

# UKŁADY ŁĄCZONE OPARTE NA DETEKCJI PRZY UŻYCIU OPTYCZNEJ SPEKTROMETRII EMISYJNEJ W OZNACZANIU FORM METALI I METALOIDÓW

## HYPHENATED SYSTEMS BASED ON DETECTION BY OPTICAL EMISSION SPECTROMETRY IN DETERMINATION OF METALS AND METALLOIDS SPECIES

**Jędrzej Proch**

*Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama  
Mickiewicza w Poznaniu, ul. Uniwersytetu Poznańskiego 8, 61-614 Poznań  
e-mail: jedrzej.proch@amu.edu.pl*

---

### Abstract

Wykaz stosowanych symboli i oznaczeń

Wprowadzenie

1. Wielokanałowy System Wprowadzenia Próbkki.
2. Wielokanałowy System Wprowadzania Próbek jako generator wodorków w układach łączonych
3. Wielokanałowy System Wprowadzania Próbek w układach łączonych jako konwecyjonalna komora mgielna
4. Wielokanałowy System Wprowadzania Próbek w trybie podwójnym jako interfejs w układach łączonych
5. Analiza specjacyjna yerba mate za pomocą opracowanych technik łączonych

Uwagi końcowe

Podziękowania

Piśmiennictwo cytowane

---

**Dr Jędrzej Proch** ukończył studia licencjackie (2015) i magisterskie (2017) na kierunku chemia (specjalność: chemia kosmetyczna) na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza. Stopień doktora nauk chemicznych uzyskał w 2022 roku, a jego rozprawa została nagrodzona przez Komitet Chemii Analitycznej PAN w 2024 roku w konkursie na najlepszą rozprawę doktorską z analitycznej spektrometrii. Obecnie pracuje na stanowisku adiunkta na dwóch wydziałach UAM: Wydziale Chemii (Zakład Chemii Analitycznej) i Wydziale Archeologii. Realizowanie przez niego badania związane są z wielopierwiastkową analiza próbek różnego pochodzenia, badaniami specjacji metali, metaloidów i niemetalu, technikami łączonymi, archeometrią oraz badaniem yerba mate.



<https://orcid.org/0000-0003-0023-044X>

## ABSTRACT

Hydride generation (HG) has become a widely used technique for efficient analyte introduction in optical emission spectrometry, although only few hyphenated systems using this technique have been developed. It was decided to fill this gap using a modified spray chamber that allows with conventional nebulizer and/or as hydride generator, i.e. the Multi-mode Sample Introduction System (MSIS).

The MSIS unit was used as an interface between high-performance liquid chromatography (HPLC) and inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP OES) or microwave induced plasma optical emission spectrometry (MIP OES). In this way, hyphenated techniques were designed, based on three modes of operation of the MSIS chamber: (1) hydride generation for the determination of metalloid species occurring as anions and forming volatile hydrides, (2) conventional sputtering for the determination of metal species occurring as cations, and (3) dual mode for the simultaneous determination of metal and metalloid species occurring as cations and anions.

The article is based on the doctoral dissertation of Jędrzej Proch entitled: "Hyphenated systems based on detection by optical emission spectrometry in determination of metals and metalloids species", distinguished by the Discipline Council of Chemical Sciences at Adam Mickiewicz University and awarded by the Committee of Analytical Chemistry of the Polish Academy of Sciences in 2024 in the competition for the best doctoral dissertation in analytical spectrometry, the prize funded by MS Spektrum.

**Keywords:** Multi-mode Sample Introduction System, hyphenated technique, high-performance liquid chromatography, inductively coupled plasma optical emission spectrometry, hydride generation

**Słowa kluczowe:** Wielokanałowy System Wprowadzania Próbek, technika łączona, wysokosprawna chromatografia cieczowa, optyczna spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie sprężonej indukcyjnie, generacja wodorków

---

---

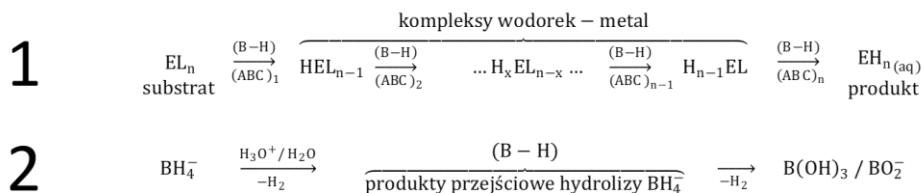
**WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW**

<b>AAS</b>	– atomowa spektrometria absorbcyjna (ang. atomic absorption spectrometry);
<b>CF</b>	– przepływ ciągły (ang. continuous flow);
<b>CVG</b>	– generowanie par chemicznych (ang. chemical vapor generation);
<b>DMA</b>	– dimetyloarseniany (ang. dimethylarsinate, cacodylate);
<b>DHGN</b>	– rozpylacz do bezpośredniego generowania wodorków (ang. direct hydride generation nebulizer);
<b>FI</b>	– przepływ wstrzykowy (ang. flow injection),
<b>FBMN</b>	– wielokanałowy rozpylacz <i>Flow Blurring®</i> ( <i>Flow Blurring®</i> Multi Nebulizer);
<b>HG</b>	– generowanie wodorków (ang. hydride generation);
<b>HPLC</b>	– wysokosprawna chromatografia cieczowa (ang. high performance liquid chromatography);
<b>SPE</b>	– ekstrakcja do fazy stałej (ang. solid phase extraction);
<b>ICP MS</b>	– spektrometria mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie inductively coupled plasma mass spectrometry;
<b>ICP OES</b>	– optyczna spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie sprzężonej indukcyjnie (ang. inductively coupled plasma optical emission spectrometry);
<b>LOD</b>	– granica wykrywalności (ang. limit of detection);
<b>MHGN</b>	– zmodyfikowany rozpylacz siatkowy Hildebranda (ang. modified Hildebrand grid nebulizer);
<b>MIP OES</b>	– optyczna spektrometria emisyjna ze wzbudzeniem w plazmie indukowanej mikrofalowo (ang. microwave induced plasma optical emission spectrometry);
<b>MSIS</b>	– Wielokanałowy System Wprowadzenia Próbkki (ang. Multi-mode Sample Introduction System);
<b>PCA</b>	– analiza głównych składowych (ang. principal component analysis),
<b>RF</b>	– częstotliwość radiowa (ang. radio-frequency);
<b>SeMet</b>	– selenometionina (ang. selenomethionine);
<b>SVDV</b>	– synchroniczny pionowy podwójny podgląd plazmy (ang. Synchronous Vertical Dual View)
<b>μ-USN/QSC</b>	– mikroprzepływowy rozpylacz ultradźwiękowy z poczwórnym systemem mikrokapilarnym (ang. micro-flow ultrasonic nebulizer with quadruple-mode micro capillary system);

## WPROWADZENIE

Generowanie chemicznej pary (CVG) jest dalej rozwijane jako wydajny sposób wprowadzania próbki mimo, że od pierwszego użycia minęło prawie sześćdziesiąt lat [1]. Początkowo generowanie wodorków (HG) było łączone z atomową spektrometrią absorpcyjną (AAS), aby uniknąć trudności z atomizacją arsenu w palniku płomieniowym. Pomysł polegał na reakcji czynnika redukującego ze środowiskiem kwaśnym bezpośrednio przed wykonaniem pomiaru. W ten sposób, arsenowódor ( $\text{AsH}_3$ ) był generowany w reakcji cynku (Zn) z kwasem solnym (HCl) w pułapce z ciekłym azotem. Gdy pułapka została podgrzana,  $\text{AsH}_3$  był zbierany i przenoszony przez parę azotu do płomienia acetylenowo-powietrznego. Tę metodę nazwano „techniką próbkowania gazu” [2].

