

Boorin määrittäminen vesistä, kasveista, maaperästä, tuhkista ja lannoitteista

Pro gradu -tutkielma
Jyväskylän yliopisto
Kemian laitos
Epäorgaanisen ja
analyttisen kemian osasto
30. kesäkuuta 2012
Jussi-Pekka Jalonen

Tiivistelmä

Tutkielmassa on tarkasteltu boorin määrittämenetelmiä vesistä, maaperästä, kasveista, lannoitteista ja tuhkista. Tutkielma on jaettu esikäsittelyyn, erotusmenetelmiin ja määrittämenetelmiin.

Esikäsittelyssä on huomioitu maaperän, lannoitteiden ja tuhkien kohdalla biosaataavuus ja kokonaismäärä. Kasvien ja vesien kohdalla on tarkasteltu kokonaismäärää.

Boorin eristäminen on voitu tehdä uuttaen orgaaniseen faasiin joko diolien avulla tai orgaanisen kationin avulla tetrafluoroboraattina. Boori tislautuu metyyliboraattina metanolin ja rikkihapon seoksessa. Ioninvaihdossa on boori voitu kvantitatiivisesti eristää ioninvaihtohartsilla emäksisissä olosuhteissa. On myös mahdollista hyödyntää muita hartseja poistamaan häiriötekijöitä näytematriisista.

Spektrofotometrisistä reagensseista on tarkasteltu atsometiini-H:ta, kurkumiinia ja karminihappoa sekä määrittästä tetrafluoroboraattina. Atsometiini-H -reagenssille on tehty johdannaisia, jotka ovat parantaneet mm. sen herkkyyttä ja selektiivisyyttä. Kurkumini muodostaa kahdenlaisia komplekseja riippuen liuottimista ja on atsometiini-H:ta herkempi, mutta alttiimpi häiriöille. Karminihapolla on myös tehty määrittäksiä sen jäädessä herkkyudessaan atsometiini-H:ta ja kurkumiinia alemmaksi. Tetrafluoroboraatin käyttö on viitemateriaalien perusteella rajoittunut lähinnä vesiin. Korkean erotuskyvyn nestekromatografian (HPLC) avulla tehdyissä määrittäyksissä on myös hyödynnetty spektrofotometrisiä reagensseja.

Induktiivisesti kytketyllä plasmalla tehdyistä määrittäyksistä on lähinnä tarkasteltu plasmaemissiota (ICP-OES). ICP-OES -määrittäyksissä on tarkasteltu näytematriisin vaikutusta boorin määrittäksen herkkyteen ja sisäisiä standardeja. Lisäksi on tarkasteltu lyhyesti induktiivisen plasman massaspektrometrin määrittästä (ICP-MS).

Atomiabsorptiossa on tarkasteltu elektrotermistä atomiabsorptiota (ET-AAS) ja liekkiatomiabsorptiota (FAAS). Atomiabsorption soveltavuus boorin määrittäykseen ei ole paras mahdollinen, mutta esimerkiksi kiinteän näytteen käyttö ET-AAS menetelmässä vähentää käsittelyn tarvetta. ET-AAS -määrittäyksessä on tarkasteltu erilaisten matriisin muuntajien vaikutusta boorin määrittäksen herkkyteen. FAAS-

menetelmä vaatii yleensä konsentroidin ja boorin eristämisen orgaaniseen faasiin (määritys vaatii n. 1 ppm), mutta korkean erotustarkkuuden jatkuvan säteilyn menetelmällä (HR-CS FAAS) on päästy 0,5 ppm vesiliuoksesta.

Titrimetriassa on hyödynnetty boorihapon reaktiota polyolien kanssa. Boorin ja polyolin kompleksin pK_a on boorihapon vastaavaa alempi, jolloin määritys on voitu tehdä titraamalla natriumhydroksidilla. Mannitoli on polyoleista käytetyin.

Esipuhe

Tutkielma on kirjoitettu 2012 tammi-kesäkuun aikana. Materiaalit on haettu pääosin SciFinderin ja Google Scholarin hakuohjelmilla.

Kiitän Rose Matilaista hyvästä työnohjauksesta.

Sisällysluettelo

Tiivistelmä	i
Esipuhe	iii
Sisällysluettelo	iv
Käytetyt lyhenteet	vi
1 Yleisesti boorista	1
1.1 Boorihappo	1
1.2 Maaperä ja kasvit	2
1.3 Tuhkat	3
1.4 Vedet	4
2 Näytteen käsittely	4
2.1 Esikäsittely	5
2.1.1 Maaperä	5
2.1.2 Kasvit	7
2.1.3 Lannoitteet	10
2.1.4 Tuhkat	10
2.1.5 Vedet	11
2.2 Jatkokäsittely	12
2.2.1 Utto	12
2.2.2 Tislaus	13
2.2.3 Ioninvaihto	15
2.2.4 Aktiivihiili	17

3	Määrittämenetelmiä ja tulosten tarkastelua	18
3.1	Spektrofotometria	18
3.1.1	Atsometiini-H ja sen johdannaiset	18
3.1.2	Kurkumiini	27
3.1.3	Karmiinihappo ja karmiini	30
3.1.4	Tetrafluoroboraatin kompleksit	33
3.1.5	Muita spektrofotometrisiä reagensseja	35
3.2	Korkean erotuskyvyn nestekromatografia (HPLC)	36
3.3	Induktiivisesti kytketty plasma (ICP)	38
3.3.1	ICP-OES	38
3.3.2	ICP-MS lyhyesti	42
3.4	Atomiabsorptio	42
3.4.1	ET-AAS	42
3.4.2	FAAS	49
3.5	Titrimetria	51
3.6	Lyhyesti muista menetelmistä	54
4	Yhteenveto	56
5	Kirjallisuusluettelo	60

Käytetyt lyhenteet

CA	Kromotrooppihappo
DIC	Dimetyyli-indokarbosyaniini
DMFA	Dimetyyliformamidi
DMSO	Dimetyylisulfoksidi
DPP	Differentiaalinen pulssivoltammetria
DPTA	Dietyleenitriamiinipentaetikkahappo
EDTA	Etyleenidiamiinitetraetikkahappo
ETV-ICP-MS	Elektroterminen haihdutus induktiivisesti kytketty massaspektrometria
FAAS	Liekkiatomiabsorptiospektroskopia
FAES	Liekkiatomiemissiospektroskopia
GFAAS	Grafiittiuuniatomiabsorptiospektroskopia
HA	1-amino-8-hydroksinaftaleeni-3,6-disulfonihappo
HPLC	Korkean erotuskyvyn nestekromatografia
HR-CR FAAS	Korkean tarkkuuden jatkuvan säteilyn liekkiatomiabsorptiospektroskopia
HR-CS AAS	Korkean tarkkuuden jatkuvan säteilyn atomiasorptiospektroskopia
ICP-MS	Induktiivisesti kytketty massaspektrometria
ICP-OES	Induktiivisesti kytketty plasmaemissiospektrometria
KD-HPLC	Kineettisen erotuksen korkean erotuskyvyn nestekromatografia
LOD	Toteamisraja
MIBK	Metyyli-isobutyryliketoni
MS	Massaspektroskopia

NMR	Ydinmagneettiresonanssi
rpm	Kierrosta minuutissa
RSD	Suhteellinen keskihajonta
SA	Salisyylialdehydi
TBABr	Tetrabutyyliammoniumbromidi
THBA	3,4-dihydroksiatsometiini-H
USN-ICP-OES	Ultraääninebulisoitu induktiivisesti kytketty plasmaemissiospektroskopia
UV-Vis	Ultravioletin ja näkyvän valon spektroskopia

1 Yleisesti boorista

Boori on jaksollisessa järjestelmässä ryhmän 13 epämetalli. Booria ei esiinny luonnossa alkuainemuodossa.¹ 80 % boorista on ^{11}B ja 20 % ^{10}B -muodossa, mikä kuitenkin vaihtelee hieman.²

Booria³ käytetään mm. teollisuudessa ydinvoimalassa säätelysauvoissa, komponenttina teräksessä ja lasissa, lannoitteissa, kasvimyrkyissä, hyönteismyrkyissä. Booria esiintyy mineraaleissa, kivissä, hiilessä, kasveissa, maaperässä ja luonnon vesissä. Booria vapautuu ympäristöön tulivuorenpurkauksissa ja geotermisissä virtauksissa.

Boorin¹ päälähteet ovat booraksi ($\text{Na}_2[\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4] \cdot 8\text{H}_2\text{O}$) ja kerniitti ($\text{Na}_2[\text{B}_4\text{O}_5(\text{OH})_4] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). Booria voidaan eristää boraaksista muuntamalla se ensin boorihapoksi ($\text{B}(\text{OH})_3$) ja edelleen oksidiksi kuumentamalla. Boorin oksidit ovat aina happamia.

Boori² esiintyy luonnossa hapetusluvulla +3 ja muodostaa lähinnä kovalenttisia sidoksia koordinaatioluvun ollessa 3 tai 4. Luonnossa boori esiintyy happeen sitoutuneena boraatteina, joskus boorihappona ja tetrafluoroboraatina. $\leq 0,02$ M pitoisuudessa esiintyy vain mononukleaarisia muotoja.

Boori² on yksi seitsemästä hivenaineesta ja on välttämätön eläinkudoksessa. Boorin puute kasveissa johtaa kasvukeskuksen kuolemaan, juuret kehittyvät hitaammin ja muut seuraukset riippuvat puutteen vakavuudesta. Boori on ylimäärin myrkyllinen eläimille ja kasveille. Seuraukset voivat vaihdella kuoliosta kasvien elinten kuolemaan. Ihminen saa booria noin 3 mg vuorokaudessa, mutta ylimäärä sitä voi olla myrkyllistä. Tyypillisesti eläinkudoksissa boorin määrä on $\approx 0,3$ mg/kg (kuivapaino), vaihdellen välillä 0,03-0,4 mg/kg ja veressä sitä voi olla noin 1,2 mg/kg, mikäli vedet sisältävät runsaasti booria.

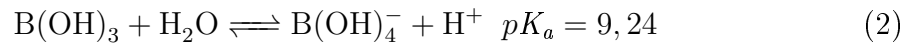
1.1 Boorihappo

Tässä tutkielmassa boorihapolla viitataan ortoboorihappoon. Boorihappoa voidaan käyttää voiteluaineena, koska se muodostaa kerrosrakenteen, missä molekyylit ovat linkittyneet toisiinsa vetysidoksin.

Ortoboorihappo¹ (B(OH)₃) muodostaa metaboorihapon (HBO₂) 170 °C yhtälön **1** mukaan:

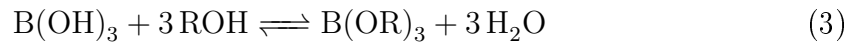


Boorihappo¹ on heikko monoproottinen happo (yhtälö **2**):



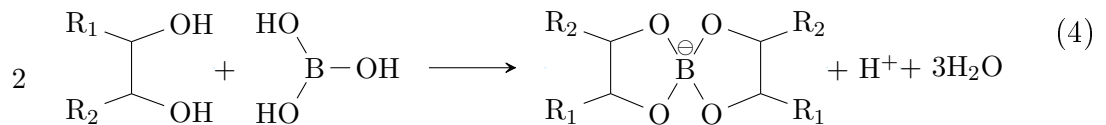
Boorihapon reaktiot orgaanisten molekyylien kanssa ovat erotus- ja analyysimenetelmien kannalta tärkeitä.

Boorihappo² muodostaa estereitä alkoholien tai fenolien kanssa yhtälön **3** mukaan:



Tätä voidaan hyödyntää boorin erottamisessa määritystä häiritsevistä näytematriisista tislamalla helposti haihtuvina metyyli- ja etyyliboraatteina.

Boorihappo¹ reagoi diolien kanssa, mikä on esitetty yhtälössä **4**:

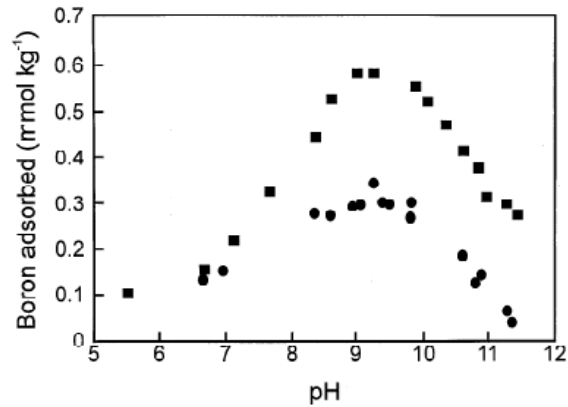


Tätä voidaan hyödyntää eristämällä boori orgaaniseen faasiin.

1.2 Maaperä ja kasvit

Muihin⁴ ravinneaineisiin verrattaessa boorille ei tapahdu maassa hapetus-pelkistys- tai haihtumisreaktioita. Boorihappo on erittäin heikko monoproottinen happo ja toimii Lewis-happona vastaanottaen hydroksyyli-ionin. Booripitoiset mineraalit ovat joko erittäin liukenemattomia (turmaliini) tai erittäin liukenevia. Boorin pitoisuutta maaperässä säätelevät adsorptioreaktiot, kuten kasvien vesiliukoisen boorin käyttö.

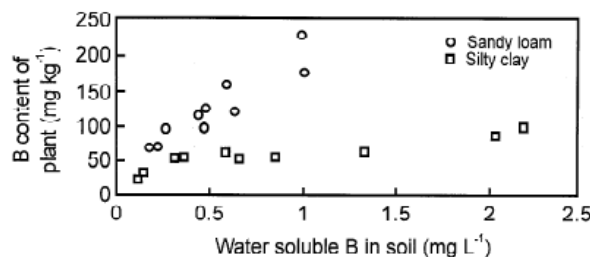
Kasvit voivat käyttää biosaatavilla olevaa booria, muuten maanpintaan absorboitunut boori ei ole kasveille myrkyllistä. Boorin saatavuutta säätelevät pH (kuva 1), maan rakenne, kosteus ja lämpötila.



Kuva 1. Boorin adsorption riippuvuus pH:sta maanpinnalla (■) ja sen alla (●)⁴

pH:n⁴ noustessa boorin biosaatavuus heikkenee, joten kalkkilannoitus voi happamissa maassa johtaa boorin puutokseen.

Karkearakeinen⁴ maa sisältää vähemmän hyödynnettävissä olevaa booria, joten hiekkapitoiset maat kärsivät savimaita enemmän boorin puutteesta (kuva 2).



Kuva 2. Boorin pitoisuus kasveissa verrattaessa hiekkamaata (○) savimaahan (□)⁴

Suurempi⁴ maaperän kosteus yleisesti ottaen nostaa hyödynnettävissä olevan boorin määrää. Boorin diffusiivisuus laskee veden määrän mukana. Lämpötilan vaikutus boorin adsorptioon on riippuvainen maaperän koostumuksesta.⁴

1.3 Tuhkat

Lentotuhkasta pinta- ja sadevesiin siirtynyt boori voi olla riski maataloudelle, joutuessa kasvien vähäisestä boorin tarpeesta.⁵ Boorin puute haittaa kasvua ja liiallinen määrä puolestaan on myrkyllistä. Boorin määrä voi nousta tuhkissa 2000 ppm hiilen

polton aikana. Toisaalta esimerkiksi puun tuhkaa voidaan pyrkiä käyttämään maa- ja metsätaloudessa maanhoitoaineena.⁶ Kuitenkin ravinteiden biosaatavuus voi olla ongelma. Tuhka nostaa yleensä kuitenkin maaperän pH:ta, jolloin boorin saatavuus saattaa laskea. Toisaalta pH:n nousu voi olla hyödyksi happosateiden alueella.

1.4 Vedet

Boori^{7,8} esiintyy luonnonvesissä lähinnä boorihappona ja boraatti-ioneina. Maat ja sedimentit voivat adsorboida veteen liennuttua booria. Adsorptio on riippuvainen boorin pitoisuudesta ja veden pH:sta. Luonnollisen boraatin määrä pohjavesissä ja pintavesissä on yleensä vähäistä. Makeissa vesissä boorin pitoisuus on lähinnä riippuvainen maalta huuhtoutuneen boorin määrästä, sekä teollisuudesta ja yhdyskuntien jätevesistä tulevasta boorista. Boorin pitoisuus pohjavesissä vaihtelee $< 0,3-1000$ mg/l. $1,0$ mg/l toimii merivesissä pH-puskurina ja on alkaliniteetissa kolmanneksi tärkein osatekijä vetykarbonaatin ja karbonaatin jälkeen. Keskimääräinen pitoisuus merissä on $4,5$ mg/l ja makeissa vesissä $< 0,001-2$ mg/l. Normaalisti juomavesistä ei eroteta booria, mutta pitoisuus ei saisi ylittää $1,0$ mg/l.

Merivesissä boorin pitoisuus vaihtelee klooripitoisuuden kanssa, mutta B/Cl-suhteelle ei ole löydetty selvitystä.⁸

2 Näytteen käsittely

Booria hivenaineena määritetään yleensä ppm-luokassa, jolloin ylimääräistä käsittelyä kannattaa välttää. Näytteen käsittelyn kannalta on hyvä huomioida käytettävien lasitavaroiden boori, joka voi kontaminoida helposti määrittelyksen. On suositeltavaa käyttää boorittomia astioita aina kun mahdollista.

Esikäsittelyssä on hyvä huomioida käsittelyn soveltuvuus varsinaiseen boorin pitoisuuden mittaukseen. Spektrofotometriset mittaukset ilman jatkokäsittelyä vaativat usein värittömän liuoksen. Mikäli esikäsitelty näyte ei sovellu sellaisenaan määrittelyseen, voidaan sitä pyrkiä jatkokäsittämään esimerkiksi tislaus- ja uuttomenetelmin.

2.1 Esikäsittely

Kuivatuhkistuksessa⁹ näyte laitetaan muhveliuuniin ja tuhkistetaan kvartsi- tai platinapokkaissa. Boorin haihtumisen estämiseksi uunin lämpötila ei saa nousta liian korkeaksi. Haihtumisen estämiseksi näytteisiin on lisätty $\text{Ca}(\text{OH})_2$ tai CaO kyllästettynä vesiliuoksena tai mukaan jauhettuna. Kuivatuhkaus poistaa orgaanisen aineksen. Tuhka liuotetaan määrityksen kannalta sopivaan happoliuokseen. On huomattavaa, että jo 600 °C lämpötilassa on havaittu boorin haihtumista.¹⁰

Märkätuhkistuksessa⁹ käytetään vahvoja mineraalihappoja tai niiden seoksia, myös vetyperoksidia voidaan käyttää. Happoseosta kuumennetaan keittolevyllä refluksoimalla näytteen hajottamiseksi.

Alkalisulatteessa⁹ näytteeseen sekoitetaan emästä (esim. Na_2CO_3), laitetaan yleensä kerros emästä päälle ja sulatetaan. Emäksen käyttö saattaa määrityksessä aiheuttaa matriisihäiriöitä.

Mikroaaltohajotuksessa⁹ näyte laitetaan paineastioihin mineraalihapon tai niiden seosten kanssa. Astia suljetaan ja kuumennetaan mikroaaltouunissa, jolloin astian sisälle syntyy korkea paine.

Ultraäänihajotuksessa on käytetty näytteen liuotukseen 50 % kuningasvettä.¹¹ Lisäksi ultraäänihajotusta ollaan käytetty kuivatuhkistuksen tuhkan liuotukseen (HCl , kuningasvesi).^{11,12}

2.1.1 Maaperä

Boorin määrittäminen voidaan tehdä¹³

1. kokonaismäärän
2. happoliukoisuuden tai
3. vesiliukoisuuden

perusteella.

Maaperän boori on jaoteltu viiteen tyyppiin:⁹

1. helposti liukeneva: 0,01 M CaCl_2 , <2 % kokonaisboorin määrästä
2. erityisesti adsorboitunut: 0,05 M KH_2PO_4 , < 2 % kokonaisboorista
3. oksideihin sitoutunut: 0,20 M ammoniumoksaatti, 2,3 % kokonaisboorista
4. orgaanisesti sitoutunut: 0,02 M HNO_3 + 30 % H_2O_2 , noin 8,6 % kokonaisboorista
5. loppuosa: $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{HF}$

Kokonaismäärä¹³ ei ole luotettava indikaattori saatavissa olevan boorin määrälle. Happoon liukeneva boori on parempi indikaattori, mutta ei ole kuitenkaan luotettava indeksi kasveille saatavilla olevalle boorin määrälle erityisesti kalkkipitoisessa maassa, jossa uutteen happamuus neutraloituu. On myös ehdotettu 5 min refluksointia kuumassa vedessä, mikä on laajalti käytössä ja vastaa hyvin kasvien ottamaa boorin määrää. Menetelmää on kuitenkin hankala standardisoida, vie aikaa ja on hankala rutiinin ja sen toistettavuuden kannalta. Lisäksi boori voi imeytyä takaisin jäähtymisen aikana.

Goldberg *et al.*¹⁴ kokeilivat uuttoliuoksina NH_4Ac (1 M), DPTA-sorbitolia (0,2 M), CaCl_2 -mannitolia (0,01 M, 0,05 M), 1:1 maa:vettä, 1:2 maa:vettä ja kuumaa vettä. Uuttuvan boorin määrää verrattiin eri syvyyksissä (0-30 cm, 30-60 cm ja 60-90 cm) erilaisiin rakenneosiin (savi, orgaaninen hiili, alumiinioksidi ja rautaoksidi). Uuttuvan boorin (0-90 cm syvyys valittu kasvien juuriston perusteella) ja kasvien (puuvillan lehdet, meloni ja sinimailanen) boorin määrän korrelaatiota verrattiin. Uuttoliuoksiksi valittiin DPTA-sorbitoli, NH_4Ac ja 1:1 maa:vesi. DPTA-sorbitoli antoi lukumääräisesti mitattuna parhaimmat merkittävät korrelaatiot rakenneosille. NH_4Ac -uutos oli ainoa, joka antoi alustavissa tutkimuksissa puuvillan lehtien boorille ja maan rakenneosille merkittävät korrelaatiot. 1:1 vesi:maa on puolestaan ollut yleisessä käytössä. Uuttoliuokset eivät olleet korrelaatioiden osalta merkittävästi eroavia (95 % taso). Lineaarinen riippuvuus oli merkittävä 95 % tasolla, mutta yhtälöt ennustivat heikosti uuttuvan boorin ja kasvien sisältämän boorin suhdetta. Tulokset osoittavat kasvien booripitoisuuden hankalan ennustettavuuden yhdellä kerralla kerätyistä maanäytteistä.

Eristysmenetelmissä kannattaa huomioida mukana uuttuvat määritystä mahdollisesti häiritsevät aineet (mm. rauta).¹³

Gupta¹⁵ määrittäi kuumavesiuutolla boorin määrän maanäytteistä. Kuivatut maanäytteet, jauhettiin ja siivilöitiin 2 mm siivilän läpi. 25 g näytettä ja 0,4 g (tai 0,8 g toiselle näytteelle) aktiivihiltä keitettiin 50 ml vedessä 5 min. Haihtuneen veden määrä korvattiin ja näyte suodatettiin. Lisäksi kokeiltiin erilaisia hiilen määriä ja boorin lisäystä.

Carrero *et al.*¹⁶ ottivat näytteen kahvipensaun juuresta. Näytettä ilmakeivattiin 5 vuorokautta, jonka jälkeen hienonnettiin ja siivilöitiin siivilän (meshluku 80) lävitse. 10 g näytettä lisättiin 25 ml 0,05 M HCl 200 ml polyetyleeniputkissa. Näytteet ravisteltiin ja sentrifugoitiin 30 min. Näyte-happoseos suodatettiin ja haihdutettiin keittolevyllä 50 °C kuivaksi. Kuivattu näyte liuotettiin 25 ml väkevää rikkihappoa ennen määrittystä. Rikkihappoliuoksen käyttö johtui boorin tislamisesta esterinä.

Zaijun *et al.*¹⁷ ottivat maanäytteet kasvien juurista, ilmakeivasivat 5 päivää, jonka jälkeen ne hienonnettiin ja siivilöitiin. 10 g maanäytettä siirrettiin 150 ml booritomaan kolviin ja lisättiin 50 ml vettä. Seosta refluksoitiin 10 minuuttia. Jäähdytettyyn seokseen lisättiin 0,05 g kalsiumkloridia ja suodatettiin (Whatman No. 2). Liuoksesta 25 ml siirrettiin peitettyyn posliinipokkaaseen, lisättiin 2 ml kylläistä $\text{Ca}(\text{OH})_2$, kuivattiin 105 °C ja tuhkattiin 400 °C 30 minuuttia. Tuhkistus poisti nitraatit ja orgaanisen aineksen. Tuhka liuotettiin 10 ml 0,1 M HCl.

