

Ewa Szmidt

Instytut Transportu Samochodowego

**ANALIZA BŁĘDÓW GENEROWANYCH W PROCESIE PREPARATYWNYM
NA PRZYKŁADZIE ANALIZY WYBRANYCH PIERWIASTKÓW
W PRÓBKACH WODY TECHNIKĄ ASA**

Zaprezentowano wyniki analizy próbek wody wodociągowej i destylowanej. Pobrane losowo próbki poddano mineralizacji lub/i zateżaniu oraz zanalizowano następujące pierwiastki: Cu, Pb, Cr, Cd, Ag techniką absorpcyjnej spektrometrii atomowej. Następnie przeprowadzono dyskusję wpływu etapów preparatyki oraz warunków środowiskowych na otrzymane wyniki oraz sformułowano wnioski.

***ANALYSIS OF ERRORS GENERATED IN THE PREPARATIVE PROCESS WITH
THE EXAMPLE OF ANALYSIS OF SELECTED ELEMENTS IN THE WATER
SAMPLES, USING ASA TECHNIQUE***

The results of analysis of tap and distilled water samples have been presented. Randomly selected samples have been subjected to mineralization and / or concentration, and the following elements have been analyzed: Cu, Pb, Cr, Cd, Ag using atomic absorption spectrometry technique. Then, a discussion was held on the impact of preparation stages and environmental conditions on the results obtained and conclusions have been drawn.

1. Wstęp

Atomowa spektrometria absorpcyjna AAS – (ang. Atomic Absorption Spectrometry) jest to metoda analizy ilościowej oraz jakościowej, oparta na zjawisku absorbowania przez wolne atomy danego pierwiastka promieniowania elektromagnetycznego o ściśle określonej energii. Porcje energii, czyli promieniowanie o określonej częstotliwości lub określonej długości fali, które jest absorbowane przez dany atom, jest emitowane podczas powrotu do stanu podstawowego. Wartość energii (długość fali promieniowania) jest charakterystyczna dla danego rodzaju atomów. Ilość zaabsorbowanego promieniowania (intensywność absorpcji) jest miarą ilości atomów danego rodzaju w próbce, a tym samym miarą ich stężenia. Miarą intensywności zjawiska absorpcji promieniowania elektromagnetycznego przez wolne atomy jest absorbancja (A), określana jako

$$A = \lg I_0 / I, \quad (1)$$

gdzie: I_0 – natężenie wiązki promieniowania padającego, I – natężenie wiązki promieniowania po przejściu przez ośrodek zawierający wolne, oznaczane atomy (niezaabsorbowane przez atomy).

Prawo Lamberta – Beera. Podstawą analizy ilościowej metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej jest proporcjonalność absorbancji do ilości absorbujących atomów. Zależność tą opisuje Prawo Lamberta-Beera [1] definiowane następującym wzorem:

$$A = \epsilon_\lambda \cdot b \cdot N, \quad (2)$$

gdzie: ϵ_λ - molowy współczynnik absorpcji (wielkość charakterystyczna dla danego rodzaju atomów i określonej długości fali), b - długości drogi optycznej (długość drogi promieniowania w ośrodku absorbującym), N - ilość wolnych atomów na drodze promieniowania.

Ilość wolnych atomów N można zamienić na proporcjonalnie z nią związane stężenie atomów c w próbce, co w stałych warunkach pomiaru dla określonej długości fali daje liniową zależność:

$$A = a \cdot c \quad (3)$$

gdzie: a – współczynnik proporcjonalności.

Prawo Lamberta-Beera jest spełnione dla małych stężeń, przy których nie mają jeszcze znaczącego wpływu efekty związane z obecnością zbyt dużej ilości wolnych atomów na drodze optycznej promieniowania (np. samoabsorpcja). Należy podkreślić, że każda metoda analityczna, pozwalająca na oznaczanie niskich oraz bardzo niskich stężeń, napotyka na wiele trudności związanych z otrzymaniem precyzyjnych wyników wykonywanych oznaczeń. Otrzymanie prawidłowego wyniku uzależnione jest od każdego z etapów preparatyki, począwszy od pobrania próbki a skończywszy na pomiarze absorbancji badanej próbki, o czym będzie mowa w następnych rozdziałach. Mimo to metoda ASA ma wiele zalet, między innymi: uniwersalność, selektywność, dokładność i precyzję, łatwość automatyzacji, dobrze zdefiniowane interferencje i sposoby ich eliminacji.

2. Metodyka pomiarów

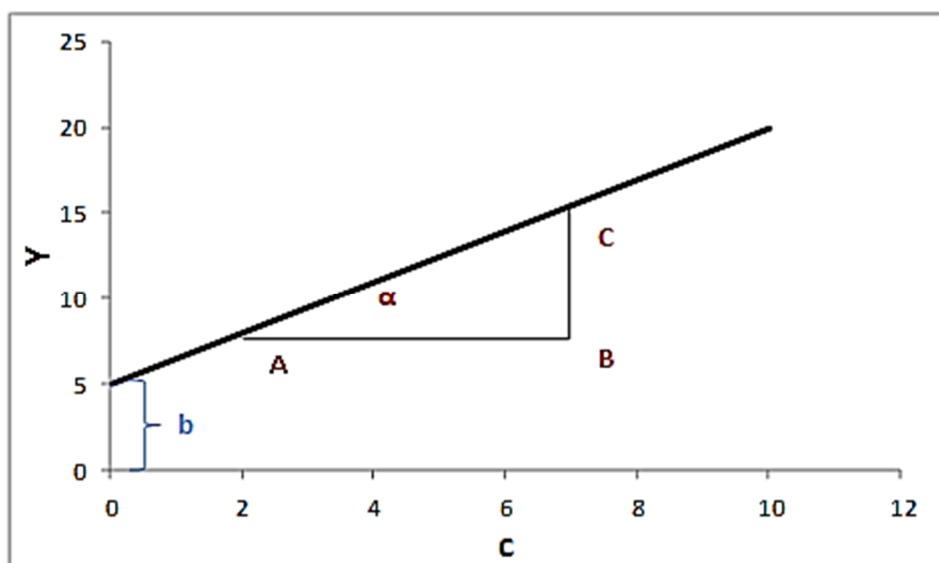
Jak wcześniej wspomniano podstawą analizy ilościowej techniką ASA jest prostoliniowa zależność absorbancji od stężenia analizowanego pierwiastka w próbce. Podczas trwania pomiaru próbka poddawana jest różnym przemianom lub oddziaływaniom, w wyniku których uzyskiwany jest sygnał analityczny. W metodach instrumentalnych, które w większości są metodami porównawczymi, mierzony jest parametr fizyczny, będący funkcją stężenia substancji analizowanej. Aby uzyskać dokładne wyniki ilościowe, wymagana jest kalibracja względem znanych wzorców. Porównywanie z wzorcami można przeprowadzić następującymi metodami:

- metodą krzywej kalibracyjnej,
- metodą dodawania wzorca,
- metodą wzorca wewnętrznego.