Z czasem zaprezentowano również inne procedury generowania lotnych wodorków, m.in. tetrahydroboran sodu ( $\text{NaBH}_4$ ) został po raz pierwszy zastosowany w 1972 r. jako roztwór redukujący [3]. Główną zaletą stosowania borowodorków była możliwość prostego dozowania odczynnika oraz automatyzacji całego procesu. W porównaniu do układu metal-kwas, redukcja pierwiastka w mieszaninie borowoderek-kwas była znacznie szybsza i wydajniejsza, a także pozwalała uzyskać niższe stężenie dla próby ślepej [4]. Ogólny model reakcji CVG/HG został niedawno przybliżony przez D’Ulivo (2019), dzięki czemu wiadomo, że powstawanie lotnych wodorków pierwiastków jest wynikiem dwóch konkurencyjnych ścieżek reakcji w mieszaninie borowoderek-kwas przedstawiono na Rysunku 1 [5].



Rysunek 1. Dwie konkurencyjne ścieżki reakcji CVG/HG: (1) derywatyżacja, oraz (2) hydroliza anionu borowodorkowego. Podpisy: (E) pierwiastek zdolny do tworzenia lotnych wodorków; (L) ligand; (ABC) pośrednie związki kompleksowe analitu i boranu; (B-H) produkty pośrednie hydrolizy  $\text{BH}_4^-$  (zawierającymi co najmniej jedno wiązanie B-H). Rysunek inspirowany [5, 6].

Figure 1. Two competitive pathways of CVG/HG reaction: (1) derivatization and (2) hydrolysis of borohydride anion. Captions: (E) element available to form volatile hydrides; (L) ligand; (ABC) intermediates of analyte-borane complex; (B-H) intermediates of  $\text{BH}_4^-$  hydrolysis (containing at least one B-H bond). The figure based on ref. [5, 6].

Pierwsza ścieżka (1) obejmuje reakcje substratu ( $\text{EL}_n$ ) z anionami borowodorkowymi i/lub produktami pośrednimi (zawierającymi co najmniej jedno wiązanie B-H), które powstają podczas hydrolizy  $\text{BH}_4^-$  (ścieżka 2). Kompleks analit-boran (ABC) jest następnie formowany jako produkt pośredni, a atomy wodoru są przenoszone stopniowo z boranów do substratu ( $\text{EL}_n$ ), z utworzeniem kompleksów

wodorek–metal. W wyniku reakcji derywatywacji (ścieżka 1), produkt końcowy powstaje w fazie ciekłej ( $\text{EH}_{n(\text{aq})}$ ). Jeśli  $\text{EH}_n$  ma wystarczającą stabilność termiczną (jak w przypadku  $\text{AsH}_3$  czy  $\text{SbH}_3$ ), wodorek jest przenoszony do fazy gazowej [5]. Powyższy mechanizm stanowi teoretyczną podstawę reakcji generowania wodorków (HG). W przypadku niektórych metali, np.  $\text{Hg(II)}$  i  $\text{Cd(II)}$ , produkt końcowy w fazie ciekłej ( $\text{EH}_{n(\text{aq})}$ ) może zostać częściowo lub całkowicie rozłożony na wolne atomy ( $\text{E}^0$ ). Mechanizm ten stanowi podstawę reakcji generowania chemicznych par (CVG).

Wydajność reakcji CVG/HG w fazie ciekłej (Rysunek 1) jest związana z następującymi czynnikami: (1) stopień utlenienia pierwiastka, (2) rodzaj i stężenie roztworu reduktora, (3) rodzaj i stężenie kwaśnego środowiska, (4) pH roztworu, (5) rodzaj matrycy próbki, (6) obecność i stężenie pierwiastków zakłócających przebieg reakcji, (7) reaktywność pierwiastków tworzących wodorki, a także (8) technika CVG/HG [4]. Warto zaznaczyć, że optymalna technika CVG/HG powinna zapewnić wydajny transport związków lotnych, aby umożliwić rozkład termiczny stabilnych i lotnych wodorków po dotarciu do źródła atomizacji/wzbudzenia. Wśród sposobów na wprowadzenie próbki w technikach CVG/HG warto wyróżnić przepływ ciągły (CF) oraz przepływ wstrzykowy (FI). W technikach typu CF, wszystkie odczynniki (tj. roztwory próbki, kwasu i reduktora) są dostarczane oddzielnie przez pompę perystaltyczną do komory reakcyjnej, gdzie są mieszane. W następstwie tego formowane są lotne wodorki [7, 8]. W technikach typu FI, próbka jest wstrzykiwana przez zawór z pętlą do roztworu nośnego, który jest pompowany w sposób ciągły [9]. Oprócz wyżej wymienionych, na popularności zyskuje również łączenie technik CVG/HG z ekstrakcją w fazie stałej (SPE) [10, 11].

