

**CZYNNIKI WPLYWAJĄCE  
NA EFEKTYWNOŚĆ  
MINERALIZACJI PRÓBEK  
NA MOKRO**

**Mariola Wasilewska,**

Instytut Ciężkiej Syntezy Organicznej

“Blachownia”,

Ul. Energetyków 9,

47-225 Kędzierzyn – Koźle

[mariola@icso.com.pl](mailto:mariola@icso.com.pl)

# Czynniki utleniające:

- Kwas azotowy ( $\text{HNO}_3$ )
- Kwas chlorowy (VII) ( $\text{HClO}_4$ )
- Kwas siarkowy (VI) ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )
- Nadtlenek wodoru ( $\text{H}_2\text{O}_2$ )

Stosowane pojedynczo, jako mieszaniny lub w kombinacji z kwasami o właściwościach kompleksujących:

- Kwas chlorowodorowy ( $\text{HCl}$ )
- Kwas fluorowodorowy ( $\text{HF}$ )

# Jak wybrać czynnik utleniający, który zapewni pełne rozтворzenie próbki?

- Rozważyć skład próbki i formę w jakiej występują w niej badane pierwiastki
- Zastosować kwasy, które w reakcji z badanymi pierwiastkami, tworzą rozpuszczalne sole
- Zwrócić uwagę na to, by czynnik utleniający nie reagował z materiałem naczyń, w których roztwarzamy próbkę (HF nie powinien być stosowany w naczyniach szklanych i kwarcowych,  $H_2SO_4$  – w teflonowych i plastikowych)

# Kwas azotowy

## Zalety:

- Silne właściwości utleniające
- Azotany – sole łatwo rozpuszczalne w wodzie
- W procesie produkcyjnym możliwe jest otrzymanie kwasu o bardzo wysokim stopniu czystości  $\Rightarrow$  zastosowanie do analiz na bardzo niskim poziomie oznaczalności
- Idealnie absorbuje promieniowanie mikrofalowe
- Bezpieczniejszy przy wykonywaniu różnych manipulacji, niż inne kwasy, nie stwarza zagrożenia wybuchowego podczas ogrzewania
- Może być stosowany we wszystkich typach naczyń

# Kwas azotowy

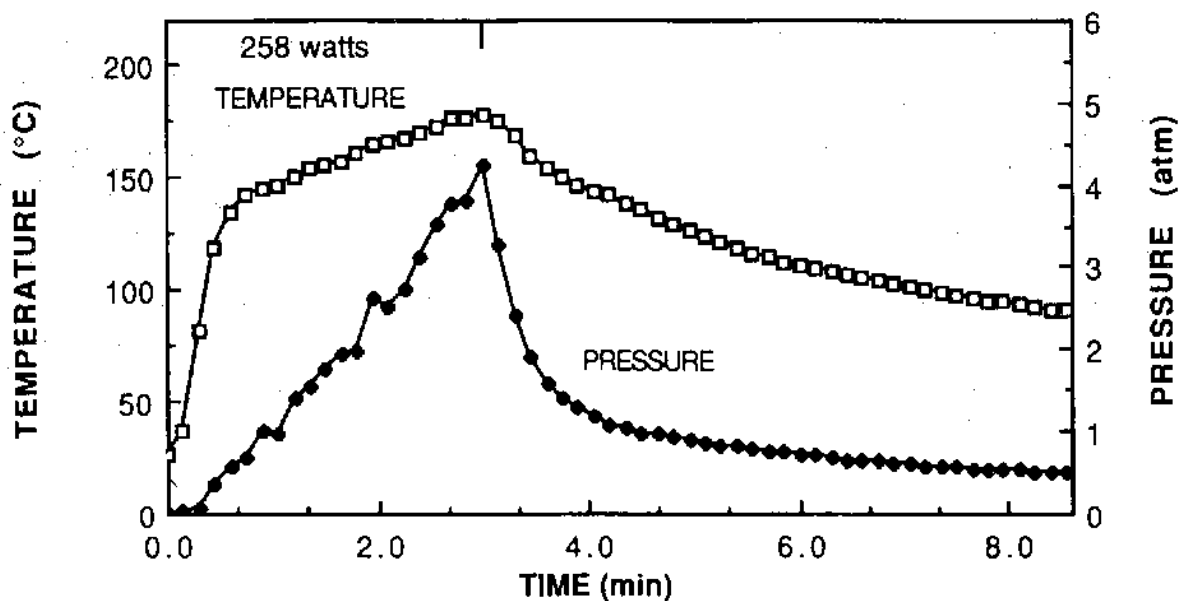
## **Wady:**

- • Z powodu stosunkowo niskiej temperatury wrzenia (120 °C) nie umożliwia całkowitego rozтворzenia trudnych matryc organicznych

