

UNIVERZITA KARLOVA
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Klinická a toxikologická analýza



Lucie Juhászová

SPECIAČNÍ ANALÝZA RTUTI POMOCÍ GENEROVÁNÍ
TĚKAVÝCH SPECIÍ S VYMRAZOVÁNÍM A DETEKČÍ
ICP-MS

Speciation analysis of mercury by volatile compound generation
with cryotrapping and ICP-MS detection

Bakalářská práce

Vedoucí bakalářské práce: RNDr. Tomáš Matoušek, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Jakub Hraníček, Ph.D.

Praha 2017

Tato bakalářská práce vznikla ve spolupráci s Oddělením stopové prvkové analýzy Ústavu analytické chemie AV ČR, v.v.i. jako součást výzkumného záměru RVO: 68081715.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k 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 19. května 2017.

Poděkování

Ráda bych poděkovala všem, kteří mi pomáhali při sestavování bakalářské práce. Hlavní poděkování patří RNDr. Tomáši Matouškovi, Ph.D., školiteli mé bakalářské práce, za jeho cenné rady, trpělivost, vstřícnost a odborné vedení a RNDr. Jakubu Hraníčkoví, Ph.D za všestrannou pomoc. Děkuji RNDr. Janu Kratzerovi, Ph.D za ověření koncentrace standardů na přístroji AMA-254 a HPLC-ICP-MS. Dále děkuji všem členům oddělení stopové prvkové analýzy Ústavu analytické chemie AV ČR v Praze za vstřícnost, ochotu a cenné rady.

Děkuji také své rodině, svým blízkým a kamarádům za podporu, pomoc a trpělivost po celou dobu mého vysokoškolského studia.

Obsah

Seznam zkratk a použitých symbolů	- 6 -
1 Úvod	- 7 -
2 Teoretická část	- 8 -
2.1 Rtuť	- 8 -
2.1.1 Toxikologické vlastnosti rtuti	- 8 -
2.1.2 Výskyt rtuti ve vodních ekosystémech	- 9 -
2.2 Speciační analýza rtuti	- 11 -
2.2.1 Chemické generování těkavých specií rtuti	- 12 -
2.2.2 Separátor fází	- 13 -
2.2.3 Vymrazování a separace	- 13 -
2.2.4 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem	- 14 -
3 Experimentální část	- 16 -
3.1 Použité přístroje	- 16 -
3.2 Použité chemikálie	- 16 -
3.3 Pracovní roztoky a jejich příprava	- 16 -
3.4 Standardní roztoky rtuti a jejich příprava	- 17 -
3.5 Použitá aparatura	- 17 -
3.5.1 Přívod roztoků	- 18 -
3.5.2 Separátor fází	- 18 -
3.5.3 Sušící trubice	- 19 -
3.5.4 Kryogenní past	- 20 -
3.5.5 Nastavení parametrů ICP-MS	- 20 -
3.6 Pracovní postup	- 20 -
3.7 Zpracování dat	- 23 -
4 Výsledky a diskuze	- 24 -
4.1 Chromatogram měření	- 24 -
4.2 Optimalizace podmínek pro generování těkavých par rtuti	- 28 -
4.2.1 Optimalizace použité sušící trubice	- 28 -
4.2.2 Optimalizace koncentrace a druhu použité kyseliny	- 31 -
4.2.3 Optimalizace koncentrace NaBH ₄	- 34 -
4.3 Kalibrační závislost	- 35 -

4.4	Meze detekce	- 36 -
4.5	Vzorek pitné vody.....	- 36 -
5	Závěr.....	- 37 -
6	Literatura	- 38 -

Seznam zkratek a použitých symbolů

CPS	počet iontů detekovaných za sekundu
CT	vymrazování
GC	plynová chromatografie
GLC	separátor fází
HG-CT	generování hydridů s vymrazováním
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
ISIS	Integrated Sample Introduction System
LOD	mez detekce (detekční limit)
LOQ	mez stanovitelnosti (kvantifikační limit)
MeHg	methylrtuť
<i>m/z</i>	poměr hmotnosti a náboje
PE	polyethylen
PP1	peristaltická pumpa číslo 1
PP2	peristaltická pumpa číslo 2
PTFE	polytetrafluorethylen (teflon)
VCG	generování těkavých specií

1 Úvod

Rtuť je toxický prvek patřící mezi prvky rozšířené do životního prostředí nejen v důsledku činnosti přírody ale také vlivem člověka. Pro určení toxického působení rtuti je důležité znát formu, ve které je rtuť přítomna, neboli provést speciální analýzu.

Tato bakalářská práce se věnuje speciální analýze rtuti pomocí generování těkavých par (VCG) s vymrazováním (CT) a následnou detekcí hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS). Tato metoda byla popsána a zavedena v praxi pro speciální analýzu arsenu Experimentální podmínky pro metodu VCG-CT-ICP-MS detailně popsanou v této práci byly převzaty v laboratoři vyvinuté a zavedené metody pro speciální analýzu arsenu [1].

Záměrem této práce bylo provést předběžné experimenty, odhalit případné problémy a optimalizovat podmínky pro chemické generování těkavých specií rtuti touto metodou, jako první krok ve vývoji metodiky pro stanovení stopových koncentrací anorganické rtuti (Hg^{2+}) a methylrtuti (MeHg) ve vzorcích vody.

2 Teoretická část

2.1 Rtuť

Rtuť a sloučeniny rtuti se svými vlastnostmi patří mezi nejdéle známé toxické kovy [2]. V nulovém oxidačním stavu je rtuť kapalinou stříbrné barvy a je jediným kovem, který je kapalný při pokojové teplotě. Kapalina rtuti je těkává a uvolňuje monatomický plyn označovaný jako studené páry [3]. Přirozeně se rtuť vyskytuje v oxidačních stavech 0, I, II a vytváří mnoho sloučenin, které se mezi sebou odlišují svými fyzikálními, chemickými i toxikologickými vlastnostmi [4]. Nejběžněji se z toxikologického hlediska rozlišují tyto specie: elementární rtuť, anorganické sloučeniny rtuti a organické sloučeniny rtuti. Všechny tyto formy rtuti jsou toxické [3,4].

2.1.1 Toxikologické vlastnosti rtuti

Rtuť je jeden z nejtoxičtějších prvků s dopadem na lidské zdraví a ekosystém, proto patří mezi nejvíce sledované látky znečišťující životní prostředí [3]. Do organismu se rtuť dostává nejčastěji pomocí dýchacího systému, přes potravní řetězec či prostupem přes kůži [4]. Distribuci rtuti v organismu, míru s jakou bude absorbována a druh toxikologického efektu určuje její mocenství a chemická forma. Jednotlivé formy rtuti (kovová rtuť, páry rtuti, anorganické sloučeniny a organické sloučeniny) mají různé toxikologické vlastnosti. Organické sloučeniny rtuti jsou obecně toxičtější než formy rtuti anorganické. Pro určení toxického působení je tedy velmi důležité znát chemickou formu, ve které se rtuť vyskytuje [2,3,5,6].

2.1.1.1 Elementární rtuť

Nejméně toxickou formou rtuti je elementární rtuť. Vzhledem k vysoké tenzi par elementární rtuti za normální teploty je velmi snadná její inhalační expozice [4,7]. Páry rtuti se rychle dostávají přes dýchací systém do krevního oběhu, kterým jsou dopraveny k cílovým orgánům, kde snadno prostupují přes většinu buněčných membrán [7]. Toxický účinek výrazně ovlivňuje míra a doba expozice. Krátkodobé expozice vysokým koncentracím způsobují poškození centrálního nervového systému, poruchy jemné motoriky, dušnost, poruchy paměti, podrážděnost, nespavost a nefrotický syndrom. Dlouhodobější expozice způsobují nevratné poškození mozku a vážné poškození plic,

které může způsobit až smrt [2,4,7].

2.1.1.2 Anorganické sloučeniny rtuti

Anorganické sloučeniny rtuti mohou být přítomny v jednomocné formě (Hg_2^{2+}) nebo ve dvoumocné formě (Hg^{2+}) [7]. Sloučeniny dvoumocné rtuti jsou vzhledem k lepší rozpustnosti ve vodě více toxické než sloučeniny rtuti jednomocné, které se ve vodě rozpouštějí hůře [2]. Dvoumocná rtuť ve formě vodou rozpustných solí je velmi silným jedem, požití až 1 g může mít pro člověka smrtelné následky [8]. Akutní expozice se projevuje bolestmi břicha, krvavými průjmy, zduřením slinných žláz a zánětem ústní sliznice. Při chronické expozici se anorganická rtuť akumuluje především v ledvinách a následně v játrech. Z důvodu nekrózy tubulárního epitelu může dojít k nevratnému poškození a selhání ledvin [7,9,10].

2.1.1.3 Organické sloučeniny rtuti

Nejvýznamnější organickou sloučeninou rtuti vzhledem k výskytu a toxicitě je methylrtuť. Díky dobré rozpustnosti ve vodě i v tucích je methylrtuť jedním z hlavních zdrojů rtuti v potravním řetězci [4,9]. Po perorálním podání je absorpce methylrtuti ze střeva do krevního oběhu skoro stoprocentní [7]. Mezi dobou kdy došlo k expozici a nástupem příznaků bývá obvykle latentní období několika týdnů až měsíců. Primárním cílem toxického působení methylrtuti je centrální nervová soustava [8]. Objevuje se mravenčení (parestzie) v okolí úst, rukou a nohou doprovázené zúžením zorného pole, v důsledku destrukce neuronů ve zrakových buňkách, a poruchou koordinace pohybů (ataxií) [9].

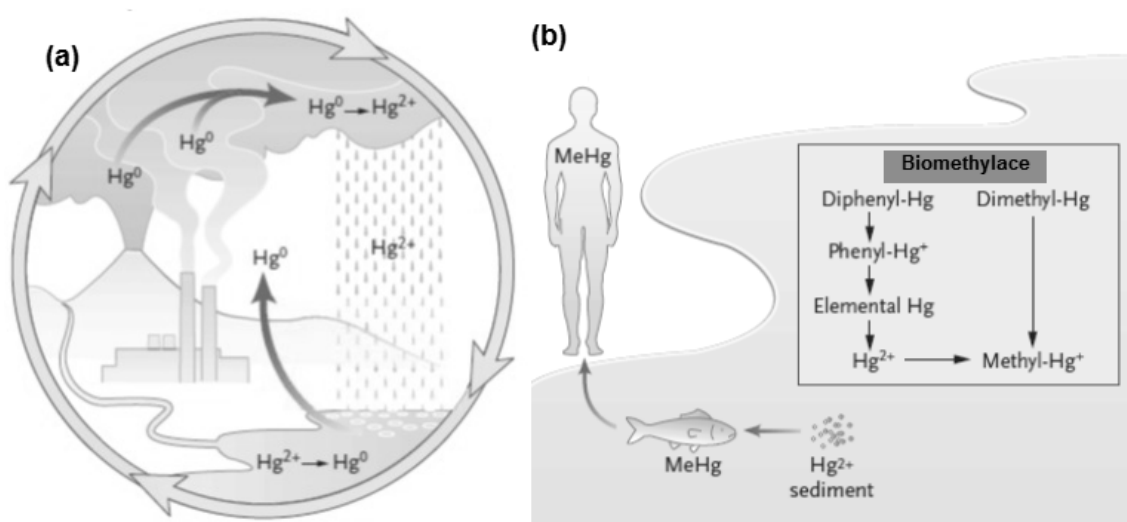
Methylrtuť se řadí mezi embryotoxické a mutagenní látky. Snadno prostupuje přes hematoencefalickou bariéru z krve do mozku a přes plodovou placentu [2]. Mozek ve fetálním období vývoje plodu je na poškození methylrtutí o mnoho citlivější než mozek vyvinutého jedince. Methylrtuť inhibuje dělení a migraci nervových buněk a narušuje tak správné uspořádání vyvíjejícího se mozku [9].

