

UNIVERZITA KARLOVA

Přírodovědecká fakulta

Studijní obor: Klinická a toxikologická analýza



Petra Šandlová

POROVNÁNÍ STANOVENÍ RTUTI ELEKTROCHEMICKÝM
NEBO UV-FOTOCHEMICKÝM GENEROVÁNÍM
STUDENÝCH PAR S DETEKČÍ ATOMOVOU
FLUORESCENCÍ

Comparison of mercury determination by electrochemical or
UV-photochemical vapor generation with detection by atomic fluorescence

Bakalářská práce

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

Praha 2020

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci zpracovala samostatně. Prohlašuji také, že jsem uvedla veškeré informační zdroje použité ke zpracování této bakalářské práce. Tato práce ani její část nebyla předložena pro získání jiného nebo stejného akademického titulu.

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

V Praze dne

Poděkování

Ráda bych poděkovala všem, kteří mi byli nápomocni při tvorbě mé bakalářské práce. Přednostně bych zde ráda poděkovala mému vedoucímu práce, panu RNDr. Václavovi Červenému, Ph.D., za jeho trpělivost v době experimentů a cenné rady přispívající ke konečné verzi bakalářské práce.

Mé velké díky patří také mé rodině za podporu, kterou mi dávali po dobu celého mého studia.

Abstrakt

Byla prokázána funkčnost přídatného modulu Millennium Merlin Satellite k atomovému fluorescenčnímu spektrometru PSA Millennium Excalibur pro stanovení rtuti. Zároveň byly porovnány poměry průměrného signálu a výběrových směrodatných odchylek výsledků opakovaných měření tohoto modulu se stanovením rtuti pomocí atomového absorpčního spektrometru ContrAA700 se zdrojem záření s kontinuálním spektrem a vysokou rozlišovací schopností.

V modelových experimentech prováděných na atomovém absorpčním spektrometru byly optimalizovány experimentální podmínky detekce studených par nad hladinou elementární rtuti. Optimalizovány byly průtoková rychlost argonu a vodíku, teplota detekční cely a zásobní láhve a doba vypařování rtuti. Bylo prokázáno, že redukční prostředí v detekční trubici snižuje signál. Překvapivé bylo zjištění potřeby ohřevu detekční trubice na 650 °C. Příčiny tohoto jevu byly diskutovány a konfrontovány s údaji z dostupné literatury. Následně byl za optimálních podmínek, zjištěných na AAS, sledován signál rtuti pomocí atomového fluorescenčního spektrometru PSA Millennium Excalibur, který využíval přídatné jednotky Millennium Merlin Satellite určené pro stanovení rtuti.

Ve druhé části této práce byly za optimálních podmínek naměřeny a porovnány kalibrační závislosti s využitím elektrochemického a UV-fotochemického generování studených par rtuti. K tomu sloužily základní analytické charakteristiky stanovení iontů Hg^{2+} : meze detekce a stanovitelnosti, citlivosti kalibrací, opakovatelnosti a lineární dynamické rozsahy. Jako nejvýhodnější z testovaných variant bylo vybráno vyhodnocování výšek píků při nástřiku 170 μl vzorku v režimu průtokové injekční analýzy prováděné pomocí UV-fotochemického generování studených par rtuti s detekcí atomovým fluorescenčním detektorem.

Klíčová slova: atomová absorpční spektrometrie, atomová fluorescenční spektrometrie, Millennium Merlin Satellite, rtuť, elektrochemické generování studených par rtuti, UV-fotochemické generování studených par rtuti

Abstract

The functionality of the add-on Millennium Merlin Satellite module towards the PSA Millennium Excalibur atomic fluorescence spectrometer for determination of mercury has been proven. At the same time, the ratios of the average signal to the sample standard deviations of the results of repeated measurements of this module were compared with the mercury determination using an atomic absorption spectrometer ContrAA700 with a radiation source with continuous spectrum and high resolution.

In model experiments performed on an atomic absorption spectrometer, the experimental conditions of the cold vapor detection above the level of the elemental mercury were optimized. The flow rate of argon and hydrogen, the temperature of the detection cell and the storage bottle and the mercury evaporation time were optimized. It has been shown that the reduction environment in the detection tube reduces the signal. The need to heat the detection tube up to 650 °C has been surprising. The causes of this phenomenon were discussed and confronted with data from the available literature. Subsequently, the mercury signal was monitored under optimal conditions found on the AAS, using an atomic fluorescence PSA Millennium Excalibur spectrometer with an additional Millennium Merlin Satellite unit for mercury determination.

In the second part of this work calibration dependences were measured and compared under optimum conditions using an electrochemical and UV-photochemical generation of cold mercury vapors. The analytical characteristics of the determination of Hg(+II) were used for this: limits of detection, limits of quantification, sensitivity of calibrations, repeatability and linear dynamic ranges. The evaluation of peak heights when injecting 170 µL of sample in the mode of flow injection analysis performed by the UV-photochemical generation of cold mercury vapors with detection by the atomic fluorescence detector was chosen as the most advantageous of the tested variants.

Key words: atomic absorption spectrometry, atomic fluorescence spectrometry, Millennium Merlin Satellite, mercury, electrochemical mercury cold vapor generation, UV-photochemical mercury cold vapor generation

Obsah

| | | |
|-------|---|----|
| 1 | Úvod..... | 10 |
| 1.1 | Cíl práce..... | 10 |
| 2 | Teoretická část..... | 11 |
| 2.1 | Rtuť..... | 11 |
| 2.1.1 | Toxikologické vlastnosti rtuti..... | 11 |
| 2.1.2 | Stanovení rtuti | 13 |
| 2.2 | Atomová absorpční spektrometrie | 14 |
| 2.2.1 | ContrAA 700 | 15 |
| 2.3 | Atomová fluorescenční spektrometrie | 15 |
| 2.3.1 | Detektor Millennium Merlin Satellite | 16 |
| 2.4 | Generování těkavých sloučenin | 16 |
| 2.4.1 | Chemické generování | 17 |
| 2.4.2 | Elektrochemické generování | 17 |
| 2.4.3 | UV-fotochemické generování..... | 18 |
| 2.5 | Transport sledovaného prvku z roztoku do atomizátoru..... | 19 |
| 2.5.1 | Dávkové uspořádání (batch)..... | 19 |
| 2.5.2 | Kontinuální průtoková analýza (CFA) | 19 |
| 2.5.3 | Průtoková injekční analýza (FIA) | 19 |
| 3 | Experimentální část..... | 20 |
| 3.1 | Přístroje a zařízení | 20 |
| 3.2 | Schémata použitých aparatur a měřicí postupy | 22 |
| 3.2.1 | Modelový experiment na AAS | 22 |
| 3.2.2 | Modelový experiment na AFS..... | 23 |
| 3.2.3 | Aparatura pro FIA-EcVG-AFS | 24 |
| 3.2.4 | Aparatura pro FIA-UV-PVG-AFS | 25 |

| | | |
|-------|--|----|
| 3.3 | Seznam použitých chemikálií | 27 |
| 4 | Výsledky a diskuze..... | 28 |
| 4.1 | Modelové experimenty | 28 |
| 4.1.1 | Atomová absorpční spektrometrie | 28 |
| 4.1.2 | Atomový fluorescenční spektrometr Millennium Excalibur s přídavným detektorem rtuti Millennium Merlin Satellite | 36 |
| 4.1.3 | Porovnání citlivostí AAS a AFS v modelových experimentech | 38 |
| 4.2 | Vlastní výzkumná část s AFS | 39 |
| 4.2.1 | Elektrochemické generování studených par rtuti | 40 |
| 4.2.2 | UV-fotochemické generování studených par rtuti..... | 42 |
| 4.2.3 | Porovnání základních charakteristik EcVG a UV-PVG s AFS detekcí ... | 45 |
| 5 | Závěr..... | 47 |

SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

| | |
|-----------|--|
| AAS | Atomová absorpční spektrometrie (Atomic Absorption Spectrometry) |
| AFS | Atomová fluorescenční spektrometrie (Atomic Fluorescence Spectrometry) |
| AMA 254 | Atomový absorpční spektrometr pro stanovení celkového obsahu rtuti v pevných i kapalných vzorcích (Advanced Mercury Analyzer) |
| c | Látková (molární) koncentrace [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3} = \text{M}$] |
| CFA | Kontinuální průtoková analýza (Continuous Flow Analysis) |
| CVAAS | Metoda studených par atomové absorpční spektrometrie (Cold-Vapor Atomic Absorption Spectrometry) |
| CVG | Chemické generování těkavých sloučenin (Chemical Vapor Generation) |
| EcVG-AFS | Elektrochemické generování studených par rtuti – atomová fluorescenční spektrometrie |
| EDL | Bezelektroková výbojka (Electrodeless Discharge Lamp) |
| FIA | Průtoková injekční analýza (Flow Injection Analysis) |
| FIGS | Inertním plynem stíněný plamen (Flame In Gas Shield) |
| HCL | Výbojka s dutou katodou (Hollow Cathode Lamp) |
| HR-CS-AAS | Atomový absorpční spektrometr se zdrojem záření s kontinuálním spektrem a vysokou rozlišovací schopností (High Resolution - Continuum Source – Atomic Absorption Spectrometer) |
| ICP-MS | Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometry) |
| i.d. | Vnitřní průměr (inner diameter) |
| LDR | Lineární dynamický rozsah (Linear Dynamic Range) |

| | |
|------------|---|
| LOD | Mez detekce (Limit Of Detection) |
| LOQ | Mez stanovitelnosti (Limit Of Quantification) |
| MDF | Miniaturní difúzní plamen (Miniature Diffusion Flame) |
| N | Počet měření |
| o.d. | Vnější průměr (outer diameter) |
| PC | Osobní počítač (Personal Computer) |
| ppb | „parts per billion“ ve významu jednotky hmotnostní koncentrace $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$ |
| ppm | „parts per million“ ve významu jednotky hmotností koncentrace $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ |
| t | Čas [s] |
| T | Teplota [$^{\circ}\text{C}$] |
| UV-PVG-AFS | UV-fotochemické generování studených par rtuti – atomová fluorescenční spektrometrie |
| v | Průtoková rychlost [$\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$] |

1 Úvod

Motivací ke vzniku této práce bylo tvrzení RNDr. Ondřeje Linharta, Ph.D. v jeho disertační práci [1], že s přídavným modulem Millennium Merlin Satellite nezískal žádný signál, a domněnka školitele i servisního technika, že zařízení je v pořádku a problém je jiného původu. Za účelem potvrzení funkčnosti tohoto přídavného jednoprvkového atomového fluorescenčního spektrometru vznikla tato bakalářská práce.

1.1 Cíl práce

Ověření funkčnosti a charakterizace přídavného modulu Millennium Merlin Satellite pro stanovení rtuti atomovou fluorescenční spektrometrií by měly zahrnovat nejen testování přístroje, ale též porovnání získaných hodnot výkonnostních parametrů (citlivost, mez stanovitelnosti, opakovatelnost apod.) pro různé způsoby generování tzv. studených par rtuti pro zjištění možností stanovení jejích sloučenin v ultrastopových množstvích, včetně porovnání s detekcí atomovým absorpčním spektrometrem.

2 Teoretická část

2.1 Rtuť

Rtuť (chemická značka Hg, latinský název hydrargium) patří mezi těžké kovy a v periodické soustavě prvků je ve dvanácté skupině šesté periody. Kromě toho, že se rtuť vyskytuje jako kovová s oxidačním číslem 0, ve svých sloučeninách se rtuť vyskytuje ve dvou oxidačních stavech: +I (dimer) a +II.

Rtuť je stříbrolesklý kov o velké hustotě, za pokojové teploty kapalný [2][3]. Snadno se vypařuje a její páry se velmi dobře absorbují v plicích [4]. V přírodě se rtuť vyskytuje v ryzí formě (kapičky v horninách). Dále se může vyskytovat ve sloučenině se sírou v minerálu zvaném cinabarit (rumělka), HgS [2][4] nebo s chlorem v kalomelu, Hg₂Cl₂ [2]. Rtuť v oxidačním stavu 0, je nepatrně rozpustná ve vodě, oproti oxidačnímu stavu Hg^{II}, ve kterém je mnohem rozpustnější [5].

Jedno z nejstarších a zároveň největších nalezišť rtuti se nachází ve Španělsku v ložisku zvaném Almadén. Za další významné naleziště můžeme považovat ložisko Idrija ve Slovinsku [5].

Rtuť se využívala pro svou teplotní roztažnost jako náplň do teploměrů a barometrů. Její další využití je v podobě rtuťové elektrody, která dala možnost vzniknout analytické metodě - polarografii [4]. Směsi rtuti s kovy, jsou nazývané amalgámy. Jedná se o nejedovaté slitiny, které se mohou připravovat za pokojové teploty a své užití mají ve stomatologii a průmyslu [6].

