

ROZDZIAŁ 16

METODY ROZKŁADU PRÓBEK NA MOKRO

Henryk Matusiewicz

*Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Technologii Chemicznej,
Politechnika Poznańska 60-965 Poznań*

STRESZCZENIE

Przygotowanie próbek jest kluczowym etapem każdej procedury analitycznej; obejmuje etapy od prostego rozcieńczania aż do częściowego lub całkowitego rozkładu. W rozdziale przedstawiono informacje na temat metod rozkładu na mokro, wykorzystywanych do przygotowania próbek stałych i ciekłych. Metody dotyczą rozkładu na mokro i rozpuszczania próbek organicznych i nieorganicznych w systemach otwartych i zamkniętych, przy zastosowaniu energii cieplnej, mikrofalowej i promieniowania UV. Obecne i przyszłe kierunki rozwoju metod przygotowania próbek dotyczą rozkładu bezpośredniego oraz rozkładu z udziałem kwasów w fazie gazowej. Zamiarem Autorów nie jest przedstawienie szczegółowych procedur rozkładu różnych próbek, lecz wskazanie metod, które są unikalne dla analitycznych metod instrumentalnych oznaczania pierwiastków. Uwagę skupiono na zaletach i wadach różnych technik rozkładu na mokro. Bibliografia zawarta w tej pracy powinna pomóc chemikowi analitykowi w jego poszukiwaniach szczegółowych procedur przygotowania próbek.

1. WPROWADZENIE I RYS HISTORYCZNY

Rozkład próbki (matrycy) odgrywa kluczową rolę w niemal wszystkich procesach analitycznych, ale często nie jest uznawany za istotny etap w chemii analitycznej, ze względu na fakt, że cała uwaga skupiona jest na etapie oznaczania. Taka hierarchia priorytetów znajduje swój wyraźny obraz w planach inwestycyjnych i zakupie sprzętu wielu laboratoriów analitycznych. Jednak w ostatnich latach zauważyć można znaczny wzrost wagi, jaką przykładają się do metod rozkładu próbek (roztwarzania, mineralizacji) w poszukiwaniu rzeczywistych wniosków i wysokiej jakości wyników analitycznych.

Rozkład na mokro z udziałem kwasów utleniających jest najbardziej rozpowszechnioną metodą przygotowania próbek. Wiele spośród obecnie stosowanych metod przygotowania próbek zostało opracowanych w dziewiętnastym wieku. Na początku XIX stulecia Berzelius używał probówek, rozdzielaczy i tygli platynowych; w 1831 roku jako pierwszy wykorzystał do celów analitycznych przemianę SiO_2 w SiF_4 przy pomocy reakcji z HF . W 1834 r. Henry i Zeise opracowali metodę wagowego oznaczania siarki w postaci siarczanów w próbkach organicznych. Ich metoda wymagała, aby próbka była rozpuszczana za pomocą dymiącego kwasu azotowego lub wody królewskiej i stapiana z wodorotlenkiem potasu lub azotanem potasu. Pierwszym odczynnikiem użytym do rozkładu na mokro, który pojawił się w literaturze naukowej był kwas chlorowy powstały z $\text{HCl} + \text{KClO}_3$, opisany przez Duflosa [1], jak również przez Remigiusa Freseniusa i Babo [2] w 1844 r. Klasyczny odczynnik używany do rozkładu próbek na mokro $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$ (najważniejszy i najbardziej wszechstronny spośród tzw. mieszanin utleniających, stosowanych w rozkładzie na mokro) był badany przez Dangera i Flandina w 1841 r. [3] w celach rozkładu substancji organicznej. Użycie czystego, stężonego HNO_3 w systemie zamkniętym, w wysokiej temperaturze i pod wysokim ciśnieniem jest dobrze znane od roku 1860 z pracy Cariusa [4]. Kjeldahl [5] w 1883 r. rozkładał materiał biologiczny przy pomocy wrzącego, stężonego H_2SO_4 w systemie otwartym. Nadtlenek wodoru został wprowadzony przez Classena i Bauera [6] w 1884 r., natomiast HClO_4 był używany w wysokiej temperaturze przez Stcherbaka

[7] w 1893 r. Nowością jest mieszanina Van Slyka [8] złożona z $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_3\text{PO}_4 + \text{KIO}_3 + \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (1954 r.). W 1955 r., Polley i Miller [9] wprowadzili mieszaninę złożoną z 50% H_2O_2 + stęż. H_2SO_4 jako najsilniejszego odczynnika utleniającego. Ponowne odkrycie wysokiej mocy utleniającej rodników $\text{OH}^\bullet$ (odczynnik Fentona $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$) [10] dla rozkładu materiałów biologicznych w 1961 i 1968 roku, przez Sansonego i wsp. [11,12] doprowadziło do powstania techniki rozkładu na mokro w temperaturze poniżej 110 °C.

Od początku lat siedemdziesiątych wyraźnie zauważalny jest duży wzrost zainteresowania, zarówno różnymi technikami rozkładu jak również publikacjami poświęconymi w szczególności metodom rozkładu próbek na mokro.

Rozdział ten stanowi przegląd metod rozkładu próbek na mokro, ostatnich opracowań i zastosowań rozkładu różnych materiałów. Inne metody przygotowania próbek, takie jak ekstrakcja i ługowanie, rozpuszczanie za pomocą zasad, rozkład z udziałem enzymów, rozkład termiczny i utlenianie anodowe wykraczają poza zakres tematyczny tego rozdziału i nie zostaną tu omówione.

2. NAZEWNICTWO

Niektóre metody analityczne wymagają próbek w postaci ciekłej. Tak więc wymagana jest standardowa procedura przemiany stałych próbek (lub zawierających stałe cząstki) w roztwory, przed etapem oznaczania. Jednak to określenie jest często nieprecyzyjne, a nawet wprowadzające w błąd, jeśli rozpatrywany będzie rzeczywisty mechanizm tego procesu. Wiele bardzo różniących się nazw jest stosowanych dla jednej techniki, co stanowi znaczne utrudnienie dla każdego analityka zainteresowanego uzyskaniem szybkiego przeglądu systemów stosowanych do specyficznych zadań. Pojęcia takie, jak: mineralizacja (materiałów organicznych), roztwarzanie (materiałów nieorganicznych), rozkład, spopielanie, rozkład z użyciem kwasów, spopielanie na mokro, a nawet pojęcie rozkładu z użyciem kwasów utleniających, odnoszą się do tego samego procesu. W rozdziale tym wyrażeniem ogólnym będzie **rozkład** (ang. *digestion*), określany jako rozkład na **mokro** (ang. *wet*), dlatego też pojęcie **rozkładu na mokro** (ang. *wet digestion*), będzie używane w odniesieniu do procesu stosowanego w celu uzyskania kwaśnego roztworu. Należy wspomnieć, że wytyczne dla pojęć używanych w procesach rozkładu próbek są zalecane przez Komitet Międzynarodowej Unii Chemii Czystej i Stosowanej (IUPAC) [13, 14].

3. BIBLIOGRAFIA

Istnieje wiele publikacji zawierających użyteczne informacje dotyczące rozkładu (roztwarzania i/lub mineralizacji) dla wielu połączeń matrycy i oznaczanych pierwiastków. Książki i publikacje przeglądowe (oraz odnośniki literaturowe w nich cytowane) zawierają materiał odnoszący się do matryc organicznych [15-18] lub nieorganicznych [19-22]; inne publikacje odnoszą się do obu matryc [23-29].

W ramach zakresu tego rozdziału obszerna dyskusja dotycząca technik rozkładu nie jest możliwa. W celu uzyskania bardziej obszernych informacji dostępne są następujące prace przeglądowe i książki: Šulcek i Povondra [20], Bock [23] oraz Krakovská i H-M. Kuss [29], są one poświęcone wyłącznie tematyce metod rozkładu próbek. Inne opracowania książkowe poświęcone są z kolei wyłącznie jednej technice przygotowania próbek z udziałem energii mikrofalowej [30, 31], temat ten został również poruszony w innych pracach [32-39], nawet literatura dotycząca użycia procedur rozkładu z udziałem energii mikrofalowej do oznaczeń pierwiastków przy pomocy elektrotermicznej absorpcyjnej spektrometrii atomowej (ET-AAS) jest zebrana w formie pracy przeglądowej [40]. W 1997 ogłoszono utworzenie strony internetowej w

sieci WWW służącej wymianie informacji i kształceniu w dziedzinie przygotowania próbek i chemii z użyciem energii mikrofalowej (<http://www.sampleprep.duq.edu/sampleprep>). Odpowiednie zalecenia i wytyczne dotyczące przygotowania próbek (metod rozkładu) różnych matryc są również dostępne w Encyklopedii Chemii Analitycznej [41]. Pomimo faktu, iż trudno odnieść się do każdej pracy opublikowanej w tej dziedzinie, zawarta w tym rozdziale bibliografia obszernie przedstawia postępy tej tematyki w ostatnim czasie.

W celu śledzenia najnowszych rozwiązań i nowych zastosowań w tej dziedzinie czytelnik powinien zapoznawać się z pracami przeglądowymi opublikowanymi w *Journal of Analytical Chemistry* oraz *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. Materiały związane z tematyką rozkładu można znaleźć w rozdziałach: “Przygotowanie próbek” (ang. *Sample preparation*), “Rozkład próbek” (ang. *Sample digestion*) i “Roztworzenie próbek” (ang. *Sample dissolution*).

Cytowana w tym rozdziale literatura nie zawiera wyczerpujących danych, ale została wybrana ze względu na związek z tematyką, trafność i oryginalność prac, możliwe zastosowania oraz nowatorskie rozwiązania i postęp w technikach rozkładu próbek na mokro.

4. ODCZYNIKI I MATERIAŁY NACZYŃ STOSOWANYCH W PROCEDURACH ROZKŁADU NA MOKRO

Metoda rozkładu próbek na mokro jest metodą zamieniającą składniki matrycy w proste związki chemiczne. Rozkład ten jest dokonywany poprzez dostarczenie energii takiej jak energia cieplna, przez użycie odczynnika chemicznego, na przykład kwasu lub przez połączenie tych dwóch sposobów. W przypadku użycia odczynnika, jego natura będzie zależała od charakterystyki matrycy. Ilość użytego odczynnika podyktowany jest wielkością próbki, która z kolei zależy od czułości metody oznaczenia. Jednak proces wprowadzenia próbki do roztworu jest często najbardziej krytycznym etapem procesu analitycznego, ponieważ istnieje wiele źródeł możliwych błędów np.: częściowy rozkład oznaczanego składnika lub zanieczyszczenia pochodzące z naczyń reakcyjnych. Omówienie wszystkich możliwych błędów systematycznych nie jest przedmiotem tego rozdziału, dlatego dalsze szczegóły dotyczące strategii unikania systematycznych błędów podczas rozkładu próbek nie zostaną tu szczegółowo przedstawione.

Większość metod rozkładu na mokro (całkowity rozkład) opartych jest na wykorzystaniu mieszaniny kwasów utleniających (HNO_3 , gorący stężony HClO_4 , gorący stężony H_2SO_4) oraz kwasów nieutleniających (HCl , HF , H_3PO_4 , rozcieńczony H_2SO_4 , rozcieńczony HClO_4) i nadtlenek wodoru. Wszystkie te kwasy są żrące, szczególnie w wysokich temperaturach i wysokich stężeniach. Należy zachować ostrożność w celu uniknięcia wypadków i szkód. Stężone kwasy z wymaganym wysokim stopniem czystości są dostępne w handlu, ale mogą być również oczyszczane dalej przez destylację pod obniżoną temperaturą wrzenia [42]. Szczegółowe omówienie właściwości i zastosowań tych odczynników jest zawarte w innych pracach [20, 22-25].

Metoda rozkładu próbek na mokro charakteryzuje się dużą efektywnością w odniesieniu, zarówno do materiałów nieorganicznych jak i organicznych. Często prowadzi to do zniszczenia lub usunięcia matrycy próbki i w taki sposób pomaga zredukować lub wyeliminować niektóre rodzaje interferencji. Właściwości fizyczne popularnych kwasów nieorganicznych stosowanych w procesach przygotowania próbek są przedstawione w tabeli 1.

Tabela 1. Właściwości fizyczne popularnych kwasów nieorganicznych i odczynników utleniających używanych w rozkładzie próbek na mokro

Związek chemiczny	Wzór	Masa molowa	Stężenie		Gęstość (kg/l)	Temp. wrzenia (°C)	Uwagi
			w/w	molowe (%)			
Kwas azotowy	HNO ₃	63.01	68	16	1.42	122	68% HNO ₃ , mieszanina azeotropowa
Kwas solny	HCl	36.46	36	12	1.19	110	20.4% HCl, mieszanina azeotropowa
Kwas fluorowodorowy	HF	20.01	48	29	1.16	112	38.3% HF, mieszanina azeotropowa
Kwas nadchlorowy	HClO ₄	100.46	70	12	1.67	203	72.4% HClO ₄ , mieszanina azeotropowa
Kwas siarkowy	H ₂ SO ₄	98.08	98	18	1.84	338	98.3% H ₂ SO ₄
Kwas fosforowy	H ₃ PO ₄	98.00	85	15	1.71	213	Rozkłada się do HPO ₃
Nadtlenek wodoru	H ₂ O ₂	34.01	30	10	1.12	106	

Większość procedur rozkładu na mokro jest przeprowadzana w warunkach, które biorąc pod uwagę temperaturę i używane odczynniki, uznawane są za ekstremalne. Tak więc materiał, z którego wykonane są kolby, tygle i inne naczynia, musi być starannie dobrany zgodnie ze szczegółową procedurą, jaka ma być zastosowana. Materiał, z którego wytworzone zostało naczynie, w którym odbywa się rozkład jest również częstym źródłem podwyższonych wartości ślepej próby. Pierwiastki mogą być rozpuszczane z materiału naczynia albo ulegać desorpcji z powierzchni naczynia. Z tego względu bardzo istotny jest rodzaj materiału naczynia. Stosowność materiałów może być oceniana według następujących kryteriów: odporności i przewodności cieplnej, wytrzymałości, odporności na kwasy i alkalia, właściwości powierzchni, reaktywności i zanieczyszczenia.

Tabela 2. Zalecane materiały na naczynia stosowane w procesie rozkładu na mokro.

Material	Nazwa chemiczna	Stosowana temperatura (°C)	Temperatura odkształcenia (°C)	Absorpcja wody %	Uwagi
Szkło borokrzemianowe	SiO ₂ [#]	<800 [*]			Zwyczajne szkło laboratoryjne nie nadaje się do użycia w procedurach rozkładu na mokro
Kwarc	SiO ₂ ^{&}	<1200			Dla wszystkich procedur rozkładu na mokro materiałów organicznych kwarc jest najbardziej odpowiednim materiałem naczyń
Węgiel szklisty	grafit	<500			Węgiel szklisty jest używany w procedurach rozkładu na mokro, w formie tygli i miseczek do stapiania z zasadami
PE	polietylen	<60			
PP	polipropylen	<130	107	<0.02	
PTFE	politetrafluoroetylen	<250	150	<0.03	PTFE jest głównie używanym materiałem naczyń do rozkładu na mokro w systemach ciśnieniowych
PFA	perfluoroalkoksy alkan	<240	166	<0.03	
FEP	tetraperfluoroetylen	<200	158	<0.01	
TFM	tetrafluorometoksy alkan			<0.01	

[#] Zawartość SiO₂ pomiędzy 81 a 96%.

^{*} Mięknie w temperaturze 800 °C.

[&]SiO₂ 99.8%.

Również musi być wzięta pod uwagę szczególna charakterystyka materiałów organicznych i nieorganicznych. W tabeli 2 przedstawiono preferowane materiały, z których mogą być wykonane naczynia stosowane w procesach rozkładu. Aparaty i pojemniki stosowane do procedur rozkładu na mokro muszą być skrupulatnie czyszczone i sprawdzane ze względu na możliwe zanieczyszczenia. Zwykle naczynia wystarczy przed użyciem gotować w stężonym kwasie azotowym, a następnie spłukiwać kilkakrotnie wodą o wysokiej czystości. W przypadkach, gdy ta procedura jest niewystarczająca, jedną z najbardziej efektywnych procedur jest czyszczenie naczyń przy pomocy pary wytworzonej z kwasu azotowego lub solnego w zestawie złożonym z zamkniętego naczynia teflonowego ogrzewanego mikrofalami [43]. Procedura ta jest szczególnie zalecana dla naczyń wykonanych z kwarcu, szkła borokrzemianowego i politetrafluoroetyleny (PTFE).

Podsumowując należy stwierdzić, że kwas azotowy jest niemal uniwersalnym odczynnikiem procesów rozkładu i najczęściej stosowanym podstawowym utleniaczem do mineralizacji substancji organicznej, ponieważ nie przeszkadza w większości oznaczeń i jest dostępny w handlu w postaci o wystarczającej czystości. Nadtlenek wodoru i kwas solny mogą być stosowane w połączeniu z kwasem azotowym jako odczynniki poprawiające efektywność rozkładu. Kwas solny i siarkowy może przeszkadzać w oznaczeniach stabilnych związków. Mieszaniny z kwasem solnym są najczęściej stosowane dla próbek zawierających głównie matryce nieorganiczne, a połączenia z kwasem fluorowodorowym są używane do rozтворzenia krzemianów, nierozpuszczalnych w innych kwasach. Podczas używania kwasu nadchlorowego szczególnie istotne jest zachowanie bezpieczeństwa pracy.