2.1.2 Výskyt rtuti ve vodních ekosystémech

Z hlediska výskytu ve vodních ekosystémech patří rtuť společně se svými sloučeninami mezi nejtoxičtější látky vyskytující se ve vodě [5]. Rtuť a její sloučeniny

byly zařazeny do seznamu prioritních látek, které představují významné riziko v oblasti vodní politiky Evropské unie [11]. V přírodních vodách se vyskytují tři hlavní formy rtuti, a to elementární rtuť (Hg^0), anorganická rtuť (Hg^{2+} a její sloučeniny) a organická rtuť (methylrtuť a dimethylrtuť). Vzhledem k vysoké rozpustnosti elementární rtuti ve vodě je rtuť přítomna téměř ve všech přírodních vodách [2]. Zastoupení jednotlivých chemických forem rtuti je ovlivněno chemickým a mikrobiologickým složením daného vodního ekosystému a jeho teplotou [4,5].

Sloučeniny rtuti jsou do vodních ekosystémů uvolňovány nejen z přírodních zdrojů, ale převážně v důsledku činnosti člověka. Páry vypouštěné do ovzduší se v atmosféře postupně oxidují na rtuť anorganickou a ta se v dešťové vodě navrácí zpět na zemský povrch, kde se stává součástí vodního ekosystému. Část anorganické rtuti je ve vodním ekosystému přeměněna na elementární rtuť a odpařena zpět do atmosféry. Jiná část anorganické rtuti je ukládána ve formě sedimentů a následně methylována činností vodních mikroorganismů. To je jeden z důvodů proč je methylrtuť součástí většiny vodních ekosystémů. Methylrtuť vzniklá tímto biomethylačním procesem je snadno vstřebávána a bioakumulována tkáněmi ryb a vstupuje tak do potravinového řetězce, kde dochází k biomagnifikaci od nižších k vyšším trofickým úrovním [2,4,8,9]. Schéma koloběhu a přeměny rtuti uvolněné do životního prostředí je zobrazeno na obrázku 2.1.



Obrázek 2.1 (a) Schéma koloběhu rtuti v životním prostředí. (b) Schéma biomethylace rtuti. Upraveno z [9].

2.2 Speciační analýza rtuti

Speciační analýza, neboli stanovení jednotlivých chemických forem rtuti, je vzhledem k jejich rozdílnému toxickému působení velmi důležité. Z analytického hlediska je toto stanovení komplikované velmi nízkými obsahy rtuti ve zkoumaných materiálech a možnou transformací jednotlivých chemických forem během operace se vzorky [4,12]. Za účelem objasnění transformačních a transportních procesů rtuti je velice žádoucí stanovit všechny její formy. V případě speciační analýzy rtuti ve vodě je nutno zabývat se koncentracemi v rozsahu od ng až pg L⁻¹ [3,13].

Většina metod využívaných ve speciační analýze zahrnuje využití spektrometrického detektoru ve spojení se separační technikou [14]. Speciační analýza rtuti se provádí převážně použitím separačních technik, jako je vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC), plynová chromatografie (GC) nebo kapilární elektroforéza. Vhodným detektorem může být atomový detektor založený na absorpci záření (atomová absorpční spektrometrie) a jeho vysílání (atomová fluorescenční spektrometrie nebo emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem) nebo hmotností spektrometrii (ICP-MS) [6,13].

Vzhledem k nízkým koncentracím, kterými je nutno se v případě speciační analýzy rtuti v roztocích vody zabývat, je velmi důležitým krokem selektivní prekoncentrace a separace [3,13]. Pro separaci chemických forem rtuti je žádoucí analyty převést chemickou modifikací (derivatizací) na těkavé a zároveň termostabilní formy. Nejčastěji používané metody pro derivatizaci analytu jsou: generování hydridů resp. těkavých par, alkylace a ethylace [3,4]. V této práci se budu zabývat derivatizační metodou generování těkavých specií.

Pro speciační analýzu rtuti bylo popsáno několik metod, u kterých lze využít spojení VCG se separační technikou pro zvýšení citlivosti a selektivity. Při použití separačních technik ve spojení s VCG je nutné rozdělené specie nejdříve převést vhodnou úpravou (mineralizací) na formu vhodnou ke generování [15]. Metoda využívající VCG, vymrazování, plynovou chromatografii a následnou detekci pomocí atomového fluorescenčního spektrometru je popsána v literatuře [12]. Další možnost využití VCG s vymrazováním byla popsána ve spojení s plynovou chromatografií a detekcí atomovou emisní spektrometrií [16]. Spojení techniky generování, vymrazování, plynové chromatografie s atomovou absorpční spektrometrií uvedené

v literatuře [17] je také vhodnou technikou pro speciální analýzu rtuti a má vysokou reprodukovatelnost. Využití plynové chromatografie s vymrazováním zapojeným před vstupem do kolony se zabývá technika VCG-CT-GC-ICP-MS [13]. Touto technikou bylo dosaženo velmi nízkých detekčních limitů, 50 pg pro anorganickou rtuť a 2 pg pro methylrtuť.

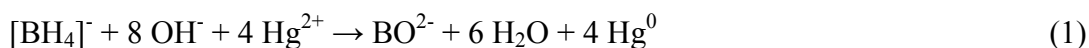
I přes to, že je technika generování těkavých specií pokládána za zralou techniku, jsou její hranice stále rozšiřovány v důsledku vývoje nových prekoncentračních technik. Kromě zvýšení citlivosti a selektivity má technika VCG stále velký počet neprozkoumaných aplikací [14].

Tato práce je dále zaměřena na derivatizační metodu chemického generování těkavých specií pomocí tetrahydridoboritanu sodného, jejich vymrazování a detekcí ICP-MS. Technika generování těkavých specií ve spojení s ICP-MS je jednou z metod stanovení analytů původně přítomných v kapalném vzorku, ze kterého je analyt generován v plynném stavu a následně vnášen přímo do plazmového výboje [15]. Výhody spojení techniky generování těkavých par, vymrazování a ICP-MS jsou zvýšení citlivosti, tedy snížení mezí detekce v důsledku zvýšení účinnosti vnášení analytu do plazmatu a minimalizace spektrálních a matričních interferencí. V důsledku rychlého uvolnění prekoncentrované těkavé formy po vymrazování je získána odezva detektoru ve tvaru úzkého píku [15,18]. Tuto techniku lze provádět s minimální úpravou vzorku, jelikož nevyžaduje extrakční úpravu či mineralizaci jako je tomu u separačních metod, což snižuje riziko kontaminace vzorků či přeměnu specií v průběhu procesu analýzy [18].

2.2.1 Chemické generování těkavých specií rtuti

Metoda chemického generování par separuje analyty od matrice převedením na těkavé látky [13]. Generování těkavých par rtuti je běžně používanou metodou pro stopovou prvkovou analýzu [6,19]. Nejběžněji používanými redukčními činidly pro chemické generování jsou SnCl_2 [6] a NaBH_4 v prostředí kyseliny [18,19]. V této práci se budu dále zabývat chemickým generováním pomocí NaBH_4 .

Anorganická rtuť Hg^{2+} je převedena redukcí pomocí $[\text{BH}_4]^-$ na rtuť elementární Hg^0 . Kationt methylrtuti je převeden na hydrid methylrtuti [3]. Tyto dvě reakce probíhají dle rovnic (1) a (2) [17,20,21].



2.2.2 Separátor fází

Po generování těkavých par je nutné tyto těkavé páry oddělit od roztoku, ve kterém byly generovány. K oddělení plynné a kapalně fáze se využívá tzv. separátor fází. Kapalná fáze obsahující zbytky matrice vzorku a reakční směsi stéká na dno separátoru a následně je odsávána čerpadlem do odpadu. Těkavé páry jsou odváděny dále do detektoru [15,18].

2.2.3 Vymrazování a separace

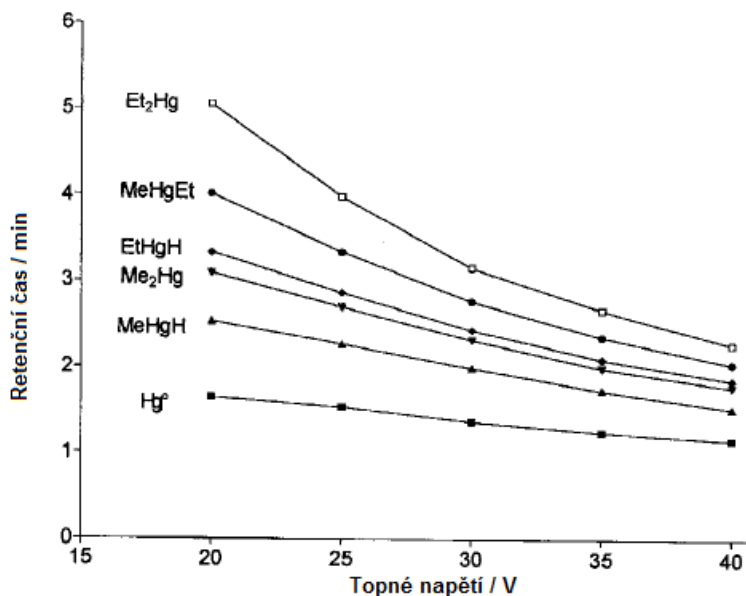
Generování těkavých specií s vymrazováním a separací je technikou pro speciální analýzu rtuti spojující následující hlavní kroky: derivatizace metodou VCG pomocí NaBH_4 , prekoncentrace metodou vymrazování a separace termální desorpcí [17,22].

Metoda vymrazování, neboli kryogenní záchyt (CT), se obvykle používá pro organokovovou speciální analýzu jako online prekoncentrace analytu. Výhodou této techniky je, že lze v zásadě analyzovat neomezený objem vzorku pouze s ohledem na hodnotu slepého pokusu, kdy od určitého objemu vzorku nedochází ke zlepšení detekčních limitů (LOD) [13]. Metoda vymrazování poskytuje prekoncentraci (obohacení) analytu a omezení interferenčních i matricových účinků. Kombinací vymrazovací techniky s atomovou spektrometrickou detekcí lze dosáhnout mimořádně nízkých detekčních limitů, zlepšení selektivity a citlivosti [17].

Pro prekoncentraci analytu metodou CT se využívá kryogenní past, což je skleněná či křemenná kolona (trubice) obvykle upravená do tvaru písmene U a naplněná porézním materiálem. Ponořením kolony do kapalného dusíku o teplotě -196°C dochází k ochlazení trubice a záchytu analytu během generování. Po dokončení generování je past postupně ohřívána a dochází tak k uvolnění zachycených těkavých sloučenin, které jsou vedeny do detektoru. K ohřevu kolony dochází dle zvoleného napětí elektrického vyhřívání nebo i samovolně [15,17,18].

Tento přístup může být použit jako separační technika, kde zachycené těkavé

sloučeniny vycházejí z kryogenní pasti v pořadí svých bodů varu [17]. Příklad pořadí uvolňovaných jednotlivých specií rtuti dle napětí zvoleného k ohřevu je zobrazen na obrázku 2.2.



Obrázek 2.2 – Příklad pořadí uvolňování několika plynných specií rtuti v závislosti na napětí použitého k ohřevu kolony v průběhu desorpčního kroku. Upraveno z [17].

