

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Anna Vošmiková

STANOVENÍ OLOVA METODOU CHEMICKÉHO GENEROVÁNÍ
TĚKAVÝCH SLOUČENIN

Determination of Lead by Hydride Generation Atomic Absorption
Spectrometry

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: RNDr. Jakub Hraníček, Ph.D.

Praha 2014

Tato diplomová práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumného projektu

GAČR 2014 241-440126

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně 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 vědom 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 15. května 2014

Poděkování

Na tomto místě bych ráda z celého srdce poděkovala všem, kteří mi pomohli s vypracováním této diplomové práce a všestranně mě podporovali po celou dobu studia, ať přímo, či nepřímo.

Jmenovitě bych chtěla poděkovat mému školiteli RNDr. Jakubu Hraníčkoví, Ph.D., za jeho vedení práce, podporu, trpělivost při praktickém a písemném zpracování diplomové práce. Mé velké díky také patří Mgr. Elišce Novákové za poskytnutí mnoha cenných rad při řešení každodenních problémů v laboratorní praxi a za vytvoření nadstandardně přátelského pracovního prostředí. Dalšímu, komu bych chtěla poděkovat, je RNDr. Václav Červený Ph.D., který mi často pomohl nezištnou radou, ale i pomocí při řešení mnoha experimentálních problémů na úkor svého času a práce.

Nakonec bych velmi ráda zmínila celou mojí rodinu, která neustále pro mě vytvářela trpělivé, tolerantní a láskyplné prostředí, neboť bez její pomoci ať už finanční ale hlavně morální, bych se nikdy ve studiu nedostala tak daleko. V neposlední řadě bych uvedla svého přítele Mgr. Matyáše Bittnera, který po celou dobu mého studia stál při mně a za to mu patří můj nejupřímnější dík.

Abstrakt CZ

Předkládaná diplomová práce se zabývá stanovením olova metodou chemického a elektrochemického generování těkavých sloučenin (hydridu olova). Chemické a elektrochemické generování jsou široce rozšířené metody pro speciální analýzu hydridotvorných prvků na stopové a ultrastopové úrovni. V této diplomové práci byly vyzkoušeny obě metody pro stanovení olova. Nejdříve bylo přistoupeno k elektrochemickému generování, které probíhalo za použití HCl ($1,0 \text{ mol dm}^{-3}$) jako anolytu, stanovovaný analyt o příslušné koncentraci byl přidán do HCl o stejné koncentraci jako zvlášť čerpaný anolyt. Během elektrochemického generování byla provedena celá řada úprav generační cely (membránová, bezmembránová, výměna materiálu elektrody), bylo vyzkoušeno použití jiných kyselin (HNO_3 , H_2SO_4) různých koncentrací. Dosažené výsledky ale nebyly reprodukovatelné. Následující metoda chemického generování, již poskytla relevantní výsledky. Stanovení probíhalo v kontinuálním a dávkovém uspořádání. Jako zásadní pro vznik hydridu se ukázalo použití $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ (17% roztok pro dávkové a 2% pro kontinuální uspořádání) v HCl o příslušné koncentraci. Bylo zjištěno, že $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ výrazně zvyšuje efektivnost generování reakcí s redukčním činidlem NaBH_4 v NaOH. Při této reakci dochází ke vzniku reakčních intermediátů ve formě boranových komplexů a to vede ke vzniku hydridu olova z Pb^{2+} . Optimalizační parametry byly experimentálně zjišťovány pro dávkové i průtokové uspořádání. Detekční limit byl pro kontinuální uspořádání $0,48 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ a pro dávkové $2,12 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$. Mez stanovitelnosti v kontinuálním uspořádání $1,16 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ a v dávkovém $7,06 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$.

Předmětová hesla:

Analytická chemie, spektrometrie

Klíčová slova:

Olovo, elektrochemické generování hydridů, chemické generování hydridů, atomová absorpční spektrometrie, hexakynoželezitan draselný

Abstrakt EN

This diploma thesis presents the results of determination of lead amount in aqueous samples using chemical and electrochemical hydride generation methods. Both chemical and electrochemical generation methods are widely used for elemental analysis of the hydride forming elements in trace and ultra-trace levels. First of all the electrochemical generation method was used with HCl ($1,0 \text{ mol dm}^{-3}$) as anolyte. Determined analyte with the relevant concentration was added into the HCl solution (equal concentration). During the optimization experiments the electrochemical generation method was performed in different setups and constructions (eg. membrane, and non-membrane cells, different electrode materials). Also different acids (HNO_3 , H_2SO_4) of different concentrations were tested. Unfortunately achieved results were not satisfied and reproducible. Therefore, chemical generation method was used to provide relevant results. Determination of lead was performed in both continuous flow and flow injection mode. A crucial step for chemical hydride generation insisted in usage of hexacyanoferrate (III) (17 % m/v solution for FIA and 2 % m/v solution for continuous flow) in solution of HCl on the relevant concentration. It was found that, $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ significantly increases the efficiency of the chemical hydride generation based on the reaction of NaBH_4 reductant agent in NaOH. Within this reaction, intermediates were formed in form of borane complexes and this lead to formation of the lead hydride. Optimization parameters were determined for both FIA and CFA arrangement. The detection limit of lead in real samples were established as $0,48 \mu\text{g l}^{-1}$ for CFA and $2,12 \mu\text{g l}^{-1}$ for FIA. LOQ for CFA was $1,16 \mu\text{g l}^{-1}$ and $7,06 \mu\text{g l}^{-1}$ for FIA.

Subjects:

Analytical chemistry, spectrometry

Key words:

Lead, electrochemical hydride generation, chemical hydride generation, atomic absorption spectrometry, hexacyanoferrate (III)

OBSAH

Seznam použitých zkratk a symbolů	8
1 Úvod	9
1.1 Cíle práce.....	9
2 Teoretická část	10
2.1 Olovo a jeho vlastnosti, výskyt, toxicita, detekce	10
2.1.1 Olovo v životním prostředí	11
2.1.2 Toxikokinetika a toxicita olova	11
2.1.3 Intoxikace organismu olovem	12
2.1.4 Historický vývoj stanovení olova	13
2.1.5 Speciační analýza založená na generování těkavých sloučenin	14
2.2 Atomová spektrometrie	14
2.3 Úprava vzorků před stanovením	15
2.4 Generování hydridů.....	16
2.5 Přístupy ke speciační analýze založené na generování hydridů.....	17
2.6 Elektrochemické generování hydridů (EchG).....	17
2.7 Chemické generování hydridů (CHG)	19
3 Experimentální část.....	22
3.1 Použité přístroje a vybavení.....	22
3.2 Chemikálie.....	22
3.3 Příprava roztoků.....	23
3.4 Experimentální uspořádání pro metodu EchG	24
3.5 Experimentální uspořádání pro metodu CHG	25
3.5.1 Kontinuální průtoková analýza (CFA)	26
3.5.2 Průtoková injekční analýza (FIA)	27
3.6 Provedení optimalizačních experimentů	28
3.6.1 Optimalizace průtokové rychlosti pracovních roztoků při kontinuálním uspořádání.....	28
3.6.2 Optimalizace koncentrace použitých roztoků	29
3.6.3 Optimalizace délky reakční smyčky.....	29
3.6.4 Optimalizace průtokové rychlosti nosného plynu.....	29
3.6.5 Optimalizace teploty atomizace.....	29

3.7	Statistické zpracování výsledků.....	30
4	Výsledková část a diskuze	32
4.1	Elektrochemické generování hydridů (EchG) hydridu olova	32
4.2	Chemické generování (CHG) hydridu olova v režimu CFA	34
4.2.1	Průtoková rychlost nosného plynu.....	34
4.2.2	Průtoková rychlost reakčních činidel	36
4.2.3	Teplota atomizace	37
4.2.4	Délka reakční smyčky	38
4.2.5	Koncentrace tetrahydridoboritanu sodného	39
4.2.6	Koncentrace hydroxidu sodného	40
4.2.7	Koncentrace hexakvanoželezitanu draselného.....	41
4.2.8	Koncentrace kyseliny chlorovodíkové	41
4.2.9	Kalibrační závislost	43
4.3	Chemické generování (CHG) hydridu olova v režimu FIA.....	44
4.3.1	Koncentrace hexakvanoželezitanu draselného.....	44
4.3.2	Koncentrace kyseliny chlorovodíkové	45
4.3.3	Koncentrace tetrahydridoboritanu sodného	45
4.3.4	Objem dávkovaného vzorku.....	46
4.3.5	Průtoková rychlost redukčního činidla NaBH ₄	47
4.3.6	Optimalizace průtokové rychlosti nosného plynu.....	47
4.3.7	Optimalizace průtokové rychlosti hexakvanoželezitanu draselného.....	48
4.3.8	Optimalizace teploty atomizace.....	49
4.3.9	Kalibrační závislost	50
4.4	Souhrn optimálních podmínek.....	51
4.5	Základní charakteristiky stanovení olova metodou CHG	52
4.6	Měření obsahu olova v reálných vzorcích.....	53
5	Závěr.....	54
6	Literatura.....	56

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

<i>A</i>	<i>absorbance, ampér</i>
<i>AAS</i>	<i>atomová absorpční spektrometrie (Atomic Absorption Spectrometry)</i>
<i>AES</i>	<i>atomová emisní spektrometrie (Atomic Emission Spectrometry)</i>
<i>AFS</i>	<i>atomová flourescenční spektrometrie (Atom Flourescence Spectrometry)</i>
<i>ETA–AAS</i>	<i>atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou (bezplamennou) atomizací (Electrothermal Atomisation – Atomic Absorption Spectrometry)</i>
<i>FIA</i>	<i>průtoková injekční analýza (Flow injection analysis)</i>
<i>CFA</i>	<i>kontinuální průtoková analýza (Continuous flow analysis)</i>
<i>c_{HCl}</i>	<i>molární koncentrace HCl, [mol dm⁻³]</i>
<i>CHG</i>	<i>chemické generování hydridů (Chemical Hydride Generation)</i>
<i>c_{Fe}</i>	<i>molární koncentrace K₃[Fe(CN)₆], [mol dm⁻³]</i>
<i>c_{Pb}</i>	<i>molární koncentrace analytu (olova), [mol dm⁻³]</i>
<i>c_{red}</i>	<i>molární koncentrace redukčního činidla NaBH₄, [mol dm⁻³]</i>
<i>c_{stab}</i>	<i>molární koncentrace stabilizačního činidla NaOH, [mol dm⁻³]</i>
<i>EcHG</i>	<i>elektrochemické generování hydridů (Electrochemical Hydride Generation)</i>
<i>ICP–MS</i>	<i>indukčně vázaná plazma (Inductively Coupled Plasma)</i>
<i>I.D.</i>	<i>vnitřní průměr (inner/inside diameter)</i>
<i>l_{sm}</i>	<i>délka reakční smyčky, [m]</i>
<i>LOD</i>	<i>limit detekce (limit of detection)</i>
<i>LOQ</i>	<i>mez stanovitelnosti (limit of quantification)</i>
<i>MZ ČR</i>	<i>Ministerstvo zdravotnictví České republiky</i>
<i>T</i>	<i>transmitance (propustnost)</i>
<i>T_{at}</i>	<i>teplota atomizace, [°C]</i>
<i>PTFE</i>	<i>polytetrafluorethylen (teflon)</i>
<i>v_{Ar}</i>	<i>průtoková rychlost nosného plynu (Ar), [ml min⁻¹]</i>
<i>v_{rc}</i>	<i>průtoková rychlost reakčních činidel obecně, [ml min⁻¹]</i>
<i>WHO</i>	<i>světová zdravotnická organizace (World Health Organization)</i>
<i>λ</i>	<i>vlnová délka [nm]</i>

1 ÚVOD

Generování těkavých hydridů ve spojení s atomovou absorpční spektrometrií je citlivá a robustní metoda pro stanovení mnoha významných analytů (As, Sn, Bi, Se, Pb a Sb) na stopové a ultrastopové úrovni. Princip této metody je založen na převedení analytu na těkavou sloučeninu. Chemické generování hydridů je obvykle spojeno s použitím chemického redukčního činidla NaBH_4 v kyselém prostředí. Vznikající nascentní vodík reaguje s analytem za vzniku těkavého hydridu. Vzniklý plynný hydrid je transportován pomocí nosného plynu do atomizátoru, kde dochází k jeho detekci. I přes široce rozšířené používání tohoto redukčního činidla má NaBH_4 několik nevýhod. Hlavní nevýhodou je možnost kontaminace vzorku při ultrastopové analýze a také jeho nestálost ve vodném prostředí. Elektrochemické generování hydridů naopak nevyžaduje přítomnost chemického redukčního činidla. Další výhodou je významné potlačení interferencí přechodných kovů. Proto byla tato metoda vybrána pro stanovení olova jako první. Vědecké publikace zabývající se problematikou elektrochemického generování těkavých sloučenin^{1,2,3} jsou z velké části zaměřené na jednodušší stanovitelné hydridotvorné prvky. Stanovit olovo elektrochemicky je možné za použití vhodných úprav elektrolytické cely (záchytové uspořádání, spojením anodového a katodového prostoru) nebo zapojením více citlivého detekčního přístroje (např. ICP–MS).

1.1 Cíle práce

Hlavním cílem této diplomové práce bylo vypracovat možnosti stanovení olova pomocí elektrochemického generování těkavých sloučenin. Vzhledem k obtížnosti daného úkolu bylo následně od původních cílů upuštěno a pozornost byla věnována stanovení olova metodou chemického generování těkavých sloučenin jako příprava pro pozdější elektrochemického generování tohoto analytu. Hlavním cílem tedy následně bylo ověřit možnosti stanovení olova metodou chemického generování a následně optimalizovat podmínky pro kontinuální a injekční dávkové uspořádání průtokového systému. Za optimálních podmínek byly proměřeny charakteristiky a daná metoda byla vyzkoušena při analýze reálných a referenčních materiálů.

2 TEORETICKÁ ČÁST

Těžké kovy obecně působí toxicky na lidský organismus a vyvolávají tak různě závažné zdravotní komplikace, proto je nezbytné jejich stanovení a monitorování v životním prostředí. Olovo (Pb) je široce rozšířený těžký kov, jehož toxické vlastnosti jsou velmi podrobně popsány. Požití olova například představuje reálnou hrozbu poškození nervového systému a má vliv na biosyntézu hemoglobinu. Proto je nutné nastavit maximální limity tohoto kovu v nápojích, potravinách a životním prostředí a také tyto limity pravidelně kontrolovat.⁴

2.1 Olovo a jeho vlastnosti, výskyt, toxicita, detekce

Olovo je měkký kov známý již od starověku. Řadí se mezi tzv. těžké kovy, jde o vysoce rozšířený kov převážně ve formě jeho sloučenin. Průmyslově využíván hlavně pro výrobu akumulátorů, antikoročních nátěrů, dále jako stínící materiál v jaderné chemii a také ve zdravotnictví jako ochrana tkání v radiodiagnostice.

Jeho získávání v čisté (kovové) formě je poměrně dlouhý technologický proces, kdy čistý kov je rafinován nejčastěji ze sloučeniny sulfidu olovnatého (PbS, triviální název galenit).

K největšímu rozmachu používání olova a dalších kovů došlo v 19. století, kdy skokově narůstala průmyslová poptávka po kovech. Vlivem lidské činnosti se tento kov jako polutant začal vyskytovat prakticky všude: olovo v pitné vodě, polétavé prachové částičky ve vzduchu, nebo také například v potravinách. To mělo za následek, že díky použití olova jako pájecího kovu při výrobě plechovek určených k uchování potravin, byl do roku 1940 příjem olova na osobu v USA 400 až 500 $\mu\text{g den}^{-1}$. Se vzrůstajícím povědomím o škodlivosti tohoto kovu na lidské zdraví byly postupně omezovány jeho možnosti použití, což vedlo mezi lety 1988–1991 u občanů USA ve věku od 1. roku do 74 let ke snížení hladiny olova v krvi ze 128 na 28 $\mu\text{g l}^{-1}$. I přes omezení jeho používání v potravinářství a důkaz jeho toxických účinků na lidský organismus a ekosystém, docházelo ve světě ke snižování jeho využití postupně, např. teprve v roce 2000 bylo zakázáno používání tzv. olovnatého benzínu (jako aditivum se přidávala látka zvaná tetraethylolovo). V dnešní době jsou olovu nejvíce vystaveny populace žijící ve velkých aglomeracích nad 1 milion

obyvatel. Mnoho z nich má v krvi obsah olova vyšší než $100 \mu\text{g l}^{-1}$. To je zdravotně významná mezní hodnota I. stupně udávaná německou Komisí pro biologický monitoring.^{5, 6}

2.1.1 Olovo v životním prostředí

Anorganické olovo se jako Pb^{2+} iont do ovzduší může dostávat přirozeně ve formě prachu, kouře a aerosolů mořské vody. Do ovzduší se může také uvolňovat při lesních požárech, vyskytuje se také ve vodě i půdě. Množství antropogenní emise olova do ovzduší je odhadována na přibližně 17,5 násobek přirozené emise. Nejvýznamnější antropogenní emisí jsou spalovací procesy – spalování odpadů a olovnatého benzínu. Zvýšené lokální znečištění je v oblastech, kde je těžena a zpracovávána olovnatá ruda. Znečištění vod je způsobováno hlavně odpadními vodami, vznikajícími při zpracování olovené rudy, ve sklářství (zde se olovo využívá díky svým vlastnostem měnit lom světla), při výrobě akumulátorů. Znečišťována je také důlními vodami, i když zde spíše minoritně. Znečištění půdy olovem je působeno převážně emisemi z hutí, čistírenskými kaly a také výfukovými plyny⁷. Do pitné vody v domácnostech se olovo dostává vymýváním z olovených vodovodních trubek a jejich pájených spojů v budovách se starými rozvody, i když modernizací vodovodní sítě a rozvodů vody v domácnostech klesá význam tohoto zdroje znečištění. Sledování obsahu olova v atmosféře je šestou nejvyšší prioritou Agentury ochrany životního prostředí USA, což je jedna z nejvýznamnějších světových autorit, zabývajících se ochranou životního prostředí. Snižování obsahu olova jako polutantu v atmosféře je dosahováno recyklací produktů, které olovo obsahují, nicméně jedna třetina tohoto odpadu není opětovně zpracována, což představuje další možné riziko kontaminace životního prostředí.⁸

2.1.2 Toxikokinetika a toxicita olova

Pokud se olovo dostane do ovzduší, dochází k jeho vazbě na prachové částičky, které mohou být následně vdechnuty, smyty vodou do půdy či vody, případně mohou ulpívat na rostlinách. Díky nízké rozpustnosti olovnatých solí je koncentrace olova v neznečištěných vodách velice nízká. V kontaminovaných vodách dochází vzhledem k toxicitě k poškození zooplanktonu. Při vyšších koncentracích olova ve vodě, či při delším exponování ryb olovem dochází k akutní intoxikaci, dochází k poškození žaber a

ryby hynou na udušení. Do půdy se olovo dostává buď ze vzduchu, či přímo emisí (viz výše), přičemž olovo se váže na povrchové částice. Olovo jako polutant proniká do maximální hloubky 10 cm od povrchu. Díky vysokému akumulacímu koeficientu se olovo hromadí v kalech, sedimentech, ale i biomase živočichů⁹.