2.1.2 Kasvit

Kasveista pyritään yleensä määrittämään kokonaisboori. Käsitteily aloitetaan yleensä kuivamalla 70 °C lämpökaapissa kolmen vuorokauden ajan. Menetelminä yleisesti käytetään kuivatuhkistusta, märkätuhkistusta ja mikroaaltoliuotusta.

Booria määrittäessä kuivatuhkauksella näytteisiin on voitu lisätä CaO tai $\text{Ca}(\text{OH})_2$ estämään boorin haihtumista.^{18,19} Monet kasvit sisältävät emäksiä, jotka estävät boorin haihtumisen, mutta kasviöljyä sisältävissä kasveissa voi muodostua kuivatuhkauksen aikana haihtuvia booraattiestereitä, joiden muodostumista emäksen lisäys ehkäisee.¹⁸ Gopal¹⁸ käytti grammaa kohden näytettä n. 0,1 g $\text{Ca}(\text{OH})_2$.

Nyomora *et al.*²⁰ mittasivat eri liuotusmenetelmiä käyttäen kasveista boorin pitoisuudet. *Kuumaan happoon* liuotus tehtiin punnitsemalla näytettä 0,5 g, jonka jälkeen näytettä esiliuotettiin 10 ml 1 M HNO_3 suljetuissa sentrifuugiputkissa 10 mi-

nuutin ajan. Tämän jälkeen seosta lämmitettiin mikroaaltouunissa kiehuvaaksi n. 30 s ajan. Liuosten jäähtyttyä ne laimennettiin 50 ml vedellä. *Kuivatuhkistus* suoritettiin kuumentamalla uunissa 0,5 g näytettä 300 °C tunnin, jonka jälkeen jatkettiin kuumennusta 500 °C 12 tuntia. Näytteet liuotettiin 10 ml 1 M HNO₃ ja lämmittämällä 80 °C levyllä 50 ajan keittolevyllä. Näytteet suodatettiin ja laimennettiin 50 ml:ksi. *Märkätuhkistuksessa* 0,5 g näytettä punnittiin 75 ml hajotusputkeen, johon lisättiin 0,1 ml (NH₄)₂Ce(NO₃)₆ ja 3 ml väkevää HNO₃. Näytteiden annettiin hapetua yön yli. Liuoksia kuumennettiin 110 °C 30 minuuttia ja höyryämisen loputtua lisättiin 2 ml 30 % H₂O₂ ja lämmitystä jatkettiin 30 minuuttia. Vetyperoksidiliuoksen lisäys toistettiin neljästi lämmittäen 125 °C. Lisättiin 2 ml väkevää metaanihappoa ja muutama tippa 5,6 M HCl liuosta ja lämmitys toistettiin. Liuos suodatettiin (Whatman No. 1) ja laimennettiin 50 ml:ksi. *Mikroaaltoliuotuksessa* 0,5 g näytettä punnittiin 120 ml teflonastioihin. Lisättiin 2 ml 30 % H₂O₂ ja 0,5 ml väkevää HNO₃. Astiat suljettiin ja näytteitä esihajotettiin huoneenlämpötilassa 10 minuuttia. Näytteitä kuumennettiin 2 minuutin ajan mikroaalloilla 296 W teholla ja 8 minuuttia 565 W teholla. Jäähtyneet näytteet laimennettiin 50 ml:ksi vedellä.

Carrero *et al.*¹⁶ käsittelivät kahvipavut ja lehdet kuivamalla 70 °C lämpökaapissa, jonka jälkeen ne jauhettiin myllyssä. 2 g näytettä lisättiin 15 ml 1 M typpihappoa Teflon-PFTA-mikroaaltoastioissa. Astiat suljettiin ja lämmitettiin 80 °C 1 h lämpökaapissa. Näytteen jäähtyttyä huoneenlämpötilaan, se suodatettiin ja haihdutettiin levyllä 50 °C kuivaksi. Jäännös liuotettiin 25 ml väkevää rikkihappoa ennen määrittystä. Rikkihappoliuoksen käyttö mahdollistaa boorin tislauksen metyyliboraattina.

Demir ja Serindağ²¹ punnitsivat 3 g greippimassaa upokkaiisiin, ja näytteiden pH säädettiin NaOH:lla 7,0 johtuen boorihapon haihtuvuudesta. Näytteitä kuivattiin 12 tuntia 75 °C lämpökaapissa ja lopuksi kuivatut näytteet tuhkistettiin 525 °C uunissa 3 tunnin ajan. Tuhkaan lisättiin 10 ml 2 M HNO₃ ja kuumennettiin keittolevyllä. Liuotuksen jälkeen sisältö suodatettiin suodatuspaperilla ja laimennettiin vedellä 50 ml:ksi. Şimşek *et al.*²² tekivät vastaavan käsittelyn pähkinöille.

Evans ja Krähenbühl²³ määrittivät boorin biologisista materiaaleista. Määrittämiseen valittiin heinä sen korkean kuitupitoisuuden vuoksi, jolloin onnistunut heinän hajotus takaa luultavasti muiden materiaalien hajoamisen. 0,5 g kasvinäytteitä pun-

nittiin suoraan TFM-astioissa. Lisättiin 2 ml typpihappoa ja sekoitettiin. 10-15 minuutin jälkeen lisättiin 1 ml 30 % vetyperoksidia. Astiat suljettiin ja aloitettiin mikroaalto-ohjelma (taulukko 1). Näytteitä jäädytettiin 30 minuuttia jäähauteessa ennen kansien irrotusta. ICP-OES ja ICP-MS määrittelyyn liuos oli riittävä, mutta atsometiini-H -menetelmälle liuosten pitää olla värittömiä, joten hajotus toistettiin uudelleen. Jäähtymisen jälkeen lisättiin 2 ml 30 % vetyperoksidia ja liuos alkoi kolmannelta kohdasta. ICP-OES ja ICP-MS määrittelyyn liokset laimennettiin vedellä 10-15 g painoon. Kolorimetrisiin ja fluorimetrisiin määrittelyihin liuosten pH säädetään välille 4-5 NaOH-liuoksella. Silikaattisaostuma poistettiin sentrifugimalla.

Taulukko 1. Mikroaalto-ohjelma²³

askel	1	2	3	4	5	6
teho [W]	100	0	250	0	500	250
aika [min]	2	2	5	3	5	10-15

Resano *et al.*¹⁰ määrittivät kasveista booria käyttäen kiinteän näytteen GFAAS-menetelmää. Näytteissä esiintyvän boorin pitoisuuden ollessa $\mu\text{g/g}$ -luokkaa on myös tärkeä parantaa herkkyyttä, mikä heikkenee automaattisesti näytettä laimentaessa. Kiinteän näytteen käytöllä pyritään estämään mahdollisesti lasitavarasta näytteesseen tuleva boori sekä minimoimaan käsittelystä aiheutuva näytteen häviäminen. Näytteet (n. 1 g/kpl) kuivattiin huoneenlämmössä eksikaattorissa 120 tuntia ja punnittiin uudelleen. Kosteus otettiin huomioon tuloksissa.

Väisänen *et al.*¹¹ määrittivät mineraaleja ja hivenaineita männyn neulasista. Näytteet pestiin kahdesti vedellä pölystä, jonka jälkeen kuivattiin 60 °C 7 vuorokautta ja jauhettiin. *Ultraääniliuotuksessa* 250 mg näytettä punnittiin 100 ml muoviputkeen. Putkeen lisättiin 5 ml ultrapuhdasta vettä ja 5 ml kuningasvettä. Näytettä pidettiin ultraäänihauuteessa (650 W, 35 kHz) 9 minuuttia lämpötilan ollessa 50 °C. Hajotuksen jälkeen näyte suodatettiin 50 ml mittapulloon ja täytettiin merkkitalavuuteen ultrapuhdalla vedellä. *Mikroaaltoliuotuksessa* 250 mg punnittiin 100 ml TFM-astiaan, johon lisättiin 65 % typpihappoa tai 10 ml kuningasvettä. 1 h jälkeen näyte siirrettiin mikroaaltohajotukseen ja kuumennettiin 1000 W teholla 5,5 minuuttia (175 °C) ja 1000 W 10 minuuttia (175 °C). Näyteliuos suodatettiin (Whatman No. 41) 50 ml mittapulloon ja suodos laimennettiin mittatilavuuteen ultrapuhdalla vedellä. *Kuivatuhkauksessa* 250 tai 500 mg näytettä punnittiin upokkaaseen. Upo-

kas laitettiin uunin (25 °C) ja kuumennettiin 1 h aikana 500 °C ja pidettiin siinä 4 h. Jäähdytymisen jälkeen tuhka laitettiin 50 ml muoviputkeen, johon lisättiin 2,5 ml ultrapuhdasta vettä ja 2,5 ml kuningasvettä. Putki suljettiin ja laitettiin ultraäänihauteeseen kolmeksi minuutiksi.

2.1.3 Lannoitteet

Lannoitteissa boorin määrä voidaan biosaatavuuden kannalta arvioida vesi- ja happoliukoisuuden perusteella. Kokonaisbooria on määritetty alkalisulatteista tai kuumassa mineraalihakossa. Menetelmiä ovat vesi -ja happouutot sekä alkalisulatteet.

Peterson ja Zoromski²⁴ määrittivät lannoitteen vesiliukaisen boorin keittämällä lannoitenäytettä 15 minuutin ajan ionivaihdetussa vedessä.

Weger *et al.*²⁵ määrittivät kokonaisboorin ja happoon liukenevan boorin. *Happoon liukeneva boori*: 2 g näytettä punnitaan boorittomaan 300 ml pulloon. Lisätään 6 M HCl ja refluksoidaan liuosta 4 tuntia 80-90 °C. Liuos ei saa kiehua. Suodatetaan tarvittaessa ja laimennetaan 100 ml:ksi vedellä. *Kokonaisboori*: Punnitaan 1 g lannoitetta ja 1 g natriumkarbonaattia platinaupokkaaseen, jonka jälkeen ne sekoitetaan keskenään. Laitetaan 4 g natriumkarbonaattia kerrokseksi päälle. Sulatetaan 10-20 minuuttia kaasulla, jäähdytetään ja siirretään jäljelle jäänyt kiteinen massa 400 ml dekantterilasiin neutraloidaan 6 M HCl ja laimennetaan 200 ml:ksi vedellä.

EI-Ghawi *et al.*²⁶ käyttivät kokonaisboorin määrittämiseen HCl tai HNO₃ tai niiden seosta. 700 mg näytettä ja 3 ml 70 m-% HNO₃ kuumennettiin 120 °C 30 minuuttia. Mikäli liukeneminen ei ollut täydellistä, näyteliuokseen lisätään muutama tippa HCl ja jatketaan kuumentamista 30 minuuttia. Näytteiden jäähtyttyä suodatettiin ja laimennettiin ICP-OES -mittausta varten 25 ml:ksi vedellä.

2.1.4 Tuhkat

James *et al.*⁵ määrittivät vesien mukana huuhtoutuvan boorin määrän kivihilien tuhkasta. N. 2 g näytettä ravisteltiin vedessä (800 ml) 24 h. Seokset suodatettiin 0,8 µm huokoskokoisien millipore-suodattimen läpi.

Górecka *et al.*⁶ määrittivät puuntuhkan hivenaineita maan hoitoaineiden kannalta. Tammipuuntuukka kerättiin takasta, jonka jälkeen se hienonnettiin ja sekoitettiin. 0-20 % tuhkaa sekoitettiin maanäytteeseen. Kaikkein parhaimmaksi uuttoliuokseksi biosaatavuuden kannalta osoittautui 0,1 M natriumnitraatti. Muita mahdollisia olivat: 1 M $MgCl_2$, 0,1 M $K_2P_2O_7$, 2 (m/V)-% CH_3COOH , 2 (m/V)-% $HCOOH$, 2 (m/V)-% ammoniumsitraatti, 2 (m/V)-% sitruunahappo, 0,05 M Na_2EDTA , 0,1 M $EDTA$, 0,05 M $CaCl_2$ ja seos HNO_3 -HCl. Tuhka, maa sekä tuhkan ja maan seoksesta koostuvat näytteet uutettiin 0,1 M natriumnitraatilla ja vedellä 4 tunnin ajan käyttäen 10 g näytettä / 100 ml uuttoliuosta. Kokonaispitoisuudet tuhka- ja maanäytteistä määritettiin mikroaaltohajotuksella teflonastioissa. Tuhkanäytettä otettiin 0,1 g ja maanäytettä 0,5 g. Näytteisiin lisättiin 2,5 ml typpihappoa ja 7,5 ml HCl. Mikroaaltohajotuksen jälkeen näytteet laimennettiin 75 ml:ksi vedellä.

2.1.5 Vedet

Boorin määrittäminen vedestä voidaan tehdä suodatuksen jälkeen. Mikäli boorin pitoisuus on näytteessä alhainen, voidaan menetelmän herkkyydestä riippuen joutua konsentroimaan osa vedestä emäksisissä olosuhteissa, jolloin estetään boorin haihtuminen.²⁷ Boorin haihtumista voidaan myös estää kompleksoimalla boorihappo mannitolin kanssa.²⁸

Luonnonvedet saattavat sisältää orgaanisia yhdisteitä, jotka häiritsevät määrittystä, esimerkkinä polyhydroksialkoholit häiritsevät mannitolin ja boorihapon kompleksin muodostumista.²⁹ Orgaaninen aines voidaan hapettaa permaganaatilla. Näytteiden säilyvyyttä voidaan parantaa lisäämällä niihin muutama tippa väkevää typpihappoa.

Ozcan ja Yilmaz³ keräsivät vesinäytteet polyetyleenipulloihin. Näytteet suodatettiin (Whatman No. 42) ja lisättiin 1-5 tippaa väkevää HNO_3 . Näytteitä säilytettiin 4 °C jääkapissa.

Hatcher ja Wilcox³⁰ haihduttivat NaOH:lla emäksiseksi tehdyn näyteliuoksen kuivaksi boorin pitoisuuden ollessa vedessä liian alhainen. Tämän jälkeen lisättiin laimeaa HCl ja sentrifugoitiin.

Kuwada *et al.*²⁸ pyrkivät vähentämään boorin haihtumista lisäämällä mannitolia. Mannitoli kompleksoituu voimakkaasti boorihapon kanssa.²

2.2 Jatkokäsittely

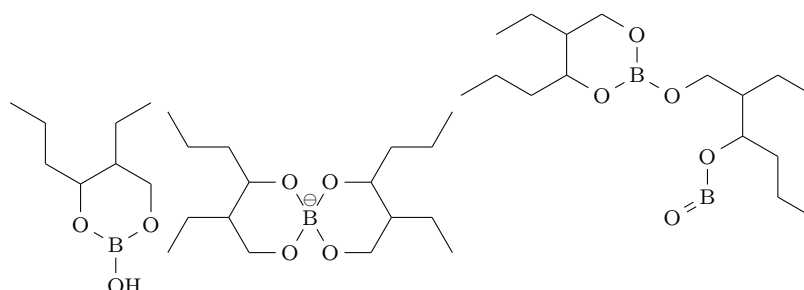
Mikäli näytematriisi häiritsee esikäsittelyinkin jälkeen määritysmenetyksessä, voidaan boori pyrkiä eristämään erilaisia uuttomenetelmiä käyttäen, ioninvaihdolla tai tislamalla metyyliboraattina.

Jatkokäsittely saattaa kuitenkin johtaa analyytin häviämiseen ja täten vääristää tuloksia.

2.2.1 Uutto

Liuottimen tärkeimmät ominaisuudet ovat sen mahdollisimman suuri liukenemattomuus veteen, tarvittavan yhdisteen mahdollisimman täydellinen uuttuminen faasiin sekä mahdollisimman pieni muiden määrityssignaalia muuttavien yhdisteiden siirtyminen faasiin.⁷ Boorihapon reaktiota diolien kanssa voidaan hyödyntää uuttaen boori orgaaniseen faasiin.²⁸ Muuttamalla boori kokonaisuudessaan tetrafluoroboraattiksi, voidaan se uuttaa orgaaniseen faasiin useilla erilaisilla reagensseilla.^{7,31-34}

Weger *et al.*²⁵ käyttivät uuttamiseen 5 % 2-etyyli-1,3-heksaanidiolia kloroformissa. Tarkoituksena oli saada boori uutettua 2-etyyli-1,3-heksaanidiolin kanssa muodostuvina komplekseina. Näin voidaan poistaa määritysvaiheessa häiritseviä vesiliukoisia suoloja. Uuttosuhteena yhteneviä tuloksia antoivat 2:1-5:1 (vesi:orgaaninen), määrityksissä käytettiin 2:1 (vesi:orgaaninen) uuttosuhdetta. Pitoisuudet mitattiin FAAS-tekniikalla. Kuvassa 3 on esitetty NMR, MS, ja kaasukromatografia mittauksiin perustuvat boorikompleksien rakenteet, joita esiintyi liuoksissa.



Kuva 3. Boorin kompleksoitumismuotoja 2-etyyli-1,3-heksaanidiolin kanssa²⁵

Peterson ja Zoromski²⁴ määrittivät lannoitteista vesiliukoista booria. 50 ml näytteen ($\leq 0,4$ mg B /100 ml) lisättiin 20 ml 10 % 2-etyyli-1,3-heksaanidiolia kloroformissa ja 5 ml 10 % rikkihappoa. Seoksen annettiin seistä 5 minuuttia, jonka jälkeen erotussuppilosta otettiin kloroformikerros talteen ja lisättiin 20 ml 2 % NaOH. Ravisteltiin 5 minuuttia, jonka jälkeen vesiliuos otettiin talteen erotussuppilolla. Vesiliuokseen lisättiin 0,5 g aktiivihiehtä ja suodatettiin.

Spielholtz *et al.*³⁵ eristivät boorin merivedestä. Eristäminen suoritettiin pipetoimalla erotussuppiloon 25 ml 1/4 -osaan keittämällä konsentroitua merivettä, johon lisättiin 5,0 ml väkevää rikkihappoa ja sekoituksen jälkeen 10,00 ml 20 % (v/v) 2-etyyli-1,3-heksaanidiolia metyyli-isobutyryliketonissa (MIBK). Orgaaninen faasi otettiin talteen, kun seosta oli sekoitettu minuutin ajan ja faasit olivat erottuneet.

Wimmer ja Goldbach³⁶ pyrkivät minimoimaan liuotinten käyttöä. Erotukseen käytettiin 50 μ l 10 (V/V) -% 2-etyyli-1,3-heksaanidiolia kloroformissa. Erotusliuokseen lisättiin 50 μ l näyteliuosta, joka oli happamoitu 100 μ l 0,1 M HCl. Faasit erottuivat minuutin aikana.

Rusnáková *et al.*⁷ määrittivät booria vedestä tutkien erilaisia tetrafluoroboraatin eristämiskeinoja neste-neste-uutolla samalla yrittäen minimoida liuotinten käyttöä. Liuottimiksi valittuja amyylisetaattia, kloroformia ja asetonitriliä käytettiin suhteessa 1:1:2 (V:V:V).

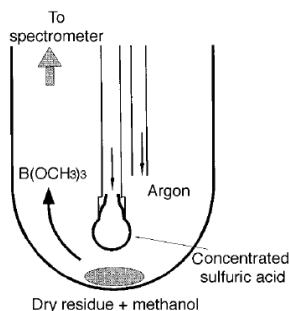
Liu *et al.*³⁴ ja Hayashi *et al.*³⁷ kompleksoivat boorin tris(1,10-fenatrolini)kadmiumtetrafluoroboraatiksi ja uuttivat sen nitrobenseenillä.

2.2.2 Tislaus

Boori voidaan tislata boraattiesterinä – lähinnä (tri)metyyli -ja (tri)etyyliboraattina. Tislaus on usein kytketty melko kiinteästi määritysmenetelmään, vaikka se voidaan suorittaa erikseen.³⁸ Esimerkkeinä erilaiset virtausjärjestelmät UV-Vis¹⁶- ja liekkiatomiemissiomäärityksissä (FAES).³⁹ Kurkumiinilla tehdyssä UV-Vis -määrityksessä boraattiesteri tislattiin suoraan kurkumiiniliuokseen.⁴⁰ Tislaus lisää määritysaikaa. Tislaus suoritetaan metanolin ja väkevän rikkihapon seoksessa.

Boorin³⁸ tislauksesta estereinä kemiallisesti häiritsee vesi, nitraatit ja fluoridit. Vapaa fluori happamissa olosuhteissa muuttaa boorin pysyväksi fluoroboraatti-ioniksi, joka ei tislaudu estereinä. Fluorin häiritseminen voidaan estää käyttämällä $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Mikäli liuoksessa on vettä boraattiesteri hydrolysoituu muodostaen boorihappoa ja estää kvantitatiivisen tislautumisen.

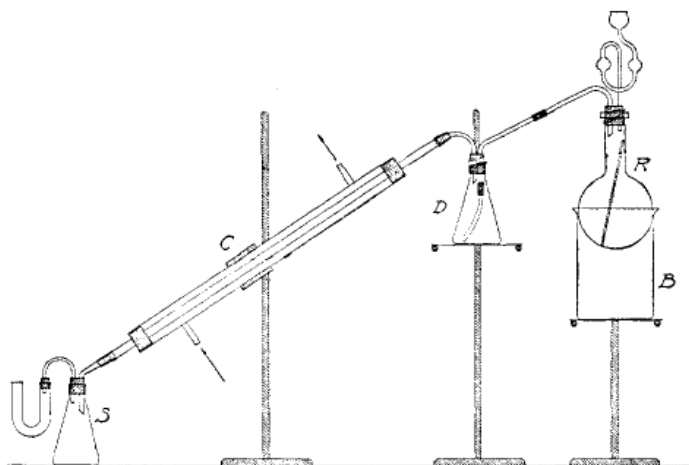
Wilke *et al.*⁴¹ käyttivät ICP-MS -määrityksessä kuvan 4 mukaista esteröintilaitteistoa. 20 μl metanolia laitetaan putkeen kuivatun näytteen päälle. Sen jälkeen suljetaan putki, jonka suljin on kytketty kolmisuuntaiseen venttiiliin, peristalttiseen pumppuun ja ICP-MS:n soihtuun. 20 μl väkevää H_2SO_4 lisätään peristalttiseen pumppuun kytketyn putken kautta. 15 s reaktioajan jälkeen venttiili siirretään toiseen asentoon ja argonkaasu johdetaan näyteputken läpi vieden esterin plasmaan.



Kuva 4. ICP-MS:n kytketty esteröintilaitteisto⁴¹

Carrero *et al.*¹⁶ käyttivät virtausjärjestelmässä neste-kaasuerottimia. Boori tislautui reagoitua metanolin kanssa rikkihapposeoksessa ilman ulkoista lämpöä.

