

## **Załącznik nr 3**

do wniosku o przeprowadzenie postępowania habilitacyjnego

### **Autoreferat**

**dr inż. Maja Welna**

Zakład Chemii Analitycznej i Metalurgii Chemicznej  
Wydział Chemiczny  
Politechnika Wroclawska

**Wrocław, 2019**

## 1. Imię i Nazwisko: Maja Welna

## 2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe

**2008** – doktor nauk chemicznych (dyscyplina: chemia)

Politechnika Wroclawska

Wydział Chemiczny

Zakład Chemii Analitycznej

Praca doktorska pt.: „*Procesy generowania lotnych wodorków pierwiastków występujących w różnych formach specyficjnych*”.

Promotor: prof. dr hab. inż. Wiesław Żyrnicki

**2004** – magister inżynier chemii (specjalność: chemia analityczna)

Politechnika Wroclawska

Wydział Chemiczny

Zakład Chemii Analitycznej

Praca magisterska pt.: „*Analiza śladowa z wykorzystaniem technik sprzężonych HG-ICP-AES*”.

Promotor: prof. dr hab. inż. Wiesław Żyrnicki

## 3. Informacje o zatrudnieniach w jednostkach naukowych

**od 01.2015** – obecnie

*adiunkt naukowo-dydaktyczny*

Politechnika Wroclawska

Wydział Chemiczny

Zakład Chemii Analitycznej i Metalurgii Chemicznej

**10.2012-12.2014**

*adiunkt naukowo-dydaktyczny*

Politechnika Wroclawska

Wydział Chemiczny

Zakład Chemii Analitycznej

**10.2008-09.2012**

*asystent naukowo-dydaktyczny*

Politechnika Wroclawska

Wydział Chemiczny

Zakład Chemii Analitycznej

#### 4. Wskazanie osiągnięcia wynikającego z art. 16 ust. 2 z dnia 2003 r. o stopniach naukowych i tytule w zakresie sztuki (Dz. U. 2016 r. poz. 882 ze zm. w Dz. U. z 2016 r. poz. 1311)

##### a) Tytuł osiągnięcia naukowego

*Zastosowanie techniki HG w optycznej spektrometrii emisyjnej do oznaczenia i specjacji pierwiastków aktywnych w procesie generowania wodorków*

##### b) Wykaz publikacji naukowych stanowiących podstawę osiągnięcia naukowego

**IF**: współczynnik oddziaływania zgodnie z rokiem opublikowania. **MNiSW**: liczba punktów MNiSW za publikację. **IC**: ilość cytowań wg bazy *Web of Science*. \*: autor do korespondencji.

**H1. M. Welna\***, A. Szymczycha-Madeja, *Evaluation of optimal conditions for determination of low tin content in fresh and canned tomato samples using hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry*, *Food Analytical Methods*, **2014**, 7: 127-134.

[IF=1,956; MNiSW=30; IC=3]

**H2. M. Welna\***, J. Borkowska-Burnecka, Małgorzata Popko, *Ultrasound- and microwave-assisted extractions followed by hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry for lead determination in geological samples*, *Talanta*, **2015**, 144: 953-959.

[IF=4,035; MNiSW=40; IC=5]

**H3. M. Welna**, J. Lasowska, W. Żyrnicki, *Determination of some inorganic species of Fe, Mn and Cr by chemical vapor generation hyphenated with inductively coupled plasma atomic emission spectrometry*, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **2011**, 22: 1164-1169.

[IF=1,434; MNiSW=27; IC=13]

**H4. M. Welna**, W. Żyrnicki, *Investigation of simultaneous generation of arsenic, bismuth and antimony hydrides using inductively coupled plasma optical emission spectrometry*, *Analytical Letters*, **2011**, 44: 942-953.

[IF=1,016; MNiSW=20; IC=15]

**H5. M. Welna\***, A. Szymczycha-Madeja, P. Pohl, *Improvement in the single and simultaneous generation of As, Bi, Sb and Se hydrides using a vapor generation accessory (VGA) coupled to axially viewed inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES)*, *Analytical Methods*, **2017**, 9: 871-880.

[IF=2,073; MNiSW=25; IC=0]

**H6. M. Welna\***, A. Szymczycha-Madeja, P. Pohl, *Critical evaluation of strategies for single and simultaneous determinations of As, Bi, Sb and Se by hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry*, *Talanta*, **2017**, 167: 217-226.

[IF=4,244; MNiSW=40; IC=0]

- H7.** M. Welna\*, P. Pohl, *Potential of the hydride generation technique coupled to inductively coupled plasma optical emission spectrometry for non-chromatographic As speciation*, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2017**, 32: 1766-1779.  
[IF=3,608; MNiSW=35; IC=3]
- H8.** M. Welna\*, A. Szymczycha-Madeja, P. Pohl, *Comparison of strategies for sample preparation prior to spectrometric measurements for determination and speciation of arsenic in rice*, *TrAC. Trends in Analytical Chemistry*, **2015**, 65: 122-136.  
[IF=7,487; MNiSW=50; IC=26]
- H9.** M. Welna\*, *Determination of trace arsenic content in commercial crispbread by hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry*, *Australian Journal of Chemistry*, **2015**, 68: 441-446.  
[IF=1,427; MNiSW=30; IC=3]
- H10.** M. Welna\*, P. Pohl, A. Szymczycha-Madeja, *Non-chromatographic speciation of inorganic arsenic in rice by hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry*, *Food Analytical Methods*, **2018**, doi.org/10.1007/s12161-018-1388-6.  
[IF=2,245; MNiSW=30; IC=0]
- 
- 

W/w publikacje składające się na osiągnięcie mają (zgodnie z rokiem opublikowania prac) sumaryczną wartość Impact Factor **IF=29,525** przy liczbie 68 cytowań. Średnio jedna publikacja ma IF=2,952. Łączna punktacja publikacji wg MNiSW wynosi **327**.

---

---

### c) Omówienie celu naukowego w/w prac i osiągniętych wyników wraz z omówieniem ich ewentualnego wykorzystania

Moje osiągnięcie naukowe obejmuje **10 prac**, w tym 9 oryginalnych ([**H1-H7,H9,H10**]), poświęconych zagadnieniu techniki generowania wodorków (HG) w połączeniu z detekcją optycznej spektrometrii emisyjnej plazmy sprzężonej indukcyjnie (ICP OES). Prace te poprawiają charakterystykę analityczną metody ICP OES w oznaczeniach pierwiastków tworzących lotne wodorki oraz zastosowanie praktyczne tej metody w analizie próbek żywności o złożonych matrycach. Jedna praca przeglądowa ([**H8**]) dotyczy procedur przygotowania próbek stosowanych do oznaczania zawartości całkowitej i form specjacyjnych As w ryżu metodami spektrometrycznymi (w tym z wykorzystaniem techniki HG).

**Celem przeprowadzonych badań** było wypełnienie luki w obszarze wykorzystania techniki generowania wodorków w optycznej spektrometrii emisyjnej, przekładające się na usystematyzowanie i rozszerzenie zastosowania tej techniki wprowadzenia oznaczanych pierwiastków (analitów) do plazmowego źródła wzbudzenia pod kątem:

⇒ oznaczania pojedynczych lub wielu pierwiastków tworzących wodorki w różnych warunkach eksperymentalnych oraz układach reakcyjno-separacyjnych o różnych konstrukcjach (jednocześnie z uwzględnieniem wpływu sposobu przygotowania próbki na jakość uzyskiwanych wyników) wraz z opracowaniem i zwalidowaniem procedur przydatnych w analizach jedno- (As, Bi, Pb, Sb, Se i Sn) i wielopierwiastkowych (As, Bi, Sb, Se) próbek środowiskowych i żywności metodą HG-ICP OES [**H1,H2,H4,H5,H6**] – *zagadnienia nr 1 i 3*

⇒ generowania lotnych indywiduów metali grup przejściowych, tj. Cr, Fe i Mn, w zależności od ich formy chemicznej (stopnia utlenienia) i warunków eksperymentalnych oraz oceną efektywności procesu derywatyzacji dla innych (niż „wodorkotwórcze”) pierwiastków przekształcanych w reakcji z NaBH<sub>4</sub> w środowisku kwaśnym w formy lotne [**H3**] – *zagadnienie nr 2*

⇒ zastosowania techniki HG do oznaczania różnych form specjacyjnych As i nie-chromatograficznej analizy specjacyjnej i frakcjonowanej aktywnych w procesie redukcji nieorganicznych (i-As) oraz metylowanych połączeń (o-As) pierwiastka, tj. As(III) i As(V) (i-As) oraz DMA i MMA (o-As) bezpośrednio metodą HG-ICP OES [**H7**] – *zagadnienie nr 4*

⇒ wykorzystania potencjału techniki HG do oznaczeń stężeń całkowitych As oraz selektywnych oznaczeń form specjacyjnych tego pierwiastka w ryżu, tj. „hiperakumulatorze” głównie najbardziej toksycznego i-As [**H8**] – *zagadnienie nr 4*

⇒ opracowania i zwalidowania prostych schematów postępowania (w odniesieniu do warunków doświadczalnych etapu przygotowania próbki oraz pre-redukcji i redukcji właściwej) umożliwiających oznaczenie i specjację As metodą HG-ICP OES w różnych produktach zbożowych (pieczywo chrupkie i ryż) bez konieczności tradycyjnego rozkładu próbek na mokro czy stosowania chromatograficznego rozdzielania form specjacyjnych tego pierwiastka przed pomiarem [**H9,H10**] – *zagadnienie nr 4*

Cel który sobie postawiłam i przedstawiłam w niniejszym opracowaniu w postaci odrębnych zagadnień podzieliłam na dwie grupy, w tym (i) analizę pierwiastkową oraz (ii) nie-chromatograficzną specjację i frakcjonowanie pierwiastków, których punktem wspólnym było rozszerzone wykorzystanie techniki HG na etapie wprowadzenia oznaczanych analitów do układu detekcji (ICP OES).

**Analizę pierwiastkową** (*zagadnienia nr 1-3*) odnoszącą się do tradycyjnych pierwiastków „wodorkotwórczych” zawarłam w pracach [**H1,H2,H4,H5,H6**]. Prace te dotyczyły głównie optymalizacji warunków eksperymentalnych poprzez zbadanie wpływu wybranych czynników fizycznych (instrumentalnych) oraz chemicznych na efektywność procesu HG z udziałem tych pierwiastków tak, by polepszyć czułość oznaczeń jednopierwiastkowych oraz jednoczesnych oznaczeń kilku pierwiastków metodą HG-ICP OES. Analizę pierwiastkową rozszerzyłam też o wybrane metale grup przejściowych, tj. pierwiastki uznawane za groźne interferenty w oznaczeniach pierwiastków

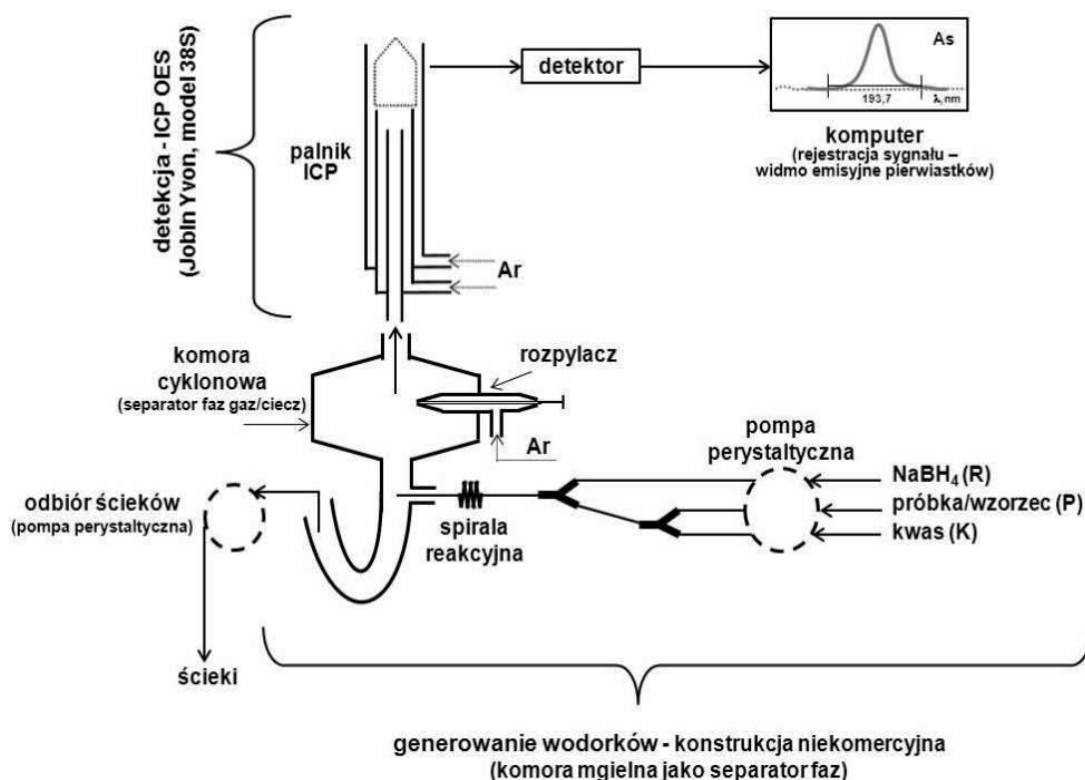
tworzących wodorki, badając możliwość konwersji tych metali do postaci lotnych połączeń w warunkach reakcji HG. Wyniki tych badań przedstawiłam w pracy [H3].

**W części dotyczącej nie-chromatograficznej specjacji i frakcjonowania** (zagadnienie nr 4) skupiłam się na oznaczeniach As, w szczególności 4 aktywnych w reakcji z  $\text{NaBH}_4$  formach specjacyjnych tego pierwiastka, tj. As(III), As(V), DMA i MMA. Prowadziłam badania, które miały umożliwić selektywne oznaczenia poszczególnych form (specjacja właściwa), bądź grup form o określonych właściwościach (specjacja operacyjna) bez konieczności ich wcześniejszego chromatograficznego rozdzielania. W wyniku tego opracowałam schematy (protokoły) postępowania, które mają praktyczne zastosowanie w specjacji i frakcjonowaniu As bezpośrednio metodą HG-ICP OES w próbkach ryżu. Równoległe prowadziłam prace nad opracowaniem procedur przygotowania próbek różnych produktów zbożowych przed ich analizą metodą HG-ICP OES do oznaczeń stężenia całkowitego As, a także oznaczeń jego nieorganicznych form (i-As) w obecności o-As z wykorzystaniem selektywnych metod ekstrakcji. Tej części poświęcone są cztery prace ([H7-H10]), z czego praca [H8] to praca przeglądowa, w której szczegółowo omówiłam i porównałam postępowania stosowane do oznaczenia i specjacji As w ryżu metodami spektrometrycznymi z udziałem chromatograficznego i nie-chromatograficznego rozdzielania poszczególnych form tego pierwiastka. Najwięcej uwagi w tej pracy poświęciłam etapowi przygotowania próbek do analizy, ponieważ odgrywa szczególną rolę, zwłaszcza w analizie specjacyjnej.

Do przeprowadzenia oznaczanych pierwiastków z określonej formy specjacyjnej do postaci lotnego połączenia w reakcji z  $\text{NaBH}_4$ , a następnie transportu wygenerowanej formy gazowej do źródła wzbudzenia (ICP OES) zastosowałam dwa różne układy reakcyjno-separacyjne z ciągłym przepływem reagentów i separacją faz, tj. (i) *niekomercyjną konstrukcję* ze zmodyfikowaną komorą mgielną w roli separatora faz gaz/ciecz oraz (ii) *komercyjną przystawkę do generowania wodorków*, model VGA-77P (Agilent). Intensywności linii emisyjnych pierwiastków, w zależności od użytego układu do HG, mierzyłam za pomocą spektrometrów ICP OES firm Jobin Yvon, model JY38S (sekwencyjny z pionową obserwacją plazmy) [układ (i)] oraz Agilent, model 720 (równoczesny, z poziomą obserwacją plazmy) [układ (ii)]. Schematy układów wraz z elementami składowymi przedstawiłam na rysunkach 1 i 2.

Układ niekomercyjny (rys. 1) składał się ze zmodyfikowanej szklanej komory cyklonowej (z U-kształtnym zakończeniem), pełniącej rolę separatora, rozpylacza pneumatycznego oraz dwóch Y-kształtnych łączników. W układzie tym roztwory reagentów, tj. próbki (P), dodatkowego strumienia kwasu (K) oraz  $\text{NaBH}_4$  (R), podawano osobnymi strumieniami pompką perystaltyczną. W 1-ym Y-łączniku roztwór P mieszał się z roztworem K. Powstałą mieszaninę podawano do 2-go Y-łącznika, gdzie mieszała się z roztworem R, tj. zachodziła reakcja HG. Otrzymaną heterogeniczną mieszaninę (gaz-ciecz) wprowadzano poprzez wężyk kapilarny (5 cm) do U-kształtnego zakończenia komory cyklonowej, gdzie dochodziło do oddzielenia produktów gazowych od ciekłych. Produkty gazowe

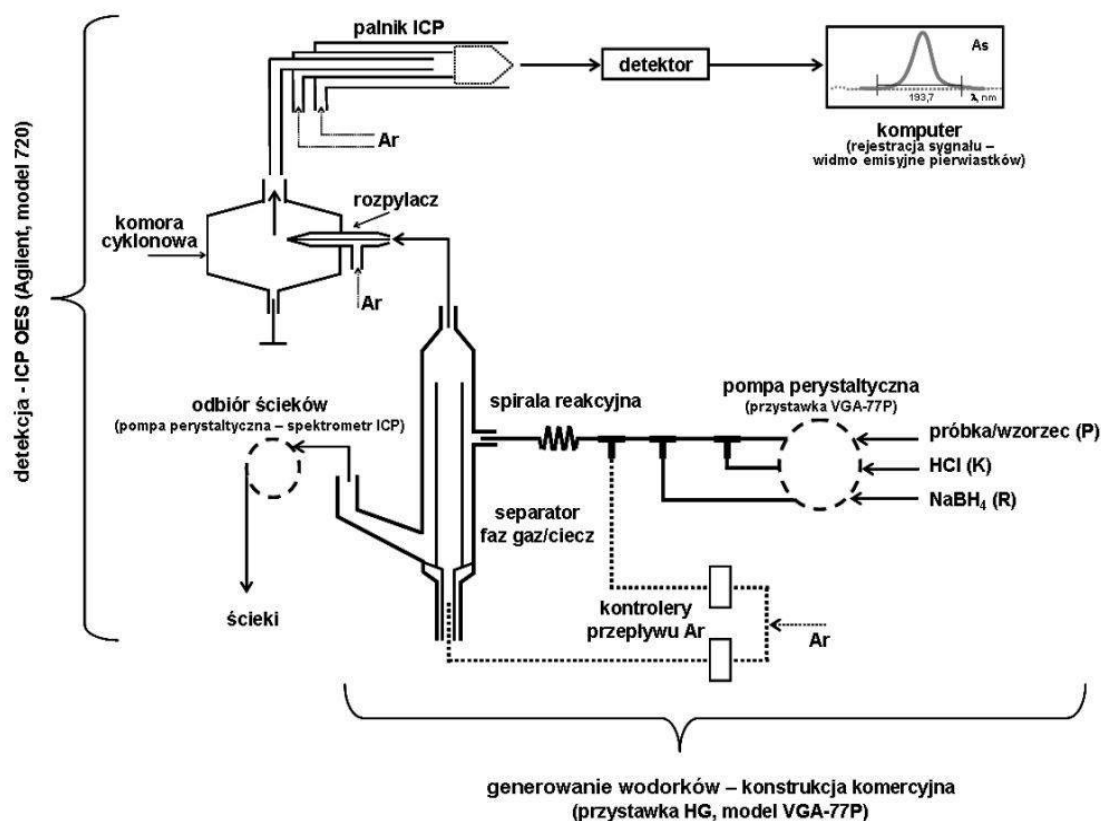
transportowane były w strumieniu gazu nośnego (Ar), wprowadzonego przez wlot gazu rozpylacza, do palnika ICP. Kanał wprowadzania próbki w rozpylaczu był zaślepiony. Pozostałą ciecz po-reakcyjną odprowadzano do ścieków przy pomocy pompki perystaltycznej. Niekomercyjny układ zastosowałam w badaniach związanych z generowaniem wodorków As, Bi, Pb, Sb i Sn [H1,H2,H7,H9,H10] oraz lotnych połączeń Cr, Fe i Mn [H3].



