

**Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta**  
**Katedra analytické chemie**

**Charles University, Faculty of Science**  
**Department of Analytical Chemistry**

Doktorský studijní program: Analytická chemie  
Doctoral Study Programme: Analytical Chemistry

Autoreferát disertační práce  
Summary of the Doctoral thesis



**UV-FOTOCHEMICKÉ GENEROVÁNÍ TĚKAVÝCH  
SLOUČENIN SELENU A TELURU**

**UV-PHOTOCHEMICAL GENERATION OF VOLATILE  
COMPOUNDS OF SELENIUM AND TELLURIUM**

**Mgr. Eliška Nováková**

Školitel/Supervisor: RNDr. Jakub Hraníček, Ph.D.  
Konzultant/Consultant: prof. RNDr. Jiří Dědina, Csc., DSc.

Praha 2017

## Abstrakt

Předkládaná disertační práce se zabývá studiem UV-fotochemického generování těkavých sloučenin Se a Te z různých specií s cílem rozšířit dosavadní poznatky o problematice UV-fotochemického generování o možnost využití fotokatalytické redukce vyšších oxidačních stavů pro speciální analýzu.

V první fázi byla sestavena aparatura pro UV-fotochemické generování s využitím přídatku suspenze  $\text{TiO}_2$ . Volba materiálu reaktoru a konstrukce aparatury proběhla na základě literární rešerše a poznatků získaných již dříve v rámci výzkumné skupiny. Pozornost byla věnována optimalizaci reakčních podmínek, přičemž jako modelové prvky byly zvoleny Se a Te. Selen byl zkoumán, protože je nejčastějším prvkem, na kterém je UV-fotochemické generování zkoumáno. Naopak Te byl vybrán jako modelový zástupce těžších prvků tvořících méně stabilní těkavé sloučeniny.

Ve druhé fázi experimentů byly zkoumány možnosti aplikace vyvinuté metody. UV-fotochemické generování těkavé sloučeniny Se katalyzované  $\text{TiO}_2$  bylo úspěšně aplikováno pro stanovení obsahu Se ve vodných matricích včetně certifikovaných referenčních materiálů a v různých vzorcích potravinových doplňků. Metoda byla dále úspěšně modifikována pro použití ve spojení s atomově fluorescenční detekcí jako derivatizační technika pro speciální analýzu založenou na chromatografické separaci.

Ve třetí fázi disertační práce byly provedeny experimenty zkoumající vliv matrice na chemické, elektrochemické a UV-fotochemické generování těkavých sloučenin opět se Se jako modelovým prvkem a tyto tři metody byly na základě interferencí porovnány. Bylo zjištěno, že při UV-fotochemickém a elektrochemickém generování by bylo možno dále zvýšit citlivost stanovení pomocí reakčních modifikátorů. V odolnosti vůči vlivu interferentů alternativní techniky generování těkavých sloučenin významně zaostávají za chemickým generováním především kvůli vlivu anorganických kyselin a solí.

## 1. Úvod

Technika generování těkavých sloučenin ve spojení s atomově spektrometrickými metodami se uplatňuje především pro stanovení prvků ze 14.–16. skupiny periodické soustavy prvků. [1] Tyto prvky ochotně tvoří stabilní těkavé hydridy případně i těkavé sloučeniny organického charakteru. S nižší účinností a citlivostí je ovšem možné generovat i těkavé sloučeniny přechodných a vzácných kovů. [2] Nejčastěji využívaná technika generování tzv. chemické generování těkavých sloučenin (CVG) je založena na redukci analytu tetrahydridoboritanem sodným nebo draselným. Vzhledem k tomu, že toto činidlo je dostupné jen v omezené čistotě a patří mezi sloučeniny škodlivé pro životní prostředí, jsou hledány další alternativní možnosti generování těkavých sloučenin, které by toto činidlo mohly v rutinních stanoveních nahradit.

První rozšířenou alternativou bylo elektrochemické generování těkavých sloučenin (EcVg) využívající k redukci analytu průchodu elektrického proudu. Novější možností je využití fotochemických reakcí. V analytické chemii se uplatňuje UV-fotochemické generování těkavých sloučenin (UV-PVG) buď bez nebo s použitím fotochemických katalyzátorů např.  $\text{TiO}_2$ . Ten umožňuje redukci vyššího oxidačního čísla na nižší vhodný pro generování těkavé sloučeniny. Těkavé sloučeniny jsou v případě UV-fotochemického generování produkovány v důsledku působení UV-záření na kapalnou vzorek s obsahem analytu a reakčního činidla, kterým je většinou nízkomolekulární organická kyselina. Reakční mechanismus vzniku těkavých sloučenin je díky složité povaze fotoreakcí stále předmětem diskuzí. Pro UV-PVG byl navržen radikálový mechanismus [3] a alternativně i reakce probíhající přes ketenové meziprodukty. [4,5] V přítomnosti  $\text{TiO}_2$  je předpokládán redoxní mechanismus poháněný polovodičovými ději probíhajícími na povrchu fotokatalyzátoru. [6–8]

Z literární rešerše vyplynulo, že UV-fotochemické generování těkavých sloučenin má v porovnání s klasickým chemickým generováním významný nedostatek, kterým jsou nezanedbatelné interference. Navzdory hypotéze, že reaktivní radikály vznikající štěpením organických kyselin nebudou mít dostatečný redukční potenciál pro redukci přechodných kovů, jsou přesto interference pozorovány a je nutno je zohlednit při vývoji metod pro stanovení analytů v reálných maticích.

## 2. Cíle práce

Tato práce sestává ze tří propojených témat. V rámci prvního tématu byly optimalizovány podmínky pro UV-fotochemické generování Se s využitím  $\text{TiO}_2$  a dále byly testovány možnosti jeho aplikace. Toto téma souviselo s řešením projektu GA UK 28214. Za druhé byla zkoumána možnost UV-fotochemického generování těkavé sloučeniny Te (v souvislosti s výše uvedeným projektem GA UK a projektem GA UK 28621). Kombinace UV-fotochemického generování s fotokatalýzou v UV oblasti je využívána především proto, že umožňuje on-line fotoredukci Se v oxidačním čísle VI, zatím ale tento postup nebyl publikován pro fotoredukci Te(VI). Je předpokládán vznik hydridu příslušného analytu, stejně jako je tomu při chemickém nebo elektrochemickém generování. Za třetí byla provedena interferenční studie se Se jako modelovým prvkem porovnávající chemické, elektrochemické a UV-fotochemické generování těkavých sloučenin (v rámci projektu GAČR 14-23532). Jednotlivé cíle práce byly následující:

- a) Optimalizovat podmínky UV-fotochemického generování těkavé sloučeniny Se s využitím fotokatalyzátoru  $\text{TiO}_2$
- b) Porovnat dosažené základní charakteristiky s chemickým generováním těkavé sloučeniny Se a zjistit účinnost generování
- c) Aplikovat vyvinutou metodu na stanovení Se v reálných vzorcích
- d) Vyvinout chromatografickou metodu pro stanovení sloučenin Se ve směsi s atomově spektrometrickou detekcí s derivatizací prostřednictvím UV-fotochemického generování.
- e) Zoptimalizovat podmínky UV-fotochemického generování Te a zjistit jeho základní charakteristiky
- f) Porovnat UV-fotochemické, elektrochemické a chemické generování na základě vlivu potenciálních interferentů z matrice. Cílem bylo zjistit, jak výrazně jsou jednotlivé techniky ovlivněny různými složkami matrice, aby bylo možno rozhodnout o tom, pro jaké matrice jsou zkoumané metody nevhodné nebo jaké postupy předúpravy vzorku by měly předcházet analýze.

### **3. Materiál a metody**

#### **3.1. Instrumentace**

Při experimentální práci byla využita následující instrumentace. Atomový absorpční spektrometr Unicam 939 (Unicam, UK), atomový absorpční spektrometr GBC Avanta (GBC, Austrálie), atomový absorpční spektrometr ContrAA 700 (Analytik Jena, Německo), mikrovlnné rozkladové zařízení CEM MDS 2000 (CEM, USA), UHPLC Dionex Ultimate 3000 a aniontově výměnná kolona Hamilton PRP-X100 (5  $\mu\text{m}$ , 2,1 x 250 mm), atomový fluorescenční spektrometr PSA Millenium Excalibur (PSA, UK), peristaltická pumpa MasterFlex (Cole-Parmer, USA), průtokoměry pro přesné měření objemu plynu mass flow controller (Cole-Parmer, USA). Detekce Se probíhala na analytické čáře 196,0 nm a detekce Te na analytické čáře 214,3 nm, šíře spektrálního intervalu byla vždy 0,5 nm. Výbojka pro Se byla napájena proudem 12 mA a pro Te 7 mA.

