Naformátováno

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

PREKONCENTRACE HYDRIDOTVORNÝCH PRVKŮ V KŘEMENNÝCH ATOMIZÁTORECH PRO ATOMOVOU ABSORPČNÍ SPEKTROMETRII

Disertační práce

Praha 2008

RNDr. Jan Kratzer

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem pracoval samostatně pod vedením školitele RNDr. Jiřího Dědiny, DSc. a doc. RNDr. Petra Rychlovského, CSc. jako konzultanta a veškerou použitou literaturu jsem řádně citoval. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze dne …….

……

RNDr. Jan Kratzer

Prohlášení spoluautorů

Prohlašuji, že RNDr. Jan Kratzer rozhodujícím způsobem přispěl ke vzniku všech 4 článků a 3 patentových přihlášek, které jsou přílohami této disertační práce. Sám provedl všechny experimenty a významně se podílel i na jejich plánování a na interpretaci výsledků.

V Praze dne …….

……

RNDr. Jiří Dědina, DSc.

Abstrakt

Tato práce studuje prekoncentraci hydridotvorných prvků v křemenných atomizátorech pro stanovení jejich ultrastopových koncentrací atomovou absorpční spektrometrií. Optimalizační studie byly prováděny v prekoncentračním zařízení, které tvořilo součást přívodního ramene křemenného multiatomizátoru. Výhodami prekoncentrace v křemenném atomizátoru jsou jednoduchost a kompaktnost celého uspořádání, nízká pořizovací cena i nízký šum měření. Výhodou samostatné křemenné pasti jako prekoncentračního zařízení je kontrola její teploty nezávisle na atomizační teplotě.

Pro každý ze čtyř studovaných analytů (As, Sb, Bi, Se) byly optimalizovány podmínky pro záchyt i uvolnění analytu (teplota povrchu, složení atmosféry) a dále i pro atomizaci uvolněné formy (obsah kyslíku v atomizátoru ovlivňující množství vodíkových radikálů). Byly vyvinuty a validovány analytické metody *in-situ* prekoncentrace hydridů Sb a Bi v konvenčním křemenném atomizátoru a *in-atomizer* prekoncentrace As a Se v křemenném multiatomizátoru. Díky novému postupu záchytu, prováděnému za přebytku kyslíku vůči vodíku v aparatuře, je dosahováno 100% účinnosti záchytu. Účinnost celé prekoncentrační procedury činí 100 % pro Sb a Bi. Prekoncentrační účinnost pro As a Se je rovněž analyticky využitelná a pohybuje se kolem 50 %, resp. 70 %. Použitelnost metod byla demonstrována na reálných vzorcích, detekční limity se pohybují v řádu pg ml^{-1} pro 5 min prekoncentraci (20 ml vzorku).

V případě Bi a As byla účinnost záchytu a uvolnění ověřena nezávislou studií s využitím radioaktivního indikátoru.

Rovněž byly provedeny série měření k objasnění dějů probíhajících během prekoncentrace v aparatuře.

Abstract

The use of quartz atomizers to preconcentrate hydride forming elements for their ultratrace determination by atomic absorption spectrometry is studied in this work. The inlet arm of the quartz multiatomizer served as the trap in optimization studies. The advantage of in-atomizer trapping in the quartz atomizer is compact and simple apparatus design, low atomizer cost as well as low measurement noise. The advantage of the quartz trap is its temperature control, which is independent of the atomization temperature control.

Collection and volatilization conditions (surface temperature, gas composition) as well as atomization conditions (oxygen content in the atomizer influencing the amount of hydrogen radicals) were optimized for all the four analytes tested (As, Sb, Bi, Se). Analytical methods based on in-situ trapping of Sb and Bi hydrides in the conventional quartz tube atomizer and in-atomizer trapping of As and Se hydrides in the quartz multiatomizer were developed and validated. Novel collection approach under oxygen excess over hydrogen enables to reach 100% collection efficiency. The overall preconcentration efficiency reaches 100 % for Sb and Bi. The preconcentration efficiency for As and Se is also satisfactory reaching 50 % and 70 %, respectively. The applicability of the methods was demonstrated using real samples. Detection limits in the low pg ml^{-1} range were reached for 5 min preconcentration (sample consumption 20 ml).

The collection and volatilization efficiency for Bi and As was investigated also by independent radiotracer study.

Additional experiments were carried out to clarify the mechanisms of the processes during collection, volatilization and atomization.

Tato disertační práce vznikla na Ústavu analytické chemie AV ČR, v.v.i., na detašovaném pracovišti Laboratoře stopové prvkové analýzy v Praze

Tato práce byla finančně podporována Grantovou agenturou UK (projekt 306/2006/B-CH/PřF), Grantovou agenturou AV ČR (projekt A400310507), výzkumným záměrem Ústavu analytické chemie AV ČR, v.v.i. (projekt Z40310501), výzkumným záměrem PřF UK (projekt MSM0021620857) a Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy (projekt FRVŠ 1011/2006/G6).

Poděkování

Na úvod bych chtěl poděkovat všem, bez nichž by tato práce nemohla vzniknout. Největší dík patří mému školiteli RNDr. Jiřímu Dědinovi, CSc. za odborné vedení po dobu celého mého postgraduálního studia a plodné diskuse o dalším průběhu experimentální práce.

Za pomoc a rady při provádění radioindikátorových studií děkuji následujícím pracovníkům Ústavu analytické chemie AV ČR, v.v.i.: Ing. Miloslavu Vobeckému, CSc. za separaci a izolaci radioaktivních indikátorů, jakož i za poskytnuté konzultace a provedená měření na γ-spektrometru. Dále jsem pak zavázán RNDr. Vlastě Korunové a paní Anně Selecké za počáteční pomoc při seznamování se s pravidly práce se zdroji ionizujícího záření a rychlé osvojení si techniky *image plate* autoradiografie.

Všem ostatním pracovníkům pražského pracoviště Ústavu analytické chemie AV ČR, v.v.i. – Mgr. Tomáši Matouškovi, Ph.D., Mgr. Olze Řezáčové, Mgr. Milanu Svobodovi a Mgr. Stanislavu Musilovi patří dík za vytvoření každodenní přátelské a tvůrčí atmosféry na pracovišti.

Rád bych poděkoval i konzultantovi doc. RNDr. Petrovi Rychlovskému, CSc. za cenné rady a porozumění pro potřeby mé práce.

Poděkování náleží i mým rodičům a všem přátelům a známým, kteří mě s pochopením morálně podporovali po celou dobu mé práce na tématu této disertace.

OBSAH

1 ÚVOD 9

1.1 CÍL PRÁCE 9

2 LITERÁRNÍ ČÁST 11

2.1 AAS JAKO NÁSTROJ PRVKOVÉ ANALÝZY 11
2.2 METODY GENEROVÁNÍ TĚKAVÝCH HYDRIDŮ 12
2.3 GENEROVÁNÍ DALŠÍCH TĚKAVÝCH SLOUČENIN 13
2.4 DETEKCE HYDRIDOTVORNÝCH PRVKŮ SPEKTROMETRICKÝMI TECHNIKAMI 14
2.5 METODY PREKONCENTRACE HYDRIDOTVORNÝCH PRVKŮ 17
2.6 ARSEN 25
2.7 ANTIMON 27
2.8 BISMUT 28
2.9 SELEN 29

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST 30

3.1 CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE 30
3.1.1 Chemikálie 30
3.1.2 Přístroje 31
3.1.3 Prekoncentrační zařízení 32
3.2 METODY STUDIA PODMÍNEK PREKONCENTRACE 33
3.2.1 Měření s detekcí AAS 33
3.2.2 Radiometrická měření 36

4 VÝSLEDKY A DISKUSE 37

4.1 PAST INTEGROVANÁ S MULTIATOMIZÁTOREM 37
4.2 ANTIMON 39
4.2.1 Optimalizace podmínek záchytu a uvolnění 39
4.2.2 In-situ prekoncentrace pro rutinní analýzu 40
4.3 BISMUT 40
4.3.1 Optimalizace podmínek záchytu a uvolnění 40
4.3.2 Radioindikátorová studie 41
4.3.3 In-situ prekoncentrace pro rutinní analýzu 41
4.3.4 Mechanistická studie 42
4.4 ARSEN 45
4.4.1 Optimalizace podmínek záchytu a uvolnění 45
4.4.2 Radioindikátorová studie 45
4.4.3 Mechanistická studie 47
4.5 SELEN 49
4.5.1 Optimalizace podmínek záchytu a uvolnění 49
4.5.2 Mechanistická studie 50

5 ZÁVĚR 52

6 POUŽITÁ LITERATURA 56

7 PŘÍLOHY 65

Seznam použitých zkratek a symbolů:

AAS – atomová absorpční spektrometrie
CCD – plošný detektor typu *charge coupled device*
DBD – atomizátor typu *dielectric barrier discharge*
ETAAAS – elektrotermická AAS
FIF - atomizátor typu *flame in flame*
FIGS – atomizátor typu *flame in gas shield*
FWHM – šířka píku v polovině výšky (pološířka signálu)
HG – generování hydridů
HG-AAS – atomová absorpční spektrometrie s generováním hydridů
HG-AFS – atomová fluorescenční spektrometrie s generováním hydridů
HG-DBD-AAS – HG-AAS s atomizací v DBD
HG-DBD-AFS – HG-AFS s atomizací v DBD
HG-IAT-FAAS – plamenová AAS s generováním hydridů a prekoncentrací v IAT
HPLC – vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HR-CS-AAS – AAS s vysokým rozlišením a kontinuálním zdrojem záření
IAT – prekoncentrační trubice typu *integrated atom trap*
ICP-AES – atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ICP-MS – hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ICP-TOF-MS – hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem a průletovým analyzátorem
LOD – mez detekce
LOQ – mez stanovitelnosti
LS-AAS – atomová absorpční spektrometrie s čárovými zdroji
MDF – atomizátor typu miniaturní difúzní plamínek
MIBK – isobutylmethylketon
MMQTA – křemenný multiatomizátor
STAT – prekoncentrační trubice typu *slotted tube atom trap*
QTA – konvenční křemenný atomizátor
WCAT – prekoncentrační trubice typu *water cooled atom trap*

1 ÚVOD

Předkládaná práce je komentovaným souborem čtyř původních vědeckých prací a tří patentových přihlášek.

Literární část stručně popisuje vývoj teoretických poznatků i instrumentace v AAS během posledních let, dále jsou diskutovány pokroky v technice generování hydridů a jiných těkavých sloučenin, stejně jako trendy v prekoncentračních postupech těkavých sloučenin pro účely ultrastopové prvkové analýzy. V samostatných podkapitolách jsou charakterizovány čtyři studované analyty – arsen, antimon, bismut a selen.

V experimentální části jsou jednotně popsány: použitá aparatura, prekoncentrační procedura i detekční metody (atomová absorpce a radiometrická měření radioaktivních indikátorů).

Vlastní výsledková část a diskuse stručně komentují výsledky publikované v přiložených článcích a patentových přihláškách. Navíc jsou doplněna některá měření, která zatím nebyla publikována.

1.1 Cíl práce

Tato práce se zabývá novým přístupem k prekoncentraci hydridotvorných prvků pro potřeby atomové spektrometrie, zejména atomové absorpční spektrometrie. Studuje využitelnost křemenného povrchu jako prekoncentračního materiálu pro rutinní použití v ultrastopové analýze. Bylo zvoleno křemenné sklo, neboť hydridotvorné prvky se nejčastěji detegují pomocí atomové absorpční spektrometrie s atomizací v křemenných atomizátorech. Jako modelové hydridotvorné prvky byly zvoleny As, Sb, Bi a Se.

Trendem poslední doby v ultrastopové prvkové analýze je dosahování čím dál tím nižších hodnot detekčních limitů pro analyticky významné prvky. Tento požadavek je dán zejména faktem, že uvedení celkového obsahu analytu ve vzorku není jeho dostatečnou charakteristikou, nýbrž u stále většího počtu vzorků je kladen důraz na provedení speciační analýzy. Protože součet koncentrací jednotlivých forem (specií) analytu dává celkový obsah analytu ve vzorku, je zřejmé, že pro provedení speciační analýzy a separace je zapotřebí detekční techniky s vyšší citlivostí než je zapotřebí pro stanovení celkového obsahu analytu.

Naformátováno

Mnoho hydridotvorných prvků (As, Se) patří díky své toxicitě, resp. esencialitě právě do skupiny analytů, jejichž obsah je ve vzorcích často stanovován, včetně požadavku

na speciační analýzu, např. ve vzorcích klinických, ze životního prostředí, apod. Poptávka po rychlé, levné a citlivé metodě jejich stanovení je tedy značně vysoká. Technika atomové absorpční spektrometrie s generováním hydridů (HG-AAS) s předřazeným prekoncentračním krokem splňuje všechny tyto požadavky. HG-AAS je rychlou a levnou technikou, která je v analytické praxi zavedená a značně rozšířená. Předřazení prekoncentračního kroku pak umožní dosažení dostatečně nízkého detekčního limitu.

Práce má tyto hlavní cíle:

- vyvinout vhodné spojení křemenného prekoncentračního zařízení a křemenného atomizátoru pro studium optimálních prekoncentračních podmínek.
- optimalizovat podmínky záchytu a uvolnění analyticky významných hydridotvorných prvků, tj. As, Sb, Bi a Se na křemenném povrchu (teplota záchytu, teplota uvolnění, složení plynné fáze).
- navrhnout a validovat co nejjednodušší uspořádání analytické metody či metod pro stanovení ultrastopových koncentrací As, Sb, Bi a Se (účinnost prekoncentrace, detekční limit, opakovatelnost, interferenční vlivy).
- navrhnout nejpravděpodobnější mechanismy dějů probíhajících při záchytu, uvolnění a atomizaci analytu

2 LITERÁRNÍ ČÁST

2.1 AAS jako nástroj prvkové analýzy

Atomová absorpční spektrometrie (AAS)[1] je již přes půl století jednou z nejběžnějších technik prvkové analýzy. Umožňuje stanovení většiny prvků periodického systému i v oblasti stopových koncentrací. Výhodou AAS je vysoká selektivita a citlivost stanovení vyplývající z principu metody. Dalšími výhodami techniky AAS jsou v porovnání s jinými analytickými metodami relativně nízké pořizovací a provozní náklady a snadná automatizovatelnost analýz. Nevýhodami AAS jsou velmi omezená možnost simultánního stanovení více prvků, riziko interferencí v komplikovaných matricích a v některých případech nedostatečná citlivost metody pro ultrastopovou analýzu.

Některé výše uvedené problémy lze překonat použitím přístrojů s vysokým rozlišením a kontinuálním zdrojem záření (HR-CS-AAS)[2]. Tato technika byla do praxe zavedena před několika lety a svědčí o tom, že vývoj a výzkum v oblasti AAS pokračuje dále i přes rostoucí zájem o použití jiných technik, zejména o optickou (ICP-AES) a hmotnostní spektrometrii (ICP-MS) s indukčně vázaným plazmatem. Použitím HR-CS-AAS lze dosáhnout nižších detekčních limitů, neboť intenzita záření vycházejícího z kontinuálního zdroje je řádově vyšší než intenzita výbojek s dutou katodou. Z principu tohoto nového přístupu však vyplývají i další výhody.

HR-CS-AAS umožňuje sledovat analytický signál (absorbanci) nejen v závislosti na čase jako klasická AAS s čárovými zdroji (LS-AAS) a fotonásobičem jako detektorem, ale i ve třetím rozměru, tj. v závislosti na vlnové délce. Díky použití monochromátoru s vysokým rozlišením (nejčastěji kombinace hranolu a echelle mřížky) a plošného CCD detektoru je signál monitorován i v blízkém okolí kolem absorpční čáry analytu. Zavedení techniky HR-CS-AAS umožňuje lepší korekci strukturovaného pozadí v komplikovaných matricích. Dokonalejší kontrola či přímo eliminace interferenčních vlivů například umožňuje provádět přímá stanovení některých analytů v pevných vzorcích či suspenzích metodou kalibrační křivky proti vodným standardům[3-5]. Dále je pomocí HR-CS-AAS možné dosáhnout širšího lineárního dynamického rozsahu[6] díky použití CCD detektoru a možnosti integrace plochy píku analytu přes různý interval vlnových délek v okolí středu spektrální čáry. Počet prvků stanovitelných HR-CS-AAS je vyšší než u klasické LS-AAS, neboť HR-CS-AAS

dovoluje stanovovat některé analyty, např. halogeny[7-9] nebo fosfor[10] přes jejich molekulová absorpční spektra. Správně by se takováto stanovení neměla označovat jako atomově absorpční, avšak z historických důvodů se tak děje.

2.2 Metody generování těkavých hydridů

Hydridotvorné prvky, tj. prvky tvořící kovalentní těkavé hydridy (As, Bi, Ge, Pb, Se, Sb, Sn a Te), se stanovují technikou AAS s generováním hydridů (HG-AAS)[11]. Většina hydridotvorných prvků je analyticky významná - jsou buď toxické (As, Sb, Bi, Pb), nebo naopak pro člověka esenciální (Se). Avšak i esenciální prvky mohou ve vyšších koncentracích působit toxicky. Proto je třeba obsah hydridotvorných prvků ve složkách životního prostředí monitorovat, v mnoha případech je tato povinnost dána legislativně.

Technika generování hydridů (HG)[11] umožňuje snadné oddělení analytu od rušivých složek matrice vzorku a dále nabízí možnost zakoncentrování analytu v plynné fázi před vlastní detekcí, což vede k řádovému snížení detekčních limitů. Převedením analytu na těkavý hydrid lze tedy rovněž eliminovat některé nevýhody detekčních technik jako je nízká citlivost či malá odolnost vůči interferencím.

Hydrid je ze vzorku generován buď chemickou reakcí[11] (viz dále), nebo elektrochemicky[12].

První způsob generování, chemickou redukcí analytu roztokem $NaBH_4$, je nejčastější. Od uvedení techniky HG do analytické praxe v 70. letech 20. století byl po tři desetiletí mechanismus převedení analytu na těkavý hydrid vysvětlován redukcí nascentním vodíkem, analogicky jako v původně používaném přístupu ke generování hydridů – v systému Zn/HCl. Tato všeobecně uznávaná teorie byla jen zřídka vystavována kritice[13].

Až studie[14-18] provedené v posledních letech dokázaly, že k redukci analytu dochází přímým přenosem vodíku z $NaBH_4$ či z produktu jeho hydrolýzy v kyselém prostředí, jak bylo prokázáno použitím deuterovaných činidel a hmotnostní spektrometrie. Chemická redukce analytu tetrahydridoboratem sodným probíhá několikastupňovým mechanismem přes vícero reakčních intermediátů, kterými jsou boranové komplexy analytu.

Kromě chemického a elektrochemického přístupu ke generování hydridů lze pro stanovení hydridotvorných prvků zvolit i fotochemické generování v prostředí

nízkomolekulárních karboxylových kyselin[19,20]. Ke kapalnému vzorku je přidána organická kyselina (nejčastěji mravenčí, octová, propionová nebo malonová), působením UV záření (Hg výbojka) dochází v roztoku k fotolýze organických kyselin a řadě radikálových reakcí, při nichž dochází k fotoredukci analytu na těkavý hydrid, případně další těkavé sloučeniny (viz kapitola 2.4). Hydridotvorný prvek tvoří po fotochemické reakci těkavou sloučeninu, avšak ne vždy se musí nutně jednat o hydrid. Povaha těkavé sloučeniny závisí na použité karboxylové kyselině. Jako příklady UV-fotochemického generování hydridotvorných prvků lze uvést práce o generování těkavých sloučenin As, Sb, Bi, Se a Te s detekcí ICP-TOF-MS[21] či rovněž UV-fotochemické generování SeH_2 a dalších těkavých sloučenin selenu s AAS detekcí a atomizací v křemenném atomizátoru[22].

Fotochemickým generováním lze v některých případech provádět i speciační analýzu analytu bez použití chromatografické separace, stejně jako je to při správné volbě podmínek možné chemickým generováním. V literatuře byla jako příklad popsána speciační analýza čtyř- a šestimocného selenu[23]. Ke generování těkavé formy ze Se(IV) dochází za normálních podmínek fotoredukce, za zvýšené teploty a v přítomnosti nano-TiO_2 jako katalyzátoru dochází k fotoredukci z obou forem – Se(IV) i Se (VI).