# Jak roztworzyć trudne matryce organiczne używając $\text{HNO}_3$ ?

- Dodać innego silnego utleniacza, takiego jak nadtlenek wodoru (???) lub kwas chlorowy (VII)

- Podwyższyć ciśnienie (w naczyniach zamkniętych), na przykład w 5 atm, przy zastosowaniu promieniowania mikrofalowego o mocy 258W osiąga temperaturę 176 °C w ciągu 3 min.



# **Sprawdzanie jakości roztwarzania:**

- Wizualnie – obserwując otrzymany roztwór, który powinien być bezbarwny i klarowny
- Mierząc zawartość węgla organicznego analizatorem TOC lub chromatografem gazowym



# **Potencjalne interferencje wywołane obecnością pozostałości węgla organicznego w roztworze:**

- Organiczne produkty utleniania mogą się zachowywać jak środki powierzchniowo czynne, zmieniając wydajność nebulizera pneumatycznego (AAS, ICP-OES czy ICP-MS)
- Woltamperometria inwersyjna – silne interferencje
- Rozpuszczalniki organiczne zmieniają lepkość roztworów próbek - interferencje fizyczne (płomieniowa AAS, ICP-OES)
- Dymy emitowane w kuwecie grafitowej w etapie atomizacji - wysokie tło
- Złogi węgla w rurkach grafitowych zasłaniają drogę optyczną światła
- Organiczne związki As i Se zakłócają pomiar techniką AAS z generacją wodorków oraz z atomizacją w kuwecie grafitowej

# Zależność zdolności utleniających od temperatury roztwarzania

200 mg próbki TORT 2 (homar) + 5 ml  $\text{HNO}_3$  roztwarzano w następujących systemach:

- HPA (High Pressure Asher) – zamknięty, naczynia kwarcowe, ogrzewany tradycyjnie
- Multiwave System – zamknięty, naczynia kwarcowe, ogrzewany mikrofalowo
- MLS Ethos 1600 – zamknięty, naczynia teflonowe, ogrzewany mikrofalowo
- MLS  $\mu$ ltraCLAVE – otwarty, naczynia teflonowe, ogrzewany mikrofalowo

# Programy mineralizacji

<b>System</b>	<b>Ciśn. / bar</b>	<b>Program mineralizacji</b>
<b>HPA</b>	100	1 – wzrost do temp. roztwarzania - 20 min 2 – utrzymanie temp. - 60 min
<b>Multiwave</b>	75	1 – wzrost mocy prom. mikrofal do 1000W - 10 min 2 - utrzymanie - 30 min
<b>MLS Ethos 1600</b>	30	1 - 2 min (85 °C) 2 - 5 min (145 °C) 3 - 3 min (200 °C) 4 - 30 min (temp. roztwarzania)
<b>MLS µltra- CLAVE</b>	60	1 - wzrost do temp. roztwarzania - 15 min 2 - utrzymanie temp. - 30 min

# Wydajność utleniania próbek w różnych systemach mineralizacji

Temp. /°C	200	220	240	250	260	280	300
<b>HPA</b> TOC / % (n = 3)	8.3 ± 0.6	3.6 ± 0.2	2.1 ± 0.5	-	1.2 ± 0.2	0.4	< 0.1
<b>Multiwa ve</b> TOC / % (n = 5)	5.8 ± 1.0	3.5 ± 0.4	2.0 ± 0.4	1.6 ± 0.5	-	-	-
<b>Ethos 1600</b> TOC / % (n = 5)	10.6 ± 1.0	6.3 ± 0.7	-	1.6 ± 0.5	-	-	-
<b>µltra- CLAVE</b> TOC / % (n = 6)	7.5 ± 0.5	3.6 ± 0.4	2.0 ± 0.4	-	1.1 ± 0.4	-	-

# Wnioski

- Wydajność utleniania jest praktycznie niezależna od rodzaju systemu mineralizacji
- Im wyższa była temperatura roztwarzania, tym niższe wartości TOC zmierzono w roztworach otrzymanych po mineralizacji

