

METODY ROZKLADU BIOLOGICKÝCH MATERIÁLŮ PRO STANOVENÍ STOPOVÝCH PRVKŮ*

PAVEL MADER^a a EVA ČURDOVÁ^b

^aKatedra chemie, Česká zemědělská univerzita, 165 21 Praha 6 – Suchbát, ^bÚstav analytické chemie, Vysoká škola je chemicko-technologická, Technická 5, 166 28 Praha 6

Došlo dne 9.I.1997

Obsah

1. Úvod
2. Klasifikace metod rozkladu vzorků s organickou maticí
3. Suchý rozklad
4. Mokřý rozklad
5. Porovnání různých verzí suchého a mokřého rozkladu
6. Ostatní způsoby rozkladu
7. Závěr

1. Úvod

Při stanovení prvků v biologických i jiných materiálech destruktivními technikami je rozklad vzorku významnou součástí bloku analytických operací, kterému souhrnně říkáme příprava vzorku k měření („sample preparation“). Mnoho dnes používaných analytických měřicích technik vyžaduje vzorek v tekuté formě a pokud možno s dokonale odstraněnou organickou osnovou. Smyslem takové úpravy vzorku je dosažení jeho vhodnější konzistence, snížení viskozity a zvýšení homogenity (fyzikální hlediska). Ještě důležitější jsou hlediska chemická, především uvolnění analytu z různých vazeb a forem a odstranění složek, které mohou při měření interferovat. Požadavky na stupeň odstranění organické osnovy vzorku se přitom u jednotlivých měřicích technik značně liší. U tzv. nedestruktivních technik (např. instrumentální neutronová aktivační analýza) se při měření pracuje s původním vzorkem, ze kterého je třeba pouze odstranit vodu. Další skupina metod rovněž aplikuje

do měřicího přístroje alikvotní podíl původního vzorku, ten je však před krokem měření rozložen v měřicím přístroji.

Nejznámějším takovým případem v českých laboratořích je přístroj AMA-254 pro stanovení rtuti. Po navázání je vzorek v přístroji vysušen, spálen v proudu kyslíku a až poté následuje krok měření. Obdobně u metody „direct sampling

ETA-AAS“ je do grafitové kyvety aplikován alikvotní podíl původního vzorku (např. biotický vzorek jater) o hmotnosti několika miligramů, ten je přímo v kyvetě vysušen a tepelně rozložen, načež následuje krok měření¹. Konečně metoda ICP-OES umožňuje aplikovat do zmlžovače suspenzi původního vzorku (udržuje se v homogenním stavu pomocí ultrazvuku), jehož osnova se odstraní až v argonovém plazmatu účinkem vysokých teplot (8000 až 10 000 K). Jedná se tedy o metody destruktivní, v nichž je však krok rozkladu biologického materiálu uskutečněn přímo v měřicím přístroji, tedy *in situ*. U metody ICP-OES k rozkladu dochází přímo při kroku měření v argonovém plazmatu, u metod „direct sampling ETA-AAS“ a AMA-254 bezprostředně před ním. Ze skupiny technik destruktivních má relativně malé požadavky na odstranění organické osnovy vzorku technika plamenové AAS. Nejnáročnější v tomto směru jsou některé verze metod elektroanalytických, zejména anodická rozpouštěcí voltametrie a adsorpční rozpouštěcí voltametrie (podrobně diskutujeme tuto problematiku na str. 522 a 523 naší publikace²).

Za stěžejní práce věnované problematice rozkladu biologických i jiných materiálů je třeba považovat monografie Gorsucha³ z r. 1970 a Bocka⁴ z r. 1979. Početnou řadu přehledných referátů zabývajících se rozkladem biologických materiálů publikovaných v 80. a 90. letech zahajuje práce Sansoniho a Pandaye⁵ z r. 1981 a prozatím ukončují dva přehledné referáty Hoeniga a spolupracovníků^{6,7}.

2. Klasifikace metod rozkladu vzorků s organickou maticí

K tomu, aby mohl proběhnout rozklad organické hmoty, je nutné překonání vysoké aktivační energie při její destrukci.

* předneseno na XXX. semináři o metodice stanovení a významu stopových prvků v biologickém materiálu (Karlík 3.-5.9.1996)

Podle použitého postupu se metody rozkladu biologických vzorků dnes dělí na tři základní skupiny: (a) Metody rozkladu na suché cestě; (b) metody rozkladu na mokré cestě; (c) ostatní metody rozkladu. K podrobnějšímu dělení lze použít schématu uvedeného v tabulce I.

Tabulka I

Přehled metod rozkladu používaných v prvkové analýze biologických materiálů⁵

1. Suchý rozklad
 - 1.1. Vysokoteplotní suchý rozklad
 - 1.1.1. Muflová pec
 - 1.1.2. Proud vzduchu/kyslíku v zahřáté trubici
 - 1.1.3. Nádoba s kyslíkem při atmosférickém tlaku
 - 1.1.4. Spalování v kyslíkovodíkovém plameni v uzavřeném a chlazeném systému
 - 1.1.5. Spalování ve vysokotlaké bombě
 - 1.1.6. Proud plynu při vysokém tlaku a teplotě
 - 1.2. Nízkoteplotní suchý rozklad
 - 1.2.1. Radiofrekvenční plazma
 - 1.2.2. Mikrovlnná plazma
 - 1.2.3. Nízká teplota, vysoký tlak
2. Mokrá rozklad
 - 2.1. Vysokoteplotní mokrá rozklad
 - 2.1.1. Oxidující minerální kyseliny při normálním tlaku
 - 2.1.2. Peroxid vodíku při normálním tlaku
 - 2.2. Nízkoteplotní mokrá rozklad
 - 2.2.1. OH radikály z Fentonova činidla $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe}^{2+}$
 - 2.2.2. Mokrá rozklad v mikrovlnné troubě
3. Ostatní techniky rozkladu
 - 3.1. Oxidační tavení
 - 3.2. Oxidace parami
 - 3.3. Redukční rozklad
 - 3.3.1. Vodík při vysoké teplotě
 - 3.3.2. Jiná činidla
 - 3.4. Rozklad halogeny
 - 3.5. Enzymový/hydrolytický rozklad
 - 3.6. Rozklad zářením

3. Suchý rozklad

Klasický suchý rozklad. Jak správně říká Boardman v předmluvě ke knize⁸, jedná se o zdaleka nejstarší způsob

rozkladu biologických a organických materiálů, velmi populární již v době předalchymistické, i když tehdy nebyl využíván k analytickým účelům. Dnes prováděný klasický suchý rozklad můžeme definovat jako rozklad na vzduchu, v otevřeném systému a při atmosférickém tlaku. Celý postup sestává ze čtyř základních kroků - sušení, zuhelnění, zpopelnění a loužení popela, které jsou doplněny přidávkou pomocného činidla a často i krokem opakovaného zpopelnění².