Wilcox²⁷ tislasi booriin metyyliboraattina. Tislausjärjestely on esitetty kuvassa 5. Käsitelty näyte sijoitetaan D-pulloon. Pulloon S lisätään 10 ml 0,5 M NaOH estämään metyyliboraatin haihtuminen. Aloitetaan metanolin tislauksen ja odotetaan kunnes D-pullon sisältö on kuumaa ja sytytetään liekki sen alle. Lämpötilaa säädelään niin, että D-pullon sisällön tilavuus ei juuri vaihtelee. Tislataan 150-200 ml astiaan S. Tislet säädetään emäksiseksi ja lisätään 10 ml 0,5 M NaOH. Siirretään Kjeldahl-pulloon ja tislataan metanoli pois. Absorptioluokseen on myös lisätty glyserolia.³⁴

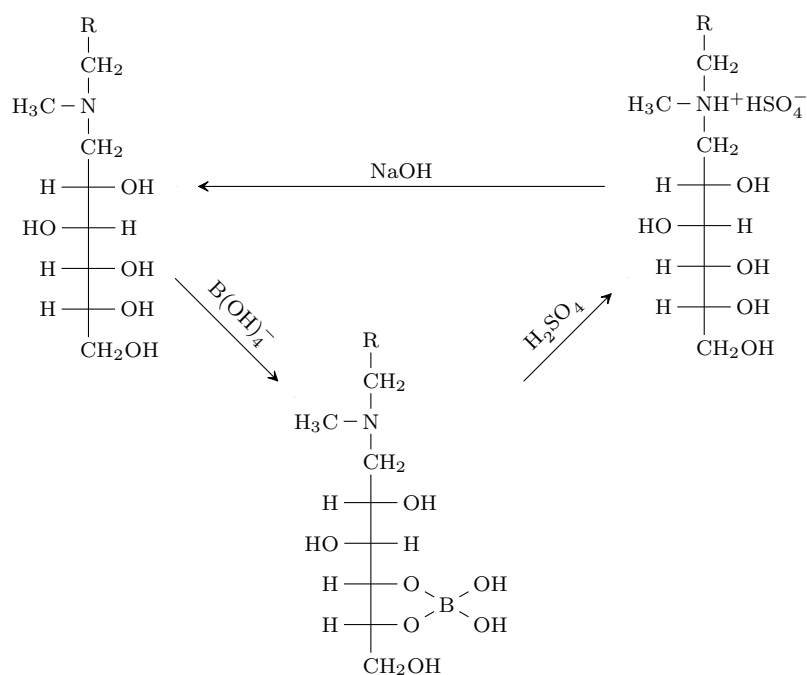


Kuva 5. Boorin tislauslaitteisto. R: säiliö metanolille, B: vesihaude, D: hajotuspullo booriton erlenmeyer, S tisle, C: jäähdytin²⁷

2.2.3 Ioninvaihto

Boorin eristämiseen on käytetty erilaisia anioninvaihtohartseja kuten Amberlite IRA 743^{13,42,43} ja Amberlite XE-243.^{43,44} Amberlite IRA 743 hartsissa⁴² on tertiäärinen amiini (*N*-metyyliglukamiini) funktionaalisenä ryhmänä ja hydrofobinen runko on polystyreeniä. Kyseinen amiini toimii heikkona emäksenä ($pK_a \approx 7$) ja anionin vaihtajana $pH < 7$.⁴² pH :n säätöä ≥ 10 on ehdotettu kvantitatiiviseen erotukseen.¹³

Neutraaleissa⁴² ja emäksisissä olosuhteissa boori ($B(OH)_4^-$) sitoutuu alkoholiryhmiin. Xu ja Jiang⁴⁵ esittävät kuvan 6 mukaisen toimintakaavion Amberlite IRA 743.

Kuva 6. Amberlite IRA 743 toiminta⁴⁵

Kyseisen hartsin boorin teoreettinen sitomiskyky on 5,7 mg B/ml perustuen *N*-metyyglukamiiniryhmien lukumäärään, mutta on ehdotettu 4,9 mg B /ml äärettömän lameissa booriliuoksissa ja 15 mg B/ml 0,7 M booriliuoksessa.⁴² Vaadittaessa erittäin puhdasta booria MS-määrittelyyn Lemarchand *et al.*⁴² eluivat näytteen kolmasti ionivaihtokolonnien läpi käyttäen erilaisia hartsin määriä.

Chapman *et al.*⁴³ konsentroivat boorin ravintoliuoksesta käyttäen Amberlite IRA 743. 1 ml hartsilietettä pakattiin kolonniin, niin ettei sinne jää ilmakuplia Keraamista seosta (25 μ M) laitettiin kolonnin molempiin päihin pitämään hartsi partikkelit paikallaan. Ravinneliuokset (2,5 μ M B 240 ml, 0,625 μ M B 960 ml ja 0,15 μ M B 3000 ml) pumpattiin kolonnin läpi nopeudella 8,3 ml/min. Adsorboitunut boori eluointiin hartsin lävitse > 12 ml 3 M HCl 1 ml/min, josta ensimmäiset 12 ml otettiin talteen. Kolonni palautettiin toimintakuntoon pesemällä peräkkäin 15 ml 3M HCl, 3 \times ionivaihdetulla vedellä, 3M NH₄OH ja lopuksi 3 \times ionivaihdetulla vedellä.

Hill ja Lash⁴⁴ eristivät ja eluivat boorin tetrafluoroboraattina. Amberlite XE-243 hartsi regeneroitiin laittamalla siihen 2 ml 10 % HF ja annettiin seistä 10-15 min. Tämän jälkeen laitettiin 2 ml vettä ja 5 ml 1 M NaOH. Kolonniin laitettiin neutraali tai emäksinen näyte, joka sisälsi 10-100 μ g B. Tämän jälkeen lisättiin 2 ml vettä, 3

ml 3 M $\text{NH}_4(\text{OH})$, 2 ml vettä ja 2 ml 10 % HF. Kolonnin annettiin seistä 10-15 min, jonka jälkeen kolonni pestiin 2 ml vettä, 5 ml 0,3 M $\text{NH}_4(\text{OH})$ ja 2 ml vettä. BF_4^- eluoiitiin kolonnista 5 ml 1 M NaOH ja 5 ml vettä.

Näytteestä⁹ on myös mahdollista eristää häiritseviä kationeja. Yhtenä sovellutuksena on käytetty boorin ja mannitolin muodostamaa kompleksia, joka käyttäytyy anionina, jolloin kationit voidaan erottaa kationinvaihtokolonnissa käyttäen eluenttina HF. Tämän jälkeen boori voidaan muuttaa tetrafluoroboraatiksi ja erottaa anioninvaihtokolonnissa.

Matoh *et al.*¹² eristivät Amberlite IR 120 -hartsilla (H^+ -muoto mesh 100-200) kationeja kuivatuhkistetuista tomaatinlehdistä. 20 mg näytteisiin oli ennen tuhkistusta lisätty 10 mg $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 100 μl vesisuspensionana. 550 °C 2 h tuhkistetut näytteet liuotettiin 1 ml 0,5 M HCl ultraääniavusteisesti. Sentrifuugiputkiin lisättiin 100 mg ilmakuihattua ioninvaihtohartsia ja sekoittamisen jälkeen hartsin annettiin asettautua. Putkesta otettiin jatkonäyte (100 μl) ja neutraloitiin (100 μl 0,5 M NaOH)

2.2.4 Aktiivihiili

Spektrofotometrisissä määrittelyissä voidaan pyrkiä poistamaan näytteen häiritsevä väri aktiivihiiltä käyttäen, joskin on mahdollista, että boori ei kokonaan siirry suodokseen. Gupta¹⁵ määritteli aktiivihiilen aiheuttamaa boorin häviötä kuumavesiuuton jälkeen (taulukko 2).

Taulukko 2. Lisätyn boorin määrä verrattuna mitattuun, kun aktiivihiiltä käytetään värin poistamiseen kuumavesiuutossa podsolimaasta¹⁵

[Lisätty hiilen määrä / 50 ml liuosta] / [Lisätty boorin määrä ($\mu\text{g}/5\text{ml}$)]	0,2 g (B-%)	0,4 g (B-%)	0,8 g (B-%)	1,2 g (B-%)
2	95,37	94,20	87,71	80,74
4	98,37	95,74	85,24	81,35
6	98,64	92,98	90,19	83,00

3 Määritysmenetelmiä ja tulosten tarkastelua

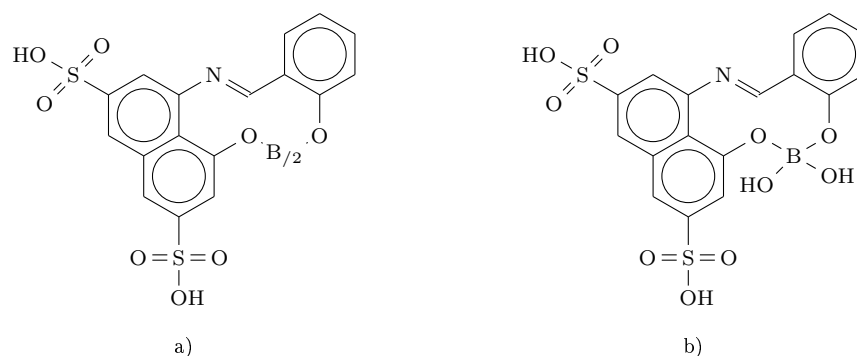
3.1 Spektrofotometria

Spektrofotometrinen määrittäminen on muihin menetelmiin verrattuna halpaa. Reagenssit muodostavat värillisiä tai fluoresoivia komplekseja boorin kanssa. Käytetyimpiä kolorimetrisiä menetelmiä ovat atsometiini-H, kurkumiini ja karminiinihappo. Fluorimetriset menetelmät kärsivät kuitenkin ongelmallisista häiriötekijöistä (mm. pH ja lämpötila), eikä niitä juurikaan ole käytetty kasvi -tai maanäytteille, vaikka ne ovat herkempiä.^{9,23,46}

3.1.1 Atsometiini-H ja sen johdannaiset

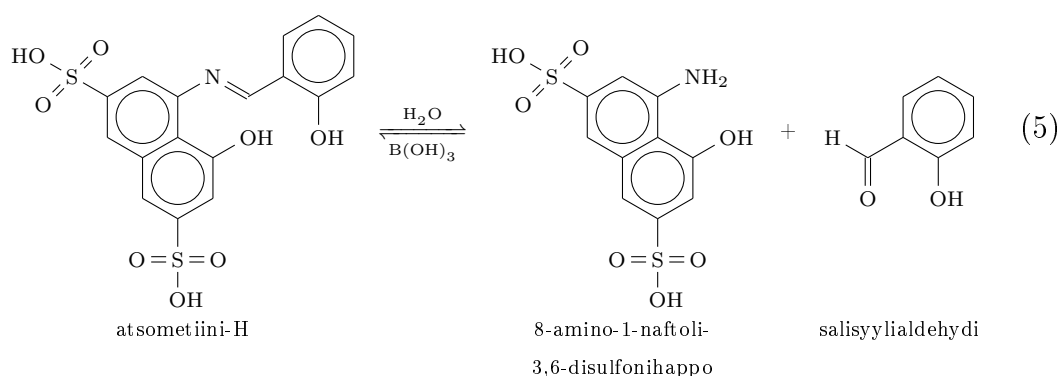
Atsometiini-H on spektrofotometrisistä menetelmistä käytetyin.¹⁶ Menetelmänä se on luotettavin, nopein, käytännöllisin ja yksinkertaisin. Suurin haitta menetelmässä on Al, Cu, Fe, Zn, Ni ja Co aiheuttamat häiriöt. Näytteen väri ja korkea raudan pitoisuus saattavat aiheuttaa huomattavaa häiriötä kasvattaen signaalia. Häiritsevistä ioneista osa kuten kloori ja bromi puolestaan hapettavat 1-amino-8-hydroksinaftaleeni-3,6-disulfonihappoa (HA). Mangaani(VII) häiritsee myös määrittystä. HA:n hapettuminen kyseisillä ioneilla voidaan estää käyttämällä mietoa pelkistintä.⁴⁷ Raudan ja muiden häiriötä aiheuttavien ionien vaikutusta voidaan vähentää lisäämällä ADTA:ta, EDTA+tioglykoolihappoa ja fosfaattia + tioureaa + askorbiinihappoa.¹⁶ Kelaatit vähentävät määrittäksen herkkyyttä. Häiriöt ja herkkyyden väheneminen alhaisilla boorin pitoisuuksilla rajoittavat menetelmän käyttöä monimutkaisissa näyteympäristöissä.¹⁶ Atsometiini-H ja sen johdannaiset eivät vaadi liuotinympäristöön väkevän rikkihapon käyttöä ja menetelmä soveltuu näin paremmin automatiikkaan.¹⁶

Boorin on ehdotettu muodostavan atsometiini-H:n kanssa kelaatteja (kuva 7).⁴⁸ Atsometiini-H:n johdannaisille tehdyt testit Jobin menetelmällä tukevat 2:1 kompleksia boorin kanssa (kuva 7 a).^{17,49} Takahashi *et al.*⁵⁰ artikkelissa viitataan tutkimukseen, jossa ¹B NMR -mittausten perusteella ehdotetaan 1:1 kompleksia kahdella kelaattirenkaalla salisyylialdehydin ollessa liuoksessa.

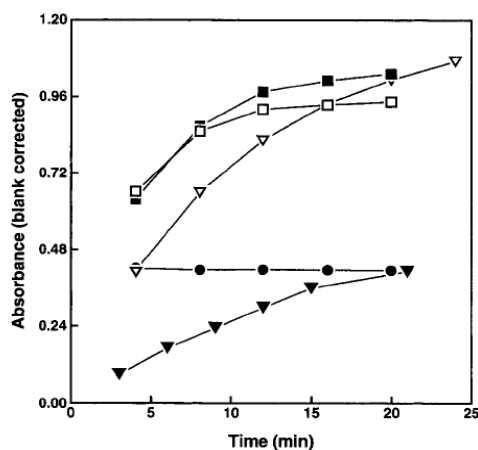


Kuva 7. Boorin mahdollisia kelatoitumismuotoja atsometiini-H:n kanssa a) 2:1-kompleksi ja b) 1:1-kompleksi⁴⁸

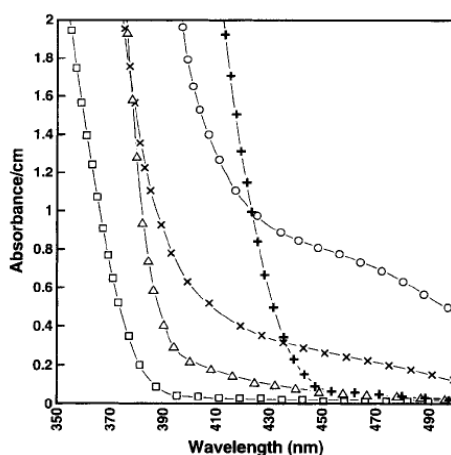
Atsometiini-H,⁴⁷ joka on salisyylialdehydin (SA) ja HA:n kondensaatiotuote, hajoo vesiliuoksessa (yhtälö 5). Boorihappoa lisättäessä liuokseen tasapaino siirtyy vasemmalle lisäten atsometiini-H:n keltaista väriä liuoksessa. Boorin tiedetään muodostavan vesiliuoksessa salisyylaattokomplekseja. Tosin Takahashi *et al.*⁵⁰ eivät kyseisestä muotoa havainneet HPLC-määrityksessä.



Harp⁴⁷ ehdottaa tetraetrisen boro-salisyylialdehydikompleksin muodostumista kevyesti emäksisissä olosuhteissa. Boorin kompleksoituminen aldehydin kanssa saa aikaan nukleofilisen hyökkäyksen vapaaseen amiiniin HA:ssa saaden aikaan väliaikaisen karbinoliamiinin, joka dehydratoituu Schiffin emäkseksi. Tätä tukee havainto atsometiini-H:n nopeutuneesta muodostumisesta pH:ssa 7,5-7,8 (kuva 8). Tällä pH-alueella salisyylialdehydin hydroksiryhmä on deprotonoitunut.

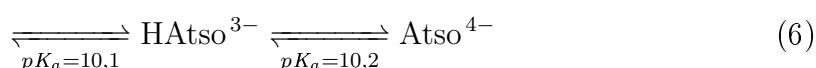
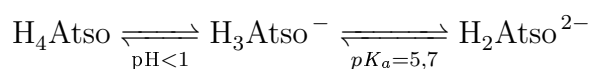


Kuva 8. Atsometiini-H muodostumisnopeus, kun liuos sisältää 1,00 mg/l booria pH 6,9(▼), pH 7,3 (▽), pH 7,5 (□), pH 7,8 (■), pH 8,5 (●).⁴⁷



Kuva 9. 0,5 mM atsometiini-H -liuoksen absorptiospektri pH 2,2 (□), pH 6,0 (△), pH 7,8(×), pH 8,5 (○), pH 12,6 (+)⁴⁷

Atsometiini-H esiintyy pH:sta riippuen erilaisissa muodoissa (kuva 9, yhtälö 6).

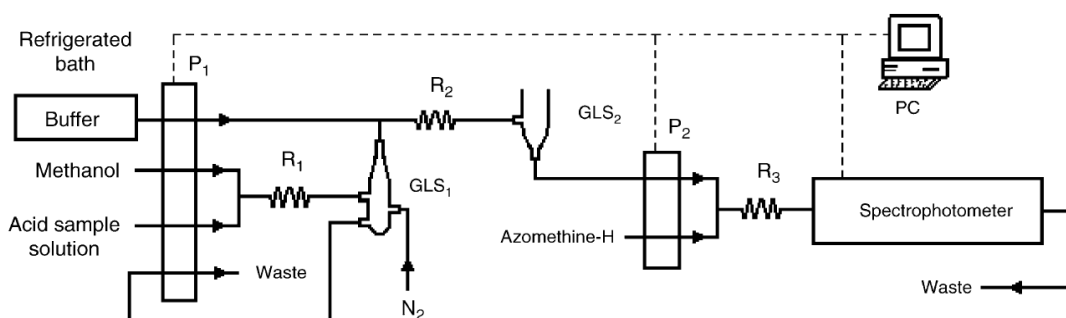


Harp⁴⁷ tutki atsometiini-H:n ominaisuuksia boorin määrittämisen kannalta. Yleisesti kyseisessä menetelmässä käytetyt pH-arvot ovat 4,3-7,3 välillä ja aallonpituus 400-420 nm välillä, jolloin näyte voi sisältää muotoja H_3Atso^- ja $\text{H}_2\text{Atso}^{2-}$ ja täten

häiritä määrittystä. Kyseisellä pH-välillä boorittomassa liuoksessa, eli mittauksen kannalta nollaliuoksessa, salisyylialdehydi-ioni absorboi merkittävästi 413 nm aallonpituudella. Tämä voidaan estää säätämällä pH välille 2,0-2,4.

Atsometiini-H -menetelmä⁴⁷ toisaalta toimii myös ilman atsometiini-H reagenssia, jolloin tarvitaan reagensseina SA ja HA. SA:ta suositellaan käyttämään moolisuhteessa 5:1 HA:n booripitoisuuden lineaarisen alueen optimoimiseksi välille 0,015-1,000 mg/l, jolloin reaktion pitäisi olla ohi 15 minuutissa. Lämpötila vaikuttaa merkittävästi reaktionopeuteen. Reaktion herkkyys kasvaa lämpötilan laskiessa. Tämä saattaa johtua HA:n epävakauudesta korkeimmissa lämpötiloissa. Harp suosittelee 2 °C lämpötilaa näytteiden ja standardien valmistukseen.

Carrero *et al.*¹⁶ määrittivät booria kahvipavuista ja lehdistä sekä maasta virtausjärjestelyllä. Atsometiini-H-liuos valmistettiin liuottamalla 0,7 g atsometiini-H:n natriumsuolaa ja 2,00 g askorbiinihappoa 100 ml vettä. Puskuriliuos valmistettiin liuottamalla 57,50 g $(\text{NH}_4)_2\text{PO}_4$ ja 132,00 g $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ vedellä (750 ml). Laitteiston kaaviokuva on esitetty kuvassa 10 ja taulukossa 3 optimoidut määrittäsolosuhteet. Puskuriliuosta ja atsometiini-H-liuosta pumpattiin syötöllä lävitse. Näyte pumpattiin metanolin kanssa R_1 -käämin kautta metyyliboraatin tuottamiseksi. Eksotermisen reaktion metanolin ja rikkihapon välillä tuottaa lämpöä tarpeeksi (65 °C), jonka vuoksi metyyliboraatin tislautumiseen ei tarvita ulkoista lämpölähdettä. Faasit erottuivat GLS_1 -erottimessa ja metyyliboraatti siirtyy puskuriliukseen typpivirran mukana. Kaasumainen metyyliboraatti hydrolysoitiin R_2 -reaktiokäämissä ja faasit erotettiin GLS_2 -erottimessa. Eluenttiliuos yhdistettiin R_3 -käämin ja absorbanssia mitattiin 420 nm aallonpituudelta. Boorin määrittäminen onnistui 50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ asti ja toteamisraja oli 0,05 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Tulokset ovat taulukossa 4. Häiritsevien ionien määrät, jotka aiheuttavat $\pm 5\%$ eron tuloksissa, on esitetty taulukossa 5.



Kuva 10. Kuvaus laitteistosta booriin määrittäykseen virtausjärjestelmällä. $P_{1,2}$ peristalttinen pumppu, R_{1-3} käämit, $\text{GLS}_{1,2}$ kaasuneste-erottajat.¹⁶

Taulukko 3. Optimaaliset olosuhteet määrittelykselle virtausjärjestelmällä¹⁶

aallonpituus [nm]	420	puskuriliuoksen lämpötila [°C]	3
H ₂ SO ₄ pitoisuus [M]	18	esteröinnin reaktiokäämi R ₁ [cm]	20
Näytteen virtausnopeus [ml/min]	1	hydrolyysin reaktiokäämi R ₂ [cm]	110
metanolin pitoisuus	absoluuttinen	atsometiini-H pitoisuus [m/v-%]	0,75
metanolin virtausnopeus [ml/min]	3	atsometiini-H virtausnopeus [ml/min]	0,5
kantokaasun (N ₂) virtausnopeus [ml/min]	20	värin muodostumiskäämi R ₃ [cm]	400
ammoniumfosfaatti puskuriliuos [M]	2	analyytin virtausnopeus [ml/min]	1,5
puskuriliuoksen virtausnopeus [ml/min]	1,3		

Taulukko 4. Boorin määrittelytuloksia virtauslaitteistolla sekä saanto tunnetun lisäyksen jälkeen¹⁶

näyte	booria lisätty [μg]	mitattu [μg]	saanto-%
maa	0	161±6	-
	25	184±7	92
	75	233±9	96
kahvipapu	0	62±3	-
	25	86±3	95
	75	136±5	99
kahvipensaan lehdet	0	185±3	-
	25	209±5	98
	75	262±8	103

Taulukko 5. Maksimipitoisuus ionille, kun 5 μg/ml boorin signaalin tulee ±5 % hajonta.¹⁶

häiritsevä ioni	ioni/boori -suhde	raja [mg/l]	häiritsevä ioni	ioni/boori -suhde	raja [mg/l]
K ⁺	20	100	Cd ²⁺	140	700
Li ⁺	40	200	Mg ²⁺	160	800
Na ⁺	40	200	Pb ²⁺	200	1000
NH ₄ ⁺	100	500	Hg ²⁺	200	1000
Cu ²⁺	80	400	Fe ³⁺	100	500
Co ²⁺	80	400	Al ³⁺	100	500
Ni ²⁺	80	400	V ⁵⁺	80	400
Zn ²⁺	80	400	Cl ⁻	200	1000
Ba ²⁺	80	400	NO ₃ ⁻	200	1000
Sr ²⁺	80	400	F ⁻	200	100
Ca ²⁺	80	400			

Demir ja Serindag²¹ määrittivät booria greipeistä. Puskurimaskausreagenssina käytettiin 2 % EDTA:n ja askorbiinihapon yhdistelmää, mikä riitti poistamaan häiritsevien ionien vaikutuksen. Mittausaallonpituus oli 412 nm kohdalta. Menetelmä osoittautui riittävän herkäksi ja tarkaksi boorin määrittämiseen greipeistä. Kasvualue vaikutti lajiketta enemmän boorin pitoisuuteen (taulukko 6).

Taulukko 6. Mitatut boorin pitoisuudet greipeistä²¹

	alue	n	keskiarvo [mg/kg]	virhe [mg/kg] 95% luottamustaso
Punainen greippi	Kamışlı	3	5,87	0,13
	Bozyer	3	3,30	0,87
	Armutlubag	3	9,09	0,54
	Bağaltı	3	0,59	0,10
	Çatilyer	3	2,18	0,12
Valkoinen greippi	Kamışlı	3	7,12	1,86
	Bozyer	3	5,02	1,12
	Armutlubag	3	9,51	0,91
	Bağaltı	3	1,48	0,27
	Çatilyer	3	2,27	0,05

Atsometiini-H:n johdannaisilla voidaan parantaa selektiivisyyttä ja herkkyttä. Kuitenkin lämpötila-alue, pH-alue ja reaktionopeus vaihtelevat reagensseittain. Taulukossa 7 on vertailtu reagenssien ominaisuuksia.

Zaijun *et al.*⁴⁹ käyttivät määrittämiseen atsometiini-H:n johdannaisista (THBA)/3,4-dihydroksiatsometiini-H.⁵²

THBA syntetisoitiin seuraavasti:⁴⁹ punnittiin 18 g 1-amino-8-naftoli-3,6-disulfonihapon mononatriumsuolaa 2000 ml dekantterilasissa, lisättiin 1000 ml vettä ja liuotettiin kuumentamalla ja sekoittaen. pH säädettiin 7,0 10 % NaOH -liuoksella. Lisättiin 20 g 2,3,4-trihydroksibentsaldehydiä vähitellen liuokseen ja pH säädettiin 1,4 väkevällä vetykloridihapolla jatkaen sekoitusta 10 minuuttia. Liuoksen värin muuttuessa ruskehtavaksi, jaettiin se 10 osaan 200 ml koeputkiin ja ravisteltiin 25 rpm kierrosnopeudella 72 tuntia, jonka jälkeen sentrifugoitiin. Keltainen saostuma suodatettiin ja pestiin 100 ml 95 % etanolilla. Tuotetta kuivattiin 80 °C 3 tuntia ja laitettiin jääkaappiin säilytykseen. Saanto oli 48 %.

