

## MOŽNOSTI KOMBINÁCIE METÓD KVAPALINOVEJ CHROMATOGRAFIE A ATÓMOVEJ SPEKTROMETRIE NA ŠPECIÁCIU PRVKOV

RADOSLAV HALKO, TIBOR NEUROČNÝ  
a MILAN HUTTA

*Katedra analytickej chémie, Prírodovedecká fakulta, Univerzita Komenského, Mlynská dolina, CH-2, 842 15 Bratislava, Slovensko*

*halko@fns.uniba.sk, hutta@fns.uniba.sk*

Došlo 22.1.09, prijaté 4.6.09.

**Kľúčové slová:** kvapalinová chromatografia, atómová spektrometria, kombinácia, chemická analýza, špeciácia

### Obsah

1. Úvod
2. Všeobecné problémy spájania metód kvapalinovej chromatografie a atómovej spektrometrie
  - 2.1. Plameňová atomizácia
  - 2.2. Atomizácia s využitím indukčne viazanej plazmy
  - 2.3. Elektrotermická atomizácia
3. Rozhrania pre rôzne detektory atómovej spektrometrie
  - 3.1. Zhmlovače
  - 3.2. Generácia hydridov
  - 3.3. Spreje
4. Využitie rôznych techník kvapalinovej chromatografie v spojení s atómovou spektrometriou
5. Záver

### 1. Úvod

Vzhľadom na rozdielne chemické formy prvkov v látkach a ich rozdielne environmentálne správanie sa, ako aj ich rozdielny metabolizmus a účinok na živé organizmy, je v súčasnosti nevyhnutné a stále aktuálne poznať okrem celkového obsahu toxického prvku vo vzorke aj obsah jednotlivých foriem látok, v ktorých sa prvky nachádzajú, t.j. robiť špeciáciu. Špeciácia nie je presne definovaná a rôzni autori si ju vysvetľujú rôzne. Florence<sup>1</sup> špeciálnu analýzu definuje ako stanovenie koncentrácie jednotlivých fyzikálno-chemických foriem prvku, ktorých súčet tvorí celkovú koncentráciu prvku vo vzorke. Na druhej strane Ure a Davidson<sup>2</sup> definujú špeciáciu ako proces identifikácie a kvantifikácie rozdielnych, definovaných špecií, foriem a fáz prítomných v látke. Templeton a spol.<sup>3</sup> definujú špeciáciu ako analytické aktivity vedúce k identifikovaniu a/alebo meraniu kvantitatívneho zastúpenia jednej resp. viacerých individuálnych chemických

špecií vo vzorke. Podľa IUPAC môžeme túto definíciu považovať za oficiálnu definíciu.

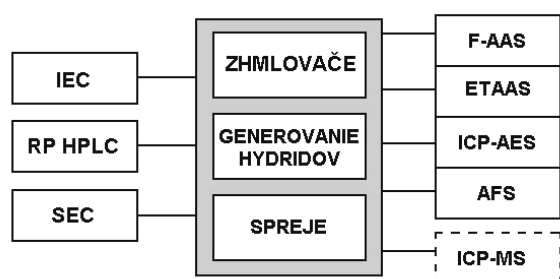
Nízke koncentračné úrovne ( $\text{ng ml}^{-1}$ ) obsahu toxických prvkov a ich špecií v biologických vzorkách a vo vzorkách životného prostredia nás nútia kombinovať také techniky pre špeciáciu prvkov, ktoré umožňujú ich izoláciu pred ich stanovením citlivými a selektívnymi detekčnými systémami. Všeobecne sa spájanie dvoch resp. viacerých nezávislých analytických techník využíva v tom prípade, keď nie je možné získať potrebnú analytickú informáciu jednoduchou analytickou metódou. V prípade LC to môže byť jej off-line resp. on-line kombinácia s detekčnými technikami atómovej spektrometrie, ako napr. atómovej absorpčnej (AAS), emisnej (AES) a fluorescenčnej (AFS)<sup>4</sup> spektrometrie. Aj keď je publikovaných viacero úspešných aplikácií na prepojenie LC s MS detektorom, v tejto práci sa budeme venovať len spomenutým metódam atómovej spektrometrie. Spojením kvapalinovej chromatografie s metódami atómovej spektrometrie možno kompenzovať identifikačné obmedzenia bežnej kvapalinovo-chromatografickej analýzy. Zároveň to umožňuje eliminovať niektoré problémy, ktoré sa vyskytujú v samotnej detekčnej technike atómovej spektrometrie pri analýze reálnych vzoriek, napríklad nízke citlivosti pre niektoré prvky, vplyv matrice, spektrálne interferencie stanovovaných prvkov resp. viacprvkovú ultrastopovú analýzu<sup>5</sup>.

Hlavným problémom spájania týchto dvoch techník je vytvorenie vhodného rozhrania (angl. interface) medzi kombinovanými technikami. Týka sa to hlavne kvantitatívneho prenosu eluovaných pík z chromatografického systému do systému atómovej spektrometrie, nekompatibilitou spájaných systémov danou napríklad zložením použitých mobilných fáz<sup>6</sup> a ich rôznou prietokovou rýchlosťou.

Aj keď myšlienka spájania týchto dvoch techník nie je najmladšia a v praxi sa už niekoľko rokov používajú komerčne vyrobené prístroje, stále je v tejto oblasti veľa nezodpovedaných otázok. Do úvahy treba zobrať aj fakt, že na každom väčšom analytickom pracovisku sa nachádzajú chromatografické a atómospektrometrické prístroje, ktoré sú využívané v prevažnej miere samostatne a nezávisle. Využitie vhodnej kombinácie týchto dvoch techník môže úspešne vyriešiť analytické problémy, hlavne pri špeciácii prvkov v rôznych typoch vzoriek.

Tento prehľadový článok stručne popisuje možnosti kombinácie kvapalinovej chromatografie s rôznymi technikami atómovej spektrometrie, a to hlavne z pohľadu využitia rôznych typov rozhraní používaných na prepojenie spomenutých techník. Na obr. 1. je znázornená schéma prepojenia študovaných techník cez rôzne rozhrania.

V práci sú tiež diskutované problémy a výhody prepojenia študovaných techník z pohľadu použitého spojovacieho rozhrania. Sú v nej uvedené vybrané príklady



Obr. 1. Schéma prepojenia metód kvapalinovej chromatografie s metódami atómovej spektrometrie použitím rôznych rozhraní

pokrývajúce hlavne obdobie posledných 10 rokov použitia off-line resp. on-line kombinácie kvapalinovej chromatografie a atómovej spektrometrie na špeciáciu prvkov a ich organických zlúčenín prítomných v biologických a environmentálnych maticiach.