#### **3.2. UV-fotochemický reaktor**

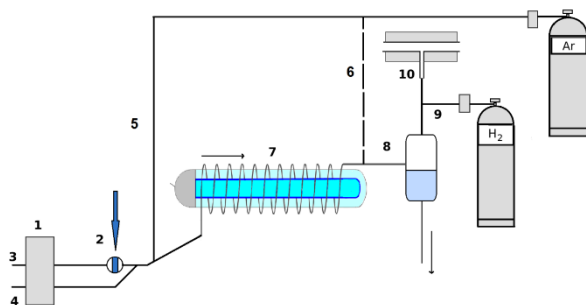
Použitý reaktor sestával z nízkotlaké rtuťové výbojky trubicového tvaru (610 x 152 x 108 mm, 20 W, USHIO, Japonsko) těsně omotané PTFE kapilárou (i.d. 0,8 mm, o.d. 1,58 mm), kterou při měření protékal roztok činidla. UV generátor byl osazen ve zdroji s reflexními stěnami a svrchu zakryt krytem z pevného kartonu potaženého hliníkovou fólií. Bylo zjištěno, že teplota na povrchu UV výbojky při dlouhodobém provozu dosahuje přibližně 55 °C. Nízkotlaká rtuťová výbojka byla zvolena, protože  $\text{TiO}_2$  je schopen absorpce záření pouze v UV spektru; šířka zakázaného pásu v nemodifikovaném  $\text{TiO}_2$  je 3,5 eV, což odpovídá energii záření o vlnové délce přibližně 350 nm. Tato vlnová délka představuje spodní limit energie, která dokáže zajistit vznik párů elektron – díra v  $\text{TiO}_2$ .

#### **3.3. Postup měření v uspořádání průtokové injekční analýzy**

Níže zobrazená aparatura pro UV-fotochemické generování těkavých sloučenin v módu průtokové injekční analýzy (obr. 3.1) byla využita pro generování těkavé sloučeniny Se i Te včetně stanovení obsahu Se v reálných vzorcích. Vzorek připravený v deionizované vodě případně jiném roztoku byl dávkován přes nízkotlaký dávkovací ventil do proudu roztoku nízkomolekulární kyseliny. Za dávkovacím ventilem byla kontinuálně přidávána suspenze  $\text{TiO}_2$  a vzorek byl následně unášen nosným

plynem do UV reaktoru. Vygenerovaná těkavá sloučenina byla průběžně strhávána nosným plynem a oddělena od kapalné odpadní fáze v separátoru fázi odkud spolu s přidávaným  $H_2$  pokračovala do atomizátoru.

Během modifikací aparatur byla zachována délka transportního vedení; vzdálenost od výstupu z UV reaktoru po separátor fázi měřila v případě generování těkavé sloučeniny Se 15 cm, v případě Te byla zkrácena na 7 cm. Vzdálenost od výstupu ze separátoru fázi po atomizační prostředí (včetně přívodního raménka atomizátoru) měřila vždy 15 cm.



Obr. 3.1: Aparatura pro UV-fotochemické generování těkavých sloučenin Se a Te v módu průtokové injekční analýzy

1 – peristaltické čerpadlo, 2 – dávkování vzorku, 3 – fotochemické činidlo (nízkomolekulární organická kyselina), 4 – suspenze  $TiO_2$ , 5 – přívod Ar, 6 – alternativní pozice pro přívod Ar (organické specie Se), 7 – UV-fotochemický reaktor, 8 – separátor fázi, 9 – přívod  $H_2$ , 10 – atomizace v externě vyhřívaném křemenném atomizátoru

### 3.4. Postup měření v kontinuálním uspořádání a ve spojení s chromatografickou separací

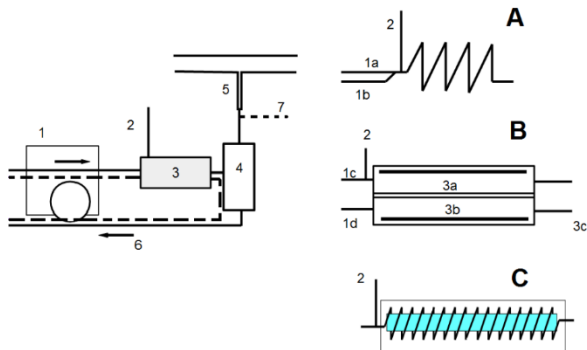
Modifikace aparatury umožňující kontinuální průtokovou analýzu včetně porovnání účinnosti s chemickým generováním a aparatura pro chromatografickou separaci spojenou s UV-fotochemickým generováním těkavých sloučenin a detekci AFS jsou uvedeny v disertační práci. V případě kontinuální průtokové analýzy byl odpojen dávkovací ventil a kanál č. 4 (viz obr. 3.1.) a vzorek připravený v roztoku organické kyseliny byl nasáván kanálem 3. Při aplikaci metody  $TiO_2$ /UV-fotochemického

generování jako derivatizační metody pro stanovení specií Se ve směsi po chromatografické separaci byly části aparatury 1-4 nahrazeny vysokotlakým čerpadlem a automatickým dávkovačem chromatografického přístroje. Směsný standard specií Se byl dávkován do toku mobilní fáze, rozdělen na koloně, za kterou bylo derivatizační činidlo (suspenze  $\text{TiO}_2$  připravená v kyselině octové) a nosný a atomizační plyn. Po separaci těkavých sloučenin od kapalného odpadu proběhla detekce metodou atomové fluorescenční spektrometrie.

### 3.5. Aparatura a postup měření v interferenční studii

Pro porovnání vlivu interferencí v různých technikách generování těkavých sloučenin byla zkonstruována aparatura pro kontinuální průtokové generování, ve které bylo možné snadno provést záměnu reaktoru, při zachování jinak stejných podmínek měření. Zmíněná aparatura a použité reaktory jsou schematicky zobrazeny na obr. 3.2. Nosný plyn byl ve všech případech dávkován před vstupem do generátoru. Při měření interferenční studie byl vzorek připravený v reakčním činidle příslušejícím dané metodě generování nasáván kontinuálně do generátoru, dokud nebylo dosaženo stabilní hodnoty signálu. Potřebná doba byla pro různé metody generování a různé interferenty různě dlouhá. Pak byl vzorek zaměněn za blank, dokud nedošlo k návratu a ustálení signálu na základní linii.

Reaktorem v chemickém generování těkavých sloučenin byla teflonová hadička o vnitřním průměru 1,0 mm (o.d. = 2,0 mm, Sigma-Aldrich, USA). Elektrochemické generování bylo prováděno v elektrolytické cele [9,10] sestavené v laboratoři sestávající ze dvou polocel oddělených membránou (Nafion 117, Sigma-Aldrich, USA). Každá polocela měla vnitřní objem 900  $\mu\text{l}$ . Použitá katoda byla olověná (99,99 % Pb, Sigma-Aldrich,  $S = 820 \text{ mm}^2$ ) a katolytem byl 1,0M HCl, plíšková anoda byla z Pt (99,99 %, Safina, ČR,  $S = 350 \text{ mm}^2$ ) a anolytem byl 2,0M roztok  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Pro udržování konstantního proudu byl použit laboratorní zdroj LPS 303 (American Reliance, Taiwan). Generátorem ve fotochemickém generování byl reaktor sestávající z nízkotlaké rtuťové UV výbojky (20 W, USHIO, Japonsko) omotané teflonovou kapilárou o vnitřním průměru 1,0 mm (o.d. 1,4 mm). Podmínky jsou uvedeny v tabulce 1.



Obr. 3.2: Schéma aparatury pro porovnání interferencí v různých technikách generování těkavých sloučenin

1 – peristaltické čerpadlo, 2 – přívod Ar, 3 – reaktor (A – CVG, B – EcVG, C – UV-PVG), 4 – separátor fází, 5 – externě vyhřívaný křemenný atomizátor, 6 – odpad, 7 – atomizační plyn ( $H_2$ , pouze UV-PVG), 1a – přívod HCl a vzorku, 1b – přívod  $NaBH_4$ , 1c – přívod katolytu a vzorku, 1d – přívod anolytu, odpovídá přerušované čáře v celkovém schématu, 3a – katodový prostor, 3b – anodový prostor, 3c – odvod a recyklace anolytu

Tabulka 1: Podmínky použité při porovnání interferencí v různých metodách generování těkavých sloučenin Se

Parametr	CVG	EcVG	UV-PVG
Koncentrace $NaBH_4$ , % (m/V)	0,5	-	-
Koncentrace HCl, mol $dm^{-3}$	1,0	1,0	-
Koncentrace HCOOH, mol $dm^{-3}$	-	-	0,5
Koncentrace $H_2SO_4$ , mol $dm^{-3}$	-	2,0	-
Délka reakční cívky, cm	80 (V = 0,63 ml)	-	350 (V = 2,7 ml)
Katoda	-	Pb, S = 820 $mm^2$	-
Generační proud, A	-	1,0	-
Průtoková rychlost vzorku, ml $min^{-1}$	5,0	5,5	6,0
Průtoková rychlost Ar, ml $min^{-1}$	20,0	70,0	15,0
Průtoková rychlost $H_2$ , ml $min^{-1}$	-	-	3,0



Vliv potenciálních interferentů byl zkoumán v kapalně fázi – tedy interferenty byly přítomny v modelovém vzorku spolu s roztokem Se(IV) o koncentraci  $5 \mu\text{g dm}^{-3}$  (CVG, UV-PVG) nebo  $25 \mu\text{g dm}^{-3}$  (EcVG). Naměřené absorbance byly přepočítávány na procentuální změnu signálu vůči vzorku bez interferentu a vynášeny v závislosti na hmotnostním poměru interferentu k Se. Odlišné koncentrace Se byly použity z důvodu odlišných limitů detekce a citlivostí metod, odpovídají přibližně absorbaci 0,20 pro každou ze tří metod.

