **670**, 18–23 (2010).
- [47] Bye, R.; Lund, W.: Optimal conditions for the reduction of selenate to selenite by hydrochloric acid. *Fresen. Z. Anal. Chem.* **332**, 242–244 (1988).
- [48] Brimmer, S. P.; Fawcett, W. R.; Kulhavy, K. A.: Quantitative reduction of selenate ion to selenite in aqueous samples. *Anal. Chem.* **59**, 1470–1471 (1987).
- [49] Guo, X.; Sturgeon, R. E.; Mester, Z.; Gardner, G. J.: Vapor generation by UV irradiation for sample introduction with atomic spectrometry. *Anal. Chem.* **76**, 2401–2405 (2004).
- [50] Wu, P.; He, L.; Zheng, C.; Hou, X.; Sturgeon, R. E.: Applications of chemical vapor generation in non-tetrahydroborate media to analytical atomic spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **25**, 1217–1246 (2010).
- [51] Červený, V.; Rychlovský, P.; Hraníček, J.; Šíma, J.: Electrochemical Generation of Volatile Compounds for Spectral Analytical Methods. *Chem. Listy* **103**, 652–660 (2009).
- [52] Ding, W. W.; Sturgeon, R. E.: Evaluation of electrochemical hydride generation for the determination of arsenic and selenium in sea water by graphite furnace atomic absorption with in situ concentration. *Spectrochim. Acta, Part B* **51**, 1325–1334 (1996).
- [53] Ding, W. W.; Sturgeon, R. E.: Evaluation of electrochemical hydride generation for the determination of total antimony in natural waters by electrothermal atomic absorption spectrometry with in situ concentration. *J. Anal. At. Spectrom.* **11**, 225–230 (1996).



- [54] Laborda, F.; Bolea, E.; Castillo, J. R.: Electrochemical hydride generation as a sample-introduction technique in atomic spectrometry: fundamentals, interferences, and applications. *Anal. Bioanal. Chem.* **388**, 743–751 (2007).
- [55] Brockmann, A.; Nonn, C.; Golloch, A.: New concept for hydride generation technique: electrochemical hydride generation. *J. Anal. At. Spectrom.* **8**, 397–401 (1993).
- [56] Bolea, E.; Laborda, F.; Belarra, M. A.; Castillo, J. R.: Interferences in electrochemical hydride generation of hydrogen selenide. *Spectrochim. Acta, Part B* **56**, 2347–2360 (2001).
- [57] Ding, W. W.; Sturgeon, R. E.: Interference of copper and nickel on electrochemical hydride generation. *J. Anal. At. Spectrom.* **11**, 421–425 (1996).
- [58] Guo, X.; Sturgeon, R. E.; Mester, Z.; Gardner, G. J.: UV light-mediated alkylation of inorganic selenium. *Appl. Organomet. Chem.* **17**, 575–579 (2003).
- [59] Guo, X.; Sturgeon, R. E.; Mester, Z.; Gardner, G. J.: Photochemical alkylation of inorganic selenium in the presence of low molecular weight organic acids. *Environ. Sci. Technol.* **37**, 5645–5650 (2003).
- [60] He, Y.; Hou, X.; Zheng, C.; Sturgeon, R. E.: Critical evaluation of the application of photochemical vapor generation in analytical atomic spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **388**, 769–774 (2007).
- [61] Yin, Y.; Liu, J.; Jiang, G.: Photo-induced chemical-vapor generation for sample introduction in atomic spectrometry. *Trends Anal. Chem.* **30**, 1672–1684 (2011).
- [62] Sanuki, S.; Arai, K.; Kojima, T.; Nagaoka, S.; Majima, H.: Photocatalytic reduction of selenate and selenite solutions using TiO<sub>2</sub> powders. *Metall. Mater. Trans. B* **30**, 15–20 (1999).
- [63] Sanuki, S.; Shako, K.; Nagaoka, S.; Majima, H.: Photocatalytic reduction of Se ions using suspended anatase powders. *Mater. Trans.* **41**, 799–805 (2000).
- [64] Kikuchi, E.; Sakamoto, H.: Kinetics of the Reduction Reaction of Selenate Ions by TiO<sub>2</sub> Photocatalyst. *J. Electrochem. Soc.* **147**, 4589–4593 (2000).
- [65] Tan, T.; Beydoun, D.; Amal, R.: Effects of organic hole scavengers on the photocatalytic reduction of selenium anions. *J. Photochem. Photobiol., A* **159**, 273–280 (2003).
- [66] Tan, T. T. Y.; Yip, C. K.; Beydoun, D.; Amal, R.: Effects of nano-Ag particles loading on TiO<sub>2</sub> photocatalytic reduction of selenate ions. *Chem. Eng. J.* **95**, 179–186 (2003).