Do lidského těla se olovo dostává inhalačně (odhaduje se, že až 30 % olova v krvi do těla vstupuje inhalačně), potravou (cca 60 % olova v krvi), či pitnou vodou (10 % olova v krvi). V tlustém střevě se u dospělého člověka vstřebává asi 20 % přijatého olova, u těhotných a dětí je to až 70 %¹⁰. Hlavním vylučovacím orgánem olova jsou ledviny. Díky svým fyzikálně-chemickým vlastnostem snadno prochází do mateřského mléka během kojení a prostupuje skrz placentu, a proto hladina olova v krvi matky koreluje s množstvím olova v krvi zárodku. Průměrně je olovo detekovatelné v krvi 28–36 dní od intoxikace, jeho retence v kostech je v řádu desítek let. Z dlouhodobého pohledu je dospělý člověk schopný vyloučit až 99 % přijatého olova, ovšem děti v nízkém věku nejsou schopné vyloučit až třetinu přijatého olova.

2.1.3 Intoxikace organismu olovem

Akutní otrava olovem se projevuje příznaky poškození nervové soustavy (nastávají při koncentraci 0,5 – 3,0 mg l⁻¹) jako jsou například podrážděnost, poruchy pozornosti a ztráty paměti, bolest hlavy a svalový třes. U dětí vyvolává vyšší koncentrace olova v krvi (nad 0,8 mg l⁻¹) encefalopatii¹¹. V závažných případech může dojít k oslepnutí, poškození mozku, svalovým křečím či k úmrtí.

Dlouhodobé působení olova na organismus se zpočátku projevuje nenápadně: únava, nechutenství, nevolnost. Viditelným projevem je změna barvy kůže na šedý, popelavý odstín. Typické je potažení dásní šedomodrým lemem¹². Chronické působení olova v lidském organismu způsobuje například poškození nervů, ledvin, kardiovaskulárního systému, kostí, reprodukčního systému. Poškození jednotlivých orgánů závisí na množství olova v krvi. Klasickým projevem chronické intoxikace lidského organismu olovem je vznik anémie v důsledku poškození červených krvinek. Dochází ke zkrácení jejich životnosti kvůli vysoké křehkosti jejich buněčné membrány, olovo také inhibuje enzymy nutné pro syntézu hemu. Olovo negativně zasahuje do vývoje plodu – patrně i nízké dávky dokáží negativně ovlivnit jeho životaschopnost, mentální vývoj, pokles porodní váhy. Nadlimitní koncentrace olova (více jak 0,66 mg l⁻¹) vyvolává u mužů poškození tvorby testosteronu, což vede ke

ztrátě plodnosti vyvolané poklesem počtu spermií. Olovo také negativně ovlivňuje imunitní systém a je klasifikováno za pravděpodobný karcinogen plic a ledvin. Neurologické poškození se projevuje již při koncentraci olova $100 \mu\text{g l}^{-1}$, stejná koncentrace je dostatečná i k ovlivnění krevetvorby⁵.

Na působení tohoto kovu jsou právě nejvíce citlivé děti, hlavně v období vývoje nervového systému. V jedné publikované studii¹³ byl zjišťován vliv olova na vývoj dětí od batolat do 2 let věku. V této studii podávali dětem pravidelně dávku olova větší než $5 \mu\text{g/kg/den}$. Z této dávky docházelo k absorpci 41,5 % olova v těle, přičemž v organismu bylo 31,8 % podané dávky olova zadržováno dlouhodobě. Retence olova v organismu má za následek zdravotní problémy spojené s poruchami metabolismu vápníku: inhibuje vápenaté kanály, zasahování do mechanismu $\text{Ca}^{2+}/\text{Na}^{+}$ pumpy, vazba na druhé posly (kalmodulin, proteinkinázu C).

2.1.4 Historický vývoj stanovení olova

Díky toxicitě olova v již nízkých koncentracích a jeho poměrně širokém rozšíření v přírodě (viz předcházející kapitoly) je nutné výskyt toho kovu např. v pitné vodě detekovat již ve stopovém množství. V ČR je povolený limit obsahu olova v pitné vodě (vychází z norem Světové zdravotnické organizace, WHO) stanoven dle vyhlášky MZ ČR č. 252/2004 Sb. Tento limit je postupnými novelizacemi snižován z původní hodnoty $50 \mu\text{g l}^{-1}$ na hodnotu $25 \mu\text{g l}^{-1}$ od 1. 1. 2001, resp. na hodnotu $10 \mu\text{g l}^{-1}$ platnou od roku 2013¹⁴. Na snižující se limity mají vliv stále se vyvíjející metody, které umožňují snižování velmi nízkých koncentrací olova v přirozených zdrojích.

Historicky se prováděly kvalitativní zkoušky přítomnosti olova ve vzorku, například srážecími metodami za použití kyseliny octové, draselných iontů a případně NaOH¹⁵. Obsah olovnatých iontů ve vzorku se zjišťoval spektrofotometricky pomocí komplexotvorné reakce ve vodě rozpustné olovnaté soli s xylenolovou oranží. Absorbance vzniklého barevného komplexu byla změřena na spektrometru a vypočítán obsah olova. Nevýhodou ovšem je poměrně nízká citlivost – lze s ní detegovat koncentraci řádu jednotek mg l^{-1} . Reálné vzorky obvykle obsahují výrazně nižší koncentraci olova. V současnosti nejčastější instrumentální metodou umožňující i dostatečně kvantitativní stanovení olova ve vzorku je atomová absorpční spektrometrie (AAS), jejíž princip bude popsán v kap. 2.2.

2.1.5 Speciační analýza založená na generování těkavých sloučenin

Speciační analýzou rozumíme stanovení jednotlivých specií ve vzorku. Může být kvalitativní (identifikační) nebo kvantitativní (množstevní). Touto metodou lze stanovit stopová množství prvků (kovy, přechodné prvky) ale již není možné určit strukturu, protože při analýze dochází k destrukci vzorku. Existuje několik přístupů ke speciační analýze založené na generování hydridů. V následujících kapitolách bude uveden historický vývoj metody a přístupy, jež byly důležité při rozhodování o strukturování experimentů této diplomové práce.

2.2 Atomová spektrometrie

Její základy položil v roce 1648 Johan Marcus Marci von Kronland, když sledoval, jak kapka vody rozkládá sluneční paprsek na jednotlivé barvy duhy. V pozdějších analýzách odhalil W. H. Wollaston ve spektru slunečního záření černé čáry, které byly později (v roce 1820) Sirem Davidem Brewsterem identifikovány jako čáry vzniklé absorpcí slunečního záření v atmosféře Slunce. Pokusy se sodíkovým spektrem vedly Roberta Bunsena a Gustava Kirchoffa k poznání, že každý prvek se projevuje charakteristickým čárovým spektrem a prvek v plynné fázi tak může být relativně snadno identifikován. Metoda ovšem (kromě astronomie) nenašla další využití kvůli komplikacím při provádění pokusů. Na své rozšíření metoda čekala až do roku 1953, kdy Sir Alan Walsh významně rozvinul metody atomové spektrometrie a v roce 1957 stál u vzniku prvního komerčního atomového spektrometru.

Atomová spektrometrie by ovšem neměla praktické využití, pokud bychom neměli znalosti o vlastnostech atomů. Sir John Dalton přišel s teorií atomů, kterou v roce 1913 rozvinul Niels Bohr zavedením kvantových čísel, určením pozitivního náboje protonů a obíháním elektronů kolem jádra v elektronovém obalu (Bohrův model atomu). Krátce poté Louis deBroglie představil teorii kvantování energie elektronů – velmi důležitá vlastnost atomů právě v atomové spektrometrii. Na závěr Wolfgang Pauli doplnil, že dva elektrony nemohou sdílet 4 stejná kvantová čísla, což se později prokázalo jako velmi důležitá vlastnost atomů, nutná k pochopení mechanismu této metody^{16,17}.

Metoda atomové absorpční spektrometrie je vhodná především pro elementární analýzu – analyty jsou prvky. Při změně energetického stavu dojde v atomu k přijetí nebo vyzáření energie, což odpovídá přechodu elektronu mezi jednotlivými energetickými

hladinami. Molekuly se skládají z atomů a jejich energie je tedy ovlivňována neustálou vibrační jednotlivých atomů kolem svých rovnovážných poloh odpovídajících dané chemické vazbě. Proto nemůže být získána žádná jiná informace o složení daného vzorku. Metody atomové spektrometrie se dělí podle principu stanovení na tři významné skupiny:

Atomová absorpční spektrometrie (AAS)

Jedná se o optickou metodu využívající absorpci záření volnými atomy prvků. Monochromatické záření o vhodné vlnové délce prochází atomizovaným vzorkem. Propustnost T (*transmittance*) je definována poměrem toku monochromatického záření propuštěného látkou po absorpci Φ k toku vstupujícího záření Φ_0 . Tuto závislost lze vyjádřit rovnicí: $T = \frac{\Phi}{\Phi_0}$

Absorbance A je pro monochromatické záření definována dle vztahu:

$$A = \log \frac{\Phi_0}{\Phi} = -\log T$$

Atomová emisní spektrometrie (AES)

Volné atomy analytu jsou excitovány do vyššího energetického stavu. Tím, že se vrací na nižší energetickou úroveň, vyzařují energii ve formě fotonů. Emisní spektrum přináší informaci kvantitativní i kvalitativní informaci o prvcích, které jsou přítomny ve vzorku¹⁸.

Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS)

Monochromatické záření o charakteristické vlnové délce, která odpovídá danému prvku, ozařuje atomizovaný vzorek. Volné atomy analytu se opět vrací na nižší energetickou hladinu a změny emise nám poskytují informaci o koncentraci analytu¹⁹.

2.3 Úprava vzorků před stanovením

Atomová absorpční spektrometrie je poměrně citlivá detekční metoda. Limity detekce této metody výrazně závisí na způsobu atomizace. Při plamenové atomizaci se tyto limity pohybují kolem desetin jednotek ppm, při elektrotermické atomizaci nebo při technice generování hydridů lze tyto limity snížit až o tři řády. Jak již bylo řečeno v kap.

2.1.3, schopností olova je dlouhodobá kumulace v těle, proto je cílem minimalizování jeho denního příjmu. Limit pro obsah olova ve vodách nastavený dle WHO je $10 \mu\text{g l}^{-1}$, což je méně, než je spodní hranice detekce pomocí plamenové AAS. Proto je pro tuto techniku nutné reálné vzorky předem upravit tak, aby byly i takto nízké koncentrace detekovatelné za použití zmíněné AAS. Instrumentálně snadnou a finančně levnou možností je prekoncentrace vzorku. V jedné z prací²⁰ je například využita off-line prekoncentrace za použití komerčního produktu Nobias-chelate PA1 s následným ICP-MS, což umožnilo simultánní extrakci osmi prvků (mimo olova Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd) z mořské vody s reprodukovatelnou citlivostí detekce od $10 \mu\text{g l}^{-1}$ ²⁰. Poměrně zajímavou metodou prekoncentrace vzorku je využití grafénu jako sorbentu s použitím difenylthiokarbazonu jako chelatačního činidla, tentokrát následovaný detekcí v plamenové AAS, přičemž tato metoda také umožňuje reprodukovatelnou detekci od $10 \mu\text{g l}^{-1}$ s lineárním průběhem až do koncentrace $600 \mu\text{g l}^{-1}$ ²¹.

2.4 Generování hydridů

Speciálním případem zvýšení citlivosti metody je pomocí generování hydridů, jde o velmi rozšířený a hojně používaný postup úpravy vzorku v analytické laboratoři. Omezením ovšem je možnost využití na úzkou skupinu prvků schopných tvořit těžké hydridy – Ge, Sn, Te, Se, As, Sb, Pb, Cd. K těmto prvkům se také řadí rtuť, díky její výjimečné vlastnosti tvořit páry rtuti i za laboratorní teploty. Možností generování hydridů je několik: chemické²² (viz kap. 2.7), elektrochemické²³ (viz kap. 2.6), fotochemické²⁴ a sonochemické²⁵. Vygenerovaný hydrid příslušného kovu je následně přiveden do atomového absorpčního spektrometru (elektrochemické generování hydridů s následnou AAS detekcí: EcHG-AAS, chemické generování hydridů s následnou AAS detekcí: CHG-AAS). Díky své selektivitě a citlivosti jsou EcHG-AAS a CHG-AAS často používané metody pro stanovení mnoha významných kovů např.: Sn, As, Se, Bi, a také Pb. Další předností této metody je možnost prekoncentrace vzorku k dosažení ještě nižšího limitu detekce, než uvádí vyhláška o obsahu olova v pitné vodě. Při správném a efektivním provedení záchytu může tento postup nahradit dražší metodu ICP-MS²⁶. V kapitolách 2.5 až 2.7 jsou popsány různé přístupy ke generování hydridů.

2.5 Přístupy ke speciální analýze založené na generování hydridů

V minulosti bylo vyvinuto několik různých přístupů jak generovat těkavé hydridy, například generování hydridů, generování substituovaných hydridů, či selektivní generování hydridů. Výběr vhodné metody generování vždy závisí na mnoha faktorech: metodě stanovení, druhu analytu, požadavkům na zpracování, limitům stanovení. Zde je uvedeno několik základních přístupů, kdy každý řeší jiný analytický problém.

Post– separační generování hydridů

V tomto přístupu je stanovovaný analyt předčištěn a následně převeden na aktivní formu hydridu, čímž se významně potlačí interference jiných prvků během atomizace/detekce. Předčištění neovlivňuje původní složení analytu a získáme velmi podrobné informace o rozřídění jednotlivých druhů analytů²⁷.

Generování substituovaných hydridů

Nachází své uplatnění u analytů, které lze převést na směs alkyl substituovaných hydridů s příslušným binárním hydridem. Tato směs je dále koncentrována kolekcí vymrazováním v kryogenní pasti. Hlavní předností této metody je použitelnost i pro velmi složité matrice např. buněčné lyzáty^{28,29}.

Selektivní generování hydridů

Selektivní generování hydridů je patrně nejrozšířenější způsob stanovení typických hydridotvorných prvků (např. As, Sb, Se, Te), založený na odlišné účinnosti převedení jednotlivých forem analytu na hydrid. Tímto způsobem lze stanovit i páry rtuti, která svojí vysokou tenzí par poskytuje monoatomární páry³⁰.

2.6 Elektrochemické generování hydridů (EcHG)

EcHG je poměrně stará metoda, kdy její první použití je popsáno ve dvou pracích z roku 1861, které popisovaly elektrolytické generování arsenu a antimonu^{31,32}. Během 20. století se metoda úspěšně rozvíjela a prošla mnoha modifikacemi. Okolo roku 1990 byla rozvinuta do dvou poměrně odlišných přístupů instrumentálního uspořádání, v jakém se

používají dodnes, tedy kontinuální a dávkové injekční elektrochemické generování těkavých hydridů³³.

Elektrochemické generování hydridů probíhá v generační cele. Mechanismus tvorby hydridů záleží na materiálu katody resp. na velikosti přepětí vodíku: elektrokatalytický mechanismus pro elektrody s nízkým přepětím vodíku, elektrochemický naopak pro katody s velkým přepětím. Obecně lze mechanismus tvorby hydridů shrnout do několika kroků: 1) disperze analytu z roztoku vzorku na povrchu katody 2) analyt přejde elektrolytickou redukcí do elementárního stavu a deponuje se na povrch katody 3) proběhne reakce mezi redukováným atomárním vodíkem a analytem v elementárním stavu, tím dojde ke vzniku hydridu 4) uvolnění hydridu z roztoku pomocí nosného plynu³⁴.

Generační cela pro ECHG

Elektrochemické generátory těkavých sloučenin existují v mnoha modifikacích^{35,36}, zde je uvedena ta, která byla v této práci použita pro generování hydridu olova.

Generační cela pro elektrochemické generování hydridů se vždy skládá ze dvou základních částí – katodového a anodového prostoru. Na katodě dochází k sorbování analytu a jeho redukcí (oxidační stav 0), následně proběhne reakce mezi redukováným analytem a atomárním vodíkem, který vznikl na povrchu katody z kyseliny – katolytu za vzniku plynného hydridu daného prvku. Do katodového prostoru je obvykle zaveden přívod pro nosný plyn, který napomáhá uvolnění vzniklého hydridu z katody a dochází k oddělení plynných složek. Následně jsou vzniklé produkty (hydrid, molekulární vodík) vedeny nosným plynem do atomizátoru a následně detekovány pomocí AAS. Materiál katody může být tvořen mnoha kovy; existuje elektroda olověná, cínová, olovnato–cínová, grafitová, platinová, wolframová, stříbrná nebo amalgámová. Volba vhodné katody s danými fyzikálními vlastnostmi je závislá na konkrétním analytickém stanovení. Jako anoda slouží drátek z platiny. Platina je velmi inertní kov, který nereaguje ani se silnými kyselinami^{37,38}. Obě elektrody, umístěné v obou prostorech, jsou zpravidla od sebe odděleny iontově výměnnou membránou nebo ve speciálním uspořádání mohou být používány i bez membrány³⁹.

Elektrický generační proud

Nastavení velikosti generačního proudu je pro každou konstrukci generační cely a stanovovaný prvek individuální. Obecně platí, že čím větší generační proud se použije, tím je účinnost generované tekavého hydridu vyšší. Na začátku měření je signál funkcí proudu (s rostoucím proudem roste i velikost signálu) až dospěje do bodu, kdy je signál na něm prakticky nezávislý, v této oblasti bývá velikost signálu v závislosti na proudu konstantní). Toto je způsobeno reakcí mezi analytem a atomárním vodíkem za vzniku hydridu, který je uvolněn z povrchu katody a tento transport je řízen pouze difúzí, a tímto se stává signál na proudu nezávislým. Vyšší proud způsobuje změnu struktury povrchu katody v podobě nepravidelností, objevují se póry a křehnutím elektroda ztrácí svoji účinnost. Nejčastěji je velikost proudu zvolena v rozmezí (0,4–3,0 A).⁴⁰ V případě elektrochemického generování olova byl v literatuře⁴¹ generační proud proměřován v rozmezí 0,2–1,5 A respektive 0,1–1,2 A a následně pro samotné měření zvolen 0,8 respektive 0,6 A.

Elektrolyty

Pro elektrochemické generování se nejčastěji používají roztoky silných minerálních kyselin; sírové, chlorovodíkové a dusičné. Je možné také použít roztoky solí kyselin jako NaCl, Na₂SO₄ či Na₂CO₃.⁴² Použití dané kyseliny, zda bude katolytem nebo anolytem, záleží na pracovních podmínkách a stanovovaném prvku. Nejčastěji se jako katolyt používá kyselina chlorovodíková a jako anolyt kyselina sírová^{43,44}. Pokud chceme použít kyselinu chlorovodíkovou jako anolyt, je třeba jí stabilizovat přídavkem 20% (w/v) hydroxylaminu, aby se zabránilo průniku plynného chloru do katodového prostoru elektrolytické cely^{45,46}.