**Rys. 1** Schemat niekomercyjnego układu do generowania wodorków.

W układzie z użyciem komercyjnej przystawki VGA-77P (rys. 2) roztwory reagentów, tj, próbki (P), dodatkowego strumienia HCl (K) oraz NaBH<sub>4</sub> (R), podawano osobnymi strumieniami pompką perystaltyczną przystawki. W pierwszej kolejności roztwór P mieszał się z roztworem K (1-szy T-łącznik) przed zmieszaniem z roztworem R (2-i T-łącznik). Heterogeniczna mieszanina reakcyjna wprowadzana była do spirali reakcyjnej, do której wprowadzano też gaz nośny (Ar). Wzbogacony w wodorki pierwiastków strumień gazu nośnego oddzielano od fazy ciekłej w szklanym separatorze faz. W miejscu tym doprowadzano drugi strumień Ar, osuszający fazę gazową z resztek pary wodnej. Wodorki analitów transportowane były do plazmy w strumieniu Ar przez wlot próbki rozpylacza OneNeb<sup>®</sup> (Agilent), który umieszczony był w szklanej komorze mgielnej (Glass Expansion), połączonej z palnikiem spektrometru ICP. Zbędną ciecz usuwano z separatora faz pompką

perystaltyczną spektrometru. Układ wykorzystyłam w badaniach związanych z generowaniem wodorków As, Bi, Sb i Se (prace [H5,H6]).



Rys. 2 Schemat komercyjnego układu do generowania wodorków.

## Omówienie prac

### 1. Technika HG versus (nie)tradycyjne pierwiastki „wodorkotwórcze”

W teorii już sama przynależność danego pierwiastka do grupy tzw. „wodorkotwórczych”, czyli takich, których jony tworzą lotne wodorki w reakcji z czynnikiem redukującym ( $\text{NaBH}_4$ ) w środowisku kwaśnym (gł.  $\text{HCl}$ ) powinna sprzyjać popularyzacji techniki HG do celów analitycznych, tj. precyzyjnego i czułego oznaczenia tych pierwiastków na poziomie (ultra)śladowym metodami spektrometrycznymi, zwłaszcza w porównaniu z tradycyjnym sposobem wprowadzania analitów w postaci aerozolu (technika rozpylania pneumatycznego). Choć ilość pierwiastków aktywnych w reakcji redukcji, umożliwiającej przekształcenie ich do postaci lotnego wodorku, jest ograniczona, powszechnie wiadomo, że generowanie wodorków **As**, **Bi**, **Sb**, **Pb**, **Se**, **Sn** jest popularną i przydatną techniką, wykorzystywaną w optycznej spektrometrii emisyjnej (OES) do ich oznaczania [1,2]. W świetle prac dotyczących praktycznego wykorzystania techniki derywatywacyjnej do celów analitycznych,



okazuje się, że do grupy tradycyjnych pierwiastków „wodorkotwórczych”, i które najczęściej się oznacza, zalicza się pierwiastki 15- i 16-tej grupy, tj. As, Bi, Sb i Se. Oznaczenia pozostałych pierwiastków, w tym Pb i Sn (grupa 14-ta), należą do rzadkości z uwagi na specyficzne i zupełnie odmienne niż w przypadku tradycyjnych pierwiastków „wodorkotwórczych” wymagania co do przebiegu reakcji generowania wodorków w roztworze. Ma to głównie związek ze ścisłą kontrolą pH środowiska reakcji (stężenia kwasu) i trudnością w doborze optymalnych parametrów doświadczalnych [1]. W przypadku Pb, ze względu na jego stopień utlenienia, wymagana jest dodatkowa obecność w roztworze substancji utleniających [3].

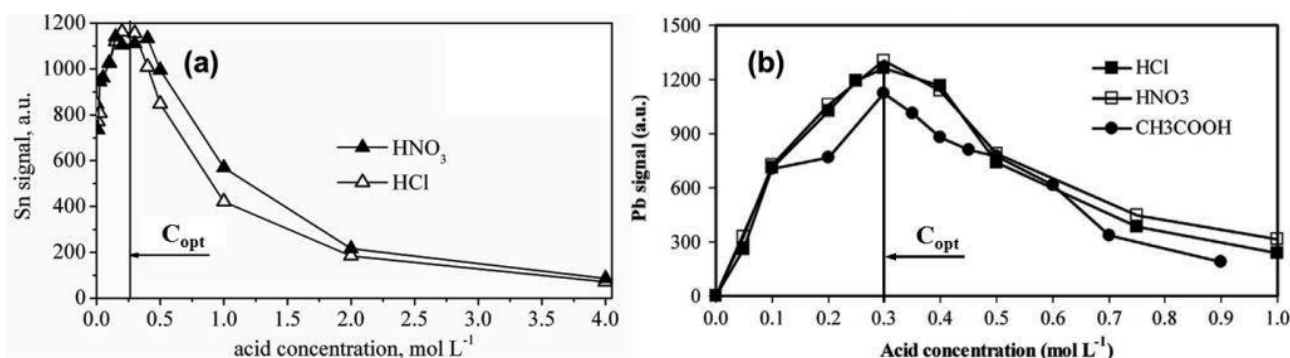
*Różnice w zachowaniu się obu pierwiastków w reakcji z NaBH<sub>4</sub> stało się przedmiotem moich badań, w których podjęłam się „okielzania” reakcji generowania wodorków Sn [H1] i Pb [H2]. Ich celem była optymalizacja parametrów eksperymentalnych tak, by gwarantowały one uzyskanie wysokiej czułości oznaczeń i precyzji pomiarów tych pierwiastków oraz ich niskich granic wykrywalności do oznaczeń śladowych zawartości Sn i Pb w próbkach rzeczywistych. W obu pracach szczególną uwagę skupiłam na parametrach chemicznych, odpowiadających za przebieg procesu HG w roztworze, w tym głównie układu redukującego kwas–czynnik redukujący, tj. rodzaju (HCl, HNO<sub>3</sub> i CH<sub>3</sub>COOH) i stężenia (0,01–4,0 mol/dm<sup>3</sup>) kwasu oraz stężenia NaBH<sub>4</sub> (0,1–2,5%). Ważnym kryterium, którym kierowałam się w doborze medium reakcyjnego procesu HG, było powiązanie go ze sposobem przygotowania analizowanych próbek do pomiaru, odnoszącym się do odczynników użytych na etapie przeprowadzenia składników próbek do roztworu.*

Z uwagi na specyfikę badanych pierwiastków z badałam też zależność sygnałów analitycznych cyny i ołowiu z Sn(IV) i Pb(II) od m.in: (a) stężenia kwasu w próbce [H1,H2]; (b) rodzaju czynnika redukującego, tj. reduktorów boranowych [H1]; (c) rodzaju i stężenia substancji stosowanych do wstępnego utleniania Pb(II) [H2]; (d) obecności substancji dodatkowych, tj. odczynników pre-redukujących [H1], związków powierzchniowo czynnych [H2] i odczynników kompleksujących [H2]; (e) obecności substancji przeszkadzających (interferujących) [H2]; (f) szybkości podawania roztworów reagentów [H2] i długości spirali reakcyjnej [H1,H2] czy (g) sekwencji mieszania reagentów [H1].

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdziłam, że największy wpływ na sygnały Sn i Pb miały stężenie kwasu i stężenie czynnika redukującego, przy czym NaBH<sub>4</sub> okazał się być najlepszym w porównaniu do pozostałych dwóch reduktorów boranowych, tj. C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>-BH<sub>3</sub> (TBAB) i (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>NH-BH<sub>3</sub> (DMAB) użytych do generowania wodorku Sn [H1]. Efektywność redukcji Sn w reakcji z TBAB była 2-krotnie niższa, zaś użycie DMAB było zupełnie niepraktyczne. Co istotne, stężenie NaBH<sub>4</sub> wpływało na stabilność wyładowania w plazmie. Na stabilność wyładowania oraz precyzję wyników pomiarów wpływały też szybkości podawania reagentów, długość spirali reakcyjnej oraz sekwencja mieszania poszczególnych reagentów. Najlepsze wyniki osiągnęłam przy możliwie najkrótszej drodze mieszania po-reakcyjnej do komory mgielnej (separatora faz), w układzie łączenia trzech strumieni cieczy, tj. mieszając najpierw roztwór próbki z roztworem kwasu,

a następnie z roztworem  $\text{NaBH}_4$ . W przypadku Pb istotną rolę odgrywał też rodzaj i stężenie czynnika utleniającego, zapewniającego wstępne utlenienie Pb(II) do Pb(IV), tj. do postaci preferowanej dla efektywnego generowania  $\text{PbH}_4$ . Wybrany utleniacz, tj. 3%  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$ , wprowadzono w czasie generowania wodoru osobnym strumieniem przed zmieszaniem roztworu próbki z kwasem.

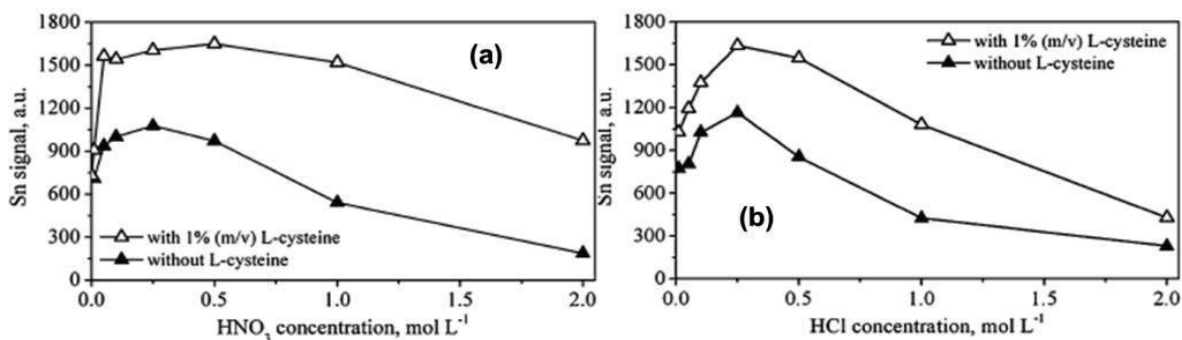
Generowanie wodorów Sn i Pb w reakcji z 1(Sn)–1,5(Pb)%  $\text{NaBH}_4$  przebiegało wydajnie niezależnie od rodzaju użytego kwasu, tj.  $\text{HCl}$  i  $\text{HNO}_3$  dla Sn oraz  $\text{HCl}$ ,  $\text{HNO}_3$  i  $\text{CH}_3\text{COOH}$  dla Pb. Ponadto przebieg zależności sygnałów Sn i Pb od stężenia kwasu podawanego do układu był zbliżony. Wszystkie testowane kwasy okazały się być dobrym medium reakcyjnym, jednakże w obszarze stosunkowo niskich stężeń kwasów ( $0,2\text{--}0,4 \text{ mol/dm}^3$ ) (rys. 3). Co ważne, sposób przeprowadzenia reakcji HG, np. poprzez zmieszanie z  $\text{NaBH}_4$  uprzednio zakwaszonej próbki do odpowiedniego stężenia, lub w układzie, gdzie kwas podawano osobnym strumieniem, nie odgrywało roli. Niestety konieczna była ścisła kontrola środowiska reakcji, gdyż niewielkie zmiany wokół optymalnego stężenia kwasu prowadziły do obniżenia efektywności generowania wodorów Sn i Pb, ograniczając tym samym atrakcyjność stosowania techniki HG w oznaczeniach obu tych pierwiastków metodą ICP OES. O atrakcyjności techniki HG w stosunku do rozpylania pneumatycznego świadczył wzrost czułości oznaczeń o ponad dwa rzędy wielkości (22-26-krotny dla Pb i 45-krotny dla Sn).



**Rys. 3** Wpływ rodzaju i stężenia kwasu na sygnały Sn z formy Sn(IV) (a) [H1] i Pb z formy Pb(II) (b) [H2] w reakcji z  $\text{NaBH}_4$ .  $C_{\text{opt}}$ : optymalne stężenie kwasu.

Skupiłam się więc nad możliwością wyeliminowania lub zminimalizowania silnego wpływu stężenia kwasu na jakość uzyskiwanych wyników, co udało mi się w przypadku Sn. Skutecznym rozwiązaniem tego problemu okazało się dodanie do roztworu próbki substancji stosowanej zwyczajowo do redukcji wstępnej (pre-redukcji) As(V) i Sb(V), tj. L-cysteiny, która znacznie (~50%) zwiększyła wydajność procesu HG z udziałem Sn(IV) oraz czułość i precyzję oznaczeń tego pierwiastka. Ponadto, obecność L-cysteiny poszerzyła zakres optymalnego stężenia kwasu w stronę wyższych stężeń, tj.  $0,05\text{--}1,0 \text{ mol/dm}^3$  (rys. 4). Spośród użytych kwasów, tj.  $\text{HCl}$  i  $\text{HNO}_3$ , najdogodniejszym środowiskiem reakcji był  $\text{HNO}_3$  (rys. 4a) z uwagi na większą tolerancję na zakwaszenie (do  $1,0 \text{ mol/dm}^3$ ) niż w przypadku  $\text{HCl}$

(do  $0,5 \text{ mol/dm}^3$ ) (rys. 4b). Jest to o tyle ważne, że  $\text{HNO}_3$  jest najczęściej używanym kwasem mineralnym do rozkładu mokrego próbek. Zaproponowana procedura generowania wodoru Sn w układzie z  $\text{HNO}_3$  i L-cysteiną, w której kwas służy jednocześnie do rozтворzenia próbki (wydzielenia Sn z matrycy próbki) oraz jako późniejsze medium reakcyjne w procesie HG, może być zastosowana w oznaczeniu śladowych stężeń Sn w próbkach rzeczywistych metodą ICP OES. Gwarantowały to wyznaczone parametry analityczne, tj. granica wykrywalności,  $G_w$  (liczona w odniesieniu do trzykrotnej wartości odchylenia standardowego (SD) ślepej próby, tzw. kryterium  $3\sigma$ ) oraz precyzja pomiarów (definiowana jako względne odchylenie standardowe, %RSD) wynoszące odpowiednio  $1,2 \text{ ng/cm}^3$  oraz  $0,88\%$ . Opracowany schemat postępowania został wykorzystany z powodzeniem do oznaczania śladowych ilości Sn w próbkach pomidorów (świeżych oraz puszkowanych) po wcześniejszym mokrym rozkładzie próbek w układzie otwartym w stężonym  $\text{HNO}_3$ . Krytycznym punktem przygotowania próbek było odparowanie pozostałości po mineralizacji do objętości, która zapewniała, że końcowe stężenie  $\text{HNO}_3$  w roztworze próbki było na poziomie  $\sim 0,5 \text{ mol/dm}^3$ . Dokładność metodologii zweryfikowałam metodą dodatku wzorca, uzyskując odzysk w zakresie  $92,9\text{-}109,0\%$  przy precyzji oznaczenia  $<5\%$ .



**Rys. 4** Wpływ L-cysteiny na sygnał cyny z formy Sn(IV) w reakcji z  $\text{NaBH}_4$  w środowisku (a)  $\text{HNO}_3$  i (b)  $\text{HCl}$  [H1].

Ograniczenia ze strony stężenia kwasu w przypadku oznaczeń Pb nie udało się wyeliminować. Jednakże okazało się, że rozwiązanie zaproponowane dla Sn i polegające na powiązaniu środowiska reakcji HG ze środowiskiem rozkładu mokrego próbki i przeprowadzenia jej składników do roztworu przed pomiarem, było również akceptowalne w pomiarach Pb; wszystkie użyte kwasy ( $\text{HCl}$ ,  $\text{HNO}_3$  i  $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) przy stosunkowo niskim stężeniu ( $1,0 \text{ mol/dm}^3$ ) mogą być użyte do wydzielenia Pb z matrycy próbki na drodze ekstrakcji. W otrzymanych ekstraktach, po uprzednim rozcieńczeniu ich do optymalnego stężenia kwasu ( $0,3 \text{ mol/dm}^3$ ), wodorek Pb mógł być generowany i wprowadzany do ICP OES według opracowanej procedury.

Co bardzo ważne, badając wpływ różnych parametrów eksperymentalnych na sygnał Pb, zwróciłam uwagę na: (a) interferencje ze strony jonów metali grup przejściowych, tj. Cu (zwłaszcza), Fe, Mn i Zn oraz metali alkalicznych (gł. Ca i Mg); (b) całkowite stłumienie

sygnału w obecności odczynnika kompleksującego (EDTA) oraz (c) znaczny spadek (30-60%) efektywności generowania  $PbH_4$  w obecności różnych surfaktantów stosowanych w ekstrakcji do punktu zmętnienia (ang. *cloud point extraction*, CPE). Jest to o tyle interesujące, że EDTA jest stosowane do maskowania jonów metali przeszkadzających, zaś CPE stosowana jest jako sposób zagęszczenia Pb przed pomiarem metodami spektrometrycznymi. Oznacza to, że łącząc HG z detekcją przy użyciu ICP OES w oznaczeniach Pb, należy przy opracowaniu odpowiedniej metody w szczególności wziąć pod uwagę potencjalne interferencje w fazie ciekłej, metodę ich eliminowania i/lub minimalizowania, jak również ogólny skład matrycy próbki oraz sposób jej przygotowania do analizy, zwłaszcza w przypadku analizy próbek o złożonej matrycy. Związane jest to bowiem z odpowiednim doбором sposobu kalibracji w pomiarach metodą HG-ICP OES.