2.1.1 Toxikologické vlastnosti rtuti

Toxicita rtuti závisí na způsobu intoxikace, ale hlavně na rozpustnosti příslušných sloučenin, iontů a par. Distribuce rtuti v organismu a zároveň její absorpce je dána mocenstvím a chemickou formou. Sloučeniny rtuti s oxidačním číslem +I jsou obvykle méně rozpustné, a tím i méně toxické než rtuťnaté sloučeniny [7]. Rtuť je toxická hlavně svými parami. Působí inhibičně na enzymy s SH- skupinami. Toxičtější jsou její organické sloučeniny, např. dimethylrtuť, (CH₃)₂Hg, než její sloučeniny anorganické [6].

2.1.1.1 *Elementární rtuť*

Elementární rtuť se vypařuje už za pokojové teploty. Její páry představují riziko expozice organismu. K vniknutí par rtuti do organismu může dojít na mnoha místech: domácnost, laboratoř či jiné pracoviště. V domácnosti je největším rizikem expozice rozbití teploměru obsahujícího rtuť. V poslední době je riziko otravy v tomto případě menší, z důvodu zákazu použití rtuti, jako náplně do teploměru. V laboratoři mohou být zdrojem expozice navíc elektronické přepínače a fluorescenční lampy[3][6].

Elementární rtuť je snadno absorbována plícemi a 74 % jí je uchováváno v organismu. Krví je distribuována po celém organismu, kde prochází buněčnými membránami včetně hematoencefalické membrány a placenty [3].

Při akutní otravě parami elementární rtuti jsou nejvíce postiženy plíce, dochází ke vzniku bronchitidy, doprovázené zvracením a průjmami. Chronická expozice postihuje mozek a v počáteční fázi se projevuje únavou, bolestí hlavy a nechutenstvím. V pozdější fázi se začíná projevovat třes, který se postupně rozšíří po celém těle [3][8].

2.1.1.2 *Anorganické sloučeniny rtuti*

Akutní otrava anorganickými sloučeninami rtuti, jako jsou např. chlorid, dusičnan nebo kyanid rtuťnatý, postihuje hlavně ledviny a trávicí trakt. Při požití toxické dávky (0,2-1,0 g) dochází ke krvácivému zvracení, bolestivým břišním kolikám a průjmům. S postupem času se rozvíjí selhání ledvin a nekróza epitelových buněk proximálního tubulu. U chronické otravy můžeme pozorovat nefrotický syndrom, zvýšenou sekreci slin a záněty dásní. U malých dětí do čtyř let se expozice projevuje syndromem akrodynie. Pro syndrom akrodynie jsou charakteristické ekzémy po celém těle, otoky, loupání kůže a zimnice [8].

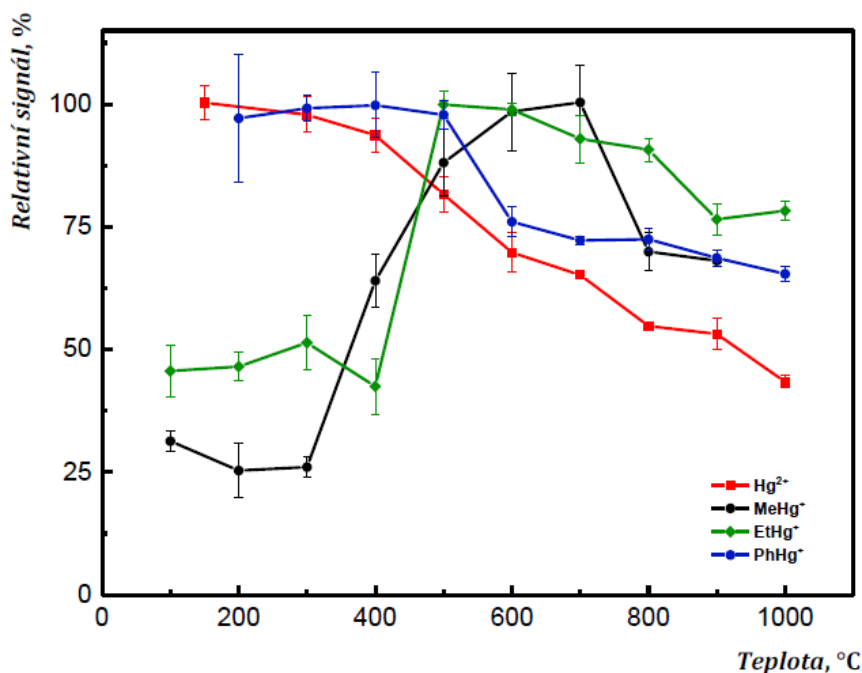
2.1.1.3 *Organické sloučeniny rtuti*

Intoxikace alkyl-sloučeninami rtuti způsobují poškození centrální nervové soustavy, projevující se atrofií mozku se ztenčením vrstvy mozkové kůry. Klinickým obrazem jsou: poruchy chování, řeči, polykání a sluchu. Typickým příznakem je také svalový třes a zúžení zorného pole [8].

2.1.2 Stanovení rtuti

Velké obsahy rtuti ve vzorku je možné stanovit titrací např. pomocí roztoku NaCl za indikace podle Votočka s použitím 10% nitroprussidu sodného. Další možností je titrace roztokem NH_4SCN , kde se k indikaci používá metoda podle Volharda. Ta využívá jako indikátor 40% $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$ [9].

Instrumentálně se stanovení rtuti nejčastěji provádí metodou studených par s detekcí atomovým absorpčním spektrometrem (CVAAS) [8][10], kdy dochází k vyredukování elementární rtuti z kyselého roztoku Hg^{2+} pomocí SnCl_2 , vzniklé páry Hg jsou unášeny inertním plynem do křemenné kyvety a měří se absorbance při 253,7 nm [11]. Stejný princip měření po spálení vzorku avšak navíc s možností prekoncentrace rtuti v amalgámu na zlaté síťce je využíván u přístrojů AMA 254 - automatických analyzátorů rtuti [12][13]. Na Obr. 1 je znázorněna závislost plochy píků na teplotě atomizace po chemickém generování těkavých sloučenin z různých specií rtuti [14]. Mgr. Michaela Migašová ze závislosti usoudila, že „nárůst signálu v úzkém teplotním intervalu mezi 400 a 600 °C lze vysvětlit atomizací molekulárních struktur, do kterých je analyt vázán (MeHgH a EtHgH)“. V grafu můžeme pozorovat pokles signálu při redukci Hg^{2+} a fenylyrtuti pomocí tetrahydridoboritanu sodného za vzniku studených par se zvyšující se teplotou atomizace.



Obr. 1: Závislost plochy píků na atomizační teplotě čtyř specií rtuti, převzato z [14]

Další možností detekce jsou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS) [15], nebo atomová fluorescenční spektrometrie (AFS) [16][17].

2.2 Atomová absorpční spektrometrie

Atomová absorpční spektrometrie je jednou z hojně využívaných metod v chemických laboratořích. Principem této metody je absorpce elektromagnetického záření atomy v základním stavu. Atom, který takto absorbuje elektromagnetické záření, je excitován - jeho valenční elektron se dostává do vyšší energetické hladiny [18][19].

Detektory měří intenzitu záření vhodné vlnové délky, které je absorbováno atomizovaným vzorkem, a následně porovnávají s intenzitou záření původně produkovaného zdrojem. Množství absorbované energie elektromagnetického záření na určité vlnové délce v jednotkách absorpce je úměrné obsahu stanovované složky ve vzorku [18].

Zdroje záření v AAS jsou nejčastěji výbojky s dutou katodou (HCL) nebo výbojky s vysokou září, např. Superlamps nebo bezelektroodové výbojky (EDL). Pro výběr záření vhodné vlnové délky se využívá zdroj záření s částicemi stanovovaného prvku (emitují záření charakteristické vlnové délky, které právě atomy tohoto prvku absorbují) a monochromátor, který je kombinací odrazné difrakční mřížky a štěrbin,

a dokáže vymezit dostatečně intenzivní spektrální čáru daného prvku. Atomizace lze dosáhnout v plamenu, v elektrotermickém, popřípadě v křemenném atomizátoru. Pro detekci par rtuti obvykle slouží trubice stejného tvaru jako křemenný atomizátor, která obvykle není vyhřívána a proto nemusí být z křemene [20].

2.2.1 ContrAA 700

Nejmodernější jsou atomové absorpční spektrometry (HR-CS-AAS) zcela jiné koncepce jediným zdrojem polychromatického záření pro stanovení všech prvků (xenonovou výbojkou v hot-spot režimu s kontinuálním spektrem), vysokou rozlišovací schopností echelle polychromátoru a detektorem diodového pole. Kromě vyšší citlivosti mají unikátní možnost uživatelské korekce nespecifické absorpce strukturovaného pozadí, protože ve svém dvousetpixelovém měřicím okně zaznamenávají s vysokým rozlišením (řádově pikometry) i blízké okolí analytické čáry [21].

ContrAA 700 je duální atomový absorpční spektrometr typu HR-CS-AAS, obsahuje dva atomizační prostory, jak pro elektrotermický atomizátor, tak i pro plamenový, resp. křemenný atomizátor.

2.3 Atomová fluorescenční spektrometrie

Atomová fluorescenční spektrometrie vychází z principu absorpční spektrometrie. Záření, které vychází ze zdroje (lampa, laser), je absorbováno atomy, které se nachází na základní energetické hladině. Při absorpci dochází k příjmu energie z fotonu, který excituje atom na vyšší energetickou hladinu. Takto excitovaný atom po určité době emituje absorbované záření a tím se vrátí do základního energetického stavu [22].

Fluorescence silně závisí na kvantovém výtěžku (φ_F), který je vyjádřený jako poměr fluorescenčního toku (Φ_F) a absorbovaného toku záření (Φ_{abs}) [23,24]. Fluorescenční signál je závislý na kvantovém výtěžku fluorescence v oblastech malých koncentrací. Kromě toho je fluorescenční signál závislý také na počtu atomů analytu v základním stavu a toku primárního záření (Φ_0) ze zdroje. Pokud bude intenzita primárního záření (Φ_0) růst, poroste i intenzita fluorescence (Φ_F), která dosáhne své limitní hodnoty a následně se stane pouze funkcí koncentrace atomů, nikoliv toku primárního záření a kvantového výtěžku [24].

Experimentální uspořádání se podobá plamenové atomové absorpční spektrometrii. Jako zdroje záření se nejčastěji používají výbojky s vysokou září (As, Se, Sb, Te, Zn), výbojky s dutou katodou (Hg, Zn, Al, Cu), bezelektrodové výbojky (As, Se, Te, Pb) nebo lasery. V atomizátoru dochází k převodu stanovovaného prvku z roztoku do plynného atomárního stavu. Mezi atomizátory patří plamenová technika, a elektrotermická atomizace. S výhodou lze použít generování těkavých sloučenin prvků, např. As, Se, Te, Ge, Bi, Sn, Sb a Pb a jejich atomizaci ve vodíkovém miniaturním difúzním plamenu (MDF), popř. inertním plynem stíněném plamenu (FIGS) [24]. K výběru vhodné vlnové délky se využívají monochromátory nebo filtry, které vyselektují záření vlnové délky, kterou chceme použít. Na konci přístroje se nachází detektor, fotonásobič, který zachytává i slabé emisní toky [25].

2.3.1 Detektor Millennium Merlin Satellite

Millennium Merlin Satellite je doplněk k atomovému fluorescenčnímu spektrometru Millennium Excalibur od firmy PS Analytical (Velká Británie). Jedná se o jednotku, která po připojení k systému Millennium Excalibur umožňuje stanovení stopových obsahů rtuti. Millennium Excalibur bez tohoto externího modulu je použitelný pro stanovení hydridotvorných prvků (As, Se, Sb, Te, Bi) v miniaturním difúzním plamenu [26].

Jednotka Millennium Merlin Satellite se skládá z optického systému a elektroniky s USB portem. V základní verzi využívá chemického generování studených par rtuti a membránového sušení plynné fáze pomocí Millennium Excalibur, následně je detekuje pomocí svého vlastního fluorescenčního detektoru [26].

2.4 Generování těkavých sloučenin

Generování těkavých sloučenin je metoda, při níž je stanovovaný analyt převeden na těkavou sloučeninu. Tato technika se uplatňuje nejčastěji u prvků: arsen, selen, antimon, bismut, germanium, cín, telur a indium. Kromě techniky generování hydridů se dále běžně využívá generování studených par, které je typické zvláště pro rtuť. Posledním způsobem generování těkavých sloučenin je tvorba těkavých organokovových sloučenin a chelátů [27].

Výhodou generování těkavých sloučenin je možnost prekoncentrace analytu, čímž se zvýší koncentrace atomů stanovovaného prvku v absorpčním prostředí a tím se významně ovlivní citlivost stanovení [27].

Pro samotné generování je možné využít tři různé způsoby. Prvním a zároveň nejpoužívanějším způsobem je chemické generování (CVG), dále UV-fotochemické generování (UV-PVG) a elektrochemické generování (EcVG).

