UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza

Jakub Šoukal

Generování těkavých specií mědi pro atomovou absorpční spektrometrii

Generation of volatile species of copper for atomic absorption spectrometry

Bakalářská práce

Praha 2015

Vedoucí práce: RNDr. Stanislav Musil, Ph.D.

Konzultanti: RNDr. Jakub Hraníček, Ph.D., prof. RNDr. Jiří Dědina, DSc.

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 …….....

……

Jakub Šoukal

Poděkování

Rád bych vyjádřil poděkování všem, kteří mi pomohli s vypracováním této bakalářské práce.

Konkrétně bych rád poděkoval svému vedoucímu práce RNDr. Stanislavu Musilovi, PhD., za jeho vedení a trpělivost při praktickém měření i písemném zpracování bakalářské práce. Dále bych rád poděkoval svým konzultantům RNDr. Jakubu Hraníčkovi, Ph.D. a prof. RNDr. Jiřímu Dědinovi, DSc., kteří mi umožnili vypracovávat tuto bakalářskou práci na Ústavu analytické chemie AV ČR, v. v. i., a všem ostatním pracovníkům na oddělení stopové prvkové analýzy Ústavu analytické chemie AV ČR, v. v. i.

Rovněž děkuji Programu interní podpory projektů mezinárodní spolupráce AV ČR (M200311202), GAČR (P206/14-23532S) a výzkumnému záměru Ústavu analytické chemie AV ČR, v. v. i. (RVO: 68081715) za finanční podporu.

Abstrakt

Tato práce se zabývá optimalizací podmínek chemického generování těkavých specií mědi pro atomovou absorpční spektrometrii. Těkavé specie mědi byly generovány v průtokovém uspořádání ve speciálním generátoru reakcí okyseleného vzorku s roztokem tetrahydridoboritanu sodného za přítomnosti reakčních modifikátorů. Difúzní plamen byl použit jako atomizátor těkavých specií mědi díky jeho vysoké robustnosti. Nejprve byla provedena optimalizace všech parametrů ovlivňujících atomizaci v difúzním plamenu (průtoky a složení plynů, pozorovací výška). V další části byly optimalizovány koncentrace jednotlivých reakčních složek pro chemické generování těkavých specií, zejména koncentrace kyseliny dusičné, tetrahydridoboritanu sodného a reakčních modifikátorů. Triton X-100 a Antifoam B byly vybrány jako nejlepší kombinace modifikátorů vzhledem k trojnásobnému zvýšení citlivosti, omezení chvostování měřených signálů a kvůli dlouhodobé opakovatelnosti. Pro ostatní testované reakčních modifikátory nebyl pozorován žádný výrazný pozitivní vliv na citlivost měření. Meze detekce a stanovitelnosti byly určeny na 62 mg dm^{-3} a 208 mg dm^{-3}. Opakovatelnost metody pro koncentraci 2,5 mg dm^{-3} činila 2,4 %.

Klíčová slova

měď, chemické generování těkavých specií, atomová absorpční spektrometrie

Abstrakt

This thesis deals with optimization of conditions of chemical generation of volatile species of copper for atomic absorption spectrometry. The volatile species of copper were generated in the flow arrangement in a special generator by the reaction of the acidified sample with the solution of sodium borohydride in the presence of reaction modifiers. A diffusion flame was used as the atomizer of volatile species of copper due to its high robustness. First, all the parameters affecting atomization in the diffusion flame were optimized (flow rates and composition of gases, observation height). In the next section, concentration of individual reagents for chemical generation of volatile species was optimized, especially the concentration of nitric acid, sodium borohydride and reaction modifiers. Triton X-100 and Antifoam B were chosen as the best combination of modifiers with respect to threefold increase in sensitivity, tailing of measured signals and because of long-term repeatability. There was not observed any significant positive effect on the sensitivity of measurement for other tested reaction modifiers. The limits of detection and quantification were 62 mg dm^{-3} and 208 mg dm^{-3}, respectively. The repeatability of this method for concentration 2,5 mg dm^{-3} was 2,4%.

Key words

copper, chemical generation of volatile species, atomic absorption spectrometry

Obsah

1. Seznam zkratek 8
2. Úvod 9
2.1. Cíle práce 9
3. Teoretická část 10
3.1. Atomová absorpční spektrometrie 10
3.2. Generování těkavých specií 10
3.2.1. Chemické generování těkavých specií 11
3.2.1.1. Generování hydridů 12
3.2.1.2. Generování těkavých specií přechodných kovů 12
3.2.1.3. Generování těkavých specií mědi 13
3.3. Přístupy ke generování těkavých specií 14
3.3.1 Průtokové uspořádání 14
3.3.1.1. Průtoková injekční analýza 14
3.3.1.2. Kontinuální průtoková analýza 15
3.3.2. Dávkové uspořádání 15
3.3.3. Kolekční uspořádání 15
3.4. Atomizace těkavých specií 16
3.4.1. Difúzní plamen 16
3.4.2. Křemenný atomizátor 17
3.4.3. Grafitový atomizátor 18
3.4.4. Dielektrický bariérový výboj 19
3.5. Interference 19
3.6. Měď 20
4. Experimentální část 22
4.1. Chemikálie 22
4.2. Přístroje 23
4.3. Systém pro generování a atomizaci těkavých specií Cu 24

4.3.1. Použité součásti systému 24
4.3.2. Generátor těkavých specií 24
4.3.3. Atomizátor těkavých specií 26
4.4. Permanentní modifikace generátoru 27
4.5. Popis měření 27
4.6. Zpracování naměřených dat 28
4.6.1. Zpracování signálu a software 28
4.6.2. Statistické hodnocení výsledků 28
4.6.3. Mez detekce a stanovitelnosti, opakovatelnost metody 29
5. Výsledky a diskuze 30
5.1. Vliv parametrů ovlivňující atomizaci v DF 30
5.1.1. Vliv průtoků plynů 30
5.1.1.1 Vliv průtoku H_2 do generátoru 30
5.1.1.2. Vliv průtoku Ar do generátoru 31
5.1.1.3. Optimalizace směsi plynů 32
5.1.2. Pozorovací výška 33
5.1.3. Shrnutí vlivů jednotlivých parametrů na atomizaci v DF 34
5.2. Optimalizace podmínek generování 34
5.2.1. Optimalizace koncentrace $NaBH_4$ 35
5.2.2. Optimalizace koncentrace HNO_3 36
5.2.3. Reakční modifikátory 37
5.2.3.1. Vliv Pd jako permanentního modifikátoru 37
5.2.3.2. Optimalizace koncentrací Tritonu X-100 a Antifoam B 38
5.2.3.3. Optimalizace koncentrace Tween 20 40
5.2.3.4. Další reakční modifikátory 41
5.2.4. Shrnutí podmínek generování a vliv reakčních modifikátorů 43
5.3. Analytické charakteristiky 44
6. Závěr 46
7. Literatura 48

1. Seznam zkratek

A	absorbance
AAS	atomová absorpční spektrometrie
c	molární koncentrace
CFA	kontinuální průtoková analýza
cm	centimetr
DBD	dielektrický bariérový výboj
DDTC	diethyldithiokarbamát sodný
DF	difúzní plamen
dm	decimetr
EHQTA	externě vyhřívaný křemenný atomizátor
ETA-AAS	elektrotermická atomizace ve spojení s AAS
F	průtok
F-AAS	plamenová atomizace ve spojení s AAS
FIA	průtoková injekční analýza
FIT	plamínek v křemenné trubici
FWHM	šířka píku v polovině výšky
LOD	mez detekce
LOQ	mez stanovitelnosti
mA	miliampér
mg	miligram
min	minuta
mm	milimetr
nm	nanometr
OH	pozorovací výška
s	sekunda
sd	směrodatná odchylka
sd_{blank}	směrodatná odchylka slepého pokusu
t	čas
VSG	generování těkavých specií
β_{tr}	účinnost transportu těkavé specie v plynné fázi
β_{vol}	účinnost konverze analytu na těkavou specii a jejího uvolnění z kapalné do plynné fáze
β_{VSG}	účinnost generování těkavých specií
$\tilde{x}$	medián
$\bar{x}$	průměr

2. Úvod

Chemické generování těkavých specií přechodných kovů za použití tetrahydridoboritanu sodného v kyselém prostředí ve spojení s atomovou absorpční spektrometrií navazuje na metodu chemického generování hydridů klasických hydridotvorných prvků. Metoda je založená na generování těkavé specie, která je oddělena od kapalné matrice vzorku, a jejím následným transportem do atomizátoru, resp. detektoru. Oproti klasickému chemickému generování hydridů poskytuje tato metoda znatelně nižší účinnosti generování, tedy účinnosti přivedení analytu ve formě těkavé specie do atomizátoru/detektoru. Pro zlepšení této účinnosti bylo v průběhu několika let popsáno využití nejrůznějších reakčních modifikátorů. U této metody visí několik otazníků, mezi které se řadí především neznámý mechanismus generování a neznámá povaha výsledných těkavých produktů. Vývoj analytických metod založených na chemickém generování těkavých specií přechodných kovů a zkoumání mechanismů generování je již několik let jedním ze záměrů detašovaného pracoviště - oddělení stopové prvkové analýzy Ústavu analytické chemie AV ČR, v. v. i. Právě na tomto pracovišti jsem dostal možnost podílet se na projektu zabývajícím se optimalizací chemického generováním těkavých specií.

2.1. Cíle práce

Hlavním cílem této práce byla (i) optimalizace podmínek chemického generování těkavých specií mědi v generátoru vyvinutém kolegy z Ústavu analytické chemie AV ČR, v. v. i. a (ii) ověření vlivu různých reakčních modifikátorů popsaných v literatuře pro dosažení co nejvyšších účinností generování.

3. Teoretická část

3.1. Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie (AAS) je založena na selektivní absorpci elektromagnetického záření volnými atomy stanovovaného prvku. Patří k základním metodám stopové a ultrastopové prvkové analýzy. Vyniká vysokou citlivostí a specifitou při nízkých pořizovacích a provozních nákladech. Aby mohlo být záření charakteristické pro daný prvek absorbováno, musí být analyt převeden do stavu volných atomů v základním stavu. Tento děj se nazývá atomizace a provádí se v atomizátoru. Právě na typu atomizátoru a způsobu vnášení vzorku jsou založeny různé techniky AAS: plamenová (F-AAS) a elektrotermická atomizace (ETA-AAS) a technika generování těkavých specií (VSG) ve spojení s AAS (VSG-AAS)[1].

3.2. Generování těkavých specií

V této technice je nejprve analyt převeden z kapalné fáze na těkavou specii, která je následně přivedena do detektoru v plynné fázi. Proces generování, které se provádí v generátoru, je tedy složen z těchto následných procesů: konverze analytu na těkavou specii, její uvolnění z roztoku do plynné fáze a transport uvolněné těkavé specie proudem nosného plynu do atomizátoru. Použití VSG nabízí oproti technice zmlžování roztoku vzorku několik výhod. Analyt je oddělen od matrice vzorku. Díky vysoké účinnosti transportu zplyněného analytu je podstatně více analytu přivedeno do atomizátoru. VSG dále umožňuje snadnou kolekci a prekoncentraci analytu z plynné fáze. Analyt ve formě těkavé specie může být rovněž snadněji atomizován bez nutnosti extrémních podmínek v podobě vysoké teploty. Velký potenciál metody VSG spočívá také ve speciační analýze stopových prvků[2].

Charakteristickou veličinou generování těkavých specií je účinnost generování (β_{VSG}), která významně ovlivňuje citlivost. Je definována jako porce z celkového množství analytu zavedeného do generátoru, která dorazí v plynné fázi až do atomizátoru. Podle výše uvedených odstavců je patrné, že celková β_{VSG} je závislá na tvorbě a uvolnění těkavé specie z kapalné fáze a na jejím transportu do atomizátoru:

$$\beta_{VSG} = \beta_{vol} \cdot \beta_{tr} \qquad (1)$$

kde β_{vol} je účinnost konverze analytu na těkavou specii a jejího uvolnění z kapalné do plynné fáze a β_{tr} je účinnost transportu těkavé specie v plynné fázi[3].

Mezi nejpopulárnější analyticky využitelné těkavé specie patří v současnosti hydridy „klasických" hydridotvorných prvků, jakými jsou As, Bi, Ge, Pb, Sb, Se, Sn a Te. Rtuť a někdy se také uvádí i kadmium, bývají generovány ve formě studených par. Vedle binárních hydridů a studených par byly pro analytické účely využity i další těkavé specie prvků, například alkyl deriváty (např. $(C_2H_5)_4Pb$), cheláty, těkavé halogenidy (např. $GeCl_4$), či oxidy (OsO_4). Využívá se i generování těkavých karbonylů (např. $Ni(CO)_4$)[4].

Těkavé specie mohou být obecně generovány různými způsoby. Rozlišujeme elektrochemické, fotochemické a chemické generování.

Elektrochemické generování se provádí v elektrochemická cele, která obsahuje katodový a anodový prostor. Tyto prostory jsou často odděleny různými materiály, jako je skleněná frita, porézní keramická trubice nebo iontově výměnná membrána. Elektrochemické generování těkavých specií funguje na principu průchodu elektrického proudu minerální kyselinou se vzorkem a redukci analytu na povrchu katody a tvorbě těkavé specie, nejčastěji hydridu[5].

Fotochemické generování těkavých specií je nejmladší metoda, která je založena na působení UV záření na vzorek analytu v přítomnosti organických kyselin (mravenčí, octová, propionová). UV záření z rtuťové výbojky fotolyticky rozkládá organické kyseliny a vzniklé reaktivní volné radikály redukují analyt za tvorby těkavých specií (hydridy, karbonyly či alkyl deriváty)[6].

Posledním a nejčastějším způsobem generování těkavých specií zůstává metoda založená na chemické reakci analytu s redukčním činidlem, o kterém je pojednáno v dalších kapitolách.

3.2.1. Chemické generování těkavých specií

Tradiční chemické generování těkavých specií může být rozděleno na několik podskupin podle činidla, které se používá k redukci stanovovaných iontů analytu za vzniku různých těkavých specií. Patří sem zejména generování hydridů a dalších specií pomocí reakce s tetrahydridoboritanem sodným ($NaBH_4$).

