

Politechnika Gdańska
Wydział Chemiczny
Katedra Chemii Analitycznej

Rozprawa doktorska

**SPECJACJA FIZYCZNA I MOBILNOŚĆ ANALITÓW Z GRUPY
WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH
I POLICHLOROWANYCH BIFENYLI
NA GRANICY FAZ OSAD DENNY-WODA**

mgr inż. Monika Gdaniec-Pietryka

Promotor: prof. dr hab. inż. Jacek Namieśnik

Gdańsk 2008

SPIS TREŚCI

1. SPIS SKRÓTÓW I AKRONIMÓW	4
2. CZĘŚĆ TEORETYCZNA	5
2.1 WSTĘP	5
2.2 HYDROFOBOWE ZWIĄZKI ORGANICZNE.....	7
2.2.1 Charakterystyka związków z grupy WWA i PCB	7
2.2.1.1 Polichlorowane bifenyle	8
2.2.1.2 Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne.....	9
2.3 LOS ŚRODOWISKOWY HYDROFOBOWYCH ZANIECZYSZCZEŃ ORGANICZNYCH W EKOSYSTEMACH WODNYCH	12
2.4 SORPCJA HYDROFOBOWYCH ZANIECZYSZCZEŃ ORGANICZNYCH NA CZĄSTKACH ZAWIESINY/OSADU.....	15
2.4.1 Proces sorpcji analitów z grupy WWA i PCB a charakterystyka geomorfologiczna osadów dennych 17	
2.4.1.1 Faza amorficzna – naturalna materia organiczna	19
2.4.1.2 Proces „starzenie się” osadów.....	21
2.4.1.3 Faza skondensowana – geosorbenty węglowe.....	22
2.4.2 Szybkość procesów sorpcji i desorpcji.....	25
2.4.3 Podsumowanie	26
2.5 OZNACZANIE ANALITÓW Z GRUPY WWA I PCB W PRÓBKACH OSADÓW DENNYCH.....	27
2.6 GORĄCA WODA JAKO ALTERNATYWA DLA ROZPUSZCZALNIKÓW ORGANICZNYCH WYKORZYSTYWANYCH W PROCESIE EKSTRAKCJI ANALITÓW Z GRUPY WWA I PCB Z PRÓBEK OSADÓW.	32
2.6.1 Właściwości fizykochemiczne wody.....	33
2.6.2 Ekstrakcja za pomocą gorącej wody.....	34
3. CEL I ZAKRES PRACY	37
4. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA	40
4.1 ODCZYNNIKI	40
4.2 APARATURA I SPRZĘT LABORATORYJNY	41
4.3 WARUNKI PRACY CHROMATOGRAFU GAZOWEGO I SPEKTROMETRU MAS.....	41
4.4 PROCEDURA OBLICZANIA ILOŚCI ANALITÓW WPROWADZANYCH DO KOLUMNY CHROMATOGRAFICZNEJ.....	42
4.5 KONTROLA I ZAPEWNIENIE JAKOŚCI WYNIKÓW OZNACZEŃ.....	44
4.6 PROCEDURY ANALITYCZNE	45
4.6.1 Badanie wydajności procesu ekstrakcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów.....	45
4.6.2 Badanie wpływu sposobu dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do próbek osadów na wyniki oznaczania analitów z grupy WWA i PCB	46
4.6.3 Kalibracja układu GC-MS	50
4.6.3.1 Wyznaczenie krzywych kalibracyjnych	50
4.6.3.2 Obliczanie granicy wykrywalności i granicy oznaczalności stosowanego układu GC-MS.....	51
4.6.4 Badanie możliwości wykorzystania wody w stanie podkrytycznym jako rozpuszczalnika w procesie izolacji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów.	51
4.6.5 Badanie procesu desorpcji analitów z grupy WWA i PCB z osadów.	53
4.7. WYNIKI I ICH OMÓWIENIE.....	57
4.7.1 Etap izolacji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów.....	57
4.7.1.1 Badanie wydajności procesu ekstrakcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów.....	57
4.7.1.2 Badanie wpływu sposobu dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do próbek osadów na wyniki oznaczeń analitów z grupy WWA i PCB.	62
4.7.1.3 Badanie możliwości wykorzystania gorącej wody jako rozpuszczalnika w procesie izolacji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów.	72
4.7.2 Etap oznaczeń końcowych	75
4.7.2.1 Kalibracja układu GC-MS	77
4.7.2.2 Dodatkowe spostrzeżenia.....	81
4.7.3 Badanie procesu desorpcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów.	84
5. PODSUMOWANIE	93
6. STRESZCZENIE	97
7. DOROBEK NAUKOWY	98
8. LITERATURA	101

