

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

---

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Ondřej Duben

Studium interferencí při stanovení selenu pomocí  
UV-fotochemického generování jeho těkavých specií v prostředí  
kyseliny mravenčí s AAS detekcí

Interference Study by Selenium Determination Using  
UV-photochemical Generation of Its Volatile Species in Formic  
Acid Media with AAS Detection

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Václav Červený, Ph.D.

Praha 2013

Tato bakalářská práce vznikla v souvislosti s řešením výzkumného záměru MSM0021620857.

## Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

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

V Praze dne 11. srpna 2013.

## Poděkování:

Na tomto místě bych rád poděkoval svému školiteli RNDr. Václavu Červenému, PhD. za odborné vedení, pomoc, cenné rady a připomínky, které mi po celou dobu řešení mé práce poskytoval. Poděkování patří také Mgr. Marcele Rybínové za trpělivost, pomocnou ruku a její věnovaný čas.

## Abstrakt

Náplní této bakalářské práce bylo experimentálně zmapovat vliv různých potenciálních interferentů na stanovení selenu pomocí UV-fotochemického generování jeho těkavých specií v prostředí kyseliny mravenčí s AAS detekcí. Jako modelové látky ovlivňující odezvu analytu byly vybrány  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{As}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  a  $\text{Ni}^{2+}$ . Všechny tyto látky se projevily jako významné interferenty. Důležitým faktorem byla jejich koncentrace ve vzorku. Některé látky ( $\text{HNO}_3$ ,  $\text{As}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ) při nízké koncentraci signál zvyšovaly, při jejich vyšší koncentraci ve vzorku však signál selenu výrazně poklesl. Opačný průběh závislosti velikosti odezvy analytu na koncentraci interferentu byl pozorován u iontů  $\text{Co}^{2+}$ . Bylo zjištěno, že činidlo Chelaton II, používané v analytické chemii k maskování interferentů, taktéž způsobovalo samo o sobě pokles signálu selenu. Naproti tomu jiná testovaná maskovací činidla (mravenčan amonný, triethanolamin) žádné interference nezpůsobovala.

**Klíčová slova:** selen, UV-fotochemické generování těkavých sloučenin, kyselina mravenčí, AAS, interference, maskování

## Abstract

The aim of this work was to experimentally observe the impact of various potential interferents on the determination of selenium using UV-photochemical generation of its volatile species in formic acid media with AAS detection.  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{As}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  were chosen as model substances affecting the analyte response. All these substances were found significant interferents. Some of these substances ( $\text{HNO}_3$ ,  $\text{As}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ) increased the signal at low concentration, but the signal of selenium decreased significantly at their higher concentration in a sample. Inverse shape of the dependence of the analyte response on the interferent concentration was observed for  $\text{Co}^{2+}$  ions. It was found that the reagent Chelaton II, often used in analytical chemistry to mask interferents, also caused a suppression of selenium signal. On the contrary, other masking agents tested (triethanolamine, ammonium formate) did not lead to any interference.

**Key words:** selenium, UV- photochemical generation of volatile compounds, formic acid, AAS, interference, masking

# Obsah

Obsah .....	6
Seznam zkratk a symbolů .....	8
1. Úvod .....	9
1.1 Cíle bakalářské práce .....	9
2. Teoretická část .....	10
2.1 Atomová absorpční spektrometrie .....	10
2.2 UV-fotochemické generování těkavých sloučenin .....	11
2.3 Význam stanovení Se .....	11
2.4 Interference .....	12
3. Experimentální část .....	13
3.1 Instrumentace .....	13
3.2 Aparatura pro UV-HG-AAS v režimu FIA .....	14
3.3 Použité chemikálie .....	15
4. Výsledky a diskuze .....	16
4.1 Optimalizace pracovních podmínek .....	17
4.1.1 Průtoková rychlost nosného plynu-argonu .....	17
4.1.2 Průtoková rychlost vodíku .....	17
4.1.3 Délka reakční cívky .....	18
4.1.4 Průtoková rychlost čerpání vzorku .....	19
4.1.5 Velikost dávkovací smyčky .....	20
4.1.6 Souhrn optimálních podmínek pro další měření .....	21
4.2 Kalibrace .....	22
4.2.1 Kalibrační závislost $\text{Se}^{+IV}$ .....	22
4.3 Interferenty .....	23
4.3.1 Měďnaté ionty .....	24
4.3.2 Nikelnaté ionty .....	25

4.3.3 Arsenité ionty .....	25
4.3.4 Kobaltnaté ionty .....	26
4.3.5 Kyselina dusičná .....	27
4.4 Maskování interferentů .....	29
4.4.1 EDTA .....	29
4.4.2 Mravenčnan amonný .....	29
4.4.3 TEA .....	30
5. Závěr .....	31
6. Použitá literatura .....	32

## Seznam zkratek a symbolů

<i>A</i>	Absorbance
AAS	Atomová absorpční spektrometrie
CFA	Kontinuální průtoková analýza
$c_{\text{Se}^{+IV}}$	Koncentrace $\text{Se}^{+IV}$
EDTA	Ethylendiamintetraoctová kyselina (Chelaton II)
FIA	Průtoková injekční analýza
HCL	Výbojka s dutou katodou
HG-AAS	AAS s generováním těkavých sloučenin
<i>l</i>	Délka absorpčního prostředí
L	Délka reakční cívky
LOD	Mez detekce
LOQ	Mez stanovitelnosti
PTFE	Polytetrafluorethylen
ppb	Jednotka koncentrace odpovídající $\text{ng} \cdot \text{ml}^{-1}$
ppm	Jednotka koncentrace odpovídající $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$
$\text{Se}^{+IV}$	Seleničitan
TEA	Triethanolamin
UV	Ultrafialové záření
UV-HG-AAS	AAS s generováním těkavých sloučenin pomocí UV
$v_{\text{Ar}}$	Průtoková rychlost nosného plynu (Ar)
$v_{\text{H}_2}$	Průtoková rychlost reakčního plynu ( $\text{H}_2$ )
$v_{\text{vz}}$	Průtoková rychlost čerpání vzorku
$\kappa$	Atomový absorpční koeficient
$\phi$	Intenzita záření prošlého analytem
$\phi_0$	Intenzita záření nezeslabeného analytem



# 1. Úvod

Tato bakalářská práce vznikla v návaznosti na předchozí studie možností stanovení selenu pomocí AAS s UV-fotochemickým generováním jeho těkavých sloučenin v prostředí kyseliny mravenčí prováděné Mgr. Marcelou Rybínovou.

## 1.1 Cíl bakalářské práce

Náplní této bakalářské práce bylo zjistit, zda bude signál při stanovení seleničitanu ( $\text{Se}^{+IV}$ ) pomocí atomové absorpční spektrometrie s UV- fotochemickým generováním jeho těkavých sloučenin v roztoku  $\text{HCOOH}$  po přidání vybraných látek ovlivněn či nikoliv.

V případě potvrzení interferenčních účinků přidávané látky na toto stanovení bylo třeba zjistit nejnižší koncentraci interferentu, která změní signál selenu alespoň o 10 % v porovnání s modelovým vzorkem o stejné koncentraci  $\text{Se}^{+IV}$  bez přídatku interferentu.

K tomuto bylo nejprve nutné sestavit aparaturu pro průtokovou injekční analýzu (FIA) a ověřit, zda optimální hodnoty experimentálních parametrů zjištěné pro kontinuální průtokovou analýzu (CFA) jsou platné i v uspořádání FIA, popř. je upravit na nově nalezená optima.

V neposlední řadě bylo třeba pokusit se o takzvané maskování interferentu, tj. přeměnit interferující látku reakcí s jinou látkou např. na komplex, který by ovšem již při vlastním stanovení neinterferoval.

## 2. Teoretická část

### 2.1 Atomová absorpční spektrometrie

Principem atomové absorpční spektrometrie (AAS) je absorpce záření volnými atomy prvků v plynném stavu. Tyto atomy jsou schopné absorbovat elektromagnetické záření, specifické pro jeden každý prvek<sup>1</sup>. Pro selen je charakteristická vlnová délka 196,0 nm.

Počet absorbovaných fotonů je úměrný množství stanovovaných atomů.

Měřenou veličinou je absorbance, která je podle Lambertova-Beerova zákona přímo úměrná koncentraci. Tento zákon má jisté omezení a to, že závislost absorbance na koncentraci bývá reálně lineární jen v určitém rozsahu koncentrací.