2.4.1 Chemické generování

Chemické generování je jednou z nejstarších technik generování těkavých sloučenin. Bylo používáno už před více než 100 lety v podobě Marshovy a Gutzeitovy zkoušky. Během těchto zkoušek byl získáván reaktivní vodík reakcí zinku s kyselinou, nejčastěji kyselinou chlorovodíkovou [28].

V současnosti se chemické generování těkavých sloučenin provádí za použití tetrahydridoboritanu sodného v prostředí minerálních kyselin, kde se opět nejčastěji používá kyselina chlorovodíková [25,28,29]. Tetrahydridoboritan je nestabilní sloučenina, která se za laboratorní teploty rozkládá. Pro samotnou práci je nutné ho připravovat denně čerstvý [30], v roztoku se stabilizuje pomocí hydroxidu draselného. Kromě kyseliny chlorovodíkové je ale možné použít také kyselinu dusičnou nebo kyselinu fosforečnou [25].

Princip chemického generování těkavých specií z anorganické rtuti spočívá v převedení rtuťnatého kationtu, Hg^{2+} , na elementární rtuť, Hg^0 [14,31]. Při této reakci je zvolen za redukční činidlo tetrahydridoboritan sodný nebo chlorid cínatý a dochází k tzv. generování studených par rtuti (CV - cold vapor) [14].

Chemické generování je běžnou záležitostí, a proto nebylo v této práci použito. Cílem této práce bylo ověření možností využití alternativních způsobů generování těkavých sloučenin rtuti, a to elektrochemického a UV-fotochemického.

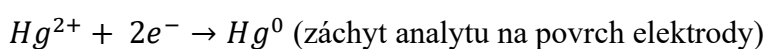
2.4.2 Elektrochemické generování

Elektrochemické generování je jednou z alternativních metod tvorby hydridů. Oproti chemickému generování, elektrochemické generování namísto redukčního činidla využívá k redukci průchod elektrického proudu v prostředí minerálních kyselin, jako je např. kyselina chlorovodíková [29,32].

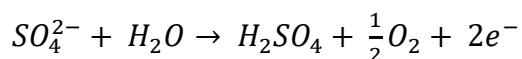
Výhodou elektrochemického generování oproti chemickému generování je menší riziko kontaminace. Jednotlivé používané roztoky nemusí být denně připravovány čerstvé a mohou se použít i pro jiné prvky tvořící těkavé sloučeniny [33].

Elektrochemické generování těkavých sloučenin probíhá ve třech krocích. Nejprve dochází k záchytu analytu na povrch elektrody a jeho následné redukci. Redukovaný analyt poté reaguje s vodíkem, který se vytváří na katodě. Vzniklý hydrid se následně desorbuje z povrchu elektrody [34]. Elektrochemické generování studených par rtuť (EcVG) postrádá prostřední krok tohoto mechanismu, probíhá zde tedy jen záchyt, redukce a uvolnění.

Reakce na katodě:



Reakce na anodě:



Elektrochemická průtoková cela je tvořena ze dvou prostorů, katodového a anodového, které jsou nejčastěji vyrobené z plexiskla nebo PTFE. Jednotlivé prostory jsou od sebe odděleny iontově výměnou membránou, např. z Nafionu [35].

2.4.3 UV-fotochemické generování

UV-fotochemické generování je dalším alternativním způsobem tvorby těkavých sloučenin prvků. Principem fotochemického generování je využití UV záření pro rozklad fotochemického činidla. Fotochemickými činidly bývají nízkomolekulární organické kyseliny, např. kyselina mravenčí, kyselina octová či kyselina propionová [36]. Během fotochemického generování dochází k fotolýze karboxylové kyseliny na radikály. Takto vzniklé radikály poté reagují s analytem za vzniku těkavé sloučeniny daného prvku [37]. Jako zdroj záření se používá nízkotlaká nebo střednětlaká rtuťová výbojka [38].

Výhodou fotochemického generování je zjednodušení aparatury oproti elektrochemickému generování. V porovnání s chemickým generováním,

UV-fotochemické generování dovoluje používání méně toxických a méně finančně náročných činidel [38].

Fotochemické generování je vhodné pro stanovení prvků, jako jsou Os, Co, I, Br, Sn, Cu, Te, Pb, Sb, As, Fe, Hg a Ni [36,37]. Dále se využívá pro stanovení rtuti ve vzorcích vod, ryb a vlasů [39].

2.5 Transport sledovaného prvku z roztoku do atomizátoru

2.5.1 Dávkové uspořádání (batch)

Dávkový generátor se skládá z láhve, která slouží zároveň jako separátor kapalně a plynné fáze. Zde je umístěn okyselený vzorek, do kterého je kontinuálně přiváděn roztok redukčního činidla (CVG) pomocí peristaltické pumpy nebo který je podroben elektrolýze (EcVG), popř. fotoredukci UV-zářením (UV-PVG). Dále je do generátoru dopravován nosný inertní plyn (Ar), jehož funkcí je transport vzniklých těkavých sloučenin do atomizátoru [40,41].

V tomto případě nebylo zapotřebí použití redukčního činidla, protože se tato práce zaměřila na alternativní způsoby generování, tedy EcVG a UV-PVG.

2.5.2 Kontinuální průtoková analýza (CFA)

Principem kontinuální průtokové analýzy je neustálé zavádění vzorku nebo slepého vzorku do proudu reakčního média (kapaliny nebo plynu) [42,43]. Dochází ke smíchání a následně je přivedeno redukční činidlo (CVG). Tato směs poté zreaguje v reakční cívce, odkud je následně dopravována do separátoru fází. Zde je oddělena plynná složka od kapalně a je transportována do atomizátoru. Kapalina je odváděna do odpadu. Před separátorem fází nebo přímo do něj se obvykle zavádí nosný plyn [43].

2.5.3 Průtoková injekční analýza (FIA)

Průtoková injekční analýza využívá dávkování kapalného vzorku injekčním ventilem s dávkovací smyčkou vhodného objemu do kontinuálního toku homogenního nosného média [42]. Tok nosného roztoku bývá zprostředkován peristaltickou pumpou. Dochází ke smíchání komponent a v reakční cívce (popř. v generátoru) dojde k reakci za vzniku těkavé sloučeniny. Ta je dopravována do atomizátoru proudem nosného plynu [43].

3 Experimentální část

3.1 Přístroje a zařízení

Pro experimentální část této bakalářské práce byly použity následující přístroje a zařízení:

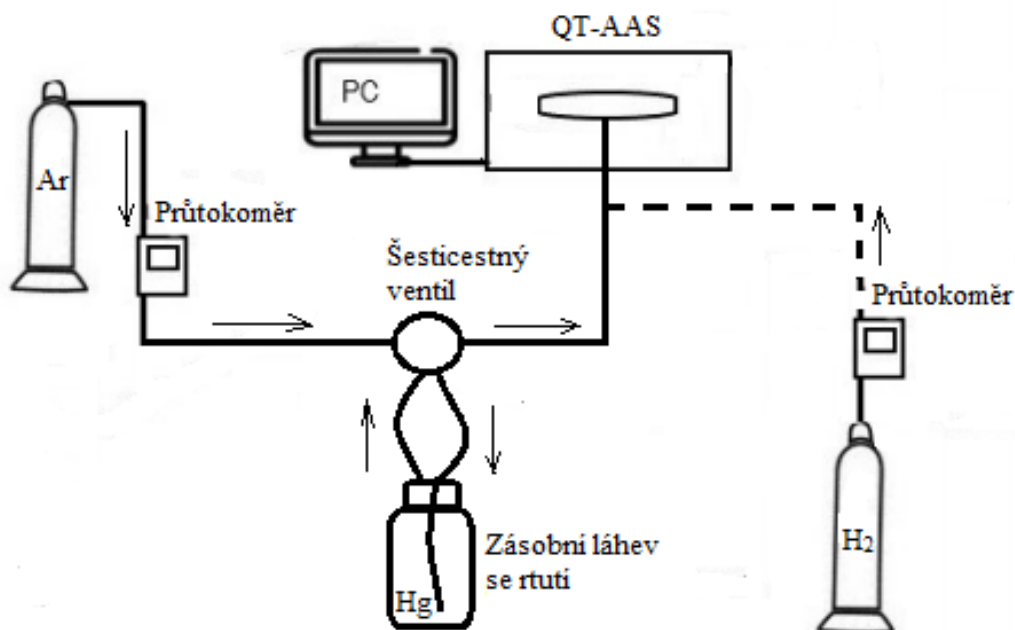
- atomový absorpční spektrometr ContrAA700 ovládaný softwarem ASpect CS (*Analytic Jena, Německo*)
- atomový fluorescenční spektrometr PSA 10.055 Millennium Excalibur (*PS Analytical, UK*)
- fluorescenční detektor atomární rtuti 10.125 Millennium Merlin Satellite (*PS Analytical, UK*)
- univerzální chromatografický interface (UCI) od UHPLC systému Dionex RS 3000, ovládací a vyhodnocovací software Chromeleon (*Thermo Fisher Scientific, USA*)
- křemenná detekční trubice ve tvaru “T“ umístěná v optické ose atomového absorpčního spektrometru kombinovaná se separátorem plynné a kapalné fáze (laboratorní design, viz Obr. 2 v [1])
- peristaltická vícekanálová pumpa Masterflex (*Cole Parmer, USA*), pro čerpání roztoků HCl, H₂SO₄, roztoků modelových vzorků a nosného roztoku při fotochemickém generování
- čerpací hadičky (*TYGON[®], USA*) a spojovací trubičky (PTFE, *Supelco, USA*) o různých průměrech pro čerpání roztoků a spojování jednotlivých částí aparatury
- průtok inertního nosného plynu (argonu) i průtok reakčního plynu (vodíku) byly regulovány průtokoměry (*Cole Parmer, USA*) 0-100 a 0-50 ml·min⁻¹
- skleněný separátor plynné a kapalné fáze (*PS Analytical, UK*)
- nízkotlaká rtuťová výbojka trubicovitého tvaru pro UV-fotochemické generování studených par rtuti (20 W, *Ushio, Japonsko*)
- reakční cívka pro UV-fotochemické generování vyrobena z PTFE hadičky o rozměrech 1,0 mm i.d./2,0 mm o.d. a délce 1 m (*Supelco, USA*)

- tenkovrstvá elektrochemická generační cela laboratorní výroby tvořená ze dvou bloků plexiskla (*Řempe Net, Česká republika*) se dvěma elektrodovými prostory (3 x 3 x 100 mm), které byly od sebe odděleny iontově výměnnou membránou Nafion[®] 117 (*Aldrich, USA*), a platinovými elektrodami, podrobnosti viz [20]
- šesticestný dávkovací ventil FIA V-451 (*Upchurch Scientific, USA*) pro použití s nízkými tlaky
- stopky
- laboratorní zdroj konstantního elektrického proudu Statron 2223
- PC se sadou MS Office 2007 (*Microsoft, USA*) a Origin 8.1 Profesional (*Microcal Software Inc., USA*)

3.2 Schémata použitých aparatur a měřicí postupy

3.2.1 Modelový experiment na AAS

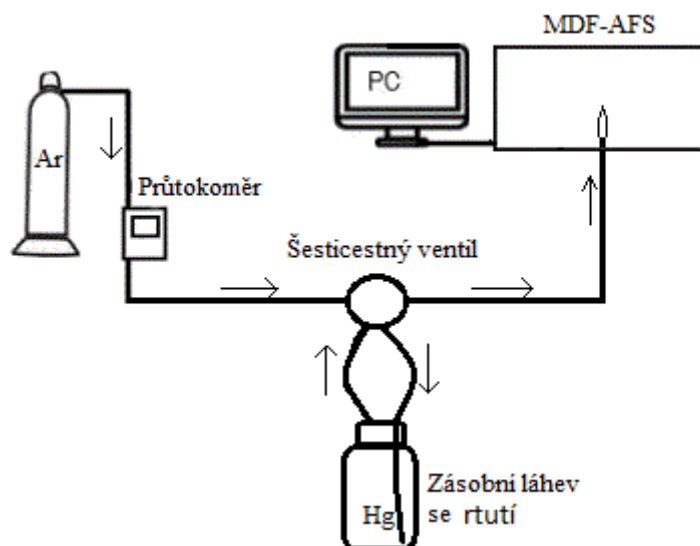
Na Obr. 2 je znázorněné schéma aparatury pro modelový experiment na AAS. Jedná se o sestavu umožňující načasování různé nastavení mezi dávkovým uspořádáním a průtokovou injekční analýzou. V zásobní láhvi o objemu 165 ml se po zvolenou dobu ustavovala rovnováha mezi kapalnou a plynnou rtutí, jak obvykle bývá v dávkovém uspořádání experimentu. Když se tato doba zkrátí pod určitou hranici, přestane být tenze par rtuti (a tím i velikost měřené absorbance) úměrná množství rtuti v láhvi, ale je řízena kromě teploty a dalších parametrů hlavně délkou použitého časového intervalu. Podobně jako ve FIA tak nedosahujeme ustáleného stavu a získaný signál má tvar píku. Po přepnutí dávkovacího ventilu totiž dojde k vypláchnutí směsi plynů nad hladinou kapalné rtuti z této láhve argonem a všechny plyny tak musí projít detekční trubicí. Průtok nosného inertního plynu je regulován průtokoměrem na $30 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Čárkovanou čarou je ve schématu naznačeno, že bylo testováno, zda tato směs par rtuti a nosného plynu je v atomizátoru atomizována za přispění redukčního prostředí vodíku, či nikoli.