5. PROCEDURY ROZKŁADU NA MOKRO (MINERALIZACJA I ROZTWARZANIE)

Przygotowanie próbek do analizy z udziałem kwasów w celu uwolnienia badanych pierwiastków od matrycy próbki i przeniesienia ich do ciekłej matrycy w celu dalszego oznaczania jest częstym zadaniem w wielu laboratoriach. Stosuje się różnorodne techniki, od rozkładu na mokro pod ciśnieniem atmosferycznym w zlewce umieszczonej na płytce grzejnej, aż do ogrzewania pod wysokim ciśnieniem z udziałem energii mikrofalowej.

Roztwarzanie jest zwykle definiowane jako prosty proces rozpuszczania substancji w odpowiedniej cieczy, w niskiej temperaturze z udziałem lub bez udziału reakcji chemicznej. Termin mineralizacja oznacza bardziej złożony proces, który zwykle jest dokonywany w wyższej temperaturze i/lub pod zwiększonym ciśnieniem, przy pomocy odczynników i specjalnej aparatury. Jednakże nie można dokonać wyrazistego rozdziału tych pojęć.

W tabeli 3 przedstawiono przegląd metod rozkładu próbek organicznych i nieorganicznych na mokro, najstarszych i wciąż najczęściej używanych technik. Celem nie jest przedstawienie szczegółów dotyczących procedur dla różnych matryc próbek, lecz raczej wskazanie metod, które są unikalne dla każdej techniki i próbki.

Tabela 3. Ogólna charakterystyka technik rozkładu próbek na mokro.

Technika rozkładu próbek	Wymagane odczynniki	Zastosowanie (rodzaj matrycy)
Systemy otwarte		
Ogrzewanie konwencjonalne	HNO ₃ , HCl, HF, H ₂ SO ₄ , HClO ₄ , H ₂ O ₂	nieorganiczna/organiczna
Ogrzewanie mikrofalowe	HNO ₃ , HCl, HF, H ₂ SO ₄ , HClO ₄ , H ₂ O ₂	nieorganiczna/organiczna
Mineralizacja UV	H ₂ O ₂ , K ₂ S ₂ O ₈	wody, zawiesiny
Systemy zamknięte		
Ogrzewanie konwencjonalne	HNO ₃ , HCl, HF, H ₂ O ₂	nieorganiczna/organiczna
Ogrzewanie mikrofalowe	HNO ₃ , HCl, HF, H ₂ O ₂	nieorganiczna/organiczna
Systemy przepływowe		
Ogrzewanie konwencjonalne	HNO ₃ , H ₂ SO ₄ , H ₂ O ₂	nieorganiczna/organiczna
Mineralizacja UV	H ₂ O ₂ , K ₂ S ₂ O ₈	wody, zawiesiny?
Ogrzewanie mikrofalowe	HNO ₃ , H ₂ SO ₄ , H ₂ O ₂	nieorganiczna/organiczna
Rozkład z udziałem kwasów w fazie gazowej	HNO ₃ , HCl, HF, H ₂ O ₂	nieorganiczna/organiczna

5.1. Systemy otwarte

Techniki rozkładu dokonywane w naczyniach otwartych z użyciem kwasów (jedne z najstarszych technik) są bez wątpienia najbardziej rozpowszechnionymi metodami mineralizacji lub roztwarzania próbek organicznych i nieorganicznych w laboratoriach chemicznych. Ta niedroga technika ma duże zalety dla rutynowych analiz, ponieważ może być w łatwy sposób zautomatyzowana. Wszystkie istotne parametry (czas, temperatura, wprowadzanie odczynników rozkładu) mogą być kontrolowane w sposób bezpośredni. Wiele różnorodnych metod i ich odmiany zostały opisane w literaturze.

Główną zaletą rozkładu na mokro (ang. *wet digestion*) nad rozkładem na sucho (ang. *dry ashing*) jest szybkość tego procesu. Jednakże systemy tego typu ograniczane są przez niskie temperatury rozkładu, które nie mogą przekroczyć temperatury wrzenia odpowiedniego kwasu lub mieszaniny kwasów w warunkach ciśnienia atmosferycznego. Dla przykładu: moc utleniająca kwasu azotowego w odniesieniu do wielu matryc jest niewystarczająca dla tak niskich temperatur (temperatura wrzenia 122°C). Możliwym środkiem zaradczym jest dodanie kwasu siarkowego, który powoduje znaczny wzrost temperatury roztworu kwasu(ów). To, czy ten sposób jest praktyczny, zależy od matrycy i metody oznaczania. Próbki o wysokiej zawartości tłuszczu i białka zwykle nie ulegają całkowitemu rozkładowi pod ciśnieniem atmosferycznym. Inne wady tej techniki związane są z ryzykiem zanieczyszczenia przez otaczające powietrze, koniecznością użycia większych ilości wymaganych odczynników (bardzo często dość drogich) oraz niebezpieczeństwem strat pierwiastków lotnych. Straty mogą być utrzymywane na niskim poziomie przez użycie nadmiaru kwasu (głównie azotowego) w połączeniu z chłodnicą zwrotną oraz przez optymalizację temperatury i czasu trwania procesu. Niemniej systemy działające pod ciśnieniem atmosferycznym są preferowane ze względu na bezpieczeństwo.

5.1.1. Ogrzewanie klasyczne (rozkład na mokro z udziałem energii cieplnej przekazywanej konwekcyjnie)

Konwencjonalne rozwiązanie dotyczące metod rozkładu na mokro, które na przestrzeni wielu lat udowodniło swoją wartość, wymaga systemu wyposażonego w źródło ogrzewania (palnik Bunsena, płyta grzejna, łaźnia piaskowa, itp.), które działa albo w znanej temperaturze, albo zgodnie z programem temperaturowym. Naczynia, w których dokonywane są rozkłady w obecności kwasu, nie są specjalnie dobierane; zwykle jest to szkło lub PTFE (zlewka, kolba stożkowa itp.), czasem w połączeniu z chłodnicą zwrotną. Jednak gdy próbka jest rozkładana w systemie otwartym, zastosowanie chłodnicy zwrotnej jest konieczne; aparat taki został opisany w literaturze [44]. Systemy otwarte były popularne w analizie próbek w ostatnich dziesięcioleciach, ich wadą jednak jest podatność na korozję i wynikające z tego ryzyko zanieczyszczenia próbek. Z tego powodu techniki rozkładu wykorzystujące płyty grzejne nie są uznawane za odpowiednie i nowoczesne techniki w procesach przygotowania próbek w analizie śladowej i ultraśladowej. Coraz częściej rozpatrywane są systemy grzejne grafitowe do rozkładu próbek. Systemy te pozbawione są wad charakterystycznych dla tradycyjnych systemów ze stali nierdzewnej lub aluminium, ponieważ w celu uniknięcia możliwości wprowadzenia zanieczyszczeń metalami podczas pracy z próbkami wykonane są z grafitu lub zwykle pokryte za pomocą warstwy fluoropolimeru. Systemy wykonane z grafitu stanowią alternatywę dla obecnej technologii naczyń stosowanych w otwartych i zamkniętych systemach ("klasycznych" i z udziałem energii mikrofalowej) rozkładu próbek, ponieważ umożliwiają jednoczesny rozkład dużej liczby próbek, w ten sposób przełamując jedno z głównych ograniczeń systemów wykorzystujących naczynia zamknięte. Najczęściej stosowane odczynniki do rozkładu próbek- to kwas azotowy, kwas siarkowy, kwas fluorowodorowy, kwas nadchlorowy i nadtlenek wodoru, a także ich połączenie. Większość zastosowań metody rozkładu próbek na mokro dotyczy wodnych i organicznych matryc takich, jak: wody powierzchniowe, wody odpływowe, próbki biologiczne i kliniczne, próbki żywności, a także gleby, osady, szlamy, węgiel oraz materiały wysokiej czystości. Ponadto systemy otwarte w ostatnim czasie uległy rozwojowi, zestawy do rozkładu próbek składają się z kilku naczyń wyposażonych w chłodnice zwrotne w celu ograniczenia możliwych strat związanych z lotnością niektórych składników i uniknięcia parowania mieszaniny reakcyjnej. Takie zestawy są całkowicie wystarczające do zapewnienia równoczesnego rozkładu dużej ilości próbek. Współczesny, dostępny w handlu aparat do rozkładu próbek typu Hach Digesdahl Digestion Apparatus (Hach Comp., USA) został zaprojektowany w celu rozkładu próbek organicznych i nieorganicznych do dalszych analiz.

5.1.2. Ogrzewanie mikrofalowe (rozkład na mokro z udziałem energii mikrofalowej)

Najbardziej innowacyjnym źródłem energii dla procedur rozkładu na mokro są mikrofae. Ponieważ ogrzewanie ma miejsce wewnątrz mieszaniny rozkładającej, ogrzewanie z udziałem mikrofal jest bardziej efektywne niż ogrzewanie konwencjonalne. Przy zastosowaniu mikrofal często wzrasta zarówno szybkość jak i efektywność rozkładu dla niektórych rodzajów próbek uznawanych za "trudne" do rozpuszczenia, ponadto możliwa staje się automatyzacja niektórych procesów.

Stosuje się kilka nazw tej techniki. Przykładem niepoprawnego nazewnictwa jest bezkrytycznie używane pojęcie "ogrzewania mikrofalowego" w odniesieniu do rozkładu z udziałem kwasów i energii mikrofalowej. Pomimo że technika ta wykorzystuje promieniowanie mikrofalowe, bezpośrednie oddziaływanie tego promieniowania w najlepszym wypadku ma znikome znaczenie. Mikrofae nie mogą

w sposób bezpośredni rozerwać wiązania w cząsteczce, ponieważ ich energia jest zbyt mała, aby wzbudzać stany elektronowe lub oscylacyjne. Rotacyjne wzbudzenie dipoli i ruch cząsteczek związane z migracją jonów są jedynymi procesami obserwowanymi w polu mikrofalowym [45]. Z tego powodu zalecane jest pojęcie “rozkładu z udziałem energii mikrofalowej” (ang. “*microwave-assisted digestion*”).

Od czasu pojawienia się w 1975 roku doniesienia Abu-Samra i wsp. [46], dotyczącego zastosowania techniki mikrofalowej do rozkładu na mokro próbek biologicznych (pierwsza publikacja dotycząca rozkładu na mokro z udziałem energii mikrofalowej), obserwuje się gwałtowny rozwój metod rozkładu na mokro z udziałem energii mikrofalowej w analizie pierwiastkowej. Ostatnie prace przeglądowe [26-41] szczegółowo opisują zastosowanie rozkładu na mokro z udziałem energii mikrofalowej dla szeregu rodzajów próbek - geologicznych, biologicznych, klinicznych, botanicznych, środowiskowych, żywnościowych, szlamu, węgla, popiołu, metali i materiałów syntetycznych oraz próbek mieszanych; prace te prezentują specyficzne warunki doświadczalne w zależności od matrycy poddawanej rozkładowi. Pierwsze próby z użyciem rozkładu próbek na mokro z udziałem energii mikrofalowej dokonywane były w kuchenkach mikrofalowych stosowanych w gospodarstwach domowych (w tym czasie urządzenia do tego celu nie były dostępne w handlu). Ze względów bezpieczeństwa i efektywności powinno się unikać użycia domowych kuchenek mikrofalowych w laboratoriach. Rozkład na mokro z udziałem energii mikrofalowej w systemach otwartych pod ciśnieniem atmosferycznym (otwarte naczynia z chłodnicami zwrotnymi ze szkła borokrzemianowego, kwarcu i PTFE, ze skupionym oddziaływaniem mikrofal) jest stosowany tylko dla “łatwych” matryc lub w ściśle określonych celach, a wyniki są odtwarzalne tylko wtedy, gdy określone parametry procesu rozkładu są dokładnie obserwowane. Możliwości systemu ze skupioną energią mikrofalową i różnorodność jego zastosowań zostały przedstawione w pracach przeglądowych [30, 31, 47]. Przygotowanie próbek z udziałem skupionej energii mikrofalowej jest odpowiednią strategią pracy z próbkami organicznymi o dużej masie (do 10g). Mogą wystąpić straty w przypadku rtęci, a także w przypadku związków metaloorganicznych (na przykład związków zawierających arsen, antymon lub cynę). Dodatek kwasu siarkowego jest konieczny w celu uzyskania wysokich temperatur rozkładu pod ciśnieniem atmosferycznym, kiedy temperatura wrzenia kwasu ustanawia maksimum temperaturowe procesu. Należy jednak pamiętać, że obecność siarczanów zakłóca wiele metod oznaczania metali (na przykład bezpłomieniowa absorpcyjna spektrometria atomowa lub techniki elektrochemiczne). Systemy rozkładu pod ciśnieniem atmosferycznym (STARPlus Systems, CEM Corp., USA; QLAB6000 System, Questron Technologies Corporation, Canada) są wiodącymi w tej dziedzinie. Zostały zaprojektowane do oznaczeń rutynowych i w łatwy sposób mogą być zautomatyzowane. Dodatkowo w otwartych systemach może być dokonywane zautomatyzowane odparowanie do sucha poprzez dołączenie pompy w celu usuwania oparów podczas ogrzewania naczynia reakcyjnego. Jednocześnie można stosować różne metody dla różnych próbek dzięki możliwości obsługi każdego z naczyń reakcyjnych niezależnie. Wszystkie istotne parametry takie, jak: objętość odczynnika, czas rozkładu, stosowana moc, skład dodanego odczynnika mogą być kontrolowane w sposób bezpośredni. Systemy mikrofalowe, przeznaczone do pracy pod ciśnieniem atmosferycznym, ograniczane są przez niską temperaturę rozkładu, która nie może przekroczyć temperatury wrzenia kwasu (lub mieszaniny kwasów) charakterystycznej dla procesów przeprowadzanych pod ciśnieniem atmosferycznym. Systemy te stanowią najlepsze rozwiązanie ze względu na bezpieczeństwo pracy, ponieważ uniemożliwiają powstanie nadciśnienia. Ponadto takie systemy mikrofalowe

pracujące pod ciśnieniem atmosferycznym są odpowiednie dla rozkładu w układzie *on-line* oraz w systemach w ciągłym przepływie (ang. *continuous-flow systems*).

Opracowano zintegrowany aparat, w którym próbka może być poddawana jednoczesnemu działaniu mikrofal (MW) i ultradźwięków (US) [48]. Połączenie tych dwóch oddziaływań promieniowania elektromagnetycznego (2.45 GHz) i mechanicznego (20 KHz), w celu zastosowania ich do procesów rozkładu, wydaje się interesujące. Reaktor MW-US został zaprojektowany do procedur mineralizacji produktów biologicznych (olej z oliwek) i roztwarzania produktów chemicznych (materiał Co_3O_4 odporny na rozkład) pod ciśnieniem atmosferycznym w kwasie azotowym i nadtlenu wodoru. Poddawanie próbki jednoczesnemu działaniu mikrofal i ultradźwięków jest nową techniką rozkładu próbek stałych i ciekłych pod ciśnieniem atmosferycznym, odpowiednią dla analiz materiałów chemicznych i biologicznych.

5.1.3. Rozkład z udziałem promieniowania UV (fotoliza)

Rozkład z udziałem promieniowania ultrafioletowego (UV) jest używany głównie dla niezanieczyszczonych lub w nieznacznym stopniu zanieczyszczonych próbek wód, takich jak wody: morskie, powierzchniowe, słodkie, rzeczne, jeziorne, gruntowe, przybrzeżne oraz wody ujścia rzek. Ciecze lub zawiesiny ciał stałych są rozkładane przy pomocy promieniowania UV (światła) w obecności małych ilości nadtlenu wodoru, kwasów (głównie HNO_3) lub nadsiarczanu (np.: napoje, niektóre ścieki przemysłowe, woda w oczyszczalniach ścieków, ekstrakty glebowe) [49]. Rozpuszczona substancja organiczna i kompleksy oznaczanych pierwiastków są rozkładane na wolne jony metali. Naczynie, w którym odbywa się rozkład, musi być umieszczone możliwie najbliżej lampy UV (nisko- lub wysokociśnieniowej), aby zapewnić duży strumień fotonów. W procesie fotolizy mechanizm rozkładu może być opisany powstawaniem rodników $\text{OH}^\bullet$ z wody i z nadtlenu wodoru, który jest inicjowany przy pomocy promieniowania UV [49]. Te aktywne rodniki są zdolne do utleniania substancji organicznej do dwutlenku węgla i wody, w przypadku gdy matryca próbki zawiera do 100 mg/l węgla. Całkowite usunięcie matrycy jest możliwe tylko w przypadku prostych matryc lub w przypadku połączenia fotolizy z innymi technikami rozkładu [50]. Metoda ta zapewnia utlenienie wszystkich organicznych składników występujących w wodzie, które są utleniane tylko częściowo: chlorowane fenole, nitrofenole, heksachlorobenzen i inne związki. Konieczne jest efektywne chłodzenie próbki, gdyż w przypadku jego braku mogą nastąpić straty łatwo lotnych pierwiastków. Aby otrzymać klarowny roztwór po procesie rozkładu próbki, konieczne może być kilkukrotne dodawanie nadtlenu wodoru. Nowoczesne systemy rozkładu z udziałem promieniowania UV są dostępne na rynku (patrz [49], tabela 1).