## 2. Všeobecné problémy spájania metód kvapalinovej chromatografie a atómovej spektrometrie

Kombinácia LC s rôznymi detektormi atómovej spektrometrie vytvára veľmi silný nástroj pre špeciálnu analýzu. V podstate ide o kombináciu vysokoúčinnnej separačnej techniky s citlivými a selektívnymi detekčnými technikami. Vzhľadom na to, že separácia foriem kovov, ak nepočítame s ich prirodzenými organickými formami, väčšinou

prebieha vo forme neprchavých organokovových komplexov, LC sa v porovnaní s ďalšou chromatografickou technikou GC využíva pre daný typ analýzy častejšie. V prípade GC sa totiž musia neprchavé zlúčeniny derivatizovať pred ich stanovením, čo zvyšuje riziko ich kontaminácie<sup>7</sup>.

Kombinácia LC s detektormi atómovej spektrometrie sa využíva nielen, ako už bolo uvedené, na špeciálnu analýzu prvkov, ale aj na elimináciu interferencií pochádzajúcich z rôznych typov matric. Pri kombinovaní LC a atómovej spektrometrie sa využívajú off-line a on-line prepojenia.

Prvý všeobecný prehľad kombinácie LC a atómovej spektrometrie bol publikovaný v 80. rokoch minulého storočia<sup>8</sup>. V danom čase boli kombinácie študovaných metód realizované buď off-line prenosom zozbieraných frakcií z chromatografickej kolóny do grafitovej kvety alebo priamym napojením konca kapiláry chromatografickej kolóny do dávkovacieho zariadenia plameňového atomizátora.

Off-line technika v porovnaní s on-line technikou je dobrou alternatívou pre spracovanie menšieho počtu vzoriek. Vyžaduje si jednoduchšie prístrojové zariadenie, avšak zlá reprodukovateľnosť manuálnej obsluhy, napríklad spojená s nesprávnym označením vzoriek (zmenou vzoriek v sekvencii) a príliš širokým časovým intervalom medzi zberom jednotlivých frakcií, môže nepriaznivo pôsobiť na spoľahlivosť daného procesu. Pri použití off-line metód na rozdiel od použitia on-line prepojenia, je zároveň zvýšené riziko kontaminácie vzorky a možných strát analytov.

Pri on-line prepojení LC s atómovou spektrometriou je chromatografická kolóna priamo prepojená s atómovým

Tabuľka I

Vybrané aplikácie LC a atómovej spektrometrie pre špeciáciu prvkov

Analyty	Matrica	Technika	LOD <sup>a</sup>	Lit.
As(III), As(V)	prachové častice	IEC-HG-AFS	0,01–0,02 ng m <sup>-3</sup>	50
As(III), As(V), MMA, DMA	moč	RP-LC-HG-ICP-AES	36–101 ng ml <sup>-1b</sup>	51
As(III), As(V)	voda	IEC-HG-ETAAS	7,8–12 ng ml <sup>-1</sup>	34
Se(IV), Se(VI), SeMet, SeMeSeCyS, SeCys	rastlinný materiál	IEC-UV-HG-AFS	2–10 ng g <sup>-1</sup>	65
Se(IV), Se(VI)	voda	IEC-HG-ETAAS	2,4–18,6 ng ml <sup>-1</sup>	34
SeMet, SeEt, SeCys	biologické vzorky	RP-LC-ICP-AES	2–6 ng ml <sup>-1</sup>	40
Sb(V), Sb(III), (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> SbCl <sub>2</sub>	morská voda	IEC-HG-AFS	0,07–0,13 ng ml <sup>-1</sup>	55
Hg(II), MeHg <sup>+</sup> , PhHg <sup>+</sup> , EtHg <sup>+</sup>	vzorky rýb	RP-LC-CV-AFS	0,06–0,2 ng ml <sup>-1</sup>	16
Cr(III), Cr(IV)	voda	RP-LC-F-AAS	2,0–3,7 ng ml <sup>-1</sup>	10
Špécie železa	mlieko	SEC-ETAAS	1,4–4,7 ng ml <sup>-1</sup>	80

<sup>a</sup> Medza stanovitelnosti; <sup>b</sup> medza dokázateľnosti; MMA – kyselina monometylarzeničná; DMA – kyselina dimetylarzeničná; SeMet – selenometionín; SeMeSeCyS – selenometylselenocystín; SeCys – selenocystín; SeEt – selenoetionín; MeHg<sup>+</sup> – metylhydrargyrium; PhHg<sup>+</sup> – fenylhydrargyrium; EtHg<sup>+</sup> – etylhydrargyrium

spektrometrom cez určité rozhranie v jedinom analytickom systéme. Významným aspektom technickej realizácie on-line prepojenia je možnosť automatizácie, ktorá predstavuje veľkú výhodu v procese analýzy. Automatizácia dovoľuje analýzu väčšieho počtu vzoriek, znižuje náklady, skracuje čas požadovaný pre analýzu v porovnaní s off-line metódami.

V našej práci sa zameriame prevažne na on-line kombináciu prezentovaných techník. Všeobecné problémy vyskytujúce sa pri on-line prepojení môžeme zhrnúť do dvoch hlavných okruhov problémov a to: 1) nekompatibilita rýchlosti prietokov a 2) nekompatibilita zložiek eluentov používaných v jednotlivých technikách. Možné riešenia spomenutých problémov formou rôznych rozhraní budú podrobnejšie prezentované v kapitole 3.

### 2.1. Plameňová atomizácia

Plameňová technika atomizácie analytov patrí medzi najčastejšie využívané techniky atomizácie v AAS ako aj v AFS, kde sa využívajú hlavne laminárne predmiešané plamene. Pre zavedenie kvapalnej vzorky do plameňa sa najčastejšie používajú pneumatické zhmlovače. Typické prietoky eluentu ( $\approx 5 \text{ ml min}^{-1}$ ) požadované pre pneumatické zhmlovače majú v priemere dvakrát až trikrát vyššie hodnoty ako sú hodnoty bežných prietokových rýchlostí mobilných fáz v LC ( $0,5\text{--}2,0 \text{ ml min}^{-1}$ ). Tento nesúlad môže viesť ku zníženiu citlivosti detekcie a zhoršeniu rozlíšenia, lebo analyt eluujúci z chromatografickej kolóny je rozmyvaný a zároveň veľmi zriedený spaľovacími resp. nosnými plynnými počas jeho prenosu do plameňa (200–400krát). Účinnosť vnesenia analytu do plameňového atomizátora je obyčajne len okolo 5 až 10 % (cit.<sup>9</sup>). Výsledkom sú potom nízke koncentračné úrovne analytov pozdĺž optickej osi spektrometra, a preto sa musia robiť určité kompromisy v jednej alebo zároveň v oboch použitých technikách<sup>10,11</sup>.