- [67] Tan, T. T. Y.; Beydoun, D.; Amal, R.: Photocatalytic Reduction of Se(VI) in Aqueous Solutions in UV/TiO<sub>2</sub> System: Kinetic Modeling and Reaction Mechanism. *J. Phys. Chem. B* **107**, 4296–4303 (2003).
- [68] Tan, T. T. Y.; Beydoun, D.; Amal, R.: Photocatalytic reduction of Se(VI) in aqueous solutions in UV/TiO<sub>2</sub> system: importance of optimum ratio of reactants on TiO<sub>2</sub> surface. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **202**, 73–85 (2003).
- [69] Guo, X.; Sturgeon, R. E.; Mester, Z.; Gardner, G.: UV photosynthesis of nickel carbonyl. *Appl. Organomet. Chem.* **18**, 205–211 (2004).
- [70] Guo, X.; Sturgeon, R. E.; Mester, Z.; Gardner, G. J.: Photochemical alkylation of inorganic arsenic: Part 1. Identification of volatile arsenic species. *J. Anal. At. Spectrom.* **20**, 702–709 (2005).
- [71] Figueroa, R.; García, M.; Lavilla, I.; Bendicho, C.: Photoassisted vapor generation in the presence of organic acids for ultrasensitive determination of Se by electrothermal-atomic absorption spectrometry following headspace single-drop microextraction. *Spectrochim. Acta, Part B* **60**, 1556–1563 (2005).
- [72] García, M.; Figueroa, R.; Lavilla, I.; Bendicho, C.: On-line photoassisted vapour generation implemented in an automated flow-injection/stopped-flow manifold coupled to an atomic detector for determination of selenium. *J. Anal. At. Spectrom.* **21**, 582–587 (2006).
- [73] Chandrasekaran, K.; Ranjit, M.; Karunasagar, D.; Arunachalam, J.: Determination of selenium (IV) at ultratrace levels in natural water samples by UV-assisted vapor generation - “Collect and punch” - inductively coupled plasma mass spectrometry. *At. Spectrosc.* **29**, 129–136 (2008).
- [74] Zheng, C.; Li, Y.; He, Y.; Ma, Q.; Hou, X.: Photo-induced chemical vapor generation with formic acid for ultrasensitive atomic fluorescence spectrometric determination of mercury: potential application to mercury speciation in water. *J. Anal. At. Spectrom.* **20**, 746–750 (2005).
- [75] Vieira, M. A.; Ribeiro, A. S.; Curtius, A. J.; Sturgeon, R. E.: Determination of total mercury and methylmercury in biological samples by photochemical vapor generation. *Anal. Bioanal. Chem.* **388**, 837–847 (2007).
- [76] Chen, K.; Hsu, I.; Sun, Y.: Determination of methylmercury and inorganic mercury by coupling short-column ion chromatographic separation, on-line photocatalyst-assisted vapor generation, and inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **1216**, 8933–8938 (2009).