5.2. Systemy zamknięte

Na przestrzeni ostatnich dziesięcioleci szerokie zastosowanie znalazły metody rozkładu próbek na mokro z użyciem naczyń zamkniętych. Zaletą systemów zamkniętych jest izolowanie procedury rozkładu próbek od otaczającego ją środowiska laboratoryjnego co powoduje zmniejszenie zanieczyszczenia. Rozkład próbki jest zapewniany przez tradycyjną procedurę rozkładu, dokonywaną w warunkach synergicznego oddziaływania podwyższonej temperatury i ciśnienia. Rozkład następuje w wysokich temperaturach zależnych od temperatury wrzenia mieszaniny reakcyjnej. Ciśnienie, samo w sobie, w istocie jest jedynie niepożądanym i nieuniknionym efektem ubocznym. Techniki te są znacznie bardziej efektywne w porównaniu z konwencjonalnymi metodami rozkładu na mokro, eliminuje się lotność pierwiastków oraz redukuje się wpływ otoczenia na wzrost wartości ślepej próby, możliwy staje się rozkład

“trudniejszych” próbek. Głównym argumentem uzasadniającym stosowanie tej techniki rozkładu jest ogromne doświadczenie zgromadzone w ostatnich latach. W literaturze zawartych jest wiele praktycznych informacji z uwzględnieniem prawie każdej matrycy i dużej ilości pierwiastków. Rozkład próbek w systemach zamkniętych jest szczególnie odpowiedni dla analizy śladowej i ultraśladowej, szczególnie w przypadku próbek o małej masie.

Ponieważ moc utleniająca odczynników wykazuje wyraźną zależność od temperatury, należy dokonać podziału pomiędzy rozkładem pod niskim lub też pod wysokim ciśnieniem. Rozkład próbek w warunkach niskiego ciśnienia (< 20 bar) jest ograniczony do temperatury ok. 180°C , podczas gdy w aparatach wysokociśnieniowych (> 70 bar) temperatura rozkładu może przekroczyć 300°C .

5.2.1. Ogrzewanie konwencjonalne (rozkład ciśnieniowy na mokro z udziałem energii cieplnej przekazywanej konwekcyjnie)

Określenie “rozkład ciśnieniowy” jest kolejnym przykładem niepoprawnej terminologii, stwarzającym wrażenie, że ciśnienie ma kluczowe znaczenie dla procesu rozkładu. W rzeczywistości to wysoka temperatura wrzenia zapewnia bardziej efektywny rozkład, nie ciśnienie. Jednak należy podkreślić, że stopniowy wzrost ciśnienia wprowadza zagrożenie dla zastosowań omawianych metod. Metody te lepiej opisuje określenie “metoda rozkładu na mokro w systemach zamkniętych”. Jednak w opinii autora nazwa zwyczajowa powinna być pozostawiona z powodu szerokiego jej stosowania, próby zmiany nazwy procedury mogłyby spowodować więcej nieporozumień.

Rozkład substancji nieorganicznych i organicznych w zamkniętych probówkach jest metodą rozkładu ciśnieniowego zaproponowaną po raz pierwszy pod koniec XIX wieku i nadal niektóre z jej zastosowań trudno zastąpić innymi metodami. Stosowanie szklanych zamkniętych probówek zaproponowane przez Mitscherlicha [51] i Cariusa [4,52], często określane jako metoda Cariusa, zostało opisane po raz pierwszy w 1860 r. Carius przeprowadził rozkład materiałów organicznych przy pomocy stężonego kwasu azotowego w temperaturze $250 - 300^{\circ}\text{C}$. Próbkę i kwas zostały zmieszane wewnątrz grubościennej zamkniętej kwarcowej ampułki. Ampułka została przeniesiona do “obudowy bomby” i ogrzewana przez kilka godzin, a następnie schłodzona, otwarta a zawartość analizowana. Rozkład z wykorzystaniem metody Cariusa w ampułkach powoduje powstanie ciśnienia powyżej 100 bar (atm) w temperaturze 240°C . Powrót do metody Cariusa w celu rozkładu materiałów odpornych na rozkład nastąpił w latach czterdziestych XX wieku w laboratoriach U.S. National Bureau of Standards [53-55]. Praca z ampułkami, wewnątrz których panuje wysokie ciśnienie, wymaga dużej uwagi. Opis konstrukcji ampułek Cariusa zaprojektowanych w celu zminimalizowania strat i niebezpieczeństwa wybuchu można znaleźć w publikacji [54]. Ze względów bezpieczeństwa, wykonano naczynie ciśnieniowe ze stali nierdzewnej (wraz z granulami zestalonego CO_2 , w celu utrzymania takiego samego ciśnienia na ściankach obu naczyń podczas ogrzewania), do którego wstawiono ampułkę Cariusa [56].

Wraz z zastosowaniem metody Cariusa rozwinęła się technika rozkładu w naczyniach zamkniętych. Rozkład próbek w autoklawach z metalowymi naczyniami reakcyjnymi został zaproponowany w 1894 przez Jannascha [57], ale metoda ta nie rozpowszechniła się z powodu wielu wad np. silnej korozji naczyń platynowych. Siedemdziesiąt lat później zaprojektowano [58] nowy typ autoklawu z wewnętrzną okładziną wykonaną ze stopu platyny i irydu (tygiel i bomba powlekane platyną), bardziej odpornego od platyny w przypadku zastosowania kwasu fluorowodorowego. Konstrukcja autoklawu z metalowym naczyniem reakcyjnym jest bardzo kosztowna

z powodu skomplikowanego jej wykonania. Dlatego też technika ta nie jest stosowana w praktyce laboratoryjnej, a aparatura nie jest wytwarzana.

Rozwój techniki rozkładu ciśnieniowego w procedurach analitycznych rozpoczął się w roku 1960 jako rezultat znacznego postępu technologicznego w produkcji organicznych materiałów polimerowych. Systemy wykorzystujące naczynia ciśnieniowe ogrzewane konwekcyjnie sprawdziły się jako wartościowe systemy do zapewnienia całkowitego- lub prawie całkowitego- rozkładu stałych próbek, ponieważ zapewniają podwyższone temperatury rozkładu (około 200 – 230 °C [59]). Większość naczyń reakcyjnych używanych do rozkładu ciśnieniowego z udziałem energii cieplnej przekazywanej konwekcyjnie jest wykonana z PTFE [60-62], PFA [63] lub PVDF [64], również specjalne naczynia kwarcowe z elementami wykonanymi z PTFE [65] lub naczynia z węgla szklanego znajdują zastosowanie w analizie śladowej [66]. Naczynie z próbką jest umieszczone w reaktorze ciśnieniowym (stal nierdzewna), a następnie ogrzewane do wymaganej temperatury w suszarce laboratoryjnej lub piecu. Z powodu konieczności analizy licznych próbek, opracowano zmechanizowane systemy rozkładu ciśnieniowego, zdolne do rozkładu dużej ilości próbek o tej samej matrycy [67]. System chłodzenia może być umieszczony w metalowej obudowie w celu doprowadzenia układu do temperatury pokojowej [68]. Rozpuszczanie można przyspieszyć mieszając próbki i odczynniki mieszadłem pokrytym PTFE [69]. Alternatywna konstrukcja została zaproponowana w pracy [70]. Idea tego rozwiązania opiera się na zastosowaniu małej fiolki zamykanej korkiem umieszczanej wewnątrz teflonowego naczynia. Taki system rozkładu (podwójne naczynie teflonowe) może zredukować ryzyko straty próbek i zanieczyszczenia obcymi materiałami. W celu poprawy możliwości oceny ciśnienia-temperatury i zawartości węgla dla niektórych materiałów wprowadzono system z pomiarem ciśnienia (membrana pokryta teflonem) i z termoparą (pomiar temperatury) [71]. Ostatnio zaproponowano naczynie zaprojektowane w celu wykorzystania suszarki konwekcyjnej składające się z trzech części [72], o specyficznej konstrukcji charakteryzującej się tym, że najmniejsze naczynie PTFE o pojemności 30 ml umieszczone jest wewnątrz naczynia PTFE o pojemności 100 ml, a to z kolei znajduje się wewnątrz obudowy wykonanej ze stali nierdzewnej.

Należy podkreślić, że rozkład w naczyniu ciśnieniowym teflonowym, z użyciem mieszanin kwasów nie umożliwia całkowitego rozkładu (patrz podrozdział 5.5) z powodu ograniczenia temperatury rozkładu. Systemy ciśnieniowe są sprawne poniżej ok. 200 °C, powyżej tej temperatury materiał naczynia (PTFE) zaczyna „płynąć”. Właściwość ta sprawia, że PTFE jest materiałem nieodpowiednim w systemach wysokociśnieniowych i wysokotemperaturowych. Wszystkie termicznie inicjowane procesy rozkładu wymagają długiego czasu ogrzewania i chłodzenia roztworów reakcyjnych i naczyń, w których umieszczono próbkę [73]; ograniczeniem jest również wielkość próbki oraz brak możliwości obserwacji przebiegu rozkładu.

Godne uwagi są prace dotyczące wprowadzenia na rynek handlowy naczyń do rozkładu próbek zwanych „bombami” (ang. *digestion bombs*). Obecnie istnieje wiele rodzajów bomb: Parar (Parr Instrument Company, USA), Uniseal (Uniseal Decomposition Vessels Ltd., Izrael), korpusy wykonane ze stali nierdzewnej z naczyniami teflonowymi (Berghof Laborprodukte GmbH, Niemcy), systemy ciśnieniowe CAL 130FEP (CAL Laborgeräte GmbH, Niemcy) oraz (PRAWOL, Niemcy).

W celu uniknięcia utraty mechanicznej stabilności w wysokich temperaturach, naczynia wykonane z kwarcu są obecnie stosowane w nowym, ciśnieniowym systemie rozkładu próbek [74, 75]. Wprowadzenie techniki rozkładu na mokro pod wysokim ciśnieniem (, ang. *high-pressure ashing -HPA*) [76] nie tylko zredukowało czas

rozkładu, ale również udoskonaliło metodę rozkładu bardzo trudnych do rozpuszczenia materiałów takich jak węgiel, włókna węglowe, oleje mineralne. Z naukowego punktu widzenia, technika HPA obecnie stanowi najdoskonalszą technikę ciśnieniowego rozkładu próbek, łącząc w sobie zalety techniki Carius'a z łatwością i bezpieczeństwem wykonywania tej procedury. Umożliwia ona całkowity rozkład większości próbek. W wielu przypadkach sam kwas azotowy jest wystarczająco mocnym odczynnikiem. Rozkład pod wysokim ciśnieniem jest przeprowadzany w naczyniach kwarcowych, w maksymalnej temperaturze rozkładu 320 °C, pod ciśnieniem ok. 130 bar. Dla roztwarzania wymagającego użycia HF, stosowane są naczynia wykonane z węgla szklistego zamiast kwarcu. Naczynia kwarcowe (lub węgiel szklisty) są stabilizowane podczas procesu rozkładu przez poddanie ich zewnętrznemu ciśnieniu nieco wyższemu od powstałego wewnątrz naczynia. Ponieważ ciśnienie wewnątrz naczynia jest niższe niż ciśnienie stosowane na zewnątrz, naczynie jest zabezpieczone przed eksplozją. Udoskonalony system rozkładu na mokro pod wysokim ciśnieniem opracowany przez Knappa jest dostępny na rynku jako system HPA-S High Pressure Asher (Anton Paar GmbH, Austria).

W ostatnim czasie opracowano nową technikę całkowitego rozkładu ciśnieniowego organicznych materiałów odpadowych [77] opartą na prototypowym urządzeniu do rozkładu na mokro z użyciem promieniowania podczerwieni (ang. *IR-HP-asher*). Rozkład pod wysokim ciśnieniem jest przeprowadzany w sześciu naczyniach kwarcowych wewnątrz stalowego reaktora ciśnieniowego, w temperaturze rozkładu 300 °C, pod ciśnieniem ok. 130 bar. Nowością w tym rozwiązaniu jest wykorzystanie systemu HPA i ogrzewania za pomocą promieniowania podczerwonego.

W porównaniu z rozkładem próbek w systemach otwartych, metody rozkładu próbek wykorzystujące zamknięte naczynia posiadają wiele zalet, naczynia mają jednak złożoną konstrukcję, w związku z czym są drogie. Nowa technika- rozkład na mokro pod ciśnieniem w naczyniach otwartych- łączy w sobie zalety rozkładu w zamkniętych naczyniach z zastosowaniem prostych i niedrogich naczyń wykonanych z kwarcu lub PFA [78]. Naczynia są umieszczane w systemie HPA, który jest wyposażony we wkładkę teflonową i częściowo wypełniony wodą. Wewnątrz naczyń (może być użyte naczynie o każdym kształcie) umieszcza się próbkę i odczynniki służące do rozkładu, a następnie przykrywa się je zatyczkami wykonanymi z PTFE (nie są więc szczelnie zamknięte). Naczynia są przenoszone do specjalnie zaadaptowanego systemu do HPA i rozkładane w temperaturach do 270 °C. Czas rozkładu wynosi ok. 90 minut, natomiast chłodzenie do temperatury pokojowej wymaga dalszych 30 minut.

Ze względu na wysoki koszt reaktorów ciśnieniowych zaprojektowano naczynia ciśnieniowe pozbawione zewnętrznej metalowej obudowy. Technika rozkładu pod nieznacznie zwiększonym ciśnieniem jest uznawana za bardzo użyteczną do analiz rutynowych, przede wszystkim ze względu na jej prostotę. Jednocześnie może być poddawana rozkładowi niemal niezliczona ilość próbek. Naczynie może być wystarczająco szczelnie zamknięte za pomocą przykręćanej pokrywki [79]. Nie występują straty składników lotnych podczas ogrzewania i w ten sposób atmosfera laboratoryjna nie jest zanieczyszczana przez opary kwasów. Grubościenne naczynia (bomby) w całości wykonane z PTFE były używane do rozkładu próbek zawiesiny oceanicznej z użyciem HCl, HNO₃ i HF [80]. Przezroczyste, szczelnie zamykane butelki, oferowane przez firmę Nalgene, zastosowano do rozkładu ciśnieniowego na mokro materiałów biologicznych (ryby, ptaki, rośliny) z użyciem mieszaniny HClO₄ i HNO₃ [81]. Zaproponowano metodę stosującą techniki rozkładu pod ciśnieniem dla próbek rzeczywistych w polietylenowych pojemnikach (liniowy polimer) [82]. Naczynia z polietylenu są przezroczyste, przez co umożliwiają obserwację procesu

i redukują czas reakcji do minimum. Całkowity rozkład materiału o dużej zawartości tłuszczu pod niewielkim ciśnieniem (< 4 bar) był możliwy w systemie zamkniętym w całości wykonanym z kwarcu [83]. Do rozkładu materiałów z użyciem konwencjonalnej suszarki zaprojektowano bombę teflonową o pojemności 30 ml, zamykaną szczelnie zakręcanym wieczkiem; całość wykonana została z teflonowego rdzenia odlewniczego - TFE, pozbawionego wewnętrznych naprężeń [84].

5.2.2. Ogrzewanie mikrofalowe (rozkład ciśnieniowy na mokro z udziałem energii mikrofalowej)

Technika rozkładu z udziałem energii mikrofalowej w naczyniach zamkniętych jest uznawana za jedno z najlepszych rozwiązań do zastosowań “czystej” chemii i posiada przewagę nad innymi technikami wykorzystującymi naczynia zamknięte. Naczynia używane do rozkładu próbek z udziałem energii mikrofalowej, nazywane są bombami nisko- lub wysokociśnieniowymi. Obecna generacja naczyń nadających się do prac z zastosowaniem mikrofal charakteryzuje się dwuczęściową konstrukcją: wkłady i pokrywy wykonane są z wysokiej czystości PTFE lub PFA natomiast zewnętrzna obudowa wykonana jest z poliimidoeteru i poli(eteroeteroketonu) lub innego materiału kompozytowego przez który przenika promieniowanie mikrofalowe. Ich temperatura pracy wynosi $260\text{ }^{\circ}\text{C}$ (punkt mięknienia PTFE), a granicą ciśnienia jest 60 – 100 bar. Rozkład w naczyniach ciśnieniowych jest idealny dla tych próbek, które są rozpuszczane w HNO_3 i/lub HCl . Jednakże w przypadku rozkładu próbek, dla których wymagany jest H_2SO_4 , lepszym rozwiązaniem jest stosowanie zwyczajnych naczyń zamkniętych, ponieważ temperatura wrzenia H_2SO_4 ($330\text{ }^{\circ}\text{C}$) przewyższa temperaturę rozkładu PTFE. Użycie technik rozkładu na mokro z udziałem energii mikrofalowej w systemach zamkniętych minimalizuje ślepą próbę poprzez zmniejszenie ilości użytych odczynników i kontrolę parametrów rozkładu.

Mikrofale jedynie ogrzewają fazę ciekłą, podczas gdy pary nie absorbują energii mikrofalowej. Dlatego też temperatura fazy gazowej jest niższa niż temperatura fazy ciekłej i następuje kondensacja par na ściankach naczynia. W rezultacie, rzeczywiste ciśnienie jest niższe od spodziewanego. Podtrzymywanie dynamicznej i termicznej nierównowagi jest największą zaletą techniki mikrofalowej, ponieważ osiągane mogą być bardzo wysokie temperatury pod niskimi ciśnieniami, a co za tym idzie, czas rozkładu ulega skróceniu.