Obr. 2: Schéma aparatury pro modelový experiment na AAS, převzato z [25] a upraveno

3.2.2 Modelový experiment na AFS

Obr. 3 znázorňuje schéma pro modelový experiment na AFS. Páry, tvořící se v zásobní láhvi o objemu 165 ml, byly opět vyfukovány do detektoru nosným plynem (Ar), jehož průtok byl regulován průtokoměrem na $30 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Na Obr. 4 je fotografie vybavení reálného modelového experimentu.



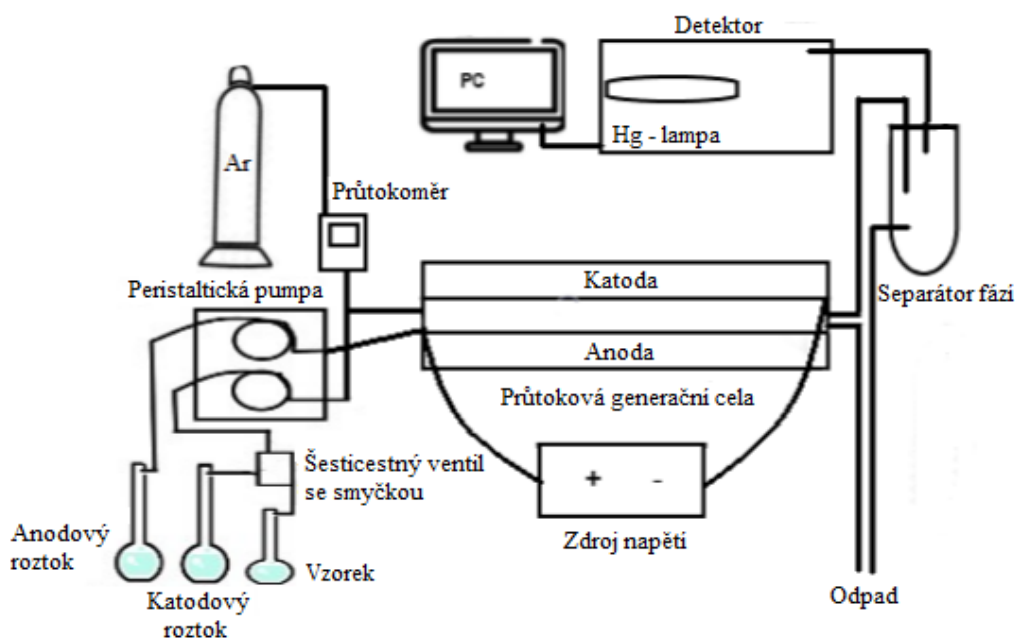
Obr. 3: Schéma aparatury pro modelový experiment na AFS, převzato z [25] a upraveno



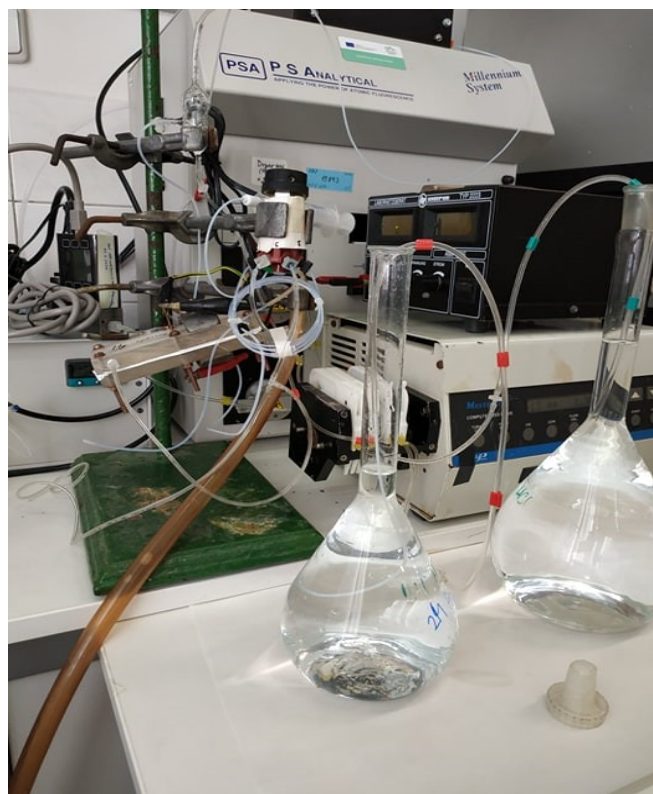
Obr. 4: Použitá aparatura pro modelový experiment na AFS, vlastní fotografie

3.2.3 Aparatura pro FIA-EcVG-AFS

Schéma aparatury pro elektrochemické generování studených par rtuti je znázorněno na Obr. 5, na Obr. 6 je fotografie reálné aparatury, která byla použita pro elektrochemické generování. Vzorek (roztok rtuťnatých iontů) byl nasáván pomocí injekční stříkačky do smyčky o určitém objemu. Do šesticestného ventilu byl také čerpán pomocí peristaltické pumpy 0,5M roztok kyseliny chlorovodíkové. Ten sloužil jako katodový roztok a po nadávkování vzorku byl smícháván difúzí se vzorkem. Takto získaná směs putovala do generační cely. Spolu se směsí katodového roztoku (katolytu) a vzorku byl do generační cely zvlášť dopravován roztok anodový (anolyt), tedy 2M roztok kyseliny sírové. Před generační celou byl přiváděn nosný inertní plyn (Ar), jehož průtok byl regulován průtokoměrem na $30 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Nosný plyn odváděl vygenerované těkavé sloučeniny z generační cely, aby nedošlo k jejich zpětnému rozpouštění. Páry rtuti byly dopraveny do separátoru fází, kde byla oddělena kapalná matrice a následně byla směs plynů dopravována do detektoru. Elektrochemická ceta byla připojena ke zdroji konstantního elektrického proudu o velikosti 1 A.



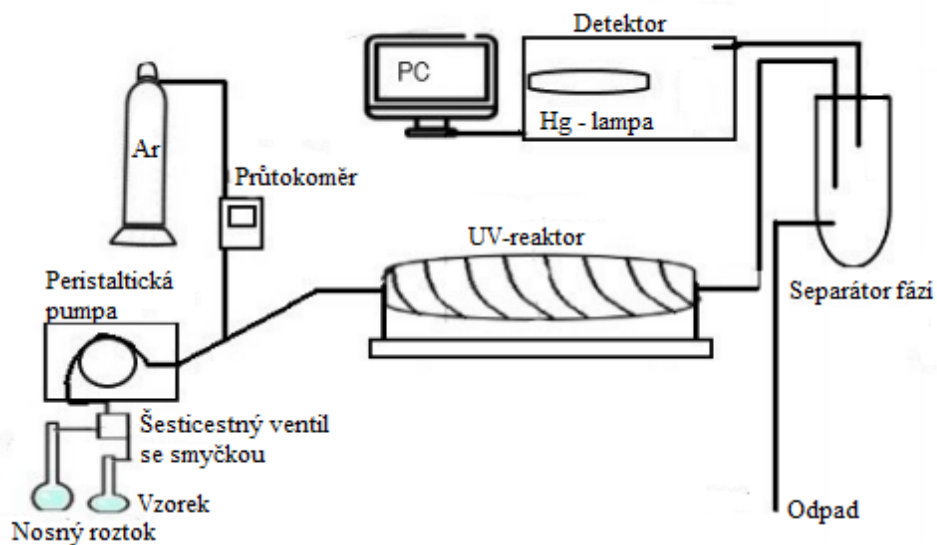
Obr. 5: Schéma aparatury pro elektrochemické generování studených par rtuti s detekcí AFS, převzato z [25] a upraveno



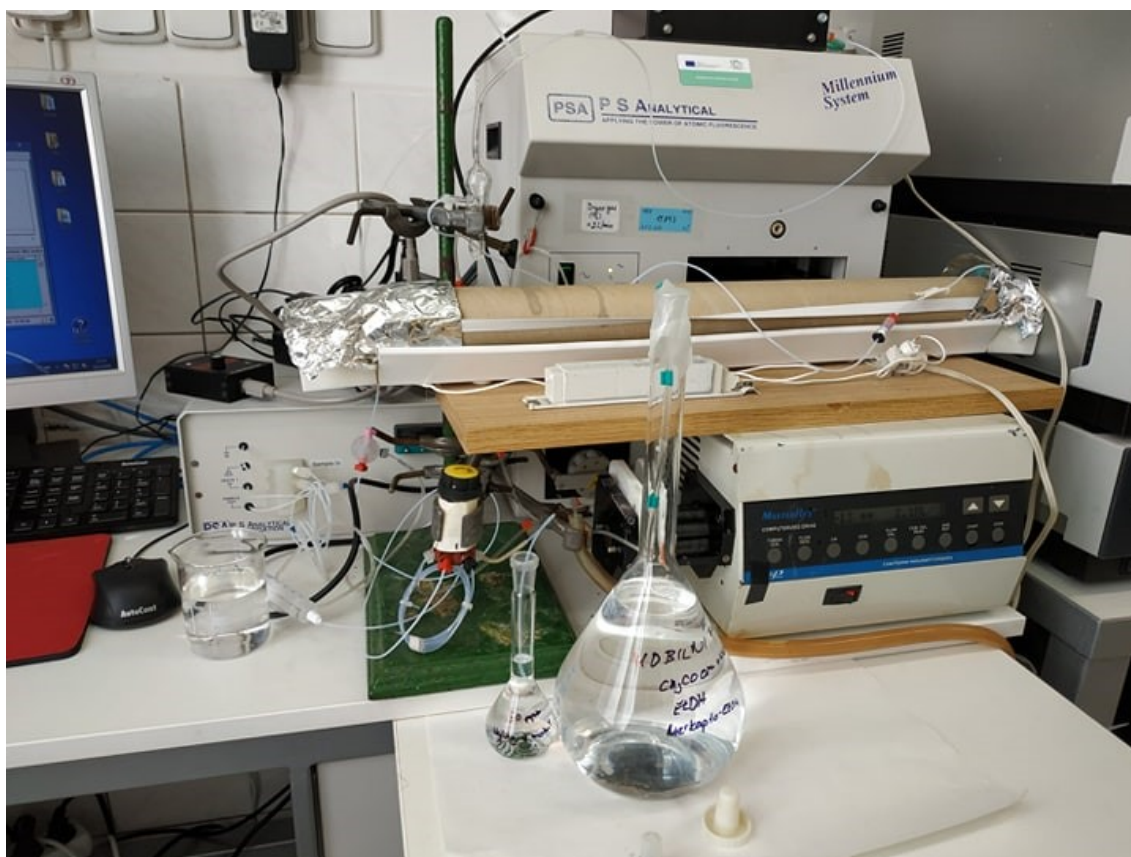
Obr. 6: Použitá aparatura pro elektrochemické generování studených par rtuti s detekcí AFS, vlastní fotografie

3.2.4 Aparatura pro FIA-UV-PVG-AFS

Na Obr. 7 je znázorněna aparatura pro UV-fotochemické generování studených par rtuti, na Obr. 8 pak fotografie. Modelovým vzorkem (roztokem rtuťnatých iontů) byla naplňována dávkovací smyčka dávkovacího ventilu pomocí injekční stříkačky. Do dávkovacího ventilu byl také dopravován nosný roztok pomocí peristaltické pumpy. Tato směs nosného roztoku se vzorkem byla dopravena do UV-reaktoru. Mezi dávkovací ventil a UV-reaktor byl zaváděn nosný plyn (Ar), jehož průtok byl regulován průtokoměrem na rychlost $30 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Vzniklé těkavé sloučeniny rtuti byly v separátoru fází odděleny od matrice a následně dopraveny do AFS detektoru, kde proběhla jejich detekce.