2.2.4 Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem

Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem byla vyvinuta jako analytická metoda používána ke stanovení stopových, minoritních prvků. Tato technika patří mezi spektrální metody a je metodou kombinující indukčně vázané plazma jako zdroj kladně nabytých iontů, s hmotnostní spektrometrií, která detekuje ionty vznikající v plazmatu. Indukčně vázané plazma je velmi účinným zdrojem iontů s vysokou účinností ionizace pro většinu prvků. Plazmový zdroj neboli zdroj iontů je tvořen radiofrekvenčním generátorem, indukční cívkou a plazmovým hořákem. Analyt je vnášen do plazmového hořáku, ve kterém je udržováno argonové plazma o velmi vysoké teplotě [22,23]. Do plazmatu lze analyt zavádět v kapalném stavu přes zmlžovač a mlžnou komoru, kde dochází k vytvoření aerosolu jemného analytu, nebo plynném stavu přímo do plazmového výboje. Analyt je v plazmatu atomizován a ionizován [15]. Směs atomů a iontů vystupuje z plazmového zdroje přes rozhraní (dva nebo tři konusy s malým otvorem) do vakua v hmotnostním spektrometru. Rozhraní zajišťuje oddělení

hlavního toku argonu od toku atomů a iontů a vzhledem k tomu, že je v přímém styku s plazmatem, je jednou z nejvíce namáhaných součástí přístroje. Ionty v hmotnostním spektrometru postupují iontovou optikou usměřující tok iontů, kolizně-reakční celou pro odstranění interferencí, kvadrupólem, který separuje z iontového svazku atomární ionty o zvoleném poměru hmotnosti a náboje (m/z), do detektoru, ve kterém jsou ionty vybrané kvadrupólem detekovány.

V současné době patří ICP-MS mezi metody s velmi nízkou mezí detekce pro většinu prvků, u řady těžkých kovů se v reálných podmínkách pohybují v ng L^{-1} [22,23]. Mezi omezení metody ICP-MS patří vlastnosti analyzovaného vzorku. Analyzovaný vzorek nesmí obsahovat velké koncentrace kyselin nebo solí, což by způsobilo zanesení kónusů přístroje a změnu citlivosti (drift signálu). Těžké ionty se prostřednictvím ICP-MS analyzují lépe než ionty lehké [22,23]. Silné stránky této techniky zahrnují široké elementární pokrytí, velmi nízký detekční limit, rychlou dobu analýzy, široký pracovní rozsah analýzy a poskytnutí informace o izotopech [23,24]. Nevýhodou této metody jsou vysoké provozní náklady (například velká spotřeba argonu, energie a potřeba klimatizace) nutné pro provoz a údržbu přístroje [23].

Důležitou oblastí využití ICP-MS je kombinace s chromatografickými či elektromigračními metodami pro speciální analýzu prvků [22,23].

3 Experimentální část

3.1 Použité přístroje

- hmotnostní spektrometr s indukčně vázaným plazmatem Agilent 7700x (Agilent Technologies, USA)
- hmotnostní průtokoměr pro helium, FMA 2618A (Omega Engineering, USA)
- analytické váhy R160P (Kern, Německo) s rozlišením 0,0001/0,00001 g
- předvážky 600 - 2r (Kern, Německo) s rozlišením 0,01g
- automatické pipety (Biohit, Finsko)
- laboratorní zdroj napětí, Mansen mCS-3202 (Německo)

3.2 Použité chemikálie

- deionizovaná voda získaná ze zařízení ULTRAPUR (Wartrex, USA)
- kyselina dusičná, Suprapur 65% HNO₃ (Merck, Německo)
- kyselina chlorovodíková 37% HCl p.a. (Merck, Německo)
- tetrahydridoboritan sodný NaBH₄, tabletovaný po 1g (Sigma – Aldrich, Německo)
- hydroxid draselný KOH, chemicky čistý (Lach-Ner, s.r.o., Neratovice, ČR)
- standardní roztok telluru Te (BDH Prolabo, Velká Británie)
- hélium 99,998 % (SIAD, ČR)
- argon 99,996 % (SIAD, ČR)
- kapalný dusík
- hydroxid sodný k sušení (NaOH, Lach-Ner, s.r.o)

3.3 Pracovní roztoky a jejich příprava

Roztok tetrahydridoboritanu sodného, který byl používán jako redukční činidlo pro generování těkavých par, byl připraven rozpuštěním 1 tablety (NaBH₄, Sigma-Aldrich, Německo) v 0,1% roztoku hydroxidu draselného (Lach-Ner s.r.o., Neratovice, ČR) objemem odpovídající požadované koncentraci. Roztok tetrahydridoboritanu sodného byl připravován denně čerstvý.

Kyselina chlorovodíková, použitá při generování těkavých par, byla připravena

ředěním deionizovanou vodou z roztoku kyseliny chlorovodíkové 37%, p.a. (Merck, Německo).

Kyselina dusičná, použitá při reakci generování těkavých par, byla připravena ředěním deionizovanou vodou z roztoku kyseliny dusičné 65% (Suprapur, Merck, Německo).

3.4 Standardní roztoky rtuti a jejich příprava

Koncentrace standardů jsou vyjádřeny na obsah rtuti.

Pro přípravu roztoků anorganické rtuti použitých ke generování těkavých specií rtuti byly použity tyto standardní roztoky:

- Standardní roztok Hg 1000 mg L⁻¹ (Merck, Německo)
- Certifikovaný referenční materiál Hg AN 9024(1N) ASTASOL 1000 ± 2 mg L⁻¹ (Analytika, spol s.r.o., ČR)

Z uvedených standardních roztoků anorganické rtuti byly připraveny roztoky o koncentraci 100 µg L⁻¹ sériovým ředěním 0,2% kyselinou dusičnou.

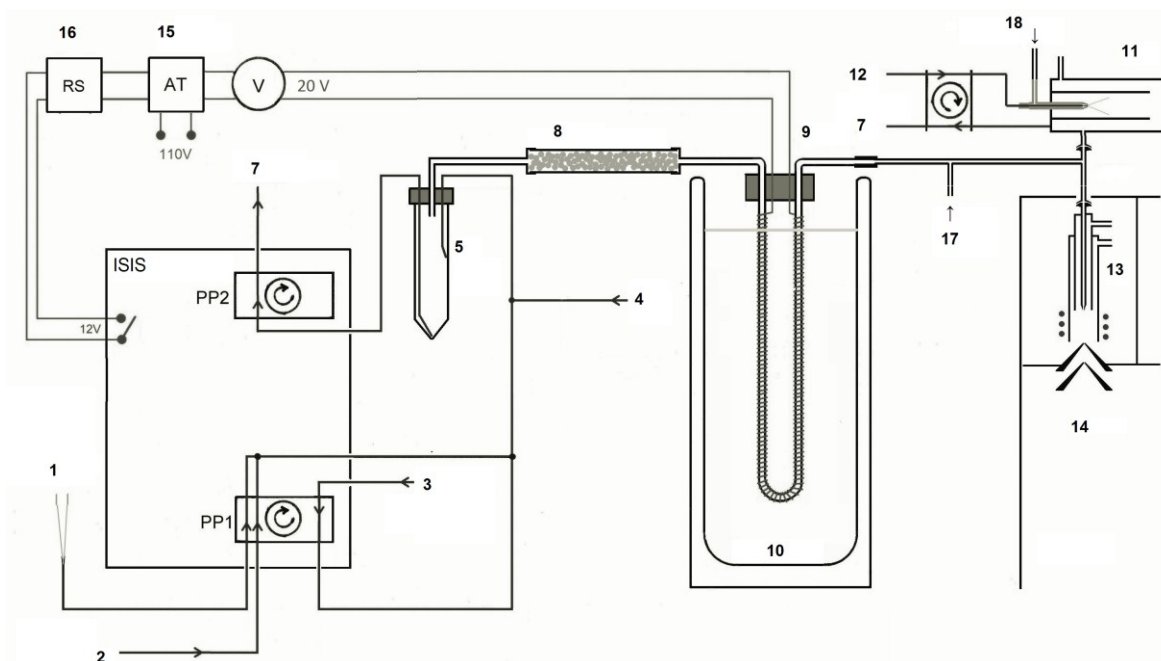
Roztok methylrtuti o koncentraci 100 µg L⁻¹ byl připraven z vnitrolaboratorního zásobního standardu o koncentraci 100 mg L⁻¹, jehož přesná koncentrace rtuti byla ověřena přístrojem AMA-254.

Směsný standard o obsahu 1 µg L⁻¹ MeHg a 1 µg L⁻¹ Hg²⁺ byl připraven ze zásobních roztoků standardů o koncentraci 100 µg L⁻¹ ředěním 0,2% kyselinou dusičnou. Roztok směsného standardu byl připravován denně čerstvý.

Roztok telluru o koncentraci 100 µg L⁻¹ použitého jako vnitřní standard pro ICP-MS, byl připraven sériovým ředěním 0,2% kyselinou dusičnou ze zásobního standardního roztoku telluru o koncentraci 1000 mg L⁻¹ (BDH Prolabo, Velká Británie).

3.5 Použitá aparatura

Použitá aparatura, jejíž schéma je uvedené na obrázku 3.1, byla sestavena na základě aparatur pro generování těkavých specií uvedených v pracích [1,25].



Obrázek 3.1 - Schéma použité aparatury

1- dávkování vzorku, 2- přívod kyseliny, 3- přívod tetrahydridoboritanu sodného, 4- přívod helia, 5- separátor fází, 7- odpad, 8- sušící trubice, 9- kryogenní past, 10- Dewarova nádoba s kapalným dusíkem, 11- mlžná komora, 12- přívod vnitřního standardu Te, 13- plazmový hořák, 14- hmotnostní spektrometr, 15- laboratorní zdroj, 16- spínací relé, 17- proud ředícího plynu, 18- proud nosného plynu

3.5.1 Přívod roztoků

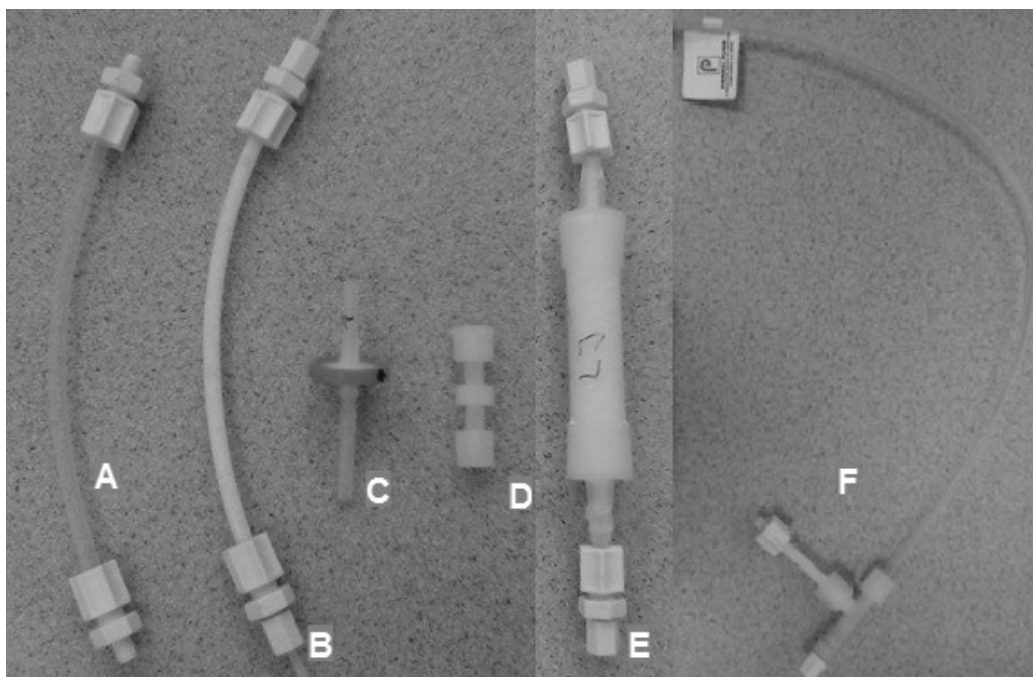
Přívod roztoků kyseliny dusičné, tetrahydridoboritanu sodného a odtok odpadu byl zajištěn pomocí dvou peristaltických pump PP1 a PP2, které byly součástí jednotky ISIS (Integrated Sample Introduction System). Průtoková rychlost roztoků v kanálech PP1 byla $1,5 \text{ mL min}^{-1}$.