# Zależność zużycia kwasu azotowego od temperatury roztwarzania i wydajności utleniania

- Celuloza (44 % C), kwas nikotynowy (58,5% C)
- 0.4 g próbki + 4 ml HNO<sub>3</sub> – system Multiwave
- HNO<sub>3</sub> w roztworzonych próbkach - miareczkowanie 0.1 N KOH

<b>Pozostałość HNO<sub>3</sub> [%] and TOC [%] (n=3)</b>				
Temp./ °C	150		200	
	HNO <sub>3</sub>	TOC	HNO <sub>3</sub>	TOC
4 mL HNO <sub>3</sub>	100	0	100	0
Próbka ślepa	98.5 ± 0.2	0	94.8 ± 0.7	0
Celuloza	74.8 ± 2.4	0.3 ± 0.1	67.1 ± 0.4	0.3 ± 0.1
Kwas nikotynowy	98.4 ± 0.6	99.0 ± 1.0	94.4 ± 0.3	98.0 ± 1.0

# Wnioski

- Zużycie kwasu azotowego zależy od temperatury rozkładu i wydajności utleniania
- Małe ilości kwasu zostały zużyte nawet do roztwarzania próby ślepej
- Kwas nikotynowy nie utlenia się w temperaturze niższej niż 200°C
- Ze względu na interferencje przed wykonaniem analizy instrumentalnej należy rozważyć rzeczywiste stężenie kwasu w roztworze

# Zależność efektywności utleniania od masy próbki

- Ciśnieniowy system mikrofalowy – Multiwave - system zamknięty, max ciśnienie 75 bar, naczynia kwarcowe
- Ciśnienie w takim systemie jest sumą ciśnień cząstkowych CO<sub>2</sub>, HNO<sub>3</sub> i NO<sub>x</sub>.

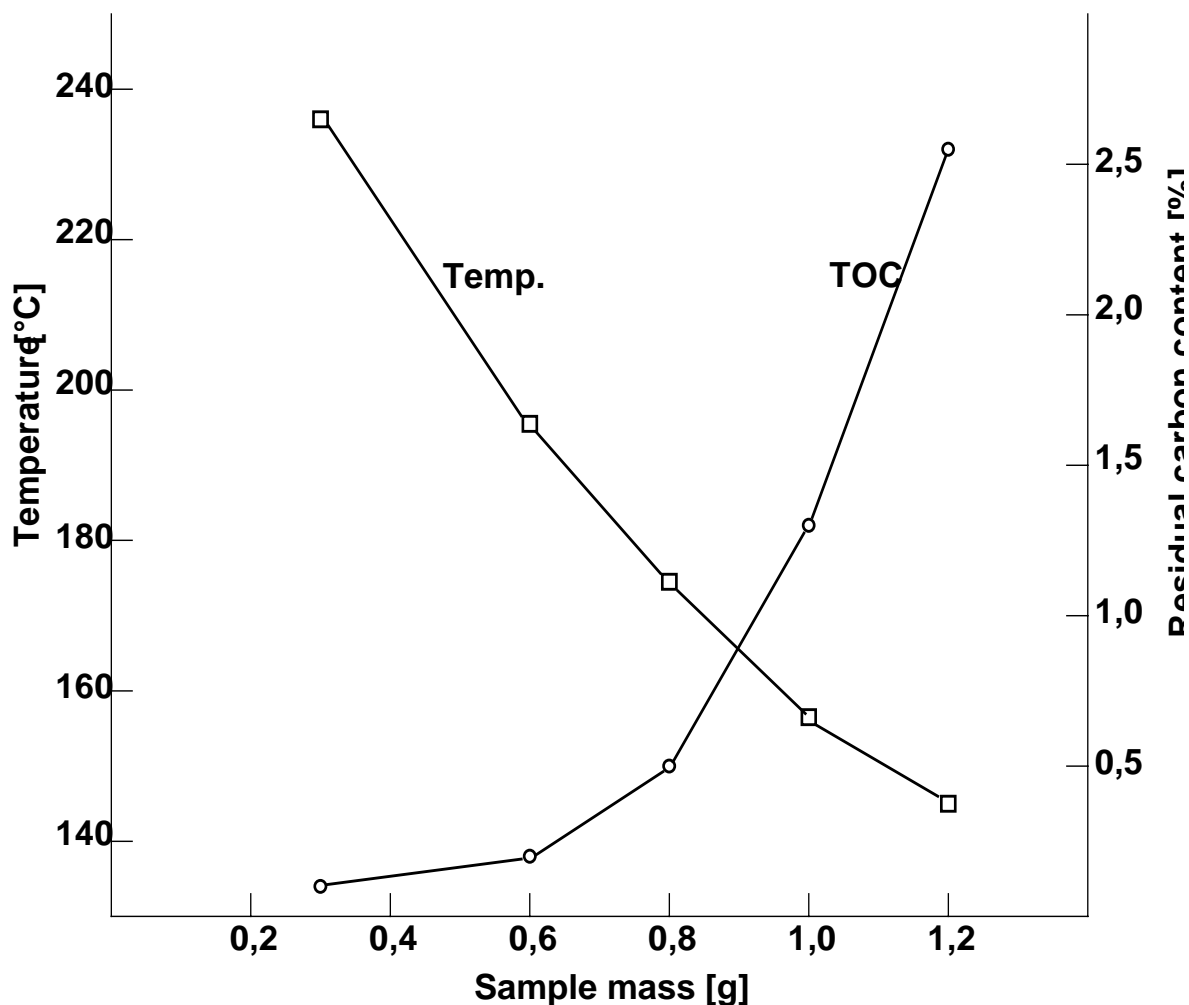
$$P_{\text{total}} = p_{\text{CO}_2} + p_{\text{HNO}_3} + p_{\text{NO}_x}$$