3.2.1.1. Generování hydridů

Již v 19. století se evidují záznamy o vytvoření kovalentních těkavých hydridů pro prvky čtvrté, páté a šesté hlavní skupiny. Velmi známým způsobem generování těkavých hydridů pro důkaz jedovatého arsenu byla tzv. „Marsh-Liebigova reakce“, která využívala reakci kovu (Zn) s kyselinou (HCl)[7]. Pro potřeby AAS bylo však generování hydridů zavedeno až kolem roku 1970, aby se překonaly problémy spojené se stanovením arsenu a selenu ve F-AAS[8]. Dnes téměř výhradně užívaný způsob generování hydridů je založen na reakci analytu s $NaBH_4$ v prostředí minerálních kyselin. Reakci popisuje následující rovnice[9]:

$$BH_4^- + 3H_2O + H^+ \rightarrow H_3BO_3 + 8H\cdot \quad (2)$$

$$A^{m+} + (m+n)H\cdot \rightarrow AH_n + mH^+ , \quad (3)$$

kde *m* je mocenství analytu v roztoku a *n* ve vzniklém hydridu. V posledních letech se však ukázalo, že mechanismus redukce analytu probíhá poměrně složitým způsobem, kdy $NaBH_4$ podléhá postupné hydrolýze a produkty této hydrolýzy následně redukují analyt na odpovídající hydrid[10]. Jako tzv. minerální kyseliny se používají hlavně HCl nebo HNO_3.

3.2.1.2. Generování těkavých specií přechodných kovů

V roce 1996 Sturgeon a kol.[11] zveřejnili práci, ve které ukázali, že je možné reakcí s $NaBH_4$ v kyselém prostředí generovat i těkavé specie mědi. Od té doby se stejnou reakcí zdárně podařilo generovat těkavé specie i dalších přechodných kovů: Ag, Au, Co, Cr, Fe, Ir, Mn, Mo, Ni, Os, Pd, Pt, Rh, Ru, Ti a Zn[12].

Roku 2003 vyšla studie[13], která se snažila popsat generování těkavých specií přechodných kovů a úlohu jednotlivých reagencí. Bylo zjištěno, že vliv kyseliny při generování je odlišný na každý prvek. Kyselina může omezovat tzv. paměťové efekty, nebo zvyšovat množství vytvořeného aerosolu kvůli zvýšené intenzitě hydrolýzy $NaBH_4$. $NaBH_4$ však stejně jako u konvenčního generování hydridů zapříčiňuje přeměnu analytu na těkavé specie[13]. Nicméně, přesný mechanismus reakce není znám a dlouhou dobu nebylo ani jasné, jakou povahu mají těkavé produkty, které lze detekovat metodami analytické atomové spektrometrie. Až v roce 2009 Musil a kol.[14]

experimentálně prokázali přítomnost nanočástic v plynné fázi při chemickém generování těkavých specií stříbra, což bylo následně potvrzeno i pro generování těkavých specií zlata[15].

Většímu rozšíření této metody brání především časté paměťové efekty, nízká opakovatelnost a reprodukovatelnost a doposud stále nízká β_{VSG}. Pro zvýšení účinnosti se proto používají různé reakční modifikátory. Jmenuji jen ty nejčastější: 8-hydroxychinolin, 1,10-fenantrolin, diethyldithiokarbamát (DDTC), povrchově aktivní látky (Triton X-100), iontové kapaliny či jiné kovy (např. Pd a Co), které jsou permanentně navázány na stěnách generátoru či jsou generovány s analytem. Mechanismus jejich účinku je nejasný, patrně brání shlukování nanočástic ve větší agregáty, které se zachytávají na stěnách generátoru či ovlivňují povrchové napětí v reakční směsi a podporují uvolnění z kapalné fáze. Přítomnost jiných kovů zřejmě urychluje rozklad $NaBH_4$, a tím zvyšuje β_{VSG}. Avšak i s použitím všech výše uvedených reakčních modifikátorů se dosahuje podstatně nižších β_{VSG} (obvykle do 30 %) než u metody generování hydridů (100 %)[16,17,18,19,20].

3.2.1.3. Generování těkavých specií mědi

Jak již bylo uvedeno výše, první úspěšné generování těkavých specií mědi bylo provedeno Sturgeonem a kol.[11] V této práci se mimo jiné zabývali optimalizací koncentrací a vlivů minerálních kyselin. V pozdější vědecké práci Luny a kol.[21] z roku 2000 bylo ukázáno, že HNO_3 vykazovala nižší signál (až o 20 %) oproti HCl. Pro VSG mědi byl zkoumán vliv i jiných anorganických nebo organických kyselin jako H_2SO_4, H_3PO_4, HCOOH, CH_3COOH nebo CH_3CH_2COOH[22]. Nicméně obecně se nedá ze všech existujících studií jasně určit optimálnější kyselina pro VSG mědi.

Pro zlepšení β_{VSG} mědi He a kol.[18] použili 1,10-fenantrolin, který zvýšil signál přibližně 12krát. Podobné chování popsal i Zheng a kol.[22] Mezi další modifikátory patří 8-hydroxychinolin, který byl použit v kombinaci s kobaltem[16,17]. V roce 2008 byly prvně vyzkoušeny Zhangem a kol.[20] iontové kapaliny jako modifikátory pro VSG mědi. V tomto výzkumu byl konkrétně použit N-butylpyridinium tetrafluoroboritan a bylo dokázáno, že signál při přidání optimálního množství se zvýšil téměř 10krát. Autoři předpokládali vznik Cu nanočástic jako těkavých specií a tento modifikátor měl zamezit dalšímu shlukováním ve větší agregáty[20]. V nedávné minulosti Stanisz a kol.[19] použili

další iontové kapaliny a v kombinaci s DDTC popsali jejich pozitivní vliv pro VSG mědi.

Obecně existuje velmi málo prací, v kterých by bylo využito VSG pro stanovení přechodných kovů v reálných vzorcích. Měď je jedním z prvků přechodných kovů, pro které bylo popsáno využití VSG pro její stanovení v rozmanitých matricích. Duan a kol. například použili VSG pro stanovení mědi v oceli[23], He a kol. ve vzorcích hovězích jater a listu topolu[18], Zheng a kol. v říční a mořské vodě a ve vzorcích živočišných tkání[22], Zhang a kol. v čaji a listech broskve[20], Stanisz a kol. ve vzorcích půd a sedimentů[19] a Silva a kol. v částicích polétavého prachu z průmyslových oblastí v Brazílii[24].

3.3. Přístupy ke generování těkavých specií

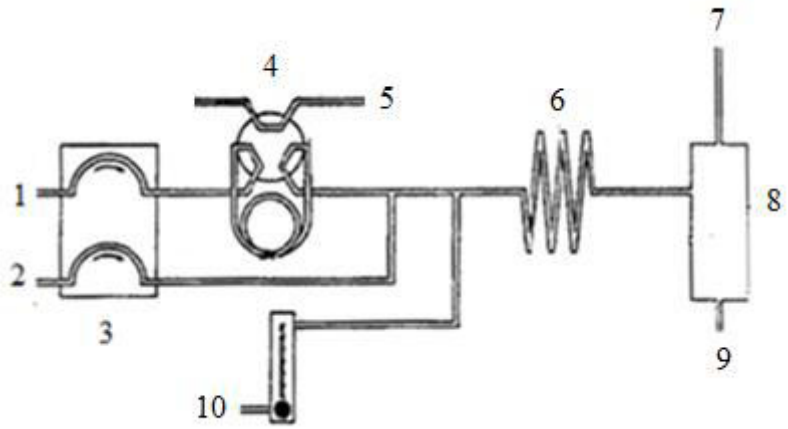
VSG může být obecně realizováno dvěma způsoby – přímým přenosem či s využitím kolekce. Metody přímého přenosu se dají dále rozdělit na metody v uspořádání dávkovém či průtokovém[25]. Blíže jsou jednotlivé metody popsány pro chemický způsob generování v následujících kapitolách.

3.3.1 Průtokové uspořádání

Toto uspořádání zahrnuje dva způsoby generování, které jsou založené na velice podobném principu. Tyto metody se nazývají průtoková injekční analýza (FIA) a kontinuální průtoková analýza (CFA)[25].

3.3.1.1. Průtoková injekční analýza

Princip této metody (obr. 3.1) je založen na kontinuálním průtoku reakčních složek a nadávkování vzorku dávkovacím ventilem do nosiče (kyseliny), který vzorek dále unáší aparaturou. Následně se vzorek smíchá s redukčním činidlem a proud nosného plynu odvádí směs do separátoru fází, kde je vzniklá těkavá specie oddělena od kapalné fáze a vedena dále do atomizátoru[25]. V tomto uspořádání se měří výška či plocha píku.



Obrázek 3.1 – schéma FIA[25] – 1 – nosič, 2 – redukční činidlo, 3 – peristaltické čerpadlo, 4 – dávkovací ventil, 5 – vzorek, 6 – reakční cívka, 7 – atomizátor, 8 – separátor fází, 9 – odpad, 10 – nosný plyn

3.3.1.2. Kontinuální průtoková analýza

Rozdíl v CFA oproti FIA je, že vzorek není dávkován dávkovacím ventilem, nýbrž průtok vzorku je kontinuální. Vlastní měření je založeno na střídání zavadění vzorku a slepého pokusu[25]. Při tomto uspořádání se pracuje nejčastěji s výškou signálu po ustálení.

3.3.2. Dávkové uspořádání

V dávkovém uspořádání je nejvýraznějším prvkem generátor, který slouží zároveň jako separátor fází. Celý objem analyzovaného okyseleného vzorku je umístěn (nadávkován) do generátoru, do něhož je pak peristaltickým čerpadlem či injekční stříkačkou přidán roztok redukčního činidla. Ihned po přidání činidla je plynná fáze odváděna nosným plynem do atomizátoru[25]. V tomto uspořádání se měří výška či plocha píku.

3.3.3. Kolekční uspořádání

Kolekce spočívá v zachycení těkavé specie analytu v určité části aparatury. Až po kompletním vygenerování analytu a jeho zachycení následuje jeho rychlé uvolnění a

transport do atomizátoru. Nejčastěji využívaná je kolekce vymrazováním a kolekce *in situ* přímo v grafitové kyvetě pro ETA-AAS[26].

3.4. Atomizace těkavých specií

Atomizace je proces, při kterém se analyzované prvky převádějí na volné atomy, a provádí se v atomizátoru. Citlivost je závislá na stupni atomizace a na rozložení analytu v celém objemu atomizátoru, resp. v optické dráze. Populace volných atomů je důležitá pro citlivost, jelikož v AAS se měří úbytek záření, který je úměrný koncentraci analytu v atomizačním objemu. Tento vztah vychází z Lambert-Beerova zákona

$$\frac{I}{I_0} = e^{-Nl\varepsilon} \tag{4}$$

kde $\frac{I}{I_0}$ je poměr intenzity prošlého a počátečního záření, N počet volných atomů, l délka absorpčního prostředí a ε je atomový absorpční koeficient[1].

V následujících odstavcích jsou popsány pouze nejčastěji používané atomizátory těkavých specií.

3.4.1. Difúzní plamen

Difúzní plamen (DF) je využíván jako atomizátor v metodě generování hydridů, jeho největší uplatnění je však v metodě atomové fluorescenční spektrometrie[27]. DF se skládá z vertikální trubice, do které je zespoda či z boku přiváděna směs inertního plynu (nejčastěji argonu), vodíku a těkavých specií vygenerovaných ze vzorku[28].

Princip atomizace v DF je takový, že na okraji plamene dochází na základě reakce mezi kyslíkem ze vzduchu a vodíkem k tvorbě vodíkových radikálů. Radikály vodíku pronikají do vnitřních částí plamene, dokonce i do vertikální trubice. Atomizaci hydridotvorných prvků (As) v DF popisují následující reakce[29]:

I. $AsH_3 + H\cdot \rightarrow AsH_2 + H_2$ (5)

II. $AsH_2 + H\cdot \rightarrow AsH + H_2$ (6)

III. $AsH + H\cdot \rightarrow As + H_2$ (7)

Volné atomy se v plamenu pohybují na základě makroskopických pohybů, nebo difúze do vnějšího prostředí. Pokud by v plamenu volné atomy zreagovaly s jinými atomy či molekulami, kvůli velkému nadbytku vodíkových radikálů se zase zatomizují. Následně se volné atomy analytu dostávají k okraji plamene, kde reagují s molekulárním kyslíkem a zanikají[27]. Charakteristickou vlastností DF je nehomogenita teploty uvnitř plamene, která se pohybuje od 150 °C do 1300 °C. Nejnižší teplota se nachází v těsné blízkosti trubice a naopak nejvyšší na okraji plamene, kde probíhají reakce se vzdušným kyslíkem. Kvůli této nehomogenitě je potřeba sledovat závislost citlivosti stanovení na výšce pozorování (OH)[26]. OH může být definována jako vzdálenost spodního okraje optického paprsku z AAS spektrometru nad ústím vertikální trubice DF.

Citlivost metody je založena na optimálním průtoku a složení dodávaných plynů. Průtok plynů má dvojitý účinek. Za prvé lepé chrání volné atomy a za druhé při vyšším průtoku ředí analyt, což vede k nižší citlivosti**.**

DF je uživatelsky jednoduchý a velmi robustní atomizátor. Díky vysoké koncentraci vodíkových radikálů v pozorovaném objemu je i vysoce odolný vůči atomizačním interferencím (viz dále). Nevýhoda ovšem spočívá ve velmi krátkém setrvání analytu v optické dráze vlivem vysokého průtoku plynů, což vede k nižším citlivostem oproti ostatním atomizátorům[27].

3.4.2. Křemenný atomizátor

Existují tři druhy křemenných atomizátorů – plamínek v křemenně trubici (FIT), externě vyhřívaný křemenný atomizátor (EHQTA) a tzv. multiatomizátor. Všechny atomizátory mají podobnou konstrukci, a to tzv. T-trubici. T-trubice se skládá z horizontální optické trubice, která se nachází v optické dráze paprsku z AAS spektrometru, a přívodního ramene, které se používá pro přívod plynů a těkavé specie[27].