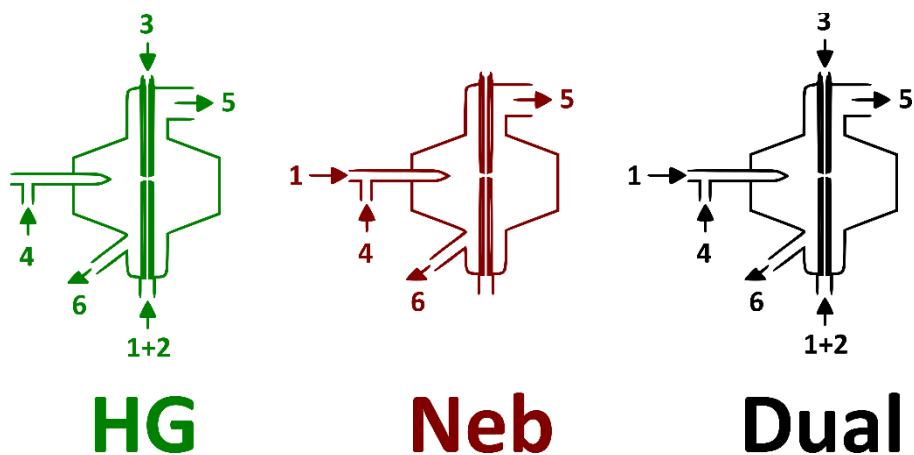
Niezależnie od techniki CVG/HG, istnieje potrzeba ciągłego rozwoju nowoczesnych i bardziej wydajnych generatorów, które doprowadzą m.in. do znacznego obniżenia granic wykrywalności (LOD) stosowanych metod. Przy projektowaniu prostej i powtarzalnej metody bazującej na CVG/HG, jednocześnie zapewniającej najkrótszy możliwy czas pojedynczej analizy, korzysta się z przepływu ciągłego. W ostatnich latach (2021–2024), większość systemów CF–CVG/HG korzysta z generatorów, które są zmodyfikowanymi komorami mgielnych [12–13], rozpylaczami koncentrycznymi [14], rozpylaczem zdolnym do bezpośredniego generowania wodorków, DHGN [15], wielokanałowym rozpylaczem Flow Blurring®, FBMN [16] oraz ultradźwiękowym, mikroprzepływowym rozpylaczem z poczwórnym systemem mikrokapilarnym,  $\mu$ –USN/QSC [17]. Poza tym, akcesoria zewnętrzne są dalej popularne, zarówno takie opracowywane w laboratoriach [18], jak również dostępne komercyjnie [19].

Niemniej, coraz częściej oznaczenie całkowitej zawartości pierwiastków jest niewystarczające. Aby sprostać kluczowym wyzwaniom współczesnej chemii analitycznej, należy sięgać po techniki łączone, tj. połączenie dwóch niezależnych aparatów, które razem zyskują nowe właściwości, np. chromatografia połączona ze spektrometrią atomową. W latach 2013–2020, zaprezentowano 43 systemy oparte na

CVG/HG w przepływie ciągłym, które bazowały na detekcji w optycznej spektrometrii emisyjnej, zarówno ze wzbudzeniem w plazmie sprzężonej indukcyjnie (ICP) czy w plazmie indukowanej mikrofalowo (MIP) [6]. Co zaskakujące, większość ograniczała się jedynie do efektywnego wprowadzenia analitu, lecz niewiele z nich stanowiły układy łączone. Luka ta została wypełniona poprzez zaprojektowanie trzech układów łączonych zawierających najczęściej stosowany generator wodorków w latach 2013-2020, czyli Wielokanałowy System Wprowadzenia Próbkki (Multi-mode Introduction System, MSIS).

## 1. WIELOKANALOWY SYSTEM WPROWADZENIA PRÓBKKI

Wielokanałowy System Wprowadzenia Próbkki (dawniej Marathon Scientific, Canada, obecnie Agilent, USA), to zmodyfikowana komora mgielna, która ze względu na prostą konstrukcję i dostępność, przykuła uwagę wielu naukowców w ostatnich latach. Jej zaletą, w porównaniu z innymi typami generatorów, jest możliwość pracy w trzech wariantach (Rysunek 2).



Rysunek 2. Trzy tryby pracy Wielokanałowego Układu Wprowadzenia Próbkki: (HG) generowanie wodorków, (Neb) konwencjonalne rozpylanie, oraz (Dual) kombinacja trybów HG i Neb (tryb podwójny). Oznaczenia: (1) roztwór próbkki, (2) roztwór kwasu, (3) roztwór reduktora, (4) gaz nośny (rozpylacza), (5) do plazmy, (6) odprowadzenie

Figure 2. Three work modes of Multi-mode Sample Introduction System: (HG) hydride generation, (Neb) conventional nebulization, and (Dual) the combination of HG and Neb (dual-mode). Captions: (1) sample solution, (2) acid solution, (3) reductant solution, (4) carrier gas (nebulizer), (5) to the plasma, (6) drain.

W pierwszej konfiguracji (Rys. 2, HG), komora może generować wodorki w przepływie ciągłym dzięki zastosowaniu dwóch pionowych, stożkowatych kana-

łów, skierowanych ku sobie. W ten sposób można wprowadzić roztwory niezbędne do generowania chemicznych par lub wodorków. Borowoderek sodu (lub potasu) jest najczęściej dostarczany kanałem górnym, a dolnym – kwas chlorowodorowy wraz z roztworem próbki. Kiedy roztwory mieszają się na wyjściu tych kanałów w samym centrum komory, tworzące się lotne wodorki pierwiastków zostają wprowadzone do palnika przy wsparciu gazu nośnego (argonu, dostarczanego przez rozpylacz). W trybie HG, rozpylacz nie wprowadza roztworu, dostarcza jedynie gaz. W drugiej konfiguracji (Rys. 2, Neb), kanały wprowadzające roztwory kwasu i borowodorku nie są używane, a roztwór próbki wprowadzany jest przez rozpylacz, podobnie do konwencjonalnego układu wprowadzenia próbki stosowanego w optycznej spektrometrii emisyjnej. Z kolei, trzeci tryb pracy komory (Rys. 2, Dual) stanowi połączenie dwóch poprzednich, tj. pozwala na równoczesną pracę jednostki MSIS jako generator wodorków oraz komora mgielna z rozpylaczem koncentrycznym.

Pierwsze zastosowanie ciągłego przepływu HG–ICP OES przedstawiono już pod koniec lat 70. XX wieku, kiedy HG wykorzystano do wydajnego wprowadzania niektórych pierwiastków, np. As, Bi, Sb, Se i Te [20] do palnika plazmowego, stosując  $\text{NaBH}_4$  jako roztwór reduktora. Z kolei, pierwsze doniesienia o zastosowaniu Wielokanałowego Systemu Wprowadzenia Próbkę i jego trybów pracy pochodzą z 2002 r. [21]. Od tego czasu, komora MSIS została sprzężona z różnymi typami spektrometrów, np. spektrometrią mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie (ICP MS) [22], ICP OES [23], MIP OES [24] czy AAS [25]. Choć nowe metody, oparte na Wielokanałowym Systemie Wprowadzenia Próbkę, pozwoliły na oznaczenie coraz większej liczby pierwiastków (w tym metali szlachetnych [26]), większość z nich koncentrowała się na określeniu całkowitej zawartości pierwiastków. Metody oznaczania form pierwiastków były stosowane zazwyczaj w formie niechromatograficznej, opartej na dodatkowych procedurach przygotowania próbki (np. wstępnej redukcji) [27, 28]. Niemniej zaprezentowano też dwa układy łączone z detekcją w optycznej spektrometrii emisyjnej, korzystające z komory MSIS. W 2009 roku, opisano pierwsze zastosowanie MSIS w trybie HG jako interfejsu między wysokosprawną chromatografią cieczą (HPLC), a ICP OES do oznaczenia czterech form arsenu w glebach [29]. Z kolei w 2016 roku, zaprezentowano HPLC–MSIS–MIP OES (z  $\text{N}_2$  jako gazem plazmowym) w celu oznaczenia zawartości Se(IV) (w formie seleninów) i selenometioniny (SeMet) w biofortyfikowanych drożdżach [30].