S vybranými prvky (As, Sb, Pb, Cu, Ni) prováděny experimenty zjišťující, zda k interferenci/modifikaci reakce dochází v kapalně nebo plynné fázi. Při těchto experimentech byla zvlášť generována potenciálně vznikající těkavá sloučenina zkoumaného prvku ve druhém totožném reaktoru. Kanály s těkavou sloučeninou Se a těkavou sloučeninou zkoumaného prvku byly spojeny před vstupem do atomizátoru. Použit byl také pár stejných separátorů fází. Podmínky generování byly v obou kanálech totožné s optimálními podmínkami pro generování těkavé sloučeniny Se danou metodou, pouze průtok nosného plynu byl v každém kanálu poloviční oproti optimální průtokové rychlosti.

Do řady modelových vzorků byly náhodně zařazovány také roztoky Se bez interferentu za účelem zjištění případných paměťových efektů. V případě UV-PVG a CVG žádné paměťové efekty pozorovány nebyly ani nebyla pozorována viditelná redukce kovových prvků na vnitřních povrchích aparatur. Naopak elektrochemické generování těkavých sloučenin bylo zatíženo paměťovými efekty v důsledku modifikace povrchu katody vrstvou redukovaného interferentu. [11] V případě zkoumání vlivu mědi byla zřetelně pozorovatelná barevná změna povrchu katody.

## 4. Výsledky a diskuze

### 4.1. UV-fotochemické generování těkavých sloučenin Se a Te s využitím fotochemické katalýzy na TiO<sub>2</sub>

Optimalizace podmínek UV-fotochemického generování těkavých sloučenin Se a Te z čtyřmocných a šestimocných specií v uspořádání průtokové injekční analýzy (FIA) a Se v uspořádání kontinuální injekční analýzy (CFA) jsou uvedeny v disertační práci. Při optimálních podmínkách byly nalezeny základní charakteristiky FIA stanovení Se a Te, které jsou uvedeny v tabulkách tab. 2 (Se) a tab. 3 (Te).

Zatímco v případě Se jsou získané základní charakteristiky postačující pro analytické aplikace, v případě Te nízká stabilita vznikající těkavé sloučeniny neumožňuje použití metody na stanovení Te v reálných vzorcích bez předchozího významného snížení limitu detekce. Při TiO<sub>2</sub>/UV-fotochemickém generování těkavé sloučeniny Te nebylo dosaženo stejných směrníc závislostí pro obě specie.

V uspořádání kontinuální průtokové analýzy byla zjištěna účinnost fotochemického generování těkavé sloučeniny Se 81 % účinnosti dosažené chemickým generováním ve stejné aparatuře.

Tabulka 2: Základní charakteristiky stanovení Se(IV) a Se(VI) v módu FIA<sup>a</sup> a CFA<sup>b</sup>

	FIA <sup>a</sup>		CFA <sup>b</sup>	
	Se(IV)	Se(VI)	Se(IV)	Se(VI)
LOD, $\mu\text{g dm}^{-3}$	1,8	1,6	0,1	0,2
LOQ, $\mu\text{g dm}^{-3}$	6,0	5,5	0,3	0,5
Citlivost, $\text{dm}^3 \mu\text{g}^{-1}$	$26 \cdot 10^{-4}$	$24 \cdot 10^{-4}$	$21 \cdot 10^{-3}$	$21 \cdot 10^{-3}$
RSD, % <sup>c</sup>	3,5	5,1	3,1	3,0
LDR, $\mu\text{g dm}^{-3}$	LOQ - 200	LOQ - 200	LOQ - 10	LOQ - 10
R	0,9973	0,9997	0,9993	0,9998

<sup>a</sup>  $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $Fr(\text{vz}) = 3,0 \text{ ml min}^{-1}$ ,  $Fr(\text{Ar}) = 55 \text{ ml min}^{-1}$ ,  $Fr(\text{H}_2) = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ,  $V(\text{reaktoru}) = 1,7 \text{ ml}$ ,  $V(\text{vz}) = 100 \mu\text{l}$ ,  $c(\text{TiO}_2) = 0,005\% (\text{m/V})$ ,  $T_{\text{at}} = 950 \text{ }^\circ\text{C}$

<sup>b</sup>  $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $Fr(\text{vz}) = 5,0 \text{ ml min}^{-1}$ ,  $Fr(\text{Ar}) = 40 \text{ ml min}^{-1}$ ,  $Fr(\text{H}_2) = 4,5 \text{ ml min}^{-1}$ ,  $V(\text{reaktoru}) = 1,5 \text{ ml}$ ,  $T_{\text{at}} = 950 \text{ }^\circ\text{C}$

<sup>c</sup> hodnota v polovině LDR

Tabulka 3: Základní charakteristiky stanovení Te(IV) a Te(VI) v módu FIA

Parametr	Te(IV)	Te(VI)
LOD, mg dm <sup>-3</sup>	0,03	0,04
LOQ, mg dm <sup>-3</sup>	0,11	0,12
Citlivost, dm <sup>3</sup> mg <sup>-1</sup>	31 10 <sup>-2</sup>	67 10 <sup>-2</sup>
RSD, %	3,8 (1,0 mg dm <sup>-3</sup> )	3,4 (0,5 mg dm <sup>-3</sup> )
LDR, mg dm <sup>-3</sup>	LOQ – 2,0	LOQ – 1,0
R	0,9992	0,9925

$c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $Fr(\text{vz}) = 3,2 \text{ ml min}^{-1}$ ,

$Fr(\text{Ar}) = 200 \text{ ml min}^{-1}$ ,  $Fr(\text{H}_2) = 11 \text{ ml min}^{-1}$ ,  $V(\text{reaktoru}) = 0,5 \text{ ml}$ ,

$V(\text{vz}) = 350 \text{ } \mu\text{l}$ ,  $c(\text{TiO}_2) = 0,1\% \text{ (m/V)}$ ,  $T_{\text{at}} = 950 \text{ } ^\circ\text{C}$

#### 4.2. Stanovení obsahu Se v certifikovaných materiálech a reálných vzorcích

Metoda UV fotochemického generování těkavých sloučenin Se byla úspěšně validována pro stanovení Se ve vzorcích potravinových doplňků a ve vodných vzorcích (viz tab. 4) a následně byla úspěšně použita pro stanovení Se ve vybraných doplňcích stravy zakoupených na českém trhu (viz tab. 5). [12] Celkový obsah Se v doplňcích stravy byl stanoven také referenční metodou ETAAS.

Tabulka 4: Validace metody TiO<sub>2</sub>/UV-fotochemického generování

	c (Se)	Deklarovaná hodnota
NIST SRM 1640a	20 ± 1 μg dm <sup>-3</sup>	11,68 ± 0,13 μg dm <sup>-3</sup>
NIST SRM 1643e	12 ± 1 μg dm <sup>-3</sup>	20,13 ± 0,17 μg dm <sup>-3</sup>
NIST SRM 3280	17,3 ± 0,19 μg g <sup>-1</sup>	17,42 ± 0,45 μg g <sup>-1</sup>

Tabulka 5: Stanovení obsahu Se ve vzorcích potravinových doplňků

Vzorek	Nalezený obsah, μg	Deklarovaný obsah, μg	ETAAS, μg
A	50,5 ± 3,5	50	49 ± 4
B	33,6 ± 5,5	14	24 ± 4
C	36,2 ± 2,4	30	33 ± 4
D	61,1 ± 8,6	55	51 ± 3
E	57,2 ± 1,8	55	53 ± 5
F	21,6 ± 4,6	25	26 ± 6

### 4.3. Vývoj metody pro stanovení specií Se ve směsi, HPLC-TiO<sub>2</sub>/UV-PVG-AFS

UV-fotochemické generování těžké sloučeniny Se bylo dále modifikováno také pro spojení s chromatografickou separací a stanovením vybraných specií Se ve směsi. Získané základní charakteristiky jsou uvedeny v tab. 6. V isokratickém provedení bylo dosaženo úspěšné separace čtyř organických a anorganických specií s obsahem Se během 18 min, přičemž tris(hydroxymethyl)aminomethan (TRIS), pH = 9,0 použitý pro přípravu pufru neměl významný vliv na účinnost UV-fotochemického generování.

Tabulka 6: Základní charakteristiky kombinované metody HPLC-TiO<sub>2</sub>/UV-PVG-AFS

Specie	Se(IV)	Se(VI)	Me-Se-cystein	Se-methionin
LOD, $\mu\text{g dm}^{-3}$	0,6	0,5	1,1	2,9
Citlivost, $\text{mV min dm}^3 \mu\text{g}^{-1}$	0,8425	1,046	0,4527	0,1629
$t_R$ , min	4,89	7,11	10,2	15,4
$n^a$	557	871	965	784
$R_{1,2}^a$	2,51	2,45	2,25	-
LDR, $\mu\text{g dm}^{-3}$	2-500	2 - 500	4 - 2000	10 - 2000
R	0,9998	0,9996	0,9987	0,9949

<sup>a</sup> hodnota odpovídající měření v polovině LDR

kolona Hamilton PRP-X100, 250 x 2,1 mm, velikost částic 5  $\mu\text{m}$ , mobilní fáze 50  $\text{mmol dm}^{-3}$  TRIS pufr, pH = 9,0 + 50  $\text{mmol dm}^{-3}$  NaCl,  $Fr(\text{MF}) = 0,34 \text{ ml min}^{-1}$ ,  $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0,75 \text{ mol dm}^{-3}$ ,  $c(\text{TiO}_2) = 0,025\%$  (m/V),  $Fr(\text{TiO}_2, \text{CH}_3\text{COOH}) = 0,9 \text{ ml min}^{-1}$ ,  $Fr(\text{Ar}) = 250 \text{ ml min}^{-1}$ ,  $Fr(\text{H}_2) = 70 \text{ ml min}^{-1}$ , V (reaktoru) = 1,7 ml, V (vz) = 50  $\mu\text{l}$

#### 4.4. Interferenční studie – vliv matrice na různé metody generování těkavých sloučenin Se

Za podmínek uvedených v tabulce 6 byla provedena interferenční studie porovnávající vliv vybraných iontů přechodných kovů (Ag(I), Cu(II), Fe(III), Mn(II), Co(II), Ni(II), Cr(III), Cd(II), hydridotvorných prvků (As(III), Sb(III), Pb(II), kyselin (HCl, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) a solí (NaCl, NaNO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) na chemické, elektrochemické a UV-fotochemické generování těkavé sloučeniny Se.