Inspiracją do badań rozkładów pod ciśnieniem był raport przygotowany przez U.S. Bureau of Mines [85], w którym opisano osiągnięcie szybkiego rozkładu próbek mineralnych z użyciem suszarki mikrofalowej do ogrzewania próbek umieszczonych wraz z mieszaniną kwasów w naczyniach poliwęglanowych. Aby pokonać problem występowania “gorących miejsc” w suszarce, które powodują nierównomierne ogrzewanie, zastosowano obrotowy talerz wewnątrz suszarki mikrofalowej. Chociaż szczelnie zamknięte butelki poliwęglanowe były używane jako naczynia ciśnieniowe, materiał szybko stawał się nieprzejrysty i kruchy (temperatura topnienia poliwęglanu wynosi $135\text{ }^{\circ}\text{C}$). Zaproponowano wymianę [86] naczyń poliwęglanowych na naczynia wykonane z teflonu PFA, fluorowęglowej żywicy, (tetrafluoroetylen z łańcuchem bocznym alkoksy w całości podstawionym fluorem), ze względu na lepsze właściwości chemiczne i mechaniczne. W praktyce analitycznej wykorzystywano naczynia wykonane z PTFE lub kwarcu [87] oraz modyfikowane, grubościennne próbówki Pyrex [88], zaopatrzone w zatyczki polipropylenowe, które mogą być poddawane działaniu ciśnienia. Modyfikacji poddano budowę teflonowej bomby przez użycie podwójnego naczynia PTFE w obudowie polipropylenowej w celu umożliwienia ciśnieniowego rozkładu [89]. System ten z udziałem energii mikrofalowej wykorzystujący naczynia

zamknięte został opisany w pracy [90]. Przedstawiono pomiary *in situ* podwyższonych temperatur i ciśnień w naczyniach zamkniętych wykonanych z PFA podczas mineralizacji próbek organicznych. Stała obserwacja temperatury i ciśnienia umożliwia kontrolę procesu rozkładu, badanie mechanizmów rozkładu i opracowanie standardowych, łatwych do powtórzenia metod przygotowania próbek z udziałem energii mikrofalowej.

Laboratoryjne, prototypowe bomby w całości wykonane z PTFE, używane do pracy w niskich lub umiarkowanych ciśnieniach, są również odpowiednie do rozkładu próbek z udziałem energii mikrofalowej [91], niektóre z nich są wyposażone w zawory bezpieczeństwa lub membrany (przepona bezpieczeństwa).

Metody rozkładu próbek z udziałem energii mikrofalowej, w naczyniach o małej objętości, znalazły zastosowanie w przygotowaniach próbek o małej masie, gdyż strata próbki w dużych urządzeniach do rozkładu jest nieunikniona. Niewielkie ilości tkanki (5 – 100 mg suchej masy) rozkładane są w wysokiej czystości kwasie azotowym przy użyciu zmodyfikowanej bomby firmy Parr, zbudowanej z modyfikowanego PTFE [92]. Opisano zastosowanie naczyń o małej objętości (7 ml) wykonanych z PTFE-(PFA), przeznaczonych do przygotowania małych próbek tkanek biologicznych (< 100 mg suchej masy) [93].

W celu uniknięcia nadmiernego wzrostu ciśnienia podczas rozkładu z udziałem energii mikrofalowej dużych próbek (1 g) mających dużą zawartość związków organicznych opracowano technikę „rozkładu wstępnego”, wykorzystującą naczynia otwarte z chłodnicami zwrotnymi w celu umożliwienia ucieczki produktów utleniania, takich jak dwutlenek węgla bez narażania się na straty parowania kwasu lub składników oznaczanych. Następnie, po wstępnym rozkładzie, naczynia zamknięto i poddano działaniu mikrofal, w celu przeprowadzenia rozkładu ciśnieniowego [94].

Zaproponowano kilka typów, które były zanurzone w ciekłym azocie w celu przyspieszenia otworzenia naczyń teflonowych po procesie rozkładu z udziałem energii mikrofalowej, a tym samym znacznego zredukowania czasu przygotowania próbki [95]. W innych rozwiązaniach skonstruowano specjalny rodzaj bomby teflonowej, w której ciśnienie par było utrzymywane na umiarkowanym poziomie (do 5 bar) za pomocą wewnętrznej, kwarcowej lub teflonowej spirali chłodzącej (spirala chłodząca wypełniona wodą jest wprowadzana do naczynia). Podczas procesu rozkładu skondensowane kwasy i pary wody stale odnawiają fazę ciekłą nad próbką [96].

Zaproponowano kilka typów ogrzewania mikrofalowego [97,98] w oparciu o wykorzystanie wnęk mikrofalowych (500 i 1200 W) z falowodem (2.45 GHz), które są obecnie stosowane w laboratoriach do ogrzewania naczyń ciśnieniowych stosowanych do rozkładu próbek.

Koncepcja kapsułki została szczegółowo opisana w dostępnych publikacjach [99,100]. Próbkę przygotowuje się w formie kapsułki ulegającej rozpuszczeniu. Rozkład próbki umieszczonej w kapsułce odbywa się z udziałem energii mikrofalowej w kilku etapach, podczas których rejestrowana jest temperatura i ciśnienie. Ogrzewanie w takim systemie, jak i we wszystkich systemach wykorzystujących bombę mikrofalową, pochodzi od roztworu, a efektywność systemu rządzi się tymi samymi prawami chemicznymi i fizycznymi, co pozostałe systemy wykorzystujące energię mikrofalową.

Z powyższej dyskusji wynika, że rozkład próbek z udziałem energii mikrofalowej może być zastosowany do rozkładów z użyciem naczyń zamkniętych, jednak jego zastosowanie jest ograniczone do rozkładów w zamkniętych naczyniach teflonowych, przepuszczających mikrofałe (ciśnienie bezpiecznej pracy z tymi naczyniami to 60 – 100 bar). Biorąc pod uwagę te ograniczenia oraz fakt, że gwałtowne ogrzewanie

rozpuszczalników i próbek w naczyniu wykonanym z polimerów ma przewagę nad wysokociśnieniowymi bombami teflonowymi w stalowych obudowach (ogrzewanych termicznie) zaproponowano wykorzystanie [101] bomby ogrzewanej mikrofalowo z udziałem skoncentrowanej energii, która przewyższa właściwości istniejących systemów mikrofalowych umożliwiającą konstrukcję zintegrowanej ze źródłem mikrofalowym bomby w obudowie stalowej. Połączone zalety wysokociśnieniowej bomby teflonowej [59] oraz ogrzewanie mikrofalowe [31] tworzą wysokociśnieniowy, wysokotemperaturowy system ogrzewany przy udziale skoncentrowanej energii mikrofalowej (ang. *focused high-pressure high-temperature microwave-heated digestion system*) [101], który może być chłodzony *in situ* za pomocą wody lub innego płynu. Inne rozwiązanie konstrukcyjne polega na zastosowaniu komory mikrofalowej, w której umieszczone są naczynia reakcyjne. Systemy te składają się z jednego lub kilku naczyń przepuszczalnych dla mikrofal (teflon, kwarc), które mogą być otwarte [102] lub szczelnie zamknięte [103], znajdujących się w komorze wykonanej ze stali kwasoodpornej. Komora stalowa pełni funkcję zarówno naczynia ciśnieniowego jak i komory mikrofalowej. Współczesne systemy mogą pracować w temperaturach do 320 °C i pod ciśnieniem ok. 130 – 200 bar.

Ostatnio opracowano nowatorską metodę wysokotemperaturowego rozkładu z udziałem energii mikrofalowej i promieniowania UV dla przyspieszenia mineralizacji rozpuszczonych związków organicznych lub zawiesin [104]. W tej ciśnieniowej aparaturze mikrofalowej znajduje się lampa Cd (228 nm) będąca źródłem promieniowania UV (promieniowanie zainicjowane przez pole mikrofalowe). System z zanurzoną lampą Cd umożliwia osiągnięcie temperatur do 250 – 280 °C, zapewniając tym samym wysoką efektywność mineralizacji.

Obecnie istnieje wiele bomb mikrofalowych: Parr (Parr Instrument Company, USA), Berghof, w całości wykonane z teflonu (Berghof GmbH, Niemcy) oraz naczynia TFM (Bohlender, Niemcy).

5.3. Systemy przepływowe

Systemy rozkładu próbek- czy to w podwyższonym, czy pod atmosferycznym ciśnieniem- wymagają wielu czynności analitycznych. Operacje takie jak montaż, zamykanie i wprowadzanie naczynia do konwencjonalnej suszarki lub suszarki mikrofalowej są pracochłonne i czasochłonne. Urządzenie do prowadzenia rozkładu w ciągłym przepływie (ang. *continuous flow-through thermal digestion*) oraz systemy do rozkładu z udziałem promieniowania UV lub energii mikrofalowej zostały zaprojektowane w celu przezwyciężenia niektórych z tych ograniczeń, poprzez zamianę naczyń reakcyjnych na węże (zwoje). Próbkę poddawane są rozkładowi po wprowadzaniu ich przy pomocy pompy perystaltycznej do wnętrza zwojów, które są ogrzewane (termicznie, przy pomocy UV lub mikrofal). Ciągły przepływ roztworu nośnego przez te systemy czyści je, eliminując konieczność pracochłonnych procedur czyszczenia naczyń. Systemy te są odporne na reakcje spontaniczne, które powodują nagle wzrosty ciśnienia i temperatury. Znanych jest wiele różnych rodzajów konstrukcji przepływowych systemów rozkładu próbek, jednak mało jest systemów o dużej efektywności rozkładu.

5.3.1. Ogrzewanie konwencjonalne (termiczne)

Wiele wad metod rozkładu próbek można wyeliminować przez automatyzację etapu przygotowania próbek w zamkniętym systemie stosując technikę przepływową. Przepływowy system rozkładu próbek został opracowany przez firmę Technicon [105]. Wolno obracająca się szeroka, szklana rurka ze spiralną wnęką jest zewnętrznie

ogrzewana. Próbką ciekłą wraz z odczynnikiem rozpuszczającym jest pompowana w jednym kierunku. Przez obrócenie węża mieszanina rozkładu przepływa przez ogrzewaną rurkę w ciągu kilku minut. U wylotu rurki rozłożona próbka jest odprowadzana i gotowa do dalszych etapów analizy. Wadą tego systemu jest możliwość wykorzystania jedynie próbek ciekłych oraz "efekt pamięci". Możliwość przygotowania dużej liczby próbek jest bardzo duża przy jednocześnie niskim koszcie aparatury.

Gluodenis i Tyson przedstawili [106] system, w którym wężyk z teflonem (PTFE) jest luźno umocowany w suszarce ogrzewanej oporowo. Poprzez użycie wężyka wykonanego z PTFE maksymalne temperatury rozkładu są ograniczone do ok. 210 °C. Ograniczona wytrzymałość mechaniczna materiału zezwala na pracę pod ciśnieniem do 35 bar, dlatego też ciśnienie robocze zwykle wynosi ok. 10 – 20 bar. Możliwości systemu zostały potwierdzone przez rozkład proszku kakaowego zmieszanego z 10% HNO₃ i w formie zawiesiny wprowadzanego do systemu; próbka ta była mineralizowana w warunkach zatrzymanego przepływu pod umiarkowanym ciśnieniem.

Opracowano [107-109] nowy wysokotemperaturowy i wysokociśnieniowy system przepływowy dla ciągłego rozkładu próbek biologicznych i środowiskowych. W systemie przepływowym [107] mogą być osiągane temperatury do 260 °C i ciśnienia do 300 bar, przy zastosowaniu elektrycznie ogrzewanej teflonowej rurki kapilarnej (HPLC), w której odbywa się rozkład. Wymagane ciśnienie zwrotne osiągano przez zastosowanie przewężenia kapilary (średnica 50 mikronów, długość ok. 10 cm). Rozłożone próbki biologiczne (krew, wątroba, liście) były zbierane u wylotu systemu. W kolejnych pracach [108,109] opisano elektrycznie ogrzewaną kapilarę wykonaną ze stopu Pt/Ir, w której dokonywano rozkładu próbek stosując stężone kwasy w temperaturach 320 – 360 °C i pod ciśnieniem ok. 300 bar. Ze względu na wyeliminowanie w tych systemach elementów szklanych, próbki zawierające duże ilości krzemianów mogą być w nich rozkładane (przez dodatek kwasu fluorowodorowego).

5.3.2. Mineralizacja z udziałem promieniowania UV

Rozkład z udziałem promieniowania UV jest "czystą" metodą przygotowania próbek, ponieważ nie wymaga konieczności użycia dużych ilości utleniaczy, jest efektywny i może być łatwo zastosowany w analizie wstrzykowo-przepływowej. Próbką zmieszana z H₂O₂, H₂S₂O₈ lub HNO₃ przepływa przez rurkę (teflon, kwarc) owiniętą dookoła lampy UV. Omówienie tych systemów przepływowych przedstawiono w pracy [49]. Aparatura tego typu jest produkowana na przykład przez firmę SKALAR Analytical, Holandia.

Opracowano [110] system utleniający oparty na dwuetapowych procedurach rozkładu w układzie *on-line* z udziałem promieniowania UV i energii cieplnej. Zestaw aparaturowy do rozkładu próbek z udziałem promieniowania UV składał się z 4-metrowej rurki teflonowej, szczelnie owiniętej dookoła źródła UV (15W), tworzącej spiralny reaktor. Aparatura do rozkładu z użyciem energii cieplnej składała się z 2-metrowej rurki teflonowej spiralnie zwiniętej i umieszczonej w termostacie (90 °C).

Systemy przepływowe stają się coraz bardziej popularne w analizie chemicznej, ze względu na łatwość, z jaką mogą być poddane automatyzacji, szybkość rozkładu i użycie próbek o małej objętości.

5.3.3. Ogrzewanie mikrofalowe (rozkład ciśnieniowy w przepływie z udziałem energii mikrofalowej)

Opublikowano wiele prac dotyczących przepływowych zautomatyzowanych systemów rozkładu próbek z udziałem energii mikrofalowej [31,39,111] dla celów analizy pierwiastkowej.

Najwcześniejszą pracą ogłoszoną w tej dziedzinie była praca, w której opracowano zastosowanie systemu przepływowo-wstrzykowego (ang. *flow injection system*) [112] w układzie *on-line* w celu oznaczenia metali (Cu, Fe, Zn) przy pomocy płomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej (FAAS). Metoda polegała na równoczesnym zmieszaniu odczynników i próbki i następnie mineralizacji surowicy, krwi lub osocza w zwoju ze szkła Pyrex, który był umieszczony wewnątrz suszarki mikrofalowej. To rozwiązanie umożliwia ciągły rozkład próbki i znacznie redukuje czas przygotowania próbki; jest odpowiednie dla próbek wymagających łagodnych warunków rozkładu (w szczególności ciecze).

Ze względu na umiejscowienie zwoju w systemie aparatury, w której dokonywany jest rozkład próbek, rozróżnia się dwa rodzaje układów: układy rozkładu umiejscowione przed (lub za) miejscem wprowadzenia próbki. W pierwszym przypadku próbka jest wprowadzana do suszarki mikrofalowej w przepływie ciągłym [113] lub w trybie zatrzymanego przepływu [114]; po rozkładzie porcja próbki jest dostarczana do detektora. W drugim przypadku wstrzyknięta próbka przepływa układ (w suszarce mikrofalowej) wraz z odczynnikami i po rozkładzie jest schładzana i odgazowywana przed dostarczeniem do detektora [115]. W obu przypadkach pomiary mogą być dokonane częściowo lub całkowicie w układzie *off-line* lub *on-line*.

Próbki stałe wymagają bardziej skomplikowanych systemów przepływowych, ponieważ muszą być rozkładane w obecności stężonych kwasów, które szybko niszczą matryce organiczne. Pierwsza próba uproszczenia procedur pracy z roztworami po rozkładzie została ogłoszona w 1988 [116]. Liofilizowane, drobno zmielone i odważone próbki wątroby i nerek umieszczane były w probówkach wraz z kwasami mineralnymi, a zawartość wytrąsana przed poddaniem jej działaniu promieniowania mikrofalowego. Probówki umieszczone w pojemniku ze szkła Pyrex poddawano promieniowaniu mikrofalowemu. Opisano możliwość [113] oznaczania ołowiu (z wykorzystaniem techniki FAAS) w próbkach stałych (zawiesinach) przez zastosowanie przepływowej metody rozkładu w suszarce mikrofalowej. Próbki różnego pochodzenia (karczochy, czekolada, szlamy ściekowe, liście pomidora) i materiały odniesienia były przeprowadzane przy pomocy mieszania mechanicznego do postaci zawiesin (mieszane z HNO_3 i H_2O_2), a następnie wprowadzane do systemu zamkniętego, częściowo (120 cm teflonowa rurka) umieszczonego w suszarce mikrofalowej.

Ogrzewana mikrofalowo rurka teflonowa do rozkładu w przepływie została zaprojektowana dla handlowego systemu ze skoncentrowaną wiązką energii mikrofalowej (Prolabo A300) i zastosowana do przygotowania w układzie *on-line* próbek biologicznych (mleko, krew, mocz) [117].

W celu efektywnego utlenienia próbek organicznych przy pomocy kwasu azotowego, wymagane są temperatury wyższe niż 200 °C. Jednak stosowane węże (rurki) teflonowe nie wytrzymują ciśnienia par mieszanin rozkładu w temperaturze 200 °C i wyższych.

Konieczne więc było znalezienie nowych rozwiązań pokonujących te ograniczenia. Jednym ze sposobów zwiększenia odporności węży na wysokie ciśnienia jest owinięcie ich taśmą o dużej wytrzymałości mechanicznej. System rozkładu (CEM SpectroPrep) wyposażony był w takie węże [118] i używany był do rozkładów zawiesin tkanek biologicznych (0.5% m/v) i osadu morskiego (1 % m/v). Maksymalne ciśnienie

w systemie wynosi 25 bar. W celu uzyskania wymaganych temperatur ok. 250 °C konieczne jest zwiększenie ciśnienia do ok. 35 bar, dlatego też opracowano urządzenie umożliwiające zastosowanie tak wysokich temperatur (250 °C) stosując nowy system pracujący pod ciśnieniem 40 bar [119]. System ten umożliwia utrzymanie jednakowego ciśnienia na zewnątrz i wewnątrz rurki (PTFE lub PFA), w której odbywa się rozkład, nawet w przypadku bardzo szybkich reakcji utleniania. Zaletą tego urządzenia jest zdolność przygotowania dużej ilości próbek (aż do 60 próbek na godzinę), szybki i całkowity rozkład próbek roztworowych, emulsji i zawiesin oraz w pełni zautomatyzowany rozkład próbek. Zdolność systemu pracy z zawiesinami materiałów biologicznych o zawartości cząstek stałych tylko poniżej 1% m/v ogranicza rodzaje próbek, które mogą być analizowane. Sytuacja może ulec poprawie, gdy zastosuje się najczulszą aparaturę np. ICP-MS. Dlatego też prowadzono prace [120] nad modyfikacją systemu SpectroPrep i opracowano system rozkładu przy ciągłym przepływie o dużej przepustowości do oznaczeń śladowych ilości metali (Cd, Cr, Mn, Ni, Pb) po ekstrakcji wodą królewską. Urządzenie to różni się od innych handlowych, ponieważ stosuje pompę o podwójnym działaniu, zastępującą regulator ciśnienia zwrotnego (tradycyjnie używany do uzyskania wewnętrznego ciśnienia układu). Opisany system znalazł zastosowanie dla próbek gleb zmielonych do rozmiaru 250 mikronów, przeprowadzonych w postaci zawiesiny bez użycia surfaktantów.