Taulukko 7. Atsometriini-H:n ja sen johdannaisien vertailua⁴⁹

reagenssi	liuotin	λ_{max} [nm]	ϵ [$\frac{l}{mol \cdot cm}$]	huomioita	rakenne
atsometriini-H	NH ₄ Ac-HAc (pH 6,5)	420	8,1·10 ³	1. kapea happamuusalue. 2. lämpötila vaikuttaa paljon herkkyteen ja nopeuteen. 3. Fe, Al, Cu, Ti ja Zr häiritsevät huomattavasti.	
5-Cl-atsometriini-H	NH ₄ Ac-HAc (pH 5,5)	430	5,95·10 ³	1. Heikko vesiliukoisuus, vaati etanolia. 2. Heikko herkkyys. 3. Lämpötila vaikuttaa herkkyteen.	
4-metoksiatsometriini-H	NH ₄ Ac-HAc (pH 5,7)	420	1,05·10 ⁴	1. Korkea herkkyys. 2. Lämpötila vaikuttaa herkkyteen huomattavasti. 3. Kapea happamuusalue. 4. Nopea värin muodostus.	
3-metoksiatsometriini-H	NH ₄ Ac-HAc (pH 5,5)	423	7,19·10 ³	1. Lämpötila vaikuttaa herkkyteen huomattavasti. 2. Kapea happamuusalue. 3. Nopea värin muodostus.	
atsometriini-HR	NH ₄ Ac (pH 7,0)	425	2,45·10 ⁴	1. Korkea herkkyys. 2. Kapea happamuusalue. 3. Reagenssin pitoisuus vaikuttaa huomattavasti herkkyteen. 4. Värin muodostus erittäin hidasta.	
THBA	NH ₄ Ac (pH 8,0)	430	2,95·10 ⁴	1. Korkea herkkyys. 2. Vakaa. 3. Kestää laajaa lämpötilan vaihtelua (0-35 °C) 4. Selektiivinen.	

Puskuriliuos valmistettiin liuottamalla 500 g ammoniumasetaattia 700 ml vettä. Puskuriliuoksen pH säädettiin ammoniakilla 8,0. Standardit tai näytteet, jotka sisälsivät korkeintaan 20 μg booria valmistettiin lisäämällä 25 ml mittapullossa 5,0 ml puskuriliuosta ja 6,0 ml 0,3 % THBA-liuosta (0,3 g THBA ja 1,0 g askorbiinihappoa liuotettu 100 ml:an vettä) ja laimennettiin merkkivilavuuteen vedellä. Absorbanssi mitattiin 90 minuutin jälkeen 430 nm aallonpituudelta. Menetelmä on atsometiini-H:n nähden parempi herkkyydeltään molaarisen absorptiokertoimen ollessa 4,2-kertainen. Reagenssilla voi määrittää boorin suoraan ppb-tasolla ilman konsentroitua. Absorbanssi pysyi vakaana 24 h 0-35 °C lämpötilassa. Reagenssi oli selektiivinen boorin suhteen. Menetelmä antaa yhteneväiset tulokset ICP-OES:n kanssa (taulukko 8). Ionien määrät 10 μg booria kohden on listattu taulukossa 9, jotka aiheuttavat ± 5 % määrittämisvirheen.

Taulukko 8. Tulosten vertailu ICP-OES ja syntetisoidun reagenssin välillä⁴⁹

näyte	B [$\mu\text{g}/\text{g}$]	B [$\mu\text{g}/\text{g}$] ICP-OES
riisi	0,85 \pm 0,002	0,083 \pm 0,04
chili	0,123 \pm 0,004	0,120 \pm 0,007
soijapapu	3,21 \pm 0,11	3,23 \pm 0,15
peruna	1,17 \pm 0,05	1,20 \pm 0,04
kastanja	0,99 \pm 0,04	0,98 \pm 0,05
sokerijuurikas	1,97 \pm 0,07	2,02 \pm 0,10

Taulukko 9. Häiritsevät ionit pitoisuuden raja, jossa määrittämisvirhe on ± 5 %⁴⁹

ioni	raja [mg]	ioni	raja [mg]	ioni	raja [mg]
Al ³⁺	1,0	La ³⁺	5,0	Zn ²⁺	5,0
Ca ²⁺	25	Zr ⁴⁺	0,1	NH ₄ ⁺	100
Co ³⁺	5,0	Mo ⁴⁺	0,7	Ba ²⁺	2,5
Cu ²⁺	5,0	Mg ²⁺	100	CO ₃ ²⁻	100
Fe ³⁺	0,1	K ⁺	100	SiO ₃ ²⁻	50
W ⁶⁺	1,0	Cl ⁻	2000	C ₂ O ₄ ²⁻	100
Pb ²⁺	1,0	Br ⁻	200	Ti ⁴⁺	0,1
Ni ²⁺	1,0	I ⁻	100	PO ₄ ³⁻	100
Mn ²⁺	1,0	SO ₄ ²⁻	100		

Zaijun *et al.*¹⁷ määrittivät boorin pitoisuuden 4-metoksi-atsometiini-H:lla maasta ja kasveista. Reagenssi on 2-hydroksyyli-4-metoksibentsaldehydin ja 8-amino-1-naftoli-3,6-disulfonihapon kondensaatiotuote. Puskuriliuos valmistettiin liuottamalla 500 g NH₄Ac 700 ml ja pH säädettiin 5,7 ammoniakilla. Mittausliuoksessa käytettiin 5 ml puskuriliuosta, 2,5 ml 2 % EDTA, 2,5 ml 2 % sitruunahappoa ja 5 ml 0,9 %

4-metoksi-atometiini-H -liuosta (0,9 g 4-metoksi-atsometiini-H ja 2,0 g askorbiini-happoa luotettu 100 ml:an) 25 ml lopullista tilavuutta kohden. Absorbanssi pysyi vakiona ja korkeimmillaan, kun 0,5-10 ml puskuriliuosta käytettiin 25 ml mittausliuoksessa. Mittaukset tehtiin 420 nm aallonpituudelta 40 minuutin jälkeen. Menetelmä antoi 1,5-kertaisen parannuksen herkkyteen atsometiini-H:n verrattuna. Reagenssi toimii hyvin selektiivisesti ja absorbanssi pysyy vakaana ainakin 6 tuntia, mikäli lämpötila ei nouse yli 30 °C. Tulokset ovat yhteneväisiä kurkumiinilla mitattujen tulosten kanssa (taulukko 10). Ulkopuolisten ionien vaikutus 10 µg booria sisältävässä liuoksessa on listattu taulukkoon 11.

Taulukko 10. Mitatut tulokset vertaillen 4-metoksi-atsometiini-H:ta ja kurkumiinia ¹⁷

näyte	johdannainen [µg/g]	kurkumiini [µg/g]
riisi	0,065±0,001	0,066±0,003
mungopapu	0,117±0,002	0,118±0,004
kahvilehdet	121,2±0,05	121,1±0,07
maa	12,4±0,07	12,5±0,08

Taulukko 11. Ionien vaikutus boorin saantoon, kun booria on mittauksessa 10 µg ¹⁷

ioni	lisätty [mg]	mitattu B [µg]	%	ioni	lisätty [mg]	mitattu B [µg]	%
F ⁻	50	10	100	Co ²⁺	1,0	10	100
Cl ⁻	150	10	100	Pb ²⁺	1,0	10	100
I ⁻	30	10	100	Mn ²⁺	1,0	10	100
NO ₃ ⁻	35	10	100	Cu ²⁺	1,5	10,1	101
K ⁺	100	10	100	Cd ²⁺	1,2	10	100
Na ⁺	100	10	100	Mo ⁴⁺	0,5	10	100
Ca ²⁺	16	9,9	99	Cr ³⁺	1,25	10	100
Mg ²⁺	15	9,9	99	Al ³⁺	0,7	10,2	102
Zn ²⁺	20	10	100	W ⁶⁺	1,0	10,5	105
Ni ²⁺	2,0	10	100	V ⁵⁺	0,5	10,5	105
Fe ³⁺	2,0	10	100	Ti ⁴⁺	1,0	10,5	105

Zenki *et al.* ⁵¹ käyttivät boorin määrittämiseen luonnonvesistä atsometiini-H:n syntetisoitua johdannaista (1-(2,4-dihydroksibentsyyliideeni-amino)-8-hydroksinaftaleeni-3,6-disulfonihappo). Reagenssi on 2,4-dihydroksibentsaldehydin ja 8-amino-1-naftoli-3,6-disulfonihapon kondensaatiotuote. Reagenssiliuos valmistettiin liuottamalla 0,3 g syntetisoitua johdannaista 100 ml vedellä. Puskuriliuos (pH 7,5) valmistettiin liuottamalla 500 g ammoniumasetaattia ja 50 g EDTA n. 700 ml vettä säätäen pH:ta laimealla ammoniakkiliuoksella ja laimentamalla 1 l vedellä. Boorin standardiliuok-

set valmistettiin boorihaposta välille 0-12 $\mu\text{g}/\text{ml}$ booria. Mittaukseen valmistellut 25 ml näytteet sisälsivät 3 ml puskuriliuosta. Liuosten annettiin seistä 2,5 tuntia ja absorbanssi mitattiin 425 nm aallonpituudelta. Menetelmän herkkyys nousee n. 3,5 kertaiseksi atsometiini-H:n nähden. Tulokset ovat taulukossa 12. Menetelmä antoi atsometiini-H:n verrattaessa yhteneviä tuloksia. Häiritsevien ionien vaikutus on listattu taulukkoon 13.

Taulukko 12. Mitatut vesien boorin pitoisuudet atsometiini-H:n johdannaiselle ja vertailu atsometiini-H -menetelmään⁵¹

näyte	laimennus	lisätty booria [ppm]	mitattu [ppm]	saanto-%	atsometiini-H mitattu [ppm]
merivesi	1/4	-/1,0	4,33/5,49	103	4,31
merivesi	1/4	-/1,0	4,69/5,67	100	4,67
merivesi	1/4	-/1,0	4,53/5,47	99	4,58
kuumalähde	1/2	-/0,5	1,55/2,05	100	1,60
kuumalähde	1/2	-/0,5	2,68/3,24	102	2,77
kuumalähde	-	-/0,05	0,04/0,09	100	-

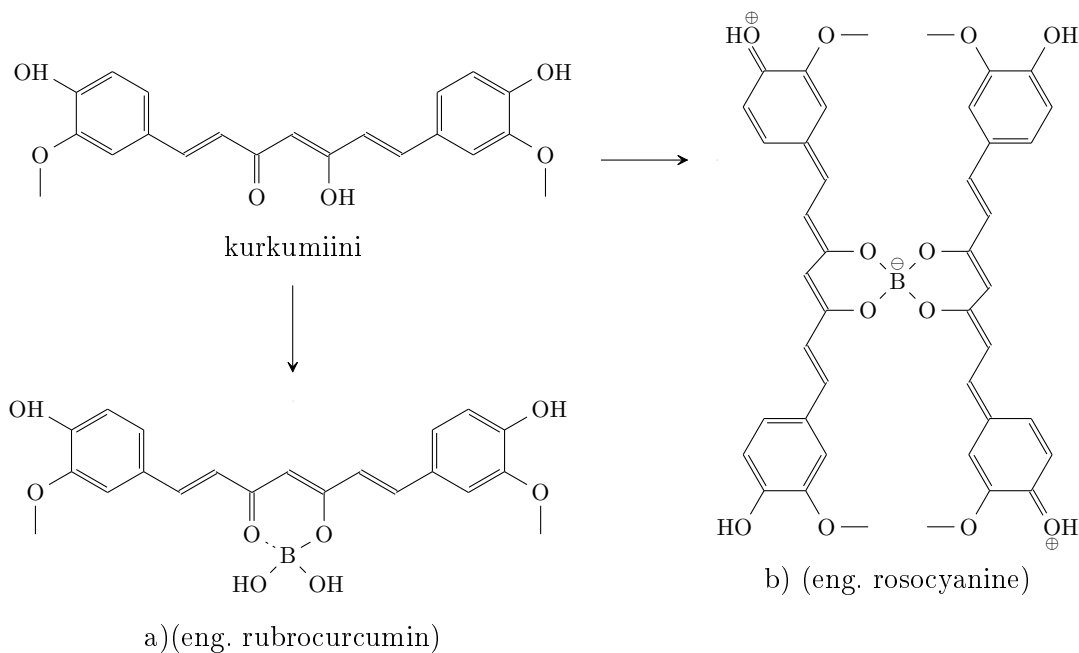
Taulukko 13. Ioneiden vaikutus, kun liuos sisältää 5 μg B ja $1,5 \cdot 10^{-2}$ M EDTA-liuosta⁵¹

ioni	lisätty [μg]	mitattu [μg]	saanto-%	ioni	lisätty [μg]	mitattu [μg]	saanto-%
Al^{3+}	100	5,04	101	Ti^{4+}	100	4,85	97
Ca^{2+}	100	4,97	99	Zn^{2+}	100	5,10	102
Co^{3+}	100	5,08	102	Zr^{4+}	100	5,08	102
Cu^{2+}	100	5,11	102	NaCl	50 (mg)	5,00	100
Fe^{3+}	100	4,97	99		150 (mg)	5,00	100
Ni^{2+}	100	5,10	102		300 (mg)	5,03	101
Mn^{2+}	100	5,06	106		500 (mg)	5,21	104

3.1.2 Kurkumiini

Kurkumiini on β -diketoni ja liukenee metanoliin, etanoliin, asetoniin ja vedettömään etikkahappoon ja muodostaa keltaisen liuoksen.⁵³ Kurkumiini muodostaa boorihapon kanssa violetinpunaisen ionisen kompleksin kahden kurkumiinimolekyylin ja yhden boorin välillä (kuva 11 b) ($\epsilon \approx 1,8 \cdot 10^5 \frac{1}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$, $\lambda_{\text{max}} = 550 \text{ nm}$ ⁵³), joka muodostuu rikkihapon ja etikkahapon seoksessa. On myös mahdollista tehdä määrittäminen varaukseltaan neutraalista 1:1 kompleksista (kuva 11 a),⁵⁴ joka muodostuu oksaalihapossa.

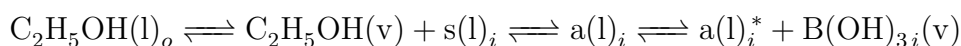
1:1 kompleksi ei kuitenkaan ole niin vakaa ja lisäksi se on herkkyydeltään noin puolet alhaisempi, mutta toisaalta nopeampi.⁵⁵ Kompleksin muodostumista häiritsee vesi, joka voidaan poistaa liuoksesta myös käyttämällä hapon anhydridejä.⁸ Kurkumiinimenetelmissä boori on jouduttu esimerkiksi erottamaan näytteestä uuttamalla se näytteestä orgaaniseen faasiin^{36,56} ja monimutkaisissa näytematriiseissa on myös hyödynnetty tislauksia booratiestereinä,⁴⁰ koska esim. Be, Fe, Ge, Mo, Ti häiritsevät määrittystä muodostamalla kurkumiinin kanssa kompleksin.⁵³

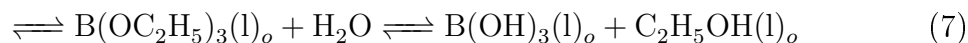


Kuva 11. Kurkumiinin (enolimuoto) ja boorihapon reaktio a) 1:1 kompleksi⁵⁵ ja b) 2:1⁵⁴ kompleksi

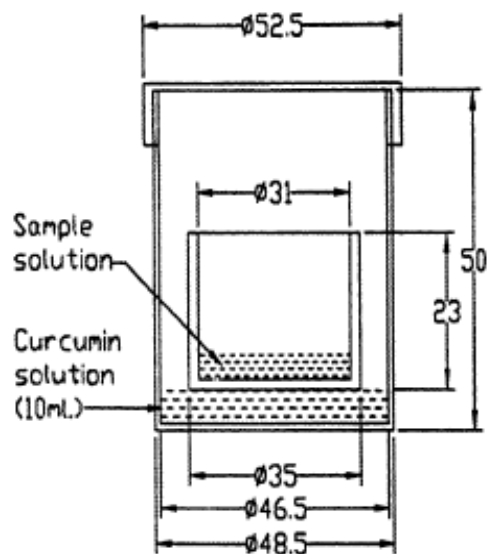
Thangavel *et al.*⁴⁰ käytti määrittämiseen kurkumiinia hyödyntäen isotermistä tislauksia. Menetelmän tarkoituksena oli määrittää boori monimutkaisista näytematriiseista. Vesihauteella kuumennettaessa ulkoisen astian etanoli höyrystyy ja siirtyy sisäisen astian vettä sisältäväksi alkoholiliuokseksi, jossa se reagoi boorihapon kanssa. Höyrystynyt boraattiesteri stabiloituu kurkumiiniliuokseen boorihapoksi. Tislaukskammion rakenne on esitetty kuvassa 12. Rakennetun tislaukskammion astiat ovat polypropyleeniä.

Reaktio voidaan esittää yhtälön 7 mukaan:





missä v on höyry, l neste, s näyte, a alkoholiliuos, * $\leq 50 \mu\text{l}$ tilavuus, i sisäinen astia ja o ulkoinen astia.



Kuva 12. Isoterminen tislauksäiliö. Mitat millimetreinä.⁴⁰

Reagenssiliuoksena käytettiin 10 ml 0,1 % kurkumiiniliuosta (liuoksessa 1,5 % oksaalihappoa ja etanolia ja vettä suhteessa 3:1). Näytteet olivat booripulveri, vesi ja uranylinitraatti. Booripulveria lisättiin sisäiseen astiaan 100 mg ja lisättiin 0,5 ml metanolia, jonka jälkeen astia suljettiin. Tislautumisen annettiin tapahtua huoneenlämmössä yön yli. Vettä käytettiin 3 ml, jolloin tislautuminen kesti 4 h vesihauteella. 500 mg uranylinitraattia liuotettiin 2 ml etanolia ja tislattiin vesihauteella. Tislauksen jälkeen kurkumiiniliuos haihdutettiin kuivaksi n. 80 °C vesihauteella ja näytteeseen lisättiin asetonia. Absorbanssi mitattiin 550 nm aallonpituudelta 10 minuutin värinmuodostuksen jälkeen. Vesihauteella suoritettu kuumennus heikensi menetelmän luotettavuutta.

Liu ja Lee⁸ määrittivät boorin merivedestä. 500 μl näytettä pipetoitiin reaktioastiaan, johon lisättiin 1,0 ml vedetöntä etikkahappoa ja 3,0 ml propionihapon anhydriidiä. Sekoitettuun liuokseen lisättiin tiputtaen 250 μl katalyyttinä toimivaa oksalyylidikloridia. Reaktioastia suljettiin ja jäähdytettiin huoneenlämpötilaan, jonka jälkeen

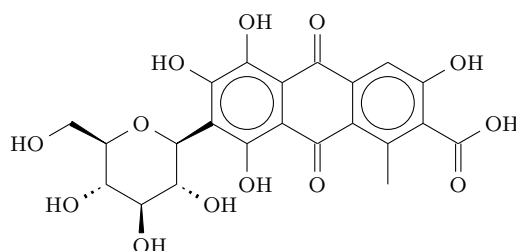
lisättiin 3,0 ml väkevän rikkihapon ja vedettömän etikkahapon 1:1 seosta sekä 3,0 ml kurkumiiniliuosta (0,125 g kurkumiinia 100 ml:ssa vedetöntä etikkahappoa). Väriin annettiin muodostua 70 minuuttia. Ylimäärä kurkumiinia muodostaa häiritsevän kompleksin, joka voidaan poistaa lisäämällä 20 ml puskuriliuosta (1 l vesiliuosta sisältää 135 ml vedetöntä etikkahappoa, 90 ml etanolia (99,9 %) ja 180 g NH_4Ac). Absorbanssi mitattiin liuksesta 543 nm aallonpituudelta. Häiritsevien tekijöiden kannalta mitattiin absorbanssi keinotekoisessa merivedessä ja milliQ-vedessä, johon oli lisätty NaCl (0,1-0,7 mol NaCl, suolaisuus 5-35). Absorbanssissa ei havaittu eroja, joten meriveden sisältämät pääionit eivät häiritse boorin määrittystä.

Wimmer ja Goldbach³⁶ määrittivät kurkumiinilla kasvien booripitoisuuden. Menetelmässä pyrittiin minimoimaan reagenssien ja liuottimien käyttöä. Teflon-astioissa hajotetusta näytteestä (10-100 mg), joka oli laimennettu 10 ml, otettiin 50 μl . Näyte tehtiin happamaksi 100 μl 0,1 M HCl, jonka jälkeen lisättiin 50 μl uuttoliuosta (10 (V/V) -% 2-etyyli-1,3-heksaanidiolia kloroformissa). Minuutin jälkeen faasien erotuttua, 20 μl pipetoitiin alemmasta poolittomasta faasista ja siirrettiin 200 μl happoseokseen (1:1 väkevää H_2SO_4 ja väkevää etikkahappoa). Väriinmuodostukseen tarvittavaa reagenssiliuosta (suodatettu liuos, joka valmistettiin liuottamalla 2,0 g kurkumiinia 1 l metyyli-isobutyryliketonia) lisättiin 250 μl . Tunnin kuluttua ylimäärä kurkumiinia deprotonoitiin lisäämällä 500 μl vettä. Orgaanisesta faasista (ylempi) otettiin 120 μl määrittämiseen. Absorbanssi mitattiin 550 nm aallonpituudelta. Lineaarinen alue ylsi 3 mg/l booria asti. Toteamisraja oli 0,010 mg/l. Booria lisäämällä saatiin 98-99 % saantoja. RSD oli 4,5 %. Menetelmää on sovellettu onnistuneesti ravintoliuoksiin, vesiin ja maitiaisnesteisiin.

3.1.3 Karminiinihappo ja karminiini

Karmiinihappo⁵⁷ (kuva 13) ja boori muodostavat erilaisia komplekseja riippuen liuotinympäristöstä. 95 % rikkihappoliuoksessa muodostuu 1:1 kompleksi. Tällöin absorptio voidaan mitata 615 nm aallonpituudelta (herkkyys $1,5 \cdot 10^{-3} \mu\text{g(B)}/\text{cm}^2$) ja 300 nm aallonpituudelta (herkkyys $7,0 \cdot 10^{-4} \mu\text{g(B)}/\text{cm}^2$). Liuoksessa 20:80 tilavuussuhteessa olevat etikkahappo ja rikkihappo saa boorin ja karminiinihapon muodostamaan 1:2 -kompleksin. Muodostuvan kompleksin absorptiomaksimi saadaan mitattua 548 nm aallonpituudelta (herkkyys $3,8 \cdot 10^{-4} \mu\text{g}/\text{cm}^2$). Absorbanssi kas-

vaa rikkihappopitoisuuden kasvaessa ja absorptiomaksimi siirtyy kohti suurempia aallonpituuksia. Karminia ja karminihappoa on käytetty jonkin verran määritysmenetelmien vertailuissa.^{35,58,59}



Kuva 13. Karminihappo⁶⁰

Peterson ja Zoromski²⁴ määrittivät vesiliukoisen boorin määrän lannoitteista käyttäen karmini No. 40 N.F. 2 ml uutettua ja aktiivihilen lisäyksen jälkeen suodatettua liuosta pipetoitiin 25 ml mittapulloon, lisättiin kaksi tippaa HCl (vahvuutta ei mainittu) ja 10 ml väkevää rikkihappoa hitaasti sekoittaen. Liuokseen lisättiin 10 ml karminiliuosta (0,005 g karmini No. 40 N.F liuotettu 100 ml rikkihappoa) ja annettiin reagoida 45 minuutin ajan ennen määrittystä. Absorbanssi mitattiin 600 nm aallonpituudelta.

Hatcher ja Wilcox³⁰ määrittivät boorin pitoisuuden karminilla kasveille ja vedelle. Kasvit esikäsiteltiin kuivatuhkauksella. Germanium, molybdeeni, cerium, silikaatti, fosfaatti, ammonium, fluoridi ja kalsiumkloridi eivät häiritse määrittystä. Nitraatti ja nitriitti häiritsevät ilman HCl lisäystä. Lämpötila ei vaikuta tuloksiin merkittävästi 20-35 °C välillä.