2.3 Generování dalších těkavých sloučenin

Kromě hydridů lze pro účely analytické atomové spektrometrie ze vzorků generovat redukcí pomocí $NaBH_4$ i jiné těkavé sloučeniny analytů. Výhody tohoto přístupu jsou stejné, jako bylo diskutováno v případě hydridů. Takto lze generovat například studené páry rtuti a po jejich prekoncentraci ve zlatém amalgamátoru lze dosáhnout velmi nízkých detekčních limitů. Stejně tak lze generovat studené páry kadmia[24]. Generování dalších těkavých sloučenin se spektrometrickou detekcí nenachází v analytické praxi širší uplatnění, nicméně pro úplnost jsou zde uvedeny další generované sloučeniny popsané v literatuře: $[Ni(CO)_4]$[25, 26], $Pt(C_2H_5)_4$, $Sn(C_4H_9)_4$ a SiF_4[27].

V poslední době probíhá i výzkum možností chemického generování těkavých sloučenin dalších prvků jako např. Ag, Au, Ni, Co, Cu, Cd a dalších. Chemická povaha generovaných specií nebyla zatím ještě uspokojivě vysvětlena, i když již byly publikovány i mechanistické studie[28]. Předpokládá se vytvoření komplexů kationtů analytu s BH_4^- iontem a několikastupňová redukce analytu přes hydrido-metalové

komplexy na kovové nanočástice analytu[29]. Účinnost převedení analytu do plynné fáze se pohybuje v jednotkách až několika desítkách procent, navíc malá změna v experimentálních podmínkách může vést k signifikantní změně účinnosti[30].

Těkavé sloučeniny ve formě alkylderivátů[31,32] či karbonylů[33] lze z roztoku analytu generovat i fotochemicky v prostředí nízkomolekulárních organických kyselin[20], jak bylo uvedeno v kapitole 2.2 pro generování hydridů. Generování těkavé sloučeniny kobaltu UV-fotoredukcí v přítomnosti kyseliny mravenčí a octové bylo popsáno v letošním roce[33]. Lepších výsledků bylo dosaženo s použitím kyseliny mravenčí, těkavou sloučeninou je karbonyl kobaltu, účinnost generování je však velmi nízká, nepřesahuje 0,5 %. Fotochemická tvorba alkylderivátů v přítomnosti nízkomolekulárních organických kyselin je dána právě povahou organické kyseliny. Zatímco při použití HCOOH a UV záření je z roztoku arsenitých iontů generován AsH_3, při použití systému UV/CH_3COOH jsou generovány methylované arsany a v přítomnosti CH_3CH_2COOH a UV záření se jedná o ethylované deriváty arsanu[31,32]. Vliv UV záření Hg výbojky v přítomnosti nízkomolekulárních organických kyselin na signál byl studován i při zmlžování kapalných vzorků pro ICP-TOF-MS. Pro Ag, As, Se, Sb, Hg, I, Pb, a Sn bylo ve všech případech dosaženo vyššího signálu (2-40 násobné zlepšení) v případě působícího UV záření v porovnání s prostým zmlžováním[34]. Možnosti generování těkavých sloučenin v přítomnosti nízkomolekulárních karboxylových kyselin popisuje Guo et al.[21] ve své práci i pro některé nekovy (I, S) a přechodné kovy (Au, Ag, Pt, Rh a Pd).

2.4 Detekce hydridotvorných prvků spektrometrickými technikami

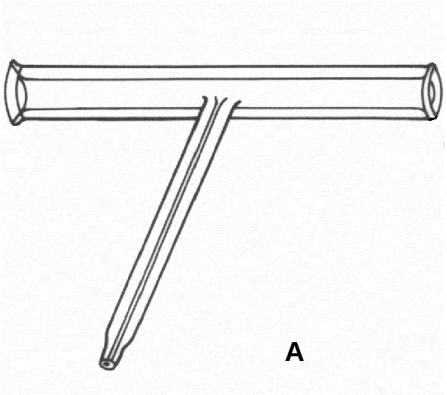
Tato kapitola popisuje možnosti stanovení prvků, které lze převést na těkavé hydridy, spektrometrickými detekčními technikami. Nejčastěji se ve spojení s generováním hydridů používá právě výše popsaná atomová absorpční spektrometrie (HG-AAS)[11].

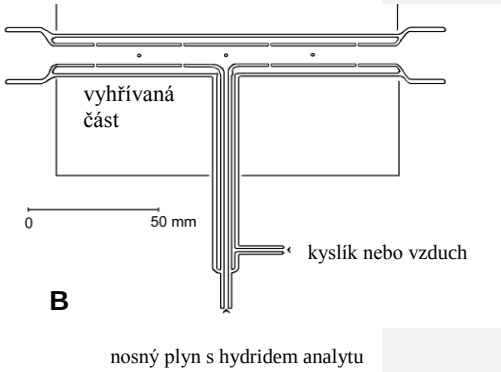
Konvenční křemenné atomizátory (QTA) jsou používány k atomizaci hydridů v AAS nejčastěji. Jedná se o křemennou trubici tvaru T s optickou dráhou délky cca 100 až 150 mm o vnitřním průměru 7 – 10 mm a úzkým přívodním ramenem s vnitřním průměrem asi 1 až 3 mm (viz obr. 1A). Atomizátory jsou vyhřívané zvnějšku plamenem či častěji elektrickou odporovou pecí na teplotu 700 – 1100 °C. Nevýhodou tohoto typu křemenných atomizátorů je malý lineární dynamický rozsah a nízká odolnost vůči

interferenčním vlivům. Naopak jejich výhodami jsou nízká pořizovací cena, jednoduchost, vysoká citlivost a nízký šum pozadí.

Atomizace hydridů v křemenných atomizátorech je vysvětlována radikálovým mechanismem. Mechanismus atomizace v různých typech atomizátorů hydridů je podrobně diskutován v monografii[11], nejnovější poznatky jsou popsány Dědinou v přehledném článku[35]. Nosný plyn obsahuje vodík vznikající v hydridovém generátoru a stopy kyslíku (difuze přes stěny hadiček aparatury, rozpuštěný v roztocích). Na začátku vyhřívané zóny atomizátoru vzniká reakcí těchto dvou plynů prostorově omezený oblak vodíkových radikálů, které reagují s hydridem za vzniku volných atomů analytu. Pro dosažení nízkých detekčních limitů AAS je nutné udržet volné atomy analytu v optické ose spektrometru co nejdéle. Z optické osy se volné atomy ztrácí dvěma způsoby – konvekcí nebo chemickými reakcemi. Volné atomy jsou stabilní pouze v oblaku vodíkových radikálů, mimo něj dochází k jejich nežádoucím chemickým reakcím. Rychlost zániku volných atomů analytu je výrazně ovlivněna povahou vnitřního povrchu atomizátoru či přítomností interferujícího prvku. Právě fakt, že volné atomy analytu podléhají po výstupu z oblaku vodíkových radikálů chemickým reakcím způsobuje největší komplikace při stanovení hydridotvorných prvků v křemenných atomizátorech. Postupná změna kvality vnitřního povrchu atomizátoru může vést k postupnému, často nereprodukovatelnému, zvýšení jeho reaktivity vzhledem k volným atomům analytu a tím i k poklesu citlivosti atomizátoru v čase.

Řešením může být reatomizace zanikajících atomů analytu v optickém rameni atomizátoru. Právě proto byl navržen tzv. multiatomizátor[36,37] - *multiple microflame quartz tube atomizer* (MMQTA), viz obr. 1B. Optické rameno multiatomizátoru je tvořeno dvouplášťovou křemennou trubicí, jejíž vnitřní plášť je perforován. Mezi tyto dva pláště je zaváděna směs plynů obsahující kyslík (vzduch nebo směs argonu a kyslíku). Reakce atomů analytu s vodíkovými radikály vzniklými reakcí vodíku s kyslíkem se uplatňuje nejen na začátku vyhřívané zóny atomizátoru jako v konvenčním atomizátoru, ale v celém objemu optického ramene, resp. v místě každého otvoru ve vnitřním plášti. Multiatomizátory se vyznačují významně lepší linearitou kalibračních křivek i lepší tolerancí k interferencím.





Obr. 1 A – konvenční křemenný atomizátor **Obr. 1 B – křemenný multiatomizátor**

Druhou významnou spektrometrickou technikou používanou pro stanovení hydridotvorných prvků je atomová fluorescenční spektrometrie (HG-AFS)[38,39]. Jejími výhodami jsou dosahované nízké detekční limity vyplývající z nízkého šumu pozadí a širší lineární dynamický rozsah než u AAS. Jako atomizátory se používají převážně miniaturní difúzní plamínek (MDF) či méně často tzv. - *flame in gas shield* (FIGS) atomizátor[40]. MDF je tvořen vertikální křemennou trubicí o průměru kolem 10 mm, do níž je ze spodu veden vodík a hydrid analytu. Na konci trubice hoří difúzní plamínek, tj. vodík je spalován v kyslíku přicházejícím difúzí z okolní atmosféry. FIGS je tvořený vertikální křemennou trubicí, v jejímž středu je centrována křemenná kapilára pro přívod kyslíku. Do spodní části křemenné trubice je veden vodík a hydrid analytu. U horního ústí trubice hoří kyslíko-vodíkový plamínek, který je od okolní atmosféry oddělený laminárním prouděním argonu. Kombinací MDF a FIGS vzniká takzvaný *flame-in-flame* (FIF) atomizátor, jedná se vlastně o FIGS uspořádáni bez stínícího proudu Ar. Takto tedy na ústí křemenné kapiláry hoří kyslíko-vodíkový plamínek a kolem něj hoří difúzní plamínek. Pro podrobnější popis všech tří typů viz přehled[35].

Poměrně novým, avšak slibným atomizátorem hydridů je tzv. *dielectric barrier discharge* (DBD) atomizátor. Atomizátor lze použít jak pro HG-AAS, tak i HG-AFS. Využívá atomizace hydridů analytu v mikroplazmatu vznikajícím v nosném plynu za atmosférického tlaku. Toto plazma vzniká mezi dvěma planparalelními kovovými elektrodami vzdálenými od sebe typicky několik mm, z nichž alespoň jedna je krytá dielektrickou vrstvou a mezi které je vloženo napětí[41]. Výhodami tohoto přístupu jsou jednoduchost, snadná miniaturizovatelnost a nízký výkon plazmového zdroje (méně než

5 W) i nízké provozní náklady. Praktická aplikace DBD byla demonstrována např. použitím tohoto atomizátoru při stanovení a speciační analýze arsenu s detekcí AAS[42], přičemž bylo dosaženo detekčního limitu na úrovni desítky ng ml^{-1}. Stejná technika HG-DBD-AAS byla použita i pro stanovení Se, Sb a Sn[43], opět s detekčním limitem na úrovni 10 ng ml^{-1}. Nižších detekčních limitů lze dosáhnout, je-li DBD atomizátor použit pro AFS jako detekční techniku. Pro As[44] a shodně i pro Se, Sb a Pb[45] stanovované technikou HG-DBD-AFS tak bylo dosaženo detekčního limitu na úrovni stovek až desítek pg ml^{-1}.

Díky všem zmíněným výhodám lze předpokládat použití tohoto uspořádání pro měření v terénu. Možnost miniaturizace a tím i terénního využití celého HG-DBD-AFS systému byla demonstrována v práci[46]. Pro stanovení arsenu bylo takto dosaženo detekčního limitu 30 pg ml^{-1}.

K detekci hydridotvorných prvků lze samozřejmě využít i techniku ICP-AES[47] či ICP-MS[48,49]. Posledně zmiňovanou technikou se často provádí speciační analýza různých forem hydridotvorných analytů rozdělených kapalinovou chromatografií (HPLC) a generování hydridů se používá jako postkolonová derivatizace pro zvýšení citlivosti stanovení.

2.5 Metody prekoncentrace hydridotvorných prvků

Obecně lze říci, že požadovaného nízkého detekčního limitu (ať už se jedná o stanovení celkového obsahu hydridotvorného prvku, či stanovení jeho jednotlivých forem, tj. speciační analýzu) lze dosáhnout buď předřazením prekoncentračního kroku před analýzu, nebo použitím detekční techniky s velmi nízkým detekčním limitem (ICP-MS, HG-AFS). Pro účely rutinní analýzy by analytický postup měl být rychlý, levný, spolehlivý a dostatečně robustní i pro komplikovanější matrice vzorků. Vysoké pořizovací a provozní náklady ICP-MS přístrojů často nutí uživatele jít cestou kompromisu. Rozumným východiskem se proto jeví použití méně citlivé, avšak spolehlivé a laciné detekční techniky v kombinaci s jednoduchým, účinným (tj. bezeztrátovým) a rychlým prekoncentračním krokem.

Tato kapitola se dále zaměřuje již jen na hydridotvorné prvky jako analyty a spektrometrické metody jako detekční techniky. Prekoncentrační krok se skládá ze dvou kroků – nejprve je analyt zachycen (prekoncentrován), poté je uvolněn do detektoru. Účinnost celé prekoncentrační procedury (dále jen prekoncentrační účinnost) je pak

jedním z důležitých parametrů charakterizujících prekoncentrační proceduru. Dílčí kroky prekoncentrační procedury pak lze charakterizovat účinností záchytu, resp. účinností uvolnění. Starší prekoncentrační přístupy[11] nejčastěji využívaly absorpci hydridu ve vhodném mediu, dále tlakovou prekoncentraci, či prekoncentraci vymrazováním.

Při použití absorpční techniky je generovaný hydrid zachycen ve vhodném absorpčním mediu a analyt je pak *off-line* stanoven vhodnou analytickou technikou. V tlakové technice prekoncentrace je generovaný hydrid spolu s vodíkem uvolněným rozkladem $NaBH_4$ jímán do uzavřené nádoby nebo balonu a po ukončení generování hydridu ze vzorku je veškerý hydrid vypuštěn do atomizátoru.

Prekoncentrace vymrazováním (*cryotrapping*) spočívá v zachycení generovaného hydridu v U-trubici chlazené kapalným dusíkem. Po skončení generování je prekoncentrovaný analyt uvolněn jejím zahřátím. Výše zmíněné techniky trpí závažnými společnými nedostatky. Jsou časově náročné, vyžadují prekoncentrační zařízení oddělená od atomizátoru a pro méně stále hydridy (Pb, Bi, Te, Sn) se nehodí vůbec.

Prekoncentrace vymrazováním je používána daleko častěji než prekoncentrace v absorpčním mediu či tlaková prekoncentrace, neboť chlazenou U-trubici lze použít nejen pro prekoncentraci hydridu analytu generovaného ze vzorku, nýbrž také ke speciační analýze analytu[50,51]. V poslední době se podařilo metodu zjednodušit díky její celkové automatizaci, jak bylo ukázáno na speciační analýze sloučenin arsenu[53]. Tímto způsobem lze jednoduše stanovit všechny toxikologicky důležité formy arsenu: anorganické formy – trojmocné (dále jen As(III)) i pětimocné (dále jen As(V)), dále pak kyselinu methylarsenitou i methylarseničnou a kyseliny dimethylarsenitou a dimethylarseničnou i oxid trimethylarseničný. Další studie ukázaly, že nejvýhodnější je provádět generování arsanu a jeho mono- a dimethylovaných derivátů v prostředí TRIS pufru o pH 6. Takto lze generovat těkavé formy trivalentních forem arsenu. Součet penta- a trivalentních forem lze stanovit, jsou-li pentavalentní formy v dalším alikvotu vzorku předem preredukovány přídavkem L-cysteinu[52]. Množství pětimocných forem arsenu se pak dopočítává jako rozdíl těchto dvou stanovení. Po generování jsou arsan a jeho methylované deriváty prekoncentrovány v U-trubici plněné chromatografickou náplní (Chromosorb). Po dobu prekoncentračního kroku je U-trubice ponořená

Naformátováno

v kapalném dusíku. Pak je trubice odporově vyhřáta a jednotlivé formy jsou separovány na základě svých rozdílných bodů varu - arsan: -55 °C, CH_3AsH_2: 2 °C, $(CH_3)_2AsH$: 36 °C a $(CH_3)_3$ As: 70 °C. Díky použití náplně lze dosáhnout lepšího rozlišení píků. Metodu lze automatizovat tak, že vymrazovací trubice s ohřevem je umístěna v tepelně izolované uzavřené nádobě. Tato nádoba má u dna otvor a na horním konci vývod plynu, který lze uzavřít solenoidovým ventilem. Celá nádoba je ponořená v zásobníku na kapalný dusík. Když je ventil otevřen, hladiny kapalného dusíku uvnitř nádoby a v zásobníku jsou vyrovnány a vymrazovací trubice je chlazena. Při uzavření solenoidového ventilu a zapnutém ohřevu odpařený dusík vytěsňuje kapalný dusík z nádoby a vymrazovací trubice chlazena není[53]. Popsaná metoda používá AAS jako detektor s atomizací analytu v multiatomizátoru, celý chromatogram je registrován během 60 s a detekční limit je na úrovni jednotek pg ml^{-1}.

Výše uvedené přístupy využívaly k prekoncentraci samostatné prekoncentrační zařízení fyzicky oddělené od atomizátoru. Lze také provádět prekoncentraci přímo v atomizátoru (*in-atomizer*). Je-li prekoncentrace analytu prováděna v části atomizátoru, která je umístěna v optické ose spektrometru, pak ji označujeme jako *in-situ*.

Donedávna byly pro *in-situ* prekoncentraci používány výhradně grafitové trubkové atomizátory (dále jen grafitové atomizátory)[54]. Generovaný hydrid je zaváděn do grafitového atomizátoru vyhřívaného na 200-600 °C, jehož povrch je krytý modifikátorem (nejčastěji sloučeniny Pd nebo Ir). Po skončení generování hydridu ze vzorku je atomizátor zahřát na teplotu kolem 2500 °C, čímž je veškerý zachycený analyt atomizován a detegován. Problematika *in-situ* prekoncentrace v grafitových atomizátorech je v literatuře dobře popsána, mnoho úsilí bylo věnováno i srovnání různých modifikátorů pro permanentní úpravu povrchu grafitového atomizátoru[55,56] a studiu vlivu modifikace povrchu na záchyt a uvolnění hydridu. Prováděny byly rovněž i nezávislé studie určení prekoncentrační účinnosti radioindikátorovou metodou[57,58]. Prekoncentrační účinnost v grafitových atomizátorech[35] se pro běžně stanovované hydridotvorné prvky blíží 100 %. Nejlepší v literatuře publikované detekční limity pro *in-situ* prekoncentraci hydridotvorných prvků v grafitovém atomizátoru se pohybují řádově v jednotkách pg ml^{-1}. Přestože byl grafitový atomizátor vyvinut pro kapalné vzorky a jeho použití pro plynné hydridy nebylo předpokládáno, je tento způsob prekoncentrace v současnosti široce využíván při stanovení ultrastopových koncentrací

Naformátováno

hydridotvorných prvků. Nedávno bylo popsáno i použití grafitového atomizátoru vyloženého zlatým plíškem pro prekoncentraci (amalgamaci) studených par rtuti[59].

V posledních 10 letech výrazně vzrostlo množství prací zabývajících se prekoncentrací hydridotvorných prvků na různých površích před jejich detekcí pomocí AAS. Důvodem je patrně oblíbenost AAS jako detekční techniky i tlak na neustálé snižování detekčních limitů analytických metod používaných v prvkové analýze, zejména kvůli provádění speciačních studií. Jak již bylo řečeno, poptávka po stanovení právě hydridotvorných prvků je logická, díky jejich toxickým či esenciálním účinkům na organismy (viz kapitoly 2.5-2.8). Testované materiály lze rozdělit do tří skupin – jedná se o grafit, kovové materiály a křemenné sklo.

Vzhledem k tomu, že grafitový trubkový atomizátor byl a je nejčastěji používán k *in-situ* prekoncentraci hydridotvorných prvků, byla logicky testována prekoncentrační zařízení z grafitu. Záchyt hydridů arsenu a selenu byl studován na povrchu a uvnitř (v dutině) trubičky z elektrografitu[60], atomizace byla prováděna v difúzním plamínku. Studován byl vliv modifikace povrchu (Ir, Pt a Rh). Účinnost prekoncentrace Se byla určena pomocí radioaktivního indikátoru ^{75}Se. Na nemodifikovaném povrchu k záchytu téměř nedocházelo, nejlepších výsledků bylo dosaženo s Ir jako permanentním modifikátorem. Účinnost záchytu na Ir modifikovaném povrchu činila 53 % na povrchu grafitové trubičky, resp. 70 % v její dutině. K účinnému záchytu docházelo až při teplotách nad 1000 °C.