1. Spis skrótów i akronimów

Skrót/akronim	Termin w języku angielskim	Termin w języku polskim
Ah receptor	<i>Aryl hydrocarbons receptor</i>	Receptor związków aromatycznych
ASE	<i>Accelerated Solvent Extraction</i>	Przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika
BTEX	<i>benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes</i>	Benzen, toluen, etylobenzen, ksyleny
DAD	<i>Diode Array Detector</i>	Detektor z matrycą fotodiodową
DDT		Dichlorodifenylotrichloroetan
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>	Kwas dezoksyrybonukleinowy
DRDM	<i>Dual Reactive Domain Model</i>	Model dwóch domen reaktywnych
DRM	<i>Composite Distributed Reactivity Model</i>	Kompozytowy model rozkładu reaktywności
ECD	<i>Electron Capture Detector</i>	Detektor wychwytu elektronów
FID	<i>Flame ionization detector</i>	Detektor płomieniowo-jonizacyjny
GC-MS	<i>Gas chromatography-mass spectrometry</i>	Chromatografia gazowa połączona ze spektrometrią mas
HOCs	<i>Hydrophobic Organic Contaminants</i>	Hydrofobowe zanieczyszczenia organiczne
HPLC	<i>High-performance liquid chromatography</i>	Wysokosprawna chromatografia cieczowa
IAEA	<i>International Atomic Energy Agency</i>	Międzynarodowa agencja energii atomowej
K_D		Współczynnik podziału osad/woda
K_{Oc}		Współczynnik podziału dla węgla organicznego
K_{Ow}		Współczynnik podziału oktanol-woda
LC	<i>Liquid chromatography</i>	Chromatografia cieczowa
LOD	<i>Limit of detection</i>	Granica wykrywalności
LOQ	<i>Limit of quantification</i>	Granica oznaczalności
MASE	<i>Microwave Assisted Solvent Extraction</i>	Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika
MS	<i>Mass spectrometry</i>	Spektrometria mas
MSD	<i>Mass spectrometry detector</i>	Spektrometr mas
NOM	<i>Natural organic matter</i>	Naturalna materia organiczna
PCB	<i>Polychlorinated biphenyls</i>	Polichlorowane bifenyle
PDR	<i>Phase-distribution relationship</i>	Zależność podziału międzyfazowego
PLE	<i>Pressurized Liquid Extraction</i>	Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika przy
POPs	<i>Persistent Organic Pollutants</i>	Trwałe zanieczyszczenia organiczne
QC/QA	<i>Quality control/quality assurance</i>	Kontrola i zapewnienie jakości wyników
RRF	<i>Relative response factor</i>	Względny współczynnik odpowiedzi detektora
RSD	<i>Relative Standard Deviation</i>	Względne odchylenie standardowe
SBSE	<i>Stir Bar Sorptive Extraction</i>	Ekstrakcja z wykorzystaniem ruchomego elementu
SFE	<i>Supercritical Fluid Extraction</i>	Ekstrakcja za pomocą płynu w stanie nadkrytycznym
SI	<i>franc. Système International d'Unités</i>	Międzynarodowy Układ Jednostek Miar
SIM	<i>Selected ion monitoring</i>	Monitorowanie wybranych jonów
SPE	<i>Solid-phase extraction</i>	Ekstrakcja do fazy stałej
SPME	<i>Solid Phase Microextraction</i>	Mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej
SWE	<i>Subcritical Water Extraction</i>	Ekstrakcja za pomocą wody w stanie podkrytycznym
US EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>	Agencja Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych
USE	<i>Ultrasonic extraction</i>	Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika wspomaganą
UV	<i>Ultraviolet</i>	Detektor promieniowania w zakresie nadfioletu
WWA		Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne

2. Część teoretyczna

2.1 Wstęp

W związku ze wzrostem uprzemysłowienia w ciągu ostatnich kilku dekad, ilość związków chemicznych wprowadzanych do środowiska przez człowieka osiągnęła ogromne rozmiary. Szacuje się, że w środowisku występuje obecnie ponad 100 000 ksenobiotyków (nie występujących w nim wcześniej) [1]. Wiele z tych syntetycznych związków pochodzenia antropogenicznego jest mało podatnych na degradację. W rezultacie mogą one pozostawać w środowisku przez długie lata i mogą być transportowane na duże odległości poprzez naturalne media transportowe, takie jak rzeki, oceany czy wiatry [2,3]. W związku z tym rozmaite związki, których produkcję już wstrzymano (np. polichlorowane bifenyle, czy pestycydy takie jak DDT), wciąż można wykryć w różnych elementach środowiska, włączając w to odległe obszary, takie jak Arktyka czy głębie oceaniczne [2,4]. Pomimo że obecność ksenobiotyków nie oznacza problemów *per se* (sama w sobie), to wiele z nich wykazuje właściwości toksyczne i negatywnie wpływa na organizmy żywe. Rodzaj i zakres tych efektów jest różny dla różnych związków i zależy od rodzaju organizmu oraz stężenia i czasu ekspozycji. Do dobrze znanych przykładów efektów toksycznych wywoływanych przez zanieczyszczenia środowiska można zaliczyć wzrastającą podatność fok na choroby wirusowe [5], schorzenia skóry i wątroby u ryb [6] czy nieprawidłowości związane z efektami endokrynnymi (np. osłabienie płodności, zniekształcenia organów płciowych) u wielu gatunków wodnych [7].

Poza wprowadzaniem do środowiska związków wcześniej w nim nie występujących, w ciągu kilku ostatnich dekad dokonał się również wzrost produkcji naturalnie występujących związków, takich jak azotany i fosforany (powodujące eutrofizację i towarzyszące jej problemy) czy wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (powstające głównie podczas procesów spalania, zarówno naturalnych jak i antropogenicznych). Pomimo faktu, że znane są biogeniczne (naturalne) źródła emisji tych związków, to dopiero emisja antropogeniczna sprawiła że mogą one stanowić źródło problemów ze względu na ilość, w jakiej są uwalniane do środowiska.

