

UNIVERZITA KARLOVA

Přírodovědecká fakulta

Studijní obor: Klinická a toxikologická analýza



Dominika Adámková

POROVNÁNÍ RŮZNÝCH PŘÍSTUPŮ KE STANOVENÍ
ANTIMONU POMOCÍ ATOMOVÉ FLUORESCENČNÍ
SPEKTROMETRIE

Comparison of various approaches to determination
of antimony by atomic fluorescence spectrometry

Bakalářská práce

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

Konzultantka: RNDr. Eliška Nováková, Ph.D.

Praha 2018

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou 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 22.5.2018

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá porovnáním tří způsobů generování těkavých sloučenin pro stanovení antimonitých a antimoničných iontů pomocí atomové fluorescenční spektrometrie. Pro porovnání jednotlivých stanovení byly vždy nejprve nalezeny nejvhodnější experimentální podmínky.

Protože je chemické generování považováno za neúčinnější v porovnání s ostatními typy generování a je také nejčastěji používáno, bylo charakterizováno jako první. Bylo dosaženo limitu detekce 0,12 ppb pro Sb^{3+} a 0,28 ppb pro Sb^{5+} . Ovšem nejvyšší citlivosti a nejnižšího limitu detekce bylo dosaženo pro elektrochemické generování hydridu antimonu. Metoda EcHG byla přibližně 4×citlivější než technika CHG. Dosaženo bylo limitu detekce 9 ppt pro Sb^{3+} a 45 ppt pro Sb^{5+} . Nejnižší citlivost byla získána podle předpokladu při UV – fotochemickém generování, a to přibližně 9×nižší oproti elektrochemickému generování.

Celkově stanovení antimonitých iontů bylo nejméně 4×citlivější než stanovení antimoničných iontů. Podle tvaru píku usuzuji, že tvorba těkavé sloučeniny probíhala u všech způsobů generování v případě Sb^{5+} pomaleji než u Sb^{3+} .

Klíčová slova

Atomová fluorescenční spektrometrie, antimon, generování těkavých sloučenin, chemické generování těkavých sloučenin, UV – fotochemické generování těkavých sloučenin, elektrochemické generování těkavých sloučenin.

Poděkování

Zde bych velice ráda poděkovala všem, kteří se podíleli na vzniku mé bakalářské práce. Za prvé patří mé poděkování mému školiteli, RNDr. Václavovi Červenému Ph.D., za laskavé odborné vedení. Za trpělivost při experimentech a za jeho cenné rady, kterými přispěl ke konečné podobě bakalářské práce. Velké díky patří mé konzultantce, RNDr. Elišce Novákové Ph.D., která svými cennými radami přispěla při řešení problémů při měření. Oběma děkuji za vstřícný přístup a čas, který mi věnovali.

Rovněž bych ráda poděkovala svým rodičům, Petrovi a Blance Adámkovým, za trpělivost a velkou podporu poskytnutou během studií. V neposlední řadě svým sestřám, Petře a Emmě a mému příteli Janu Příhodovi, za všestrannou podporu nejen při psaní této práce.

SEZNAM ZKRATEK A SYMBOLŮ

AAS	atomová absorpční spektrometrie (atomic absorption spectrometry)
AFS	atomová fluorescenční spektrometrie (atomic fluorescence spectrometry)
c	molární koncentrace [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$]
CFA	průtoková analýza (continuous flow analysis)
CHG	chemické generování hydridů (chemical hydride generation)
CV	technika generování studené páry (cold vapour)
DBD	dielektrický bariérový výboj (dielectric barrier discharge)
EcHG	elektrochemické generování hydridu (electrochemical hydride generation)
ET-AAS	atomová absorpční spektrometrie s elektrotermickou atomizací (electrothermal atomic absorption spectrometry)
FIA	průtoková injekční analýza (flow injection analysis)
FIGS	inertním plynem stíněný plamínek v křemenné trubici (flame-in-gas-shield)
F_r	průtoková rychlost [$\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$]
HCL	výbojka s dutou katodou (hollow cathode lamp)
I	generační proud [A]
ICP-AES	atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (inductively coupled plasma - atomic emission spectrometry)
ICP-MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (inductively coupled plasma - mass spectrometry)
LDR	lineární dynamický rozsah
LOD	mez detekce (limit of detection)
LOQ	mez stanovitelnosti (limit of quantitation)
MDF	miniaturizovaný difúzní plamen (miniature diffusion flame)
MIP-AES	atomová emisní spektrometrie s mikrovlnně indukovaným plazmatem (microwave-induced plasma - atomic emission spectrometry)
n	počet měření
O	opakovatelnost [%]
ppb	jednotka hmotnostní koncentrace odpovídající $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ (z angl. parts per billion)
ppt	jednotka hmotnostní koncentrace odpovídající $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$ (z angl. parts per trillion)
PTFE	polytetrafluorethylen (Teflon)
R	koeficient korelace
s	směrodatná odchylka
s_r	relativní směrodatná odchylka
T	termodynamická teplota [K]
U	napětí [V]
UV – PHG	UV – fotochemické generování těkavých sloučenin (UV photochemical hydride generation)
\tilde{x}	medián
\bar{x}	průměr

Obsah

1	ÚVOD	8
1.1	CÍL PRÁCE	8
2	TEORETICKÁ ČÁST	9
2.1	ATOMOVÁ FLUORESCENČNÍ SPEKTROMETRIE	9
2.1.1	Experimentální uspořádání.....	9
2.2	GENEROVÁNÍ TĚKAVÝCH SLOUČENIN	9
2.2.1	CHEMICKÉ GENEROVÁNÍ.....	10
2.2.2	UV – FOTOCHEMICKÉ GENEROVÁNÍ.....	10
2.2.3	ELEKTROCHEMICKÉ GENEROVÁNÍ.....	10
2.3	ANTIMON	11
2.4	Porovnání LOD, LOQ v různých spektrometrických metodách	12
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	13
3.1	Přístroje a materiál	13
3.2	Chemikálie a roztoky	13
3.3	Experimentální uspořádání.....	14
3.3.1	Aparatura pro chemické generování.....	14
3.3.2	Aparatura pro UV – fotochemické generování	15
3.3.3	Aparatura pro elektrochemické generování.....	17
3.4	Statistické vyhodnocení.....	18
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	21
4.1	CHEMICKÉ GENEROVÁNÍ TĚKAVÝCH SLOUČENIN Sb	21
4.1.1	Optimalizace.....	21
4.1.2	Kalibrační závislosti pro Sb^{3+} a Sb^{5+}	22
4.2	UV – FOTOCHEMICKÉ GENEROVÁNÍ TĚKAVÝCH SLOUČENIN Sb	23
4.2.1	Optimalizace průtokové rychlosti plynů	23
4.2.2	Volba vhodné kyseliny a optimalizace její koncentrace	24
4.2.3	Optimalizace průtokové rychlosti roztoku analytu.....	26
4.2.4	Optimalizace délky reakční cívky UV – reaktoru	26
4.2.5	Souhrn optimálních podmínek pro UV – PHG - AFS.....	27

4.2.6	Kalibrační řada pro Sb^{3+} a Sb^{5+}	27
4.3	ELEKTROCHEMICKÉ GENEROVÁNÍ TĚKAVÝCH SLOUČENIN Sb	29
4.3.1	Optimalizace průtokové rychlosti nosného plynu	29
4.3.2	Optimalizace generačního proudu	30
4.3.3	Optimalizace koncentrace HCl v katolytu	31
4.3.4	Souhrn optimálních podmínek pro EcHG	31
4.3.5	Kalibrační závislost pro Sb^{3+} a Sb^{5+}	32
4.4	POROVNÁNÍ JEDNOTLIVÝCH METOD GENEROVÁNÍ	33
	ZÁVĚR	35
	Informační zdroje	36

1 ÚVOD

Antimon (Sb) je stříbrolesklý polokov s toxickými účinky na lidský organismus. Jeho toxicita závisí na oxidačním stavu, jako tomu je i u jiných toxických prvků. Antimonitý ion je přibližně 10× toxičtější než ion antimoničný.

Ve srovnání s ostatními prvky (např. As, Pb nebo Hg) nejsou studie zaměřené na antimon příliš časté, přestože antimon proniká do životního prostředí stále více. Významným zdrojem je lidská činnost, která využívá antimon v mnoha průmyslových odvětvích. Není to ale jediný zdroj. Přírodní zdroj je např. vulkanická činnost, zvětvávání půdy a odnos půdy. Antimon může mít i své pozitivní vlastnosti. Sb⁵⁺ je součástí léku proti tropickým nemocem. Z těchto důvodů je třeba věnovat antimonu a možnostem jeho stanovení více pozornosti.

Antimon se často vyskytuje v nízkých koncentracích, proto je cílem hledání citlivá a i pro nízké koncentrace spolehlivá analytická metoda. Velké pozornosti se dostává atomové fluorescenční spektrometrii ve spojení s generováním hydridů (HG). Zejména kvůli vysoké citlivosti a širokému rozsahu (4 – 6 řádů) pro stanovení antimonu ve stopovém množství.

1.1 CÍL PRÁCE

Jako modelové analyty pro tuto bakalářskou práci byly vybrány ionty Sb³⁺ a Sb⁵⁺. Cílem práce bylo provést srovnání tří metod generování těkavých hydridů antimonu z těchto analytů ve spojení s atomovým fluorescenčním spektrometrem (AFS). Jednalo se o chemické, UV – fotochemické a elektrochemické generování těkavých sloučenin antimonu v tomto pořadí.

Ke splnění tohoto cíle bylo nutné optimalizovat pracovní podmínky, které mají významný vliv na stanovení antimonu. A poté změřit kalibrační závislost pro antimonité a antimoničné ionty a porovnat dosažené výsledky.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 ATOMOVÁ FLUORESCENČNÍ SPEKTROMETRIE

Atomová fluorescenční spektrometrie (AFS) je optická metoda, která je založena na absorpci záření z primárního zdroje, tím přecházejí atomy do svého excitovaného stavu, přebytečné energie ve formě fotonu se zbavují zářivými nebo nezářivými procesy. Pro naše účely je důležitý proces, kdy dochází k zářivému přechodu z excitovaného stavu atomu zpět do základní hladiny. Intenzita takto emitovaného záření pak je úměrná množství atomů stanovovaného prvku v jednotce objemu. Tato analytická metoda se řadí mezi nejmladší fyzikálně – chemické metody vůbec. Nicméně díky vysoké selektivitě i citlivosti se velice rychle rozšířila.

2.1.1 Experimentální uspořádání

Atomový fluorescenční spektrometr se skládá ze zdroje primárního záření, atomizátoru, optických prvků a detektoru. Zdrojem primárního záření může být výbojka s dutou katodou nebo častěji výbojka s vysokou září (tzv. Superlampa), která využívá zvýšení intenzity záření dalším výbojem mezi dvěma pomocnými elektrodami před ústím katody. Tyto výbojky se vyznačují vyšší intenzitou záření, vyšším poměrem signál/šum, a tím i lepší hodnotou limitu detekce[1].

Protože je AFS využívána nejčastěji ke stanovení prvků tvořících těkavé sloučeniny, používají se k atomizaci obvykle nízkoenergetické a hlavně nesvítivé plameny. Vhodným atomizátorem tedy může být např. argon-vodíkový miniaturizovaný difúzní plamen (MDF)[2], [3], inertním plamenem stíněný plamínek v křemenné trubici (FIGS) [3], [4], popř. argonová nebo heliová plazmata s dielektrickou bariérou (DBD) [5],[6]. Spolu s inertním nosným plynem a palivem (H_2) zde vstupuje do plamene ze separátoru fází plynný těkavý hydrid stanovovaného prvku, např. antimonu. K selekci vlnové délky se využívají monochromátory nebo vhodné filtry. Pro detekci záření se používá citlivý fotonásobič, který zachytí i slabé emisní toky. [7]

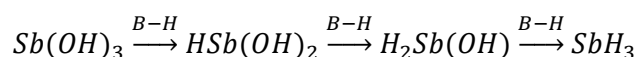
2.2 GENEROVÁNÍ TĚKAVÝCH SLOUČENIN

Při technice generování se stanovovaný analyt převádí na těkavou sloučeninu. V této práci jsem se zabývala těkavým hydridem antimonu, který se oddělí v separátoru fází od kapalné matrice vzorku a je atomizován v difúzním plamenu. Pomocí generování těkavých sloučenin lze stanovit zejména tyto prvky: As, Se, Sb, Te, Bi, Ge, Sn, Pb (kovy a polokovy, které tvoří s vodíkem plynné hydridy). Nejpoužívanější a zároveň nejprobádanější je chemické generování, dále se může použít elektrochemické a UV – fotochemické generování. Zvláštním případem je generování plynné elementární rtuti, tzv. technika studené páry (CV).

Generování těkavých sloučenin lze též využít u AAS, atomové emisní spektrometrie s mikrovlnně indukovaným plazmatem nebo v ICP-AES a ICP-MS.