- [77] He, C.; Cheng, G.; Zheng, C.; Wu, L.; Lee, Y.-I.; Hou, X.: Photochemical vapor generation and in situ preconcentration for determination of mercury by graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Anal. Methods* **7**, 3015–3021 (2015).
- [78] Li, H.; Luo, Y.; Li, Z.; Yang, L.; Wang, Q.: Nanosemiconductor-based photocatalytic vapor generation systems for subsequent selenium determination and speciation with atomic fluorescence spectrometry and inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chem.* **84**, 2974–2981 (2012).
- [79] Shih, T. T.; Hsu, I. H.; Wu, J. F.; Lin, C. H.; Sun, Y. C.: Development of chip-based photocatalyst-assisted reduction device to couple high performance liquid chromatography and inductively coupled plasma-mass spectrometry for determination of inorganic selenium species. *J. Chromatogr. A* **1304**, 101–108 (2013).
- [80] Shih, T. T.; Lin, C. H.; Hsu, I. H.; Chen, J. Y.; Sun, Y. C.: Development of a Titanium Dioxide-Coated Microfluidic-Based Photocatalyst-Assisted Reduction Device to Couple High-Performance Liquid Chromatography with Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry for Determination of Inorganic Selenium Species. *Anal. Chem.* **85**, 10091–10098 (2013).
- [81] Yin, Y.; Liang, J.; Yang, L.; Wang, Q.: Vapour generation at a UV/TiO<sub>2</sub> photocatalysis reaction device for determination and speciation of mercury by AFS and HPLC-AFS. *J. Anal. At. Spectrom.* **22**, 330–334 (2007).
- [82] Yin, Y.; Liu, J.; He, B.; Gao, E.-l.; Jiang, G.-b.: Photo-induced chemical vapour generation with formic acid: novel interface for high performance liquid chromatography-atomic fluorescence spectrometry hyphenated system and application in speciation of mercury. *J. Anal. At. Spectrom.* **22**, 822–826 (2007).
- [83] Yin, Y.; Liu, J.; He, B.; Shi, J.; Jiang, G.: Simple interface of high-performance liquid chromatography-atomic fluorescence spectrometry hyphenated system for speciation of mercury based on photo-induced chemical vapour generation with formic acid in mobile phase as reaction reagent. *J. Chromatogr. A* **1181**, 77–82 (2008).
- [84] Yin, Y.; Liu, J.; He, B.; Shi, J.; Jiang, G.: Mercury speciation by a high performance liquid chromatography—atomic fluorescence spectrometry hyphenated system with photo-induced chemical vapour generation reagent in the mobile phase. *Microchim. Acta* **167**, 289–295 (2009).
- [85] McSheehy, S.; Guo, X. M.; Sturgeon, R. E.; Mester, Z.: Photochemical alkylation of inorganic arsenic: Part 2. Identification of aqueous phase organoarsenic species using