Liu *et al.*³⁴ mittasivat karminihappoa käyttäen boorin pitoisuuden triklorosilaaneista. Käsiteltyyn (liuotettu HF) ja lähes kuivaksi haihdutettuun näytteeseen lisättiin tippa väkevää HCl ja 1,5 ml väkevää H₂SO₄ ja 0,5 ml karminihappoliuosta (0,46 g karminihappoa 50 ml väkevää rikkihappoa). Väriin annettiin kehittyä 40-50 minuuttia ja absorbanssi mitattiin 585 nm aallonpituudelta.

Evans ja Krähenbühl²³ käyttivät karminihappoa fluorimetrisissä määrityksissä. Puskuriliuos tehtiin liuottamalla 45 g Na₂HPO₄ · 2H₂O 200 ml vettä. pH säädettiin 7 H₃PO₄ ja laimennettiin 250 ml. Puskuriliuos, EDTA-liuos ja karminihappoliuos sekoitettiin suhteessa 10:1:2. 2,50 ml seosta lisättiin 2,50 ml näyteliuokseen (0,5 g mikroaaltohajotettua näytettä (hajotus 2 ml 65 % HNO₃ ja 1 ml H₂O₂) laimennettu

10-15 g). Kompleksi muodostui välittömästi ja fluoresenssi mitattiin 550 nm ja 610 nm aallonpituuksilta virityksen aallonpituuden ollessa 468 nm. Menetelmä oli herkkä pH-eroille (0,1 ero vastasi 200 ng/g) ja pH:n säätö samaksi oli vaikeaa johtuen näytteiden erilaisista suolapitoisuuksista. Puskuriliuos laski menetelmän herkkyyttä. Mikroaaltohajotuksen avulla mitatut tulokset eri menetelmiin verrattuna ovat taulukossa 14, toteamisrajat taulukossa 15 ja raudan vaikutus on taulukossa 16. Menetelmän soveltuvuus mikroaaltoliuotukseen jälkeiseen mittaukseen atsometiini-H-, ICP-MS- ja ICP-OES- menetelmiin verrattuna heikko.

Taulukko 14. Mitatut boorin pitoisuudet eri tekniikoilla näytteistä²³

kasvit/menetelmä	heinä [$\mu\text{g/g}$]	tomaatin lehdet (SRM 1573) [$\mu\text{g/g}$]	männyn neulaset (SRM 1575) [$\mu\text{g/g}$]
atsometiini-H (415 nm)	5,0 \pm 0,3	36 \pm 2	18 \pm 1
karmiinihappo (610 nm)	8,5 \pm 2,0	57 \pm 3	16 \pm 2
karmiinihappo (550 nm)	4,4 \pm 0,3	32 \pm 18	10 \pm 3
ICP-OES (249,773 nm)	5,1 \pm 0,3	35 \pm 1	16 \pm 1
ICP-OES (249,678 nm)	5,2 \pm 0,2	36 \pm 1	16 \pm 1
ICP-MS	5,3 \pm 0,1	37 \pm 1	18 \pm 1
painotettu keskiarvo ja keskihajonta	5,2 \pm 0,1	36 \pm 1	17 \pm 1
kirjallisuusarvo		33 \pm 4	17 \pm 2

Taulukko 15. Saadut toteamis- ja määritysrajat eri mittaustekniikoilla²³

	toteamisraja [ng/g]	määritysraja [ng/g]
atsometiini-H (415 nm)	9	31
atsometiini-H (430 nm)	10	32
karmiinihappo (610 nm)	31	104
karmiinihappo (550 nm)	30	101
ICP-OES (249,773 nm)	3	12
ICP-OES (249,678 nm)	6	21
ICP-OES (208,959 nm)	26	87
ICP-MS	0,8	3

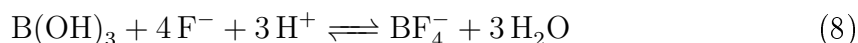
Taulukko 16. Määritetty häiriö, kun raudan pitoisuus booriin nähden 100-kertainen²³

mittausmenetelmä	häiriö [%]
atsometiini-H (415 nm)	+5
atsometiini-H (430 nm)	+3
karmiinihappo (610 nm)	-12
karmiinihappo (550 nm)	-6
ICP-OES (249,773 nm)	+12
ICP-OES (249,678 nm)	+3
ICP-MS	0

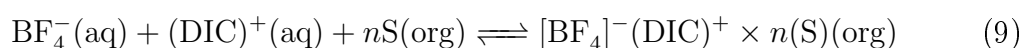
3.1.4 Tetrafluoroboraatin kompleksit

Menetelmissä boori eristetään orgaaniseen faasiin BF_4^- -anionina ja kompleksoidaan orgaanisen kationin kanssa.^{7,32,33} Victoria Blue 4R:n ja DIC:n ja Astra Phloxinen lisäksi on myös käytetty metyleeninsinistä.^{7,32,33,53}

Škrliková *et al.*³² määrittivät spektrofotometrisesti boorin muuntamalla boorihapon tetrafluoroboraatiksi yhtälön 8 mukaan:



Menetelmässä hyödynnettiin ultraäänihaudetta Balogh *et al.*³³ käyttämän lämmityksen sijaan. Ultraäänellä aikaan saatu tetrafluoroboraatin muodostuminen osoitautui 7 minuutin rektioajalla nopeammaksi verrattuna 30 minuutin lämmitykseen. Standardit sisälsivät 10 ml polyetylenikoeputkissa 0,5 ml asti 1 mM boorihappoa, 0,2 ml 0,5 M NaF, 0,3 ml 3 M rikkihappoa ja tilavuus säädettiin vedellä 1 ml:ksi. Koeputket siirrettiin ultraäänihauteeseen 7 minuutiksi tehon ollessa 250 W. Liuoksiin lisättiin 3,5 ml vettä ja 0,5 ml 0,001 M dimetyyli-indokarbosyaniiniväriainetta (DIC) ja sekoitettiin, jolloin tapahtuu yhtälön 9 mukainen reaktio.

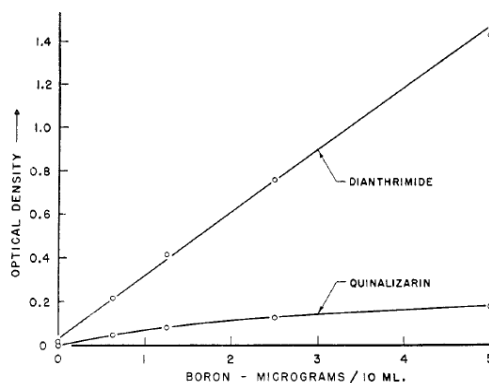


Kompleksi uutettiin 5 ml amyyliaasettaattia ($\text{CH}_3\text{COO}[\text{CH}_2]_4\text{CH}_3$) tasapainon asetuessa 60 sekunnin aikana. Absorbanssi mitattiin 551 nm aallonpituudelta. Kalibrointi 0,1-1,0 mg/l boorin pitoisuusvälillä noudatti Lambert-Beerin lakia ja toteamisraja oli 0,02 mg/l. Häiritsevät ionit testattiin 0,5 mg/l booriliuoksessa. $\pm 5\%$ virheen aiheutti 2000-kertainen määrä CH_3COO^- , Cl^- , SO_4^{2-} , Ca^{2+} , K^+ , Na^+ , 1000-kertainen määrä Mg^{2+} , 500-kertainen Cu^{2+} , 300-kertainen Fe^{2+} ja 250-kertainen määrä Ni^{2+} . NO_3^- , Br^- ja I^- muodostivat helposti kompleksin DIC:n kanssa ja häiritsevät määrittystä. 100-kertainen määrä nitraattia ja I^- sekä 150-kertainen määrä Br^- eivät häirinneet määrittystä.

Rusnáková *et al.*⁷ määrittivät booria vedestä tutkien tetrafluoroboraatin eristämiskeinoja neste-neste-uutolla käyttäen erilaisia liuottimia. Liuottimille mitattiin absorbanssit näytteiden ja nollaliuoksen kanssa, joiden perusteella tehtiin valinta. Amyyliasettaatti osoittautui (muut testatut: butyyliasettaatti, bentseeni, tolueni, ksyleeni) parhaaksi liuottimeksi, sen ollessa veteen niukkaliukoinen ja huomattavasti bentseeniä myrkyttömämpi. Apuliuottimena käytettiin kloroformia, koska amyyliaasettaatti on tiheydeltään vettä alhaisempi, mutta kloroformi taas merkittävästi tiheämpi. Dispersiiviseksi liuottimeksi valittiin asetonitriili (muut testatut: metanoli, etanoli, asetoni, etyleeniglykoli, DMSO, DMFA ja pyridiini). Amyyliasettaatin, kloroformin ja asetonitriilin suhteeksi valittiin 1:1:2. Signaali oli suurimmillaan suhteella 1:1:4, mutta tulosten keskihajonta oli toisaalta suurempaa ja nollanäytteelle mitattiin liian suuri signaali. Mittauksissa käytettiin 0,5 ml näytettä polyetyleenikoeputkissa, lisättiin 0,2 ml 0,5 M NaF ja 0,3 ml 3 M H_2SO_4 ja laimennettiin 1 ml. 10 minuutin ultraäänihauteen jälkeen lisättiin 0,5 ml 1 mM Astra Phloxine -reagenssia ja sekoitettiin. Tämän jälkeen lisättiin 3,5 ml vettä ja 0,5 ml amyyliaasettaatin, kloroformin ja asetonitriilin 1:1:2 seosta. Sekoitettu näyte sentrifugoitiin 3000 rpm 2 minuutin ajan ja pohjalle jääneen kloroformin ja amyyliaasettaatin seoksesta mitattiin absorbanssi 553 nm aallonpituudelta. Kalibrointi oli välillä 0,22-18,7 mg/l ja LOD nollanäytteen perusteella laskettuna 0,015 mg/l. Menetelmä antoi mineraalivesille vastaavat tulokset kuin vertailumenetelmä.

3.1.5 Muita spektrofotometriä reagensseja

Boorin määrittämiseen on aiemmin käytetty hydroksiantrakinoneita, joista yksi herkkimmistä on 1,2,5,8-tetrahydroksiantrakinoni.⁶¹ 1,1'-diantrimidi⁶² kasvatti boorin määrittämisen herkkyyttä (kuva 14). Molemmilla reagensseilla nitraatit häiritsevät määrittämistä, joten ne tulee poistaa esim. tuhkituksella. Reaktiot tapahtuvat väkevässä rikkihapossa.



Kuva 14. Kalibroitisuorat 1,1'-diantrimidille ja 1,2,5,8-tetrahydroksiantrakinonille⁶²

Kuwada *et al.*²⁸ määrittivät boorin vesistä käyttäen syntetisoitua 2,4-dinitro-1,8-naftaleenidiolia ja briljantin vihreää. Näytteeseen, joka sisältää 0,5 μg asti booria, lisätään 1 ml 1 mM mannitoliliuosta ja 10 mM natriumasetaattiliuosta. pH säädetään välille 3-11. Seos haihdutetaan kuivaksi vesihauteella, koska diolin ja boorin reaktio vaatii <2 % vesimäärää, jotta boori sitoutuisi kvantitatiivisesti. Lisätään 3 ml vedetöntä etikkahappoa ja 1,5 ml 2,5 mM 2,4-dinitro-1,8-naftaleenidioliliuosta vedettömässä etikkahapossa. Seoksen annetaan seistä > 1 h. Seos siirretään erotus-
suppilon, lisätään 1 ml 1 M NaOH ja laimennetaan 30 ml:ksi. Lisätään 0,5 ml 1 mM briljantin vihreän liuosta ja 5 ml tolueenia. Ravistellaan 10 minuuttia, jonka jälkeen poistetaan vesifaasi. Lisätään 10 ml 2 M HCl ja ravistellaan 10 minuuttia. Absorbanssi mitataan 637 nm aallonpituudelta tolueenifaasista. Lineaariseksi alueeksi saatiin $0 - 1 \cdot 10^{-5}$ M booria. Herkkyys riittää määrittämään boorin 0,5 ppb-tasoon asti. Tulokset ovat taulukossa 17. Menetelmä soveltuu luonnonvesiin häiritsevien anionien pitoisuuden ollessa niissä huomattavasti alemmalla tasolla. Menetelmää testattiin myös muille väriaineille, joiden molaariset absorptiokertoimet on taulukossa 18.

Taulukko 17. Boorimittauksen tuloksia joki- ja merivesistä²⁸

näyte	B [ppb]	B [ng]	B lisätty [ng]	mitattu [ng]	saanto-%
joki	8,7	87	216	289	95,4
joki	11,6	116	216	327	98,5
joki	8,8	88	216	305	100,3
joki	10,2	102	216	317	99,7
meri	4300	215	108	325	100,6
meri	4400	220	108	324	98,8

Taulukko 18. Molaariset absorptiokertoimet tolueneeniin eristetyille ionipareille²⁸

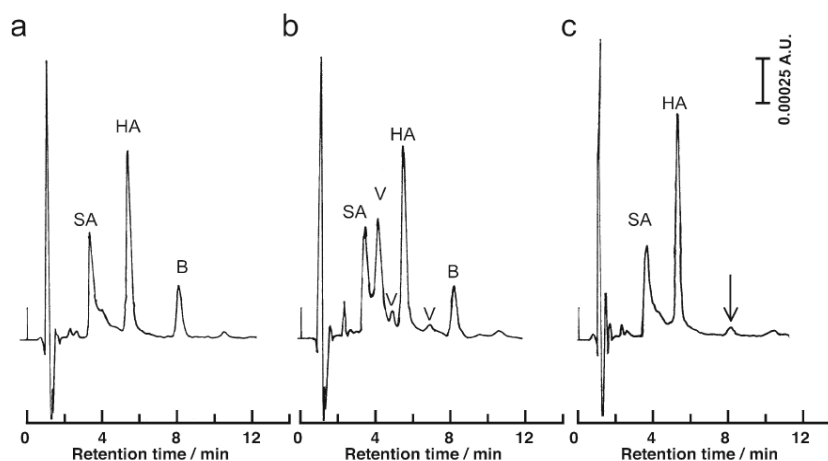
kationi	pesuliuos HCl [M]	λ_{max} [nm]	ϵ [$\frac{1}{\text{mol}\cdot\text{cm}}$]
malakiitin vihreä	2,0	636	9,5
briljantin vihreä	2,0	637	10,3
kristallin violetti	2,0	605	9,5
Rhodamine B	4,0	569	9,5
Rhodamine 6G	5,0	536	8,3

3.2 Korkean erotuskyvyn nestekromatografia (HPLC)

HPLC:llä erotetaan yleensä boorin ja orgaanisen kolorimetrinen reagenssin muodostama kompleksi ja mitataan erottuvien yhdisteiden absorbanssia.¹³ Näin voidaan mahdollisesti erottaa spektrofotometrissä määrittystä häiritseviä komponentteja.⁵⁰

Takahashi *et al.*⁵⁰ määrittivät boorin vesistä käänteisfaasi HPLC:llä kompleksoimalla boorin salisyylialdehydin ja HA:n kanssa ennen HPLC-kolonnissa tapahtuvaa erotusta. Eluenttina ei käytetty kompleksoivaa ainetta (KD-HPLC). Normaaliin spektrofotometriseen menetelmään verrattuna HPLC:llä tapahtuvan erotuksen ansiosta atsometiini-H -menetelmissä reagenssien, muodostuvien yhdisteiden ja kompleksien absorptiospektrien päällekkäisyys ei ole niin suuri ongelma. Atsometiini-H:n ja boorin kompleksille mitattiin suurin absorbanssi (410 nm) pH:ssa 7,6. Absorbanssipiikin korkeuden avulla määritettiin salisyylialdehydin ja HA:n suhde. Absorbanssi oli SA/HA moolisuhteessa suurimmillaan 1,6, joten kyseisten liuosten pitoisuuksina käytettiin 0,01 M SA ja 0,06 M HA. HA:n sekaan oli laitettu L-askorbiinihappoa, jonka lisäyksellä HA:n hajoamisesta tulevat piikit poistuivat. Vesinäytteisiin laitettiin pH-puskuriliuosta (1 M fosfaattiliuos, pH 7,6) 1 ml, 1,5 ml HA-liuosta ja 2,5 ml SA-liuosta. Jokivettä käytettiin 3 ml (reaktioaika 9 minuuttia). Hanavedelle, kahdesti tislatulle vedelle ja puhdistetulle kaupalliselle vedelle näytettä otettiin

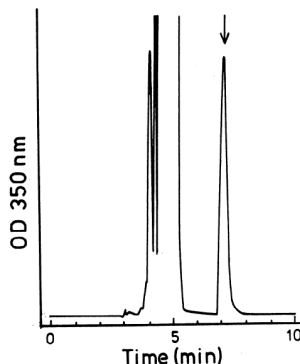
19 ml (reaktioaika 80 minuuttia). Ennen injektointia kolonniin, näytteisiin lisättiin 0,4 ml 1 M HCl. Eluenttina käytettiin 30 (m/v)-% asetonitriilin vesiliuosta, jossa oli 10 mmol/kg monoklooriasetaattia pH-puskurina ja 8,7 mmol/kg tetrabutyyliammoniumbromidia (TBABr) pH:n ollessa 2,9. TBABr käytettiin ioniparireagenssina, jolloin boorin kompleksi ja HA erottuivat. Toteamisraja määritettiin $3 \times$ nollanäytteiden piikkien keskihajontaa käyttäen ja tulokseksi saatiin 22 ng/l. Fe(II), Fe(III), Ni(II), Mn(II), V(V) ja Zn(II) eivät vaatineet maskausaineita molaarisesti satakermaisina pitoisuuksina ($0,16 \mu\text{M}$ B). Kuvassa 15 on esitetty kromatogrammit. Jokivesinäytteen standardiarvo oli $0,84 \pm 0,05 \mu\text{M}$ ja tulokseksi saatiin $0,86 \pm 0,01 \mu\text{M}$. Menetelmä soveltuu erittäin pienten booripitoisuuksien määrittämiseen puhdistetuista vesistä. Pienten pitoisuuksien vuoksi määrittämissä käytettiin teflonastioita.



Kuva 15. Kromatogrammeja: a) $0,16 \mu\text{mol/l}$ B b) $0,16 \mu\text{mol/l}$ B ja Al(III), Cu(II), Co(II), Fe(II), Fe(III), Ni(II), Mn(II), V(V) ja Zn(II) $16 \mu\text{mol/l}$ jokaista c) nollanäyte. SA salisyylialdehydi, HA 1-amino-8-hydroksinaftaleeni-3,6-disulfonihappo, B boori ja V V(V). Nuoli osoittaa nollanäytteen piikkiä.⁵⁰

Matoh *et al.*¹² määrittivät boorin kromotrooppihapolla (1,8-dihydroksinaftaleeni-3,6-disulfonihappo). HPLC:ssä käytettiin silikapohjaista C_{18} käänteisfaasikolonnia. Eluenttina käytettiin 3,5 g TBABr, 6,06 g Tris ja 33 g 1 M HCl sekoitettuna 550 ml metanolia, liuos laimennettiin 1 l:ksi vedellä. 1 ml näyteliuosta (1 ml sisältää 20 mg kuivatuhkattua tai happoliuotettua näytettä, joka on neutraloitu) lisättiin $50 \mu\text{l}$ TBABr-reagenssia (TBABr liuotettu 5 ml 1 M NaAc puskuriin, pH 4,8) ja $50 \mu\text{l}$ CA-reagenssia (150 mg kromotrooppihappoa, 186 mg EDTA-2Na 5 ml vettä) lisättiin, sekoitettiin ja annettiin reagoida 10 min huoneenlämpötilassa. $20 \mu\text{l}$ liuosta injektoidiin HPLC-kolonniin 1 ml/min virtausnopeudella. Absorbanssi mitattiin 350 nm aallonpituudelta. Kromatogrammi on kuvassa 16. Näytteen kuivatuhkistuksessa nii-

hin lisättiin $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ja hajotusliuos puhdistettiin kationinvaihtokolonnissa, jolloin myös ylimääräinen kalsium poistui. Mittaustulokset boorille jäivät ilman kationinvaihtoa todellista arvoa alhaisemmiksi.



Kuva 16. Kromatogrammi 340 nm aallonpituudelta. Nuoli osoittaa kromotrooppihapon ja boorin muodostamaa kompleksia¹²

3.3 Induktiivisesti kytketty plasma (ICP)

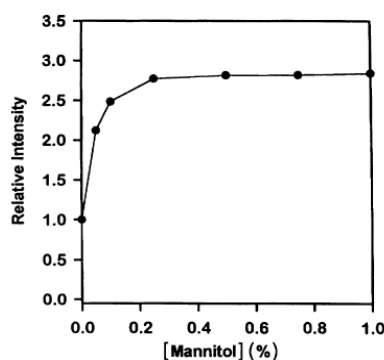
3.3.1 ICP-OES

Määritykset^{23,46} boorille voidaan tehdä 249,773 nm, 249,678 nm ja 208,959 nm aallonpituuksilla. Raudan pitoisuus kannattaa määrittää tarvittaessa 259,940 nm. Menetelmässä rauta häiritsee boorin kahta herkintä aallonpituutta päällekkäisyyden vuoksi. 208,959 nm aallonpituuden viiva on vähiten herkin. Raudan häirinnän poistaminen on mahdollista esimerkiksi tislaamalla boori estereinä. Raudan häirinnän korjaamiseksi on ehdotettu monimuuttujaista lineaarista regressiota boorin määrittämisessä teräksestä.⁹ Kasvien kohdalla raudan pitoisuus ole juurikaan vaikuttanut tuloksiin.^{20,23,46}

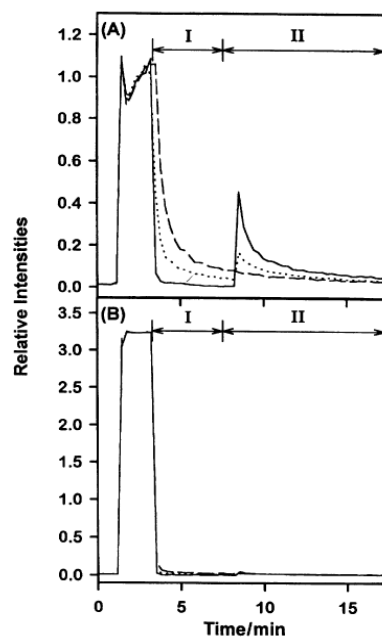
Kuparin käyttöä sisäisenä standardina on suositeltu merivesien analyysissä.⁹ Sisäisten standardien käyttö vähentää ionisaatiosta ja siirrosta johtuvia häiriöitä.⁴⁶ Koska ICP-OES kykenee mittaamaan usean alkuaineen kerralla, on sisäisten standardien käyttö melko yksinkertaista ja nopeaa.⁹ Sisäinen standardi tulee valita alkuaineista, jota ei näytteessä esiinny. Sisäisen standardin tulisi käyttäytyä häiritsevien aineiden kanssa samalla tavalla kuin määritettävä aine.

Mikäli näyte sisältää HF, lisää se boorin siirtymistä plasmaan ja kasvattaa emissiosignaalia. HF muodostaa BF_3 , mikä siirtyy boorihappoa tehokkaammin aerosoliin partikkeleina. Metanoliliuoksessa HF vähentää emissiosignaalia korvaten $\text{B}-\text{OCH}_3$ -sidokset $\text{B}-\text{F}$ -sidoksilla muodostaen heikommin haihtuvan B-fluoro -kompleksin.⁹ Fluorittomassa metanoliliuoksessa suurin osa boorista muuttuu haihtuvaksi sumutuskammiossa ja saavuttaa plasman lähinnä höyrynä.

Sun *et al.*⁶³ lisäsivät mannitolia näytematriisiin. Mannitoli muodostaa stabiilin kompleksin boorin kanssa, mitä on hyödynnetty boorin haihtumisen estämisessä happamista liuoksista. ICP-OES -laitteissa usein käytetyt pneumaattiset nebulisaattorit eivät ole aina tarpeeksi herkkiä boorin määrittäisiin pienissä pitoisuuksissa. Ultraääninebulisaattorit (USN) kykenevät herkempään määrittämiseen, mutta ne kärsivät boorin kohdalla muistijäljestä. Muistijäljelle voi olla jokin muu selitys kuin jäännöksen uudelleen nebulisoimisesta tuleva signaali, koska 25 min huuhtelu ei poistanut sitä 100 mg/l B -liuoksen käytön jälkeen. Määrittäykset tehtiin eläinkudoksesta ja hapon aiheuttamaa matriisivaikutusta minimoitiin käyttämällä sisäisenä standardina berylliumia, joka korjasi myös Ca, K, Mg ja Na aiheuttamaa signaalin alentumaa. Mannitolin lisääminen näytteeseen USN-ICP-OES -mittauksissa paransi herkkyyttä 0,1 M HNO_3 (kuva 17) ja vähensi muistijälkeä huomattavasti (kuva 18). > 1 (m/v)-% mannitolia kuitenkin blokkasi plasmasoihdun. 0,5 (m/v)-% mannitolin lisäys taustaan valittiin käyttöön. Mannitolin lisäys ei kuitenkaan täysin poistanut muistijälkeä, mutta paransi tilannetta huomattavasti. Tekijät suosittelivat yli 5 mg/l boorin näyteliuoksille laimennusta. Mannitolin¹³ lisääminen on myös parantanut ETV-ICP-MS:n toteamisrajoja johtuen luultavasti boorin siirtymisestä plasmaan mannitolikomplekseina.