Pokazałam możliwość wykonania analizy na podstawie opracowanego schematu postępowania. Zaproponowaną metodologię użyłam do oznaczenia Pb w próbkach z bogatą matrycą wapniową (dolomitów) metodą HG-ICP OES po uprzedniej ekstrakcji (wspomaganej energią ultradźwiękową lub mikrofalową) Pb z użyciem rozcieńczonych kwasów. Do kalibracji zastosowałam metodę dodatku wzorca (z uwagi na interferencje, pochodzące gł. od Ca). Uzyskałam bardzo dobre parametry analityczne, tj. niskie  $G_w$  (2,3-5,6  $ng/cm^3$  {3,4-6,8  $ng/cm^3$  z uwzględnieniem efektów matrycowych}) oraz wysoką precyzję pomiarową na poziomie 2,2-3,9%. Spośród użytych kwasów HCl był najdogodniejszy do przeprowadzenia ekstrakcji i reakcji HG z uwagi na lepszą tolerancję na obecność w roztworze metali interferujących (obniżenie sygnału Pb tylko o ~30%). Poprawność zaproponowanej metodologii zweryfikowałam poprzez analizę dwóch certyfikowanych materiałów odniesienia (CRM) {NCS DC70308 (Carbonate Rock) i NIST 14000 (Bone Ash)} oraz metodę dodatku wzorca. Wyznaczone odzyski mieściły się w zakresie 94,0-108,0% (analiza CRM) i 91,9-114,0% (test odzysku).

## **2. Technika HG versus środowisko reakcji (obszar niskich stężeń kwasu w roztworze)**

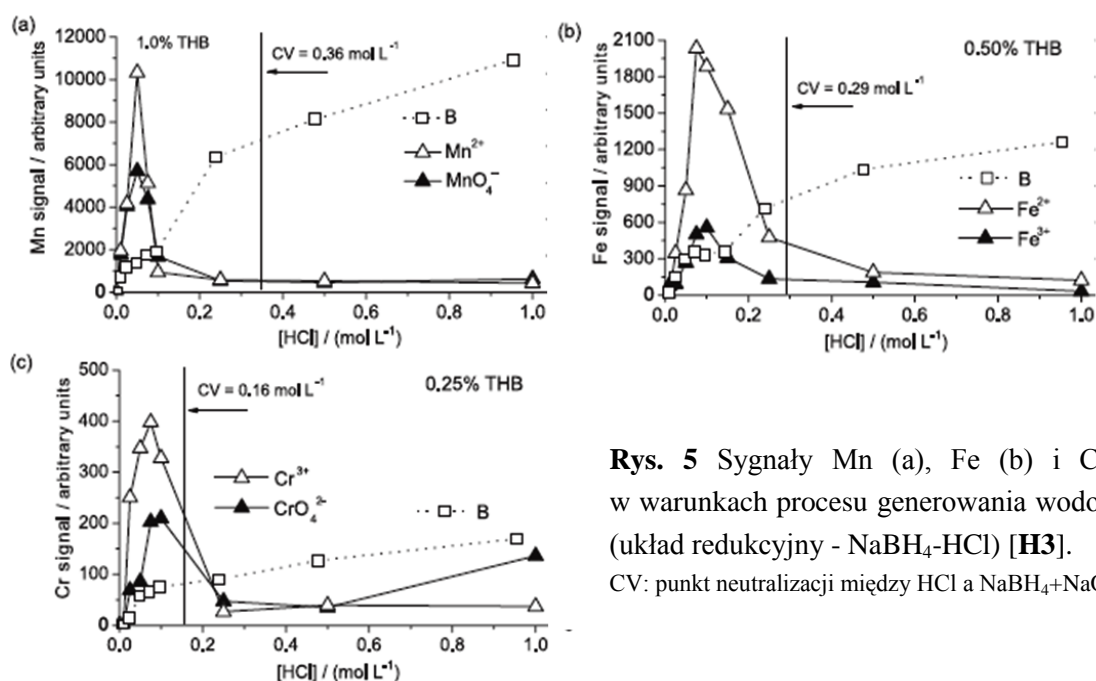
*Obszarowi tzw. „łagodnych” warunków procesu HG, który sprzyja generowaniu wodorków Sn i Pb, tj. stosunkowo niskim stężeniom HCl, HNO<sub>3</sub> czy CH<sub>3</sub>COOH w roztworze, warto było poświęcić większą uwagę. Dlaczego? Odpowiedzią jest obserwowany w ostatnich latach wzrost zainteresowania rozszerzenia grupy pierwiastków, które są przekształcane do postaci lotnych indywiduów w reakcji z NaBH<sub>4</sub> w środowisku kwaśnym, np. o metale grup przejściowych, postrzeganych głównie jako interferenty w oznaczeniach pierwiastków tworzących lotne wodorki [4]. Na wielkość tych interferencji ma duży wpływ środowisko reakcji, przy czym jednym ze skutecznych sposobów eliminowania i/lub minimalizowania niekorzystnego wpływu metali interferujących jest zastosowanie wysokiego stężenia kwasu. Z kolei w świetle opublikowanych prac wynika, że tworzenie się lotnych indywiduów metali grup przejściowych jeżeli ma miejsce to zachodzi właśnie w środowisku o bardzo niskim stężeniu kwasu w roztworze. Stąd, kolejna moja praca [H3].*

W pracy [H3] zaprezentowałam po raz pierwszy możliwość tworzenia lotnych indywiduów Cr ( $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{CrO}_6^{2-}$ ), Fe ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ) i Mn ( $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{MnO}_4^-$ ) w reakcji z  $\text{NaBH}_4$  w środowisku kwaśnym w połączeniu z detekcją metodą ICP OES. Nowatorskim podejściem było sprawdzenie aktywności różnych form specjacyjnych (ze względu na stopień utlenienia) tych metali oraz potwierdzenie faktu, że ich lotne indywidua powstają w następstwie procesu chemicznego, a nie fizycznego, związanego z tworzeniem się drobnego aerozolu w skutek gwałtownego przebiegu rozkładu  $\text{NaBH}_4$  w reakcji z kwasem. W badaniach wykorzystałam ten sam układ reakcyjno-separacyjny z ciągłym przepływem reagentów, który używałam w badaniach dla techniki HG (z komorą cyklonową pełniącą rolę separatora faz). Użyty układ zapewniał krótki czas kontaktu między reagentami, szybkie oddzielenie wytworzonych gazów od fazy ciekłej i ich transport do plazmy. Było to ważne z uwagi na niską trwałość indywiduów w roztworach wodnych, spowodowany najpewniej ich rozkładem w mieszaninie po-reakcyjnej, na co wskazywał spadek sygnałów Cr, Fe i Mn wraz z wydłużaniem spirali reakcyjnej, czy wolniejszym podawaniem roztworów reagentów (próbki, kwasu,  $\text{NaBH}_4$ ) do układu.

Zbadałam efektywność reakcji tworzenia lotnych indywiduów Cr, Fe i Mn (wielkość sygnałów analitycznych) w zależności od rodzaju i stężenia kwasu w roztworze oraz stężenia  $\text{NaBH}_4$ . Na podstawie wyników przeprowadzonych badań wykazałam, że lotne indywidua różnych form specjacyjnych Cr, Fe i Mn tworzą się w reakcji z  $\text{NaBH}_4$  w środowisku kwaśnym, przy czym efektywność procesu jest, podobnie jak dla tradycyjnych pierwiastków „wodorkotwórczych”, większa dla form o niższym stopniu utlenienia. W przeciwieństwie do tych pierwiastków, stwierdziłam, że proces tworzenia lotnych indywiduów silnie zależy od warunków doświadczalnych, szczególnie rodzaju i stężenia kwasu oraz stężenia  $\text{NaBH}_4$ . Spośród użytych kwasów, tj. HCl,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , cytrynowy ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ), bardzo niskie stężenia HCl (0,05-0,075 mol/dm<sup>3</sup>) wraz z 0,25-1%  $\text{NaBH}_4$  okazały się być optymalne dla procesu tworzenia i wydzielenia z mieszaniny reakcyjnej indywiduów metali (rys. 5).

Potwierdzeniem tworzenia się lotnych indywiduów Cr, Fe i Mn w procesie chemicznym było zbadanie transportu Mg w warunkach reakcji z  $\text{NaBH}_4$  w środowisku kwaśnym. Pierwiastek ten nie tworzy żadnych lotnych połączeń z  $\text{NaBH}_4$ , stąd za jego transport do plazmy odpowiada tworzenie się drobnego aerozolu w separatorze. Gdyby zjawisko takie zachodziło też dla Cr, Fe i Mn, to rejestrowane sygnały tych metali w danych warunkach eksperymentalnych powinny być zbliżone do tego pochodzącego od Mg. Otrzymane różnice w zachowaniu pierwiastków potwierdziły, że sygnały Mg są konsekwencją procesu fizycznego, w przeciwieństwie do procesu chemicznego, jaki towarzyszy tworzeniu lotnych indywiduów Cr, Fe i Mn. Udział frakcji aerozolu w całkowitym sygnale metali tworzących indywidua był znikomym (0,005%). W porównaniu do sygnałów zarejestrowanych dla techniki rozpylania pneumatycznego i uwzględniając wydajność użytego układu komora cyklonowa-rozpylacz pneumatyczny (2%), niestety wydajności reakcji tworzenia indywiduów tych metali były bardzo niskie (0,23-0,26%), a wyznaczone  $G_w$  o rząd wielkości wyższe. Nie mniej jednak granice wykrywalności form Cr, Fe i Mn na niższym stopniu utlenienia [66 ( $\text{Cr}^{3+}$ ),

25 ( $\text{Fe}^{2+}$ ) i 10 ( $\text{Mn}^{2+}$ )  $\text{ng}/\text{cm}^3$ ] były 2-3- krotnie niższe od otrzymanych dla form metali na wyższym stopniu [174 ( $\text{CrO}_6^{2-}$ ), 84 ( $\text{Fe}^{3+}$ ) i 18 ( $\text{MnO}_4^-$ )  $\text{ng}/\text{cm}^3$ ], co potwierdza odmienną aktywność form specjacyjnych Cr, Fe i Mn w warunkach reakcji HG. Choć charakterystyka analityczna nie była satysfakcjonująca, to wykazanie możliwości tworzenia się lotnych indywiduów  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{CrO}_6^{2-}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  i  $\text{MnO}_4^-$  wpisuje się w nurt szerszego zastosowania techniki HG w przyszłości.



**Rys. 5** Sygnały Mn (a), Fe (b) i Cr (c) w warunkach procesu generowania wodorków (układ redukcyjny -  $\text{NaBH}_4\text{-HCl}$ ) [H3].  
CV: punkt neutralizacji między  $\text{HCl}$  a  $\text{NaBH}_4+\text{NaOH}$

### 3. Technika HG versus tradycyjne pierwiastki „wodorkotwórcze”

Moje prace związane z techniką HG skupiały się przede wszystkim na tradycyjnych pierwiastkach „wodorkotwórczych”, tj. z 15- (As, Bi, Sb) i 16-tej (Se) grupy, które w porównaniu do Pb i Sn nie wymagają aż tak ścisłej kontroli środowiska reakcji (stężenie kwasu w roztworze), wykazując większą tolerancję oraz podobieństwo w zachowaniu na zmiany różnych parametrów eksperymentalnych. To pozwala na łatwiejsze znalezienie optymalnych warunków umożliwiających analizę wielopierwiastkową metodą HG-ICP OES. Jest to o tyle ważne, że sposobność jednoczesnego oznaczenia kilku pierwiastków tworzących lotne wodorki w tym samym czasie wyróżnia metodę ICP OES i zdecydowało w dużej mierze o jej przydatności sprzężenia z techniką HG w odróżnieniu do połączeń z metodami atomowej spektrometrii absorpcyjnej (AAS) czy fluorescencyjnej (AFS) [5-9]. Niestety w praktyce okazuje się, że efektywność redukcji jonów As, Bi, Sb i Se nie jest jednakowa i zależy od wielu chemicznych i fizycznych (instrumentalnych) czynników, które wymagają optymalizacji ze względu na różny wpływ na wielkość rejestrowanych sygnałów

analitycznych. Ze względu na różnice w chemicznych warunkach tworzenia wodorków poszczególnych pierwiastków „wodorkotwórczych”, w ich oznaczeniach metodą HG-ICP OES dominują analizy jednopierwiastkowe [10-13]. Oznaczenia dwu-, trzy- i wielopierwiastkowe są bardziej złożone, ponieważ konieczne jest znalezienie procedury, będącej kompromisem w stosunku do optymalnych warunków eksperymentalnych dla wszystkich badanych pierwiastków [5-9,14-17].

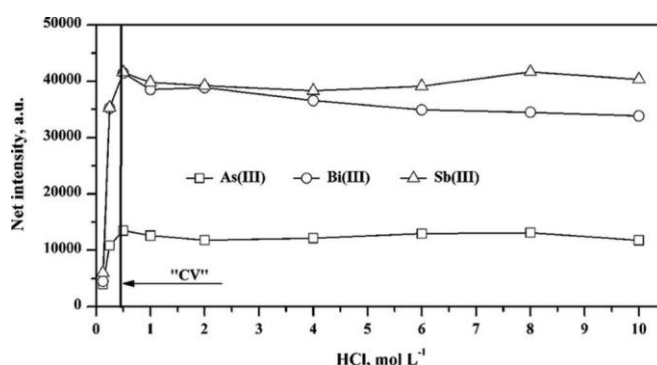
*Wpływ szeregu czynników eksperymentalnych wymagających uwagi i kontroli, zarówno dla jedno- oraz wielopierwiastkowych oznaczeń metodą HG-ICP OES, stał się przedmiotem moich badań [H4,H5,H6]. Skoncentrowałam się na wskazaniu istotnych parametrów instrumentalnych, które wpływają na dynamikę reakcji HG oraz doświadczalnych, decydujących o chemizmie reakcji tworzenia wodorków w reakcji z  $\text{NaBH}_4$ . Moją intencją było z jednej strony pokazanie złożoności procesu redukcji, z drugiej zaś dobór optymalnych warunków zapewniających odpowiednie czułości i granice wykrywalności badanych pierwiastków (indywidualnie oraz w mieszaninie) metodą HG-ICP OES wraz z opracowaniem i zwalidowaniem prostych procedur (pojedynczych, dwu- i trzy- pierwiastkowych) przydatnych w analizie śladowej As, Bi, Sb i Se pod kątem oznaczenia ich całkowitych stężeń.*

Spośród czynników, które wpływają na sygnał analityczny pierwiastków w technice HG, skupiłam się na: (a) rodzaju i ilości pierwiastków „wodorkotwórczych” w próbce; (b) środowisku reakcji redukcji, tj. stężeniu kwasu w próbce i w roztworze; (c) stopniu utlenienia pierwiastków; (d) konstrukcji układu reakcyjno-separacyjnego oraz stosowanego źródła wzbudzenia i (e) sposobie przeprowadzenia składników próbek do roztworu. W badaniach posłużyłam się pojedynczymi oraz mieszanymi roztworami wzorcowymi As(III), As(V), Bi(III), Sb(III), Sb(V), Se(IV) i Se(VI). Do ich zakwaszenia oraz jako środowisko reakcji w procesie HG stosowałam HCl, ze względu na fakt, że mieszanina  $\text{NaBH}_4$ -HCl jest dominującym układem reakcyjnym stosowanym do generowania wodorów As, Bi, Sb i Se.

$\Rightarrow$  skład pierwiastkowy:  $\text{As-Bi-Sb-Se} \leftrightarrow \text{As(III)-Bi(III)-Sb(III)-Se(IV)}$

W pierwszej kolejności, poszukując elementów wspólnych pomiędzy pierwiastkami „wodorkotwórczymi”, wskazujących na możliwość analizy wielopierwiastkowej, kierowałam się podobieństwem chemicznym tych pierwiastków. W celu sprawdzenia przyjętego założenia, przeprowadziłam wstępne badania związane z określeniem wpływu stężenia HCl na przebieg reakcji HG w roztworze dla mieszanej próbki zawierającej pierwiastki 15-tej grupy (As, Bi i Sb) obecnych na niższych stopniach utlenienia (preferowanych w reakcji HG), tj. As(III), Bi(III) i Sb(III). Wodorki generowałam stosując wykorzystywany przeze mnie dotąd [H1-H3] niekomercyjny układ reakcyjno-separacyjny, w którym komora mgielna pełniła rolę separatora faz. Intensywności linii emisyjnych As, Bi i Sb mierzyłam za pomocą sekwencyjnego spektrometru ICP OES (JY 38S), z pionową (radialną) obserwacją plazmy. Stosowałam optymalne parametry pracy spektrometru ICP (zgodnymi z zaleceniami podanymi przez producenta) i układu HG (zapewniające stabilność wyładowania ICP,

tj. podawanie roztworów reagentów: próbki (wzorzec), kwasu (HCl) i reduktora (NaBH<sub>4</sub>) – 1,0 cm<sup>3</sup>/min). Schemat [układ (i)] oraz przebieg reakcji z użyciem tego układu przedstawiłam na rys. 1 (str. 7 opracowania). Przy stałym stężeniu NaBH<sub>4</sub> (0,75%) i zakwaszeniu próbki (0,1 mol/dm<sup>3</sup> HCl), zbadalam zależność sygnałów analitycznych As, Bi i Sb od stężenia HCl (0,1-10 mol/dm<sup>3</sup>), który osobnym strumieniem podawany był do układu. Wyniki tych badań opublikowałam w pracy [H4]. Otrzymane zależności (rys. 6) wskazywały na podobne zachowanie As, Bi i Sb w reakcji HG dla As(III), Bi(III) i Sb(III) niezależnie od stężenia HCl w roztworze, co potwierdziło słusność wstępnie przyjętego założenia. Efektywne generowanie AsH<sub>3</sub>, BiH<sub>3</sub> i SbH<sub>3</sub> zachodziło w szerokim zakresie stężeń HCl, umożliwiając jednocześnie oznaczenie tych pierwiastków. W zakresie 0,5-10 mol/dm<sup>3</sup> HCl osiągnęłam najlepsze wyniki.



**Rys. 6** Wpływ stężenia HCl na sygnały As, Bi i Sb w reakcji z NaBH<sub>4</sub> (0,75%) [H4]. CV: punkt neutralizacji między HCl a NaBH<sub>4</sub>+NaOH.

Dalsze badania dotyczące wzajemnych relacji pomiędzy pierwiastkami 15-tej grupy (As, Bi, Sb) a także relacji tych pierwiastków (antagonistycznych/synergistycznych) z pierwiastkiem 16-tej grupy (Se) w warunkach reakcji HG kontynuowałam, zmieniając jednocześnie układ reakcyjno-separacyjny i spektrometr ICP OES. W tym przypadku wodorki generowałam z wykorzystaniem komercyjnej konstrukcji, tj. przystawki do generowania wodorków, model VGA-77P (Agilent) sprzężonej z równoczesnym spektrometrem ICP OES, model 720 (Agilent), z poziomą (aksjalną) obserwacją plazmy oraz rejestracją widma emisyjnego przy użyciu polichromatora w układzie Echelle'a wraz z detektorem typu CCD. Schemat [układ (ii)] oraz przebieg reakcji z użyciem nowego układu pomiarowego przedstawiłam na rys. 2 (str. 8 opracowania). Pracą z profesjonalnym generatorem wodorków oraz z detektorem, umożliwiającym oznaczenie pierwiastków na poziomie ultraśladowym (obniżenie G<sub>w</sub> o 1-2 rzędy wielkości w stosunku do spektrometrów ICP starszej generacji) zajęłam się w ramach projektu badawczego pt. "Określenie biodostępności pierwiastków w herbacie i kawie z zastosowaniem chromatograficznych i niechromatograficznych metod rozdzielania w połączeniu z metodami atomowej spektrometrii absorpcyjnej i emisyjnej" finansowanego w latach 2014-2017 przez Narodowe Centrum Nauki (konkurs Opus 5),



którego byłam główny wykonawcą (kierownik projektu – prof. dr hab. inż. Paweł Pohl, drugi główny wykonawca – dr inż. Anna Szymczycha-Madeja).