W wyniku dużej ilości badań (eko)toksykologicznych oraz katastrof ekologicznych i ich skutków ludzie zaczęli częściowo zdawać sobie sprawę z wpływu, jaki zanieczyszczenia mają

na środowisko. W związku z tym rządy wielu państw podjęły różnego typu działania, wśród których można wymienić:

- zakaz bądź ograniczenie emisji do środowiska związków stanowiących zagrożenie dla środowiska (tak zwane zanieczyszczenia priorytetowe – ang. *priority pollutants*);
- monitorowanie procesu wprowadzania nowych ksenobiotyków przez firmy przemysłowe;
- monitorowanie jakości różnych elementów środowiska w celu identyfikacji źródeł zanieczyszczeń, określenia lokalizacji miejsc silnie zanieczyszczonych oraz nieznanymi/nowych ksenobiotyków;
- rozpoczęcie procesu oczyszczania (remediacji) miejsc silnie zanieczyszczonych.

W rezultacie tych działań obecnie jakość powietrza i wód powierzchniowych znacząco poprawiła się w porównaniu z sytuacją, jaka miała miejsce w latach od sześćdziesiątych do osiemdziesiątych ubiegłego wieku [8, 9].

Jednakże duże ładunki trwałych związków toksycznych są nadal zmagazynowane w glebach i osadach dennych. Mogą one teraz działać jako źródła związków, których produkcja została wstrzymana. Związki chemiczne obecne w glebie i osadach są powoli uwalniane do otoczenia i w związku z tym organizmy żywe są wciąż wystawione na ich działanie. Dodatkowo zanieczyszczenia, które nie są już wykorzystywane czy produkowane w danym kraju mogą być wprowadzane do środowiska lokalnego poprzez, na przykład, wycieki ze starych instalacji przemysłowych lub poprzez transport na duże odległości z terenów, w których dane związki są nadal w użyciu.

Wiedza o tym, jak właściwie monitorować i oczyszczać środowisko ze szkodliwych ksenobiotyków, zdolność do oceny ich potencjalnych niebezpiecznych oddziaływań, określenie właściwej polityki dopuszczania do stosowania nowych związków chemicznych oraz ustalanie priorytetów dla remediacji wymagają głębokiej znajomości losu środowiskowego i efektów oddziaływania związków pochodzenia antropogenicznego na środowisko.

Procesy te są badane przez naukowców od wielu lat, ale wciąż istnieje wiele luk w wiedzy na ten temat i konieczne są dalsze badania by uzyskać możliwie jak najpełniejszą informację o zachowaniu w środowisku toksycznych związków chemicznych.

2.2 Hydrofobowe związki organiczne

Ksenobiotyki obecne w środowisku można podzielić na dwie podstawowe grupy: związki nieorganiczne i organiczne. Zanieczyszczenia nieorganiczne obejmują metale (w tym ciężkie) oraz minerały (sole). Zanieczyszczenia organiczne są zbudowane z węgla oraz wodoru, tlenu, azotu, fosforu, siarki czy chlorowców połączonych wiązaniami kowalencyjnymi. Ważną klasą zanieczyszczeń organicznych są tak zwane niejonowe hydrofobowe związki organiczne (HOCs, POPs). Są to pozbawione ładunku związki chemiczne bardzo słabo rozpuszczalne w wodzie i dobrze rozpuszczalne w mediach o charakterze niepolarnym [2], takich jak tkanki zwierząt (np. membrany lipidowe, tkanka tłuszczowa, mleko), rośliny (woski w liściach) oraz produkty degradacji organizmów żywych (tzw. naturalna materia organiczna – NOM, obecna w praktycznie wszystkich glebach i osadach). W związku z tym związki te charakteryzują się silną tendencją do gromadzenia w organizmach żywych (bioakumulacja) i sorpcji na powierzchni cząstek stałych składających się na gleby i osady.

Hydrofobowość związków chemicznych jest determinowana zarówno przez polarność (związaną z obecnością funkcyjnych grup polarnych) jak i wielkość cząsteczki. Im mniejsza polarność i większy rozmiar cząsteczki tym bardziej hydrofobowy jest dany związek. Hydrofobowość jest zwykle wyrażana za pomocą wartości liczbowej współczynnika podziału oktanol-woda (K_{OW}). Współczynnik ten wskazuje na powinowactwo danego związku do n-oktanolu w porównaniu do wody. Oktanol został wybrany jako przybliżenie całkowitego składu chemicznego membran biologicznych i w związku z tym współczynnik K_{OW} jest generalnie stosowany do opisywania zjawisk podziału danego związku pomiędzy frakcją lipidową organizmów żywych a wodą [10].

2.2.1 Charakterystyka związków z grupy WWA i PCB

Ważnymi grupami związków zaliczanych do hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych są, wspomniane wcześniej, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne i polichlorowane bifenyle. Są to związki powszechnie obecne w środowisku, wskutek ich światowego wykorzystania i produkcji. Były i są one przedmiotem zainteresowania naukowców, dzięki czemu w literaturze można łatwo odnaleźć informacje na temat ich właściwości fizykochemicznych, takich jak współczynnik podziału oktanol-woda, rozpuszczalność w wodzie czy lotność [11]. Dla analitów z grupy WWA i PCB wartości

liczbowe określające te właściwości zebrano w **Tabeli 1**. Wynika z niej, że hydrofobowość wyrażana przez współczynnik K_{OW} stopniowo rośnie ze wzrostem wielkości cząsteczki (masy), natomiast rozpuszczalność w wodzie i prężność par silnie maleją ze wzrostem masy cząsteczkowej.