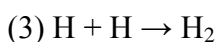
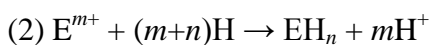
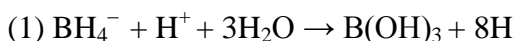
2.7 Chemické generování hydridů (CHG)

Metoda chemického generování je dlouho používaný způsob pro generování celé řady hydridotvorných prvků, např. Sn, Te, Se, In, Ge, Bi, As. Omezení má tento způsob provedení při převádění analytu na hydrid redukčním činidlem. V začátcích byly nejvíce používanými redukčními systémy; Sn–Cl₂–HCl–KI–Zn a TiCl₃–HCl–Mg⁴⁷. Postupně se nejvíce osvědčilo používání roztoku NaBH₄ v přítomnosti NaOH. Redukčním činidlem je zde NaBH₄ jako zdroj nascentního vodíku⁴⁸. I přes široce rozšířené používání NaBH₄ má mnoho zásadních nedostatků – například nestálost roztoku při laboratorní teplotě, nutnost

krátkodobé stabilizace přidavkem NaOH. Také zde hrozí riziko kontaminace z matric roztoků používaných ke stabilizaci redukčního činidla, i samotné redukční činidlo není dostupné v dostatečné čistotě, což může být zdrojem nepřesných výsledků.⁴⁹ I přes náročnější přípravu je metoda chemického generování úspěšně použitelná pro stanovení olova, neboť v případě elektrochemického způsobu stanovení je velmi nízký redoxní potenciál (–1,455 V) páru $\text{Pb}^{2+}/\text{PbH}_4$. Kromě toho v EcHG probíhají další reakce, které produkují elementární olovo místo těkavého hydridu. U CHG je vhodné převést olovo z dvojmocného stavu na čtyřmocný, protože Pb^{4+} je v roztoku mnohem lépe indikovatelný. Nestabilita Pb^{4+} v roztoku je řešena přidáním komplexotvorných sloučenin jako je kyselina mléčná, vinná, jablečná nebo Nitroso–R–soli⁴⁸. Zvýšit účinnost generování Pb^{4+} je možné přidáním roztoku oxidant–kyselina např. $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8\text{--HNO}_3$, $\text{H}_2\text{O}_2\text{--HNO}_3$, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7\text{--kys. mléčná}$, $\text{H}_2\text{O}_2\text{--HCl}$ a $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]\text{--HCl}$ nezávisle na valenčním stavu analytu. Neméně důležité jsou i další reakční podmínky generování. Hodnota pH by měla být udržována v rozmezí 1 až 2, mezi těmito hodnotami je ostré maximum⁵⁰.

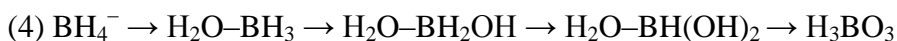
Převod analytu na hydrid a jeho následné uvolnění

Již v roce 1979 byla publikována práce pojednávající o mechanismu generování hydridů prostřednictvím reakce analytu s NaBH_4 ⁵¹. Předpoklad byl takový, že v průběhu kyselé katalyzované hydrolýzy tetrahydridoboritanem vzniká derivatizací/redukci aktivní specie atomární neboli „nascentní vodík“. Celý průběh zobrazují následující reakce; v reakci (1) dochází ke kyselé hydrolýze, následně (2) dochází k tvorbě hydridu, kde m je oxidační číslo analytu a n je koordinační číslo hydridu. Nakonec (3) vzniká z přebytku atomárního vodíku molekulární⁵².



Reakční mechanismus spojený se vznikem „nascentního vodíku“ nebyl dlouho prokázán. Teprve v roce 2004 bylo dokázáno, že ke vzniku atomárního vodíku nedochází kyselou hydrolýzou s NaBH_4 nebo jinými boranovými komplexy. Touto reakcí vzniká pouze molekulární vodík a hydroboron, nikoli atomární vodík⁵³. Tento reakční mechanismus popisuje rovnice (4). Vzorek obsahující analyt, redukční a oxidační činidlo

se dohromady smísí v reakční smyčce. Následně dojde k postupné hydrolyze BH_4^- v kyselém prostředí přes tři hydrolytické intermediáty vedoucí ke vzniku kyseliny borité;



Každý reakční krok se skládá z přesunutí jednoho atomu vodíku. Postupně se uvolní z každé molekuly, to vede k obrovskému molárnímu přebytku vodíků. Nakonec díky těmto reakcím dojde k odstranění plynné složky z reakční směsi. Pokud by reakce měla probíhat v zásaditém prostředí, NaBH_4 by analyt zredukoval, ale nebyl by dostatek vodíků pro uvolnění hydridu z kapalné fáze⁵⁴.

Transport hydridu a atomizace

Aby mohl být vzniklý hydrid stanoven, musí být pomocí nosného plynu dopraven do atomizátoru. Používají se různé plyny např. Ar, N_2 nebo Ne. Jejich výhoda spočívá v tom, že jsou inertní, tudíž nijak neovlivňují reakční produkt. Výsledek měření mohou také ovlivnit případné ztráty v důsledku rozkladu produktu na stěnách hadiček nebo jeho sorpce. Tomu se předchází tím, že se používají krátké a úzké hadičky, čímž se minimalizuje velikost povrchu. Případně se využívá vyšší průtokové rychlosti daného nosného plynu. K převedení hydridu do atomárního stavu dochází v atomizátoru. Atomizátor je odporově vyhříván na vysokou teplotu (okolo 950 °C). Uvnitř atomizátoru dojde k úplné atomizaci hydridů (nikoli tepelné disociaci) v oblaku vodíkových radikálů.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité přístroje a vybavení

Pro oba způsoby generování těkavé formy olovy (EcHG a CHG) bylo použito následujících přístrojů a vybavení:

atomový absorpční spektrometr Pye Unicam 939 (Unicam, UK), výbojka s dutou katodou pro stanovení Pb (napájecí proud 10 mA, vlnová délka 217,0 nm nebo 283,3 nm), křemenný atomizátor vlastní výroby (dutá trubice ve tvaru písmene „T“ - atomizační rameno délky 170 mm s vnitřním průměrem 12 mm a střední zúžená část délky 60 mm s vnitřním průměrem 2,0 mm), umístěný v externě vyhřívaném bloku (RMI, ČR), programovatelná osmikanálová peristaltická pumpa MasterFlex[®]L/S[®] (Cole-Parmer, USA), digitální plynový průtokoměr s měřitelným rozsahem 0 – 500 ml/min (Cole-Parmer, USA), hydrostatický separátor fází, PTFE spojovací hadičky (SUPELCO, U.S.A), průtokové a čerpací hadičky (TYGON[®], Sigma-Aldrich, UK), byly použity druhy – orange/yellow o vnitřním průměru 0,51 mm, white/white o vnitřním průměru 1,02 mm, spojovací materiál (SUPELCO, USA).

Elektrochemické generování

Pro metodu EcHG byly dále použity: laboratorní lineární zdroj LPS 303, proud 3,0 A, max. napětí 30,0 V (American Reliance, U.S.A.), průtoková generační cela vlastní výroby, iontově výměnná membrána NAFION[®] tloušťky 0,18 mm (Aldrich, USA).

3.2 Chemikálie

Použité chemikálie byly zakoupeny u společností: NaBH₄ (granulovaný, 98%, Aéros organic, Belgie), NaOH (98,6 %, LachNer, ČR), K₃[Fe(CN)₆] (p.a., Lachema Brno, ČR), HCl (p.a., 37 %, Merck, Německo), standardní roztok s obsahem Pb²⁺ (dusičnan olovnatý vázaný v kyselině dusičné, 1,0 g l⁻¹, Merck, Německo), H₂SO₄ (96 %, p.a., Merck KGaA, Německo). Certifikovaný referenční materiál SRM 1640c, Trace elements in water (c_{Pb}= 19,5 ± 0,02 μg kg⁻¹, NIST, USA). Všechny látky byly rozpuštěny v deionizované vodě připravenou zařízením Milli Q_{PLUS} (Millipore, USA).

3.3 Příprava roztoků

Příprava roztoků pro elektrochemické generování olova

Roztoky anolytu ($1,0 \text{ mol dm}^{-3} \text{ HCl}$) a katolytu ($1,0 \text{ mol dm}^{-3} \text{ H}_2\text{SO}_4$) byly naředěny z koncentrovaných kyselin deionizovanou vodou. Dále byl připraven roztok s odpovídajícím obsahem Pb^{2+} iontů v HCl o koncentraci $1,0 \text{ mol dm}^{-3}$.

Příprava roztoků pro chemické generování olova

Pro chemické generování olova byly připraveny tři základní roztoky. Roztok analytu se slepým roztokem, slepý roztok a redukční činidlo. V jednotlivých krocích byly používány roztoky, v nichž se pro potřeby optimalizace měnily koncentrace sledovaných látek. Slepé roztoky byly tak připraveny o různých koncentracích $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ a HCl, roztoky analytu obsahovaly odlišné množství zásobního roztoku (dusičnan olovnatý v kyselině dusičné, $c = 1,0 \text{ g l}^{-1}$) obsahujícího dvojmocné olovo. Roztoky redukčního činidla byly postupně optimalizovány na celkovou koncentraci nejprve NaOH a poté NaBH_4 . Pro ilustraci je uvedena příprava jednotlivých roztoků o jedné použité koncentraci.

Příprava slepého roztoku

Roztok $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ v HCl musí být připravován do právě umyté odměrné baňky, protože má tendenci tvořit s jakoukoliv nečistotou nerozpustnou sraženinu. Roztok $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ je třeba připravovat vždy čerstvý kvůli nestabilitě $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ v kyselém prostředí. Po uplynutí cca. 3 hodin od přípravy roztoku dochází k viditelné změně barvy a naměřená změna absorbance vygenerovaného olovnatého hydridu má klesající tendenci.

Slepý roztok 2,0 % m/v $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ v $0,25 \text{ mol dm}^{-3} \text{ HCl}$ byl připraven navážením 5,0 g krystalického $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, převeden diferenčně do odměrné baňky na 250 ml a dolit po rysku 0,25 M roztokem kyseliny chlorovodíkové (ten byl připraven odměřením 20 ml 37 % m/m kyseliny chlorovodíkové a dolitím deionizovanou vodou v odměrném válci do 965 ml).

Příprava analytu pro kontinuální uspořádání

Roztok analytu o koncentraci $100 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ byl připraven odměřením 2,5 ml zásobního roztoku do odměrné baňky na 25 ml pomocí automatické pipety (zásobní roztok dusičnanu

olovnatého o koncentraci $1,0 \text{ g l}^{-1}$ vázaný v kyselině dusičné a doplněn po rysku slepým roztokem.

Příprava analytu pro dávkové uspořádání

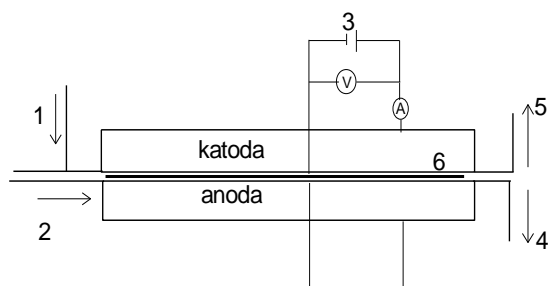
Roztok analytu o koncentraci $100 \text{ } \mu\text{g l}^{-1}$ byl připraven odměřením 5,0 ml zásobního roztoku do odměrné baňky na 50 ml pomocí automatické pipety (zásobní roztok dusičnanu olovnatého vázaný v kyselině dusičné, $c = 1 \text{ g l}^{-1}$) a doplněn po rysku deionizovanou vodou.

Příprava redukčního činidla

Roztok redukčního činidla o koncentraci 1,3 % m/v NaOH a 0,3 % m/v NaBH₄ byl připraven: nejprve bylo naváženo 1,5 g NaOH a kvantitativně převedeno do odměrné baňky na 500 ml, poté bylo naváženo 6,5 g NaBH₄ a kvantitativně převedeno do baňky obsahující již odvážený NaOH a dolito po rysku deionizovanou vodou.

3.4 Experimentální uspořádání pro metodu ECHG

Experimentální uspořádání pro elektrochemické generování se skládá z několika částí. Peristaltické čerpadlo přivádí katolyt a anolyt do průtokové generační cely, ta je rozdělena nafionovou membránou na dvě části katodovou a anodovou. Uvnitř elektrolytické cely jsou umístěny generační elektrody zhotovené z dvou olověných drátků. Před vstupem do generační cely je zaveden přívod pro nosný plyn, aby mohlo dojít k desorpci těkavého hydridu z povrchu katody a usnadnění jeho převodu do plynné fáze. Výstup z anodového prostoru je veden do odpadu. Druhý výstup z katodového prostoru pokračuje do separátoru fází. V separátoru fází dojde k oddělení těkavé formy od kapalné. Vzniklý hydrid je pomocí nosného plynu dále transportován do atomizátoru, kde dochází k detekci stanovovaného analytu. V této diplomové práci byla použita průtoková generační cely s iontově výměnou nafionovou membránou. Schéma této cely (boční pohled) je na obr. 3.1.



Obr. 3.1: Schéma tenkovrstvé průtokové cely s nafionovou membránou

1- *přívod nosného plynu*, 2- *přívod elektrolytů*, 3- *zdroj elektrického proudu*, 4- *odvod do odpadu*, 5- *vstup do separátoru fází*, 6- *nafionová membrána*

3.5 Experimentální uspořádání pro metodu CHG

Při chemickém generování byly využity dva různé způsoby experimentálního uspořádání. První uspořádání, **kontinuální průtokové**, umožňuje nepřetržité zavádění vzorku do reakční cívky a díky tomu je udržována konstantní koncentrace generovaného hydridu a tedy i konstantní hodnota absorbance. Druhé, **injekční dávkové**, využívá kontinuálního proudu nosného toku (vody) do něhož je dávkován (injektován) malý objem vzorku obsahující analyt.

Roztoky analytu obsahující dvojmocné olovo, redukční činidlo obsahující NaBH_4 a NaOH , byly čerpány odděleně pomocí osmikanálové peristaltické pumpy. K chemické reakci mezi těmito roztoky docházelo v reakční cívce, která přímo navazovala na výstup peristaltické pumpy. Na konec reakční cívky byl připojen přívod nosného plynu (argon) a reakční směs obohacená o nosný plyn vstupovala do separátoru fází. Ze separátoru vedly dva výstupy. Jedním odcházela odpadní kapalná fáze do odpadu, plynná fáze obsahující vygenerovaný hydrid opouštěla separátor druhým výstupem do externě vyhřívaného atomizátoru, kde docházelo k detekci hydridu za použití zdroje primárního záření – výbojky s dutou katodou. K detekci záření byl použit atomový absorpční spektrometr.

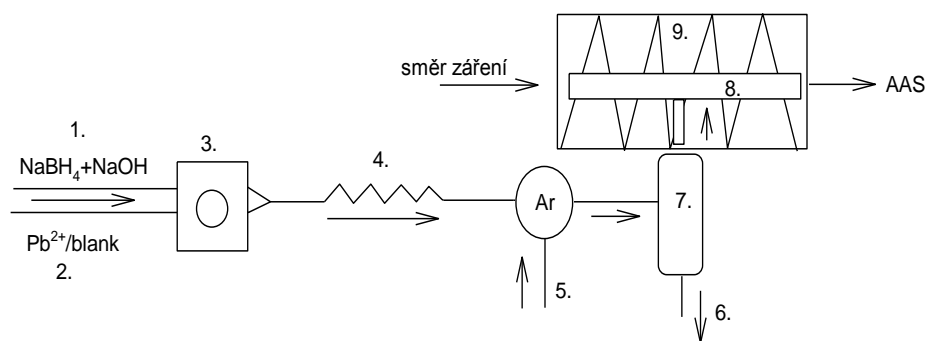
Kontinuální a dávkové uspořádání se liší ve dvou bodech instrumentálního uspořádání – dávkování vzorků a čerpání roztoků. Rozdílné jsou i přípravy analytů – v kontinuálním uspořádání je analyt rozpuštěn ve slepém roztoku (viz výše).

U kontinuálního uspořádání je používána pouze jedna peristaltická pumpa k čerpání roztoků. Redukční činidlo je čerpáno nepřetržitě první hadičkou, druhou hadičkou je čerpán slepý roztok. Ten je vyměněn za analyt v matici slepého roztoku a způsobí tím

změnu velikosti absorpance v závislosti na koncentraci přítomného analytu. V případě injekční průtokové analýzy jsou vyžadovány dvě peristaltické pumpy. První pumpa čerpá redukční činidlo a vodu jako nosný tok. Druhá roztok $K_3[Fe(CN)_6]$ v HCl. Vzorek analytu je dávkován injekčně do dávkovací cívky vhodného objemu a otočením dávkovacího kohoutu se dostane do styku s reakčními roztoky. Od tohoto kroku jsou obě instrumentální provedení identická. Jednotlivé parametry optimalizace jsou dále popisovány na kontinuálním uspořádání, je ovšem nutné mít na paměti, že shodný průběh optimalizace byl použit i pro dávkové uspořádání.

3.5.1 Kontinuální průtoková analýza (CFA)

Všechny roztoky byly čerpány jedinou pumpou dvěma hadičkami o různých vnitřních průměrech. Redukční roztok $NaBH_4$ (stabilizovaný NaOH) byl nasáván užší hadičkou (Tygon, orange/yellow, I.D. = 0,51 mm). Slepý roztok $K_3[Fe(CN)_6]$ (připravený v prostředí HCl) a roztok analytu v $K_3[Fe(CN)_6]$ (opět v prostředí HCl) byly střídavě vedeny jedinou hadičkou (Tygon, black/black, I.D. = 0,76 mm). Mezi každou výměnou hadiček byl proveden mezikrok spočívající v jejich vypláchnutí deionizovanou vodou, kvůli možné kontaminaci slepého roztoku analytem. Dále roztoky protékaly reakční cívku, až se pomocí nosného plynu dostaly do separátoru fází. Zde byl uvolněný hydrid transportován do atomizátoru, kde došlo k atomizaci. Změna absorpance při tomto způsobu dávkování, kdy byl analyt zaváděn po celou dobu stanovení, se projevila jako narůstající křivka s následným konstantním průběhem. Teprve po vyjmutí hadičky s analytem a čerpání jen slepého roztoku absorpance poklesla na základní linii. Odečet hodnot absorpance byl proveden zprůměrováním všech hodnot, v oblasti konstantního průběhu generování, a statisticky zpracován. Na obr. 3.1 je znázorněno schéma pro kontinuální generování hydridů. Nejprve je analyt ve vzorku spolu s redukčním činidlem čerpán peristaltickou pumpou (3) do reakční cívky (4), kde dochází ke kontinuální reakci vzorku s $NaBH_4$. Před vstupem do separátoru (7) je vstup pro nosný plyn (5), který uvolňuje a následně transportuje vzniklý hydrid do atomizátoru (8). Atomizátor je umístěn v odporově vyhřívaném topném bloku vyloženém keramickou vatou (9). Teplota uvnitř atomizátoru je měřena v co nejmenší vzdálenosti od stěny atomizátoru pomocí platinového termočlánku.