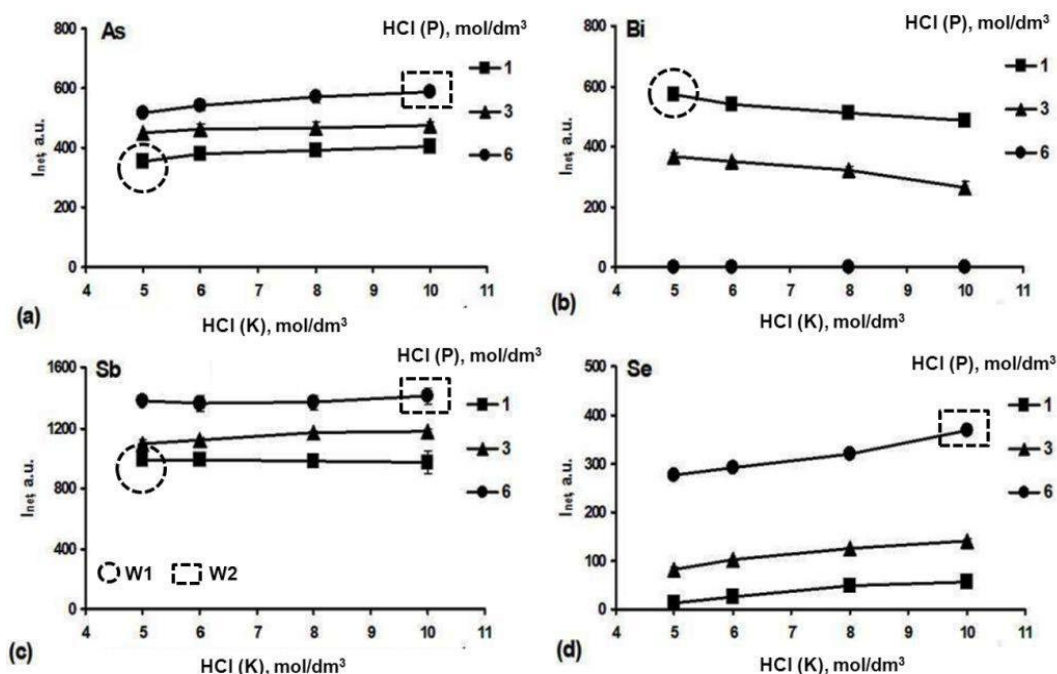
Co ważne i warte podkreślenia, podstawą do podjęcia i wykonania kompleksowych badań z użyciem nowego układu, czego efektem są prace [H5,H6], był fakt, że nie opisano dotąd w literaturze światowej i polskiej wielopierwiastkowej (As, Bi, Se i Se) analizy metodą HG-ICP OES z użyciem przystawki VGA-77P do generowania wodorków.

Z pozoru zwykła zamiana układu reakcyjno-separacyjnego nie pozwoliła mi jednak na bezpośrednie wykorzystanie optymalnych parametrów, które wypracowałam dla poprzedniego układu pomiarowego. Różnice wiązały się głównie z większym przepływem próbki (6-8 cm<sup>3</sup>/min), niższym stężeniem NaBH<sub>4</sub> (maks. 0,6%) oraz stężeniem HCl wymaganym do zakwaszenia próbki (1-6 mol/dm<sup>3</sup>) i wprowadzanym dodatkowym strumieniem do układu (5-10 mol/dm<sup>3</sup>). Chociaż zastosowane parametry pracy były zgodne z zaleceniami producenta dla obu nowych urządzeń, w przypadku VGA-77P niektóre z nich, głównie odpowiadające za dynamikę reakcji HG, wymagały uprzedniej optymalizacji w celu otrzymania maksymalnych sygnałów badanych pierwiastków. Dotyczyło to (a) szybkości przepływu próbki; (b) szybkości odbioru cieczy po-reakcyjnej z separatora (regulowanej poprzez szybkość obrotów pompki perystaltycznej spektrometru) oraz (c) czasu opóźnienia i płukania przed pomiarem sygnałów. W optymalizacji wykorzystałam metodę zmiany jednego parametru przy jednoczesnym zachowaniu stałych wartości pozostałych. Wybrane optymalne parametry [H5] umożliwiały analizę próbki w czasie krótszym niż 2 min. przy zużyciu w trakcie pojedynczego pomiaru ~16 cm<sup>3</sup> (próbka) oraz ~2 cm<sup>3</sup> (kwasu (HCl) i reduktora (NaBH<sub>4</sub>)). Powtarzalność pomiarów (precyzja) była dobra (RSD<2%).

Po optymalizacji parametrów instrumentalnych metody HG-ICP OES skupiłam się na weryfikacji parametrów doświadczalnych wpływających na chemizm reakcji HG dla As, Bi, Sb i Se (środowisko reakcji i stopień utlenienia analitów). Poszukiwałam warunków odpowiednich zarówno dla poszczególnych pierwiastków (analiza indywidualna), umożliwiających jednoczesne ich oznaczenie (As-Bi-Sb) oraz (przypuszczalnie) kompromisowych, niezbędnych do wspólnego oznaczenia As-Bi-Sb i Se.

Przeprowadzone badania pokazały [H5], że stężenie HCl było kluczowe w przypadku generowania wodorków Bi i Se. Dla porównania, wpływ stężeń HCl w próbce (P) oraz w roztworze (K) na zmianę sygnałów As i Sb był mniej znaczny. Odmienną aktywność pierwiastków w reakcji z NaBH<sub>4</sub> w zależności od stężeń HCl pokazuje rys. 7. Stwierdziłam, że zakres stężeń HCl dla efektywnego generowania wodorków Bi i Se był przeciwstawny. Najlepsze wyniki dla Bi osiągnęłam przy najniższych stężeniach HCl (1 mol/dm<sup>3</sup> (P) i 5 mol/dm<sup>3</sup> (K)). Odwrotną tendencję odnotowałam w przypadku Se, dla którego najwyższe sygnały otrzymałam przy zastosowaniu najwyższych stężeń HCl (6 mol/dm<sup>3</sup> (P) i 10 mol/dm<sup>3</sup> (K)). Wodorki As i Sb mogły być generowane w szerokim zakresie stężeń HCl, obejmujących optymalne warunki dla Bi i Se. Jednakże, podobnie do Se, najwyższe stężenia HCl były dla obu tych pierwiastków preferowane. Uzyskane wyniki pozwoliły mi wybrać dwa kompromisowe warunki (W) reakcji HG różniące się stężeniem

HCl, tj. W1: {1(P)-5(K) mol/dm<sup>3</sup> HCl; 0,6% NaBH<sub>4</sub>} oraz W2: {6(P)-10(K) mol/dm<sup>3</sup> HCl; 0,6% NaBH<sub>4</sub>}. Z jednej strony były to warunki optymalne dla pojedynczych oznaczeń, tj. W1 dla Bi oraz W2 dla As, Sb i Se. Z drugiej strony umożliwiały jednocześnie generowanie wodorków As-Bi-Sb (W1) oraz As-Sb-Se (W2), dodatkowo bez niekorzystnych efektów między tymi pierwiastkami. Brak interferencji między pierwiastkami sprawdziłam poprzez analizę pojedynczych i mieszanych (użyłam różne sekwencje) roztworów wzorców w warunkach W1 i W2. Niestety, nie udało mi się wskazać optymalnych warunków dla jednoczesnego oznaczenia As-Bi-Sb-Se, głównie ze względu na silną zależność efektywności generowania wodorków Bi i Se od środowiska reakcji oraz efekty międzypierwiastkowe. Chociaż obiecującą kombinacją były warunki W3: {3(P)-10(K) mol/dm<sup>3</sup> HCl; 0,6% NaBH<sub>4</sub>} z uwagi na aktywność w reakcji redukcji wszystkich 4 pierwiastków, to okazały się one nieprzydatne z powodu silnej interferencji (~45%) ze strony Se na sygnał Bi.



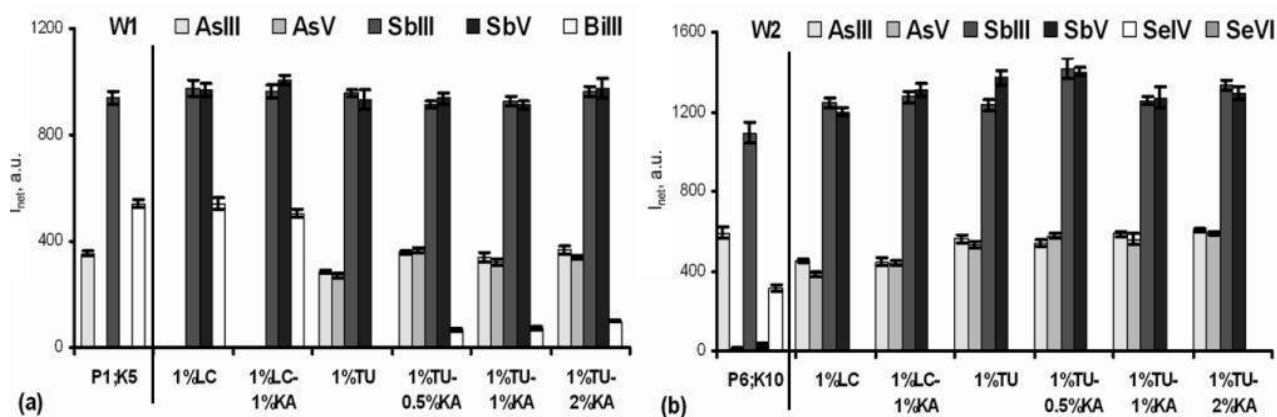
**Rys 7.** Wpływ stężenia HCl w próbce (P) i w roztworze podawanym do układu (K) na sygnały As (a), Bi (b), Sb (c) i Se (d) w reakcji z NaBH<sub>4</sub> (0,6%) [H5]. Warunki optymalne: W1 – As+Bi+Sb; W2 – As+Sb+Se.

⇒ stopień utlenienia: As(III,V), Bi(III), Sb(III,V), Se(IV,VI)

W kolejnym etapie pracy uwagę skupiłam na roli stopnia utlenienia pierwiastków „wodorkotwórczych”, gdyż dobrane odpowiednie warunki jedno- i wielopierwiastkowych oznaczeń dotyczyły roztworów, w których anality znajdowały się na niższym, uprzywilejowanym w procesie HG, stopniu utlenienia, tj. As(III), Bi(III), Sb(III) i Se(IV). Ze względu na różnice w szybkości reakcji z NaBH<sub>4</sub>, w przypadku oznaczenia całkowitych stężeń As, Bi, Sb i Se konieczna jest pre-redukcja analitów z wyższych stopni utlenienia, tj. As(V), Sb(V) i Se(VI), przed właściwą redukcją z NaBH<sub>4</sub> [5]. Dla Bi, występującego tylko

w postaci Bi(III), etap pre-redukcji może być pominięty [10,18]. Dla dobranych odpowiednich warunków jedno- i wielopierwiastkowych oznaczeń (W1 i W2), przeprowadziłam badania uwzględniające oba stopnie utleniania pierwiastków, zwracając szczególną uwagę na dobór odpowiedniego pre-reduktora [H6]. W badaniach użyłam najpopularniejszych odczynników stosowanych do pre-redukcji As, Sb i Se. Zbadałam wpływ dodatku L-cysteiny i tiomocznika (osobno oraz w kombinacji z kwasem askorbinowym) do próbki oraz ogrzewania jej w 6 mol/dm<sup>3</sup> HCl (bez oraz z dodatkiem chlorowodoru hydroksyloaminy) na sygnały As, Bi, Sb i Se. Jodek potasu (KI) stosowany powszechnie do pre-redukcji As i Sb, nie był brany pod uwagę ze względu na duże trudności w usuwaniu tworzonego I<sub>2</sub> (obniżającego sygnały Bi i Se).

Wyniki badań potwierdziły odmienną aktywność pierwiastków w reakcji redukcji ze względu na ich stopień utlenienia oraz wskazały na rolę formy chemicznej pierwiastka w technice HG. Proces HG bez pre-redukcji analitów zachodził jedynie dla próbek zawierających formy na niższych stopniach utlenienia. Zaobserwowałam też, że substancje stosowane do pre-redukcji wpływają w sposób istotny na przebieg procesu HG z udziałem As(III,V), Bi(III), Sb(III,V) i Se(IV,VI) (rys. 8).



**Rys. 8.** Wpływ pre-reduktorów na sygnały As, Bi, Sb i Se podczas generowania wodorków w warunkach optymalnych W1 (a) i W2 (b) [H6]. KA: kwas askorbinowy. LC: L-cysteina. TU: tiomocznik.

Okazało się, że w warunkach reakcji HG preferowanych dla oznaczeń całkowitych stężeń As+Bi+Sb (W1), tiomocznik/tiomocznik–kwas askorbinowy przeszkadzały w oznaczeniu Bi umożliwiając oznaczenie As+Sb. Z kolei L-cysteina/L-cysteina–kwas askorbinowy umożliwiały oznaczenie Bi+Sb, przeszkadzając jednocześnie w oznaczeniu As. Przy najwyższym zakwaszeniu próbki, tj. w warunkach reakcji HG preferowanych dla oznaczeń całkowitych stężeń As+Sb+Se (W2), L-cysteina i tiomocznik (osobno lub z kwasem askorbinowym) przeszkadzały w oznaczeniach Se, jednakże gwarantowały oznaczenie As+Sb. Stwierdziłam także, że w przypadku As i Sb, najlepszym pre-reduktorem była mieszanina tiomocznik–kwas askorbinowy, w obecności której pre-redukcja As(V) i Sb(V) zachodziła ilościowo, niezależnie od zakwaszenia próbki (1-6 mol/dm<sup>3</sup> HCl). Z kolei

ogrzewanie próbki z HCl (samym lub z chlorowodorkiem hydroksyloaminy), choć było nieefektywne dla pre-redukcji As(V) i Sb(V), umożliwiło oznaczenie Se. Sugeruje to, że znalezienie jednego „uniwersalnego” pre-reduktora w przypadku wielopierwiastkowych oznaczeń nie jest proste z uwagi m.in. na selektywne działanie tych odczynników.

Na podstawie otrzymanych wyników dobrałam warunki oznaczeń całkowitych stężeń As, Bi, Sb i Se metodą HG-ICP-OES w zależności od składu próbki, tj. z uwzględnieniem stopnia utlenienia pierwiastka. Optymalne procedury postępowania (w odniesieniu do warunków doświadczalnych związanych z pre-redukcją i redukcją właściwą poszczególnych form nieorganicznych oznaczanych pierwiastków) zestawiałam w tabeli 1. Dla optymalnych procedur pojedynczych, dwu- i trzy-pierwiastkowych oznaczeń, wyznaczyłam granice wykrywalności, zakresy liniowości oraz precyzję pomiarów. Wybrane parametry analityczne dla jednoczesnego oznaczenia As, Bi, Sb i Se metodą HG-ICP-OES w warunkach optymalnych przedstawiłam w tabeli 2. Wszystkie możliwe warianty, tj. preferowane oraz niekorzystne, wraz z podkreśleniem ich zalet oraz wypunktowaniem wad, dla oznaczeń As, Bi, Sb i Se przedstawiłam i omówiłam szczegółowo w pracy [H6].

**Tabela 1** Procedury oznaczeń As, Bi, Sb i Se metodą HG-ICP OES [H6].

HG	Skład próbki (teoretyczny)	Pre-redukcja	Oznaczenie
<i>Oznaczenia pojedynczych pierwiastków</i>			
W2	As(III,V)	1% TU–1% KA	As <sub>T</sub> jako As(III)
W1	Bi(III)	-bez -1% LC/1% LC–1% KA	Bi <sub>T</sub> jako Bi(III)
W2	Sb(III,V)	-1% TU–1% KA -1% LC–1% KA	Sb <sub>T</sub> jako Sb(III)
W2	Se(IV,VI)	6 mol/dm <sup>3</sup> HCl (95 °C, 30 min.)	Se <sub>T</sub> jako Se(IV)
<i>Jednoczesne oznaczenia kilku pierwiastków</i>			
W1	As(III)+Bi(III)+Sb(III)	bez	As <sub>T</sub> +Bi <sub>T</sub> +Sb <sub>T</sub> jako As(III)+Bi(III)+Sb(III)
W2	As(III)+Sb(III)+Se(IV)	bez	As <sub>T</sub> +Sb <sub>T</sub> +Se <sub>T</sub> jako As(III)+Sb(III)+Se(IV)
W1	As(III,V)+Bi(III)+Sb(III,V)	-1% LC–1% KA -1% TU–1% KA	-Bi <sub>T</sub> +Sb <sub>T</sub> -As <sub>T</sub> +Sb <sub>T</sub>
W2	As(III,V)+Sb(III,V)+Se(IV,VI)	6 mol/dm <sup>3</sup> HCl (95 °C, 30 min.)	Se <sub>T</sub>
W2	As(III,V)+Sb(III,V)+Se(IV,VI)	1% TU–1% KA (opcjonalnie: 1% LC–1% KA)	As <sub>T</sub> +Sb <sub>T</sub>

W1: {1(P)-5(K) mol/dm<sup>3</sup> HCl; 0,6% NaBH<sub>4</sub>}. W2: {6(P)-10(K) mol/dm<sup>3</sup> HCl; 0,6% NaBH<sub>4</sub>}. T: Stężenie całkowite. KA: kwas askorbinowy. LC: L-cysteina. TU: tiomocznik.

**Tabela 2** Wybrane parametry analityczne dla jednoczesnego oznaczenia As, Bi, Sb and Se metoda HG-ICP-OES w warunkach optymalnych [H6].