K sušení lze použít laboratorní horkovzdušné sušárny, lyofilizátoru, ale také topné desky (vhodná zvláště pro vzorky s vysokým obsahem vody). Při zuhelnění je vzorek vystaven teplotám mezi cca 200 °C a 400 °C. Je to vůbec nejkritičtější část klasického suchého rozkladu. Hlavními důvody jsou jednak silně exotermní charakter rozkladných procesů a dále špatný odvod tepla z místa jeho vzniku. Podrobně se diskutuje tato situace v práci⁹. Klíčem k úspěchu je převedení kroku zuhelnění z muflové pece na topnou desku a dále vhodně zvolený teplotně-časový režim. Lze použít buď velmi pozvolného nárůstu teploty, nebo rychlejšího nárůstu s řadou časových prodlev. Zpopelnění biologických vzorků pro stanovení stopových prvků se provádí při teplotách nejméně 450 °C a nejvýše 550 °C. Velká většina autorů² zpopelňuje mezi 450 °C a 500 °C. Cílové teploty je opět dosaženo pozvolným nárůstem a zpopelňuje se obvykle přes noc (10-16 hod). K loužení popela se nejčastěji používá zředěných minerálních kyselin HCl a HNO_3 . Starší postupy zvyšovaly účinnost loužení zahříváním vzorku, aplikací malého množství koncentrované kyseliny v první fázi loužení, mechanicky (mícháním skleněnou tyčinkou) apod. Většinu těchto podpůrných operací účinně nahradí ponoření nádobky s popelem a loužicím činidlem do ultrazvukové lázně¹⁰. Vyšší koncentrace kyseliny je však nezbytná při loužení popela rostlin s vysokým obsahem Mn, jako jsou např. zelené řasy¹¹, protože spalováním vzniklý MnO_2 je k silně zředěným kyselinám poměrně rezistentní.

Prakticky bez výjimky se při klasickém suchém rozkladu zařazuje do celkového postupu tzv. pomocné činidlo („ashing aid“). Nejčastější funkcí tohoto pomocného činidla je zvýšení účinnosti rozkladu; k tomu slouží různé látky s oxidačními schopnostmi, např. HNO_3 , $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ apod. Pomocné činidlo však může mít více funkcí. Tak např. H_2SO_4 nebo K_2SO_4 mají za úkol převést analyt (např. Pb) do méně těkavých forem. Přídavek síranových iontů však musíme vyloučit, má-li být stanoveno olovo ve vzorku s vyšším obsahem vápníku, protože vznik směsných síranů Pb a Ca (případně Ba) vede ke značným ztrátám olova¹². Některá pomocná činidla mají pouze funkci inaktivního

diluentu, jehož úkolem je potlačit interakci analytu se stěnami reakční nádoby. Literatura za posledních deset let ukazuje, že v použití pomocného činidla při klasickém suchém rozkladu došlo k určitému vytříbení. Asi polovina postupů aplikuje pomocné činidlo po vysušení vzorku před zahájením zuhelnňování; v tomto případě se nejčastěji jedná o několik mililitrů 10 %-ního vodného roztoku $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Druhá polovina aplikuje pomocné činidlo až po skončeném zpopelnění; zde se pak jedná téměř výlučně o samotnou HNO_3 (např. 1 ml konc. kyseliny). Vzhledem k tomu, že popel rostlinných materiálů obsahuje téměř vždy určité množství uhličitánů (až několik desítek procent¹³), vytvoří se dusičnany *in situ*. Opakované zpopelnění lze pak *defacto* chápat jako alkalicko-oxidační tavení.

Jednou z výhod prvního postupu je, že vzniklý popel je objemný, což je příznivé pro současné potlačení interakce analytu se stěnami reakční nádoby. Vysoké koncentrace $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ však při stanovení metodou ETA-AAS velmi rychle zkracují životnost kyvet, a to i při stanovení tak snadno atomizovatelného prvku, jakým je Cd^{14} .

Výhodou druhého postupu je to, že není nutno kupovat drahou sůl čistoty „suprapure“, neboť kyseliny, a z nich zejména HNO_3 , lze snadno vyčistit do vysokého stupně čistoty destilací pod bodem varu. Čistota komerční kyseliny kategorie p.p., tj. pro polovodiče (u nás v současné době označovaná jako ch.č., tj. chemicky čistá), je pro potřeby stopové analytiky v řadě případů dostačující. Aplikace kyseliny v této fázi má další výhodu v tom, že při ní dochází k prolomení krusty, která se někdy na povrchu mineralizovaného vzorku vytvoří a která brání přístupu kyslíku ze vzduchu ke zbytkům dosud neúplně rozloženého vzorku. Ve starších pracích je za tímto účelem doporučováno přerušení kroku zpopelnění a mechanické rozrušení krusty pomocí skleněné tyčinky. Tím ovšem značně stoupá riziko kontaminace vzorku.