W przeważającej części metod detekcji mierzony parametr jest funkcją liniową stężenia analitu;

$$Y = a \cdot c + b,$$

gdzie: **Y** - wielkość mierzona, **c** – stężenie analitu, **a** – współczynnik proporcjonalności, $a = BC/AB = \tan \alpha$, **b** – wartość stała, jest często wartością eksperymentalną ślepej próby. Taką funkcję liniową można przedstawić graficznie (Rys. 1).

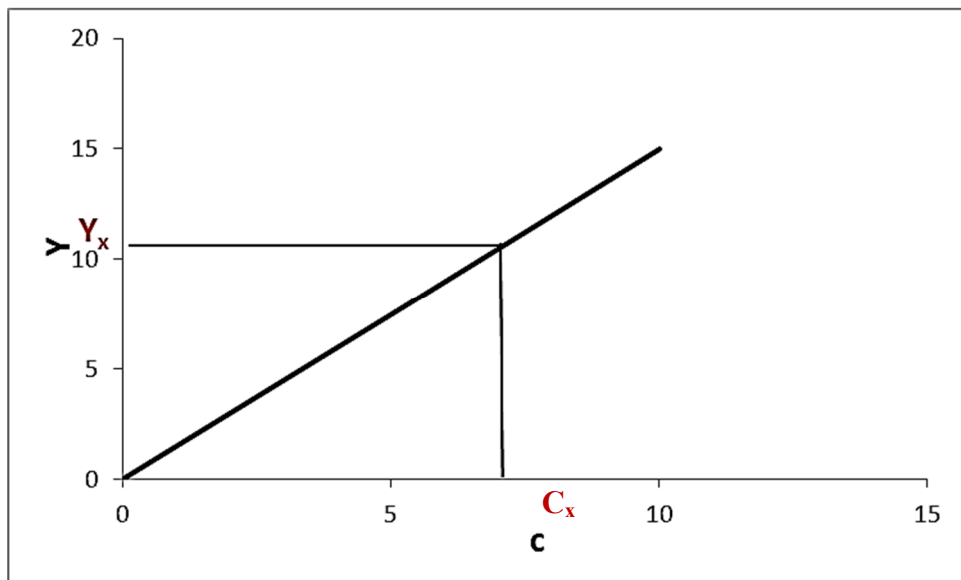


Rys. 1. Krzywa kalibracyjna $Y = ac + b$

Fig. 1. Calibration curve $Y = ac + b$

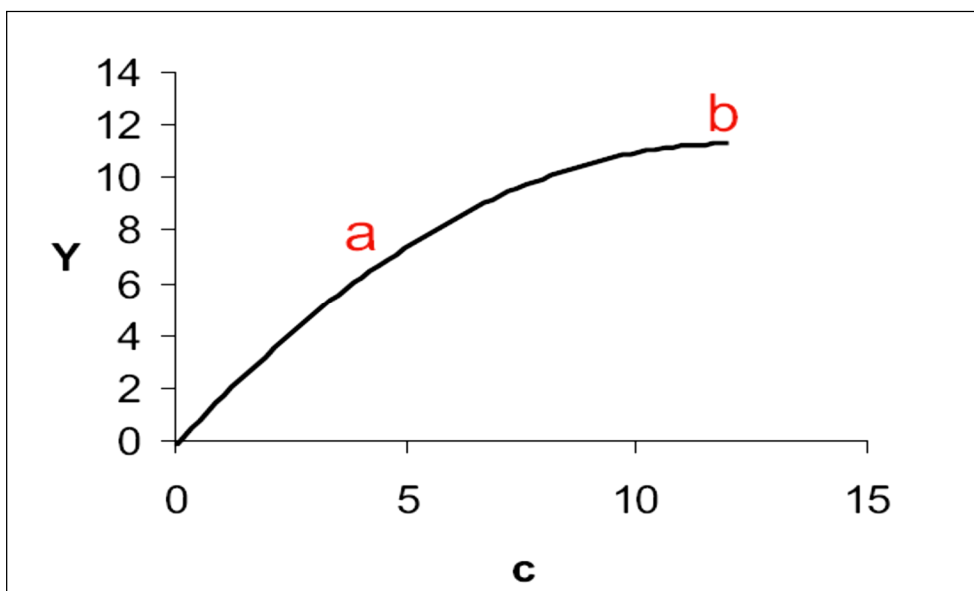
Współczynnik proporcjonalności **a** określa czułość metody; im większe zmiany wartości mierzonej **Y** na jednostkę stężenia **c**, tym większa jego wartość i tym wyższa czułość metody. Metody o małym kącie nachylenia krzywych kalibracyjnych nie są przydatne do celów analitycznych. Parametr **b** może przyjmować wartości dodatnie, ujemne lub zero. W metodzie krzywej kalibracyjnej przygotowuje się szereg roztworów o znanych stężeniach substancji analizowanych oraz tzw. ślepą próbę – roztwór, który

zawiera wszystkie składniki roztworów wzorcowych z wyjątkiem analitu i dla każdego roztworu mierzy się wartość Y . Zależność Y od c wzorców wykreśla się (Rys. 2) lub wylicza równanie prostej. Wartość Y mierzy się również dla próbki badanej, nanosi na krzywą kalibracyjną i odczytuje stężenie lub oblicza z równania prostej.



Rys. 2. Krzywa kalibracyjna $Y = a c$
Fig. 2. Calibration curve $Y = a c$

Przed przystąpieniem do oznaczeń metodą krzywej kalibracyjnej należy zbadać zakres prostoliniowej zależności wartości mierzonej od stężenia analitu (Rys. 3).



Rys. 3. Krzywa kalibracyjna o ograniczonym zakresie stosowania
Fig. 3. Calibration curve of the limited scope of application

Na przedstawionej na Rys. 3 krzywej kalibracyjnej, do celów analitycznych nadaje się zakres stężeń od 0 do 5, zobrazowany na rysunku 3 literą **a**, natomiast obszar oznaczony literą **b** należy do krzywoliniowego obszaru i nie nadaje się do celów analitycznych. Krzywą kalibracyjną należy wykonywać w dniu pomiarów, zmiana warunków pomiarów (np. temperatury) czy użycie innej partii odczynników może powodować przesunięcie krzywej kalibracyjnej na osi Y lub zmianę nachylenia prostej $Y = f(c)$. Na wartość wielkości mierzonej może mieć duży wpływ matryca, czyli to wszystko, co wprowadzamy do układu pomiarowego poza substancją oznaczaną. Udział matrycy należy uwzględnić przy sporządzaniu roztworów wzorcowych, dbając by roztwory wzorcowe miały skład i właściwości fizyko-chemiczne jak najbardziej zbliżone do właściwości roztworu analitu, o ile to możliwe. W praktyce najczęściej matryca wzorców różni się od próbki badanej, której skład jest znacznie bardziej skomplikowany. Powoduje to generowanie błędów i rozbieżności między wynikami a faktycznym stężeniem pierwiastka badanego w próbce. W niniejszej pracy wpływ matrycy jest zanedbywalny, ponieważ badano próbki wody.