Obr. 3.2: Schéma kontinuálního chemického generování s AAS detekcí

1- *přívod redukčního činidla*, 2- *přívod pro vzorek / blank*, 3- *peristaltické čerpadlo*, 4- *reakční smyčka*, 5- *přívod nosného plynu*, 6- *odtok do odpadu*, 7- *separátor fází*, 8- *křemenný atomizátor*, 9- *topný blok s vyhříváním*

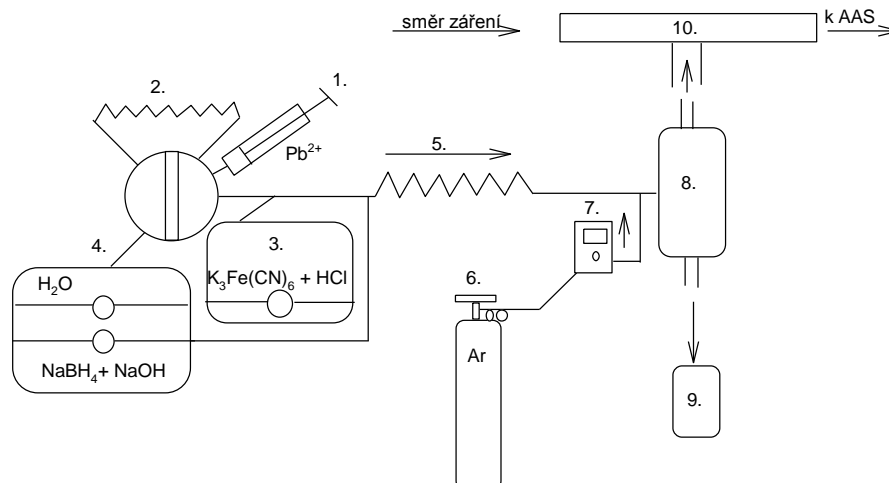
3.5.2 Průtoková injekční analýza (FIA)

Další metoda generování hydridů byla provedena pomocí dávkového uspořádání. Jeho výhoda spočívala v menší spotřebě vzorku, který nemusel být ve stejné matici jako slepý roztok, ale hlavně v regulaci nadávkovaného objemu vzorku. Vzorek byl injekční stříkačkou zaváděn v jednotlivých dávkách přes ventil do dávkovací cívky. Jako pracovní roztok byl použit roztok NaBH_4 byl připravován čerstvý díky jeho nestálosti. Při rozpouštění NaBH_4 v zásaditém prostředí hydroxidu vznikalo velké množství bublinek, které by při nasátí průtokovými hadičkami zvyšovaly absorpenci, proto bylo nutné roztok na přibližně 5 minut ponořit do ultrazvuku. Zásobní roztok byl uchováván v lednici.

Pokud je dávkován příliš velký objem roztoku vzorku, dostáváme se ke kontinuálnímu generování. Po otočení dávkovacího kohoutu a vstupu hydridu do atomizátoru byl pozorován vždy jeden samostatný, ostrý pík, který klesal s postupující reakcí. Vzorek byl dávkován vždy třikrát a odečet změny absorpance byl prováděn z vrcholu píku. Získané hodnoty byly statisticky zpracovány a vyneseny do příslušné závislosti.

Zředěný standardní roztok Pb^{2+} byl dávkován injekční stříkačkou do dávkovací smyčky, která byla spojena s dávkovacím kohoutem, a jeho otočením byl analyt nadávkován. První peristaltickou pumpou byl čerpán redukční roztok NaBH_4 (hadičkou Tygon, orange/yellow, I.D.= 0,51 mm) a voda (hadičkou Tygon, white/white, I.D.= 1,02

mm) jako nosič. Druhou peristaltickou pumpou byl přiváděn roztok $K_3[Fe(CN)_6]$ (hadičkou Tygon, black/black, I.D.= 0,76 mm). Ke smísení a reakci roztoků došlo v reakční smyčce ($l_{sm.} = 0,75$ m), která byla napojena k separátoru fází. Ještě před vstupem do separátoru byl zaveden vstup pro nosný plyn. Dále bylo zapojené stejné jako u kontinuálního generování.



Obr. 3.3: Schéma generování hydridů v dávkovém uspořádání

1- dávkování analytu, 2- dávkovací ventil se smyčkou, 3- přívod oxidačního činidla, 4- přívod redukčního činidla a vody, 5- reakční smyčka, 6- přívod nosného plynu, 7- průtokoměr, 8- separátor fází, 9- odpad, 10- křemenný atomizátor

3.6 Provedení optimalizačních experimentů

3.6.1 Optimalizace průtokové rychlosti pracovních roztoků při kontinuálním uspořádání

V kontinuálním uspořádání byla používána jedna pumpa, která čerpala roztoky dvěma hadičkami o různých vnitřních průměrech, byla provedena kalibrace pumpy. Ta spočívala v čerpání vody z odměrného válce, abychom získali hodnotu odčerpaného objemu vody za jednu minutu. Z těchto dat bylo zjištěno, že hadička orange/yellow má třetinovou rychlost průtoku oproti hadičce white/white. Následovala optimalizace průtokových rychlostí. Pumpa byla nastavena postupně na rychlost od 1,0 až po 7,0 ml min^{-1} . Získané hodnoty třech opakovaných měření byly opět vyneseny do grafu, vybraná hodnota průtokové rychlosti roztoků již nebyla měněna.

3.6.2 Optimalizace koncentrace použitých roztoků

Optimalizace koncentrace použitých roztoků probíhala při stejném instrumentálním uspořádání. Zde je pro příklad uvedena optimalizace koncentrace redukčního činidla. Sada roztoků (11 různých koncentrací postupně se navyšující o hodnotu 0,1 %) pro stanovení byla připravena v rozmezí od 1,0 do 2,0 % (m/v) NaBH₄. Odvážené množství NaBH₄, bylo kvantitativně převedeno do odměrných baněk (V= 25 ml) a doplněno roztokem 0,4 % NaOH po rysku. Z výsledků změny absorbance byla vybrána koncentrace redukčního činidla pro kontinuální generování hydridu olova.

3.6.3 Optimalizace délky reakční smyčky

V reakční cívce dochází ke smísení všech roztoků pro generování hydridů. Aby bylo zajištěno dostatečné zreagování výchozích látek za vzniku hydridu. Smyčka byla postupně zkracována z délky 2 m až na 0,5 m, při každém zkrácení bylo odstraněno 0,25 m cívky a spoje utěsněny. Pro kontrolu těsnosti byla smyčka promývána vodou po dobu cca 5 minut. Naměřené hodnoty byly statisticky zpracovány a ze získaných hodnot byla určena vhodná délka reakční smyčky, používaná v následných měřeních.

3.6.4 Optimalizace průtokové rychlosti nosného plynu

Dalším parametrem, který ovlivňuje výsledky měření, je rychlost průtoku nosného plynu. Počáteční hodnota průtoku nosného plynu byla 50 ml min⁻¹ přičemž byla postupně zvyšována vždy o 25 ml až do hodnoty 250 ml min⁻¹. Vhodná průtoková rychlost byla vybrána v závislosti na změně absorbance. Vybraná hodnota průtokové rychlosti byla poté trvale používána.

3.6.5 Optimalizace teploty atomizace

Teplota atomizace byla postupně zvyšována od 830 až k 950 °C (velikost kroku po 25 °C). Při každé nastavené teplotě byla změna absorbance měřena třikrát. Získané hodnoty byly vyneseny do grafu a z průběhu závislosti změny absorbance na teplotě byla vybrána teplota atomizace pro další stanovení.

3.7 Statistické zpracování výsledků

Vyhodnocení získaných dat bylo provedeno metodou statistického zpracování výsledků. Každé měření bylo provedeno třikrát, aby bylo možné získaná data statisticky zpracovat a vyhodnotit přesnost a citlivost použité metody. Hodnoty byly vyneseny do grafu ve formě mediánů a ke každé hodnotě byla přiřazena příslušná chybová úsečka. Ve výsledkové tabulce jsou uvedeny i další statistické parametry stanovení, které byly vypočítány podle následujících vzorců.

Medián – \tilde{x} , je ve skupině výsledků taková hodnota, která leží uprostřed řady výsledků seřazených vedle sebe podle velikosti. Pro lichý počet výsledků je medián hodnota ležící uprostřed tohoto intervalu, pokud je počet výsledků sudý, vypočítáme průměr z prostředních dvou hodnot.

Aritmetický průměr – \bar{x}_i se získá ze vzorce:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

kde x_i je vypočtený výsledek, n je počet vypočtených výsledků. Pro malý soubor výsledků $n \leq 20$, je aritmetický průměr citlivý na okrajové hodnoty, proto použijeme místo aritmetického průměru medián.

Směrodatná odchylka vypočtená z rozpětí – s_r se spočítá podle vzorce:

$$s_r = k_n \cdot R$$

kde k_n je tabelovaný koeficient pro jednotlivá n a R představuje rozpětí, které je definováno:

$$R = x_{max} - x_{min}$$

kde x_{max} a x_{min} jsou největší a nejmenší hodnoty vypočtených výsledků.

Limit detekce (LOD) je nejmenší hodnota obsahu (koncentrace) analytu ve zkoumaném vzorku, kterou můžeme detekovat, ale nemusí být stanovitelná. Je to trojnásobek šumu základní linie a vypočítá se:

$$LOD = 3 \cdot sm. od. \text{šumu}$$

Limit stanovitelnosti (LOQ) představuje nejnižší množství analytu, které jsme schopni stanovit jako exaktní hodnotu se stanovenou nejistotou. Vypočítá se podle rovnice jako desetinásobek šumu od základní linie:

$$LOQ = 10 \cdot sm. od. šumu$$

Hodnota směrodatné odchylky šumu pro mez detekce a stanovitelnosti byla získána z kalibrační přímky pro nízké koncentrace.

Hodnoty chybových úseček, které jsou zobrazeny v grafech, byly vypočítány ze směrodatné odchylky pro každé měření (3x se opakující) zvlášť.

4 VÝSLEDKOVÁ ČÁST A DISKUZE

V této části diplomové práce jsou uvedeny a diskutovány výsledky studia vztahu mezi různými parametry experimentálního uspořádání a naměřenými hodnotami absorpance stanovovaného analytu, dále vztahy mezi složením pracovních roztoků a absorpancí sledovaného analytu.

První kapitola této práce je věnována experimentům s elektrochemickým generováním tekavé formy olova. Vzhledem k obtížnosti stanovení olova touto technikou bylo dále přistoupeno k metodě chemického generování, jíž je věnována prakticky celá výsledková část.

První dvě kapitoly této části práce jsou věnovány optimalizaci fyzikálních a chemických parametrů v kontinuálním průtokovém uspořádání. Diskuze je především zaměřena vliv průtokové rychlosti nosného plynu, průtokovou rychlost reakčních roztoků a délku reakční cívky. Z chemických parametrů je diskutován vliv koncentrace HCl, $K_3[Fe(CN)_6]$, $NaBH_4$, NaOH a poměr $NaBH_4/NaOH$ na tvorbu hydridu olova. V poslední části této kapitoly je diskutován rozsah kalibrační přímky standardu Pb^{2+} .

V následujících dvou kapitolách jsou diskutovány fyzikální a chemické parametry v průtokovém injekčním uspořádání. Diskuze je zaměřena nejen na vliv změn parametrů jako v předcházejících dvou kapitolách, ale také porovnání výsledků optimalizací v těchto dvou uspořádání.

4.1 Elektrochemické generování hydridů (EcHG) hydridu olova

Na začátku celého měření bylo přistoupeno k metodě elektrochemického generování hydridu olova. První pokusy s elektrochemickým generováním probíhaly za použití elektrochemické cely, která byla nafionovou membránou rozdělena na katodový a anodový prostor. Uvnitř cely byla také umístěna olověná elektroda. Do elektrolytické cely byl přiváděn konstantní elektrický proud o velikosti 0,7 A. Atomizátor byl vyhříván na teplotu 950 °C, nastavená vlnová délka $\lambda_{Pb} = 217,0$ nm. Peristaltickou pumpou přitékala HCl, jejíž koncentrace byla v průběhu optimalizace měněna, s obsahem Pb^{2+} o koncentraci $100 \mu g l^{-1}$. Nosný plyn (argon) o průtokové rychlosti $v_{Ar} = 30$ ml min^{-1} byl zaveden do proudu katolytu před vstupem do průtokové generační cely, aby napomohl uvolnění vzniklého hydridu olova z povrchu elektrody a jeho převedení do plynné fáze. Toto

uspořádání se ukázalo jako nevhodné, protože dosažený signál se pohyboval v oblasti šumu a neposkytl žádné relevantní hodnoty o obsahu Pb ve stanovovaném vzorku. Proto jako další možnost byla použita cela bez iontově výměnné membrány. Reakční prostor již nebyl rozdělen na dvě části a generační celou protékala pouze HCl o odpovídající koncentraci a roztoky Pb^{2+} v HCl. Koncentrace kyseliny byla následně optimalizována v rozmezí koncentrací od 0,1 do 1,0 mol dm^{-3} při zachování výchozích hodnot pracovních parametrů. Nejvyšší hodnoty absorbance bylo dosaženo při použití 0,25 mol dm^{-3} HCl, proto tato koncentrace byla vybrána pro další stanovení. Teplota byla optimalizována od 900 do 980 °C, v tomto rozmezí hodnot nebyl pozorován velký vliv na stanovení. Vybraná teplota 950 °C byla dostatečná pro úplnou atomizaci. Optimalizace velikosti elektrického proudu probíhala v intervalu 0,1 do 0,7 A. Byla zaregistrována změna signálu velice malá, prakticky v oblasti šumu. Proto následovalo rozebrání aparatury a vymytí atomizátoru kyselinou fluorovodíkovou kvůli případným nečistotám, které by mohly rušit stanovení. Rozebráním generační cely byla zkontrolována její těsnost a také stav elektrody. Průtokové i spojovací hadičky byly promyty, kvůli jejich případné neprůchodnosti. Také byla měřena teplota uvnitř atomizátoru. Aktivace signálu roztokem s obsahem 1,0 mg l^{-1} Pb^{2+} v různých kyselinách (H_2SO_4 a HNO_3) se na změně signálu nijak neprojevila. Použitím zdroje kontinuálního záření (deuteriová výbojka) byla provedena kompenzace pozadí. Pokud by při měření docházelo k zeslabení primárního záření, ať už v důsledku absorpce volnými atomy prvků nebo nespecifickou absorpcí, tj. absorpcí pozadím, tato korekce pozadí by poskytla správně korigované hodnoty absorbance. Záznam měření byl v obou případech (s korekcí i bez korekce) stejný. Následující změny reakčních podmínek generování hydridů jako zvýšení hodnot elektrického proudu, změny průtokových rychlostí roztoků a nosného plynu, výměna olovené elektrody za cínovou taktéž nepřinesly zlepšení. Po navrácení všech optimalizačních parametrů na původní hodnoty, kdy byly naměřeny relevantní změny absorbance, se výsledky ani po několika opakováních nepodařilo zreprodukovat. Díky těmto krokům bylo ověřeno tvrzení z literatury⁴⁸, že olovo se elektrochemicky mnohem lépe stanovuje ze čtyřmocného stavu než z dvojmocného. Použití pevného PbO_2 , kde je olovo ve čtyřmocném stavu, se ukázalo jako velký problém. Tato pevná látka je velmi těžce rozpustná v etanolu a ve vodě, těžce rozpustná v kyselině octové, sírové, chlorovodíkové i mravenčí. Při styku PbO_2 s kyselinou chlorovodíkovou vzniká chlorid olovnatý, protože ion Pb^{4+} je sám o sobě nestabilní a velmi snadno se

redukuje na ion Pb^{2+} . Z těchto důvodů, hlavně nereprodukovatelnosti výsledků, bylo přistoupeno k metodě elektrochemického generování, kde problém předredučního kroku byl vyřešen použitím NaBH_4 . Proto byl přijat předpoklad, že pro vznik páru $\text{Pb}^{4+}/\text{PbH}_4$ je nutný přírůstek silného oxidantu. A právě tento mechanismus využívá metoda chemického generování, která byla použita jako výchozí pro stanovení olova.

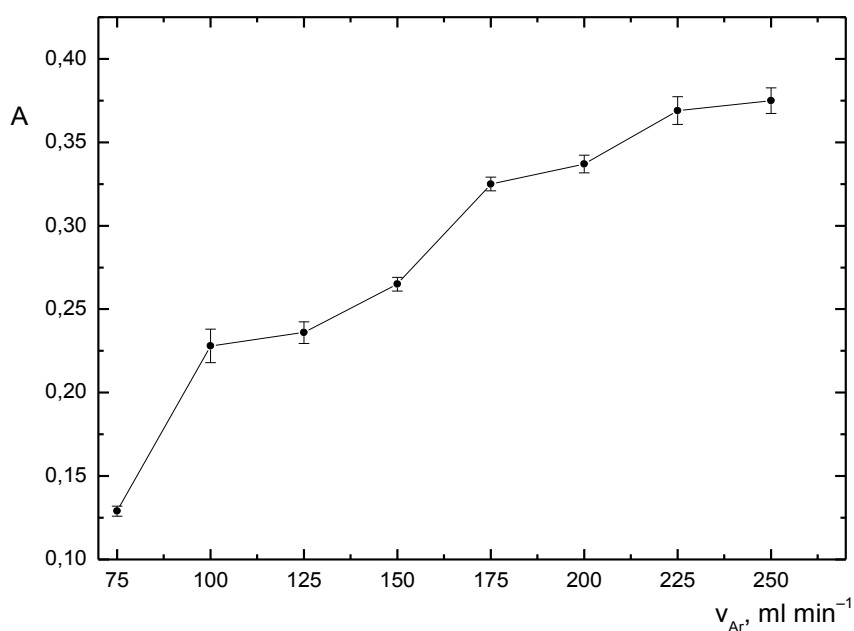
4.2 Chemické generování (CHG) hydridu olova v režimu CFA

Účinnost zvolené metody je závislá na správném nastavení fyzikálních parametrů (např. průtoková rychlost nosného plynu, délka reakční cívky apod.) a chemických parametrů (koncentrace redukčního činidla apod.).

Jednotlivé pracovní podmínky byly postupně měněny pro zvolení optimální hodnoty pro dané měření. Prvotní nastavení přístroje bylo zvoleno dle specifikací uvedených v odborných publikacích^{55, 56}. Pokud není uvedeno jinak, ve všech případech měření probíhalo při vlnové délce 283,3 nm a při atomizační teplotě 950 °C.