Obr. 7: Schéma aparatury pro UV-fotochemické generování studených par rtuti s detekcí AFS, převzato z [25] a upraveno



Obr. 8: Použitá aparatura pro UV-fotochemické generování studených par rtuti s detekcí AFS, vlastní fotografie

3.3 Seznam použitých chemikálií

- Elementární rtuť (čistota 99,999 %, BOME s.r.o., Česká republika)
- Argon (4.8, Linde, Česká republika)
- Vodík (3.0, Linde, Česká republika)
- HgCl₂ (čistý, Lach-Ner, Česká republika)
- HCl (35 %, čistota p.a., CentralChem, Slovensko)
- H₂SO₄ (čistota 95-97 %, Merck, Německo)
- CH₃COOH (čistota 99 %, Lach-Ner, Česká republika)
- NaOH (0,2 M, čistota p.a., 99,33 %, Lach-Ner, Česká republika)
- Ethanol (čistota 96 %, Lach-Ner, Česká republika)
- 2-Merkaptoethanol (čistota více než 99 %, Sigma-Aldrich, USA)
- HNO₃ (čistota p.a., Analytika, Česká republika)
- Deionizovaná voda (18,2 MΩcm, Milli Q_{PLUS}, Millipore, USA)

4 Výsledky a diskuze

Pro větší přehlednost byla tato část bakalářské práce rozdělena na dvě podkapitoly. Oddíl 4.1 se zabývá modelovými experimenty provedenými pouze s odpařující se rtutí pro porovnání citlivostí detekce pomocí AAS a AFS. V oddílu 4.2 jsou pak vzájemně porovnány výkonnostní parametry stanovení Hg^{2+} v modelových roztocích pomocí AFS buď s elektrochemickým, nebo s UV-fotochemickým generováním par rtuti.

4.1 Modelové experimenty

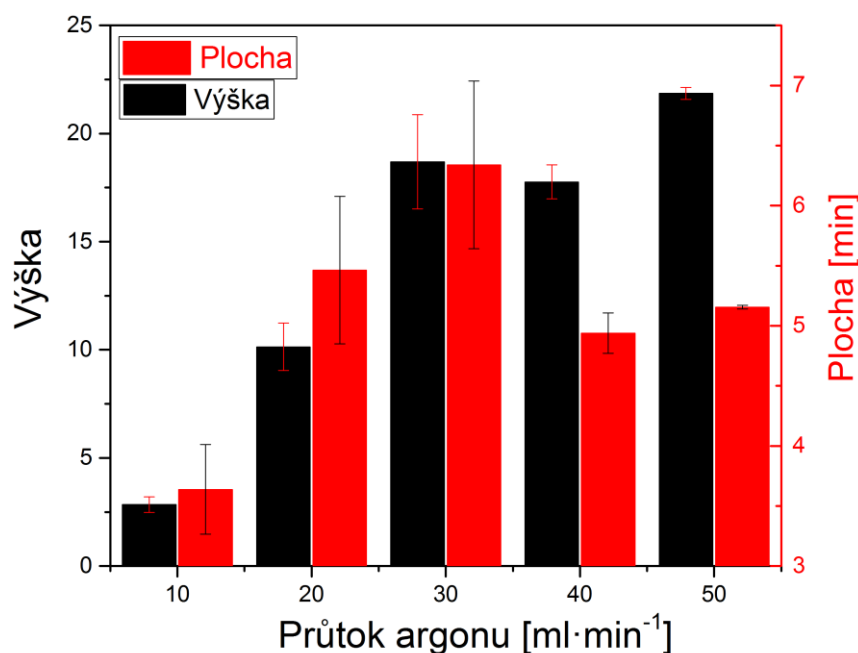
Za účelem porovnání odezev (citlivostí) obou detektorů byly prováděny modelové experimenty jak s atomovým fluorescenčním, tak i s atomovým absorpčním spektrometrem. Jako vzorek se v těchto měřeních použila elementární rtuť o čistotě 99,999 %.

4.1.1 Atomová absorpční spektrometrie

Na atomovém absorpčním spektrometru ContrAA 700 byly hledány optimální podmínky odpařování, transportu a detekce rtuti. Konkrétně se jednalo o závislosti absorbance na teplotě zásobní láhve se vzorkem rtuti, na teplotě detekční cely, na průtoku inertního nosného plynu a na průtoku reakčního plynu a o závislost absorbance na době vypařování / akumulace rtuti v zásobní láhvi. Ve všech grafech na Obr. 9 až Obr. 13 jsou hodnoty absorbance uvedeny v tisícinách, tedy v mAU, což by mělo odpovídat signálu získanému na atomovém fluorescenčním spektrometru se zesílením 1000.

4.1.1.1 Průtoková rychlost nosného plynu

Prvním testovaným parametrem pro následné využití v dalších měřeních byl průtok argonu, který sloužil pro výplach plynné fáze ze zásobní láhve se vzorkem rtuti a k transportu par rtuti do detekční trubice v atomovém absorpčním spektrometru. Průtok Ar byl volen v krocích po $10 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ v rozpětí od $10 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ do $50 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Do $30 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ můžeme s rostoucím průtokem Ar na Obr. 9 pozorovat lineární nárůst výšky signálu. Integrovaná plocha pod křivkou signálu do této hodnoty průtoků rovněž stoupá, ovšem ne lineárně. Pro vyšší průtoky Ar nelze vyvodit jednoznačný závěr, neboť trendy výšky a plochy nejsou v souladu. Jediným společným trendem tak zůstává snižování variability výsledků třikrát opakovaných měření (vyjádřeno směrodatnými odchylkami ve formě chybových úseček nejen v tomto grafu, ale obdobně i v dalších grafech) směrem k nejvyšším průtokům plynů, což je při detekci těžkých sloučenin běžné. Jako optimální průtok se pro další měření používal průtok $30 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$, z důvodu velké odezvy jak výšky, tak plochy píku.



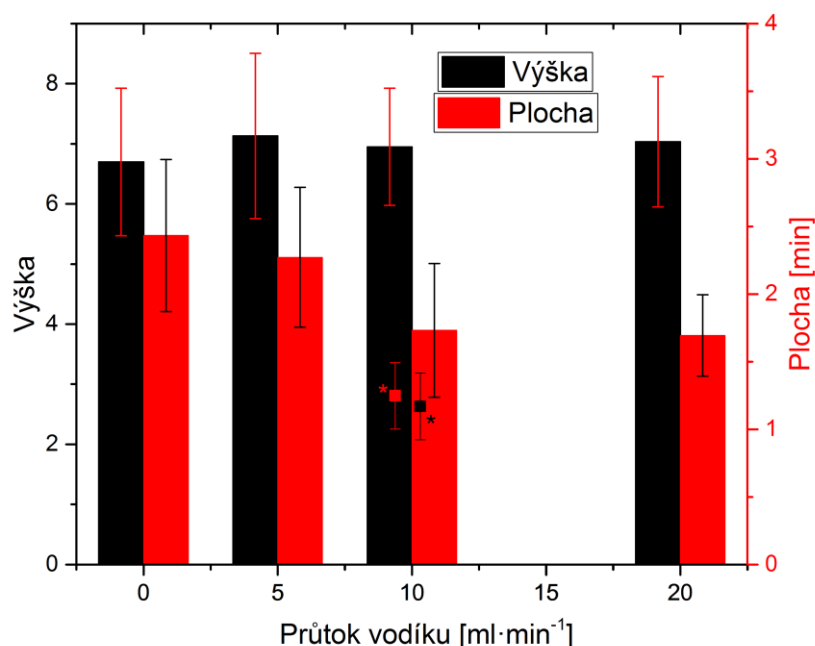
Obr. 9: Závislost signálu na průtoku argonu.

T (vzorku) = $24 \text{ }^\circ\text{C}$, T (detekční trubice) = $150 \text{ }^\circ\text{C}$, V (láhve) = 165 ml ,
 v (H_2) = $0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$

4.1.1.2 Průtok vodíku

Druhým testovaným parametrem v modelové části byl vliv vodíku na měřený signál. Cílem experimentu bylo potvrdit, že páry rtuti není třeba atomizovat a není tedy nutný přísávek vodíku k vytvoření redukčního prostředí v detekční trubici nejen při vyhřívání na 150 °C (Obr. 10), ale i při vyšších teplotách. V rozmezí průtoku H₂ 0 ml·min⁻¹ až 20 ml·min⁻¹, za stálého průtoku Ar 30 ml·min⁻¹ můžeme pozorovat stálou výšku píků pouze s mírnými odchylkami. Plocha píků vykazuje klesající trend, jehož příčinou je právě zvyšování průtoku H₂.

Poté se změřila velikost signálu za podmínek celkového průtoku plynů 30 ml·min⁻¹, konkrétně v poměru průtoků plynů (Ar:H₂) 20:10, při kterém bylo vidět velké snížení signálu (body označené na Obr. 10 hvězdičkami). Na základě tohoto snížení signálu nebyl pro další měření vodík používán.



Obr. 10: Závislost signálu na průtoku vodíku. Body označené hvězdičkami (*) označují měření v poměru průtoků 20:10 (Ar:H₂)

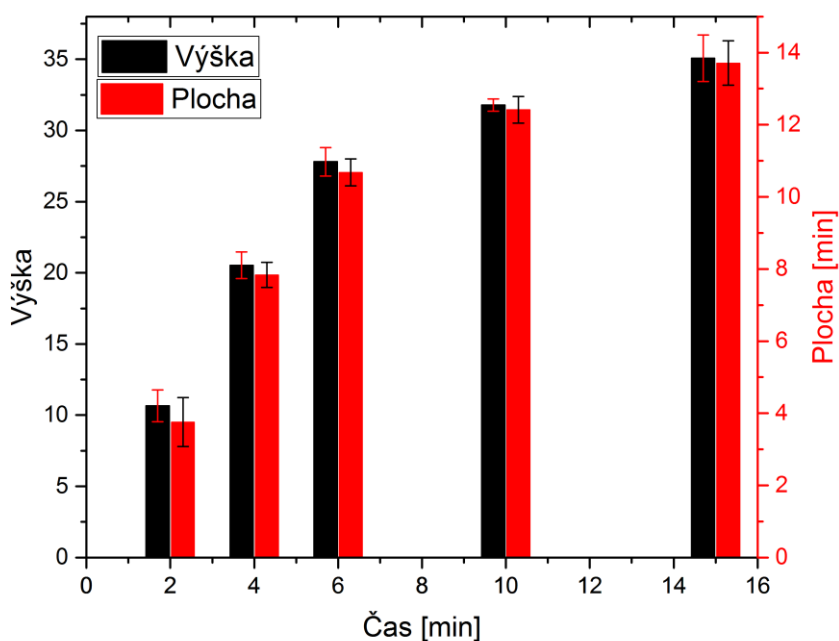
$$v(\text{Ar}) = 30 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1} \text{ (*}20 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}\text{)}; T(\text{vzorku}) = 24 \text{ }^\circ\text{C};$$

$$T(\text{detekční trubice}) = 150 \text{ }^\circ\text{C}; V(\text{láhve}) = 165 \text{ ml}$$

4.1.1.3 Časová závislost vypařování rtuti

Pro zjištění trendů v rychlosti vypařování rtuti byla sledována závislost množství vypařené rtuti na čase (Obr. 11). U prvních tří měření byl zjištěn lineární trend nárůstu signálu se vzrůstající dobou vypařování rtuti do láhve. V časech 10 i 15 minut signál stále roste, ale už ne tak strmě jako tomu bylo v předchozích časech 2, 4 a 6 minut vypařování Hg.

Celkový trend závislosti signálu na době vypařování se jeví logaritmičticky a pro další měření se používal interval dvou minut.



Obr. 11: Závislost odezvy na době vypařování rtuti

$v(\text{Ar}) = 30 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, $T(\text{vzorku}) = 24 \text{ }^\circ\text{C}$, $T(\text{detekční trubice}) = 150 \text{ }^\circ\text{C}$,

$V(\text{láhve}) = 165 \text{ ml}$, $v(\text{H}_2) = 0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$

4.1.1.4 Teplota detekční cely

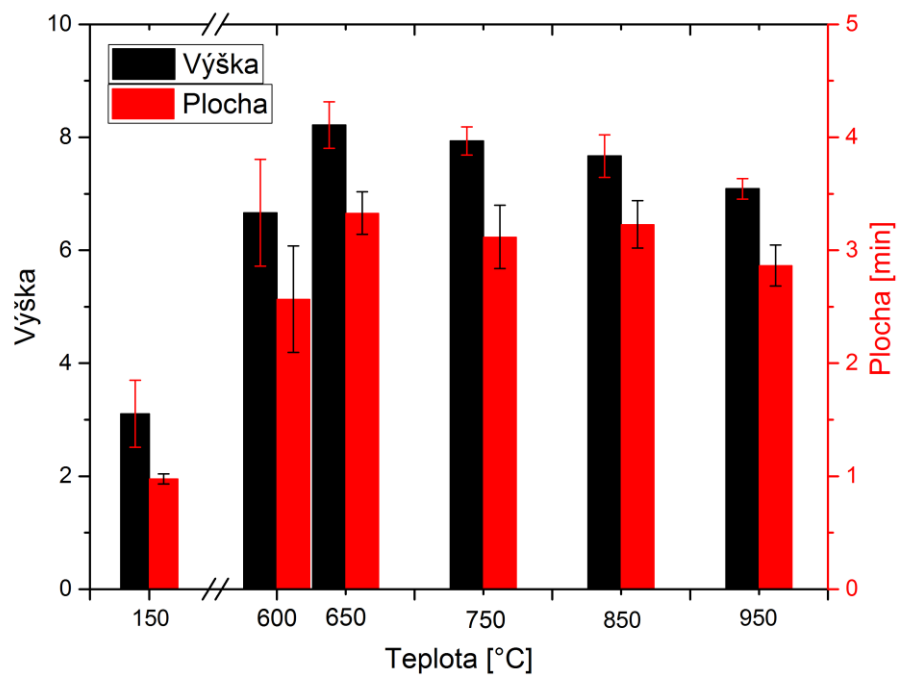
Pro optimalizaci podmínek měření absorbance byla vyhodnocena také závislost signálu na teplotě detekční cely (Obr. 12). Volba teploty mezi 150 °C a 600 °C nebyla umožněna programem ovládajícím atomový absorpční spektrometr ContrAA 700. Získaná závislost má poměrně překvapivý průběh. V odborné literatuře je uvedeno, že se detekční trubice a její přívodní rameno vyhřívá na teplotu nad bod varu vody pro zamezení ztrát rtuti kondenzované na kapkách [14]. To by mělo být splněno již při 150 °C. Proč je pak absorbance při 650 °C více než dvakrát vyšší může být zdůvodněno různě. Nabízí se minimálně dvě hypotézy, které bude třeba potvrdit nebo vyvrátit:

1) Kromě monoatomické páry rtuti se vypařovaly i nanočástice, např. dimery, které atomizují již při teplotě 650 °C na rozdíl od hydridů, které běžně atomizují až nad 900 °C.