$p_{\text{CO}_2}$  – zależy od masy próbki

$p_{\text{HNO}_3}$  – zależy od temperatury roztwarzania

- Próbki mleka w proszku (0.3-1.2 g) roztwarzano z 5 ml kwasu azotowego





- Przy stałym ciśnieniu, temperatura rośnie wraz ze zmniejszaniem się masy próbki
- Im niższa temperatura roztwarzania, tym większa zawartość węgla organicznego

# **Efektywność utleniania różnych materiałów organicznych**

- Roztworzenie 4 ml kwasu azotowego w temperaturze 220 - 250 °C zgodnie z programem:
  1. Narastanie ciśnienia w ciągu 5 min do 75 bar
  2. Utrzymywanie ciśnienia 75 bar przez 30 min

<b>Rodzaj próbki</b>	<b>Masa próbki / g</b>	<b>TOC / % (n=3)</b>
NBS 1566a (tkanka ostryg)	0.4	1.7 ± 0.3
TORT 2 (homar)	0.4	4.4 ± 0.2
	0.2	1.9 ± 0.1
Wątroba wołowa	0.4	3.2 ± 0.4
	0.2	1.6 ± 0.3
Pestki dyni	0.2	2.0 ± 0.2
Pasztet wołowy	0.2	0.3 ± 0.03
Mleko w proszku	0.2	0.5 ± 0.02
Mąka pszenna	0.4	0.8 ± 0.03
CRM 414 (plankton)	0.4	0.8 ± 0.2
NBS 1547 (liście brzoskwini)	0.4	1.8 ± 0.1
CRM 278 (tkanka małży)	0.2	4.0 ± 0.5
CRM 422 (mięśnie dorsza)	0.2	3.2 ± 0.2
Bisfenol A (H <sub>5</sub> C <sub>6</sub> -C(CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )	0.08	< 0.1
	0.2	< 0.1
Kwas adypinowy (HOOC-(CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> -COOH)	0.06	< 0.1
	0.2	< 0.1

# Wpływ TOC na oznaczanie techniką HG AAS

- W technice HG AAS do kalibracji stosowane są roztwory kwasu arsenowego
- Aby można było porównywać wartości sygnałów otrzymywanych dla próbki i roztworów wzorcowych, niezbędne jest całkowite utlenienie organicznych związków arsenu

# PRZYKŁAD: Oznaczanie arsenu w próbkach organizmów morskich (TORT 2)

- 0.2 g próbki roztworzono z 4 ml  $\text{HNO}_3$
  - Roztwarzanie w HPA w naczyniach kwarcowych (ogrzewanie konwencjonalne) w różnych temperaturach
  - Procedura roztwarzania:  
Narastanie w ciągu 20 min od 20 °C właściwej temp. roztwarzania
2. Utrzymywanie przez 90 min temp. roztwarzania