U atomizátoru typu FIT je přiváděn kapilárou, umístěnou v přívodním rameni, kyslík do nevyhřívané optické trubice, kde na konci hoří prakticky neviditelný plamínek díky přebytku vodíku. Teplota v atomizátoru obvykle nepřesahuje 100 °C. V plamínku vznikají vodíkové radikály, které tvoří oblak, kde jsou těkavé specie atomizovány[27].

U EHQTA je horizontální optická trubice vyhřívána vzduch-acetylénovým plamenem nebo elektricky. Konce optické trubice jsou otevřené či uzavřené křemennými okénky[26]. Teplota EHQTA je obvykle v rozmezí teplot 800 až 1000 °C. Mechanismus atomizace spočívá v tom, že vlivem vysoké teploty se vytváří vodíkové radikály díky stopám kyslíku, který se do atomizátoru dostane jako kontaminant plynů, z reagencií nebo netěsnostmi v aparatuře. Atomizace probíhá stejnými reakcemi jako u DF (3.4.1.). EHQTA je nejčastěji používaným atomizátorem těkavých specií. Trpí však nízkou odolností vůči atomizačním interferencím a nedostatečnou linearitou kalibračních závislostí. To je způsobené tím, že v podstatné části optické trubice nejsou přítomné vodíkové radikály, protože kyslík je spotřebován na vstupu do optické trubice, a tudíž dochází k zániku volných atomů analytu[27].

Tyto nedostatky mohou být eliminovány použitím tzv. multiatomizátoru, kde podstatnou část optické trubice vyplňují vodíkové radikály. Multiatomizátor je dvouplášťový křemenný atomizátor, jehož horizontální rameno se skládá ze dvou koncentrických trubic (vnitřní a vnější) a je opět zvenčí vyhříváno. Vnitřní, optická trubice má po celé délce otvory, kterými je z meziprostoru mezi vnitřní a vnější trubicí vháněn do optické trubice kyslík (vzduch). Oblaky vodíkových radikálu se vytváří jednak na začátku trubice jako u EHQTA, tak také u všech otvorů v trubici. Tyto další oblaky vodíkových radikálů zajišťují delší setrvání volných atomů v optické dráze a brání zániku volných atomů uvnitř optické trubice, což má za následek lepší lineární dynamický rozsah kalibračních závislostí a vyšší toleranci vůči atomizačním interferencím[27].

3.4.3. Grafitový atomizátor

Pro grafitový atomizátor jsou známé dva přístupy k atomizaci těkavých specií – metoda *online* a *in situ* kolekce. V současné době se metoda *online* téměř nevyužívá kvůli nízké citlivosti metody. Metoda *in situ* kolekce je rozdělena do dvou kroků, při kterých nejprve dochází k zachycení těkavé specie analytu v grafitové kyvetě pro ETA--AAS při teplotě pohybující se mezi 200 – 600 °C. Následné odpaření a atomizace zachyceného analytu je realizováno zvýšením teploty v grafitové kyvetě na teplotu přesahující 2000 °C[27].

3.4.4. Dielektrický bariérový výboj

Dielektrický bariérový výboj (DBD) je atomizátor, ve kterém se generuje netermální plasma mezi dvěma elektrodami, mezi nimiž se nachází dielektrikum. DBD jednotka se obvykle skládá ze dvou proti sobě umístěných skelněných destiček, na jejichž vnější povrch se umisťují měděné elektrody. Těkavé specie se zavádějí do vnitřního prostoru mezi destičkami. Při vloženém vysokém napětí na elektrody se generuje plasma za atmosférického tlaku a vytvořené elektrony o vysoké kinetické energii se sráží s okolními molekulami plynů a vytváří radikály, které atomizují těkavé specie. DBD nabízí řadu výhod, jako je jednoduchost metody a práce při nízkých teplotách[30].

3.5. Interference

Interference v metodě VSG-AAS se dají rozdělit na spektrální a nespektrální[1]. Kvůli separaci analytu od matrice vzorku spektrální interference nepředstavují závažný problémem. V úvahu připadá pouze nespecifická, molekulární absorpce, kterou lze ale snadno kompenzovat. Nespektrální interference se projevují v kapalné a plynné fázi[27].

Interference v kapalné fázi jsou způsobeny změnou v β_{VSG} kvůli některé složce matrice. Nejčastěji interferují přechodné kovy a silná oxidační činidla. U anorganických iontů existuje nespočet možností interferencí a s tím souvisí i neexistující přesný postup jejich odstranění. Obecně se dá říci, že stačí ovlivnit některý parametr generování (změna koncentrace $NaBH_4$, změna pH), nebo použít maskovacího činidla[26].

Zdaleka nejobvyklejším zdrojem interferencí v plynné fázi jsou ostatní těkavé specie. Jejich mechanismus patrně spočívá ve snížení množství vodíkových radikálů potřebných pro atomizaci těkavé specie analytu a také v urychlení zániku volných atomů analytu reakcí s interferentem. Interference v plynné fázi může být dále způsobena těkavými látkami, které unikají z reakční směsi, i drobnými kapičkami rozprášenými při reakci v generátoru. Eliminovat tyto interference lze několika způsoby, jako je přidání činidla, které ovlivňuje generování těkavých složek interferentu ale nikoli analytu, změna podmínek generování nebo maskování interferentu[26].

3.6. Měď

Měď podle periodického systému prvků patří do I.B skupiny společně s prvky zlatem (Au) a stříbrem (Ag). Anglický název (copper) a symbol (Cu) byly odvozeny od latinského aes cyprium, později cuprum, jelikož první surová měď byla nalezena na Kypru. Měď je načervenalý kov s typickými vlastnostmi, jako jsou měkkost a velká kujnost a tažnost[31].

Historicky se prvky I. B skupiny nazývají jako prvky mincovní. První známý způsob výroby mědi bylo redukování rud mědi za použití dřevěného uhlí roku 3500 př. n. l. Oproti tomu první využití se datuje na rok 3000 př. n. l. k přípravě bronzu[31].

Měď je v zemské kůře přítomna poměrně vzácně. Relativní koncentrace v zemské kůře je 68 mg kg^{-1}. Nejčastější sloučeniny mědi jsou sulfidy, oxidy či uhličitany. Vyskytuje se i ve formě velice čistých minerálů, ale v současnosti se měď získává z minerálů, které obsahují jen okolo 1 % mědi. Těmito minerály jsou chalkopyrit ($CuFeS_2$), chalkosin (Cu_2S) nebo kuprit (Cu_2O) či malachit ($Cu_2(OH)_2CO_3$). Chalkopyrit zastupuje zhruba 50 % všech přírodních zdrojů mědi[31].

Měď a ionty mědi se v životním prostředí objevují ve vodě, půdě i ovzduší kvůli přirozenému výskytu, průmyslovým objektům, skládkám, odpadním vodám apod. V půdě se ionty mědi mohou vázat na organické sloučeniny, a tím se zamezí pohybu do nižších vrstev půdy. Měď se může ve vodě vyskytovat buď ve sloučeninách, navázaná na rozptýlené částice, nebo jako elementární měď. Velice často se tyto sloučeniny usazují v sedimentech vodních toků a ploch, ale existují i důkazy o tom, že prosakují do podzemních vod. Do ovzduší se ionty mědi dostávají z uvedených elektráren, ale následně se vlivem gravitace usadí v půdě či vodě. Ve vzduchu se koncentrace mědi pohybuje od několika nanogramů až do 200 ng m^{-3}. Průměrná koncentrace mědi v řekách a jezerech je 10 µg dm^{-3}, pro pitnou vodu je povolená maximální hodnota 1300 µg dm^{-3}. Tuto hranici někdy přesahuje i podzemní voda (až 2700 µg dm^{-3}), pokud se měď neusadí v sedimentu. Půda obsahuje mezi 2-250 mg kg^{-1} mědi. Všechny hodnoty mohu být výrazně (až desetkrát) vyšší, pokud se v místě nachází lokalita či objekty vypouštějící do životního prostředí sloučeniny mědi[32].

Měď patří mezi skupiny prvků, které jsou nezbytné pro lidský organismus, a tedy patří do skupiny esenciálních stopových prvků. Je začleněna do tzv.

metaloenzymů, které se podílejí na tvorbě hemoglobinu, metabolismu karbohydrátů či na antioxidačních obranných procesech. Doporučená denní dávka je v současné době stanovena na 0,9 mg den^{-1}, resp. 0,013 mg kg^{-1} den^{-1}. Expozice vyšším dávkám může způsobit zdravotní problémy. Při dlouhodobém přijímání vyšší koncentrace iontů mědi dochází k bolestem hlavy, průjmu, závratím či nevolnostem. Velice vysoký příjem iontů mědi způsobuje poškození jater, ledvin, imunitního systému a může způsobit až smrt[32].

V současné době se pro stanovení mědi nejvíce využívají metody F-AAS, ETA--AAS, indukčně vázaná plasma s optickou emisní či hmotnostní detekcí, rozpouštěcí voltametrie či spektrofotometrie po převedení na barevný komplex[33].

4. Experimentální část

4.1. Chemikálie

Využívané chemikálie byly: $NaBH_4$ (1 g tablety, Sigma-Aldrich, USA), Triton X-100 (Aldrich Chemical Co., USA), 65% HNO_3 (p.p., Sigma-Aldrich, USA), 37% HCl (Merck, Německo), KOH (p.p., Sigma-Aldrich, USA), Antifoam B (emulse, Sigma-Aldrich, USA), Tween 20 (Merck, Německo), 1,10–fenantrolin monohydrát (Lachner, ČR), 8-hydroxychinolin (p.a., Lachema, ČR), diethyldithiokarbamát sodný (DDTC, Sigma-Aldrich, USA), standard 1000 mg dm^{-3} Cu (BDH, UK), deionizovaná voda (<0,2 μS cm^{-1}, ULTRAPUR, Watrex, ČR), standard 1000 mg dm^{-3} Pd (Fluka, Švýcarsko)

Plyny: argon čistoty 99,996 % (SIAD, Praha, ČR, vodík čistoty 99,95 % (SIAD, Praha, ČR).

Nosič a vzorek

Nosič byl 0,6 M HNO_3, pokud není uvedeno jinak. Vzorek byl připraven ředěním zásobního roztoku Cu a obsahoval stejnou koncentraci HNO_3 jako nosič.

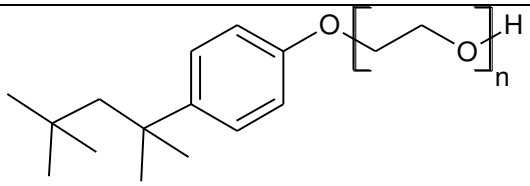
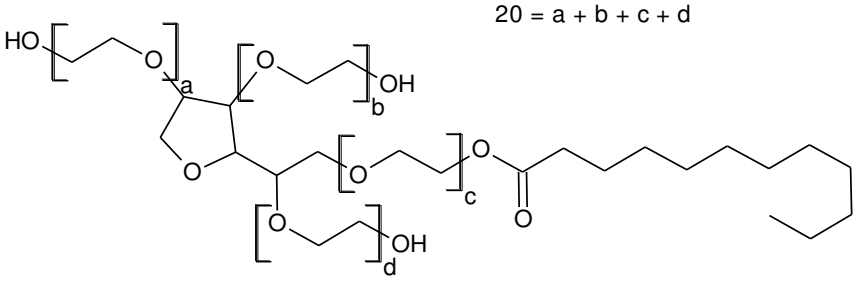
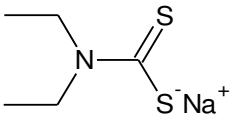
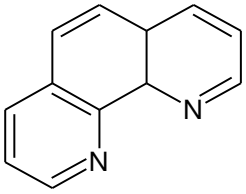
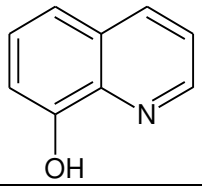
Příprava redukčního činidla

Do 50 cm^3 plastové uzavíratelné nádoby bylo přidáno cca 20 cm^3 deionizované vody, 0,415 cm^3 10% KOH a potřebná navážka $NaBH_4$. Po jeho rozpuštění bylo přidáno potřebné množství 10% roztoku Antifoam B a doplněno deionizovanou vodou na 41,5 cm^3.

Příprava reakčních modifikátorů

Reakční modifikátor byl připraven většinou do 200 cm^3 odměrné baňky, do které bylo přidáno potřebné množství HNO_3, reakčního modifikátoru (tab. 1) a doplněno po rysku deionizovanou vodou. V případě použití DDTC se reakční modifikátor skládal pouze z vypočteného množství DDTC a deionizované vody. Podíl HNO_3, který chyběl v reakčním modifikátoru, byl navýšen v nosiči.

Tabulka 1 – struktura reakčních modifikátorů

Název	Chemická struktura
Triton X-100	
Tween 20	
DDTC	
1,10 - fenantrolin	
8 - hydroxychinolin	

4.2. Přístroje

Atomový absorpční spektrometr: Perkin-Elmer 503 (Bodenseewerk, Germany) s D_2 korekcí pozadí a Cu výbojkou s dutou katodou (Hamamatsu, China). Použitá vlnová délka, napájecí proud výbojky a šířka spektrálního intervalu jsou uvedeny v tab. 2.

Tabulka 2 – nastavení přístroje

vlnová délka	324.75 nm
napájecí proud výbojky	4 mA
šířka spektrálního intervalu	0.7 nm

ph metr: Seven easy (Mettler Toledo, Švýcarsko), elektroda InLab®413 (Mettler Toledo, Švýcarsko).