Bylo zjištěno, že obě alternativní techniky jsou náchylnější ke vlivu matrice než chemické generování. V mnohých případech souvisí vliv interferentů s mechanismem redukce analytu a vzniku těkavé sloučeniny.

Vliv hydridotvorných prvků byl očekáván především v plynné fázi a to konkrétně při atomizaci těkavé sloučeniny v křemenném atomizátoru. [13,14] Tato informace byla potvrzena pro všechny tři zkoumané metody, protože poklesy závislosti získaných v přítomnosti iontů As a Sb v matici vzorku byly prakticky totožné bez ohledu na použitou metodu generování. V případě olova z Pb(II) nebyl při chemickém generování pozorován žádný vliv Pb na signály Se, protože Pb(II) nepodléhá chemickému generování. [15] Při UV-fotochemickém generování byla pozorována významná interference v kapalně fázi, ale vliv v plynné fázi byl zanedbatelný, ke generování těkavé sloučeniny olova tedy pravděpodobně také nedocházelo. Naopak, při elektrochemickém generování byl pozorován prakticky totožný vliv v kapalně i plynné fázi a interferenci olova tedy lze považovat za lokalizovanou v plynné fázi.

Při chemickém generování byly nejvýznamnější interference pozorovány v přítomnosti Ag(I) a Cu(II). Oproti tomu vliv přechodných prvků byl zdaleka méně výrazný; ve všech případech vedla přítomnost interferentu k poklesu signálů Se. Toto pozorování lze chápat jako indicii, že v této technice generování mohlo být za zvolených podmínek dosaženo maximální účinnosti generování. Při elektrochemickém generování bylo pozorováno, že mnohé potenciální interferenty se mohou v určitých koncentračních rozmezech chovat jako interferenty a v jiných jako reakční modifikátory, tzn., že různé koncentrace téhož prvku mohou vést ke snížení nebo zvýšení signálu Se oproti čistému vzorku. Konkrétně byl tento jev pozorován v přítomnosti Mn(II), Fe(III) a Cu(II). Na rozdíl od výsledků Guo

et al. [3] byl v této práci při UV-fotochemickém generování pozorován podobný efekt jako při elektrochemickém generování; v případě Co, Ni, Cu a Cr byly pozorovány zvýšené signály odpovídající reakční modifikaci. V případě Ni byl pozorován pozitivní vliv na signál Se i v plynné fázi. Z prostředí kyseliny mravenčí lze UV-fotochemicky generovat těkavý karbonyl Ni, který by se mohl účastnit transportu těkavé sloučeniny Se. [16] Jako nejpravděpodobnější se jeví stabilizace těkavé sloučeniny Se buď při transportu nebo při vstupu do atomizátoru. Interakce Se a Ni nemá negativní efekt na atomizaci Se, ale nebyl pozorován žádný signál Ni, přesto že byl proveden pokus o generování jeho těkavé sloučeniny za stejných reakčních podmínek.

Chemické generování těkavých sloučenin je v porovnání s jeho alternativami odolnější vůči interferencím způsobovaným anorganickými kyselinami a solemi. Tento fakt vyplývá již ze samotného mechanismu chemického generování; kyselé prostředí je nezbytné pro hydrolyzu  $\text{NaBH}_4$ , ale samotný anion kyseliny se vzniku těkavé sloučeniny neúčastní. Při elektrochemickém generování těkavých sloučenin na Pb katodě je nejvýznamnějším očekávaným mechanismem interference tvorba nerozpustných solí olova. Ze zkoumaných aniontů by tento efekt měl být pozorovatelný v přítomnosti síranů a fosforečnanů, ale ve skutečnosti byl opravdu významný pouze ve druhém případě. Přítomnost NaCl vedla k poklesu signálů stejně jako vyšší koncentrace kyseliny dusičné a dusičnanu. Poslední jmenované elektrolyty si zaslouží zvýšenou pozornost. Interference v přítomnosti kyseliny dusičné je pravděpodobně způsobena jejími oxidačními vlastnostmi. V úvahu připadá např. oxidace analytu do vyššího oxidačního čísla, ze kterého probíhá generování těkavých sloučenin s nižší účinností. V přítomnosti chloridů alkalických kovů (NaCl, KCl) dochází vlivem procházejícího elektrického proudu k rozpouštění olověné katody. [17] Katodu z olova nelze použít, má-li být elektrochemické generování těkavých sloučenin prováděno ve vzorcích s vysokým obsahem chloridů. Při UV fotochemickém generování bylo zjištěno, že kyseliny i jejich soli mohou interferovat stejně jako působit reakční modifikace. O kyselině dusičné, dusičnanech a kyselině chlorovodíkové by bylo možno uvažovat jako o potenciálních reakčních modifikátorech.

## 5. Závěry

Nejdůležitější závěry vyplývající z výzkumu, který byl podkladem předkládané disertační práce, jsou shrnuty v následujících odstavcích.

TiO<sub>2</sub> umožňuje redukci Se(VI) a Te(VI) nejen v kyselině mravenčí ale i v kyselině octové a propionové, přičemž v kyselině octové bylo dosaženo nejvyšších analytických signálů. V případě generování těkavé sloučeniny s využitím fotokatalýzy pomocí TiO<sub>2</sub> tedy délka uhlíkaté kostry kyseliny pravděpodobně není rozhodující.

Pro Se(IV) byla v uspořádání kontinuální průtokové analýzy zjištěna účinnost generování těkavé sloučeniny 81 % na základě porovnání citlivostí s chemickým generováním těkavých sloučenin.

Při používání kyseliny octové jako reakčního prostředí je pro úspěšnou atomizaci v QFAAS nebo AFS nutné přidávat vodík.

Bylo zkoumáno UV-PVG těkavé sloučeniny teluru z Te(VI) i bez použití TiO<sub>2</sub>, ale za podmínek zkoumaných v této práci nebylo dosaženo úspěšného generování. Reakční produkty vznikající rozkladem nízkomolekulárních organických kyselin UV zářením nepostačují k redukci Te(VI) a tvorbě těkavé sloučeniny Te.

Vliv matrice na jednotlivé studované specie může být při TiO<sub>2</sub>/UV-PVG odlišný, alespoň byl takovýto jev pozorován při stanovení Se(IV) a Se(VI) ve vodných matricích. Vyhodnocení vlivu potenciálních interferentů je tedy nutné provádět pro každou specii.

Navzdory vlivu vysoké koncentrace Ca(II) a Mg(II) iontů na přesnost a preciznost stanovení Se metodou TiO<sub>2</sub>/UV-PVG, byla tato metoda úspěšně aplikována a validována pro určení obsahu Se ve vzorcích doplňků stravy. Další možností aplikace metody TiO<sub>2</sub>/UV-PVG je její využití pro derivatizaci různých specií Se na těkavé sloučeniny pro spojení HPLC separace a detekce atomovými spektrometrickými metodami.

Během interferenční studie bylo potvrzeno, že obě alternativní techniky generování těkavých sloučenin jsou náchylnější k interferencím než CVG. Během této studie byly také vybrány reakční modifikátory (Co, Ni, Cr), které by mohly zvýšit citlivost stanovení Se. Pro Ni bylo zjištěno, že k reakční modifikaci dochází prostřednictvím stabilizace těkavé sloučeniny Se v plynné fázi.

## Literatura

- [1] Dědina, J.; Tsalev, D. L.: *Hydride generation atomic absorption spectrometry*. 1995.
- [2] Feng, Y.-L.; Sturgeon, R. E.; Lam, J. W.: *J. Anal. At. Spectrom.* **18**, 1435 (2003).
- [3] Guo, X.; Sturgeon, R. E.; Mester, Z.; Gardner, G. J.: *Anal. Chem.* **75**, 2092–2099 (2003).
- [4] Takatani, T.; Fitzgerald, N.; Galbraith, J. M.: *Anal. Bioanal. Chem.* **388**, 859–862 (2007).
- [5] Bendl, R. F.; Madden, J. T.; Regan, A. L.; Fitzgerald, N.: *Talanta* **68**, 1366–1370 (2006).
- [6] Kikuchi, E.; Sakamoto, H.: *J. Electrochem. Soc.* **147**, 4589–4593 (2000).
- [7] Nguyen, V. N. H.; Beydoun, D.; Amal, R.: *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* **171**, 113–120 (2005).
- [8] Tan, T. T. Y.; Beydoun, D.; Amal, R.: *J. Phys. Chem. B* **107**, 4296–4303 (2003).
- [9] Junková, G.; Šíma, J.; Rychlovský, P.: *Chem. Pap.* **57**, 192–196 (2003).
- [10] Šíma, J.; Rychlovský, P.; Dědina, J.: *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* **59**, 125–133 (2004).
- [11] Bolea, E.; Laborda, F.; Belarra, M. A.; Castillo, J. R.: *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.* **56**, 2347–2360 (2001).
- [12] Nováková, E.; Linhart, O.; Červený, V.; et al.: *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* , 98–104 (2017).
- [13] Welz, B.; Stauss, P.: *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.* **48**, 951–976 (1993).
- [14] D'Ulivo, A.; Dědina, J.: *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* **51**, 481–498 (1996).
- [15] Kratzer, J.: *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* **71–72**, 40–47 (2012).
- [16] Zheng, C.; Yang, L.; Sturgeon, R. E.; Hou, X.: *Anal. Chem.* **82**, 3899–3904 (2010).
- [17] Nováková, E.; Rychlovský, P.; Resslerová, T.; et al.: *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* **117**, 42–48 (2016).