Wolfram byl jeden z prvních testovaných kovových materiálů pro *in-situ* prekoncentraci hydridotvorných prvků, protože wolframové atomizátory se stejně jako grafitové atomizátory používají v AAS pro atomizaci kapalných vzorků. Dalšími testovanými kovovými materiály byly zlato a molybden.

Záchyt arsanu a selanu byl studován ve wolframovém trubkovém atomizátoru[61]. Lepších výsledků bylo dosaženo na modifikovaném povrchu (Pt, Pd, Ir, Re).

Nemodifikovaný wolframový povrch, tentokrát ve tvaru spirálky, byl použit skupinou O.Y. Atamana pro prekoncentraci hydridu bismutu a těkavé formy kadmia, vždy s následnou atomizací v konvenčním křemenném atomizátoru. Wolframová spirálka byla integrována v přívodním rameni křemenného atomizátoru (prekoncentrace *in-atomizer)*. Pro bismut[62] byly nalezeny optimální hodnoty teploty záchytu 270 °C a uvolnění 1200 °C, detekční limit byl 2,7 pg ml^{-1} (18 ml vzorku). V případě kadmia[63]

činila optimální teplota záchytu 150 °C a uvolnění 1000 °C, detekční limit 4 pg ml^{-1} (4,2 ml vzorku). Podobný přístup realizovala i skupina F. Kruga. Wolframová spirálka je umístěna přímo ve skleněném optickém rameni (prekoncentrace *in-situ*). Prekoncentrace selanu byla studována v tomto uspořádání na Rh modifikované wolframové spirálce[64]. Optimální nalezená teplota záchytu činila 400 °C, uvolnění 2300 °C, prekoncentrační účinnost byla odhadem 80 %, detekční limit byl 50 pg ml^{-1}. Stejné uspořádání s použitím Rh modifikované W spirálky bylo použito pro stanovení Se a As v biologických vzorcích[65]. Optimální teploty záchytu selanu a arsanu byly 400 °C, resp. 520 °C, detekční limit byl 35 pg ml^{-1} pro Se a 110 pg ml^{-1} pro As.

Zlatý drátek[66] byl použit pro prekoncentraci selanu s detekcí pomocí AAS a AFS. K účinnému záchytu selanu dochází mezi 100-400 °C, uvolnění se provádí při 900 °C, prekoncentrační účinnost činila 100 %. Detekční limit metody činil 5 pg ml^{-1}. Kromě zlata byly testovány i další kovové materiály pro prekoncentraci – Pd, Pt, Ag a Ni-Cr drátky a Ta folie i W pásek. Všechny testované materiály vykazovaly 100% účinnost záchytu selanu, avšak kromě Au a Ta z nich nebylo možné zachycený analyt uvolnit. Zlatem krytá wolframová spirálka vložená do přívodního ramene konvenčního křemenného atomizátoru byla použita k prekoncentraci selanu[67]. Optimální nalezené podmínky jsou: teplota záchytu 165 °C, teplota uvolnění 675 °C, detekční limit za těchto podmínek činil 39 pg ml^{-1}.

Rozsáhlou studii možnosti prekoncentrace hydridů As, Sb, Bi a Se, včetně interferencí, na molybdenovém pásku s modifikovaným povrchem (Pt, Ir, Rh) i bez modifikace provedl Dočekal se spolupracovníky. Byly optimalizovány prekoncentrační podmínky pro arsan a selan[68] i hydridy antimonu a bismutu[69] s detekcí pomocí AAS. Atomizace byla prováděna v MDF (kap. 2.4). Pro arsan a selan byly nalezeny optimální podmínky pro záchyt při teplotách mezi 1000-1200 °C, účinnost záchytu byla nezávislá na použitém modifikátoru. Pomocí ^{75}Se radioaktivního indikátoru byla při 1200 °C účinnost záchytu asi 30% a to jak na modifikovaném, tak i na nemodifikovaném povrchu. Pro účinné uvolnění zachycených forem analytu z molybdenového pásku byla zapotřebí teplota 2400 °C. Analyt po uvolnění částečně kondenzuje na chladnějších částech křemenného těla atomizátoru. Hydridy antimonu a bismutu se na rozdíl od arsanu a selanu zachytávaly ve stejném experimentálním uspořádání při nižších teplotách. Optimální teploty záchytu byly cca 550 °C pro Bi, resp. 700 °C pro Sb.

Nejlepších výsledků bylo dosaženo na nemodifikovaném povrchu, použití modifikátoru účinnost záchytu zhoršovalo. K účinnému uvolnění zachycené formy Bi dochází již při teplotách kolem 1200 °C, zatímco pro Sb je nutná teplota 2200 °C. Práce rovněž diskutuje vzájemné interference čtyř studovaných prvků As, Sb, Bi a Se během jejich záchytu a následně i při volatilizaci a atomizaci. Experimentálně dosažené výsledky jsou srovnávány s termodynamickými výpočty.

Pokud jde o křemenné sklo, jednoduchý postup prekoncentrace byl hledán již v 80. letech minulého století pro snížení detekčních limitů AAS s atomizací v plameni. Tato technika atomizace byla tehdy dominantní, ke snížení detekčního limitu mnoha prvků, nejen hydridotvorných, ale i těch zmlžovaných do plamene z kapalných vzorků, se používaly křemenné trubice. Používaly se např. trubice s podélnou štěrbinou, která prodlužuje dobu setrvání atomů analytu v pozorovaném objemu plamene, takovýto systém se v literatuře označuje jako *slotted-tube atom trap* (STAT)[70]. Nebo se používají vodou chlazené křemenné trubice[71-73], označované jako *water cooled atom trap* (WCAT). Nad hořák se umístí vodou chlazená křemenná trubice, na níž dochází k prekoncentraci analytu zmlžovaného do plamene. Přerušením chlazení trubice (odstraněním vody pomocí proudu vzduchu) se analyt uvolní a jeho signál je detegován. V některých případech lze prekoncentrovaný analyt uvolnit i bez přerušení chlazení trubice, buď změnou poměru paliva a oxidovadla v plameni, nebo dávkováním malého množství organického rozpouštědla (nejčastěji isobutylmethylketonu – MIBK). Mechanistická studie[74] prokázala, že uvolnění analytu z WCAT dávkováním organického rozpouštědla vyžaduje přímý kontakt plamene s místem povrchu trubice, kde je analyt zachycen. Za uvolnění analytu tedy není zodpovědné zvýšení teploty povrchu, ale spíše radikálová chemická reakce.

Postupem času byla navržena různá uspořádání těchto křemenných prekoncentračních trubic, jejichž výčet podrobně diskutuje Matusiewicz v přehledném článku[75]. Kombinací obou přístupů, tedy STAT a WCAT, vzniklo uspořádání označované jako *integrated atom trap* (IAT). Uspořádání STAT, WCAT či IAT byla studována a porovnávána pro prekoncentraci Cd a Pb při stanovení AAS s atomizací v plameni[76]. Nejlepších výsledků bylo dosaženo při použití trubice STAT, uvolnění analytu a atomizace bylo dosaženo buď zvýšením průtoku acetylenu do plamene, nebo dávkováním malého množství MIBK do plamene. Interferencemi běžných

anorganických solí na prekoncentraci Bi, Cd, In, Pb a Sb při stanovení s použitím STAT v plameni se zabývala Korkmaz se spolupracovníky[77].

S využitím techniky HG, po převedení příslušných prvků na jejich těkavou formu, lze na různých typech prekoncentračních trubic vložených do plamene prekoncentrovat i hydridotvorné prvky. Matusiewicz se spolupracovníky využili prekoncentrace Te na křemenné trubici typu IAT[78], přístup s použitím vnášení vzorků ve formě těkavých hydridů a s atomizací v plameni je označován jako HG-IAT-FAAS. S použitím této techniky bylo dosaženo detekčního limitu 0,9 ng ml^{-1} (spotřeba vzorku 2 ml). Stejní autoři podobným přístupem provedli i prekoncentraci stibanu[79]. Dosaženo bylo detekčního limitu 0,2 ng ml^{-1} (spotřeba vzorku 2 ml) a použitelnost metody byla demonstrována na reálných vzorcích. Plumban byl zachycen na trubici typu STAT s atomizací v plameni[80], k volatilizaci analytu byl dávkován MIBK, dosažený detekční limit činil 28 ng ml^{-1} (spotřeba vzorku 7,8 ml). Analytická využitelnost metodiky byla demonstrována na referenčních materiálech. Prekoncentraci In a Tl s použitím HG-IAT-FAAS popisuje práce[81], byly dosaženy detekční limity lepší než pro prekoncentraci hydridů v grafitových kyvetách – 0,6 a 0,4 ng ml^{-1} pro In a Tl (spotřeba vzorku 2 ml) a použitelnost metody byla demonstrována na referenčních materiálech. V literatuře byla popsána i prekoncentrace analyticky významných prvků As a Se technikou HG-IAT-FAAS[82] s detekčními limity na úrovni jednotek ng ml^{-1}. Podobně byly prekoncentrovány i studené páry kadmia a plumban[83] s detekčními limity na úrovni desítek, resp. stovek pg ml^{-1}.

Obecně lze říci, že použití prekoncentračních trubic s následnou atomizací v plameni dovoluje pro zmlžované vzorky dosáhnout detekčních limitů na úrovni desítek až stovek ng ml^{-1}, tj.asi o 1-2 řády nižších než při použití AAS s atomizací v plameni bez použití prekoncentračního kroku[75]. Řádově nižších detekčních limitů lze dosáhnout bez jakékoli prekoncentrace použitím elektrotermické atomizace v grafitovém atomizátoru. Nevýhodou této techniky jsou však vyšší pořizovací a provozní náklady instrumentace. V případě hydridotvorných prvků se detekční limity pro prekoncentraci hydridů na křemenných trubicích v plameni pohybují na úrovni jednotek ng ml^{-1}. Potenciál techniky HG zde není plně využit, neboť v mnoha případech je dosaženo nízké účinnosti prekoncentrace. Navíc velký šum pozadí v plameni jako atomizátoru výrazně zhoršuje detekční limit. Prekoncentraci hydridotvorných na křemenných površích je

proto vhodné spojovat s křemennými atomizátory, kde lze dosáhnout řádově nižšího šumu pozadí.

V roce 2002 bylo popsáno první použití prekoncentračního zařízení pro hydridy z křemenného skla s následnou atomizací v konvenčním křemenném atomizátoru. Hydrid byl zachycen na vnitřním povrchu křemenné trubičky z vnějšku vyhřívané odporově elektrickým proudem. Studovaným analytem bylo olovo[84], optimální teplota záchytu plumbanu činila 500 °C a uvolnění 900 °C. Účinnost prekoncentrace byla odhadnuta na 49 %, detekční limit činil 19 pg ml^{-1}. Dalším analytem prekoncentrovaným tímto přístupem byl stiban[85], atomizace byla prováděna v křemenném multiatomizátoru. Optimální podmínky prekoncentrace byly: 650 °C teplota záchytu a 920 °C teplota uvolnění. Detekční limit činil 3,9 pg ml^{-1} (spotřeba vzorku 8 ml). Pro elektrochemické generování stibanu s jeho prekoncentrací v křemenné pasti[86] bylo dosaženo detekčního limitu 53 pg ml^{-1}. Dále byla popsána prekoncentrace studených par kadmia[87] v přívodním rameni QTA, které bylo vyhříváno odporově elektrickým proudem. V tomto případě byla optimální teplota záchytu 350 °C, uvolnění 1000 °C a detekční limit 1,8 pg ml^{-1} (spotřeba vzorku 6 ml).

Dosažené detekční limity pro prekoncentraci hydridotvorných prvků v křemenné pasti s následnou atomizací v křemenném atomizátoru jsou zhruba srovnatelné s těmi nejlepšími dosahovanými pro *in-situ* prekoncentraci hydridů v grafitových atomizátorech[54].

Obecně lze k prekoncentraci hydridotvorných prvků s detekcí atomovou spektrometrií říci, že postupně je zapotřebí nalézt vhodné podmínky pro všechny dílčí kroky analytického postupu – (1) generování hydridu analytu ze vzorku, (2) záchyt analytu v prekoncentračním zařízení, (3) uvolnění zachycených sloučenin analytu z prekoncentračního zařízení a (4) atomizaci uvolněných sloučenin analytu. Pro účely optimalizace se hodí samostatné prekoncentrační zařízení, které je oddělené od optické osy spektrometru, resp. atomizátoru. Výhodou odděleného prekoncentračního zařízení oproti *in-situ* prekoncentraci přímo v atomizátoru je fakt, že zatímco prekoncentrační zařízení je používáno v podmínkách optimálních pro záchyt a uvolnění analytu, podmínky v atomizátoru jsou nastaveny optimálně pro atomizaci analytu.

Při znalosti optimálních podmínek pro kroky 2) až 4) analytického postupu (studované v odděleném prekoncentračním zařízení od atomizátoru), lze poté mnohdy celý postup

zjednodušit nalezením podmínek pro *in-situ* prekoncentraci v atomizátoru, pokud tyto nejsou v rozporu s optimálními nalezenými podmínkami pro jednotlivé dílčí kroky.

V této práci bylo postupováno s ohledem na tyto skutečnosti. Jako studovaný prekoncentrační povrch bylo zvoleno křemenné sklo, neboť i atomizátory hydridů jsou nejčastěji právě z křemenného skla. Výhodou malé křemenné pasti jako prekoncentračního zařízení je možnost jejího rychlého ohřevu elektrickým proudem a rychlé ochlazení vzduchem na požadované teploty. Optimalizační studie byly prováděny v prekoncentračním zařízení, které tvořilo součást přívodního ramene křemenného multiatomizátoru, což umožňuje využít výhody odděleného prekoncentračního zařízení (nezávislá kontrola experimentálních podmínek) s jednoduchostí *in-atomizer* prekoncentrace. Podmínky pro generování hydridu byly převzaty z literatury a postupů běžně používaných na pracovišti. Zcela nový je postup záchytu za přítomnosti kyslíku, což podstatně zlepšuje účinnost záchytu. Pro každý ze čtyř studovaných analytů (As, Sb, Bi, Se) byly optimalizovány podmínky pro záchyt i uvolnění (teplota povrchu, složení atmosféry) a dále i pro atomizaci uvolněné formy (obsah kyslíku v atomizátoru ovlivňující množství vodíkových radikálů). Následně byly vyvinuty a validovány analytické metody *in-situ* prekoncentrace Sb a Bi v konvenčním křemenném atomizátoru a *in-atomizer* prekoncentrace As a Se v křemenném multiatomizátoru. Rovněž byly provedeny série experimentů pro objasnění mechanismů dějů probíhajících v aparatuře během prekoncentrace.

2.6 Arsen

Arsen se v přírodě vyskytuje nejčastěji ve sloučeninách spolu se sírou, kyslíkem a železem. Jeho obsah v zemské kůře činí asi 2 mg kg^{-1}. Je obsažen např. v minerálech realgaru As_4S_4, arsenolitu As_2O_3, argenopyritu $FeAsS_2$ nebo auripigmentu As_2S_3[88].

Průmyslově jsou sloučeniny arsenu využívány v metalurgii, dále pak při výrobě herbicidů (např. kyselina dimethylarsenitá) a insekticidů. Sloučeniny arsenu jsou rovněž součástí přípravků pro impregnaci dřeva[89]. Do životního prostředí se arsen dostává jednak loužením z podloží, které obsahuje arsenové minerály, zdrojem je však i lidská činnost. Právě metalurgický průmysl, použití herbicidů a impregnačních prostředků na dřevěné konstrukce, stavby a lodě jsou významnými antropogenními zdroji arsenu.

Sloučeniny arsenu patří k nejdéle známým jedům, proto jsou i toxikologicky celkem dobře probádané. Obecně lze říci, že akutní toxicita sloučenin trojmocného arsenu je větší než sloučenin pětimocných, tyto však naopak vykazují významnější karcinogenní účinky. Akutní otrava nastává při požití 0,2 g As_2O_3, v malých pravidelných dávkách lze však pro arsenik vypěstovat silnou toleranci[90]. Anorganické sloučeniny jsou většinou toxičtější než organické, např. arsenocukry či arsenobetain a arsenocholin se za toxické téměř nepovažují. Anorganické sloučeniny arsenu jsou karcinogenní, mutagenní a teratogenní, dále působí hepato- a nefrotoxicky. Významné množství arsenu může člověk přijímat z pitné vody, zejména v Indii a Bangladéši, ale i v některých místech USA a Mexika je kontaminace vody arsenem velkým problémem. Dlouhodobý příjem vysokých dávek arsenu z pitné vody vede ke kožním projevům (hyperkeratinóza, hyperpigmentace), onemocnění periferního oběhového systému a následné gangréně (tzv. blackfoot disease). Arsen má prokazatelný synergický efekt při vzniku rakoviny kůže a plic i diabetu 2. typu. V potravě může být velké množství arsenu obsaženo v mořských rybách a plodech, naštěstí však ve formě arsenosacharidů a arsenoproteinů, které nejsou tolik toxické. Anorganické sloučeniny arsenu jsou v lidském organismu metabolizovány vícestupňovým mechanismem oxidativní methylace s následnou redukcí produktu methylace před další biotransformací. Anorganický arsen je tedy methylován na kyselinu monomethylarseničnou, následně je tato redukována na kyselinu monomethylarsenitou, další oxidativní methylací vzniká kyselina dimethylarseničná a posledním krokem biotransformace je opět redukce tohoto metabolitu na kyselinu dimethylarsenitou[91,92].

Arsen je důležitým prvkem stanovovaným ve vzorcích klinických i ze životního prostředí. Vzhledem k řádově rozdílné toxicitě různých forem arsenu je místo stanovení celkového obsahu vyžadována i speciační analýza. Stanovení celkového obsahu lze provádět různými elektrochemickými i spektrometrickými detekčními technikami. Pro účely speciační analýzy se často používá spojení HPLC s detekcí AAS, AFS, ICP-AES či ICP-MS[89]. Ve všech případech lze mezi separační a detekční krok zařadit postkolonové převedení separované frakce na anorganický arsen a generování arsinu, čímž lze snížit detekční limit. Lze však také použít levnou a jednoduchou metodu založenou na pH-selektivním generování a prekoncentraci vymrazováním[51-53, 93],

Naformátováno

popsanou detailně v kapitole 2.5. Touto metodou lze dosáhnout pro methylované formy arsenu detekčního limitu na úrovni jednotek pg ml^{-1}.

2.7 Antimon

Antimon se v přírodě nejčastěji vyskytuje jako Sb_2S_3 (antimonit) a Sb_2O_3 (valentinit), které často doprovází rudy obsahující měď, stříbro a olovo. Jeho obsah v zemské kůře činí asi 200 μg kg^{-1}. Běžný je i jeho výskyt jako doprovodné složky v ropě a uhlí[94]. Ve sloučeninách se vyskytuje v oxidačních stavech +III a +V.

Hlavním průmyslovým využitím antimonu bylo jeho použití jako přísady do slitin. Ve druhé polovině minulého století byl antimon využíván jako levná náhrada za dražší kovy a z vyřazených výrobků byl recyklován. Dnes se používá v drtivé většině jako složka snižující hořlavost matriálů a poté, co se výrobek přestane používat, dostává se do spaloven nebo na skládky a antimon uniká do životního prostředí.

Sloučeniny antimonu jsou i součástí některých léků. Léčí se jimi některé tropické nemoci a dříve se antimon používal i při léčbě syfilidy.

Antimon není mikrobiogenním prvkem. Toxicita jeho sloučenin je obdobná jako u sloučenin arsenu a olova. Metabolismus sloučenin antimonu u savců však neprobíhá methylačně jako u arsenu, přesná reakční cesta biotransformace není známá[95]. Oproti arsenu jsou však otravy lehčí, protože vstřebávání antimonu je velmi pomalé. Sloučeniny trojmocného antimonu jsou desetkrát toxičtější než antimonu pětimocného a anorganické sloučeniny antimonu jsou toxičtější než jeho sloučeniny organické. V živých organismech dochází ke kumulaci antimonu. Akutní otrava sloučeninami antimonu je charakterizována podrážděním zažívacího traktu, zvracením, dehydratací, krvavými průjmy, poklesem krevního tlaku, poškozením jater, ledvin a štítné žlázy. Chronická otrava je nevýznamná (nausea, jaterní poruchy). Uvádí se, že u dětí dochází k retardaci růstu. Obecně sloučeniny antimonu inhibují některé enzymy, blokují sulfhydrylové skupiny, zasahují do metabolismu bílkovin a cukrů[90]. Přítomnost antimonu a jeho sloučenin v životním prostředí je pečlivě monitorována. V lidské tkáni se antimon vyskytuje v koncentracích nižších než 1 μg g^{-1}. Plíce, lymfatické uzliny a vlasy ho mohou obsahovat více. Člověk je nejčastěji exponován antimonu z pracovního prostředí či medikamentů.