Niestety w obu procedurach można dostrzec pewne ograniczenia lub niedociągnięcia: (1) długa procedura przygotowania próbki (24 h), (2) przepływ gradientowy HPLC, (3) przebadano wyłącznie gleby zanieczyszczone [29], (4) dodatkowa cewka reakcyjna pomiędzy HPLC i MSIS, (5) odczynniki postkolu-



mnowe do etapu wstępnego utleniania, a także (6) metoda została sprawdzona wyłącznie dla drożdży wzbogaconych w selen [30]. Podsumowując powyższe informacje, sprowadzenie komory MSIS do roli łącznika w układach łączonych, tj. pomiędzy wysokosprawną chromatografią cieczową (HPLC) oraz optyczną spektrometrią emisyjną (OES) okazało się tropem godnym rozwinięcia. W tym celu, podjęto badania wszystkich trzech trybów pracy komory:

- Najpierw zastosowano MSIS jako generator wodorków (HG), tworząc układ łączony do oznaczenia form pierwiastków występujących jako aniony oraz tworzących lotne wodorki [31].
- Następnie zastosowano MSIS jako konwencjonalną komorę mgielną (Neb), tworząc dwa układy łączone do oznaczenia form pierwiastków występujących jako kationy oraz nietworzące wodorków [32].
- Na końcu zastosowano MSIS w trybie podwójnym (Dual), łącząc metody z dwóch wcześniejszych prac [31-32] w jeden układ łączony zdolny do oznaczenia form pierwiastków występujących zarówno jako kationy i aniony [33].

## **2. WIELOKANAŁOWY SYSTEM WPROWADZANIA PRÓBEK JAKO GENERATOR WODORKÓW W UKŁADACH ŁĄCZONYCH**

Pierwszym etapem projektowania układów łączonych z komorą MSIS jako łącznikiem chromatografii i spektrometrii, była optymalizacja pracy komory w trybie generowania wodorków (HG). W tym przypadku chromatografia była reprezentowana przez anionowymienną HPLC, zaś spektrometria – przez ICP OES. System miał zostać wykorzystany do oznaczenia trzech form arsenu: arseninów [As(III)], arsenianów [As(V)] i kwasu dimetyloarsynowego (DMA) w próbkach środowiskowych oraz żywności. W porównaniu z systemami opisanymi wcześniej w literaturze, brakowało nowej techniki łączonej wykorzystującej MSIS (w trybie HG) jako interfejs między HPLC i ICP OES do określania niektórych form pierwiastków, bez żadnych odczynników pokolumnowych i dodatkowych cewek reakcyjnych. Ponadto, aplikacyjność musiała być szeroka (zaprezentowana na kilku grupach rzeczywistych próbek), poprzedzona prostą i krótkotrwałą procedurą przygotowania próbki. Dlatego zaletami nowej metody (HPLC–HG–ICP OES) były: powtarzalna konstrukcja (system opierał się wyłącznie na częściach dostępnych komercyjnie), uniknięcie odczynników pokolumnowych, prosta procedura przygotowania próbki i krótki czas analizy.

Opracowanie metody HPLC–HG–ICP OES składało się z etapu optymalizacji, walidacji i aplikacji. Optymalizacja komory MSIS w trybie HG przebiegała dwuetapowo. Najpierw przeprowadzono złożoną optymalizację bez połączenia HPLC (jako HG–ICP OES). Tutaj optymalizowanymi parametrami były długość

fali analitycznej (linii emisyjnej), przepływ gazu plazmowego, a także stężenia odczynników (Tabela 1). Po tym etapie, HPLC zostało połączone z układem HG–ICP OES (poprzez łącznik T, do dolnego kanału dostarczającego roztwór HCl), po czym zoptymalizowano stężenie fazy ruchomej (bufor fosforanowy). Aplikacja metody została zaprezentowana na trzech grupach próbek rzeczywistych: (1) glebie zlokalizowanej w pobliżu składowiska odpadów przemysłowych, (2) częściach 2–letnich dębów szypułkowych (*Quercus robur*) rosnących w roztworze wzbogaconym o formy arsenu oraz (3) yerba mate (*Ilex paraguariensis*), dostępnej na polskim rynku.

Zastosowanie Wielokanałowego Systemu Wprowadzenia Próbkę jako generatora wodorków i łącznika pomiędzy HPLC i ICP OES pozwoliło na zaprojektowanie nowej techniki łączonej, która opierała się wyłącznie na dostępnych komercyjnie częściach, unikając odczynników pokolumnowych. Trzy formy arsenu można było oznaczyć w stosunkowo krótkim czasie (do 400 s) przy znacznie niższych LOD i wysokiej precyzji. Wyniki były porównywalne z wynikami innych technik CVG/HG sprzężonych z OES na bazie plazmy. Podsumowując powyższe, badanie stało się pierwszym krokiem w ocenie MSIS jako interfejsu w technikach łączonych. Wyniki badań opublikowano w pierwszym artykule naukowym, wchodzącym w skład rozprawy doktorskiej [31].

Tabela 1. Parametry badane podczas optymalizacji układu łączonego (HPLC–HG–ICP OES). Optymalne warunki pracy są podkreślone.

Table 1. Parameters studied during the optimization of the hyphenated system (HPLC–HG–ICP OES). Optimal operating conditions are underlined.

<b>HPLC–HG–ICP OES</b>	
Typ kolumny (model)	anionowymienna (Supelco LC–SAX–1)
Typ eluent (pH)	Bufor fosforanowy (6.0±0.2)
Kompozycja eluenta [mmol L <sup>-1</sup> ]	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (12.5, <u>25</u> , 50), Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (1.25, <u>2.5</u> , 5.0)
Przepływ eluenta [mL min <sup>-1</sup> ]	<u>2.0</u>
MSIS (tryb pracy komory)	HG
Stężenie NaBH <sub>4</sub> [%, w/v]	0.10, 0.25, 0.50, 0.75, <u>1.00</u> , 1.25, 1.50
Stężenie HCl [mol L <sup>-1</sup> ]	0.10, 0.25, 0.50, 1.00, 2.50, <u>5.00</u>
Moc generatora RF [kW]	1.45
Przepływ gazu plazmowego [L min <sup>-1</sup> ]	<u>12</u> , 15, 18
Podgląd plazmy	<u>osiowy</u>
Analityczna długość fali [nm]	As 188.980, As 193.696, As 197.198, <u>As 228.812</u> , As 232.984

### 3. WIELOKANALOWY SYSTEM WPROWADZANIA PRÓBEK W UKŁADACH ŁĄCZONYCH JAKO KONWENCJONALNA KOMORA MGIELNA

Z jednej strony, tryb podwójny i tryb HG komory MSIS dają pewne zalety w porównaniu z konwencjonalnym rozpylaniem, dlatego są częściej stosowane niż tryb Neb. Z drugiej strony, tryb podwójny nie może być skutecznie stosowany bez uprzedniej optymalizacji warunków pracy w trybie Neb. Ponadto udane połączenie HPLC i ICP OES poprzez MSIS skłoniło do próby bezpośredniego podłączenia wyjścia kolumny do rozpylacza. W ten sposób można było zaprojektować kolejną nową technikę łączoną. Ze względu na to, że większość pierwiastków występuje w roztworze jako kationy (np. żelazo), zmieniono również typ kolumny HPLC na kationowymienną.