## Curriculum vitae

Mgr. Eliška Nováková  
Brdičkova 1914  
155 00 Praha 5  
email: novakoel@natur.cuni.cz

### Ukončené vzdělání

2011-2013, Přírodovědecká fakulta UK v Praze, obor Klinická a toxikologická analýza, magisterské studium  
2008-2011, Přírodovědecká fakulta UK v Praze, obor Klinická a toxikologická analýza, bakalářské studium  
2000 – 2008, Gymnázium Jaroslava Heyrovského, Praha; Maturitní zkouška: Český jazyk, Anglický jazyk, Chemie, Ekonomie

### Jazykové znalosti

Anglický jazyk – C1, certifikát Cambridge ESOL, odborná terminologie  
Francouzský jazyk – pasivní  
Německý jazyk – pasivní

### Další odborné zkušenosti:

- Zahraniční stáž: Univerzita Mateja Bela, Banská Bystrica, SR, 10.1.2017-13.3.2017
- Řešení projektu GA UK č. 28214
- STARS stipendium pro nadané studenty v doktorském studijním programu
- Workshop Škola HPLC organizovaného společnosti Pragolab s.r.o., 14.-15.12.2016
- Kurz Atomová absorpční spektrometrie I organizovaného Spektroskopickou společností Jana Marka Marci, 23.-26.11.2015

### **Vybrané publikace:**

**Nováková, E.**, Linhart, O., Červený, V., Rychlovský, P., Hraníček, J.: Flow injection determination of Se in dietary supplements using TiO<sub>2</sub> mediated ultraviolet-photochemical volatile species generation, *Spectrochim. Acta B*, 2017, Volume 134, Pages 98-104 doi: 10.1016/j.sab.2017.06.007, **IF: 3,241**

**Nováková, E.**, Rychlovský, P., Resslerová, T., Hraníček, J. and Červený, V.: Electrochemical generation of volatile form of cadmium and its in situ trapping in a graphite furnace, *Spectrochim. Acta B*, 2016, Volume 117, Pages 42–48, doi:10.1016/j.sab.2016.01.003, **IF: 3,289**

Linhart O., Smolejová J., Červený V., Hraníček J., **Nováková E.**, Resslerová T., Rychlovský P.: Determination of As by UV-photochemical generation of its volatile species with AAS detection, *Monatsh Chem*, 2016, Volume 147, Pages 1447-1454, 10.1007/s00706-016-1808-5, **IF: 1,131**

### **Vybrané odborné prezentace:**

10.-16.6.2017, posterový příspěvek na konferenci CSI XL (CSI 2017), Pisa (It.), Téma: Te UV-photochemical vapour generation

16.-20.10.2016, posterový příspěvek na konferenci XXI. Slovensko-česká spektroskopická konferencia, Liptovský Ján (SR), Téma: Determination of Se in Dietary Supplements by Photochemical Volatile Species Generation Atomic Absorption Spectrometry

4.-7.9.2016, posterový příspěvek na konferenci 15th Workshop on Progress in Trace Metal Speciation for Environmental Analytical Chemistry, Gdansk (Pol.), Téma: Determination of Se in dietary supplements by photochemical volatile species generation atomic absorption spectrometry

22.-23.9.2015, ústní příspěvek na konferenci 11th International Students Conference “Modern Analytical Chemistry”, Prague (CR), Téma: UV-Photochemical Vapour Generation from Se Species

31.8.-3.9.2015, ústní příspěvek na konferenci 39th Colloquium Spetoscopicum Internationale (CSI 2015), Figueira da Foz (Port.), Téma: UV-Photochemical Vapour Generation from Se Species

19.-24.10.2014, posterový příspěvek na konferenci XIII. Rio Symposium on Atomic Spectrometry, Mérida (Mex.), Téma: Vapour generation of selenium: interference study and comparison of existing approaches

22.-23.9.2014 ústní prezentace na mezinárodní studentské konferenci Modern Analytical Chemistry, Praha (ČR), Téma: Vapour generation of selenium: comparison of existing approaches



## **Abstract**

The presented thesis deals with UV-photochemical generation of volatile compounds of Se and Te from various species. The aim of the project was to expand the current state of knowledge by the application of photocatalytic reduction of higher oxidation states of Se and Te for the speciation analysis based on UV-photochemical generation of volatile compounds.

The first step of the study was the assembly of the apparatus for the photocatalysed UV-photochemical generation of volatile compounds. The material of reactor and the whole experimental set-up were based on literature survey and previous research done in our group. Experiments were directed towards finding the optimum conditions for generation of volatile compounds of selected model elements. Se was studied as the element most commonly determined by the UV-photochemical generation of volatile compounds. Conversely, Te was selected as a model representing elements forming less stable volatile compounds.

The second part of the study was the application of the optimised method of photocatalysed UV-photochemical generation of volatile Se compound to the determination of Se in water matrices, liquid certified reference materials and also samples of dietary supplements.  $\text{TiO}_2$ /UV-photochemical generation was also successfully modified to be used with atomic fluorescence spectrometry as a derivatisation step following speciation analysis based on liquid chromatography separation of inorganic and organic selenium species.

The third part of this thesis studied the influence of the sample matrix on the chemical, electrochemical and UV-photochemical generation of volatile Se compounds. It was found out that the sensitivity of Se determination by the electrochemical and UV-photochemical generation of volatile compounds can be notably improved by the use of reaction modifiers. However, these alternative methods have been found more likely to give incorrect results than chemical generation, particularly due to their susceptibility to the presence of inorganic acids and their salts, which are common matrix components.

## 1. Introduction

Generation of volatile compounds connected to atomic spectrometric methods is commonly applied for the determination of elements from 14th to 16th group of the periodic table. [1] These elements readily form stable volatile hydrides or small volatile organic compounds. Generation of volatile compounds of transition and noble metals is possible too but with lower generation efficiency. [2] The established method is the so called chemical generation of volatile compounds (CVG) based on the use of sodium or potassium tetrahydroborate. However, this reducing agent is produced only in limited purity and belongs among compounds hazardous for the environment. These two features led to the development of methods, which try to circumvent the use of this agent.

The first alternative to chemical generation was electrochemical generation of volatile compounds (EcVG) applying electric current for the reduction of the analyte. More recent method termed UV-photochemical generation (UV-PVG) utilizes photoreactions capable of transforming some metal and metalloid elements into their volatile derivatives. UV-PVG of Se volatile compounds for analytical applications can be carried out either with or without the use of photocatalysts, which can promote generation from higher oxidation state. Volatile compounds are generated as a result of photodecomposition of low molecular weight acid, which serves as a main reagent. The reaction mechanism is still a subject of discussion due to the complicated nature of radical photoreactions, which occur. Several mechanisms have been proposed, one based purely on radical reaction [3] and another based on ketenes as intermediates [4]. Mechanism based on electrochemical reactions and semiconductor properties was proposed in the presence of TiO<sub>2</sub> as photocatalyst. [6–8]

Background literature study showed that in comparison to chemical generation of volatile compounds UV-photochemical generation suffers from various effects of the sample matrix. Severe interferences are observed by various authors despite the original hypothesis that reactive radicals produced through decomposition of organic acids would not have sufficient reduction potentials to reduce ions of transition metals. These interferences have to be taken into account when applying UV-photochemical generation of volatile compounds to analysis of real samples.

## 2. Aims of the Study

This thesis comprises three connected topics. First, conditions for the generation of volatile compound of Se in the presence of  $\text{TiO}_2$  were studied and a method for determination of Se was developed. These experiments were followed by the testing of the possible applications of the developed method. This research was associated with the research project GA UK 28214. The second topic studied the possibility of UV-photochemical generation of Te volatile compound (project GA UK 28214 in association with project GA UK 28621). The photocatalyst was used mainly for the reduction of Se(VI) and Te(VI). This approach was known for Se but so far has not been published for the online photo-reduction of Te(VI). The third topic studied the effects of selected interferences on chemical, electrochemical and UV-photochemical generation of Se volatile compounds and was aimed at the comparison of these methods. It was carried out as a part of project GA CR 14-23532. The set aims of the study were:

- a) Optimise the conditions of UV-PVG of Se using  $\text{TiO}_2$  catalysis.
- b) Compare the found figures of merit with chemical generation of volatile compounds and determine the generation efficiency using  $\text{TiO}_2$ /UV-PVG of Se.
- c) Apply the developed method for the determination of Se in real samples.
- d) Develop a chromatographic separation method for the determination of Se species in a mixed sample.
- e) Optimise the conditions of UV-PVG of Te and determine the figures of merit.
- f) Compare UV-PVG, EcVG and CVG based on the influence of sample matrix with Se as the analyte. The aim was to determine the degree of influence of the matrix on each of the methods to decide, which matrices are unsuitable for a given method or which sample preparation steps should be applied.