# Utlenianie organicznych związków arsenu w różnych temperaturach

Temperatura roztwarzania / °C	Arseniany / %	TOC / % n = 3
220	16	3.6 ± 0.2
240	22	2.1 ± 0.5
260	43	1.2 ± 0.2
280	91	0.4 ± 0.1
300	97	< 0.1

- Dopiero w temp. 300 °C uzyskano prawie całkowity rozkład próbki oraz przekształcenie organicznych związków arsenu do arsenianów

# Różne formy As

- As-betaina
- As-cholina
- MMA (monometyloarsen)
- DMA (dimetyloarsen)
- $As^{+3}$
- $As^{+5}$

## Odzysk podczas oznaczania różnych form As techniką HGAAS, w zależności od przygotowania próbki

Matryca	HNO <sub>3</sub> *	HNO <sub>3</sub> /HClO <sub>4</sub> *	HNO <sub>3</sub> /HClO <sub>4</sub> /H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> *	Pomiar bezpośr.
As- betaina	49 %	82 %	113 %	-
As- cholina	47 %	91 %	102 %	-
MMA	-	-	106 %	119 %
DMA	-	-	110 %	98 %
As <sup>+3</sup>	-	-	-	99 %
As <sup>+5</sup>	-	-	-	101 %

\* - roztwarzanie w mikrofalowym systemie ciśnieniowym

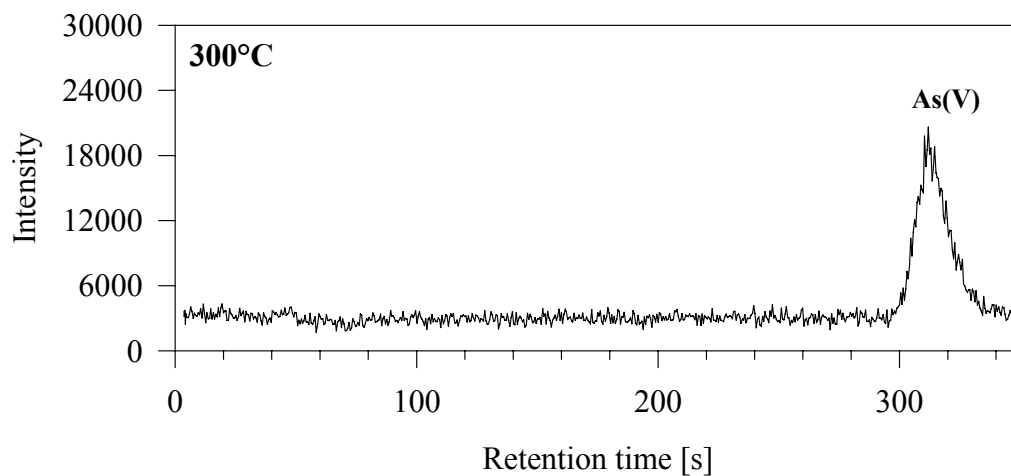
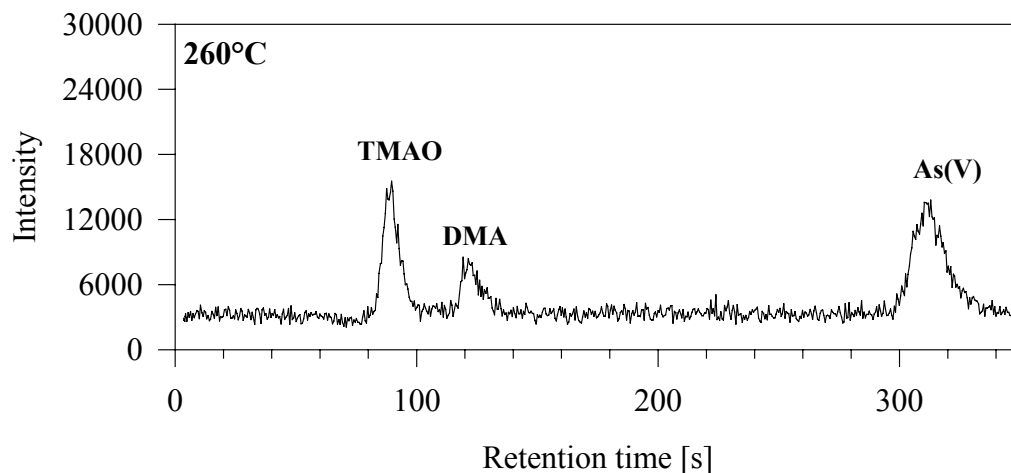
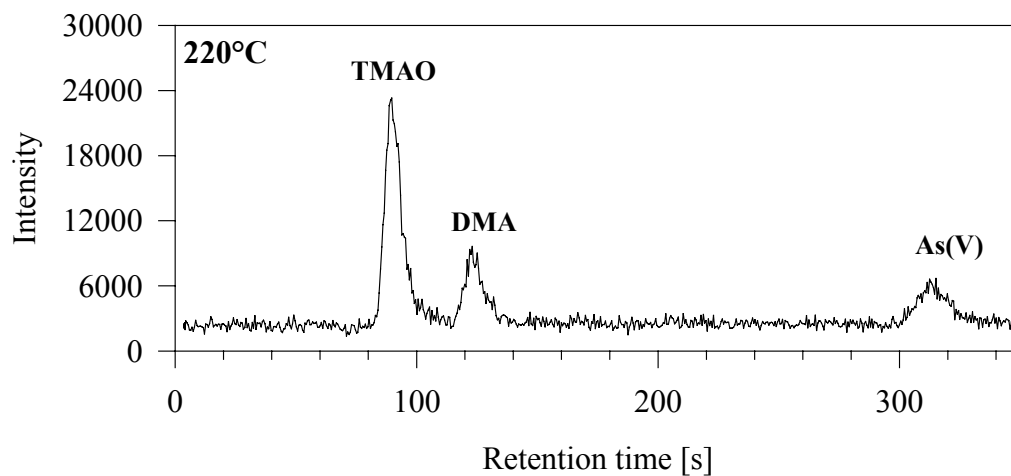
- MMA, DMA, As<sup>+3</sup>, As<sup>+5</sup> mogą być oznaczane techniką HGAAS bez wcześniejszego przygotowania próbki
- As-betaina and As-cholina nie dają sygnału przy oznaczaniu techniką HGAAS; aby uzyskać rzeczywiste wyniki niezbędne jest utlenianie próbki w warunkach silnie utleniających