- multidimensional liquid chromatography and electrospray mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **20**, 709–716 (2005).
- [86] Zheng, C.; Ma, Q.; Wu, L.; Hou, X.; Sturgeon, R. E.: UV photochemical vapor generation–atomic fluorescence spectrometric determination of conventional hydride generation elements. *Microchem. J.* **95**, 32–37 (2010).
- [87] Zheng, C.; Sturgeon, R. E.; Brophy, C.; Hou, X.: Versatile thin-film reactor for photochemical vapor generation. *Anal. Chem.* **82**, 3086–3093 (2010).
- [88] Gao, Y.; Sturgeon, R. E.; Mester, Z.; Hou, X.; Yang, L.: Multivariate optimization of photochemical vapor generation for direct determination of arsenic in seawater by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **901**, 34–40 (2015).
- [89] Gao, Y.; Sturgeon, R. E.; Mester, Z.; Hou, X.; Zheng, C.; Yang, L.: Direct Determination of Trace Antimony in Natural Waters by Photochemical Vapor Generation ICPMS: Method Optimization and Comparison of Quantitation Strategies. *Anal. Chem.* **87**, 7996–8004 (2015).
- [90] Duan, H.; Gong, Z.; Yang, S.: Online photochemical vapour generation of inorganic tin for inductively coupled plasma mass spectrometric detection. *J. Anal. At. Spectrom.* **30**, 410–416 (2015).
- [91] Gao, Y.; Xu, M.; Sturgeon, R. E.; Mester, Z.; Shi, Z.; Galea, R.; Saull, P.; Yang, L.: Metal ion-assisted photochemical vapor generation for the determination of lead in environmental samples by multicollector-ICPMS. *Anal. Chem.* **87**, 4495–4502 (2015).
- [92] Nóbrega, J. A.; Sturgeon, R. E.; Grinberg, P.; Gardner, G. J.; Brophy, C. S.; Garcia, E. E.: UV photochemical generation of volatile cadmium species. *J. Anal. At. Spectrom.* **26**, 2519–2523 (2011).
- [93] Staniszkis, E.; Krawczyk, M.; Matusiewicz, H.: Solid-phase extraction with multiwalled carbon nanotubes prior to photochemical generation of cadmium coupled to high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **29**, 2388–2397 (2014).
- [94] Zheng, C.; Sturgeon, R. E.; Hou, X.: UV photochemical vapor generation and in situ preconcentration for determination of ultra-trace nickel by flow injection graphite furnace atomic absorption spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **24**, 1452–1458 (2009).
- [95] Liu, L.; Deng, H.; Wu, L.; Zheng, C.; Hou, X.: UV-induced carbonyl generation with formic acid for sensitive determination of nickel by atomic fluorescence spectrometry. *Talanta* **80**, 1239–1244 (2010).

- [96] Grinberg, P.; Mester, Z.; Sturgeon, R. E.; Ferretti, A.: Generation of volatile cobalt species by UV photoreduction and their tentative identification. *J. Anal. At. Spectrom.* **23**, 583–587 (2008).
- [97] Deng, H.; Zheng, C.; Liu, L.; Wu, Li; Hou, X.; Lv, Y.: Photochemical vapor generation of carbonyl for ultrasensitive atomic fluorescence spectrometric determination of cobalt. *Microchem. J.* **96**, 277–282 (2010).
- [98] Zheng, C.; Yang, L.; Sturgeon, R. E.; Hou, X.: UV Photochemical Vapor Generation Sample Introduction for Determination of Ni, Fe, and Se in Biological Tissue by Isotope Dilution ICPMS. *Anal. Chem.* **82**, 3899–3904 (2010).
- [99] Zheng, C.; Sturgeon, R. E.; Brophy, C. S.; He, S.; Hou, X.: High-yield UV-photochemical vapor generation of iron for sample introduction with inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Anal. Chem.* **82**, 2996–3001 (2010).
- [100] Grinberg, P.; Sturgeon, R. E.; Gardner, G.: Identification of volatile iron species generated by UV photolysis. *Microchem. J.* **105**, 44–47 (2012).
- [101] Grinberg, P.; Sturgeon, R. E.: Photochemical vapor generation of iodine for detection by ICP-MS. *J. Anal. At. Spectrom.* **24**, 508–514 (2009).
- [102] Grinberg, P.; Sturgeon, R. E.: Ultra-trace determination of iodine in sediments and biological material using UV photochemical generation-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochim. Acta, Part B* **64**, 235–241 (2009).
- [103] Sturgeon, R. E.: Detection of bromine by ICP-oe-ToF-MS following photochemical vapor generation. *Anal. Chem.* **87**, 3072–3079 (2015).
- [104] Zhang, S.; Luo, H.; Peng, M.; Tian, Y.; Hou, X.; Jiang, X.; Zheng, C.: Determination of Hg, Fe, Ni, and Co by Miniaturized Optical Emission Spectrometry Integrated with Flow Injection Photochemical Vapor Generation and Point Discharge. *Anal. Chem.* **87**, 10712–10718 (2015).
- [105] Madden, J. T.; Fitzgerald, N.: Investigation of ultraviolet photolysis vapor generation with in-atomizer trapping graphite furnace atomic absorption spectrometry for the determination of mercury. *Spectrochim. Acta, Part B* **64**, 925–927 (2009).
- [106] De Jesus, A.; Sturgeon, R. E.; Liu, J.; Silva, M. M.: Determination of mercury in gasoline by photochemical vapor generation coupled to graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Microchem. J.* **117**, 100–105 (2014).
- [107] Dos Santos, E. J.; Herrmann, A. B.; dos Santos, A. B.; Baika, L. M.; Sato, C. S.; Tormen, L.; Sturgeon, R. E.; Curtius, A. J.: Determination of thimerosal in human and veterinarian vaccines by photochemical vapor generation coupled to ICP OES. *J. Anal. At. Spectrom.* **25**, 1627–1632 (2010).