### **3. Materials and methods**

#### **3.1. Instruments**

The following instruments have been used during the experiments. Atomic absorption spectrometer Unicam 939 (Unicam, UK), Atomic absorption spectrometer GBC Avanta (GBC, Australia), Atomic absorption spectrometer ContrAA 700 (Analytik Jena, Germany), Microwave digestion device CEM MDS 2000 (CEM, USA), UHPLC Dionex Ultimate 3000 and anion exchange chromatographic column Hamilton PRP-X100 (5  $\mu\text{m}$ , 2.1 x 250 mm), Atomic fluorescence spectrometer PSA Millennium Excalibur (PSA, UK), peristaltic pump MasterFlex (Cole-Parmer, USA), gas mass flow controllers (Cole-Parmer, USA). The detection of Se and Te was carried out at the 196.0 nm and 214.3 nm line, respectively. Spectral bandwidth was 05 nm. The lamps were run at 12 mA for Se and 7 mA for Te.

#### **3.2. UV-photochemical reactor**

The reactor consisted of a low pressure Hg lamp (dimensions 610 x 152 x 108 mm, 20 W, USHIO, Japan) around which was wrapped a PTFE tube (i.d. 0.8 mm, o.d. 1.58 mm.). The reagent flowed through the tube and was continually irradiated. The UV-reactor was set in a power source with reflective walls and covered by a lid made of hard cardboard covered with aluminium foil. This housing ensured that the temperature of the reactor was kept constant through the measurements. The UV lamp surface temperature was approximately 55 °C. Low pressure UV lamp was selected because  $\text{TiO}_2$  absorbs electromagnetic radiation in the UV spectrum. The band gap in  $\text{TiO}_2$  has energy of 3.5 eV, which corresponds to 350 nm as maximum wavelength for promoting the production of electron-hole pairs.

#### **3.3. Measurement procedure in flow injection set-up**

The experimental set-up for UV-photochemical generation of volatile compounds in flow injection mode is shown below (see Fig. 3.1). The apparatus was used for the generation of volatile compounds of Se and Te including the determination of Se in real samples. Sample prepared in deionized water or other solution was injected into the stream of solution of low molecular weight organic acid using a low pressure injection valve. The

TiO<sub>2</sub> suspension was continually mixed with the acid flow downstream of the injection valve and the sample was subsequently carried into the UV reactor. The generated volatile compound was continually stripped from the liquid waste in the gas-liquid separator by the carrier gas and with added H<sub>2</sub> transported into the atomizer. Lengths of transport tubing have been kept constant, when the apparatus was modified; distance between the reactor and gas-liquid separator was 15 cm for Se and 7 cm for Te. Distance between gas-liquid separator and atomizer (including the atomizer inlet arm) was kept at 15 cm.

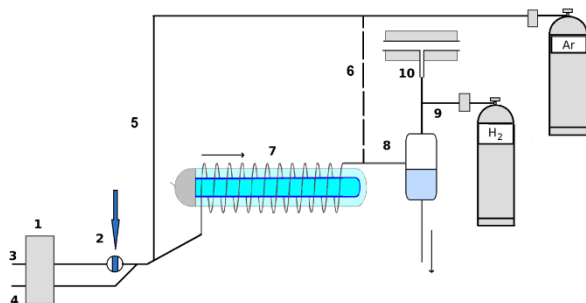


Fig. 3.1: Experimental set-up for UV-photochemical generation of volatile compounds of Se and Te in flow injection mode

1 – peristaltic pump, 2 – sample injection, 3 – photochemical reagent (low molecular weight organic acid), 4 – TiO<sub>2</sub> suspension, 5 – Ar inlet, 6 – alternative Ar inlet position (organic Se species), 7 – UV-photochemical reactor, 8 – gas-liquid separator, 9 – H<sub>2</sub> inlet, 10 – atomization in externally heated quartz atomizer.

### 3.4. Measurement procedure in continuous flow set-up and with chromatographic separation of Se species

Modification of the experimental set-up, which permitted continuous flow analysis and comparison of generation efficiency with chemical generation, is described in the thesis. In short, the injection valve and channel 4 were removed (see Fig. 3.1 for reference) and sample prepared in the solution of organic acid was pumped through channel 3. For the set-up with chromatographic separation and generation of volatile



compounds for atomic fluorescence detection see the thesis too. Parts 1-4 of the apparatus were substituted by chromatographic instrument (high pressure pump, automatic sampler) for the application of TiO<sub>2</sub>/UV-photochemical generation of volatile species as a derivatisation method for the determination of selenium species in a mixed sample. A mixed solution of Se species was injected into the mobile phase, and separated on the column. The derivatization agent (TiO<sub>2</sub> suspension in solution of acetic acid) was added after the column as well as the carrier and atomization gasses. The formed volatile compounds were detected using atomic fluorescence spectrometry.

### **3.5. Experimental set-up and procedure in the interference study**

In order to compare the effect of possible interferents in various methods of generation of volatile compounds the apparatus had to permit an easy change of the generator without altering the rest of the set-up. Such apparatus was constructed in continuous mode and is schematically shown in Fig. 3.2. Carrier gas was always introduced at the inlet to the reactor. The sample prepared in the respective reagent was pumped continuously into the reactor until a constant signal height was obtained; the times required differed between methods. Afterwards the sample was swapped for blank until the signal returned to the baseline.

The reactor in chemical generation was a PTFE tube with 1.0 mm inner diameter (o.d. = 2.0 mm, Sigma-Aldrich, USA). Electrochemical generation was carried out in a laboratory made electrochemical cell [9,10] consisting of two compartments divided by ion exchange membrane (Nafion 117, Sigma-Aldrich, USA). Each cell compartment had internal volume 900  $\mu$ l. The cathode was made of lead wire (99,99 % Pb, Sigma-Aldrich,  $S = 820 \text{ mm}^2$ ) and the catholyte was 1.0M HCl, anode was made of Pt (99.99 %, Safina, ČR,  $S = 350 \text{ mm}^2$ ) and 2.0M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> served as anolyte. Electric current was kept constant by a laboratory power source LPS 303 (American Reliance, Taiwan). Generator in UV-photochemical generation of volatile compounds was made of a low pressure Hg lamp (20 W, USHIO, Japan) around which was tightly wrapped a PTFE tube with inner diameter of 1.0 mm (o.d. 1.4 mm).

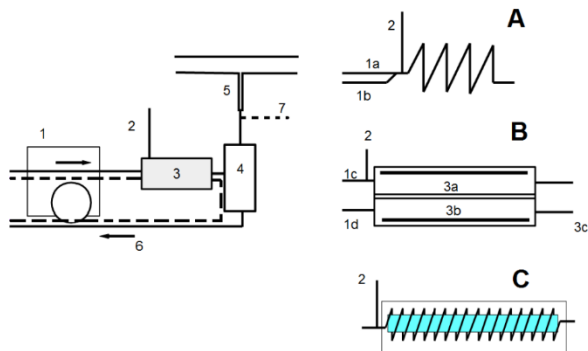


Fig. 3.2: Experimental set-up for comparison of interferences in three methods of volatile compounds generation

1 – peristaltic pump, 2 – Ar inlet, 3 – reactor (A – CVG, B – EcVG, C – UV-PVG), 4 – gas-liquid separator, 5 – externally heated quartz furnace atomizer, 6 – waste, 7 – atomization gas ( $H_2$ , UV-PVG only), 1a – HCl and sample, 1b –  $NaBH_4$ , 1c – catholyte and sample, 1d – anolyte inlet, corresponds to dashed line in overall scheme, 3a – cathode compartment, 3b – anode compartment, 3c – anolyte outlet and reuse

The interference study has been carried out at the experimental conditions summarized in table 1.

Table 6: Experimental conditions during interference study

Parameter	CVG	EcVG	UV-PVG
$NaBH_4$ concentration, % (m/V)	0.5	-	-
HCl concentration, $mol\ L^{-1}$	1.0	1.0	-
$HCOOH$ concentration, $mol\ L^{-1}$	-	-	0.5
$H_2SO_4$ concentration, $mol\ L^{-1}$	-	2.0	-
Reaction coil length, cm	80 (0.63 mL)	-	350 (2.7 mL)
Cathode	-	Pb, S = 820 $mm^2$	-
Generation current, A	-	1.0	-
Flow rate of sample, $mL\ min^{-1}$	5.0	5.5	6.0
Flow rate of Ar, $mL\ min^{-1}$	20.0	70.0	15.0
Flow rate of $H_2$ , $mL\ min^{-1}$	-	-	3.0

The effects were studied with the concomitants present in the liquid phase together with either  $5 \mu\text{g L}^{-1}$  (CVG, UV-PVG) of Se or  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  of Se (EcVG). Different concentrations of Se were used due to different limits of detection and sensitivities found. The concentrations correspond to the absorbance of 0.20 in each generation approach.

The location of effects of selected interferents (As, Sb, Pb, Cu, Ni) was studied by adding the interferent to the volatile Se compound in the form of its possible volatile compound. The volatile compound of interferent was generated in a second UV reactor and the channels were connected either before or behind the gas-liquid separator. The generation conditions were the same as optimized for Se only the carrier gas flow rate was divided between the channels to maintain the atomization conditions the same.