2.2.1.1 Polichlorowane bifenyle

Polichlorowane bifenyle (PCB) są związkami pochodzenia wyłącznie antropogenicznego, zbudowanymi z dwóch pierścieni benzenowych, połączonych mostkiem (bifenyl). Jeden lub więcej z 10 atomów wodoru jest podstawiony atomem chloru. W związku z tym możliwe jest występowanie 209 różnych związków z grupy PCB (kongenerów) [12, 13]. Wraz ze zmianą liczby atomów chloru w cząsteczce zmieniają się właściwości fizykochemiczne związku. Ze wzrostem liczby atomów chloru w cząsteczce staje się ona bardziej hydrofobowa (i w związku z tym zmniejsza się jej rozpuszczalność w wodzie – hydrofilowość), mniej lotna i zwykle mniej podatna na biodegradację [11]. Ponadto istotna jest pozycja atomów chlorów w cząsteczce bifenylu. W przypadku gdy podstawione są w pozycji orto, pierścienie benzenowe nie mogą się ułożyć w jednej płaszczyźnie [13]. W związku z tym możliwość przyjęcia pozycji planarnej przez cząsteczki zawierające dwa lub cztery atomy chloru w pozycjach orto jest mocno ograniczona w porównaniu z cząsteczkami zawierającymi jeden atom chloru w położeniu orto (mono-orto PCB). Związki z grupy PCB charakteryzujące się płaską konfiguracją (tzw. non-orto PCB) są zwykle bardziej toksyczne [14] i bardziej podatne na bioakumulację. Jest to najprawdopodobniej związane z faktem, że płaskie molekuly mogą łatwiej penetrować gęsto upakowane struktury lamelarne (blaszkowate) membran biologicznych ze względu na brak przeszkody sterycznej [15, 16].

Anality z grupy PCB produkowano na skale przemysłową od 1929 r. W Stanach Zjednoczonych związki te produkowano do 1977 r., a roczna produkcja, która osiągnęła najwyższy poziom w 1970 r., wynosiła 40 tys. ton [17]. W Polsce, chociaż produkowano dwa własne preparaty techniczne o nazwie Chlorofen i Tarnol, związki te pochodziły głównie z importu [18]. W latach 70-tych ograniczono produkcję, sprzedaż i stosowanie polichlorowanych bifenyli [19, 20].

Dzięki trwałości w wysokich temperaturach, wysokim wartościom liczbowym stałej dielektrycznej oraz odporności na działanie kwasów i zasad, polichlorowane bifenyle znalazły szerokie zastosowanie w transformatorach i dużych kondensatorach oraz jako wymienniki

ciepła i ciecze hydrauliczne (w układach zamkniętych). Stosowano je również jako oleje smarne, chłodziwa oraz plastyfikatory do farb, tuszów, papieru przebitkowego, klejów, uszczelniaczy i tworzyw sztucznych (układy otwarte).

Związki z grupy PCB przenikają do środowiska w wyniku parowania, wycieków, podczas procesu spopielenia, usuwania ścieków przemysłowych oraz składowania odpadów. Oszacowano, że w ten sposób przedostawało się do środowiska około 80% rocznej produkcji tych związków [21].

Polichlorowane bifenylole wywołują szerokie spektrum efektów toksykologicznych. Wykazują działanie neuro-, immuno- i hepatotoksyczne, wpływają na reprodukcję, są kancerogenne [14]. Wiele z tych działań jest powiązane ze zdolnością związków z grupy PCB do łączenia z tak zwanym receptorem Ah (ang. *aryl hydrocarbons receptor* – receptor związków aromatycznych) – białkiem obecnym w cytoplazmie komórkowej - czego efektem jest przede wszystkim uruchomienie transkrypcji genów enzymów metabolizujących leki i ksenobiotyki (m.in. różnych form cytochromu P-450). Receptor Ah wpływa również na ekspresję genów odpowiadających za kontrolę wzrostu i różnicowania się komórek. Jego aktywacja objawia się m.in. hamowaniem syntezy receptorów estrogenowych [22]. Efekt wiązania z receptorem Ah jest najsilniejszy dla związków z grupy PCB o konfiguracji planarnej [14, 22].

2.2.1.2 Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne

W przeciwieństwie do polichlorowanych bifenyli, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne są związkami naturalnie występującymi w środowisku. Główne naturalne źródła tych związków to procesy spalania (np. pożary lasów) i wybuchy wulkanów. Związki z grupy WWA występują w dużych ilościach w ropie naftowej i węgla, gdzie powstają w wyniku procesu fosylizacji¹ [23]. Jednakże w ciągu ostatnich stu lat stężenia tych związków w środowisku uległy znacznemu podwyższeniu ze względu na:

- antropogeniczne procesy spalania (przemysł, motoryzacja, produkcja energii ze spalania ropy, węgla i biomasy);

¹ suma procesów, którym uległy martwe organizmy lub ich fragmenty albo ślady ich działania (np. tropy) przechodząc w stan kopalny

- wykorzystanie ropy naftowej i jej pochodnych (paliwo, smary, substraty do produkcji tworzyw sztucznych itp.) i towarzyszące mu przypadkowe rozlewy tych substancji;
- wykorzystanie i wytwarzanie produktów węglowych (np. środki do konserwacji drewna).

Tabela 1. Wybrane właściwości fizykochemiczne analitów z grupy WWA i PCB [11, 12].