Technika mikrofalowego rozpuszczania próbek w układzie *on-line* doprowadziła do produkcji aparatury; firma CEM opracowała zautomatyzowany system SpectroPrep rozkładu w przepływie z udziałem energii mikrofalowej. Podobnie firma Questron Technologies Corporation oferuje QLAB AUTOPREP DISCRETE FLOW SYSTEM. Firma Perkin Elmer podobnie jak SGT Middelburg BV (Holandia, FLOWAVE) oferują w pełni zautomatyzowane systemy rozkładu próbek w przepływie.

Zaletą systemów przepływowych z wykorzystaniem energii mikrofalowej jest skrócenie czasu przygotowania próbki, możliwość przeprowadzenia reakcji, które normalnie byłyby zbyt niebezpieczne w naczyniach zamkniętych ze względu na nagły wzrost temperatury i ciśnienia, a także możliwość pracy z mikro-próbkami łatwo ulegającymi rozkładowi. Jednak ich wadą jest konieczność użycia próbek homogenicznych o wielkości cząstek umożliwiających transport w kapilarach oraz konieczność wstępnego przygotowania próbek przed umieszczeniem ich w systemie przepływowym.

5.4. Rozkład z udziałem kwasów w fazie gazowej (reakcje w fazie gazowej)

Alternatywnym rozwiązaniem do rozkładu matrycy próbek z udziałem kwasów jest wykorzystanie reakcji w fazie gazowej, które zapobiega wprowadzaniu zanieczyszczeń do próbki. W minionych czterdziestu latach rozważano kilka nowatorskich rozwiązań, dotyczących procedur rozkładu próbek z użyciem oparów kwasów nieorganicznych, wytwarzanych w jednym naczyniu w celu oddziaływania i rozkładu próbki umieszczonej w innym naczyniu. W pracy przeglądowej zestawiono [121] metody analityczne oparte na działaniu fazy gazowej i roztwarzaniu materiałów nieorganicznych oraz mineralizacji próbek organicznych przed oznaczaniem w nich pierwiastków śladowych. Rozwiązanie to jest obecnie stosowane w systemach otwartych, pół-zamkniętych oraz zamkniętych.

Połączenie kwasu fluorowodorowego z oparami kwasu azotowego jako czynnika rozkładu okazało się efektywne w procesie przygotowania próbek do spektrograficznych oznaczeń śladowych zanieczyszczeń w systemie otwartym. Zaproponowano zastosowanie takiego rozwiązania [122] do roztwarzania krzemionki oraz wzbogacania zanieczyszczeń na folii z PTFE. Pozostałość i folia PTFE były

przenoszone do wnętrza elektrody grafitowej, która służyła jako jedna z elektrod łuku prądu stałego w przypadku zastosowania technik spektrograficznych do oznaczania składników śladowych. Jednak roztwarzanie próbek z udziałem kwasów w systemach otwartych nie jest odpowiednie dla oznaczenia niskich zawartości pierwiastków, ponieważ ich ilości w mieszaninie reakcyjnej są często znacznie większe od tych występujących w badanej próbce.

Biorąc pod uwagę systemy częściowo zamknięte, zaprojektowano specjalne urządzenie wykonane z teflonu do wytwarzania par HF w celu zminimalizowania zanieczyszczeń podczas oznaczania pierwiastków śladowych w krzemionce o najwyższej czystości, kwarcu i szkła [123]. Próbka jest umieszczana w teflonowej zlewce zamontowanej na płycie teflonowej z otworami znajdującej się w komorze nad roztworem kwasu fluorowodorowego. Urządzenie posiada zalety systemu zamkniętego, gdyż uniemożliwia dostanie się do naczynia lotnych cząstek, a podczas pracy jest ciągle omywane przez opary HF. Opisano również [124] budowę prostego aparatu w całości wykonanego ze szkła do utleniania w fazie gazowej próbek materiału roślinnego z udziałem kwasu azotowego (z wydajnością do 90 %). Dodatek kwasu nadchlorowego zapewniał szybkie i całkowite utlenienie, a obecność kwasu azotowego podczas końcowego etapu utleniania przy pomocy HClO_4 eliminowała ryzyko wybuchu. Tę samą technikę zastosowano [125] w celu oznaczenia cynku w próbkach tkanki mózgowej stosując proste ciśnieniowe naczynie teflonowe.

Niektóre materiały nie mogą być w pełni rozłożone przy pomocy kwasów pod ciśnieniem atmosferycznym. Bardziej efektywne rozpuszczanie próbek wymaga zastosowania układów ciśnieniowych, które łączą w jeden system techniki zamkniętych naczyń ciśnieniowych z technikami rozkładu w fazie gazowej. Rozwiązanie to jest łatwiejsze do zrealizowania niż aparatura opisana we wcześniejszych pracach [122-125] i wymaga znacznie mniejszych objętości kwasów. Ogrzewanie może być zrealizowane w laboratoryjnej suszarce (z bezpośrednim ogrzewaniem oporowym) lub z użyciem promieniowania mikrofalowego.

Technika rozkładu próbek w naczyniach zamkniętych z udziałem fazy gazowej po raz pierwszy została przedstawiona w pracy [126], gdzie opisano dwie wersje aparatury-niskotemperaturową (do 110 °C) i wysokotemperaturową (do 250 °C). Każde urządzenie składa się z hermetycznie zamkniętego naczynia teflonowego, które posiada dwie komory: wewnętrzną, w której umieszczona jest próbka oraz zewnętrzną. Oba naczynia zostały zaprojektowane do rozkładu próbek szkła wysokiej czystości przy użyciu mieszaniny stężonych kwasów HNO_3 i HF (1:1) o niskiej czystości. Całkowicie zamknięta bomba teflonowa lub autoklaw [127] została zaprojektowana do rozkładu (rozkład z gradientem temperatury) próbek „trudnych materiałów”, na przykład krzemianów. Przedstawiono [128] interesujące rozwiązanie, w którym bomba teflonowa została wykorzystana do jednoczesnego rozkładu wielu próbek w fazie gazowej. Zaprojektowano wielostanowiskowy uchwyt dla pobranych w terenie próbek, który może być umieszczany bezpośrednio w bombie teflonowej. Technikę tę stosowano dla próbek organicznych, nieorganicznych, półciekłych i ciekłych. Dostępne są informacje [129] o modyfikacji bomby teflonowej, wewnątrz której możliwy był rozkład krzemionki wysokiej czystości, z użyciem oparów HNO_3 , HCl i HF poprzez umieszczenie teflonowej fiolki w zewnętrznym naczyniu teflonowym. Wadą tego systemu jest to, że fiolka musi być wymieniana regularnie, jeśli jest używana pod ciśnieniem, co powoduje zwiększenie kosztów. Opracowano również [130] prototypową bombę teflonową z wkładką teflonową dla mikroprobek. Ta prosta i niedroga aparatura doskonale nadaje się do pracy z niewielką ilością próbek i może być wykonana przez modyfikację dostępnych bomb teflonowych [131]. Należy podkreślić,

że wkładka teflonowa dla mikropróbek może być używana do rozkładu w fazie gazowej jak i do bezpośredniego wprowadzania mikropróbek w atomowej spektrometrii. Rozkład w fazie gazowej w systemie zamkniętym (bomba) próbek materiałów o wysokiej czystości w celu oznaczania pierwiastków śladowych metodą spektrograficzną jest wygodną i użyteczną techniką [132]. Metoda wykorzystuje grafitowe elektrody z powiększonymi kraterkami bez konieczności użycia kolektora. Uniknięto w ten sposób zanieczyszczeń i kontaktu powietrza laboratoryjnego ze szkłem podczas etapu zagęszczania. Na “ślepej próbę” wpływ ma jedynie czystość elektrod używanych w analizie spektralnej. Opracowano technikę [133], która wykorzystuje fazę gazową kwasu azotowego w aparaturze (naczynia kwarcowe) do wysokociśnieniowego i wysokotemperaturowego rozkładu (High Pressure Asher HPA, Anton Paar, Graz, Austria). Próbkę biologiczną (50 – 165 mg) były mineralizowane w miniaturowych naczyniach kwarcowych (objętość 3.1 ml). W przypadku rozkładu biologicznych materiałów odniesienia, mineralizowanych w temperaturze 230 °C i pod ciśnieniem 122 bar, pozostałość węgla w próbkach po mineralizacji była mniejsza niż 1.8%.

Pomimo efektywnej pracy systemów zamkniętych wykorzystujących konwencjonalne ogrzewanie, opisano niewiele rozwiązań wykorzystujących energię mikrofalową do prowadzenia procesu rozkładu w fazie gazowej. Pierwsza próba z systemem mikrofalowym pracującym pod małym ciśnieniem była niezadowolająca [134], jednak ostatnio zaproponowano interesujący wariant konstrukcji naczynia do mineralizacji i roztwarzania próbek [135]. Zaproponowana metoda jest modyfikacją metody mineralizacji próbek biologicznych przy pomocy kwasów w fazie gazowej, która została opublikowana wcześniej [136]. Stosując specjalną wkładkę teflonową dla mikropróbek, odpowiednią dla odważek materiałów odniesienia biologicznych próbek morskich i osadów (o masie rzędu 250 mg), dokonano rozkładu z udziałem energii mikrofalowej i użyciem HNO_3 i $\text{HNO}_3\text{-HF}$ w fazie gazowej pod ciśnieniem ok. 14 bar [135]. W kilku publikacjach [137-141] omówiono dalsze zastosowanie i ocenę innowacyjnej koncepcji [135] zakładającej zastosowanie handlowych systemów rozkładu z udziałem energii mikrofalowej w naczyniach kwarcowych [137], wkładkach kwarcowych [138,139] wewnętrznych naczyniach wykonanych z TFM [140] i systemów ze skoncentrowaną wiązką promieniowania mikrofalowego pracujących pod ciśnieniem atmosferycznym z wykorzystaniem teflonowych naczyń dla mikropróbek [141].

Rozkład próbek- z matrycą organiczną jak i nieorganiczną z użyciem kwasów w fazie gazowej -jest wygodną i użyteczną techniką. Systemy ciśnieniowe są technikami, dzięki którym unika się strat lotnych pierwiastków, jednocześnie utrzymując wartości ślepej próby na bardzo niskim poziomie (przez zastosowanie izopiesticznej destylacji odczynników i kwasów o czystości technicznej).

5.5. Efektywność procedur rozkładu próbek (mineralizacja i roztwarzanie)

Kontrola jakości staje się coraz bardziej znaczącym zagadnieniem w chemii analitycznej. Obecnie jest stosowana głównie dla technik pomiarowych, a nie dla etapu przygotowania próbek. W badaniach dotyczących kontroli jakości etapu przygotowania próbek konieczny jest dokładny pomiar i zapis parametrów w celu śledzenia i kontrolowania procesu rozkładu próbek.

Wymagany jest całkowity rozkład próbki w celu osiągnięcia odtwarzalnych i dokładnych wyników oznaczania z wykorzystaniem analitycznych metod instrumentalnych. Dotyczy to głównie wszystkich oznaczeń woltamperometrycznych i polarograficznych [142-145]. Stosując metody spektrometrii atomowej takie jak absorpcyjna spektrometria atomowa (AAS) [146,147], plazma indukcyjnie sprzężoną

w optycznej spektrometrii emisyjnej (ICP-OES) [148,149] i plazma indukcyjnie sprzężona w spektrometrii mas (ICP-MS) [150,151], mogą wystąpić interferencje spowodowane niecałkowitym rozkładem związków organicznych.. Tak jak wspomniano wcześniej, kwas azotowy jest najczęściej stosowanym odczynnikiem rozpuszczającym próbki. Niestety, węgiel zawarty w materiałach organicznych jest jedynie częściowo utleniany do CO_2 przy pomocy HNO_3 w temperaturach do $200\text{ }^\circ\text{C}$ (maksymalna temperatura rozkładu w naczyniach wykonanych z PTFE) [26].

W takich przypadkach wydłużenie czasu i zwiększenie ilości kwasu azotowego nie wpływa na poprawę efektywności procesu rozkładu. Temperatura i ciśnienie są głównymi wyznacznikami efektywności rozkładu, a pozostałość węgla służy jako wskaźnik efektywności procesu [152-155]; w celu uzyskania całkowitego rozkładu wymagane są najwyższe temperatury [156,157]. Należy podkreślić, że użyteczność techniki rozkładu nie powinna być oceniana wzrokowo, ponieważ często zdarza się, że klarowny, bezbarwny roztwór niczym nie różniący się od wody, nadal zawiera znaczne ilości węgla. W zamkniętych systemach ciśnienie zależy nie tylko od temperatury, ale również od typu i ilości próbek, wielkości naczynia oraz charakteru i ilości odczynnika rozkładającego. Ciśnienie nie jest odpowiedzialne za jakość procesu rozkładu próbki, pomimo tego powinno być kontrolowane. Stwierdzono [157-159] bardzo duży wpływ pozostających w roztworze związków organicznych na oznaczanie pierwiastków przy pomocy woltamperometrii inwersyjnej i wskazują, że temperatura w zakresie $300\text{--}320\text{ }^\circ\text{C}$ jest konieczna do ciśnieniowego rozkładu próbki z udziałem czystego kwasu azotowego w celu uzyskania roztworu zawierającego mniej niż 0.1% węgla. W przeciwnym wypadku, pierwiastki śladowe nie mogą być oznaczane stosując metodę woltamperometrii inwersyjnej. Zostało to potwierdzone w pracy [160], która wskazuje, że całkowite utlenienie związków organicznych kwasem azotowym zachodzi w $300\text{ }^\circ\text{C}$. Wpływ aparatury używanej do procesów rozkładu (termicznych lub mikrofalowych) może być pominięty, jeśli proces osiągnięcia stałej temperatury jest wystarczająco długi. Rozkład próbek z udziałem kwasu azotowego w temperaturach od 220 do $250\text{ }^\circ\text{C}$ (większość aparatury dostępnej w handlu spełnia ten wymóg) prowadzi do niskich zawartości węgla w roztworze.

Technologia mikrofalowa jest coraz częściej stosowana do ogrzewania naczyń reakcyjnych, dlatego też rozkład próbek na mokro z udziałem energii mikrofalowej jest bardzo często używaną techniką przygotowania próbek dla celów oznaczeń pierwiastków śladowych w materiałach organicznych. Badania dotyczące zawartości pozostałości węgla (ang. *residual carbon content* – RCC) jako wskaźnika efektywności rozkładu, zostały opisane w kilku pracach [134,161-165]. Oceniano [152] efektywność konwencjonalnego rozkładu ciśnieniowego przy wykorzystaniu techniki chromatografii gazowej. Różnice pomiędzy zawartością węgla w próbce, a węglem utlenionym do CO_2 wykazały, że badane próbki biologiczne i środowiskowe nie zostały całkowicie rozłożone przy pomocy kwasu azotowego. Oznaczano [166] również pozostałość węgla w próbkach rozkładanych w systemach ciśnieniowych z HNO_3 . W większości przypadków rozkład próbek materiałów organicznych z udziałem energii mikrofalowej biologicznych był niecałkowity, a związki, które nie uległy rozkładowi, były następnie oznaczane [156]. W tym samym czasie oznaczono [167] związki organiczne pozostające w roztworach uzyskanych z próbek wątroby wołowej poddawanych rozkładowi z udziałem HNO_3 . Poddano ocenie [168] proces mineralizacji próbek biologicznych i botanicznych rozkładanych na mokro z udziałem HNO_3 . Stężenia wolnych aminokwasów w próbkach moczu ludzkiego były zmniejszone 10^5 razy; ukazuje to efektywność hydrolizy białek, a niekoniecznie odpowiada całkowitej wydajności utleniania węgla. Nakashima i wsp. [163] badali efektywność rozkładu