3. Preparatyka próbek

Poniżej wymieniono i opisano poszczególne etapy preparatyki próbek. Prześlędzono krok po kroku zagrożenia, mogące przyczynić się do otrzymania błędnego wyniku analizy. Biorąc pod uwagę nieustanne ulepszanie działania instrumentów analitycznych, cały czas również obniża się granica wykrywalności substancji w próbkach badanych. W związku z tym wzrasta wpływ błędów popełnianych podczas operacji wykonywanych na próbkach, na wynik analizy. W przypadku stosunkowo dużych zawartości badanych pierwiastków błędy te są poza zakresem pomiaru przyrządu. Gdy zawartości są niskie, niebezpieczeństwo wprowadzania zanieczyszczeń do próbki jest niezwykle duże. Wybór właściwej metody preparatyki próbek, jakoś jej zastosowania oraz odpowiednie środowisko laboratoryjne stają się wówczas krytycznymi elementami prawidłowo wykonanej analizy śladowej. W celu uproszczenia procedur związanych z analizą próbek organicznych i mieszanych, można od razu założyć, że część organiczna próbki będzie rozłożona i wyeliminowana w poszczególnych etapach preparatyki (metodami spektroskopowymi nie jest możliwe oznaczanie wodoru, tlenu, węgla, azotu itp.). Analizowana pozostałość będzie zawierała jedynie komponenty mineralne, choć ich zawartość może być bardzo różna. Składniki główne, wyrażone jako sucha pozostałość (zazwyczaj stanowiące matrycę) są obecne w stężeniach od kilkudziesięciu do dziesiątych części procenta (w próbkach środowiskowych zazwyczaj Ca, K, Mg, P). Mniej liczne obecne są w stężeniach ok. 0,1% (np. Fe, Al). Natomiast zawartość pierwiastków śladowych i ultra śladowych wyrażana jest w $\mu\text{g/g}$ (ppm) oraz w ng/g (ppb) [2]. Te zakresy stężeń są ustalane arbitralnie i mogą stanowić wskazówkę w kwestii problemów pojawiających się w trakcie analizy. Można przyjąć, że błąd rzędu 1% jest nie do zaakceptowania w przypadku oznaczania składników matrycy. Ale wartości otrzymywane podczas analizy z błędem sięgającym 10% są generalnie do przyjęcia w przypadku analizy śladowej lub ultra śladowej, czyli w sytuacji, gdy stężenie badanego składnika oscyluje na granicy jego wykrywalności daną metodą. Z taką sytuacją często mamy do czynienia w przypadku analiz wód, zwłaszcza w analizach pod kątem zawartości pierwiastków rzadkich lub toksycznych. Obie te grupy pierwiastków występują w wodach zwykle w bardzo małych ilościach. Niezwykle ważne jest zapewnienie odpowiedniej stabilizacji fizykochemicznej analitu w pobieranej próbce, w celu uzyskania dokładnego wyniku

oznaczenia. Powodzenie tego etapu przygotowania próbki zależy od prawidłowego doboru kwasu mineralnego. W zależności od rodzaju analizowanej wody oraz poszukiwanych w niej pierwiastków, należy dobrać odpowiedni rodzaj kwasu oraz jego stężenie w próbce. Dzięki temu można uniknąć szeregu niekorzystnych zjawisk, powodujących zaniżenie ilości analitu w badanej próbce wody, takich jak: sedymentacja analitu w postaci nierozpuszczalnej soli, adhezja analitu na ściankach naczynia, odparowanie części analitu z roztworu, tworzenie nierozpuszczalnych związków na etapie pomiaru (piroliza i atomizacja próbki).

Zapewnienie dokładności wyników nie jest łatwe z powodu dużej liczby kroków analitycznych, zmierzających do oznaczenia pierwiastka w próbce, rozpoczynających się od próbkowania, poprzez procedury preparatywne, a kończąc na samym oznaczeniu. Zależnie od natury i pochodzenia próbki, a także od innych czynników, błędy mogą się pojawiać w różnych etapach analizy. Skutkują one zarówno stratami analitu (niekompletny odzysk po procesie roztwarzania), jak i jego zanieczyszczeniem (zawyżony odzysk). Straty analitu na każdym etapie preparatywnym mogą być spowodowane takimi zjawiskami, jak: parowanie, absorpcja, adsorpcja, transformacja, strącanie lub współstrącanie (jako rezultatami zastosowanej techniki preparatywnej). Istnieją przypadki, w których strata analitu jest pozorna. Występujące podczas pomiaru interferencje, powodują podobny efekt jak zaniżenie ilości badanej substancji w roztworze, skutkujące wygaszeniem sygnału analitycznego. Zjawisko jest przypisywane tzw. efektom matrycowym, będącym wynikiem różnic w składzie chemicznym między wzorcami kalibracyjnymi a próbkami. W takim przypadku, technika pomiarowa jest odpowiedzialna za generowanie błędów, zatem jest sprawą pierwszorzędnej wagi odróżnienie tego typu błędu od innych, będących skutkiem określonej procedury preparatywnej. Zanieczyszczenia, będące częstym problemem, spowodowane są dodawaniem (cyklicznie lub przypadkowo) niezanieczyszczonych ilości analitu podczas różnych etapów analizy. Pochodzą one z używanych reagentów lub otaczającej atmosfery. Im oznaczane zawartości analitu są niższe, tym zanieczyszczenia odgrywają większą rolę. Zanieczyszczenia pochodzące od reagentów są zwykle przenoszone z jednej próbki do drugiej i stanowią błędy systematyczne. Inne źródła błędów, z jednej strony łatwiejsze do uniknięcia, z drugiej strony są przypadkowe i zmienne. W związku z tym jest konieczne oszacowanie ogólnego zanieczyszczenia próbki. Jest to realizowane za pomocą kilku reprezentatywnych ślepych prób oraz odpowiedniej interpretacji otrzymanych wyników. Ważna jest również świadomość analityka w kwestii wymienionych źródeł pochodzenia zanieczyszczeń.

3.1. Próbkowanie

Próbkowanie jest pierwszym i jednym z najważniejszych kroków w analizie. Zapewnia reprezentatywność pobranej próbki. Z tego powodu jest również największym potencjalnym źródłem błędów. Jeśli próbkowanie jest wykonywane bez niezbędnej wiedzy, przy użyciu nieodpowiednich narzędzi, bez zachowania szczególnej ostrożności, wówczas zarówno przypadkowe jak i systematyczne błędy mogą towarzyszyć tej czynności, uzyskując przy tym wartość kilku rzędów wielkości, co dyskwalifikuje wynik oznaczenia w przypadku analizy śladowej.