3.5.2 Separátor fází

Pro oddělení plynné a kapalně fáze v reakční směsi byl používán separátor fází. Separátor fází byl vyroben z 50 mL polypropylenové zkumavky uzavřené šroubovacím víčkem se třemi otvory. Jedním ze tří otvorů byla polytetrafluorethylenovou (PTFE) hadičkou přiváděna reakční směs obsahující plynnou a kapalnou fázi. Kapalná fáze byla PTFE hadičkou pomocí PP2 odčerpávána ze dna zkumavky do odpadu. Plynná fáze byla odváděna PTFE hadičkou přes sušící trubici do kryogenní pasti (U-trubice).

3.5.3 Sušící trubice

K odstranění vodní páry z plynné fáze byla používána sušící trubice. Plynná fáze oddělená v separátoru fází byla vedena přes sušící trubici, kde docházelo k odstranění vodní páry, do kryogenní pasti. Použité sušící trubice a jejich úprava jsou zobrazeny na obrázku 3.2 a jejich popis je uveden v tabulce 3.1. Při zapojení Nafionové membránové sušící trubice PERMA PURE byl ve vnějším plášti protiproudě použit vzduch o průtoku 2 L min^{-1} .



Obrázek 3.2 – Použité sušící trubice, podrobný popis sušících trubic A-F je uveden v tabulce 3.1

Tabulka 3.1- Popis použitých sušících trubic

Označení	Popis	Náplň
A	PTFE trubice, průměr 4 mm, délka 20cm	-
B	PTFE trubice, průměr 4 mm, délka 20cm	kuličky NaOH o průměru méně než 2 mm
C	LUT Syringe Filters, 25 mm; $0,45 \mu\text{m}$, LABICOM s.r.o.	-
D	Spojovací šroub PTFE, průměr 3 mm, délka 5cm	-
E	PE trubice, průměr 1,8 cm, délka 10,5 cm	kuličky NaOH o průměru více než 2 mm
F	Nafionová membránová sušící trubice PERMA PURE s dvojitým pláštěm, MD070-24F-2	-

3.5.4 Kryogenní past

Kryogenní past byla tvořena křemennou trubicí ve tvaru U s vnitřním průměrem 2,5 mm naplněnou chromatografickou náplní Chromosorb WAW-DMCS 45/60 (Supelco, Bellefonte, USA). Na koncích trubice byla vložena křemená vata pro zabránění vysypání náplně. Okolo trubice byl ovinut odporově vyhřívaný drát Ni80-Cr20 o průměru 0,6 mm; $5,3 \Omega \text{ m}^{-1}$ (Omega engineering, Inc, Stamford, USA). Po dobu generování těkavých par rtuti byla trubice ponořena v Dewarově nádobě naplněné kapalným dusíkem.

3.5.5 Nastavení parametrů ICP-MS

Nastavení parametrů přístroje ICP-MS použitého jako detekční zařízení je shrnuto v tabulce 3.2.

Tabulka 3.2 - nastavení parametrů pro ICP-MS

ICP-MS	7700x	
Příkon do plazmatu	1600	W
Průtok nosného plynu (Ar) do zmlžovače	0,6	L min ⁻¹
Průtok ředícího plynu (Ar)	0,55	L min ⁻¹
Režim ředění	ON	
Kolizní plyn	-	
Průtok vnitřního standardu (Te 200 ppb v 0,2% HNO ₃)	0,3	mL min ⁻¹
i.d. injektoru plazmového hořáku	2,5	mm
Doba čtení	120	s

3.6 Pracovní postup

Pro automatizovaný systém generování těkavých specií s detekcí ICP-MS byl využíván systém ISIS složený z peristaltických pump PP1 a PP2 ovládaných pomocí softwaru ICP-MS popsáním programem ISIS v tabulce 3.3 a 3.4.

Tabulka 3.3 - ISIS program pro VCG-CT-ICP-MS

krok	čas (s)	čtení	PP1	PP2	ohřev U- trubice
			(otáčky s⁻¹)		
1	<P1>	-	0	<P17>	vypnuto
2	<P2>	-	<P12>	<P15>	vypnuto
3	<P3>	-	<P13>	0	vypnuto
4	<P4>	-	<P13>	<P16>	vypnuto
5	<P5>	-	0	0	vypnuto
6	12	-	0	0	vypnuto
7	<P6>	-	0	0	zapnuto
8	<P7>	start	0	0	zapnuto
9	<P8>	-	0	0	vypnuto
10	<P9>	-	0	0	zapnuto
11	<P10>	-	0	<P17>	zapnuto
12	<P11>	-	<P14>	<P17>	vypnuto
13	1	-	0	0	vypnuto

Tabulka 3.4 - ISIS program pro VCG-CT-ICP-MS, nastavení parametrů programu

Parametr	Popis	Výchozí hodnota	
<P1>	Čas vychlazování pasti	30	s
<P2>	Čas plnění	0	s
<P3>	Čas VCG, PP2 vypnuto	45	s
<P4>	Čas VCG PP2 zapnuto	0	s
<P5>	Čas prodlevy	80	s
<P6>	Čas prodlevy před čtením signálu	5	s
<P7>	Čas čtení signálu 1	36	s
<P8>	Čas čtení signálu 2	1	s
<P9>	Čas čtení signálu 3	22	s
<P10>	Čas čištění kryogenní pasti (U trubice)	35	s
<P11>	Čas čištění VCG	30	otáčky s ⁻¹
<P12>	PP1 rychlost plnění	0,25	otáčky s ⁻¹
<P13>	PP1 rychlost VCG	0,25	otáčky s ⁻¹
<P14>	PP1 rychlost po skončení programu	0	otáčky s ⁻¹
<P15>	PP2 rychlost plnění	0,5	otáčky s ⁻¹
<P16>	PP2 rychlost VCG	0	otáčky s ⁻¹
<P17>	PP2 rychlost po skončení programu	0,65	otáčky s ⁻¹

Do přívodu vzorku bylo pomocí automatické pipety nadávkováno 300 μL vzorku a následně 300 μL deionizované vody pro proplach systému. Dávkované množství vzorku bylo dále v soustavě teflonových hadiček mícháno s kyselinou a tetrahydridoboritanem sodným. K reakční směsi bylo z důvodu zlepšení uvolnění produktů z kapalně do plynné fáze a usnadnění jejich transportu do kryogenní pasti přidáváno hélium o průtoku 75 mL min^{-1} . Reakční směs byla převedena do separátoru fází, kde docházelo k oddělení kapalně fáze od plynné. Plynná fáze obsahující těkavé specie rtuti byla dále vedena přes sušící trubici do kryogenní pasti ponořené v Dewarově nádobě naplněné kapalným dusíkem. V kryogenní pasti byly specie zachyceny a prekoncentrovány. Po ukončení generování byla kryogenní past vyndána z Dewarovy nádoby a docházelo k jejímu ohřevu při 20V a 1,2 A laboratorním zdrojem zapnutým prostřednictvím spínače ovládaného programem ISIS. Ohřevem kryogenní

pasti došlo k postupnému uvolnění zachycených těkavých specií rtuti podle jejich teploty varu. Uvolněné specie byly z kryogenní pasti vnášeny do proudu ředícího plynu a do křemenného v T-konektoru, který byl napojen mezi mlžnou komoru a plazmový hořák. V proudu nosného plynu byly specie vneseny do plazmatu, kde došlo k jejich ionizaci a následné detekci.

3.7 Zpracování dat

Pomocí ICP-MS byly detekovány ionty rtuti s m/z 201 a 202. Výsledky uvedené v kapitole 4. jsou uváděny pro rtuť s m/z 202 z důvodu vyšší citlivosti tohoto izotopu. Hodnota pro rtuť s m/z 201 byla monitorována pro ověření, zda poměr čísel m/z odpovídá jejich abundanci uvedené v [26] a výsledky nejsou zatíženy interferencí. Dále byla sledována hodnota pro arsen s m/z 75 pro kontrolu správné funkce vymrazování. Pro kontrolu ionizace byla sledována hodnota pro tellur s m/z 125 kontinuálně zmlžovaného do plazmatu jako srovnávací prvek.

Naměřené hodnoty signálu pro jednotlivé specie byly zaznamenány a integrovány pomocí softwaru MassHunter (Agilent Technologies), odkud byly dále exportovány do programu Microsoft Excel 2007, kde byly vyhodnocovány.

Výsledné hodnoty jsou uvedeny jako aritmetický průměr alespoň tří měření pro vzorek i slepý pokus. K výsledným hodnotám jsou uvedeny jejich směrodatné odchylky, které jsou v grafech znázorněny jako chybové úsečky.

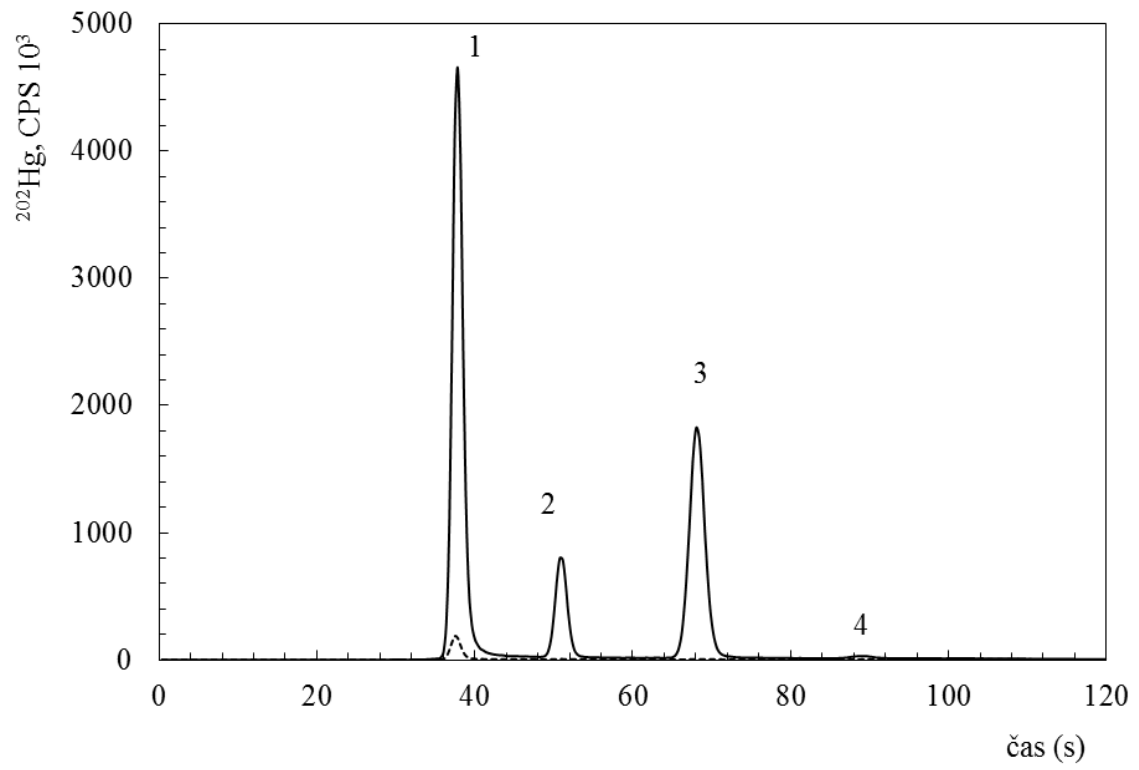
4 Výsledky a diskuze

Experimentální podmínky pro měření byly převzaty z metody vyvinuté a používané v laboratořích Oddělení stopové prvkové analýzy Ústavu Analytické chemie AV ČR v. v. i. pro speciální analýzu arsenu [1]. Chromatogramy získané metodou VCG-CT-ICP-MS při nastavení převzatých experimentálních podmínek velmi dobře odpovídají požadavkům na danou metodu a jejich další optimalizace proto není součástí této práce. Optimalizovány byly podmínky pro generování těkavých specií a to koncentrace a druh použitých kyselin, koncentrace roztoku tetrahydridoboritanu a druh použité sušící trubice zapojené v aparatuře popsané v kapitole 3.5.