4.3. Systém pro generování a atomizaci těkavých specií Cu

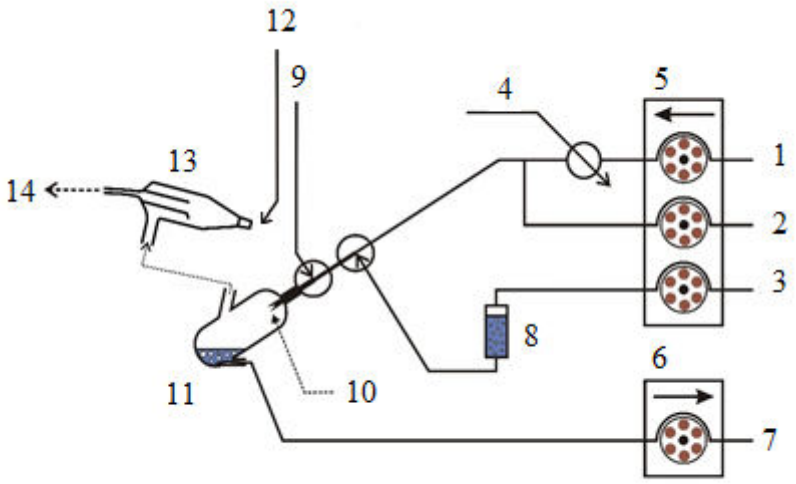
4.3.1. Použité součásti systému

Peristaltická čerpadla:	dvanáctiválcová, 4 kanály, Reglo digital (Ismatec, Švýcarsko)
Hadičky pro kapaliny:	teflon 0,5 mm i.d. (Vici Jour Research, Švýcarsko)
Hadičky pro plynnou fázi:	teflon 2,4 mm i.d. (Vici Jour Research, Švýcarsko)
Čerpací hadičky:	0,44 mm i.d., tygon (Ismatec, Německo)
Odpadní hadičky:	1,52 mm i.d., tygon (Ismatec, Německo)
Dávkovací ventil:	šesticestný (V-451, IDEX Health and Science, USA)
Regulátory hmotnostního průtoku H_2:	rozsah od 2 do 200 cm^3 min^{-1} (FMA- 2618A; Omega engineering, inc., Stamford, USA)
Regulátory hmotnostního průtoku Ar:	rozsah od 2 do 200 cm^3 min^{-1} (FMA- A2403; Omega engineering, inc., Stamford, USA)

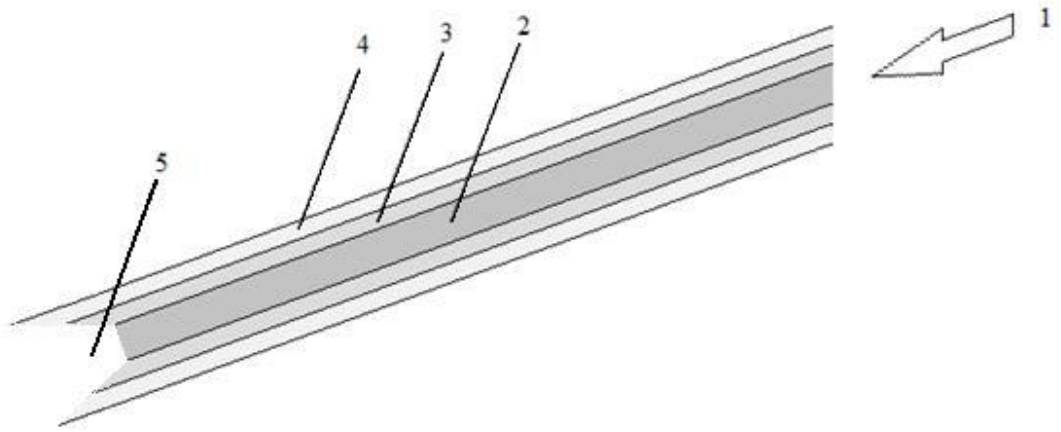
4.3.2. Generátor těkavých specií

Experimentální uspořádání pro VSG mědi vycházelo z prací Musil a kol.[14] a Arslana a kol. z roku 2015[34], ve kterých bylo popsáno VSG Ag a Au. Toto uspořádání je znázorněno na obr. 4.1 a využívá uspořádání FIA, ve kterém jsou jedním peristaltickým čerpadlem do generátoru přiváděny průtokovými rychlostmi 0,5 cm^3 min^{-1} nosič, reakční modifikátor a redukční činidlo. Vzorek byl nadávkován do nosiče pomocí dávkovacího ventilu s 0,25 cm^3 dávkovací smyčkou. Po nadávkování je nosič se vzorkem smíchán s reakčním modifikátorem. Redukční činidlo před smícháním

s ostatními reagenciemi ještě procházelo jednoduchým zařízením na odstranění vznikajících bublinek, tzv. odplyňovačem. Ke smíchání s redukčním činidlem je využito speciální soustavy o třech kapilárách, které mají různý vnitřní průměr a které jsou zasunuty v sobě (obr. 4.2). Vnitřní křemenná kapilára (i.d. = 0,25 mm) vede směs nosiče/vzorku s reakčním modifikátorem, prostřední křemenná kapilára (i.d. = 0,53 mm) vede redukční činidlo. Obě dvě křemenné kapiláry jsou ještě umístěny uvnitř třetí kapiláry z teflonu (i.d. = 1 mm), kterou kolem proudí nosný plyn $Ar_{generátor}$, pokud není uvedeno jinak. Kapiláry končí postupně v asi 1mm odstupech, jak je znázorněno na obr. 4.2. Tato soustava kapilár je zavedena do skleněného separátoru fází, který má objem přibližně 3 cm^3. Reagencie z kapilár se tedy smíchají až v separátoru fází v tzv. místě míchání. Vzhledem k vzájemnému ukončení všech tří kapilár je reakční směs proudem nosného plynu rozprášena do celého objemu separátoru fází. Na dně separátoru fází je třeba udržovat optimální objem reakční směsi (1 cm^3) pomocí druhého peristaltického čerpadla a hadičky odpadu. Vzniklé těkavé specie jsou unášeny nosným plynem do skleněné mlžné komory, která odstraňuje z plynné fáze větší kapénky aerosolu, a dále pomocí teflonové hadičky do atomizátoru. Kapalnou fázi je nutné čas od času z mlžné komory odsát pomocí injekční stříkačky.



Obrázek 4.1 – schéma FIA, 1 – nosič, 2 – reakční modifikátor, 3 – redukční činidlo, 4 – dávkovací ventil, 5 – peristaltické čerpadlo, 6 – peristaltické čerpadlo pro odpad, 7 – odpad, 8 – odplyňovač, 9 – nosný plyn, 10 – místo míchání, 11 – separátor fází , 12 – místo pro odsátí kapalné fáze, 13 – mlžná komora, 14 – atomizátor

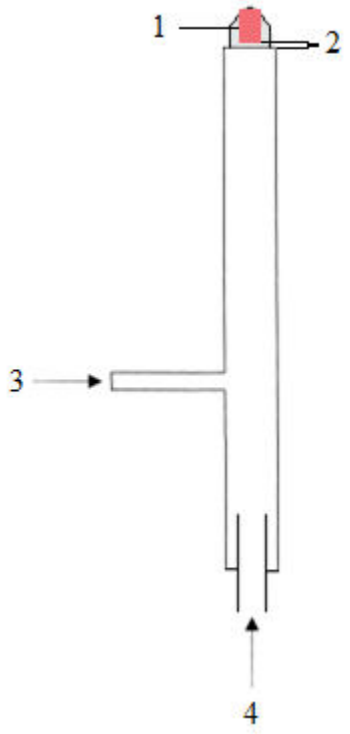


Obrázek 4.2 – schéma kapilár v místě míchání, 1 – směr toku reagencií, 2 – vzorek, 3 – redukční činidlo, 4 – nosný plyn, 5 – místo míchání

4.3.3. Atomizátor těkavých specií

Jako atomizátor byl použit DF znázorněný na obr. 4.3. Atomizátor se skládal z vertikální křemenné trubice (i.d. 6 mm, o.d. 8,7 mm). Nosný plyn ($Ar_{generátor}$, případně $H_{2\ generátor}$) a vodík vzniklý z rozkladu $NaBH_4$ s těkavými speciemi mědi byly do vertikální trubice zaváděny ze strany samostatným přívodem (i.d. 3,5 mm, o.d. 5,6 mm), zatímco plamenové plyny ($H_{2\ plamen}$, případně Ar_{plamen}) byly zaváděny do vertikální trubice zespoda.

Pozice vertikální trubice atomizátoru byla nastavena tak, že střed paprsku ze spektrometru procházel osou této trubice (obr. 4.3) a spodní okraj paprsku se nacházel ve vzdálenosti nad ústím vertikální trubice, jež je definována jako OH.



Obrázek 4.3 – schéma DF, 1 – paprsek, 2 – pozorovací výška (OH), 3 – přívod nosného plynu s těkavými speciemi, 4 – přívod plamenových plynů

4.4. Permanentní modifikace generátoru

Pokud výrazněji poklesl signál oproti předchozím standardním hodnotám (cca o 30 %), provedla se modifikace systému palladiem. Modifikace byla prováděna kontinuálním zaváděním standardního roztoku modifikátoru, který obsahoval 10 mg dm^{-3} Pd, po dobu 10 min za přítomnosti všech reagencií.

4.5. Popis měření

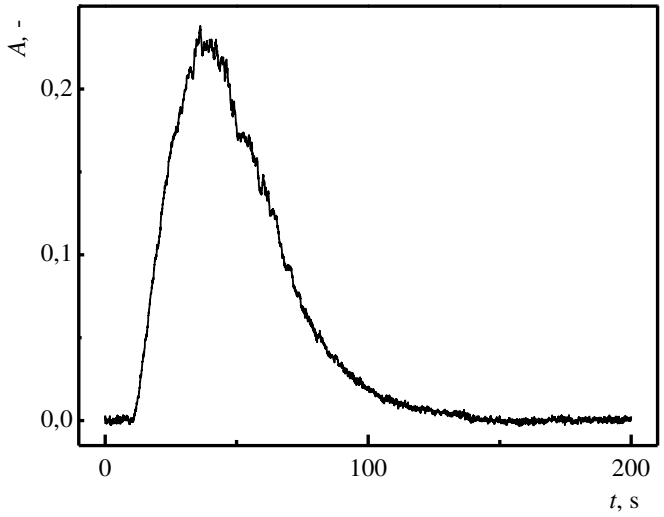
Při každém spuštění generování, kdy byly do provozu uvedeny obě peristaltická čerpadla, byl na konci hořáku zapalovačem zažehnut plamen. Dále probíhalo generování nepřetržitě. Cca 5 s po zapnutí záznamu byl nadávkován vzorek do průtoku nosiče pomocí dávkovacího ventilu. Pro dodržení optimálních podmínek generování se v separátoru fází udržovala potřebná hladina, která se regulovala rychlostí odtoku

odpadu. Záznam byl vypnut až po klesnutí signálu zpět na základní linii. Typický záznam měřeného signálu v režimu FIA je znázorněný na obr. 4.4.

4.6. Zpracování naměřených dat

4.6.1. Zpracování signálu a software

Signál ze spektrometru byl digitalizován pomocí A/D převodníku, zpracován v programu Sigvis a ukládán do txt souborů. Následné vyhodnocení plochy a výšky píku bylo prováděno pomocí Microsoft® Excel 2000 (Microsoft Corporation, USA). V programu v Microsoft® Excel se nastavila základní linie, ke které se počítala plocha pod píkem. Základní linie byla nastavena pomocí průměru všech bodů před píkem (4 s interval) a za píkem (10 s interval). Výška signálu byla určena jako průměr hodnot (2s interval) kolem maxima píku. V některých případech byly signály normalizovány, a to když byly všechny body záznamu měřené absorbance poděleny výškou píku.



Obrázek 4.4 – typický záznam měřeného signálu

4.6.2. Statistické hodnocení výsledků

Ze získaných výsledků plochy a výšky píku byl vybrán medián $\tilde{x}$, jehož definice zní jako prostřední člen mezi hodnotami x_i, pokud jsou seřazeny podle velikosti. Svými vlastnostmi je optimální pro statistické vyhodnocení, jelikož jeho výhody spočívají ve vlastnosti, že výrazně odlehlé hodnoty nezpůsobují nepřesnosti.

Přesnost výsledků určuje směrodatná odchylka *sd*, která se počítá podle vztahu:

$$sd = \sqrt{\frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n}(x_i - \bar{x})^2}, \tag{8}$$

kde *n* se rovná počtu měření a x_i je výsledek i-tého měření. V tomto vzorci se nepracuje s mediánem, nýbrž s aritmetickým průměrem $\bar{x}$, který je definován jako:

$$\bar{x} = \frac{1}{n}\sum_{i=1}^{n} x_i. \tag{9}$$

Výsledky v práci jsou uváděny jako medián $\tilde{x} \pm sd$. Všechny naměřené výsledky v grafech a tabulkách jsou pro plochu píku pod křivkou. Výsledky výšek píků vykazovaly podobné závislosti jako plochy píků, pokud se současně neměnila jejich šířka v polovině výšky (FWHM).

4.6.3. Mez detekce a stanovitelnosti, opakovatelnost metody

Mez detekce (LOD) je hodnota koncentrace, při které je signál statisticky významný ve srovnání se šumem.

$$LOD = \frac{3\, sd_{blank}}{m}, \tag{10}$$

kde sd_{blank} se rovná směrodatné odchylce šumu (slepým pokusům) a *m* je směrnice kalibrační přímky.

Mez stanovitelnosti (LOQ) je minimální hodnota koncentrace, která může být stanovena s dostatečným stupněm přesnosti a správnosti.

$$LOQ = \frac{10\, sd_{blank}}{m}, \tag{11}$$

kde sd_{blank} se rovná směrodatné odchylce šumu (slepým pokusům) a *m* je směrnice kalibrační přímky.