Random introduction of pure Se samples served for the study of memory effects; these were not encountered in CVG and UV-PVG but were observed in EcVG. They were caused by the modification of the cathode surface by the interferent. [11] Particularly in the case of Cu the change in the surface composition manifested itself visibly through change of colour.

## 4. Results and discussion

### 4.1. UV-photochemical generation of volatile compounds of Se and Te using TiO<sub>2</sub> catalysis

The optimisation of experimental conditions for the determination of Se and Te from oxidation states IV and VI is described in the thesis. The figures of merit found at the optimum conditions are summarized in table 2 (Se) and table 3 (Te). The optimum conditions are listed below the tables.

The figures of merit found for Se were sufficient for applications, but the method developed for Te cannot be applied to real samples without first decreasing the limit of detection. Unlike in Se volatile compounds generation we did not obtain the same sensitivities for Te species. The difference in sensitivities between Te(IV) and Te(VI) is probably due to different acid-base character of the Te species and their interaction with the catalyst.

The efficiency of TiO<sub>2</sub>/UV-photochemical generation of volatile Se compound was found to be 81 % compared to the efficiency of chemical generation carried out in the same experimental set-up.

Table 2: Figures of merit for Se(IV) and Se(VI) in FIA<sup>a</sup> and CFA<sup>b</sup> set-ups

	FIA <sup>a</sup>		CFA <sup>b</sup>	
	Se(IV)	Se(VI)	Se(IV)	Se(VI)
LOD, µg L <sup>-1</sup>	1.8	1.6	0.1	0.2
LOQ, µg L <sup>-1</sup>	6.0	5.5	0.3	0.5
Sensitivity, L µg <sup>-1</sup>	26 10 <sup>-4</sup>	24 10 <sup>-4</sup>	21 10 <sup>-3</sup>	21 10 <sup>-3</sup>
RSD, % <sup>c</sup>	3.5	5.1	3.1	3.0
LDR, µg L <sup>-1</sup>	LOQ - 200	LOQ - 200	LOQ - 10	LOQ - 10
R	0.9973	0.9997	0.9993	0.9998

<sup>a</sup>  $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0.5 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $Fr(\text{sample}) = 3.0 \text{ mL min}^{-1}$ ,

$Fr(\text{Ar}) = 55 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $Fr(\text{H}_2) = 4.5 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $V(\text{reactor}) = 1,7 \text{ mL}$ ,

$V(\text{sample}) = 100 \text{ µL}$ ,  $c(\text{TiO}_2) = 0.005\% \text{ (m/V)}$ ,  $T_{\text{at}} = 950 \text{ °C}$

<sup>b</sup>  $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0.5 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $Fr(\text{sample}) = 5.0 \text{ mL min}^{-1}$ ,

$Fr(\text{Ar}) = 40 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $Fr(\text{H}_2) = 4.5 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $V(\text{reactor}) = 1.5 \text{ mL}$ ,

$T_{\text{at}} = 950 \text{ °C}$

<sup>c</sup> value in the middle of LDR

Table 3: Figures of merit for Te determination in FIA mode

Parameter	Te(IV)	Te(VI)
LOD, mg L <sup>-1</sup>	0.03	0.04
LOQ, mg L <sup>-1</sup>	0.11	0.12
Sensitivity, L mg <sup>-1</sup>	31 10 <sup>-2</sup>	67 10 <sup>-2</sup>
RSD, %	3.8 (1.0 mg L <sup>-1</sup> )	3.4 (0.5 mg L <sup>-1</sup> )
LDR, mg L <sup>-1</sup>	LOQ – 2.0	LOQ – 1.0
R	0.9992	0.9925

$c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0.5 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $Fr(\text{sample}) = 3.2 \text{ mL min}^{-1}$ ,

$Fr(\text{Ar}) = 200 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $Fr(\text{H}_2) = 11 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $V(\text{reactor}) = 0.5 \text{ mL}$ ,

$V(\text{sample}) = 350 \text{ }\mu\text{L}$ ,  $c(\text{TiO}_2) = 0.1\% \text{ (m/V)}$ ,  $T_{\text{at}} = 950 \text{ }^\circ\text{C}$

#### 4.2. Determination of Se in certified reference materials and real samples

TiO<sub>2</sub>/UV-photochemical generation of volatile compounds has been successfully validated for the determination of Se in water samples and dietary supplement matrix (see table 4) and subsequently applied for real samples of dietary supplements (see table 5). [12] Total Se content in tablets was determined by ETAAS as a reference method.

Table 4: Validation of TiO<sub>2</sub>/UV-photochemical generation of volatile compounds for the determination of Se(IV)

	c (Se)	Declared content
NIST SRM 1640a	20 ± 1 μg dm <sup>-3</sup>	11.68 ± 0.13 μg dm <sup>-3</sup>
NIST SRM 1643e	12 ± 1 μg dm <sup>-3</sup>	20.13 ± 0.17 μg dm <sup>-3</sup>
NIST SRM 3280	17.3 ± 0.19 μg g <sup>-1</sup>	17.42 ± 0.45 μg g <sup>-1</sup>

Table 5: Determination of Se content in dietary supplement samples

Sample	Determined content, μg	Declared content, μg	ETAAS, μg
A	50.5 ± 3.5	50	49 ± 4
B	33.6 ± 5.5	14	24 ± 4
C	36.2 ± 2.4	30	33 ± 4
D	61.1 ± 8.6	55	51 ± 3
E	57.2 ± 1.8	55	53 ± 5
F	21.6 ± 4.6	25	26 ± 6

### 4.3. Development of HPLC-TiO<sub>2</sub>/UV-PVG-AFS method for determination of Se in mixed samples

The above mentioned method was further modified for the connection with chromatographic separation technique and tested for the determination of Se in mixed samples. The found figures of merit are summarized in table 6. Four organic and inorganic species were separated in isocratic mode within 18 minutes in tris(hydroxymethyl)-aminomethane (TRIS) buffer at pH = 9.0, which did not have notable negative effect on the efficiency of UV-photochemical generation.

Table 6: Figures of merit of the HPLC-TiO<sub>2</sub>/UV-PVG-AFS method

	Se(IV)	Se(VI)	Me-Se-cysteine	Se-methionine
LOD, $\mu\text{g L}^{-1}$	0.6	0.5	1.1	2.9
Sensitivity, $\text{mV min L } \mu\text{g}^{-1}$	0.843	1.05	0.453	0.163
$t_R$ , min	4.89	7.11	10.2	15.4
$n^a$	557	871	965	784
$R_{1,2}^a$	2.51	2.45	2.25	-
LDR, $\mu\text{g L}^{-1}$	2-500	2 - 500	4 - 2000	10 - 2000
R	0.9998	0.9996	0.9987	0.9949

<sup>a</sup> value corresponding to the middle of LDR

Hamilton PRP-X100 analytical column, 250 x 2,1 mm, particle size 5  $\mu\text{m}$ , mobile phase 50 mmol L<sup>-1</sup> TRIS buffer, pH = 9.0 + 50 mmol L<sup>-1</sup> NaCl,  $Fr(\text{MF}) = 0.34 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $c(\text{CH}_3\text{COOH}) = 0.75 \text{ mol L}^{-1}$ ,  $c(\text{TiO}_2) = 0.025\%$  (m/V),  $Fr(\text{TiO}_2, \text{CH}_3\text{COOH}) = 0.9 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $Fr(\text{Ar}) = 250 \text{ mL min}^{-1}$ ,  $Fr(\text{H}_2) = 70 \text{ mL min}^{-1}$ , V (reactor) = 1.7 mL, V (sample) = 50  $\mu\text{L}$

### 4.4 Interference study – the effects of concomitants on the Se volatile compound generation

The interference study dealt with the effects of selected transition metal ions (Ag(I), Cu(II), Fe(III), Mn(II), Co(II), Ni(II), Cr(III), Cd(II), hydride forming elements (As (III), Sb(III), Pb(II), acids (HCl, HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>,

H<sub>3</sub>PO<sub>3</sub>) and their salts (NaCl, NaNO<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Na<sub>3</sub>PO<sub>3</sub>) on chemical, electrochemical and UV-photochemical generation of Se volatile compounds.

Both alternative generation techniques were found more liable to interference than the chemical generation of volatile compounds. In many cases the nature of the effect was due to the mechanism of the generation process.

The effect of other hydride forming elements was expected to be located in the gas phase, more particularly during the atomisation of the volatile compound in the quartz atomizer. [13,14] This information was supported by our results in all three methods. The dependences for As and Sb decreased similarly irrespective of the method. No interference was observed with Pb in chemical generation as Pb(II) does not produce volatile compound through reaction with NaBH<sub>4</sub>. [15] Serious interference was observed in UV-photochemical generation in liquid phase, but not in gas phase, showing that volatile compound of lead was not formed. On the other hand, an almost the same effect was observed in liquid and in gas phase with electrochemical generation suggesting the production of lead volatile compound.