Stopová množství antimonu lze ve vzorcích z životního prostředí stanovovat různými instrumentálními metodami, jejichž výčet včetně přístupu ke speciaci je uveden např. v přehledném článku[96] (stanovení ve vodách) či v novějším přehledu[95] (stanovení ve vzduchu). K detekci lze použít jak metody elektrochemické, tak spektrometrické, běžně se bez prekoncentrace dosahuje detekčních limitů cca 0,1-1 ng ml^{-1}. Stanovení antimonu v nižších koncentracích, na úrovni jednotek pg ml^{-1}, umožňuje atomová fluorescenční spektrometrie s generováním hydridů (HG-AFS)[97,98]. Ještě nižších detekčních limitů lze dosáhnout kombinací techniky HG s finančně velmi náročnou detekcí pomocí ICP-MS (HG-ICP-MS)[96]. Detekční limit stanovení antimonu metodami AAS lze dále snížit předřazením prekoncentračního kroku, např. při *in-situ* prekoncentraci stibanu v grafitovém atomizátoru lze dosáhnout detekčního limitu jednotek pg ml^{-1}.

2.8 Bismut

Bismut je v přírodě zastoupen asi 20-krát méně než antimon, tj. v zemské kůře je jeho obsah cca 10 μg kg^{-1}. Zatímco antimon je polokov, bismut vykazuje typické kovové vlastnosti. Ryzí kov doprovází rudy Pb, Ag a Co, hojněji se však bismut vyskytuje v minerálech bismutinu (Bi_2S_3), bismitu (Bi_2O_3) a bismutitu [$(BiO)_2CO_3$][88].

Hlavními oblastmi průmyslového využití bismutu a jeho sloučenin jsou metalurgie, zejména výroba lehce tavitelných slitin včetně liteřiny a farmaceutická výroba[88].

Obecně jsou toxické projevy sloučenin bismutu podobné jako projevy sloučenin rtuti či olova (zažívací potíže, bolesti břicha, průjmy, nefrotoxicita, vzácněji hepatotoxicita). Požití 2 – 3 g obvyklých sloučenin vede pouze k lehčím otravám, neboť se bismut špatně vstřebává. Citlivé jsou však ledviny, kdy dávka 0,5 g může vyvolat až zástavu močení (anurii)[90].

Běžně používanými spektrometrickými detekčními technikami pro stanovení nízkých obsahů Bi ve vzorcích s různými matricemi jsou HG-AFS[99] s detekčním limitem 10 pg l^{-1} Bi v mléce, ETAAAS s dávkováním kapalných vzorků[100] (detekční limit 3 ng ml^{-1} v moči), HG-ETAAAS s in situ prekoncentrací hydridu (detekční limity 30 až 500 pg ml^{-1}), HG-ICP-MS (detekční limit 1 pg ml^{-1}, bez prekoncentrace hydridu). Z výčtu metod je patrné, že kromě finančně náročné metody ICP-MS ve spojení s generováním hydridů dosahují ostatní techniky poměrně vysokých detekčních limitů.

2.9 Selen

Selen se nachází v zemské kůře v koncentraci asi 50 μg kg^{-1}, jako doprovodný prvek síry v jejích rudách. Mezi minerály obsahující selen patří selenolit SeO_2 a dále jsou to selenidy doprovázející sulfidy chalkofilních prvků (Cu, Fe, As, Cd, Hg, Pb, aj.). Červená alotropická modifikace selenu obsahuje stejně jako síra molekulu Se_8, šedá hexagonální modifikace vykazuje kovové vlastnosti. Dále je ještě známá černá sklovitá alotropická modifikace se složitou a nepravidelnou strukturou z velkých polymerních kruhů atomů Se.

Největší použití nachází selen v xerografii a ve fotoelektronice a polovodičové technice. Dále nachází uplatnění ve sklářském průmyslu při odbarvování skla a jeho barvení na růžovou až červenou barvu. Menší množství selenu se používá i ve farmaceutickém průmyslu.

Anorganické sloučeniny selenu jsou toxické, SeO_2 má podobné účinky jako As_2O_3, $SeOCl_2$ má zpuchýřující účinky jako yperit, SeH_2 dráždí oči a pokožku, může poškozovat játra a ledviny[90]. Selen je sice esenciálním prvkem, avšak koncentrační rozdíl mezi esenciálními a toxickými účinky není veliký[101]. Selenované aminokyseliny selenomethionin a selenocystein působí např. proti vzniku některých forem rakoviny, ve vyšších koncentracích však selen působí na organismus toxicky. V lidském těle je selen součástí selenoproteinů, např. glutathionperoxidázy účastnící se ochrany organismu před volnými radikály[102]. Selenoenzym jodthyronin dejodáza je důležitý pro tvorbu hormonů štítné žlázy[103]. Doporučená dávka Se pro dospělého člověka je v ČR 55 μg na den[104].

Pro speciační analýzu Se, se stejně jako v případě As, většinou používá spojení HPLC s AAS, AFS či ICP-MS. Za výstup z HPLC kolony se často zařazuje postkolonové generování hydridů. Detekční limity HPLC-ICP-MS se pohybují řádově na úrovni ng ml^{-1}, lze je snížit o řád až dva použitím postkolonového generování hydridů[105]. Použít lze i kapilární zónovou elektroforézu jako separační techniku v kombinaci s detekcí pomocí ICP-MS. Trendy ve speciační analýze sloučenin selenu kombinací separačních a detekčních technik byly shrnuty v přehledném článku[105]. HG-AFS[106] poskytuje detekční limit pro selen v biologických vzorcích na úrovni stovky pg ml^{-1}.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Chemikálie a přístroje

3.1.1 Chemikálie

Všechny chemikálie byly čistoty p.a. a vyšší. Pracovní standardy As, Sb, Bi a Se byly připravovány ze standardů o koncentraci 1 mg ml^{-1} (As – Sigma Aldrich, Německo; Sb a Bi – BDH Laboratory Reagents, Anglie a Se – Merck, Německo) zředěním 1,0 mol l^{-1} HCl (37%, Merck, Německo). Redukčním činidlem byl 0,5% (m/v) roztok $NaBH_4$ (Sigma Aldrich, Německo) v 0,4% (m/v) KOH (Sigma Aldrich, Německo), který byl ihned po přípravě zfiltrován (0,45 µm nylonový membránový filtr, Whatman, Anglie) a skladován zamražený. Pro přípravu vodných roztoků a k mytí laboratorního skla byla používána deionizovaná voda přístrojem Watrex Ultrapur (Watrex, USA).

Atomizátory byly dle potřeby čištěny ve směsi 38% HF (Spolek pro chemickou a hutní výrobu, n. p. Ústí n. Labem) a 68% HNO_3 (Lachema Neratovice) v poměru 3:7 po dobu 10 min. Poté byly omyty deionizovanou vodou a sušeny na vzduchu do druhého dne.

Byly použity plyny z tlakových lahví: argon (Ar 4.6, Linde), vodík (H_2 3.0, Linde) a kyslík (O_2 medicinální, Linde). Zdrojem vzduchu byl místní rozvod v laboratoři.

Referenční materiál Grumo-K (stopové prvky – kovy ve vodě, Eurofins, Dánsko) s certifikovaným obsahem 0,54±0,19 ng ml^{-1} Sb byl použit při validaci vyvinuté rutinní metody stanovení Sb AAS s prekoncentrací v konvenčním atomizátoru.

V radioindikátorových studiích byly využity nuklidy uvedené v tab.1. Radionuklidy ^{73,74}As a $^{205,\ 206}$Bi byly připraveny bombardováním terčového materiálu (Ge pro přípravu As, resp. Pb pro přípravu Bi) svazkem protonů na cyklotronu v Ústavu jaderné fyziky AV ČR, v.v.i., v Řeži u Prahy. Izolaci a separaci radioizotopů od terčového materiálu provedl Ing. M. Vobecký, CSc. na pracovišti Ústavu analytické chemie AV ČR, v.v.i.

Tab. 1 Charakteristika použitých radioaktivních indikátorů

Izotop	$T_{1/2}$	$E_{\gamma,\ okno}$ (keV)	m (g kBq^{-1})	příprava
^{73}As	80,30 d	30-200	$1{,}2.10^{-13}$	Ge_{nat}(p, x n)
^{74}As	17,78 d	30-1300	$2{,}7.10^{-13}$	
^{205}Bi	15,3 d	80-1800	$6{,}5.10^{-13}$	Pb_{nat}(p, x n)
^{206}Bi	6,24 d	80-1100	$2{,}7.10^{-13}$	

$T_{1/2}$ – poločas rozpadu, d-dny, nat-přírodní, x = 1,2, m-hmotnost radioaktivního indikátoru o aktivitě 1 kBq (odhad), $E_{\gamma,\ okno}$ – rozsah energií měřícího okna

3.1.2 Přístroje

Peristaltická vícekanálová pumpa Ismatec ISM 726 (Cole Parmer, USA)

Regulátory průtoku plynů typu *mass flow controller* (Omega, USA)

Jehlové ventily pro regulaci průtoku plynů integrované s rotametry (Cole Parmer, USA)

Elektrická pícka AEHT 01 (RMI, Lázně Bohdaneč)

Křemenný multiatomizátor

Konvenční křemenný atomizátor (Perkin Elmer, Quartz Cell 2 pro FI-MHS)

Digitální teploměr s termočlánkem typu K (model 8528-20, Cole Parmer, USA)

Autotransformátory (Křižík, Praha)

Laserový scanner BAS 5000 (Fuji)

Radiografická deska

Studnový scintilační NaI(Tl) detektor (Minaxi 5000, Packard)

Atomový absorpční spektrometr Varian AA 300 (Varian, Austrálie)

Tab. 2 Parametry používaných výbojek s dutou katodou

	Prvek			
Parametr	As	Sb	Bi	Se
vlnová délka (nm)	193,7	217,6	223,1	196,0
šířka štěrbiny (nm)	0,5	0,2	0,2	1,0
proud (mA)	10,0	10,0	10,0	10,0

3.1.3 Prekoncentrační zařízení

Pro studium a optimalizaci jednotlivých kroků prekoncentrační procedury byl v rámci této práce upraven křemenný multiatomizátor vyvinutý dříve v naší laboratoři Dědinou a Matouškem[36,37] (viz také obr. 1B).

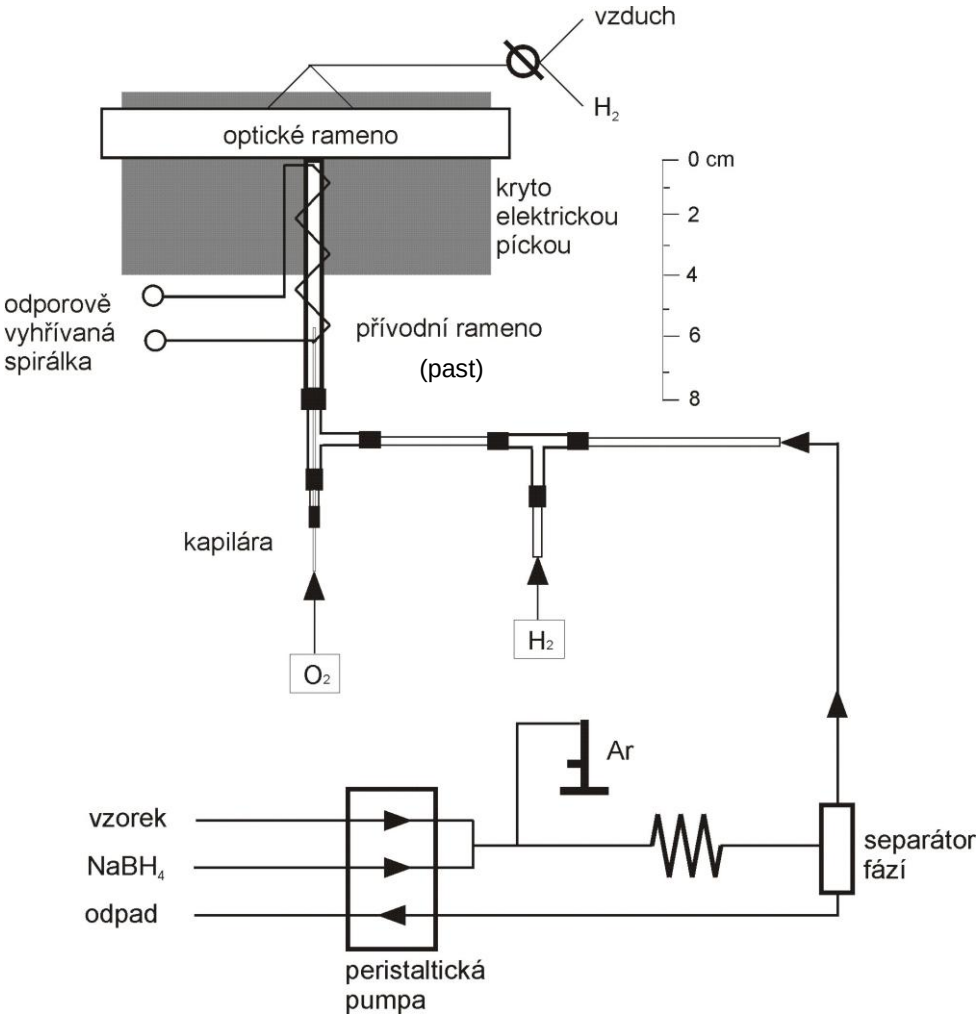
Naformátováno

Přívodní rameno multiatomizátoru (viz obr. 2) o délce 80 mm, vnitřním průměru 2 mm a vnějším průměru 3 mm bylo upraveno tak, že sloužilo zároveň jako prekoncentrační zařízení (past). Past byla od svého spoje s optickým ramenem vyhřívána v délce 60 mm pomocí navinuté odporové spirálky z Ni-Cr (kanthalového) drátu (délka 40 cm, průměr 0,65 mm, měrný odpor 4,17 Ω m^{-1}). Topná spirálka byla připojena na proudově-regulovatelný zdroj a umožňovala vyhřátí pasti maximálně na 1100 °C. Teploty pasti nižší než 100 °C není možné dosáhnout, neboť při vyhřívání optického ramene multiatomizátoru na atomizační teplotu 900 °C je částečně vyhřívána i past. Navíc je teplota pasti ovlivněna i kyslíko-vodíkovým plamínkem, který v ní během experimentu hoří (viz kap. 3.2.1). Proto je teplota pasti cca 100 °C, i když je odporové vyhřívání pasti vypnuto. Závislost teploty vnitřního povrchu pasti na vloženém proudu byla pravidelně ověřována digitálním teploměrem s termočlánkem.

Uspořádání aparatury umožňuje dávkovat do pasti pomocnými kanály definované množství vodíku a kyslíku z tlakových lahví. Konstrukce multiatomizátoru umožňuje dávkovat do mezipláští optického ramene tzv. vnější plyn (viz obr. 1B a obr. 2). Jako vnější plyn byl používán vzduch (standardní režim multiatomizátoru) nebo vodík (multiatomizátor s vodíkem jako vnějším plynem).

Podrobný popis generátoru hydridů a pasti integrované s multiatomizátorem je uveden v příloze č.1 této práce [P1]. Schéma celé aparatury je na obr. 2.

K čerpání roztoku vzorku a redukčního činidla, stejně jako k odčerpávání kapalné fáze ze separátoru fází do odpadu byla použita vícekanálová peristaltická pumpa. Dávkování plynů bylo řízeno pomocí regulátorů hmotnostního průtoku či jehlových ventilů integrovaných s rotametry.



Obr. 2 – Souhrnné schéma aparatury pro generování a *in-atomizer* prekoncentraci

3.2 Metody studia podmínek prekoncentrace

3.2.1 Měření s detekcí AAS

V experimentech byly použity následující průtokové rychlosti: 4 ml min^{-1} pro vzorek, resp. slepý vzorek, 1,2 ml min^{-1} pro $NaBH_4$ a 6 ml min^{-1} pro odtah kapalné fáze ze separátoru fází do odpadu. Doba čerpání standardu činila 30 s, poté následovalo čerpání 1 M HCl po dobu 30 s pro vypláchnutí systému.

Naformátováno

Prekoncentrační procedura se typicky skládá ze dvou kroků. V tom prvním, **kroku záchytu**, je generovaný hydrid analytu zachycen v pasti. Za použitých podmínek

generování vznikalo v generátoru rozkladem $NaBH_4$ cca 15 ml min^{-1} H_2. V kroku záchytu byl na začátek pasti přiváděn křemennou kapilárou (obr. 2) proud kyslíku. Na konci kapiláry hoří za těchto podmínek plamínek, ve kterém je vodík spálen v nadbytku kyslíku.

Uspořádání aparatury umožňuje sledovat také tzv. **průnikový signál** během kroku záchytu, tj. detegovat analyt nezachycený v pasti a pronikající do atomizátoru. Pro tyto účely je jako vnější plyn (viz kap. 3.1.3) do multiatomizátoru použit vodík a registruje se signál spektrometru.

Průtoky a složení plynů protékajících aparaturou v kroku záchytu jsou uvedeny v tab.3.

Ve druhém kroku, **uvolnění (volatilizace)**, je zachycený analyt uvolněn proudem vodíku, který se dávkuje pomocným kanálem. Analyt je následně atomizován a detegován. Před vlastním krokem uvolnění je třeba dosáhnout podmínek uvolnění, zejména rovnovážné teploty pasti (pokud se teplota záchytu a uvolnění od sebe liší). Na začátku kroku uvolnění je vypnut proud kyslíku (není-li uvedeno jinak) a registrován signál spektrometru. Signál uvolněného analytu je detegován ve standardním režimu provozu multiatomizátoru - s použitím vzduchu jako vnějšího plynu. Při experimentech prováděných s As a Se jako analyty je důležité před uvolněním zachyceného analytu a jeho detekcí odstranit dokonale kyslík z optického ramene atomizátoru. Proto byl u těchto dvou analytů proud O_2 vypnut vždy 5 s před čtením signálu. Za tuto dobu 5 s dojde k odstranění veškerého kyslíku z aparatury nosným plynem.

Průtoky a složení plynů protékajících aparaturou v kroku uvolnění jsou uvedeny v tab.3.

Po kroku uvolnění je ještě někdy zařazen třetí krok – **čištění**. Ten slouží pro odstranění analytu, který by za podmínek uvolnění mimo optimum (např. příliš nízká teplota uvolnění) zůstal zachycen v pasti. V čistícím kroku byl do aparatury pomocným kanálem dávkován vodík, stejně jako v kroku uvolnění. Proud kyslíku byl (není-li uvedeno jinak) uzavřen. Signál analytu je sledován během čistícího kroku ve standardním režimu provozu multiatomizátoru.

Podrobný popis kroků procedury optimalizačních studií pro všechny čtyři studované analyty je uveden v práci [P1]. Pro sekvenci prováděných kroků, včetně složení plynné fáze a doby trvání jednotlivých kroků – viz tab. 3.

Tab. 3 Pracovní postup při provádění optimalizačních studií

parametr	krok záchytu	dosažení podmínek uvolnění	krok uvolnění	dosažení podmínek čištění	čistící krok	dosažení podmínek záchytu
doba (s)	60	60	15	60	15	60
Ar (ml min^{-1})	75	75	75	75	75	75
O_2 (ml min^{-1})	10	10	0	10	0	0
$H_2(BH_4^-)$ (ml min^{-1})	15	0	0	0	0	0
pumpa zapnutá	ANO	NE	NE	NE	NE	NE
čtení signálu	ANO	NE	ANO	NE	ANO	NE
vnější plyn (25 ml min^{-1})	H_2	vzduch	vzduch	vzduch	vzduch	vzduch

Optimalizační studie byly prováděny jako jednoparametrové. Studovanými parametry postupně byly: teplota pasti při záchytu, teplota pasti při uvolnění a složení plynné fáze v kroku uvolnění. Ostatní parametry byly během optimalizace studovaného parametru drženy na konstantní (a předběžnou studií optimalizované) hodnotě jak je uvedeno v tab. 4.