Z hľadiska zloženia mobilných fáz (zahrňujúcich organické rozpúšťadlá resp. soli tlmivých roztokov) je plameňová atomizácia viac-menej tolerantná technika, ale má tiež určité obmedzenia. Akceptované môžu byť napríklad ešte mobilné fázy obsahujúce koncentráciu solí tlmivých roztokov do  $50 \text{ mmol l}^{-1}$ . Vyššia koncentrácia solí však už môže spôsobovať nestabilitu plameňa. Podrobnejšie sa problematike organických analytických činidiel použitých v AAS venuje práca publikovaná Sommerom a spol.<sup>12</sup>

Všetky tieto nedostatky plameňovej atomizácie pre on-line kombináciu LC-AAS resp. LC-AFS, ako sú napríklad už spomenutá slabá účinnosť zhmlovania, nekompatibilita prietokových rýchlostí eluentov, rušivé vplyvy vnášania a vyparovania vzorky, boli viac či menej úspešne eliminované rôznymi modifikáciami tejto techniky. Najčastejšie používanou alternatívou je využitie techniky generovania hydridov (HG, hydride generation) pre AAS (HG-AAS)<sup>13–15</sup> resp. AFS (HG-AFS)<sup>16</sup>. Medzi ďalšie techniky môžeme zaradiť techniku studených pár (CV, cold vapor)<sup>17</sup>, prietokovú injekčnú analýzu (FIA, flow injection analy-

sis)<sup>18</sup>, hydraulický vysokotlakový zhmlovač (HHPN, hydraulic high pressure nebulizer)<sup>19</sup> a ultrazvukový zhmlovač (USN, ultrasonic nebulizer)<sup>20</sup>.

### 2.2. Indukčne viazaná plazma

Pri využití AES detektorov s indukčne viazanou plazmou (AES-ICP) v spojení s LC, na rozdiel od atómových detektorov s plameňovými atomizátormi, sú prietokové rýchlosti eluentov v oboch technikách navzájom kompatibilné. Avšak pri použití priameho spojenia s pneumatickým zhmlovačom sa aj pri indukčne viazanej plazme (ICP) stretávame s nízkou účinnosťou (okolo 1 až 5 %) vnesenia kvapalnej vzorky vo forme aerosólu do plazmy. Výsledkom sú potom relatívne vysoké hodnoty medze stanoviteľnosti<sup>21</sup>.

V ICP technikách môže mať prítomnosť organických rozpúšťadiel (metanol, acetonitril), bežne používaných ako zložky mobilných fáz v LC, negatívny vplyv na stabilitu plazmy. Ich prítomnosť v eluente je tiež zodpovedná za usadzovanie uhlíka na kremenných trubiciach plazmovej hlavice a dávkovacieho kužela<sup>12</sup>. Dôsledkom je potom zvýšená hladina šumu a kolísanie odozvy detektora. Vysokofrekvenčná energia pomáha čiastočne redukovať vplyv usadzovania organických zložiek rozpúšťadla v priestoroch plazmovej trubice, zatiaľ čo použitie chladených sprejových komôr limituje objem vypareného rozpúšťadla prichádzajúceho do plazmy<sup>22</sup>. Pridanie desolvatačnej jednotky ako aj použitie mikrokolónovej LC tiež môže riešiť problém s koncentráciou metanolu bežne používanou v LC. Ďalším riešením problému ukladania uhlíka je prídavok kyslíka (1–3 %, v/v) do prúdu nosného plynu v zhmlovači, avšak na úkor životnosti plazmovej hlavice. Aj prítomnosť solí v eluente môže spôsobovať krátkodobý zostupný alebo vzostupný signál. Ich vyzrážaním tiež často dochádza k zapchatiu zhmlovača a dávkovacieho zariadenia<sup>5,23,24</sup>.

Možným riešením kvantitatívneho transportu LC eluentu do ICP je použitie účinejších zhmlovačov: priamych dávkovacích zhmlovačov (DIN, direct injection nebulizer)<sup>25</sup> resp. USN<sup>26</sup>, alebo iných typov rozhraní – elektrosprej s ICP<sup>27</sup> resp. HG s ICP<sup>28</sup>.

### 2.3. Elektrotermická atomizácia

AAS s elektrotermickou atomizáciou (ETAAS) je všeobecne vysokocitlivá detekčná metóda pre malé objemy vzorky (10–50  $\mu\text{l}$ ), ale sekvenčná povaha jednotlivých krokov pri atomizácii (sušenie, pyrolýza, atomizácia) môže skomplikovať on-line prepojenie s LC. Najstarším a najjednoduchším postupom je off-line zber jednotlivých frakcií z LC systému<sup>29</sup>. Systém off-line kombinácie LC a ETAAS, založený na zbere frakcií, neposkytuje analýzu v reálnom čase a zároveň je problematická tiež optimalizácia experimentálnych parametrov. Tento problém môžu vyriešiť automatizované rozhrania využívajúce riadenie počítačom, ktoré sú efektívne pre on-line prepojenie hlavne z dôvodu možnosti zberu údajov v reálnom čase.

Touto metódou sa nedá dosiahnuť kontinuálny signál, ale výsledkom sú diskrétny signály. Vzorkovacia rýchlosť je potom závislá od rýchlosti merania, t.j. meracieho intervalu ETAAS. S dlhším časom trvania tohto kroku analýzy je pozorované rozširovanie chromatografických pík. Pre zvýšenie priepustnosti vzoriek systémom je vzorkovací proces modifikovaný dočasným zadržaním chromatografických pík, čo vedie k možnosti analýzy viaczložkovej zmesi organokovových zlúčenín toho istého kovu, ako aj viacprvkových viaczložkových zmesí. Na druhej strane však kontrolovanie prietoku mobilnej fázy a gradientová elúcia môžu spôsobovať fluktuáciu signálu pozadia spôsobenú molekulovou absorpciou. Tento problém sa môže efektívne odstrániť vhodnou korekciou pozadia systému, napríklad Zeemanovým efektom<sup>30,31</sup>.

Zlepšenie vlastností on-line kombinácie LC-ETAAS sa môže dosiahnuť použitím vhodného rozhrania<sup>30</sup>. Wang a Hansen popísali možnosti sekvenčnej FIA techniky pre úspešné on-line prepojenie s ETAAS<sup>32</sup>. Využitie derivatizácie analytov s využitím HG techniky ako rozhrania pre on-line LC-ETAAS popísali vo svojich prácach viacerí autori<sup>13,33–36</sup>. Použitie elektrospreja<sup>37</sup> resp. termospreja<sup>38</sup> ako rozhrania poskytuje vysokú citlivosť a dobrú stabilitu signálu pre on-line prepojenie ETAAS detektora s LC aj pri použití vodno-organických rozpúšťadiel.

### 3. Rozhrania pre rôzne detektory atómovej spektrometrie

V súčasnosti sa efektívne spájanie diskutovaných dvoch metód v on-line prepojení realizuje prostredníctvom rôznych rozhraní, vďaka ktorým sa dosahujú reprodukovateľnejšie výsledky a nižšie medze stanoviteľnosti. Dané rozhrania sú v prevažnej miere modifikáciami rozhraní vyvinutých pre efektívnejšie vnesenie vzorky do už existujúcich typov atomizátorov v atómovej spektrometrii a tým umožňujú efektívnejšie generovať voľné atómy prvkov zo vzorky.