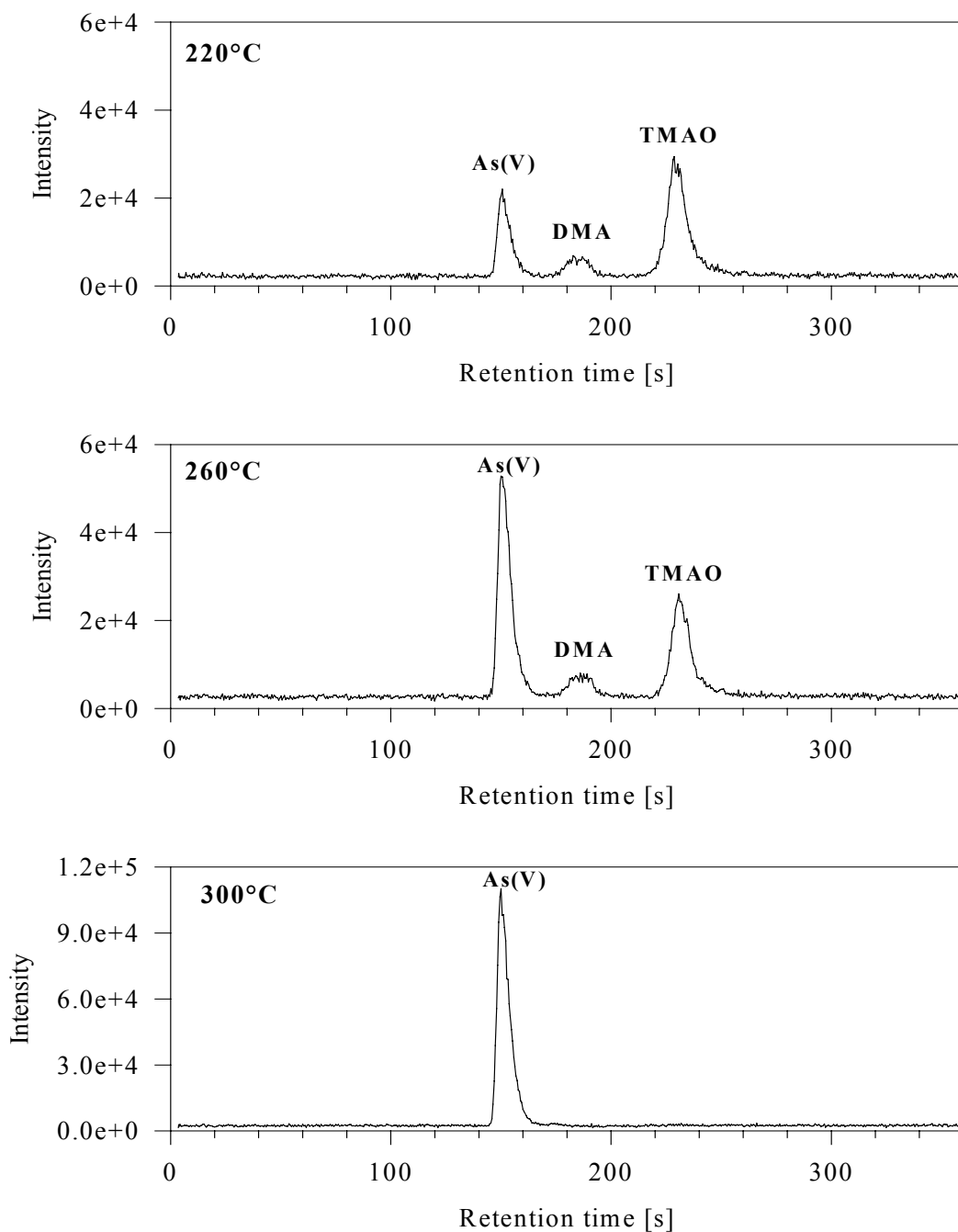
# Oznaczenie organicznych związków arsenu techniką chromatografii jonowej sprzężonej z ICP-MS