Opakovatelnost vyjadřuje přesnost metody za stálých podmínek. Vyjadřuje se poměrem směrodatné odchylky a mediánu:

$$s_r = \frac{sd}{\tilde{x}}. \tag{12}$$

5. Výsledky a diskuze

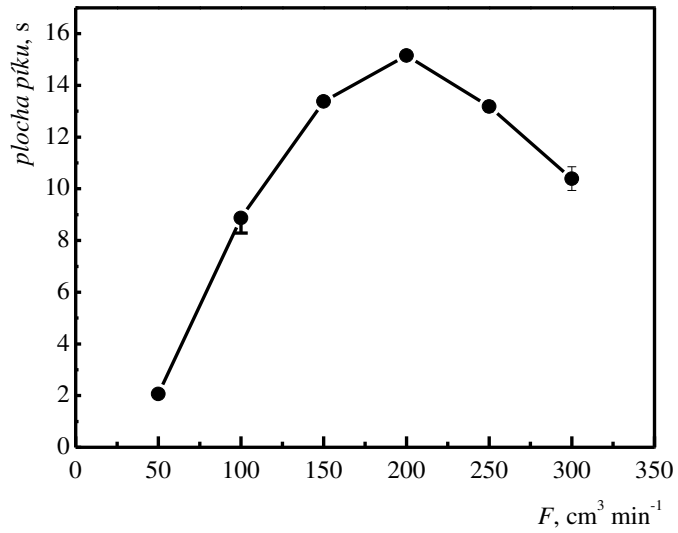
5.1. Vliv parametrů ovlivňující atomizaci v DF

V práci byly nejprve optimalizovány průtoky plynů argonu a vodíku. Byl zkoumán jednak průtok samotného argonu a vodíku jako nosného plynu do generátoru, tak i optimální průtok vodíku do DF při konstantním průtoku nosného plynu argonu. V závěru této části byl studován i vliv OH.

5.1.1. Vliv průtoků plynů

5.1.1.1 Vliv průtoku H_2 do generátoru

Nejprve bylo vyzkoušeno uspořádání, ve kterém byl samotný H_2 jak nosným plynem, který uvolňuje těkavé specie z reakční směsi a transportuje je do DF, tak plynem potřebným pro atomizaci v DF. $H_{2\ generátor}$ byl tedy zaváděn jako nosný plyn do generátoru a spodním přívodem do DF již nebyl přimícháván žádný další plyn. Vliv $H_{2\ generátor}$ znázorňuje obr. 5.1. Signál roste do maxima 200 $cm^3\ min^{-1}$. $H_{2\ generátor}$ jako nosný plyn však ovlivňuje signál trojím způsobem. Za prvé, vyšší průtok může zvyšovat β_{VSG} tím, že narůstá β_{vol} i β_{tr} analytu ve formě těkavých specií do DF. Za druhé, samotný přívod H_2 je zodpovědný za tvorbu vodíkových radikálů, které atomizují těkavé specie mědi, a průtok H_2 také ovlivňuje stínění plamene před vzdušným kyslíkem, který je zodpovědný za zánik volných atomů. Za třetí, vyšší průtok způsobuje ředění volných atomů analytu v pozorovaném objemu DF, čímž dochází k poklesu signálu. $H_{2\ generátor}$ jako nosný plyn tedy ovlivňuje jak proces generování, tak atomizace, a není snadné od sebe jednotlivé vlivy oddělit. Proto byl v dalších experimentech zkoumán vliv samotného průtoku nosného plynu na β_{VSG}, přičemž celkový průtok Ar ($F(Ar_{plamen}) + F(Ar_{generátor})$) byl konstantní kvůli tomu, aby nedocházelo k ovlivnění atomizace v DF.



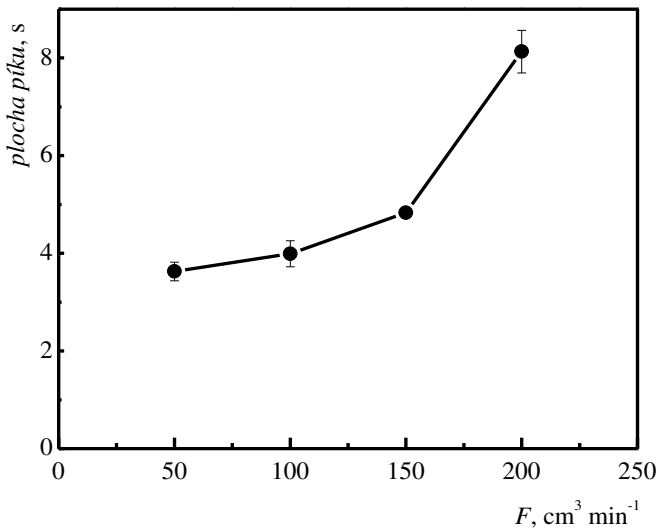
Obrázek 5.1 – závislost signálu na průtoku $H_{2\ generátor}$ jako nosného plynu c(Cu(II)) = 5 mg dm^{-3}; OH = 0 mm; nosič: c(HNO_3) = 0,6 mol dm^{-3}; reakční modifikátor: c(Triton x-100) = 20 mg dm^{-3}, c(HNO_3) = 0,1 mol dm^{-3}; redukční činidlo: c($NaBH_4$) = 2,4 %, c(KOH) = 0,1 %, c(Antifoam B) = 133 mg dm^{-3}

5.1.1.2. Vliv průtoku Ar do generátoru

Vliv průtoku nosného plynu na signál, a tím i $\beta_{VSG,}$ byl zkoumán při zapojení plynů tak, že byl měněn průtok nosného plynu ($Ar_{generátor}$) a pomocí přívodu 4 (obr. 4.3) do DF bylo udržováno konstantního průtoku a složení plynů. Důvodem konstantního průtoku všech plynů a jejich složení do DF bylo zachovat stejné podmínky atomizace. Konstantní průtok 100 cm^3 min^{-1} $H_{2\ plamen}$ byl míchán před vstupem do DF s dalším tokem Ar_{plamen} a tato směs byla vedena zespoda do DF samostatným přívodem. Celkový průtok Ar do DF byl tedy daný součtem průtoků nosného plynu $Ar_{generátor}$ a Ar_{plamen}, který byl přimícháván do $H_{2\ plamen}$, a činil vždy 200 cm^3 min^{-1}.

Z obr. 5.2 je zřejmé, že zvyšování průtoku nosného plynu $Ar_{generátor}$ z 50 cm^3 min^{-1} postupně zvyšuje i β_{VSG} až na přibližně více jak dvojnásobek při 200 cm^3 min^{-1}. Pozitivně ovlivňuje plochy píků, ovšem zároveň negativně ovlivňuje opakovatelnost danou *sd*. Pro vyšší průtok $Ar_{generátor}$ také platí, že klesá FWHM a měření lze provádět kratší časový úsek, což ukazuje na rychlejší transport plynné fáze do atomizátoru či rychlejší uvolnění těkavé specie z reakční směsi. Jak je patrné z obrázku 5.2, maximální dosahovaná citlivost při vysokém průtoku plynů do DF byla

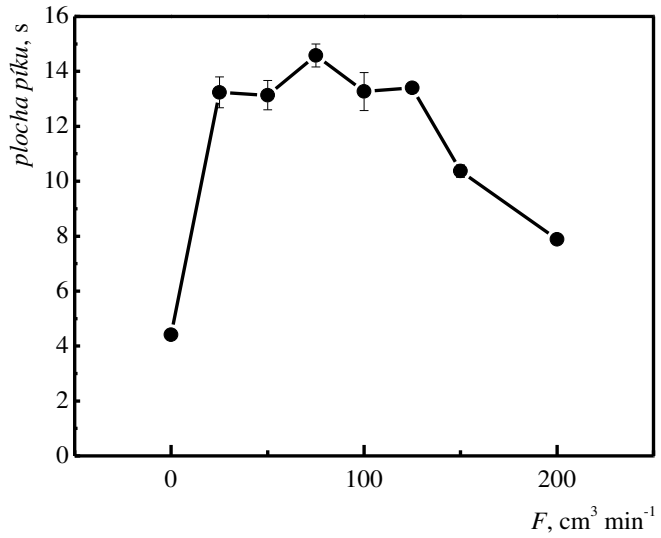
přibližně 4 krát nižší (rozdílná koncentrace analytu) než v případě, kdy byl využíván jen $H_{2\ generátor}$ jako nosný plyn (obr. 5.1). Vyšší průtok nosného plynu $Ar_{generátor}$ sice zvyšuje β_{VSG}, ale na druhou stranu velice ředí volné atomy v DF. Proto byl nadále zvolen jako optimální průtok nosného plynu $Ar_{generátor}$ 100 cm^3 min^{-1} a vliv průtoku $H_{2\ plamen}$ do DF byl zkoumán zvlášť.



Obrázek 5.2 – závislost signálu na průtoku $Ar_{generátor}$, c(Cu(II)) = 10 mg dm^{-3}; $F(Ar_{plamen}) = 200 - F(Ar_{generátor})$ cm^3 min^{-1}, $F(H_{2\ plamen}) = 100$ cm^3 min^{-1}, OH= 0 mm; nosič: $c(HNO_3) = 0{,}6$ mol dm^{-3}; reakční modifikátor: c(Triton x-100) = 20 mg dm^{-3}, $c(HNO_3) = 0{,}1$ mol dm^{-3}; redukční činidlo: $c(NaBH_4) = 2{,}4$ %, c(KOH) = 0,1 %, c(Antifoam B) = 133 mg dm^{-3}

5.1.1.3. Optimalizace směsi plynů

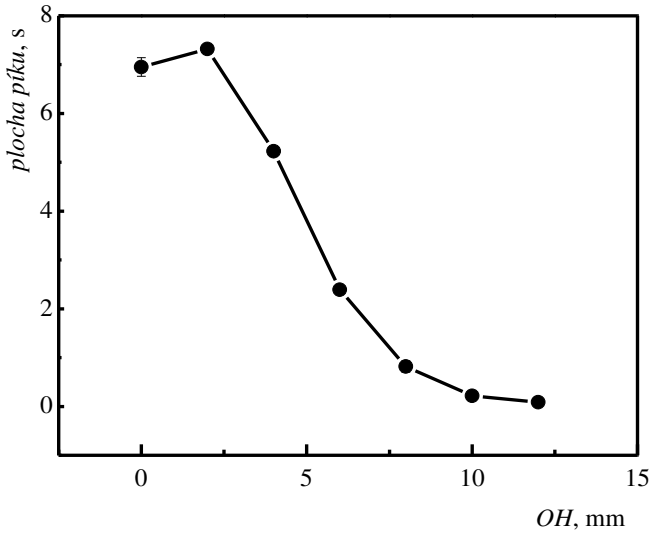
Obr. 5.3 ukazuje závislost plochy píku na složení plynů, kdy byl nosný plyn $Ar_{generátor}$ přiváděn konstantním průtokem 100 cm^3 min^{-1} a průtok $H_{2\ plamen}$ do DF byl nezávisle měněn. Z grafu je patrné, že křivka ukazuje široké plató mezi hodnotami průtoku 25 až 125 cm^3 min^{-1}. Hodnota 75 cm^3 min^{-1} $H_{2\ plamen}$ byla nakonec zvolena jako optimální.



Obrázek 5.3 – závislost signálu na průtoku $H_{2\ plamen}$,
c(Cu(II)) = 5 mg dm^{-3}; F($Ar_{generátor}$) = 100 cm^3 min^{-1}, OH= 0 mm; nosič: c(HNO_3) = 0,6 mol dm^{-3}; reakční modifikátor: c(Triton x-100) = 20 mg dm^{-3}, c(HNO_3) = 0,1 mol dm^{-3}; redukční činidlo: c($NaBH_4$) = 2,4 %, c(KOH) = 0,1 %, c(Antifoam B) = 133 mg dm^{-3}

5.1.2. Pozorovací výška

Obr. 5.4 znázorňuje vliv OH na signál a ukazuje, že maximum křivky se nachází pro OH 2 mm a tato hodnota byla nadále používána jako optimální.



Obrázek 5.4 – závislost signálu na pozorovací výšce (OH)
c(Cu(II)) = 2,5 mg dm^{-3}; F($Ar_{generátor}$)= 100 cm^3 min^{-1}, F($H_{2\ plamen}$) = 75 cm^3 min^{-1};
nosič: c(HNO_3) = 0,6 mol dm^{-3}; reakční modifikátor: c(Triton x-100) = 20 mg dm^{-3}, c(HNO_3) = 0,1 mol dm^{-3};
redukční činidlo: c($NaBH_4$) = 2,4 %, c(KOH) = 0,1 %, c(Antifoam B) = 133 mg dm^{-3}

5.1.3. Shrnutí vlivů jednotlivých parametrů na atomizaci v DF

Použitím $H_{2\ generátor}$ jako nosného plynu lze dosáhnout poměrně vysoké citlivosti, bohužel nelze od sebe rozlišit jednotlivé vlivy, které mají na zlepšení signálu zásadní vliv. Pomocí průtoků plynů do DF byl zjištěn pozitivní vliv průtoku nosného plynu $Ar_{generátor}$ na signál (obr. 5.2). Jelikož byly v tomto případě podmínky atomizace udržovány konstantní, lze říci, že to bylo způsobené nárůstem $\beta_{VSG.}$ To může být kvůli zvýšení účinnosti převodu z kapalné do plynné fáze β_{vol} či zvýšení transportu (β_{tr}) plynné fáze přes mlžnou komoru do DF. Srovnatelné citlivosti jako při zapojení pouze $H_{2\ generátor}$ při 200 $cm^3\ min^{-1}$ (obr. 5.1) bylo dosaženo s použitím 100 $cm^3\ min^{-1}$ $Ar_{generátor}$ (obr. 5.3), kdy byl H_2 jako palivo zaváděn do DF. V prvém případě je sice pravděpodobně dosahováno dvojnásobné β_{VSG} kvůli dvojnásobnému objemovému průtoku plynu generátorem (obr. 5.1), ale signál je ovlivněn vysokou frakcí vodíku (100%), která má negativní vliv na atomový absorpční koeficient, a tudíž i na citlivost stanovení, což bylo dříve diskutováno pro atomizaci Se[35], Ag[14] a Au[34]. Ve druhém případě, kdy bylo použito jako nosného plynu $Ar_{generátor}$, není dosahováno tak vysoké β_{VSG}, zato bylo pozorováno široké plató vysoké citlivosti pro velké rozpětí zaváděného $H_{2\ plamen}$. Tento případ je výhodný, protože zaručuje poměrně stabilní citlivost i při změnách podmínek generování, které mají vliv na množství uvolněného H_2 z rozkladu $NaBH_4$ (viz. 5.2.1 a 5.2.2). Proto byl nadále v práci použit tento způsob zapojení plynů. Optimální průtoky plynů generátorem a DF a OH jsou shrnuty v tab. 3.