Procedura	Próbka	Parametr		
		$G_w^a$ (ng/g)	$R^2$	RSD <sup>b</sup> (%)
HG (W1) (bez etapu pre-redukcji)	As(III)	0,087	0,9954	2,0
	Bi(III)	0,061	0,9961	1,9
	Sb(III)	0,038	0,9969	1,9
HG+pre-redukcja (W1+1% LC–1% KA)	As(V)	NO <sup>c</sup>		
	Bi(III)	0,056	0,9985	1,8
	Sb(V)	0,038	0,9995	2,9
HG (W2) (bez etapu pre-redukcji)	As(III)	0,050	0,9901	1,5
	Sb(III)	0,028	0,9911	1,4
	Se(IV)	0,099	0,9908	2,6
HG+pre-redukcja (W2+1% LC–1% KA)	As(V)	0,062	0,9960	1,4
	Sb(V)	0,024	0,9967	1,8
	Se(VI)	NO <sup>c</sup>		
HG+pre-redukcja (W2+1% TU–1% KA)	As(V)	0,051	0,9971	1,9
	Sb(V)	0,024	0,9949	2,5
	Se(VI)	NO <sup>c</sup>		
HG+pre-redukcja (W2 z ogrzewaniem, 95 °C, 30 min)	As(V)	NO <sup>c</sup>		
	Sb(V)	NO <sup>c</sup>		
	Se(VI)	0,092	0,9959	3,9

W1: {1(P)-5(K) mol/dm<sup>3</sup> HCl; 0,6% NaBH<sub>4</sub>}. W2: {6(P)-10(K) mol/dm<sup>3</sup> HCl; 0,6% NaBH<sub>4</sub>}. KA: kwas askorbinowy. LC: L-cysteina. TU: tiomocznik.

<sup>a</sup> jako As(III), Bi(III), Sb(III) i Se(IV) dla niższych i wyższych (po pre-redukcji) stopni utleniania

<sup>b</sup> dla pięciu równoległych pomiarów roztworów wzorcowych o stężeniu 10 ng/g

<sup>c</sup> NO: Nie oznaczono (brak aktywności w procesie HG, w danych warunkach eksperymentalnych)

Dla wszystkich testowanych procedur (pre-redukcja oraz redukcja właściwa), krzywe kalibracyjne były liniowe w zakresie stężeń 0-20 ng/g. Precyzja oznaczeń była dobra, poniżej 3% (As, Bi, Sb) i 5% (Se). Ponadto otrzymałam bardzo dobrą zgodność wyników uzyskanych w warunkach kompromisowych W1 i W2 z pominięciem etapu pre-redukcji, co oznacza, że dla opracowanych procedur pre-redukcja form analitów była ilościowa, a zastosowane pre-reduktory nie wpływały na przebieg procesu HG w danych warunkach eksperymentalnych (W1 i W2). Na uwagę zasługują wartości  $G_w$ , tj. 0,024-0,099 ng/g, niezależnie od procedury pre-redukcji. Uzyskane wartości poziomów wykrywalności As, Bi, Sb i Se wskazują na przydatność opracowanych procedur do czułego (na poziomie ultra-sładowym) oznaczenia całkowitych stężeń tych pierwiastków metoda HG-ICP OES. Należy podkreślić, że tak niskie  $G_w$  gwarantowało zastosowanie odpowiedniego układu pomiarowego. Wartości te były o 1-2 rzędy niższe w porównaniu z innymi układami HG sprzężonymi ze spektrometrami ICP OES z pionową obserwacją plazmy [5,9,14], jak również niższe od otrzymywanych dla systemów stosujących spektrometry ICP OES z poziomą obserwacją plazmy [8,15,16]. W tym sensie, wykazany w tej części mojej pracy ogromny

potencjał przystawki VGA-77P jako generatora wodorków As, Bi, Sb i Se jest nowym i ważnym aspektem techniki HG w optycznej spektrometrii emisyjnej plazmy sprzężonej indukcyjnie.

⇒ *przygotowanie próbki: wpływ HNO<sub>3</sub> na proces HG z udziałem As, Bi, Sb i Se*

Komentarza wymaga fakt, że zaproponowane procedury odnosiły się do zwykłych roztworów wodnych. W praktyce laboratoryjnej składniki próbek przeprowadzane są do roztworu przed pomiarami spektrometrycznymi najczęściej w drodze mokrego rozkładu z użyciem stężonego HNO<sub>3</sub>, co powoduje jednocześnie przejście pierwiastków „wodorkotwórczych” do postaci o wyższych stopniach utlenienia. Z reguły mineralizaty próbek są kwaśne ze względu na pozostały po mineralizacji HNO<sub>3</sub> (do ~3,5 mol/dm<sup>3</sup>). Chociaż na etapie pre-redukcji roztwory próbek są rozcieńczane, pozostały HNO<sub>3</sub> (do ~1 mol/dm<sup>3</sup>) może przeszkadzać w procesie HG z uwagi na jego właściwości utleniające oraz na zmianę środowiska reakcji redukcji [5,13,15]. Dlatego też wykonałam dodatkowe badania z użyciem wzorców z dopasaniem matrycy odczynnikowej (zakwaszonymi HNO<sub>3</sub>) w celu sprawdzenia wpływu HNO<sub>3</sub> na przebieg reakcji HG w wybranych wcześniej kompromisowych warunkach oznaczania całkowitych stężeń As, Bi, Sb i Se metodą HG-ICP OES [H6]. Roztwór ślepej próby (~3,5 mol/dm<sup>3</sup> HNO<sub>3</sub>), przygotowany zgodnie z procedurą rozkładu mokrego w systemie zamkniętym wspomaganym energią mikrofalową, użyłam jako rozcieńczalnik do sporządzenia wzorców z dopasowaniem matrycy. Pre-redukcja As(V), Sb(V) i Se(VI) wiązała się z 5-krotnym rozcieńczeniem, co odpowiadało ~0,7 mol/dm<sup>3</sup> HNO<sub>3</sub> pozostałego w roztworach tych wzorców. Ponieważ przebieg reakcji HG dla Bi uzależniony jest głównie od stężenia kwasu w próbce (etap pre-redukcji nie jest konieczny), pozwoliło mi to dodatkowo zbadać wpływ rodzaju kwasu użytego do zakwaszenia próbki na sygnały Bi. Pierwotnie celowo założyłam, że opracowane procedury oznaczeń mogą być zastosowane do próbek uprzednio roztworzonych. O ile pozostały HNO<sub>3</sub> nie przeszkadzał w oznaczeniu Bi i Se oraz As i Sb w warunkach W1 (As) i W2 (As, Sb) i przy zastosowaniu L-cysteiny–kwas askorbinowego do pre-redukcji As(V) i Sb(V), o tyle obecność HNO<sub>3</sub> uniemożliwiła oznaczenie As i Sb pre-redukowanych z użyciem preferowanej mieszaniny tiomocznik–kwas askorbinowy w obecności 6 mol/dm<sup>3</sup> HCl (W2). Roztwory próbek były trwałe jedynie przez 1-2 godz. Po tym czasie rozkładały się, ze względu na reakcję pomiędzy HNO<sub>3</sub> a HCl (tworzenie się mieszaniny zbliżonej do *wody królewskiej*), co spowodowało tłumienie sygnałów As i Sb. Jednakże, kontynuacja tych badania pozwoliła mi skutecznie wyeliminować negatywny efekt HNO<sub>3</sub> i umożliwiła zastosowanie również tiomocznika–kwas askorbinowego do pre-redukcji As(V) i Sb(V) w roztworach po rozkładzie mokrym próbek. Ilościową redukcję As(V) i Sb(V) do As(III) i Sb(III) wraz z zachowaniem trwałości próbek (do 24 godz.) uzyskałam poprzez wstępną neutralizację, tj. dodatek kwasu askorbinowego lub chlorowodoru hydroksyloaminy, przed dodaniem mieszaniny tiomocznika–kwas askorbinowego i zakwaszeniu HCl do odpowiedniego stężenia. Spośród różnych testowanych wariantów (odnoszących się do składu mieszanin dodawanych do próbek przed końcowym

zakwaszeniem) kombinacje: 1% kwas askorbinowy lub 1% chlorowodorek hydroksyloaminy + {1% tiomocznik–1% kwas askorbinowy} okazały się być najlepsze. Różnice w sygnałach As i Sb w stosunku do wzorów odniesienia (bez HNO<sub>3</sub>) były nieznaczne, tj. <10% (As) i <5% (Sb).

W rezultacie wykonanych badań wykazałam, że przygotowanie próbki powinno być wzięte pod uwagę przy wyborze procedury pre-redukcji przed oznaczeniem całkowitych stężeń pierwiastków „wodorkotwórczych”. W celu uzyskania poprawnych wyników, dobór odpowiedniego składu mieszaniny pre-redukującej jest bezwzględnie wymagany. Zamknęło to tym samym całość moich badań związanych z wykazaniem wagi czynników, które muszą być wzięte bezwzględnie pod uwagę przy planowaniu i opracowywaniu metod łączących technikę HG z detekcją ICP OES w analizie śladowej tradycyjnych pierwiastków „wodorkotwórczych”.

#### **4. Technika HG versus nie-chromatograficzna analiza specjacyjną i frakcjonowana**

Istotnym czynnikiem, diskutowanym w poprzedniej części opracowania, była ważność stopni utlenienia tradycyjnych pierwiastków „wodorkotwórczych” na rzetelność i wiarygodność oznaczenia całkowitych ich stężeń z użyciem techniki HG. Z jednej strony występowanie pierwiastka „wodorkotwórczego” na różnych stopniach utlenienia może istotnie utrudnić wykonanie analizy, z drugiej zaś wykorzystanie odmiennej aktywności form chemicznych tego pierwiastka w reakcji z NaBH<sub>4</sub> umożliwia jego analizę specjacyjną bez konieczności chromatograficznego rozdziału form przed pomiarem metodami spektrometrycznymi. Możliwość wykonania takich selektywnych oznaczeń rozszerza zastosowanie tej techniki derywatywizacyjnej do celów analitycznych. W grupie pierwiastków tworzących wodorki wyróżnia się As, który występuje w wielu różnych formach chemicznych, tj. nieorganicznych (i-As) [As(III) i As(V)] i organicznych (o-As) [di- i monometyloarsenian (DMA i MMA)] połączeniach. Wszystkie wymienione formy chemiczne tego pierwiastka „wodorkotwórczego” reagują z NaBH<sub>4</sub> z odmienną szybkością w zależności od warunków eksperymentalnych. *Dlatego też, podążając za ideą poszukiwań metod selektywnych oznaczeń form specjacyjnych As, będących alternatywą dla tradycyjnie stosowanych drogich i czasochłonnych analiz tego typu z wykorzystaniem technik chromatograficznych, zajęłam się w kolejnym etapie pracy generowaniem wodorków As(III), As(V), DMA i MMA pod kątem nie-chromatograficznej analizy specjacyjnej tego pierwiastka metodą HG-ICP OES. Wymiernym tego efektem są trzy publikacje wchodzące w skład mojego osiągnięcia naukowego [H7,H9,H10].*

⇒ *specjacja As z wykorzystaniem selektywnych procedur oznaczeń techniką HG*

W pracy [H7] (opublikowanej w numerze specjalnym Journal of Analytical Atomic Spectrometry dedykowanemu młodemu naukowcom {*the fifth JAAS issue dedicated to young analytical scientists (YAS)*} i którą napisałam na zaproszenie), pokazałam po raz pierwszy

możliwość wykorzystania techniki HG w połączeniu z detekcją ICP OES do selektywnych oznaczeń wszystkich czterech form As, tj. As(III), As(V), DMA i MMA. W dotąd opublikowanych pracach, technikę HG łączono z detekcją AAS lub AFS, przy czym prace, w głównej mierze dotyczyły selektywnego oznaczenia obu form i-As [np. 19-21]. Prace dotyczące wszystkich czterech form As należą do rzadkości [22-25]. Ponieważ wszystkie moje badania nad specjacją związane były ze „starym” układem pomiarowym (z komorą cyklonową jako separatorem faz i sekwencyjnym spektrometrem JY 38S), korzystając ze zdobytego doświadczenia z pracy z przystawką VGA-77P i jednoczesnym spektrometrem, wodorki As generowałam po wcześniej odpowiednio dobranych parametrach, tj. wyborze (a) linii analitycznej As; (b) szybkości podawania reagentów; (c) szybkości odbioru cieczy po-reakcyjnej oraz jej poziomu w komorze; (d) długości spirali reakcyjnej czy (e) czasu opóźnienia przed pomiarem sygnałów. W warunkach optymalnych mierzone sygnały As były znacząco wzmocnione (>30x, w porównaniu do sygnałów dla techniki rozpylania pneumatycznego) i pozwoliły na czułe (0,23 ng/g (granica wykrywalności)) oraz precyzyjne (RSD<3%) oznaczenie As metodą HG-ICP OES w zakresie stężeń 0-50 ng/g. Następnie przeprowadziłam szereg szczegółowych doświadczeń, w których odmienną aktywność As(III), As(V), DMA i MMA w zależności od różnych warunków eksperymentalnych, tj. (a) środowiska reakcji {rodzaju i stężenia kwasu (HCl, CH<sub>3</sub>COOH, C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub>), buforu (cytrynianowy, octowy)}; (b) stężenia NaBH<sub>4</sub>; (c) obecności substancji dodatkowych, tj. pre-reduktorów (KI/tiomocznik–kwas askorbinowy, L-cysteina), wykorzystałam do selektywnego generowania wodorków dla różnych form As i określenia relacji pomiędzy sygnałami analitów w danym układzie redukującym.

W efekcie dobór optymalnych warunków reakcji HG pozwolił mi opracować 5 procedur specjacyjnych (SP) do selektywnych oznaczeń form As w jednego roztworu w reakcji z 1% NaBH<sub>4</sub>, tj.: SP1 dla [As(III)], SP2 dla [As(III)+DMA], SP3 dla [As(III)+As(V)+MMA], SP4 dla [DMA+MMA] i SP5 dla [As(III)+As(V)+DMA+MMA], służących rozróżnieniu pomiędzy As(III), As(V), DMA i MMA oraz pomiędzy formami o określonych właściwościach, tj. odróżnienie i-As od o-As. Warunki, które mogą posłużyć do specjacji As techniką HG zestawiałam w tabeli 3, podkreślając jednocześnie te najkorzystniejsze procedury (SP). Ostatecznie, stosując kombinacje między opracowanymi procedurami specjacyjnymi (SP1-SP5) zaproponowałam szereg schematów (protokołów), które mają zastosowanie w nie-chromatograficznej specjacji i frakcjonowaniu As techniką HG. Różne warianty postępowań wraz z komentarzem przedstawiłam w tabeli 4.



**Tabela 3** Oznaczenie całkowitej zawartości As i nie-chromatograficzna specjacja As metodą HG-ICP-OES (warunki optymalne) w zależności od składu próbki [H7].

	Próbka	Pre-redukcja	Redukcja właściwa (HG)			I <sub>Rel</sub> <sup>a</sup>
			Próbka	Kwas	NaBH <sub>4</sub>	
<b>As(III)+As(V)+DMA+MMA</b>						
Selektywne pomiary	As(III)	---	0,1 M bufor cytrynianowy (pH 5,2)	---	1%	<u>0,52</u> <sup>b</sup> SP1 <sup>c</sup>
					0,1%	0,14
			3 mol/dm <sup>3</sup> HCl	10 M HCl	0,1%	0,20
	As(III) i DMA	---	0,5 M bufor octowy (pH 4,5)	---	1%	<u>0,77</u> SP2 <sup>c</sup>
		---	0,2 M CH <sub>3</sub> COOH	---	1%	0,82
		---	bez zakwaszenia	0,5 M CH <sub>3</sub> COOH	1%	0,80
As(III), As(V) i MMA	0,5% KI–2% KA	3 M HCl	10 M HCl	1%	<u>1,15</u> <sup>b</sup> SP3 <sup>c</sup>	
		1 M HCl	10 M HCl	1%	0,87	
o-As	0,5% LC	bez zakwaszenia	2 M HCl	1%	<u>0,66</u> SP4 <sup>c</sup>	
<b>As(III)+As(V)+DMA+MMA</b>						
t-As <sup>d</sup>	<i>i</i> -As	0,5% LC	bez zakwaszenia	0,25 M HCl	1%	1,11
		0,5% KI–2% KA	3 M HCl	10 M HCl	1%	<u>1,15</u> <sup>b</sup>
				(opcjonalnie 1 M HCl)		1,04
		1% TU–1% KA	3 M HCl	10 M HCl	1%	1,05
				(opcjonalnie 2 M HCl)		1,13
		0,5% LC	bez zakwaszenia	0,25 M HCl	1%	1,11
<i>i</i> -As+DMA	0,5% LC	3 M HCl	10 M HCl	1%	0,95	
<i>i</i> -As+MMA	0,5% LC	3 M HCl	10 M HCl	1%	0,95	

KA: kwas askorbinowy. LC: L-cysteina. M: mol/dm<sup>3</sup>. TU: tiomocznik. t-As: całkowita zawartość „wodorkotwórczych” form As.