Tab. 4 Optimální hodnoty studovaných parametrů používané při optimalizační studii

parametr		krok záchytu	krok uvolnění	čistící krok
Teplota pasti (°C)				
	As	150	800	920
	Sb	870	870	870
	Bi	870	870	870
	Se	80	570	570
Průtok H_2 (ml min^{-1})				
	As		100	100
	Sb		75	75
	Bi		100	100
	Se		50	50

Se znalostí průnikového signálu během kroku záchytu, volatilizačního signálu v kroku uvolnění a dalšího volatilizačního signálu během čistícího kroku lze provést celkovou bilanci analytu v průběhu celé prekoncentrační procedury (prekoncentrační režim) a určit tak prekoncentrační účinnost. K tomu je však zapotřebí znát referentní signál naměřený za stejných podmínek, avšak bez prekoncentrace (režim přímého přenosu). Koncentrace použitého standardu a jeho dávkované množství jsou, stejně jako složení plynů v aparatuře, shodné pro oba režimy. Podrobný popis režimu přímého přenosu je uveden v práci [P1].

V případě Bi a As byla účinnost záchytu a uvolnění určena kromě AAS i nezávislou studií s využitím příslušných radioaktivních indikátorů (viz kapitoly 4.3.2 a 4.4.2).

3.2.2 Radiometrická měření

Pro jednoduchost byly při práci s radioaktivními indikátory používány pro studium záchytu a uvolnění trubičky z křemenného skla, které sloužily jako model pasti. Tyto trubičky měly stejné parametry jako past, tj. vnitřní průměr 2 mm a vnější 3 mm, jejich délka činila 100 mm. Přívod plynů do trubičky i její vyhřívání bylo řešeno stejně jako v případě přívodního ramene křemenného multiatomizátoru (viz kap. 3.1.3 a obr.2).

Není-li uvedeno jinak, byl vlastní pracovní postup shodný jako při experimentech prováděných s AAS detekcí (kap. 3.2.1).

Při experimentech bylo na jeden pokus bráno množství radioaktivního indikátoru o aktivitě cca 1 kBq. Ve všech experimentech byl k radioaktivnímu indikátoru přidáván nosič tak, aby celková hmota analytu použitá na jeden experiment byla srovnatelná s množstvím analytu používaném v neaktivních experimentech (řádově jednotky ng analytu). Z tab. 1 je patrné, že v experimentu je hmota radioaktivního indikátoru (10^{-4} až 10^{-2} ng) ve srovnání s hmotou přidávaného nosiče zanedbatelná.

Prostorová distribuce radioaktivně značeného analytu byla studována pomocí *image plate* autoradiografie, tj. bezfilmovou radiografií na desce. Radiogramy byly vyhodnocovány laserovým scannerem Fuji BAS 5000.

Účinnost záchytu, resp. uvolnění byla kvantifikována radiometricky studnovým scintilačním NaI(Tl) detektorem (Minaxi 5000, Packard).

4 VÝSLEDKY A DISKUSE

Tato kapitola stručně shrnuje dosažené výsledky. Diskutována je jednak navržená aparatura i procedura (kap. 4.1), dále jsou v jednotlivých kapitolách (kap. 4.2 až kap. 4.5) komentovány výsledky pro jednotlivé studované analyty v pořadí antimon, bismut, arsen a selen. Jedná se o výsledky optimalizačních studií s AAS detekcí, dále radioindikátorové studie a studie mechanismů. Uvedeny jsou i příklady rutinních aplikací vyvinutých prekoncentračních metod. V případě, že výsledky již byly publikovány, jsou v textu práce pouze stručně shrnuty a je uveden odkaz na příslušné práce, jež jsou přílohami č.1-7 [P1-P7] této práce a jejich seznam je uveden v kap.7. Dosud nepublikovaná data jsou diskutována obšírněji, zejména v kap. 4.3.2 a 4.3.4, dále 4.4.2 a 4.4.3 a rovněž 4.5.2.

4.1 Past integrovaná s multiatomizátorem

Kromě nalezených optimálních podmínek pro záchyt, uvolnění a atomizaci As, Sb, Bi a Se na křemenném povrchu a vyvinutých analytických metod prekoncentrace Sb a Bi s následným stanovením AAS v konvenčním křemenném atomizátoru pro rutinní využití, které jsou diskutovány níže, je výstupem této disertační práce i vlastní aparatura popsaná na obr.2 v kapitole 3.1.3. Jedná se o spojení pasti a multiatomizátoru v jeden kompaktní celek, přičemž vyhřívání pasti je řešeno nezávisle na vyhřívání optického ramene multiatomizátoru (dále jen past integrovaná s multiatomizátorem). Toto uspořádání aparatury je nejvhodnější ze všech testovaných díky své jednoduchosti a univerzální použitelnosti pro studium prekoncentrace všech hydridotvorných prvků.

Předchozí studovaná uspořádání byla tato: (1) vyhřívaná křemenná past (délka 40 mm, vnitřní průměr 2 mm, vnější průměr 3 mm) oddělená od přívodního ramene multiatomizátoru spojkou z Tygonu o délce 5 mm a vnitřním průměru 3 mm a (2) vyhřívaná křemenná past stejných parametrů přitavená k přívodnímu rameni multiatomizátoru délky 48 mm. V obou případech (1) i (2) vznikal mezi pastí a optickým ramenem multiatomizátoru výrazný teplotní gradient (teplotní minimum), který negativně ovlivňoval opakovatelnost měření (paměťové efekty) a snižoval účinnost prekoncentrace[107].

Teprve uspořádání aparatury použité v této práci a zobrazené na obr.2 v maximální možné míře eliminuje vznik teplotního gradientu mezi pastí a atomizátorem, neboť

vyhřívaná past je v těsném sousedství optického ramene. Uspořádání pasti integrované s atomizátorem je blíže popsáno v [P1] a je rovněž předmětem patentové přihlášky [P2].

Originální je i prekoncentrační procedura popsaná v kapitole 3.2.1 využívající nadstechiometrické množství kyslíku pro odstranění (spálení) vodíku v kroku záchytu analytu. Naše předběžné experimenty[107] ukázaly, že ke ztrátám analytu dochází právě při záchytu a to kvůli přítomnosti vodíku. Vodík je nezbytný pro účinné uvolnění analytu ve druhém kroku prekoncentrační procedury, avšak v kroku záchytu působí přítomnost H_2 vznikajícího při rozkladu redukčního činidla ($NaBH_4$) v kyselém prostředí rušivě. Proto v předešlých pracích[85] činila prekoncentrační účinnost maximálně 70 %.

Přítomnost vodíku v kroku záchytu, jakožto vedlejšího produktu chemické redukce analytu na příslušný hydrid, je nevyhnutelná, po jeho odstranění účinnost záchytu analytu výrazně vzroste. Odstranění nežádoucího vodíku spálením v stechiometrickém nadbytku kyslíku se jeví jako nejjednodušší řešení.

Přivádění kyslíku do pasti úzkou kapilárou, zatímco ostatní plyny (Ar s hydridem analytu a H_2 z rozkladu $NaBH_4$) proudí koncentrickou teflonovou trubičkou kolem této kapiláry, umožňuje díky stabilní pozici hořícího kyslíko-vodíkového plamínku lépe kontrolovat průběh experimentů pro teploty pasti pod 400 °C i dosáhnout lepší opakovatelnosti měření.

Použití multiatomizátoru s vodíkem jako vnějším plynem (viz kapitola 3.2.1) umožňuje jednoduché a simultánní monitorování nezachycené frakce analytu v kroku záchytu (průnikového signálu) pomocí AAS. Vodík jako vnější plyn se používá, neboť v optickém rameni je pro atomizaci a detekci průnikového signálu AAS nutné zajistit podmínky stechiometrického nadbytku vodíku vůči kyslíku, tj. poměr přesně opačný než v přívodním rameni.

Bylo prokázáno (viz kap. 4.3.4), že pro uvolnění analytu ve druhém kroku procedury je přítomnost vodíku naopak nezbytná. Důvodem pro dokonalé odstranění kyslíku před detekcí signálu As a Se (viz kap. 3.2.1) je fakt, že přítomnost i malého množství O_2 způsobuje na čáře As (193,7 nm) i Se (196,0 nm) za podmínek atomizace výraznou nespecifickou absorpci. Proto je vždy nutné při experimentech s As a Se vypnout 5 s před čtením signálu proud O_2 do aparatury. Za tuto dobu 5 s dojde k odstranění veškerého kyslíku z aparatury nosným plynem.

Naformátováno

Čistící krok slouží pro odstranění analytu, který by za podmínek uvolnění mimo optimum (např. příliš nízká teplota uvolnění) zůstal zachycen v pasti. Křemenný povrch je pak díky tomu čistý pro další experiment. Navíc díky znalosti velikosti signálu během čistícího kroku (spolu se znalostí průnikového signálu během kroku záchytu) lze provést bilanci účinnosti prekoncentrační procedury.

Ke kvantifikaci účinnosti jednotlivých dílčích kroků prekoncentrační procedury je nutné znát ještě příslušné (referentní) signály naměřené v režimu přímého přenosu. Účinnost daného kroku prekoncentrační procedury je pak dána poměrem plochy píku v prekoncentračním režimu ku ploše píku v režimu přímého přenosu hydridu analytu z generátoru do atomizátoru. Procentuálně tak lze vyjádřit frakci analytu nezachycenou v kroku záchytu $E_{průnik}$ (z průnikového signálu), frakci zachycenou na křemenném povrchu v kroku záchytu $E_{záchyt}$ a frakci uvolněnou během volatilizačního $E_{volatilizace}$, resp. čistícího $E_{čištění}$ kroku. Je zřejmé, že platí následující rovnice:

$$E_{záchyt} = E_{volatilizace} + E_{čištění}$$

$$E_{průnik} + E_{volatilizace} + E_{čištění} = 100\ \%$$

Optimální podmínky prekoncentrace jsou takové, kdy se $E_{průnik}$ a $E_{čištění}$ blíží nule.

4.2 Antimon

4.2.1 Optimalizace podmínek záchytu a uvolnění

Pro prekoncentraci Sb byly nalezeny tyto optimální podmínky: teplota záchytu 400 až 950 °C, teplota uvolnění 800-950 °C, průtok vodíku v kroku uvolnění 75 ml min^{-1}. Ztráty analytu během kroku záchytu (průnikový signál, viz kap. 3.2.1 a 4.1) nebyly detekcí pomocí AAS pozorovány. Účinnost prekoncentrace dosáhla 100 %. Stabilita analytu zachyceného na křemenném povrchu byla testována při teplotě 870 °C jak bez přítomnosti kyslíku v plynné fázi, tak i v jeho přítomnosti. V obou případech nedocházelo ke ztrátám analytu ani po 120 s. Výsledky optimalizační studie jsou podrobněji diskutovány v [P3]. Z uvedených výsledků plyne, že záchyt i uvolnění lze provádět beze ztrát při teplotě použité k atomizaci, tj. 900 °C. Na tom je založeno výrazné zjednodušení celé procedury popsané níže.

4.2.2 *In-situ* prekoncentrace pro rutinní analýzu

Díky shodné teplotě záchytu, uvolnění a atomizace lze provádět prekoncentraci bez použití pasti, tj. přímo v optickém rameni konvenčního atomizátoru (*in-situ*). Pro dobu prekoncentrace 300 s byla nalezena mez detekce (LOD) (3 s) 2,8 pg ml^{-1} a mez stanovitelnosti (LOQ) (10 s) 9,4 pg ml^{-1} Sb. LOD a LOQ nalezené pro *in-situ* prekoncentraci v QTA jsou srovnatelné s hodnotami nalezenými pro prekoncentraci v pasti integrované s multiatomizátorem. Pro delší prekoncentrační doby (300 s) je detekční limit řízen (dán) signálem slepého pokusu, resp. obsahem analytu v chemikáliích (redukčním činidle a použitých kyselinách). Signál slepého pokusu není pro delší prekoncentrační doby zanedbatelný. Snížením kontaminace chemikálií analytem lze dosáhnout nižších detekčních limitů, to však nebylo cílem této práce.

Naformátováno

Použitelnost *in-situ* prekoncentrace antimonu v QTA s následnou detekcí pomocí AAS pro rutinní analýzy, včetně vlivu ostatních hydridotvorných prvků a rtuti jako interferentů na stanovení antimonu, je podrobně diskutována v článku [P4]. Zachycené množství antimonu jako analytu bylo 2 ng Sb. Nejvýznamnější interferenty jsou bismut a cín (s analytem spoluzachyceny 2 µg interferentu) a arsen (s analytem spoluzachyceno 20 µg As), které v tomto množství způsobují potlačení signálu analytu o více než 10 %. Tento nový přístup k prekoncentraci v QTA je předmětem patentové přihlášky [P5].

Správnost výsledků získaných touto metodou byla demonstrována stanovením obsahu Sb v referenčním materiálu stopové prvky ve vodě. Certifikovaná hodnota činila 0,54 ± 0,19 ng ml^{-1} Sb, stanovená hodnota byla 0,39 ± 0,01 ng ml^{-1} Sb.

4.3 Bismut

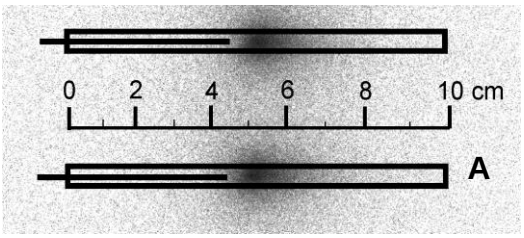
4.3.1 Optimalizace podmínek záchytu a uvolnění

V případě Bi byly nalezeny tyto optimální podmínky: teplota záchytu 200-950 °C, teplota uvolnění 800-950 °C, průtoková rychlost vodíku v kroku uvolnění 100 ml min^{-1}. Ztráty analytu během kroku záchytu nebyly detekcí pomocí AAS pozorovány, účinnost prekoncentrace dosáhla 100 % (viz kap. 3.2.1 pro stanovení prekoncentrační účinnosti). Při testování stability zachyceného bismutu na křemenném povrchu nebyly pozorovány ztráty analytu při 870 °C ani po 120 s a v nepřítomnosti kyslíku, což svědčí o silné

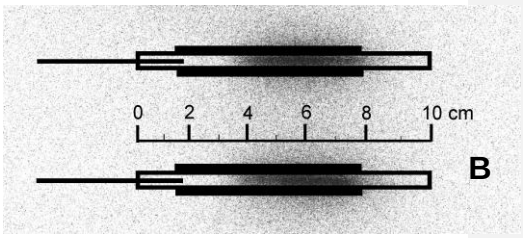
interakci zachycené formy analytu s povrchem křemenného skla. Výsledky optimalizační studie jsou blíže diskutovány v [P3].

4.3.2 Radioindikátorová studie

V případě bismutu byla radiometricky nalezena účinnost záchytu (96±5)% (n=5), účinnost uvolnění byla (98±2)% (n=5). Autoradiografií bylo prokázáno, že s rostoucí teplotou záchytu se zóna zachyceného analytu rozšiřuje z cca 1,5 cm v nevyhříváné pasti (obr. 3A) na asi 4 cm v pasti vyhřáté na 900 °C (obr. 3B), přičemž délka přívodního ramene sloužícího k prekoncentraci činí 10 cm. Účinnost záchytu však zůstává zachována kolem 100 % v celém studovaném teplotním rozsahu.



Obr. 3 A – autoradiografie zachyceného Bi v nevyhřívané pasti (n=2)



Obr. 3 B – autoradiografie zachyceného Bi v pasti při 900 °C (n=2)

4.3.3 *In-situ* prekoncentrace pro rutinní analýzu

Z výsledků optimalizační studie vyplývá, že prekoncentrační proceduru lze stejně jako v případě antimonu zjednodušit, neboť záchyt i uvolnění lze provádět při stejné teplotě, zvolena byla teplota 900 °C. Tato teplota je shodná i s teplotou atomizace, proto lze prekoncentraci opět beze ztrát provádět přímo *in-situ* v optickém rameni QTA. Pro dobu prekoncentrace 300 s byly nalezeny hodnoty: LOD (3 s) 3,9 pg ml^{-1} a LOQ (10 s) 12,9 pg ml^{-1} Bi. Hodnoty pro in-situ prekoncentraci v QTA jsou srovnatelné s těmi nalezenými pro prekoncentraci v pasti integrované s multiatomizátorem. Metodika in-situ prekoncentrace bismutu v QTA je podrobně diskutována v článku [P6] a také v patentové přihlášce [P7].

V rámci validace metody in-situ prekoncentrace bismutu v QTA byl studován vliv 8 interferentů na stanovení bismutu touto technikou. Jednalo se o další hydridotvorné prvky (As, Sb, Se, Ge, Te, Pb a Sn) a Hg tvořící studené páry. Zachycené množství bismutu jako analytu bylo vždy 2 ng Bi. Metoda jeví značnou odolnost vůči

interferencím, v případě antimonu způsobuje interferenci (potlačení signálu Bi jako analytu o více než 10 %) až 0,2 µg spoluzachyceného Sb. Pro ostatní studované prvky se jejich interference na stanovení Bi projevuje až tehdy, je-li s analytem spoluzachyceno 20 µg interferentu. Bylo nalezeno toto pořadí studovaných interferentů podle klesající závažnosti rušivého vlivu:

Sb >> Sn ~ Se >> As ~ Ge ~ Pb ~ Hg ~ Te

Interference byly studovány v jednokanálovém uspořádání, kdy jsou hydrid analytu a interferentu společně generovány z roztoku. Výhodou je, že toto uspořádání věrně napodobuje interference v reálných vzorcích. Nevýhodou je, že nelze odlišit interference v kapalné fázi od interferencí transportních a atomizačních. Pro studijní účely se tedy často používá tzv. dvoukanálové uspořádání, kdy se hydrid analytu a interferentu generují odděleně. Naše předběžné výsledky[109] s dvoukanálovým uspořádání nasvědčují, že se ve všech případech jedná spíše o interference v kapalné fázi.

4.3.4 Mechanistická studie

Níže popsané experimenty byly provedeny za účelem bližšího pochopení dějů probíhajících v pasti během záchytu a uvolnění analytu. Bismut jako analyt byl vždy kvantitativně zachycen v nevyhřívané pasti ve stechiometrickém nadbytku kyslíku (viz kapitola 3.2.1).

V první sérii experimentů bylo provedeno uvolnění a detekce analytu standardním způsobem: Proud kyslíku byl uzavřen, bylo zapnuto vyhřívání přívodního ramene maximálním proudem 7 A, po 60 s bylo dosaženo rovnovážné teploty přívodního ramene 870 °C a zachycený analyt byl uvolněn dávkováním 100 ml min^{-1} H_2. Analyt byl uvolněn kvantitativně, šířka píku v polovině výšky (FWHM) činila cca 0,6 s.

Ve druhé sérii experimentů bylo testováno, zda je možné zachycený bismut uvolnit pouze zvýšením teploty v nepřítomnosti vodíku. Po zachycení analytu bylo spuštěno čtení spektrometru, vypnut proud kyslíku a zapnuto vyhřívání pasti na teplotu 870 °C. Ani po uplynutí 90 s nebyl pozorován žádný signál analytu. Po přídavku 100 ml min^{-1} H_2 do vyhřátého přívodního ramene byl pozorován stejný signál analytu jako při standardní proceduře v první experimentální sérii, (FWHM opět cca 0,6 s).