z udziałem mieszanin $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$. Całkowita zawartość pozostałości węgla (RCC) była oznaczana w wielu roztworach po mineralizacji biologicznego (morskiego) materiału odniesienia (NRCC TORT-1) i używana jako względna miara efektywności różnych sposobów rozkładu. Dwuetapowe procesy rozkładu z udziałem energii mikrofalowej (tj. rozkład konwencjonalny, po którym następuje chłodzenie, pozbycie się nadmiaru gazów z bomby, ponowne zamknięcie naczynia i ogrzewanie) w porównaniu z procesami jednoetapowymi były bardziej efektywne. Jednakże nawet dwuetapowe procedury rozkładu nie dawały w pełni zadowalających wyników. Wyniki oznaczeń wykazywały zawartość węgla w roztworze rzędu 24 %. Oznaczanie zawartości pozostałości węgla w roztworach po rozkładzie próbek materiału biologicznego metodą ICP-OES zostało opisane w wielu pracach [164, 165]. Wydajności utleniania różnych procedur rozkładu na mokro i sucho, dla próbek mleka były porównywane przez i opisane w pracy [169]. Zauważono, że pozostałość węgla po rozkładzie próbek z udziałem energii mikrofalowej pod umiarkowanym ciśnieniem mieściła się w zakresie od 5 do 15 %. Mieszaniny utleniające złożone z H_2O_2 lub H_2SO_4 z HNO_3 stosowane w systemach mikrofalowych pod umiarkowanym ciśnieniem (11 bar) nie były bardziej efektywne niż czysty kwas azotowy (całkowita objętość kwasu była stała). Do chwili obecnej nie udało się opracować systemu utleniania z udziałem energii mikrofalowej pod niskim lub umiarkowanym ciśnieniem, który byłby odpowiedni do całkowitego rozkładu próbek biologicznych- aby nie stwierdzono obecności węgla w roztworze. Najbezpieczniejszym sposobem całkowitej mineralizacji było stosowanie w tych technikach dodatku kwasu nadchlorowego, a następnie ogrzewanie do czasu pojawienia się oparów nadchlorowych. Jednakże przy użyciu wysokociśnieniowego i wysokotemperaturowego systemu bomby teflonowej TFM ze skoncentrowaną wiązką energii mikrofalowej, materiał organiczny jest całkowicie utleniany przy pomocy kwasu azotowego w jednoetapowej procedurze [101,103] (wysokociśnieniowy i wysokotemperaturowy system bomby teflonowej TFM ze skoncentrowaną energią mikrofalową umożliwia osiągnięcie bardzo wysokich ciśnień i temperatur). Prowadzenie rozkładu próbek z udziałem energii mikrofalowej w trybie ciągłego lub zatrzymanego przepływu są bardzo interesujące, ponieważ mogą zwiększyć ilość rozkładów próbek i umożliwić automatyzację procesu. Jednakże w przypadku rozkładu w układzie *on-line* z udziałem energii mikrofalowej spodziewany jest niecałkowity rozkład substancji organicznej, ponieważ całkowity rozkład może być osiągnięty tylko w wysokiej temperaturze i ciśnieniu. Oceniono [170] efektywność rozkładu dwóch próbek z wykorzystaniem technik: w układzie *on-line* i systemu zamkniętego. Całkowita mineralizacja materiałów biologicznych (certyfikowanych materiałów odniesienia) była wyrażona w postaci RCC w roztworze po procesie rozkładu. Rozkład ciśnieniowy w naczyniu teflonowym TFM był najbardziej efektywną procedurą (materiał organiczny był całkowicie utleniony przy pomocy kwasu azotowego w jednoetapowej procedurze), natomiast próbki moczu i ścieków nie były całkowicie rozłożone (od 56 do 72%) przy zastosowaniu procesu rozkładu w układzie *on-line* z udziałem energii mikrofalowej i kwasu azotowego, kwasu azotowego i nadtlenu wodoru oraz utleniania z udziałem nadsiarczanów. Ostatnio do oceny kinetyki rozkładu zastosowano wskaźnik pozostałości masy próbki [171]. Szybkość ubytku masy w różnych temperaturach była niezależna od masy próbki, ale zależała w znacznym stopniu od objętości kwasów i temperatury rozkładu. Zastosowano matematyczne modele do przewidywania efektywności rozkładu próbki wykorzystując kinetykę rozkładu. Poprzez empiryczne dopasowanie wykładniczych współczynników opracowano nowatorskie równanie uwzględniające temperaturę, objętość kwasu użytego do rozkładu, czas rozkładu i masę próbki. W rezultacie odpowiednie parametry

rozkładu mogą być oszacowane przy użyciu tego modelu w celu osiągnięcia wymaganej efektywności rozkładu.

Nadtlenek wodoru jest bardzo popularnym odczynnikiem utleniającym i ulega rozkładowi dając wodę i tlen podczas utleniania materiałów biologicznych [134,172-174]; nie powoduje korozji naczyń ciśnieniowych wykonanych z PTFE, nie tworzy nierozpuszczalnych soli z anionami kwasów oraz nie powoduje zmian matrycy próbki na skutek działania kwasu. Ze względu na dużą moc utleniającą stosuje się niewielkie ilości H_2O_2 , tak więc otrzymane roztwory próbki zawierają stosunkowo wysokie stężenia analitów. Ponadto dostępna jest H_2O_2 o wysokiej czystości, a więc o niskiej wartości ślepej próby (tym samym możliwe jest uzyskanie niskich granic wykrywalności). W przypadku zastosowania dużej ilości H_2O_2 istnieje ryzyko wybuchu. Doświadczenia z mieszaniną HNO_3 - H_2O_2 opisane w pracy [134] wykazały, że wszystkie typy rozkładów próbek pod ciśnieniem z udziałem energii mikrofalowej nie dawały pewności całkowitego rozkładu składników badanych próbek. Zastosowanie 50% H_2O_2 (50 %) nie poprawiło efektywności procesu rozkładu próbek. Ogrzewanie wysokotemperaturowe przy umiarkowanym ciśnieniu z udziałem energii mikrofalowej potwierdziły te spostrzeżenia [175]. W badaniach tych zastosowanie kwasu azotowego i wody utlenionej nie zwiększyło efektywności rozkładu w porównaniu z zastosowaniem wyłącznie HNO_3 .

Rozkład na mokro próbek wodnych z udziałem kwasów jest jednym z najbardziej efektywnych procesów, jest jednak czasochłonny, istnieje również ryzyko zanieczyszczenia użytymi odczynnikami. Powinien być zastosowany alternatywny odczynnik w celu całkowitego i bezpiecznego rozkładu pozostałości węgla organicznego. Zastosowanie ozonu w tym przypadku ma wiele zalet. Stwierdzono, że ozon jest bardzo efektywnym czynnikiem rozkładającym związki organiczne [176-178] i może być użyty jako dodatkowy odczynnik rozkładu i/lub odczynnik kończący proces rozkładu [179]. Przez dodatek zoptymalizowanych stężeń silnych utleniaczy takich jak ozon poprawiono o 13% efektywność rozkładu pod ciśnieniem z udziałem HNO_3 i energii mikrofalowej [175]. Dodatkową zaletą tej procedury jest fakt, że utleniacz nie powoduje wzrostu wartości ślepej próby.

Często jednoetapowa procedura rozkładu jest niewystarczająca dla uzyskania całkowitego rozkładu próbek charakteryzujących się złożonym składem matrycy, co powoduje, że zaleca się połączenie dwóch lub większej liczby technik rozkładu. Dwa przykłady wystarczą do zilustrowania tej prawidłowości [143,104]. Pierwszy przykład – to rozkład ciśnieniowy z następującą po nim fotolizą UV. Stosując tylko “rozkład ciśnieniowy” wykazano, że oznaczanie metali ciężkich w liściach oliwek przy pomocy metod woltamperometrycznych prowadzi do nieprawidłowych wyników. Wiarygodne wyniki mogą być otrzymane przez połączenie rozkładu ciśnieniowego z oddziaływaniem promieniowania UV w celu uzyskania mineralizacji [143]. Drugim przykładem jest nowatorska procedura rozkładu ciśnieniowego z udziałem energii mikrofalowej i promieniowania UV, opracowana dla efektywnego rozkładu węgla organicznego w próbkach ciekłych (powodującego interferencje) przed oznaczaniem pierwiastków śladowych. Technika ta w znacznym stopniu poprawiła efektywność procedur rozkładu z udziałem UV (utlenianie) i jest szczególnie użyteczna w analizie ultraśladowej ze względu na niskie ryzyko wprowadzenia zanieczyszczeń [104].

W celu badania efektywności roztwarzania materiałów nieorganicznych, zwykle wykorzystuje się odzysk pierwiastków (lub niecałkowity odzysk), ważna jest również dokładność oznaczeń pierwiastków głównych, ubocznych i śladowych. W przypadku występowania w próbce krzemianów, które są zwykle głównym składnikiem nieorganicznym wielu matryc (np.: gleby, osady, szlamy, materiały ceramiczne i inne

podobne próbki), konieczne jest użycie HF w celu uzyskania całkowitego roztworzenia [180,181].

5.6. Porównanie technik rozkładu na mokro

Wnikliwe porównanie kilku technik rozkładu jest jedynym sposobem zapewnienia miarodajnych rezultatów, szczególnie wtedy, gdy dysponuje się małym doświadczeniem w przypadku rozkładu specyficznej matrycy lub gdy dostępne doniesienia literaturowe są sprzeczne. Analityk musi dokonać rozważnego wyboru techniki przygotowania próbek, aby zapewnić optymalne działanie systemu w celu wykonania analizy. Nie ma jednak uniwersalnego systemu przygotowania próbek. Najlepszym rozwiązaniem, ze względu na specyficzne wymagania dotyczące zanieczyszczeń lub strat poprzez parowanie lub adsorpcję, jest prowadzenie procesu rozkładu w systemach wykorzystujących ogrzewanie konwencjonalne lub mikrofalowe, wykorzystujące ciśnieniowe naczynia kwarcowe, stosujące promieniowanie UV oraz systemy posługujące się kwasami do rozkładu próbek w fazie gazowej. Wszystkie te techniki wymagają jednak znacznych nakładów inwestycyjnych na zakup aparatury. Rozkład próbek w naczyniach otwartych niesie ze sobą ryzyko dużych strat składnika oznaczanego, nawet w przypadku użycia chłodziń zwrotnych. Jeśli pod uwagę wzięte zostaną takie aspekty ekonomiczne, jak: niski koszt odczynników, krótki czas procesu rozkładu, duża liczba próbek, wtedy najwyższą ocenę należy przyznać metodom rozkładu na mokro z udziałem energii mikrofalowej, a w szczególności metodom rozkładu w układzie *on-line* pod ciśnieniem z udziałem energii mikrofalowej. Uwzględniając efektywność procesu rozkładu, całkowity rozkład wielu próbek może być osiągnięty jedynie w systemach wykorzystujących naczynia teflonowe i kwarcowe do prowadzenia procesu rozkładu pod wysokim ciśnieniem lub też w systemach zamkniętych wykorzystujących promieniowanie UV.

W tabeli 4 zawarte jest podsumowanie wad i zalet technik rozkładu na mokro omówione w podrozdziale PROCEDURY ROZKŁADU NA MOKRO z uwzględnieniem strat oznaczanych składników, wartości ślepych prób, problemów zanieczyszczenia, masy próbki, czasu i stopnia rozkładu oraz aspektów ekonomicznych.

5.7. Systemy do prowadzenia rozkładu próbek (aparatura, wyposażenie, automatyzacja)

Obecnie na rynku aparaturowym oferowanych jest wiele urządzeń, dzięki którym proces rozkładu na mokro jest bardziej efektywny i łatwiejszy w obsłudze przez zastosowanie automatyzacji, a głównie jest to uzyskiwane przy zastosowaniu techniki mikrofalowej.

Proces rozkładu na mokro w otwartych naczyniach jest realizowany z chłodzińcami zwrotnymi (lub bez nich). Ponieważ bardzo ściśle należy przestrzegać zoptymalizowanych parametrów procesu rozkładu (czas i temperatura), zautomatyzowanie procedury rozkładu prowadzi nie tylko do wyższej efektywności bez udziału analityka, ale również do uniknięcia błędów. Najprostszą formą automatyzacji, jaka może być wprowadzona, jest kontrola sposobu ogrzewania tj. jego czasu (za pośrednictwem programowalnego czasomierza) i temperatury systemu ogrzewania (za pośrednictwem autotransformatora). Na rynku dostępnych jest wiele modeli systemów ogrzewania. W celu uzyskania wyższego stopnia automatyzacji należy wprowadzić kontrolę procesu destylacji podczas procesu rozkładu próbki.

Tabela 4. Zalety i wady technik rozkładu na mokro.

Technika rozkładu	Możliwość strat	Źródło ślepej próby	Wielkość próbki (g)		Maksimum		Czas rozkładu	Stopień rozkładu	Aspekty ekonomiczne
			organicznej	nieorganicznej	temp (°C)	ciśnienie (bar)			
Systemy otwarte									
Ogrzewanie konwencjonalne	Lotność	Kwasy, naczynia, powietrze	<5	<10	<400		Kilka godzin	Niecałkowity	Niski koszt, wymaga nadzoru
Ogrzewanie mikrofalowe	Lotność	Kwasy, naczynia, powietrze	<5	<10	<400		<1godz.	Niecałkowity	Niski koszt, wymaga nadzoru
Mineralizacja UV	Brak		ciekle		<90		Kilka godzin	Wysoki	Niski koszt, wymaga nadzoru
Systemy zamknięte									
Ogrzewanie konwencjonalne	Pozostałość	Kwasy (niskie)	<0.5	<3	<320	<150	Kilka godzin	Wysoki	Nie wymaga nadzoru
Ogrzewanie mikrofalowe	Pozostałość	Kwasy (niskie)	<0.5	<3	<300	<200	<1godz.	Wysoki	Wysoki koszt, nie wymaga nadzoru
Systemy przepływowe									
Ogrzewanie konwencjonalne	Rozkład niecałkowity	Kwasy (niskie)	<0.1 (zawiesina)	<0.1 (zawiesina)	<320	>300	Kilka minut	Wysoki	Wysoki koszt, nie wymaga nadzoru
Mineralizacja UV	Rozkład niecałkowity	Brak	ciekle		<90		Kilka minut	Wysoki	Niski koszt, nie wymaga nadzoru
Ogrzewanie mikrofalowe	Rozkład niecałkowity	Kwasy (niskie)	<0.1 (zawiesina)	<0.3 (zawiesina)	<250	<40	Kilka minut	Wysoki	Wysoki koszt, nie wymaga nadzoru
Rozkład z udziałem kwasów w fazie gazowej	Brak	Brak	<0.1	<0.1	<200	<20	<1godz.	Wysoki	Nie wymaga nadzoru

Procedury przystosowane są do pracy w trybie okresowym (ang. *batch system*). Przygotowywanie próbek w prowadzeniu procesu rozkładu w trybie ciągłym ma wiele zalet w porównaniu z trybem okresowym. Tryb ciągły bardziej odpowiada potrzebom analitycznym. Urządzenie do zautomatyzowanego rozkładu na mokro (VAO, Anton Paar, Austria) jest systemem do prowadzenia procesu rozkładu pracującym w trybie ciągłym, urządzenie to nadaje się doskonale do wykonywania wszelkich rozkładów na mokro w laboratoriach dokonujących analiz rutynowych podobnych próbek [182]. Wszystkie ważne parametry rozkładu kontrolowane są przez mikroprocesor. Automatyzacja dotyczy również programu kontrolującego czas, temperaturę i ciśnienie podczas rozkładu próbki. Tak więc różne materiały mogą być rozkładane w optymalnych warunkach. Wprowadzenie próbki do urządzenia mineralizującego pod ciśnieniem odbywa się ręcznie, nie istnieje w pełni zautomatyzowana wersja tego aparatu. Systemy ciśnieniowe firmy Berghof [183] służą do mineralizacji próbek nieorganicznych i organicznych w wysokich temperaturach (maks. 200 - 250 °C) i wysokich ciśnieniach (maks. 100 i 200 bar) w naczyniach wykonanych z izostatycznie formowanego PTFE lub z kwarcu.

Znane są trzy główne systemy rozkładu z udziałem energii mikrofalowej: pod ciśnieniem atmosferycznym, pod podwyższonym ciśnieniem (naczynia zamknięte) i w przepływie, wszystkie pracujące w dwóch powszechnych trybach- wielomodowej wnęki mikrofalowej oraz ze skoncentrowaną wiązką energii mikrofalowej (falogów). Przegląd dostępnych systemów rozkładu z udziałem energii mikrofalowej i sprzętu (naczynia, suszarki i systemy grzejne) przedstawiony jest w pracach [29-32,35,37,41,184-186] wraz właściwościami i specyfikacjami, które dotyczą urządzeń pracujących pod ciśnieniem atmosferycznym, podwyższonym i w przepływie. Prostota i skuteczność rozkładu z udziałem energii mikrofalowej umożliwia automatyzację. Opracowano systemy, które zapewniają możliwość odważenia próbek, dodanie kwasów, zamykanie i otwieranie naczyń, prowadzenie procesu rozkładu próbki z udziałem energii mikrofalowej, rozcieńczenie roztworu po procesie rozkładu, przeniesienie naczyń, a nawet oczyszczenie ich przed ponownym użyciem. Podczas działania takiego systemu jedyną rzeczą, jaką wykonać musi analityk, jest dostarczenie próbek i wprowadzenie ich w miejsce rozpoznawane przez urządzenie, a następnie uruchomienie programu kontrolnego (w tabeli 18 w pracy [35] zawarte jest podsumowanie odnośnie zastosowania i funkcjonowania tych systemów).

5.8. Zasady bezpieczeństwa pracy w rozkładach na mokro

Odczynniki, aparatura i procedury stosowane podczas rozkładu materiałów mogą być niebezpieczne, nawet wtedy, gdy postępuje się zgodnie z zaleceniami. Ze względów bezpieczeństwa analityk musi być zawsze ubrany w odzież ochronną (fartuch, rękawice i okulary). Niektóre stężone, dymiące kwasy (HF, HNO₃, HCl) mogą być stosowane tylko pod dygestoriami o dobrej wentylacji. Kwasy utleniające (HNO₃, HClO₄) są bardziej niebezpieczne od kwasów nieutleniających (HCl, H₃PO₄, HF), ponieważ są bardziej wybuchowe, szczególnie w obecności reduktorów takich jak substancja organiczna. Kwas nadchlorowy ma właściwości utleniające tylko wtedy, gdy jest stężony i gorący; nie wolno go nigdy łączyć z substancją organiczną, chyba że jest rozcieńczony kwasem azotowym.