3.2. Zbieranie i przechowywanie

W zależności od rodzaju analizowanych próbek oraz oznaczanych pierwiastków narzędzia do pobierania próbek, urządzenia filtrujące oraz naczynia do przechowywania próbek muszą być ostrożnie dobierane oraz starannie czyszczone, w celu

zminimalizowania ryzyka możliwego zanieczyszczenia próbek. Wszelkie naczynia używane w tym celu muszą być myte, płukane, a następnie moczone przez 12h w 1-10% (v/v) kwasie azotowym, analitycznej czystości. Przed użyciem, naczynia powinny być przemyte wodą dejonizowaną o wysokiej czystości. Podczas zbierania próbek i ich przechowywania ryzyko zanieczyszczeń jest wysokie, zwłaszcza jeśli dotyczy próbek o niskich zawartościach pierwiastków oznaczanych. W celu zminimalizowania strat analitu w wyniku adsorpcji jonów metali na ściankach naczyń lub na zawieszonych w cieczy cząstkach, zebrane próbki mogą być przechowywane przez krótki czas w chłodniach, a przez dłuższy czas w zamrażalnikach. Z tego samego powodu wodne roztwory próbek są zakwaszane kwasem azotowym natychmiast po pobraniu. W praktyce niezwykle trudno jest wprowadzić z powrotem do roztworu raz zaadsorbowane na ściankach jony metalu, nawet przy użyciu drastycznych metod, do których należy bardzo silne zakwaszenie oraz następujące po nim energiczne wytrząsanie. Zakwaszenie badanej próbki należy przeprowadzać niezwykle ostrożnie, ponieważ może ono spowodować desorpcję pierwiastków śladowych, uprzednio zaadsorbowanych na cząstkach stałych tworzących zawiesinę w badanej próbce. Jeśli niezbędne jest zbadanie całkowitej zawartości pierwiastków śladowych w próbce wody, wówczas rozpuszczenie zawiesiny jest pożądane, chociaż bywa problematyczne. Dlatego też zwykle próbkę poddaje się filtracji (zwykle na filtrach membranowych o porowatości 0,45 μm), następnie oznacza się oddzielnie część ciekłą oraz pozostałość stałą na filtrze, po odpowiednim procesie rozpuszczania. Ostatecznie szacuje się udział zawartości badanego pierwiastka w poszczególnych frakcjach oraz oblicza się całkowitą zawartość w próbce początkowej.

3.3. Preparatyka

Na etapie preparatyki, próbki można wstępnie podzielić na dwie grupy: stałe i ciekłe, nie wnikając jeszcze w ich budowę. W niniejszej pracy wszystkie próbki badane są ciekłe, w związku z czym preparatyka próbek stałych nie będzie tutaj szczegółowo omawiana [1]. Ogólnie próbki wodne, po pobraniu i natychmiastowym zakwaszeniu, przenosi się bezpośrednio do również zakwaszonego naczynia pomiarowego, zwykle kolby miarowej. Jeśli próbka stanowi zawiesinę, należy ją przedtem przefiltrować, następnie sączek wraz z cząstkami zawiesiny roztworzyć metodami stosowanymi dla próbek stałych. Zmierzone zawartości analitu ostatecznie zsumować, zgodnie z zasadami stosowanymi do obliczania wyników w analizie śladowej. Mimo stosunkowo niewielkiej ich ilości, etapy preparatywne mogą być źródłem zanieczyszczeń, z uwagi na typ naczyń stosowanych oraz czystość reagentów oraz użytej wody, ale również ma na to wpływ otaczające powietrze. Dlatego rynek odczynników chemicznych oferuje, obok reagentów o zwykłej czystości analitycznej, również odczynniki o jeszcze większej czystości (suprapur, ultrapur, specpur). Istnieje możliwość oczyszczania reagentów we własnym zakresie już w laboratorium, lecz należy pamiętać, że takie procedury wymagają odpowiedniego sprzętu, wykonanego z kosztownych materiałów (kwarc, PTFE) oraz wymagają wysokich umiejętności od operatora.

Z powyższego wynika ewidentnie, że właściwa preparatyka próbki ma ogromne znaczenie dla poprawności całej analizy. Ryzyko zanieczyszczenia próbki rośnie wraz z temperaturą, ciśnieniem, długim kontaktem próbki z naczyniem, a także odwrotnie proporcjonalnie do malejącego stężenia analitu. Aby zminimalizować ryzyko kontaminacji próbki, należy spełnić kilka zasad:

- skonsultować stworzone procedury z określonymi w literaturze (o ile istnieją) oraz wziąć pod uwagę realny cel analizy. Większość skomplikowanych procedur nie zawsze jest najlepsza,
- zapewnić czyste środowisko w laboratorium (wyciągi, piece, piece muflowe, mikrofalówki, młynki itp.),
- do kruszenia, mielenia oraz homogenizowania używać urządzeń wytworzonych z odpowiednich materiałów (uniknięcie zanieczyszczenia próbek),
- ograniczyć masę próbek analizowanych oraz objętość używanych naczyń do niezbędnego minimum (minimalizacja kontaktu roztworu próbki z naczyniem),
- używać reagentów oraz wody wyłącznie wysokiej czystości oraz minimalizować zużywane ilości,
- czyścić starannie naczynia (moczyć w kwasach, z następującym po nim obfitym płukaniem w wodzie dejonizowanej),
- nie stosować używanych naczyń, aby uniknąć adsorpcji elementów śladowych na ściankach zużytych i startych naczyń,
- uprościć przemieszczanie próbek, unikać filtrowania oraz przenoszenia roztworów między naczyniami i urządzeniami, jeśli nie jest to absolutnie konieczne,
- wykonać kilka ślepych prób z tymi samymi reagentami, naczyniami, z zachowanymi warunkami preparatyki, w celu oszacowania możliwych zanieczyszczeń oraz wykonania ewentualnej korekty wyników,
- sprawdzić odzyski składników przy użyciu materiałów odniesienia lub materiałów o podobnym składzie, dla wszystkich etapów i procedur. Jeśli odzyski będą niekompletne, znaleźć powód odróżniający na etapie preparatyki (czynnik odpowiedzialny - preparatyka) oraz pomiarów (czynnik odpowiedzialny - interferencje).

3.4. Pomiary

Próbki ciekłe oraz rozpuszczone próbki stałe są zwykle poddawane analizie bezpośrednio, bez uprzedniego przygotowania. Jedyne problemy stanowią zbieranie i przechowywanie wód do analiz, co zostało omówione wcześniej. W odniesieniu do metod spektroskopowych nie ma konieczności podejmowania szczególnych środków ostrożności. Jeśli tylko zmierzone zawartości pierwiastka analizowanego są zadowalające w kwestii głównych kryteriów użytej metody (czułość, limity detekcji, zakres dynamiczny) oraz źródła możliwych interferencji są znane, analizy roztworów mogą być przeprowadzone automatycznie, wszystkimi nowoczesnymi metodami spektroskopowymi. Oczywiście jest bardzo pomocne, jeśli operator zna w przybliżeniu możliwe zawartości analitu oraz główne komponenty matrycy, w celu zadecydowania, czy dodatkowe rozcieńczenie jest pożądane czy też nie. Niektóre typy płynów wymagają jednak pewnych szczególnych środków ostrożności przy pomiarach, na przykład w przypadku kontaktu koagulatów krwi z niektórymi chemikaliami (chlerek lub azotan palladu). W nowoczesnych aparatach możliwe jest wprowadzanie próbki i modyfikatorów oddzielnie, skutkujące uniknięciem ich wzajemnego kontaktu.

Aparaty pomiarowe mogą również stanowić źródło zanieczyszczeń. Dobrym przykładem dowodzącym słuszności tego stwierdzenia są analizy śladowe po długim wcześniejszym okresie stosowania modyfikatorów zawierających badany pierwiastek śladowy. Nikiel, często używany jako wydajny modyfikator w analizach As i Se, z czasem zanieczyszcza cały atomizer. Jeśli aparat jest następnie używany do oznaczeń śladowych niklu, zanieczyszczenia całego urządzenia są bardzo znaczące. Podobnie materiał

i kondycja rur zapewniających transport roztworu do systemu nebulizacji oraz aerozolu do palnika mogą być źródłem zjawisk adsorpcji/desorpcji, prowadzących do błędnych wyników.