<sup>a</sup> I<sub>Rel</sub>: intensywność względna wyrażona jako stosunek sygnału As w danych warunkach do sygnału referencyjnego w warunkach optymalnego generowania AsH<sub>3</sub> z As(III) metodą HG-ICP OES

<sup>b</sup> podkreślenie oznacza najkorzystniejsze warunki pre-redukcji i/lub procesu HG

<sup>c</sup> SP1-SP5: procedury specjacyjne (optymalne warunki selektywnych oznaczeń)

<sup>d</sup> jako As(III) po pre-redukcji

**Tabela 4** Nie-chromatograficzne schematy (protokoły) specjacyjne As [H7].

	<b>Próbka</b>	<b>Protokół specjacyjny</b>	<b>Oznaczenie</b>
<b>SPECJACJA</b>	As(III) As(V)	SP1, SP3	a. As(III) – SP1 b. As(V) – z różnicy pomiędzy sumą {As(III)+As(V)} i As(III) → SP3-SP1
	DMA MMA	SP2, SP4	a. DMA – SP2 b. MMA – z różnicy pomiędzy sumą {DMA+MMA} i DMA → SP4-SP2
		SP2, SP3 (opcjonalnie SP4 można dodać)	a. DMA – SP2 b. MMA – SP3 Możliwa weryfikacja przez porównanie sumy {DMA+MMA} z zawartością o-As oznaczoną przy SP4.
	As(III) As(V) DMA	SP1, SP3, SP5 <sup>a</sup>	a. As(III) – SP1 b. As(V) – z różnicy pomiędzy sumą {As(III)+As(V)} i As(III) → SP3-SP1 c. DMA – z różnicy pomiędzy t-As (SP5 <sup>a</sup> ) i sumą pozostałych form → SP5 <sup>a</sup> -SP3
		SP1, SP4, SP5 <sup>a</sup>	a. As(III) – SP1 b. DMA – SP4 c. As(V) – z różnicy pomiędzy t-As (SP5 <sup>a</sup> ) i sumą pozostałych form → SP5 <sup>a</sup> -{SP1+SP4}
		SP1, SP2, SP5 <sup>a</sup>	a. As(III) – SP1 b. DMA – z różnicy pomiędzy sumą {As(III)+DMA} i As(III) → SP2-SP1 c. As(V) – z różnicy pomiędzy t-As (SP5 <sup>a</sup> ) i sumą pozostałych form → SP5 <sup>a</sup> -SP2
	As(III) As(V) MMA	SP1, SP4, SP5 <sup>b</sup> (opcjonalnie SP3)	a. As(III) – SP1 b. MMA – SP4 c. As(V) – z różnicy pomiędzy t-As (SP5 <sup>b</sup> ) i sumą pozostałych form → SP5 <sup>b</sup> -{SP1+SP4} (opcjonalnie SP3 dla sumy {As(III)+As(V)+MMA} może być użyta)

**Tabela 4 cd.**

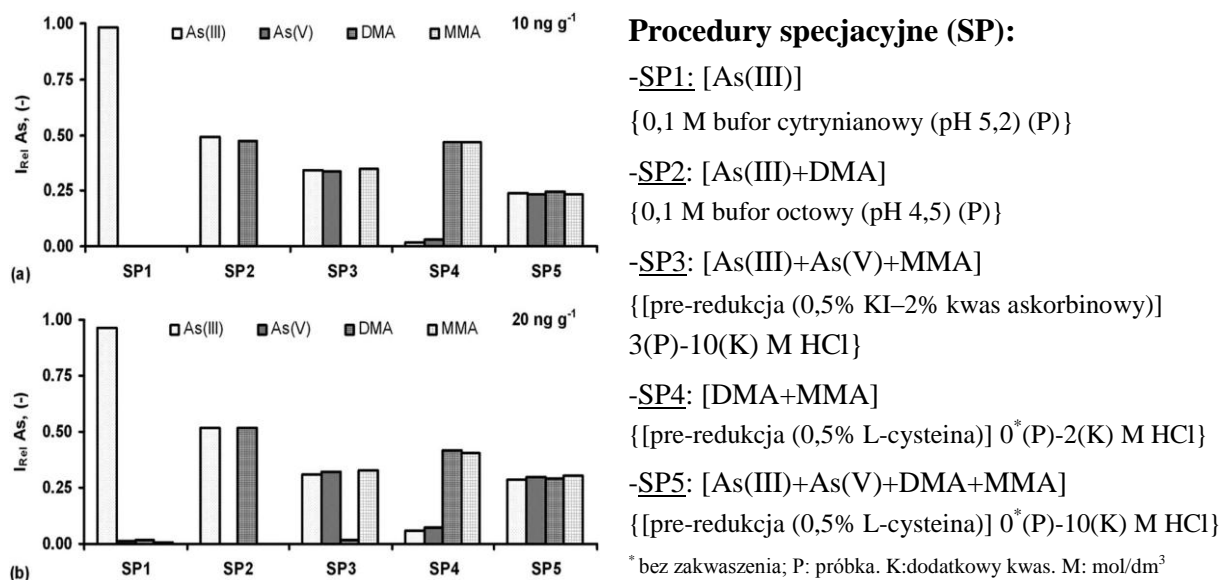
<b>SPECJACJA</b>	As(III)	SP1-SP4	a. As(III) – SP1
	As(V)	(SP5 może być dodana)	b. DMA – z różnicy pomiędzy sumą {As(III)+DMA} i As(III) → SP2-SP1
	DMA		c. MMA – z różnicy pomiędzy sumą {DMA+MMA} i DMA → SP4-{SP2-SP1}
	MMA		d. As(V) – z różnicy pomiędzy sumą {As(III)+As(V)+MMA} i As(III) i MMA → SP3+SP2-2SP1-SP4
			Możliwość weryfikacji przez porównanie sumy wszystkich form z zawartością t-As oznaczoną przy SP5.
		SP1, SP2, SP4, SP5	a-c: kroki a-c (jak powyżej) dla As(III) (a), DMA (b) i MMA (c)
			d. As(V) – z różnicy pomiędzy t-As (SP5) i sumą pozostałych form → SP5-SP4-SP1
<b>FRAKCJONOWANIE</b>	o-As	SP4, SP5	a. o-As – SP4
	i-As		b. i-As – z różnicy pomiędzy t-As (SP5) i sumą o-As → SP5-SP4
			Możliwość oszacowania frakcji i-As i o-As (frakcja: i-As [As(III) i As(V)] oraz o-As (DMA i MMA)).
	t-As <sub>HG</sub>	SP3 (or SP5 <sup>b</sup> ), SP5	a. t-As <sub>HG</sub> – SP5
	t-As <sub>nHG</sub>		b. t-As <sub>nHG</sub> – z różnicy T-As (SP3) i sumą t-As <sub>HG</sub> → SP3-SP5
			T-As: całkowita zawartość As oznaczona jako As(III) przy SP3 po mineralizacji próbki (dotyczy wszystkich form As, tj. nie-tworzących oraz tworzących wodorki). Frakcja form “wodorkotwórczych” (t-As <sub>HG</sub> ), tj. suma [As(III)+As(V)+DMA+MMA] i frakcja form nieaktywnych w procesie HG (t-As <sub>nHG</sub> ) może być oszacowana.

SP1-SP5: Procedury specjacyjne: SP1: [As(III)]; SP2: [As(III)+DMA]; SP3: [As(III)+As(V)+MMA]; SP4: [DMA+MMA]; SP5: [As(III)+As(V)+DMA+MMA].

<sup>a</sup> jako As(III): {[pre-redukcja (0,5% L-cysteina)] 0(P)-0,25(K) mol/dm<sup>3</sup> HCl; 1% NaBH<sub>4</sub>}

<sup>b</sup> jako As(III): {[pre-redukcja (0,5% L-cysteina)] 3(P)-10(K) mol/dm<sup>3</sup> HCl; 1% NaBH<sub>4</sub>}

Warto podkreślić, że procedury charakteryzowały się dużą selektywnością (>95%) oraz bardzo dobrą precyzją pomiarów (1-6%), co świadczyło o ich dokładności i przydatności w analizie specyficjnej i/lub frakcjonowanej As (rys. 9).



**Rys. 9** Selekttywne generowanie wodorków As w reakcji z 1% NaBH<sub>4</sub> w warunkach optymalnych (SP1-SP5) z roztworów zawierających po 10 ng/g (a) i 20 ng/g (b) As(III), As(V), DMA i MMA [H7].  
I<sub>Rel</sub>: intensywność względna, stosunek sygnału As danej formy z roztworu bez i zawartością pozostałych form dla warunków optymalnych.

Adekwatność oznaczenia form As metodą HG-ICP OES w oparciu o SP sprawdziłam poprzez analizę wód mineralnych, stosując metodę dodatku wzorca. Wysoki odzysk As(III), As(V), DMA i MMA (o stężeniu 10 i 20 ng/g każdej z form), wynoszący 97,2-103,6% [As(III)], 96,0-101,7% [As(V)], 94,3-102,1% (DMA) i 98,8-104,9% (MMA), potwierdził poprawność wyboru optymalnych warunków oznaczania wszystkich 4 form As.

Chociaż wyniki przeprowadzonych badań i praktyczne zastosowanie opracowanej metodologii dotyczyły prostych roztworów wodnych (wzorce, woda pitna), są cenne, gdyż zwróciły uwagę na możliwość specjacji i frakcjonowania As techniką HG z uniknięciem chromatograficznego rozdzielania form pierwiastka.

### ⇒ problematyka As w ryżu

Na zainteresowanie As złożyły się dwa czynniki. Po pierwsze z uwagi na mnogość „wodorkotwórczych” form chemicznych pierwiastka, które potrafiłam rozróżnić techniką HG [H7], po drugie ze względu na rolę As z punktu żywienia i zdrowia człowieka. Arsen jest to pierwiastek toksyczny. Jego szkodliwość uzależniona jest od postaci w jakiej występuje. Nieorganiczne [As(III,V)] oraz organiczne (metylowane) połączenia (DMA i MMA) As zaliczane są do trujących form, przy czym i-As jest znacznie bardziej toksyczny niż o-As. Obecnie wiedza o poszczególnych formach specyacyjnych a nie o całkowitej zawartości As,

szczególnie w żywności „obciążonej” i-As, jest niezbędna do kontroli jakości tego rodzaju produktów żywnościowych. Doskonałym przykładem jest ryż, który jako jedyny spośród wszystkich zbóż wykazuje zdolność do akumulacji As, zwłaszcza najbardziej toksycznego i-As, w okresie wzrostu rośliny. Specjacja As w ryżu wykonywana jest przede wszystkim w połączeniu z chromatograficznymi technikami rozdzielania, tj. cieczerową (LC), wysokosprawną (HPLC), i obecnie metoda HPLC-ICP MS, choć bardzo droga, z uwagi na czułość i selektywność jest preferowana i rekomendowana [26]. Poszukiwane są rozwiązania umożliwiające nie-chromatograficzną specjację As w ryżu. Jednym ze sposobów jest użycie techniki HG, gdyż wszystkie toksyczne formy As kumulowane przez ryż, tj. As(III,V), DMA i MMA, są aktywne w procesie redukcji. By lepiej poznać problemy metodologiczne związane z oznaczeniem As w ryżu, napisałam pracę [H8], w której zaprezentowałam dokładny przegląd literatury nt. metodologii postępowania (z uwzględnieniem sposobu przygotowania próbek do analizy) w oznaczeniach zawartości całkowitej i specjacji As w ryżu metodami spektrometrycznymi z udziałem chromatograficznego i nie-chromatograficznego rozdzielania form tego pierwiastka. Zawarłam też kierunki rozwoju specjacji As w ryżu, odnoszące się m.in. do opracowań prostych metod dedykowanych selektywnym oznaczeniom i-As z pominięciem technik chromatograficznych. W rezultacie zainteresowałam się wykorzystaniem techniki HG do specjacji As w ryżu, a nieliczne prace w tym obszarze [27-30] oraz brak opracowania w literaturze nt. nie-chromatograficznej analizy specjacyjnej As metodą HG-ICP OES potwierdziły słuszność podjętej tematyki.

#### ⇒ nie-chromatograficzna specjacja i-As w ryżu metodą HG-ICP OES

Przy opracowaniu metodologii umożliwiającej selektywne oznaczenie As(III) i As(V) w ryżu z użyciem HG-ICP OES według opracowanych procedur specjacyjnych [H7] skupiałam się na selektywnym oznaczeniu sumy nieorganicznych połączeń (i-As). Takie podejście jest preferowane, ponieważ pozwala uniknąć błędów związanych z możliwą zmianą pierwotnej postaci obu form ( $\text{As(III)} \leftrightarrow \text{As(V)}$ ) podczas ich ekstrakcji z próbki. Chociaż z punktu widzenia specjacji oznaczenie całkowitego stężenia As (t-As) jest niewystarczające, to jest niezbędne do oceny ogólnej zawartości pierwiastka w próbce. Ponadto, z różnicy pomiędzy t-As i i-As, zawartość organicznego As (o-As) może być obliczona. Miałam świadomość na podstawie wcześniejszych prac [H1,H2,H6], że kluczowym czynnikiem, który może wpłynąć na wynik jest przygotowanie próbki do analizy. W przypadku rozkładu mokrego (niezbędnego do oznaczenia całkowitej zawartości pierwiastka) pozostały po mineralizacji  $\text{HNO}_3$  przeszkadzał w oznaczeniu pierwiastków techniką HG [H6]. W przypadku ekstrakcji, składniki matrycy próbki także zakłócały pomiar analityczny, wpływając na aktywność pierwiastków w procesie redukcji [H2].

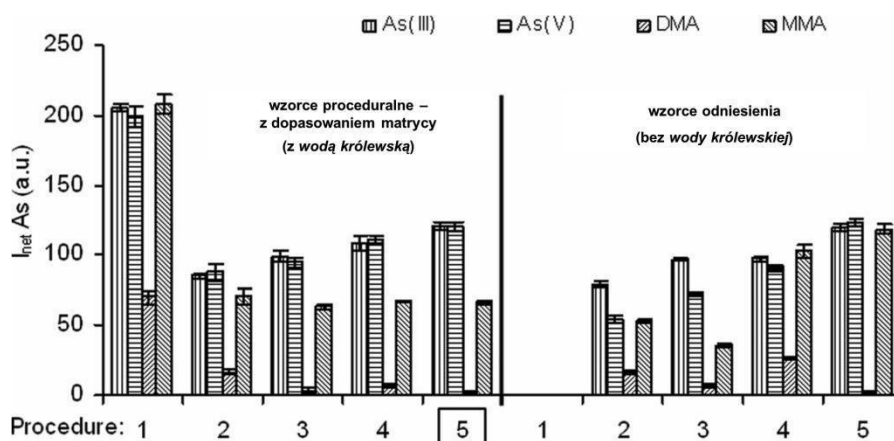
Ponieważ w nurt moich badań z techniką HG wpisuje się też przygotowanie próbek, dlatego też w celu uproszczenia i przyspieszenia etapu analizy związanego ze wstępnym przygotowaniem próbki, tj. możliwością wyeliminowania żmudnego, praco- i czasochłonnego

całkowitego jej rozkładu w obecności stężonego  $\text{HNO}_3$ , opracowałam procedurę przygotowania próbek do oznaczeń As metodą HG-ICP OES w produktach zbożowych [H9]. Zaproponowana procedura polegała na częściowym rozkładzie próbki wspomaganym energią ultradźwiękową w czasie 15 min. w temperaturze pokojowej ( $25\text{ }^\circ\text{C}$ ) w obecności *wody królewskiej*. W otrzymanych ekstraktach woderek As generowałam w reakcji z 1%  $\text{NaBH}_4$  w środowisku  $3\text{ mol/dm}^3$   $\text{HCl}$  po wstępnej redukcji As(V) do As(III) za pomocą mieszaniny 0,5%  $\text{KI}$ –1,5% kwas askorbinowy. Optymalizowałam zarówno warunki ekstrakcji, tj. stosunek masy próbki (m) do objętości końcowej ekstraktu (V) [m (g) : V ( $\text{cm}^3$ )] przy  $2,0\text{ cm}^3$  ekstrahenta, jak i generowania wodorku As. Najlepsze wyniki osiągnęłam przy 20-krotnym rozcieńczeniu (dla 0,5 (m) : 10 (V)). Niekorzystne efekty matrycy próbki na przebieg pre-redukcji As(V) i redukcji właściwej As(III) wyeliminowałam poprzez dobór odpowiedniej mieszaniny pre-redukującej. Pomimo braku całkowitego rozkładu próbki, zastosowanie *wody królewskiej* podwyższało tolerancję na obecność w roztworze nierozłożonych składników matrycy (ekstrahowanych wraz z As) w stosunku do innych testowanych reagentów, m.in. wodorotlenku tetrametyloamonu (TMAH), mieszaniny  $\text{HCl}+\text{H}_2\text{O}_2+\text{H}_2\text{O}$ , mieszaniny  $\text{HNO}_3+\text{H}_2\text{O}_2+\text{H}_2\text{O}$ ,  $3\text{ mol/dm}^3$  roztworu  $\text{HNO}_3$ . Pozwoliło to zastosować kalibrację z użyciem wzorców wodnych do pomiaru stężenia As metodą ICP OES. Uzyskane granice wykrywalności ( $G_w$ ) i oznaczalności ( $G_o$ ) (w oparciu o kryterium  $3(G_w)$  i  $10(G_o)\sigma$ ) wynosiły odpowiednio  $0,46\text{ ng/cm}^3$  i  $1,5\text{ ng/cm}^3$ , co w przeliczeniu na suchą masę (z uwzględnieniem rozcieńczenia i masy próbki) odpowiadało odpowiednio  $9,2\text{ ng/g}$  i  $30\text{ ng/g}$ . Dokładność zaproponowanej metodologii zweryfikowałam przez analizę certyfikowanego materiału odniesienia SRM 1573a (tomato leaves), test odzysku (metodą dodatku wzorca) oraz porównanie stężenia As uzyskanego uproszczoną procedurą przygotowania próbek z wartością odniesienia otrzymaną po rozkładzie na mokro w układzie otwartym z mieszaniną  $\text{HNO}_3+\text{H}_2\text{O}_2$ , uzyskując we wszystkich przypadkach bardzo dobrą zgodność. Opracowaną metodę zastosowałam do oznaczenia As w 4 różnych rodzajów pieczywa chrupkiego (żytnie, pszenne, kukurydziane i ryżowe). Znaczne uproszczenie analizy na etapie przygotowania próbki pozwoliło mi na szybką analizę 16 próbek pieczywa. Tak jak się spodziewałam, As obecny był tylko w pieczywie zawierającym w składzie ryż ( $78,8\text{-}219\text{ ng/g}$ ).

Początkowo zakładałam, że opracowana procedura ekstrakcyjna umożliwiła mi oznaczenie całkowitego stężenia As techniką HG. Chociaż weryfikacja procedury potwierdziła miarodajność uzyskiwanych wyników oznaczeń, to dotyczyły one tylko nieorganicznych form As, tj. As(III) i As(V). Pozostałych organicznych połączeń As (DMA i MMA) nie brałam wówczas pod uwagę. Podejście takie może być niewłaściwe, zwłaszcza w przypadku analizy produktów zbożowych, gdyż As w ryżu występuje głównie jako i-As i DMA, ale może zawierać też śladowe ilości MMA ( $<30\text{ ng/g}$  w suchej masie próbki) [29,31-34]. Dlatego też stwierdziłam, że zaproponowana w pracy [H9] uproszczona procedura przygotowania próbek produktów zbożowych powinna być dedykowana oznaczeniu całkowitego stężenia i-As (nie t-As), jednakże przy założeniu braku (lub

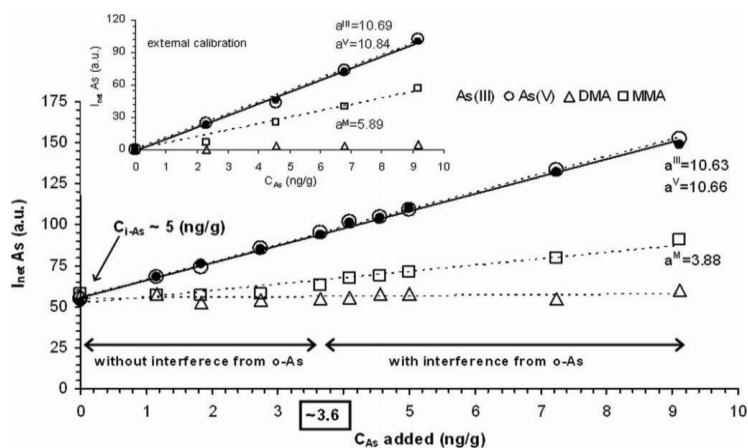
obecności śladowych ilości) o-As w próbce. By otrzymać wiarygodne i rzetelne wyniki analizy, obecność o-As nie może być zignorowana i zachowanie wszystkich „wodorkotwórczych” form As w reakcji z  $\text{NaBH}_4$  musi być zweryfikowane.

W rzeczywistości okazało się, że udało mi się dobrać stosowne medium ekstrakcyjne, dzięki czemu mogłam z sukcesem opracować procedurę przygotowania próbek do selektywnego oznaczania i-As w ryżu metodą HG-ICP OES bez konieczności wstępnego rozdzielania i-As od o-As. By potwierdzić to założenie, stosując tę samą procedurę przygotowania próbek jak w pracy [H9], zbadalam wpływ *wody królewskiej* na trwałość 4 badanych form As oraz na ich odpowiedź w pomiarach techniką HG według opracowanych procedur specyjalnych SP1-SP5 [H7]. Stwierdziłam, że obecność *wody królewskiej* zaburzyła trwałość i-As z uwagi na utlenienie As(III) do As(V), lecz pozwoliła zachować odrębność o-As (DMA i MMA). W tym sensie, na etapie pomiaru przydatna okazała się procedura SP3 [H7], która umożliwia selektywne generowanie wodorków i-As i MMA bez udziału DMA, tj. w silnie kwaśnym środowisku ( $10 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$ ) po pre-redukcji As(V) do As(III) w mieszaninie 0,5% KI–2% kwas askorbinowy– $3 \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$  (rys. 10). Okazało się także, że w porównaniu do wzorców odniesienia (bez *wody królewskiej*), dodatkowe zakwaszenie próbki nie wpływało na sygnał i-As, ale obniżyło sygnał pochodzący od MMA, zmniejszając udział MMA (do 50%) w całkowitym sygnale i-As. Było to o tyle ważne, że w przypadku analizy próbki rzeczywistej wskazało na konieczność kalibracji z użyciem wzorców z dopasowaniem matrycy (z taką samą ilością *wody królewskiej* jak w ekstraktach próbek, tj.  $2,5 \text{ mol/dm}^3$ ), by miarodajnie ocenić interferencję pochodzącą od MMA.