Tabulka 3 - Shrnutí optimálního průtoku plynů a pozorovací výšky

$F(Ar_{generátor})$ [ml min^{-1}]	$F(H_{2\ generátor})$ [ml min^{-1}]	$F(Ar_{plamen})$ [ml min^{-1}]	$F(H_{2\ plamen})$ [ml min^{-1}]	OH [mm]
100	0*	0	75	2

* rozkladem $NaBH_4$ vzniká 26 $cm^3\ min^{-1}$ H_2 při optimálních podmínkách generování

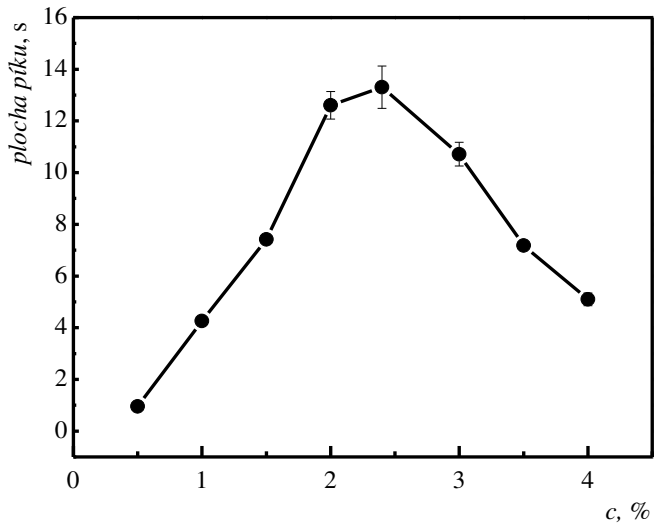
5.2. Optimalizace podmínek generování

Mezi optimalizované parametry ovlivňující VSG mědi se řadila koncentrace $NaBH_4$ a HNO_3. Dále byl zkoumán vliv permanentního modifikátoru Pd na stěnách generátoru a vliv jednotlivých reakčních modifikátorů přidávaných on-line do reakce.

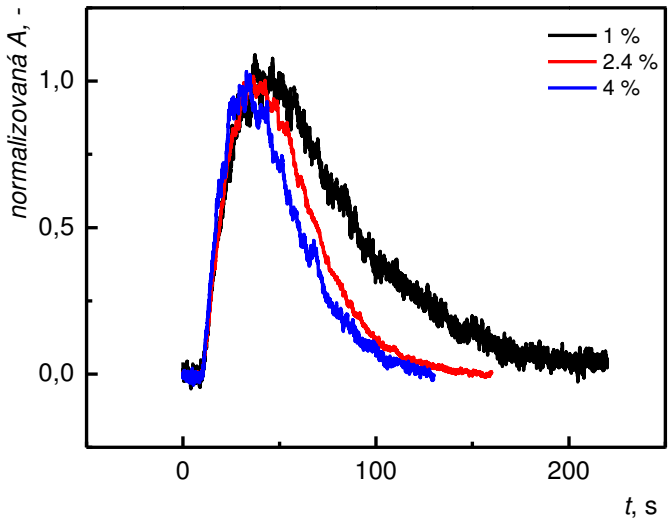
5.2.1. Optimalizace koncentrace $NaBH_4$

Redukční činidla o různých koncentracích rozpuštěného $NaBH_4$ byly vždy připraveny s přídavkem 0,1% KOH. Tato koncentrace stabilizuje roztok $NaBH_4$ a v této práci nebyla optimalizována, protože byla převzata z předchozích prací pro VSG stříbra[14]. Obr. 5.5 znázorňuje závislost signálu na koncentraci $NaBH_4$. Závislost nabývá maxima pro koncentraci 2,4 %. Tato koncentrace byla zvolena jako optimální pro další měření.

Obr. 5.6 ukazuje srovnání normalizovaných signálů při použití 1%; 2,4% a 4% $NaBH_4$. Z křivek pro tyto tři vybrané koncentrace je vidět, že při nižších koncentracích $NaBH_4$ je větší FWHM píků a signál je třeba zaznamenávat mnohem delší čas, než poklesne zpět na základní linii. Vysvětlení může spočívat v rychlosti uvolnění těkavé specie z reakční směsi kvůli vyššímu množství vznikajícího vodíku, který napomáhá k uvolnění těkavých specií mědi z reakční směsi.



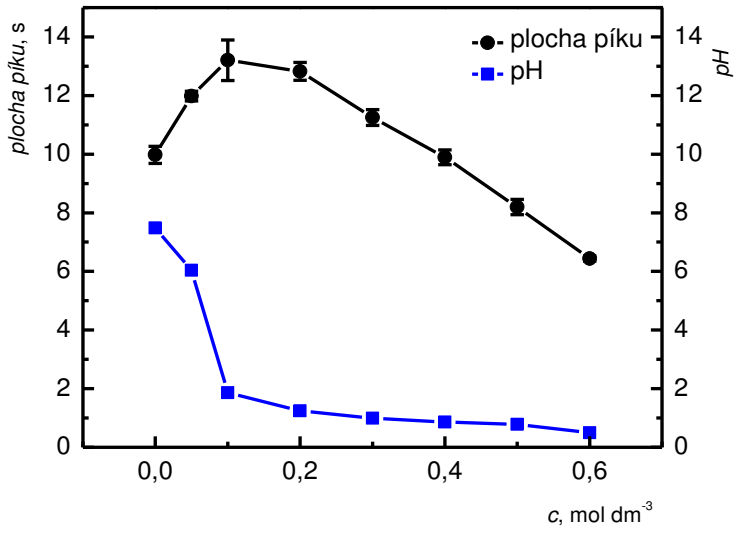
Obrázek 5.5 – závislost signálu na koncentraci $NaBH_4$
c(Cu(II)) = 5 mg dm^{-3}; F($Ar_{generátor}$) = 100 cm^3 min^{-1}, F($H_{2\ plamen}$) = 75 cm^3 min^{-1}, OH = 0 mm;
nosič: c(HNO_3) = 0,6 mol dm^{-3}; reakční modifikátor: c(Triton x-100) = 20 mg dm^{-3}, c(HNO_3) = 0,1 mol dm^{-3};
redukční činidlo: c(KOH) = 0,1 %, c(Antifoam B) = 133 mg dm^{-3}



Obrázek 5.6 - vliv koncentrace $NaBH_4$ na tvar signálu
c(Cu(II)) = 5 mg dm^{-3}; F($Ar_{generátor}$) = 100 cm^3 min^{-1}, F($H_{2\ plamen}$) = 75 cm^3 min^{-1}, OH = 0 mm;
nosič: c(HNO_3) = 0,6 mol dm^{-3}; reakční modifikátor: c(Triton x-100) = 20 mg dm^{-3}, c(HNO_3) = 0,1 mol dm^{-3};
redukční činidlo: c(KOH) = 0,1 %, c(Antifoam B) = 133 mg dm^{-3}

5.2.2. Optimalizace koncentrace HNO_3

Vliv HNO_3 v reakčním modifikátoru na signál je znázorněn na obr. 5.7 společně s pH reakční směsi. pH reakční směsi bylo měřeno ve vzorcích odpadu. Je vidět, že maximum křivky se nachází v 0,1 mol dm^{-3}. Hodnota maxima odpovídá největšímu poklesu pH na hodnotu přibližně 1,9, pro vyšší koncentrace HNO_3 již pH klesá nepatrně. Toto pozorování je v souladu s dřívější prací týkající se VSG stříbra ve stejném generátoru[14]. Jako optimální koncentrace HNO_3 v reakčním modifikátoru byla dále používána koncentrace 0,1 mol dm^{-3}.



Obrázek 5.7 – závislost plochy píku a pH reakční směsi na koncentraci HNO_3 v reakčním modifikátoru c(Cu(II)) = 5 mg dm^{-3}; F($Ar_{generátor}$) = 100 cm^3 min^{-1}, F($H_{2\ plamen}$) = 75 cm^3 min^{-1}, OH = 0 mm; nosič: c(HNO_3) = 0,6 mol dm^{-3}; reakční modifikátor: c(Triton x-100) = 20 mg dm^{-3}; redukční činidlo: c($NaBH_4$) = 2,4 %, c(KOH) = 0,1 %, c(Antifoam B) = 133 mg dm^{-3}

5.2.3. Reakční modifikátory

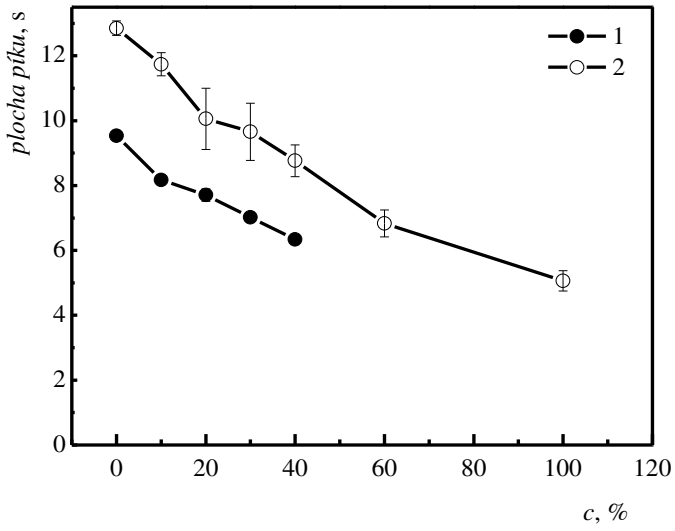
5.2.3.1. Vliv Pd jako permanentního modifikátoru

Vliv Pd jako permanentního modifikátoru byl zkoumán po kompletním vyčištění generátoru lučavkou královskou. Nejprve byly měřeny signály bez modifikace a následně byla provedena modifikace generátoru Pd způsobem popsaným v kapitole 5.4. Pd je reakcí s redukčním činidlem v generátoru vyredukováno ve formě načernalých nánosů na stěnách separátoru fází a v místě míchání a jeho přítomnost ovlivňuje rozklad $NaBH_4$, což je známé pro vyšší koncentrace i jiných přechodných kovů[36].

Nárůst signálu po modifikaci Pd nebyl dramatický (přibližně o 10 %) a nebyl tak výrazný jako v práci na VSG stříbra[37]. Dlouhodobá opakovatelnost měřených signálů však byla znatelně lepší a zároveň citlivost metody byla ustálena téměř ihned po modifikaci. Jelikož byla modifikace Pd velmi stabilní za optimálních podmínek generování, byl generátor vždy permanentně modifikován po kompletním vyčištění generátoru či pokud citlivost metody z nejasných důvodu poklesla.

5.2.3.2. Optimalizace koncentrací Tritonu X-100 a Antifoam B

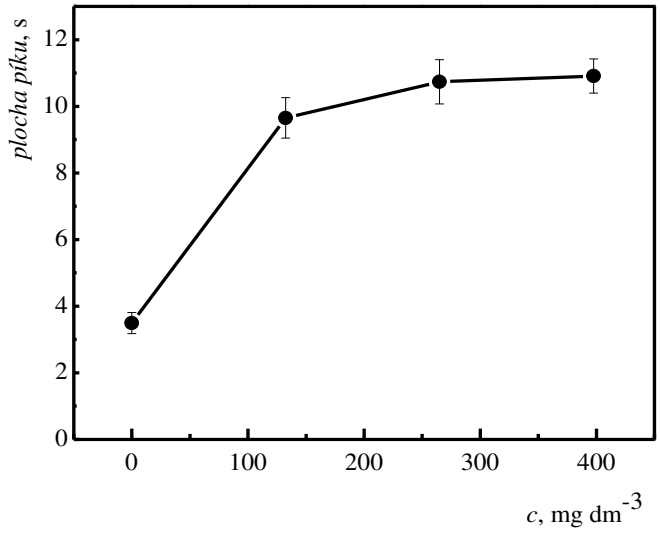
Nejprve byl studován vliv reakčního modifikátoru Tritonu X-100. Protože však tento modifikátor způsobuje pěnění v separátoru fází vlivem uvolňujících se bublinek H_2 z rozkladu $NaBH_4$, musí být zároveň použita protipěnící emulze Antifoam B, která se přidává do roztoku redukčního činidla. Pozitivní vliv na signál právě této kombinace dvou modifikátorů byl popsán roku 2003 pro VSG stříbra[37]. Vliv Tritonu X-100 v reakčním modifikátoru byl nejprve zkoumán bez použití Antifoamu B. Signály byly obecně poměrně nízké. S použitím 10 mg dm^{-3} Tritonu X-100 signál dosahoval 185 % signálu měřeného při 0 mg dm^{-3}, při 20 mg dm^{-3} byl signál již nižší a dosahoval 143 % signálu při 0 mg dm^{-3} Tritonu X-100. Dále byl vliv Tritonu X-100 zkoumán při dvou koncentracích Antifoamu B 133 a 398 mg dm^{-3} (obr. 5.8). Průběh obou křivek je podobný, s klesající tendencí a s maximem pro obě závislosti pro 0 mg dm^{-3} Tritonu X--100. Při této koncentraci však signály začaly mít po delší době klesající tendenci a současně se zvýšil šum měřených signálů. Dále bylo zjištěno, že přídavek malého množství Tritonu X-100 (5-10 mg dm^{-3}) má velmi pozitivní vliv na dlouhodobou opakovatelnost, na šum signálů a také na jejich FWHM. Čím vyšší koncentrace Tritonu X-100, tím menší FWHM píků, obdobně jak bylo ukázáno v kapitole 4.2.1. Proto jako optimální byla vybrána koncentrace 10 mg dm^{-3}.



Obrázek 5.8 – závislost signálu na koncentraci Tritonu X-100 pro dva přídavky Antifoamu B
c(Cu(II)) = 2,5 mg dm^{-3}; F(Ar$_{generátor}$) = 100 cm^3 min^{-1}, F(H$_{2\ plamen}$) = 75 cm^3 min^{-1}, OH$_1$ = 0 mm, OH$_2$ = 2 mm;
nosič: c(HNO$_3$) = 0,6 mol dm^{-3}; reakční modifikátor: c(HNO$_3$) = 0,1 mol dm^{-3};
redukční činidlo: c(NaBH$_4$) = 2,4 %, c(KOH) = 0,1 %, c$_1$(Antifoam B) = 133 mg dm^{-3},
c$_2$(Antifoam B) = 398 mg dm^{-3}

Antifoam B se přidává k omezení pěnění reakční směsi uvnitř separátoru fází vlivem přídavku povrchově aktivní látky (Tritonu X-100), které může negativně ovlivňovat uvolnění těkavých specií z reakční směsi. Při optimalizaci jeho koncentrace (obr 5.9) však bylo pozorováno, že každá změna koncentrace Antifoamu B je následována delší stabilizací citlivosti měření (alespoň 5 měření). Proto byly pro vyhodnocení použity až ty záznamy, které nevykazovaly postupný pokles či nárůst.