Nazwa związku	Masa molowa [g/mol]	Temperatura wrzenia [°C]	Rozpuszczalność w wodzie [mg/l]	Współczynnik podziału oktanol:woda K_{ow}
Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne				
Naftalen	128	218	31	3,3
Acenaftylen	152	265	16,1	3,94
Acenaften	154	279	3,9	3,92
Fluoren	166	295	1,89	4,18
Fenantren	178	340	1,15	4,46
Antracen	178	339.9	0,0434	4,45
Fluoranten	202	384	0,26	5,16
Pyren	202	404	0,135	4,88
Benzo(a)piren	228	437.6	0,0094	5,76
Chrysen	228	448	0,002	5,81
Benzo(b)fluoranten	252	481	0,0015	6,12
Benzo(k)fluoranten	252	480	0,0000055	6,84
Benzo(a)pyren	252	495	0,000038	6,04
Indeno(1,2,3,-cd)pyren	276	536	0,00062	6,58
Dibenzo(a,h)antracen	278	524	0,00249	6,5
Benzo(g,h,l)perylen	276	550	0,00026	6,58
Polichlorowane bifenyly				
PCB 28 2,4,4'-trichlorobifenyl	258	brak danych	0,27	5,80
PCB 52 2,2',5,5'-tetrachlorobifenyl	292		0,0153	6,10
PCB 101 2,2',4,5,5'-pentachlorobifenyl	326		0,0154	6,40
PCB 118 2,3',4,4',5-pentachlorobifenyl	326		0,0134	6,74
PCB 138 2,2',3,4,4',5-heksachlorobifenyl	361		0,0015	7,44
PCB 153 2,2',4,4',5,5'-heksachlorobifenyl	361		0,00095	7,75
PCB 180 2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobifenyl	395		0,00385	8,27

Główne źródło emisji związków z grupy WWA do środowiska stanowią procesy spalania. W związku z tym duża ilość tych związków jest emitowana do atmosfery i procesy transportu atmosferycznego sprawiają, że można je znaleźć we wszystkich elementach

środowiska na całej kuli ziemskiej [3]. Podobnie jak anality z grupy PCB, WWA zostały zaliczone do „zanieczyszczeń priorytetowych” w wielu krajach. Jako wskaźniki poziomu skażenia środowiska tymi związkami wytypowano do badań monitoringowych szesnaście z nich (patrz **Tabela 1**).

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne są zbudowane z dwóch lub więcej pierścieni benzenowych, niekiedy uzupełnionych pięciocłonowym pierścieniem cykloalkanowym (alifatycznym). W przeciwieństwie do polichlorowanych bifenyli wszystkie związki z grupy WWA mają konfigurację płaską, w której atomy węgla tworzące pierścień znajdują się w stanie hybrydyzacji sp^2 , a orbitale p nakładają się wzajemnie i tworzą zdelokalizowany orbital π . Powoduje to, że układ aromatyczny jest trwały i dlatego reakcje chemiczne i biochemiczne prowadzące do utraty aromatyczności zachodzą z trudem.

Większość (wyższych) organizmów, włączając ludzi, posiada odpowiednie enzymy odpowiedzialne za degradację (transformację) węglowodorów aromatycznych. Zakres i szybkość degradacji zależy z jednej strony od rodzaju organizmu, a z drugiej od struktury danego związku [24]. Problemem związanym z enzymatyczną degradacją związków z grupy WWA w organizmach wyższych jest fakt, że powstają podczas niej tzw. epoksydy – wysoce reaktywne produkty pośrednie, które mogą reagować m.in. z cząsteczkami DNA. Może to prowadzić do powstawania mutacji, a następnie kancerogenezy. Mutagenność i rakotwórczość związków z grupy WWA rośnie w miarę wzrostu liczby pierścieni benzenowych w cząsteczce. W podobny sposób przebiega degradacja związków z grupy WWA pod wpływem światła widzialnego i bliskiego ultrafioletu. Produktami pośrednimi tych reakcji są nadtlenki, a końcowymi chinony, znacznie bardziej toksyczne niż wyjściowe formy nieutlenione [25, 26].

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne mogą również wywoływać bezpośrednie działanie toksyczne poprzez wiązanie z receptorem Ah (jednakże siła wiązania jest o wiele mniejsza niż ma to miejsce w przypadku analitów z grupy PCB) [27, 28] oraz akumulację w membranach komórkowych, gdzie zaburzają ich naturalną strukturę i funkcje. Ten typ niespecyficznego toksycyzmu jest wykazywany przez wszystkie niejonowe zanieczyszczenia hydrofobowe [29].

2.3 Los środowiskowy hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych w ekosystemach wodnych

Około 70% powierzchni Ziemi jest pokryte wodą. W związku z tym duża część ogólnej ilości ksenobiotyków ostatecznie trafia właśnie do środowiska wodnego, poprzez:

- depozycję atmosferyczną zanieczyszczeń związanych z pyłami zawieszonymi w atmosferze (np. spalin z ruchu ulicznego i przemysłu);
- powierzchniowe wody spływne (np. pestycydy i farmaceutyki zwierzęce);
- przesiąkanie związków chemicznych, rozlewanych na powierzchni, poprzez gleby do wód gruntowych, z których następnie mogą przesączać się one do wód powierzchniowych;
- bezpośrednie zrzuty do wód powierzchniowych (np. ścieki przemysłowe czy komunalne, wycieki ropy naftowej).