2.2.1 CHEMICKÉ GENEROVÁNÍ

V současnosti je nejrozšířenější technikou chemické generování s používáním redukčního činidla tetrahydridoboritanu sodného v prostředí různě koncentrovaných minerálních kyselin, nejčastěji kyseliny chlorovodíkové. Mohli bychom použít i jiné kyseliny např. kyselinu dusičnou[8],[9] nebo kyselinu fosforečnou [9]. Kyselá prostředí je nutné pro postupný rozklad redukčního činidla. Model reakčního mechanismu založeného na vzniku tzv. nascentního vodíku, který předpokládal přeměnu NaBH_4 na H_3BO_3 a vznik vodíkových radikálů, byl v současnosti nahrazen modelem, který popisuje vícekrokovou hydrolyzu tetrahydridoboritanu sodného a složitější reakce analytu a jeho derivátů s meziprodukty této hydrolyzy za vzniku těkavého hydridu [10].



Vznik vodíku při reakci je velmi intenzivní, proto bývá vznikající hydrid unášen do atomizátoru kromě nosného plynu i nadbytkem vodíku. Chemické generování má ale i své nevýhody. Redukční činidlo tetrahydridoboritan sodný je v roztoku samo o sobě velice nestabilní při laboratorní teplotě, proto je nutné ho stabilizovat v roztoku hydroxidu sodného o koncentraci $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. K zvýšení přesnosti měření je potřeba připravovat redukční činidlo denně čerstvé[9]. Redukční činidlo NaBH_4 je možné nahradit i jinými pevnými redukčními činidly, např. KBH_4 , SnCl_2 , LiAlH_4 . Pro stanovení antimonu dosahovalo nejlepších výsledků redukční činidlo KBH_4 , podle Xiaodong Wena [11].

2.2.2 UV – FOTOCEMICKÉ GENEROVÁNÍ

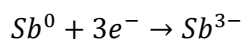
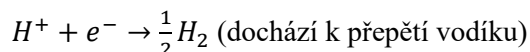
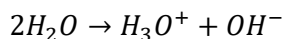
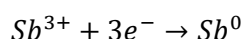
UV – fotochemické generování těkavých sloučenin (UV-PVG) je založeno na ozařování roztoku organických kyselin a analytu elektromagnetickým zářením s vlnovými délkami v oblasti UV. Klíčovou roli přitom vedle UV záření zastávají přítomné nízkomolekulární organické kyseliny [12]. Jako vhodnější fotochemické činidlo (napomáhá redukcí analytu na těkavou sloučeninu) pro Sb (a ostatní hydridotvorné prvky) se ukázala kyselina octová oproti kyselině mravenčí, která se lépe hodí pro generování těkavých specií Fe, Co nebo Ni[13]. Jako zdroj záření se často používají nízkotlaké nebo střednětlaké rtuťové výbojky. Za pozitivum může být označeno použití relativně jednoduchých a k životnímu prostředí šetrných chemikálií či minimalizace nebezpečného odpadu[12]. Nejvíce publikovaných článků zabývajících se UV – PVG bylo doposud o stanovení selenu a rtuťi.[14]

2.2.3 ELEKTROCHEMICKÉ GENEROVÁNÍ

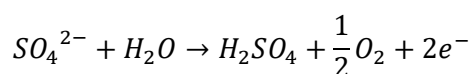
Elektrochemické generování hydridů (EcHG) využívá k redukcí prvku a vygenerování jeho hydridu průchod elektrického proudu v prostředí čistých minerálních kyselin. Tím odpadá riziko kontaminace roztoku analytu z redukčního činidla, což vede k možnosti dosáhnout nižších mezí detekce a stanovitelnosti.[15] Reakce se děje v elektrolytické cele, nejčastěji je používána průtoková tenkovrstvá cela, která je složena z katodového prostoru, ve kterém je uložen olověný drátek – katoda[16],[17]. Katoda by měla mít dostatečně velký povrch, být inertní a neúčastnit se

chemických reakcí na svém povrchu. V anodovém prostoru je uložena anoda – platinový plíšek [18]. Platina se používá, z důvodu své stálosti v silném oxidačním prostředí.

Reakce na katodě:



Reakce na anodě:



Účinnost elektrochemického generování závisí na vhodně zvolených pracovních podmínkách. Zejména na konstrukci elektrolytické cely, volbě materiálu katody a anody, průtokové rychlosti nosného plynu a vzorku a velikosti generačního proudu[15][19]. Obecně u tenkovrstvých cel platí, že se vzrůstajícím vloženým proudem účinnost výrazně stoupá. Velikost proudu je však omezena vloženým napětím a odporem elektrolytické cely[18].

2.3 ANTIMON

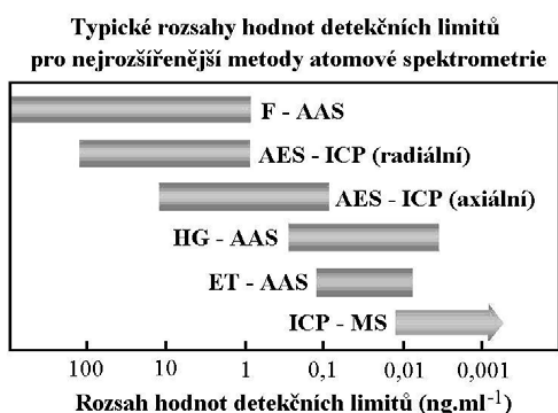
Antimon (latinsky stibium) se řadí mezi polokovy, které jsou lidstvu známy již od starověku. Antimon se vyskytuje ve čtyřech mocenstvích: -III; 0; III a V.

Antimon se vyskytuje v zemské kůře poměrně vzácně, hlavní rudou antimonu je antimonit (Sb_2S_3) [20]. Největší známé zásoby antimonu na světě jsou v Tádžikistánu. Až donedávna byl antimon převážně přehlížen z hlediska životního prostředí, nicméně v posledních letech se zjistil negativní dopad na životní prostředí a počet studií na něj zaměřených vzrostl[21].

V současnosti je antimon studován v souvislosti s léčením nemoci leishmaniózy. Jedná se o zánětlivé onemocnění, kterým trpí lidé v tropických oblastech. Ročně přibývá až 1,5 milionu nemocných. Vývojem léku se zabývá Vivian Silva Santos a kol., účinnou složkou léku je právě Sb^{5+} . Naopak Sb^{3+} , který je nejméně 10× toxičtější než antimoničný ion[22],[23], se často vyskytuje jako rušivá složka léku. Z toho důvodu jsou studie založené na sledování obsahů Sb^{3+} a Sb^{5+} velmi důležité.[24] Ve farmacii se využívají ke sledování tyto metody: HPLC – HG- AFS [25] a HPLC – HG - AAS [26].

2.4 Porovnání LOD, LOQ v různých spektrometrických metodách

Mezi v současné době nejpoužívanější atomové spektrometrické metody pro analýzu roztoků vzorků patří hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP – MS), atomová emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP – AES), a atomová absorpční spektrometrie s plamenovou atomizací (F – AAS), elektrotermickou atomizací (ET – AAS), nebo s generováním hydridů (HG – AAS). S generováním hydridů bývá často spojována selektivní a velmi citlivá detekční technika atomové fluorescenční spektrometrie (AFS). Všechny uvedené metody mají své výhody, ale všechna měření mohou být zatížena nějakým typem interferencí, které mohou ovlivnit přesnost (tj. pravdivost a preciznost) analýzy. Proto je důležitým parametrem pro srovnání analytických metod dosažená citlivost nebo detekční limit pro daný prvek. Na Obr. 2.2 je vidět srovnání obvyklých mezí detekcí.



Obr. 2.2: Porovnání mezí detekce nejběžnějších atomových spektrálních metod[7]

Detekční limity získané pro stanovení anorganického antimonu byly získány z nejrůznějších publikací, které se zabývají převážně chemickým generováním těkavých látek ve spojení s různými druhy detekce. Například pro chemické generování s detekcí AFS byl zjištěn limit detekce $0,9 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ [27], dále s detekcí ICP – MS je uváděn LOD $0,4 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ [28]. Ve spojení se syntézou oxidu křemičitého a 1,5- bis(di-2-pyridyl)methylenem thiokarbohydrazidem a jeho použití jako obohacovacího sorbentu pro stanovení antimonu bylo dosaženo limitu detekce $1 \text{ ng}\cdot\text{l}^{-1}$ s metodou FI –HG-ET-AS [29]. ET – AAS je často využívaná metoda pro stanovení Sb v biologických vzorcích [30]. Pro elektrochemické generování s detekcí AAS s Au/Hg katodou uvádí Jessenia Ordoñez a kol. mez detekce $0,027 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ [31].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Přístroje a materiál

Byly použity následující přístroje a materiál:

- atomový fluorescenční spektrometr PSA Millenium Excalibur (PS Analytical, UK)
- Sb - Superlampa (Photron, Austrálie)
- digitální průtokoměry typu mass flow controller (Cole – Parmer, USA.) k měření rychlosti průtoku nosného plynu a vodíku, rozsah 0 - 140 ml·min⁻¹
- skleněný separátor fází
- čerpací a spojovací hadičky (TYGON[®], USA.) o různých vnitřních průměrech
- laboratorní programovatelný lineární zdroj konstantního proudu (M TECH, Taiwan)
- průtoková plexisklová elektrochemická cela vlastní výroby s katodovým i anodovým prostorem stejných rozměrů (4×3×100 mm), elektrody: katoda – olověný drát (průměr 2 mm, aktivní povrch 628 mm²); anoda – platinový plíšek (aktivní povrch 65,2 mm²); iontově vodivá membrána Nafion[®] 117 (Sigma-Aldrich, USA)
- UV – fotochemický reaktor vlastní výroby, nízkotlaká rtuťová UV výbojka (délka 610 mm, průměr 152 mm, 20 W, USHIO, Japonsko) s navinutou PTFE kapilárou o délce 1,5 m
- reakční cívka (PS Analytical, UK), PTFE kapilára o délce 1570 mm a vnitřním průměru 0,8 mm, objem 0,79 ml
- Teflonové těsnící pásky (100% PTFE, 19 × 0,2 mm a 12 × 0,1 mm)

3.2 Chemikálie a roztoky

Byly použity následující chemikálie a roztoky:

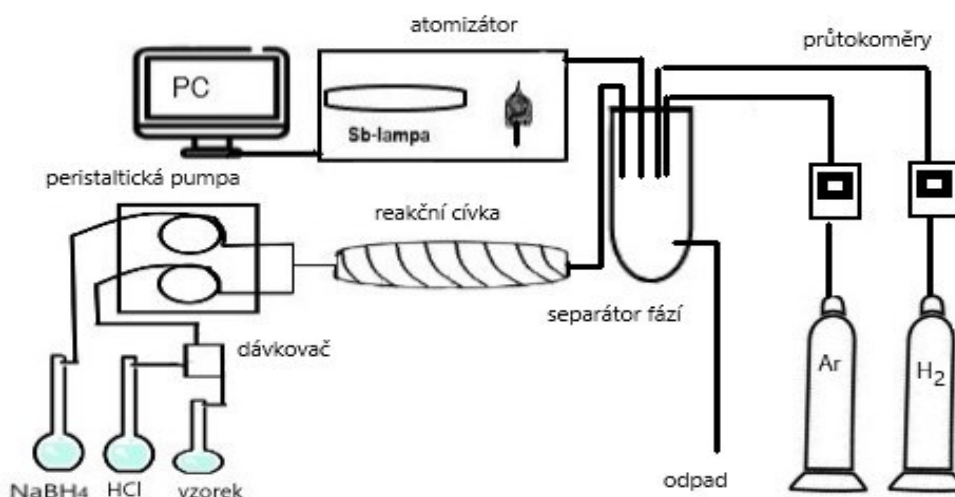
- Deionizovaná voda k přípravě a ředění všech roztoků byla získána pomocí zařízení Milli Q_{PLUS} (Millipore, USA).
- Standardní roztoky Sb³⁺ a Sb⁵⁺ byly připraveny z pevného Sb₂O₃ (99,995%, Sigma - Aldrich, USA) a Sb₂O₅ (99,99%, Sigma – Aldrich, USA).
 - a. Příprava standardních roztoků antimonu Sb³⁺ byla provedena z bílého prášku Sb₂O₃, který byl rozpuštěn v 1 mol·dm⁻³ kyselině chlorovodíkové za horka.
 - b. Druhý standardní roztok Sb⁵⁺ byl připraven rozpuštěním nažloutlého prášku Sb₂O₅ v čistém 46%NaOH bez uhličitanů, rovněž za horka.
- Pracovní roztoky Sb³⁺ a Sb⁵⁺ byly připraveny ředěním standardních roztoků.
- elektrochemické generování: pro přípravu roztoků elektrolytů byla použita:
 - o 37% HCl čistoty Suprapure (Merck, Německo) → 0,5 mol·dm⁻³

- 96% H₂SO₄ čistoty Suprapure (Merck, Německo) → 2 mol·dm⁻³
- UV - fotochemické generování:
 - 98,8% HCOOH čistoty Suprapure (Merck, Německo)
 - >99% CH₃COOH čistoty Suprapure (Merck, Německo)
- chemické generování
 - 99% NaBH₄ (Sigma – Aldrich, USA)
 - pevný NaOH čistoty Suprapure (Merck, Německo)
 - 37% HCl čistoty Suprapure (Merck, Německo) → 2 mol·dm⁻³
- Jako nosný plyn byl použit argon čistoty 4.8. (Linde, Česká republika).
- Pro atomizaci v plameni byl použit plyn vodík čistoty 3.0. (Linde, Česká republika).
- Jako sušící plyn byl použit dusík čistoty 4.0. (Linde, Česká republika).