- [108] López-Rouco, A.; Stanisz, E.; Matusiewicz, H.; Lavilla, I.; Bendicho, C.: UV reduction with ultrasound-assisted gas–liquid separation for the determination of mercury in biotissues by atomic absorption spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **23**, 1026–1029 (2008).
- [109] Matusiewicz, H.; Stanisz, E.: Evaluation of high pressure oxygen microwave-assisted wet decomposition for the determination of mercury by CVAAS utilizing UV-induced reduction. *Microchem. J.* **95**, 268–273 (2010).
- [110] Matusiewicz, H.; Stanisz, E.: Evaluation of the Catalyzed Photo-Cold Vapour Generation for Determination of Mercury by AAS. *J. Braz. Chem. Soc.* **23**, 247–257 (2012).
- [111] Kratzer, J.; Dědina, J.: Arsine and selenium hydride trapping in a novel quartz device for atomic-absorption spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **388**, 793–800 (2007).
- [112] Kratzer, J.; Dědina, J.: Stibine and bismuthine trapping in quartz tube atomizers for atomic absorption spectrometry — Method optimization and analytical applications. *Spectrochim. Acta, Part B* **63**, 843–849 (2008).
- [113] Rybínová, M.; Červený, V.; Rychlovský, P.: UV-photochemical vapour generation with in-situ trapping in a graphite tube atomizer for ultratrace determination of selenium. *J. Anal. At. Spectrom.* **30**, 1752–1763 (2015).
- [114] Šíma, J.; Rychlovský, P.: Electrochemical selenium hydride generation with in situ trapping in graphite tube atomizers. *Spectrochim. Acta, Part B* **58**, 919–930 (2003).
- [115] Dědina, J.: Atomization of volatile compounds for atomic absorption and atomic fluorescence spectrometry: On the way towards the ideal atomizer. *Spectrochim. Acta, Part B* **62**, 846–872 (2007).
- [116] Musil, S.; Matoušek, T.: On-line pre-reduction of pentavalent arsenicals by thioglycolic acid for speciation analysis by selective hydride generation-cryotrapping-atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta, Part B* **63**, 685–691 (2008).
- [117] Li, Y.; Zheng, C.; Ma, Q.; Wu, L.; Hu, C.; Hou, X.: Sample matrix-assisted photo-induced chemical vapor generation: a reagent free green analytical method for ultrasensitive detection of mercury in wine or liquor samples. *J. Anal. At. Spectrom.* **21**, 82–85 (2006).
- [118] Hou, X.; Ai, X.; Jiang, X.; Deng, P.; Zheng, C.; Lv, Y.: UV light-emitting-diode photochemical mercury vapor generation for atomic fluorescence spectrometry. *Analyst* **137**, 686–690 (2012).