- Roztwory uzyskane po mineralizacji próbki TORT 2 odparowano do sucha i rozpuszczono ponownie w 4 ml wody
- Kolumna anionowymienna - Hamilton PRP-X 100, temp. pracy 40 °C, faza ruchoma: 20 mM r-r  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  o pH 6.0
- Kolumna kationowymienna - Supelcosil LC-SCX, temp. pracy 30 °C, faza ruchoma: 20 mM wodny r-r pirydyny
- Objętość nastrzyku: 100  $\mu\text{l}$
- Detektor: VG PQ2 Turbo Plus ICP-MS wyposażony w wysokociśnieniowy nebulizer hydrauliczny

Rysunek 2. HPLC-HHPN-ICP-MS chromatogramy próbki TORT 2 roztworzonej w 220 °C, 260 °C i 300 °C



Rysunek 3: HPLC-HHPN-ICP-MS chromatogramy próbki TORT 2 roztworzonej w 220 °C, 260 °C i 300 °C



## Wnioski

- W zależności od temperatury roztwarzania stwierdzono obecność różnych form organicznych arsenu
- W roztworach po mineralizacji w 220 °C główną formą As był tlenek trimetyloarsenu (TMAO)
- Wraz ze wzrostem temperatury obserwowano obniżanie się sygnału organicznych form As, a wzrost sygnału pochodzącego od kwasu arsenowego (V)
- Dopiero w wyniku mineralizacji w temperaturze 300 °C uzyskano jedynie nieorganiczną formę As - kwas arsenowy (V)

# Wpływ pozostałości węgla organicznego na oznaczanie techniką ICP-OES o konfiguracji osiowej

## **PRZYKŁAD: Oznaczanie As i Se w kwasie nikotynowym**

### **Procedura roztwarzania:**

- 0.2 g próbki kwasu nikotynowego (z dodatkiem 1.5  $\mu\text{g}$  As/g próbki i 2.5  $\mu\text{g}$  Se/g próbki) roztworzono z 3 ml kwasu azotowego (65 %) w 180°C, 220°C i 250°C w systemie Multiwave

## Wpływ TOC na pomiar As i Se techniką ICP-OES osiowej

Temperatura roztwarzania/ °C	As / $\mu\text{g/g}$	Se / $\mu\text{g/g}$	TOC / %
180	$0.9 \pm 0.06$	$4.1 \pm 0.15$	$89 \pm 3$
220	$1.2 \pm 0.10$	$4.0 \pm 0.20$	$83 \pm 5$
250	$1.5 \pm 0.09$	$3.0 \pm 0.40$	$41 \pm 8$