4.2.1 Průtoková rychlost nosného plynu

Použití nosného plynu (pro svoji inertnost byl vybrán argon) je důležité především pro transport vzniklého plynného hydridu ze separátoru fází do atomizátoru. Jeho průtoková rychlost je důležitým parametrem v chemickém generování, protože má velký vliv na účinnost převodu analytu do plynné fáze a proces atomizace. Přívod nosného plynu byl zaveden za reakční cívku před vstupem do separátoru fází. Experimentálně byla vyzkoušena i možnost zapojení před reakční cívku, ale to se ukázalo jako nevhodné z důvodu vstupu reakční směsi do přívodné hadičky nosného plynu a silnou pulzací toku reakční směsi cívku a následnou pulsací signálu. Vliv průtokové rychlosti nosného plynu na získaném signálu, který souvisí s uvolňováním hydridu z reakční směsi a jeho transportem ze separátoru fází je uveden na obr. 4.1. Jednotlivé hodnoty absorbance při různých průtokových rychlostech nosného plynu byly zjišťovány za následujících podmínek: koncentrace analytu Pb^{2+} 100 $\mu\text{g l}^{-1}$, 2 % $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ rozpuštěný v 0,1 mol dm^{-3} HCl, koncentrace redukčního činidla byla 2 % NaBH_4 v 0,4 % NaOH, průtoková rychlost pracovních roztoků reakčních činidel byla 3,0 ml min^{-1} , průtoková rychlost redukčního činidla byla třetinová.



Obr. 4.1: Optimalizace průtokové rychlosti nosného plynu

$$c_{Pb} = 100 \mu\text{g l}^{-1}, c_{Fe} = 2 \%, c_{HCl} = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}, c_{red.} = 2 \%, c_{stab.} = 0,4 \%,$$

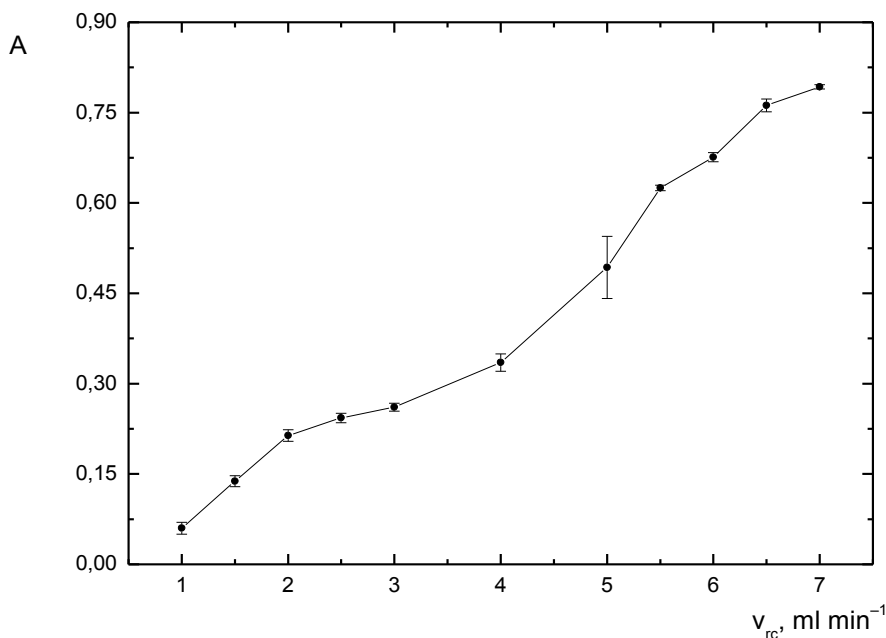
$$v_{rc} = 3,0 \text{ ml min}^{-1} / 1,0 \text{ ml min}^{-1}$$

Jak je z obr. 4.1 patrné, velikost absorbance s rostoucí průtokovou rychlostí postupně narůstá, až dosáhla hodnoty kolem 0,8 absorbanční jednotky při 175 ml min⁻¹ a dále již nestoupala, proto byla vybrána tato hodnota průtokové rychlosti jako optimální.

Z uvedené závislosti je patrné, že při stoupající průtokové rychlosti docházelo k efektivnímu převodu plynného hydridu olova do plynné fáze a jeho následnému transportu do atomizátoru. Vzhledem k dosažení vysokého signálu při zvolené optimální průtokové rychlosti, nebyla dále vyšší průtoková rychlost používána, a to především také kvůli kapacitě (průměru) experimentální aparatury. Při ještě vyšší průtokové rychlosti než zvolených 175 ml min⁻¹ byl pozorován pokles signálu, který pravděpodobně souvisí s poklesem koncentrace volných atomů analytu v důsledku rychlého transportu z optické osy spektrometru.

4.2.2 Průtoková rychlost reakčních činidel

Jako reakční činidla byly použity jednak 2% roztok $K_3[Fe(CN)_6]$ v 0,1 M HCl, který byl čerpán hadičkou s vyšším vnitřním průměrem (tento roztok byl současně zaměňován za roztok o stejném složení, obsahující navíc analyt Pb), a jednak 2% roztok redukčního činidla $NaBH_4$ v 0,4% NaOH, který byl čerpán hadičkou třetinovou průtokovou rychlostí. Průtoková rychlost roztoků obou reakčních činidel byla následně optimalizována. Přívodními hadičkami byly roztoky čerpány peristaltickou pumpou rychlostí od 0,5 do 7,0 ml min⁻¹, přičemž zvyšování rychlosti průtoku bylo vždy o 0,5 ml min⁻¹. Uvedená hodnota rychlosti se týká průtokové rychlosti roztoku $K_3[Fe(CN)_6]$, k níž průtoková rychlost redukčního činidla byla vždy třetinová.



Obr. 4.2: Optimalizace průtokové rychlosti pracovního roztoku

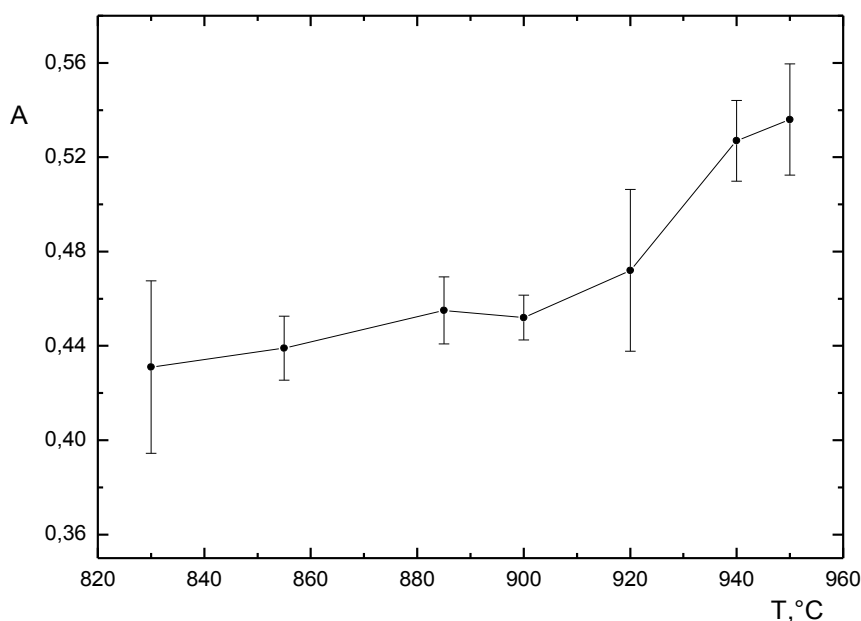
$$c_{Pb} = 100 \mu\text{g l}^{-1}, c_{Fe} = 2 \%, c_{HCl} = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}, c_{red.} = 2 \%, c_{stab.} = 0,4 \%, \\ v_{Ar} = 175 \text{ ml min}^{-1}$$

Z obr. 4.2 je patrné, že se vzrůstajícím průtokem reakčních roztoků vzrůstá absorbance. Předpokladem je nízká stabilita nově vzniklého PbH_4 , který se při nízké průtokové rychlosti rozkládá ještě před vstupem do separátoru fází. Při vyšší průtokové

rychlosti zase nedojde k úplnému zreagování Pb^{2+} . V našem stanovení tak byla průtoková rychlost udržována na úrovni $6,0 \text{ ml min}^{-1}$.

4.2.3 Teplota atomizace

Další sledovaný parametr při stanovení olova je teplota uvnitř atomizátoru, ve kterém dochází k atomizaci. Při nízké teplotě je proces atomizace nedostatečný, což se výrazně projeví na nízké hodnotě získaného signálu, při vysoké atomizační teplotě dochází k poškození atomizátoru. Proto je vhodné nastavit takovou teplotu, při níž bude získán relativně vysoký signál, avšak životnost atomizátoru bude snížena jenom částečně. Průběh závislosti získaného signálu na teplotě atomizace je uveden na obr. 4.3.



Obr. 4.3: Optimalizace teploty atomizace

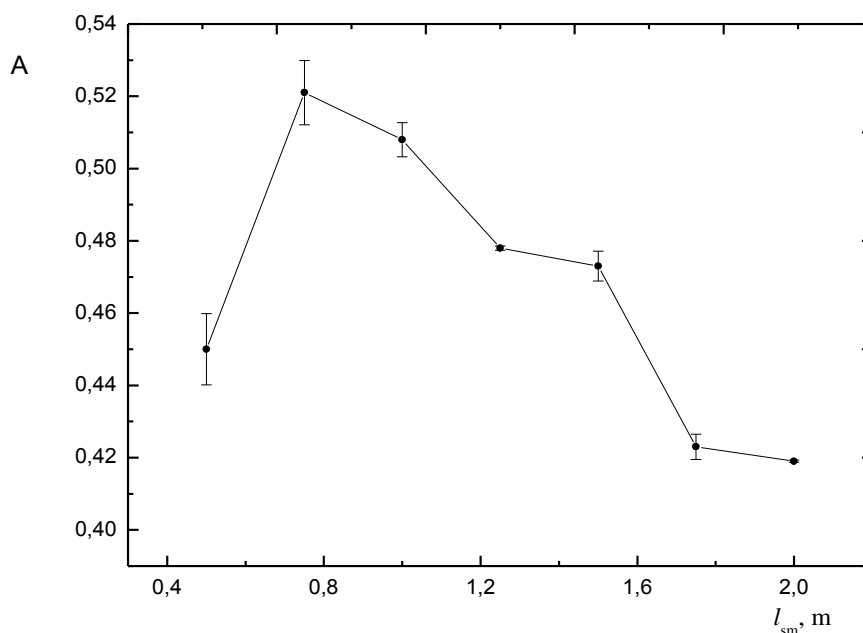
$$c_{Pb} = 100 \mu\text{g l}^{-1}, c_{Fe} = 2 \%, c_{HCl} = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}, c_{red.} = 1,3 \%, c_{stab.} = 0,3 \%, \\ v_{rc} = 6,0 \text{ ml min}^{-1} / 2,0 \text{ ml min}^{-1}, v_{Ar} = 175 \text{ ml min}^{-1}$$

Nejnižší teplota, kterou bylo možno nastavit na vyhřívání, byla $830 \text{ }^\circ\text{C}$, nejvyšší pak $1\,000 \text{ }^\circ\text{C}$. Z průběhu závislosti na obr. 4.3 lze vyčíst, že se vzrůstající teplotou vzrůstá i účinnost atomizace vzorku. K významnému zvýšení účinnosti atomizace dochází až při

teplotě 920°C. Nejvyšší hodnoty absorbance bylo dosaženo při teplotě 950°C, která byla dále používána jako optimální.

4.2.4 Délka reakční smyčky

V průběhu dávkování analytu dochází v reakční aparatuře k mísení pracovních roztoků ($[K_3Fe(CN)_6]$) a následné tvorby těkavého hydridu olova, PbH_4 . U této reakce se za daných experimentálních podmínek předpokládá rychlý průběh. Nicméně i zde je vhodné optimalizovat délku reakční smyčky, která souvisí s délkou setrvání směsi všech reakčních činidel v experimentální aparatuře. Závislost naměřené absorbance atomizovaného PbH_4 na délce reakční smyčky je zobrazena na obr. 4.4.



Obr. 4.4: Optimalizace délky reakční smyčky

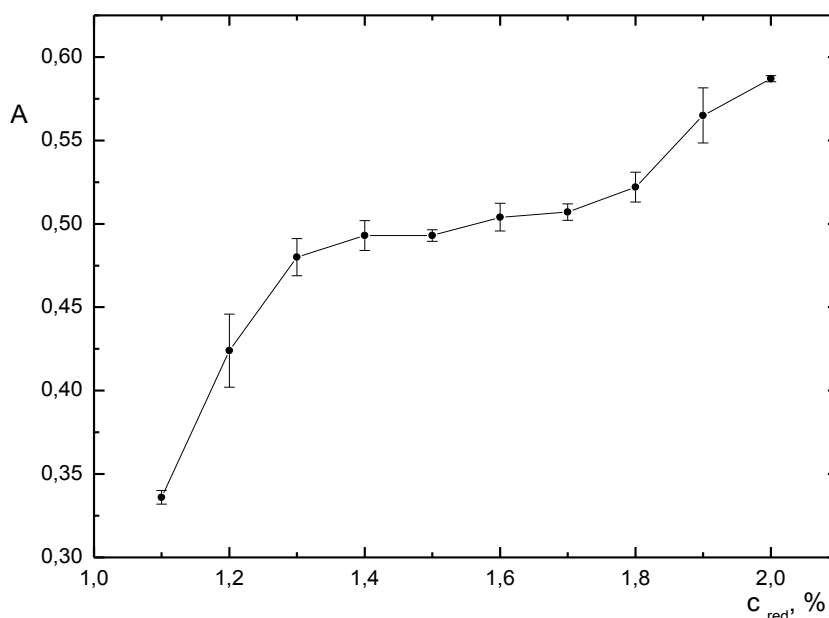
$$c_{Pb} = 100 \mu\text{g l}^{-1}, c_{Fe} = 2 \%, c_{HCl} = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}, c_{red.} = 1,3 \%, c_{stab.} = 0,3 \%, \\ v_{rc} = 6,0 \text{ ml min}^{-1} / 2,0 \text{ ml min}^{-1}, v_{Ar} = 175 \text{ ml min}^{-1}$$

Z průběhu křivky na obr. 4.4 vyplývá, že maximální absorbance bylo dosaženo, pokud reakční smyčka měla délku 0,75 m. V případě, že smyčka byla kratší (0,5 m) předpokládáme, že nedošlo k úplnému zreagování analytu. Zatímco v případě, kdy smyčka byla delší (1 m a více) předpokládáme, že signál začal klesat z důvodu postupného

rozkladu termodynamicky nestabilního PbH_4 . Jako optimální délka reakční smyčky byla vybrána hodnota 0,75 m.

4.2.5 Koncentrace tetrahydridoboritanu sodného

V další části práce byl sledován vliv koncentrace NaBH_4 na velikost absorpčního signálu analytu. Byla připravena sada roztoků o různé koncentraci NaBH_4 . Koncentrace se pohybovala v rozsahu od 1,0 do 2,0 %, s krokem po 0,1 %. Výsledky optimalizace koncentrace v reakční směsi jsou uvedeny na obr. 4.5. Je známo, že NaBH_4 je ve vodném prostředí relativně nestálá látka, proto se připravuje jeho roztok s malým přídatkem NaOH o výsledné koncentraci 0,4 %, který roztok redukčního činidla stabilizuje. Výsledná závislost je zobrazena na obr. 4.5.



Obr. 4.5: Optimalizace koncentrace redukčního činidla

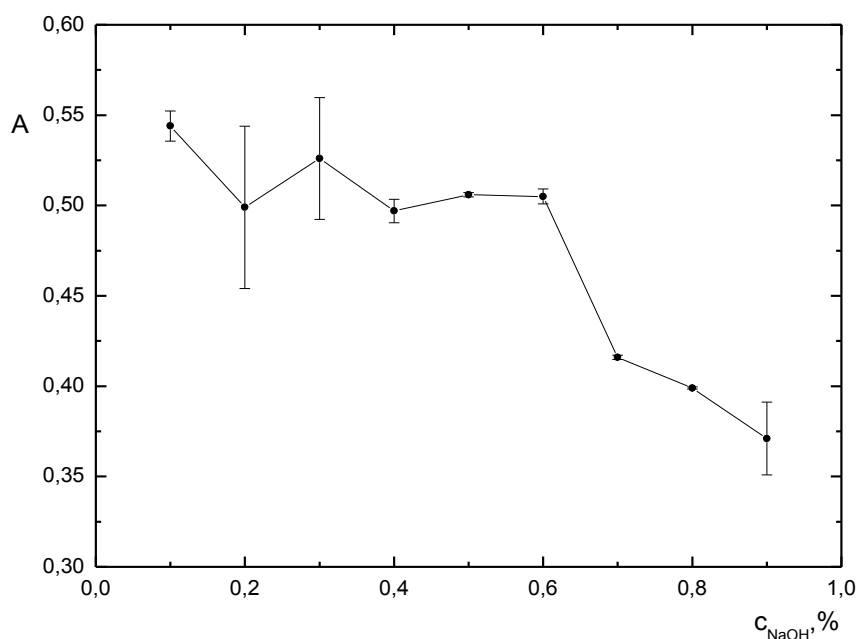
$$c_{Pb} = 100 \mu\text{g l}^{-1}, c_{Fe} = 2 \%, c_{HCl} = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}, c_{stab.} = 0,4 \%, \\ v_{rc} = 6,0 \text{ ml min}^{-1} / 2,0 \text{ ml min}^{-1}, v_{Ar} = 175 \text{ ml min}^{-1}$$

Z obr. 4.5 vyplývá, že v oblasti koncentrace 1,0 – 1,3 % dochází k výraznému nárůstu absorbance, tedy pozitivnímu vlivu vyšší koncentrace NaBH_4 na generování PbH_4 a jeho následnou analýzu. Na základě tohoto experimentu je tedy zřejmé, že použití

koncentrace redukčního činidla o koncentraci nižší než 1,0 % nemá význam. Pokud je dále zvyšována koncentrace NaBH_4 , nedochází v intervalu koncentrací 1,4 – 1,7 % k výrazné změně. Od koncentrace 1,8 % dochází k dalšímu nárůstu absorbance, což může být přičítáno vyššímu vývoji plynného vodíku, který zároveň, kromě svých redukčních schopností, může ve své molekulární podobě napomáhat převodu vzniklé těkavé sloučeniny olova do plynné fáze.

4.2.6 Koncentrace hydroxidu sodného

Vzhledem k přidavku stabilizačního činidla (NaOH) v důsledku nestability samotného redukčního činidla NaBH_4 byla pozornost též věnována optimalizaci koncentrace NaOH , která bude dostatečně stabilizovat NaBH_4 ve vodném prostředí a zároveň nebude neúměrně zvyšovat pH reakční směsi a snižuje účinnost generování hydridu. Výsledné hodnoty optimalizace jsou uvedeny na obr. 4.6.