- [119] Sturgeon, R. E.; Luong, V.: Photo- and thermo-chemical vapor generation of mercury. *J. Anal. At. Spectrom.* **28**, 1610–1619 (2013).
- [120] Han, C.; Zheng, C.; Wang, J.; Cheng, G.; Lv, Y.; Hou, X.: Photo-induced cold vapor generation with low molecular weight alcohol, aldehyde, or carboxylic acid for atomic fluorescence spectrometric determination of mercury. *Anal. Bioanal. Chem.* **388**, 825–830 (2007).
- [121] Sturgeon, R. E.; Willie, S. N.; Mester, Z.: UV/spray chamber for generation of volatile photo-induced products having enhanced sample introduction efficiency. *J. Anal. At. Spectrom.* **21**, 263–265 (2006).
- [122] De Quadros, D. P. C.; Campanella, B.; Onor, M.; Bramanti, E.; Borges, D. L. G.; D'Ulivo, A.: Mercury speciation by high-performance liquid chromatography atomic fluorescence spectrometry using an integrated microwave/UV interface. Optimization of a single step procedure for the simultaneous photo-oxidation of mercury species and photo-generation. *Spectrochim. Acta, Part B* **101**, 312–319 (2014).
- [123] Yin, Y.; Qiu, J.; Yang, L.; Wang, Q.: A new vapor generation system for mercury species based on the UV irradiation of mercaptoethanol used in the determination of total and methyl mercury in environmental and biological samples by atomic fluorescence spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **388**, 831–836 (2007).
- [124] Gao, Y.; Yang, W.; Zheng, C.; Hou, X.; Wu, L.: On-line preconcentration and in situ photochemical vapor generation in coiled reactor for speciation analysis of mercury and methylmercury by atomic fluorescence spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **26**, 126–132 (2011).
- [125] Da Silva, C. S.; Oreste, E. Q.; Nunes, A. M.; Vieira, M. A.; Ribeiro, A. S.: Determination of mercury in ethanol biofuel by photochemical vapor generation. *J. Anal. At. Spectrom.* **27**, 689–694 (2012).
- [126] Suzuki, T.; Sturgeon, R. E.; Zheng, C.; Hioki, A.; Nakazato, T.; Tao, H.: Influence of Speciation on the Response from Selenium to UV-Photochemical Vapor Generation. *Anal. Sci.* **28**, 807–811 (2012).
- [127] Šíma, J.; Rychlovský, P.; Dědina, J.: The efficiency of the electrochemical generation of volatile hydrides studied by radiometry and atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta, Part B* **59**, 125–133 (2004).
- [128] Hraníček, J.; Červený, V.; Kratzer, J.; Vobecký, M.; Rychlovský, P.: Characterization and mutual comparison of new electrolytic cell designs for hydride generation-atomic absorption spectrometry with a quartz tube atomizer using Se as a

- model analyte and  $^{75}\text{Se}$  as a radioactive indicator. *J. Anal. At. Spectrom.* **27**, 1761–1771 (2012).
- [129] Welz, B.; Melcher, M.: Mechanisms of transition metal interferences in hydride generation atomic-absorption spectrometry. Part 3. Releasing effect of iron(III) on nickel interference on arsenic and selenium. *Analyst* **109**, 577–579 (1984).
- [130] Welz, B.; Melcher, M.: Mechanisms of transition metal interferences in hydride generation atomic-absorption spectrometry. Part 2. Influence of the valency state of arsenic on the degree of signal depression caused by copper, iron and nickel. *Analyst* **109**, 573–575 (1984).
- [131] Welz, B.; Melcher, M.: Mechanisms of transition metal interferences in hydride generation atomic-absorption spectrometry. Part 1. Influence of cobalt, copper, iron and nickel on selenium determination. *Analyst* **109**, 569–572 (1984).
- [132] Welz, B.; Schubert-Jacobs, M.: Mechanisms of transition metal interferences in hydride generation atomic absorption spectrometry. Part 4. Influence of acid and tetrahydroborate concentrations on interferences in arsenic and selenium determinations. *J. Anal. At. Spectrom.* **1**, 23–27 (1986).
- [133] Bax, D.; Agterdenbos, J.; Worrell, E.; Kolmer, J. B.: The mechanism of transition metal interference in hydride generation atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta, Part B* **43**, 1349–1354 (1988).
- [134] D’ulivo, A.; Lampugnani, L.; Zamboni, R.: Interference of copper, silver and gold in the determination of selenium by hydride generation atomic fluorescence spectrometry: an approach to the studies of transition metal interferences. *J. Anal. At. Spectrom.* **6**, 565–571 (1991).
- [135] Kumar, A. R.; Riyazuddin, P.: Chemical interferences in hydride-generation atomic spectrometry. *Trends Anal. Chem.* **29**, 166–176 (2010).
- [136] Welz, B.; Melcher, M.: Mutual interactions of elements in the hydride technique in atomic absorption spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **131**, 17–25 (1981).
- [137] Grinberg, P.; Mester, Z.; D’Ulivo, A.; Sturgeon, R. E.: Gas chromatography–mass spectrometric identification of iodine species arising from photo-chemical vapor generation. *Spectrochim. Acta, Part B* **64**, 714–716 (2009).
- [138] Takatani, T.; Fitzgerald, N.; Galbraith, J. M.: Proposed reaction mechanisms for selenium UV photolysis vapor generation by computational methods. *Anal. Bioanal. Chem.* **388**, 859–862 (2007).