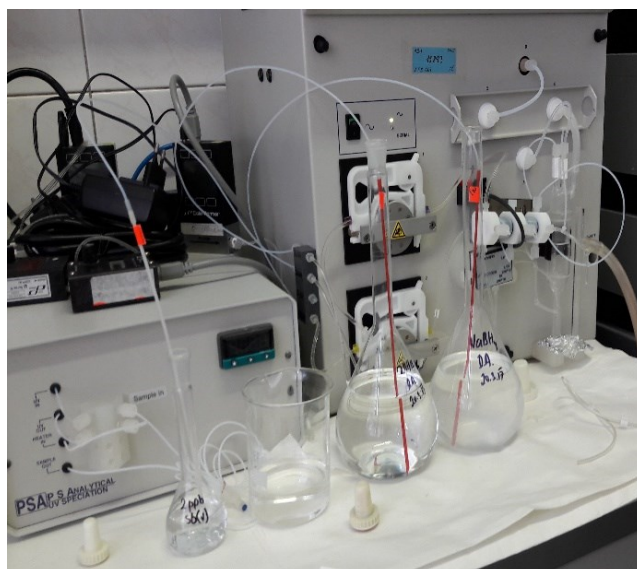
3.3 Experimentální uspořádání

3.3.1 Aparatura pro chemické generování

Níže uvedená aparatura (Obr. 3.1) byla použita pro chemické generování těkavých sloučenin antimonu. Vzorek antimonu byl nasáván pomocí peristaltické pumpy, a dále byl dávkován přes dávkovací ventil po dobu 20 s, do proudu 2 mol·dm⁻³ kyseliny chlorovodíkové, před reakční cívky bylo přiváděno redukční činidlo 0,7% NaBH₄, který byl stabilizován v 0,1 mol·dm⁻³ NaOH. Poté vzorek pokračoval do reakční cívky, kde vzniklá těkavá látka postupovala do separátoru fází. V separátoru fází byla plynná fáze oddělena od kapalně. Dále byla plynná fáze unášena společně s Ar (250 ml·min⁻¹) a H₂ (35 ml·min⁻¹) do atomizátoru, kde byl použit miniaturizovaný argon – vodíkový difúzní plamen s detekcí AFS. Jako zdroj záření, byla u všech generování, použita výbojka s vysokou září (tzv. Superlampa). Na Obr. 3.2 je uvedena fotografie skutečně použité aparatury.



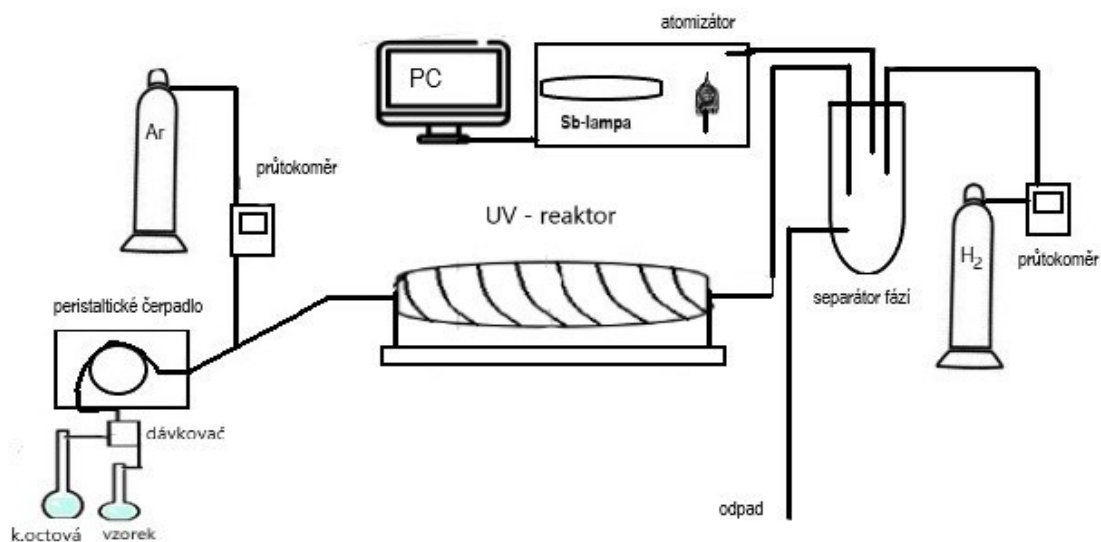
Obr. 3.1: Schéma aparatury použité pro chemické generování těkavých sloučenin antimonu a jejich detekci pomocí AFS



Obr. 3.2: Použitá aparatura pro chemické generování těkavých sloučenin antimonu a jejich detekci pomocí AFS

3.3.2 Aparatura pro UV – fotochemické generování

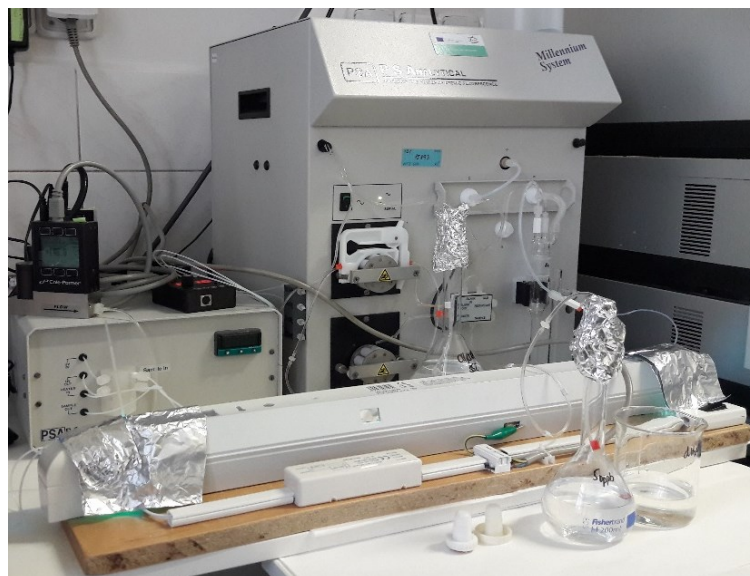
Níže uvedená aparatura v průtokovém uspořádání (Obr. 3.3) byla použita pro UV – fotochemické generování těkavých sloučenin antimonu. Připravený vzorek antimonu byl nasáván pomocí peristaltické pumpy, dále byl dávkován 20 s přes dávkovací ventil, do proudu roztoku kyseliny octové o koncentraci 35%obj. Za dávkovací ventil byl přiváděn nosný plyn (Ar), který vzorek unášel do UV- reaktoru. Průtok nosného plynu byl regulován průtokoměrem na $140 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Plynné látky včetně vygenerovaných těkavých sloučenin antimonu byly v separátoru fází odděleny od kapalné fáze a pokračovaly s H_2 (průtok $40 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$) do atomizátoru. K atomizaci byl použit argon – vodíkový difúzní plamen (MDF) v kombinaci s detekcí AFS. Jako sušící plyn byl použit N_2 (průtok $2,5 \text{ l}\cdot\text{min}^{-1}$).



Obr. 3.3: Schéma aparatury použité pro UV-fotochemické generování těkavých sloučenin antimonu a jejich detekci pomocí AFS

3.3.2.1 UV – reaktor

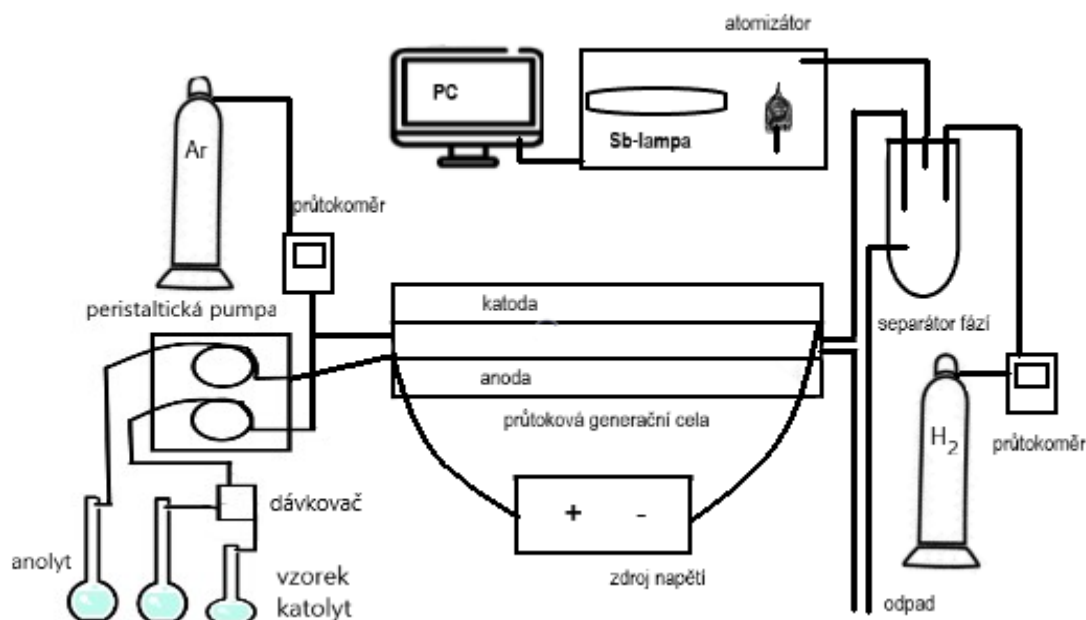
Jako UV-reaktor byl použit v laboratoři sestavený reaktor, který se skládal z nízkotlaké rtuťové UV - výbojky. Ta byla těsně omotaná PTFE kapilárou, kterou protékal vzorek. Jako optimální byla zvolena délka kapiláry 1,5 m. Celý UV – reaktor byl izolován krytem a hliníkovou folií, která zajišťovala ochranu před UV – zářením. Na Obr. 3.4 je uvedena fotografie skutečně použité aparatury včetně zakrytovaného UV - reaktoru.



Obr. 3.4: Použitá aparatura pro UV-fotochemické generování těkavých sloučenin antimonu a jejich detekci pomocí AFS

3.3.3 Aparatura pro elektrochemické generování

Níže uvedená aparatura (Obr. 3.5) byla použita pro elektrochemické generování těkavých sloučenin antimonu. Připravený roztok antimonu byl nasáván peristaltickou pumpou a byl dávkován přes dávkovací ventil po dobu 15 s, do proudu roztoku HCl. Před elektrochemickou cely byl přiváděn nosný plyn (Ar), který unášel vygenerovaný hydrid z cely, aby nedošlo k jeho opětovnému rozpuštění. Průtok nosného plynu byl regulován průtokoměrem na $130 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Nosný plyn napomáhá k rychlejšímu uvolňování těkavého hydridu z povrchu elektrody a v separátoru fází k rychlejšímu přenosu hydridu do atomizátoru. Do elektrochemické cely byl zvlášť přiváděn a také z ní odváděn roztok H_2SO_4 . Vygenerovaná těkavá látka byla následně v separátoru fází oddělena od kapalné matrice a společně s plynnou fází a H_2 (průtok $70 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$) byla unášena do atomizátoru. Detekce pomocí AFS probíhala opět v argon – vodíkovém difúzním plameni. Jako sušící plyn byl použit N_2 (průtok $2,5 \text{ l} \cdot \text{min}^{-1}$). Elektrochemická cely byla připojena k programovatelnému zdroji konstantního elektrického proudu o velikosti 1,4 A při napětí cca 7 V.

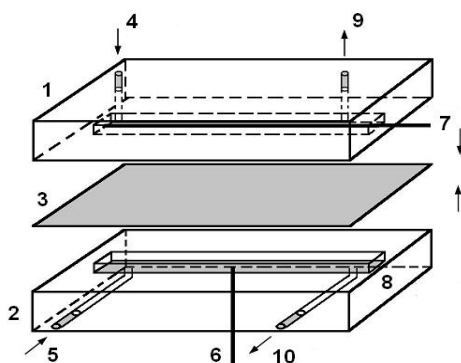


Obr. 3.5: Schéma aparatury použité pro elektrochemické generování těkavých sloučenin antimonu a jejich detekci pomocí AFS

3.3.3.1 Elektrochemická cely

Pro elektrochemické generování hydridů antimonu byla použita tenkovrstvá průtoková cely, která byla zhotovena v laboratoři (viz. Obr. 3.6). Byla vyrobena ze dvou kusů plexiskla. V prvním plexiskle byl vyfrézován žlábek, jenž tvořil katodový prostor, ve kterém byla uložena elektroda – olověný drátek ($S = 628 \text{ mm}^2$). Ve druhém byl rovněž vytvořen žlábek, kde byla uložena druhá elektroda – platinový plíšek ($S = 65,2 \text{ mm}^2$), tedy anodový prostor. Anodový a katodový prostor oddělovala iontově výměnná membrána z Nafionu 117. Obě plexiskla byla spojena šrouby a

elektrodové prostory byly utěsněny teflonovým těsněním. Použitá tenkovrstvá průtoková cela je dobře vidět i na fotografii aparatury na Obr. 3.7.



Obr. 3.6: Schéma tenkovrstvé průtokové cely[17]

1 – katodový blok, 2 – anodový blok, 3 – Nafionová membrána, 4 – přívod katolytu, 5 – přívod anolytu, 6 – anoda, 7 – katoda, 8 – anodový prostor, 9 – odvod do separátoru fází, 10 – odvod do odpadu



Obr. 3.7: Použitá aparatura pro elektrochemické generování těkavých sloučenin antimonu a jejich detekci pomocí AFS

3.4 Statistické vyhodnocení

Údaje získané při měření v této bakalářské práci byly statisticky zpracovány dle následujících postupů.