Obr. 4.6: Optimalizace koncentrace hydroxidu sodného, NaOH

$$c_{\text{Pb}} = 100 \mu\text{g l}^{-1}, c_{\text{Fe}} = 2 \%, c_{\text{HCl}} = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}, c_{\text{red.}} = 1,3 \%,$$

$$v_{rc} = 6,0 \text{ ml min}^{-1} / 2,0 \text{ ml min}^{-1}, v_{Ar} = 175 \text{ ml min}^{-1}$$

Z obr. 4.6 je jasně patrné, že již koncentrace 0,1 respektive 0,2 % jsou dostatečné pro stabilizaci roztoku NaBH_4 , což se projevilo relativně vysokým signálem. Dlouhodobě však stabilita NaBH_4 nebyla při těchto koncentracích dostačující, nebo na stěnách zásobní lahve s NaBH_4 byly pozorovány po krátké době výrazné bubliny způsobené pravděpodobně uvolňováním vodíku. Při koncentraci NaOH 0,3 % byl efekt stabilizace NaBH_4 již dostatečný i z dlouhodobého hlediska, a zároveň koncentrace NaOH nezvyšovala hodnotu pH nad požadovanou mez a generování PbH_4 bylo dostatečně efektivní. Na obr. 4.6 je také vidět, že při koncentraci NaOH 0,4 % a výše již dochází k potlačení signálu analytu, což může souviset s omezeným rozkladem NaBH_4 . Pro další stanovení tak byly zvoleny koncentrace 1,3 % NaBH_4 v 0,3 % NaOH .

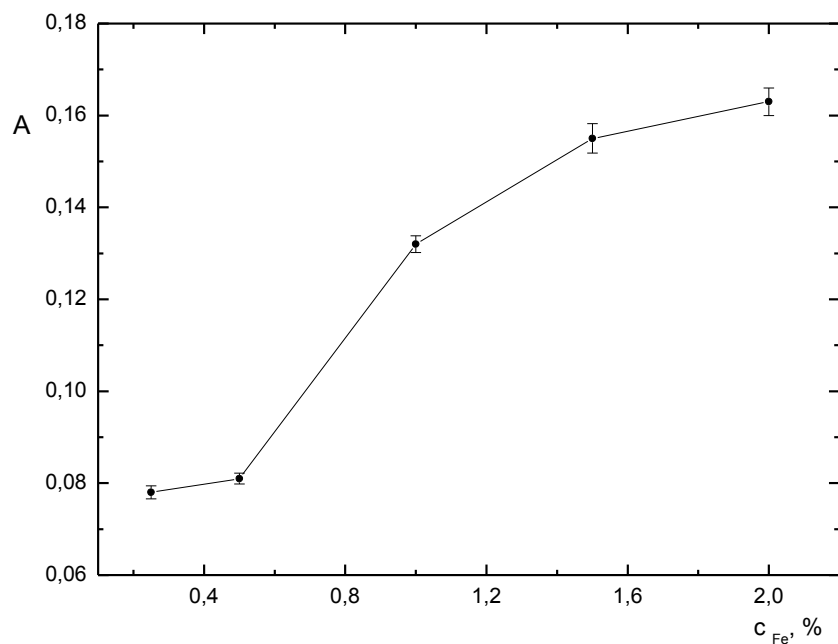
4.2.7 Koncentrace hexakynoželezitanu draselného

Dále byl do reakční směsi zaváděn $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, který napomáhá vzniku reakčních intermediátů, vedoucích k tvorbě PbH_4 . V nepřítomnosti $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ hydrid nevzniká, což se projevuje nulovým signálem. Cílem této optimalizace bylo tedy najít vhodnou koncentraci $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ a zároveň minimalizovat materiální ztráty. Z důvodů reakce je totiž roztok $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ připravován v roztoku HCl , což vede k nestabilitě komplexu, který musí být max. po 2,5 hodinovém používání vyměněn za čerstvý. Průběh optimalizace je popsán na obr. 4.7, kdy byly stanoveny vzorky obsahující $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ v koncentracích od 0,25 do 2,0 %.

Z obr. 4.7 je patrné, že se zvyšující se koncentrací $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ v reakční směsi vzrůstá účinnost generování PbH_4 dynamicky. V oblasti koncentrací od 1,5 % není růst účinnosti již tak strmý. Proto byla koncentrace $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ zvolena jako optimální pro další měření.

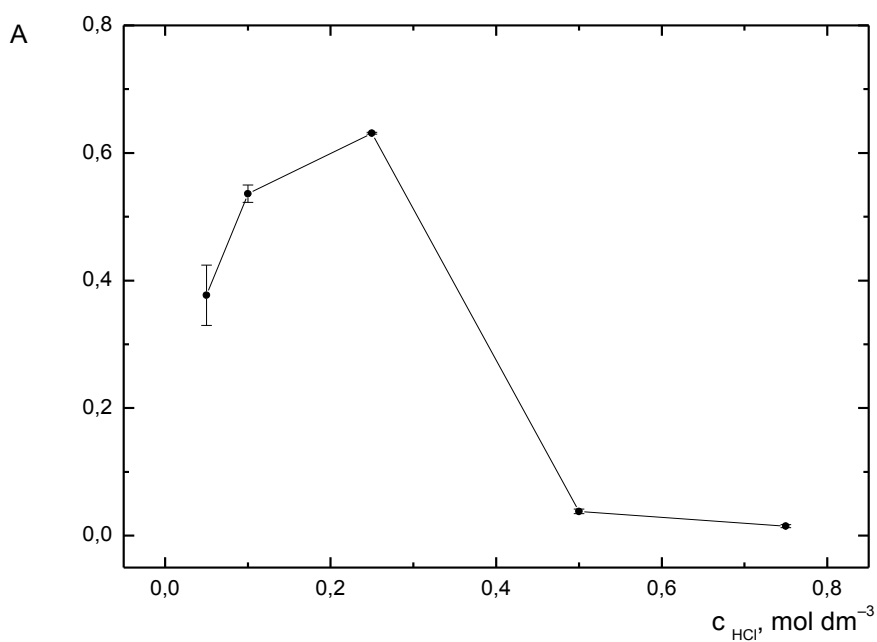
4.2.8 Koncentrace kyseliny chlorovodíkové

Přítomnost HCl je často požadována jako činidlo okyselující roztoky pro generování PbH_4 . V tomto uspořádání byla použita v souvislosti s přípravou roztoků s $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Účinnost generování PbH_4 je zcela určitě ovlivněna nejen koncentrací HCl , ale tak poměrem koncentrací HCl/NaBH_4 . Tento poměr je kritickým faktorem úspěšnosti generování PbH_4 . Závislost generovaného PbH_4 na koncentraci HCl je ilustrována na obr. 4.8.



Obr. 4.7: Optimalizace koncentrace hexakynoželezitanu draselného

$$c_{Pb} = 100 \mu\text{g l}^{-1}, c_{HCl} = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}, c_{red.} = 2 \%, c_{stab.} = 0,4 \%, \\ v_{rc} = 3,0 \text{ ml min}^{-1} / 1,0 \text{ ml min}^{-1}, v_{Ar} = 75 \text{ ml min}^{-1}$$



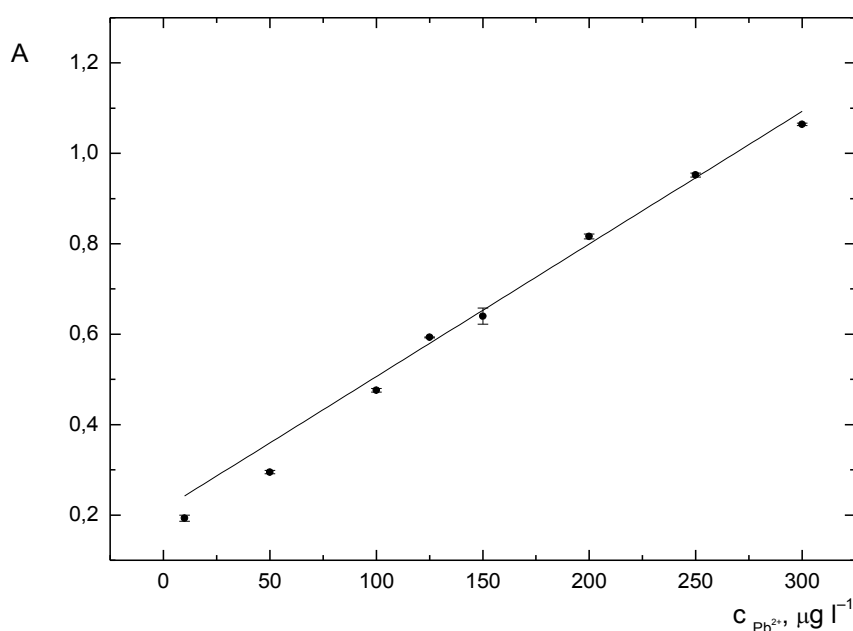
Obr. 4.8: Optimalizace koncentrace kyseliny chlorovodíkové

$$c_{Pb} = 100 \mu\text{g l}^{-1}, c_{Fe} = 2 \%, c_{red.} = 1,3 \%, c_{stab.} = 0,3 \%, v_{rc} = 6,0 \text{ ml min}^{-1} / 2,0 \text{ ml min}^{-1}, \\ v_{Ar} = 175 \text{ ml min}^{-1}$$

Z obr. 4.8 je patrné, že od koncentrace 0,05 až do 0,3 mol dm⁻³ je poměr HCl/BH₄ dostatečný na to, aby byl PbH₄ efektivně generován. S dalším zvyšováním koncentrace HCl v roztoku prudce klesá efektivita generování. Nejvyšších hodnot absorbance bylo dosaženo při koncentraci HCl 0,25 mol dm⁻³. Tato hodnota byla nadále využívána.

4.2.9 Kalibrační závislost

Všechny získané hodnoty optimálních experimentálních parametrů, které byly naměřeny, byly následně použity pro zjištění závislosti změny absorbance na stoupající koncentraci Pb²⁺ v roztoku. Závislost byla proměřena od koncentrace 10 do 300 μg l⁻¹.



Obr. 4.9: Kalibrační závislost stanovení Pb metodou CHG v režimu CFA

$$c_{Fe} = 2 \%, \quad c_{HCl} = 0,1 \text{ mol dm}^{-3}, \quad c_{red.} = 1,3 \%, \quad c_{stab.} = 0,3 \%, \\ v_{rc} = 6,0 \text{ ml min}^{-1} / 2,0 \text{ ml min}^{-1}, \quad v_{Ar} = 175 \text{ ml min}^{-1}$$

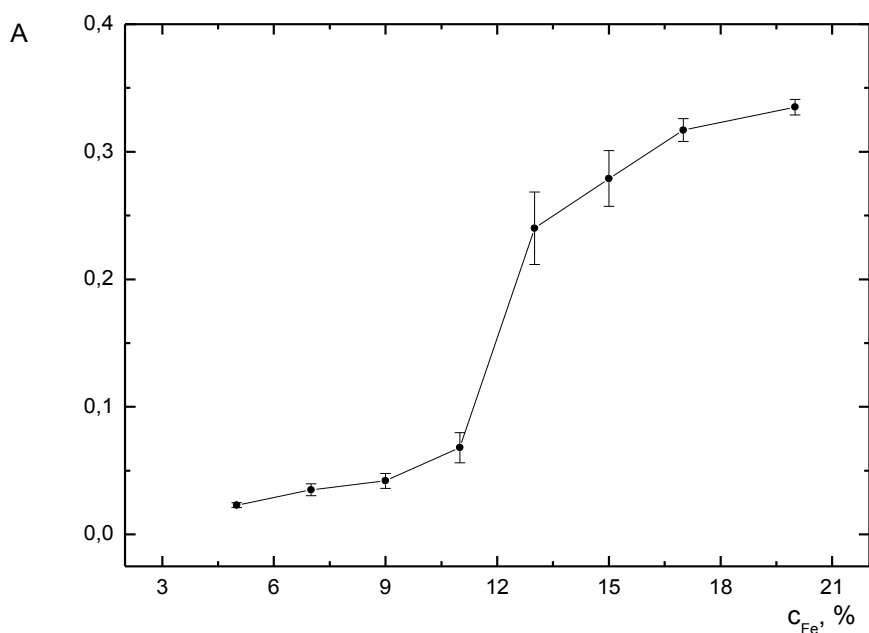
Z grafu je patrné, že zvolené pracovní parametry umožňují stanovení koncentrací v rozsahu od 10 do 300 μg l⁻¹, kde absorbance vykazuje lineární závislost na koncentraci Pb²⁺ v roztoku. Další charakteristiky stanovení olova ve vodných roztocích byly taktéž proměřeny a zjištěny a jsou uvedeny v tab. 4.1 v kapitole 4.4.

4.3 Chemické generování (CHG) hydridu olova v režimu FIA

Podobně jako v předchozím uspořádání i zde, v případě průtokové injekční analýzy byla pozornost nejprve věnovaná optimalizace různých experimentálních parametrů, při nichž pak byly zjištěny základní charakteristiky stanovení olova.

4.3.1 Koncentrace hexakynoželzitanu draselného

Procentuální zastoupení $K_3[Fe(CN)_6]$ je zásadní pro vznik intermediátů, které vznikají reakcí $K_3[Fe(CN)_6]$ s $NaBH_4$. Z následující závislosti, která je vyobrazena na obr. 4.10, je tento předpoklad evidentní. S rostoucí koncentrací $K_3[Fe(CN)_6]$ od 5 až po 20 % zastoupení rostla i měřená absorbance roztoku. Vybraná koncentrace byla 17 % s ohledem na stabilitu roztoku a také na spotřebu chemikálií.



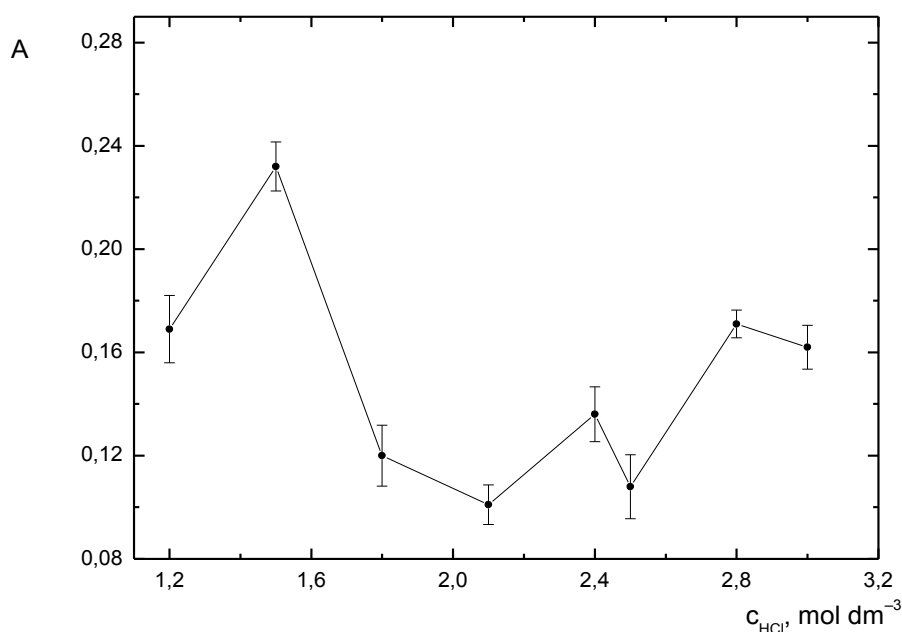
Obr. 4.10: Optimalizace koncentrace hexakynoželzitanu draselného

$$c_{Pb} = 1 \text{ mg l}^{-1}, c_{Fe} = 17\%, c_{HCl} = 1,0 \text{ mol dm}^{-3}, c_{red.} = 1,3 \%, c_{stab.} = 0,3 \%, \\ v_{rc} = 4 \text{ ml min}^{-1}/1,3 \text{ ml min}^{-1}, v_{Fe} = 0,3 \text{ ml min}^{-1}, v_{Ar} = 175 \text{ ml min}^{-1}$$

Z uvedené závislosti je evidentní, že přítomnost $K_3[Fe(CN)_6]$ hraje velmi důležitou roli v celém procesu chemického generování hydridu olova.

4.3.2 Koncentrace kyseliny chlorovodíkové

Generování hydridu olova probíhá v kyselé oblasti pH v rozmezí do cca pH 6,5. Proto je koncentrace kyseliny dalším důležitým prvkem pro generování hydridů. Kyselina chlorovodíková se uplatnila při přípravě roztoků s $K_3[Fe(CN)_6]$. Množství kyseliny tedy ovlivňovalo generování PbH_4 . Celý průběh, v dávkovém uspořádání je vyneseno do grafu. Absorbance roste s koncentrací kyseliny chlorovodíkové. Vrcholu dosáhne při hodnotě koncentrace $1,5 \text{ mol dm}^{-3}$.



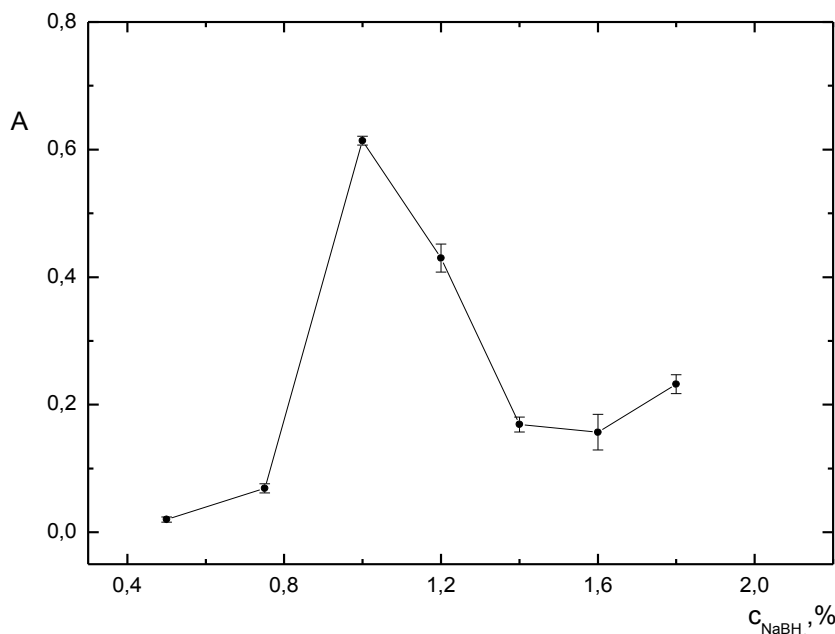
Obr. 4.11: Optimalizace koncentrace kyseliny chlorovodíkové, HCl

$$c_{Pb} = 100 \mu\text{g l}^{-1}, c_{Fe} = 17 \%, c_{red.} = 1,3 \%, c_{stab.} = 0,3 \%, v_{rc} = 4 \text{ ml min}^{-1} / 1,3 \text{ ml min}^{-1}, \\ v_{Fe} = 0,3 \text{ ml min}^{-1}, v_{Ar} = 175 \text{ ml min}^{-1}$$

4.3.3 Koncentrace tetrahydridoboritanu sodného

Koncentrace redukčního čidla pro generování hydridu olova je dalším významným parametrem. Pro úspěšnou oxidaci z Pb^{2+} na Pb^{4+} je nutná přítomnost $NaBH_4$ pro rychlé a efektivní generování. Z vyobrazeného grafu je vidět, že největší skok nastal v malém rozsahu koncentrací $NaBH_4$ a to mezi 0,75 % a 1,0 %. Pro ověření tak náhlého nárůstu absorbance byla stejná měření několikrát zopakována, stále se stejným výsledkem.

Maximum absorbance bylo dosaženo při 1,0 % koncentraci NaBH₄ a dále se již nezvyšovala.