2) Na základě zjištění po skončení všech modelových experimentů, že rtuť v láhvi i přes její uzavření zoxidovala cca ze 49 %, se lze domnívat, že oxidace proběhla stopami kyslíku v používaném nosném plynu – argonu čistoty 4.8. Ačkoliv jsme o tom v dostupné literatuře nenašli ani zmínku, je možné, že i oxidy rtuti jsou těkavé a při teplotě nad 600 °C atomizovatelné.

V porovnání s Obr. 1 v teoretické části této práce, převzatým z diplomové práce Mgr. Michaely Migašové [14], nás to dovádí k myšlence, že se nejedná o homogenní páru, tedy neobsahuje volné monoatomické částice v plynném stavu. S ohledem na procento oxidace vzorku elementární rtuti je pravděpodobný výskyt i jiných částic, jako např. dimerů či oxidů, které potřebují atomizaci.

Pro další měření bylo použito vyhřívání detekční cely na teplotu 650 °C z důvodů vysoké odezvy a nízké variability výsledků opakovaných měření.

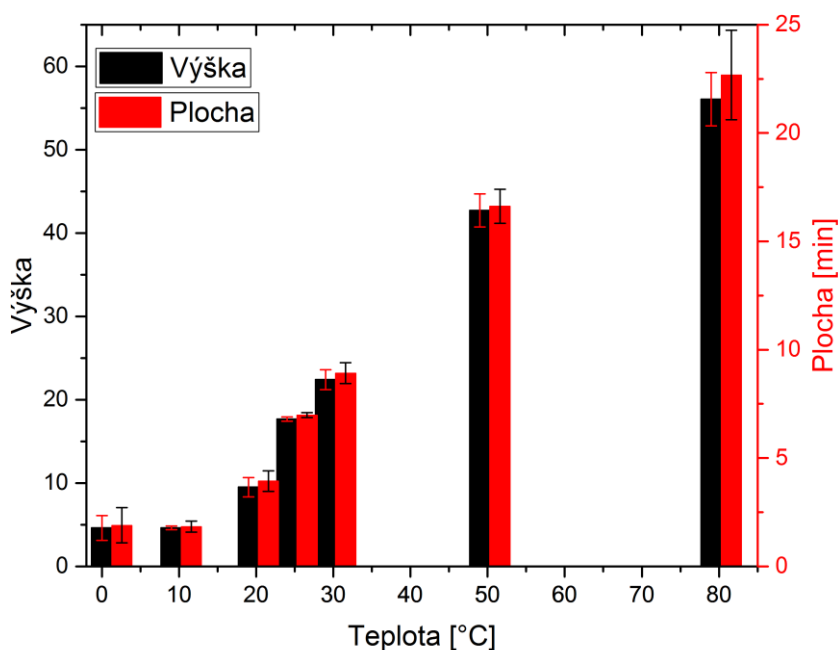


Obr. 12: Závislost signálu na teplotě detekční cely

$v(\text{Ar}) = 30 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $v(\text{H}_2) = 0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $T(\text{vzorku}) = 24 \text{ }^\circ\text{C}$; $V(\text{láhve}) = 165 \text{ ml}$,
 $t = 2 \text{ min}$

4.1.1.5 Teplota zásobní láhve

Poslední v pořadí byla závislost mezi rychlostí vypařování rtuti a teplotou zásobní láhve (Obr. 13). Signály pro 0 °C a 10 °C se dají považovat za totožné, a můžeme tedy usoudit, že do 10 °C se množství vypařené rtuti nijak nemění. Při dalším zvyšování teploty vzorku rtuti můžeme pozorovat nárůst signálu s nejstrmějším průběhem mezi 20 °C a 50 °C. Z důvodu nejnižší experimentální náročnosti byla pro další experimenty zvolena běžná laboratorní teplota. Její hodnota se obvykle blíží 24 °C.



Obr. 13: Závislost odezvy na teplotě zásobní láhve

$v(\text{Ar}) = 30 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $T(\text{detekční trubice}) = 650 \text{ °C}$; $V(\text{láhve}) = 165 \text{ ml}$;

$v(\text{H}_2) = 0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $t = 2 \text{ min}$

4.1.1.6 Optimální podmínky pro detekci par rtuti AAS

V Tab. 1 jsou shrnuty zvolené experimentální podmínky pro detekci par rtuti atomovým absorpčním spektrometrem ContrAA 700.

Tab. 1: Shrnutí optimálních podmínek detekce par rtuti na atomovém absorpčním spektrometru ContrAA700

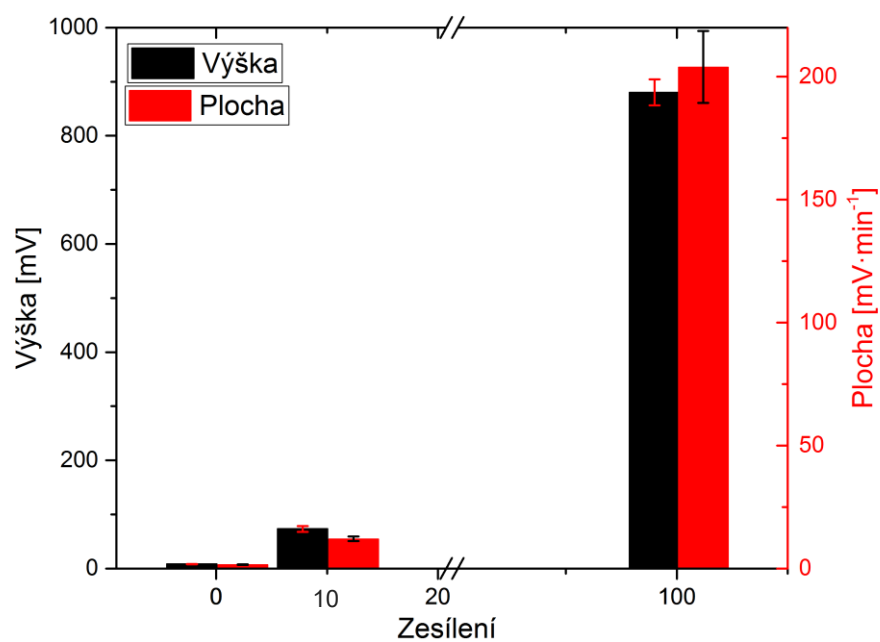
| Parametr | Hodnota |
|--|---------|
| Průtok nosného plynu (Ar) [ml·min ⁻¹] | 30 |
| Průtok reakčního plynu (H ₂) [ml·min ⁻¹] | 0 |
| Doba vypařování Hg mezi jednotlivými dávkováními [min] | 2 |
| Teplota detekční cely [°C] | 650 |
| Teplota zásobní láhve [°C] | 24 |

4.1.2 Atomový fluorescenční spektrometr Millennium Excalibur s přídavným detektorem rtuti Millennium Merlin Satellite

Druhá část modelových experimentů byla prováděna na atomovém fluorescenčním spektrometru Millennium Excalibur, ke kterému byl připojen přídavný fluorescenční detektor rtuti Millennium Merlin Satellite. Tyto modelové experimenty byly prováděny právě pro prokázání funkčnosti tohoto zařízení, přičemž se testovala citlivost při různých zesíleních (tzv. gain). Program umožňuje čtyři úrovně zesílení signálu, a to konkrétně 1, 10, 100 a 1000. Ovládací software tohoto zařízení sice umí odečítat výšku i integrovat plochu získaného signálu, ale neumí ukládat záznam. Pro záznam průběhu signálu a jeho vyhodnocení byl proto používán software Chromeleon prostřednictvím univerzálního chromatografického interface (UCI) od UHPLC systému Dionex RS 3000. Jelikož maximální hranice výstupního napětí systému Millennium Excalibur byla 1000 mV, při zesílení 1000 píky nebyly vidět celé, byly shora useknuté a nešel vidět celý průběh signálu. Z tohoto důvodu nebylo zesílení 1000 nadále využíváno.

4.1.2.1 *Závislost velikosti signálu na zesílení*

Při zvýšení zesílení můžeme pozorovat nárůst signálu i jeho šumu. Za daných podmínek tedy zesílení 100 poskytovalo nejvyšší výšku a zároveň plochu píku a bylo možné jej použít pro vzorky o koncentraci rtuti v řádu ppb. Pro detekci par elementární rtuti bylo používáno zesílení 10. Cílem prvního experimentu bylo zjistit, jak je nárůst signálu úměrný zesílení (Obr. 14).



Obr. 14: Závislost velikosti signálu na zesílení

$v(\text{Ar}) = 30 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $V(\text{láhve}) = 165 \text{ ml}$; $v(\text{H}_2) = 0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $t = 2 \text{ min}$;

$T(\text{vzorku}) = 24 \text{ }^\circ\text{C}$

4.1.3 Porovnání citlivostí AAS a AFS v modelových experimentech

Přímé porovnání citlivostí detekce rtuti atomovým absorpčním spektrometrem a atomovým fluorescenčním spektrometrem není možné, protože získané odezvy a tím i směrnice příslušných kalibrací mají rozdílné jednotky a rozdílná „zesílení“.

Pro potřeby této práce byl proto vyhodnocen a porovnán poměr velikosti odezvy a směrodatné odchylky výběru. K porovnání byly zvoleny hodnoty těchto parametrů pro 25 °C z teplotní závislosti uvedené na Obr. 13 a pro zesílení 100 ze závislosti na Obr. 14, které jsou uvedeny v Tab. 2 spolu s vypočítanými příslušnými poměry velikosti signálu a směrodatné odchylky výběru.

Tab. 2: Souhrn parametrů pro porovnání citlivostí AAS a AFS v modelových experimentech

| Metoda | Výška | Směrodatná odchylka z výšky | Poměr $h/smodch$ * | Plocha | Směrodatná odchylka z plochy | Poměr $S/smodch$ * |
|--------|-------|-----------------------------------|--------------------------|--------|------------------------------------|--------------------------|
| AAS | 17,67 | 0,26 | 68 | 6,98 | 0,11 | 63 |
| AFS | 880 | 24 | 37 | 204 | 15 | 14 |

* h značí výšku píku, S plochu píku a $smodch$ směrodatnou odchylku

Ačkoli je obvykle fluorescenční detekce citlivější, v tomto případě byly vyšší hodnoty poměrů průměrného signálu a směrodatné odchylky výběru výsledků opakovaných experimentů překvapivě získány atomovým absorpčním spektrometrem. Svědčí to o tom, že detekce rtuti pomocí HR-CS-AAS má větší odstup signálu od šumu než AFS.

4.2 Vlastní výzkumná část s AFS

Vlastní výzkumná část se zaměřuje na rozdílné techniky generování studených par rtuti ze vzorků. Konkrétně se jedná o elektrochemické a UV-fotochemické generování studených par rtuti, u kterých byly porovnány výkonnostní parametry (meze detekce (LOD); meze stanovitelnosti (LOQ); citlivosti kalibrací a opakovatelnosti).

Pro elektrochemické generování (EcVG – AFS) studených par rtuti byl jako katodový roztok použit 0,5M roztok kyseliny chlorovodíkové, a jako anodový roztok byl použit 2M roztok kyseliny sírové. Složení těchto roztoků i další pracovní podmínky (sepsané v Tab. 3) byly převzaty z disertační práce RNDr. Ondřeje Linharta, Ph.D. [1]. Pro sestrojení kalibrační řady se použil chlorid rtuťnatý, HgCl_2 , který byl rozpuštěn v katodovém roztoku. Jednotlivé obsahy rtuti pro sestrojení kalibrační závislosti byly: 1000 ppb, 500 ppb, 200 ppb, 100 ppb, 50 ppb, 20 ppb, 10 ppb, 5 ppb, 2 ppb a 1 ppb.