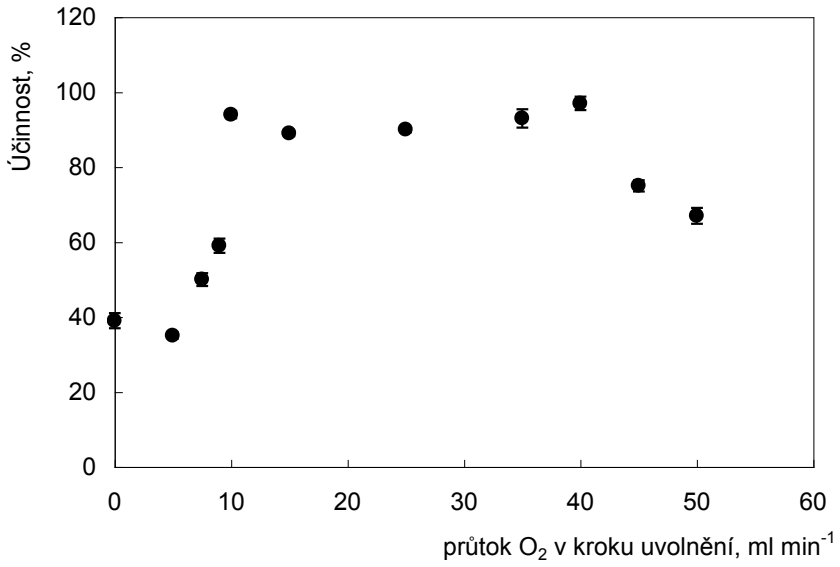
Ve třetí sérii experimentů bylo ověřováno, že uvolnění analytu je způsobeno skutečně přítomností vodíku a ne zvýšením průtoku plynů v aparatuře. Po zachycení

analytu bylo spuštěno čtení spektrometru, vypnut proud kyslíku a zapnuto vyhřívání pasti na 870 °C. Po 60 s bylo k 75 ml min^{-1} nosného Ar, který vždy proudí aparaturou po dobu celé procedury, přidáno 100 ml min^{-1} Ar (tj. stejný průtok jako H_2 při standardní proceduře). Ani v tomto případě nebyl pozorován žádný signál. Nahrazením 100 ml min^{-1} Ar proudem 100 ml min^{-1} H_2 došlo k 100% uvolnění analytu (FWHM 0,6 s).

Ve čtvrté sérii experimentů byl po zachycení analytu v pasti vypnut proud O_2, spuštěno čtení spektrometru a vpuštěn proud 100 ml min^{-1} H_2. Při nevyhřívané pasti (teplota pasti díky hořícímu plamínku cca 100 °C, viz kap. 3.1.3 a 3.2.1) nedochází takto k uvolnění analytu. Poté bylo zapnuto vyhřívání přívodního ramene maximálním proudem 7 A. Asi po 10 s od počátku vyhřívání (tj. při nerovnovážné teplotě pasti cca 400 °C) došlo ke kvantitativnímu uvolnění analytu ve formě širokého píku (FWHM cca 5 s).

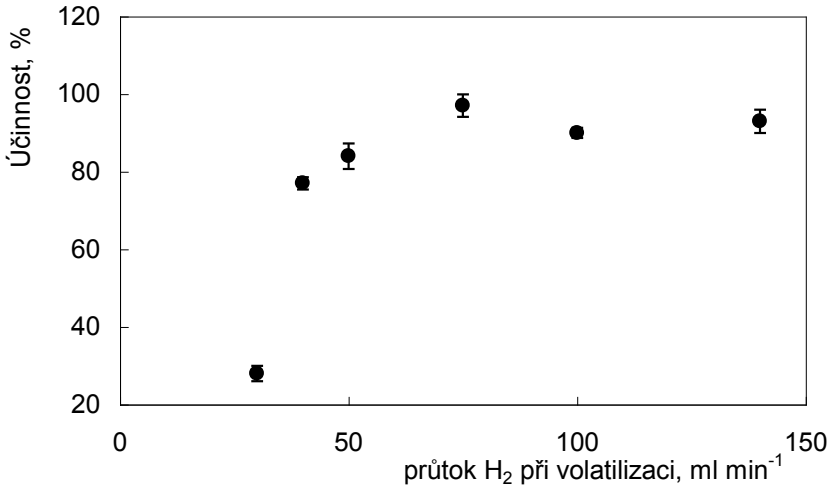
Pátá série experimentů měla za cíl ověřit, zda v přítomnosti zvýšeného množství H radikálů dochází k uvolnění analytu při nižší teplotě. Proud kyslíku (10 ml min^{-1}) nebyl v tomto případě po zachycení analytu na rozdíl od standardních podmínek vypnut a do jeho proudu byl přidán proud 100 ml min^{-1} H_2. Za těchto podmínek (teplota pasti cca 100 °C) došlo k uvolnění 93±5 % (n=3) zachyceného analytu, pološířka píku činila 0,5 s. Bylo-li uvolnění prováděno stejným způsobem za přítomnosti kyslíku a vodíku, avšak při teplotě pasti v kroku uvolnění 318 °C, pak účinnost uvolnění činila 101±3 % (n=3). Pro srovnání, při teplotě pasti v kroku uvolnění 318 °C a v nepřítomnosti kyslíku (tj. pouze dávkováním 100 ml min^{-1} H_2) činila účinnost uvolnění pouze 61±6 % (n=3).

Při teplotě uvolnění 318 °C byl optimalizován potřebný průtok O_2 (obr.4) a H_2 (obr. 5) pro uvolnění zachyceného bismutu. Z těchto grafů je patrné, že k účinnému uvolnění analytu dochází při 318 °C průtokem O_2 minimálně 10 ml min^{-1} a H_2 nejméně 75 ml min^{-1}. Od průtoku kyslíku 5 ml min^{-1} O_2 dochází k prudkému nárůstu účinnosti ze 40 ke 100 %. Kompletního uvolnění je dosaženo pro průtoky 10 - 40 ml min^{-1} O_2. Při průtoku 10 ml $min^{-1}O_2$ a výše dochází v aparatuře (na ústí křemenné kapiláry sloužící k dávkování kyslíku) k zažehnutí kyslíko-vodíkového plamínku. Při nižších průtocích kyslíku není plamínek v aparatuře okem pozorovatelný. S rostoucím průtokem O_2 se hořící plamínek zvětšuje.



Obr. 4 – optimalizace průtoku kyslíku v kroku uvolnění bismutu

záchyt – 75 ml min^{-1} Ar, 10 ml min^{-1} O_2, cca 15 ml min^{-1} H_2 (z $NaBH_4$), past nevyhřáta, uvolnění - 75 ml min^{-1} Ar, 100 ml min^{-1} H_2, teplota pasti 318 °C, vnější vzduch 25 ml min^{-1}



Obr. 5 – optimalizace průtoku vodíku v kroku uvolnění bismutu

záchyt – 75 ml min^{-1} Ar, 10 ml min^{-1} O_2, cca 15 ml min^{-1} H_2 (z $NaBH_4$), past nevyhřáta, uvolnění - 75 ml min^{-1} Ar, 10 ml min^{-1} O_2, teplota pasti 318 °C, vnější vzduch 25 ml min^{-1}

K účinnému uvolnění zachycené formy bismutu dochází tedy za současného působení vysoké teploty (870 °C) a přítomnosti vodíku (100 ml min^{-1} H_2, tj. frakce vodíku v nosném plynu 57 %). K uvolnění analytu dochází pravděpodobně radikálovým mechanismem. Tomu nasvědčuje pozorování, že v přítomnosti vodíku i kyslíku, tj. v případě tvorby velkého množství H radikálů (viz kap. 2.4), dochází k uvolnění analytu při podstatně nižších teplotách než je-li při volatilizaci přítomen pouze vodík bez kyslíku. Podobný trend pozorovali Dědina a Welz[108] při atomizaci hydridu arsenu v křemenném atomizátoru. Při dávkování podstechiometrického množství kyslíku vůči přítomnému vodíku, kdy lze předpokládat zvýšenou tvorbu H radikálů, docházelo k účinné atomizaci arsanu při nižších atomizačních teplotách než v nepřítomnosti kyslíku.

4.4 Arsen

4.4.1 Optimalizace podmínek záchytu a uvolnění

Pro prekoncentraci As byly nalezeny tyto optimální podmínky: teplota záchytu laboratorní až 700 °C, teplota uvolnění 650-800 °C, průtok vodíku v kroku uvolnění 100 ml min^{-1}. Účinnost prekoncentrace měřená AAS byla 50 %. Ztráty analytu během kroku záchytu nebyly detekcí AAS pozorovány. Výsledky optimalizace jsou podrobně uvedeny v [P1].

4.4.2 Radioindikátorová studie

Pro arsen byla radioindikátorovou metodou (kap. 3.2.2 a postup v tab. 3) nalezena účinnost záchytu na křemenném povrchu 93±4 %, po kroku uvolnění zůstalo na křemenném povrchu 4±3 % (n=5) zachyceného analytu.

Tato měření poskytla cennou informaci, že analyt je na křemenném povrchu téměř kvantitativně zachycen a po provedení volatilizace téměř kvantitativně uvolněn. 50% účinnost prekoncentrační procedury pozorovaná AAS měřeními (kap. 4.2.1) by mohla být dána ztrátami analytu mezi krokem záchytu a uvolnění, tj. v době 60 s kdy jsou podmínky záchytu měněny na podmínky uvolnění. Tato hypotéza byla dále ověřována. Spolu s ní bylo testováno, zda vypnutí proudu kyslíku v posledních 5 s 60 s prodlevy mezi krokem záchytu a uvolnění má vliv na ztráty analytu.

Byly provedeny dvě série experimentů s nosičem 1,5 ng ml^{-1} As značeným $^{73,74}As$. V obou sériích byl analyt kvantitativně zachycen (viz 93% účinnost záchytu určená radiometricky, jak bylo popsáno výše) v trubičce z křemenného skla o délce 10 cm, která simulovala přívodní rameno multiatomizátoru (viz kapitola 3.2.2) za podmínek nevyhřívané pasti v stechiometrickém přebytku kyslíku. Podmínky pro záchyt tedy byly stejné jako v tab. 3. Plamínek byl zapálen pomocí zapalovače na začátku generování. Odporová spirálka o délce 6 cm byla situována tak, že kryla křemennou past ve vzdálenosti 1 až 7 cm od přívodu plynů do pasti. Úsek pasti v délce 7-10 cm nebyl krytý topnou spirálkou. Po ukončení kroku záchytu a vypnutí pumpy zvýšena teplota pasti na 800 °C, proud O_2 do pasti nebyl vypnut.

Naformátováno

V první sérii experimentů byl po uplynutí 60 s intervalu potřebného pro dosažení rovnovážné teploty pasti vypnut odporový ohřev pasti a po jejím vychladnutí na laboratorní teplotu i proud kyslíku.

Ve druhé sérii experimentů byl po uplynutí 40 s intervalu od vypnutí pumpy uzavřen přívod kyslíku do pasti. Po uplynutí 60 s od vypnutí pumpy, kdy bylo dosaženo rovnovážné teploty pasti, byl vypnut odporový ohřev pasti a past byla nechána vychladnout na laboratorní teplotu.

Křemenné pasti z obou sérií byly po vychladnutí rozříznuty na dvě části – část krytou odporovou spirálkou v délce 7 cm a část v délce 3 cm, která krytá nebyla. V obou částech bylo odděleně kvantifikováno množství radioaktivního indikátoru.

V první sérii experimentů (n=3) bylo v části pasti kryté topnou spirálkou (úsek 7 cm pasti krytý odporovou topnou spirálou) nalezeno 17±6 % celkové aktivity a v chladnější části pasti 52±9 % celkové aktivity.

Ve druhé sérii experimentů (n=3) bylo v části křemenné pasti kryté spirálkou nalezeno pouze 2,3±6 % celkové aktivity. 45±6 % bylo v části nekryté topnou spirálkou.

Tato pozorování dokazují ztráty zachyceného arsenu za vysoké teploty (800 °C) jak v přítomnosti, tak i v nepřítomnosti O_2, přičemž ztráty zachyceného arsenu v nepřítomnosti kyslíku jsou vyšší. Výsledky nalezené ve druhé sérii experimentů (ztráty As kolem 50 % při vypnutí kyslíku během vyhřívání na 20 s) korelují s výsledky dosaženými detekcí AAS (viz kapitola 4.4.1 a 4.4.3), kdy účinnost záchytu a uvolnění se rovněž pohybovala kolem 50 %. Výsledky s AAS detekcí jsou srovnatelné

s výsledky ze druhé série experimentů, neboť i při experimentech s AAS detekcí je po dosažení rovnovážné volatilizační teploty 800 °C vypnut proud kyslíku na 5 s a až poté je registrován signál spektrometru (viz kap. 3.2.1). Důvodem je nutnost odstranění kyslíku proudem nosného plynu z optické osy spektrometru, neboť kyslík či produkty vznikající při atomizační teplotě 900 °C za přítomnosti kyslíku způsobují na čáře arsenu 193,7 nm nespecifickou absorpci (viz kap. 3.2.1).

Naformátováno

Podle výsledků zjištěných radioindikátorovou studií s použitím křemenných trubiček lze usuzovat, že během 60 s intervalu mezi krokem záchytu a uvolnění, kdy je zvyšována teplota přívodního ramene na 800 °C, může docházet k posunu zachyceného arsenu z přívodního ramene do optického ramene, obdobně jako s rostoucí teplotou dochází k rozšíření zóny zachyceného bismutu v kap. 4.3.2. Analyt se může zachytit v chladnější části optického ramene, která má méně než 800 °C, avšak na druhou stranu je teplota tohoto místa dostatečně vysoká, aby analyt byl odtud ve volatilizačním kroku uvolněn, atomizován a detegován. Pomocí radioaktivního indikátoru však nebyla tato domněnka v křemenném multiatomizátoru ověřována.

4.4.3 Mechanistická studie

Stejně jako v případě Sb a Bi, také pro As byla testována možnost zjednodušení aparatury i pracovního postupu pro rutinní analýzy *in-situ* prekoncentrací. Arsen byl prekoncentrován v optickém rameni QTA vyhřátém na 800 °C podle standardního postupu (tab. 3). Teplota záchytu, uvolnění i atomizace tedy činila 800 °C. V atomizačním kroku nebyl signál analytu vůbec detegován. Použitá teplota záchytu byla sice o cca 100 °C vyšší než nalezené optimum (viz kap. 4.4.1), avšak nulový signál nalezený za těchto podmínek byl překvapivý. Proto byla blíže studována hypotéza, že analyt je za daných experimentálních podmínek v optickém rameni zachycen i uvolněn, nedochází však k jeho atomizaci. Proto byl podrobně studován vliv kyslíku v atomizačním kroku na signál analytu.

Pro tento účel bylo provedeno několik sérií experimentů s využitím různých uspořádání aparatury. K měření byl použit jak multiatomizátor (MMQTA), tak i konvenční křemenný atomizátor (QTA). V obou atomizátorech byla prekoncentrace prováděna jednak v uspořádání *in-atomizer*, tj. v pasti integrované s atomizátorem (MMQTA-past) a v přívodním rameni QTA (QTA-past). Dále byla studována i prekoncentrace *in-situ* v optickém rameni a to jak multiatomizátoru (MMQTA-*in situ*),

tak konvenčního křemenného atomizátoru (QTA-*in situ*). V případě prekoncentrace *in-situ* byly všechny plyny vedeny do optického ramene pomocí křemenné kapiláry, jejíž konec byl zaveden do místa spojení přívodního a optického ramene. Toto uspořádání zajišťovalo, že k hoření plamínku a záchytu analytu skutečně docházelo v optickém rameni atomizátoru. V obou krocích prekoncentrační procedury byl použit průtok 75 ml min^{-1} nosného Ar. V kroku záchytu bylo vždy použito 15 ml min^{-1} O_2 a vznikalo 15 ml min^{-1} H_2 z rozkladu $NaBH_4$. Pro uvolnění analytu bylo vždy použito 100 ml min^{-1} H_2. Výsledky experimentů jsou uvedeny v tab. 5.

Tab. 5 Prekoncentrační účinnost As v závislosti na různém uspořádání aparatury

uspořádání aparatury	podmínky záchytu	podmínky uvolnění a atomizace	účinnost (%)
MMQTA-past	25 ml min^{-1} vnější vzduch, past nevyhřívána	25 ml min^{-1} vnější vzduch, past vyhřívána na 900 °C	49 ± 1,5
MMQTA-*in situ* 900 °C	25 ml min^{-1} vnější vzduch	25 ml min^{-1} vnější vzduch	39 ± 2,7
MMQTA-*in situ* 900 °C	25 ml min^{-1} vnější argon	25 ml min^{-1} vnější argon	3 ± 5
MMQTA-*in situ* 900 °C	25 ml min^{-1} vnější argon	25 ml min^{-1} vnější argon 15 ml min^{-1} O_2	6 ± 2,3
QTA-past	past nevyhřívána	past vyhřívána na 900 °C	ND
QTA-*in situ* 900 °C			ND
QTA-*in situ* 800 °C			ND

nejistota účinnosti vyjádřená jako směrodatná odchylka (n = 5), ND – signál nedetegován
nosný plyn vždy 75 ml min^{-1} Ar, v kroku záchytu vždy 15 ml min^{-1} O_2 a 15 ml min^{-1} H_2 (BH_4)
v kroku uvolnění vždy 100 ml min^{-1} H_2

Z výsledků uvedených v tab. 5 je zřejmé, že pro účinnou atomizaci volatilizované formy arsenu je zapotřebí dostatečný a homogenní přísun kyslíku do optické osy. V QTA nebyl po prekoncentraci detegován signál vůbec, i když prekoncentrace byla jinak provedena v přívodním rameni za stejných podmínek jako v přívodním rameni multiatomizátoru. Záměna vnějšího vzduchu jako zdroje kyslíku do optického ramene za argon má v jinak stejném uspořádání aparatury za následek významné snížení signálu z cca 40 % na 3 %. Dávkování kyslíku do optického ramene skrz přívodní rameno v kroku volatilizace a atomizace nezpůsobilo očekávaný nárůst signálu. Kyslík

evidentně ihned zreagoval (shořel) v dávkovaném nadbytku vodíku. Je-li kyslík, resp. vzduch do aparatury zaváděn jako vnější plyn, je jeho působení účinnější, jelikož jeho distribuce podél optického ramene je homogennější.

Je-li záchyt prováděn v nevyhřívaném přívodním rameni multiatomizátoru, činí účinnost prekoncentrace cca 50 %, záchyt při 900 °C v optické ose má za následek mírný pokles účinnosti na cca 40 %. Negativní vliv vysoké teploty na záchyt analytu však může být v tomto případě kompenzován větší plochou křemenného povrchu, na které může docházet k záchytu.

Z provedených experimentů jasně vyplývá, že pro atomizaci volatilizované formy As po prekoncentraci je zapotřebí multiatomizátor pracující ve standardním režimu, t.j. se vzduchem jako vnějším plynem. Jinými slovy, pro atomizaci zachycené a posléze uvolněné formy As je zapotřebí kyslík obsažený ve vzduchu jako vnějším plynu. Naopak, antimon a bismut pro atomizaci svých uvolněných prekoncentrovaných forem kyslík nepotřebují, resp. případná potřeba kyslíku pro atomizaci je oproti arsenu řádově nižší, takže pro účinnou atomizaci Sb a Bi po prekoncentraci poskytuje množství kyslíku prostupující do atomizátoru difúzí z okrajů optického ramene. Proto lze pro prekoncentraci Sb a Bi používat QTA (viz kap. 4.2.2 a 4.3.3).

4.5 Selen

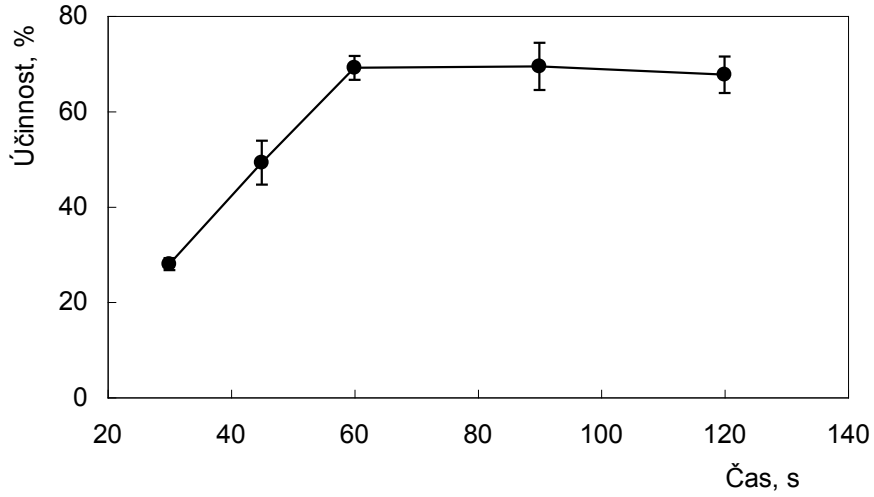
4.5.1 Optimalizace podmínek záchytu a uvolnění

V případě Se byly nalezeny tyto optimální podmínky: teplota záchytu od laboratorní až po 300 °C, teplota uvolnění 550-650 °C, průtoková rychlost vodíku v kroku uvolnění 50 ml min^{-1}. Účinnost prekoncentrace se pohybovala kolem 70 %. Ke ztrátám analytu dochází během prekoncentrační procedury jednak v kroku záchytu (cca 15-20% průnikový signál pozorovatelný díky použití multiatomizátoru s vodíkem jako vnějším plynem, viz kap. 3.2.1), jednak v prodlevě mezi krokem záchytu a uvolnění analytu (cca 15 %). Příčina ztrát zachyceného selenu mezi krokem záchytu a uvolněním je stejná jako v případě arsenu (viz kap. 4.4.2) a je diskutována níže (viz kap. 4.5.2.). Výsledky optimalizace jsou podrobně rozebrány v [P1].