Najpoužívanejšími rozhraniami pre prepojenie LC a atómovej spektrometrie sú techniky založené na generácii hydridov, zhmlovače a rôzne typy sprejov s účinnejšou zmenou kvapalnej fázy na aerosól. Výber typu rozhrania závisí od typu vzorky, typu použitého atomizátora ako aj od typu použitej techniky atómovej spektrometrie.

#### 3.1. Zhmlovače

Jedným z najpoužívanejších rozhraní pre on-line kombináciu LC s detektormi atómovej spektrometrie sú zhmlovače. Používajú sa v plameňových a plazmových zdrojoch budenia. Kvapalná vzorka sa privádza do plameňa alebo plazmy vo forme aerosólu, ktorý je unášaný nosným plynom. Aerosól sa generuje priamo v zhmlovači. Kvôli lepšiemu transportu vzorky medzi študovanými technikami sa využívajú pneumatické, ultrazvukové, vysokotlakové ako aj ďalšie typy zhmlovačov.

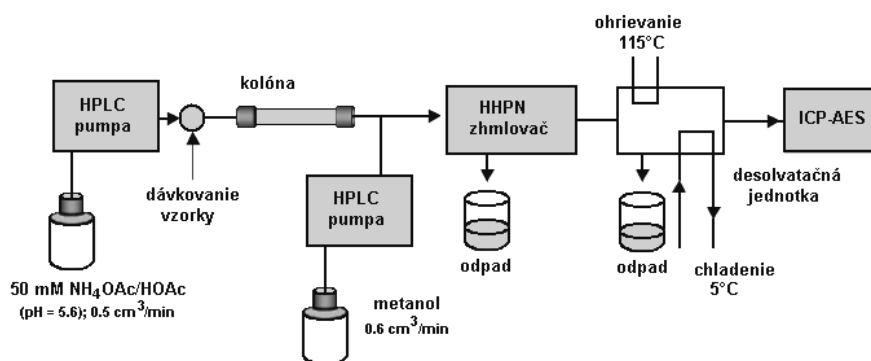
Na zhmlovanie roztokov sa najčastejšie využívajú pneumatické zhmlovače, hlavne pre jednoduchosť ich konštrukcie a robustnosť danej techniky<sup>10,11</sup>, kde je LC systém spojený s atómovým detektorom priamo cez kapiláru. Komplexný súhrn o pneumatických zhmlovačoch spracoval Sharp vo svojej práci<sup>39</sup>. Účinnosť pneumatických zhmlovačov je veľmi nízka (3–15 %), pretože len malá časť rozptýleného roztoku sa dostáva do plazmy alebo do plameňového atomizátora. V prípade malých koncentrácií analytov sú potom pozorované nízke signály, navyše sú často zaťažené veľkým šumom, alebo sú dokonca nemerateľné. Použitie pneumatických zhmlovačov pre kombináciu LC s atómovou spektrometriou je limitované, pretože účinnosť zhmlovača závisí tiež od fyzikálnych vlastností použitého rozpúšťadla (napríklad od viskozity). Ďalším obmedzením v prípade F-AAS je tiež veľká spotreba vzorky nasávanej kapilárou (okolo 5 ml min<sup>-1</sup>). V prípade AES-ICP kompatibilita prietoku s LC systémom umožňuje priame spojenie jednoduchých metód napríklad na špeciáciu selénu<sup>23,40</sup>. Použitím koncentrického pneumatického zhmlovača<sup>41</sup> bola úspešne vyvinutá HPLC-AES-ICP metóda na špeciáciu organických zlúčenín selénu. Ebdon a spol. popísali štúdium špeciácie kremíka HPLC-AES-ICP metódou použitím pneumatického zhmlovača s priečnym tokom a s radiálnym vs. axiálnym pohľadom do plazmy<sup>42</sup>.

Prístupy k zlepšeniu vlastností zhmlovačov zahŕňujú použitie ďalšieho úpravného kroku alebo vylepšenie systému zhmlovania.

Jednou z možností je použitie prietokovej injekčnej analýzy (FIA) ako rozhrania pre prepojenie LC s F-AAS. FIA rozhranie dovoľuje optimalizovať vlastnosti oboch typov zariadení. Malý objem LC eluátu je použitý ako objem vzorky dávkovaný cez FIA dávkovací ventil priamo do prúdu nosného rozpúšťadla vo FIA systéme, čoho výsledkom je prietoková rýchlosť kompatibilná s F-AAS. Rýchlym dávkovaním častí chromatografického píku v pravidelných intervaloch počas jeho elúcie zaznamenáme kontinuálny priebeh signálu vo forme série FIA píkov, kde maximá detegovaných FIA píkov opisujú profil píku (píkov) z LC elúcie<sup>43</sup>.

Na zlepšenie účinnosti zhmlovača v priamom spojení LC a detektorov atómovej spektrometrie boli nájdené aj iné varianty zhmlovania. Jedna z možností je napríklad použitie hydraulického vysokotlakového zhmlovača (HHPN, hydraulic high pressure nebulizer) (obr. 2), s ktorým možno dosiahnuť vysoké účinnosti (> 80 %)<sup>44</sup> zhmlovania. V danej technike je nosný prúd kvapaliny čerpaný vysokotlakovou LC pumpou do veľmi tenkej kapiláry. Lineárna rýchlosť prúdenia v tejto kapiláre je tak veľká, že pri dopade prúdu kvapaliny na sklenú guľôčku umiestnenú v jej trase sa tvorí jemná hmla aerosólu s veľmi malým priemerom kvapôčok. Táto účinná technika zhmlovania môže byť využitá v on-line kombinácii LC s AES-ICP<sup>45</sup> ako aj s F-AAS<sup>19</sup>.

Ďalší prístup v riešení problému spočíva vo využití drahšieho ultrazvukového zhmlovača (USN, ultrasonic

Obr. 2. Schématický diagram prepojenia LC-HHPN-AES-ICP techniky<sup>82</sup>

nebulizer), ktorého činnosť je založená na piezoelektrickom jave<sup>46</sup>. V ultrazvukovom zhmlovači vzniká aerosól v dôsledku vibrácie monokryštálu vhodného materiálu ( $\text{BaTiO}_3$ ) a mechanicky vytvorený hustý aerosól sa potom vhodným plynom transportuje do plazmy. Jeho výhodou je malá spotreba vzorky ( $< 5 \mu\text{l}$ ) a vysoká účinnosť (70 až 80 %) tvorby aerosólu. Priemer generovaných kvapôčiek aerosólu je v porovnaní s pneumatickými zhmlovačmi menší ( $\leq 5 \mu\text{m}$ ). Výhodou USN je hlavne to, že jeho použitím ako rozhrania dostaneme o jeden rád nižšie hodnoty medze stanoviteľnosti ako s pneumatickým zhmlovačom AES-ICP<sup>26,46</sup>. Nevýhodou tejto techniky je však veľký pamäťový efekt, komplikovaná obsluha a v neposlednom rade aj jej vysoká cena.