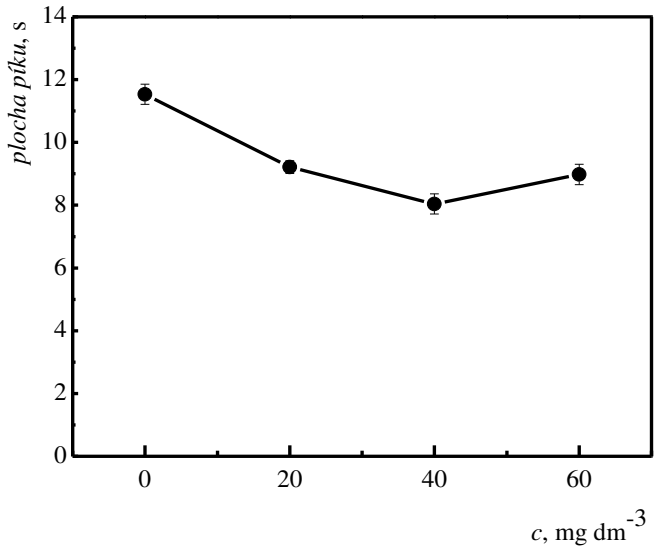
Z obr. 5.9 je patrné, že Antifoam B má velmi pozitivní vliv na VSG mědi, kdy signál při 265 až 398 mg dm^{-3} dosahoval přibližně trojnásobné hodnoty oproti měření bez přídavku Antifoam B. Optimální hodnota koncentrace Antifoamu B byla zvolena 265 mg dm^{-3}.



Obrázek 5.9 - závislost signálu na koncentraci Antifoamu B
c(Cu(II)) = 2,5 mg dm^{-3}; F(Ar$_{generátor}$) = 100 cm^3 min^{-1}, F(H$_{2\ plamen}$) = 75 cm^3 min^{-1}, OH = 2 mm; nosič: c(HNO$_3$) = 0,6 mol dm^{-3}; reakční modifikátor: c(Triton X-100) = 10 mg dm^{-3}, c(HNO$_3$) = 0,1 mol dm^{-3}; redukční činidlo: c(NaBH$_4$) = 2,4 %, c(KOH) = 0,1 %

5.2.3.3. Optimalizace koncentrace Tween 20

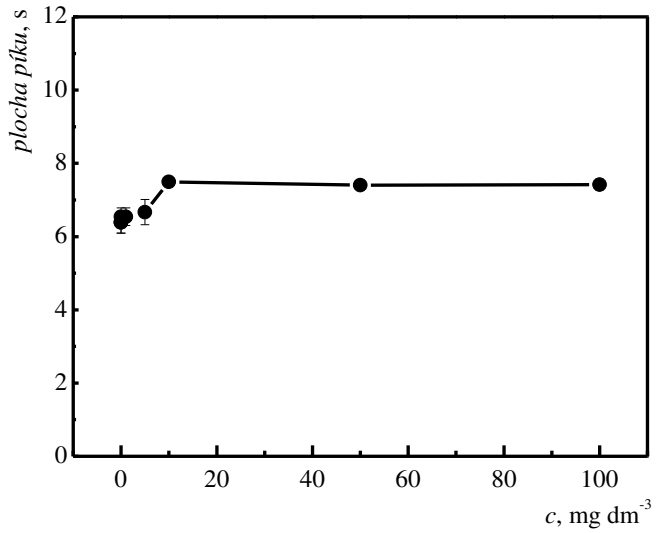
Tween 20 byl zkoušen jako alternativa k Tritonu X-100. Ze závislosti na obr. 5.10 je vidět, že tento modifikátor neměl žádný pozitivní vliv na citlivost. Při vyšších koncentracích se také zhoršoval šum signálů.



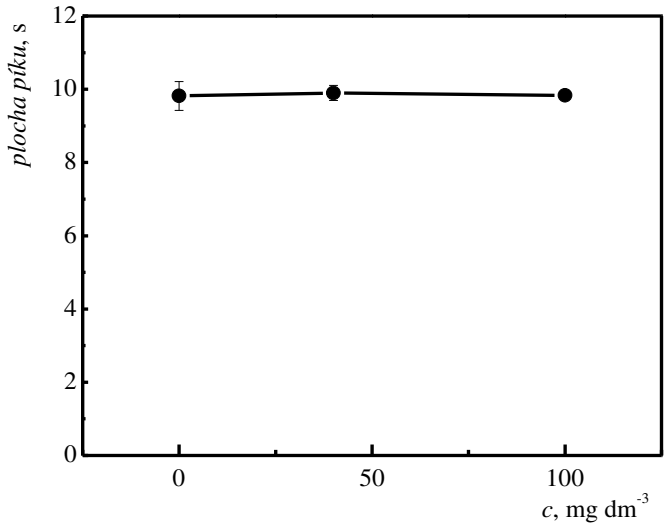
Obrázek 5.10 – závislost signálu na koncentraci Tween 20
c(Cu(II)) = 2,5 mg dm^{-3}; F(Ar$_{generátor}$) = 100 cm^3 min^{-1}, F(H$_{2\ plamen}$) = 75 cm^3 min^{-1}, OH = 2 mm;
nosič: c(HNO_3) = 0,6 mol dm^{-3}; reakční modifikátor: c(HNO_3) = 0,1 mol dm^{-3};
redukční činidlo: c($NaBH_4$) = 2,4 %, c(KOH) = 0,1 %, c(Antifoam B) = 133 mg dm^{-3}

5.2.3.4. Další reakční modifikátory

Dále byly testovány další tři reakční modifikátory: 1,10-fenantrolin, 8-hydroxychinolin a DDTC, které byly popsány v literatuře jako modifikátory pro účinné VSG mědi[16,17,18,19,20]. Pro zjištění vlivu těchto modifikátorů byly vzaty obdobné koncentrační rozsahy jako v těchto uvedených pracích. Přidání 1,10-fenantrolinu (obr. 5.11) a 8-hydroxychinolinu (obr. 5.12) do reakčního modifikátoru bylo provedeno za přítomnosti 20 mg dm^{-3} Tritonu X-100 a 133 mg dm^{-3} Antifoamu B. Ze závislosti na obr. 5.11 je vidět, že signál pro koncentraci 10 mg dm^{-3} 1,10-fenantrolinu nepatrně vzrostl (o 17 %) oproti měřením bez 1,10-fenantrolinu. Také se zmenšila FWHM píku. I přes malý vliv na citlivost a FWHM píku nebyl tento reakční modifikátor pro další měření použit. Jak je patrné z obr. 5.12 8-hydroxychinolin v rozmezí koncentrací 0 až 100 mg dm^{-3}, nevykazoval žádný vliv ani na plochu ani na FWHM píku.



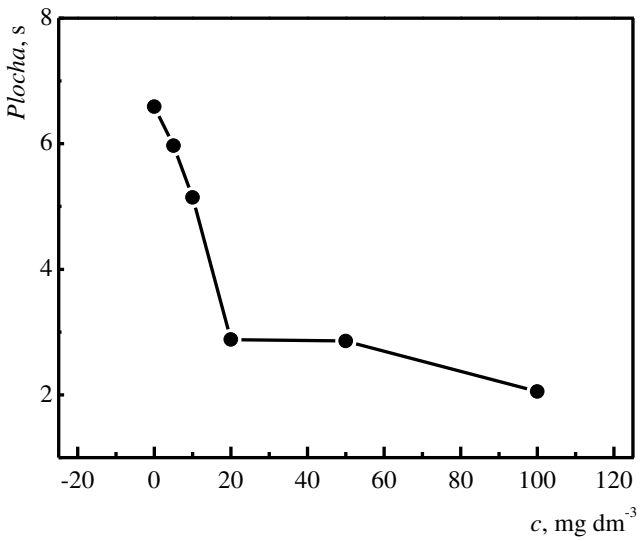
Obrázek 5.11 - závislost signálu na koncentraci 1,10-fenantrolinu
c(Cu(II)) = 1,5 mg dm^{-3}; F($Ar_{generátor}$) = 100 cm^3 min^{-1}, F($H_{2\ plamen}$) = 75 cm^3 min^{-1}, OH = 2 mm;
nosič: c(HNO_3) = 0,6 mol dm^{-3}; reakční modifikátor: c(Triton X-100) = 20 mg dm^{-3}, c(HNO_3) = 0,1 mol dm^{-3};
redukční činidlo: c($NaBH_4$) = 2,4 %, c(KOH) = 0,1 %, c(Antifoam B) = 133 mg dm^{-3}



Obrázek 5.12 - závislost signálu na koncentraci 8-hydroxychinolinu
c(Cu(II)) = 2,5 mg dm^{-3}; F($Ar_{generátor}$) = 100 cm^3 min^{-1}, F($H_{2\ plamen}$) = 75 cm^3 min^{-1}, OH = 2 mm;
nosič: c(HNO_3) = 0,6 mol dm^{-3}; reakční modifikátor: c(Triton X-100) = 20 mg dm^{-3}, c(HNO_3) = 0,1 mol dm^{-3};
redukční činidlo: c($NaBH_4$) = 2,4%, c(KOH) = 0,1%, c(Antifoam B) = 133 mg dm^{-3}

Jako poslední reakční modifikátor byl vyzkoušen DDTC, a to bez přítomnosti Tritonu X-100. Jelikož DDTC není příliš stabilní v kyselém prostředí[38], byly roztoky

reakčního modifikátoru připraveny bez přídavku 0,1 mol dm^{-3} HNO_3 a zároveň byla koncentrace kyseliny HNO_3 v nosiči a ve vzorku navýšena na hodnotu 0,7 mol dm^{-3}, aby se udrželo optimální pH generování. Závislost signálu na koncentraci DDTC v reakčním modifikátoru je znázorněna na obr. 5.13, na kterém je patrné, že DDTC měl negativní vliv.



Obrázek 5.13 - závislost signálu na koncentraci DDTC
c(Cu(II)) = 1,5 mg dm^{-3}, F($Ar_{generátor}$) = 100 cm^3 min^{-1}, F($H_{2\ plamen}$) = 75 cm^3 min^{-1}, OH = 2 mm;
nosič: c(HNO_3) = 0,7 mol dm^{-3}; redukční činidlo: c($NaBH_4$) = 2,4 %, c(KOH) = 0,1 %,
c(Antifoam B) = 398 mg dm^{-3}

5.2.4. Shrnutí podmínek generování a vliv reakčních modifikátorů

Bylo zjištěno, že pro účinné VSG je třeba zvolit optimální kombinaci koncentrací $NaBH_4$ a HNO_3, která zaručuje, že pH reakční směsi je kyselé (kolem hodnoty 2), ale zároveň není HNO_3 ve velkém nadbytku.

Pro zlepšení citlivosti a stability signálu je potřebné modifikovat systém palladiem, které zaručí stabilní (v čase) rozklad $NaBH_4$.

Ze všech zkoumaných modifikátorů vykazoval největší vliv na citlivost přídavek Antifoamu B do roztoku $NaBH_4$. Triton X-100 nevykazoval žádné zlepšení citlivosti kromě případu, kdy nebyl Antifoam B použit vůbec. Jeho pozitivní vliv však spočívá v tom, že píky mají vyšší výšku a tolik nechvostují. Také omezuje šum signálů a

zaručuje dlouhodobější opakovatelnost v rámci jednoho i více dnů. Tween 20 vykazoval podobné chování, avšak negativně ovlivňoval šum signálu. Nepatrné zlepšení citlivosti bylo pozorováno pro 1,10-fenantrolin, naopak pro 8-hydroxychinolin nebyl pozorován žádný vliv a pro DDTC byl vliv dokonce negativní. Optimální koncentrace reagencií pro VSG mědi jsou shrnuty v tab. 4.

Tabulka 4 - shrnutí optimálních koncentrací reagencií

Reakční složky	*c*
Nosič	
HNO_3	0,6 mol dm^{-3}
Reakční modifikátor	
Triton X-100	10 mg dm^{-3}
HNO_3	0,1 mol dm^{-3}
Redukční činidlo	
$NaBH_4$	2,4 %
KOH	0,1 %
Antifoam B	265 mg dm^{-3}

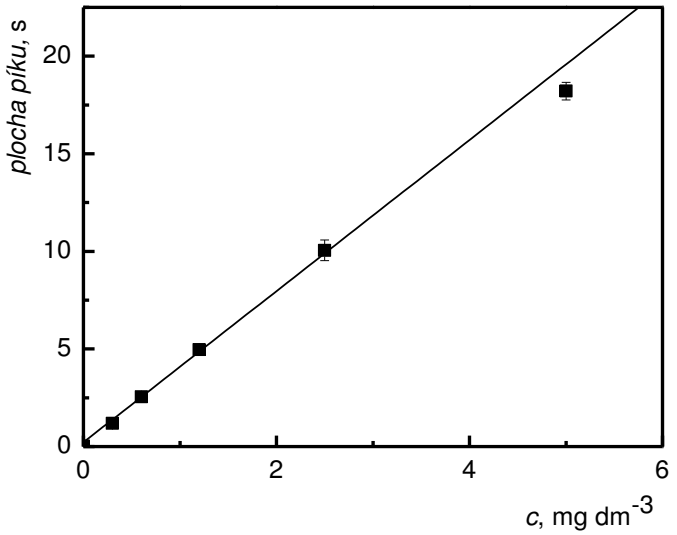
5.3. Analytické charakteristiky

Pro optimální podmínky generování (tab. 4) a atomizace v DF (tab. 3) byly určeny základní analytické charakteristiky metody – citlivost daná směrnicí kalibrační závislosti, meze detekce a stanovitelnosti a opakovatelnost. Kalibrační závislost byla měřena s korekcí pozadí pro koncentrace mědi 0; 0,3; 0,6; 1,2; 2,5 a 5 mg dm^{-3}. Z obr. 5.14 je zřejmé, že do koncentrace 2,5 mg dm^{-3} je závislost signálu na koncentraci lineární, ale nejvyšší koncentrace (5 mg dm^{-3}) už neleží v lineární oblasti kalibrace. Mez detekce a stanovitelnosti byly stanoveny pomocí 11ti měření slepých pokusů vzorků a vypočteny dle rovnic (10, 11). Pokud byla měření prováděna bez korekce pozadí, byly pozorovány nahodilé změny v základní linii, které se pak nepříznivě projevily ve zhoršení výsledné sd_{blank}, a tím LOD. Vysvětlení není zcela zřejmé, ale patrně se dostávaly malé kapičky kapalné fáze z generátoru do DF, kde byly odpařeny, a vzniklá vodní pára způsobila nespecifickou absorpci záření. Bylo ukázáno, že tato nespecifická absorpce může být kompenzována použitím korekce pozadí.