Spalování v muflové peci je možné použít i pro zakoncentrování stopových kovů v rostlinných materiálech¹⁵. Předspálení vzorků při teplotách 400–800 °C po dobu 30 minut má za následek 5–50tinásobný úbytek hmotnosti (podle typu materiálu a dosažené teploty). Autoři Atsuya, Minami a Zhang¹⁵ použili předspálené vzorky pro přímé stanovení Co, Mn, Ni a Pb metodou ETA-AAS na přístroji Hitachi Z-8000 s grafitovým kelímkem pro dávkování tuhých vzorků. Dosáhli dobré shody s certifikovanými hodnotami u rostlinných referenčních materiálů NIST s výjimkou Pb, kde byly výsledky poněkud nižší, přesto však v toleranci. Výsledky bylo nutné vyhodnocovat metodou

Moderní verze suchého rozkladu pracují v uzavřeném nebo polouzavřeném systému a často v atmosféře kyslíku nebo směsi plynů (ozón, oxidy dusíku, halogeny). Tzv. nízkoteplotní zpopelnění (low temperature ashing, LTA) probíhá při nízkém tlaku elektronově excitovaného kyslíku. V nízkoteplotním vysokofrekvenčním (10–50 MHz) plazmatu vytvořeném v kyslíku za tlaku 100–1 000 Pa dosahuje teplota elektronů až 20 000 K při teplotě neutrálních atomů a molekul 100–300 °C a iontů do 1 000 °C. Excitované molekuly, atomy a případně ionty kyslíku reagují přímo s uhlíkem molekul povrchu vzorku za vzniku CO_2 . Podobně reaguje kyslík s dalšími atomy (S, P, H) obsaženými v destruovaných molekulách povrchu vzorku. Mineralizace probíhá pouze na povrchu materiálu, a to i v dutinách porézních materiálů, do kterých mohou difundovat metastabilní molekuly a atomy kyslíku. Proto proběhne např. dokonalé spálení obilíků pšenice či semen smrku nebo borovice i bez jejich rozdrčení. Čistě bílý popel zůstává ve tvaru původních zrn a je dobře rozpustný ve zředěných kyselinách a mnohdy i ve vodě. Dobře se mineralizují vzorky živočišných tkání, pokud byly vysušeny lyofilizací nebo vakuově. Vzorky tkání sušených za zvýšené teploty se spalují obvykle obtížně. Obtížně se také mineralizují materiály, které tvoří na svém povrchu sklovitou vrstvu (např. karamelizované cukry při vyšším výkonu generátoru). Jisté problémy vznikají u vzorků s malým obsahem popela, kde po spalování nezůstane na lodičce viditelný zbytek, např. při spalování celulózy či aktivního uhlí. V těchto případech je nutné zpracovat vzorek např. s přídavkem Na_2SO_4 či $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ (cit. ^{16,17}). Obecně je předností metody LTA velmi nízká úroveň kontaminace vzorku a minimální ztráty těkavých prvků (As, Se), nedostatkem je nutnost pracovat s malými navážkami vzorků a velmi dlouhá doba rozkladu. Opačným přístupem je spalování vzorků v kyslíku za vysokého tlaku (analogie kalorimetrické bomby). Komerční zařízení obou typů vyrábí např. firma Anton Paar v Grazu (Rakousko); podrobně jsou popsána v práci¹⁸. Dalším příkladem moderní verze suchého rozkladu je již výše zmíněný jednoúčelový přístroj AMA-254 pro stanovení rtuti. Přístroj je založen na principu generace par kovové rtuti s jejich následným zachycením a obohacením v amalgamátoru. Po vysušení je vzorek spálen v proudu kyslíku ve spalovací pídce při atmosférickém tlaku. Spaliny jsou vedeny katalytickou pecí, kde se dokončí jejich oxidace a na bazických složkách katalyzátoru se zachytí oxidy dusíku a síry. Produkty spalování jsou vedeny proudem kyslíku přes amalgamátor, v němž je zachycena rtuť. Následným ohřevem amalgamátoru na vy-

sokou teplotu se zadržená rtuť uvolní do tandemových na většinu našich pracovišť jen obtížně splnitelné. Tvzení, měřících kyvet¹⁹.

Ojedinělý způsob mineralizace využívá zařízení firmy Tessek Praha s názvem Dry Mineralizer Apion²⁰, které bylo uvedeno na náš trh v r. 1987. Postup spočívá v kombinaci teplotního rozkladu v rozmezí teplot 300 až 400 °C a zavádění superoxidační směsi plynů $O_2 + O_3 + NO_x$ do nádobek se vzorkem. Vedlejším produktem reakcí je čistá HNO_3 , kterou je možno použít k následnému loužení vzniklého popela. V přístroji je možno zpracovávat pevné, ale i kapalné či polotuhé materiály, jako např. tělní tekutiny, tkáň atd., které je možno před vlastním rozkladem vysušit, odplynit a odpařit přímo v hliníkovém bloku pomocí teplotního programu. Výhodou je řízené spalování a posun reakční rovnováhy k zisku mineralizačních produktů neustálým přívodem čerstvé směsi plynů za současného odvodu plyných produktů mineralizace. To umožní získat popel, jehož mikrostruktura je tvořena jen málo porušenou strukturou původního vzorku a je příznivá pro následné rozpouštění²¹. Díky nízké teplotě spalování jsou silně potlačeny ztráty těkavých prvků, a také retence analytu do nerozpustného silikátového zbytku, který vzniká při suchém rozkladu některých rostlinných materiálů. Jak ukázali např. Hoenig a Vanderstappen²², tato retence může dosahovat několika procent a významně roste se vzrůstající teplotou zpopelnění.

4. Mokřý rozklad

Klasický mokřý rozklad se provádí ve směsi koncentrovaných minerálních kyselin za zvýšené teploty a při atmosférickém tlaku. Biologická matrice je oxidována příslušnými činidly a probíhající chemické reakce lze popsat dvěma kroky. Nejprve je rozrušena struktura matrice kyselinou hydrolyzou a její meziprodukty jsou následně oxidovány. Rychlost reakce je závislá na reakční teplotě a na event. přidaných katalyzátorech (např. sloučenin V nebo Mo). Rozklad probíhá za nižších teplot nežli u suchého rozkladu, neboť maximální teplota je určena bodem varu oxidačních činidel či jejich směsí. Jako oxidační činidla jsou nejčastěji používána především samotná HNO_3 a reakční směsi: HNO_3/H_2O_2 , HNO_3/H_2SO_4 , $HNO_3/HClO_4$, $HNO_3/HClO_4/H_2SO_4$ (lit. 6,23,24). Zdaleka neúčinnější jsou směsi obsahující $HClO_4$ při vyšších teplotách. Bohužel práce s kyselinou chloristou vyžaduje přísné respektování všech pravidel bezpečné práce s touto kyselinou²⁵, což je

většinu našich pracovišť jen obtížně splnitelné. Tvzení, že exploze nehrozí, pokud pracujeme s malým množstvím $HClO_4$ (0,2 ml na 100–150 mg vzorku)²⁶ je diskutabilní, neboť páry se mohou usazovat v odtahu a na stěnách digestoře a k explozi může dojít po čase i při běžné práci v laboratoři.