V prípade mikrokolónovej LC je atraktívne použiť DIN, ktorý zhmľuje kvapalnú vzorku priamo v centrálnom kanáliku ICP horáka. Nízky objem ( $\leq 2 \mu\text{l}$ ) a neprítomnosť sprejovej komory DIN minimalizuje pokolónové rozmytie pikov a umožňuje použiť veľmi malé prietoky ( $30\text{--}100 \mu\text{l min}^{-1}$ ) mobilnej fázy. Ďalšou výhodou je jeho rýchle premytie a malé pamäťové vplyvy<sup>25</sup>.

Z ďalších vylepšení účinnosti zhmľovania je použitie vysokoúčinného zhmlovača (HEN, high efficiency nebulizer) pre potreby on-line HPLC-AES-ICP metódy<sup>24</sup>. Výhodou všetkých uvedených zhmľovacích techník je ich vynikajúca stabilita, nezávislosť od druhu stanovovaného analytu a často aj ich relatívne nízka cena v porovnaní s kombinovaným systémom.

### 3.2. Generácia hydridov

Nutnosť potreby kroku zhmľovania medzi LC separáciou a atómovým spektrometrom môže eliminovať pokolónová konverzia eluovaných kovov alebo ich organických zlúčenín do ich prchavejších foriem (zvyčajne hydridov). Analytický potenciál generovania hydridov (HG, hydride generation) ako prvý spracoval v roku 1969 vo svojej práci Holak<sup>48</sup>. Generovanie hydridov (tiež príprava hydridov) je založené na tvorbe prchavých hydridov, binárnych zlúče-

nín vodíka a hydridotvorných prvkov ako Se, As, Bi, Sb, Te, Sn, Ge a Pb chemickou reakciou. Vhodným redukčným činidlom sa vyredukuje z roztoku vzorky plyný hydrid, ktorý sa transportuje nosným plynom do atomizátora. Redukcia analytu vo vzorke prebieha v kyslom prostredí (najčastejšie v roztoku HCl). Ako redukčné činidlo sa používa tetrahydridboritan sodný ( $\text{NaBH}_4$ ), ktorý pri reakcii v roztoku uvoľňuje atómový vodík, ktorý ďalej reaguje s analytom za vzniku hydridu kovu.

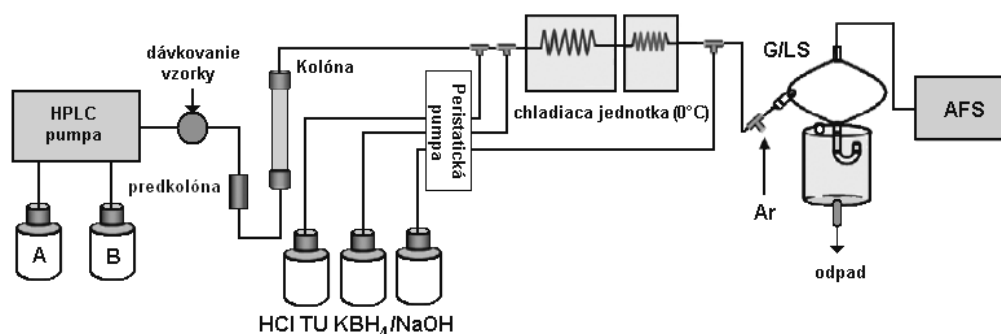
Táto citlivá technika dáva kontinuálny signál analytu so stálym charakterom, vďaka čomu môže byť analýza uskutočnená v kontinuálnom móde alebo FIA technikou. Prvú kompilačnú prácu pojednávajúcu o on-line kombinácii LC s atómovou spektrometriou založenou na pokolónovej HG publikoval Tsalev<sup>49</sup>.

Veľkou výhodou HG techniky je separácia vyššie spomenutého vytvoreného hydridu prvku z matrice vzorky v separátore plyn-kvapalina, čím sa zníži relatívne pozadie v spektre analytu spôsobené interferentami. Ďalšími výhodami je možnosť nakoncentrovania analytov a stanovenie jednotlivých špecií využitím selektívnej tvorby hydridu pri kontrolovanom pH. V neposlednom rade je to vysoká účinnosť vnesenia hydridov nosným plynom do všetkých druhov atomizátorov (plameňového, elektrotermického a ICP) využívaných pre AAS, AES resp. ASF detektora (obr. 3).

Potenciálnou nevýhodou danej techniky je to, že prvok musí byť pred tvorbou hydridu vo vhodnom oxidačnom stupni. Ďalšou nevýhodou HG sú viaceré zdroje rušiacich vplyvov v priebehu prípravy hydridov.

Napriek spomenutým negatívam je HG najpoužívanejším rozhraním na on-line prepojenie LC a metód atómovej spektrometrie. Schéma tohto prepojenia cez rozhranie HG je zobrazená na obr. 2 podľa práce<sup>13</sup>.

Medzi najčastejšie stanovované prvky patria arzén, selén a antimón. Na špeciáciu anorganických a organických foriem arzenu [As(III), As(V) a menej toxické kyseliny monometylarzeničná (MMA) a dimetylarzeničná (DMA)], v biologických vzorkách a vzorkách životného

Obr. 3. Schématický diagram prepojenia LC-HG-AFS techniky<sup>61</sup>

prostredia, autori vo svojich prácach použili viacero analytických metód využívajúcich HG rozhranie ako napríklad LC-HG-F-AAS<sup>13,15,18,50</sup>, LC-HG-ETAAS<sup>13,35,36</sup>, LC-HG-AFS<sup>51</sup> a LC-HG-AES-ICP<sup>28,52</sup>. Antimón je ďalším prvkom, ktorého analyticky významnými formami sú Sb(III), Sb(V) a trimetylantimondichlorid  $[(\text{CH}_3)_3\text{SbCl}_2]$ . Spojenie LC-HG so špecifickými detektormi AAS<sup>53,54</sup> a AFS<sup>55–58</sup> bolo využité pri špeciálnej analýze antimónu v environmentálnych vzorkách (voda a pôdne sedimenty). Spojenie LC-HG-AAS s plameňovou<sup>59,60</sup> resp. elektrotermickou<sup>33</sup> atomizáciou ako aj spojenie LC-HG-AFS<sup>61</sup> bolo úspešne použité na špeciáciu chemických foriem selénu [Se(IV), Se(VI), selenometionín (SeMet), selenoetionín (SeEt), selenocystín (SeCys) a selenometylselenocystín (SeMeSeCys)] či už v biologických alebo environmentálnych vzorkách. Na zlepšenie účinnosti HG sa do systému pridáva ešte jeden on-line úpravny krok, ktorý je založený na UV fotooxidácii<sup>62–68</sup> alebo mikrovlnovom rozklade vzoriek<sup>69–72</sup>.