Pro zředěné roztoky platí vztah (1):

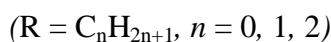
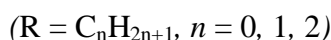
$$A = -\log \frac{\Phi}{\Phi_0} = \kappa \cdot c \cdot l \quad (1)$$

kde  $A$  je absorbance,  $\Phi$  intenzita záření prošlého atomizačním prostředím,  $\Phi_0$  intenzita vstupujícího záření,  $c$  koncentrace látky,  $l$  délka atomizačního prostředí a  $\kappa$  atomový absorpční koeficient.

Podle způsobu zavádění vzorku se dělí techniky atomové absorpční spektrometrie na plamenovou AAS, AAS s elektrotermickou atomizací a generování a atomizace těkavých sloučenin.

### 2.2 UV-fotochemické generování těkavých sloučenin

Tato metoda generování těkavých sloučenin využívá energii UV záření, které rozkládá obecně nízkomolekulární látky obsažené ve vzorku na jednodušší avšak velmi reaktivní látky, obecně nazývané radikály<sup>2</sup>.  $\text{Se}^{+IV}$  je vlivem UV záření v prostředí vodného roztoku nízkomolekulárních organických kyselin přeměněn na těkavé produkty, které mohou být detekovány například AAS. Princip reakce vystihují následující chemické rovnice (2, 3)<sup>3,4</sup>.



V prostředí nejjednodušší organické kyseliny, tedy kyseliny mravenčí probíhá reakce tímto způsobem za vzniku selenovodíku nebo selenokarbonylu (4, 5)<sup>5</sup>.



Důležitou roli hraje čas, který vzorek stráví na cestě k separátoru fázi a po který je ozařován UV, neboť vzniklé radikály mají jen velmi krátkou dobu života. Pokud je vzorek ozářen příliš krátce, nestihne se veškerý analyt přeměnit na těkavou sloučeninu, v případě selenu tedy na hydrid nebo karbonyl selenu<sup>6</sup>. Tyto těkavé sloučeniny jsou vysokou teplotou v atomizátoru rozloženy na jednotlivé atomy selenu, které lze detekovat pomocí AAS.

### 2.3 Význam stanovení Se

Selen identifikoval a popsal J. J. Berzelius již roku 1817. Po dlouhou dobu byl považován pouze za toxický prvek. Jeho prospěšné vlastnosti byly objeveny až mnohem později. V přírodě se selen obvykle vyskytuje jen ve stopovém množství především v sirných sloučeninách. Například je přítomen v minerálech jako jsou chalkopyrit, zorgit, berzelianit<sup>7</sup>.

Selen je důležitou součástí pro živé organismy, řadí se mezi esenciální prvky. V lidském těle se vyskytuje v selenoproteinech, které se účastní různých biologických procesů, jako jsou například produkce hormonů štítné žlázy, imunitní reakce a antioxidační obrana<sup>8</sup>.

Toxicita sloučenin selenu závisí na jejich formě a rozpustnosti. Selenid je toxicitější než seleničitan a ten je toxicitější než selenan ( $\text{Se}^{-\text{II}} > \text{Se}^{+\text{IV}} > \text{Se}^{+\text{VI}}$ ).

Při orálním podání  $\text{Se}^{+\text{IV}}$ ,  $\text{Se}^{+\text{VI}}$  a selenomethioninu se obvykle vstřebá více jak 80 %, naopak elementární selen a selenidy jsou prakticky nerozpustné a špatně se vstřebávají<sup>9</sup>.

Jelikož ionty selenu působí pro lidský organismus prospěšně, ale zároveň jsou ve vyšších koncentracích toxické, je důležité mít pro jeho stanovení citlivou a přesnou analytickou metodu. Podle WHO má selen jednu z nejužších hranic mezi potřebou přijímat ho potravou (<40 µg/ den) a toxickou dávkou (>400µg/ den)<sup>10</sup>.

## 2.4 Interference

Přítomnost některých látek ve vzorku může ovlivnit stanovení analytu. Velikost odezvy může být zvýšena nebo snížena, případně může být signál zcela potlačen. V literatuře jsou proto některé látky označovány jako pozitivní interferenty či negativní interferenty. V případě stanovení  $\text{Se}^{+IV}$  pomocí AAS založeném na využití UV-fotochemického generování těkavých sloučenin selenu (UV-HG-AAS)<sup>11</sup> je jako pozitivní interferent uváděna kyselina dusičná<sup>12</sup>. Jako negativní interferenty jsou zmiňovány například  $\text{As}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  a  $\text{Ni}^{2+}$ <sup>13,14</sup>. Studie chemických interferencí často zjišťuje toleranční hranici koncentrace iontů kovů, přičemž některé z nich lze maskovat do komplexu například pomocí EDTA<sup>15</sup>.

## 3. Experimentální část

### 3.1 Instrumentace

V experimentální části této práce byl použit atomový absorpční spektrometr Unicam Solaar 939 (Unicam, U.K.).

Zdrojem primárního záření byla výbojka s dutou katodou pro selen (Unicam, U.K., pracovní vlnová délka: 196,0 nm, šířka spektrálního intervalu: 0,5 nm, žhavicí proud: 15 mA).

Kompenzace pozadí byla prováděna zdrojem kontinuálního záření - deuteriovou výbojkou.

Fotoreaktor byl sestaven z PTFE hadičky (vnitřní průměr 0,5 mm, vnější průměr 1 mm, délka 5 m) těsně omotané okolo nízkotlaké rtuťové výbojky (Ushio, Japan, 20 W, 254 nm).

Jako spojovací materiál byly použity PTFE hadičky, čerpací Tygon hadičky o různých vnitřních průměrech a PTFE spojky.

K oddělení plynné a kapalně fáze docházelo v separátoru fází s nuceným odtahem přímo nataveným na křemenný atomizátor.

Atomizace vygenerovaných těkavých sloučenin probíhala v křemenném atomizátoru s délkou atomizačního ramene 170 mm a vnitřním průměrem trubice 6 mm. Přívodní rameno mělo délku 60 mm a vnitřní průměr 4 mm.

K vyhřívání atomizátoru na 950°C byla použita vyhřívací jednotka EHA 10 (RMI, ČR).

Peristaltická pumpa Masterflex (Cole-Parmer, USA) sloužila k čerpání blanku a zároveň byla použita k odvádění kapalného odpadu ze separátoru fází.

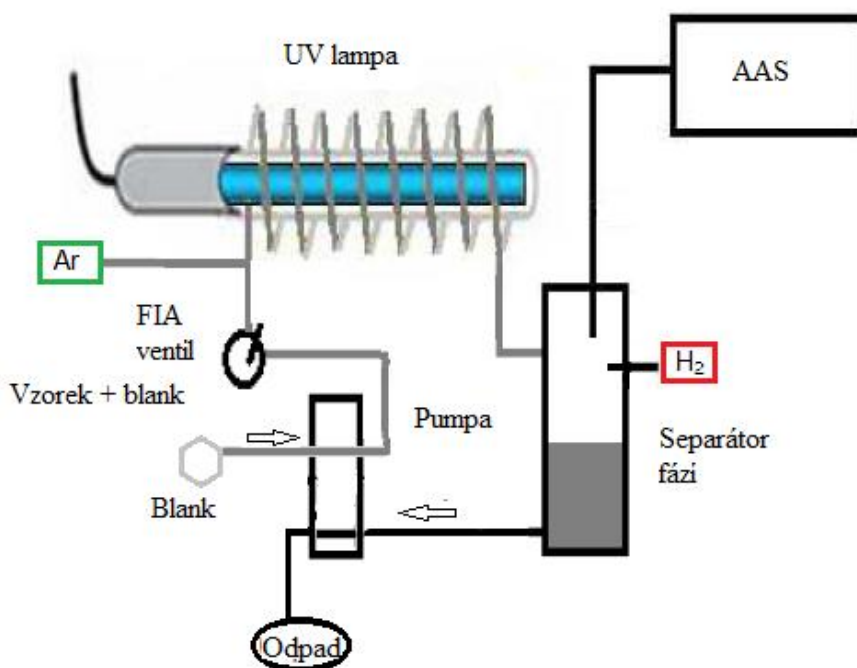
Dvoucestný FIA ventil V-451 (Upchurch Scientific, USA) zajišťoval plynulý přechod mezi čerpáním blanku bez a s nadávkovaným vzorkem.

Kuličkovým průtokoměrem (Cole-Parmer, USA) s jehlovým ventilem byl korigován průtok argonu.

Pro regulaci průtoku vodíku byl použit digitální průtokoměr (Cole-Parmer, USA).