**Rys. 10** Wpływ *wody królewskiej* na sygnały As pochodzące od różnych form specyjalnych tego pierwiastka mierzonych metodą HG-ICP OES w różnych warunkach pre-redukcji i redukcji właściwej (HG) [H10]. Procedura 1: {bez pre-redukcji i zakwaszenia; HG:  $1\% \text{ NaBH}_4$ }. Procedura 2: {bez pre-redukcji; HG:  $3(\text{P}) \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$ ,  $1\% \text{ NaBH}_4$ }. Procedura 3: {bez pre-redukcji; HG:  $3(\text{P})\text{-}10(\text{K}) \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$ ,  $1\% \text{ NaBH}_4$ }. Procedura 4: {[pre-redukcja ( $0,5\% \text{ KI}$ – $2\% \text{ kwas askorbinowy}$ )]; HG:  $3(\text{P}) \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$ ,  $1\% \text{ NaBH}_4$ }. Procedura 5≡SP3: {[pre-redukcja ( $0,5\% \text{ KI}$ – $2\% \text{ kwas askorbinowy}$ )]; HG:  $3(\text{P})\text{-}10(\text{K}) \text{ mol/dm}^3 \text{ HCl}$ ;  $1\% \text{ NaBH}_4$ }. Wzorce: procedura 1 ( $20 \text{ ng/g}$ ), procedury 2-5 ( $10 \text{ ng/g}$ , 2-krotne rozcieńczenie wymagane (wg procedury) na etapie pre-redukcji i/lub zakwaszenia).

Kolejno zbadalam wpływ efektów matrycowych pochodzących od składników próbki ryżu, ekstrahowanych wraz As, na jakość wyników uzyskiwanych w trakcie pomiarów metodą HG-ICP OES, stosując metodę dodatku wzorca (każdej z form) do uprzednio przygotowanych ekstraktów próbek (rys. 11). Stężenia dodatków mieściły się w zakresie 1-9 ng/g, co odpowiadało 40-360 ng/g całkowitemu stężeniu As w ryżu (uwzględniając końcowe rozcieńczenie próbki związane z pre-redukcją i ekstrakcją oraz masę próbki). Okazało się, że matryca próbki obniżyła czułość oznaczeń MMA (2,7-razy) do tego stopnia, że poniżej stężenia 3,6 ng/g tej formy w roztworze, sygnały pochodzące od niej nie były mieralne. Co ważne, matryca ryżu nie przeszkadzała w oznaczeniu i-As. Oznaczało to, że w celu zminimalizowania lub całkowitego wykluczenia interferencji pochodzących od obecności MMA w próbce, do pomiaru stężenia i-As metodą HG-ICP OES powinna być wybrana kalibracja zewnętrzna (metoda krzywej wzorcowej) z użyciem wzorców z dopasowaniem matrycy. Na podstawie wyników tych badań, stwierdziłam, że możliwe jest selektywne oznaczenie i-As w ryżu w obecności MMA i DMA. DMA, niezależnie od stężenia tej formy w próbce, nie przeszkadzał w oznaczeniu i-As. Wynik końcowy oznaczenia i-As mógłby być obarczony błędem (15-18%) przy zawartości MMA w ryżu >140 ng/g (>3,6 ng/g w ekstrakcie próbki), co w przypadku ryżu jest niespotykane. Z drugiej strony dowodziło to, że MMA może być czynnikiem wpływającym na dokładność i selektywność oznaczenia i-As (z uwagi na aktywność w procesie HG) i określenie interferencji ze strony tej formy jest bezwzględnie wymagane by otrzymać rzetelne wyniki analizy.



**Rys. 11** Aktywność form As w reakcji HG połączonej z detekcją ICP OES. Pomiary wykonano stosując metodę krzywej wzorcowej (kalibracja z użyciem wzorców z dopasowaniem matrycy) (górny wykres) oraz metodę dodatku wzorca (dla próbek ryżu) [H10]. a: współczynnik kierunkowy krzywej kalibracyjnej.  $C_{i-As} \sim 5$  ng/g: stężenie i-As oznaczone w ekstrakcie ryżu przy danym sygnale As

Podsumowaniem moich badań w obszarze selektywnego oznaczenia form As z wykorzystaniem techniki HG połączonej z detekcją ICP OES, które zamyka niniejszy cykl habilitacyjny, jest praca [H10]. Zawarłam w niej wszystkie wyniki omówionych powyżej badań i zdobytych doświadczeń. Na ich podstawie opracowałam i zwalidowałam prostą



nie-chromatograficzną metodę selektywnego oznaczania i-As w ryżu w obecności form organicznych (o-As). W metodzie tej próbki ryżu poddawane były 1) ekstrakcji wspomaganą energią ultradźwiękową (15 min., 25 °C) celem wyizolowania z matrycy organicznej czterech form As, tj. i-As [As(III+V)] i o-As (DMA, MMA) z użyciem *wody królewskiej*, a następnie dochodziło do 2) „wirtualnej” separacji i-As od DMA i MMA poprzez selektywne generowanie wodorków i-As w reakcji z 1% NaBH<sub>4</sub> w środowisku wysokiego stężenia HCl (10 mol/dm<sup>3</sup>), poprzedzonego pre-redukcją As(V) do As(III) w mieszaninie 0,5% KI–2% kwas askorbinowy–3 mol/dm<sup>3</sup> HCl. Formy i-As w postaci As(III) oznaczano za pomocą ICP OES. Specyfika warunków reakcji HG dla DMA i wielkość efektów matrycowych dla MMA w tych warunkach pozwoliły na selektywny pomiar stężenia i-As bezpośrednio metodą HG-ICP OES z zastosowaniem prostej kalibracji. Opracowana metoda zapewniała selektywne, precyzyjne (RSD<5%), dokładne (96,5-103,9% i zweryfikowane przez test odzysku dodatku i-As, o-As i (i+o)-As) oraz czułe oznaczenie i-As. Wartości G<sub>w</sub> i G<sub>o</sub> w roztworze próbki wynosiły odpowiednio 0,28 ng/g i 0,94 ng/g. Uwzględniając rozcieńczenie niezbędne w procedurze ekstrakcji (×10) i masę próbki (0,5 g), odpowiadało to 5,6 ng/g (G<sub>w</sub>) i-As w wyjściowej próbce ryżu, co jest odpowiednie do celów analizy śladowej.

Przydatność opracowanej metody pokazałam oznaczając i-As w 9 próbkach ryżu brązowego w zakresie od 68 do 221 ng/g. Dodatkowo oznaczyłam całkowite stężenie As (t-As) po rozkładzie mokrym próbki w układzie zamkniętym wspomaganym energią mikrofalową w stężonym HNO<sub>3</sub>. Niekorzystny wpływ pozostałego po mineralizacji HNO<sub>3</sub> na sygnał As zmniejszyłam poprzez dodatek chlorowodoru hydroksyloaminy do roztworów próbek przed pre-redukcją As(V) do As(III). Poprawność tego oznaczenia zweryfikowałam analizując dwa certyfikowane materiały odniesienia ({NCS ZC73036 (green tea) i SRM 1573a (tomato leaves)}). Stężenie t-As zawierało się w przedziale od 172 do 233 ng/g, co oznaczało, że badany ryż należał do typu „i-As”. Udział i-As w całkowitym stężeniu As w ryżu wynosił 79±18%. Pozostały As, wyliczony z różnicy pomiędzy t-As i i-As, odpowiadał zawartości o-As, którego stężenie mieściło się w zakresie 12-112 ng/g. Wartości te były <G<sub>o</sub> o-As, co potwierdziło, że jego obecność nie przeszkadzała w oznaczeniu i-As opracowaną metodą. Prowadziło to też do wniosku, że oszacowanie stężenia o-As z różnicy pomiędzy t-As i i-As było w pełni zasadne. Opracowana metoda jest łatwiejsza, szybsza i tańsza w porównaniu do metody HPLC-ICP MS. Stąd może z powodzeniem być alternatywnym narzędziem w badaniach specjacyjnych As w próbkach ryżu. To, co najistotniejsze, pokazałam, że technika HG w połączeniu z detekcją ICP OES wraz z odpowiednio dobranymi sposobem przygotowania próbki, warunkami generowania wodorków i pomiaru sygnałów analitycznych, może służyć do wiarygodnych oznaczeń i-As w obecności pozostałych organicznych form (o-As) w ryżu. Wierzę też, że zaproponowana metoda ma uniwersalny charakter i będzie mogła być użyta do oznaczeń śladowych stężeń i-As w innych produktach zbożowych.

## Podsumowanie wyników

W praktyce – generowanie wodorków specyficznej grupy pierwiastków, tj. As, Bi, Pb, Sb, Se i Sn, jest doskonałym sposobem na wzrost czułości oznaczeń i polepszenie wykrywalności (w stosunku do techniki rozpylania pneumatycznego) o 1-2 rzędy wielkości, pozwalającym na ich wielopierwiastkową analizę śladową metodą ICP OES. W rzeczywistości – generowanie wodorków pierwiastków tworzących lotne formy w reakcji z  $\text{NaBH}_4$  w środowisku kwaśnym (gł.  $\text{HCl}$ ) to proces złożony, ponieważ wiele czynników chemicznych i fizycznych (instrumentalnych) wpływa na efektywność procesu HG i musi być wzięta pod uwagę by uzyskać rzetelne i miarodajne wyniki analizy. Jest to szczególnie ważne w przypadku analizy wielopierwiastkowej. W przeciwieństwie do pojedynczych oznaczeń, które po uprzednim doborze najlepszych warunków dla poszczególnych pierwiastków, są relatywnie proste, oznaczenia wielopierwiastkowe są bardziej skomplikowane i wymagają znalezienia procedury optymalnej (warunki kompromisowe). Okazuje się jednak, że trudności pojawiające się w przypadku analizy wielopierwiastkowej czy związane ze specyfiką danego pierwiastka „wodorkotwórczego” mogą stać się atutem generowania wodorków, wskazującym na potencjał tej techniki derywatywizacyjnej w chemii analitycznej. Przykładowo, odmienność Sn i Pb w porównaniu do pozostałych pierwiastków „wodorkotwórczych”, związana z wydajnym generowaniem wodorków Sn i Pb w bardzo wąskim zakresie pH w obszarze stosunkowo niskich stężeń kwasów ( $0,2\text{-}0,4 \text{ mol/dm}^3$ ), wymusza zwrócenie większej uwagi na środowisko reakcji HG, zwłaszcza w stronę „łagodnych” warunków. Wiąże się to z nowym aspektem techniki HG, ponieważ przy względnie niskich stężeniach kwasu mogą się tworzyć w reakcji z  $\text{NaBH}_4$  lotne indywiduala innych pierwiastków, tj. metali grup przejściowych, w tym Cr, Fe i Mn. Dodatkowo, efektywność tworzenia lotnych połączeń tych metali uzależniona jest od ich formy chemicznej (stopnia utlenienia). Stopień utlenienia z kolei jest bardzo ważny dla typowych pierwiastków „wodorkotwórczych”, tj. As, Sb i Se. Z powodu różnic w szybkości reakcji redukcji dla form tych pierwiastków o różnych stopniach utlenienia, zachodzi konieczność ujednoczenia jego postaci do jednej, najaktywniejszej w reakcji HG (niższy stopień) formy za pomocą odpowiedniego pre-reduktora. Niestety znalezienie jednego uniwersalnego pre-reduktora nie jest łatwe, z uwagi na różnice w zachowaniu się poszczególnych pierwiastków w warunkach pre-redukcji. Dodatkowe trudności pojawiają się po uwzględnieniu wszystkich form chemicznych pierwiastka aktywnych w warunkach redukcji, które mogą z różną szybkością reagować z  $\text{NaBH}_4$ . Z drugiej strony mnogość form chemicznych pierwiastka i ich odmienne zachowanie w zależności od warunków eksperymentalnych jest walorem techniki HG, gdyż umożliwia analizę specjacyjną pierwiastka. Idąc dalej, wykorzystanie odmiennej aktywności form pierwiastka w procesie HG pozwala dobrać optymalne warunki pre-redukcji i redukcji właściwej tak, aby selektywnie oznaczyć poszczególne formy i przeprowadzić jego nie-chromatograficzną analizę specjacyjną i/lub frakcjonowaną. Stanowi to *novum* i może być alternatywą dla tradycyjnie stosowanych analiz tego typu z wykorzystaniem technik chromatograficznych, co wykazałam w pracy związanej z As.

Podsumowując, głównymi osiągnięciami mojej pracy, pokazującymi spektrum możliwości metody HG-ICP OES są:

⇒ wykazanie złożoności procesu generowania wodorków As, Bi, Pb, Sb, Se i Sn dla różnych form, tj. As(III,V), Bi(III), Sb(III,V) i Pb(II), Se(IV,VI) i Sn(IV), poprzez wskazanie czynników decydujących o efektywności reakcji HG, tj.: stężenia i rodzaj kwasu, stężenia NaBH<sub>4</sub>, stopnia utlenienia analitów, rodzaju substancji do pre-redukcji oraz procedury pre-redukcji (zależnej dodatkowo od sposobu przygotowania próbki do analizy), jak również układu do generowania wodorków i sprzężonego z nim źródła wzbudzenia

⇒ opracowanie i zwalidowanie szeregu procedur (pojedynczych i wielopierwiastkowych), które mogą być zastosowane do oznaczenia całkowitych stężeń As, Bi, Pb, Sb, Se i Sn na poziomie (ultra)śladowym

⇒ wykazanie tworzenia się w reakcji z NaBH<sub>4</sub> w środowisku kwaśnym lotnych indywidualów różnych form specjacyjnych Cr, Fe i Mn

⇒ wykazanie możliwości specjacji i frakcjonowania As techniką HG z uniknięciem chromatograficznego rozdzielania form specjacyjnych pierwiastka, tj. i-As [As(III), As(V)] i o-As (DMA i MMA)

⇒ opracowanie schematów postępowań (protokołów) mających zastosowanie w nie-chromatograficznej analizie specjacyjnej As

⇒ pokazanie problemów analitycznych związanych z analizą specjacyjną i/lub frakcjonowaną As w ryżu, ze względu na odmienną aktywność form specjacyjnych tego pierwiastka w warunkach pre-redukcji i redukcji właściwej oraz efekty matrycowe

⇒ opracowanie w pełni zwalidowanej, prostej nie-chromatograficznej metody selektywnego oznaczania i-As w ryżu w obecności form organicznych tego pierwiastka (o-As), co ważne i istotne, bez interferencji ze strony o-As, i jej zastosowanie w analizie ryżu brązowego

## Literatura

- [1] P. Pohl, Hydride generation – recent advances in atomic emission spectrometry, TrAC. Trends in Analytical Chemistry, **2004**, 23: 87-101.
- [2] P. Pohl, P. Jamroz, Recent achievements in chemical hydride generation inductively coupled and microwave plasmas with optical emission spectrometry detection, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, **2011**, 26: 1317-1337.
- [3] N. Ertas, Z. Arslan, J.F. Tyson, Determination of lead by hydride generation atom trapping flame atomic absorption spectrometry, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, **2008**, 23: 223-228.
- [4] P. Pohl, P. Jamroz, M. Welna, A. Szymczycha-Madeja, K. Greda, Chemical-vapor generation of transition metals through the reaction with tetrahydroborate in recent achievements in analytical atomic spectrometry, TrAC. Trends in Analytical Chemistry, **2014**, 59: 144-155.
- [5] M. Savio, P.H. Pacheco, L.D. Martinez, P. Smichowski, R.A. Gil, Optimization of methods to assess levels of As, Bi, Sb and Se in airborne particulate matter by FI-HG-ICP OES, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, **2010**, 25: 1343-1347.
- [6] M. Groti, C. Lagomarsino, R. Frache, Multivariate study in chemical vapor generation for simultaneous determination of arsenic, antimony, bismuth, germanium, tin, selenium, tellurium and mercury by inductively coupled plasma optical emission spectrometry, Journal of Analytical Atomic Spectrometry, **2005**, 20: 1365-1373.