Kuva 17. Boorin suhteellinen intensiteetti mannitolin pitoisuuden funktiona (0,1 mg/l B ja 0,1 M HNO_3)⁶³



Kuva 18. Muistijäljen vaikutus boorin (0,5 mg/l) intensiteettiin ajan funktiona, jossa liuos (A) 0,1 M HNO_3 ja (B) 0,5 (m/v)-% mannitoli 0,1 M HNO_3 . Huuhteluliuos I: H_2O (kiinteä viiva) ja 0,1 M HNO_3 (katkonainen) ja 0,5 (m/v)-% mannitoli 0,1 M HNO_3 (pisteviiva). Huuhteluliuos II: 0,5 (m/v)-% mannitoli 0,1M HNO_3 , jolle on vastaavat liuosten viivat.⁶³

Krejčova ja Černohorský⁴⁶ määrittivät booripitoisuuksia kahvista ja teestä. Määrityksessä testattiin erilaisia matriisia häiritseviä aineita: HNO_3 (10-300 ml/l), Na (0,1-5,0 g/l), K (0,1-5,0 g/l), Ca (5-200 mg/l), Mg (10-500 mg/l) ja HCl (10-300 ml/l). Kuparia 1 mg/l ja indiumia 10 mg/l testattiin sisäisenä standardina ja tulokset olivat näillä samankaltaiset. Na ja K vaikutusta sisäiset standardit eivät poistaneet kokonaan, mutta paransivat saantoa. Molemmat standardit pystyivät poistamaan happojen vaikutuksen. 0,5 g/l rautapitoisuus ei tuottanut 249,678 nm viivalle havaittavaa boorin lukemaa. Kahvissa ja teessä oleva kupari (n. 0,02 mg/l) esti kuparin käytön sisäisenä standardina, joten sen tilalla käytettiin indiumia. Sisäisen standardin käyttö ei kuitenkaan ollut välttämätöntä johtuen näytteiden vähäisestä Na, Ca, K, Mg määrästä.

Chapman *et al.*⁴³ määrittivät booria ravintoliuoksista. Boorin pitoisuus vaihteli liuoksissa on n. $1,6 \mu\text{g}/\text{l}^{\text{a}}$ - 10 mg/l. Suoran menetelmän standardeihin lisättiin boorin (boorihappona) lisäksi seuraava ravintoliuksia vastaava koostumus (μM): Ca 1200, N (NO_3^-) 1100, S 1000, K 500, Mg 100, Cl 10, P 2, Fe 2, Zn 0,5, Mn 0,25, Cu 0,10,1/4

^aBoorin konsentraatiot muutettu artikkelin⁴³ mol/l -yksiköstä g/l -yksikköön.

0,04, Ni 0,04 ja Mo 0,02. Liuoksen pH säädettiin 5,8 0,1 M HNO₃. Määritykset > 100 µg/l onnistuivat saantojen osalta, mutta < 100 µg/l liuokset osoittautuivat liian laimeiksi saantojen ollessa 48-150 % 10,05 µg/l liuokselle ja 80-140 % 50,05 µg/l liuokselle. Laimeimpiin ravintoliuoksiin sovellettiin epäsuoraa menetelmää eristämällä boori ioninvaihtohartsilla, jonka jälkeen saannoksi saatiin 103,0 % 27 µg/l liuokselle (konsentroitikerroin: 20), 102,4 % 6,76 µg/l liuokselle (konsentroitikerroin: 80) ja 109,1 % 1,62 µg/l liuokselle (konsentroitikerroin: 250).

Väisänen *et al.*¹¹ määrittivät mineraaleja ja hivenaineita männyn neulasista. Mikroaaltoliuotuksessa astiat sisälsivät luultavasti booria, mutta muuten tulokset olivat melko yhtenevät referenssiarvojen kanssa (taulukko 19). Standardinlisäysmenetelmä antoi boorille 100±2 % saannon.

Taulukko 19. Boorin pitoisuudet männyn neulasissa¹¹

	mänty 1 [mg/kg]	mänty 2 [mg/kg]	SRM 1575a [mg/kg] (9,6±0,2)
ultraääni	18,1±1,2	11,5±1,3	9,6±1,2
mikroaalto	20,0±1,0	11,5±1,0	16±3
kuivatuhkistus	19,7±1,4	11,0±2,0	10,7±1,5

Evans ja Krähenbühl²³ tutkivat biologisten materiaalien booripitoisuuden määrittämistä mikroaaltohajotusta käyttäen vertaillen ICP-OES, ICP-MS, kolorimetrisiä (atsometriini-H) ja fluorimetrisiä (karmiinihappo) mittauksia. Tulokset noudattivat hyvin kirjallisuusarvoja lukuun ottamatta fluorimetristä karmiinihappomenetelmää (taulukko 14). Raudan vaikutusta arvioitiin (taulukko 16), mikä oli huomattavin 249,773 nm viivalla, missä boorin toteamis- ja määrittäysrajat ovat kuitenkin muita aallonpituuksia parempia (taulukko 15). Raudalla on pienempi vaikutus 249,678 nm viivaan, mutta samalla toteamis- ja määrittäysrajat nousevat. ICP-OES oli ICP-MS:n jälkeen testatuista menetelmistä toiseksi herkin. Atsometriini-H- ja ICP-MS -menetelmien kanssa tulokset olivat yhteneväisiä virherajojen ollessa samaa luokkaa.

Nyomora *et al.*²⁰ testasivat erilaisia hajotusmenetelmiä boorin määrittämiseksi biologisista materiaaleista (taulukko 20). ICP-OES-mittauksissa rauta ei määritetyillä materiaaleilla häirinnyt. Liuotusmenetelmistä tekijät suosittelevat kuumaa 1 M HNO₃-happoa boorin määrittämiseen sen nopeuden vuoksi. Lisäksi kuuma typpihappo ei hajota näytettä täydellisesti, jolloin suurin osa muista alkuaineista ei siirry näyteliuokseen ja boori ei haihdu näytteistä.

Taulukko 20. Eri liuotusmenetelmien vertailua ICP-OES-mittauksella²⁰

menetelmä	omena [$\mu\text{g/g}$] SRM 1515	persikka [$\mu\text{g/g}$] SRM 1547	maissilese [$\mu\text{g/g}$] RM 8433
kuivatuhkistus	26,6±1,5	25,0±0,1	3,0±0,6
mikroaalto	27,8±2,4	26,4±1,9	3,9±2,5
märkätuhkistus	31,7±8,7	26,2±1,2	5,8±1,7
kuuma happo	28,3±2,1	27,2±0,8	5,4±0,8
referenssiarvo	27±2,0	29,0±2,0	2,8±1,2

3.3.2 ICP-MS lyhyesti

ICP-MS:n²³ etuna plasmaemissioon on herkkyys ja pienempi alttius häiriöille (esim. taulukot 15 ja 16). Lisäksi menetelmällä voidaan selvittää isotooppisuhde (^{10}B ja ^{11}B), jonka avulla onnistuu esimerkiksi aineen kulkeutumisen biologinen tai geologinen seuranta.^{13,42} Menetelmä vaatii sisäisen standardin käyttöä. Sisäisenä standardina käytetään ainetta, jonka massaluku on lähellä analyyttiä, joista Be antaa tarkimman tuloksen.

$^{10}\text{B}/\text{Be}$ -suhde^{20,23} on kuitenkin herkkä happojen pitoisuuksien muutoksille. Suhde kasvaa yli 10 % 1,5 M HNO_3 :lla verrattuna 0,2 M HNO_3 :een, joten standardien tulee olla samassa happopitoisuudessa. Mikäli näytteen hajotusliuokset sisältävät runsaasti hiiltä, voi ^{12}C häiritä ^{11}B piikkiä. Nyomura *et al.*²⁰ arvioivat sen vaikuttavan lähinnä isotooppisuhteen seurantaan.

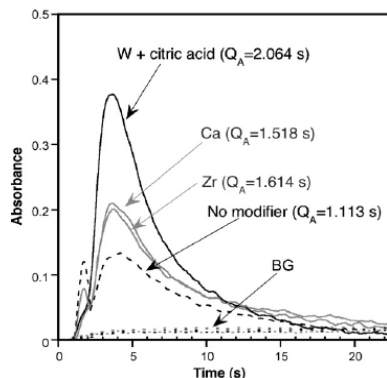
Isotooppisuhteen määrittämisessä on käytetty erilaisia MS-tekniikoita, mutta ne vaativat usein boorin eristämisen näytematriisista.^{13,42} ICP-MS mahdollistaa määrittämisen ilman eristämistä, mutta menetelmä ei ole niin tarkka.¹³

3.4 Atomiabsorptio

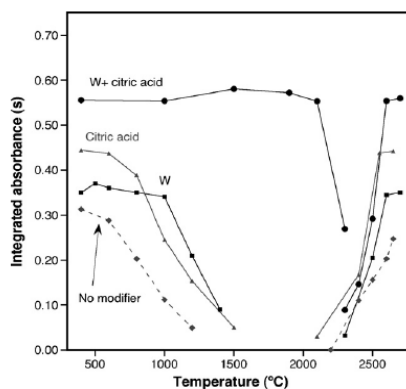
3.4.1 ET-AAS

Boorin ET-AAS-määrittäminen kärsii heikosta herkkyydestä, muistijäljestä ja lyhentyneestä uunin käyttöajasta. Yksi selitys heikolle herkkyydelle on kuumuuden kestävien ja haihtumattomien karbidien syntyminen johtaen leveään häntivään signaalin

ja muistijälkeen (kuva 19).¹⁰ Boori muodostaa vakaita oksideja, joita on vaikea atomisoida ja booria voidaan kadottaa pyrolyysissä, koska vaadittava lämpötila ≥ 2600 °C (kuva 20).¹⁰



Kuva 19. Erilaisten matriisimuuntajien vaikutus absorbanssiin ajan funktiona¹⁰

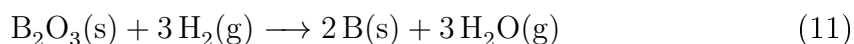
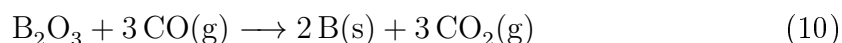


Kuva 20. Atomisoinin ja pyrolyysin kuvaajat (25 ng booria) kemiallisilla matriisimuuntajilla (sitruunahappo 105 μg ja wolframi pysyvänä)¹⁰

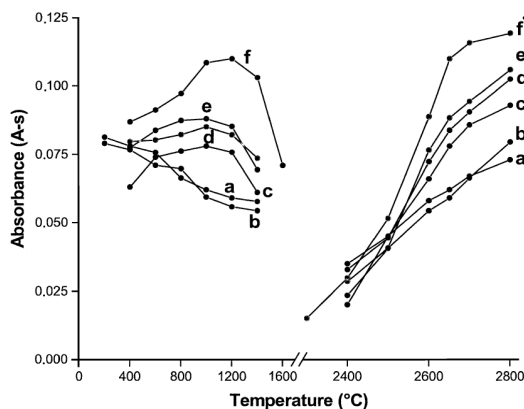
Matriisin muuntajista boorin määrittämisessä:¹⁰

1. Platinaryhmän metallit ja nikkeli eivät sovellu hyvin boorin määrittämiseen. Nikkelin käyttö on osoittautunut melko tehottomaksi analyytin vakauttamisessa.
2. Kuumuuden kestävien karbidien muodostajia (W, Zr, Ta, Nb, Hf,...) käytetään pysyvinä muuntajina. Tarkoituksena näillä on muodostaa putken pinnalle kestäviä karbideja, mahdollisesti vähentää hapen osapainetta tai muodostaa sekalaisia oksideja ja heteropolyhappoyhdisteitä analyytin oksidien kanssa vakauttaen analyytin määrittämistä.
3. Alkuaineet, jotka muodostavat stabiileja borideja ja boraatteja (Ba, Ca, Mg, Sr,...). Nämä muuntajat voivat vähentää hapen osapainetta.

4. Orgaaniset muuntajat (sitruunahappo ja askorbiinihappo) vapauttavat pyrolyysin jälkeen CO(g) ja H₂(g). Reaktioiden toteutuminen (yhtälöt 10 ja 11) ≤ 1200 °C on epätodennäköistä. Orgaanisten muuntajien hajoaminen tuottaa aktiivista hiiltä, mikä voi tehostaa pelkistymisreaktioita grafiittiputkessa, voi stabiloida booria pyrolyysin aikana ja hajottaa boorin oksideja atomisaatiovaiheessa vähentäen hapen osapainetta.



Resano *et al.*¹⁰ testasivat sitruunahapon kanssa kalsiumia, zirkoniumia ja wolframia vertaillen signaalien profiileita ja herkkyyttä. Wolframin ja sitruunahapon yhdistelmä (karakteristinen massa 167 pg) osoittautui Burguera *et al.*⁶⁴ käyttämää Zr ja sitruunahapon yhdistelmää (282 pg, määritys sallii silti biologisten matriisien käytön) tai Nowka *et al.*⁶⁵ käyttämää zirkoniumin ja kalsiumkloridin yhdistelmää (190 pg) paremmaksi. Pelkkä sitruunahappo parantaa boorin herkkyyttä, mutta ei vaikuta > 600 °C pyrolyysiä, kun taas W mahdollistaa > 1000 °C pyrolyysin.¹⁰ On huomattavaa, että Zr suoriutuu yksistään W paremmin (kuva 21).⁶⁴ Sitruunahapon ja wolframin käyttö kuitenkin yhdessä mahdollistaa (kuva 20) pyrolyysin lämpötilaksi 2100 °C ilman merkittävää analyytin katoamista.¹⁰ Aktiivinen hiili johtaa mahdollisesti boorin oksidien pelkistymiseen ja muodostaa wolframin kanssa erittäin vakaita kuumuudenkestäviä yhdisteitä, kuten WB, WB₂ tai WB₄.¹⁰ Näiden yhdisteiden tiedetään muodostuvan 1000-1400 °C boorilähteen (esim. B₄C) ja W kanssa sekoitettuna.¹⁰ W₂B₅ esimerkiksi sulaa 2365 °C ja selittää analyytin stabiloitumisen. Zr-B -yhdisteet vaativat puolestaan 1900 °C lämpötilan.¹⁰

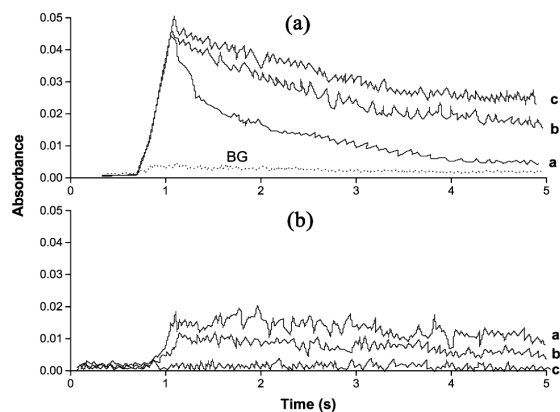


Kuva 21. a)-f) pyrolyysin käyrät ja atomisoinnin käyrät a')-f').

Muokkaaajat: a: ei muokkaaajaa, b: W, c: Lu, e: Ca, f: Zr (b-f sisältää 10 μg muokkaaajaa).⁶⁴

López-García *et al.*⁵⁹ eivät onnistuneet toistamaan Burguera *et al.*⁶⁴ ja Resano *et al.*¹⁰ onnistuneita pysyvien muokkaaajien käyttöä (Zr tai W) 10 (m/v)-% hunajan mittauksissa. Aluksi testattujen pysyvien muokkaaajien lisäksi muokkaaajana käytettiin sitruunahappoa, Ni, Pd, Rh, Pt tai Mg. Signaali tippui 50 % jo viiden kerran jälkeen ja H_2O_2 lisääminen toisti saman 40 kerran jälkeen. Tämän vuoksi pysyvän muokkaaajan käytöstä luovuttiin. H_2O_2 kanssa kokeiltiin W, Zr, Ni ja Pd. Näistä valittiin Pd, jonka optimaaliseksi määräksi saatiin 20 μg ja 0,5 μg Mg paransi signaalia 20 %. Muistijälki poistettiin 10 μl 5 (v/v)-% HF, mikä toistettiin jokaisen näytteen jälkeen. Lisäksi ioninvaihdolla esikonsentroidun maidon ja hunajan kalsium pakotti pesemään putket 100 injektion välein manuaalisesti, kun herkkyys tippui 20 %. Putken käyttöikä saatiin 300 näytteen mittaiseksi. Karakteristinen massa menetelmällä oli 392 pg (huonompi kuin pysyvillä muokkaaajilla saadut^{10,64}).

Burguera *et al.*⁶⁴ pyrkivät vähentämään boorin muistijälkeä (kuva 22). Booria voidaan pyrkiä poistamaan grafiittiputkista käsittelemällä niitä niin, että boori voidaan poistaa metyyliboraatteina tai fluorideina. NaF käyttö poisti muistijälkeä, mutta vähensi samalla putken käyttöikää noin 50 kertaan. 10 μl NH_4F HF käyttö puhdistus-
syklissä joka kolmannen atomisoinnin jälkeen nosti putkien käyttöikää 300 kertaan.



Kuva 22. Atomisoinnin signaaleja (A) 10 ng B Zr muokkaajana a) yksi injektio, b) kolme injektiota, c) viisi injektiota (B) a) yksi puhdistusaskel ilman reagenssin lisäystä, b) kolme puhdistusaskelta 10 μ l 100 g/l NaF, c) yksi puhdistusaskel 10 μ l 50 g/l NH_4F HF.⁶⁴

Mittauksissa on myös havaittu boorin erikoinen käyttäytyminen Ar-virtauksissa.¹⁰ Useille alkuaineille ”mini-flow” (100 ml/min) laskee herkkyyttä kaksinkertaisesti verrattuna ”stop-flow” -tilaan, mutta ”mini-flow” -tilassa boorin signaali häntii vähemmän mahdollisesti johtuen alhaisemmasta O_2 :n osapaineesta, mikä korostuu kiinteän näytteen mittauksissa.

Resano *et al.*¹⁰ määrittivät boorin kasveista käyttäen kiinteää näytettä. Grafiitti-putket olivat pyrolyttisesti päällystettyjä poikittaisesti kuumennettavia. Putket ja alusta laitettiin 100 ml 7,8 (m/v)-% $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ -liuokseen n. 12 h ja kuivattiin 120 °C lämpökaapissa 4 tuntia. Kemiallisista muuntajista valittiin sitruunahappo. Toimintaohjelmaksi valittiin taulukon 21 mukainen ohjelma ja mittaus suoritettiin taulukon 22 mukaisesti. On huomattava, että sitruunahapon käyttö muokkaajana ei suoraan onnistu kunnolla kiinteässä näytteessä, joten osa näytematriisista tuli poistaa kuivaamalla se (150 °C) ja suorittamalla ensimmäinen pyrolyysi (500 °C). Ensimmäiseen vaiheeseen hajoamista auttamaan valittiin hapettajaksi NH_4NO_3 , koska se hajoaa 210 °C ja toimii paremmin kuivauksen aikana kuin HNO_3 (kiehumis piste 83 °C). Ensimmäisessä pyrolyysissä oletetaan boorin pysyvän (< 600 °C) vielä näytteessä ennen muokkaajaan lisäämistä. Tulokset (taulukko 23) olivat yhteneväisiä referenssiarvojen kanssa. Mittauksissa saatiin toteamisrajaksi 0,3 $\mu\text{g/g}$ ja näytteen RSD oli 6-10%. Menetelmällä lineaarinen alue oli 10-100 ng ja integroidun absorbanssin antama kulmakeroin n. 0,20 s/ng. Vaikka menetelmä ei yllä boorille samoihin lukuihin herkkyydessään kuin monilla muilla alkuaineilla, voidaan sitä hyödyntää boorin määrittämiseen kasveista.

Taulukko 21. Kiinteän GFAAS:n toimintaohjelma¹⁰

askel	lämpötila [°C]	nopeus [°C/s]	pitoaika [s]
0,5-2,0 mg näytettä 5 µl NH ₄ NO ₃ -liuosta			
kuivaus	150	5	30
pyrolyysi	500	15	35
jäähdytys	60	-	5
0,5-2,0 mg näytettä 7 µl sitruunahappoliuosta			
kuivaus	200	10	25
pyrolyysi	1200	250	10
auto zero	1200	0	6
atomisointi	2600	1250	15
puhdistus	2650	1500	5

Taulukko 22. GFAAS mittausparametrit boorille¹⁰

aallonpituus [nm]	249,8
Ar virtaus atomisoinnissa [ml/min]	100
taustankorjaus	D ₂
kemialliset muuntajat	W, sitruunahappo (105 µg) ja NH ₄ NO ₃ (4,9 mg)
näytteen massa [mg]	0,5-2,0
puhdistussykli	kerran viiden näyttereplikaatin jälkeen NaF-liuoksella (500 µg)
putken ja tason käyttöaika [näytettä]	200-250 putkella ja n. 80 tasolla
raon leveys [nm]	0,5

Taulukko 23. Kiinteällä GFAAS-menetelmällä mitatut boorin pitoisuudet verrattuna sertifioituihin arvoihin¹⁰

näyte	kiinteä-GFAAS	sertifioitu arvo
valkokaali (BCR 679) [µg/g]	27,3±1,2	27,7±1,9
tomaatin lehdet (NIST 1573a) [µg/g]	33,6±1,6	33,3±0,7
pinaatin lehdet (NIST 1570a) [µg/g]	38,3±2,6	37,6±1,0

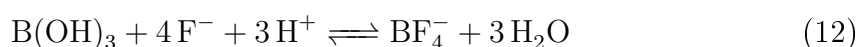
Van der Geugten⁶⁶ määrittä jokivesistä boorin GFAAS-tekniikalla. Näytteiden ja standardien pH säädettiin arvoon 2 typpihapolla. Näyteseokseen (100 ml) lisättiin 2 ml liuosta, joka sisälsi 10 g/l Mg ja 5 g/l Ca. Menetelmän herkkyyteen vaikuttivat eniten strontium, kalsium ja magnesium. Lisättävän kalsiumin määrä tuli Alankomaiden jokiveden kalsiumin määrästä, mikä ei yleensä ylitä 100 mg/l. Menetelmän luotettavuutta tutkittiin lisäämällä näytteisiin booria tunnettu määrä. Pelkän kalsiumin käyttö antoi 84±15 % tuloksen, kun taas magnesiumin ja kalsiumin lisäys

antoi 100 ± 8 %. Mittauksessa käytettiin pyrolyyttisesti päällystettyä grafiittiputkea. Menetelmällä päästiin $20 \mu\text{g/l}$ toteamisrajaan ja maksimissaan määrittäminen onnistui $250 \mu\text{g/l}$ pitoisuudesta. Keskihajonnaksi saatiin $6 \pm 4 \mu\text{g/l}$. Mittaus suoritettiin taulukon 24 mukaisesti.