Jednou z nových modifikácií HG je aj technika nazývaná elektrochemická generácia pár (ECVG, electrochemical vapor generation), pôvodne vyvinutá pre FIA<sup>73</sup>. ECVG je založená na elektrochemickej redukcii na katóde ako náhrade za použitie silných a nestabilných redukčných činidiel ( $\text{KBH}_4$  a  $\text{SnCl}_2$ ). Výhody ECVG oproti klasickej HG sú najmä v zlepšení stability plazmy pri ICP vplyvom menšieho množstva vytvoreného vodíku, v znížení kontaminácie činidiel a v zlacnení analýzy. Daný systém je vhodný hlavne pre kombináciu LC s ICP-AES resp. s AFS<sup>74</sup>.

Špeciálnou technikou generovania prchavých zlúčenín je technika studených pár (CV, cold vapor), ktorá je založená na generovaní plynnej elementárnej ortuti. Aj v tejto technike je možné v prípade nízkych koncentrácií ortuti vo vzorke použiť nakoncentrovanie, kde sú vzniknuté pary ortuti zachytené vo forme amalgámu na striebre alebo na zlato. On-line kombinácie LC-VC-AAS<sup>75</sup> resp. LC-VC-AFS<sup>17,76,77</sup> sú vhodnými citlivými a vysoko-selektívnymi technikami na špeciáciu anorganických a organických foriem ortuti.

### 3.3. Spreje

Spojenie LC s atómovou spektrometriou je možné realizovať aj využitím efektu spreja a to konkrétne termospreja alebo elektrospreja<sup>78</sup>. Tieto rozhrania môžu byť použité pre prietoky mobilných fáz ( $0,5\text{--}2,0\text{ ml min}^{-1}$ ), ktoré sú bežne používané v LC, čo na jednej strane poskytuje vyššie signály, ale na druhej strane spôsobuje problém s odstránením rozpúšťadla z eluentu. Dané techniky taktiež neumožňujú v praxi pracovať s mobilnými fázami obsahujúcimi vysoké koncentrácie anorganických tlmivých roztokov kvôli ich možnému vykryštalizovaniu na stenách kapiláry.

Termosprej bol pôvodne navrhnutý pre spojenie LC-MS, ale časom sa stal významnou aerosólovou technikou pre prenos kvapalnej vzorky do plameňa v FAAS, do plazmy v ICP-AES alebo ETAAS<sup>78</sup>.

Rozdiely medzi termosprejom a pneumatickým zhmlovačom môžeme zhrnúť v nasledujúcich bodoch:

1. zhmlovačiaci plyn vzniká priamo z kvapalnej vzorky,
2. aerosól je tvorený pri vysokých teplotách,
3. kvapalná vzorka a aerosól sú čiastočne desolvované pri samotnom termosprejovom procese,
4. kvapalinové a plynové toky nie sú fyzicky oddelené pred výstupom z termospreja.

Zaujímavé je využitie termospreja ako rozhrania medzi LC a ETAAS v automatizovanom móde pre stanovenie špecií arzénu<sup>78</sup> resp. olova a kadmia<sup>38</sup>. Tento systém poskytuje dobrú citlivosť a reprodukovateľnosť detekcie s vhodným vzorkovaním chromatografického eluentu.

Ďalším typom sprejov sú tzv. elektrospreje, ktoré sú vhodným spájacím prvkom hlavne s ICP<sup>27</sup> a elektrotermickou atomizáciou<sup>37</sup>. Mechanizmus elektrospreja je založený na tom, že eluent z chromatografickej kolóny prechádza cez kapiláru, na ktorú je vložené vysoké napätie ( $3\text{--}5\text{ kV}$ ). Plošná vybijacia elektróda (potenciál zeme) má otvor do dávkovača AES-ICP alebo do ETAAS atomizátora. Veľmi veľká intenzita elektrického poľa ( $E \approx 10^6\text{ V m}^{-1}$ ) spôsobuje dodávanie energie s čiastočným vniknutím kvapaliny na špičku kapiláry. Povrch kvapaliny sa formuje v smere poľa a vytvára kužeľ, z ktorého je prúdiaca kvapa-

lina vystrekovaná a vytvára samostatné kvapôčky aerosólu. Kvapôčky sa rozpadnú (zmrstia sa) následkom vypychania rozpúšťadla, následného elektrostatického odpuzdovania sa iónov a rozdelia sa na maličké kvapôčky „suchého aerosólu“<sup>37</sup>. Elektrosprej bol vhodne použitý ako rozhranie pre kombináciu mikro-LC s prietokovou rýchlosťou 10  $\mu\text{l min}^{-1}$  a AES-ICP detektora pre špeciáciu organokovových zlúčenín<sup>27</sup>.

#### 4. Využitie rôznych techník kvapalinovej chromatografie v spojení s atómovou spektrometriou

Kombinácie metód LC a atómovej spektrometrie sa využívajú hlavne na stanovenie a špeciáciu tých prvkov na nízkych koncentračných úrovniach, ktoré sú zaujímavé pri analýze biologických vzoriek a vzoriek životného prostredia. To, akú z mnohých techník LC môžeme použiť, závisí aj od typu detektora a tiež od použitého rozhrania.

V špeciálnej analýze sa najčastejšie využíva iónovo-výmenná chromatografia (IEC, ion-exchange chromatography), kde stacionárnou fázou je iónomenič. Pri špeciácii prvkov v jednoduchších vzorkách životného prostredia (vody) a v biologických vzorkách (moč) sa využívajú hlavne aniónovo-výmenné kolóny ako Supelco LC-SAX1<sup>35,36</sup>, Hamilton PRP X-100<sup>36,79</sup>. Ako zložky mobilných fáz potom prevládajú vodné tlmivé roztoky s rôznymi pH hodnotami.

Dalšou tradičnou technikou je HPLC na obrátených fázach (RP-HPLC) s C-18 kolónami, v ktorej sú v prevažnej miere jednou zo zložiek mobilných fáz organické rozpúšťadlá (napríklad acetonitril a metanol). Ak si úspešná separácia nevyžaduje veľkú elučnú silu, môžu sa tieto rozpúšťadlá pridávať do mobilnej fáze na nízkej koncentračnej úrovni, napríklad 1 % (v/v) acetonitrilu v prípade spojenia s HG-AES-ICP<sup>52</sup>. Vyššia koncentrácia 15 % (v/v) metanolu s 2 % (v/v) acetonitrilu v mobilnej fáze bola použitá pri priamom spojení RP-HPLC s F-AAS<sup>11</sup>. Mobilná fáza obsahujúca 7 % (v/v) metanolu bola použitá pre špeciálnu analýzu ortuť RP-HPLC-CV-AFS metódou<sup>17</sup>.

Využitie dvoch LC separačných mechanizmov: aniónovej výmeny (IEC) a hydrofóbneho efektu (RP-HPLC) využili autori na špeciáciu anorganických a organických foriem selénu pomocou systému prepínania kolón (column-switching)<sup>70</sup>.