Obr. 4.12: Optimalizace koncentrace tetrahydridoboritanu sodného

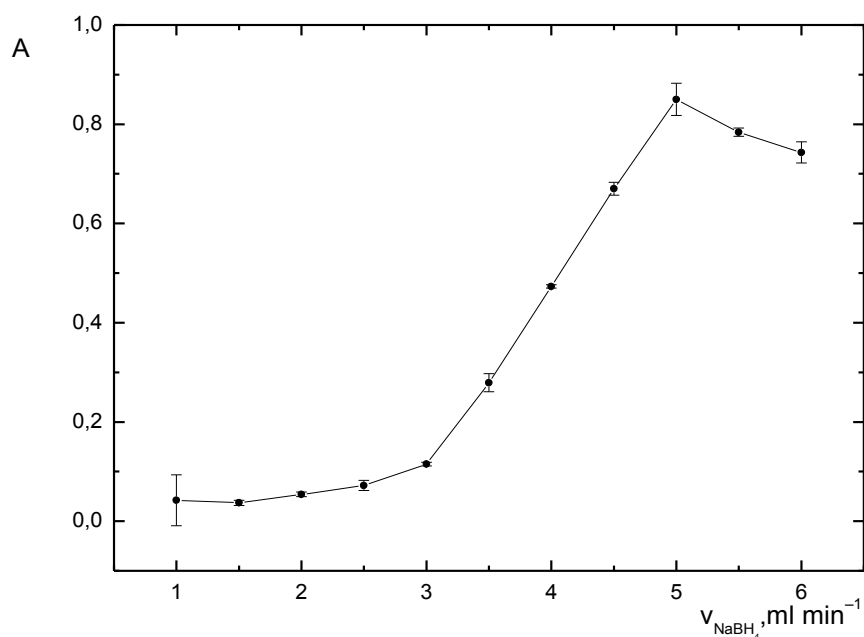
$$c_{\text{Pb}^{2+}} = 100 \mu\text{g l}^{-1}, c_{\text{Fe}} = 17 \%, c_{\text{HCl}} = 1,5 \text{ mol dm}^{-3}, c_{\text{stab.}} = 0,3 \%, v_{\text{rc}} = 4,0 \text{ ml min}^{-1} / \\ 1,3 \text{ ml min}^{-1}, v_{\text{Fe}} = 0,3 \text{ ml min}^{-1}, v_{\text{Ar}} = 175 \text{ ml min}^{-1}$$

4.3.4 Objem dávkovaného vzorku

Velikost absorbance byla také sledována na množství vzorku, který byl nadávkován do dávkovací smyčky. Dávkovací smyčky od 100 do 500 μl se zvyšujícím objemem zvyšovaly i absorbanci. S rostoucí dávkovaným objemem měly jednotlivé píky tendenci výrazně „chvostovat“ a bylo zapotřebí delšího času k návratu na základní linii. Oproti tomu, čím menší nadávkovaný objem, tím byl pík užší a rychleji se vracel na základní linii. Toto chování je možné vysvětlit na faktu, že při vyšších objemech vzorku je více analytu v reakční směsi a stoupá i tvorba hydridu a roste doba potřebná k jeho odstranění z reakční smyčky a prostor separátoru fází. Pracovní podmínky při této optimalizaci byly následující: $c_{\text{Pb}^{2+}} = 100 \mu\text{g l}^{-1}$, $c_{\text{red.}} = 1,3 \%$, $c_{\text{stab.}} = 0,3 \%$, $c_{\text{Fe}} = 17 \%$, $c_{\text{HCl}} = 1,5 \text{ mol dm}^{-3}$, $v_{\text{Ar}} = 175 \text{ ml min}^{-1}$, $v_{\text{rc}} = 4,0 \text{ ml min}^{-1} / 1,3 \text{ ml min}^{-1}$. Jako optimální dávkovaný objem byl zvolen 250 μl .

4.3.5 Průtoková rychlost redukčního činidla NaBH₄

Jak koncentrace redukčního činidla NaBH₄ v roztoku s přídavkem NaOH kvůli stabilizaci, tak i jeho průtoková rychlost byla optimalizována. Množství redukčního činidla, které se účastní oxidační reakce, odpovídá jeho průtokové rychlosti. Tuto závislost potvrdilo i měření absorbance při různých průtokových rychlostech. Se zvyšujícím se průtokem redukčního činidla bylo z reakční směsi produkováno více hydridu olova a tudíž i absorbance rostla. Rostoucí tendence dosáhla svého maxima při rychlosti 5,0 ml min⁻¹, a její následný ustálený stav vysvětluje nadbytek nezreagovaných Pb²⁺ iontů.



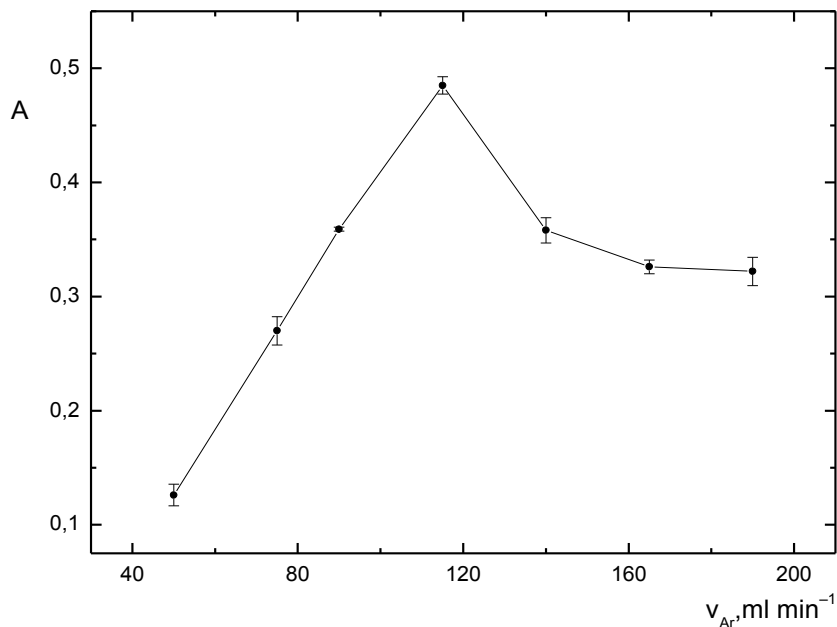
Obr. 4.13: Optimalizace průtokové rychlosti NaBH₄

$$c_{\text{Pb}^{2+}} = 100 \mu\text{g l}^{-1}, c_{\text{Fe}} = 17 \%, c_{\text{HCl}} = 1,5 \text{ M HCl}, c_{\text{red.}} = 1\% c_{\text{stab.}} = 0,3 \%, \\ v_{\text{Fe}} = 0,3 \text{ ml min}^{-1}, v_{\text{Ar}} = 175 \text{ ml min}^{-1}$$

4.3.6 Optimalizace průtokové rychlosti nosného plynu

Aby bylo možné stanovit obsah olova v analytu, musí být transportován do atomizátoru. Tomuto procesu uvolnění hydridu z roztoku, uvolnění do plynné fáze a dopravení do atomizátoru napomáhá nosný plyn. V průběhu měření byl pozorován poměrně výrazný nárůst absorbance až do hodnoty průtokové rychlosti nosného plynu 120 ml min⁻¹. S dále se zvyšující průtokovou rychlostí plynu byl pozorován opět pokles

signálu. Při vyšších průtokových rychlostech pravděpodobně docházelo k příliš velkému naředění vzorku plynem. Uvedená závislost je znázorněna na obr. 4.14.



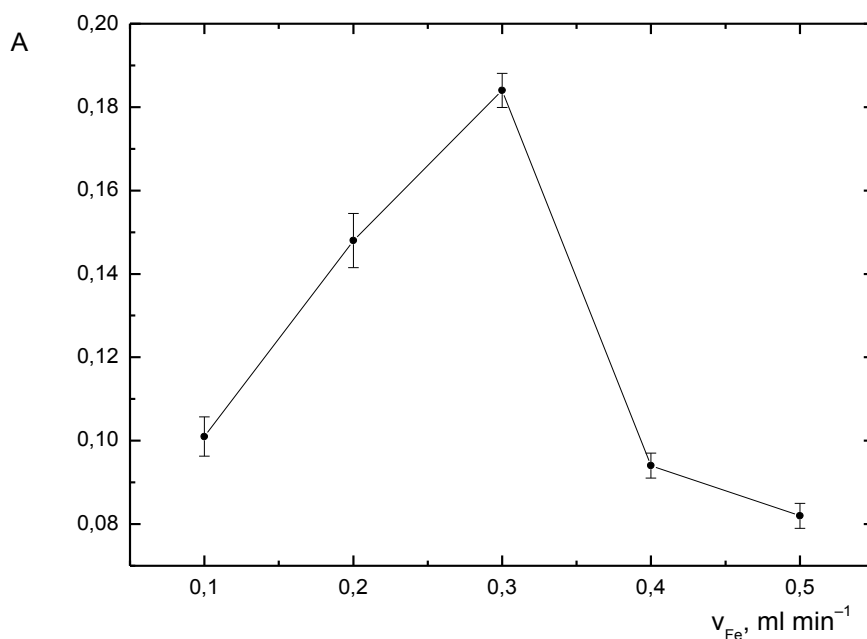
Obr. 4.14: Optimalizace průtokové rychlosti nosného plynu

$$c_{Pb} = 100 \mu\text{g l}^{-1}, c_{Fe} = 17 \%, c_{red.} = 1,3 \%, c_{stab.} = 0,3 \%, c_{HCl} = 1,5 \text{ mol dm}^{-3},$$

$$v_{rc} = 5 \text{ ml min}^{-1} / 1,7 \text{ ml min}^{-1}, v_{Fe} = 0,3 \text{ ml min}^{-1}$$

4.3.7 Optimalizace průtokové rychlosti hexakynoželezitanu draselného

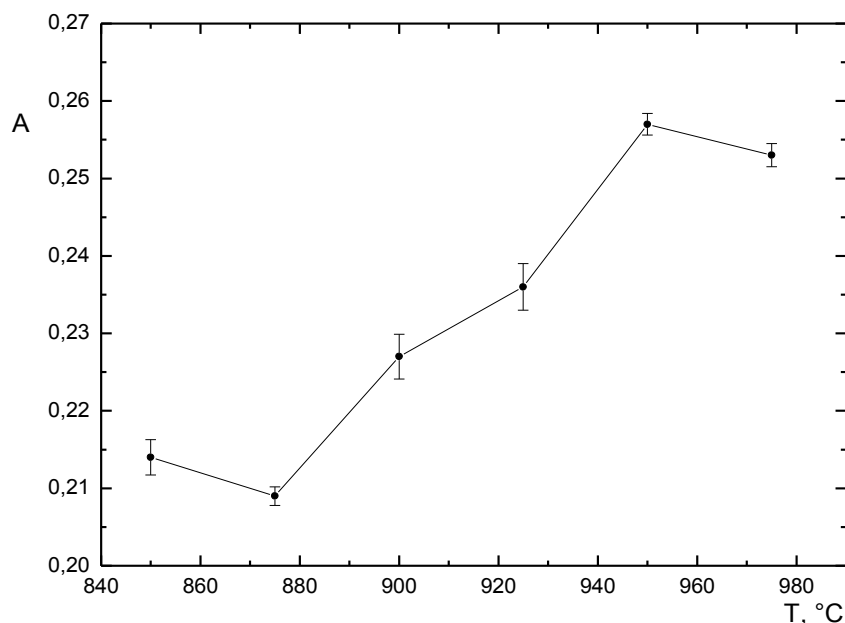
Nejen koncentrace, ale i průtoková rychlost $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ byla dalším důležitým optimalizačním parametrem. Protože byl tento roztok používán ve velké koncentraci, spolu s koncentrovanou kyselinou chlorovodíkovou, byla průtoková rychlost $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ optimalizována v rozsahu nízkých průtokových rychlostí od 0,1 do 0,5 ml min⁻¹. Jeho vliv na růst absorbance byl patrný hned zpočátku měření, kdy již při průtokové rychlosti 0,3 ml min⁻¹ dosáhla absorbance svého maxima. Následný pokles absorbance může být přičítán již velkému stechiometrickému nadbytku železité soli. Uvedená závislost je patrná na obr. 4.15.



Obr. 4.15: Optimalizace průtokové rychlosti hexakynoželezitanu draselného
 $c_{Pb} = 100 \mu\text{g l}^{-1}$, $c_{Fe} = 17 \%$, $c_{red.} = 1,3 \%$, $c_{stab.} = 0,3 \%$, $c_{HCl} = 1,5 \text{ mol dm}^{-3}$, $v_{rc} = 4 \text{ ml min}^{-1}$, $1,3 \text{ ml min}^{-1}$

4.3.8 Optimalizace teploty atomizace

Vzniklý hydrid olova je snadno atomizován zahřátím na teplotu v rozmezí 850 až 1000°C, při sledování růstu absorbance byla vybraná teplota 950°C s ohledem na životnost vyhřívacího zařízení. Teploty pod 850°C nebyly měřeny kvůli nemožnosti nastavení tepelného zdroje, který nižší teploty neposkytoval. Vliv teploty atomizace na stanovení hydridu olova je uveden na obr. 4.16.



Obr. 4.16: Optimalizace teploty atomizace

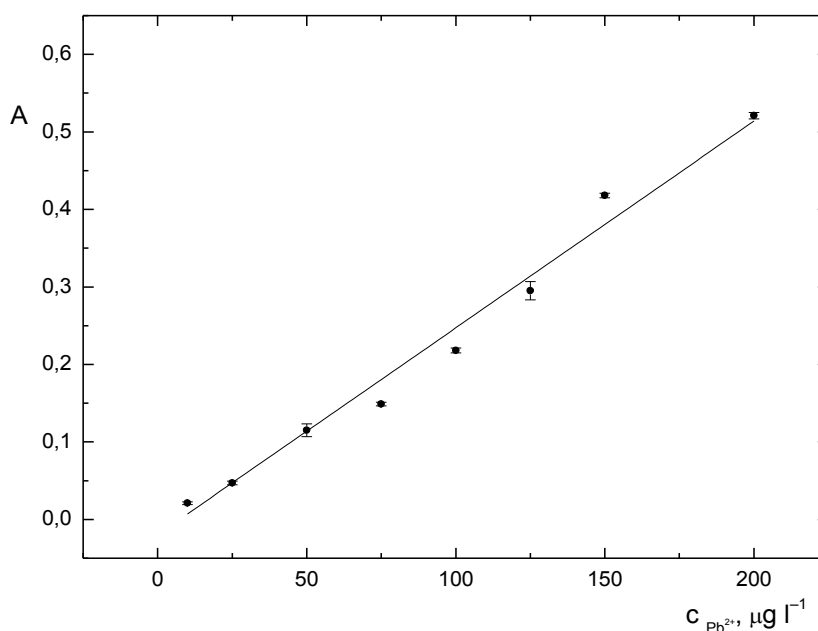
$$c_{Pb} = 100 \mu\text{g l}^{-1}, c_{Fe} = 17 \%, c_{red.} = 1,0 \%, c_{stab.} = 0,3 \%, c_{HCl} = 1,5 \text{ mol dm}^{-3}, v_{rc} = 5 \text{ ml min}^{-1} / 1,7 \text{ ml min}^{-1}, v_{Fe} = 0,3 \text{ ml min}^{-1}, v_{Ar} = 115 \text{ ml min}^{-1}$$

V rozmezí teplot 890 do 980°C hodnota absorpance se lišila jen řádu setin. Proto vybraná teplota (950°C) zohledňovala jak dosažení úspěšné atomizace tak i životnost atomizátoru. Je tedy obecně patrné (jak z tohoto grafu, tak i z grafu předešlého u techniky CFA), že atomizační teplota nemá v uvedeném rozmezí zkoumaných hodnot velký vliv na dosažený signál.

4.3.9 Kalibrační závislost

Celé stanovení v režimu FIA bylo zakončeno měřením osmi kalibračních vzorků (koncentrační rozsah od 10 do 200 $\mu\text{g l}^{-1}$) s příslušným obsahem analytu (Pb^{2+}). Parametry pro měření byly převzaty z optimalizačních stanovení tedy: koncentrace oxidačního činidla 17 % $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ v 1,5 mol dm^{-3} HCl, koncentrace redukčního činidla 1 % NaBH_4 v 0,3 % NaOH, dávkovaný objem vzorku $V = 250 \mu\text{l}$, průtoková rychlost NaBH_4 a H_2O jako nosiče $v = 5,0 \text{ ml min}^{-1}$, průtoková rychlost $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ $v = 0,3 \text{ ml min}^{-1}$, průtoková rychlost nosného plynu $v = 115 \text{ ml min}^{-1}$, teplota atomizace 950 °C, délka reakční cívky

byla 75 cm. Kalibrační závislost stanovení olova metodou FIA-CHG s AAS detekcí je zobrazena na obr. 4.17.



Obr. 4.17: Kalibrační závislost

$$c_{Fe} = 17\%, c_{red.} = 1,0\%, c_{stab.} = 0,3\%, c_{HCl} = 1,5\ mol\ dm^{-3}, v_{rc} = 5\ ml\ min^{-1}/1,7\ ml\ min^{-1},$$

$$v_{Fe} = 0,3\ ml\ min^{-1}, v_{Ar} = 115\ ml\ min^{-1}$$

4.4 Souhrn optimálních podmínek

Všechny získané hodnoty optimalizačních měření jsou uvedeny v následující tabulce (tab. 4.1). Z výsledků je patrné, že se obě uspořádání jak kontinuální tak dávkové ve svých parametrech, při kterých probíhá stanovení, výrazněji neliší, což bylo očekáváno. Koncentrace redukčního činidla, průtokové rychlosti pracovních roztoků nebo teplota jsou prakticky shodné. Největší rozdíl je patrný při použití $K_3[Fe(CN)_6]$. U dávkového uspořádání (FIA), které vyžadovalo druhou peristaltickou pumpu, byla použitá koncentrace $K_3[Fe(CN)_6]$ téměř devětkrát vyšší. Oproti tomu průtoková rychlost $K_3[Fe(CN)_6]$ byla dvacetkrát nižší, což je pochopitelné z poměru koncentrací této látky.

Tab. 4.1: Hodnoty pracovních parametrů

Parametr	Hodnota	
	kontinuální	dávkové
Koncentrace NaBH ₄	1,3 %	1,0 %
Koncentrace K ₃ [Fe(CN) ₆]	2 %	17 %
Koncentrace HCl	0,25 mol l ⁻¹	1,5 mol l ⁻¹
Koncentrace NaOH	0,3 %	0,3 %
Průtoková rychlost NaBH ₄	6,0 ml min ⁻¹	5,0 ml min ⁻¹
Průtoková rychlost nosného plynu	175 ml min ⁻¹	115 ml min ⁻¹
Teplota	950 °C	950 °C
Dávkovaný objem vzorku	–	250 µl
Průtoková rychlost K ₃ [Fe(CN) ₆]	6,0 ml min ⁻¹	0,3 ml min ⁻¹
Délka reakční cívky	0,75 m	0,75 m

4.5 Základní charakteristiky stanovení olova metodou CHG

Kalibrační stanovení olova bylo provedeno za optimální pracovních podmínek uvedených v tab. 4.1. Koncentrace olova byla stanovena v rozmezí od 10 do 300 µg l⁻¹. Dále byly pro oba způsoby provedení chemického generování zjištěny meze detekce a stanovitelnosti a dále citlivost, opakovatelnost a lineární dynamický rozsah. Tyto charakteristiky jsou vzájemně porovnány v tab. 4.2.