Taulukko 24. Toimintaohjelma ja mittaolosuhteet boorin GFAAS-mittauksessa⁶⁶

aallonpituus	249,7 nm
raon leveys	0,7 nm
signal damp	TC1
lampun virta	30 mA
asteikon laajennus	15
injektion tilavuus	$20 \mu\text{l}$
puhdistuskaasu	argon
lämpötila ja aika kuivauksessa	$120 \text{ }^\circ\text{C}$ (20 s), nopeus 10 s
lämpötila ja aika tuhkauksessa	$1200 \text{ }^\circ\text{C}$ (30 s), nopeus 10 s
lämpötila ja kuivaus atomisoinnissa	$2700 \text{ }^\circ\text{C}$ (3 s), nopeus 0 s
lämpötila ja aika puhdistuksessa	$2650 \text{ }^\circ\text{C}$ (3 s), nopeus 1 s

Liu *et al.*³⁴ määrittivät boorin triklorosilaaneista epäsuorasti kadmiumina. Kadmium soveltuu booria paremmin ET-AAS -määrittäykseen. Boori uutettiin nitrobenseenillä tris(1,10-fenatrolini)kadmiumtertafluoroboraatti -kompleksina ($\text{Cd}(\text{Ph})_3 \cdot 2 \text{BF}_4$). $0,01 \text{ M Cd}(\text{Ph})_3^{2+}$ $0,018 \text{ M}$ rikkihapossa valmistetaan liuottamalla $0,1 \text{ g}$ kadmiumia 1 ml väkevää typpihappoa. Lisätään rikkihappoa ja lämmitetään $80 \text{ }^\circ\text{C}$ typpihapon poistamiseksi. Lisätään 100 ml vettä ja $0,57 \text{ g}$ 1,10-fenatrolinia. Boori tislattiin metyliboraattina $90 \text{ }^\circ\text{C}$. Absorptioliuoksena käytettiin 1 ml $0,1 \text{ M NaOH}$ ja 1 ml glyserolia. Absorptioliuos haihdutettiin kuivaksi $80 \text{ }^\circ\text{C}$, jonka jälkeen boori muutettiin kokonaan tetrafluoroboraatiksi kuumentamalla sitä $80 \text{ }^\circ\text{C}$ tunnin ajan vesihauteella, johon oli lisätty 1 ml $0,45 \text{ M H}_2\text{SO}_4$ ja $2 \text{ M NH}_4\text{F}$ (yhtälö 12).



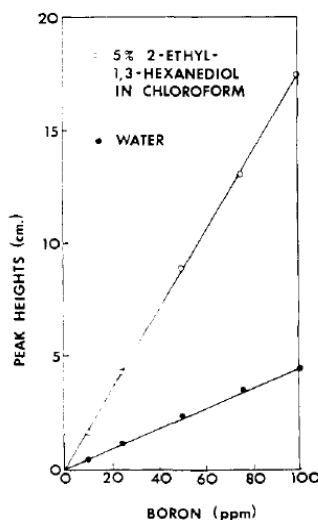
Näyteliuokseen lisättiin $\text{Cd}(\text{Ph})_3^{2+}$ -liuosta, joka sisälsi 3 mg Cd ja 5 ml puskuriliuosta ($0,25 \text{ M KH}_2\text{PO}_4$ ja $0,15 \text{ M Na}_2\text{HPO}_4$). Boori siirtyy orgaaniseen faasiin yhtälön 13 mukaisesti:



Liuos laimennettiin 15 ml:ksi ja uutettiin 5 ml nitrobenseeniä minuutin kuluttua. Orgaaninen faasi pestiin kolmesti 5 ml puskuriliuoksella reagoimattoman Cd-reagenssin poistamiseksi. Orgaanisesta faasista erotettiin mitattava Cd-liuos 0,1 M HNO_3 vesifaasin. Kadmiumin ja boorin molaarisen suhteen tulisi olla ppm-tasolla yli 15-kertainen ja ppb-tasolla kvantitatiiviseen erotukseen suositellaan 300-kertaista määrää. Erotuksessa pH:n tulisi olla välillä 3-6. Menetelmässä siirtymämetalleista häiritsevät Mn, Hg, Zn ja Fe 10-kertaisena booriin nähden sekä Hg ja Ag samassa pitoisuudessa kuin boori häiritsevät merkittävästi.

3.4.2 FAAS

Liekkiatomiabsorptiossa boorin eristäminen dioleilla orgaaniseen faasiin lisää määrittelyn herkkyyttä (kuva 23) ja poistaa monia häiritseviä aineita.²⁵



Kuva 23. Boorin FAAS-määrittelyn herkkyys kasvaa 5 % 2-etyyli-1,3-heksaanidioli kloroformiliuoksessa (○) verrattuna veteen (●).²⁵

Oliveira *et al.*⁶⁷ määrittivät kasvien lehdistä ravinne- ja hivenaineet HR-CS FAAS:lla. Korkean tarkkuuden jatkuvan säteilyn atomiabsorptiolla (HR-CS AAS) mitataan integroitua absorbanssia, jossa lisätään pikseleitä absorbanssiinkin sivuille. 1-amino-8-hydroksinaftaleeni-3,6-disulfonihappoyleensä kasvattaa herkkyyttä. Näytteet käsi-

teltiin kuivatuhkistuksella (5 g näytettä, jäännös liuotettu 10 ml 2 M HCl ja laimennettu 25 ml:ksi vedellä). Menetelmä antoi yhtenevät arvot standardoiduille näytteille (taulukko 25). Toteamisraja boorille aleni yhden pikselin 0,5 mg/l 0,2 mg/l kun pikselien määrää lisättiin. 5 pikselin määritysraja oli 0,5 mg/l (0,8 % HCl, kalibrointi 1,0-20,0 mg/l, polttimen korkeus 6 mm, asetyleeni 225 l/h, N₂O 396 l/h). Tulokset olivat 95 % luottamustasolla yhtenevät referenssiaineiden kanssa.

Taulukko 25. HR-CS FAAS menetelmällä saadut tulokset lehdille⁶⁷

kasvi	B [mg/kg]	sertifioitu arvo B [mg/kg]
tomaatin lehdet	32,9±0,9	33,3±0,7
pinaatin lehdet	38,9±1,3	37,6±1,0
persikan lehdet	26±2	29±2

Weger *et al.*²⁵ määrittivät boorin lannoitteista. Boorin uuttamiseen käytettiin 5 % 2-etyyli-1,3-heksaanidiolia kloroformissa. Tarkoituksena on saada boori uutettua 2-etyyli-1,3-heksaanidiolin kanssa muodostuvana kompleksina. Näin voidaan poistaa määrittämissä vaiheissa häiritseviä vesiliukoisia suoloja. Uuttosuhteena yhteneviä tuloksia antoivat 2:1-5:1 (vesi:orgaaninen) uuttoliuos. Näytteet sekoitettiin suhteessa 2:1 (vesi:orgaaninen uuttoliuos). Lannoitteissa yleisesti esiintyvät suolat eivät häirineet määrittäystä. Lineaarinen alue oli 0-100 ppm ja toteamisrajaksi saatiin 1 ppm. Standardien boori eristettiin vastaavasti boorihapon vesiliuoksesta. Tulokset ovat taulukossa 26. Orgaaninen liuotin, joista kloroformi osoittautui testatuista parhaimmaksi, paransi veteen verrattuna määrittäksen herkkyyttä nelinkertaisesti sekä antoi vakaampia tuloksia. Haittana orgaanisessa liuottimessa oli polttimeen kertyvä hiili, mikä kuitenkin voidaan poistaa raaputtamalla. Häiritsevien ionien vaikutus määritettiin (taulukko 27). Lannoitteissa ei ole menetelmän kannalta havaittavaa häiriötä aiheuttavia ioneja ja menetelmän tulisi soveltua kaikille lannoitetyypeille.

Taulukko 26. Lannoitteiden mittaustulokset sekä saanto tunnetulla boorin lisäyksellä²⁵

Lannoitteen luokitus	B valmistajan mukaan [%]	määritetty B [%]	keskihajonta	lisätty (1,260 mg) B [%]
0-0-60	-	0,000	-	99,7
11-48-0	-	0,000	-	100,5
0-46-0	-	0,006	0,001	101,9
16-8-8	0,02	0,016	0,002	101,8
3-9-18	0,04	0,045	0,002	100,2
6-12-12	0,07	0,075	0,002	101,9
0-20-20	0,56	0,344	0,005	98,1

Taulukko 27. Lisättyjen ionien vaikutus (1000 ppm), kun liuoksessa on booria 50 ppm²⁵

ioni	booria määritetty [ppm]	ioni	booria määritetty [ppm]
Na ⁺	50,0	Al ³⁺	50,0
Ca ²⁺	49,1	SO ₄ ⁻	50,0
Fe ³⁺	50,0	Cl ⁻	50,0
Mg ²⁺	50,0	PO ₄ ³⁻	49,8
K ⁺	50,5	SiO ₃ ⁻	50,0
NH ₄ ⁺	49,5	NO ₃ ⁻	49,5

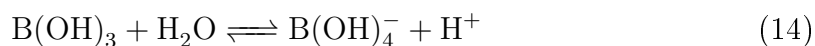
Spielholtz *et al.*³⁵ saivat FAAS -menetelmällä yhtenevät tulokset standardoidun kolorimetrinen menetelmän (karmiini) kanssa meriveden booripitoisuudelle. Standardit välillä 50-200 ppm tehtiin eristämällä boori 20 (V/V)-% 2-etyyli-1,3-heksaanidiolilla metyyli-isobutyryliketonissa (MIBK) boorihapon vesiliuoksesta. Merivedelle tehtiin sama käsittely.

Hayashi *et al.*³⁷ määrittivät boorin epäsuorasti kadmiumin avulla uuttamalla boorin nitrobentseenillä tetrafluoroboridi-tris(1,10-fenantroliini)kadmium(II)-kompleksina. Kadmiumin molaarisen määrän tuli olla viisinkertainen booriin nähden ja pH > 4. Fenantroliinin ja fluoridin kanssa muodostuvat kompleksit häiritsevät määrittystä.

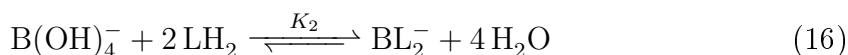
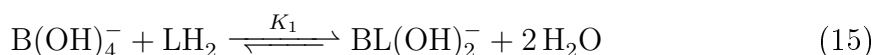
3.5 Titrimetria

Boorin määrittämiseen on käytetty polyoleja, jotka lisäävät boorihappo- tai boraattiliuoksen happamuutta muodostamalla kompleksin, josta boori voidaan määrittää titraamalla NaOH käyttäen.² Mannitoli vaikuttaisi olevan yleisimmin käytetty.^{3,68,69}

Boorihappo dissosioituu vedessä yhtälön 14 mukaan:²



Polyolin(L) kanssa muodostuu kompleksit (yhtälöt 15 ja 16):²



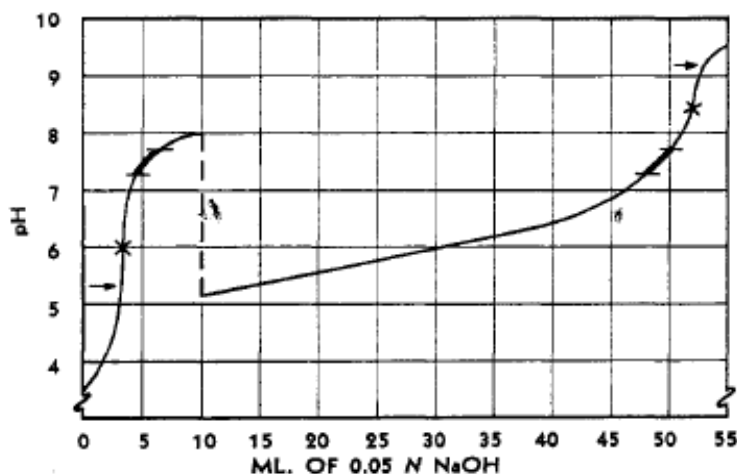
Tasapainovakioita erilaisille polyolikomplekseille on listattu taulukkoon 28.

Taulukko 28. Tasapainovakioita polyoleille, jotka muodostavat boorihapon kanssa komplekseja²

polyoli	K_1	K_2
1,2-etaanidioli	2,15	1,15
1,3-propaanidioli	1,27	0,11
glyseroli	16,0	41,2
katekoli	$7,8 \cdot 10^3$	$1,42 \cdot 10^4$
D-mannitoli	$1,1 \cdot 10^2$	$1,37 \cdot 10^5$
D-glukoosi	$1,50 \cdot 10^3$	$7,60 \cdot 10^2$
D-sorbitoli		$4,44 \cdot 10^5$
D-riboosi		$1,57 \cdot 10^7$

Mannitolin⁷⁰ ja boraatin muodostamalle 1:1 -kompleksille pK_a on 6,0 ja 2:1 -kompleksille 3,7, mitkä ovat boorihapon vastaavia alempia. Kun $\text{pH} \gg pK_a$, on boraatti kvantitatiivisesti kompleksoituneena 2:1 -muodossa mannitoliylimäärässä.

Boori voidaan määrittää potentiometrisesti titraamalla NaOH:n avulla.⁶⁹ Menetelmässä pH säädetään esim. n. 7,0 ja lisätään ylimäärin booriin nähden mannitolia (tai jotain muuta titraukseen soveltuvaa polyolia) ja titrataan takaisin samaan pH-arvoon (kuva 24). Näytteessä olevat polyolit häiritsevät ja ne voidaan hapettaa ennen määrittystä.²⁹ Menetelmä ei ole laajalti käytössä, koska boori pitää yleensä ensin erottaa näytematriisista,²⁷ mutta sitä on aiemmin käytetty boorihapon kvantitatiiviseen analyysiin.² Potentiometrisen määrittelyn sijaan voidaan myös käyttää erilaisia indikaattorivärejä.^{3,27} Titrauksessa ei tarvitse poistaa hiilidioksidia johtuen samasta alku- ja päätepisteestä.⁶⁹

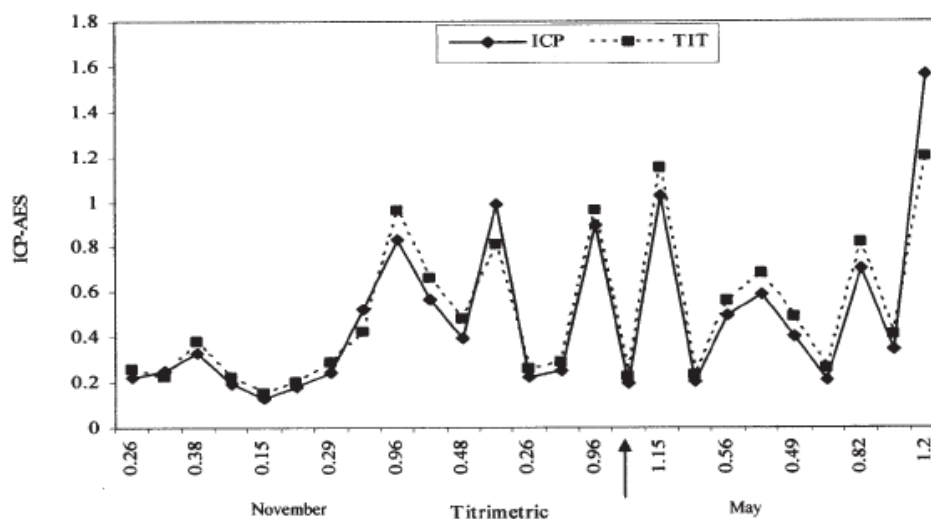


Kuva 24. pH:n käyttäytyminen NaOH lisäyksen funktiona ennen mannitolin lisäystä ja sen jälkeen⁶⁹

Gast ja Thompson²⁹ määrittivät boraatin pitoisuuden merivedestä. 100 ml merivettä lisättiin 5,00 ml 0,1 M standardisoitua HCl ja refluksoititiin 5 minuuttia hiilidioksidin poistamiseksi. pH säädettiin 7,00 standardisoidulla 0,025 M NaOH. Titrauksen aikana pidettiin typpivirtausta seoksen yläpuolella. Lisättiin 7 g mannitolia ja pH titrattiin takaisin 7,00. Kokonaisboraatti määritettiin samoin, mutta näyte käsiteltiin ensin permanganaatilla. Näytteen pH säädettiin välille 2-3 0,05 M rikkihapolla. Merivedet vaativat n. 3,5 ml ja makeat vedet vähemmän rikkihappoa. Hapon määrä pitää pitää samana näytteiden välillä. Lisätään 1 ml 0,1 M natriumpermanganaattiliuosta, jonka jälkeen refluksoidaan hiilidioksidin poistamiseksi ja orgaanisen aineksen hapettamiseksi. Liuokseen johdetaan SO₂ permanganaatin ylimäärän poistamiseksi ja liuotetaan mahdollinen saostuva MnO₂. Liuosta refluksoititiin tämän jälkeen 5 minuuttia SO₂-ylimäärän poistamiseksi. SO₂ poistuminen testattiin hyvin laimealla permanganaattiliuoksella, jolloin liuoksen tulisi muuttua lievän punertavaksi. Titraus suoritettiin kuten edellä permanganaatilla käsittelemättömistä näytteistä. Hapettettujen näytteiden booripitoisuudet olivat suurempia kuin hapettamattomien. Keskiarvo [boraatti B (mg/l)/Cl-%] × 10⁴ hapettamattomalle oli 219,5 ± 1,1 ja hapetetuille 221,4 ± 1,1 (keskiarvo ± keskihajonta).

Ozcan ja Yilmaz³ määrittivät booria vesistä (salaojat, joet, kastelukaivot) kahden eri kuukauden ajalta. 10 ml vesinäytteeseen lisättiin 50 ml keitettyä vettä ja 10 ml väkevää HCl. Näyteliuosta keitettiin keittolevyllä, pitäen kellolasilla peitettynä. Lisättiin 2-3 tippaa metyyliipunaista ja 6 M NaOH, kunnes muodostui haalean punainen saos-

tuma. Muodostunutta keltaista liuosta kuumennettiin uudelleen keittolevyllä. Liuos suodatettiin (Whatman No. 42), saostuma ja kellolasi pestiin vedellä. Suodos säädettiin happamaksi 0,5 M HCl. Jäähdyneeseen liuokseen lisättiin 6 M NaOH kunnes väri vaihtui, lisättiin 8-10 tippaa fenoliftaleiini-indikaattoria ja 15 g mannitolia. Liuosta titrattiin 0,01 M NaOH (standardoitu Na_2CO_3), kunnes muodostui vaaleanpunainen väri. Titrauksen päätepiste saavutettiin, mikäli väri ei muuttunut lisättäessä 5 g mannitolia. Menetelmä antoi yhteneväisiä tuloksia ICP-OES-mittausten kanssa. Tulosten jakauma on esitetty kuvassa 25. Tulosten riippuvuus ICP-OES:n ja titrimetrisen menetelmän välillä oli tilastollisesti merkitsevä 5 % tasolla ja R^2 91,34 %.



Kuva 25. Tulosten jakauma ICP-OES ja titrimetrisellä määrittämisellä (tulokset mg/l^3)

3.6 Lyhyesti muista menetelmistä

Şahina ja Nakiboğlu⁷¹ määrittivät voltammetrisesti (DPP) boorin juoma- ja merivesistä. Määrittämisessä hyödynnettiin boorin Alizarin Red S:n (1,2-dihydroksiantrakinoni-3-sulfonihapon mononatriumsuola) kanssa muodostamaa kompleksia, jota on aiemmin hyödynnetty fluorimetrisissä määrittämisissä. Kyseinen kompleksi nopeutti huomattavasti aiempaa boorin voltammetristä määrittämismenetelmää, jossa boori muodosti kompleksin beryllon(III):n kanssa 15 tunnin kuluessa. Saadut tulokset olivat tilastollisesti yhteneviä atsometiini-H:lla määritettyjen tulosten kanssa. Toteamisraja

oli $15 \mu\text{g}/\text{l}$. Fujimori *et al.*⁷² ovat kehittäneet boorihapon ja 4,5-dihydroksibentseeni-1,3-disulfonihapon muodostamalle kompleksille syklisen voltammetrian menetelmän, jossa ei tarvittu elohopeaa. Toteamisraja boorille oli $0,1 \text{ mg}/\text{l}$.

Ionikromatografiaa on hyödynnetty lähinnä vesinäytteille. Ionikromatografiasta boorin määrittämisestä:

1. Boori^{44,73} muunnetaan BF_4^- -muotoon. Tosin BF_4^- muodostaa vesiliuoksissa $\text{BF}_n(\text{OH})_{4-n}^-$ -muotoja pH:sta ja fluoridin konsentraatiosta riippuen. Korkeampi pH ja matalampi fluoridipitoisuus laskevat BF_4^- -osuutta. Katagiri *et al.*⁷³ havaitsivat syntetisoidun BF_4^- pysyvän vakaana tarvittavan ajan mittausten kannalta myös emäksisissä olosuhteissa. Ionikromatografisten mittausten perusteella boorin muuntuminen BF_4^- -muotoon ei ollut täysin kvantitatiivista, saantojen ollessa $\approx 96 \%$. Kalibrointisuora poikkesi hieman NaBF_4 :n ja syntetisoidun BF_4^- välillä. Menetelmää sovellettiin vesinäytteisiin.
2. Boraatit⁷⁰ muodostavat mannitolikomplekseja, joilla $\text{p}K_a$ arvot ovat huomattavasti alempia kuin boorihapolla. Kun $\text{pH} \gg \text{p}K_a$, muodostuu mannitoliylimäärässä kvantitatiivisesti 2:1 mannitoli-boraattikompleksi ($\text{p}K_a = 3,7$). Alempi $\text{p}K_a$ pidentää retentioaikaa anionikolonissa ja täten mahdollistaa paremman erottuvuuden. Menetelmää on sovellettu lähdevesiin ja kontaktilinsien liuoksiin. Myös joidenkin muidenkin polyolien käyttö, kuten sorbitolin, on mahdollista.
3. Katioininvaihdolla⁷⁴ saadaan heikko happo (boorihappo) muutettua korkeamman johtokyvyn suolaksi, mikä parantaa samalla määrittäksen herkkyyttä. Kollina ja Dolgonosov⁷⁴ käyttivät boraattien määrittäksen kahta erilaista kolonijärjestelyä. Kahden kolonin kokonaisuudessa suoritetaan ensin kromatografinen erotus ja seuraavassa kolonissa olevat kationinvaihtajat sisältävät K- ja H-muotoja. Näin saadaan samalla eluentin johtokyky laskettua ja boorihappo muunnettua kaliumsuolaksi. Kolmen kolonin järjestelyssä on eluentin johtokykyä laskeva kationinvaihtaja (H-muoto) suppressiokolonissa ennen kehityskolonissa olevaa K-muotoista kationinvaihtajaa. Menetelmää voidaan hyödyntää esim. merivesiin tai muihin paljon mineraaleja sisältäviin vesiin.

Ioniselektiivisillä elektrodeilla potentiometrisissä määrittelyissä boori muutetaan BF_4^- -muotoon.^{13,75} Carlson ja Paul⁷⁵ valmistivat BF_4^- -selektiivisen elektrodin muokkaamalla nitraattiselektiivisen elektrodin ioninvaihtajan BF_4^- -muotoon kahdesti ravistemalla 2 ml ioninvaihtajaa 50 ml:ssa liuosta, jossa on 1 M B(OH)_3 ja 4 M HF ja dekantoivat vesifaasin. Sisäinen liuos sisälsi 10 mM B(OH)_3 , 0,28 M HF ja 10 mM KCl. Boori eristettiin ja konsentroidiin ioninvaihtohartsilla. Vastekäyrä oli käyttökelpoinen 0,1 mM boorille 0,28 M HF:ssa ja 10 μM 0,028 M HF:ssa. Potentiometriset menetelmät ovat voimakkaasti riippuvaisia näytematriisista ja eivät ole laajemmassa käytössä.¹³

4 Yhteenveto

Esikäsittely tulee tehdä näytteen mukaan, ottaen huomioon määritysmenetelmän soveltuvuus käsittelylle. On myös huomioitava, mihin tarkoitukseen boorin määrää mitataan. Esimerkiksi biosaatavuus ja kokonaismäärä tulee määrittää erikseen maaperälle, lannoitteille ja tuhkalta. On huomattava, että biosaatavuuden arviointiin ei ole täsmällisen tarkkoja keinoja, koska mm. pH ja maanrakenne vaikuttavat. Erilaisia uuttoluoksia voidaan testata, miten ne toimivat boorin määrän ennustamisen kasveista. Kasveille käytössä oleva kuivatuhkistus poistaa orgaanisia häiriötekijöitä ja nitraatteja, mutta samalla boori voi haihtua öljypitoisista kasveista. Tämä voidaan estää emäksen lisäyksellä. Mm. mikroaaltoliuotus, kuuma happo ja ultraäänihajotus mahdollistavat myös boorin liukenemisen kvantitatiivisesti. Tosin näiden menetelmien mukana siirtyy mm. osittain orgaanista ainesta. Konsentroinnissa mannitolin käyttö ja emäksinen ympäristö vähentävät boorin haihtumista.

Mikäli määrittely ei suoraan onnistu käsitelystä näytematriisista, voidaan boori uuttaa dioleina tai tetrafluoboraatin komplekseina. Myös erilaiset tislauksjärjestelyt esterinä onnistuvat, mutta usein ne on yhdistetty määritysmenetelmiin. Ioninvaihtohartseja voidaan käyttää boorin eristämiseen tai näytematriisin puhdistamiseen määrittelyä häiritsevistä aineista. Spektrofotometrisissä määrittelyissä näytteen väri on voitu poistaa aktiivihiilellä.