### 3.2 Aparatura pro UV-HG-AAS v režimu FIA

Schéma použité aparatury je na Obr. 1. Pomocí peristaltické pumpy byl čerpán blank bez vzorku. Za pumpou byl umístěn FIA ventil, díky němuž byly vstříkovány plastovou injekcí vzorky obsahující  $\text{Se}^{+IV}$ . Před vstupem vzorku do fotoreaktoru byl přiváděn nosný plyn, argon, který unášel dále směs do separátoru fází s nuceným odtahem. Odtah byl zajištěn opět peristaltickým čerpadlem a pomocí Tygon hadiček sveden do odpadu. V separátoru fází došlo k oddělení plynných složek od kapalná fáze. Do separátoru fází byl rovněž přiváděn vodík. Výsledná plynná směs byla následně unášena do externě vyhřívaného křemenného atomizátoru, kde při teplotě  $950^{\circ}\text{C}$  docházelo k atomizaci těkavých sloučenin selenu.



Obr. 1: Schéma použité aparatury

### 3.3 Použité chemikálie

Na přípravu všech roztoků byla používána 18,2 M $\Omega$ .cm deionizovaná voda z přístroje Milli QPLUS (Millipore, USA).

Roztoky Se<sup>+IV</sup> použité k optimalizaci byly připravovány z kalibračního standardního roztoku Se<sup>+IV</sup> (1,000  $\pm$  0,002 g.l<sup>-1</sup>, s přidavkem 2% HNO<sub>3</sub>(v/v), Analytika, ČR).

Pro přípravu zásobních roztoků 1 ppm Se<sup>+IV</sup> byl přesně navážen Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>.10H<sub>2</sub>O (99,999%, Sigma Aldrich, USA), následně rozpuštěn a doplněn na potřebný objem deionizovanou vodou.

Samotné interferenty Co<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, As<sup>3+</sup> byly připravovány z příslušných kalibračních standardních roztoků příslušného interferentu (1,000  $\pm$  0,002 g.l<sup>-1</sup>, s přidavkem 2% HNO<sub>3</sub>(v/v), Analytika, ČR).

Kyselina mravenčí ( $\geq$ 98%) byla vyrobena firmou Sigma Aldrich, USA.

Kyselina dusičná (63%) pochází od firmy Merck, Německo.

Pro přípravu zásobních roztoků maskovacích činidel byly použity: Chelaton II a Triethanolamin, oba vyrobeny firmou Sigma Aldrich, USA.

Mravenčan amonný vyroben firmou Lachema, ČR.

Použité plyny (Ar, H<sub>2</sub>) byly dodány v tlakových lahvích od firmy Linde Gas, Praha.

## 4. Výsledky a diskuse

### 4.1 Optimalizace pracovních podmínek

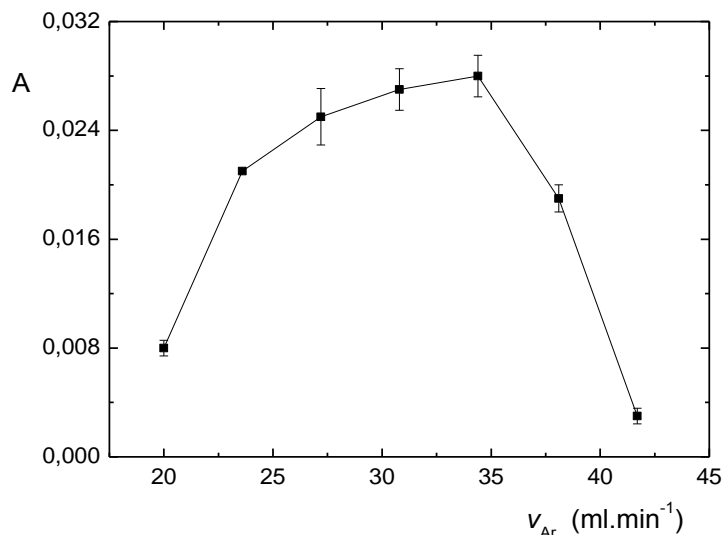
Před zahájením samostatného pozorování vlivu různých interferentů byla provedena optimalizace pracovních podmínek. Snahou bylo nalézt u každého jednotlivého parametru hodnotu, při které by absorbance opakovatelně dosahovala maxima. Některé parametry, například koncentrace kyseliny mravenčí ( $0,7 \text{ mol.dm}^{-3}$ ) a teplota atomizátoru ( $950 \text{ }^\circ\text{C}$ ) nebyly optimalizovány, protože jejich optimální hodnoty byly převzaty z předchozích studií zabývajících se optimalizací pracovních podmínek<sup>16,17,18</sup>.

Následující kapitoly jsou seřazeny tak, jak byly postupem času experimentálně optimalizovány ostatní parametry měření. Pro hledání optima, tedy podmínek nejvyšší naměřené absorbance, byl vždy sestrojen graf závislosti absorbance na daném parametru.

#### 4.1.1 Průtoková rychlost nosného plynu-argonu

Pro zjištění optimální průtokové rychlosti argonu byl připraven roztok o koncentraci 20 ppb  $\text{Se}^{+IV}$  v prostředí  $0,7 \text{ mol.dm}^{-3}$  kyseliny mravenčí. Průtoková rychlost byla postupně zvyšována od  $20 \text{ ml.min}^{-1}$  do  $43 \text{ ml.min}^{-1}$  a byly změřeny a zaznamenány příslušné absorbance. Naměřené hodnoty jsou vyneseny v grafu na Obr. 2. Pro další experimenty byla jako nejvhodnější zvolena hodnota průtoku argonu  $34,5 \text{ ml.min}^{-1}$ .



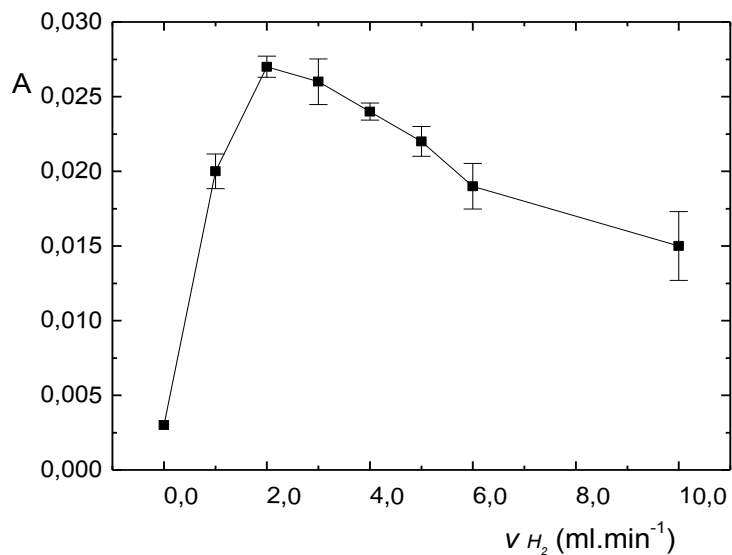


Obr. 2: Závislost absorpance na průtokové rychlosti argonu

Vzorek: 20 ppb  $Se^{+IV}$  + 0,7 mol.dm<sup>-3</sup> HCOOH, blank: 0,7 mol.dm<sup>-3</sup> HCOOH,  
 $L = 1$  m,  $v_{H_2} = 3,5$  ml.min<sup>-1</sup>,  $v_{vz} = 5,0$  ml.min<sup>-1</sup>, velikost dávkovací smyčky 100  $\mu$ l,  
 $t = 950$  °C

#### 4.1.2 Průtoková rychlost vodíku

Dalším proměnným parametrem byla průtoková rychlost vodíku. Z Obr. 3 vyplývá, že vodík je pro atomizaci těkavé sloučeniny selenu nezbytný. Jako optimum byla zvolena hodnota 2,0 ml.min<sup>-1</sup>. S vyššími průtokovými rychlostmi vodíku docházelo k naředění těkavých sloučenin selenu v plynné fázi, tudíž signál pozvolna klesal. S rostoucím množstvím vodíku v atomizátoru rovněž souvisí zvyšování směrodatné odchylky trojic výsledků opakovaných měření, způsobené pravděpodobně kondenzací vodní páry vzniklé reakcí radikálů H• a O•.