Najciekawszym pierwiastkiem, występującym w kilku formach jako kation, okazało się żelazo (Fe), występujące w dwóch stabilnych formach,  $Fe^{2+}$  i  $Fe^{3+}$ . Ponadto żelazo jest czwartym najliczniejszym pierwiastkiem w skorupie ziemskiej, a cykl żelaza obserwowano w organizmach żywych, jak również w środowisku [34]. Zgodnie z tym analiza specjacyjna żelaza wydawała się być jednym z głównych wyzwań w chemii analitycznej lub środowiskowej. Niedobór nowych metod łączonych, służących do szybkiego oznaczania form żelaza, był zaskakujący wysoki w porównaniu z metaloidami (np. As, Sb, Se) czy innymi metalami (np. Al, Cr, Hg) [35].

Aby uzyskać optymalne warunki do rozdzielania form żelaza, kluczowe znaczenie miał skład fazy ruchomej. W 1995 roku kwas pirydyno-2,6-dikarboksyłowy (PDCA) został opisany jako składnik fazy ruchomej do rozdzielania metali przejściowych, w tym  $Fe(II)$  i  $Fe(III)$  [35]. W kolejnych latach najpopularniejszym składem eluentu była mieszanina PDCA, siarczanu potasu ( $K_2SO_4$ ), wodorotlenku potasu (KOH) i kwasu mrówkowego ( $HCOOH$ ), którą po raz pierwszy zastosowano w 1997 roku. [36], a później wprowadzono na rynek. Co ciekawe, eluent ten był pierwotnie stosowany tylko w HPLC-UV [37-38]. Z jednej strony najbardziej pożądanym sposobem jest przeniesienie zalet skomercjalizowanego eluentu PDCA z HPLC-UV na HPLC-ICP OES, którego granice wykrywalności (LOD) są znacznie lepsze. Z drugiej strony, kilka problemów, takich jak zakłócenia wzbudzenia, niestabilność plazmy, wygaszanie plazmy, zatykanie nebulizatora i uszkodzenie palnika, może być spowodowanych przez wyższe obciążenie matrycą. Rozwiązaniem tego problemu było wprowadzenie MIP OES jako kolejnego detektora w projektowanych układach łączonych.

Po raz pierwszy, MIP OES zastosowano w 1965 roku [39], jednak do 2011 roku nie było spektrometru dostępnego komercyjnie. Jego główną zaletą jest możli-

wość wykorzystania azotu ( $N_2$ ) jako gazu roboczego, co pozwala na pozyskiwanie go bezpośrednio z powietrza atmosferycznego za pomocą zewnętrznego generatora (niższy koszt pojedynczej analizy). Wadami są system oparty na monochromatorze, który sekwencyjnie rejestruje sygnał analityczny, oraz niższa temperatura plazmy (ok. 5000 K), która generuje więcej zakłóceń sygnału w porównaniu z ICP OES. Niemniej jednak instrument stał się konkurencyjny i atrakcyjny. W ostatnich latach (2013-2020), komora MSIS często była łączona z MIP OES w celu obniżenia LOD w oznaczaniu pierwiastków tworzących lotne wodorki (rzadziej pierwiastków nietworzących wodorków) [6]. Jednakże nie opublikowano żadnych badań specjacji żelaza przy użyciu MIP OES, podczas gdy przedstawiono zadowalające wyniki w celu określenia jego całkowitej zawartości.

W literaturze, tylko dwa połączone systemy były używane do jednoczesnego oznaczania Fe(II) i Fe(III) w rzeczywistych próbkach [40, 41]. Jednakże stosowalność obu metod, HPLC–ICP OES [40] i HPLC–ICP MS [41], została przeprowadzona wyłącznie na określonych materiałach, odpowiednio tkankach mózgu szczura i płynie mózgowo–rdzeniowym, które zawierają znacznie mniej żelaza niż gleby, osady itp. W tym przypadku ICP MS jest nadmiernie wymagającym detektorem (wymagającym tysiąckrotnego rozcieńczenia). Zgodnie z tym, HPLC–MIP OES stała się metodą, która została zoptymalizowana i zastosowana równoległe z HPLC–ICP OES. Porównując ich cechy, dokonano oceny działania komory MSIS pracującego w trybie Neb, a wyniki badań opublikowano w drugim artykule naukowym wchodzącym w skład rozprawy doktorskiej [32].

Celem tej pracy była ocena i zastosowanie Wielokanałowego Układ Wprowadzenia Próbkki, działającego jako konwencjonalna komora mgielna w trybie rozpylania (Neb), jako interfejsu w technikach łączonych. W tym przypadku ten sam system chromatograficzny (oparty na kolumnie kationowymiennej) został sprzężony z dwoma różnymi detektorami, MIP OES i ICP OES. Po raz pierwszy przeprowadzono równoległą optymalizację dwóch łączonych systemów, HPLC–ICP OES i HPLC–MIP OES. Badanymi parametrami były: zapłon plazmy, przepływ gazu plazmowego, przepływ roztworu próbki, długość fali analitycznej, skład fazy ruchomej i przebieg chromatograficzny (Tabela 2). Większość z tych parametrów przyjęto z poprzednich badań [31].

Tabela 2. Parametry badane podczas optymalizacji układów łączonych (HPLC–ICP OES, HPLC–MIP OES). Optymalne warunki pracy są podkreślone.

Table 2. Parameters studied during the optimization of the hyphenated systems (HPLC–ICP OES, HPLC–MIP OES). Optimal operating conditions are underlined.