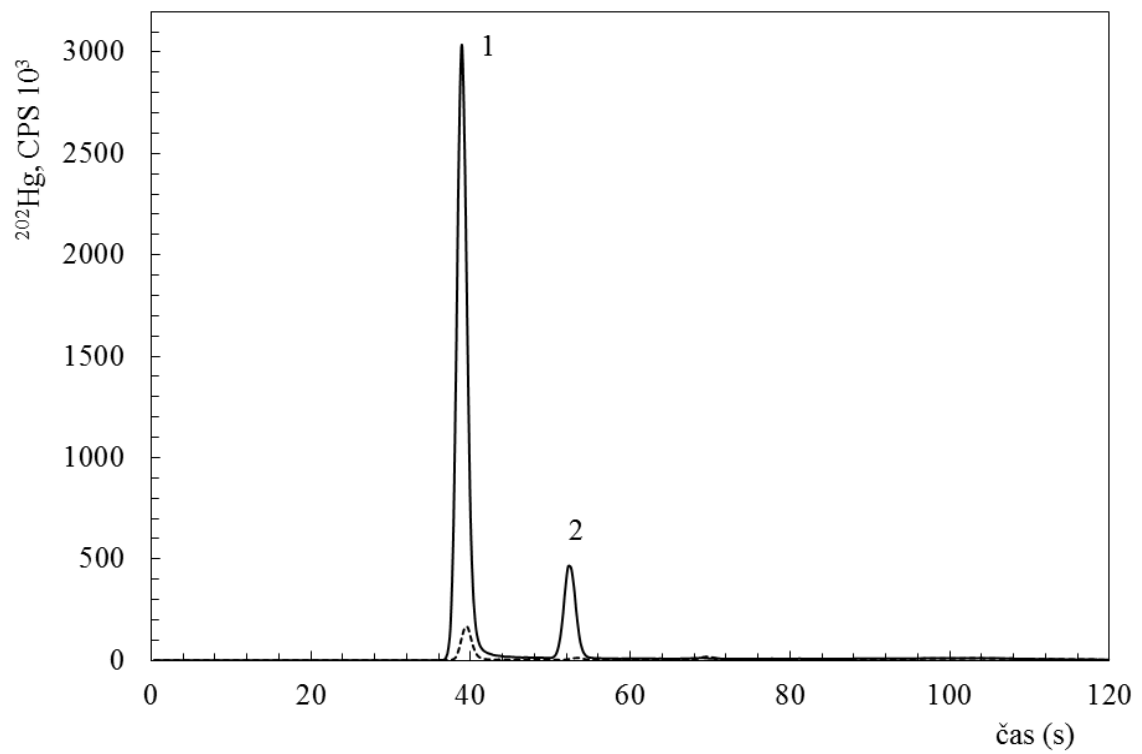
4.1 Chromatogram měření

Výstupem měření metodou VCG-CT-ICP-MS je chromatogram obsahující píky jednotlivých specií. Chromatogram pro směsný standard obsahující $1 \mu\text{g L}^{-1}$ roztoku anorganické rtuti a $1 \mu\text{g L}^{-1}$ roztoku methylrtuti je na obrázku 4.1.a. Na chromatogramu je viditelné dobré rozdělení jednotlivých specií rtuti. První pík náleží elementární rtuti, která se generuje z roztoku anorganické rtuti a částečně z roztoku methylrtuti, což je dobře viditelné na chromatogramu (obrázek 4.1.c) získaném generováním roztoku o obsahu $1 \mu\text{g L}^{-1}$ pouze methylrtuti. Druhý pík neznámé specie se generuje z roztoku anorganické rtuti, což je dobře viditelné na chromatogramu získaném generováním roztoku o obsahu $1 \mu\text{g L}^{-1}$ pouze anorganické rtuti (obrázek 4.1.b). Třetí pík náleží hydridu methylrtuti, který se generuje z roztoku methylrtuti. Na chromatogramu (obrázek 4.1.a) je viditelný čtvrtý pík, pravděpodobně odpovídající ethylrtuti jako kontaminantu. Plocha tohoto píku byla velmi malá a dále nebyl brán v úvahu.

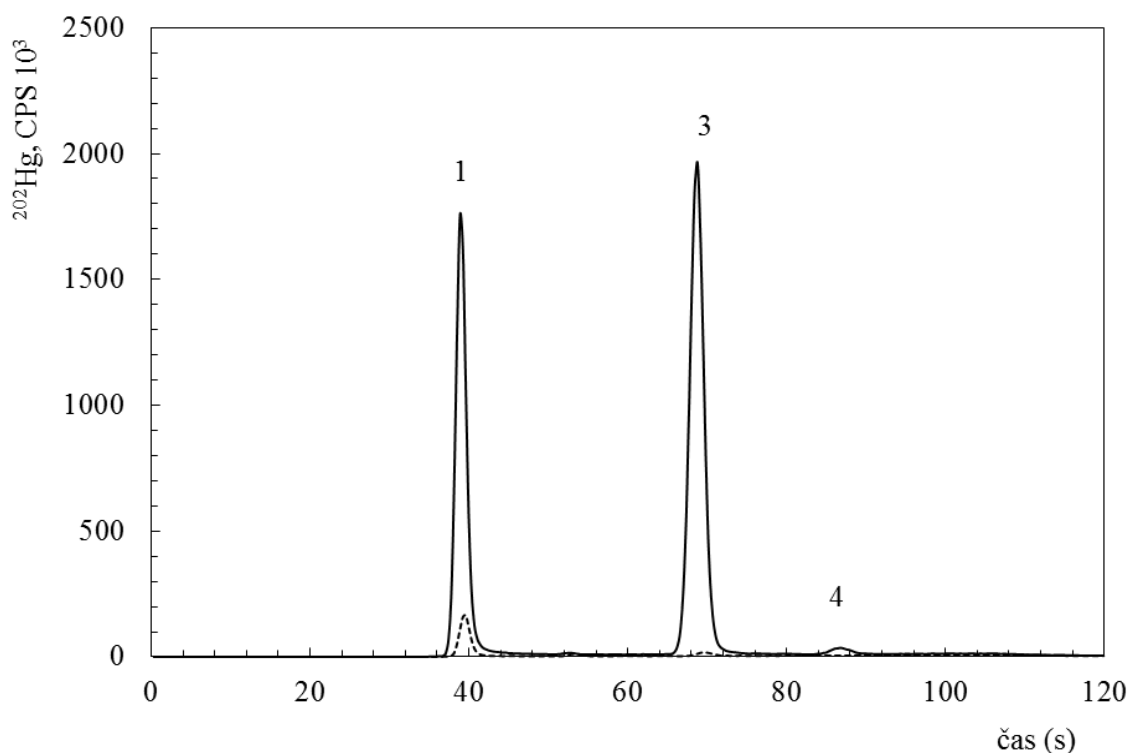
(a)



(b)



(c)



Obrázek 4.1.- Chromatogram získaný metodou VCG-CT-ICP-MS pro (a) směsný standard obsahující $1 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$ a $1 \mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}$ v 0,2% roztoku HNO_3 (b) standard anorganické rtuti o koncentraci $1 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$ v 0,2% HNO_3 (c) standard methylrtuti o koncentraci $1 \mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}$ v 0,2% HNO_3 . Pro generování byly použity roztoky 2% NaBH_4 a 2% HNO_3 .

(...slepý pokus, __ standard, 1 – elementární rtuť, 2 – pík neznámé specíe, 3 – hydrid methylrtuti, 4 - ethylrtuť)

Pro ověření, zda se u neznámého píku jedná o nečistotu, byla čistota připravených roztoků $100 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$ a $100 \mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}$ v 0,2% roztoku kyseliny dusičné ověřena pomocí vysokotlaké účinné kapalinové chromatografie (HPLC) s detekcí ICP-MS. Na chromatogramu získaném HPLC-ICP-MS byly pro standard s obsahem $100 \mu\text{g L}^{-1}$ anorganické rtuti přítomny dvě specíe. Plocha píku neznámé specíe naměřená v tomto standardu odpovídala přibližně 6,5 % plochy píku pro anorganickou rtuť. Druhá specíe byla tedy vyhodnocena jako nečistota v použitém standardu rtuti. Z tohoto důvodu byl pořízen nový standard anorganické rtuti (Certifikovaný referenční materiál rtuti ASTASOL). V roztocích připravených z tohoto standardu seriovým ředěním 0,2% kyselinou dusičnou byl neznámý pík po generování přítomen stejně jako v roztocích připravených ze standardů anorganické rtuti (Merck).

Plocha píku pro neznámou specií naměřená metodou VCG-CT-ICP-MS odpovídá přibližně 15 % plochy píku elementární rtuti. Původ neznámé specie ve standardu anorganické rtuti nebyl v rámci této práce objasněn. Zmínku o pozorování přítomnosti neznámého píku tvořícího se při generování z roztoku anorganické rtuti se nepodařilo najít v žádném z uvedených literárních zdrojů. Vzhledem k rozdílnému poměru obsahu neznámé specie ve standardu anorganické rtuti a v obsahu přítomném po generování nemusí být neznámý pík kontaminující specie. Je možné, že se jedná o analytický artefakt v průběhu VCG nebo vymrazování, kdy se část elementární rtuti zachytí na jiném místě kryogenní pasti a uvolní se zpožděním.

Při generování roztoků methylrtuti je na chromatogramu viditelný pík pro elementární rtuť což nasvědčuje tomu, že se část methylrtuti se generuje jako hydrid methylrtuti a u části dochází k demethylaci na rtuť elementární. Pro ověření zda se jedná o demethylaci při generování a vyloučení přítomnosti anorganické rtuti v roztoku standardu před generováním byla čistota roztoku methylrtuti ověřena HPLC-ICP-MS. Na chromatogramu získaným HPLC-ICP-MS je pro standard MeHg přítomna pouze jedna specie. Proces demethylace methylrtuti na rtuť elementární je pro speciální analýzu nežádoucí nejen z důvodů nižší citlivosti stanovení obsahu methylrtuti, ale také z důvodu ovlivnění výsledku pro anorganickou rtuť. Proces rozkladu methylrtuti vede k nesprávným výsledkům při určení koncentrací specií anorganické rtuti v měřeném roztoku obsahující obě tyto formy.

Stanovení anorganické rtuti metodou VCG-CT-ICP-MS je tedy komplikováno nejen přítomností píku neznámé specie, ale také demethylací methylrtuti. Z tohoto důvodu nelze tuto metodu použít pro stanovení její přesné koncentrace. Stanovení methylrtuti touto metodou je možné pouze za předpokladu, že se methylrtuť ve vzorku demethyluje ve stejném poměru jako standard methylrtuti. Jak je uvedeno v práci [27] na rozštěpení vazby rtuť-uhlík v hydridu methylrtuti a jeho redukci na rtuť elementární při generování těkavých specií rtuti mohou mít zásadní vliv reakční podmínky, jako je pH a přítomnost kyslíku. Z tohoto důvodu je třeba podrobnější optimalizace podmínek pro VCG a jejich vlivu na demethylaci.