Błędy spowodowane interferencjami, są związane z samą techniką pomiarową. Zasadniczo są zdefiniowane jako błędy spowodowane wyłącznie składem chemicznym próbki badanej. Ten rodzaj efektów dotyczy nieco innego tematu niż etapy preparatyki, dlatego nie będzie tu omawiany. Dokumentacja dotycząca początków badań nad interferencjami i metodami ich niwelowania jest dostępna w literaturze. Mimo to zostaną przedstawione pewne przykłady problemów wynikających z użycia szczególnych reagentów podczas etapów preparatyki, ponieważ raz użyte będą nieodłączną częścią analizowanej próbki, mającą wpływ na wynik analizy.

Typ kwasu użyty w procedurach preparatywnych może mieć istotne konsekwencje podczas pomiarów. Jest powszechnie wiadome, że we wszystkich technikach spektroskopii atomowej kwas azotowy jest najlepszym reagentem, stosowanym w mineralizacji próbek. Mimo czasem obserwowanego słumienia sygnału analitycznego w jego obecności, nie ma poważniejszych problemów analitycznych przy stosowaniu kwasu azotowego w stężeniach do 10%, (czasem nawet wyższych) we wszystkich technikach spektroskopowych, przynajmniej tak długo jak jego stężenie jest adekwatne do obecnego we wzorcach i próbce. Podobnie nadtlenek wodoru, dodawany do większości procedur mineralizacyjnych, jest rzadko odpowiedzialny za problemy natury analitycznej. Obecność kwasu chlorowodorowego jest kłopotliwa z uwagi na możliwość tworzenia się chlorków analitu i generowania interferencji fazy gazowej i/lub spektralnych. Podczas atomizacji część analitu znajduje się w stanie lotnym, w postaci niezdysocjowanych chlorków, skutkujących generowaniem niekorzystnej absorpcji molekularnej, kompensowanej przez urządzenie korygujące tło (korekcja deuterowa, Zeemana). Z tego powodu sygnał absorpcji atomowej analitu jest zredukowany. Jeśli użycie kwasu chlorowodorowego jest nie do uniknięcia, dodatek kwasu azotowego pozwala ograniczyć opisany problem. W praktyce stosuje się mieszaninę obu tych kwasów w stosunku 3:1, odpowiadającemu wodzie królewskiej. Użycie kwasu siarkowego jest zwykle unikane ze względu na dużą lepkość, mimo jego dużej skuteczności w mineralizacji próbek organicznych. Użycie tego kwasu jest niepożądane zwłaszcza w technikach analitycznych, gdzie wprowadzenie próbki do aparatu jest zapewniane dzięki nebulizacji (FAAS). Powstające interferencje fizyczne są związane ze zmianami w tworzeniu lub/i transporcie aerozolu, jeśli istnieją fizyczne różnice między próbka a wzorcem (wzorce są zazwyczaj rozpuszczone w kwasie azotowym, względnie solnym). Poza tym, zwłaszcza w przypadku kwasu siarkowego, jego stężenie musi być identyczne we wszystkich analizowanych próbkach, co w praktyce jest nie do zrealizowania. Część wprowadzonego do próbki kwasu, uczestnicząca w procesie mineralizacji jest nie do określenia, podobnie jak nadmiarowa reszta, która pozostała w roztworze.

4. Aparatura i odczynniki

Do pomiarów użyto aparatu Avanta, firmy MS Spektrum, wyposażonego w piec grafitowy GF 3000 oraz autosampler PAL 3000. Źródłem promieniowania monochromatycznego były lampy z katodą wnątkową (ang. HCL – Hollow Cathode Lamp), o katodzie wykonanej z oznaczanego pierwiastka. Odczynniki użyte do preparatyki próbek to kwas azotowy 69%, firmy Sigma Aldrich, o czystości spektralnej, oznaczony jako „traceSELECT”, woda dejonizowana o przewodności właściwej poniżej 0,1 $\mu\text{S/cm}$,

wzorce spektralnie czyste o zawartości pierwiastka (odpowiednio Cu, Pb, Cr, Cd, Ag) 1000 ppm (1000 µg/ml) w 4% roztworze HNO₃, firmy SPC Science. W trakcie wykonywania pomiarów zastosowano parametry przyrządu charakterystyczne dla każdego analizowanego pierwiastka, wyszczególnione przed wynikami pomiarów.

5. Dyskusja wyników

W niniejszej pracy przedstawiono badania sześciu próbek zawierających początkowo ten sam analit. Następnie poddano je kilku procesom preparatywnym, najczęściej stosowanym do przygotowywania próbek do analiz techniką ASA. Z uwagi na to, że próbki zawierały to samo, mogły stanowić podstawę do porównań wpływu preparatyki próbek na zawartość analitu. Do badań wykorzystano 6 próbek wodnych, dla których podstawę tworzyła woda pochodząca z wodociągów zasilających Instytut Transportu Samochodowego. Jako materiał referencyjny zastosowano wodę destylowaną. Dla ukazania jak ważne dla wyniku analizy jest odpowiednie zakwaszenie próbki, próbkę pierwszą stanowiła woda pobrana wprost z wodociągów, nie poddana żadnym procedurom preparatywnym. W próbce drugiej wodę poddano mineralizacji stężonym HNO₃, w ilości 1 ml na 100 ml próbki. Próbka 3 powstała przez dwukrotne zateżenie próbki 2, a próbka 4 przez czterokrotne jej zateżenie. próbki 5 i 6 zawierały wodę destylowaną, odpowiednio nie zateżoną i dwukrotnie zateżoną (Tab. 1).

Oznaczenia próbek

Tabela 1

Sample designation

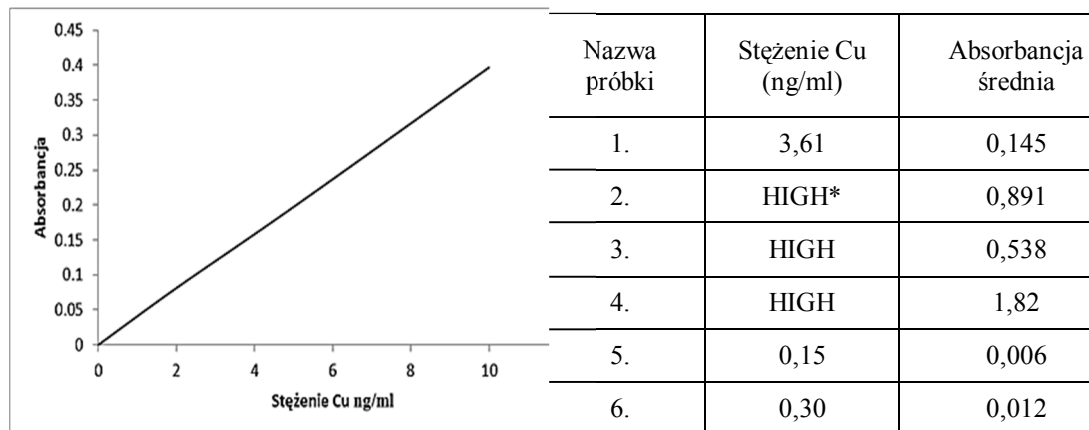
Table 1

Pr.1	Woda z wodociągów
Pr.2	Woda z wodociągów + mineralizacja
Pr.3	Woda z wodociągów + zateżenie x2
Pr.4	Woda z wodociągów + zateżenie x4
Pr.5	Woda destylowana
Pr.6	Woda destylowana + zateżenie x2