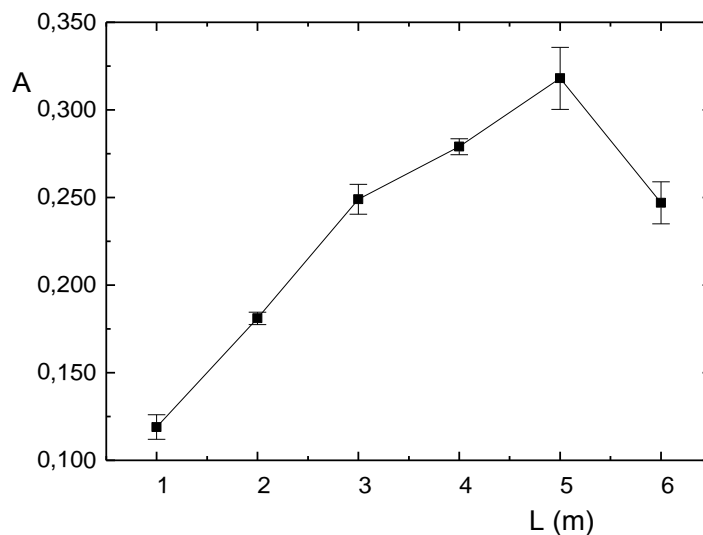


Obr. 3: Závislost absorpance na průtokové rychlosti vodíku

Vzorek: 20 ppb  $Se^{+IV}$  + 0,7 mol.dm<sup>-3</sup> HCOOH, blank: 0,7 mol.dm<sup>-3</sup> HCOOH,  
 $L = 1$  m,  $v_{Ar} = 34,5$  ml.min<sup>-1</sup>,  $v_{vz} = 5,0$  ml.min<sup>-1</sup>, velikost dávkovací smyčky 100  $\mu$ l,  
 $t = 950$  °C

#### 4.1.3 Délka reakční cívky

Další měření probíhala již s novou selenovou výbojkou, neboť té předchozí skončila životnost. Poněvadž předešlé signály byly velice nízké, byl připraven roztok  $Se^{+IV}$  o koncentraci 100 ppb, navíc byla změněna velikost dávkovací smyčky na 500  $\mu$ l. Postupně byla měněna délka reakční cívky omotané kolem nízkotlaké rtuťové výbojky a příslušné absorpance byly zaznamenány a vyneseny do grafu na Obr. 4. Z grafu je patrné, že nejvyšší absorpance bylo dosaženo s délkou cívky 5 metrů.

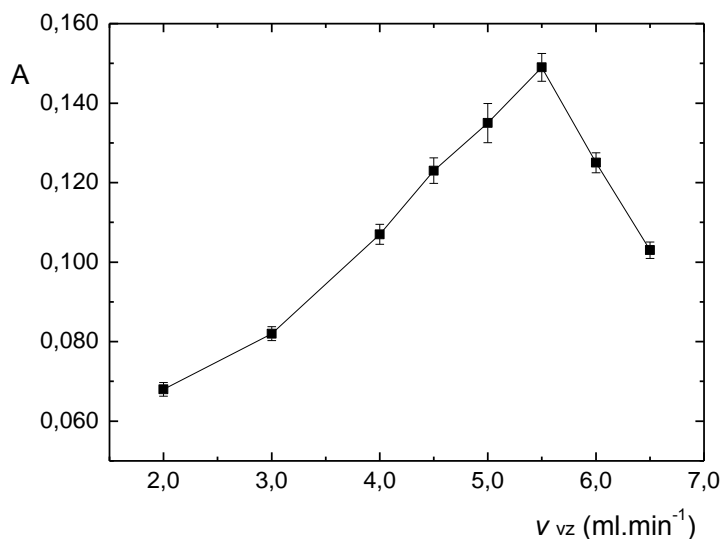


Obr. 4: Závislost absorpance na délce reakční cívky

Vzorek:  $100 \text{ ppb Se}^{+IV} + 0,7 \text{ mol.dm}^{-3} \text{ HCOOH}$ , blank:  $0,7 \text{ mol.dm}^{-3} \text{ HCOOH}$ ,  
 $v_{Ar} = 34,5 \text{ ml.min}^{-1}$ ,  $v_{H_2} = 2,0 \text{ ml.min}^{-1}$ ,  $v_{vz} = 5,0 \text{ ml.min}^{-1}$ ,  
 velikost dávkovací smyčky  $500 \mu\text{l}$ ,  $t = 950 \text{ }^\circ\text{C}$

#### 4.1.4 Průtoková rychlost čerpání vzorku

Protože s 5m reakční cívkou byly signály již dostatečné, následující měření probíhala opět se zásobním roztokem  $\text{Se}^{+IV}$  o koncentraci 20 ppb. Pro rychlejší průběh analýzy byla zvolena  $100 \mu\text{l}$  dávkovací smyčka. Z grafu na Obr. 5 lze usoudit, že optimální rychlost čerpání vzorku je  $5,5 \text{ ml.min}^{-1}$ .

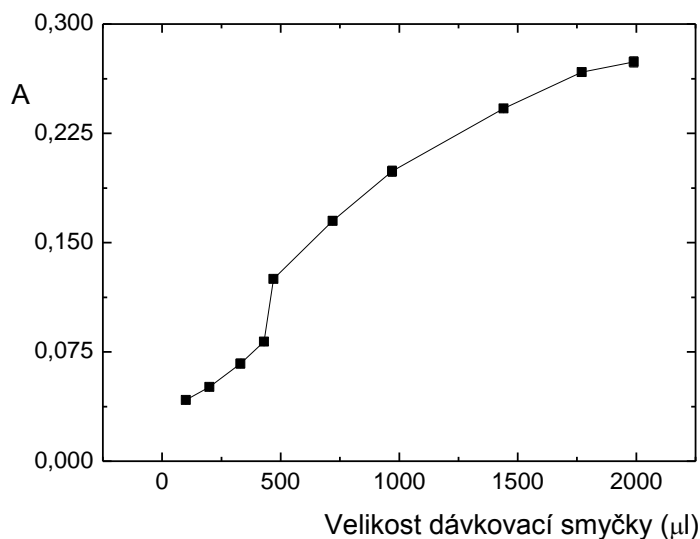


Obr. 5: Závislost absorbance na rychlosti čerpání vzorku

Vzorek: 20 ppb  $Se^{+IV}$  + 0,7 mol.dm<sup>-3</sup> HCOOH, blank: 0,7 mol.dm<sup>-3</sup> HCOOH,  
 $L = 5$  m,  $v_{Ar} = 34,5$  ml.min<sup>-1</sup>,  $v_{H_2} = 2,0$  ml.min<sup>-1</sup>, velikost dávkovací smyčky 100  $\mu$ l,  
 $t = 950$  °C

#### 4.1.5 Velikost dávkovací smyčky

Bylo zjištěno, že s rostoucí velikostí dávkovací smyčky se zvyšuje signál selenu, ale zároveň se rozšiřují píky a tedy se prodlužuje celková doba analýzy. Proto byla za optimum zvolena dávkovací smyčka o velikosti 500  $\mu$ l. Tento bod je v závislosti na Obr. 6. inflexním bodem, kde původní trend zvyšujícího se přírůstku absorbance s rostoucím objemem vzorku přechází v trend opačný.



Obr. 6: Závislost absorbance na velikosti dávkovací smyčky  
 Vzorek: 20 ppb  $Se^{+IV}$  + 0,7 mol.dm<sup>-3</sup> HCOOH, blank: 0,7 mol.dm<sup>-3</sup> HCOOH,  
 $L = 5\text{ m}$ ,  $v_{Ar} = 34,5\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $v_{H_2} = 2,0\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $v_{vz} = 5,5\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $t = 950\text{ }^\circ\text{C}$

#### 4.1.6. Souhrn optimálních podmínek pro další měření

Získané optimální hodnoty parametrů pro měření jsou uvedeny v Tab.1.