4.2 Optimalizace podmínek pro generování těkavých par rtuti

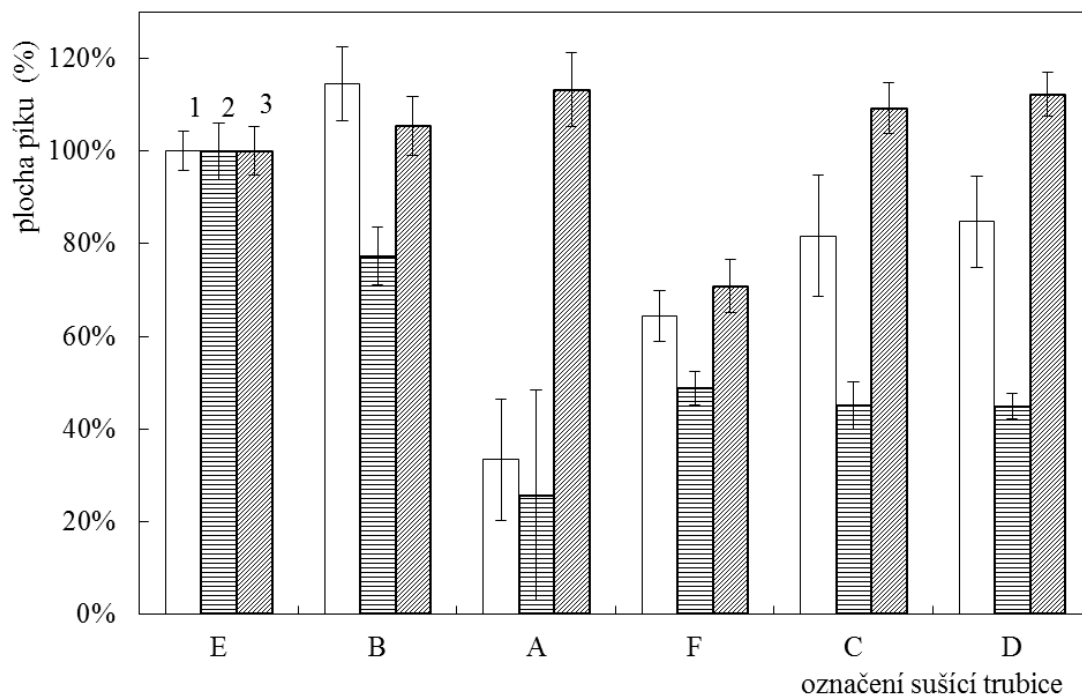
4.2.1 Optimalizace použité sušící trubice

V průběhu derivatizační reakce metodou VCG vzniká spolu s plynnými speciemi i velké množství vodní páry, která může způsobovat ucpávání kryogenní pasti. Pro odstranění vznikající vodní páry je vhodné použít sušící trubici.

V rámci této práce bylo testováno celkem šest sušících trubic popsaných v kapitole 3.5.3 Optimalizace použité sušící trubice byla provedena při použití 1% roztoku tetrahydridoboritanu sodného a 1 mol L⁻¹ roztoku kyseliny chlorovodíkové metodou VCG-CT-ICP-MS. Hodnoty plochy píku naměřené pro jednotlivé sušící trubice byly přepočteny na procentuální zastoupení plochy píku trubice E (trubice plněná NaOH, standardně v laboratoři užívána při analýzách As) a porovnány.

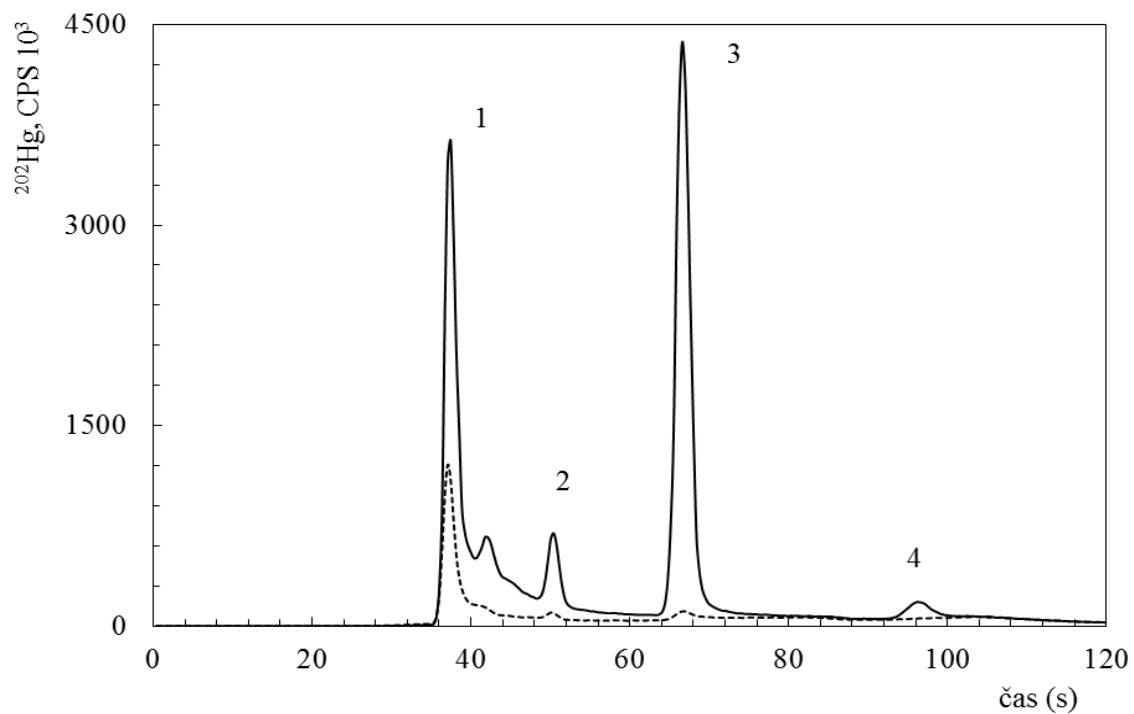
Při sestavení PTFE sušící trubice označené písmenem B byly v úvodních experimentech pozorovány výrazně zvýšené hodnoty slepého pokusu. Jako zdroj byla odhalena křemenná vata použitá proti vysypání sušící náplně na obou koncích trubice. Nahrazením křemenné vaty kouskem PTFE trubičky byl problém s pozadím rtuti z křemenné vaty vyřešen.

Graf sestavený porovnáním naměřených hodnot ploch píků pro trubice A-F vztažených na procenta je uveden na obrázku 4.2. Sestavením grafu a porovnáním naměřených hodnot ploch píku pro jednotlivé formy rtuti byla jako optimální sušící trubice určena trubice B, tedy PTFE trubice naplněná hydroxidem sodným k sušení o průměru méně než 2 mm, u které byla získána nejvyšší citlivost pro hodnoty elementární rtuti i hydridu methylrtuti.

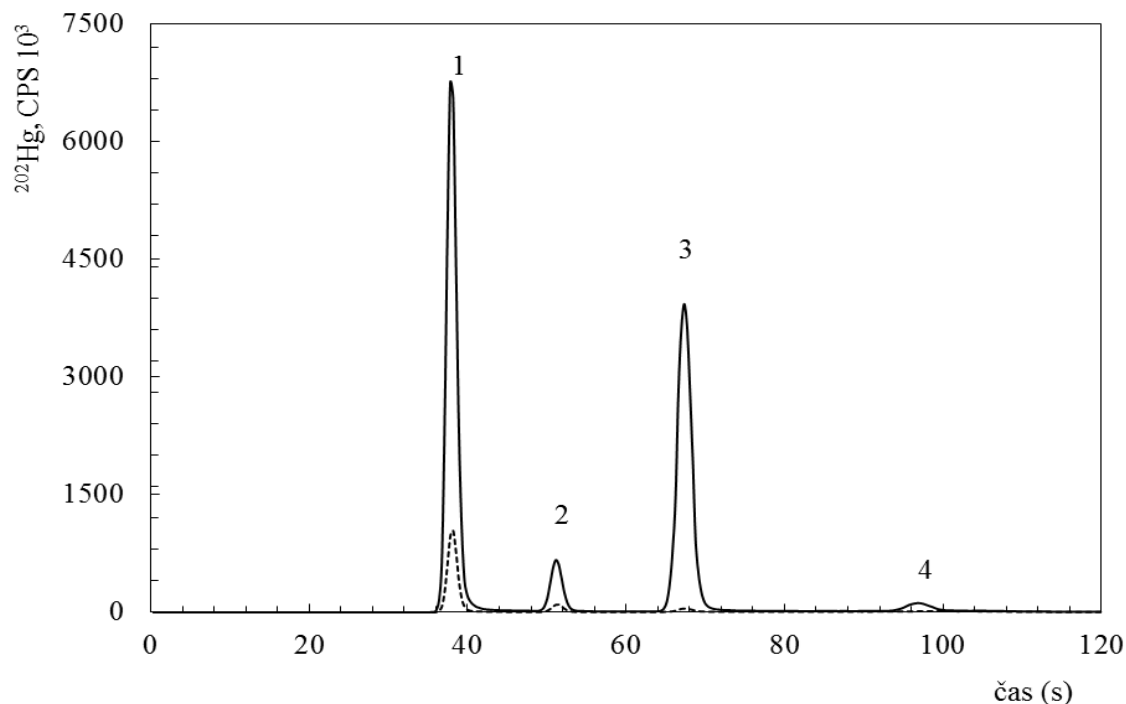


Obrázek 4.2 - Grafické znázornění vlivu použité sušící trubice na výsledky měření. Porovnání jednotlivých sušících trubice vztažené k hodnotám pro trubici E. Popis trubice je uveden v tabulce 3.1. (1- elementární rtuť, 2- neznámá specie, 3- hydrid methylrtuti)

(a)



(b)



Obrázek 4.3 - Chromatogram získaný generováním směšného standardu obsahující $1 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$ a $1 \mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}$ v 0,2% roztoku HNO_3 při generování 1% roztokem HCl a 2% roztokem NaBH_4 metodou VCG-CT-ICP-MS při (a) zapojení aparatury bez sušící trubice (b) požití sušící trubice B.

(...slepý pokus, __směšný standard, 1 – elementární rtuť, 2 – pík neznámě specie, 3 – hydrid methylrtuti, 4 – ethylrtuť)

Použití sušící trubice má vliv na zlepšení detekčních limitů a reprodukovatelnost stanovení rtuti. V systému bez sušící trubice je pík pro elementární rtuť mnohem širší a má nižší reprodukovatelnost. Srovnáním chromatogramů získaným měřením bez sušící trubice, pouze se spojovacím šroubem (D, obrázek 4.3.a) a se sušící trubicí (B, obrázek 4.3.b) je patrný rozdíl v množství generovaného hydridu methylrtuti. Dále je patrné výrazné zlepšení souměrnosti píku pro elementární rtuť při použití sušící trubice B.

Plocha píku generovaného z roztoku anorganické rtuti je při použití sušících trubic B a E (s náplní NaOH) vyšší než při zapojení trubice bez náplně (A), spojovacího šroubu (D) a filtru (C). To což může být způsobeno ztrátou elementární rtuti na kapénkách aerosolu v kryogenní pasti, nebo při postupu aparaturou. Ztráty rtuti během měření zapříčiněné ulpíváním rtuti na stěnách hadiček či z důvodu absorpce některých forem rtuti na povrchu plastů byly popsány v literárních zdrojích [3,23]

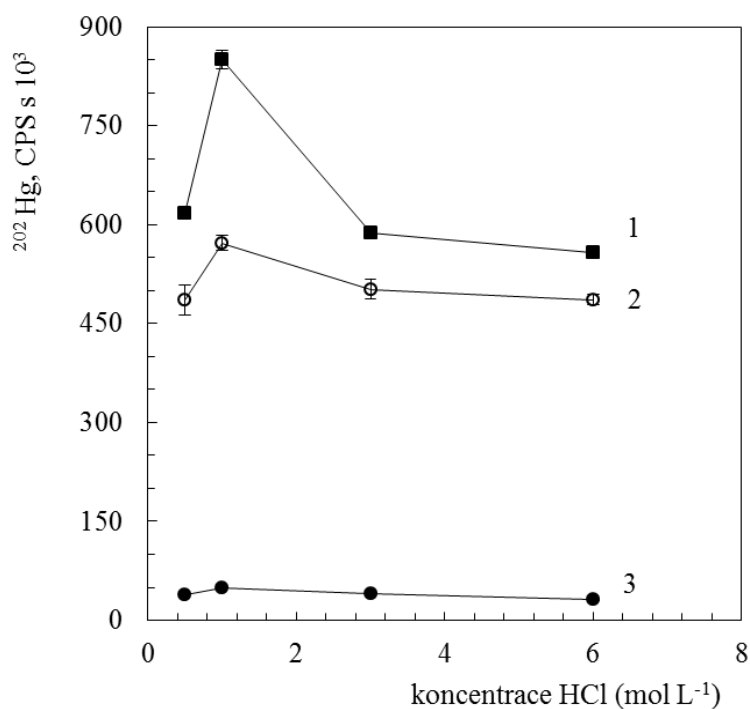
Pro odstranění vodní páry bylo v literatuře [12] popsáno použití Nafionové membránové sušící trubice (Perma Pure) a sodno- vápenaté sušící pasti (soda lime). Při použití Nafionové membránové sušící trubice byl pík naměřený pro elementární rtuť více symetrický, zároveň bylo pozorováno snížení signálu pro hydrid methylrtuti. Z tohoto důvodu bylo použití Nafionové membrány pro stanovení specií rtuti označeno v literatuře za nevhodné. Při použití sodno-vápenaté sušící pasti (soda lime) bylo dosaženo symetričtějších píků než při měření bez sušící trubice [12]. To odpovídá i výsledkům experimentů v této práci, kdy byly pozorovány ztráty methylrtuti pouze na nafionové trubici Perma Pure (F, obrázek 4.2).