W środowisku wodnym hydrofobowe zanieczyszczenia organiczne podlegają wielu procesom fizycznym, chemicznym i (mikro)biologicznym. Zostały one schematycznie przedstawione na **Rysunku 1**. Procesy, które determinują los zanieczyszczeń hydrofobowych w środowisku wodnym w przybliżeniu można podzielić na trzy kategorie.

1. Procesy transportu.

W tej kategorii zawarte są procesy odpowiedzialne za transport związków chemicznych wewnątrz i poza system wodny, np.:

- **adwekcja**²: transport rozpuszczonych, bądź związanych z koloidami/zawiesiną zanieczyszczeń związany z prądami wodnymi, prowadzący do przemieszczania ksenobiotyków na duże odległości;
- **dyspersja (rozpraszanie)**: losowy transport wywołany różnicami w prędkościach mas wodnych;
- **burzliwa dyspersja**: transport wewnątrz złoża osadów związany z gradientem ciśnienia [30];
- **dyfuzja**: transport cząsteczek, którego siłą napędową są różnice stężeń. Jest to proces niezwykle wolny, ok. 10^{-5} cm²/s dla związków chemicznych w czystej wodzie, kilka rzędów wielkości mniej dla związków zawartych w wodzie porowej osadów [10]; dotyczy jedynie transportu na bardzo

² Adwekcja: ruch poziomy mas wodnych

krótkich dystansach (najwyżej centymetrów), jest jednak dominującym mechanizmem transportu w głębszych warstwach osadów;

- **parowanie**: powoduje straty głównie bardziej lotnych zanieczyszczeń z kolumny wodnej;
- **osadzanie** (sedymentacja): opadanie/osiadanie cząsteczek związanych z zawiesiną na złożę osadu;
- **zawieszanie** (ang. *resuspension*): proces przeciwny do osadzania, wprowadza zanieczyszczenia związane z cząstkami osadów ponownie do kolumny wodnej w postaci zawiesiny.

2. Procesy wiązania

Ze względu na właściwości hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych mają one silną tendencję do „uciekania” z fazy wodnej do faz o większej hydrofobowości. Do procesów wiązania można zaliczyć:

- **bioakumulację**: gromadzenie się ksenobiotyków w tkankach i narządach organizmów żywych, takie jak ryby, algi, organizmy bentosowe (żyjące w bądź na powierzchni osadów);
- **sorpcję (adsorpcję+absorpcję)**: wiązanie ksenobiotyków do cząstek stałych w kolumnie wodnej lub w osadzie. W większości systemów wodnych zawiesina jest najważniejszą fazą hydrofobową (o największej objętości) i w związku z tym głównym miejscem wiązania hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych.

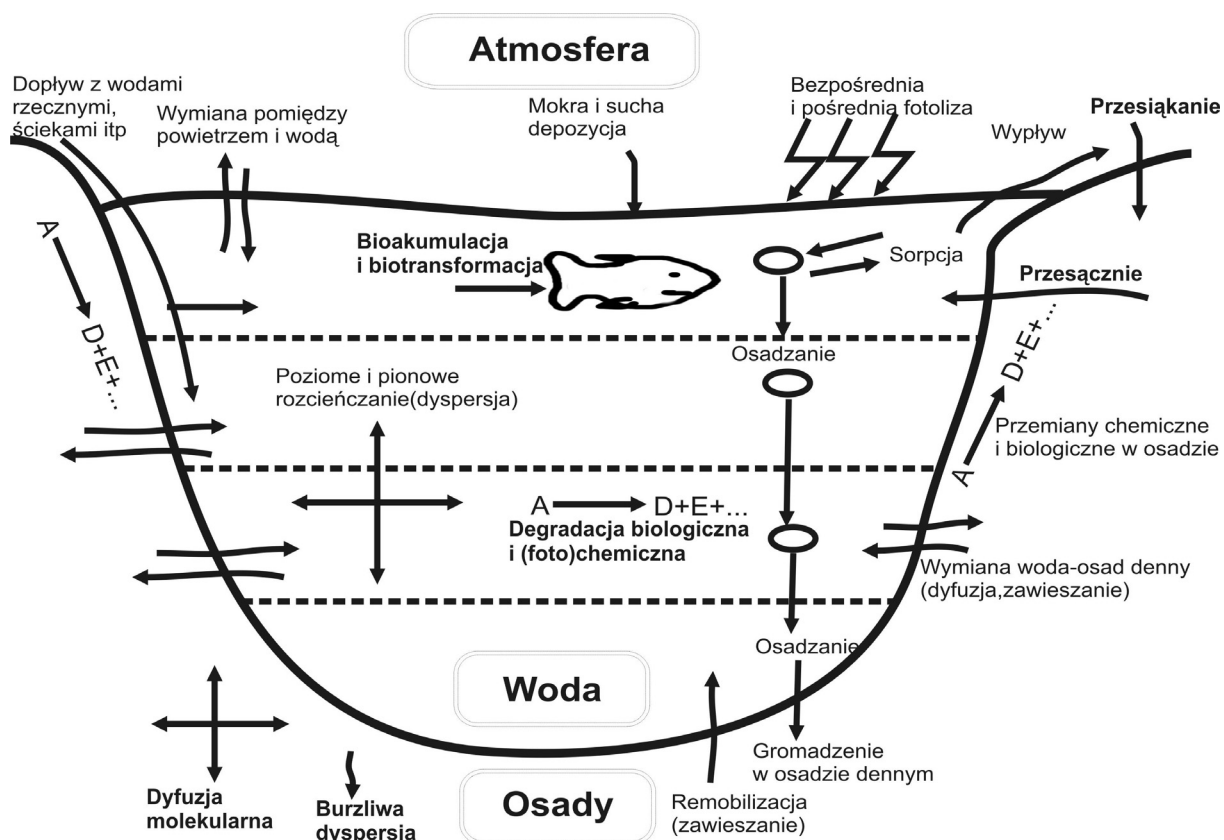
3. Procesy degradacji

Pomimo faktu, że hydrofobowe zanieczyszczenia organiczne w znacznej mierze są trwałe w środowisku, niektóre z nich mogą ulegać degradacji w wyniku następujących procesów:

- **biodegradacja**: aerobowy bądź anaerobowy rozkład związków chemicznych przez mikroorganizmy zachodzący w kolumnie wodnej bądź w wodzie porowej (w osadzie). Degradacja beztlenowa (anaerobowa) zwykle ma miejsce w głębszych warstwach osadów i została zaobserwowana dla niektórych związków z grupy WWA i PCB [31-33]. Proces degradacji aerobowej może przebiegać w kolumnie wodnej oraz

górnej warstwie osadów. Został zaobserwowany między innymi dla związków z grupy WWA oraz składników ropy naftowej [24, 34];

- **degradacja fotochemiczna:** niektóre ksenobiotyki mogą ulegać rozpadowi w wyniku absorpcji światła widzialnego, bądź ultrafioletowego w bliskim zakresie, jeśli występują w kolumnie wodnej w postaci rozpuszczonej. Zjawisko to zaobserwowano między innymi dla związków z grupy WWA, takich jak antracen, benzo(a)antracen i benzo(a)piren [26];
- **degradacja chemiczna:** zachodzi w wyniku reakcji utleniania i redukcji. Ze względu na stabilność chemiczną hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych proces ten zachodzi w stopniu pomijalnie małym;
- **biotransformacja:** proces degradacji enzymatycznej zachodzący w organizmach wielokomórkowych, prowadzi do powstanie produktów bardziej rozpuszczalnych w wodzie, a przez to łatwiejszych do wydalenia z organizmu, niż związki wyjściowe.



Rysunek 1. Procesy determinujące przestrzenne i czasowe rozmieszczenie zanieczyszczeń w wodach powierzchniowych.

Kluczowym procesem determinującym los środowiskowy hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych w wodach powierzchniowych jest proces sorpcji. Ksenobiotyki związane z cząstkami osadu/zawiesiny nie są bezpośrednio dostępne dla organizmów żywych (w związku z tym nie wywierają efektu toksycznego), nie podlegają procesom degradacji (fotochemicznej i mikrobiologicznej) oraz parowaniu. Tak więc ich mobilność w środowisku jest drastycznie niższa niż mobilność form rozpuszczonych. Dlatego też sorpcję można określić jako proces, który w pełni kontroluje los środowiskowy tych związków.

2.4 Sorpcja hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych na cząstkach zawiesiny/osadu.

Proces sorpcji jest definiowana jako „proces, w którym związki chemiczne wiążą się z fazą stałą” [10]. Jest to ogólna nazwa procesów polegających na pochłanianiu powierzchniowym (adsorpcja) i objętościowym (absorpcja) cząstek związków chemicznych (sorbatów) przez fazę stałą (sorbent) - bez rozróżniania mechanizmów tych procesów.

W celu opisanego przebiegu procesu sorpcji/desorpcji hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych przez cząstki stałe zawiesiny bądź osadu wyznaczany jest równowagowy współczynnik podziału (K_D), który jest stosunkiem ilości zanieczyszczenia zaadsorbowanego na jednostkę masy adsorbenta, do stężenia tego zanieczyszczenia w roztworze w stanie równowagi. Równowaga sorpcyjna jest opisywana matematycznie za pomocą tzw. izoterm adsorpcji. Powszechnie stosowane są trzy podstawowe modele.

Modelem najprostszym jest model liniowej sorpcji (izoterma Henry'ego) który można opisać za pomocą następującego równania [36]:

$$q = K_D \cdot C_e \quad /1/$$

gdzie:

q – ilość związku zaadsorbowanego przez glebę/osad [mg/kg],

K_D – współczynnik podziału [dm^3/kg],

C_e – stężenie związku w roztworze w stanie równowagi [mg/dm^3].

W celu normalizacji wyznaczonego współczynnika podziału K_D pod względem zawartości materii organicznej przedstawiony wzór poddaje się przekształceniu i przyjmuje on następującą postać [36]:

$$K_{oc} = K_D / OM \quad /2/$$

gdzie:

OM – zawartość materii organicznej w glebie/osadzie .

Innym modelem często stosowanym w badaniach sorpcji jest równanie izotermy Freundlicha opisywane za pomocą poniższego równania [36-39]:

$$q = K_D \cdot p^n, \quad n < 1 \quad /3/$$

które po logarytmowaniu przyjmuje postać [35, 38]:

$$\log q = \log K_D + n \log C \quad /4/$$

gdzie:

q – stężenie sorbentu w fazie stałej,

p – stężenie związku w roztworze w stanie równowagi,

K_D – współczynnik podziału,

n – współczynnik sorpcji.

W przypadku $n=1$ wszystkie miejsca aktywne na powierzchni są równoważne i adsorpcja zależy liniowo od stężenia adsorbentu w roztworze w stanie równowagi.