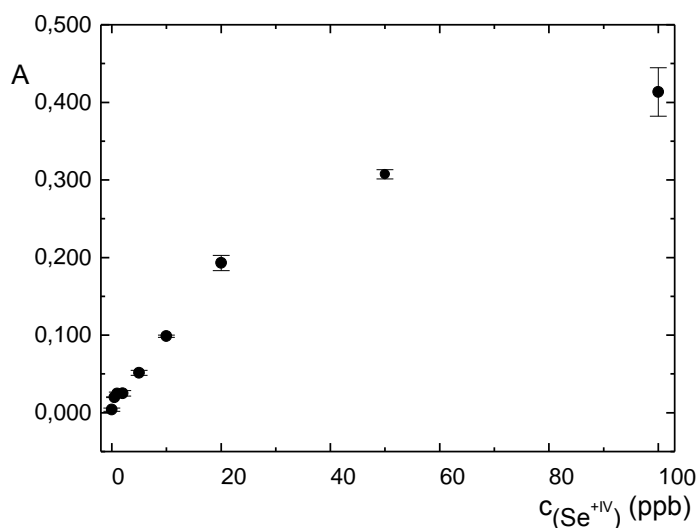
**Tab.1 Přehled optimálních hodnot parametrů pro stanovení  $Se^{+IV}$  metodou UV-HG-AAS**

délka reakční cívky	5 m
koncentrace kyseliny mravenčí	0,7 mol.dm <sup>-3</sup>
rychlost čerpání vzorku	5,5 ml·min <sup>-1</sup>
průtoková rychlost argonu	34,5 ml·min <sup>-1</sup>
průtoková rychlost vodíku	2,0 ml·min <sup>-1</sup>
teplota atomizátoru	950 °C
velikost dávkovací smyčky	500 µl

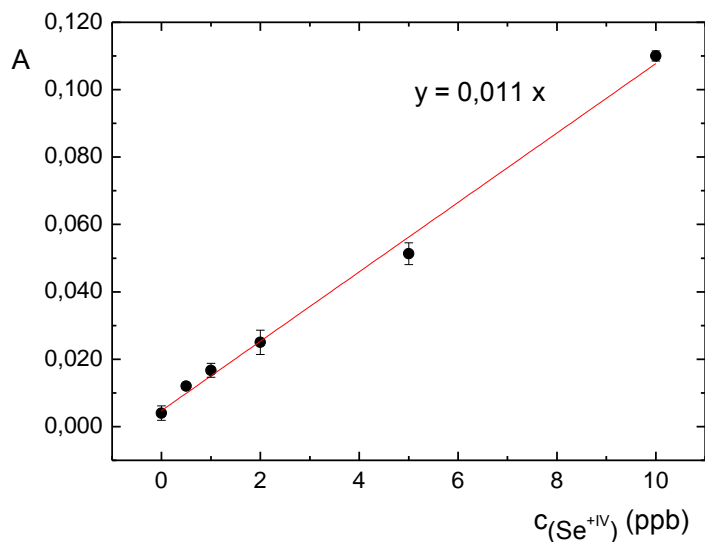
## 4.2 Kalibrace

### 4.2.1 Kalibrační závislost $\text{Se}^{+IV}$

Kalibrační závislost  $\text{Se}^{+IV}$  byla proměřena za optimálních experimentálních podmínek (viz. Tab. 1) od 0,5 ppb do 100 ppb  $\text{Se}^{+IV}$ . Získané hodnoty absorbancí byly vyneseny do grafu na Obr. 7a. Kalibrace je lineární do 10 ppb, jak je znázorněno na Obr. 7b. V lineární části kalibrace byla určena citlivost stanovení jako směrnice přímky proložené těmito body.



Obr.7a: Kalibrační závislost  $\text{Se}^{+IV}$  za optimálních podmínek bez interferentu  
Vzorek:  $x \text{ ppb } \text{Se}^{+IV} + 0,7 \text{ mol.dm}^{-3} \text{ HCOOH}$ , blank:  $0,7 \text{ mol.dm}^{-3} \text{ HCOOH}$ ,  
 $L = 5 \text{ m}$ ,  $v_{Ar} = 34,5 \text{ ml.min}^{-1}$ ,  $v_{H_2} = 2,0 \text{ ml.min}^{-1}$ ,  $v_{vz} = 5,5 \text{ ml.min}^{-1}$ ,  
velikost dávkovací smyčky  $500 \mu\text{l}$ ,  $t = 950 \text{ }^\circ\text{C}$



Obr.7b: Lineární část kalibrační závislosti  $\text{Se}^{+IV}$  za optimálních podmínek bez interferentu

Vzorek:  $x$  ppb  $\text{Se}^{+IV}$  +  $0,7 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{HCOOH}$ , blank:  $0,7 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{HCOOH}$ ,  
 $L = 5 \text{ m}$ ,  $v_{Ar} = 34,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ ,  $v_{H_2} = 2,0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ ,  $v_{vz} = 5,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ ,  
velikost dávkovací smyčky  $500 \mu\text{l}$ ,  $t = 950 \text{ }^\circ\text{C}$

Po sestavení kalibrační závislosti byla zjištěna citlivost stanovení, jejíž hodnota je  $0,011 \text{ ppb}^{-1}$ . Navíc byly určeny hodnoty meze detekce ( $\text{LOD} = 0,9 \text{ ppb}$ ) a meze stanovitelnosti ( $\text{LOQ} = 3,1 \text{ ppb}$ ), obě získané ze směrodatné odchylky 10-ti paralelních měření pro koncentraci  $0,5 \text{ ppb Se}^{+IV}$ . Hodnota opakovatelnosti měření ( $4,6 \%$ ) byla spočtena ze směrodatné odchylky 10-ti paralelních měření pro koncentraci  $10 \text{ ppb Se}^{+IV}$ .

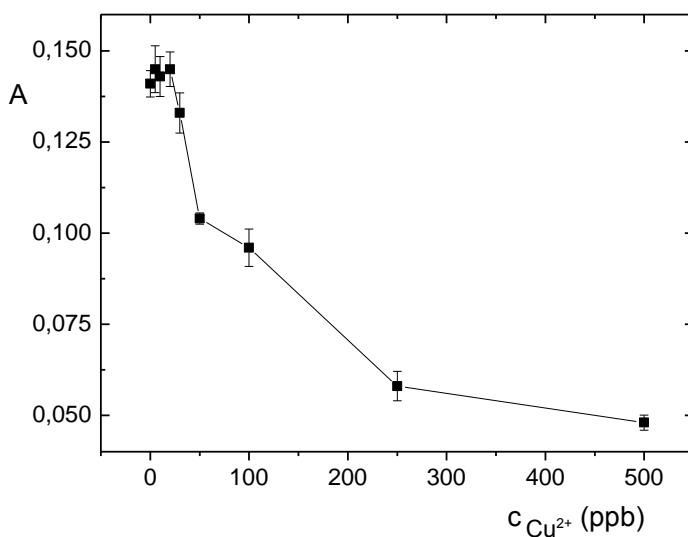
### 4.3 Interferenty

Pro zjištění vlivu interferentů na signál selenu byla použita koncentrace  $10 \text{ ppb Se}^{+IV}$  v prostředí  $0,7 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \text{HCOOH}$ . Před začátkem měření s interferenty byla vždy změřena absorbance tohoto vzorku (bez interferentu). V průběhu všech měření se postupovalo vždy od poměru 1:1. Na začátku měření byla koncentrace interferentu stejná jako výchozí koncentrace selenu. Poté byla koncentrace interferentu postupně zvyšována. V případě, že byly výsledky ne zcela uspokojivé, byla zvolena i nižší koncentrace daného interferentu. Rozhodovacím kritériem byla změna

absorbance selenu o více než 10 % oproti stavu bez přítomnosti interferentu. Roztok kyseliny mravenčí o koncentraci  $0,7 \text{ mol.dm}^{-3}$  (blank) byl použit mezi jednotlivými měřeními, aby bylo zabráněno přenosu vzorku a kontaminaci předchozími interferenty.

### 4.3.1 Měďnaté ionty

Jako první z interferentů byly vyzkoušeny měďnaté ionty. Závislost absorbance na koncentraci  $\text{Cu}^{2+}$  je zobrazena na Obr. 8. Z experimentu bylo vypořazováno, že měďnaté ionty významně ovlivňovaly signál selenu již při koncentraci 30 ppb. Měďnaté ionty jsou příkladem negativního interferentu, protože signál selenu pouze snižují. Z průběhu této závislosti se dá usoudit, že signál selenu získaný touto metodou při velkém nadbytku měďnatých iontů klesá přibližně na třetinu původní hodnoty.