4.5.2 Mechanistická studie

AAS měřeními byla testována stabilita zachycené formy selenu na křemenném povrchu a to jak v přítomnosti kyslíku v nosném plynu, tak i v jeho nepřítomnosti. Selen byl vždy zachycen v nevyhřívané pasti ve stechiometrickém nadbytku kyslíku vůči vodíku podle postupu (krok záchytu) v tab. 3.

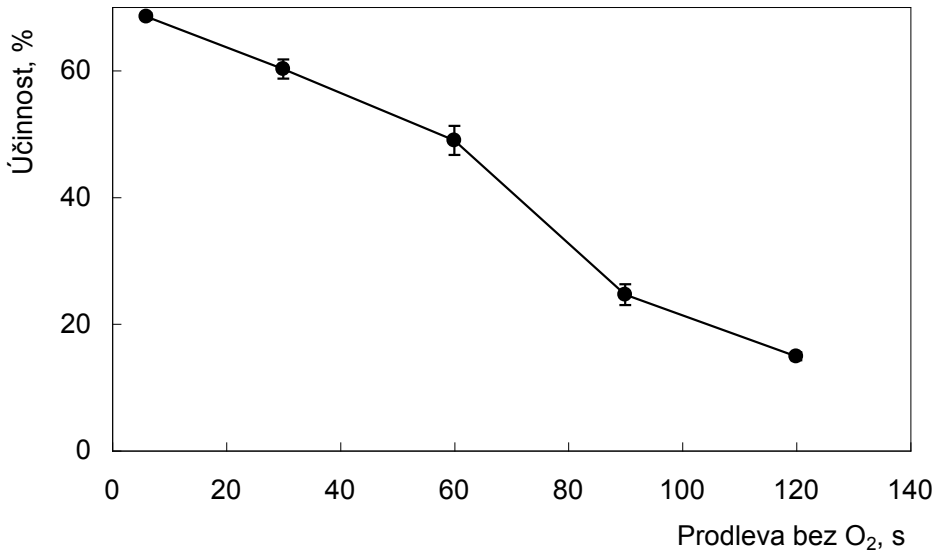
V první sérii experimentů (za přítomnosti kyslíku) byla po ukončení kroku záchytu vypnuta pumpa a zapnuto vyhřívání pasti, tak aby bylo dosaženo rovnovážné teploty pasti 570 °C. Analyt byl volatilizován v intervalu 30-120 s od zapnutí vyhřívání pasti dávkováním 50 ml min^{-1} H_2, přičemž proud O_2 byl vypnut vždy 5 s před čtením signálu. Bezeztrátovost zachyceného analytu v přítomnosti kyslíku ukazuje graf na obr. 6. Z grafu je zřejmé, že volatilizační teplota nižší než 570 °C není dostatečná pro účinné uvolnění analytu. V časovém intervalu 30-60 s teplota pasti narůstá (nerovnovážný stav) a účinnost uvolnění se zvyšuje. Po 60 s je dosaženo rovnovážné teploty pasti 570 °C. Za přítomnosti kyslíku nedochází v intervalu 60-120 s k signifikantnímu poklesu účinnosti, tj. ke ztrátám zachyceného selenu jako analytu. Z toho lze usuzovat, že při teplotě 570 °C je analyt za přítomnosti kyslíku pevně vázán na křemenném povrchu.



Obr.6– stabilita zachyceného Se v přítomnosti kyslíku

záchyt – 75 ml min^{-1} Ar, 10 ml min^{-1} O_2, cca 15 ml min^{-1} H_2 (z $NaBH_4$), past nevyhřáta, uvolnění - 75 ml min^{-1} Ar, 50 ml min^{-1} H_2, rovnovážná teplota pasti 570 °C (od 60 s), vnější vzduch 25 ml min^{-1}

Ve druhé sérii experimentů (v nepřítomnosti O_2) byl selen opět zachycen v nevyhřívané pasti ve stechiometrickém nadbytku O_2 vůči H_2. Po ukončení kroku záchytu byla vypnuta pumpa a zapnuto vyhřívání pasti. Po 60 s od zapnutí vyhřívání bylo dosaženo rovnovážné teploty pasti 570 °C. Poté byl vypnut přívod O_2 a zachycený analyt byl po prodlevě 5-120 s volatilizován dávkováním 50 ml min^{-1} H_2. Graf na obr. 7 ukazuje, že ke ztrátám zachyceného Se při teplotě 570 °C dochází, ztráty analytu se při teplotě 570 °C zvyšují s prodlužující se dobou nepřítomnosti O_2 v aparatuře.



Obr. 7- stabilita zachyceného Se v nepřítomnosti kyslíku

záchyt – 75 ml min^{-1} Ar, 10 ml min^{-1} O_2, cca 15 ml min^{-1} H_2 (z $NaBH_4$), past nevyhřáta, uvolnění - 75 ml min^{-1} Ar, 50 ml min^{-1} H_2, teplota přívodního ramene 570 °C, vnější vzduch 25 ml min^{-1}

Ztráty analytu za zvýšené teploty a v nepřítomnosti kyslíku jsou nežádoucí, neboť při experimentech s AAS detekcí je po dosažení rovnovážné volatilizační teploty 570 °C nutné vypnout proud kyslíku minimálně na 5 s a až poté registrovat signál. Důvodem je odstranění kyslíku proudem nosného plynu z optické osy atomového absorpčního spektrometru, neboť kyslík na čáře selenu 196,0 nm absorbuje záření (viz kap. 3.2.1 a 4.4.2).

5 ZÁVĚR

Předkládaná práce je souborem čtyř původních vědeckých prací publikovaných v recenzovaných mezinárodních časopisech zabývajících se analytickou atomovou spektrometrií a tří patentových přihlášek podaných u Úřadu průmyslového vlastnictví ČR, další výsledky jsou připravovány k publikaci. Výsledky práce byly dále prezentovány formou 22 příspěvků (z toho 6 zvaných přednášek, 11 orálních sdělení a 5 posterových sdělení) na celkem 9 mezinárodních a 9 tuzemských či regionálních konferencích.

Hlavními výstupy práce jsou:

1) nový přístup k prekoncentraci hydridotvorných prvků v křemenných atomizátorech založený na záchytu analytu v kyslíkové atmosféře
2) konstrukce kompaktního spojení pasti integrované s multiatomizátorem
3) optimalizované podmínky záchytu, uvolnění a atomizace všech čtyř studovaných analytů – As, Sb, Bi a Se
4) vyvinutí a validace jednoduchých metod prekoncentrace Sb a Bi v konvenčním křemenném atomizátoru pro rutinní použití
5) poznatky o mechanismech dějů při záchytu a uvolnění analytu

Ad 1)

Jedinečnost nově navržené prekoncentrační procedury spočívá v dávkování kyslíku v kroku záchytu v množství nadstechiometrickém vůči vodíku. Odstranění vodíku eliminuje ztráty při záchytu. Přívod kyslíku kapilárou umožňuje účinné odstranění vodíku spálením v plamínku i při nízkých teplotách okolního křemenného povrchu (cca 100 °C).

Ad 2)

Výhodou navrženého uspořádání pasti integrované s multiatomizátorem je jeho univerzálnost. V tomto uspořádání s nezávislým vyhříváním pasti lze studovat prekoncentraci jakéhokoli hydridotvorného prvku v širokém intervalu teplot 100 až 1100 °C (pro záchyt i uvolnění), přičemž atomizační podmínky jsou kontrolovány nezávisle a mohou být udržovány na optimální hodnotě. Konstrukce multiatomizátoru

umožňuje přivádět do optické osy další plyn či jejich směs. S použitím vodíku tak lze monitorovat ztráty analytu v pasti během kroku záchytu. Použití vzduchu či kyslíku usnadňuje atomizaci formy analytu uvolněné z pasti.

Ad 3)

Záchyt a uvolnění As, Sb, Bi a Se byly studovány v uspořádání pasti integrované s multiatomizátorem. Byly nalezeny optimální podmínky pro prekoncentraci každého ze studovaných analytů – teplota křemenného povrchu pro záchyt i uvolnění analytu a obsah vodíku v nosném plynu pro účinné uvolnění zachycené formy analytu. Účinnost prekoncentrační procedury pro Sb a Bi činí 100 %, pro As 50 % a pro Se 70 %.

Ad 4)

Získané znalosti umožnily zjednodušit aparaturu i proceduru pro prekoncentraci Sb a Bi. Pro prekoncentraci není třeba používat speciální past ani multiatomizátor, ale tato se provádí přímo v optickém rameni konvenčního křemenného atomizátoru. Děje záchytu, uvolnění a atomizace analytu probíhají při stejné teplotě a jsou kontrolovány pouze složením plynné fáze. I v tomto jednoduchém uspořádání aparatury je dosaženo 100% prekoncentrační účinnosti. Vyvinuté metody umožňují stanovení Sb a Bi s detekčním limitem 2,8 pg ml^{-1}, resp. 3,9 pg ml^{-1} (doba prekoncentrace 300 s). Dosažené detekční limity by bylo možné ještě snížit, jejich hodnota je limitována kontaminací použitých chemikálií analytem - jak je diskutováno v kap.4.2.2.

Ad 5)

Vzhledem k tomu, že všechny čtyři hydridotvorné prvky – As, Sb, Bi a Se byly studovány ve stejném experimentálním uspořádání, lze dosažené výsledky vzájemně porovnávat a vyvozovat z nich závěry. Studované prvky lze podle podobnosti v chování při záchytu, uvolnění a atomizaci rozdělit do dvou skupin. První skupinu tvoří As a Se, které lze charakterizovat jako více těkavé analyty, které mají v porovnání s Bi a Sb nižší teplotní optima pro záchyt i uvolnění. U těchto dvou těkavějších analytů dochází rovněž za zvýšené teploty ke ztrátám mezi krokem záchytu a uvolnění. U arsenu i v přítomnosti kyslíku, u selenu pouze v nepřítomnosti kyslíku. Druhou skupinu pak tvoří Sb a Bi, jejichž zachycené formy jsou teplotně daleko stálejší a to i v nepřítomnosti kyslíku.

Body varu[110] elementární formy prvků první skupiny leží v rozmezí 600-700 °C, body varu jejich oxidů (As_2O_3 a SeO_2) se pohybují kolem 400 °C. U prvků druhé skupiny leží body varu jak elementární formy, tak jejich oxidů (Sb_2O_3 a Bi_2O_3) podstatně výše, nad teplotou 1500 °C. Srovnání bodů varu je hrubým měřítkem chování analytu, experimentální výsledky však s těmito údaji korelují. Podrobnější poznatky o mechanismech dějů během prekoncentrace lze získat také radiometrickými měřeními nebo pomocí termodynamických výpočtů. Těmito výpočty lze získat rovnovážné složení vícesložkového a vícefázového systému, neumožňují však vzít v úvahu interakci analytu s křemenným povrchem. Dalším úskalím těchto termodynamických výpočtů je, kromě nemožnosti kalkulace s interakcí analyt-křemenný povrch, že výsledkem je rovnovážné složení. Pokud by nastal případ, kdy by reakce probíhající v aparatuře byla natolik pomalá, že by nedošlo k ustanovení rovnováhy, pak by interpretace dějů na základě výpočtu byla chybná. Přesto mohou tyto výpočty o dějích v aparatuře mnohé napovědět. Takové výpočty, rovněž bez možnosti vzít v potaz interakci analytu s povrchem prekoncentračního zařízení, byly autorem provedeny pro děje probíhající při prekoncentraci Sb a Bi na molybdenovém pásku[69]. Výpočty byly provedeny i pro experimentální podmínky používané v této práci, tj. záchyt a uvolnění As, Sb, Bi a Se. Výsledky však nakonec nebyly do této disertační práce zařazeny, na jejich interpretaci a porovnání s dalšími experimentálními daty se dále pracuje.

Použití radioaktivních indikátorů Bi a As potvrdilo 100% účinnost celé prekoncentrační procedury, tj. jak záchytu, tak i uvolnění pro Bi. V případě As použití radioaktivního indikátoru umožnilo identifikovat krok prekoncentrační procedury, ve kterém docházelo ke ztrátám analytu. Použití radioaktivních indikátorů rovněž umožnilo vizualizaci distribuce analytu v aparatuře během záchytu a uvolnění. Takové informace nelze měřeními AAS získat. Z radioindikátorové studie lze částečně usuzovat na mechanismus a podstatu dějů probíhajících při prekoncentraci v aparatuře. Oba analyty studované pomocí radioaktivních indikátorů (Bi, As) se v aparatuře zachycovaly v těsné blízkosti přívodní křemenné kapiláry pro kyslík. Účinnost záchytu byla signifikantně větší v porovnání se záchytem analytu na křemenném povrchu v nepřítomnosti kyslíku, resp. hořícího plamínku. Z toho lze usuzovat, že v hořícím kyslíko-vodíkovém plamínku dochází ke konverzi hydridu analytu na jeho jinou formu, pravděpodobně oxid(y), které jsou na křemenném povrchu účinně zachyceny. Stejné

výsledky, tedy že analyt je za podmínek záchytu přítomen jako oxid, poskytují i termodynamické modely.

Přesná identifikace zachycené a uvolňované formy analytu by vyžadovala použití hmotnostní spektrometrie jako detekční techniky a přesahuje rámec této práce. Nicméně, žádná z provedených pozorování nejsou v rozporu s teorií, že analyt je na křemenném povrchu po působení kyslíko-vodíkového plamínku zachycen jako oxid. K uvolnění analytu dochází spolupůsobením vodíku a vysoké teploty křemenného povrchu, volatilizace se děje radikálovým mechanismem. Uvolněný analyt je schopen se znovu (alespoň částečně) zachytit na chladnějších částech aparatury. Tento jev byl pozorován v uspořádání aparatury, kdy křemenná past nebyla integrální součástí přívodního ramene křemenného atomizátoru.

Volatilizovaná forma antimonu a bismutu je buď schopná termické atomizace při 900 °C, či se přímo jedná o volné atomy analytu, neboť analyt lze po prekoncentraci detegovat v konvenčním křemenném atomizátoru vyhřátém na 900 °C. V případě arsenu je po jeho prekoncentraci k atomizaci nutno použít multiatomizátor, v konvenčním atomizátoru k atomizaci a detekci signálu při 900 °C nedochází. Z toho lze usuzovat, že prekoncentrovaný arsen je volatilizován v atmosféře bohaté na vodík nejspíše ve formě n-meru arsenových atomů, které jsou atomizovány v prostředí vysoké koncentrace H radikálů v multiatomizátoru.

Fakt, že analyt lze po zvýšení množství H radikálů v aparatuře účinně volatilizovat při nižší volatilizační teplotě, jak bylo ukázáno v případě bismutu (kap. 4.3.4), naznačuje možnou cestu eliminace ztrát As a Se během vyhřívání pasti na volatilizační teplotu. Takto by bylo možné zamezit ztrátám analytu během 60 s intervalu, který je při odporovém vyhřívání přívodního ramene potřebný k dosažení požadované rovnovážné volatilizační teploty (800 °C pro As, resp. 570 °C pro Se).

6 POUŽITÁ LITERATURA

1. Welz, B.; Sperling, M.: *Atomic Absorption spectrometry*. Wiley-VCH, Weinheim (1998).

2. Welz, B.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; et al.: *High-Resolution Continuum Source AAS*. Wiley-VCH, Weinheim (2005).

3. Welz, B.; Borges, D. L.; Lepri, F. G.; et al.: High-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry - An analytical and diagnostic tool for trace analysis. *Spectrochim. Acta B* **62**, 873-883 (2007).

4. Welz, B.; Vale, M.; Borges, D. L.; et al.: Progress in direct solid sampling analysis using line source and high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **389**, 2085-2095 (2007).

5. Borges, D. L.; da Silva, A. F.; Welz, B.; et al.: Determination of lead in biological samples by high-resolution continuum source graphite furnace atomic absorption spectrometry with direct solid sampling. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **21**, 763-769 (2006).

6. Heitmann, U.; Welz, B.; Borges, D. L.; et al.: Feasibility of peak volume, side pixel and multiple peak registration in high-resolution continuum source atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta B* **62**, 1222-1230 (2007).

7. Huang, M. D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; et al.: Determination of halogens via molecules in the air-acetylene flame using high-resolution continuum source absorption spectrometry: Part I. Fluorine. *Spectrochim. Acta B* **61**, 572-578 (2006).

8. Huang, M. D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; et al.: Determination of halogens via molecules in the air-acetylene flame using high-resolution continuum source absorption spectrometry, Part II: Chlorine. *Spectrochim. Acta B* **61**, 959-964 (2006).

9. Huang, M. D.; Becker-Ross, H.; Florek, S.; et al.: High-resolution continuum source electrothermal absorption spectrometry of AlBr and CaBr for the determination of bromine. *Spectrochim. Acta B* **63**, 566-570 (2008).

10. Dessuy, M. B.; Vale, M. G.; Lepri, F. G.; et al.: Investigation of phosphorus atomization using high-resolution continuum source electrothermal atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta B* **62**, 429-434 (2007).

11. Dědina, J.; Tsalev, D. L.: *Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry*. Chichester, Wiley and Sons (1995).

12. Laborda, F.; Bolea, E.; Castillo, J.: Electrochemical hydride generation as a sample-introduction technique in atomic spectrometry: fundamentals, interferences, and applications. *Anal. Bioanal. Chem.* **388**, 743-751 (2007).

13. Laborda, F.; Bolea, E.; Baranguan, M. T.; et al.: Hydride generation in analytical chemistry and nascent hydrogen: when is it going to be over? *Spectrochim. Acta B* **57**, 797-802 (2002).

14. D'Ulivo, A.: 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. *Spectrochim. Acta B* **59**, 793-825 (2004).

15. D'Ulivo, A.; Mester, Z.; Sturgeon, R. E.: The mechanism of formation of volatile hydrides by tetrahydroborate(III) derivatization: A mass spectrometric study performed with deuterium labeled reagents. *Spectrochim. Acta B* **60**, 423-438 (2005).

16. D'Ulivo, A.; Mester, Z.; Meija, J.; et al.: Gas chromatography-mass spectrometry study of hydrogen-deuterium exchange reactions of volatile hydrides of As, Sb, Bi, Ge and Sn in aqueous media. *Spectrochim. Acta B* **61**, 778-787 (2006).

17. D'Ulivo, A.; Onor, M.; Pitzalis, E.: Role of Hydroboron Intermediates in the Mechanism of Chemical Vapor Generation in Strongly Acidic Media. *Anal. Chem.* **76**, 6342-6352 (2004).

18. D'Ulivo, A.; Mester, Z.; Meija, J.; et al.: Mechanism of Generation of Volatile Hydrides of Trace Elements by Aqueous Tetrahydroborate(III). Mass Spectrometric Studies on Reaction Products and Intermediates. *Anal. Chem.* **79**, 3008-3015 (2007).

19. He, Y.; Hou, X.; Zheng, C.; et al.: Critical evaluation of the application of photochemical vapor generation in analytical atomic spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **388**, 769-774 (2007).

20. Sturgeon, R.; Guo, X.; Mester, Z.: Chemical vapor generation: are further advances yet possible? *Anal. Bioanal. Chem.* **382**, 881-883 (2005).

21. Guo, X. M.; Sturgeon, R. E.; Mester, Z.; et al.: Vapor generation by UV irradiation for sample introduction with atomic spectrometry. *Anal. Chem.* **76**, 2401-2405 (2004).