- [7] R. Antolin, G. Borge, T. Posada, N. Etxebarria, J.C. Raposo, Optimisation of volatile elements determination by flow injection hydride generation-inductively coupled plasma spectrometry in electrolytic manganese, *Journal of Alloys and Compounds*, **2007**, 427: 73-77.
- [8] H. Wiltzsche, I. Brenner, G. Knapp, K. Prattes, Simultaneous determination of As, Bi, Se, Sn and Te in high alloy steels – re-evaluation of hydride generation inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2007**, 22: 1083-1088.
- [9] A. Tyburska, K. Jankowski, A. Ramsza, E. Reszke, M. Strzelec, A. Andrzejczuk, Feasibility study of the determination of selenium, antimony and arsenic in drinking and mineral water by ICP-OES using a dual-flow ultrasonic nebulizer and direct hydride generation, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2010**, 25: 210-214.
- [10] E. Kilinc, F. Aydin, Optimization of continuous flow hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry for sensitivity improvement of bismuth, *Analytical Letters*, **2012**, 45: 2623-2636.
- [11] P.C. Hernandez, J.F. Tyson, P.C. Uden, D. Yates, Determination of selenium by flow injection hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2007**, 22: 298-304.
- [12] A.A. Menegario, A.J. Silva, E. Pozzi, S.F. Durran, C.H. Abreu Jr., On-line determination of Sb(III) and total Sb using baker's yeast immobilized on polyurethane foam and hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B*, **2006**, 61: 1074-1079.
- [13] P. Masson, T. Prunet, D. Orignac, Arsenic determination in plant samples by hydride generation and axial view inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, *Microchimica Acta*, **2006**, 154: 229-234.
- [14] W. da Luz, Lopes, R.E. Santelli, E.P. Oliveira, M. de Fatima Batista de Carvalho, M.A. Bezerra, Application of multivariate techniques in the optimization of a procedure for the determination of bioavailable concentrations of Se and As in estuarine sediments by ICP OES using a concomitant metals analyzer as a hydride generator, *Talanta*, **2009**, 79: 1276-1282.
- [15] A. Ilander, A. Vaisanen, The determination of antimony and arsenic concentrations in fly ash by hydride generation inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **2011**, 689: 178-183.
- [16] E. Pena-Vazquez, A. Bermejo-Barrera, P. Bermejo-Barrera, Use of lanthanum hydroxide as a trapping agent to determine of hydrides by HG-ICP-OES, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, **2005**, 20: 1344-1349.
- [17] P. Qiu, C. Ai, L. Lin, J. Wu, F. Ye, Simultaneous determination of selenium and arsenic contents in different extracts of Radix Astragali by enhancement effect of ethanol in hydride generation-inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry, *Microchemical Journal*, **2007**, 87: 1-5.
- [18] M.N. Matos Reyes, M.L. Cervera, M. de la Guardia, Determination of total Sb, Se, Te, and Bi and evaluation of their inorganic species in garlic by hydride-generation-atomic fluorescence spectrometry, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2009**, 394: 1557-1562.
- [19] A.N. Anthemidis, G.A. Zachariadis, J.A. Stratis, Determination of arsenic(III) and total inorganic arsenic in water samples using an on-line sequential insertion system and hydride generation atomic absorption spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **2005**, 547: 237-242.
- [20] P. Cava-Montesinos, A. de la Guardia, C. Teutsch, M.L. Cervera, M. de la Guardia, Non-chromatographic speciation analysis of arsenic and antimony in milk hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Analytica Chimica Acta*, **2003**, 493: 195-203.
- [21] M.E. Sigrist, H.R. Beldomenico, Determination of inorganic arsenic species by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry with variable sodium tetrahydroborate concentrations, *Spectrochimica Acta Part B*, **2004**, 59: 1041-1045.
- [22] J.M. Bundaleska, T. Stafilov, T. Arpadjan, Direct analysis of natural waters for arsenic species by hydride generation atomic absorption spectrometry, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, **2005**, 85: 199-207.
- [23] Y.Y. Cabon, N. Cabon, Determination of arsenic species in seawater by flow injection hydride generation in situ collection followed by graphite furnace atomic absorption spectrometry. Stability of As(III), *Analytica Chimica Acta*, **2000**, 418: 19-31.
- [24] I. B.Karadjova, L. Lampugnani, M. Onor, A. D'Ulivo, D.L. Tsalev, Continuous flow hydride generation-atomic fluorescence spectrometric determination and speciation of arsenic in wine, *Spectrochimica Acta Part B*, **2005**, 60: 816-823.
- [25] M.N. Matos Reyes, M.L. Cervera, R.C. Campos, M. de la Guardia, Determination of arsenite, arsenate, monomethylarsonic acid and dimethylarsinic acid in cereals by hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B*, **2007**, 62: 1078-1082.

- [26] K.M. Kubachka, N.V. Shockey, T.A. Hanley, S.D. Conklin, D.T. Heitkemper, Elemental analysis manual Section 4.11: Arsenic speciation in rice and rice products using high performance liquid chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometric determination, Version 1.1, 2012. (<http://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm2006954.htm>).
- [27] C. Cerveira, D. Pozebon, D. Pompeu de Moraes, J.C. Silva de Fraga, Speciation of inorganic arsenic in rice using hydride generation atomic absorption spectrometry (HG-AAS), *Analytical Methods*, **2015**, 7: 4528-4534.
- [28] S. Musil, A.H. Petursdottir, A. Raab, H. Gunnlaugsdottir, E. Krupp, J. Feldmann, Speciation without chromatography using selective hydride generation: inorganic arsenic in rice and samples of marine origin, *Analytical Chemistry*, **2014**, 86: 993-999.
- [29] A.H. Petursdottir, N. Friedrich, S. Musil, A. Raab, H. Gunnlaugsdottir, E. M. Krupp, J. Feldmann, Hydride generation ICP-MS as a simple method for determination of inorganic arsenic in rice for routine biomonitoring, *Analytical Methods*, **2014**, 6: 5392-5396.
- [30] S. Torres-Escribano, M. Leal, D. Velez, R. Matoro, Total and inorganic arsenic concentrations in rice sold in Spain, effect of cooking, and risk assessments, *Environmental Science and Technology*, **2008**, 42: 3867-3872.
- [31] Y. Huang, J. Shan, B. Fan, Y. He, S. Xia, Y. Sun, J. Lu, M. Wang, F. Wang, Determination of inorganic arsenic in rice by solid phase extraction and hydride generation atomic fluorescence spectrometry, *Analytical Methods*, **2015**, 7: 8896-8900.
- [32] T. Narukawa, E. Matsumoto, T. Nishimura, A. Hioki, Determination of sixteen elements and arsenic species in brown, polished and milled rice, *Analytical Science*, **2014**, 30: 245-250.
- [33] T. Nishimura, M. Hamano-Nagaoka, N. Sakakibara, T. Abe, Y. Maekawa, T. Maitani, Determination method for total arsenic and partial-digestion method with nitric acid for inorganic arsenic speciation in several varieties of rice, *Journal of Food Hygiene and Safety*, **2010**, 51: 178-181.
- [34] G. Raber, N. Stock, P. Hanel, M. Murko, J. Navratilova, K.A. Francesconi, An improved HPLC-ICPMS method for determining inorganic arsenic in food: application to rice, wheat and tuna fish, *Food Chemistry*, **2012**, 134: 524-532.

## 5. Omówienie pozostałych osiągnięć naukowo-badawczych

Dodatkowa praca naukowa w latach 2008-2018, tj. 2008-2012 (stanowisko asystenta naukowo-dydaktycznego) oraz od roku 2012 do chwili obecnej (stanowisko adiunkta naukowo-dydaktycznego) wynikająca z moich zainteresowań koncentrowała się na:

(a) analizie wielopierwiastkowej głównie próbek żywności z wykorzystaniem różnych technik analitycznych do oznaczenia stężeń całkowitych, określonych form frakcyjnych oraz oceny biodostępności wybranych pierwiastków w badanych materiałach,

(b) wykorzystaniu techniki HG w połączeniu z detekcją ICP OES w analizie śladowej pierwiastków „wodorkotwórczych” wraz z opracowaniem uproszczonych procedur przygotowania próbek żywności o różnym stopniu złożenia matrycy pod kątem oznaczenia stężeń całkowitych w/w pierwiastków,

(c) badaniu układów wprowadzenia próbek do plazmy sprzężonej indukcyjnie.

Tematykę badawczą dotyczącą analizy żywności realizowałam w czasie asystentury we współpracy z pracownikami ówczesnego Zakładu Chemii Analitycznej (obecnego Zakładu Chemii Analitycznej i Metalurgii Chemicznej). Prace te związane były głównie z wykorzystaniem różnych technik przygotowania próbek (m.in. rozkład na mokro w układach otwartych lub zamkniętych wspomaganych energią mikrofalową, ekstrakcja) jak również spektroskopowych metod pomiarowych (ICP OES, HG-ICP OES, FT-IR, UV-Vis) oraz innych analitycznych technik (m.in. miareczkowe, analiza elementarna (CHNS)) do analizy różnego rodzaju kaw (mielone, rozpuszczalne, zbożowe) i herbat ziołowych (próbki

stałe oraz ich napary)<sup>[1,2]</sup>. Zastosowanie szerokiego spektrum metod było doskonałym narzędziem do oznaczenia i/lub identyfikacji wybranych składników badanych produktów {mineralnych (pierwiastków), związków organicznych, kofeiny czy rozpuszczalnych szczawianów} jak również, w przypadku kaw umożliwiło rozróżnienie pomiędzy badanymi jej rodzajami<sup>[1]</sup>. Dla herbat ziołowych<sup>[2]</sup>, wyniki analizy pierwiastkowej umożliwiły określenie wartości odżywczej tych produktów oraz stopień pokrycia dziennych zapotrzebowań na pierwiastki spożywanych wraz z pitym naparem, a zastosowanie sekwencyjnej ekstrakcji BCR w połączeniu z detekcją ICP OES pozwoliło oznaczyć formy frakcyjne pierwiastków i ocenić stopień ich związania (mobilność) w próbkach herbat. Równolegle w okresie tym współuczestniczyłam też w przygotowaniu i napisaniu artykułów przeglądowych dotyczących zastosowania metod spektrometrycznych w wielopierwiastkowej analizie herbat<sup>[3,4]</sup> i kaw<sup>[5]</sup> oraz specjacji i frakcjonowania pierwiastków w naparach herbat<sup>[6]</sup>. Z moim współautorstwem powstały też dwa rozdziały w książkach naukowych (w języku angielskim<sup>[7]</sup> i polskim<sup>[8]</sup>), przedstawiające zagadnienia związane z analizą śladową próbek żywności z wykorzystaniem metod spektrometrii atomowej i mas.

Po zatrudnieniu na stanowisku adiunkta naukowo-dydaktycznego rozpoczęłam współpracę z prof. Pawłem Pohlem i dr inż. Anną Szymczychą-Madeją (z Grupy Zakładu Chemii Analitycznej) kontynuując badania dotyczące analizy żywności pod kątem oznaczenia stężeń całkowitych a także form specjacyjnych pierwiastków oraz rozwijając ją głównie w kierunku opracowania procedur właściwego przygotowania próbek do pomiaru. Ponieważ obecnie odchodzi się od tradycyjnych rozkładów próbek na mokro z użyciem stężonych kwasów, prowadzone badania związane były z uproszczonymi sposobami przygotowania próbek przed ich wielopierwiastkową analizą za pomocą ICP OES w układzie z wprowadzeniem aerozolu próbki (PN) lub lotnych wodorków (HG). Ze względu na moje zainteresowanie techniką HG odpowiadałam za oznaczenie pierwiastków „wodorkotwórczych” metodą HG-ICP OES. Realizowane przeze mnie badania dotyczące opracowań uproszczonych procedur przygotowania próbek wraz z interpretacją wyników obejmowały: (a) porównanie technik przeprowadzenia analitów do roztworu (roztwarzanie, ekstrakcja, rozpuszczenie,

---

<sup>[1]</sup> M. Wełna, A. Szymczycha-Madeja, W. Żyrnicki, Applicability of ICP-OES, UV-Vis, and FT-IR methods for the analysis of coffee products, *Analytical Letters*, **2013**, 46: 2927-2940.

<sup>[2]</sup> A. Szymczycha-Madeja, M. Wełna, W. Żyrnicki, Multi-element analysis, bioavailability and fractionation of herbal tea products, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **2013**, 24: 777-787.

<sup>[3]</sup> A. Szymczycha-Madeja, M. Wełna, P. Pohl: Elemental analysis of teas and their infusions by spectrometric methods, *TrAC. Trends in Analytical Chemistry*, **2012**, 35, 165-181.

<sup>[4]</sup> M. Wełna, A. Szymczycha-Madeja, P. Pohl: A comparison of samples preparation strategies in the multi-elemental analysis of tea by spectrometric methods, *Food Research International*, **2013**, 53: 922-930.

<sup>[5]</sup> P. Pohl, E. Stelmach, M. Wełna, A. Szymczycha-Madeja, Determination of the elemental composition of coffee using instrumental methods, *Food Analytical Methods*, **2013**, 6: 598-613.

<sup>[6]</sup> M. Wełna, A. Szymczycha-Madeja, E. Stelmach, P. Pohl, Speciation and fractionation of elements in tea infusions, *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, **2012**, 42: 349-365.

<sup>[7]</sup> M. Wełna, A. Szymczycha-Madeja, P. Pohl, Quality of the trace element analysis: sample preparation steps, w: „Wide spectra of quality control”, Wydawnictwo InTech, ISBN: 978-953-307-683-6, Rijeka **2011**, str. 53-70.

<sup>[8]</sup> M. Wełna, E. Szymd, Chemiczne generowanie par w połączeniu z metodami spektrometrii atomowej w analizie żywności, w: „Metody analitycznej spektrometrii atomowej : teoria i praktyka”, Wydawnictwo Malamut, ISBN: 978-83-925269-6-4, Warszawa **2010**, str. 394-405.

rozcieńczenie/zakwaszenie czy bezpośrednia analiza); (b) analizę efektów matrycowych; (c) dobór i optymalizację warunków pre-redukcji i właściwej redukcji z  $\text{NaBH}_4$ ; (d) odpowiedni wybór kalibracji, a także (f) walidację metody pomiarowej. W efekcie, zaproponowane nowe, szybkie i proste procedury przygotowania próbek mogą być przydatne w oznaczeniu śladowych zawartości As, Sb i Se w kawach rozpuszczalnych, orzechach, klarownych sokach owocowych oraz sokach marchwiowo-owocowych zarówno klarownych jak i gęstych, tj. w formie musów. Wyniki wykonanych badań zostały opublikowane w artykułach<sup>[9,10,11,12]</sup>, których byłam głównym autorem. Dodatkowo, w przypadku soków, w celu poszerzenia i pogłębienia wiedzy, brałam także czynny udział w powstaniu opracowań literaturowych skupionych na analizie pierwiastkowej tych napojów, ze szczególnym uwzględnieniem sposobów przygotowania próbek do pomiaru. Zaowocowało to opublikowaniem artykułu przeglądowego<sup>[13]</sup> oraz dwoma anglojęzycznymi rozdziałami w książce naukowej poświęconej w całości sokom owocowym<sup>[14,15]</sup>. We wszystkich tych pracach jestem współautorem. Obecnie kontynuujemy prace związane z opracowaniem metody wielopierwiastkowej analizy z użyciem ICP OES, poprzedzonej uproszczonym sposobem przygotowania próbek, z wykorzystaniem wielofunkcyjnego układu (MSIS) celem równoczesnego wprowadzenia do plazmy ICP roztworu próbki w postaci aerozolu (rozpylanie pneumatyczne) i gazu (technika generowania wodorków), co umożliwi nam jednoczesne oznaczenie pierwiastków tworzących i nietworzących wodorki w tym samym czasie bez konieczności zmiany układu wymaganego dla danego sposobu wprowadzenia próbek.

Ponieważ precyzyjne i dokładne oznaczenie pierwiastków wiąże się z odpowiednim sposobem wprowadzenia roztworów próbek do detektora dzięki współpracy z pracownikami Zakładu (z Grupy Chemii Analitycznej) byłam też zaangażowana w badania związane z zastosowaniem różnych sposobów wprowadzenia próbek do źródła wzbudzenia (plazma ICP) stosowanych w optycznej spektrometrii emisyjnej do oznaczenia pierwiastków, w tym układów tradycyjnych, tj. rozpylanie pneumatyczne (PN) i generowanie wodorków zarówno

---

<sup>[9]</sup> M. Welna, A. Szymczycha-Madeja, P. Pohl, Improvement of determination of trace amounts of arsenic and selenium in slim coffee products by HG-ICP-OES, *Food Analytical Methods*, **2014**, 7: 1016-1023.

<sup>[10]</sup> M. Welna, A. Szymczycha-Madeja, Effect of sample preparation procedure for the determination of As, Sb and Se in fruit juices by HG-ICP-OES, *Food Chemistry*, **2014**, 159: 414-419.

<sup>[11]</sup> M. Welna, A. Szymczycha-Madeja, Improvement of a sample preparation procedure for multi-elemental determination in Brazil nuts by ICP-OES, *Food Additives and Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, **2014**, 31: 658-665.

<sup>[12]</sup> M. Welna, A. Szymczycha-Madeja, P. Pohl, Optimization of sample preparation of carrot-fruit juice for determination of antimony, arsenic, and selenium by hydride generation-inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Analytical Letters*, **2014**, 47: 2104-2119.

<sup>[13]</sup> A. Szymczycha-Madeja, M. Welna, D. Jędryczko, P. Pohl, Developments and strategies in the spectrochemical elemental analysis of fruit juices, *TrAC. Trends in Analytical Chemistry*, **2014**, 55: 68-80.

<sup>[14]</sup> M. Welna, A. Szymczycha-Madeja, P. Pohl, Selenium and other beneficial elements in fruit juices, w: „Fruit juices: extraction, composition, quality and analysis”, Wydawnictwo Academic Press, ISBN: 978-0-12-802230-6, Londyn **2018**, str. 75-93.

<sup>[15]</sup> P. Pohl, D. Jędryczko, A.P. Dzimitrowicz, A. Szymczycha-Madeja, M. Welna, P. Jamróz, Determination of elements in fruit juices, w „Fruit juices: extraction, composition, quality and analysis”, Wydawnictwo Academic Press, ISBN: 978-0-12-802230-6, Londyn **2018**, str. 739-761.

z separacją (HG) i bez separacji fazy gaz-ciecz (PN+HG) oraz nowych alternatywnych układów wykorzystujących mikroplazmowe wyładowanie. W pierwszym przypadku wykorzystano do badań układ ze zmodyfikowaną komorą mgielną, gdyż dawał sposobność wprowadzenia do plazmy wyłącznie wodorków lub aerozolu próbki, a także pozwalał na pracę „dual”, tj. z jednoczesnym generowaniem wodorków i standardowego rozpylania próbki<sup>[16]</sup>. Celem pracy było wyznaczenie i porównanie parametrów spektroskopowych jak gęstość elektronowa, stopień jonizacji, temperatury optyczne czy odporność plazmy ze względu na zastosowany układ wprowadzenia oraz rodzaj matrycy próbki (kwas solny, octowy) wprowadzanej wraz z analitem do plazmy. W przypadku układów alternatywnych zastosowano niekonwencjonalny sposób wprowadzenia próbek do ICP OES, tj. za pomocą mikroplazmy generowanej w kontakcie z cieczą. W badaniach w których brałam udział w minionym roku (2018) nowy system mikroplazmowy z wiszącą kroplą, tj. w którym ciecz (podawana z góry za pomocą specjalnej elektrody) tworzyła wiszącą i odnawialną kroplę, sprzęgnięto ze spektrometrem ICP OES do wprowadzania wybranych analitów (oznaczanych pierwiastków). Sprzężony system mikroplazma-ICP OES porównano z klasycznym układem pneumatycznym (PN-ICP OES), w którym stosowano rozpylacz pneumatyczny z cyklonową komorą mgielną. Ważnym i obiecującym osiągnięciem było uzyskanie znaczącego polepszenia granic wykrywalności pierwiastków w porównaniu do tradycyjnego układu ICP OES. Wyniki zostały zaprezentowane na konferencjach naukowych oraz opublikowane<sup>[17]</sup> w recenzowanych materiałach konferencyjnych o zasięgu krajowym. Obecnie przygotowywana jest publikacja do czasopisma naukowego o zasięgu międzynarodowym.

Pełna lista publikacji, rozdziałów, konferencji wraz moim dorobkiem dydaktycznym przedstawiłam w Załączniku nr 5 (Wykaz prac naukowych oraz informacja o osiągnięciach dydaktycznych, współpracy naukowej i popularyzacji nauki).



---

<sup>[16]</sup> J. Borkowska-Burnecka, W. Żyrczyński, M. Wełna, P. Jamróz, Electron density from Balmer series hydrogen lines and ionization temperatures in inductively coupled argon plasma supplied by aerosol and volatile species, *International Journal of Spectroscopy*, **2016**, 2016, art. 7521050: 1-9.

<sup>[17]</sup> K.J. Świdorski, M. Wełna, K. Gręda, P. Pohl, P. Jamróz, Niekonwencjonalne wprowadzanie próbek do plazmy w technice ICP-OES, w: „Nauka i przemysł-lubelskie spotkania studenckie”, ISBN: 978-83-945225-5-1, Lublin **2018**, str. 14-17.