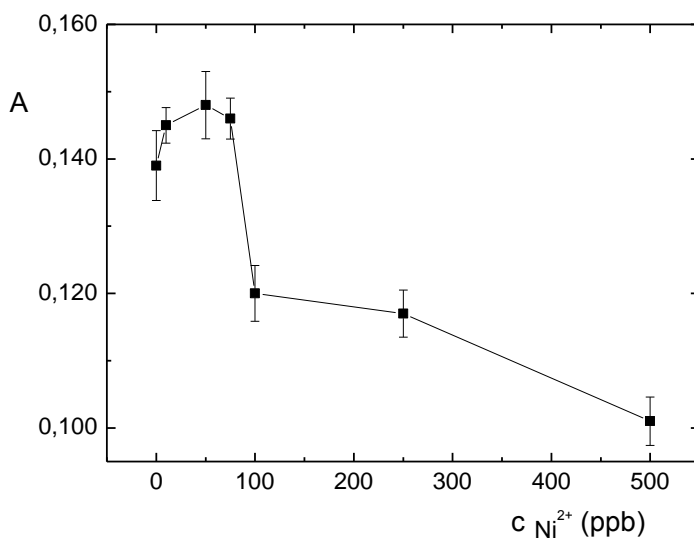
Obr. 8: Závislost absorbance Se na koncentraci  $\text{Cu}^{2+}$

Vzorek:  $10 \text{ ppb Se}^{+IV} + 0,7 \text{ mol.dm}^{-3} \text{HCOOH} + \text{příslušná koncentrace } \text{Cu}^{2+}$ ,  
blank:  $0,7 \text{ mol.dm}^{-3} \text{HCOOH}$ ,  $L = 5 \text{ m}$ ,  $v_{Ar} = 34,5 \text{ ml.min}^{-1}$ ,  $v_{H_2} = 2,0 \text{ ml.min}^{-1}$ ,  
 $v_{vz} = 5,5 \text{ ml.min}^{-1}$ , velikost dávkovací smyčky  $500 \mu\text{l}$ ,  $t = 950 \text{ }^\circ\text{C}$



### 4.3.2 Nikelnaté ionty

Podobně jako měďnaté ionty také nikelnaté ionty ovlivňovaly signál selenu. Výrazné interference nastaly u nikelnatých iontů od koncentrace 100 ppb. Z průběhu této závislosti na Obr. 9 je patrné, že signál selenu získaný touto metodou při velkém nadbytku nikelnatých iontů poklesl přibližně na dvě třetiny původní hodnoty.

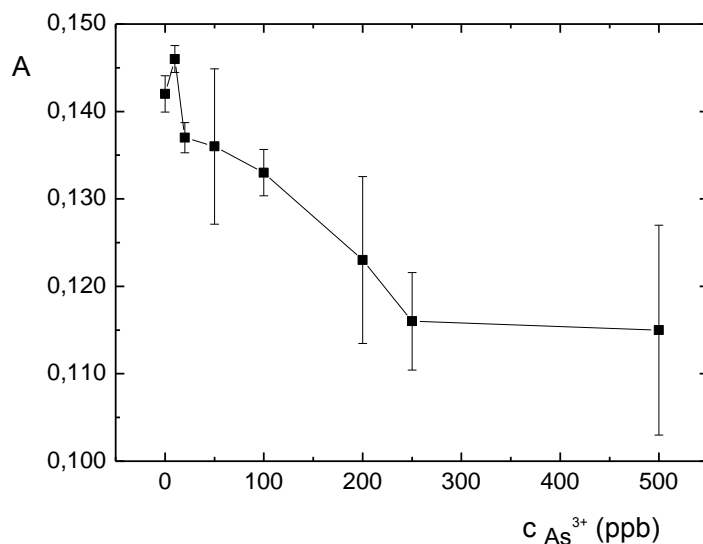


Obr. 9: Závislost absorbance Se na koncentraci  $Ni^{2+}$

Vzorek:  $10 \text{ ppb } Se^{+IV} + 0,7 \text{ mol.dm}^{-3} HCOOH + \text{příslušná koncentrace } Ni^{2+}$ ,  
blank:  $0,7 \text{ mol.dm}^{-3} HCOOH$ ,  $L = 5 \text{ m}$ ,  $v_{Ar} = 34,5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $v_{H_2} = 2,0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  
 $v_{Vz} = 5,5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ , velikost dávkovací smyčky  $500 \mu\text{l}$ ,  $t = 950 \text{ }^\circ\text{C}$

### 4.3.3 Arsenité ionty

Arsen je podobně jako selen schopen tvořit hydridy, tudíž bylo očekáváno, že bude signál snižovat. Toto bylo skutečně pozorováno, jak dokumentuje Obr. 10. Výrazný pokles signálu selenu nastal při koncentraci 200 ppb  $As^{3+}$ . Arsenité ionty nebyly tak významnými interferenty jako předchozí ionty  $Cu^{2+}$  a  $Ni^{2+}$ . Mechanismus interference pravděpodobně souvisí s konkurenční tvorbou těkavých sloučenin arsenu.

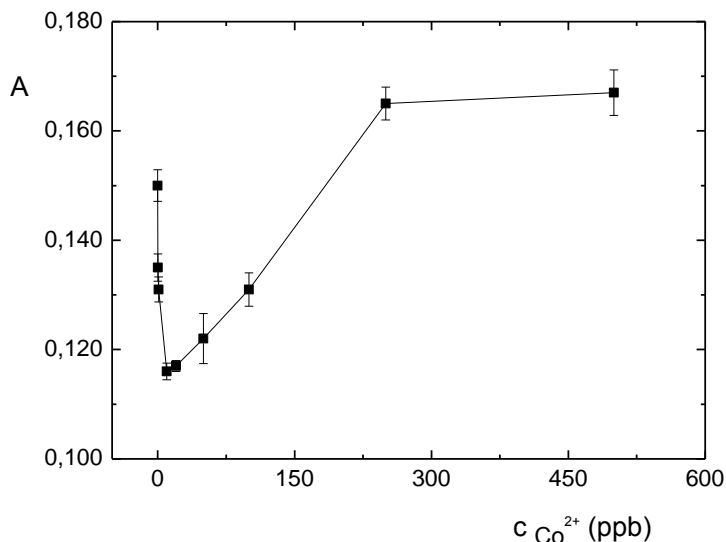


Obr. 10: Závislost absorbance Se na koncentraci  $As^{3+}$

Vzorek:  $10 \text{ ppb } Se^{+IV} + 0,7 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3} HCOOH + \text{příslušná koncentrace } As^{3+}$ ,  
 blank:  $0,7 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3} HCOOH$ ,  $L = 5 \text{ m}$ ,  $v_{Ar} = 34,5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $v_{H_2} = 2,0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  
 $v_{vz} = 5,5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ , velikost dávkovací smyčky  $500 \mu\text{l}$ ,  $t = 950 \text{ }^\circ\text{C}$

#### 4.3.4 Kobaltnaté ionty

Dalším zkoumaným interferentem byly kobaltnaté ionty. Po sestrojení grafu (Obr. 11) bylo zjištěno, že vliv kobaltnatých iontů ve vzorku na signál selenu se lišil v porovnání s ostatními interferenty. Při nízkých koncentracích  $Co^{2+}$  byl pozorován rapidní pokles signálu selenu o cca 20 %. Tento průběh trval až do koncentrace 10 ppb  $Co^{2+}$ , od které se, se zvyšující se koncentrací  $Co^{2+}$ , signál selenu pozvolna zvyšoval. Od koncentrace  $Co^{2+}$  250 ppb a vyšší je signál selenu ustálen přibližně na 110% původní hodnoty.

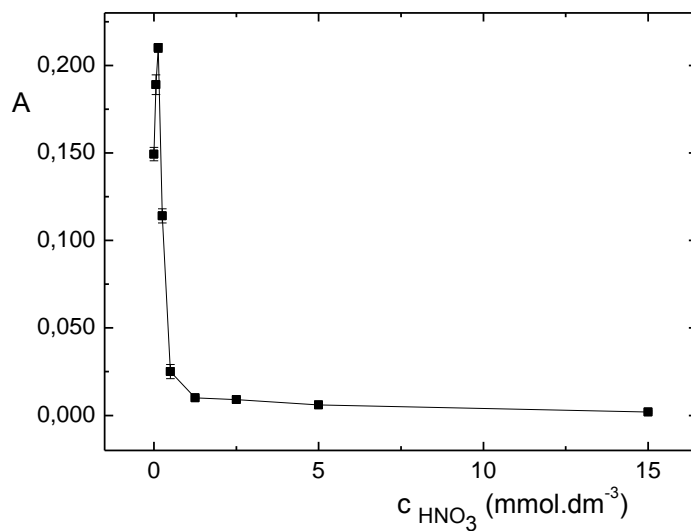


Obr. 11: Závislost absorbance na koncentraci  $Co^{2+}$

Vzorek:  $10 \text{ ppb } Se^{+IV} + 0,7 \text{ mol.dm}^{-3} HCOOH + \text{příslušná koncentrace } Co^{2+}$ ,  
 blank:  $0,7 \text{ mol.dm}^{-3} HCOOH$ ,  $L = 5 \text{ m}$ ,  $v_{Ar} = 34,5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  $v_{H_2} = 2,0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ,  
 $v_{vz} = 5,5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ , velikost dávkovací smyčky  $500 \mu\text{l}$ ,  $t = 950 \text{ }^\circ\text{C}$

#### 4.3.5 Kyselina dusičná

Dále byl připraven roztok selenu v  $0,7 \text{ mol.dm}^{-3} HCOOH$  s přidavkem  $15 \text{ mmol.dm}^{-3} HNO_3$ . Ačkoliv citovaná literatura popisuje výrazné zvýšení signálu, byla absorbance selenu pro tento roztok téměř zanedbatelná. Po měření provedeném v režimu CFA, byla původní domněnka, že by k potlačení signálu mohlo docházet v důsledku dávkování pomocí FIA ventilu, zamítnuta. Byly proto připraveny roztoky  $Se^{+IV}$  v  $HCOOH$  s přidavkem  $HNO_3$  o nižších koncentracích. Z grafu na Obr. 12 bylo zjištěno, že s koncentrací  $0,125 \text{ mmol.dm}^{-3} HNO_3$  byl signál selenu asi o polovinu vyšší oproti původní hodnotě. Od  $0,250 \text{ mmol.dm}^{-3} HNO_3$  se signál s rostoucí koncentrací této kyseliny ve vzorku dále snižoval.