Prowadzenie procesów rozkładu na mokro z udziałem kwasów musi być wykonywane pod dygestorium wyposażonym w dużą liczbę płuczek do oczyszczania strumienia gazów odlotowych. Odparowanie kwasu nadchlorowego może być dokonywane pod odpowiednim okapem ze stali nierdzewnej, kamionki lub polipropylenu, z możliwością zmycia i usunięcia tworzącego się osadu nadchloranów.

Techniki oparte na wykorzystaniu rozkładu pod ciśnieniem wymagają przestrzegania specyficznych wymogów bezpieczeństwa. Naczynia stosowane do rozkładu pod ciśnieniem (bomby), zawierające opary kwasów, są stosowane do szybkich, jednoetapowych rozkładów bez strat analitów. Jednak istnieją pewne ograniczenia; dla pewnych reakcji (w szczególności reakcji spontanicznych) wytwarzane gazy przekraczają granice mechanicznych wytrzymałości naczyń. Na przykład kwas azotowy, a w szczególności mineralizacja spontaniczna próbek substancji organicznej w zamkniętych naczyniach z udziałem HNO_3 i H_2O_2 może powodować eksplozję z powodu niekontrolowanego przyrostu ciśnienia wewnątrz naczynia. Nagły przyrost ciśnienia może być zniwelowany przez zmniejszenie masy próbki lub przez zastosowanie stopniowego przyrostu temperatury.

Procesem rozkładu próbek z udziałem energii mikrofalowej rządzą inne zasady bezpieczeństwa. Z powodu bezpośredniej absorpcji energii i gwałtownego ogrzewania, z technikami mikrofalowymi związane są specyficzne zasady bezpieczeństwa, których nie spotyka się w przypadku stosowania innych technik. Przed zastosowaniem energii mikrofalowej do ogrzewania odczynników i próbek należy zwrócić uwagę na różnice pomiędzy tradycyjnymi procedurami laboratoryjnymi, a metodami z wykorzystaniem promieniowania mikrofalowego [30, 31].

6. WNIOSKI I KIERUNKI ROZWOJU TECHNIK ROZKŁADU PRÓBEK NA MOKRO

Oceniono główne metody stosowane do rozkładu próbek organicznych i nieorganicznych. Krótkie podsumowanie zastosowań tych technik dla różnych matryc próbek przedstawione jest w tabeli 5. Różnorodność stosowanych obecnie rozwiązań dla prowadzenia procesów rozkładu próbek stałych i ciekłych umożliwia wybranie odpowiedniej techniki właściwej dla każdego problemu analitycznego, w zależności od matrycy i rodzaju oznaczanego składnika, w celu opracowania dalszych etapów zakończenia procesu analitycznego. Rozkład próbki nie może być traktowany jako oddzielny i niezależny etap, lecz musi być zintegrowany z całym procesem analitycznym.

Zwrócono uwagę na rozkład próbek w podwyższonej temperaturze i w podwyższonym ciśnieniu. Obecnie rozkład pod wysokim ciśnieniem, charakteryzujący się dużym zakresem temperatur procesu rozkładu jest najbardziej uniwersalną techniką dla większości zarówno nieorganicznych jak i organicznych materiałów. Wraz z sprzężonymi technikami rozkładu próbek pojawiają się nowe rozwiązania dla dalszego poprawienia efektywności procesów przygotowania próbek. Opracowano nowatorską wysokotemperaturową metodę rozkładu z udziałem energii mikrofalowej i promieniowania UV dla efektywniejszej mineralizacji rozpuszczonych związków organicznych lub zawiesin [104]. Ta nowa technika jest idealna dla analizy śladowej ze względu na niskie wartości ślepej próby i niskie stężenia kwasów, może być również stosowana do oznaczeń niemetalu przy pomocy chromatografii jonowej. Poprawa efektywności rozkładu w bombach teflonowych może być dokonana przez dodatek silnych utleniaczy, takich jak ozon czy tlen, które są efektywnym czynnikiem rozkładu próbek materiałów biologicznych; zaletą jest niezwiększanie wartości ślepej próby. Prowadzenie procesu rozkładu z zastosowaniem kwasu w fazie gazowej oferują alternatywne rozwiązania tych problemów: zmniejszone stężenie kwasów w roztworach po rozkładzie i możliwość użycia kwasów o czystości technicznej, bez podwyższenia wartości ślepej próby. Innym przykładem znacznej poprawy mineralizacji i roztwarzania było użycie reaktora wykorzystującego energię mikrofalową

i ultradźwiękową [48]. Te dwie techniki mogą zapoczątkować nową dziedzinę badawczą “połączonych (sprzężonych) technik rozkładu próbek”.

Tabela 5. Procedury całkowitego rozkładu na mokro stosowane w analizie różnego typu materiałów na zawartość pierwiastków.

Material/matryca/próbka	Wymagany kwas(y)*	Technika rozkładu (rodzaj [~])	Literatura
Woda(y)	H ₂ O ₂ , HNO ₃	Promieniowanie UV	[49]
Próbki środowiskowe węgiel popiół lotny kurz katalizatory	HNO ₃ , HCl, HF woda królewska ^{&} + HF [#] woda królewska+ HF woda królewska	System otwarty lub zamknięty System otwarty lub zamknięty System otwarty lub zamknięty Systemy otwarte	[20,31,35,38] [20,31,35,38] [20,31,35,38] [20,21]
Odpady szlamy ściekowe ścieki	HNO ₃ , HCl HNO ₃	Systemy otwarte, zamknięte lub przepływowe Systemy przepływowe	[18,31] [31,39]
Próbki biologiczne botaniczne roślinne kliniczne morskie	HNO ₃ + H ₂ O ₂ + HF HNO ₃ + H ₂ O ₂ + HF HNO ₃ HNO ₃	System otwarty lub zamknięty System otwarty lub zamknięty System otwarty lub zamknięty System otwarty lub zamknięty	[15,16,18,31] [15,16,18,31] [15,16,18,31] [15,16,18,31]
Trucizny	HNO ₃	System otwarty lub zamknięty	[41]
Żywność	HNO ₃	System otwarty lub zamknięty	[31,41]
Napoje	HNO ₃ , H ₂ O ₂	System otwarty, zamknięty lub przepływowy	[41]
Krzemiany gleby osady szkła	woda królewska+ HF woda królewska+ HF HF	System otwarty i/lub zamknięty System otwarty i/lub zamknięty Systemy otwarte	[19-22,35] [19-22,35] [19-22]
Próbki geologiczne skały rud minerały	woda królewska+ HF [@] woda królewska+ HF HF + H ₂ SO ₄ , HCl	Systemy otwarte lub zamknięte Systemy otwarte lub zamknięte Systemy otwarte	[20-22,31,33] [20-22,31,33] [20-22,31,33]
Produkty ropopochodne paliwa oleje	HNO ₃ + HCl HNO ₃ + HCl	System otwarty lub zamknięty System otwarty lub zamknięty	[23,31] [23,31]
Leki i produkty farmaceutyczne	HCl, HNO ₃	Systemy otwarte	[41]
Metale żelazne nieżelazne stopy stale	HNO ₃ + (HF lub HNO ₃ lub H ₂ SO ₄) HCl lub HNO ₃ lub HF woda królewska+ HF HCl + HNO ₃ , HClO ₄ [^]	Systemy otwarte Systemy otwarte Systemy otwarte Systemy otwarte	[41] [41] [41] [41]
Chemikalia	HCl, HNO ₃ , HF, H ₂ SO ₄	Systemy otwarte lub zamknięte	[20,23]
Polimery	HCl, HNO ₃ , HF, H ₂ SO ₄	Systemy otwarte lub zamknięte	[23,41]
Materiały odporne na rozkład [%] ceramika kompozyty	HNO ₃ , HCl, HF, H ₂ SO ₄ , H ₂ O ₂ HNO ₃ , HCl, HF, H ₂ SO ₄ , H ₂ O ₂	Systemy otwarte lub zamknięte Systemy otwarte lub zamknięte	[20] [20]
Materiały jądrowe	HNO ₃ or HCl, H ₃ PO ₄ , HClO ₄	Systemy otwarte lub zamknięte	[21]

* Zwykle stosowane są stężone kwasy; H₂O₂ jest 30 %; w większości przypadków możliwe są alternatywne metody rozkładu w zależności od wymagań analityka.

⁼Konwencjonalne lub mikrofalowe.

[&]Niestabilna.

[#]Używać wyłącznie naczyń telefonowych, dodatek HF wymagany jest dla ilościowego odzysku Cr.

[@]Dodatek H_3BO_3 w celu zobojętnienia HF przez tworzenie kwasu tetrafluoro-borowego.

[^]Niebezpieczeństwo wybuchu.

[%]Niektóre materiały odporne na rozkład nie są roztwarzane; muszą być rozpuszczane poprzez stapianie.

Można przypuszczać, że większość operacji rozkładu próbek w przyszłości będzie dokonywano z udziałem energii mikrofalowej. Na przestrzeni ostatnich lat dokonano postępu w zmniejszeniu błędów systematycznych i poprawie granic wykrywalności dzięki zastosowaniu techniki rozkładu próbek z udziałem energii mikrofalowej i jej automatyzacji. Obserwuje się zastosowanie systemów wykorzystujących ciśnieniowe naczynia zamknięte, które umożliwiają osiąganie wysokich temperatur rozkładu i jednocześnie spełniają wymogi analizy śladowej. Niektórzy analitycy są zwolennikami prowadzenia procesu rozkładu próbek pod ciśnieniem (>100 bar) w temperaturze 250 – 300 °C w celu wyeliminowania interferencji w przypadku badań materiałów odpornych na rozkład, dlatego producenci opracowują naczynia ciśnieniowe, które mogą sprostać tym wymaganiom.

W ostatnich latach zaobserwować można dążenie do opracowania w pełni zautomatyzowanych technik w układzie *on-line* analizy. System ciśnieniowego rozkładu próbek w przepływie z udziałem energii mikrofalowej w którym wykorzystuje się naczynia wykonane z PTFE lub z PFA, pracujący w zakresie temperatur rozkładu do 250 °C otwiera szereg nowych możliwości dla w pełni zautomatyzowanego etapu przygotowania próbek [119]. Pojawiają się również prace dotyczące opracowania nowych, przepływowych systemów wysokotemperaturowych/wysokociśnieniowych, w których wykorzystuje się zawierających kapilary ogrzewane oporowo, do prowadzenia procesu ciągłego rozkładu próbek w połączeniu z analityczną spektrometrią atomową [107-109]. Przewiduje się, że systemy przepływowe staną się dominujące dla próbek ciekłych i zawiesin, a także doprowadzą one do zwiększenia możliwości analitycznych technik instrumentalnych poprzez połączenie etapu przygotowania próbki z jednoczesną analizą, przy użyciu mikrogramowych próbek z użyciem mikrolitrowych objętości odczynników. Końcowym efektem tych badań powinno być zaadaptowanie standardowych metod rozkładu okresowego do systemów łączących rozkład próbek w układzie *on-line* z rozkładem w przepływie.

Techniki rozkładu próbek są wciąż rozwijającą się dziedziną analityki chemicznej. Nowe techniki rozkładu próbek muszą być opracowywane z myślą o zwiększaniu ich możliwości i pokonywaniu ograniczeń aparaturowych. Kierunki rozwoju aparatury konwencjonalnej i mikrofalowej będą skupiały się na zwiększeniu ilości próbek, które jednocześnie poddawane są procesowi rozkładu, poprawie mechanicznych właściwości naczyń, użyciu nowych materiałów, kontroli procesów *in situ* (bezpośredni pomiar temperatury, ciśnienia, mocy padającej i odbitej) oraz zautomatyzowaniu systemów do rozkładu próbek, kontrolowanych przy pomocy komputerów.

Rozwój zautomatyzowanych, bezobsługowych technik rozkładu próbek stałych na mokro może być zrealizowany wyłącznie dzięki użyciu nowoczesnej aparatury. Wiele źródeł energii oraz wiele gotowych, dostępnych w handlu rozwiązań może ułatwić i/lub skrócić jeden z najbardziej czasochłonnych etapów procesu analitycznego tj. dopomóc w uzyskaniu roztworu z próbek stałych w celu oznaczenia w nim analitu(ów).

LITERATURA

- [1.] Duflos A., *Hand. d. pharm. chem. Praxis*, 2. Aufl., I. Max u. Comp., Breslau, 534 (1938)
- [2.] Fresenius R. i v. Babo L., *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **49**, 287 (1844)
- [3.] Danger F.P. i Flandin C., *C.R. Acad. Sci.*, **12**, 1089 (1841)
- [4.] Carius L., *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **116**, 1 (1860); **136**, 129 (1865)
- [5.] Kjeldahl J., *Z. Anal. Chem.*, **22**, 366 (1883)
- [6.] Classen A. i Bauer O., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **16**, 1061 (1884)
- [7.] Stcherbak A., *Arch. Med. Exp.*, **5**, 309 (1893)
- [8.] Van Slyke D.D., *Anal. Chem.*, **26**, 1706 (1954)
- [9.] Polley D. i Miller V.L., *Anal. Chem.*, **27**, 1162 (1955)
- [10.] Fenton H.J.H., *J. Chem. Soc. (London)*, **65**, 899 (1894)
- [11.] Sansoni B., Sigmund O., Bauer-Schreiber E., Wiegand W. i Perrera L., *Angew. Chem.*, **73**, 763 (1961)
- [12.] Sansoni B. i Kracke W., *Z. Anal. Chem.*, **243**, 209 (1968)
- [13.] *Pure Appl. Chem.*, **60**, 1461 (1988)
- [14.] *Pure Appl. Chem.*, **61**, 1139 (1989)
- [15.] Gorsuch T.T., *The Destruction of Organic Matter*, Pergamon Press, Oxford, 1970
- [16.] Sansoni B. i Panday V.K., *Ashing in Trace Element Analysis of Biological Material* in: *Analytical Techniques for Heavy Metals in Biological Fluids*, S. Fachetti(ed), Elsevier, Amsterdam 1983, 91
- [17.] Subramanian K.S., *Spectrochim. Acta*, **B51**, 291 (1996)
- [18.] Iyengar G.V., Subramanian K.S i Woittiez J.R.W., *Sample Decomposition in: Element Analysis of Biological Samples. Principles and Practice*, CRC Press, Boca Raton, 1998 103
- [19.] Šulcek Z., Povondra P. i Doležal J., *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, **6**, 255 (1977)
- [20.] Šulcek Z. i Povondra P., *Methods of Decomposition in Inorganic Analysis*, CRC Press, Inc., Boca Raton 1989
- [21.] Povondra P. i Šulcek Z., *Modern Methods of Decomposition of Inorganic Substances* in: *Instrumentation in Analytical Chemistry*, J. Zýka(ed), Ellis Horwood, New York 1991, 188
- [22.] Chao T.T. i Sanzalone R.F., *J. Geochem. Explor.*, **44**, 65 (1992)
- [23.] Bock R., *A Handbook of Decomposition Methods in Analytical Chemistry*, translated and revised by I.L. Marr, International Textbook Company, Glasgow 1979
- [24.] Bajo S., *Dissolution of Matrices* in: *Preconcentration Techniques for Trace Elements*, Z.B. Alfassi i C.M. Wai(eds), CRC Press, Boca Raton 1992, 3
- [25.] Vandecasteele C. i Block C.B., *Sample Preparation in: Modern Methods for Trace Element Determination*, John Wiley & Sons, Chichester 1993, 9
- [26.] *Sampling and Sample Preparation*, M. Stoeppel(ed), Springer, Berlin, 1997
- [27.] Hoenig M. i de Kersabiec A-M., *Spectrochim. Acta*, **B51**, 1297 (1996)
- [28.] Hoenig M., *Talanta*, **54**, 1021 (2001)
- [29.] Krakovská E. i Kuss H-M., *Rozklady v Analitickej Chémii (in Slovak)*, VIENALA, Košice, Slovakia, 2001
- [30.] *Introduction to Microwave Sample Preparation. Theory and Practice*, H.M. Kingston i L.B. Jassie(eds), ACS, Washington, DC, 1988
- [31.] *Microwave-Enhanced Chemistry. Fundamentals, Sample Preparation, and Applications*, H.M."Skip" Kingston i S.J. Haswell(eds), ACS, Washington, DC, 1997
- [32.] Matusiewicz H. i Sturgeon R.E., *Prog. Analyt. Spectrosc.*, **12**, 21 (1989)
- [33.] Kuss H-M., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **343**, 788 (1992)
- [34.] Zlotorzynski A., *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **25**, 43 (1995)