	HPLC–ICP OES	HPLC–MIP OES
Typ kolumny (model)	kationowymienna (Dionex IonPac CS5A)	
Typ eluent (pH)	Eluent PDCA (4.2±0.2)	
Kompozycja eluenta [mmol L <sup>-1</sup> ]	PDCA (7.0), KOH (66), K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (5.6), HCOOH (74)	
Przepływ eluenta [ml min <sup>-1</sup> ]	0.5, 1.0, 1.5, <u>2.0</u>	
MSIS (tryb pracy komory)	Neb	
Stężenie NaBH <sub>4</sub> [%, w/v]	nie dotyczy	
Stężenie HCl [mol L <sup>-1</sup> ]	nie dotyczy	
Moc generatora RF [kW]	1.20	1.00
Przepływ gazu plazmowego [L min <sup>-1</sup> ]	12	20
Podgląd plazmy	synchroniczny pionowy podwójny (SVDV)	osiowy
Analityczna długość fali [nm]	Fe 234.350, <u>Fe 238.204</u> , Fe 259.940, Fe 261.382	Fe 259.940, <u>Fe 371.993</u>

Potencjał aplikacyjny obu układów został sprawdzony na pięciu grupach próbek rzeczywistych: (1) osady polodowcowe (Spitsbergen, Svalbard), (2) ceramika archeologiczna, (3) gleba zlokalizowana w pobliżu składowiska odpadów przemysłowych, (4) osady rzeczne (Mekong, Wietnam) oraz (5) yerba mate (*Ilex paraguariensis*). Dodatkowo zastosowano dwie procedury przygotowania próbki: ługowanie kwasem solnym (1–2) i ekstrakcję wspomaganą ultradźwiękami (3–5). Warto wspomnieć, że ekstrahenty te są mniej skuteczne w przypadku próbek nieorganicznych ze względu na obecność niektórych frakcji żelaza w krzemianach. Czynnikiem ograniczającym stosowalność metody HPLC–MIP OES było Fe(II), które w 3 próbkach było <LOD. Ponadto odnotowano następujące obserwacje: (1) obie metody były równie odpowiednie, niezależnie od tego, czy stosunek Fe(III)/Fe(II) wynosił 25 czy mniej, (2) MIP OES zalecano, gdy oczekiwano wysokiego stężenia (żelazo całkowite > 1% wt.), (3) ICP OES zalecano, gdy stosunek Fe(III)/Fe(II) wynosił 32 i więcej.

Zastosowanie komory MSIS w trybie konwencjonalnego rozpylania jako interfejsu między HPLC i OES pozwoliło na zaprojektowanie dwóch równoległych nowych technik łączonych. Obie metody opierały się wyłącznie na dostępnych w handlu częściach, unikając używania odczynników postkolumnowych. Dwie formy żelaza można było oznaczyć w znacząco krótkim czasie (do 300 s) przy niskich LOD i wysokiej precyzji. Kluczowymi parametrami w ocenie metody były: (1) wzajemny stosunek Fe(II) i Fe(III) oraz (2) założone całkowite stężenie Fe w materiale. Wyniki były porównywalne z wynikami technik opartych na HPLC połączonych z różnymi detektorami, jednak MIP OES w układach łączonych był

detektorem uzupełniającym (a nie alternatywnym). Podsumowując powyższe, badanie stało się drugim krokiem w ocenie MSIS jako interfejsu w technikach łączonych [32].

#### **4. WIELOKANALOWY SYSTEM WPROWADZANIA PRÓBEK W TRYBIE PODWÓJNYM JAKO INTERFEJS W UKŁADACH ŁĄCZONYCH**

W literaturze odnotowano również znaczące zastosowanie MSIS w trybie podwójnym (Dual) do jednoczesnego oznaczania pierwiastków nietworzących wodorków i pierwiastków tworzących lotne wodorki [22–24, 26]. Jednakże tryb ten nigdy nie był używany do oznaczania form pierwiastków. Chociaż wielopierwiastkowa analiza specjacyjna została przeprowadzona dla 9 oksyanionów z 6 pierwiastków [40], nigdy nie została przeprowadzona dla pierwiastków występujących jako kationy i aniony. Kombinacja trybów (Neb + HG = Dual) w analizie specjacyjnej nie powinna znacząco różnić się od oznaczenia całkowitej zawartości. Po opracowaniu dwóch pierwszych systemów [31, 32] możliwe było łatwe przyjęcie warunków projektowania nowego układu łącznikowego. Główną zaletą jest równoczesne rozdzielanie przez dwie różne kolumny HPLC anionów (np. trzech form arsenu) i kationów (np. dwóch form żelaza) w jednym przebiegu. Wprowadzenie analitów w dwóch różnych trybach komory MSIS, tj. Neb dla pierwiastków nietworzących wodorków oraz HG dla pierwiastków tworzących lotne wodorki, zminimalizowało wzajemnie interferencje. Ponadto założono, że wykrycie wszelkich nieznanymi form jest możliwe poprzez przeprowadzenie analizy próbek rzeczywistych. Zauważając ogromny potencjał w opisanym systemie, MSIS pracujący w trybie podwójnym został użyty jako interfejs między dwoma jednostkami HPLC i ICP OES i przedstawiony w trzecim artykule naukowym wchodzącym w skład rozprawy doktorskiej [33].

Celem tej pracy było połączenie osiągnięć uzyskanych w poprzednich badaniach [31, 32] i zastosowanie MSIS pracującego w trybie dualnym jako interfejsu między dwoma różnymi systemami chromatograficznymi i ICP OES. Kolumna anionowymienna (tryb HG) została użyta do rozdzielania 5 form, podczas gdy kolumna kationowymienna (tryb Neb) została użyta do rozdzielania 13 form. W ten sposób 18 form 15 pierwiastków zostało jednocześnie określonych metodą HPLC–ICP OES. Po raz pierwszy łączony system oparty na detekcji w spektrometrii emisyjnej optycznej został zastosowany do jednoczesnego określenia pierwiastków występujących jako dwa kationy (żelazo) i trzy aniony (arsen). Zachowano główne zalety pierwszego i drugiego podstawowego osiągnięcia naukowego: powtarzalny projekt (oba systemy opierały się wyłącznie na częściach

dostępnych komercyjnie), uniknięcie odczynników pokolumnowych, prostą procedurę przygotowania próbki i stosunkowo krótki czas analizy.

Badanie obejmowało projektowanie, optymalizację, walidację i zastosowanie metody. Po krótkiej optymalizacji wybrano niższy przepływ eluentu ( $1 \text{ mL min}^{-1}$ ), dlatego czasy retencji (RT) wzrosły w porównaniu z poprzednimi badaniami [31–32], chociaż nadal były względnie krótkie (80–635 s). Badane parametry zostały wymienione w Tabeli 3.

Tabela 3. Parametry badane podczas optymalizacji układu łączonego (2 HPLC–MSIS–ICP OES). Optymalne warunki pracy są podkreślone.

Table 3. Parameters studied during the optimization of the hyphenated system (2 HPLC–MSIS–ICP OES) Optimal operating conditions are underlined.