4.2.2 Optimalizace koncentrace a druhu použité kyseliny

Pro co nejcitlivější generování těkavých specií rtuti byla provedena optimalizace použitého druhu kyseliny a její koncentrace. Optimalizace byla provedena pro kyselinu chlorovodíkovou a kyselinu dusičnou. Hodnotu znázorněné v obrázcích 4.4 - 4.6 byly korigovány na slepý pokus.

4.2.2.1 Optimalizace koncentrace kyseliny chlorovodíkové

Hodnoty naměřené při optimalizaci koncentrace kyseliny chlorovodíkové měřením směšného standardu obsahující $1 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$ a $1 \text{ MeHg } \mu\text{g L}^{-1}$ při použití 2% roztoku tetrahydridoboritanu sodného jsou uvedeny na obrázku 4.4. Pro kyselinu chlorovodíkovou byla určena optimální koncentrace 1 mol L^{-1} při použití 2% NaBH_4 .

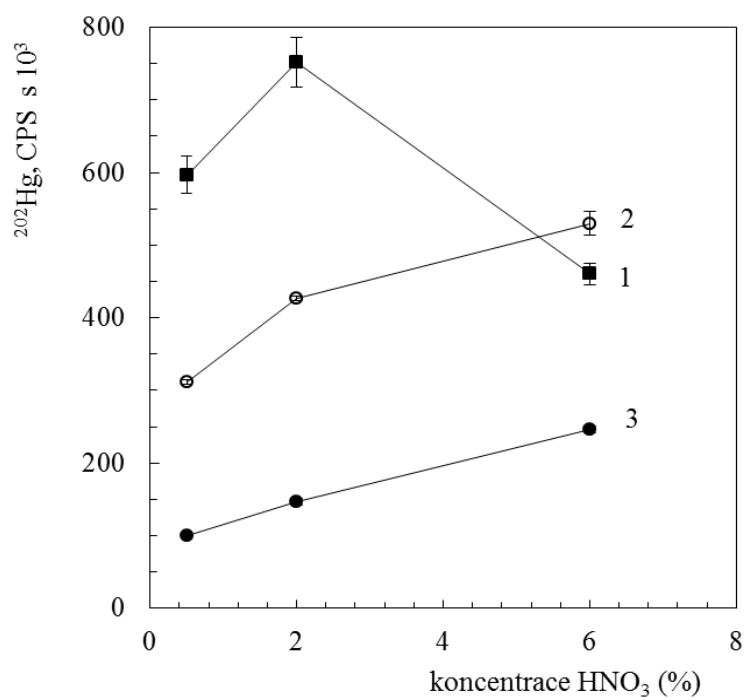


Obrázek 4.4. - Graf závislosti plochy píku jednotlivých specií na koncentraci HCl při použití 2% NaBH₄, měření směsného standardu obsahující 1 µg L⁻¹ Hg²⁺ a 1 µg L⁻¹ MeHg (1- elementární rtuť, 2- hydridid methylrtuti, 3- neznámá specie)

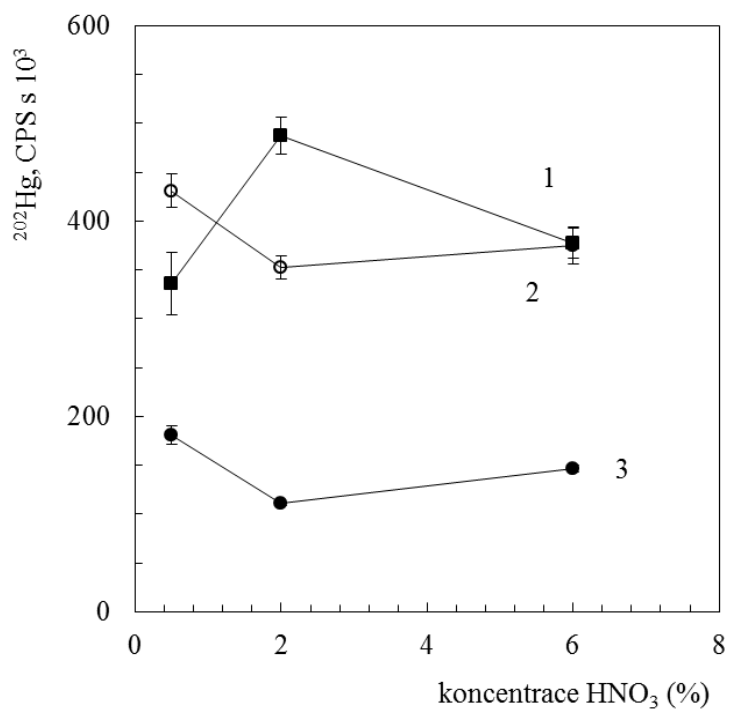
4.2.2.2 Optimalizace koncentrace kyseliny dusičné

Optimalizace kyseliny dusičné byla provedena za použití dvou různých koncentrací roztoku tetrahydridoboritanu sodného a to 0,5% roztok a 2% roztok. Hodnoty naměřené při optimalizaci koncentrace kyseliny dusičné měřením směsného standardu obsahující 1 µg L⁻¹ Hg²⁺ a 1 µg L⁻¹ MeHg při použití 2% roztoku tetrahydridoboritanu sodného jsou uvedeny na obrázku 4.5.a, při použití 0,5% roztoku tetrahydridoboritanu sodného jsou uvedeny na obrázku 4.5.b. Pro nižší hodnotu koncentrace tetrahydridoboritanu sodného byla pozorována nižší účinnost generování. Koncentrace roztoku tetrahydridoboritanu sodného při použití 2%, kyseliny dusičné, která byla zvolena jako nejvhodnější, byla dále optimalizována viz kapitola 4.2.3.

(a)



(b)

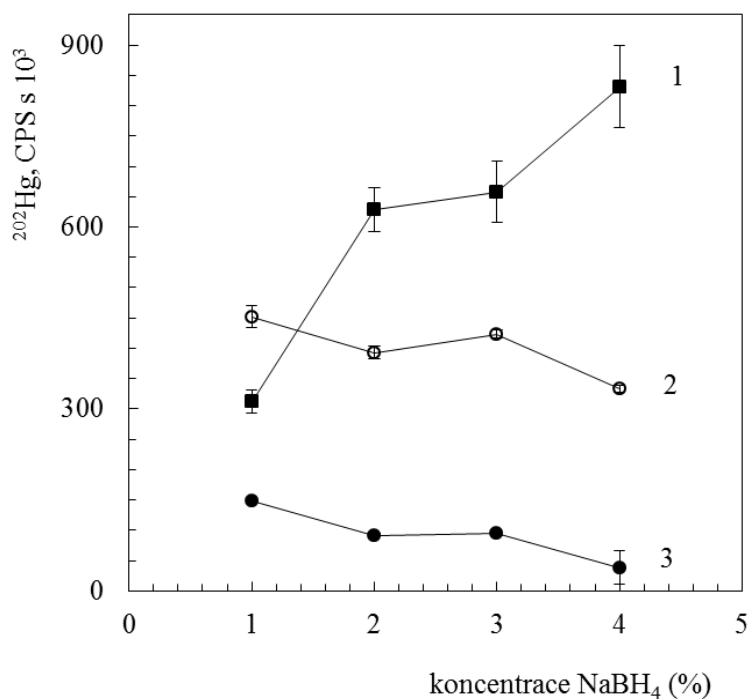


Obrázek 4.5 - Graf závislosti plochy píku jednotlivých specií na koncentraci HNO₃ při měření směšného standardu obsahující 1 µg L⁻¹ Hg²⁺ a 1 µg L⁻¹ MeHg, při použití (a) 2% NaBH₄ (b) 0,5% NaBH₄. (1- elementární rtuť, 2- hydrid methylrtuti, 3- neznámá specie)

Použitím kyseliny dusičné k chemickému generování bylo dosaženo mnohem nižších hodnot naměřených pro slepý pokus, tedy i lepších mezí detekce. Hodnota slepého pokusu byla použitím kyseliny dusičné zmenšena pro anorganickou rtuť o 40 %, neznámou specii o 80 % a pro methylrtuť o 25 % oproti hodnotám slepého pokusu získaného použitím kyseliny chlorovodíkové. Z porovnání naměřených hodnot ploch píků pro slepý pokus i standardy získaných pro kyselinu chlorovodíkovou a kyselinu dusičnou tedy vychází jako optimální druh kyseliny použít kyselinu dusičnou.

4.2.3 Optimalizace koncentrace NaBH_4

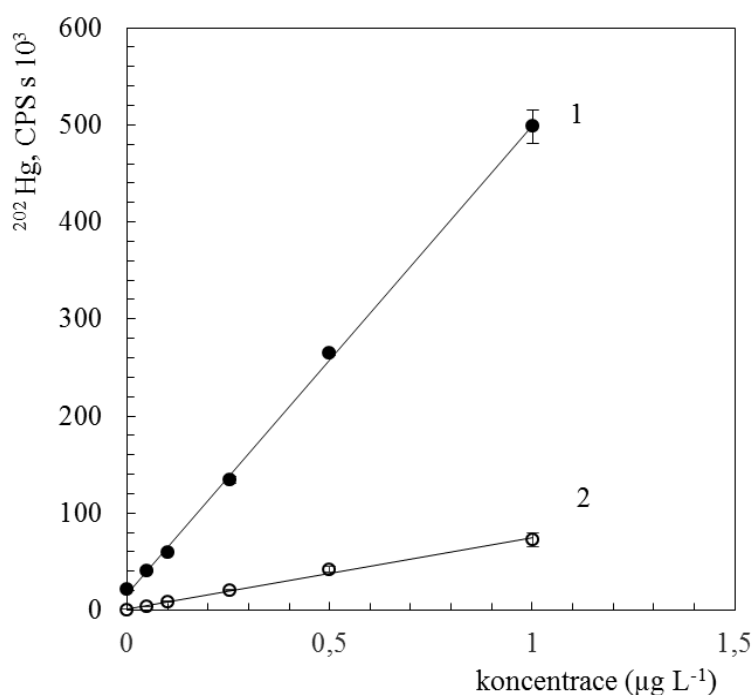
Koncentrace tetrahydridoboritanu sodného byla optimalizována při použití kyseliny dusičné. Výsledky měření jsou uvedeny v grafu na obrázku 4.7. Jako nejvhodnější bylo zvoleno použití 2% roztoku tetrahydridoboritanu sodného.