Závěrem byla určena opakovatelnost metody pomocí 10ti po sobě následujících měření o koncentraci vzorku 2,5 mg dm^{-3}. Všechny analytické charakteristiky jsou znázorněny v tab. 5.

Tabulka 5 - analytické charakteristiky metody

Směrnice s dm^3 mg^{-1}	R^2	LOD mg dm^{-3}	LOQ mg dm^{-3}	opakovatelnost %
4,051	0,9995	0,062	0,208	2,4



Obrázek 5.14 – kalibrační křivka
OH = 2 mm, F($Ar_{generátor}$) = 100 cm^3 min^{-1}, F($H_{2\ plamen}$) = 75 cm^3 min^{-1}; nosič: c(HNO_3) = 0,6 mol dm^{-3}; reakční modifikátor: c(Triton X-100) = 10 mg dm^{-3}, c(HNO_3) = 0,1 mol dm^{-3}; redukční činidlo: c($NaBH_4$) = 2,4 %, c(KOH) = 0,1 %, c(Antifoam B) = 265 mg dm^{-3}

6. Závěr

Tato bakalářská práce byla věnována optimalizaci podmínek chemického VSG mědi za využití DF jako atomizátoru a AAS.

V první části práce bylo zjištěno optimální složení plynů do DF a stanovena optimální OH. Z experimentů vyplynulo, že použitím $H_{2\ generátor}$ jako nosného plynu do generátoru lze dosáhnout poměrně vysoké citlivosti, ale kvůli tomu, že použitý $H_{2\ generátor}$ ovlivňuje jak proces generování, tak atomizace, nelze rozhodnout, který proces je přidáním $H_{2\ generátor}$ ovlivněn. Bylo zjištěno, že čím vyšší průtok nosného plynu do generátoru, tím vyšší β_{VSG}. Jako optimální byl vybrán způsob zapojení, kdy Ar byl zaváděn do generátoru jako nosný plyn a H_2 až do DF. Toto zapojení zaručovalo stabilní citlivost i při změnách množství vygenerovaného vodíku z rozkladu $NaBH_4$.

V druhé části byly optimalizovány jednotlivé reakční složky pro VSG mědi. Bylo zjištěno, že pro účinné VSG je třeba zvolit optimální kombinaci koncentrací $NaBH_4$ a HNO_3, která zaručuje, že výsledné pH reakční směsi je kolem hodnoty 2. Důležitým bodem bylo ověření použití různých reakčních modifikátorů, které byly popsány v literatuře pro zvýšení β_{VSG} mědi i dalších přechodných kovů. Ze všech zkoumaných modifikátorů vykazoval největší vliv na citlivost přídavek Antifoamu B do roztoku $NaBH_4$, kdy bylo dosaženo přibližně trojnásobné hodnoty oproti měření bez přídavku Antifoamu B. Dále byl zjištěn pozitivní vliv Tritonu X-100, který nespočívá ve zvýšení citlivosti, ale v tom, že signály mají vyšší výšku a tolik nechvostují. Přídavek Tritonu X-100 také omezuje šum signálů a zaručuje dlouhodobější opakovatelnost v rámci jednoho i více dnů. Kombinace Tritonu X-100 a Antifoamu B byla nakonec zvolena jako optimální. Pro ostatní testované reakční modifikátory nebylo pozorováno žádné výrazné zlepšení citlivosti měření. TWEEN 20 vykazoval podobné chování jako Triton X-100, přidání 8-hydroxychinolinu nemělo žádný vliv, DDTC ovlivňovalo citlivost negativně a u 1,10-fenantrolinu bylo pozorováno jen mírné zvýšení citlivosti a zlepšení tvaru měřeného signálu.

Pro optimální podmínky generování byla změřena kalibrační závislost, která byla lineární v rozsahu koncentrací 0,3 až 2,5 mg dm^{-3}, a byly vypočteny meze detekce a stanovitelnosti. Opakovatelnost metody pro koncentraci 2,5 mg dm^{-3} byla více než dobrá a činila 2,4 %.

Na závěr je třeba dodat, že tato bakalářská práce představuje doposud v literatuře nepopsaný způsob VSG mědi, co se týče použitého typu generátoru a kombinace reakčních modifikátorů. Pro podstatné zvýšení citlivosti celé metody bude optimalizovaný generátor v budoucnu v rámci řešeného projektu spojen s podstatně citlivějšími atomizátory těkavých specií.

7. Literatura

1. Welz, B.; Sperling, M.: *Atomic absorption spektrometry*. 3rd completely revised ed. Weinheim, Wiley-VCH (1998).

2. Long, Z.; Luo, Y.; Zheng, C.; Deng, P.; Hou, X.: Recent Advance of Hydride Generation–Analytical Atomic Spectrometry: Part I–Technique Development. *Applied Spectroscopy Reviews,* **47**, 382-413 (2012).

3. Matoušek, T.: The efficiency of chemical vapour generation of transition and noble metals. *Analytical and Bioanalytical Chemistry,* **388**, 763–767 (2007).

4. Smichowski, P.; Farías, S.: Advantages and analytical applications of chloride generation. A review on vapor generation methods in atomic spectrometry. *Microchemical Journal,* **67**, 147–155 (2000).

5. Červený, V.; Rychlovský, P.; Hraníček, J.; Šíma, J.: Elektrochemické generování těkavých sloučenin pro potřeby spektrálních analytických metod. *Chemické listy*, **103**, 652–660 (2009).

6. He, Y.; Hou, X.; Zheng, C.; Sturgeon, R. E.: Critical evaluation of the application of photochemical vapor generation in analytical atomic spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry,* **388**, 769–774 (2007).

7. Marsh, J.: Account of a Method of separating Small Quantities of Arsenic from Substances with which it may be mixed. *The Edinburgh New Philosophical Journal*, 21 (1836), 229–236.

8. Holak, W.: Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry. *Analytical Chemistry,* **41**, 1712–1713 (1969).

9. Robbins, W. B.; Caruso, J. A.: Development of hydride generation methods for atomic spectroscopic analysis. *Analytical Chemistry,* **51**, 889A–898A (1979).

10. D'Ulivo, A.: Mechanism of generation of volatile species by aqueous boranes: towards the clarification of most controversial aspects. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy,* **65**, 360–375 (2010).

11. Sturgeon, R. E.; Liu, J.; Boyko, V. J.; Luong, V. T.: Determination of copper in environmental matrices following vapor generation. *Analytical Chemistry,* **68**, 1883–1887 (1996).

12. Pohl, P.; Jamroz, P.; Welna, M.; Szymczycha-Madeja, A.; Greda, K.: Chemical-vapor generation of transition metals through the reaction with tetrahydroborate in recent achievements in analytical atomic spectrometry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry,* **59**, 144–155 (2014).

13. Feng, Y. L.; Sturgeon, R. E.; Lam, J. W.: Chemical vapor generation characteristics of transition and noble metals reacting with tetrahydroborate (III). *Journal of Analytical Atomic Spectrometry,* **18**, 1435–1442 (2003).

14. Musil, S.; Kratzer, J.; Vobecký, M.; Hovorka, J.; Benada, O.; Matoušek, T.: Chemical vapor generation of silver for atomic absorption spectrometry with the multiatomizer: Radiotracer efficiency study and characterization of silver species. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy,* **64**, 1240–1247 (2009).

15. Arslan, Y.; Matoušek, T.; Kratzer, J.; Musil, S.; Benada, O.; Vobecký, M.; Ataman, O. Y.; Dědina, J.: Gold volatile compound generation: optimization, efficiency and characterization of the generated form. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry,* **26**, 828–837 (2011).

16. Peña-Vázquez, E.; Villanueva-Alonso, J.; Bermejo-Barrera, P.: Optimization of a vapour generation method for metal determination using ICP-OES. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry,* **22**, 642–649 (2007).

17. Villanueva-Alonso, J.; Peña-Vázquez, E.; Bermejo-Barrera, P.: Use of high resolution continuum source atomic absorption spectrometry as a detector for chemically generated noble and transition metal vapors. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy,* **64**, 659–665 (2009).

18. He, L.; Zhu, X. I. A. O.; Wu, L.; Hou, X.: Determination of trace copper in biological samples by on-line chemical vapor generation-atomic fluorescence spectrometry. *Atomic Spectroscopy,* **29**, 93–98 (2008).

19. Stanisz, E.; Zgoła-Grześkowiak, A.; Matusiewicz, H.: Generation of volatile copper species after in situ ionic liquid formation dispersive liquid-liquid microextraction prior to atomic absorption spectrometric detection. *Talanta,* **129**, 254–262 (2014).

20. Zhang, C.; Li, Y.; Cui, X. Y.; Jiang, Y.; Yan, X. P.: Room temperature ionic liquids enhanced chemical vapor generation of copper, silver and gold following reduction in acidified aqueous solution with KBH_4 for atomic fluorescence spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry,* **23**, 1372–1377 (2008).

21. Luna, A. S.; Sturgeon, R. E.; de Campos, R. C.: Chemical vapor generation: atomic absorption by Ag, Au, Cu, and Zn following reduction of aquo ions with sodium tetrahydroborate (III). *Analytical Chemistry,* **72**, 3523–3531 (2000).

22. Zheng, C.; Sturgeon, R. E.; Hou, X.: Thin film hydride generation: determination of ultra-trace copper by flow injection in situ hydride trapping graphite furnace AAS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry,* **25**, 1159–1165 (2010).

23. Duan, X.; McLaughlin, R. L.; Brindle, I. D.; Conn, A.: Investigations into the generation of Ag, Au, Cd, Co, Cu, Ni, Sn and Zn by vapour generation and their determination by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, together with a mass spectrometric study of volatile species. Determination of Ag, Au, Co, Cu, Ni and Zn in iron. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry,* **17**, 227–231 (2002).

24. Silva, L. O.; Leao, D. J.; dos Santos, D. C.; Matos, G. D.; de Andrade, J. B.; Ferreira, S. L.: Determination of copper in airborne particulate matter using slurry sampling and chemical vapor generation atomic absorption spectrometry. *Talanta,* **127**, 140-145 (2014).

25. Dočekal, B.; Dědina, J.; Černohorský, T.; Seidlerová, J.; Krakovská, E.: *Atomová absorpční spektrometrie.* 2. Upravené a doplněné vydání, Český Těšín (2003).

26. Dědina, J.; Fara, M.; Kolihová, D.; Korečková J.; Musil, J.; Plško, E.; Sychra, V.: *Vybrané metody analytické atomové spektrometrie*. ČSSS, Praha (1987).

27. Dědina, J.: Atomization of volatile compounds for atomic absorption and atomic fluorescence spectrometry: on the way towards the ideal atomizer. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy,* **62,** 846–872 (2007).

28. Dědina, J.; D'Ulivo, A.; Lampugnani, L.; Matoušek, T.; Zamboni, R.: Selenium hydride atomization, fate of free atoms and spectroscopic temperature in miniature diffusion flame atomizer studied by atomic absorption spektrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, **53**, 1777–1790 (1998).

29. Dědina, J.; Welz, Bernhard.: Quartz tube atomizers for hydride generation atomic absorption spectrometry: mechanism for atomization of arsine. Invited lecture. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **7**, 307–314 (1992).

30. Zhu, Z.; Zhang, S.; Lv, Y.; Zhang, X.: Atomization of hydride with a low-temperature, atmospheric pressure dielectric barrier discharge and its application to arsenic speciation with atomic absorption spectrometry. *Analytical Chemistry,* **78**, 865–872 (2006).

31. Greenwood, N. N.; Earnshaw, A.: *Chemistry of the Elements.* Elsevier (2012).

32. Dorsey, A.; Ingerman, L.; Swarts, S.: *Toxicological profile for copper.* Department of Health & Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry (2004).

33. Fremrová, L.; Pitter, P.; Břízová, E.; Franče, P.: *Měď.* Dostupné z URL: <http://www.irz.cz/dokumenty/irz/metody_mereni/voda/med.pdf> [cit. 19. 5. 2015]

34. Arslan, Y.; Musil, S.; Matoušek, T.; Kratzer, J.; Dědina, J.: Gold volatile species atomization and preconcentration in quartz devices for atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy,* (2015).

35. Dědina, J.: Atomic absorption coefficient of the Se 196 nm line–theoretical calculation and experimental evaluation. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, **46**, 379–391 (1991).

36. Suda, S.; Sun, Y. M.; Liu, B. H.; Zhou, Y.; Morimitsu, S.; Arai, K.; Tsukamoto, N.; Uchida, M.; Candra, Y.; Li, Z. P.: Catalytic generation of hydrogen by applying fluorinated-metal hydrides as catalysts. *Applied Physics A,* **72**, 209-212 (2001).

37. Matoušek, T.; Sturgeon, R. E.: Surfactant assisted chemical vapour generation of silver for AAS and ICP-OES: a mechanistic study. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry,* **18**, 487–494 (2003).

38. Dadfarnia, S.; Haji Shabani, A. M.; Gohari, M.: Trace enrichment and determination of silver by immobilized DDTC microcolumn and flow injection atomic absorption spectrometry. *Talanta,* **64**, 682-687 (2004).