- Po mineralizacji w 180 °C prawie cała zawartość C pozostaje w roztworze – wyniki ozn. As są zaniżone, a Se zawyżone
- Nawet w temp. 250 °C zawartość węgla organicznego wynosi 41 %, a wyniki ozn. Se są wciąż zbyt wysokie

# **Wpływ TOC na oznaczanie techniką ICP-OES i GFAAS z korekcją tła Zeeman'a**

**PRZYKŁAD: Oznaczanie As, Cd,  
Cu, Fe, Hg, Mn, Se i Zn  
w mięśniach dorsza**

**Procedura roztwarzania:**

- 0.5 g próbki CRM 422 (mięśnie dorsza) roztworzono z 4 ml kwasu azotowego i 0.2 ml kwasu chlorowodorowego w temp. 180 °C i 250 °C w systemie Multiwave

## Wpływ TOC na oznaczanie Se techniką ICP-OES i GF AAS

Se [ $\mu\text{g/g}$ ]		
Wartość certyfikow.	ICP-OES	Zeeman GFAAS
$1.63 \pm 0.07$	$2.62 \pm 0.08$	$1.75 \pm 0.13$

- Wartości TOC w próbkach roztworzonych w  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$  i  $250\text{ }^{\circ}\text{C}$  wyniosły odpowiednio  $11 \pm 2\%$  i  $0.8 \pm 0.1\%$
- Wyniki oznaczania wszystkich pierwiastków w roztworze po mineralizacji w  $250\text{ }^{\circ}\text{C}$  pokrywały się z wartościami certyfikowanymi
- Zawartość Se w roztworze po mineralizacji w  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$  oznaczona techniką ICP OES była zawyżona (wpływ pozostałości węgla organicznego)



# **Wpływ TOC na oznaczanie ICP-MS**

## **PRZYKŁAD: Oznaczanie As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Se, Sr, V i Zn w próbce TORT 2 (homar)**

### **Procedura roztwarzania:**

- 0.2 g CRM TORT 2 roztworzono z 5 ml kwasu azotowego w systemie HPA (system zamknięty, ogrzewany tradycyjnie, naczynia kwarcowe) w temp. 200 °C i 280 °C)

### **Wyniki:**

- Zawartość TOC w próbkach roztworzonych w temp. 200 °C i 280 °C wynosiła odpowiednio 8 % i mniej niż 1 %
- Wyniki uzyskane dla wszystkich pierwiastków pokrywały się z wartościami certyfikowanymi
- Nie zaobserwowano wpływu pozostałości węgla organicznego na oznaczanie metali techniką ICP-MS

# Podsumowanie

- Aby nastąpiło całkowite utlenienie związków organicznych za pomocą kwasu azotowego, niezbędne jest zastosowanie temperatury 300 °C
- Jeśli czas roztwarzania jest wystarczająco długi, aby roztwór osiągnął stan równowagi, to rodzaj sprzętu użytego do roztwarzania nie ma większego znaczenia
- Temp. 220-250 °C - TOC = kilka %  
250-300 °C - TOC = dziesiętne cz. %
- Zużycie kwasu azotowego w czasie procesu mineralizacji zależy od temperatury roztwarzania; im wyższa temp. roztwarzania, tym większe było zużycie kwasu azotowego
- Dla niektórych technik analitycznych tj. woltamperometria, ICP-OES czy HGAAS zaobserwowano silne interferencje wywołane obecnością pozostałości węgla organicznego w roztworze

## Literatura:

1. H. M. Kingston, L.B. Jassie, Introduction to Microwave Sample Preparation, American Chemical Society, Washington, DC 1988
2. H. M. Kingston, S. J. Haswell, Microwave-Enhanced Chemistry. Fundamentals, Sample Preparation and Applications, American Chemical Society, Washington, DC 1997
3. M. Wurfels, LABO (1989) 3: 7-15
4. P. Schramel, S. Hasse, Fresenius J. Anal. Chem. (1993) 346:794-799
5. H. Matusiewicz, A. Suszka, A. Ciszewski, Acta Chim. Hung. (1991) 128:849-859
6. H. Matusiewicz, Critical Evaluation of the Nitric Acid Oxidizing systems: Pressurized Microwave-Assisted Digestion Procedure, Materials of 10<sup>th</sup> Poznan Analytical Seminar, 2001
7. M. Wasilewska, W. Goessler, M. Zischka, B. Maichin, G. Knapp, przyjęte do druku przez J. Anal. At. Spectr.