Kvalitní postupy pro rozklad mnoha biologických a organických materiálů ve směsi $HNO_3 + HClO_4$ uvádí Frank²⁷. Velmi užitečná je pro rozklad řady rostlinných materiálů s vysokým¹¹ či zvýšeným²⁸ obsahem křemíku kyselina fluorovodíková. V kombinaci s HNO_3 nebo se směsí $HNO_3 + H_2O_2$ či $HClO_4$ ji používá řada autorů^{6-29,31}. Podrobně se vlivem HF na rozklad rostlinných materiálů zabýval Bartels²⁸ při ověřování rozkladu CRM 100 Beech Leaves (0,8 % Si) a CRM 101 Spruce Needles (0,9–1,1 % Si). U těchto materiálů byla bez přídavku HF ztráta při stanovení hliníku více než 35 % a při stanovení Mg kolem 8 %. Menší ztráty byly zaznamenány i při stanovení Fe a Ca. Rozklad s HF byl úplný.

Mokřý rozklad může probíhat:

- A) v otevřeném systému s konvenčním ohřevem (např. kovový blok, topná deska) nebo s mikrovlnným ohřevem (např. STAR System 2),
- B) v uzavřeném systému s konvenčním ohřevem (např. High Pressure Asher) nebo s mikrovlnným ohřevem (např. PMD, Plazmatronika BS 1).

Mokřý rozklad v otevřeném systému pro mineralizaci biologického materiálu používá klasické nádoby (kádky, Erlenmeyerovy a Kjeldahlovy baňky s kulatým dnem). Konvenčním ohřevem jsou označovány zdroje tepla s termostatem elektricky vyhřívané, např. písková lázeň, kovový vyhřívávací blok, horkovzdušná sušárna, topná deska, topné hnízdo, IČ lampa. Ohřev reakční směsi je zajištěn konvekcí nebo radiací. Tento způsob přímého ohřevu je energeticky i časově náročný, neboť než začne probíhat vlastní rozkladný proces, musí se zahřát rozkladná aparatura. Po ukončení rozkladu je nutno počítat s časovou prodlevou pro chlazení celého rozkladného systému. Mokřý rozklad v otevřeném systému prováděný pod zpětným chladičem podstatně snižuje spotřebu reakčních činidel a snižuje možnost ztrát analytu.

Mokřý rozklad v otevřených nádobkách pod zpětným chladičem využívající moderního způsobu ohřevu a to mikrovlnného zařízení byl uplatněn např. u rozkladné jednotky STAR System (CEM, USA). Předností tohoto automatického rozkladného systému je možnost samostatného programování postupu rozkladu pro každou rozkladnou nádobku zvlášť, nezávisle na ostatních. To dává možnost

současného rozkladu šesti různých materiálů podle šesti různě definovaných režimů. Nevýhodou, jako ostatně u všech postupů, mokrého rozkladu je velká spotřeba reakčních činidel. Předností je možnost vyšší navážky vzorku a to až několika gramů. Mineralizace biologických materiálů se v poslední době provádí rovněž v otevřeném systému s fokusovaným mikrovlnným polem jako zdrojem energie pro rozklad vzorku (Prolabo A301)³². Toto zařízení automaticky zpracovává vzorek (o navážce 0,2–2,0 g sušiny) během 20–50 min a kontinuálně přidává reagentie v průběhu mineralizace.

Rozklad v uzavřeném systému je obecně mnohem výhodnější než konvenční mokrý rozklad v otevřeném systému, neboť umožňuje zabránit ztrátám těkavých prvků, téměř zamezit kontaminaci z vnějších zdrojů (dosahuje se nízkých hodnot slepých vzorků) a v neposlední řadě se u těchto postupů snižuje spotřeba reakčních činidel. Důležitým kritériem pro rozklad vzorku v uzavřeném systému s HNO_3 je úplnost oxidačního procesu. Byla zkoumána závislost účinnosti rozkladu biologického materiálu na teplotě³³. Aplikace vysoké teploty při mokřím rozkladu je podmíněna prací v uzavřeném systému, kde vzrůstá tlak. Rozklad za vysoké teploty (300 °C) v uzavřeném systému v křemenných nádobkách se provádí např. v komerčně vyráběné aparatuře HPA (High Pressure Asher, Anton Paar, Rakousko), kde je automaticky kontrolována hodnota teploty a průběh celého procesu je možné řídit a sledovat pomocí počítače. Křemenné nádobky (5 nebo 7) jsou umístěny do hliníkového bloku vyhřívaného konvenčním způsobem podle zvoleného teplotně-časového programu pod tlakem až 14 MPa. Rozklad v HPA je jedním z nejúčinnějších a nejuniverzálnějších způsobů mokrého rozkladu v uzavřeném systému s klasickým způsobem ohřevu²⁹.

Nevýhody přímého vyhřívání odstraňuje mikrovlnný způsob ohřevu reakční směsi v otevřeném i v uzavřeném systému. Mikrovlnné elektromagnetické záření (v oblasti frekvence 300 MHz až 300 GHz) vyvolává vibraci molekul díky pohybu iontů a rotaci dipólů, ale beze změn struktury molekul. Mikrovlnné záření se generuje magnetronem³⁴ a v analytické chemii se používá povolená frekvence 2450 MHz, což odpovídá délce vlny okolo 12 cm a výstupnímu výkonu rezonátoru mezi 600 až 700 W (lit.³⁵). Tento výběr pracovní frekvence se ukázal jako optimální z hlediska absorpce energie v materiálech o různém chemickém složení. Efektem absorpce mikrovlnné energie v objemu látky je především vzrůst teploty vzorku. Díky specifickým vlastnostem mikrovlnného záření dochází k ohřevu rozkladné směsi kyselin a vzorku mnohem rychleji a účin-

něji³⁶. Stěny nádobek se primárně nezahřívají, ale ohřev nastává přímo ve směsi rozkládaného materiálu interakcí mikrovlnného záření a absorbujícího prostředí (molekulami vzorku). Generování mikrovlnného záření a popis šíření jeho vln v prostředí jsou uvedeny v pracích^{34,35}.