Z výsledků získaných opakovaným měřením byl vypočítán odhad střední hodnoty jako medián a odhad variability v podobě směrodatné odchylky výběru. Pro malý počet opakování n ($n < 7$) je robustnějším odhadem střední hodnoty medián \tilde{x} . Medián je střední hodnota z výběru seřazeného podle velikosti. Pro sudé n se medián počítá jako aritmetický průměr dvou prostředních hodnot. Aritmetický průměr byl počítán podle vzorce

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

kde n je počet měření a x_i získaná hodnota při naměřeném i -tém měření.

Charakteristikou náhodné chyby je tzv. směrodatná odchylka výběru (pro větší počet $n > 7$).

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

Charakteristikou relativní hodnoty náhodné chyby je relativní směrodatná odchylka (%). Zároveň je směrodatnou odchylkou vyjádřena opakovatelnost (série 10 výsledků změřených na stejném vzorku za stejných pracovních podmínek).

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \%$$

Kromě směrodatné odchylky můžeme použít k odhadu preciznosti výsledků rozpětí, které je ovšem méně vydatné a málo robustní:

$$R = x_{max} - x_{min}$$

kde x_{max} a x_{min} je největší a nejmenší hodnota celého náhodného výběru.

Pro každou metodu generování těkavých sloučenin byly určeny hodnoty meze detekce (LOD), meze stanovitelnosti (LOQ), lineární dynamický rozsah (LDR) a opakovatelnost.

Stanovení hodnot LOD a LOQ v této práci bylo provedeno dle následujícího postupu: desetkrát za sebou byly změřeny signály pro nejnižší možnou koncentraci analytu ve vzorku, při které již byla zaznamenána odezva přístroje.

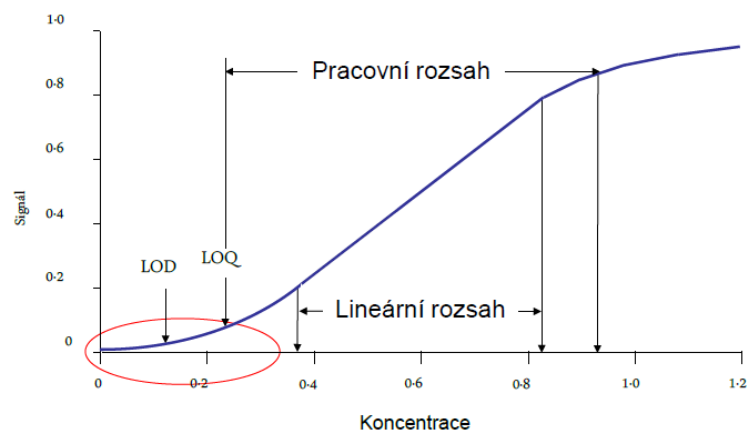
Mez detekce (LOD) označuje nejmenší koncentraci, při které je možno spolehlivě prokázat přítomnost analytu ve vzorku

$$LOD = \frac{\bar{x} + (3 \cdot s)}{a}$$

kde \bar{x} je průměr hodnot signálu deseti měření, s je směrodatná odchylka, a je směrnice kalibrační přímky.

Mez stanovitelnosti (LOQ) označuje nejmenší koncentraci analytu ve vzorku, kterou je možno použitou metodou stanovit s přijatelnou přesností.

$$LOQ = \frac{LOD}{3} \cdot 10$$



Obr.3.8: Porovnání limitu detekce, stanovitelnosti a lineárního rozsahu, upraveno dle [32]

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem mé bakalářské práce je porovnání různých metod generování těkavých sloučenin antimonu, konkrétně generování chemického, UV - fotochemického a elektrochemického.

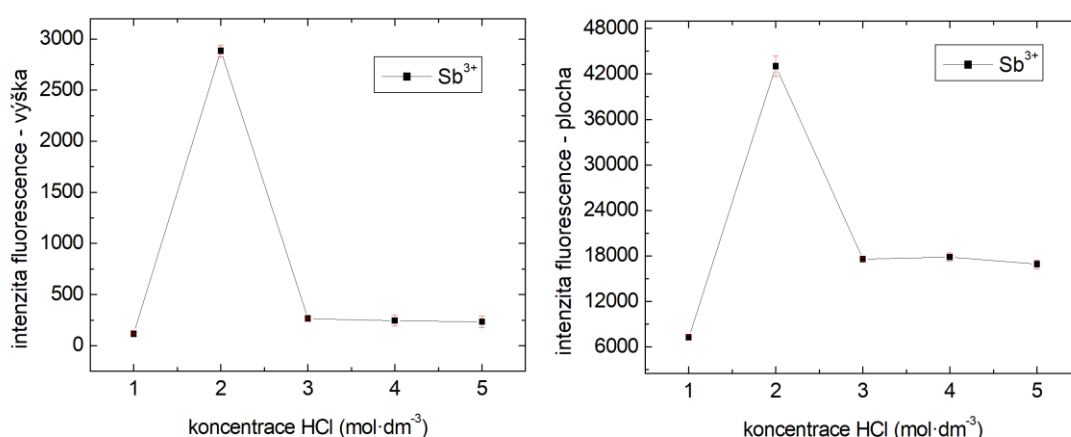
Nejprve byly provedeny optimalizace experimentálních podmínek pro každou metodu generování, např.: průtokové rychlosti nosného plynu, koncentrace kyseliny, délka reakční cívky, velikost generačního proudu atd. Poté byla změřena kalibrační závislost pro Sb^{3+} a Sb^{5+} při zvolených pracovních podmínkách a byly zjištěny základní charakteristiky stanovení těchto analytů.

4.1 CHEMICKÉ GENEROVÁNÍ TĚKAVÝCH SLOUČENIN Sb

Pro chemické generování byla nejprve provedena optimalizace všech relevantních experimentálních podmínek.

4.1.1 Optimalizace

Z důvodu omezeného rozsahu bakalářské práce zde jako nejzajímavější příklad optimalizace podmínek nejprobádanějšího způsobu generování uvádím pouze závislost relativní intenzity fluorescence (jak výšky, tak i plochy pod křivkou signálu) na koncentraci kyseliny chlorovodíkové v rozmezí 2 – 5 mol·dm⁻³ (Obr. 4.1). Jako redukční činidlo byl připraven 0,7% NaBH₄ v 0,1 mol·dm⁻³ NaOH. Tento roztok byl vždy připravován čerstvý z důvodu nestability. Pro optimalizaci pracovních podmínek byl použit pouze Sb^{3+} o koncentraci 25 ppb z důvodu lepších hodnot signálu a snadnější přípravy zásobního roztoku. Průtok nosného plynu byl 250 ml·min⁻¹ a průtok vodíku 35 ml·min⁻¹, optimalizace byla prováděna s citlivostí detektoru 100.



Obr. 4.1: Závislost intenzity fluorescence na koncentraci kyseliny chlorovodíkové
 $c_{\text{Sb}^{3+}} = 25 \text{ ppb}$, $Fr_{Ar} = 250 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, $Fr_{\text{H}_2} = 35 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, $c_{\text{NaBH}_4} = 0,7 \%$ v $0,1 \text{ M NaOH}$, $Fr_{\text{kapalin}} = 2,3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$,
citlivost 100, $l_{\text{cívky}} = 1,57 \text{ m}$

Z Obr. 4.1 je zřejmé, že nejvyšší hodnota intenzity fluorescence (jak při odečítání výšky, tak i plochy) byla zjištěna při chemickém generování s koncentrací HCl 2 mol·dm⁻³, která byla používána pro další experimenty. Ve srovnání např. s detekcí pomocí AAS je zjištěné maximum výrazně ostřejší a svědčí o tom, že se s velkou pravděpodobností nejedná pouze o optimalizaci kroku generování, ale zároveň jsou významně ovlivňovány i podmínky atomizace.

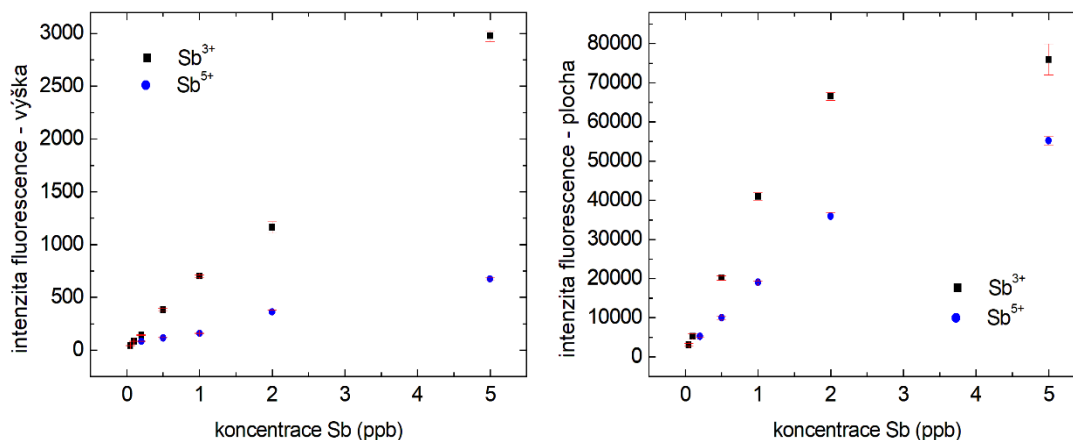
Optimální pracovní podmínky jsou shrnuty v Tab. 4.1.

Tab. 4.1 Souhrn optimálních pracovních podmínek pro CHG

Parametr	Optimální hodnoty
průtoková rychlost Ar (ml·min ⁻¹)	250
průtoková rychlost H ₂ (ml·min ⁻¹)	35
koncentrace HCl (mol·dm ⁻³)	2
koncentrace NaBH ₄ (% hm.)	0,7
nastavená citlivost AFS	100
průtoková rychlost roztoků (ml·min ⁻¹)	2,3

4.1.2 Kalibrační závislosti pro Sb³⁺ a Sb⁵⁺

Následně byly měřeny kalibrační závislosti pro oba anorganické ionty antimonu (Obr. 4.2). Pro Sb³⁺ bylo použito rozmezí koncentrací 0,05 – 5 ppb a pro Sb⁵⁺ rozmezí koncentrací 0,2 – 5 ppb.



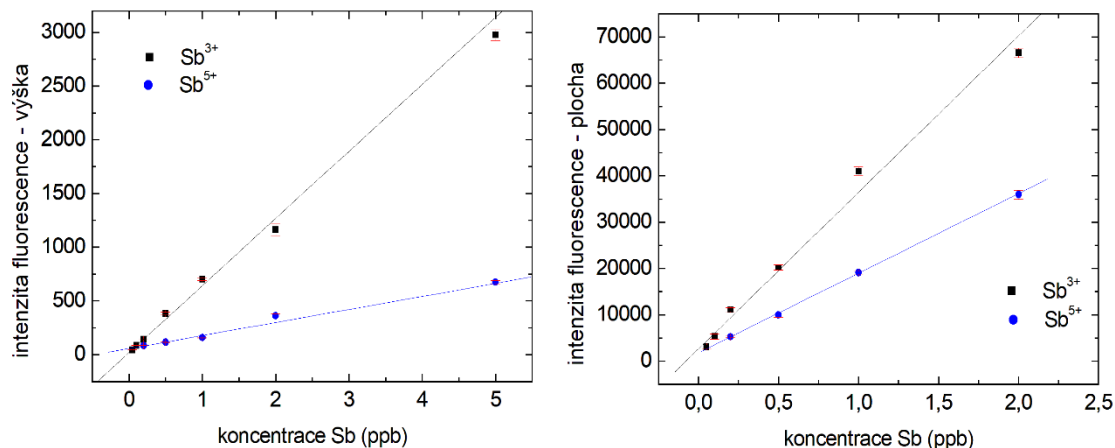
Obr. 4.2: Kalibrační závislosti pro vzorky Sb³⁺ a Sb⁵⁺ pro chemické generování těkavých sloučenin a jejich detekci pomocí AFS

$$Fr_{Ar} = 250 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}, Fr_{H_2} = 35 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}, c_{NaBH_4} = 0,7 \% \text{ v } 0,1M \text{ NaOH}, c_{HCl} = 2 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3},$$

$$Fr_{kapalin} = 2,3 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}, \text{citlivost } 100, l_{civky} = 1,57 \text{ m}$$

Lineární částí každé kalibrační závislosti byla proložena přímka (Obr. 4.3), ze které bylo provedeno vyhodnocení výkonnostních parametrů metody (viz. Tab. 4.2). Z uvedeného porovnání lze usoudit, že stanovení Sb³⁺ pomocí CHG je vždy nejméně dvakrát citlivější než stanovení Sb⁵⁺ a odpovídají tomu i cca poloviční meze detekce (LOD) a stanovitelnosti (LOQ) v případě vyhodnocování z ploch pod křivkou naměřených časových průběhů intenzity

fluorescence. Při vyhodnocování z výšek těchto signálů byla citlivost stanovení Sb^{3+} až pětinasobná ve srovnání s citlivostí stanovení Sb^{5+} a lineární dynamické rozsahy (LDR) byly významně širší. Potvrdila se zkušenost, že reakce s Sb^{5+} s $NaBH_4$, za vzniku SbH_3 probíhá pomaleji a s menší výtěžností než reakce s Sb^{3+} . [9]