Na wymienionych próbkach przeprowadzono analizy zawartości następujących pierwiastków: Cu, Pb, Cr, Cd, Ag techniką Atomowej Spektrometrii Absorpcyjnej, z użyciem pieca grafitowego. Wymienione pierwiastki wybrano kierując się zarówno powszechnością ich występowania w wodzie pitnej, jak i normami prawnymi [3] obowiązującymi w Polsce i Europie, dotyczącymi zawartości metali w wodzie. Ponadto odniesienia literaturowe wskazują, iż popularniejszą techniką oznaczania śladowych zawartości kadmu jest wersja płomieniowa ASA w stosunku do metody pieca grafitowego, uzupełniona zateżaniem analitu metodami ekstrakcyjnymi [4], gdzie dochodzi kolejny etap preparatyki, generujący błędy pochodzące z niecałkowitego odzysku analitu podczas procesu ekstrakcji. Wzięto pod uwagę również toksyczność Pb, Cr i Cd oraz konieczność monitorowania zawartości tych pierwiastków śladowych w wodzie. Autor pokusił się również o próbę analizy pierwiastków szlachetnych na przykładzie srebra, gdyż jest ono potencjalnie najczęściej wśród nich spotykane. Jak wykazały badania, nawet zateżenie próbki nie pozwoliło na uzyskanie sygnału analitycznego srebra. Do oznaczania ultraniskich zawartości pierwiastków służą specjalistyczne metody preparatywne [5,6,7,8].

Analiza Cu

Pierwiastek Cu, prąd lampy 3.00 mA, długość fali 324.70 nm, szerokość szczeliny 0.50 nm, stała czasowa 0.20, powtórzenia 3, objętość próbki 20 μ l.



Rys. 4. Krzywa kalibracyjna, analiza Cu
Fig. 4. Calibration curve, Cu analysis

Tabela 2. Wyniki dla próbek 1-6
Table 2. Results for samples 1-6

*HIGH oznacza stężenie poza zakresem pomiarowym. Wymagane rozcieńczenie próbek

Na rysunku 4 przedstawiono wykreśloną krzywą kalibracyjną dla miedzi. Zakres prostoliniowy krzywej, wyznaczający przedział roboczy stężeń mierzonych, został określony prawidłowo. W tabeli 2 przedstawiono wyniki badań stężenia miedzi w próbkach 1-6. Warto przypomnieć, że w zastosowanej technice pomiarowej wyznacza się ogólną zawartość pierwiastka, bez określania jego wartościowości, gdyż zasada metody polega na przeprowadzeniu analitu w stan atomowy, a nie plazmy jonowej. Z porównania zmierzonego stężenia próbek 1 i 2 wynikało jasno jak fundamentalne znaczenie miało odpowiednie przygotowanie próbki do pomiaru. Obie próbki różniły się wyłącznie obecnością HNO₃, a nie różniły się teoretycznie zawartością Cu. Jednak różnica zmierzonej zawartości Cu między nimi była aż dziesięciokrotna. Z tabeli 2 wynikało również, że w próbkach 2, 3 i 4 stężenie Cu było poza zakresem pomiarowym (prostoliniowość krzywej kalibracyjnej), co zostało oznaczone w tabeli 3, 4 i 5 jako „HIGH” zamiast podanej wartości liczbowej. Aparat nie obliczał stężenia próbek spoza zakresu prostoliniowego krzywej kalibracyjnej, ograniczając się jedynie do komunikatu, że stężenie było za wysokie. Niezbędne było rozcieńczenie wymienionych próbek. Zgodnie z zasadą, że każdy proces rozcieńczania próbki generuje tzw. błąd rozcieńczenia, należało rozcieńczać próbkę najmniej razy i z najmniejszą krotnością jak to możliwe. Kierując się powyższą zasadą rozcieńczono próbkę pięciokrotnie (tabela 3), gdzie pierwszy wynik oznaczał absorbancję próbki przed rozcieńczeniem, a wynik poniżej - po rozcieńczeniu. Wyniki dla próbek 3 oraz 4 wskazywały, że zastosowane rozcieńczenie było niewystarczające, zanalizowano zatem wymienione próbki ponownie, stosując rozcieńczenie 10-cio krotne (tabela 4). Wynik podany w tabeli 4 uwzględniał zastosowane rozcieńczenie. Pierwszy wynik prezentował absorbancję przed rozcieńczeniem, a pod nim wynik po dziesięciokrotnym rozcieńczeniu, przeliczony dla próbki oryginalnej (nierozcieńczonej).

Tabela 3

Wyniki dla próbek 2-4 wody wodociągowej, rozcieńczenie 5x

Table 3

Results for samples 2-4 of the tap water, dilution - five times

Nazwa próbki	Stężenie Cu (ng/ml)	Absorbancja średnia
2.	HIGH	0,877
2.	31,66	0,225
3.	HIGH	1,472
3.	HIGH	0,38
4.	HIGH	1,731
4.	HIGH	0,412

Tabela 4

Wyniki dla próbek 2-4 wody wodociągowej, rozcieńczenie 10x

Table 4

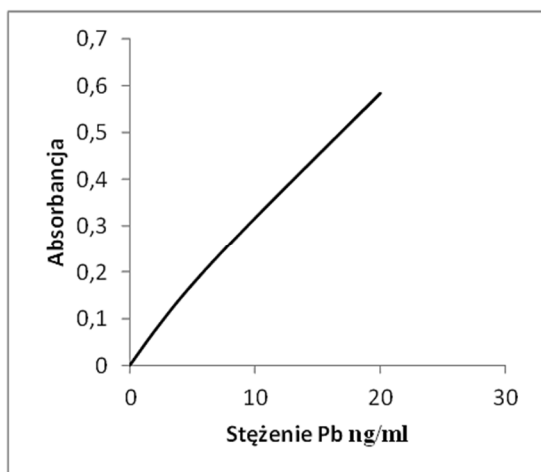
Results for samples 2-4 of the tap water, dilution – ten times

Nazwa próbki	Stężenie Cu (ng/ml)	Absorbancja średnia
2.	HIGH	0,837
2.	35,59	0,122
3.	HIGH	1,537
3.	59,86	0,208
4.	HIGH	1,792
4.	64,53	0,225

Na przykładzie próbki 2 można było zaobserwować nieznaczne wahania wartości wyniku oznaczenia, w zależności od krotności rozcieńczenia. Był to wspomniany błąd rozcieńczenia. Zawartość Cu w próbce 3 była dwukrotnie większa niż w drugiej, gdyż próbka ta była dwukrotnie bardziej „steżona”. W próbce 4 zawartość Cu teoretycznie powinna być trzykrotnie większa niż w 2, lecz biorąc pod uwagę objętość pobieranej przez aparat próbki do pomiaru - 20 µl oraz wstępne odparowywanie i późniejsze rozcieńczanie próbki, jasnym jest że wynik takiego oznaczenia mógł być obarczony kilkudziesięcioprocentowym błędem.