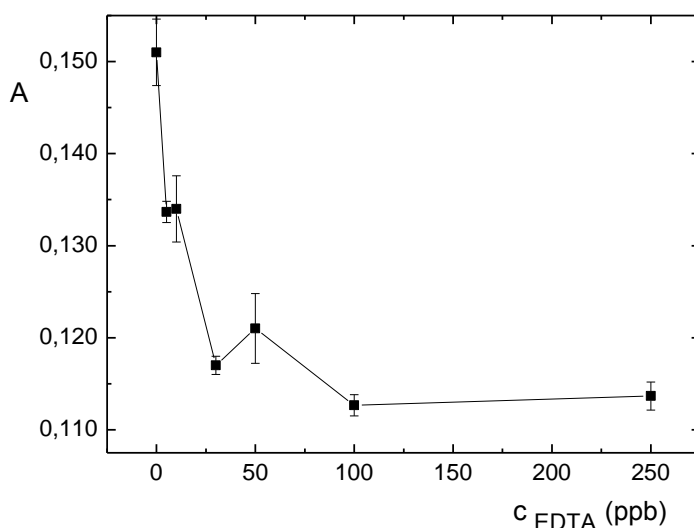
Obr. 12: Závislost absorbance Se na koncentraci kyseliny dusičné

Vzorek: 10 ppb  $\text{Se}^{+IV}$  + 0,7 mol.dm<sup>-3</sup> HCOOH + příslušná koncentrace HNO<sub>3</sub>,  
 blank: 0,7 mol.dm<sup>-3</sup> HCOOH, L = 5 m,  $v_{Ar}$  = 34,5 ml.min<sup>-1</sup>,  $v_{H_2}$  = 2,0 ml.min<sup>-1</sup>,  
 $v_{vz}$  = 5,5 ml.min<sup>-1</sup>, velikost dávkovací smyčky 500  $\mu\text{l}$ , t = 950 °C

## 4.4 Maskování interferentů

### 4.4.1 EDTA- ethylendiamintetraoctová kyselina

Ethylendiamintetraoctová kyselina se v analytické praxi používá velmi často k maskování iontů kovů, navázáním do pevných komplexů. Ačkoliv by se mohla tato látka jevit jako užitečná, po důkladném proměření závislosti absorbance selenu na koncentraci EDTA v roztocích 10 ppb  $\text{Se}^{+IV}$  bylo zjištěno, že se sama stává výrazným interferentem (Obr. 13). Interferuje již od koncentrace 5 ppb. Příčinou by mohlo být, že EDTA váže do tak pevného komplexu i  $\text{Se}^{+IV}$ .

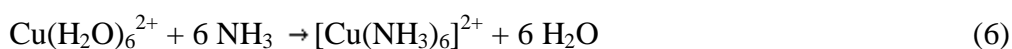


Obr. 13: Závislost absorbance Se na koncentraci EDTA

Vzorek: 10 ppb  $\text{Se}^{+IV}$  + 0,7 mol.dm<sup>-3</sup> HCOOH + příslušná koncentrace EDTA,  
blank: 0,7 mol.dm<sup>-3</sup> HCOOH, L= 5 m,  $v_{Ar}$ = 34,5 ml.min<sup>-1</sup>,  $v_{H_2}$ =2,0 ml.min<sup>-1</sup>,  
 $v_{vz}$ = 5,5 ml.min<sup>-1</sup>, velikost dávkovací smyčky 500  $\mu$ l, t= 950 °C

### 4.4.2 Mravenčan amonný

K maskování měďnatých iontů lze použít mravenčan amonný, protože tyto ionty reagují s amoniakem dle rovnice uvedené níže za vzniku hexaammin- měďnatého komplexu (6)<sup>19</sup>.



Na přípravu maskovacího činidla bylo proto použito šestinásobné množství mravenčanu amonného, z důvodu zachování stechiometrie. Z experimentálních údajů

byla určena průměrná absorbance ze tří měření pro samotný roztok  $\text{Se}^{+IV}$ , roztok  $\text{Se}^{+IV}$  s interferentem, roztok  $\text{Se}^{+IV}$  s interferentem a maskovacím činidlem a nakonec roztok  $\text{Se}^{+IV}$  s mravenčanem amonným. Pro lepší porovnání byla vytvořena Tab. 2, v které byly všechny údaje převedeny na procenta. Z výsledků vyplývá, že mravenčan amonný nelze použít jako maskovací činidlo pro měďnaté ionty. Pravděpodobným důvodem může být použitá technika UV-generování, při které dochází k rozrušení hexaammin měďnatého komplexu. Pro ověření tohoto předpokladu byla vyhledána v tabulkách hodnota dekadického logaritmu konstanty stability ( $\log K_s[\text{Cu}(\text{NH}_3)_6]^{2+} = 13,08$ )<sup>20</sup>.

**Tab. 2: Vliv  $\text{NH}_3$  na signál Se s  $\text{Cu}^{2+}$  a bez interferentu**

Složení roztoku (+ $0,7 \text{ mol.dm}^{-3}$ HCOOH)	Průměrná absorbance	%
10 ppb $\text{Se}^{+IV}$	0,166	100,0
10 ppb $\text{Se}^{+IV}$ + 100 ppb $\text{Cu}^{+II}$	0,110	66,2
10 ppb $\text{Se}^{+IV}$ + 100 ppb $\text{Cu}^{+II}$ + 600 ppb Mravenčan amonný	0,106	63,8
10 ppb $\text{Se}^{+IV}$ + 600 ppb Mravenčan amonný	0,170	102,4

#### 4.4.3 TEA

Dle internetových zdrojů se k maskování kobaltu používá látka triethanolamin<sup>21,22</sup>. Před začátkem experimentu byla určena průměrná absorbance samotného  $\text{Se}^{+IV}$  generovaného v prostředí  $0,7 \text{ mol.dm}^{-3}$  roztoku HCOOH. Poté byla změřena průměrná absorbance  $\text{Se}^{+IV}$  s interferentem a průměrná absorbance  $\text{Se}^{+IV}$  s interferentem a triethanolaminem. Zároveň bylo zjištěno, že toto maskovací činidlo lze bez problémů použít, neboť samo neinterferuje. Výsledky byly přehledně zapsány do Tab. 3.

**Tab. 3: Vliv TEA na signál Se s  $\text{Co}^{2+}$  a bez interferentu**

Složení roztoku (+ $0,7 \text{ mol.dm}^{-3}$ HCOOH)	Průměrná absorbance	%
10 ppb $\text{Se}^{+IV}$	0,172	100,0
10 ppb $\text{Se}^{+IV}$ + 100 ppb $\text{Co}^{+II}$	0,153	88,9
10 ppb $\text{Se}^{+IV}$ + 100 ppb $\text{Co}^{+II}$ + 200 ppb TEA	0,175	101,7
10 ppb $\text{Se}^{+IV}$ + 200 ppb TEA	0,169	98,3

## 5. Závěr

Byl zkoumán vliv  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{As}^{3+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  a  $\text{HNO}_3$  při stanovení  $\text{Se}^{+IV}$  v prostředí kyseliny mravenčí pomocí techniky UV-fotochemického generování těkavých specií s AAS detekcí.