Obr. 4.3.: Lineární část kalibrační závislosti intenzity fluorescence na koncentraci Sb^{3+} a Sb^{5+}

$$Fr_{Ar} = 250 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}, Fr_{H_2} = 35 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}, c_{NaBH_4} = 0,7 \% \text{ v } 0,1M \text{ NaOH}, c_{HCl} = 2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3},$$

$$Fr_{kapalin} = 2,3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}, \text{citlivost } 100, l_{civky} = 1,57 \text{ m}$$

Tab. 4.2: Porovnání základních charakteristik pro stanovení Sb^{3+} a Sb^{5+} pomocí CHG

ion	Sb^{3+}		Sb^{5+}	
	výška	plocha	výška	plocha
veličina				
LOD (ppb)	0,13	0,12	0,31	0,28
LOQ (ppb)	0,43	0,40	1,03	0,93
Korelační koeficient	0,9940	0,9932	0,9927	0,9529
LDR (ppb)	0,43 - 5	0,40 - 2	1,03 - 5	0,93 - 2
Citlivost ($l \cdot \mu\text{g}^{-1}$)	625	33780	121	17199
Opakovatelnost (%)	5,1	2,4	3,2	4,2

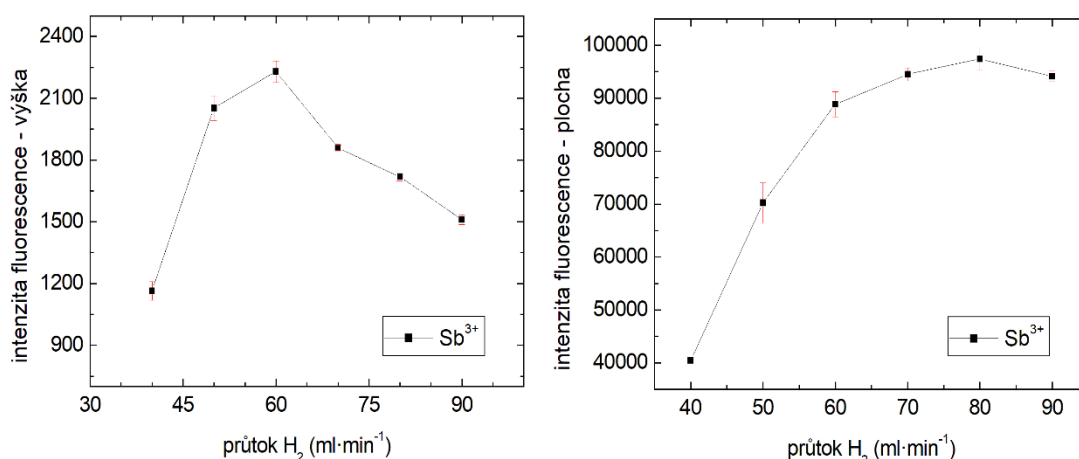
4.2 UV – FOTOCHEMICKÉ GENEROVÁNÍ TĚKAVÝCH SLOUČENIN Sb

Také pro UV - fotochemické generování těkavých sloučenin antimonu byla nejprve provedena optimalizace všech relevantních experimentálních podmínek.

4.2.1 Optimalizace průtokové rychlosti plynů

V úvodu testování UV-fotochemického generování byla provedena optimalizace průtokové rychlosti argonu. Nosný plyn byl zaváděn před UV – reaktor, z důvodu vyšší odezvy ve srovnání

s jeho zaváděním až do separátoru fází. Pravděpodobným důvodem tohoto podstatného zvýšení odezvy není zvýšení účinnosti generování těkavých sloučenin, ale spíše zvýšení účinnosti jejich přechodu z kapalné do plynné fáze z důvodu zvětšení celkové plochy v součtu mnoha dílčích fázových rozhraní. Tato optimalizace byla prováděna s roztokem o koncentraci Sb^{3+} 10 ppb a 40% kyselinou octovou a nastavenou citlivostí přístroje 100. Měření bylo nejprve prováděno postupným zvedáním průtoku agonu, kde hodnota signálu stoupala s rostoucí velikostí průtoku argonu, při hodnotě $140 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ dosáhla maxima a při vyšších hodnotách mírně klesala. Při průtoku Ar $140 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ byl hledán optimální průtok H_2 , resp. poměr mezi Ar a H_2 , jak je vyneseno do grafů na Obr. 4.4.



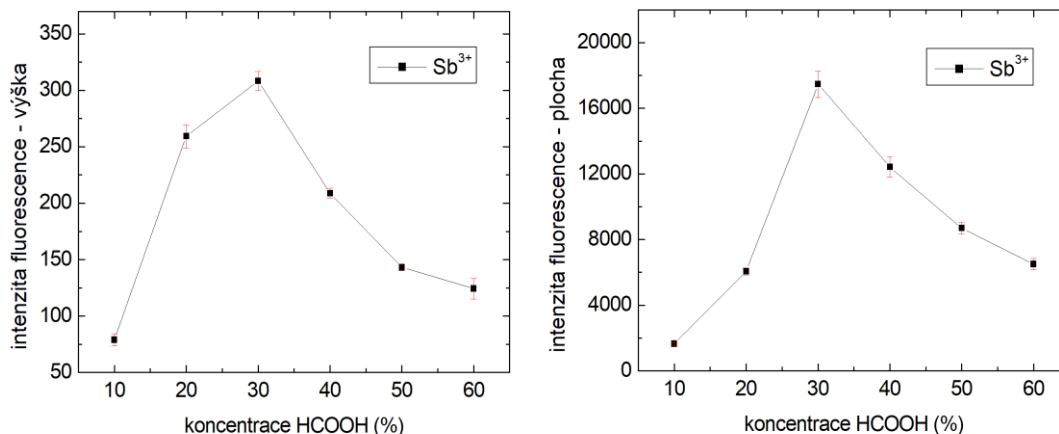
Obr. 4.4: Závislost intenzity fluorescence pro Sb^{3+} na průtoku H_2

$c_{\text{Sb}^{3+}} = 10 \text{ ppb}$, $Fr_{\text{Ar}} = 250 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, $c_{\text{CH}_3\text{COOH}} = 40 \%$, citlivost 100, $Fr_{\text{kapalin}} = 2,3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, $l_{\text{cívky}} = 387 \text{ cm}$

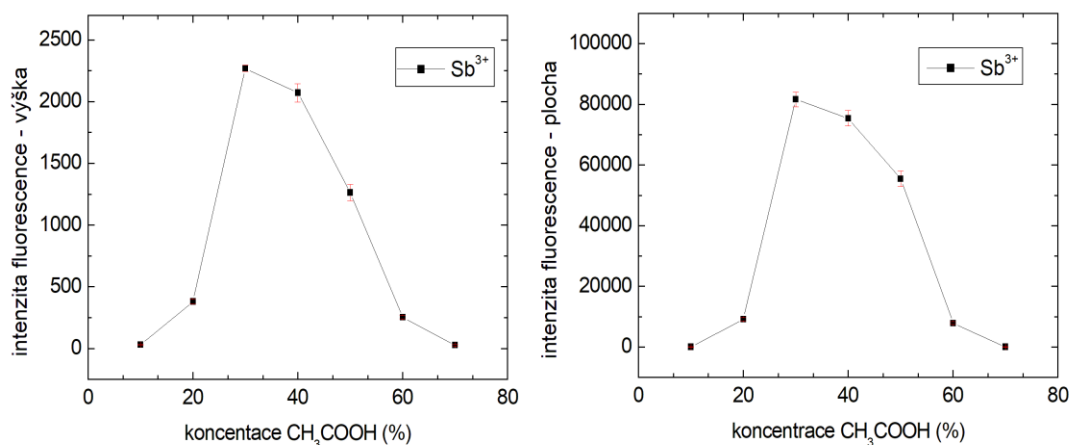
Z Obr. 4.4 je patrné, že při vyhodnocování z výšek signálů (intenzity fluorescence) bylo dosaženo maxima již při $60 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Zatímco při vyhodnocování z ploch bylo maxima dosaženo až při hodnotě $80 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Pro další použití byl tedy zvolen průtok H_2 jako kompromis mezi těmito hodnotami, tedy při $70 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$. Pro AFS detektory se průtoky nosného plynu obvykle pohybují řádově ve stovkách $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$, obecně platí, že vysoké průtokové rychlosti ovlivňují pozitivně šum signálu, ale také snižují citlivost stanovení daného prvku[33].

4.2.2 Volba vhodné kyseliny a optimalizace její koncentrace

V následující optimalizaci koncentrace kyseliny byly provedeny dvě série měření (s kyselinou mravenčí - graf na Obr. 4.5 a octovou - graf na Obr. 4.6), ve kterých bylo zjišťováno, která organická kyselina je pro UV – fotochemické generování vhodnější. Koncentrace Sb^{3+} byla opět 10 ppb. Průtokové rychlosti Ar a H_2 byly nastaveny na 140 a $70 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ a citlivost přístroje na 100.



Obr. 4.5: Závislost intenzity fluorescence pro Sb^{3+} na koncentraci kyseliny mravenčí
 $C_{\text{Sb}^{3+}} = 10 \text{ ppb}$, $Fr_{\text{Ar}} = 140 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, $Fr_{\text{H}_2} = 70 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, citlivost 100, $Fr_{\text{kapalin}} = 2,3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$,
 $l_{\text{cívky}} = 387 \text{ cm}$

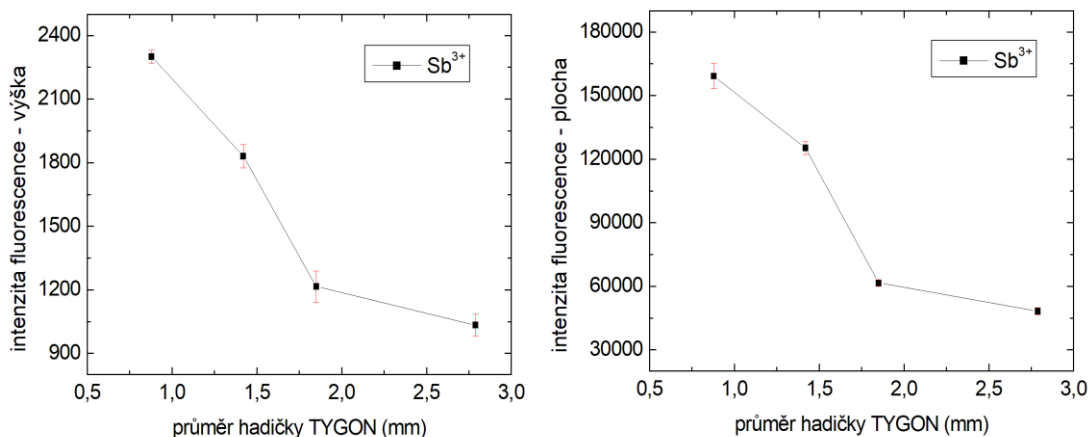


Obr. 4.6: Závislost intenzity fluorescence pro Sb^{3+} na koncentraci kyseliny octové
 $C_{\text{Sb}^{3+}} = 10 \text{ ppb}$, $Fr_{\text{Ar}} = 140 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, $Fr_{\text{H}_2} = 70 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, citlivost 100, $Fr_{\text{kapalin}} = 2,3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$,
 $l_{\text{cívky}} = 387 \text{ cm}$

Z Obr. 4.5 a 4.6 vyplývá, že nejvyšších hodnot signálu dosahovaly obě kyseliny při koncentraci 30%obj., ale kyselina octová způsobovala přibližně 6× vyšší hodnoty signálu, jak při vyhodnocování výšky tak i plochy, než kyselina mravenčí. Proto byla také zvolena pro další měření. Potvrdila se zkušenost, že kyselina octová se více hodí pro UV – PHG hydridotvorných prvků, podle Zheng a kol., než kyselina mravenčí, která je vhodnější pro generování těkavých specií Fe, Co a Ni[13]. Koncentrace kyseliny octové byla zvolena 35 %obj., z důvodů nižšího poklesu hodnot signálu mezi 30 – 40 % oproti nárůstu mezi 20 – 30 %, pro zvýšení robustnosti metody, aby bylo zabráněno případné chybě, která by mohla vzniknout v důsledku změny pH doprovodnými složkami vzorku.

4.2.3 Optimalizace průtokové rychlosti roztoku analytu

Z důvodu nepěkného tvaru signálu získaného při předchozí optimalizaci, byla provedena také optimalizace průtokové rychlosti roztoku analytu, různými průměry Tygonových čerpacích hadiček (Obr. 4.7). Koncentrace Sb^{3+} byla použita opět stejná, tedy 10 ppb, 35% CH_3COOH , průtoková rychlost Ar byla $140 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$, průtok H_2 byl nastaven na $70 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ a citlivost detektoru na 100.