- [139] Bendl, R. F.; Madden, J. T.; Regan, A. L.; Fitzgerald, N.: Mercury determination by cold vapor atomic absorption spectrometry utilizing UV photoreduction. *Talanta* **68**, 1366–1370 (2006).
- [140] Sturgeon, R. E.; Grinberg, P.: Some speculations on the mechanisms of photochemical vapor generation. *J. Anal. At. Spectrom.* **27**, 222–231 (2012).
- [141] Rayman, M. P.: Selenium and human health. *Lancet* **379**, 1256–1268 (2012).
- [142] Yang, G.; Zhou, R.; Yin, S.; Gu, L.; Yan, B.; Liu, Y.; Li, X.: Studies of safe maximal aily dietary selenium intake in a seleniferous area in China.1. Selenium intake and tissue selenium levels of the inhabitants. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* **3**, 77–87 (1989).
- [143] Yang, G.; Yin, S.; Zhou, R.; Gu, L.; Yan, B.; Liu, Y.: Studies of safe maximal daily dietary se-intake in a seleniferous area in China.2. Relation between se-intake and the manifestation of clinical signs and certain biochemical-alterations in blood and urine. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.* **3**, 123–130 (1989).
- [144] Spallholz, J. E.: On the nature of selenium toxicity and carcinostatic activity. *Free Radic. Biol. Med.* **17**, 45–64 (1994).
- [145] Matusiewicz, H.; Ślachciński, M.: Ultrasonic Nebulization/UV Photolysis Vapor Generation Sample Introduction System for the Determination of Conventional Hydride (As, Bi, Sb, Se, Sn) and Cold Vapor (Hg, Cd) Generation Elements in Reference Materials in the Presence of Acetic Acid by Micro. *Spectrosc. Lett.* **46**, 315–326 (2013).
- [146] Eckschlager, K.: *Chemometrie II*. Praha, Karolinum 1994.
- [147] Ševčík, J. G. K.: *Metodologie měření v analytické chemii*. Praha, Karolinum 1999.
- [148] Dočekal, B.; Dědina, J.; Krivan, J.: Radiotracer investigation of hydride trapping efficiency within a graphite furnace. *Spectrochim. Acta, Part B* **52**, 787–794 (1997).
- [149] Dědina, J.: Interference of volatile hydride-forming elements in selenium determination by atomic absorption spectrometry with hydride generation. *Anal. Chem.* **54**, 2097–2102 (1982).
- [150] May, T. W.; Kane, D. A.: Matrix-dependent instability of selenium(IV) stored in teflon containers. *Anal. Chim. Acta.* **161**, 387–391 (1984).
- [151] Krivan, V.; Petrick, K.; Welz, B.; Melcher, M.: Radiotracer error-diagnostic investigation of selenium determination by hydride-generation atomic absorption spectrometry involving treatment with hydrogen peroxide and hydrochloric acid. *Anal. Chem.* **57**, 1703–1706 (1985).