Výhody mikrovlnného rozkladu lze shrnout do těchto bodů:

- zvýšení ekonomické efektivity díky výraznému zkrácení doby rozkladu vzorků, úspoře kyselin a energie potřebné na rozklad, v důsledku toho je dosaženo i vyšší denní kapacity laboratoře,
- snížení kontaminace slepého vzorku v důsledku nižší spotřeby činidel a zkrácení doby působení okolního prostředí na vzorek.

V praxi se využívá dvou typů mikrovlnných zařízení. U přístrojů s rozptýleným polem mikrovlnné energie je množství energie místně proměnné, takže mikrovlnná pec je vybavena rotorem s reakčními nádobkami. Rotace během rozkladu zajistí stejnoměrnou dodávku energie do všech nádobek. Druhým typem jsou přístroje s fokusovaným mikrovlnným polem, u kterých se energie přivádí pomocí speciálního vlnovodu přímo do místa, kde dochází k rozkladu vzorku. Tento systém přenosu energie umožňuje výrazně zvýšit teplotu mineralizace při celkové úspoře energie³⁵.

Nádoby používané v mikrovlnných rozkladných zařízeních musí být z takového materiálu, který zajistí nízkou ztrátu mikrovlnné energie. Podle interakce s mikrovlnným zářením rozdělujeme látky do několika skupin a to na látky odrážející mikrovlnné záření (kovy), látky propouštějící mikrovlnné záření (různé plasty, křemen, sklo) a látky pohlcující mikrovlnné záření (zejména voda a roztoky kyselin), u kterých interakcí hmoty a mikrovlnného záření vzniká teplo³⁴. Z hlediska propustnosti mikrovlnného záření jsou výhodné fluoroplasty, tavený křemen a sklo. Při výběru materiálu pro rozkladné nádobky se musí pečlivě zvážit jejich chemická a tepelná odolnost (PTFE až do 250 °C, PFA až do 250 °C, FEP až do 200 °C, křemenné sklo, u kterého prakticky neexistuje omezení teplotou rozkladu za atmosférického tlaku, se však používá do 320 °C)^{6,37–41}. Bylo ověřeno, že při tlakovém rozkladu v autoklávu s ocelovým pláštěm může pronikat do teflonové vnitřní nádoby Fe, Co, Ni, Cu, Cr a Mo, což je nutno brát v úvahu ve stopové analýze²⁸.

Technika mikrovlnného rozkladu je podrobně popsána v monografii⁸, komerční zařízení např. v práci¹⁸. Velmi podrobně se mokřím rozkladem v otevřených i uzavřených systémech s konvenčním i mikrovlnným ohřevem zabývá

Knapp^{29,41,42}. Podává přehled užívaných činidel (tabulka II) a sleduje i zbytkový obsah uhlíku po rozkladu vzorků s organickou matricí, který se pohybuje v rozmezí 0,2-27 % (tabulka III). Úplné destrukce organické matrice⁴² při použití koncentrované HNO_3 je dosaženo až při teplotě vyšší než 280 °C.

Fokusovaného mikrovlnného záření využívá minerali-

zační jednotka Plazmatronika BM-1S (PL). Rozklady probíhají za vysokého tlaku ve speciálních PTFE nádobkách umístěných v ocelových hlavicích. Jednotka je chlazená vodou.

Rakouská firma Anton Paar s dlouholetou tradicí a řadou patentů uplatněných při výrobě mineralizačních jednotek nedávno rozšířila svoji nabídku o další mineralizátor

Tabulka II

Přehled užívaných činidel při mokřém rozkladu⁴¹

Činidlo	Matrice	Poznámky
$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HNO}_3$	univerzální	nejčastěji používané; možná těkavost Se, Hg, As, Ge atd.
$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$	univerzální	ztráty Pb koprecipitací s CaSO_4 ; ztráty Ge, As, Ru, Hg, Se a mnoha dalších prvků
HNO_3	biol. mater. ^a	HNO_3 se snadno čistí, rozpustné nitráty kovů, neúplný rozklad
$\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$	biol. mater. ^a	rychlá metoda rozkladu pro malé vzorky
HClO_4	biol. mater. ^a	nebezpečí exploze
$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HClO}_4$	univerzální	vhodná pro malé vzorky, nebezpečí exploze
$\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HClO}_4 + \text{HNO}_3$	univerzální	s přísnou kontrolou teploty bez problémů; As, Sb, Hg, Fe aj. těkají
$\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$	biol. mater. ^a	méně explozivní, žádné ztráty Pb
$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{Fe}^{2+}$	biol. mater. ^a	rozklad OH radikály, nízká teplota rozkladu (100 °C), tudíž malé nebezpečí
$\text{HClO}_3 + \text{HNO}_3$	biologické materiály	vytékání prvků, vhodné pro velké vzorky
$\text{HNO}_3 + \text{HCl}$		velký oxidační potenciál, žádné riziko exploze, žádné ztráty těkavých prvků jako Hg, As, Se, I
HF	silikáty	lučavka královská
HF + HNO_3	silikáty a organické materiály	
HF + HNO_3 + HCl	silikáty a organické materiály	

^a Biologické materiály

Tabulka III

Charakteristické parametry rozkladných tlakových jednotek⁴²

Mineralizátor Výrobce	HPA A. Paar	MDS-205 CEM	SUPER - DIGEST Prolabo/A. Paar	PMD A. Paar
Objem nádoby	70 ml	100 ml	80 ml	30 ml
Materiál nádoby	křemen	PFA	křemen, PFA	křemen, PFA
Počet nádobek	5	12	1-4	2
Tlak	až 12 MPa	až 1,38 MPa	4 MPa	8 MPa
Navážka biol. vzorku	1,0 g	0,5 g	0,8-1,0 g	0,25 g
HNO_3 (65%)	5 ml	5 ml	6 ml	2 ml
Doba rozkladu	90 min	5-10 min	5-10 min	5 min
Doba chlazení	60 min	10 min	10 min	10 min
Zbytkový uhlík	< 0,5 %	10-27 %	3-15 %	0,2-10 %

Multiwave System. Toto mineralizační zařízení využívá mikrovlnného záření k destrukci matrice za vysokého tlaku. Tlak a teplota jsou kontrolovány senzory ve všech šesti rozkladných nádobkách, které jsou buď z křemenného skla (teplotní a tlakový limit 300 °C a 7,5 MPa), nebo z TFM (chemicky modifikovaný PTFE, teplotní a tlakový limit 240 °C a 3,5 MPa). Zařízení je chlazeno vzduchem.