Obr. 4.7: Závislost intenzity fluorescence na vnitřním průměru Tygonové čerpací hadičky

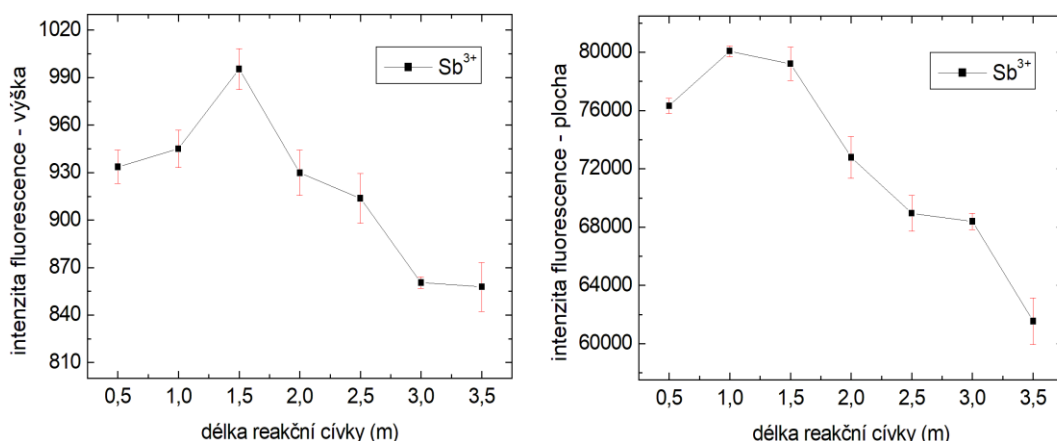
$$c_{\text{Sb}^{3+}} = 10 \text{ ppb}, Fr_{\text{Ar}} = 140 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}, Fr_{\text{H}_2} = 70 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}, c_{\text{CH}_3\text{COOH}} = 35 \%, \text{citlivost } 100,$$

$$l_{\text{cívky}} = 387 \text{ cm}$$

Z Obr. 4.7 je patrné, že nejvhodnější průměr Tygonové hadičky byl 0,88 mm, který zvýšil jak hodnoty intenzity fluorescence, tak sjednotil široký nízký pík s několika fluktuacemi do jednoho úzkého a hlavně reprodukovatelného. Výsledná průtoková rychlost roztoku analytu byla stanovena na $2,5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$.

4.2.4 Optimalizace délky reakční cívky UV – reaktoru

Jako poslední byla provedena optimalizace délky reakční cívky UV – reaktoru (Obr. 4.8). Délka reakční cívky byla pro předchozí optimalizace 387 cm. Postupně byla její délka snižována vždy o cca 50 cm. Koncentrace Sb^{3+} byla 10 ppb, dále byla použita 35% kyselina octová, průtoková rychlost Ar $140 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$, H_2 $70 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$ a nastavená citlivost přístroje 100.



Obr. 4.8: Závislost intenzity fluorescence na délce reakční cívky

$$c_{Sb^{3+}} = 10 \text{ ppb}, Fr_{Ar} = 140 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}, Fr_{H_2} = 70 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}, c_{CH_3COOH} = 35\%, \text{citlivost } 100, \\ Fr_{kapalin} = 2,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$$

Z Obr. 4.8 vidíme, že intenzita fluorescence při odečítání signálu z výšky dosáhla maxima při délce 1,5 m a při odečtu z plochy je nejvyšší u 1,0 m. Jako nejvhodnější byla zvolena délka reakční cívky UV – reaktoru 1,5 m, protože velikost plochy při této délce byla jen nepatrně nižší než pro délku 1 m. Naopak při vyhodnocování z výšky pro cívku délky 1,0 m intenzita fluorescence prudce poklesla oproti výsledku s cívkou délky 1,5 m.

4.2.5 Souhrn optimálních podmínek pro UV – PHG - AFS

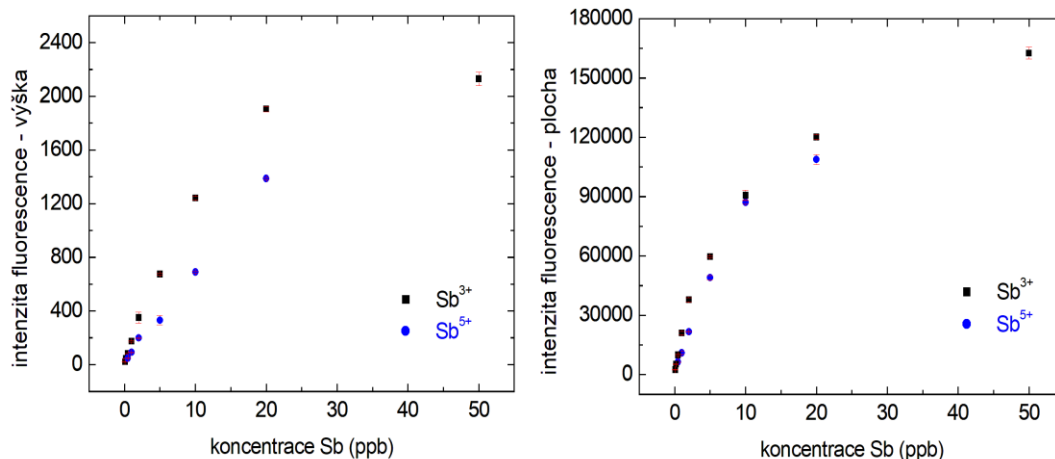
Všechny podmínky UV - fotochemického generování těkavých sloučenin pro stanovení anorganických sloučenin antimonu pomocí AFS a jejich optimální hodnoty jsou shrnuty v následující Tab. 4.3.

Tab 4.3: Souhrn optimálních podmínek pro UV – PHG - AFS

<i>Parametr</i>	<i>Optimální hodnoty</i>
<i>průtoková rychlost Ar (ml·min⁻¹)</i>	140
<i>průtoková rychlost H₂ (ml·min⁻¹)</i>	70
<i>délka reakční cívky (m)</i>	1,5
<i>koncentrace CH₃COOH (%obj.)</i>	35
<i>průtoková rychlost roztoku analytu (ml·min⁻¹)</i>	2,5

4.2.6 Kalibrační řada pro Sb³⁺ a Sb⁵⁺

Za optimálních pracovních podmínek uvedených v Tab. 4.3 byla změřena kalibrační řada pro Sb³⁺ v rozmezí koncentrací 0,2 – 50 ppb a pro Sb⁵⁺ v rozmezí 0,5 – 20 ppb (viz. Obr. 4.9).

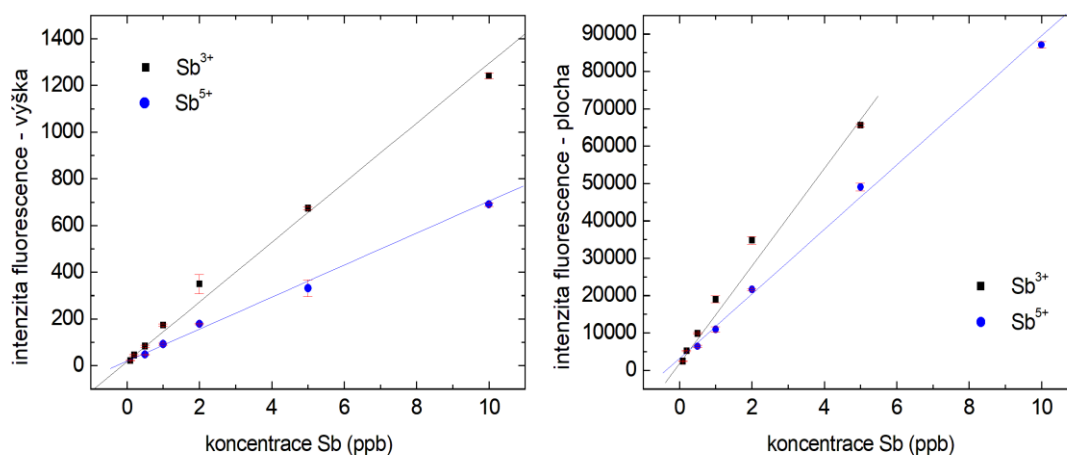


Obr 4.9: Kalibrační závislost pro vzorky Sb^{3+} a Sb^{5+} při UV – fotochemickém generování těkavých sloučenin a jejich detekci pomocí AFS

$$Fr_{Ar}=140 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}, Fr_{H_2} = 70 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}, c_{CH_3COOH} = 35 \%, l_{civky} = 1,5 \text{ m}, \text{citlivost } 100,$$

$$Fr_{kapalin} = 2,5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$$

Lineární částí každé z kalibračních závislostí byly proloženy přímkami, ze kterých bylo provedeno vyhodnocení výkonnostních charakteristik metody (viz. Tab. 4.4). Z uvedeného porovnání lze usoudit, že stanovení Sb^{3+} pomocí UV-PHG je také citlivější než stanovení Sb^{5+} , přičemž rozdíly již nejsou tak markantní. Zejména při vyhodnocování z ploch pod křivkou naměřených časových průběhů intenzity fluorescence jsou meze detekce (LOD) a stanovitelnosti (LOQ) i lineární dynamické rozsahy (LDR) srovnatelné, což činí tento způsob generování potenciálně využitelný pro on-line speciální analýzu ve spojení s HPLC. Vyhodnocování z výšky signálů doprovází v případě UV-PHG zvýšená variabilita, která se promítá i do zúženého LDR.



Obr. 4.10: Lineární část kalibrační závislosti intenzity fluorescence na koncentraci Sb^{3+} a Sb^{5+}

$$Fr_{Ar}=140 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}, Fr_{H_2} = 70 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}, c_{CH_3COOH} = 35 \%, l_{civky} = 1,5 \text{ m}, \text{citlivost } 100,$$

$$Fr_{kapalin} = 2,5 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$$

Tab. 4.4: Základní charakteristiky pro stanovení Sb^{3+} a Sb^{5+} pomocí UV - fotochemického generování těkavých sloučenin a AFS detekce

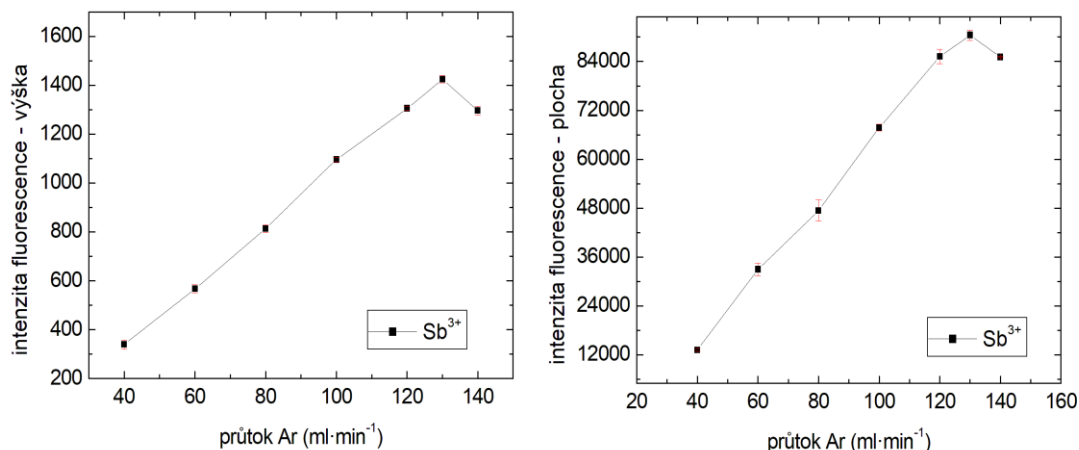
ion	Sb^{3+}		Sb^{5+}	
	<i>výška</i>	<i>plocha</i>	<i>výška</i>	<i>plocha</i>
<i>LOD (ppb)</i>	0,33	0,28	0,55	0,35
<i>LOQ (ppb)</i>	1,10	0,93	1,83	1,16
<i>Korelační koeficient</i>	0,9976	0,9940	0,9965	0,9976
<i>LDR (ppb)</i>	1,10 - 10	0,93 - 5	1,83 - 10	1,16 - 10
<i>Citlivost ($l \cdot \mu\text{g}^{-1}$)</i>	128	13060	69	8639
<i>Opakovatelnost (%)</i>	7,8	1,8	3,8	3,6

4.3 ELEKTROCHEMICKÉ GENEROVÁNÍ TĚKAVÝCH SLOUČENIN Sb

Stejně jako u předchozích dvou způsobů generování těkavých sloučenin antimonu byla i v případě elektrochemického generování nejprve provedena optimalizace všech relevantních experimentálních podmínek.

4.3.1 Optimalizace průtokové rychlosti nosného plynu

První byla provedena optimalizace průtokové rychlosti nosného plynu pro tenkovrstvou průtokovou celu. V této práci byl jako nosný plyn vždy použit argon. Nosný plyn byl zaváděn před elektrochemickou celu, a to z důvodu vyšší účinnosti generování hydridu antimonu. Nosný plyn napomáhá k snadnějšímu uvolňování těkavé látky z povrchu katody, proto je dosaženo vyšších signálů. Optimalizace byla prováděna s Sb^{3+} ($c_{\text{Sb}^{3+}} = 100$ ppb), s citlivostí 100, průtokem vodíku $40 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, generačním proudem 0,5 A a koncentrací HCl $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.