Analiza Pb

Pierwiastek Pb, prąd lampy 5.00 mA, długość fali 217.00 nm, szerokość szczeliny 1.00 nm, stała czasowa 0.20, powtórzenia 3, objętość próbki 20 μ l.



Nazwa próbki	Stężenie Pb (ng/ml)	Absorbancja średnia
1.	3,44	0,112
2.	6,62	0,213
3.	HIGH	1,091
3.	40,59	0,256
4.	0,63	0,021
5.	2,38	0,021
6.	0,07	0,003

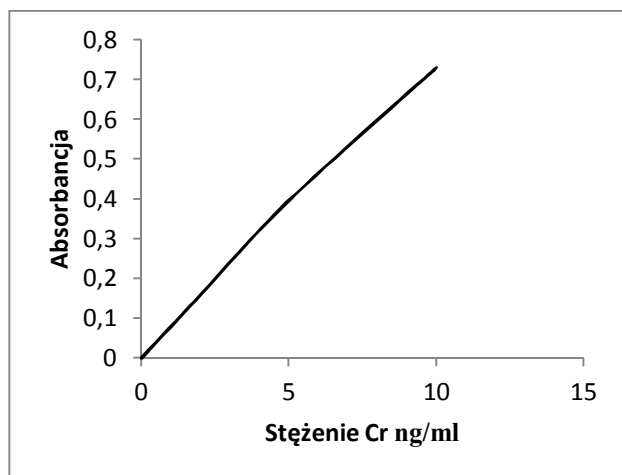
Rys. 5. Krzywa kalibracyjna, analiza Pb
Fig. 5. Calibration curve, Pb analysis

Tabela 5. Wyniki dla próbek 1-6
Table 5. Results for samples 1-6

Następnym analizowanym pierwiastkiem w tych samych próbkach był ołów. Wykres krzywej kalibracyjnej potwierdzał prawidłowo dobrany zakres stężeń wzorców użytych do jej wykreślenia (rysunek 5). Tak jak w przypadku Cu, potwierdziła się w pomiarach tendencja do zaniżonych wartości stężeń w próbkach nie zakwaszonych (1, 5, 6) w odniesieniu do rzeczywistych wartości (tabela 5). Ołów jest bardzo czuły na zawartość HNO₃ w próbce. W przeciwieństwie do pozostałych analizowanych metali, w tym przypadku liczyła się także jego ilość i stężenie w próbce, nie wyłącznie obecność. Z tego względu porównując próbki 2 i 3 można było zaobserwować znacznie większą od spodziewanej zawartość Pb w próbce 3. Teoretycznie jego ilość powinna się podwoić w stosunku do próbki 2. Ta niekonsekwencja wynikała z faktu, iż w próbce 2 stężenie HNO₃ było niewystarczające do stabilizacji analitu, po odparowaniu części wody stężenie kwasu wzrosło, a tym samym ilość atomów ołowiu, poddana atomizacji i zmierzona przez detektor. Próbka 4 pozornie nie zawierała ołowiu. Wynikało to prawdopodobnie z długotrwałego gotowania próbki powodującego rozkład HNO₃ obecnego w próbce. W nie zakwaszonej próbce cały ołów został utracony na kolejnych etapach pomiaru (piroliza, atomizacja). Oznaczało to, że wyłącznie w próbce 3 ilość kwasu była odpowiednia do oznaczenia zawartości Pb w badanej wodzie, zatem próbka 3 została w odpowiedni sposób przygotowana i przeanalizowana, a wartość otrzymanego stężenia ołowiu była miarodajna. Z powyższego wynikało również, że w analizach ołowiu, należałoby wykonać pomiary z kilkoma różnymi stężeniami kwasu azotowego w próbce, dobierając jego odpowiednie stężenie w sposób empiryczny.

Analiza Cr

Pierwiastek Cr, prąd lampy 6.00 mA, długość fali 357.90 nm, szerokość szczeliny 0.20 nm, stała czasowa 0.20, powtórzenia 3, objętość próbki 20 μ l.



Nazwa próbki	Stężenie Cr (ng/ml)	Absorbancja średnia
1.	0,09	0,007
2.	0,55	0,044
3.	0,94	0,076
4.	2,49	0,198
5.	0,22	0,018
6.	0,19	0,015

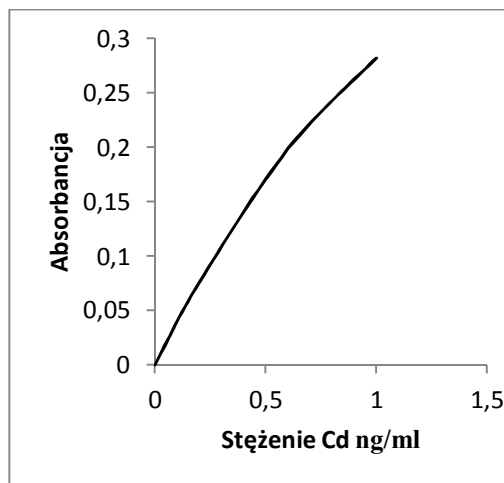
Rys.6. Krzywa kalibracyjna, analiza Cr
Fig. 6. Calibration curve, Cr analysis

Tabela 6. Wyniki dla próbek 1-6
Table 6. Results for samples 1-6

Analizując wyniki otrzymane dla chromu, zauważono, iż był on mniej wrażliwy na zakwaszenie czy odparowanie (tabela 6). Porównanie próbek 1 i 2 potwierdziło wcześniejsze uwagi dotyczące zakwaszenia próbek, natomiast porównanie wyników dla próbek 2,3 i 4 potwierdziło oczekiwane wartości stężeń Cr. W 3 jest dwukrotnie więcej Cr niż w 2, a w 4 dwukrotnie więcej niż w trzeciej. W próbkach wody destylowanej wykryto ślady chromu, ale były to wartości na poziomie ślepej próby, czyli mogły to być „szumy tła”.

Analiza Cd

Pierwiastek Cd, prąd lampy 3.00 mA, długość fali 228.80 nm, szerokość szczeliny 0.50 nm, stała czasowa 0.20, powtórzenia 3, objętość próbki 20 μ l.