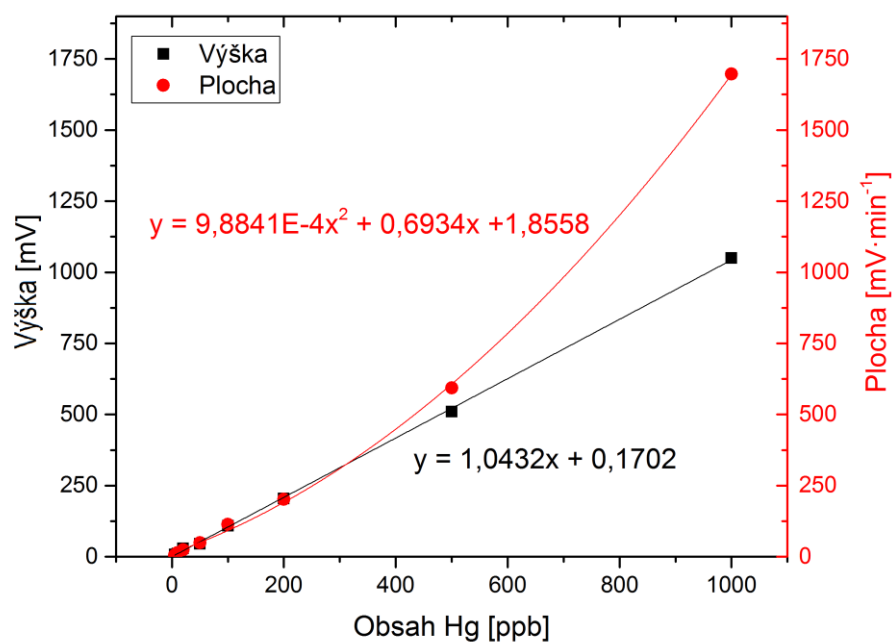
UV-fotochemické generování par rtuti (UV-PVG-AFS) potřebuje pro svou realizaci nosný roztok, který je složen z více komponent. Obsahuje pufr, který byl získán titrací 20mM vodného roztoku CH_3COOH 0,5M roztokem NaOH do pH 4,75. Dále obsahoval 40 % (v/v) ethanolu a 0,1 % (v/v) 2-merkptoethanolu. Složení nosného roztoku bylo opět převzato z disertační práce RNDr. Ondřeje Linharta, Ph.D. [1] a je spolu s dalšími podmínkami uvedeno v Tab. 4. V rámci UV-fotochemického generování byla naměřena závislost velikosti signálu na objemu dávkovací smyčky a poté kalibrační závislost, která obsahovala roztoky stejné koncentrace rtuti, jaké byly využity u elektrochemického generování studených par rtuti, tedy: 1000 ppb, 500 ppb, 200 ppb, 100 ppb, 50 ppb, 20 ppb, 10 ppb, 5 ppb, 2 ppb a 1 ppb.

4.2.1 Elektrochemické generování studených par rtuti

V Tab. 3 jsou shrnuty experimentální podmínky, při kterých probíhalo elektrochemické generování studených par rtuti. Naměřenou kalibrační závislost znázorňuje Obr. 15. Od koncentrace 10 ppb k vyšším koncentracím můžeme pozorovat lineárně vzrůstající trend výšky píku. Plocha píku naopak vykazuje exponenciálně vzrůstající trend závislosti odezvy na koncentraci. Z tohoto důvodu nebyly z této závislosti vyhodnocovány ani citlivost ani mez detekce a stanovitelnosti.

Tab. 3: Převzaté podmínky pro elektrochemické generování par rtuti (EcVG-AFS) [1]

| Parametr [jednotka] | Hodnota |
|---|---------|
| Průtoková rychlost argonu [$\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$] | 30 |
| Průtoková rychlost katodového roztoku [$\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$] | 1 |
| Průtoková rychlost anodového roztoku [$\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$] | 1 |
| Dávkovaný objem roztoku vzorku [μl] | 500 |
| Koncentrace HCl v katodovém roztoku [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$] | 0,5 |
| Koncentrace H ₂ SO ₄ v anodovém roztoku [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$] | 2 |
| Generační proud [A] | 1 |



Obr. 15: Kalibrační závislost odezvy na koncentraci rtuti jednotlivých roztoků při elektrochemickém generování studených par rtuti

$v(\text{Ar}) = 30 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $v(\text{katodový roztok}) = 1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$, $v(\text{anodový roztok}) = 1 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $V(\text{vzorku}) = 0,5 \text{ ml}$; $v(\text{H}_2) = 0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $T(\text{vzorku}) = 24 \text{ }^\circ\text{C}$,
 $c(\text{HCl, katodový roztok}) = 0,5 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$; $c(\text{H}_2\text{SO}_4, \text{anodový roztok}) = 2 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$

4.2.2 UV-fotochemické generování studených par rtuti

UV-fotochemické generování potřebovalo pro své využití nosný roztok, jehož složení je popsáno v Tab. 4:

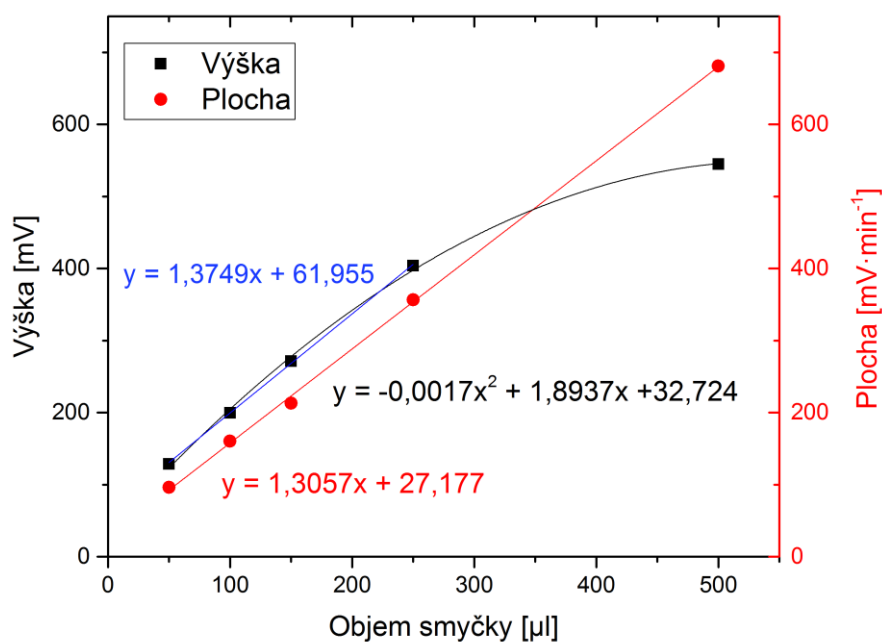
Tab. 4: Složení nosného roztoku pro stanovení obsahu rtuti pomocí metody UV-PVG-AFS (převzato z [1])

| Parametr [jednotka] | Optimální hodnota |
|---|--------------------------|
| Objemové procento ethanolu [% (v/v)] | 40 |
| Objemové procento 2-merkapt ethanolu [% (v/v)] | 0,1 |
| Koncentrace CH ₃ COOH [mmol·dm ⁻³] | 20 |
| pH | 4,75 |

V rámci UV-fotochemického generování se nejdříve měřila závislost signálu na objemu dávkovací smyčky. Při těchto měřeních byl jako vzorek použit roztok HgCl₂ o koncentraci rtuti 50 ppb. Testovaly se smyčky o objemech 500 µl, 250 µl, 150 µl, 100 µl a 50 µl.

Z grafu na Obr. 16 je patrné, že plocha píku v závislosti na rostoucím objemu dávkovací smyčky lineárně roste. S výškou píků je to komplikovanější. U dávkovaných objemů od 50 µl do 250 µl má signál tendenci lineárně vzrůstat, pro tento lineární úsek platí rovnice regrese i přímka znázorněné modrou barvou.

Pro další měření se využívala dávkovací smyčka o objemu 170 µl. Tato smyčka sice nebyla použita k sestrojení uvedené závislosti, ale její objem je kompromisem mezi požadovanou citlivostí stanovení a co možná nejkratší dobou poklesu signálu po nástřiku vzorku do proudu nosného roztoku.



Obr. 16: Závislost velikosti odezvy na objemu dávkovací smyčky

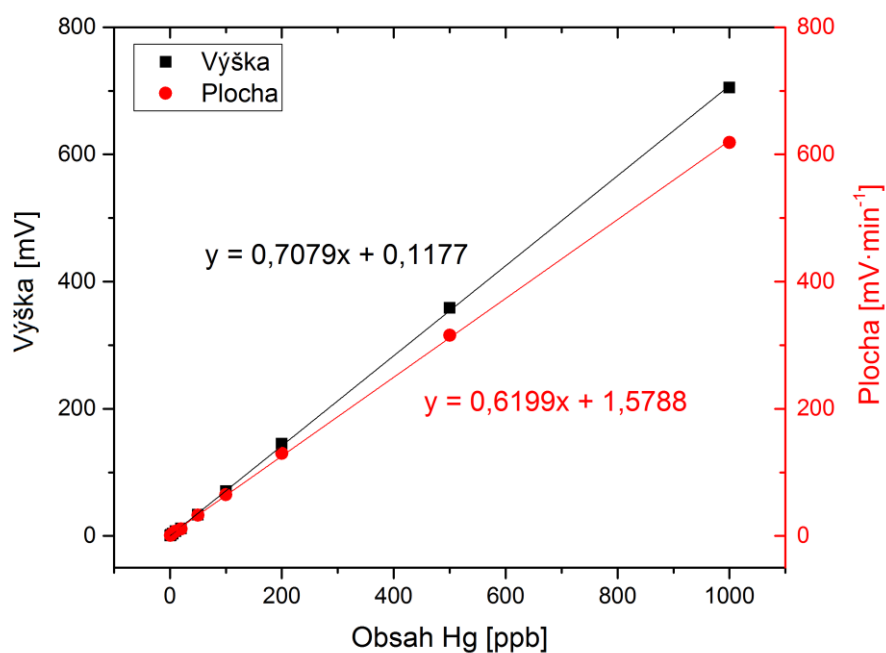
$v(\text{Ar}) = 30 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $v(\text{nosný roztok}) = 0,3 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $c(\text{Hg}^{2+}) = 50 \text{ ppb}$;

$v(\text{H}_2) = 0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $T(\text{vzorku}) = 24 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH}(\text{nosný roztok}) = 4,75$

Následně se provedlo měření kalibrační závislosti (Obr. 17), přičemž optimální podmínky pro stanovení obsahu rtuti pomocí metody UV-PVG-AFS jsou uvedeny v Tab. 5:

Tab. 5: Optimální pracovní podmínky pro stanovení obsahu rtuti pomocí metody UV-PVG-AFS (převzato z [1])

| Parametr | Optimální hodnota |
|---|----------------------------|
| Průtoková rychlost nosného plynu (Ar) [$\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$] | 30 |
| Průtoková rychlost nosného roztoku [$\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$] | 0,3 |
| Dávkovaný objem [μl] | 170 |
| Rozměry reakční cívky [mm] UV-fotoreaktoru | 1000 × 0,1 i.d. × 0,2 o.d. |



Obr. 17: Kalibrační závislost odezvy na obsahu Hg v roztocích při UV-fotochemickém generování studených par rtuťi
 $v(\text{Ar}) = 30 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $v(\text{nosný roztok}) = 0,3 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $v(\text{H}_2) = 0 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$;
 $V(\text{vzorku}) = 0,5 \text{ ml}$; $T(\text{vzorku}) = 24 \text{ }^\circ\text{C}$; $\text{pH}(\text{nosný roztok}) = 4,75$

4.2.3 Porovnání základních charakteristik EcVG a UV-PVG s AFS detekcí
Z dat uvedených na Obr. 15 a 17 byly určeny meze detekce a stanovitelnosti, citlivosti kalibračních závislostí, opakovatelnosti (relativní výběrové směrodatné odchylky odezev pro 100 ppb Hg^{2+}) a koncentrační rozsahy s lineárním průběhem kalibrace. Souhrn těchto základních charakteristik je pro obě metody uveden v Tab. 6 tak, aby bylo možné je vzájemně porovnat.

Překvapivý je nárůst citlivosti kalibrace se zvyšující se koncentrací Hg^{2+} při vyhodnocování plochy píků signálů elektrochemického generování studených par rtuti. Z tohoto důvodu nebyly pro tento způsob generování vyhodnoceny mez detekce, mez stanovitelnosti ani citlivost.

Při elektrochemickém generování se z regrese kalibrace zjistila mez detekce 31 ppb, zatímco ze šumu základní linie 6 ppb, což lépe odpovídá tomu, že až u obsahů rtuti 5 ppb a nižších nebylo již možné rozeznat pík od šumu. Za mez detekce pro elektrochemické generování studených par rtuti proto byla určena koncentrace 15 ppb.