- [152] Kragten, J.: Tutorial review. Calculating standard deviations and confidence intervals with a universally applicable spreadsheet technique. *Analyst* **119**, 2161–2165 (1994).
- [153] Ministerstvo zdravotnictví České republiky: *Vyhláška č. 83/2014 Sb.* Dostupné z URL: <[http://www.mzcr.cz/legislativa/dokumenty/vyhlaska-c83/2004-sb-kterou-se-meni-vyhlaska-c252/2004-sb-kterou-se-stand\\_9091\\_2439\\_11.html](http://www.mzcr.cz/legislativa/dokumenty/vyhlaska-c83/2004-sb-kterou-se-meni-vyhlaska-c252/2004-sb-kterou-se-stand_9091_2439_11.html)> [cit. 5.7.2016].
- [154] Portál veřejné zprávy: *Vyhláška č. 450/2004 Sb.* Dostupné z URL: <<http://portal.gov.cz/app/zakony/zakonPar.jsp?page=0&idBiblio=58266&recShow=12&nr=450~2F2004&rpp=15#parCnt>> [cit. 5.7.2016].
- [155] Dumont, E.; Vanhaecke, F.; Cornelis, R.: Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. *Anal. Bioanal. Chem.* **385**, 1304–1323 (2006).
- [156] European Commission: *Food Safety - Labelling & Nutrition - Food Supplements.* Dostupné z URL: <<http://ec.europa.eu/food/food/labellingnutrition/supplements/>> [cit. 15.4.2015].
- [157] Ajtony, Z.; Szoboszlai, N.; Bella, Z.; Bolla, S.; Szakál, P.; Bencs, L.: Determination of Total Selenium Content in Cereals and Bakery Products by Flow Injection Hydride Generation Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry Applying in-situ Trapping on Iridium-Treated Graphite Platforms. *Microchim. Acta* **150**, 1–8 (2005).

## 7 SEZNAM PŘÍLOH

Součástí disertační práce jsou čtyři přílohy. Jedná se o články publikované v odborných časopisech (Příloha 1, 3, 4). Jeden článek (Příloha 2) byl dne 5.8.2016 přijat k publikování v časopisu *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*; zde je přiložen přijatý manuskript.

**Příloha 1:** Rybínová M., Červený V., Hraníček J., Rychlovský P.: UV-fotochemické generování těkavých sloučenin pro potřeby atomových spektrometrických metod. *Chem. Listy* 109, 930–937 (2015).

**Příloha 2:** Rybínová M., Musil S., Červený V., Vobecký M., Rychlovský, P.: UV-photochemical vapor generation of selenium for atomic absorption spectrometry: optimization and <sup>75</sup>Se radiotracer efficiency study. Přijato k publikování v časopisu *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy* (DOI: 10.1016/j.sab.2016.08.009).

**Příloha 3:** Rybínová M., Červený V., Hraníček J., Rychlovský P.: UV-photochemical vapor generation with quartz furnace atomic absorption spectrometry for simple and sensitive determination of selenium in dietary supplements. *Microchem. J.* 124, 584–593 (2016).

**Příloha 4:** Rybínová M., Červený V., Rychlovský P.: UV-photochemical vapour generation with *in situ* trapping in a graphite tube atomizer for ultratrace determination of selenium. *J. Anal. At. Spectrom.*, 30, 1752–1763 (2015).

*Poznámka:* První přílohu tvoří přehledný referát shrnující základní poznatky o UV-fotochemickém generování těkavých sloučenin pro potřeby atomových spektrometrických metod. Referát byl publikován v *Chemických listech*. Vzhledem k omezenému povolenému stránkovému rozsahu pro tištěnou formu tohoto časopisu, bylo nutné vytvořit dvě varianty článku. První varianta, ve značně zkrácené podobě, byla připravena právě pro tištěnou formu časopisu, plná verze článku byla určena k on-line publikování; přesněji řečeno on-line byla publikována taktéž zkrácená verze a doplňující kapitoly byly uveřejněny jako její dodatek.

Druhá příloha je uvedena včetně Doplňujících informací (*Supplementary Material*), které byly určeny k publikování na Internetu.