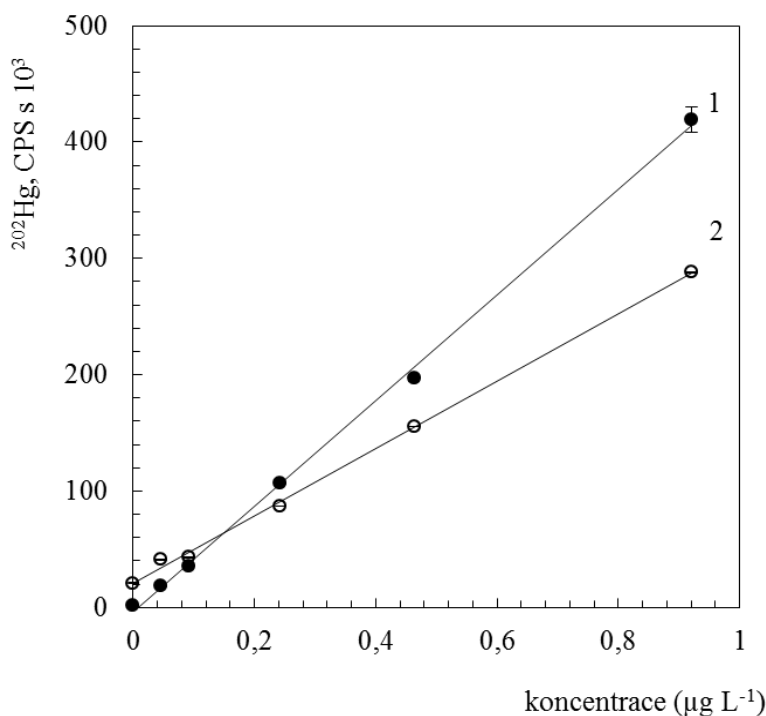
Obrázek 4.6 - Graf závislosti plochy píku jednotlivých specií na koncentraci NaBH_4 měřením směsného standardu obsahující $1 \mu\text{g L}^{-1} \text{Hg}^{2+}$ a $1 \mu\text{g L}^{-1} \text{MeHg}$, při použití 2% HNO_3 . (1- elementární rtuť, 2- hydrid methylrtuti, 3- neznámá specie)

4.3 Kalibrační závislost

Z připraveného standardu anorganické rtuti o koncentraci 100 ppb a standardu methylrtuti byly naředěním připraveny roztoky o koncentraci 0,05; 0,10; 0,25; 0,50 a 1,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ v 0,2% kyselině dusičné. Připravené roztoky byli proměřeny metodou VCG-CT-ICP-MS pracovním postupem popsáným v kapitole 3.6. Z naměřených hodnot byly sestaveny kalibrační závislosti roztoků anorganické rtuti (obrázek 4.9) a methylrtuti (obrázek 4.10). Preciznost měření (jako relativní směrodatna odchylka pro 3 opakovaná měření) pro anorganickou rtuť i methylrtuť v rozsahu koncentrací 0,1 - 1,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ byla lepší než 3,5 %.



Obrázek 4.7 - Kalibrační závislost plochy píku na koncentraci roztoku anorganické rtuti při použití 2% HNO_3 a 2% NaBH_4 . (1- elementární rtuť; $y = 482753x + 16108$; $R^2 = 0,9993$, 2 – neznámá specie; $y = 2772x + 1554,6$; $R^2 = 0,994$)



Obrázek 4.8 - Kalibrační závislost plochy píku na koncentraci roztoku methylrtuti při použití 2% HNO₃ a 2% NaBH₄. (1- hydrid methylrtuti; $y = 454435x - 3933$; $R^2 = 0,9988$, 2 – elementární rtuť; $y = 289025x + 20792$; $R^2 = 0,9882$)

4.4 Meze detekce

Proměřením deseti slepých pokusů 0,2% kyseliny dusičné metodou VCG-CT-ICP-MS byly odhadnuty meze detekce (LOD) pro methylrtuť jako podíl třínásobku hodnoty směrodatné odchylky a hodnoty citlivosti získané z kalibrační křivky. Takto získaná hodnota LOD pro methylrtuť je 0,010 µg L⁻¹. Hodnota meze stanovitelnosti (LOQ) byla získána jako podíl desetinásobku hodnoty směrodatné odchylky a hodnoty citlivosti získané z kalibrační křivky. Hodnota LOQ pro methylrtuť je 0,040 µg L⁻¹. Průměrná hodnota koncentrace slepého pokusu pro methylrtuť je 0,009 ± 0,004 µg L⁻¹.

4.5 Vzorek pitné vody

V rámci této práce bylo provedeno stanovení koncentrace methylrtuti ve vodovodní pitné vodě. Obsah methylrtuti ve vzorku pitné vody byl pod hodnotou meze detekce.

5 Závěr

Cílem této bakalářské práce bylo optimalizovat podmínky chemického generování metodou VCG-CT-ICP-MS pro speciální analýzu rtuti. Bylo testováno použití vhodného druhu sušící trubice pro použití v uvedené aparatuře. Nejlepších výsledků bylo dosaženo s použitím PTFE trubice naplněné hydroxidem sodným. Dále byla optimalizována koncentrace roztoků použitých pro chemické generování těkavých specií. Ke generování těkavých specií rtuti bylo zvoleno použití 2% roztoku kyseliny dusičné a 2% roztoku tetrahydridoboritanu sodného jako redukčního činidla.

V rámci optimalizace byly měřeny roztoky směsného standardu obsahující standard anorganické rtuti a methylrtuti. Během měření byl pozorován částečný rozklad methylované specie na rtuť elementární. Rozklad methylrtuti v průběhu generování omezuje stanovení správného množství anorganické rtuti v roztocích obsahujících obě tyto specie. Vzhledem k tomuto problému je metoda VCG-CT-ICP-MS pro stanovení specií rtuti v této podobě zatím vhodná pouze pro orientační stanovení.

Do budoucna je nezbytné znovu důsledně optimalizovat podmínky samostatně pro každou specii se zaměřením na faktory ovlivňující rozklad methylrtuti a zajistit co nejmenší rozsah demethylace. Dalším úkolem je pro správné stanovení anorganické rtuti zjistit původ neznámého píku a nalézt zdroj vysokých hodnot slepých pokusů pro dosažení dostatečně nízkých mezí detekce.

6 Literatura

- [1] T. Matoušek, J.M. Currier, N. Trojánková, R.J. Saunders, M.C. Ishida, C. González-Horta, S. Musil, Z. Mester, M. Stýblo, J. Dědina, Selective hydride generation - cryotrapping - ICP-MS for arsenic speciation analysis at picogram levels: analysis of river and sea water reference materials and human bladder epithelial cells, *Journal of analytical atomic spectrometry* **28**, (2013) 1456–1465
- [2] Z. Kafka, J. Punčochářová, Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita, *Chemické. Listy* **96**, 611–617 (2002)
- [3] K. Leopold, M. Foulkes, P. Worsfold, Methods for the determination and speciation of mercury in natural waters - A review, *Analytica Chimica Acta* **663**, 127–138 (2010)
- [4] P. Houserová, K. Janák, P. Kubáň, J. Pavličková, V. Kubáň, Chemické formy rtuti ve vodních ekosystémech - vlastnosti, úrovně, koloběh a stanovení, *Chemické Listy* **100**, 862–876 (2006)
- [5] R. Koplík, E. Čurdová, O. Mestek, Speciace stopových prvků ve vodách, půdách, sedimentech a biologických materiálech, *Chemické Listy* **91**, 38–47 (1997)
- [6] Z. Liu, Z. Xing, Z. Li, Z. Zhu, Y. Ke, L. Jin, S. Hu, The online coupling of high performance liquid chromatography with atomic fluorescence spectrometry based on dielectric barrier discharge induced chemical vapor generation for the speciation of mercury, *Journal of analytical atomic spectrometry* **32**, 678–685 (2017)
- [7] T. Syversen, P. Kaur, The toxicology of mercury and its compounds, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **26**, 215–226 (2012)
- [8] T.W. Clarkson, L. Magos, The toxicology of mercury and its chemical compounds, *Critical Reviews in Toxicology* **36**, 609–662 (2006)
- [9] T.W. Clarkson, L. Magos, G.J. Myers, The toxicology of mercury - current exposures and clinical manifestations, *New England Journal of Medicine* **349**, 1731–1737 (2003)

- [10] M. Tichý, *Toxikologie pro chemiky - toxikologie obecná, speciální, analytická a legislativa*, Karolinum, Praha 2003
- [11] Směrnice Evropského parlamentu a rady 2013/39/EU (2013)
- [12] T. Stoichev, R.C. Rodriguez Martin-Doimeadios, E. Tessier, D. Amouroux, O.F.X. Donard, Improvement of analytical performances for mercury speciation by on-line derivatization, cryofocussing and atomic fluorescence spectrometry, *Talanta* **62**, 433–438 (2004)
- [13] C.M. Tseng, D. Amouroux, I.D. Brindle, O.F. Donard, Field cryofocussing hydride generation applied to the simultaneous multi-elemental determination of alkyl-metal(loid) species in natural waters using ICP-MS detection, *Journal of environmental monitoring* **2**, 603–612 (2000)
- [14] R.A. Gil, P.H. Pacheco, S. Cerutti, L.D. Martinez, Vapor generation – atomic spectrometric techniques. Expanding frontiers through specific-species preconcentration. A review, *Analytica Chimica Acta* **875**, 7–21 (2015)
- [15] J. Machát, Generování těkavých par do indukčně vázaného plazmatu, In: *8. kurz ICP-MS/OS 2015 Brno*, Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, Brno, 2015, p.94–105
- [16] R. Reuther, L. Jaeger, B. Allard, Determination of organometallic forms of mercury, tin and lead by in situ derivatization, trapping and gas chromatography – atomic emission detection, *Analytica Chimica Acta* **394**, 259–269 (1999)
- [17] C.M. Tseng, A. de Diego, H. Pinaly, D. Amouroux, O.F.X. Donard, Cryofocusing coupled to atomic absorption spectrometry for rapid and simple mercury speciation in environmental matrices, *Journal of analytical atomic spectrometry* **13**, 755–764 (1998)
- [18] T. Matoušek, Generování hydridů ve spojení s hmotnostní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem, In: *8. kurz ICP-MS/OS 2015 Brno*, Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, Brno, 2015, p.121–129.
- [19] V. Červený, P. Rychlovský, J. Hraníček, J. Šíma, Elektrochemické generování

těkavých sloučenin pro potřeby spektrálních analytických metod, *Chemické Listy* **103**, 652–660 (2009)

- [20] C.M. Tseng, A. De Diego, F.M. Martin, D. Amouroux, O.F.X. Donard, Rapid determination of inorganic Mercury and methylmercury in biological reference materials by hydride generation, cryofocusing, atomic absorption spectrometry after open focused microwave-assisted alkaline digestion, *Journal of analytical atomic spectrometry* **12**, 743–750 (1997)
- [21] A. D'Ulivo, J. Dědina, Z. Mester, R.E. Sturgeon, Q. Wang, B. Welz, Mechanisms of chemical generation of volatile hydrides for trace element determination (IUPAC Technical Report), *Pure and Applied Chemistry* **83**, 1283–1340 (2011)
- [22] V. Otruba, Hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem, In: *8. kurz ICP-MS/OS 2015 Brno*, Spektroskopická společnost Jana Marka Marci, Brno, 2015, p.106–120
- [23] M. Michaljevič, L. Strnad, O. Šebek, Využití hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem v geochemii, *Chemické Listy* **98**, 123–130 (2004)
- [24] Agilent technologies, *ICP-MS Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, Agilent technologies (2005).
- [25] T. Matoušek, A. Hernández-Zavala, M. Svoboda, L. Langrová, B.M. Adair, Z. Drobná, D.J. Thomas, M. Stýblo, J. Dědina, Oxidation state specific generation of arsines from methylated arsenicals based on L - cysteine treatment in buffered media for speciation analysis by hydride generation - automated cryotrapping - gas chromatography - atomic absorption spectrometry with the multiatomizer, *Spectrochimica acta. Part B: Atomic spectroscopy* **63**, 396–406 (2008)
- [26] Relative Isotopic Abundance Table, *Agilent Technologies* (2009).
- [27] R. Puk, J.H. Weber, Determination of mercury(II), monomethylmercury cation, dimethylmercury and diethylmercury by hydride generation, cryogenic trapping and atomic absorption spectrometric detection, *Analytica Chimica Acta* **292**, 175–183, (1994)