Obdobná situace nastala při UV-fotochemickém generování, kdy mez detekce vypočítaná z regrese 10 ppb byla snížena na 2 ppb, protože pro tento obsah Hg^{2+} byl získaný signál bez problému odlišitelný od šumu a mez detekce určená ze šumu základní linie byla opět nižší.

I když by se z Tab. 6 mohlo zdát, že citlivost kalibrace je vyšší pro elektrochemické generování, opak je pravdou, když vezmeme v potaz velikost dávkovaného objemu roztoku vzorku. Při UV-fotochemickém generování bylo nastříkáváno 170 μl roztoku vzorku, zatímco při elektrochemickém 500 μl , tedy téměř trojnásobek.

S výjimkou závislosti ploch píků na koncentraci při elektrochemickém generování je lineární dynamický rozsah (LDR) v celém rozsahu testovaných obsahů Hg^{2+} . Nejlepší opakovatelnosti pro obsah Hg^{2+} 100 ppb bylo dosaženo při UV-fotochemickém generování studených par rtuti.

Tab. 6: Souhrn základních charakteristik pro elektrochemické a UV-fotochemické generování par rtuti s detekcí pomocí AFS

| Veličina | EcVG | | UV-PVG | |
|---|---------|--------|--------|---------|
| | Výška | Plocha | Výška | Plocha |
| LOD [ppb] | 15 | -* | 2 | 5 |
| LOQ [ppb] | 50 | -* | 7 | 17 |
| Korelační koeficient | 0,9997 | 0,9996 | 0,9999 | 0,9998 |
| Citlivost [(mV) ⁻¹ ; (mV·min) ⁻¹] | 1,0431 | -* | 0,7079 | 0,6199 |
| Opakovatelnost [%]** | 13 | 1,7 | 1,2 | 1,3 |
| LDR | 50-1000 | 50-200 | 7-1000 | 17-1000 |

*Nebylo vyhodnocováno

**Relativní směrodatná odchylka při 100 ppb Hg²⁺

5 Závěr

Tato bakalářská práce byla zaměřena na ověření funkčnosti detektoru PSA Millennium Merlin Satellite a na zjištění a vzájemné porovnání výkonnostních parametrů stanovení rtuti pomocí elektrochemického a UV-fotochemického generování studených par rtuti s detekcí atomovou fluorescenční spektrometrií.

V první, modelové části této práce byly zjišťovány optimální podmínky pro stanovení rtuti atomovým absorpčním spektrometrem ContrAA 700. Cílem tohoto úkolu bylo ověření, že pro detekci par rtuti není třeba atomizace, tedy zvýšené teploty a redukčního prostředí. Bylo prokázáno, že vodík skutečně není třeba pro detekci rtuti přidávat, naopak se ukázalo, že signál se důsledkem přítomnosti vodíku snižuje. Na druhou stranu vyhřívání detekční trubice na 650 °C vedlo k získání více než trojnásobné odezvy, což vede hned ke dvěma možným diskutovaným hypotézám. Dalšími cennými poznatky z této modelové části práce jsou závislost odezvy na teplotě vzorku a na době jeho odpařování v uzavřené nádobě před vypláchnutím plynné fáze argonem do detekční trubice. S těmito zkušenostmi se přešlo na atomový fluorescenční spektrometr Millennium Excalibur s připojeným detektorem Millennium Merlin Satellite, aby se ověřila jeho funkčnost a následně se otestovaly jeho vlastnosti. Výsledkem porovnání obou způsobů detekce bylo překvapivé zjištění mnohem lepšího odstupu signálu od šumu pro HR-CS-AAS ve srovnání s AFS detekcí.

Ve druhé části této práce byly za optimálních podmínek naměřeny kalibrační závislosti s využitím elektrochemického a UV-fotochemického generování studených par rtuti. Výkonnostní charakteristiky stanovení Hg^{2+} oběma způsoby generování byly vzájemně porovnány jak pro vyhodnocování z výšek píků tak i z ploch píků. Překvapivý byl exponenciální tvar kalibrace z ploch píků pro elektrochemické generování studených par rtuti. Naopak získané lepší charakteristiky UV-fotochemického generování byly očekávány i pro třetinové objemy dávkovaných roztoků vzorků. Z výsledků vyplývá také to, že je výhodnější vyhodnocovat výšky píků než plochy. Pomocí UV-fotochemického generování studených par rtuti v režimu průtokové injekční analýzy tak lze při nástřiku 170 μl vzorku pracovat spolehlivě v rozsahu obsahů 7 až 1000 ppb Hg^{2+} s citlivostí $0,7079 \text{ (mV)}^{-1}$ a opakovatelností 1,2 %.

Seznam použité literatury

- [1] Linhart O.: *Speciační analýza arsenu a rtuti pomocí postkolonového generování těkavých sloučenin pro potřeby atomových spektrometrických metod*, disertační práce, Univerzita Karlova, 2018
- [2] Lew K.: *Understanding the elements of the periodical table – Mercury*, Rosen Central, 2008
- [3] Syversen T.; Kaur P.: The toxicology of mercury and its compounds, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **26**, p. 215-226 (2012)
- [4] Kulveitová H.: *Chemie II (Chemie prvků)*, Vysoká škola Báňská, <http://www.studopory.vsb.cz/studijnimaterialy/ChemieII/ChemieII.pdf>, str. **150**
- [5] Préda L.: *Rtuť a její sloučeniny v životním prostředí*, bakalářská práce, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, 2007
- [6] Streblová E.: *Souhrnné texty z chemie I. díl*, 3. vydání, Praha, Karolinum, 2015
- [7] Langford N. J.; Ferner R. E.: Toxicity of mercury, *Journal of Human Hypertension*, **13**, p. 651-656 (1999)
- [8] Kenšová R.; Hynek D.; Adam V.; Kizek R.: Působení rtuti na živé organismy, *Journal of Metallomics and Nanotechnologies* (2014), **1:3**, s. 38-41 (2014)
- [9] Opekar F.; Jelínek I.; Rychlovský P.; Plzák Z.: *Základy analytické chemie*, Praha, Karolinum, 2010
- [10] Gochfeld M.: Cases of mercury exposure, bioavailability, and absorption, *Ecotoxicology and Environmental Safety Journal*, **56:1**, p. 174-179 (2003)
- [11] López-Antón M. A.; Díaz-Somoano M.; Ochoa-González R.; Martínez-Tarazona M. R.: Analytical methods for mercury analysis in coal and coal combustion by-products, *International Journal of Coal Geology*, **94**, p. 44-53 (2012)

-
- [12] Sysalová J.; Kučera J.; Fikrle M.; Drtinová B.: Determination of the total mercury in contaminated soils by direct solid sampling atomic absorption spectrometry using an AMA-254 device and radiochemical neutron activation analysis, *Microchemical Journal*, **110**, p. 691-694 (2013)
- [13] Linhart O.; Kolorosová-Mrázová A.; Kratzer J.; Hraníček J.; Červený V.: Mercury Speciation in Fish by High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) and Post-Column Ultraviolet (UV)-Photochemical Vapor Generation (PVG): Comparison of Conventional Line-Source and High-Resolution Continuum Source (HR-CS) Atomic Absorption Spectrometry (AAS), *Analytical Letters*, **52**:4, p. 613-632 (2019)
- [14] Migašová M.: *Chemické generování těžkých specií rtuti pro speciální analýzu - optimalizace podmínek a analytické aplikace*, diplomová práce, Univerzita Karlova, 2020
- [15] Leopold K.; Foulkes M.; Worsfold P.: Methods for determination and speciation of mercury in natural waters – A review, *Analytical Chymica Acta*, **663**, p. 127-138 (2010)
- [16] Cai Y.: Speciation and analysis of mercury, arsenic, and selenium by atomic fluorescence spectrometry, *Trends in analytical chemistry* (2000), **19**:1, p. 62-66 (2000)
- [17] Sánchez-Rodas D.; Corns W. T.; Chen B.; Stockwell P. B.: Atomic Fluorescence Spectrometry: a suitable detection technique in speciation studies for arsenic, selenium, antimony and mercury, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **7**, p. 933-946 (2010)
- [18] Farrukh M. A.: *Atomic Absorption Spectroscopy*, InTech (2012), <https://www.intechopen.com/books/atomic-absorption-spectroscopy>, dne 21.3.2020
- [19] Klouda P.: *Moderní analytické metody*, 3. upravené vydání, Ostrava, Nakladatelství Pavko, 2016

-
- [20] Welz B.; Sperling M.: *Atomic Absorption Spectrometry*, 3rd. Ed., Weinheim, WILEY-VCH Verlag GmbH, 1999
- [21] Welz B.: High-resolution continuum source AAS: the better way to perform atomic absorption spectrometry, *Analytical and bioanalytical chemistry*, **381**, p. 69-71 (2005)
- [22] Hegrová J.: *Stanovení arsenu a selenu v biologických vzorcích a vzorcích životního prostředí metodami atomové spektrometrie s generováním těkavých sloučenin*, disertační práce, Masarykova Univerzita, 2006
- [23] Lakowicz J. R.: *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, 2nd Ed., New York, Springer Science & Business Media, 2013
- [24] Němcová I.; Čermáková L.; Rychlovský P.: *Spektrometrické analytické metody I.*, Praha, Karolinum, 1997
- [25] Adámková D.: *Porovnání různých přístupů ke stanovení antimonu pomocí atomové fluorescenční spektrometrie*, bakalářská práce, Univerzita Karlova, 2018
- [26] Oficiální stránky firmy PS Analytical:
<https://www.psanalytical.com/products/millenniumaccessories.html>, 21.3.2020
- [27] Yan X. P.; Ni Z. M.: Vapour generation atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **291**, p. 89-105 (1994)
- [28] Bártová L.: *Chemické a elektrochemické generování těkavé formy kadmia pro potřeby atomové absorpční spektrometrie*, diplomová práce, Univerzita Karlova, 2009
- [29] Červený V.; Rychlovský P.; Hraníček J.; Šíma J.: Elektrochemické generování těkavých sloučenin pro potřeby spektrálních analytických metod, *Chemické listy*, **103**, str. 652-660 (2009)
- [30] Šíma J.; Rychlovský P.: Konstrukce kombinované cely pro elektrochemickou generaci těkavých sloučenin v metodě AAS, *Chemické listy*, **92**, s. 676-679 (1998)

-
- [31] Zheng Ch.; Li Y.; He Y.; Ma Q.; Hou X.: Photo-induced chemical vapor generation with formic acid ultrasensitive atomic fluorescence spectrometric determination of mercury: potencial application to mercury speciation in water, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **20**, p. 746-750 (2005)
- [32] Rybínová M.; Červený V.; Hraníček J.; Rychlovský P.: UV-fotochemické generování těkavých sloučenin pro potřeby atomových spektrometrických metod, *Chemické listy*, **109**, s. 930-937 (2015)
- [33] Laborda F.; Bolea E.; Castillo J. R.: Electrochemical hydride generation as a sample-introduction technique in atomic spectrometry: fundamentals, interferences, and applications, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **388**, p. 743-751 (2007)
- [34] Denkhaus E.; Beck F.; Bueschler P.; Gerhard R.; Goloch A.: Electrolytic hydride generation atomic absorption spectrometry for the determination of antimony, arsenic, selenium, and tin – mechanistic aspects and figures of merit, *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, **370**, p. 735-743 (2001)
- [35] Brockmann A.; Nonn C.; Golloch A.: New concept for hydride generation technique: Elektrochemical Hydride Generation, *Journal of analytical atomic spectrometry*, **8**, p. 397-401 (1993)
- [36] Zheng Ch.; Ma Q.; Wu L.; Hou X.; Sturgeon R. E.: UV photochemical vapor generation – atomic fluorescence spectrometric determination of conventional hydride generation elements, *Microchemical Journal*, 95:1, p. 32-37 (2010)
- [37] Sturgeon R. E.: Photochemical vapor generation: a radical approach to analyte introduction for atomic spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **32**:12, p. 2319-2340 (2017)
- [38] Nováková E.: *UV-fotochemické generování těkavých sloučenin selenu a telurů*, disertační práce, Univerzita Karlova, 2017

- [39] Chen G.; Lai B.; Mei N.; Liu J.; Mao X.: Mercury speciation by differential photochemical vapor generation at UV-B vs. UV-C wavelenght, *Spectrochimica Acta Part B*, **137**, p. 1-7 (2017)
- [40] Dědina, J.; Tsalev D. L.; *Hydride generation atomic absorption spectrometry*, Chichester, Wiley, 1995
- [41] Gkotsis, P. K.; Mitrakas, M. M.; Tolkou A. K.; Zouboulis A. I.: Batch and continous dosing of conventional and composite coagulant agents for fouling control in a pilot-scale MBR, *Chemical Engineering Journal*, **311**, p. 255-264 (2017)
- [42] Růžička J.; Hansen E.H.: *Flow-injection analysis*, 2nd Ed., New York, Wiley, 1988
- [43] Svoboda M.: *Generování hydridů pro speciační analýzu arsenu atomovou absorpční spektrometrií*, diplomová práce, Univerzita Karlova, 2006