Typ kolumny (model)	2 HPLC–MSIS–ICP OES	
	anionowymienna (Supelco LC–SAX–1)	kationowymienna (Dionex IonPac CS5A)
Typ eluent (pH)	Bufor fosforanowy ( $6.0 \pm 0.2$ )	PDCA eluent ( $4.2 \pm 0.2$ )
Kompozycja eluenta [ $\text{mmol L}^{-1}$ ]	$\text{KH}_2\text{PO}_4$ (2.5), $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ (2.5)	PDCA (7.0), KOH (66), $\text{K}_2\text{SO}_4$ (5.6), HCOOH (74)
Przepływ eluenta [ $\text{mL min}^{-1}$ ]	1.0	1.0
MSIS (tryb pracy komory)	Dual	
Stężenie $\text{NaBH}_4$ [% w/v]	HG	Neb
Stężenie HCl [ $\text{mol L}^{-1}$ ]	1.00	N/A
Stężenie HCl [ $\text{mol L}^{-1}$ ]	5.00	N/A
Moc generatora RF [kW]	1.20	
Przepływ gazu plazmowego [ $\text{L min}^{-1}$ ]	12	
Podgląd plazmy	synchroniczny pionowy podwójny (SVDV)	
Analityczna długość fali [nm]	As 228.812, Cd 214.439, Co 238.892, Cu 327.395, Fe 234.350, Ge 209.426, Mn 257.610, Ni 231.604, Pb 220.353, Ru 240.272, Se 196.026, Sr 460.733, Tl 190.794, V 292.401, Zn 213.857	

Aplikacyjność metody 2 HPLC–MSIS–ICP OES przetestowano dla pięciu grup próbek rzeczywistych: (1) osady polodowcowe (Spitsbergen, Svalbard), (2) ceramika archeologiczna, (3) gleba znajdująca się w pobliżu składowiska odpadów przemysłowych, (4) osady rzeczne (Mekong, Wietnam) i (5) yerba mate (*Ilex paraguariensis*). Co ciekawe, w tej części badań wykryto kilka niezdefiniowanych form metali przejściowych. Zastosowanie MSIS w trybie podwójnym (Dual), jako interfejsu między dwoma HPLC i ICP OES pozwoliło na zaprojektowanie nowej techniki łączonej, która nie ma swojego odpowiednika. Metoda nadal opiera się tylko na dostępnych komercyjnie częściach, unikając odczynników pokolumnowych. W stosunkowo krótkim czasie (do 700 s pojedynczej analizy) można było oznaczyć ilościowo 18 form specyjalnych 15 pierwiastków.

## 5. ANALIZA SPECJACYJNA YERBA MATE ZA POMOCĄ OPRACOWANYCH TECHNIK ŁĄCZONYCH

Wdrożenie metody do regularnej pracy laboratoryjnej powinno być kolejnym etapem w rozwoju dowolnego systemu, w tym techniki łączonej. Poprzez opracowanie trzech systemów w ramach podstawowych osiągnięć naukowych [31–33], yerba mate (*Ilex paraguariensis*) została wybrana jako odpowiedni materiał do wykonania części aplikacyjnej z następujących powodów: (1) spożycie naparu yerba mate na świetle wzrasta [44], (2) materiał był z powodzeniem stosowany w optymalizacji procedur analitycznych [45], (3) nie są dostępne dla tego materiału wyniki analizy specjacyjnej. Uznano, że bardziej praktyczne jest zademonstrowanie dwóch metod niż jednej, dlatego analizę specjacyjną wykonano dwiema metodami jednopierwiastkowymi [31–32] zamiast wielopierwiastkowej [33]. Zaproponowana metodologia była pierwszą analizą pierwiastkową i specjacyjną yerba mate (*Ilex paraguariensis*) i pierwszym zastosowaniem HPLC–HG–ICP OES, jak i HPLC–ICP OES dla dużej serii próbek. Zauważając ten potencjał, praca jest przedstawiona w czwartym artykule naukowym wchodzącym w skład rozprawy doktorskiej [46].

W ramach badań aplikacyjnych, wykonano analizy 58 próbek yerba mate, dostępnych na polskim rynku. Oprócz ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami, zastosowano mokry rozkład próbki kwasem azotowym wspomagany mikrofalami w celu oznaczenia całkowitej zawartości wybranych pierwiastków przy pomocy ICP OES. Wykorzystując metody opracowane w trakcie poprzednich badań [31, 32], oznaczono w nich również arseniny, arseniany, DMA oraz żelazo dwu- i trójwartościowe, jak również całkowitą zawartość tych i innych pierwiastków za pomocą ICP OES. Celem badań było oznaczenie form arsenu i żelaza w yerba mate oraz próba identyfikacji i/lub klasyfikacji próbek ze względu na ich pochodzenia, gatunek czy czystość.

W przypadku yerba mate, formy nieorganiczne żelaza czy arsenu stanowiły zazwyczaj niewielki procent w stosunku do całkowitej zawartości pierwiastków. Większość żelaza i arsenu pozostała w połączeniach organicznych (nazwaną frakcją nieekstrahowalną). Natomiast różnicę między całkowitymi zawartościami żelaza i arsenu, a sumą zawartości oznaczanych form w próbkach ekstrahowanych, określono mianem „nierozpoznanej frakcji ekstrahowalnej”. Poza arsenem i żelazem, oznaczono również całkowite zawartości 14 pierwiastków zarówno w próbkach zmineralizowanych jak również wyekstrahowanych. Próbowano zidentyfikować yerba mate ze względu na (a) kraj pochodzenia, (b) typ suszu oraz (c) stosowanie dodatków, stosując m. in. analizę głównych składowych (PCA). Niestety, podobnie jak w przypadku analizy specjacyjnej, nie odważono się na jednoznaczny klasyfikację próbek [46]. Niemniej, dzięki tej pracy udało się zade-



monstrować działanie dwóch z trzech układów łączonych na wybranym materiale.

## UWAGI KOŃCOWE

Zastosowanie Wielokanałowego Systemu Wprowadzenie Próbkę jako łącznika w układach łączonych umożliwiło opracowanie trzech systemów z detekcją w optycznej spektrometrii emisyjnej. W ten sposób, wypełniona została luka pomiędzy popularnością i dostępnością komory MSIS, a niewielką ilością technik łączonych ją wykorzystujących. Dzięki zastosowaniu trzech trybów pracy komory udało się przygotować narzędzia z zakresu analizy specjacyjnej, gotowe do rutynowej pracy.

W trakcie aplikacji wyżej wymienionych metod, poza oznaczanymi formami Mn, Cu, Fe czy Zn, zaobserwowano również inne, niezidentyfikowane formy tych metali w różnych matrycach próbek. To sugeruje zdolność układu łączonego do rozdzielania innych form pierwiastków w warunkach optymalnych dla rozdzielania żelaza dwu- i trójwartościowego. Choć te formy nie zostały jeszcze zidentyfikowane, stanowi to interesująca perspektywę i jest to istotny punkt wyjściowy w tworzeniu kolejnych aplikacji. Każdy pierwiastek wykryty w ogólnych warunkach opracowanych na potrzeby metody 2 HPLC–MSIS–ICP OES, może wymagać nieznacznie innych warunków, aby uzyskać optymalną separację niezdefiniowanych form bez utraty parametrów pracy detektora. Dlatego też kluczowe będzie opracowanie w przyszłości nowych procedur przygotowania próbek, które będą dedykowane do analizy specjacyjnej.