Některé typy přístrojů pro mikrovlnný rozklad umožňují po ukončení rozkladného procesu odpařit nadbytečné množství reakční směsi minerálních kyselin (např. Plazmatronika BS-1 a MLS 1200 MEGA, Milestone)⁴³. Tyto přístroje jsou vybaveny odpařovacím systémem a vzorek lze odpařit do minimálního objemu; pak následuje jeho kvantitativní převedení do odměrné baňky. Tímto krokem se sice prodlouží doba přípravy vzorku, ale odstraní se nadbytečné množství kyselin a tak se sníží jejich možné interference při použití některých měřicích technik. Vzorek není třeba tak výrazně ředit za účelem snížení kyselosti roztoku a tak se zvýší citlivost stanovení.

Tlakový rozkladný systém PMD s mikrovlnným ohřevem a tlakem řízenou kontrolou zahřívání je určen pro rychlý, bezpečný a spolehlivý rozklad různých typů vzorků v uzavřené křemenné nebo v teflonové nádobce. Tato mineralizační jednotka byla použita v práci⁴⁴ a kvalita rozkladu byla testována jak na modelových vzorcích, tak na biologických CRM. Po rozkladu vzorků v PMD systému za různých pracovních podmínek byly digeráty použity pro stanovení kadmia, olova a mědi metodou bezplamenové AAS a DPASV. Účinnost rozkladu organické matrice byla kontrolována pomocí modelových vzorků vybraných aminokyselin a zaznamenáním voltametrických křivek v roztocích jejich mineralizátů⁴⁴. V další práci⁴⁵ hodnotící tento rozkladný systém PMD byl testován vliv navážky vzorku, množství oxidačního činidla (HNO_3), doba a tlak během rozkladu a to za použití SRM 1577a (hovězí játra). Kvalita rozkladu SRM byla hodnocena také obsahem zbytkového organického uhlíku v mineralizátu.

Krachler et al. ve své práci⁴⁶ testovali dva mikrovlnné systémy rozkladu (otevřený fokusovaný – Prolabo Microdigest A 301 a uzavřený tlakový MLS 1200 MEGA) pro mineralizaci lidského mozku a SRM 1577a jako krok předcházející stanovení 16 prvků (Bi, Cd, Co, Cs, Cu, Fe, Hg, Mn, Mo, Pb, Rb, Sb, Sn, Sr, Tl a Zn) metodou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem. Parametry rozkladu (navážka vzorku, reakční směs a výkon/čas) byly optimalizovány užitím teplotních a tlakových čidel. Mineralizační jednotka s otevřeným fokusovaným mikrovlnným systémem vyžadovala na rozklad větší množství konc.

HNO_3 a H_2O_2 nežli rozklad probíhající v uzavřeném tlakovém systému. Oba systémy poskytovaly správné výsledky pro certifikovaný referenční materiál. Výsledky získané po rozkladu v otevřeném fokusovaném systému byly méně přesné než výsledky získané v MLS 1200 MEGA.

Techniky mikrovlnného rozkladu při přípravě vzorků se využívají pro rozličné typy materiálů, především pro biologický materiál, ale i pro materiál geologický, kovový, pro zpracování vzorků ze životního prostředí aj. Přehlednými a podrobnými referáty o různých technikách mikrovlnného rozkladu aplikovaných na různé typy materiálů a následné stanovení řady prvků jsou např. práce^{47–48}.

Tlakový rozklad s konvenčním nebo mikrovlnným ohřevem je vhodný jako součást analytického postupu pro stanovení prvků plamenovou i bezplamenovou AAS, ICP-OES, ICP-MS. Tlakové rozklady prováděné kyselinou dusičnou v teflonových nádobkách, pokud nejsou doplněny o další úpravu digerátu např. rozkladem s HClO_4 , nejsou vhodné pro voltametrická stanovení kovů. Pro voltametrická měření se doporučuje zpracovávat biologický vzorek tlakovým rozkladem v křemenných nádobkách za vysoké teploty (nad 280 °C), která umožní úplné odstranění organické osnovy vzorku (např. HPA, PMD)^{39,42}.

5. Porovnání různých verzí suchého amokrého rozkladu

V práci⁴⁹ bylo porovnáno osm různých postupů rozkladu (dva způsoby extrakce, solubilizace, dva způsoby klasického mokrého rozkladu se směsí kyselin $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ a $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{SO}_4$, jeden tlakový rozklad v autoklávu a dva různé způsoby suchého rozkladu; klasický v muflové peci a moderní v LTA) za použití SRM 1577. Koncentrace prvků Cd, Cu, Pb, Mn, Fe a Zn byla stanovena metodou ICP-OES. Tato práce mimo jiné ukázala, že i solubilizace živočišných tkání s vhodným detergentem (tetramethylamonium hydroxid) může být v kombinaci s touto měřicí metodou vhodným způsobem úpravy vzorku. Tato studie je natolik významná, že se stala součástí monografie⁵⁰.

Porovnání klasického suchého rozkladu, mokrého rozkladu na topné desce a rozkladu s mikrovlnným ohřevem při tlaku 575 kPa v systému CEM je provedeno ve studii⁵¹. Při sledování obsahu P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn a Cu metodou ICP-OES došli autoři u všech použitých rostlinných materiálů včetně SRM Citrus Leaves (NIST 1572) ke srovnatelným výsledkům pro použité metody rozkladu.

Sedm různých postupů mineralizace standardních referenčních materiálů provedl Adeloju⁵² jak suchým, tak mokrým

způsobem rozkladu s různými pomocnými činidly i různými kyselinami. Dospěl k závěru, že přímé zpopelnění, případně zpopelnění s $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ či s H_2SO_4 a mokrá mineralizace se směsí $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$ jsou vhodné pro většinu sledovaných prvků včetně olova. Pro tuhé biologické vzorky doporučuje spíše suchý rozklad, pro biologické tekutiny mokrý rozklad. Pro stanovení Cu, Zn, Ni a Co považuje za nejvhodnější mokrý rozklad směsí $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$ a zpopelnění při 450 °C (bez pomocného činidla). Ke stanovení As a Se je vhodný jak mokrý rozklad $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$, tak zpopelnění s přísadkou $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$. Rozklad směsí $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$ nebo zpopelnění s přísadkou H_2SO_4 doporučuje jako optimální postup ke stanovení Cd, Pb a V⁵². Přídavek H_2SO_4 při zpopelnění různých biologických materiálů používá i celá řada jiných autorů (např. ⁵³). Tento rozpor s výsledky práce¹² a dalších je dán patrně velmi různorodým složením rostlinných materiálů a lze tedy jen souhlasit s poznatkem, že příprava vzorku silně závisí na jeho matici a na prvku, který má být stanoven a nelze dát univerzální návod pro rozklad všech biologických vzorků.