Pre zložitejšie matrice (mlieko), obsahujúce veľké zlúčeniny (proteíny), autori použili gélovú chromatografiu (SEC, size exclusion chromatography) v spojení s HG-ETAAS pre zistenie distribúcie medi<sup>80</sup>, selénu<sup>33</sup> a železa<sup>81</sup> v separovaných frakciách proteínov.

#### 5. Záver

Na záver môžeme zhrnúť, že kombinácia kvapalinovej chromatografie s metódami atómovej spektrometrie je stále atraktívnou technikou, hlavne na špeciálnu analýzu

prvkov. Použitím vhodného rozhrania sa môže eliminovať nekompatibilita oboch techník. Najpoužívanejšími rozhraniami sú techniky založené na zhmlovaní, generovaní hydridov a použití sprejov. Ich použitím sa tiež môže zvýšiť spoľahlivosť stanovenia a znížiť medze stanoviteľnosti. Najvyužívanejším mechanizmom LC je iónovo-výmenná chromatografia, keďže sa špeciácia využíva hlavne pri prvkovej analýze kovov vo forme iónov. Pre hydrofóbnejšie organické formy prvkov sa využíva LC na obrátených fázach. Vhodným výberom rozhrania, jeho optimalizáciou a nastavením metód je možné dosiahnuť nízke medze stanoviteľnosti na úrovniach stotín  $\text{ng ml}^{-1}$ .

Kombinácia kvapalinovej chromatografie a atómovej spektrometrie ponúka široké uplatnenie pri špeciácii a stanovení prvkov pri analýzach rôznych biologických vzoriek a vzoriek životného prostredia.

*Táto práca vznikla za finančnej podpory grantov MŠ SR VEGA 1/3563/06, APVV-0595-07, SR VEGA 1/0329/10 a VVCE-0070-07.*

#### LITERATÚRA

1. Florence T. M.: *Talanta* 29, 354 (1982).
2. Ure A. M., Davidson C. M.: *Chemical Speciation in the Environment*, str. 1. Blackie, London 1990.
3. Templeton D. M., Ariese F., Cornelis R., Danielsson L. G., Muntau H., Van Leeuwen H. P., Lobinski R.: *Pure Appl. Chem.* 72, 1453 (2000).
4. Harrison R. M., Rapsomanikis S.: *Environmental Analysis Using Chromatography Interfaced with Atomic Spectroscopy*, John Wiley & Sons, New York 1989.
5. Chausseau M., Roussel C., Gilon N., Mermet J. M.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 366, 476 (2000).
6. Seubert A.: *TRAC – Trend. Anal. Chem.* 20, 274 (2001).
7. Fung Y. S., Sham W. C., *Analyst* 119, 1029 (1995).
8. Ebdon L., Hill S., Ward R. W.: *Analyst* 111, 1113 (1986).
9. Qualigtz G., Vo-Dinh T.: *Handbook of Spectroscopy*. Wiley-VCH, Weinheim 2003.
10. Ali I., Aboul-Enein H. Y.: *Chemosphere* 48, 275 (2002).
11. Sarica D. Y., Türker A. R., Erol E.: *J. Sep. Sci.* 29, 1600 (2006).
12. Sommer L., Komarek J., Burns D. T.: *Pure Appl. Chem.* 64, 213 (1992).
13. Sur R., Dunemann L.: *J. Chromatog., B.* 807, 169 (2004).
14. Vinas P., Lopez-Garcia I., Merino-Merono B., Hernandez-Cordoba M.: *Chromatographia* 57, 611 (2003).
15. Kozak L., Niedzielski P., Szczucinski W.: *Int. J. Environ Anal. Chem.* 88, 989 (2008).
16. Vinas P., Lopez-Garcia I., Merino-Merono B., Hernandez-Cordoba M.: *Talanta* 68, 1401 (2006).
17. Houserová P., Matějíček D., Kubáň V., Pavlíčková J., Komárek J.: *Chem. Listy* 101, 495 (2007).