## PODZIĘKOWANIE

Jędrzej Proch pragnie serdecznie podziękować swojemu promotorowi i mentorowi Panu prof. dr hab. Przemysławowi Niedzielskiemu za możliwość rozwoju zawodowego, ogromne wsparcie i inspirację.

Autor wyraża również podziękowanie dla Komitetu Chemii Analitycznej PAN za nagrodzenie jego rozprawy doktorskiej w konkursie na najlepszą rozprawę doktorską z analitycznej spektrometrii (2024). Wyniki nagrodzonych badań naukowych stały się inspiracją dla niniejszego artykułu.

Badania te były finansowane ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój, grant nr POWR.03.02.00-00-I026/16.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] H. Brandenberger, H. Bader, *Helvetica Chimica Acta*, 1967, **50**(5), 1409.
- [2] W. Holak, *Analytical Chemistry*, 1969, **41**(12), 1712.
- [3] R. Braman, L. Justen, C. Foreback, *Analytical Chemistry*, 1972, **44**(13), 2195.
- [4] M. Ślachciński, *Applied Spectroscopy Reviews*, 2014, **49**(4), 271.
- [5] A. D'Ulivo, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2019, **34**(5), 823.
- [6] J. Proch, P. Niedzielski, *Talanta*, 2022, **243**, 123372
- [7] M. García, M. Aguirre, A. Canals, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2017, **409**(23), 5481.
- [8] A. Lima, M. Da Costa, D. Ferreira, E. Richter, et al. *Microchemical Journal*, 2015, **118**, 40.
- [9] L. Escudero, P. Pacheco, J. Gasquez, J. Salonia *Food Chemistry*, 2015, **169**, 73
- [10] A. Calvo Fomieles, A. García de Torres, E. Vereda Alonso, J. Cano Pavón, *Microchemical Journal*, 2016, **124**, 82.
- [11] A. Tyburska, K. Jankowski, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013, **74**, 268.
- [12] J. Fujihara, N. Nishimoto, *Microchemical Journal*, 2020, **157**, 104992.
- [13] M. Welna, A. Szymczycha–Madeja, *Food Chemistry*, 2014, **159**, 414.
- [14] K. Jankowski, J. Giersz, M. Paprocka, *Microchemical Journal*, 2014, **113**, 17.
- [15] I. Rojas, M. Murillo, N. Carrión, J. Chirinos, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2003, **376**(1), 110.
- [16] C. Pereira, M. Aguirre, J. Nóbrega, M. Hidalgo, et al., *Microchemical Journal*, 2014, **112**, 82.
- [17] H. Matusiewicz, M. Ślachciński, *Microchemical Journal*, 2017, **131**, 70.
- [18] M. Welna, A. Szymczycha–Madeja, P. Pohl, *Analytical Methods*, 2017, **9**(5), 871.
- [19] B. Deng, X. Xu, Y. Xiao, P. Zhu, et al., *Analytica Chimica Acta*, 2015, **853**, 179.
- [20] M. Thompson, B. Pahlavanpour, S. Walton, G. Kirkbright, *The Analyst*, 1978, **103**(1227), 568.
- [21] R. McLaughlin, I. Brindle, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2002, **17**(11), 1540.
- [22] A. Asfaw, G. Wibetoe, G. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2006, **21**(10), 1027.
- [23] A. Asfaw, G. Wibetoe, G. (2005). *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2005, **382**(1), 173.
- [24] H. Matusiewicz, M. Ślachciński, *Microchemical Journal*, 2007, **86**(1), 102.
- [25] E. Ritschdorff, N. Fitzgerald, R. McLaughlin, I. Brindle, *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2005, **60**(1), 139.
- [26] M. Guerrero, E. Alonso, J. Pavón, M. Cordero, et al. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2016, **31**(4), 975.
- [27] C. Tanabe, H. Hopfer, G. Gilleland, A. Liba, et al., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2016, **31**(6), 1223.
- [28] M. Welna, P. Pohl, A. Szymczycha–Madeja, *Food Analytical Methods*, 2019, **12**(2), 581.
- [29] K. Al–Assaf, J. Tyson, P. Uden, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2009, **24**(4), 376.
- [30] E. Barrientos, K. Wrobel, J. Torres Guzman, A. Corrales Escobosa, et al., *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2016, **31**(1), 203.
- [31] J. Proch, P. Niedzielski, *Talanta*, 2020, **208**, 120395
- [32] J. Proch, P. Niedzielski, *Talanta*, 2021, **231**, 122403
- [33] J. Proch, P. Niedzielski, *Analytica Chimica Acta*, 2021, **1147**, 1.
- [34] M. Sánchez, L. Sabio, N. Gálvez, M. Capdevila, et al., *IUBMB Life*, 2017, **69**(6), 382.
- [35] M. Grotti, A. Terol, J. Todolí, *Trac Trends in Analytical Chemistry*, 2014, **61**, 92.
- [36] P. Janvion, S. Motellier, H. Pitsch, *Journal of Chromatography A*, 1995, **715**(1), 105.
- [37] N. Cardellicchio, P. Ragone, S. Cavalli, J. Riviello, *Journal of Chromatography A*, 1997, **770**(1–2), 185.
- [38] H. Kaasalainen, A. Stefánsson, G. Druschel, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 2016, **96**(11), 1074.

- [39] C. Ashworth, C. Weller, G. Frisch, *Journal of Separation Science*, 2019, **42**(15), 2517.
- [40] A. McCormack, S. Tong, W. Cooke, *Analytical Chemistry*, 1965, **37**(12), 1470.
- [41] K. Fernsebner, J. Zorn, B. Kanawati, A. Walker, et al., *Metallomics*, 2014, **6**(4), 921.
- [42] N. Solovyev, M. Vinceti, P. Grill, J. Mandrioli, et al., *Analytica Chimica Acta*, 2017, **973**, 25.
- [43] M. Mulugeta, G. Wibetoe, C. Engelsen, W. Lund, *Journal of Chromatography A*, 2010, **1217**(40), 6186.
- [44] E. Cardozo Junior, C. Morand, *Journal of Functional Foods*, 2016, **21**, 440.
- [45] R. Pardino, P. Dalla Vecchia, A. Mendes, C. Bizzi, et al., *Food Chemistry*, 2018, **263**, 37.
- [46] J. Proch, A. Orłowska, P. Niedzielski, *Foods*, 2021, **10**, 2925.

Praca wpłynęła do Redakcji 14 listopada 2024 r.