Tab. 4.2: Základní charakteristiky stanovení olova metodou CHG

Charakteristika	Hodnota	
	kontinuální	dávkové
Mez detekce	0,48 µg l ⁻¹	2,12 µg l ⁻¹
Mez stanovitelnosti	1,61 µg l ⁻¹	7,06 µg l ⁻¹
Citlivost	2,71 mg ⁻¹	3,1 l mg ⁻¹
Opakovatelnost pro (125µg l ⁻¹)	2,51 %	2,63 %
Korelační koeficient	0,9935	0,9832
Lineární dynamický rozsah do	100 µg l ⁻¹	50 µg l ⁻¹

4.6 Měření obsahu olova v reálných vzorcích

Optimalizované metody stanovení obsahu olova byly v režimu FIA aplikovány na reálné vzorky. Tento způsob dávkování vzorků byl vybrán díky jednoduššímu zavádění analytu do reakční směsi. Pro všechny měření byly použity hodnoty uvedené v tab. 4.1. Základní nastavení bylo tedy $v_{Ar} = 175 \text{ ml min}^{-1}$, $v_{rc.} = 6 \text{ ml min}^{-1} / 2 \text{ ml min}^{-1}$, $l_{sm.} = 0,75 \text{ m}$, $c_{red.} = 1,3 \%$, $c_{stab.} = 0,3 \%$, $c_{Fe} = 2 \%$, $c_{Pb} = 100 \mu\text{g l}^{-1}$. Ke stanovení byl použit referenční materiál NIST SRM 1640e Trace elements in water s certifikovanou hodnotou obsahu olova $c_{Pb} = 19,5 \pm 0,02 \mu\text{g kg}^{-1}$. Vzorek byl dávkován do dávkovací smyčky a otočením kohoutu byl dopraven do reakční směsi. Detekce probíhala v režimu AAS. Po každém nadávkování byl viditelný signál ve tvaru malého píku, ale nebylo možné určit, jestli se projevil vliv obsahu olova ve vzorku, protože pík se vyskytoval v oblasti šumu. I po opakovaném nadávkování vzorku byl průběh identický. Stejným způsobem byly proměřeny i dva vzorky odpadní vody, u nichž byla metodou ETA-AAS stanovena koncentrace cca 1 mg l^{-1} . Výsledky stanovení byly opět na úrovni šumu. Signál, i když nepatrný, byl pozorovatelný ve všech stanoveních. Z toho vyplývá, že u obou případů se pravděpodobně projevil výrazný interferenční vliv matrice vzorku. Proto bude nutné zaměřit se v další fázi na interferenční studii při stanovení olova metodou chemického generování těkavých sloučenin.

5 ZÁVĚR

Chemické a elektrochemické generování jsou dvě velmi univerzální metody pro stanovení celé řady hydridotvorných prvků. Cílem této práce bylo porovnání obou metod stanovením olova. Olovo je možné stanovit mnoha metodami⁵⁷.

Elektrochemického generování probíhalo v režimu kontinuálního průtokového uspořádání. Experimentální aparatura se skládala se z průtokové elektrolytické cely, vyhřívaného křemenného atomizátoru a AAS jako detekční techniky. Pro dosažení maximální citlivosti stanovení byla provedena optimalizace. První získané hodnoty optimalizace, kdy byla měřena závislost generačního proudu na velikost absorbance, byla provedena za použití elektrolytické cely s nafionovou membránou, HCl jako katolyt a H₂SO₄ jako anolyt o stejných koncentracích 1,0 mol dm⁻³ a průtokové rychlosti 3,0 ml min⁻¹, nosný plyn (Ar) protékal rychlostí 70 ml min⁻¹. Koncentrace analytu (Pb²⁺) byla 100 µg l⁻¹. Tyto výchozí parametry byly vybrány z literárních zdrojů a postupně měly být měněny za hodnoty, které byly získány při optimalizaci. Ale bylo zjištěno, že toto uspořádání není vhodné pro stanovení olova. Další modifikace uvedené v kap. 4.1 nevedly k viditelnému zlepšení hodnot absorbance. Signál se vyskytoval pouze v oblasti základní linie, a tudíž nebylo možné stanovit obsah olova ve vzorku a získat tak relevantní hodnoty.

Stanovení olova metodou chemického generování těkavých sloučenin probíhalo v kontinuálním a dávkovém uspořádání. V případě chemického generování dochází ke vzniku hydridu stanovovaného prvku v reakční cívce po smísení všech čerpaných roztoků jak pro dávkové tak i pro kontinuální uspořádání. Používají se zde roztoky stejných chemikálií, které se liší svojí koncentrací a rychlostí průtoku. Základní hodnoty, před provedením optimalizace, byly opět převzaty z literárních zdrojů. Optimalizační parametry, při kterých bylo dosaženo nejvyšších hodnot absorbance, při stejné koncentraci vzorku, jsou vedeny v tab. 4.1. Kontinuální generování hydridů čerpalo reakční roztoky včetně analytu nepřetržitě, proto hydrid olova vznikal po celou dobu jednotlivého stanovení. Tato metoda se ukázala jako citlivější oproti dávkovému uspořádání. Měla nižší hodnoty limitu detekce i stanovitelnosti (0,48 respektive 1,61 µg l⁻¹). Hydrid olova vznikal neustále, po celou dobu čerpání vzorku, a tudíž byl pozorován konstantní signál. Dávkové uspořádání bylo prováděno s použitím dávkovacího kohoutu a dávkovací smyčky. Signál byl ve tvaru píku a hodnota absorbance byla odečítána z jeho vrcholu. Ze statistického zpracování výsledků pro dávkové uspořádání byly získány následující hodnoty limitu

detekce ($2,12 \mu\text{g l}^{-1}$) a limitu stanovitelnosti ($7,06 \mu\text{g l}^{-1}$). Oba způsoby zavádění analytu do reakční směsi v režimu chemického generování byly vyhodnoceny jako dostatečně citlivé pro stanovení olova v pitných vodách. Tento závěr vyplývá ze zjištěného limitu detekce pro obsah olova v pitných vodách.

6 LITERATURA

- ¹ L.F.R. Machado, A.O. Jacintho, A.A. Menegário, E.A.G. Zagatto, Electrochemical and chemical processes for hydride generation in flow injection ICP-MS: determination of arsenic in natural waters, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 13, (1998), 1343–1346
- ² M.H. Arbab-Zavar, M. Hashemi, Evaluation of electrochemical hydride generation for spectrophotometric determination of As(III) by silver diethyldithiocarbamate, *Talanta* 52, (2000), 1007 – 1014
- ³ H. Matusiewicz, M. Mikolajczak, Determination of As, Sb, Se, Sn and Hg in beer and worth by direct hydride generation sample introduction–electrothermal AAS, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 16, (2001), 652–657
- ⁴ L. Elci, Z. Arslan, J.F.Tyson, *Determination of lead in wine and rum by flow injection–hydride generation–atomic absorption spectrometry*, *Journal of Hazardous Materials* 162, (2009), 880–885
- ⁵ R. A. Goyer, T. W. Clarkson, *In Casarett and Doull's toxicology: The basic science of poisons, 6th. ed.*, ed. C. D. Klaassen, (2001), 811–867, New York: McGraw–Hill
- ⁶ www.umweltbundesamt.de/gesundheit-e/monitor/index.htm, citováno dne 19.4. 2014
- ⁷ http://www.irz.cz/repository/latky/olovo_a_jeho_slouceniny.pdf, citováno dne 27.3.2014
- ⁸ S. E. Manahan, *Environmental chemistry 9th edition*, (2010), Taylor and Francis group
- ⁹ http://www.irz.cz/repository/latky/olovo_a_jeho_slouceniny.pdf, citováno dne 27.3.2014
- ¹⁰ <http://www.atsdr.cdc.gov/phs/phs.asp?id=92&tid=22>, citováno dne 27.3.2014
- ¹¹ Harte J., Holdren C., Schneider R., Shirley Ch.: *Toxics A to Z, A Guide to Everyday Pollution Hazards*, University of California Press, (1991)
- ¹² H. Needleman, *Lead Poisoning*, *Annual Review of Medicine* 55, (2004), 209 –222
- ¹³ E.E. Zieger, B.B. Edwards, R.L. Jensen et al., *Absorption and retention of lead by infants*, *Pediatr Research* 12, (1978), 29–34
- ¹⁴ Metodika pro odběr vzorků, jejich analýzu a vyhodnocení výsledků, Státní zdravotní ústav Praha – NRC pro pitnou vodu, (2004)
- ¹⁵ Zkoušky totožnosti iontů a skupin, Český lékopis 1997, kap. 2.3.1.

¹⁶L. Ebon, A. Fisher and S. J. Hill, *An Introduction to Analytical Atomic Spectrometry*, Ed. E. H. Evans, Wiley, New York (1998)

¹⁷ <http://cnx.org/content/m38330/latest/>, citováno dne 30.3.2014

¹⁸ J. Altenberend, G. Chichignoud, Y. Delannoy, *Atomic emission spectroscopy method for mixing studies in high power thermal plasmas*, *Spectrochimica Acta Part B* 89, (2013), 93–102

¹⁹ A. D`Ulivo et al., *Flame-in-gas-shield miniature flame hydride atomizers for ultra trace element determination by chemical vapor generation atomic fluorescence spectrometry*, *Spectrochimica Acta Part B* 64, (2009), 48–55

²⁰ D. V. Biller, K. W. Bruland, *Analysis of Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in sea water using the Nobias-chelate PA1 resin and magnetic sector inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS)*, *Marine Chemistry* 130/131, (2012), 12–20

²¹ Y. Wang, S. Gao, X. Yang, J. Li, J. Ma, *Graphene-based solid-phase extraction combined with flame atomic absorption spectrometry for a sensitive determination of trace amounts of lead in environmental water and vegetable samples*, *Analytica Chimica Acta* 716, (2012), 112–118

²² A. D`Ulivo, J. Dědina, Z. Mester, R. E. Sturgeon, Q. Wang, B. Welz, *Mechanisms of chemical generation of volatile hydrides for trace element determination (IUPAC technical report)*, *Pure and Applied Chemistry* 83, (2011), 1283–1340

²³ F. Laborda, E. Bolea, J. R. Castillo, *Electrochemical hydride generation as a sample-introduction technique in atomic spectrometry: fundamentals, interferences, and applications*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 388, (2007), 743–751

²⁴ C. Zheng, Q. Ma, L. Wu, X. Hou, R. E. Sturgeon, *UV photochemical vapor generation–atomic fluorescence spectrometric determination of conventional hydride generation elements*, *Microchemical Journal* 95, (2010), 32–37

²⁵ S. Gil, I. Lavilla, C. Bendicho, *Ultrasound-Promoted cold vapor generation in the presence of formic acid for determination of mercury by atomic absorption spectrometry*, *Analytical Chemistry* 78, (2006), 6260–6264

²⁶ J. Kratzer, *Ultratrace determination of lead by hydride generation in–atomizer trapping atomic absorption spectrometry: Optimization of plumbane generation and analyte preconcentration in a quartz trap–and–atomizer device*, *Spectrochimica Acta Part B* 71–72, (2012), 40–47

²⁷ K. H. Al-Assaf, J. F. Tyson, P. C. Uden, *Determination of four arsenic species in soil by sequential extraction and high performance liquid chromatography with post-column*

hydride generation and inductively coupled plasma optical emission spectrometry detection, Journal of Analytical Atomic Spectrometry 24, (2009), 376–384

²⁸ T. Matoušek, A. Hernández-Zavala M. Svoboda, L. Langrová, B. M. Adair, Z. Drobná, D. J. Thomas, M. Stýblo, J. Dědina, *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*, Spectrochimica Acta Part B 63, (2008), 396–406

²⁹ J. Narvaez, P. Richter, I. Toral, *Arsenic speciation in water samples containing high levels of copper: removal of copper interference affecting arsine generation by continuous flow solid phase chelation*, Analytical Bioanalytical Chemistry 381, (2005), 1483–1487

³⁰ R. Liu, P. Wu, M. Xi, K. Xu, Y. Lv, *Inorganic arsenic speciation analysis of water samples by trapping arsine on tungsten coil for atomic fluorescence spectrometric determination*, Talanta 78, (2009), 885–890

³¹ C. L. Bloxam, *On the application of electrolysis to the detection of the poisonous metals in mixtures containing organic matters*, Quartely Journal of the Chemical Society of London 13, (1861), 12–22

³² C. L. Bloxam, *On the electrolytic test for arsenic, and on the presence of that metal in certain reagents*, Quartely Journal of the Chemical Society of London 13, (1861), 338–343

³³ A. Brockmann, C. Nonn, A. Golloch, *New concept for hydride generation technique: electrochemical hydride generation*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry 8, (1993), 397–401

³⁴ F. Laborda, E. Bolea, J. R. Castillo, *Electrochemical hydride generation as a sample-introduction in atomic spectrometry: fundamentals, interferences, and applications*, Analytical and Bioanalytical Chemistry 388, (2007), 743–751

³⁵ F. Laborda, E. Bolea, J. R. Castillo, *Tubular electrolytic hydride generation for continuous and flow injection sample introduction in atomic absorption spectrometry*, Journal of Analytical Atomic Spectrometry 15, (2000), 103–107

³⁶ W. Zhang, W. Gan, X. Lin, *Electrochemical hydride generation atomic fluorescence spectrometry for the simultaneous determination of arsenic and antimony in Chinese medicine samples*, Analytica Chimica Acta 539, (2005), 335–340

³⁷ M. H. Arbar-Zavar, M. Chamsaz, A. Yousefi, N. Ashraf, *Electrochemical hydride generation of thallium*, Talanta 79, (2009), 302–307

-
- ³⁸ W. Zhang, W. Gan, X. Lin, *Development of a new electrochemical hydride generator with tungsten wire cathode for the determination of As and Sb by atomic fluorescence spectrometry*, *Talanta* 68, (2006), 1316–1321
- ³⁹ X. J. Jiang, W. Gan, S. Han, H. Zi, Y. He, *Design and application of a novel integrated electrochemical hydride generation cell for the determination of arsenic in seaweeds by atomic fluorescence spectrometry*, *Talanta* 79, (2009), 314–318
- ⁴⁰ V. Červený, P. Rychlovský, J. Hraníček, J. Šíma, *Elektrochemické generování těkavých sloučenin pro potřeby spektrálních analytických metod*, *Chemické listy* 103, (2009), 652–660
- ⁴¹ M. Sáñez, L. Fernández, J. Domínguez, J. Alvarado, *Electrochemical generation of volatile lead species using a cadmium cathode: comparison with graphite, glassy carbon and platinum cathodes*, *Spectrochimica Acta Part B* 71–72, (2012), 107–111
- ⁴² M. H. Arbar–Zavar, M. Chamsaz, A. Youssefi, M. Aliakbari, *Electrochemical hydride generation atomic absorption spectrometry for determination of cadmium*, *Analytica Chimica Acta* 546, (2005), 126–132
- ⁴³ X. Jiang et al. *Electrochemical hydride generation atomic fluorescence spectrometry for detection of tin in canned foods using polyaniline–modified lead cathode*, *Journal of Hazardous Materials* 184, (2010), 331–336
- ⁴⁴ J. Šíma, P. Rychlovský, *The efficiency of the electrochemical generation of volatile hydrides studied by radiometry and atomic absorption spectrometry*, *Spectrochimica Acta Part B* 59, (2004), 125–133
- ⁴⁵ E. Bolea, F. Laborda, M. A. Belarra, J. R. Castillo, *Interferences in electrochemical hydride generation of hydrogen selenide*, *Spectrochimica Acta Part B* 56, (2001), 2347–2360
- ⁴⁶ E. Bolea, F. Laborda, J. R. Castillo, R. E. Stugerón, *Electrochemical hydride generation for the simultaneous determination of hydride forming elements by inductively coupled plasma–atomic emission spectrometry*, *Spectrochimica Acta Part B* 59, (2004), 505–513
- ⁴⁷ R. G. Godden, D. R. Thomerson, *Generation of covalent hydrides in atomic–absorption spectroscopy*, *Analyst* 105, (1980), p. 1137
- ⁴⁸ J. Dědina, D. L. Tsalev, *Hydride generation atomic absorption spectrometry*, Wiley, Chichester, (1995), p. 19
- ⁴⁹ M. Saéñz, J. Fernández, J. Domínguez, J. Alvarado, *Electrochemical generation of lead volatile species as a Method of Sample introduction for lead determination by atomic absorption spectrometry*, *Electroanalysis* 22, (2010), 2842–2847

-
- ⁵⁰ N. Ertaş, Z. Arslan, J. F. Tyson, *Determination of lead by hydride generation atom trapping flame atomic absorption spectrometry*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 23, (2008), 223–228
- ⁵¹ W. B. Robbins, J. A. Caruso, *Development of hydride generation methods for atomic spectroscopic analysis*, *Analytical Chemistry* 51, (1979), 889A–899A
- ⁵² A. D'Ulivo, Z. Mester, R. E. Sturgeon, *The mechanism of volatile hydrides by tetrahydroborate (III) derivatization: A mass spectrometric study performed with deuterium labeled reagents*, *Spectrochimica Acta Part B* 60, (2005), 423–438
- ⁵³ A. D'Ulivo, *Chemical vapor generation by tetrahydroborate(III) and other borane complexes in aqueous media A critical discussion of fundamental processes and mechanisms involved in reagent decomposition and hydride formation*, *Spectrochimica Acta Part B* 59, (2004), 793–825
- ⁵⁴ A. D'Ulivo, M. Onor, R. Spiniello, E. Pitzalis, *Mechanisms involved in chemical vapor generation by aqueous tetrahydroborate(III) derivatization: Role of hexacyanoferrate(III) in plumbane generation*, *Spectrochimica Acta Part B* 63, (2008), 835–842
- ⁵⁵ J. Kratzer, S. Musil, M. Vobecký a J. Dědina, *Hydride generation– in –atomizer collection of Pb in quartz tube atomizers for atomic absorption spectrometry – a ²¹²Pb radiotracer study*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 28, (2013), 344–353
- ⁵⁶ V. Yilmaz, Z. Arslan, L. K. Rose, *Determination of lead by hydride generation inductively coupled plasma mass spectrometry (HG–ICP–MS): On–line generation of plumbane using potassium hexacyanomanganate(III)*, *Analytica Chimica Acta* 761, (2013), 18–26
- ⁵⁷ A. Sorbo, A.C. Turco, M. Di Gregorio, L. Ciaralli, *Development and validation of an analytical method for the determination of arsenic, cadmium and lead content in powdered infant formula by means of quadrupole Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, *Food Control* 44, (2014), 159–165