7. Závěr

Volba konkrétního postupu při rozkladu biologických vzorků je závislá na řadě významných faktorů. Kromětoho, jakou měřicí techniku máme k dispozici, je třeba vzít v úvahu, jaké konkrétní analyty budeme stanovovat, v jaké matici a na jaké koncentrační úrovni. Různé metody se liší také velikostí navážky, možností potlačení úrovně a variability slepého pokusu, což ovlivňuje mez detekce celého stanovení. Dále je třeba uvážit, k jakému účelu bude analytický výsledek sloužit. Není tedy možné jednotlivé dnes používané metody rozkladu biologických materiálů sestavit do jednoduché řady podle jejich kvality. Při uvážení výše uvedených faktorů se totiž umístění jednotlivých metod v této řadě může významně měnit. Konečná strategie analýzy by proto měla být výsledkem společné úvahy analytického chemika a uživatele vyprodukovaných analytických dat tak, aby konkrétní zvolený postup byl optimální a poskytl požadovanou informaci v požadované kvalitě, termínu a ceně.

6. Ostatní způsoby rozkladu

V českých laboratořích se metod rozkladu biologických materiálů ze skupiny 3 v tabulce I používá jen výjimečně. Přitom i tyto metody mají některé své nezanedbatelné přednosti. Např. enzymový rozklad je schopen zpracovat vzorky o velké hmotnosti (i několik kg), nevýhodou je velká časová náročnost. Ve světě oblíbená fotolýza UV zářením (např. 705 UV Digester, firma Metrohm) se aplikuje především k odstranění organické hmoty ve vzorcích vod nebo nápojů⁵⁵⁻⁵⁶. Ke vzorku je třeba přidat malé množství peroxidu vodíku a ozařovat v křemenných nádobách. Vedle jiných předností má tento postup výhodu i v malém počtu operací a nízké úrovni slepého pokusu. Někdy se UV fotolýza doporučuje pro odstranění zbytků neúplně rozložené organické osnovy biologických vzorků po mineralizaci na mokré cestě⁵⁷.

Poměrně často se používají i kombinace dvou metod rozkladu. Běžným případem je tlakový rozklad následovaný suchým rozkladem odparku tlakového digerátu^{58,59}. Jindy se vzorek nejprve vystaví suchému rozkladu a popel následně rozkládá některým z postupů mokrého rozkladu⁶⁰.

Seznam použitých zkratk a symbolů

AMA	Advanced Mercury Analyzer - analyzátor rtuti
AAS	atomová absorpční spektrometrie
ETA-AAS	bezplamenová atomová absorpční spektrometrie
CRM	certifikovaný referenční materiál
DPASV	diferenční pulsní anodická rozpouštěcí voltametrie
HPA	High Pressure Asher - vysokotlaký mineralizátor
ICP MS	hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
PFA	chemicky modifikovaný PTFE
TMF	chemicky modifikovaný PTFE
IČ	infračervené záření
LTA	low temperature ashing - nízkoteplotní zpopelnění
MLS	Microwave Laboratory System - mikrovlnný laboratorní systém
CEM	název firmy
NIST	National Institute of Standards and Technology
ICP-OES	optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem
FEP	perfluorethylenpropylen

PTFE	polytetrafluorethylen
PMD	Pressure Microwave Digestion - tlakový mikrovlnný mineralizátor
SRM	standardní referenční materiál
UV	ultrafialové záření