Ag(I) and Cu(II) acted the most important interferents in chemical generation, in comparison, the effects of transition metals were much less pronounced. The dependences of Se absorbance on the growing concentration of interferent were only decreasing, which indicates that complete generation sufficiency could have been achieved in chemical generation of volatile compounds. In electrochemical generation some elements behaved as interferents in certain concentration ranges and as reaction modifiers in other concentration ranges. That means that their presence could decrease or increase the Se signal compared to pure Se sample. In particular, this effect was observed in the presence of Mn(II), Fe(III) and Cu(II). Compared to Guo et al. [3] we observed a somewhat similar behaviour with UV-photochemical generation too. Increased absorbances corresponding to reaction modification were obtained in the presence of Co, Ni, Co and Cr. In the case of Ni the effect was also observed in the gas phase. It is possible to produce a volatile Ni carbonyl when irradiating Ni(II) in the presence of formic acid [16] and we hypothesised

that the volatile Ni compound could affect the transport of volatile Se compound; the most likely effect being some form of its stabilisation. Interaction of Se and Ni does not have a negative effect on the determination of Se, but attempt to determine Ni at the same conditions failed because no signal of Ni was observed.

Regarding the effect of acids and salts the best tolerance was observed in chemical generation. This behaviour is due to the mechanism of generation. Low pH promotes the hydrolysis of  $\text{NaBH}_4$  but the acid itself does not play any further role in the reaction. In electrochemical generation the interference of acids and salts is mostly due to the formation of insoluble lead salts on the cathode surface. From the tested anions the effect was expected to appear in the presence of sulphates and phosphates, but noteworthy was only in the second case. Other interferents were NaCl and  $\text{HNO}_3$  and their effects deserve an elaboration. Nitric acid probably oxidises Se(IV) to higher oxidation state, which produces volatile compound with lower efficiency. The presence of chlorides of alkali metals in connection with electric current leads to the dissolution of lead cathode. [17] That means that Pb cathode should not be used for analysis of samples with high chloride content. During UV-photochemical generation of volatile Se compound was found out that acids and salts can cause both interference and reaction modification. Nitric acid, nitrates and hydrochloric acid could be potentially used as modifiers for the increasing of sensitivity of Se determination.



## 5. Conclusions

Key conclusions of the presented thesis are summarized in the following paragraphs.

TiO<sub>2</sub> permits the reduction of Se(VI) and Te(VI) in acetic acid as well as in formic acid and propionic acid. The highest sensitivity of measurement has been achieved with acetic acid. Apparently, the length of the carbon chain does not play important role in the generation mechanism.

The generation efficiency of TiO<sub>2</sub>/UV-PVG of Se volatile compound was found to be 81 % of the efficiency compared to CVG in the same experimental set-up.

H<sub>2</sub> has to be added for QFAAS or AFS detection when using acetic acid as generation medium.

UV-PVG of volatile Te compound from Te(VI) was attempted also without the use of TiO<sub>2</sub> photocatalysis, but generation was achieved at the reaction conditions used. The reaction products formed through the irradiation of low molecular weight organic acids do not facilitate reduction of Te(VI) and generation of volatile compounds.

Size of interference effects may be species related during TiO<sub>2</sub>/UV-PVG. Such effects were observed during determination of Se in water matrices. Evaluation of interference has to be carried out for all studied species prior to the application of method to new matrix.

Despite the effects of high Mg(II) and Ca(II) content on measurement accuracy and precision the TiO<sub>2</sub>/UV-PVG method was successfully validated and applied to the determination of Se in samples of dietary supplements. Another possible application of the developed method was its use as a derivatisation technique for the connection of HPLC separation of Se species and atomic spectrometric detection methods.

An interference study proved that both alternative generation techniques are more liable to interferences than CVG. This interference study also led to the selection of elements (Co, Ni, Cr), which could act as reaction modifiers in UV-PVG and improve the sensitivity of Se determination. The same approach could be used for other analytes. The mechanism of Ni reaction modification was found to be located in gas phase acting probably through the stabilisation of the Se volatile compound.

## 6. References

- [1] Dědina, J.; Tsalev, D. L.: *Hydride generation atomic absorption spectrometry*. 1995.
- [2] Feng, Y.-L.; Sturgeon, R. E.; Lam, J. W.: *J. Anal. At. Spectrom.* 18, 1435 (2003).
- [3] Guo, X.; Sturgeon, R. E.; Mester, Z.; Gardner, G. J.: *Anal. Chem.* 75, 2092–2099 (2003).
- [4] Takatani, T.; Fitzgerald, N.; Galbraith, J. M.: *Anal. Bioanal. Chem.* 388, 859–862 (2007).
- [5] Bendl, R. F.; Madden, J. T.; Regan, A. L.; Fitzgerald, N.: *Talanta* 68, 1366–1370 (2006).
- [6] Kikuchi, E.; Sakamoto, H.: *J. Electrochem. Soc.* 147, 4589–4593 (2000).
- [7] Nguyen, V. N. H.; Beydoun, D.; Amal, R.: *J. Photochem. Photobiol. A Chem.* 171, 113–120 (2005).
- [8] Tan, T. T. Y.; Beydoun, D.; Amal, R.: *J. Phys. Chem. B* 107, 4296–4303 (2003).
- [9] Junková, G.; Šíma, J.; Rychlovský, P.: *Chem. Pap.* 57, 192–196 (2003).
- [10] Šíma, J.; Rychlovský, P.; Dědina, J.: *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* 59, 125–133 (2004).
- [11] Bolea, E.; Laborda, F.; Belarra, M. A.; Castillo, J. R.: *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.* 56, 2347–2360 (2001).
- [12] Nováková, E.; Linhart, O.; Červený, V.; et al.: *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* , 98–104 (2017).
- [13] Welz, B.; Stauss, P.: *Spectrochim. Acta Part B At. Spectrosc.* 48, 951–976 (1993).
- [14] D'Ulivo, A.; Dědina, J.: *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* 51, 481–498 (1996).
- [15] Kratzer, J.: *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* 71–72, 40–47 (2012).
- [16] Zheng, C.; Yang, L.; Sturgeon, R. E.; Hou, X.: *Anal. Chem.* 82, 3899–3904 (2010).
- [17] Nováková, E.; Rychlovský, P.; Resslerová, T.; et al.: *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.* 117, 42–48 (2016).

## Curriculum vitae

Mgr. Eliška Nováková  
Brdičkova 1914  
155 00 Praha 5  
email: novakoel@natur.cuni.cz

### Accomplished education

2011-2013, Mgr. Study program: Charles University in Prague,  
Faculty of Science, Clinical and Toxicological Analysis, achieved  
Mgr. title

2008-2011, Bc. Study program: Charles University in Prague,  
Faculty of Science, Clinical and Toxicological Analysis, achieved  
Bc. title

2000 – 2008, High school: Gymnázium Jaroslava Heyrovského,  
Prague

### Language skills

English – C1, Cambridge ESOL certificate

German – passive

French – passive

### Other experiences and achievements:

- Experience abroad: Univerzita Mateja Bela, Banská Bystrica, SR, 10.1.2017-13.3.2017
- Project GA UK No. 28214
- STARS stipendium for talented Ph.D. students
- HPLC workshop organised by the company Pragolab s.r.o., 14.-15.12.2016
- Atomic Absorption Spectrometry course organised by Joannes Marcus Marci Spectroscopic Society, 23.-26.11.2015

### **Selected publications:**

**Nováková, E.**, Linhart, O., Červený, V., Rychlovský, P., Hraníček, J.: Flow injection determination of Se in dietary supplements using TiO<sub>2</sub> mediated ultraviolet-photochemical volatile species generation, *Spectrochim. Acta B*, 2017, Volume 134, Pages 98-104 doi: 10.1016/j.sab.2017.06.007, **IF: 3,241**

**Nováková, E.**, Rychlovský, P., Resslerová, T., Hraníček, J. and Červený, V.: Electrochemical generation of volatile form of cadmium and its in situ trapping in a graphite furnace, *Spectrochim. Acta B*, 2016, Volume 117, Pages 42–48, doi:10.1016/j.sab.2016.01.003, **IF: 3,289**

Linhart O., Smolejová J., Červený V., Hraníček J., **Nováková E.**, Resslerová T., Rychlovský P.: Determination of As by UV-photochemical generation of its volatile species with AAS detection, *Monatsh Chem*, 2016, Volume 147, Pages 1447-1454, 10.1007/s00706-016-1808-5, **IF: 1,131**

### **Selected conference presentations:**

10.-16.6.2017, poster presentation on CSI XL (CSI 2017), Pisa (It.), Topic: Te UV-photochemical vapour generation

16.-20.10.2016, poster presentation on XXI. Slovensko-česká spektroskopická konferencia, Liptovský Ján (SR), Topic: Determination of Se in Dietary Supplements by Photochemical Volatile Species Generation Atomic Absorption Spectrometry

4.-7.9.2016, poster presentation on 15th Workshop on Progress in Trace Metal Speciation for Environmental Analytical Chemistry, Gdansk (Pol.), Topic: Determination of Se in dietary supplements by photochemical volatile species generation atomic absorption spectrometry

22.-23.9.2015, oral presentation on 11th International Students Conference “Modern Analytical Chemistry”, Prague (CR), Topic: UV-Photochemical Vapour Generation from Se Species

31.8.-3.9.2015, oral presentation on 39th Colloquium Spectroscopicum Internationale (CSI 2015), Figueira da Foz (Port.), Topic: UV-Photochemical Vapour Generation from Se Species

19.-24.10.2014, poster presentation on XIII. Rio Symposium on Atomic Spectrometry, Mérida (Mex.), Topic: Vapour generation of selenium: interference study and comparison of existing approaches

22.-23.9.2014 oral presentation on 10th International Students Conference Modern Analytical Chemistry, Praha (ČR), Téma: Vapour generation of selenium: comparison of existing approaches