Nejprve byla provedena optimalizace těchto experimentálních podmínek: délka reakční cívky, průtoková rychlost argonu, průtoková rychlost vodíku, rychlost čerpání vzorku a velikost dávkovací smyčky. Poté byl sestrojen graf kalibrační závislosti pro  $\text{Se}^{+IV}$ , z jehož lineární části byla odečtena hodnota citlivosti ( $0,011 \text{ ppb}^{-1}$ ). Taktéž byla určena mez detekce ( $0,9 \text{ ppb}$ ), mez stanovitelnosti ( $3,1 \text{ ppb}$ ) a opakovatelnost ( $4,6 \%$ ) charakterizující metodu stanovení  $\text{Se}^{+IV}$  pomocí UV-HG-AAS.

Pro každý interferent byl vždy sestrojen graf závislosti absorbance při různých koncentracích příslušného interferentu v roztoku  $10 \text{ ppb Se}^{+IV}$ . Všechny vybrané látky byly shledány výraznými interferenty, neboť ovlivňovaly signál selenu.

Nejvýznamnějším negativním interferentem jsou ionty  $\text{Cu}^{2+}$  interferující od  $30 \text{ ppb}$ , dále pak následují  $\text{Ni}^{2+}$  interferující od  $100 \text{ ppb}$  a  $\text{As}^{3+}$  interferující od  $200 \text{ ppb}$ . Kyselina dusičná působila jako významný pozitivní interferent do koncentrace  $0,125 \text{ mmol.dm}^{-3}$  ve vzorku. S vyššími koncentracemi  $\text{HNO}_3$  byl pozorován výrazný pokles signálu selenu. Kobaltnaté ionty nelze jednoznačně zařadit ani mezi pozitivní ani negativní interferenty, neboť při nižších koncentracích sílu signálu snižovaly, naopak ve vyšších koncentracích bylo pozorováno zesílení velikosti odezvy.

Důležitou součástí práce bylo dále zkoušení maskování vybraných interferentů. Po provedení různých experimentů, lze konstatovat, že EDTA není vhodným maskovacím činidlem. K maskování mědi nemůže být použit ani mravenčan amonný, neboť vzniklý komplex není stabilní během procesu UV-fotochemického generování, ale lze úspěšně maskovat kobalt pomocí triethanolaminu.

## 6. Použitá literatura

- <sup>1</sup> Merckmillipore: *Atomová spektroskopie – analytický princip*. Dostupné z URL: <[http://www.merckmillipore.cz/chemicals/the-analytical-principle/c\\_K2eb.s1OFCYAAAEdye1RbT2M](http://www.merckmillipore.cz/chemicals/the-analytical-principle/c_K2eb.s1OFCYAAAEdye1RbT2M)> [cit. 19.7.2013]
- <sup>2</sup> Guo, X., R. E. Sturgeon, Z. Mester, G. J. Gardner. Vapor generation by UV irradiation for sample introduction with atomic spectrometry. *Analytical Chemistry* **76**, s. 2401-2405 (2004) ISSN: 0003-2700. DOI: 10.1021/AC0353536.
- <sup>3</sup> Wu, Peng, L. He, Ch. Zheng, X. Hou, R. E. Sturgeon. Applications of chemical vapor generation in non-tetrahydroborate media to analytical atomic spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **25**, s. 1217-1246 (2010) ISSN:0267-9477. DOI: 10.1039/C003483E.
- <sup>4</sup> García, M., R. Figueroa, I. Lavilla a C. Bendicho. On-line photoassisted vapour generation implemented in an automated flow-injection/stopped-flow manifold coupled to an atomic detector for determination of selenium. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **21**, s. 582-587 (2006) ISSN 0267-9477. DOI: 10.1039/B601650B.
- <sup>5</sup> Sturgeon, R. E., P. Grindberg. Some speculations on the mechanisms of photochemical vapor generation. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **27**, s. 222-231 (2012) ISSN 0267-9477. DOI: 10.1039/C2JA10249H.
- <sup>6</sup> Zheng, Ch., Q. Ma, L. Wu, X. Hou, R. E. Sturgeon. UV photochemical vapor generation–atomic fluorescence spectrometric determination of conventional hydride generation elements. *Microchemical Journal* **75**, s. 32-37 (2010) ISSN: 0026-265X. DOI:10.1016/j.microc.2009.09.010.
- <sup>7</sup> Encyklopedia of analytical science (svazek č. 8). London Academic press 2007
- <sup>8</sup> Casarett, L. J., J. Doull, C. D Klassen. Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons. 7th ed. New York: McGraw-Hill, 2008
- <sup>9</sup> Handbook on the Toxicology of Metals. 3rd Ed. G.F. Nordberg, B. A. Fowler, M. Nordberg , L. T. Frisberg (Eds.) Elsevier 2007
- <sup>10</sup> Fordyce, M. F.: Selenium Deficiency and Toxicity in the Enviroment. In: *Essentials of Medical Geology*. O. Selinus (Ed.) NERC 2013, s. 375-416



- <sup>11</sup> Capelo, J.L., C. Fernandez, B. Pedras, P. Santos, P. Gonzalez, C. Vaz. Trends in selenium determination/speciation by hyphenated techniques based on AAS or AFS. *Talanta* **68**, s. 1442–1447 (2006) ISSN:0039-9140. DOI:10.1016/j.talanta.2005.08.027.
- <sup>12</sup> Takanati, T., N. Fitzgerald, J.M. Galbraith. Proposed reaction mechanisms for selenium UV photolysis vapor generation by computational methods. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **388**, s. 859–862 (2007) ISSN: 1618-2650. DOI: 10.1007/s00216-006-0742-5.
- <sup>13</sup> He, Y., X. Hou, Ch. Zheng, R. E. Sturgeon. Critical evaluation of the application of photochemical vapor generation in analytical atomic spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **388**, s. 769–774 (2007) ISSN:1618-2650. DOI: 10.1007/S00216-006-1044-7.
- <sup>14</sup> Zheng, Ch., L. Wu, Q. Ma, Y. Lv., X. Hou. Temperature and nano-TiO<sub>2</sub> controlled photochemical vapor generation for inorganic selenium speciation analysis by AFS or ICP-MS without chromatographic separation. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **23**, s. 514-520 (2008) ISSN: 0267-9477. DOI: 10.1039/B713651J.
- <sup>15</sup> Shiundu, M. P., Wade, A. P.: Development of Catalytic Photometric Flow Injection Methods for the Determination of Selenium. *Analytical Chemistry* **63**,s.692-699 (1991) ISBN: 0003-2700. DOI: 10.1021/ac00007a009.
- <sup>16</sup> GUO, X., R. E. STURGEON, Z. MESTER, G. J. GARDNER. Photochemical Alkylation of Inorganic Selenium in the Presence of Low Molecular Weight Organic Acids. *Environmental Science* **37**, s. 5645-5650 (2003). ISSN 0013-936X. DOI: 10.1021/es034418j.
- <sup>17</sup> Guo, X., R E. Sturgeon, Z. Mester, G.J. Gardner. UV light-mediated alkylation of inorganic selenium *Applied Organometallic Chemistry*. **17**, s. 575-579 (2003) ISSN: 0268-2605. DOI: 10.1002/aoc.473.
- <sup>18</sup> Guo, X., R E. Sturgeon, Z. Mester, G. J. Gardner. UV Vapor Generation for Determination of Selenium by Heated Quartz Tube Atomic Absorption Spectrometry. *Analytical Chemistry* **75**, s. 2092-2099 (2003) ISSN:0003-2700. DOI: 10.1021/ac020695h.
- <sup>19</sup> Coordination complexes:Coper-amonnia complex ion. Dostupné z URL: <<http://www.chem1.com/acad/webtext/chembond/cb09.html>> [cit. 5.8.2013]

- <sup>20</sup> Royal Society of Chemistry. Data Book: *Stability Constants for Metal Ion Complexes*. Dostupné z URL: <<http://www.chemsoc.org/networks/learnnet/data.htm>> [cit. 8.8.2013]
- <sup>21</sup> Bukhari, N., M. A. Chaudry, M. Mazhar. Cobalt(II) transport through triethanolamine–cyklohexanone supported liquid membranes. *Journal of Membrane Science* **234**, s. 157-165 (2004) ISSN: 0376-7388. DOI:10.1016/j.memsci.2003.12.027.
- <sup>22</sup> Hana, H., J. Zhoua, Y Xua, Ch. Jiaa, H Xiaa, Y. Wanga. Determination of Water-Soluble and Acid-Soluble Zinc in Soils by Flame Atomic Absorption Spectrometry after Cloud Point Extraction. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **43**, s. 2389-2399 (2012) ISSN: 1532-2416. DOI:10.1080/00103624.2012.708072.