Nazwa próbki	Stężenie Cd (ng/ml)	Absorbancja średnia
1.	0,01	0,005
2.	0,05	0,021
3.	0,25	0,093
4.	HIGH	0,705
4.	2,27	0,085
5.	0,25	0,095
6.	0,48	0,165

Rys.7. Krzywa kalibracyjna, analiza Cd
Figure 7. Calibration curve, Cd analysis

Tabela 7. Wyniki dla próbek 1-6
Table 7. Results for samples 1-6

Ze względów formalnych zamieszczono wykres krzywej kalibracyjnej, z którego wynika, że co najmniej do stężeń Cd na poziomie 0,7 ppb zachowana jest prostoliniowość krzywej (rysunek 7). Zmierzone wartości stężeń były bardzo niskie, dla próbek 1 i 2 na poziomie ślepej próby, zatem otrzymany wynik był bezwartościowy analitycznie (tabela 7). Dopiero po czterokrotnym zateżeniu uzyskano wysoki sygnał analityczny, poza zakresem pomiarowym. Otrzymany wynik był przybliżony, ponieważ próbkę poddawano zateżeniu i rozcieńczaniu, a jak wykazano na przykładzie miedzi, zbędne procesy, którym poddawana była próbka, generowały błędy rzędu nawet kilkunastu procent. Przy prawidłowo przeprowadzonej analizie niezbędne byłoby przygotowanie próbki o stężeniu pośrednim, między próbką 3 a 4, a następnie ponowne zmierzenie w niej zawartości Cd.

Analiza Ag

Pierwiastek Ag, prąd lampy 4.00 mA, długość fali 328.10 nm, szerokość szczeliny 0.50 nm, stała czasowa 0.20, powtórzenia 3, objętość próbki 20 μ l.

Tabela 8

Wyniki dla próbek 1-6 wody wodociągowej, analiza Ag

Table 8

The results for samples 1-6 of the tap water, Ag analysis

Nazwa próbki	Stężenie Ag (ng/ml)	Absorbancja średnia
1.	0,04	0,0033
2.	0,10	0,0095
3.	0,05	0,0049
4.	0,00	0,0012
5.	0,00	0,0012
6.	0,08	0,0078

W przypadku analizy srebra, we wszystkich próbkach zawartość Ag była poniżej poziomu detekcji. Wprawdzie aparat oszacował cyfry występujące na drugim miejscu po przecinku, ale analiza wartości absorbancji wskazywała, że wyniki pomiaru były na poziomie absorbancji tła (absorpcja niespecyficzna, samoabsorpcja, wzmocnienie sygnału spowodowane interferencjami).

6. Wnioski

W wykonanych badaniach wody wodociągowej przedstawiono wyniki analiz następujących pierwiastków: Cu, Pb, Cr, Cd i Ag. Przebadano 6 próbek wody, poddanych kilku różnym procesom preparatywnym. Wyniki otrzymane dzięki ich zastosowaniu wykorzystano głównie do celów poglądowych, gdyż większość z zastosowanych procedur była zbędna lub wręcz niekorzystnie wpływała na wynik analizy. Analiza wody jest bowiem stosunkowo prosta i nie wymaga skomplikowanych procedur preparatywnych. We wszystkich wykonanych analizach udowodniono, że etapem niezbędnym w preparatyce próbek było odpowiednie zakwaszenie próbki. Ponadto, jeśli absorbancja próbki była proporcjonalna do stężenia, zatem roztwór dwukrotnie bardziej stężony miał również dwukrotnie wyższą absorbancję. Założenie to zostało spełnione dla chromu oraz częściowo dla miedzi, o ile nie nakładał się na wynik błąd rozcieńczenia. Na przykładzie analizy zawartości miedzi pokazano wpływ zateżania oraz rozcieńczania badanej próbki na

otrzymywany wynik oznaczenia. W analizach śladowych należy unikać obu tych procesów o ile to tylko możliwe, gdyż generowany błąd rozcieńczenia lub utrata lotnych składników analitu powoduje otrzymywanie zafałszowanych wyników, co dyskwalifikuje całą analizę śladową. Na przykładzie analizy ołowiu pokazano wpływ pozostałych składników roztworu na oznaczany pierwiastek. Ilości pierwiastków toksycznych i/lub szlachetnych, czyli kadmu i srebra było w próbkach zbyt mało aby oznaczyć ich zawartość bez zateżenia. W przypadku srebra nawet zateżenie przez odparowanie części wody nie dało pożądanego rezultatu. W takich przypadkach stosuje się najczęściej zateżenie próbki poprzez ekstrakcję ciecz-ciało stałe lub dzięki sorpcji na nośnikach [9]. Ponadto należy podkreślić, że właściwą dla badanego analitu metodą preparatywną była metoda 2, czyli mineralizacja kwasem azotowym wody pobranej z wodociągów, bez zateżenia. Jedynie wyniki otrzymane tą metodą były miarodajne. Wyjątkiem od tej reguły była analiza ołowiu, dla którego nie tylko sama obecność kwasu mineralnego była istotna, lecz także jego ilość dodana podczas przygotowywania próbki do analizy. Porównując otrzymane wartości z obowiązującym Rozporządzeniem Ministra Zdrowia, badana woda spełniała wymagania w odniesieniu do Cu, Cr, Cd oraz Ag, natomiast przekroczone były dopuszczalne wartości dla ołowiu, wynoszące 10 ng/ml, podczas gdy wartość zmierzona wynosiła około 20 ng/ml, gdyż należy pamiętać, że próbka 3, uznana za miarodajną poddana była dwukrotnemu zateżeniu, osiągając wartość 40,59 ng/ml.

LITERATURA

- [1] A. Cygański, „Metody Spektroskopowe w Chemii Analitycznej”, Warszawa 2002, ss. 207-210, WNT, ISBN 83-204-2728-2.
- [2] E. Szmidt, „Preparatyka w analizach śladowych próbek środowiskowych metodami absorpcji atomowej”, *Transport Samochodowy* 1/2013, ss. 59-77
- [3] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007r. W sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi (Dz. U. Nr 61, poz. 417).
- [4] Teslima Dasbasi, Serife Saçmaci, Ahmet Ülgen, Senol Kartal, „A solid phase extraction procedure for the determination of Cd(II) and Pb(II) ions in food and water samples by flame atomic absorption spectrometry, *Food Chemistry* 174 (2015), ss. 591–596.
- [5] A.M. El-Menshawey, I.M. Kenawy, A.A. El-Asmy, “Modification of chloromethylated polystyrene with 2-mercaptopbenzothiazole for application as a new sorbent for preconcentration and determination of Ag⁺ from different matrices”, *Journal of Hazardous Materials* 173/2010, ss. 523–527.
- [6] N. Pourreza, S. Rastegarzadeh, “Simultaneous determination of gold and palladium with 5(p-dimethylaminobenzylidene) rhodanine by using the H-point standard addition method in micellar media”, *Anal. Chim. Acta* 437/2001, ss. 273–280.
- [7] D. Afzali, A. Mostafavi, M. Mirzaei, “Preconcentration of gold ions from water samples by modified organo-nanoclay sorbent prior to flame atomic absorption spectrometry determination”, *Journal of Hazardous Materials* 181/2010, ss. 957–961.
- [8] L. Liu, C. Li, C. Bao, Q. Jia, P. Xiao, X. Liu, Q. Zhang, „Preparation and characterization of chitosan/graphene oxide composites for the adsorption of Au(III) and Pd(II)”, *Talanta* 93/2012, ss. 350-357.
- [9] E. Szmidt, “Metody zateżenia i ekstrakcji metali szlachetnych i ciężkich z próbek rzeczywistych, do analiz techniką Absorpcyjnej Spektrometrii Atomowej”, *Transport Samochodowy* 4/2014.