Obr. 4.11: Závislost intenzity fluorescence na průtokové rychlosti nosného plynu tenkovrstvou průtokovou celou

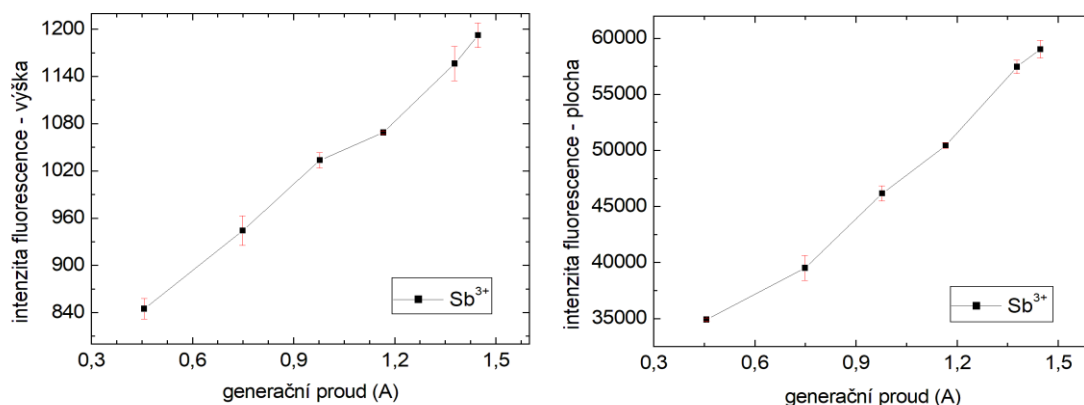
$$c_{Sb^{3+}} = 100 \text{ ppb}, Fr_{H_2} = 40 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}, I = 0,5 \text{ A}, c_{HCl} = 1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3},$$

$$c_{H_2SO_4} = 2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}, \text{citlivost } 100, Fr_{kapalin} = 2,3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$$

Z Obr. 4. 11. je patrné, že signál roste úměrně se zvyšujícím se průtokem nosného plynu téměř lineárně až do hodnoty 130 ml·min⁻¹, pak nastává pokles hodnot. Další zvyšování průtoku argonu nebylo možné, z důvodu nestálého plamenu. Za nejvhodnější průtokovou rychlost nosného plynu byla zvolena hodnota 130 ml·min⁻¹, kdy bylo dosaženo maxima.

4.3.2 Optimalizace generačního proudu

Dále byla provedena optimalizace generačního proudu pro tenkovrstvou průtokovou celou. Generační proud byl volen v rozmezí hodnot 0,5 – 1,5 A pro vzorek Sb³⁺ s koncentrací 25 ppb, průtoková rychlost argonu byla 130 ml·min⁻¹, průtoková rychlost vodíku 40 ml·min⁻¹, koncentrace HCl v katolytu (katodovém roztoku) 1 mol·dm⁻³ a citlivost spektrometru 100.



Obr. 4.12: Závislost intenzity fluorescence na velikosti generačního proudu pro Sb³⁺

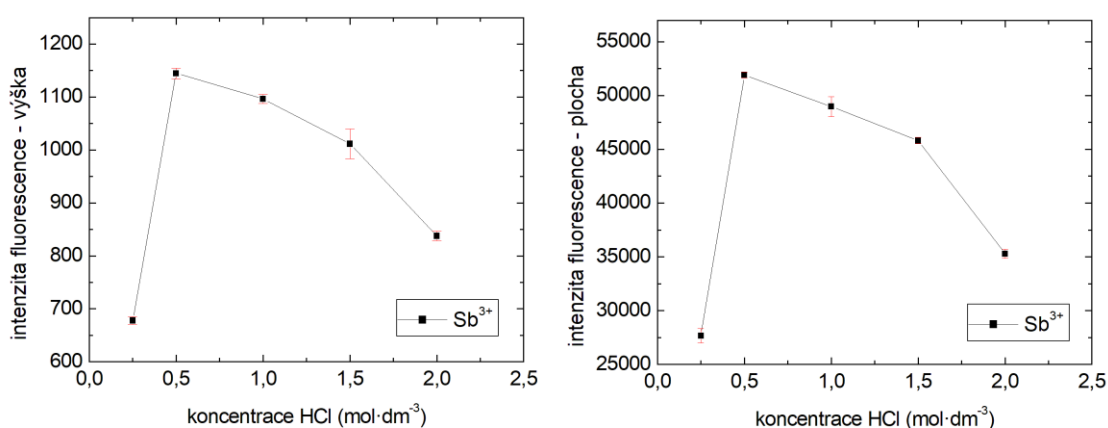
$$c_{Sb^{3+}} = 25 \text{ ppb}, Fr_{Ar} = 130 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}, Fr_{H_2} = 40 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}, c_{HCl} = 1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3},$$

$$c_{H_2SO_4} = 2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}, \text{citlivost } 100, Fr_{kapalin} = 2,3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$$

Z Obr. 4.12 je zřejmé, že signál vzrůstá úměrně se zvyšující se hodnotou generačního proudu lineárně, až do hodnoty 1,5 A. U hodnoty 1,5 A však bylo pozorováno i maximální napětí zdroje a kolísání proudu. V souvislosti s tím, že zdroj nebyl schopen udržet konstantní proud a že docházelo k přílišnému zahřívání elektrolyzovaných roztoků, které by mělo negativní vliv na elektrolytickou celou, byla zvolena hodnota generačního proudu 1,4 A.

4.3.3 Optimalizace koncentrace HCl v katolytu

Jako třetí v pořadí byla provedena optimalizace složení katolytu. Byly voleny koncentrace HCl v rozmezí 0,25 – 2,0 mol·dm⁻³, roztoky katolytu obsahovaly Sb³⁺ o koncentraci 25 ppb. Průtoková rychlost Ar byla 130 ml·min⁻¹, H₂ měl průtok 40 ml·min⁻¹, nastavená citlivost detektoru byla 100 a generační proud měl hodnotu 1,4 A.



Obr. 4.13: Závislost intenzity fluorescence na koncentraci HCl v katolytu pro Sb³⁺
 $c_{Sb^{3+}} = 25 \text{ ppb}$, $Fr_{Ar} = 130 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, $Fr_{H_2} = 40 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$, $I = 1,4 \text{ A}$, $c_{H_2SO_4} = 2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$,
citlivost 100, $Fr_{kapalin} = 2,3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$

Z Obr. 4.13 je patrné, že při koncentraci 0,5 mol·dm⁻³ dosáhne intenzita fluorescence maxima. Nižší koncentrace HCl je evidentně nedostatečná, naopak při vyšší dochází ke stále výraznějšímu poklesu. Obecně platí, že účinnost generování hydridů roste s klesající koncentrací kyseliny[15], Proto za vhodnou hodnotu koncentrace HCl v katolytu byla zvolena 0,5 mol·dm⁻³.

4.3.4 Souhrn optimálních podmínek pro ECHG

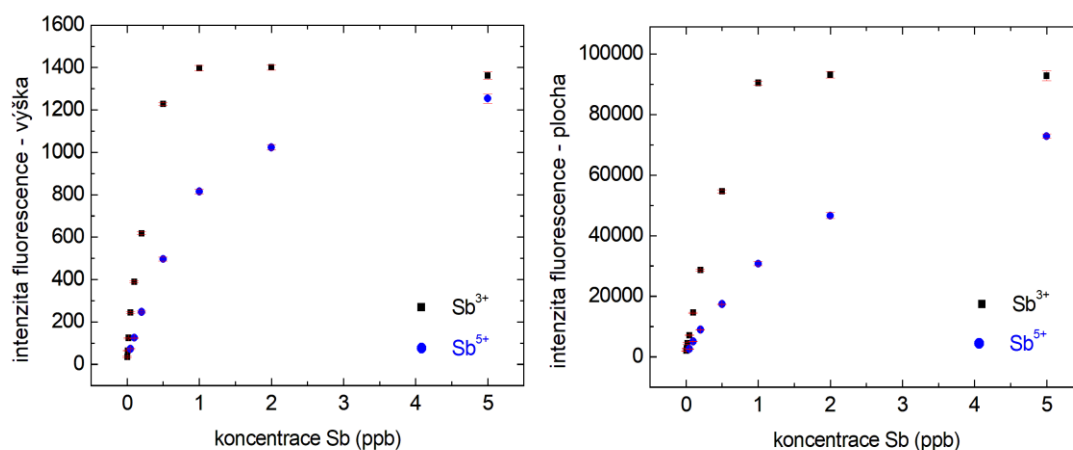
Všechny podmínky elektrochemického generování těkavých sloučenin pro stanovení anorganických sloučenin antimonu pomocí AFS a jejich optimální hodnoty jsou shrnuty v následující Tab. 4.5.

Tab 4.5: Souhrn optimálních podmínek pro EcHG z Sb^{3+} a Sb^{5+}

Parametr	Optimální hodnoty
průtoková rychlost Ar ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$)	130
průtoková rychlost H_2 ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$)	40
generační proud (A)	1,4
koncentrace HCl ($\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) v katolytu	0,5
koncentrace H_2SO_4 ($\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$) v anolytu	2
průtoková rychlost roztoku analytu ($\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$)	2,3

4.3.5 Kalibrační závislost pro Sb^{3+} a Sb^{5+}

Po zjištění optimálních pracovních podmínek (viz. Tab. 4.5) byla změřena kalibrační řada pro Sb^{3+} v rozmezí koncentrací nižších, než při předchozím UV – fotochemickém generování, a to 0,01 – 5 ppb, a pro Sb^{5+} v rozmezí 0,05 – 5 ppb, viz Obr. 4.14.

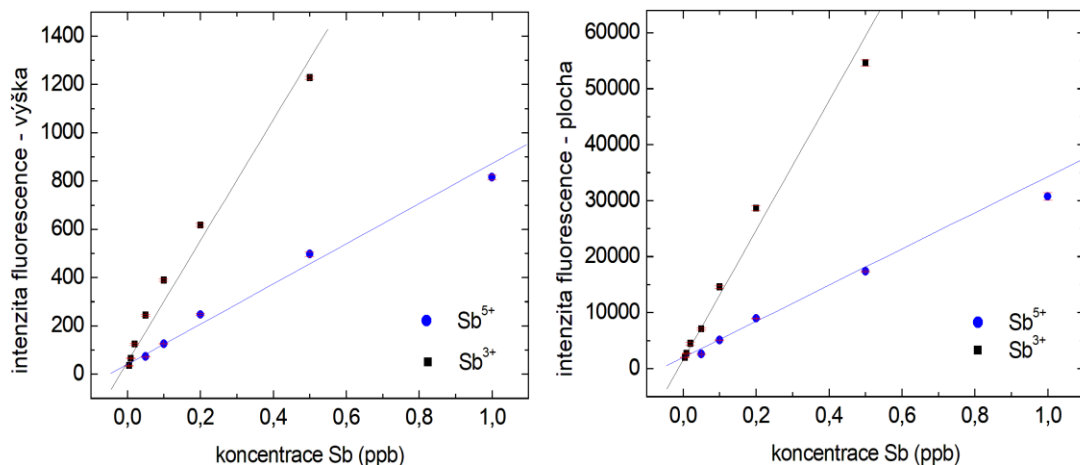


Obr. 4.14: Kalibrační závislosti pro Sb^{3+} a Sb^{5+} pro elektrochemické generování těžkých sloučenin a jejich detekci pomocí AFS

$$Fr_{Ar} = 130 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}, Fr_{H_2} = 40 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}, I = 1,4 \text{ A}, c_{HCl} = 0,5 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3},$$

$$c_{H_2SO_4} = 2 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}, \text{citlivost } 100, Fr_{kapalin} = 2,3 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$$

Lineární částí každé z kalibračních závislostí byly proloženy přímkami, ze kterých bylo provedeno vyhodnocení výkonnostních charakteristik metody (viz Tab. 4.6 a Obr. 4.15). Ačkoli se elektrochemické generování těžkých sloučenin v případě stanovení Sb^{3+} i Sb^{5+} pomocí AFS za daných podmínek vyznačuje o řád nižšími mezemi detekce a stanovitelnosti než předchozí dva způsoby, jeho velkou nevýhodou je rozdílnost v citlivosti stanovení jednotlivých iontů. Více než třikrát citlivější je totiž stanovení Sb^{3+} než Sb^{5+} , čemuž odpovídají i cca 3,5 - 6,5krát vyšší meze detekce antimonitých iontů ve srovnání s ionty antimonitými.



Obr. 4.15: Lineární části kalibračních závislostí pro Sb^{3+} a Sb^{5+} pro elektrochemické generování těkavých sloučenin a jejich detekci pomocí AFS

$$Fr_{Ar} = 130 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}, Fr_{H_2} = 40 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}, I = 1,4 \text{ A}, c_{HCl} = 0,5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3},$$

$$c_{H_2SO_4} = 2 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}, \text{citlivost } 100, Fr_{kapalin} = 2,3 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$$

Tab. 4.6: Základní charakteristiky stanovení Sb^{3+} a Sb^{5+} pomocí elektrochemického generování těkavých sloučenin a jejich detekce pomocí AFS

ion	Sb^{3+}		Sb^{5+}	
	výška	plocha	výška	plocha
LOD (ppt)	9	13	59	45
LOQ (ppt)	30	43	197	150
Korelační koeficient	0,9864	0,9929	0,9952	0,9751
LDR (ppt)	30 - 500	43 - 500	197-1000	150-1000
Citlivost ($l \cdot \mu\text{g}^{-1}$)	2511	115652	832	32329
Opakovatelnost (%)	3,5	6,1	3,9	4,6

4.4 POROVNÁNÍ JEDNOTLIVÝCH METOD GENEROVÁNÍ

V následujících dvou tabulkách jsou pro přehlednost shrnuty výkonnostní charakteristiky všech tří zkoumaných způsobů generování těkavých sloučenin z Sb^{3+} a Sb^{5+} při vyhodnocování z výšky (Tab. 4.7), resp. z plochy (Tab. 4.8) signálů měřených atomovým fluorescenčním spektrometrem.