LITERATURA

- Langmyhr F. J., Wibetoe G.: Prog. Analyt. Atom. Spectrosc. 8, 193(1985).
- Mader P., Száková J., Čurdová E.: Talanta 43, 521 (1996).
- Gorsuch T. T.: *The Destruction of Organic Matter*. Pergamon Press, Oxford, New York, Toronto, Sydney, Braunschweig 1970.
- Bock R.: *A Handbook of Decomposition Methods in Analytical Chemistry*. Inter. Textbook Co., London 1979. Substances in Biological
- Sansoni B., Panday V. K., v knize: *Analytical Techniques for Heavy Metals in Biological Fluids* (Facchetti S., ed.), str. 91. Elsevier, Amsterdam 1981.
- Hoenig M., Kersabiec A-M.: Spectrochimica Acta, Part B 57, 1297 (1996).
- Hoenig M., Guns M. F., v knize: *Quality Assurance for Environmental Analysis* (Quevauviller Ph., Maier E. A., Griepink B., ed.), str. 63. Elsevier, Amsterdam 1995.
- Kingston H. M., Jassie L. B. (eds.): *Introduction to Microwave Sample Preparation. Theory and Practice*. ACS, Washington, DC. 1988.
- Mader P., Haber V., Zelinka J.: Fresenius J. Anal. Chem., submitted.
- Mader P., v knize: *Pohyb olova, kadmia a rtuti v zemědělské výrobě a biosféře* (Cibulka J., ed.), str. 117. SZN, Praha 1986.
- Mader P., Stejskalová I., Slámová A.: Fresenius J. Anal. Chem. 352, 131 (1995).
- Temminghoff E. J. M., Novozamsky I.: Analyst (London) 117, 23 (1992).
- Scott R. O., Mitchell R. L., Purves D., Voss R. C.: Bull. Spectrochem. Methods 2, 34 (1971).
- Jackson A. P., Alloway B. J.: Int. J. Environ. Anal. Chem. 41, 119(1990).
- Atsuya I., Minami H., Zhang Q: Fresenius J. Anal. Chem. 346, 1054 (1993).
- Otruba V., Kaláček J.: Chem. Listy 97, 64 (1993).
- Otruba V., ve sborníku: *Trendy vývoje AAS a analýza biologických materiálů*, str. 34. Olomouc, 16.-18. září 1996.
- Stockwell P. B., Knapp G.: Internat. Labmate 14 (Issue 5), 47 (1988).
- Čurdová E., Tvrdíková M., v Příloze č. 6/1994: *Acta Hygienica, Epidemiologica et Microbiologica* (Kovář L., ed.), str. 21, SZÚ, Praha 1994.
- Püschel P., Vlasáková A., Formánek Z., Stuchlíková A.: *Book of Abstracts, 5th Czechoslov. Conf. Atom. Spectrosc.*, str. 87. Chlum u Třeboně 1987.
- Dočekalová H., ve sborníku: *Trendy vývoje AAS a analýza biologických materiálů*, str. 39. Olomouc, 16.-18. září 1996.
- Hoenig M., Vanderstappen R.: Analusis 6, 312(1978).
- Ostapczuk P., Stoeppler M., Dürbeck H. W.: Toxicol. Environ. Chem. 27, 49 (1990).
- Angerer J., Fleischer M., Machata G., Pilz W., Stoeppler M., Zorn H., v knize: *Analyses of Hazardous Materials* (Angerer J., Schaller K. H., ed.), str. 2. DFG, Berlin, 1988.
- Anonymus: Analytical methods committee: Analyst (London) 84, 214 (1959).
- Queirolo F., Valenta P., Stegen S., Sanchez A. M.: Electroanalysis 3, 325 (1991).
- Frank A.: Fresenius Z. Anal. Chem. 279, 101 (1976).
- Bartels U.: CLB Chem. Lab. Biotech. 41, 640 (1990).
- Knapp G., v knize: *Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and Biology* (Braetter P., Schramel P., ed.), str. 63. Walter de Gruyter, Berlin 1988.
- Bettinelli M., Baroni U.: Int. J. Environ. Anal. Chem. 43, 33 (1991).
- Matusiewicz H.: J. Anal. At. Spectrom. 6, 283 (1991).
- Korpeľ L., ve sborníku: *Trendy vývoje AAS a analýza biologických materiálů*, str. 37. Olomouc, 16.-18. září 1996.
- Wiirfels M., Jackwerth E., Stoeppler M.: Fresenius Z. Anal. Chem. 330, 159 (1988).
- Šulcek Z., Novák J., Vyskočil J.: Chem. Listy 83, 388 (1989).
- Reszke E., Parosa R., ve sborníku: *Hutní analytika 96*, 16. ročník konference ve Zlatých horách 22.-26. 4. 1996, (2 Theta, ed.) str. 41. Český Těšín 1996.
- Šucman E., ve sborníku: *Trendy vývoje AAS a analýza biologických materiálů*, str. 31. Olomouc, 16.-18. září 1996.
- Wiirfels M., Jackwerth E.: Anal. Chim. Acta 226, 31 (1989).
- Wiirfels M., Jackwerth E.: Anal. Chim. Acta 226, 1 (1989).
- Ostapczuk P., Stoeppler M., Dürbeck H. W.: Fresenius Z. Anal. Chem. 332, 662 (1988).

40. Matusiewicz H., Sturgeon R. H., Bergman S.: J. Anal. At. Spectrosc. 4, 323 (1989).
41. Knapp G.: Mikrochim. Acta (Wien) II, 445 (1991).
42. Knapp G., Maichin B., Panholzer F., ve sborníku: 6. Colloquium Atomspektrometrische Spurenanalytik (Welz B., ed.), str. 571. Überlingen 1991.
43. Gánóczy M., Šabata P., Řehůrková I., Ruprich J., Resová D., ve sborníku: Trendy vývoje AAS a analýza biologických materiálů, str. 41. Olomouc, 16.–18. září 1996.
44. Šucman E., Šucmanová M., Čelechovská O., Zima S., ve sborníku: 6. Colloquium Atomspektrometrische Spurenanalytik (Welz B., ed.), str. 617. Überlingen 1991.
45. Panholzer F., Knapp G., Kettisch P., Schalk A., ve sborníku: 6. Colloquium Atomspektrometrische Spurenanalytik (Welz B., ed.), str. 633. Überlingen 1991.
46. Krachler M., Radner H., Irgolic K.J.: Fresenius J. Anal. Chem. 355, 120 (1996).
47. Kuss H. M.: Fresenius J. Anal. Chem. 343, 788 (1992).
48. Chakraborty R., Das A. K., Cervera M. L.: Fresenius J. Anal. Chem. 355, 99 (1996).
49. De Boer J. L. M., Maessen F. J. M. J.: Spectrochim. Acta, Part B, 38, 739 (1983)
50. Van Loon J. V., v knize: Selected Methods of Trace Metal Analysis: Biological and Environmental Samples (Wiley J., ed.), str. 98. New York 1985.
51. Rechcigl J. E., Payne G. G.: Commun. Soil Sci. Plant Anal. 21, 2209 (1990).
52. Adeloju S. B.: Analyst 114, 455 (1989).
53. Koplík R., Němcová Š., ve sborníku: XXVII. seminář o metodice stanovení a významu stopových prvků v biologickém materiálu, str. 1. Praha 1993.
54. Lajunen L. H. J., Piispanen J., Saari E.: At. Spectrosc. 13, 127 (1992).
55. Nünberg H. W.: Pure Appl. Chem. 54, 853 (1982).
56. Wahdat F., Neeb R.: Fresenius Z. Anal. Chem. 335, 748 (1989).
57. Stryjewska E., Rubel S., Henrion A., Henrion G.: Fresenius Z. Anal. Chem. 327, 679 (1987)
58. Holak W.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63, 485 (1980).
59. Off. Methods of Analysis: in AOAC: 14th edition, Section 25, pp. 444, Arlington 1984.
60. Hill A. D., Patterson K. Y., Veillon C, Morris E. R.: Anal. Chem. 58, 2340 (1986).

P. Mader^a and E. Čurdová^b ("Department of Chemistry, University of Agriculture, Prague, ^bDepartment of Analytical Chemistry, Institute of Chemical Technology, Prague): **Decomposition Methods of Biological Materials for the Determination of Trace Elements**

The review evaluates the methods for decomposition of biological materials which are currently used in trace-element determinations by destructive techniques, in particular in atomic absorption and emission spectroscopy and electroanalysis. Attention is paid especially to classical and modern versions of dry ashing and wet digestion. Also other decomposition techniques are briefly discussed. The reviewed literature dates from the second half of eighties to the present. The comparison and combination of individual decomposition methods are also included.