18. Anthemidis A. N.: *Talanta* 77, 541 (2008).
19. Yanez J., Berndt H.: *Bol. Soc. Chil. Quim.* 45, 535 (2000).
20. Mester Z., Fodor P.: *Anal. Chim. Acta* 386, 89 (1999).
21. Uden P. C.: *J. Chromatogr., A* 703, 393 (1995).
22. Makarov A., Szpunar J.: *J. Anal. At. Spectrom.* 14, 1323 (1999).
23. Gailer J., Buttigieg G. A., Denton M. B.: *Appl. Organometal. Chem.* 17, 570 (2003).
24. Paredes E., Prats M. S., Maestre S. E., Todolí J. L.: *J. Chromatogr., A* 111, 469 (2008).
25. Emteborg H., Bordin G., Rodriguez A. R.: *Analyst* 123, 245 (1998).
26. Carr J. E., Kwok K., Webster G. K., Carnahan J. W.: *J. Pharm. Biomed. Anal.* 40, 42 (2006).
27. Elgersma J. W., Kraak J. C., Poppe H.: *J. Anal. Atom. Spectrom.* 12, 1065 (1997).
28. García Salgado S., Quijano Nieto M. A., Simón M. M. B.: *J. Chromatogr., A* 1129, 54 (2006).
29. Mihucz V. G., Tatár E., Kmety B., Záray., Cseh E.: *J. Inorg. Biochem.* 81, 81 (2000).
30. Burguera J. L., Burguera M.: *Analyst* 123, 561 (1998).
31. Emteborg H., Bordin G., Rodriguez A. R.: *Analyst* 123, 893 (1998).
32. Wang J., Hansen E. H.: *TRAC – Trend. Anal. Chem.* 24, 1 (2005).
33. Bermejo P., Barciela J., Peña, Bermejo A., Fraga J. M., Cocho J. A.: *J. Anal. At. Spectrom.* 16, 188 (2001).
34. Grotti M., Rivaro P., Frache R.: *J. Anal. At. Spectrom.* 16, 270 (2001).
35. Niedzielski P.: *Anal. Chim. Acta* 551, 199 (2005).
36. Tsalev D.L., Sperling M., Welz B.: *Analyst* 123, 1703 (1998).
37. Rychlovký P., Černoš P., Skleničková M.: *Anal. Bioanal. Chem.* 374, 955 (2002).
38. Ivanova E., Berndt H., Pulvermacher E.: *J. Anal. At. Spectrom.* 19, 1507 (2004).
39. Sharp B. L.: *J. Anal. Atom. Spectrom.* 3, 613 (1988).
40. Tsopelas F. N., Ochsenschüh-Petropoulou M. Th., Mergias I. G., Tsakanika L. V.: *Anal. Chim. Acta* 539, 327 (2005).
41. Abbas-Ghaleb K., Gilon N., Cretier G., Mermet J. M.: *Anal. Bioanal. Chem.* 377, 1031 (2003).
42. Ebdon L., Foulkes M., Fredeen K., Hanna C., Sutton K.: *Spectrochim. Acta, B* 53, 859 (1998).
43. Burguera J. L.: *Flow Injection Atomic Spectroscopy*, str. 149. Marcel Dekker, New York 1989.
44. Weber G., Berndt H.: *Chromatographia* 29, 254 (1990).
45. Luo S. K., Berndt H.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 360, 545 (1998).
46. Stupar J., Frech W.: *J. Chromatogr., A* 541, 243 (1991).
47. Das D., Carnahan J. W.: *Anal. Chim. Acta* 444, 229 (2001).
48. Holak W.: *Anal. Chem.* 41, 1712 (1969).
49. Tsalev D.: *J. Anal. At. Spectrom.* 14, 147 (1999).
50. Gómez-Ariza J. L., Sanchez-Rodas D., Giraldez I.: *Anal. At. Spectrom.* 13, 1375 (1998).
51. Moscoso-Pérez C., Moreda-Piñeiro J., López-Mahía P., Muniategui-Lorenzo S., Fernández-Fernández E., Prada-Rodríguez D.: *J. Chromatogr., A* 1215, 15 (2008).
52. Do B., Alet., Pradeau D., Poupon J., Guilley-Gaillet M., Guyon F.: *J. Chromatogr., B* 740, 179 (2000).
53. Satiroglu N., Bektas S., Genc O., Hazer H.: *Turk. J. Chem.* 24, 371 (2000).
54. Kozak L., Niedzielski P.: *Anal. Chim. Acta* 34, 71 (2008).
55. Miravet R., López-Sánchez J. F., Rubio R.: *Anal. Chim. Acta* 576, 200 (2006).
56. De Gregori I., Quiroz W., Pinochet H., Pannier F., Potin-Gautier M.: *J. Chromatogr., A* 1091, 94 (2005).
57. Potin-Gautier M., Pannier F., Quiroz W., Pinochet H., De Gregori I.: *Anal. Chim. Acta* 533, 214 (2005).
58. Sayago A., Beltran R., Recamales M. A. F., Gómez-Ariza J. L.: *J. Anal. Atom. Spectrom.* 17, 1400 (2002).
59. Raessler M., Michalke B., Schulte-Hostede S., Ketrup A.: *Sci. Total Environ.* 258, 171 (2000).
60. Chatterjee A., Shibata Y., Morita M.: *Microchem. J.* 69, 179 (2001).
61. Qiu J., Wang Q., Ma Y., Yang L., Huang B.: *Spectrochim. Acta, B* 61, 803 (2006).
62. Tsalev D. L., Sperling M., Welz B.: *Spectrochim. Acta, B* 55, 339 (2000).
63. Liu H. L., Zhao R., Wei C., Xing Z., Yan J. R., Zhang X. R.: *Chin. J. Anal. Chem.* 33, 1522 (2005).
64. De Gregori I., Quiroz W., Pinochet H., Pannier F., Potin-Gautier M.: *Talanta* 73, 458 (2007).
65. Gómez-Ariza J. L., Sanchez-Rodas D., Beltran R., Giraldez I.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 74, 203 (1999).
66. Mazej D., Falnoga I., Veber M., Stibilj V.: *Talanta* 68, 558 (2006).
67. Smrkolj P., Stibilj V., Kreft I., Kopolna E.: *Anal. Sci.* 21, 1501 (2005).
68. Simon S., Tran H., Pannier F., Potin-Gautier M.: *J. Chromatogr., A* 1024, 105 (2004).
69. Villa-Lojo M. C., Alonso-Rodríguez E., López-Mahía P., Muniategui-Lorenzo S., Prada-Rodríguez D.: *Talanta* 57, 741 (2002).
70. Gómez-Ariza J. L., Sánchez-Rodas D., Caro De la Torre M. A., Giraldez I., Morales E.: *J. Chromatogr., A* 889, 33 (2000).
71. Sur R., Begerow J., Dunemann L.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 363, 526 (1999).
72. Johansson M., Bordin G., Rodríguez A. R.: *Analyst* 125, 273 (2000).
73. Lin Y. H., Wang X. R., Yuan D. X., Yang P. Y., Huang B. L., Zhuang Z. X.: *J. Anal. Atom. Spectrom.* 7, 287 (1992).
74. Liang J., Wang Q., Huang B.: *Anal. Bioanal. Chem.* 381, 366 (2005).
75. Río-Segade S., Bendicho C.: *Talanta* 48, 477 (1999).
76. Houserová P., Matějíček D., Kubáň V., Pavlíčková J.,



- Komárek J.: *J. Sep. Sci.* 29, 248 (2006).
77. Gao E. L., Jiang G. B., He B. Yin Y. G., Shi J. B.: *J. Anal. At. Spectrom.* 23, 1397 (2008).
78. Zhang X., Chen D., Marguardt R., Koropchak J. A.: *Microchem. J.* 66, 17 (2000).
79. Simon S., Barats A., Pannier F., Potin-Gautier M.: *Anal. Bioanal. Chem.* 383, 562 (2005).
80. Bermejo P., Peña E., Fompedriña D., Domínguez R., Bermejo A., Fraga J. M., Cocho J. A.: *Analyst* 126, 571 (2001).
81. Bermejo P., Peña E., Fompedriña D., Domínguez R., Bermejo A., Fraga J. M., Cocho J. A.: *Talanta* 50, 1211 (2000).
82. Gasparic T., Mihucz V. G., Tatár E., Záray G.: *Microchem. J.* 73, 89 (2002).

**R. Halko, T. Neuročný, and M. Hutta** (*Department of Analytical Chemistry, Faculty of Natural Science, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*): **Combination of Liquid Chromatography and Atomic Spectrometry for Speciation of Elements**

This article reviews advances in application of liquid chromatography as a separation method and atomic spectrometry as a detection method. The review is focused on their combination, interfacing and optimization. On-line and off-line techniques of their combination are compared. Various types of interfaces, such as hydride generators, nebulizers and sprays, their potential utilization and their advantages and drawbacks are also discussed. Applications of combined liquid chromatography and atomic spectrometry to analysis of toxic elements (As, Hg, Se, and Sb) and those showing other adverse effects on human health in biological and environment samples are presented.

# MANEKO

## Laboratorní přístroje a technika

Chemikálie a činidla

Laboratorní sklo a porcelán

Plasty a spotřební materiál

Ochranné pomůcky

Laboratorní vybavení

Přístroje pro mechanické operace

Přístroje pro separaci a koncentraci vzorků

Měřicí přístroje

Přístroje pro speciální biologické aplikace

Katalog



zasíláme  
zdarma



**BINDER**

Best conditions for your success

**salvisLAB**

**Alfa Aesar**

A Johnson Matthey Company

**Cole-Parmer**  
Delivering Solutions You Trust

**TOF**  
INDUSTRIE

**ILMVAC**

Maneko, spol. s r. o.  
Na Pískách 71  
160 00 Praha 6

[www.maneko.cz](http://www.maneko.cz)

233 335 638-9  
233 336 579  
Fax: 233 332 656