22. Guo, X. M.; Sturgeon, R. E.; Mester, Z.; et al.: UV vapor generation for determination of selenium by heated quartz tube atomic absorption spectrometry. *Anal. Chem.* **75**, 2092-2099 (2003).

23. Zheng, C.; Wu, L.; Ma, Q.; et al.: Temperature and nano-TiO_2 controlled photochemical vapor generation for inorganic selenium speciation analysis by AFS or ICP-MS without chromatographic separation. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **23**, 514-520 (2008).

24. Feng, Y. L.; Sturgeon, R. E.; Lam, J. W.: Generation of atomic and molecular cadmium species from aqueous media. *Anal. Chem.* **75**, 635-640 (2003).

25. Alary, J.; Vandaele, J.; Escrieut, C.; et al.: Determination of trace amounts of nickel by atomic-absorption spectrometry after carbonyl generation. *Talanta* **33**, 748-750 (1986).

26. Dočekal, B.; Marek, P.: Optimization of nickel tetracarbonyl generation and nickel in situ trapping within a transversely heated graphite furnace for atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta B* **55**, 535-543 (2000).

27. Pignalosa, G.; Cabrera, N.; Mollo, A.; et al.: Silicon determination in Portland cement by fluoride generation, using flame atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta B* **56**, 1995-1999 (2001).

28. Feng, Y.; Sturgeon, R. E.; Lam, W.; et al.: Insights into the mechanism of chemical vapor generation of transition and noble metals. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **20**, 255-265 (2005).

29. Pohl, P.; Prusisz, B.: Chemical vapor generation of noble metals for analytical spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* **388**, 753-762 (2007).

30. Matoušek, T.: The efficiency of chemical vapour generation of transition and noble metals. *Anal. Bioanal. Chem.* **388**, 763-767 (2007).

31. Guo, X.; Sturgeon, R.; Mester, Z.; et al.: Photochemical alkylation of inorganic arsenic Part 1. Identification of volatile arsenic species. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **20**, 702-708 (2005).

32. McSheehy; Guo, X.; Sturgeon, R.; et al.: Photochemical alkylation of inorganic arsenic Part 2. Identification of aqueous phase organoarsenic species using multidimensional liquid chromatography and electrospray mass spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **20**, 709-716 (2005).

33. Grinberg, P.; Mester, Z.; Sturgeon, R.; et al.: Generation of volatile cobalt species by UV photoreduction and their tentative identification. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **23**, 583-587 (2008).

34. Sturgeon, R. E.; Willie, S. N.; Mester, Z.: UV/spray chamber for generation of volatile photo-induced products having enhanced sample introduction efficiency. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **21**, 263-265 (2006).

35. Dědina, J.: Atomization of volatile compounds for atomic absorption and atomic fluorescence spectrometry: On the way towards the ideal atomizer. *Spectrochim. Acta B* **62**, 846-872 (2007).

36. Dědina, J.; Matoušek, T.: Multiple microflame - a new approach to hydride atomization for atomic absorption spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **15**, 301-304 (2000).

37. Matoušek, T.; Dědina, J.; Selecká, A.: Multiple microflame quartz tube atomizer - further development towards the ideal hydride atomizer for atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta B* **57**, 451-462 (2002).

38. Li, Z.; Yang, X.; Guo, Y.; et al.: Simultaneous determination of arsenic, antimony, bismuth and mercury in geological materials by vapor generation-four-channel non-dispersive atomic fluorescence spectrometry. *Talanta* **74**, 915-921 (2008).

39. El Hadri, F.; Morales-Rubio, A.; de la Guardia, M.: Atomic fluorescence spectrometric determination of trace amounts of arsenic and antimony in drinking water by continuous hydride generation. *Talanta* **52**, 653-662 (2000).

40. Dědina, J.; D'Ulivo, A.: Argon shielded, highly fuel-rich, hydrogen-oxygen diffusion micro flame - a new hydride atomizer. *Spectrochim. Acta B* **52** 1737-1746 (1997).

41. Tendero, C.; Tixier, C.; Tristant, P.; et al.: Atmospheric pressure plasmas: A review. *Spectrochim. Acta B* **61**, 2-30 (2006).

42. Zhu, Z.; Zhang, S.; Lv Yi; et al.: Atomization of Hydride with a Low-Temperature, Atmospheric Pressure Dielectric Barrier Discharge and Its Application to Arsenic Speciation with Atomic Absorption Spectrometry. *Anal. Chem.* **78**, 865-872 (2006).

43. Zhu, Z.; Zhang, S.; Xue, J.; et al.: Application of atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma for the determination of Se, Sb and Sn with atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta B* **61**, 916-921 (2006).

44. Zhu, Z.; Liu J.; Zhang, S.; et al.: Evaluation of hydride generation atomic fluorescence system for the determination of arsenic using a dielectric barrier discharge atomizer. *Anal. Chim. Acta* **607**, 136-141 (2008).

45. Zhu, Z.; Liu, J.; Zhang, S.; et al.: Determination of Se, Pb, and Sb by atomic fluorescence spectrometry using a new flameless, dielectric barrier discharge atomizer. *Spectrochim. Acta B* **63**, 431-436 (2008).

46. Yu, Y. L.; Du, Z.; Chen, M.-L.; et al.: A miniature lab-on-valve atomic fluorescence spectrometer integrating a dielectric barrier discharge atomizer demonstrated for arsenic analysis. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **23**, 493-499 (2008).

47. Pohl, P.: Hydride generation - recent advances in atomic emission spectrometry. *Trends Anal. Chem.* **23**, 87-101 (2004).

48. Howard, A.G.: (Boro)hydride techniques in trace element speciation *J. Anal. Atom. Spectrom.* **12,** 267-272 (1997).

49. Tsalev, D.L.: Hyphenated vapor generation atomic absorption spectrometric techniques. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **14** 147-162 (1999).

50. Howard, A. G.; Salou, C.: Arsenic speciation by cryogenic trap hydride generation atomic absorption spectroscopy: performance enhancement by pre-derivatization. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **13**, 683-686 (1998).

51. Devesa, V.; Del Razo L. M.; Adair B.; et al..: Comprehensive analysis of arsenic metabolites by pH-specific hydride generation atomic absorption spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **19**, 1460-1467 (2004).

52. Matoušek, T.; Hernandéz-Zavala, A.; Svoboda, M.; et al.: Oxidation State Specific Generation of Arsines from Methylated Arsenicals Based on L-Cysteine Treatment in Buffered Media for Speciation Analysis by Hydride Generation-Automated Cryotrapping-Gas Chromatography-Atomic Absorption Spectrometry with the Multiatomizer. *Spectrochim. Acta B* **63**, 396-406 (2008).

53. Hernandéz-Zavala, A.; Matoušek, T.; Drobná, Z.; et al.: Speciation analysis of arsenic in biological matrices by automated hydride generation-cryotrapping-atomic absorption spectrometry with multiple microflame quartz tube atomizer (multiatomizer). *J. Anal. Atom. Spectrom.* **23**, 342-351 (2008).

54. Matusiewicz, H.; Sturgeon, R. E.: Atomic spectrometric detection of hydride forming elements following in situ trapping within a graphite furnace. *Spectrochim. Acta B* **51**, 377-397 (1996).

55. Niedzielski, P.; Siepak, M.; Siepak, J.: Comparison of modifiers for determination of arsenic, antimony and selenium by atomic absorption spectrometry with atomization in graphite tube or hydride generation and in-situ preconcentration in graphite tube. *Microchem. J.* **72**, 137-145 (2002).

56. Luna, A. S.; Borges Pereira, H.; Takase, I.; et al.: Chemical vapor generation--electrothermal atomic absorption spectrometry: new perspectives. *Spectrochim. Acta B* **57**, 2047-2056 (2002).

57. Haug, H. O.: Study on stable coatings for determination of lead by flow-injection hydride generation and in situ concentration in graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta B* **51**, 1425-1433 (1996).

58. Dočekal, B.; Dědina, J.; Krivan, V.: Radiotracer investigation of hydride trapping efficiency within a graphite furnace. *Spectrochim. Acta B* **52**, 787-794 (1997).

59. Červený, V.; Rychlovský, P.; Netolická, J.; et al.: Electrochemical generation of mercury cold vapor and its in-situ trapping in gold-covered graphite tube atomizers. *Spectrochim. Acta B* **62**, 317-323 (2007).

60. Dočekal, B.: Trapping of hydride forming elements within miniature electrothermal devices. Part 2. Investigation of collection of arsenic and selenium hydrides on a surface and in a cavity of a graphite rod. *Spectrochim. Acta B* **59**, 497-503 (2004).

61. Dočekal, B.; Marek, P.: Investigation of *in situ* trapping of selenium and arsenic hydrides within a tungsten tube atomizer. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **16**, 831-837 (2001).

62. Cankur O.; Ertas, N.; Ataman, Y.: Determination of bismuth using on-line preconcentration by trapping on resistively heated W coil and hydride generation atomic absorption spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **17**, 603-609 (2006).

63. Cankur O.; Ataman, Y.: Chemical vapor generation of Cd and on-line preconcentration on a resistively heated W-coil prior to determination by atomic absorption spectrometry using an unheated quartz absorption cell. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **22**, 791-799 (2007).

64. Barbosa, F.; Souza, S.; Krug, F.: In situ trapping of selenium hydride in rhodium-coated tungsten coil atomic absorption spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **17**, 382-388 (2002).

65. Souza, S.; Santos, J.; Krug, F. J.; et al.: Exploiting in situ hydride trapping in tungsten coil atomizer for Se and As determination in biological and water samples. *Talanta* **73**, 451-457 (2007).

66. Guo, X.; Guo, X.: Determination of ultra-trace amounts of selenium by continuous flow hydride generation AFS and AAS with collection on gold wire. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **16**, 1414-1418 (2001).

67. Kula, I.; Arslan, Y.; Bakirdere, S.; et al.: A novel analytical system involving hydride generation and gold-coated W-coil trapping atomic absorption spectrometry for selenium determination at ng l^{-1} level. *Spectrochim. Acta B, In press*, (2008).

68. Dočekal, B.; Gucer, S.; Selecká, A.: Trapping of hydride forming elements within miniature electrothermal devices: part I. investigation of collection of arsenic and selenium hydrides on a molybdenum foil strip. *Spectrochim. Acta B* **59**, 487-495 (2004).

69. Krejčí, P.; Dočekal, B.; Hrušovská, Z.: Trapping of hydride forming elements within miniature electrothermal devices. Part 3. Investigation of collection of antimony and bismuth on a molybdenum foil strip following hydride generation. *Spectrochim. Acta B* **61**, 444-449 (2006).

70. Kaya, G.; Yaman, M.: Online preconcentration for the determination of lead, cadmium and copper by slotted tube atom trap (STAT)-flame atomic absorption spectrometry. *Talanta* **75**, 1127-1133 (2008).

71. Khalighie, J.; Ure, A. M.; West, T. S.: Some observations on the mechanisms of atomization in atomic absorption spectrometry with atom-trapping and electrothermal techniques. *Anal. Chim. Acta* **117**, 257-266 (1980).

72. Khalighie, J.; Ure, A. M.; West, T. S.: Atom-trapping atomic absorption spectrometry of arsenic, cadmium, lead, selenium and zinc in air--acetylene and air--propane flames. *Anal. Chim. Acta* **131**, 27-36 (1981).

73. Khalighie, J.; Ure, A. M.; West, T. S.: Atom-trapping absorption spectrometry with water-cooled metal collector tubes. *Anal. Chim. Acta* **134**, 271-281 (1982).

74. Korkmaz, D.; Kumser, S.; Ertas, N.; et al.: Investigations on nature of re-volatilization from atom trap surfaces in flame AAS. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **17**, 1610-1614 (2002).

75. Matusiewicz, H.: Atom trapping and in situ preconcentration techniques for flame atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta B* **52**, 1711-1736 (1997).

76. Ertas, N.; Korkmaz, D.; Kumser, S.; et al.: Novel traps and atomization techniques for flame AAS. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **17**, 1415-1420 (2002).

77. Korkmaz, D.; Mahmut, M.; Helles, R.; et al.: Interference studies in slotted silica tube trap technique. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **18**, 99-104 (2003).

78. Matusiewicz, H.; Krawczyk, M.: Determination of tellurium by hydride generation with in situ trapping flame atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta B* **62**, 309-316 (2007).

79. Matusiewicz, H.; Krawczyk, M.: Determination of total antimony and inorganic antimony species by hydride generation *in situ* trapping flame atomic absorption spectrometry: a new way to (ultra)trace speciation analysis. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **23**, 43-53 (2008).

80. Ertas, N.; Arslan Zikri; Tyson, J. F.: Determination of lead by hydride generation atom trapping flame atomic absorption spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **23**, 223-228 (2008).

81. Matusiewicz, H.; Krawczyk, M.: Hydride generation-in situ trapping-flame atomic absorption spectrometry hybridization for indium and thallium determination. *J. Braz. Chem. Soc.* **18**, 304-311 (2007).

82. Matusiewicz, H.; Krawczyk, M.: On-line hyphenation of hydride generation with in situ trapping flame atomic absorption spectrometry for arsenic and selenium determination. *Anal. Sci.* **22**, 249-253 (2006).

83. Matusiewicz, H.; Krawczyk, M.: Determination of cadmium and lead in reference materials by volatile species generation with in situ trapping flame atomic absorption spectrometry. *Microchem. J.* **83**, 17-23 (2006).

84. Korkmaz, D.; Ertas, N.; Yavuz Ataman, O.: A novel silica trap for lead determination by hydride generation atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta B* **57**, 571-580 (2002).

85. Korkmaz, D.; Dědina, J.; Ataman, Y.: Stibine preconcentration in a quartz trap with subsequent atomization in the quartz multiatomizer for atomic absorption spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **19**, 255-259 (2004).

86. Menemenlioglu, I.; Korkmaz, D.; Ataman, Y.: Determination of antimony using a quartz atom trap and electrochemical hydride generation atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta B* **62**, 40-47 (2007).

87. Korkmaz, D.; Demir, C.; Aydin, F.; et al.: Cold vapour generation and on-line trapping of cadmium species on quartz surface prior to detection by atomic absorption spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **20**, 46-53 (2005).

88. Greenwood, N.; Earnshaw, A.: *Chemie prvků.* Praha, Informatorium (1993).

89. C.K.JAIN, I. A.: Arsenic: Occurrence, Toxicity And Speciation Techniques. *Wat.Res.* **34**, 4304-4312 (2000).

90. Rusek, V.: *Základy toxikologie a úvod do problematiky hygieny a bezpečnosti práce v chemické laboratoři***.** Pardubice, Univerzita Pardubice (2001).

91. Thomas, D. J.; Stýblo, M.; Lin, S.: The Cellular Metabolism and Systemic Toxicity of Arsenic. *Toxicol. Appl. Pharm.* **176**, 127-144 (2001).

92. B.M.Adair; S.B.Waters; V.Devesa; et al.: Commonalities in Metabolism of Arsenicals. *Environ. Chem.* **2**, 161-166 (2005).

93. Hernandéz-Zavala, A.; Matoušek, T.; Drobná, Z.; et al..: Speciation analysis of arsenic in biological matrices by automated hydride generation-cryotrapping-atomic absorption spectrometry with multiple microflame quartz tube atomizer (multiatomizer). *J. Anal. Atom. Spectrom.* **23**, 342-351 (2008).

94. Filella, M.; Belzile, N.; Chen, Y. W.: Antimony in the environment: a review focused on natural waters: I. Occurrence. *Earth-Science Reviews* **57**, 125-176 (2002).

95. Smichowski, P.: Antimony in the environment as a global pollutant: A review on analytical methodologies for its determination in atmospheric aerosols. *Talanta* **75**, 2-14 (2008).

96. Smichowski, P.; Madrid, Y.; Camara, C.: Analytical methods for antimony speciation in waters at trace and ultratrace levels. *Fres. J. Anal. Chem.* **360**, 623-629 (1998).

97. Cava-Montesinos, P.; de la Guardia, A.; Teutsch, C.; et al.: Non-chromatographic speciation analysis of arsenic and antimony in milk hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Anal. Chim. Acta* **493**, 195-203 (2003).

98. Fuentes, E.; Pinochet, H.; De Gregori, I.; et al.: Redox speciation analysis of antimony in soil extracts by hydride generation atomic fluorescence spectrometry. *Spectrochim. Acta B* **58**, 1279-1289 (2003).

99. Cava-Montesinos, P.; Cervera, M. L.; Pastor, A.; et al.: Determination of ultratrace bismuth in milk samples by atomic fluorescence spectrometry. *Journal of AOAC International* **86**, 815-822 (2003).

100. Fernando Barbosa Jr, E. C. L. R. A. Z. a. F. J. K.: The use of a W-Rh permanent modifier for direct determination of bismuth in urine and whole blood by

electrothermal atomic absorption spectrometry. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **16**, 842-846 (2001).

101. Rosen, A. L.; Hieftje, G. M.: Inductively coupled plasma mass spectrometry and electrospray mass spectrometry for speciation analysis: applications and instrumentation. *Spectrochim. Acta B* **59**, 135-146 (2004).

102. Reilly, C.: Selenium: A new entrant into the functional food arena. *Trends in Food Science & Technology* **9**, 114-118 (1998).

103. Tinggi, U.: Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. *Toxicol. Lett.* **137**, 103-110 (2003).

104. Vašková, P.: Selen v lidské výživě. *Bakalářská práce*, LF MU, Brno (2006). <http://is.muni.cz/th/101218/lf_b/selen_v_lidske_vyzive.doc> [cit. 16.1.2008].

105. Uden, P. C.: Modern trends in the speciation of selenium by hyphenated techniques. *Anal. Bioanal. Chem.* **373**, 422-431 (2002).

106. Sun, H. W.; Liu, Z. F.; Wu, W. J.; Li, L. Q.; Shi, H. M.: Simultaneous determination of arsenic and selenium in biological samples by HG-AFS. *Anal. Bioanal. Chem.* **382**, 1060-1065 (2005).

107. Kratzer, J.: Nový přístup k prekoncentraci antimonu: záchyt stibanu na křemenném povrchu s následným stanovením metodou AAS. *Diplomová práce,* PřF UK, Praha (2004).

108. Dědina, J.; Welz, B.: Quartz Tube Atomizers for Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry: Mechanism for Atomization of Arsine. *J. Anal. Atom. Spectrom.* **7**, 307-314 (1992).

109. Řezáčová, O.: nepublikované výsledky

110. Weast, R.C.: *Handbook of Chemistry and Physics.* 64th edition, CRC Press, Florida, 1983-1984.

7 PŘÍLOHY

7.1 Příloha 1

[P1] Kratzer J., Dědina J.: Arsine and selenium hydride trapping in a novel quartz device for atomic absorption spectrometry. Anal. Bioanal. Chem. 388 (2007), 793-800.

7.2 Příloha 2

[P2] Dědina J., Kratzer J.: Kompaktní zařízení pro prekoncentraci a atomizaci hydridotvorných prvků pro jejich stanovení atomovou absorpční spektrometrií. Úřad průmyslového vlastnictví, patentová přihláška PV 2007-112, podáno 13.2. 2007.

7.3 Příloha 3

[P3] Kratzer J., Dědina J.: Stibine and bismuthine trapping in quartz tube atomizers for atomic absorption spectrometry - method optimization and analytical applications. Spectrochim. Acta Part B, in press.

7.4 Příloha 4

[P4] Kratzer J., Dědina J.: In situ trapping of stibine in externally heated quartz tube atomizers for atomic absorption spectrometry. Spectrochim. Acta Part B 60 (2005) 859-864.

7.5 Příloha 5

[P5] Dědina J., Kratzer J.: Způsob prekoncentrace antimonu pro jeho stanovení metodami atomové spektrometrie. Úřad průmyslového vlastnictví, patentová přihláška PV-2004-854, podáno 2.8. 2004

7.6 Příloha 6

[P6] Kratzer J., Dědina J.: In situ trapping of bismuthine in externally heated quartz tube atomizers for atomic absorption spectrometry. J. Anal. Atom. Spectrom. 21 (2006), 208-210.

7.7 Příloha 7

[P7] Dědina J., Kratzer J.: Způsob prekoncentrace bismutu pro jeho stanovení metodou atomové absorpční spektrometrie. Úřad průmyslového vlastnictví, patentová přihláška PV 2005-761, podáno 8.12.2005.