- [35.] Smith F.E. i Arsenault E.A., *Talanta*, **43**, 1207 (1996)
- [36.] Burguera M. i Burguera J.L., *Quim. Anal.*, **15**, 112 (1996)
- [37.] Kingston H.M."Skip". i Walter P.J., *The Art and Science of Microwave Sample Preparations for Trace and Ultratrace Elemental Analysis in: Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry* A. Montaser(ed), Wiley-VCH, New York 1998, 33.
- [38.] Lamble K.J. i Hill S.J., *Analyst*, **123**, 103R (1998)
- [39.] Burguera M. i Burguera J.L., *Anal. Chim. Acta*, **366**, 63 (1998)
- [40.] Chakraborty R., Das A.K., Cervera M.L. i de la Guardia M., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **355**, 99 (1996)
- [41.] *Encyclopedia of Analytical Chemistry*, R.A. Meyers(ed), John Wiley&Sons Ltd., Chichester 2000
- [42.] Kuehner E.C., Alvarez R., Paulsen P.J. i Murphy T.J., *Anal. Chem.*, **44**, 2051 (1972)
- [43.] Barnes R.M., Quin  ia S.P., N  brega J.A. i Blanco T., *Spectrochim. Acta*, **B53**, 769 (1998)
- [44.] Bethge P.O., *Anal. Chim. Acta*, **10**, 317 (1954)
- [45.] Nadkarni R.A., *Anal. Chem.*, **56**, 2233 (1984)
- [46.] Abu-Samra A., Morris J.S. i Koirtyohann S.R., *Anal. Chem.*, **47**, 1475 (1975)
- [47.] N  brega J.A., Trevizan L.C., Ara  jo G.C.L. i Nogueira A.R.A., *Spectrochim. Acta*, **B57**, 1855 (2002)
- [48.] Lagha A., Chemat S., Bartels P.V. i Chemat F., *Analisis*, **27**, 452 (1999)
- [49.] Golimowski J. i Golimowska K., *Anal. Chim. Acta*, **325**, 111 (1996)
- [50.] Trapido M., Hirvonen A., Veressinina Y., Hentunen J. i Munter R., *Ozone Sci. Eng.*, **19**, 75 (1997)
- [51.] Mitscherlich A., *J. Prakt. Chem.*, **81**, 108 (1860)
- [52.] Carius G.L., *Ber. Dtsch. Chem. Ges.*, **3**, 697 (1870)
- [53.] Gordon C.L., *J. Res. Natl. Bur. Stand.*, **30**, 107 (1943)
- [54.] Wichers E., Schlecht W.G. i Gordon C.L., *J. Res. Natl. Bur. Stand.*, **33**, 363 (1944)
- [55.] Wichers E., Schlecht W.G. i Gordon C.L., *J. Res. Natl. Bur. Stand.*, **33**, 451 (1944)
- [56.] Long S.E. i Kelly W.R., *Anal. Chem.*, **74**, 1477(2002)
- [57.] Jannasch P., *Z. Anorg. Allgem. Chem.*, **6**, 72 (1894)
- [58.] May E. i Rowe J.J., *Anal. Chim. Acta*, **33**, 648 (1965)
- [59.] Jackwerth E. i Gomi   ek S., *Pure Appl. Chem.*, **56**, 479 (1984)
- [60.] Ito J., *Bull. Chem. Soc. Japan*, **35**, 225 (1962)
- [61.] Langmyhr F.J. i Sveen S., *Anal. Chim. Acta*, **32**, 1 (1965)
- [62.] Bernas B., *Anal. Chem.*, **40**, 1682 (1968)
- [63.] Okamoto K. i Fuwa K., *Anal. Chem.*, **56**, 1758 (1984)
- [64.] Ravey M., Farberman B., Hendel I., Epstein S. i Shemer R., *Anal. Chem.*, **67**, 2296 (1995)
- [65.] Uhrberg R., *Anal. Chem.*, **54**, 1906 (1982)
- [66.] Kotz L., Henze G., Kaiser G., Pahlke S., Veber M. i T  lg G., *Talanta*, **26**, 681 (1979)
- [67.] Stoeppler M. i Backhaus F., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **291**, 116 (1978)
- [68.] Kotz L., Kaiser G., Tsch  pel P. i T  lg G., *Z. Anal. Chem.*, **260**, 207 (1972)
- [69.] Tomljanovic M. i Grobensi Z., *At. Absorption Newslett.*, **14**, 52 (1975)
- [70.] Uchida T., Kojima I. i Iida C., *Anal. Chim. Acta*, **116**, 205 (1980)
- [71.] Stoeppler M., Müller K.P. i Backhaus F., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **297**, 107 (1979)
- [72.] Takenaka M., Kozuka S., Hayashi M. i Endo H., *Analyst*, **122**, 129 (1997)
- [73.] Lechler P.J., Desilets M.O. i Cherne F.J., *Analyst*, **113**, 201 (1988)

- [74.] Knapp G., *ICP Information Newslett.*, **10**, 91 (1984)
- [75.] Knapp G., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **317**, 213 (1984)
- [76.] Knapp G., *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **22**, 71 (1985)
- [77.] Strenger S. i Hirner A.V., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **371**, 831 (2001)
- [78.] Kettisch P., Maichin B., Zischka M. i Knapp G., *Trends in Sample Preparation 2002. Development and Application (Conference, Abstract T-11), Seggau, Austria, 2002*
- [79.] Hale M., Thompson M. i Lovell J., *Analyst*, **110**, 225 (1985)
- [80.] Eggimann D.W. i Betzer P.R., *Anal. Chem.*, **48**, 886 (1976)
- [81.] Adrian W.J., *At. Absorption Newslett.*, **10**, 96 (1971)
- [82.] Kuennen R.W., Wolnik K.A., Fricke F.L. i Caruso J.A., *Anal. Chem.*, **54**, 2146 (1982)
- [83.] May K. i Stoeppler M., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **317**, 248 (1984)
- [84.] Matusiewicz H., *Chem. Anal. (Warsaw)*, **28**, 439 (1983)
- [85.] Matthes S.A., Farrell R.F. i Mackie A.J., *Tech. Prog. Rep – US Bur. Mines*, **120**, 9 (1983)
- [86.] Smith F., Cousins B., Bozic J. i Flora W., *Anal. Chim. Acta*, **177**, 243 (1985)
- [87.] Buresch O., Hönle W., Haid U. i v. Schnering H.G., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **328**, 82 (1987)
- [88.] Alvarado J., León L.E., López F. i Lima C., *J. Anal. At. Spectrom.*, **3**, 135 (1988)
- [89.] Kojima I., Uchida T. i Iida C., *Anal. Sci.*, **4**, 211 (1988)
- [90.] Kingston H.M. i Jassie L.B., *Anal. Chem.*, **58**, 2534 (1986)
- [91.] Xu L.Q. i Shen W.X., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **332**, 45 (1988)
- [92.] Nicholson J.R.P., Savory M.G., Savory J. i Wills M.R., *Clin. Chem.*, **35**, 488 (1989)
- [93.] Baldwin S., Deaker M. i Maher W., *Analyst*, **119**, 1701 (1994)
- [94.] Reid H.J., Greenfield S., Edmonds T.E. i Kapdi R.M., *Analyst*, **118**, 1299 (1993)
- [95.] Reid H.J., Greenfield S. i Edmonds T.E., *Analyst*, **118**, 443 (1993)
- [96.] Heltai G. i Percsich K., *Talanta*, **41**, 1067 (1994)
- [97.] Pougnet M., Michelson S. i Downing B., *J. Microwave Power Electromagnetic Energy*, **26**, 140 (1991)
- [98.] Pougnet M., Downing B. i Michelson S., *J. Microwave Power Electromagnetic Energy*, **28**, 18 (1993)
- [99.] Légère G. i Salin E.D., *Appl. Spectrosc.*, **49**, 14A (1995)
- [100.] Légère G. i Salin E.D., *Anal. Chem.*, **70**, 5029 (1998)
- [101.] Matusiewicz H., *Anal. Chem.*, **66**, 751 (1994)
- [102.] Lautenschläger W., *Apparatus for Performing Chemical and Physical Reactions, U.S. Patent 5,382,414*, Jan. 17, 1995
- [103.] Matusiewicz H., *Anal. Chem.*, **71**, 3145 (1999)
- [104.] Florian D. i Knapp G., *Anal. Chem.*, **73**, 1515 (2001)
- [105.] Allen E., *Automation in Analytical Chemistry*, Technicon Symposia p.247, 1966
- [106.] Gluodenis T.J. i Tyson J.F., *J. Anal. At. Spectrom.*, **7**, 301 (1992)
- [107.] Gräber C. i Berndt H., *J. Anal. At. Spectrom.*, **14**, 683 (1999)
- [108.] Haiber S. i Berndt H., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **368**, 52 (2000)
- [109.] Jacob P. i Berndt H., *J. Anal. At. Spectrom.*, **17**, 1615 (2002)
- [110.] Fernandes S.M.V., Lima J.L.F.C. i Rangel A.O.S.S., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **366**, 112 (2000)
- [111.] Burguera J.L. i Burguera M., *Flow injection systems for on-line sample dissolution/decomposition in: Flow Analysis with Atomic Spectrometric Detectors*, A. Sanz-Medel(ed), chapter 5, Elsevier, Amsterdam, 1999, 135

- [112.] Burguera M., Burguera J.L. i Alarcón O.M., *Anal. Chim. Acta*, **179**, 351 (1986)
- [113.] Carbonell V., de la Guardia M., Salvador A., Burguera J.L. i Burguera M., *Anal. Chim. Acta*, **238**, 417 (1990)
- [114.] Karanassios V., Li F.H., Liu B. i Salin E.D., *J. Anal. At. Spectrom.*, **6**, 457 (1991)
- [115.] Haswell S.J. i Barclay D., *Analyst*, **117**, 117 (1992)
- [116.] Burguera M., Burguera J.L. i Alarcón O.M., *Anal. Chim. Acta*, **214**, 421 (1988)
- [117.] Martines Stewart L.J. i Barnes R.M., *Analyst*, **119**, 1003 (1994)
- [118.] Sturgeon R.E., Willie S.N., Methven B.A., Lam J.W. i Matusiewicz H., *J. Anal. At. Spectrom.*, **10**, 981 (1995)
- [119.] Pichler U., Haase A., Knapp G. i Michaelis M., *Anal. Chem.*, **71**, 4050 (1999)
- [120.] Mason C.J., Coe G., Edwards M. i Riby P., *Analyst*, **125**, 1875 (2000)
- [121.] Matusiewicz H., *Spectroscopy*, **6**, 38 (1991)
- [122.] Zilbershtein Kh.I., Piriutko M.M., Jevtushenko T.P., Sacharnova I.L. i Nikitina O.N., *Zavod. Lab.*, **25**, 1474 (1959)
- [123.] Mitchell J.W. i Nash D.L., *Anal. Chem.*, **46**, 326 (1974)
- [124.] Thomas A.D. i Smythe L.E., *Talanta*, **20**, 469 (1973)
- [125.] Klitenick M.A., Frederickson C.J. i Manton W.I., *Anal. Chem.*, **55**, 921 (1983)
- [126.] Woolley J.F., *Analyst*, **100**, 896 (1975)
- [127.] Karpov Yu.A. i Orlova V.A., *Vysokochist. Veshchestva*, **2**, 40 (1990)
- [128.] Marinescu D.M., *Analisis*, **13**, 469 (1985)
- [129.] Kojima I., Jinno F., Noda Y. i Iida C., *Anal. Chim. Acta*, **245**, 35 (1991)
- [130.] Matusiewicz H., *Chem. Anal. (Warsaw)*, **33**, 173 (1988)
- [131.] Matusiewicz H., *Chem. Anal. (Warsaw)*, **28**, 439 (1983)
- [132.] Pimenov V.G., Pronchatov A.N., Maksimov G.A., Shishov V.N., Shcheplyagin E.M. i Krasnova S.G., *Zh. Anal. Khim.*, **39**, 1636 (1984)
- [133.] Amaasiriwardena D., Krushevska A., Argentine M. i Barnes R.M., *Analyst*, **119**, 1017 (1994)
- [134.] Matusiewicz H., Sturgeon R.E. i Berman S.S., *J. Anal. At. Spectrom.*, **4**, 323 (1989)
- [135.] Matusiewicz H., Sturgeon R.E. i Berman S.S., *J. Anal. At. Spectrom.*, **6**, 283 (1991)
- [136.] Matusiewicz H., *J. Anal. At. Spectrom.*, **4**, 265 (1989)
- [137.] Amarasiriwardena D., Krushevska A. i Barnes R.M., *Appl. Spectrosc.*, **52**, 900 (1998)
- [138.] Czégény Zs., Berente B., Óvári M., Garcia Tapia M i Záray Gy., *Microchem. J.*, **59**, 100 (1998)
- [139.] Eilola K. i Perämäki P., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **369**, 107 (2001)
- [140.] Han Y., Kingston H.M., Richter R.C. i Pirola C., *Anal. Chem.*, **73**, 1106 (2001)
- [141.] Araújo G.C.L., Nogueira A.R.A. i Nóbrega J.A., *Analyst*, **125**, 1861 (2000)
- [142.] Würfels M., Jackwerth E. i Stoeppler M., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **329**, 459 (1987)
- [143.] Hertz J. i Pani R., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **328**, 487 (1987)
- [144.] Schramel P. i Hasse S., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **346**, 794 (1993)
- [145.] Reid H.J., Greenfield S. i Edmonds T.E., *Analyst*, **120**, 1543 (1995)
- [146.] Nève J., Hanocq M., Molle L. i Lefebvre G., *Analyst*, **107**, 934 (1982)
- [147.] Welz B., Melcher M. i Nève J., *Anal. Chim. Acta*, **165**, 131 (1984)
- [148.] Knapp G., Maichin B. i Baumgartner U., *At. Spectrosc.*, **19**, 220 (1998)
- [149.] Machat J., Otruba V. i Kanicky V., *J. Anal. At. Spectrom.*, **17**, 1096 (2002)
- [150.] Ashley D., *At. Spectrosc.*, **13**, 169 (1992)
- [151.] Begerov J., Turfeld M. i Duneman L., *J. Anal. At. Spectrom.*, **12**, 1095 (1997)

- [152.] Stoeppler M., Müller K.P. i Backhaus F., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **297**, 107 (1979)
- [153.] Matusiewicz H., Golik B. i Suszka A., *Chem. Anal. (Warsaw)*, **44**, 559 (1999)
- [154.] Carrilho E.N.V.M., Nogueira A.R.A., Nóbrega J.A., de Souza G.B. i Cruz G.M., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **371**, 536 (2001)
- [155.] Costa L.M., Silva F.V., Gouveia S.T., Nogueira A.R.A. i Nóbrega J.A., *Spectrochim. Acta*, **B56**, 1981 (2001)
- [156.] Würfels M., Jackwerth E. i Stoeppler M., *Anal. Chim. Acta*, **226**, 1 (1989)
- [157.] Würfels M., Jackwerth E. i Stoeppler M., *Anal. Chim. Acta*, **226**, 17 (1989)
- [158.] Würfels M., Jackwerth E. i Stoeppler M., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **329**, 459 (1987)
- [159.] Würfels M., *Marine Chem.*, **28**, 259 (1989)
- [160.] Wasilewska M., Goessler W., Zischka M., Maichin B. i Knapp G., *J. Anal. At. Spectrom.*, **17**, 1121 (2002)
- [161.] Matusiewicz H., Suszka A. i Ciszewski A., *Acta Chim. Hung.*, **128**, 849 (1991)
- [162.] Krushevska A., Barnes R.M., Amarasiriwaradena C.J., Foner H. i Martines L., *J. Anal. At. Spectrom.*, **7**, 851 (1992)
- [163.] Nakashima S., Sturgeon R.E., Willie S.N. i Berman S.S., *Analyst*, **113**, 159 (1988)
- [164.] Hee S.S.Q. i Boyle J.R., *Anal. Chem.*, **60**, 1033 (1988)
- [165.] Krushevska A., Barnes R.M. i Amarasiriwaradena C.J., *Analyst*, **118**, 1175 (1993)
- [166.] Würfels M. i Jackwerth E., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **322**, 354 (1985)
- [167.] Pratt K.W., Kingston H.M., MacCrehan W.A. i Koch W.F., *Anal. Chem.*, **60**, 2024 (1988)
- [168.] Kingston H.M. i Jassie L.B., *Anal. Chem.*, **58**, 2534 (1986)
- [169.] Krushevska A., Barnes R.M., Amarasiriwaradena C.J., Foner H. i Martines L., *J. Anal. At. Spectrom.*, **7**, 845 (1992)
- [170.] Matusiewicz H. i Sturgeon R.E., *Fresenius J. Anal. Chem.*, **349**, 428 (1994)
- [171.] Ko F-H. i Chen H-L., *J. Anal. At. Spectrom.*, **16**, 1337 (2001)
- [172.] Matusiewicz H. i Barnes R.M., *Anal. Chem.*, **57**, 406 (1985)
- [173.] Sah R.S. i Miller R.O., *Anal. Chem.*, **64**, 230 (1992)
- [174.] Veschetti E., Maresca D., Cutilli D., Santarsiero A. i Ottaviani M., *Microchem. J.*, **67**, 171 (2000)
- [175.] Matusiewicz H., *Chem. Anal. (Warsaw)*, **46**, 897 (2001)
- [176.] Clem R.G. i Hodgson A.T., *Anal. Chem.*, **50**, 102 (1978)
- [177.] Filipović-Kovačević Ž. i Sipos L., *Talanta*, **45**, 843 (1998)
- [178.] Sasaki K. i Pacey G.E., *Talanta*, **50**, 175 (1999)
- [179.] Jiang W., Chalk S.J. i Kingston H.M."Skip", *Analyst*, **122**, 211 (1997)
- [180.] Schramel P., Lill G. i Seif R., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **326**, 135 (1987)
- [181.] Matusiewicz H., *Mikrochim. Acta*, **111**, 71 (1993)
- [182.] Budna K.W. i Knapp G., *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **294**, 122 (1979)
- [183.] *Stainless steel pressure vessels with Teflon inserts*, Berghof Laborprodukte GmbH, Eningen, Germany
- [184.] Matusiewicz H., *Development of High-Pressure Closed-Vessel Systems for Microwave-Assisted Sample Digestion* in: *Microwave-Enhanced Chemistry. Fundamentals, Sample Preparation, and Applications*, H.M. (Skip) Kingston and S.J. Haswell (eds.), Chapter 4, Am. Chem. Soc., Washington, 1997, 353
- [185.] Erickson B., *Anal. Chem.*, **70**, 467A (1998)
- [186.] Richter R.C., Link D. i Kingston H.M."Skip", *Anal. Chem.*, **73**, 31A (2001)