Boorille on saatavilla useita spektrofotometrisiä reagensseja. Atsometiini-H:lla on melko onnistuneesti määritetty myös mikroaaltoliuotuksella käsitellyt biologiset näytteet. Atsometiini-H:n kanssa voidaan käyttää maskausaineita estämään näytematriisin häiriöitä (lähinnä Fe(II-III), Cu(II), Zn(II)). Menetelmällä on kuitenkin aikarajat, jolla sitä voidaan käyttää värin kehityksen ja vesiliuoksessa hajoamisen kannalta. Esimerkiksi askorbiinihappo antioksidanttina kuitenkin parantaa HA:n vakautta. Lisäksi pH tulee säätää puskuriliuoksia käyttäen. Salisylylaldehydin ja HA:n seosta on käytetty myös varsinaisen atsometiini-H -molekyylin sijaan. Atsometiini-H mahdollistaa automaation, johon voidaan myös yhdistää esimerkiksi neste-kaasu-erottimia (esteröinti) poistamaan häiriötekijöitä. Atsometiini-H:n ominaisuuksia on parannettu sen johdannaisilla, joista vakaumus, värinmuodostuksen nopeus, herkkyys, pH-alue ja selektiivisyys vaihtelevat reagensseittain. Johdannaisten yksi ongelma on niiden syntetisoinnin tarve. Lisäksi niiden laajemmasta käytöstä ei ole juurikaan viitteitä.

Kurkumiinin 2:1 kompleksi on herkkä, kärsii useista häiriötekijöistä ja vaatii väkevän rikkihappoliuoksen käyttöä. Eristäminen ja värinmuodostus on onnistuneesti siirretty pieneen mittakaavaan, jolloin liuotinten käyttö vähenee. Merivedestä suoritettu määrittäminen puolestaan onnistui anhydrideitä käyttäen ilman boorin eristämistä, eikä merkittävää häiriötä havaittu. Esimerkiksi isotermissellä tislauksjärjestelyllä on mahdollista suorittaa 1:1 kompleksin määrittäminen monimutkaisemmista näytematriiseista. 1:1 kompleksinmuodostumisaika on lyhyempi, mutta toisaalta vähemmän herkkä.

Karmiinihappo ja karmiini eivät yllä edellisten herkkyyteen, mutta niillä on onnistuneesti määritetty myös boorin pitoisuuksia mm. vesistä ja lannoitteista. Menetelmä vaatii rikkihapon käyttöä. Reagenssin käyttö on melko yksinkertaista verrattuna kurkumiiniin ja atsometiini-H reagensseihin.

Tetrafluoboraatin kompleksit eristetään orgaaniseen faasiin, josta määritetään absorbanssi. Boori tulee ensin muuntaa tetrafluoroboraatiksi. Menetelmät vaativat orgaanisten liuotinten käyttöä. Tetrafluoroboraatin komplekseja ollaan hyödynnetty lähinnä vesinäytteisiin. Häiritsevät ionit tulee eristää orgaaniseen faasiin tarvittaessa ennen BF_4^- :n muodostamista olettaen, että booria ei ole BF_4^- -muodossa.

Tetrafluoroboraatin muodostamisessa käytetty ultraäänihaude nopeutti reaktiota BF_4^- :n muodostumisessa spektrofotometrisessä määrittämisessä. Ultraäänihauteen käyttö tetrafluoroboraatin muodostamisessa myös esim. ionikromatografisissa ja potentiometrissä määrittämisissä voi olla määrittäystä nopeuttavaa.

HPLC mahdollistaa alhaisten pitoisuuksien määrittämisen spektrofotometrisillä reagensseilla ja erotuksen ansiosta vähentää häiriötekijöitä ja poistaa muiden absorboivien komponenttien vaikutusta.

ICP-OES:n etuina ovat monen alkuaineen yhtäaikainen määrittäminen, herkkyys ja laaja lineaarinen alue. ICP-OES-mittauksissa näytteensyötön ja plasman epästabiilisudesta aiheutuvat häiriöt voidaan pyrkiä minimoimaan sisäisillä standardeilla. Be, In ja Cu on ainakin ainakin käytetty onnistuneesti. Tosin Cu:n yleisyys näytematriiseissa saattaa monesti estää sen käytön. Boori siirtyy plasmaan paremmin manitolikomplekseina parantaen herkkyyttä (mahdollisesti toimii myös jollain muilla polyoleilla), jolloin sitä voidaan hyödyntää herkkyyden parantamisessa. Kalibrointiliuosten säätäminen häiritsevien aineiden osalta korjaa myös häiriöitä (ml. hapot). Sisäisten standardien, mannitolin ja kalibrointitaustan säätämistä voidaan käyttää samanaikaisesti. Esteröinti helpottaa alhaisten boorimäärien määrittäystä, mutta estää monen alkuaineen yhtäaikaisen määrittäksen näytteestä ja vaatii erikoislaitteistoa. Häiritseviä aineita voidaan myös pyrkiä poistamaan ioninvaihtohartseilla tai uuttamalla boori näytteestä. Näissä menetelmissä näytettä joudutaan kuitenkin käsittelemään, joten siihen liittyy analyytin kadottamisen riski, mikä lisää epävarmuutta ja pitkittää määrittäystä. Nämä erotusmenetelmät vaikuttavat myös muiden alkuaineiden samanaikaiseen määrittäykseen. Boorin konsentroidin (ioninvaihto, uutto ja tislaukset) auttavat määrittämään alhaisimpia pitoisuuksia, mutta tähän pätee työmäärän ja käsittelyn tuomat häiriötekijät.

ICP-MS kärsii OES-määrittäykseen verrattuna vähemmän häiritsevistä tekijöistä. Sisäisenä standardina käytettävä berylliumin ja mitattavan boorin suhde on herkkä happotaustan muutoksille. ICP-MS mahdollistaa isotooppisuhteen määrittäksen.

AAS-menetelmistä ET-AAS:lla matriisiin muuntajien (erityisesti wolframin ja sitruunahapon yhdistelmä) käyttö on parantanut herkkyyttä. Tosin boorille herkkyys on edelleen heikko moniin muihin alkuaineisiin verrattuna ja lineaarinen alue on esimerkiksi ICP:hen verrattuna kapea. Pysyvien muuntajien käyttö ei ole aina onnis-

tunut, mutta esimerkiksi Pd+Mg -yhdistelmällä boori on määritetty onnistuneesti kasvien lehdistä. Menetelmä sallii kiinteän näytteen käytön, jolloin osa näytteen käsittelystä tulevista epävarmuuksista poistuu ja määrittäisaika lyhenee. Tosin kiinteälle näytteelle matriisin muuntajien käyttöön voi joutua soveltamaan erillisiä pyrolyysivaiheita. Grafiittiputkien ja tason käyttöajat ovat myös rajallisia ja niiden tulee olla pyrolyyttisesti käsiteltyjä.

FAAS on vaatinut yleensä konsentroinnin ja eristämisen orgaaniseen liuottimeen. HR-CR FAAS on parantanut määrittäksen herkkyyttä ja sitä on käytetty onnistuneesti kuivatuhkistuksen jälkeen HCl:n vesiliuoksessa, vaikka näytemäärän tarve oli esimerkiksi ICP-OES:n verrattaessa huomattavasti korkeampi. HR-CS ET-AAS:n käytöstä boorille ei löytynyt tietoa. Boorin eristystä orgaanisen liuottimeen ei testattu HR-CS-menetelmällä. Uutto orgaaniseen liuottimeen kuitenkin lisää työmäärää ja pitkittää määrittästä. FAES-määrittäykset samoin kuin FAAS-määrittäykset ovat vaatineet boorin eristämistä.

AAS-määrittäyksissä on myös hyödynnetty epäsuoraa määrittästä esimerkiksi kadmiumina, joka soveltuu paremmin AAS-mittauksiin. Ongelmana on kasvanut näytteen käsittelyn tarve ja ajan tarve. Näyte eristetään ensin orgaaniseen faasiin boorin kanssa orgaanisena kompleksina, josta kadmium siirretään takaisin vesifaasiin. On myös huomattavaa, että myös muut aineet voivat kompleksoitua kadmiumin kanssa orgaaniseen kompleksiin. Tämän vuoksi boori tulee yleensä ensin eristää.

Titrimetriset määrittäykset olivat lähinnä aiemmin käytettyjä menetelmiä boorin määrittäykseen. Menetelmässä käytetään boorihapon ja polyolien (käytännössä mannitolin) kompleksia, jolla on boorihappoa alhaisempi pK_a . Määrittäys voidaan tehdä happo-emästitrauksella. Häiriötekijöiden poistamiseksi boori on jouduttu usein eristämään.

Voltammetrisiä ja ionikromatografisia määrittäyksiä on tehty lähinnä vesinäytteille.

5 Kirjallisuusluettelo

- [1] C. E. Housecroft and A. G. Sharpe, *Inorganic Chemistry*, Prentice Hall, **2001**, ss. 247–263.
- [2] P. P. Power and W. G. Woods, The chemistry of boron and its speciation in plants, *Plant Soil*, **1997**, *193*, 1-13.
- [3] H. Ozcan and S. Yilmaz, Determination of boron in the waters of Troia by inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry (ICP-AES), *J. Serb. Chem. Soc.*, **2005**, *70*, 1219–1227.
- [4] S. Goldberg, Reactions of boron with soils, *Plant Soil*, **1997**, *193*, 35–48.
- [5] W. D. James, C. C. Graham, M. D. Glascock and A.-S. G. Hanna, Water-leachable boron coal ashes, *Environ. Sci. Technol.*, **1982**, *16*, 195–197.
- [6] H. Górecka, K. Chojnacka and H. Górecki, The application of ICP-MS and ICP-OES in determination of micronutrients in wood ashes used as soil conditioners, *Talanta*, **2006**, *70*, 950–956.
- [7] L. Rusnáková, V. Andruch, I. S. Balogh and J. Škrliková, A dispersive liquid–liquid microextraction procedure for determination of boron in water after ultrasound-assisted conversion to tetrafluoroborate, *Talanta*, **2011**, *85*, 541–545.
- [8] Y.-M. Liu and K. Lee, Modifications of the curcumin method enabling precise and accurate measurement of seawater boron concentration, *Mar. Chem.*, **2009**, *115*, 110–117.
- [9] R. N. Sah and P. H. Brown, Boron determination—a review of analytical methods, *Microchem. J.*, **1997**, *56*, 285–304.
- [10] M. Resano, J. Briceño, M. Aramendía and M. A. Belarra, Solid sampling-graphite furnace atomic absorption spectrometry for the direct determination of boron in plant tissues, *Anal. Chim. Acta*, **2007**, *582*, 214–222.
- [11] A. Väisänen, P. Laatikainen, A. Ilander and S. Renvall, Determination of mineral and trace element concentrations in pine needles by ICP-OES: evaluation of different sample pre-treatment methods, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **2008**, *88*, 1005–1016.

- [12] T. Matoh, R. Akaike and M. Kobayashi, A sensitive and convenient assay for boron in plant using chromotropic acid and HPLC, *Plant Soil*, **1997**, *192*, 115-118.
- [13] R. N. Sah and P. H. Brown, Techniques for boron determination and their application to the analysis of plant and soil samples, *Plant Soil*, **1997**, *193*, 15-33.
- [14] S. Goldberg, P. J. Shouse, S. M. Lesch, C. M. Grieve, J. A. Poss, H. S. Forster and D. L. Suarez, Soil boron extractions as indicators of boron content of field-grown crops, *Soil Sci.*, **2002**, *167*, 720-728.
- [15] U. C. Gupta, Some factors affecting the determination of hot-water-soluble boron from podzol soils using azomethine-H, *Can. J. Soil Sci.*, **1979**, *59*, 241-247.
- [16] P. Carrero, A. Malavé, E. Rojas, C. Rondón, Y. Petit de Peña, J. L. Burguera and M. Burguera, On-line generation and hydrolysis of methyl borate for the spectrophotometric determination of boron in soil and plants with azomethine-H, *Talanta*, **2005**, *68*, 374-381.
- [17] L. Zaijun, Z. Zhu, T. Jan, C.-G. Hsu and P. Jiaomai, 4-Methoxy-azomethine-H as a reagent for the spectrophotometric determination of boron in plants and soils, *Anal. Chim. Acta*, **1999**, *402*, 253-257.
- [18] N. H. Gopal, Need for $\text{Ca}(\text{OH})_2$ in boron determination in plant vegetative tissue and oilseeds, *J. Agr. Food Chem.*, **1969**, *17*, 1146-1147.
- [19] U. C. Gupta, The boron determination of some plant materials as determined with and without adding CaO before ashing, *Plant Soil*, **1967**, *26*, 202-204.
- [20] A. M. S. Nyomora, R. N. Sah, P. H. Brown and R. O. Miller, Boron determination in biological materials by inductively coupled plasma atomic emission and mass spectrometry: effects of sample dissolution methods, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1997**, *357*, 1185-1191.
- [21] B. S. Demir and O. Serindağ, Determination of boron in grape (*Vitis vinifera*) by Azomethine H spectrophotometric method, *Eurasian J. Anal. Chem.*, **2006**, *1*, 11-18.

- [22] A. Şimşek, D. Korkmaz, Y. Sedat Veliöglu and O.Yavuz Ataman, Determination of boron in hazelnut (*Corylus avellana L.*) varieties by inductively coupled plasma optical emission spectrometry and spectrophotometry, *Food Chem.*, **2003**, *83*, 293–296.
- [23] S. Evans and U. Krähenbühl, Boron analysis in biological material: microwave digestion procedure and determination by different methods, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1994**, *349*, 454–459.
- [24] H. P. Peterson and D. W. Zoromski, Spectrophotometric method for determining low levels of water-soluble boron in fertilizers, *Anal. Chem.*, **1972**, *44*, 1291.
- [25] S. J. Weger Jr., L. R. Hossner and L. W. Ferrara, Determination of boron in fertilizers by atomic absorption spectrophotometry, *J. Agr. Food Chem.*, **1969**, *17*, 1276–1278.
- [26] U. El-Ghawi, G. Pátzay, N. Vajda and D. Bódizs, Analysis of selected fertilizers imported to Libya for major, minor, trace and toxic elements using ICP-OES and INAA, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, **1999**, *242*, 693–701.
- [27] L. V. Wilcox, Determination of boron in natural waters and plant materials, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **1930**, *2*, 358–361.
- [28] K. Kuwada, S. Motomizu and K. Tōei, Solvent extraction-spectrophotometric determination of boron with 2,4-dinitro-1,8-naphthalenediol and Brilliant Green, *Anal. Chem.*, **1978**, *50*, 1788–1792.
- [29] J. A. Gast and T. G. Thompson, Determination of alkalinity and borate concentration of sea water, *Anal. Chem.*, **1958**, *30*, 1549–1551.
- [30] J. T. Hatcher and L. V. Wilcox, Colorimetric determination of boron using carmine, *Anal. Chem.*, **1950**, *22*, 567–569.
- [31] W. J. Maeck, M. E. Kussy, B. E. Ginther, G. V. Wheeler and J. E. Rein, Extraction-flame photometric determination of boron, *Anal. Chem.*, **1963**, *35*, 62–65.
- [32] J. Škrliková, V. Andruch, I. S. Balogh, H. Sklenářová and P. Solich, The application of ultrasound for the improvement of analytical procedures: Determination of boron, *Anal. Methods*, **2010**, *2*, 1275–1279.

- [33] I. S. Balogh, V. Andruch, M. Kádár, F. Billes, J. Posta and E. Szabová, A simple method of boron determination in mineral waters using Victoria blue 4R, *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, **2009**, *89*, 449–459.
- [34] C. Y. Liu, P. Y. Chen, H. M. Lin and M. H. Yang, Determination of boron in high-purity silicon and trichlorosilane indirectly by measurement of cadmium in tris (1,10-phenanthroline) cadmium tetrafluoroborate, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, **1985**, *320*, 22–28.
- [35] G. I. Spielholtz, G. C. Toralballa and J. J. Willsen, Determination of total boron in sea water by atomic absorption spectroscopy, *Mikrochim. Acta*, **1974**, *62*, 649–652.
- [36] M. A. Wimmer and H. E. Goldbach, A miniaturized curcumin method for the determination of boron in solutions and biological samples, *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, **1999**, *162*, 15–18.
- [37] Y. Hayashi, S. Matsushita, T. Kumamaru and Y. Yamamoto, Indirect atomic-absorption determination of boron by solvent extraction as tris(1,10-phenanthroline)cadmium tetrafluoroborate, *Talanta*, **1973**, *20*, 414–416.
- [38] D. D. Siemer, Determination of boron by methyl ester formation and flame emission spectrometry, *Anal. Chem.*, **1982**, *54*, 1321–1324.
- [39] D. Y. Sarica and N. Ertaş, Flow injection analysis for boron determination by using methyl borate generation and flame atomic emission spectrometry, *Turk. J. Chem.*, **2001**, *25*, 305–310.
- [40] S. Thangavel, S. M. Dhavile, K. Dash and S. C. Chaurasia, Spectrophotometric determination of boron in complex matrices by isothermal distillation of borate ester into curcumin, *Anal. Chim. Acta*, **2004**, *502*, 265–270.
- [41] T. Wilke, H. Wildner and G. Wünsch, Ester generation for the determination of ultratrace amounts of boron in volatile high-purity process chemicals by inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.*, **1997**, *12*, 1083–1086.

- [42] D. Lemarchand, J. Gaillardet, C. Göpel and G. Manhès, An optimized procedure for boron separation and mass spectrometry analysis for river samples, *Chem. Geol.*, **2002**, *182*, 323 - 334.
- [43] V. J. Chapman, G. L. Kerven, D. G. Edwards, C. J. Asher and F. B. C. Blamey, Determination of low boron concentrations in nutrient solution, *Plant Soil*, **1996**, *180*, 97-99.
- [44] C. J. Hill and R. P. Lash, Ion chromatographic determination of boron as tetrafluoroborate, *Anal. Chem.*, **1980**, *52*, 24-27.
- [45] Y. Xu and J.-Q. Jiang, Technologies for boron removal, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2008**, *47*, 16-24.
- [46] A. Krejčová and T. Černohorský, The determination of boron in tea and coffee by ICP-AES method, *Food Chem.*, **2003**, *82*, 303 - 308.
- [47] D. L. Harp, Modifications to the azomethine-H method for determining boron in water, *Anal. Chim. Acta*, **1997**, *346*, 373-379.
- [48] D. Oxspring, S. McClean, E. O'Kane and W. Smyth, Study of the chelation of boron with Azomethine H by differential pulse polarography, liquid chromatography and capillary electrophoresis and its analytical applications, *Anal. Chim. Acta*, **1995**, *317*, 295 - 301.
- [49] L. Zaijun, S. Qijun, C. Zhengwei, W. Qin and Z. Juan, 1-(2,3,4-Trihydroxybenzylideneamino)-8-hydroxynaphthalene-3,6-disulfonic acid as reagent for spectrophotometric determination of boron in plants, *Talanta*, **2005**, *65*, 1307-1312.
- [50] T. Takahashi, S. Yawata and H. Hoshino, Determination of boron in water samples at nanograms per cubic decimeter levels by reversed-phase partition high-performance liquid chromatography with precolumn complexation reaction using salicylaldehyde and 1-amino-8-naphthol-3,6-disulfonate, *Anal. Bioanal. Chem.*, **2008**, *391*, 1101-1106.
- [51] M. Zenki, K. Nose and K. Tōei, Spectrophotometric determination of boron with an azomethine H derivative, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1989**, *334*, 238-241.

- [52] L. Zaijun, C. Zhengwei and T. Jian, The determination of boron in food and seed by spectrophotometry using a new reagent 3,4-dihydroxyazomethine-H, *Food Chem.*, **2006**, *94*, 310 - 314.
- [53] Z. Marczenko, M. Balcerzak and E. Kloczko, *Separation, Preconcentration, and Spectrophotometry in Inorganic Analysis*, Elsevier, **2000**, ss. 122,125.
- [54] L. Silverman and K. Trego, Colorimetric microdetermination of boron by curcumin-acetone solution method, *Anal. Chem.*, **1953**, *25*, 1264–1267.
- [55] C. G. Kowalenko and L. M. Lavkulich, A modified curcumin method for boron analysis of soil extracts, *Can. J. Soil. Sci.*, **1976**, *56*, 537–539.
- [56] J. Aznárez and J. M. Mir, Spectrophotometric determination of boron with curcumin after extraction with 2-methylpentane-2,4-diol-chloroform, *Analyst*, **1984**, *109*, 183-184.
- [57] H. K. L. Gupta and D. F. Boltz, Spectrophotometric study of the determination of boron by the carminic acid method, *Mikrochim. Acta*, **1974**, *62*, 415–428.
- [58] F. J. López, E. Giménez and F. Hernández, Analytical study on the determination of boron in environmental water samples, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1993**, *346*, 984–987.
- [59] I. López-García, P. Viñas, R. Romero-Romero and M. Hernández-Córdoba, Preconcentration and determination of boron in milk, infant formula, and honey samples by solid phase extraction-electrothermal atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B*, **2009**, *64*, 179–183.
- [60] F. Samari, B. Hemmateenejad and M. Shamsipur, Spectrophotometric determination of carminic acid in human plasma and fruit juices by second order calibration of the absorbance spectra – pH data matrices coupled with standard addition method, *Anal. Chim. Acta*, **2010**, *667*, 49 - 56.
- [61] K. C. Berger and E. Truog, Boron determination in soils and plants using the quinalizarin reaction, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **1939**, *11*, 540–545.
- [62] G. H. Ellis, E. G. Zook and O. Baudisch, Colorimetric determination of boron using 1,1'-dianthrimide, *Anal. Chem.*, **1949**, *21*, 1345–1348.

- [63] D.-H. Sun, J. K. Waters and T. P. Mawhinney, Microwave digestion and ultrasonic nebulization for determination of boron in animal tissues by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry with internal standardization and addition of mannitol, *J. Anal. At. Spectrom.*, **1997**, *12*, 675-679.
- [64] M. Burguera, J. L. Burguera, C. Rondón and P. Carrero, Determination of boron in blood, urine and bone by electrothermal atomic absorption spectrometry using zirconium and citric acid as modifiers, *Spectrochim. Acta Part B*, **2001**, *56*, 1845–1857.
- [65] R. Nowka, K. Eichardt and B. Welz, Investigation of chemical modifiers for the determination of boron by electrothermal atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B*, **2000**, *55*, 517 - 524.
- [66] R. P. van der Geugten, Determination of boron in river water with flameless atomic absorption spectrometry (graphite furnace technique), *Fresenius J. Anal. Chem.*, **1981**, *306*, 13–14.
- [67] S. R. Oliveira, J. A. Gomes Neto, J. A. Nóbrega and B. T. Jones, Determination of macro- and micronutrients in plant leaves by high-resolution continuum source flame atomic absorption spectrometry combining instrumental and sample preparation strategies, *Spectrochim. Acta Part B*, **2010**, *65*, 316–320.
- [68] A. E. Ruehle and D. A. Shock, Potentiometric titration of small amounts of boron, a null point method, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **1945**, *17*, 453–454.
- [69] H. Blumenthal and W. Fall, Potentiometric determination of boron in nickel boride, *Anal. Chem.*, **1953**, *25*, 1120–1122.
- [70] A. Tapparo, P. Pastore and G. G. Bombi, Ion chromatographic determination of borate in aqueous samples together with other common anions, *Analyst*, **1998**, *123*, 1771-1773.
- [71] İ. Sahin and N. Nakiboğlu, Voltammetric determination of boron by using Alizarin Red S, *Anal. Chim. Acta*, **2006**, *572*, 253 - 258.
- [72] T. Fujimori, H. Akimoto, Y. Tsuji, K. Takehara and K. Yoshimura, Electrochemical determination of boric acid using the boric acid–tiron complexation system, *Electroanal.*, **2010**, *22*, 1337–1343.

- [73] J. Katagiri, T. Yoshioka and T. Mizoguchi, Basic study on the determination of total boron by conversion to tetrafluoroborate ion (BF_4^-) followed by ion chromatography, *Anal. Chim. Acta*, **2006**, *570*, 65 - 72.
- [74] N. K. Kolotilina and A. M. Dolgonosov, Ion-chromatographic determination of borates and sulfides with the use of a developing column, *J. Anal. Chem.*, **2005**, *60*, 738-742.
- [75] R. M. Carlson and J. L. Paul, Potentiometric determination of boron as tetrafluoroborate, *Anal. Chem.*, **1968**, *40*, 1292-1295.