Tab. 4. 7.: Souhrn výsledků intenzity fluorescence – výška, pro všechna tři provedená generování hydridů Sb³⁺ a Sb⁵⁺

		CHG	UV - PHG	EcHG
Sb³⁺	<i>LOD (ppb)</i>	0,13	0,33	9·10 ⁻³
	<i>LOQ (ppb)</i>	0,43	1,1	0,030
	<i>Korelační koeficient</i>	0,9940	0,9976	0,9864
	<i>LDR (ppb)</i>	0,43 - 5	1,1-10	0,030- 0,5
	<i>Citlivost (l·μg⁻¹)</i>	625	128	2511
	<i>Opakovatelnost (%)</i>	5,1	7,8	3,5
Sb⁵⁺	<i>LOD (ppb)</i>	0,31	0,55	0,059
	<i>LOQ (ppb)</i>	1,0	1,8	0,20
	<i>Korelační koeficient</i>	0,9927	0,9965	0,9952
	<i>LDR (ppb)</i>	1,0 - 5	1,8 - 10	0,20 - 1
	<i>Citlivost (l·μg⁻¹)</i>	121	69	832
	<i>Opakovatelnost (%)</i>	3,2	3,8	3,9

Tab. 4. 8.: Souhrn výsledků intenzity fluorescence – plocha, pro všechna tři provedená generování hydridů Sb³⁺ a Sb⁵⁺

		CHG	UV - PHG	EcHG
Sb³⁺	<i>LOD (ppb)</i>	0,12	0,28	0,013
	<i>LOQ (ppb)</i>	0,40	0,93	0,043
	<i>Korelační koeficient</i>	0,9932	0,9940	0,9929
	<i>LDR (ppb)</i>	0,40 - 2	0,93 - 5	0,043 – 0,5
	<i>Citlivost (l·μg⁻¹)</i>	33780	13060	115652
	<i>Opakovatelnost (%)</i>	2,4	1,8	6,1
Sb⁵⁺	<i>LOD (ppb)</i>	0,28	0,35	0,045
	<i>LOQ (ppb)</i>	0,93	1,2	0,15
	<i>Korelační koeficient</i>	0,9529	0,9976	0,9751
	<i>LDR (ppb)</i>	0,93 - 2	1,2 - 10	0,15 - 1
	<i>Citlivost (l·μg⁻¹)</i>	17199	8639	32329
	<i>Opakovatelnost (%)</i>	4,2	3,6	4,6

5 ZÁVĚR

Cílem mé bakalářské práce bylo porovnání třech metod generování těkavých sloučenin z Sb^{3+} a Sb^{5+} pro potřeby jejich stanovení pomocí atomové fluorescenční spektrometrie. Jednalo se o chemické generování, UV – fotochemické generování a elektrochemické generování.

Nejprve jsem se zabývala nejpoužívanějším generováním těkavých látek, a to chemickým. Po optimalizaci metody, byla získána kalibrační závislost v rozmezí koncentrací od 0,1 do 5 ppb, přičemž pro obě mocenství antimonu byla závislost intenzity fluorescence na koncentraci při vyhodnocování z výšek signálů lineární v plném rozsahu. Při vyhodnocování z ploch byla kalibrační křivka lineární pouze od 0,9 do 2 ppb. Citlivost metody byla 5× větší pro Sb^{3+} při vyhodnocování z výšek.

Jako druhá v pořadí byla použita UV – fotochemická technika generování, při které podle předpokladu nebylo dosaženo takové citlivosti a tak nízkých hodnot limitů detekce jako při předchozím chemickém generování. Lineární část kalibrační křivky Sb^{3+} byla od 0,9 ppb do 5 ppb při čtení hodnot signálu z plochy. Dosaženo bylo limitu detekce 0,28 ppb a hodnoty limitu stanovitelnosti 0,93 ppb. Pro generování z Sb^{5+} byly získány hodnoty limitu detekce 0,35 ppb a limitu stanovitelnosti 1,2 ppb, přičemž lineární část kalibrační křivky byla od 1,2 do 10 ppb. Metoda byla zhruba 2× citlivější opět pro Sb^{3+} . Z porovnání tvaru získaných signálů pro Sb^{3+} a Sb^{5+} bylo vidět, že při stanovení Sb^{5+} nedosahovaly takové výšky jako v případě Sb^{3+} , ovšem plocha pro Sb^{5+} byla v poměru větší, což naznačuje pomalejší reakci tvorby nebo uvolňování příslušné těkavé sloučeniny z roztoku.

V poslední části mé práce jsem se věnovala elektrochemickému generování těkavých hydridů antimonu. U této techniky generování byla získána výrazně vyšší citlivost a nižší limit detekce, oproti přecházejícím generováním. Nižších hodnot mezi stanovitelnosti bylo opět dosaženo pro Sb^{3+} . Limit detekce byl 9 ppt, při vyhodnocování signálu z výšky píku a citlivost byla přibližně 4× větší než při chemickém generování (viz Tab. 4.7). Pro Sb^{5+} byla citlivost také výrazně vyšší než při přechozích generováních, a to přibližně až 7×, opět při vyhodnocování z výšky signálu. Bylo dosaženo limitu detekce 45 ppt. Opět byla technika elektrochemického generování 3× citlivější pro Sb^{3+} než pro Sb^{5+} .

Nejlépeších výkonnostních parametrů jsem v této práci dosáhla při použití elektrochemického generování těkavých sloučenin antimonu. Dle všeobecné zvyklosti se považuje za nejúčinnější chemické generování těkavých sloučenin. Pro srovnání s ostatními způsoby bývá jeho účinnost obvykle považována za 100%. Na základě svých výsledků však usuzuji, že experimentální podmínky použité pro chemické generování v této práci jsou sice pro danou kombinaci CHG-AFS ty nejlepší možné (optimální), jsou však pravděpodobně kompromisem, který není ideální ani pro krok vlastního chemického generování ani pro krok atomizace jednotlivě.

Informační zdroje

- [1] I. Němcová, L. Čermáková, P. Rychlovský, *Spektrometrické analytické metody I*, Karolinum, Praha, 2004.
- [2] J. Dedina, Atomization of volatile compounds for atomic absorption and atomic fluorescence spectrometry: On the way towards the ideal atomizer, *Spectrochim. Acta Part B-At. Spectrosc.* 62 (2007) 846–872.
- [3] A. D’Ulivo, I. Paolicchi, M. Onor, R. Zamboni, L. Lampugnani, Flame-in-gas-shield miniature flame hydride atomizers for ultra trace element determination by chemical vapor generation atomic fluorescence spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B-At. Spectrosc.* 64 (2009) 48–55.
- [4] S. Musil, T. Matoušek, J.M. Currier, M. Stýblo, J. Dědina, Speciation Analysis of Arsenic by Selective Hydride Generation-Cryotrapping-Atomic Fluorescence Spectrometry with Flame-in-Gas-Shield Atomizer: Achieving Extremely Low Detection Limits with Inexpensive Instrumentation, *Anal. Chem.* 86 (2014) 10422–10428.
- [5] 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, *J. Anal. At. Spectrom.* 32 (2017) 678–685.
- [6] X. Mao, Y. Qi, J. Huang, J. Liu, G. Chen, X. Na, M. Wang, Y. Qian, Ambient-Temperature Trap/Release of Arsenic by Dielectric Barrier Discharge and Its Application to Ultratrace Arsenic Determination in Surface Water Followed by Atomic Fluorescence Spectrometry, *Anal. Chem.* 88 (2016) 4147–4152.
- [7] I. Němcová, *Spektrometrické analytické metody II.*, Karolinum, Praha, 1998.
- [8] A. Sayago, R. Bcltrân, J. I. Gómez-Ariza, Hydride generation atomic fluorescence spectrometry (HG-AFS) as a sensitive detector for Sb(III) and Sb(V) speciation in water, *J. Anal. At. Spectrom.* 15 (2000) 423–428.
- [9] M.N.M. Reyes, M.L. Cervera, M. de la Guardia, Determination of inorganic species of Sb and Te in cereals by hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *J. Braz. Chem. Soc.* 22 (2011) 197–203.
- [10] Mechanisms of chemical vapor generation by aqueous tetrahydridoborate. Recent developments toward the definition of a more general reaction model - ScienceDirect, (n.d.).
- [11] X. Wen, Y. Gao, P. Wu, Z. Tan, C. Zheng, X. Hou, Chemical vapor generation from an ionic liquid using a solid reductant: determination of Hg, As and Sb by atomic fluorescence spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 31 (2016) 415–422.
- [12] Rybínová M., Červený V., Hraníček J., Rychlovský P., UV - fotochemické generování těkavých sloučenin pro potřeby atomových spetrometrických metod, *Chem. Listy.* 2015 (2015) 930–937.
- [13] C. Zheng, Q. Ma, L. Wu, X. Hou, R.E. Sturgeon, UV photochemical vapor generation–atomic fluorescence spectrometric determination of conventional hydride generation elements, *Microchem. J.* 95 (2010) 32–37.
- [14] P. Wu, L. He, C. Zheng, X. Hou, R.E. Sturgeon, Applications of chemical vapor generation in non-tetrahydroborate media to analytical atomic spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 25 (2010) 1217 - 1222.

- [15] W.-W. Ding, R. E. Sturgeon, Evaluation of electrochemical hydride generation for the determination of total antimony in natural waters by electrothermal atomic absorption spectrometry with in situ concentration, *J. Anal. At. Spectrom.* 11 (1996) 225–230.
- [16] D.M. Hueber, J.D. Winefordner, A flowing electrolytic hydride generator for continuous sample introduction in atomic spectrometry, *Anal. Chim. Acta.* 316 (1995) 129–144.
- [17] Šíma J., Rychlovský P., KONSTRUKCE KOMBINOVANÉ CELY PRO ELEKTROCHEMICKOU GENERACI TĚKAVÝCH SLOUČENIN V METODĚ AAS, *Chem. Listy.* (1998) 676–679.
- [18] Suchá Lenka, Stanovení antimonu metodou elektrochemického generování, Bakalářská práce (Bc.), Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, (2011).
- [19] Vacek Tomáš, Vliv rušivých prvků při elektrochemickém generování antimonu, Bakalářská práce (Bc.), Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, (2011).
- [20] Holzbecher Z., *Analytická chemie*, SNTL, Praha (1996).
- [21] R. Polack, Y.-W. Chen, N. Belzile, Behaviour of Sb(V) in the presence of dissolved sulfide under controlled anoxic aqueous conditions, *Chem. Geol.* 262 (2009) 179–185.
- [22] G. dos Santos, L. Silva, A. Santos Júnior, E. da Silva, W. dos Santos, Analytical Strategies for Determination and Environmental Impact Assessment of Inorganic Antimony Species in Natural Waters Using Hydride Generation Atomic Fluorescence Spectrometry (HG AFS), *J. Braz. Chem. Soc.* (2017).
- [23] M. Filella, P.A. Williams, N. Belzile, Antimony in the environment: knowns and unknowns, *Environ. Chem.* 6 (2009) 95–105.
- [24] J. Li, B. Zheng, Y. He, Y. Zhou, X. Chen, S. Ruan, Y. Yang, C. Dai, L. Tang, Antimony contamination, consequences and removal techniques: A review, *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 156 (2018) 125–134.
- [25] Y. Morita, T. Kobayashi, T. Kuroiwa, T. Narukawa, Study on simultaneous speciation of arsenic and antimony by HPLC-ICP-MS, *Talanta* 73. (2007) 81–86.
- [26]] M. Krachler, H. Emons, Speciation of antimony for the 21st century: promises and pitfalls, *Trends Anal Chem* 2. (2001) 79–90.
- [27] M.M. Silva Junior, L.A. Portugal, A.M. Serra, L. Ferrer, V. Cerda, S.L.C. Ferreira, Online automated system for the determination of Sb(V), Sb(III), trimethyl antimony(V) and total antimony in soil employing multisyringe flow injection analysis coupled to HG-AFS, *Talanta.* 165 (2017) 502–507.
- [28] Y. Li, W. Guo, A.K. Souders, L. Jin, Y. Ke, Q. Guo, S. Hu, Using citric acid stabilizing reagent to improve selective hydride generation-ICP-MS method for determination of Sb species in drinking water, *RSC Adv.* 6 (2016) 108247–108254.
- [29] Synthesis and characterization of a novel mesoporous silica functionalized with [1,5 bis(di-2-pyridyl)methylene thiocarbohydrazide] and its application as enrichment sorbent for determination of antimony by FI–HG–ETAAS - *ScienceDirect*, (n.d.).
- [30] A. Taylor, S. Branch, M.P. Day, M. Patriarca, M. White, Atomic spectrometry update. Clinical and biological materials, foods and beverages, *J. Anal. At. Spectrom.* 25 (2010) 453.
- [31] J. Ordoñez, L. Fernández, H. Romero, P. Carrera, J. Alvarado, Electrochemical generation of antimony volatile species, stibine, using gold and silver mercury

- amalgamated cathodes and determination of Sb by flame atomic absorption spectrometry, *Talanta*. 141 (2015) 259–266.
- [32] Ellison S.R.L., Barwick V.J., Duguid Farrant T.J., Practical statistics for the analytical scientist, RSC Publ. Cambridge, (2009).
- [33] Červený V., Rychlovský P., Hraníček J., Šíma J., Elektrochemické generování těžkých sloučenin pro potřeby spektrálních analytických metod, *Chem. Listy*. 2009 (2008) 652–660.