Najbardziej skomplikowanym, uwzględniającym m.in. budowę materii organicznej, jest model opisywany równaniem Langmuira [39]:

$$q = M \cdot K \cdot p / (1 + K \cdot p) \quad /5/$$

gdzie:

q – stężenie sorbentu w fazie stałej,

p – stężenie substancji w stanie równowagi w fazie ciekłej,

K – stała równowagi,

M – pojemność monowarstwy.

W **Tabeli 2** przedstawiono podstawowe informacje o znanych modelach wykorzystywanych do opisu zjawisk sorpcji związków organicznych na powierzchni cząstek stałych.

Na bazie teorii Langmuira i Freundlicha powstało wiele bardziej złożonych modeli sorpcji, uwzględniających heterogeniczność powierzchni sorbentu (gleby/osadu), jak np. kompozytowy model rozkładu reaktywności (*DRM*), zależność podziału międzyfazowego (*PDR*), model dwóch domen reaktywnych (*DRDM*) [40, 41]. Znacznie lepiej odpowiadają one rzeczywistości aniżeli proste modele Freundlicha czy Langmuira [41].

Tabela 2. Charakterystyka podstawowych modeli opisujących proces sorpcji niepolarnych związków organicznych [40, 41].

ROK	AUTOR	TYP MODELU	CHARAKTERYSTYKA
1979	Chiou i współpracownicy	Liniowy	- model liniowy - przydatny do wyznaczania współczynnika podziału oktanol – woda - niewystarczający z powodu istnienia także nieliniowych izoterm, bardzo wolnych szybkości sorpcji/desorpcji, histerez sorpcja/desorpcja, współzawodnictwa substancji rozpuszczonych
1988	Jaronic i Madel	Freundlicha	- najpowszechniej stosowany - stosowany do opisu nieliniowej sorpcji
1996	Weber i DiGiano	Langmuira	- stosowany do opisu nieliniowej sorpcji - dość dobra zgodność bardzo dużej liczby izoterm doświadczalnych z teoretycznymi - liniowa forma przydatna do wyznaczenia stałej równowagi oraz sprawdzenia zgodności danych doświadczalnych z modelem

2.4.1 Proces sorpcji analitów z grupy WWA i PCB a charakterystyka geomorfologiczna osadów dennych

Ze względu na fakt, że hydrofobowe zanieczyszczenia organiczne występują zwykle w środowisku w stosunkowo małych stężeniach (rzędu $\text{pg-}\mu\text{g}/\text{dm}^3$ w wodach i $\mu\text{g-mg}/\text{kg}$ w osadach) wykorzystanie modelu liniowego sorpcji jest w wielu przypadkach uzasadnione i wystarczające. W dostępnych źródłach literaturowych można znaleźć informacje o górnych granicach stężeń ksenobiotyków, poniżej których stosowanie równania /1/ jest prawidłowe. Wynoszą one $10^{-5} \text{ mol}/\text{dm}^3$ lub 50% rozpuszczalności w wodzie danego związku [42] lub, według innych źródeł, $0,056 \text{ mol}/\text{dm}^3$ [43]. Poza kryterium stężeniowym, stosowalność tego modelu zależy również od charakterystyki sorbentu, czyli od budowy i składu cząstek osadów dennych.

Matryca osadów składa się z dwóch głównych części: nieorganicznej, której składnikami są gliny, iły, muły oraz z części pochodzenia organicznego. Część pochodzenia organicznego można z kolei podzielić na dwie fazy: amorficzną (miękką, plastyczną) i skondensowaną (twardą, szklaną). Podstawowe informacje o tych dwóch fazach zestawiono w **Tabeli 3**, a ich właściwości opisano dokładniej w dalszej części pracy.

Tabela 3. Charakterystyka faz pochodzenia organicznego występujących w osadach dennych [40, 44].

Rodzaj fazy	AMORFICZNA (miękką, plastyczna)	SKONDENSOWANA (twarda, szklista)
Skład	kwasy humusowe i fulwowe, huminy, lignina, polisacharydy, białka, tłuszcze	geosorbenty węglowe, m.in. sadza, węgiel i kerogen
Miejsca aktywne w procesie sorpcji	aktywne grupy funkcyjne m.in. –OH, –COOH, –NH ₂ , –OCH ₃ , =NH	Rozbudowana powierzchnia i stabilne pory, struktury aromatyczne
Charakterystyka	Niejednorodna i złożona struktura makrocząsteczkowa, w skład której wchodzi zarówno materiały roślinne i zwierzęce w różnych fazach rozkładu, jak również obecne w glebie/osadzie wielkocząsteczkowe związki o specyficznych właściwościach	Powstaje w wyniku niecałkowitego spalania biomasy i paliw (różne rodzaje węgla) lub jest produktem biochemicznego i geochemicznego przeobrażenia substancji pochodzenia roślinnego i zwierzęcego podczas tworzenia się skał osadowych (kerogen) Mniej polarna, bardziej aromatyczna niż faza amorficzna.
Rodzaj oddziaływań z hydrofobowymi zanieczyszczeniami organicznymi	Absorpcja (rozpuszczanie, podział) – oddziaływania słabsze Intensywność sorpcji zależy od pochodzenia, masy cząsteczkowej oraz polarności substancji wchodzących w skład tej fazy.	Adsorpcja – oddziaływania silniejsze

Poza budową chemiczną wpływ na przebieg procesu sorpcji ma również budowa przestrzenna sorbentu. Ze względu na rozmiary wyróżnia się trzy rodzaje porów w cząstkach osadu, które opisane zostały w **Tabeli 4**. Geometria porów ma duży wpływ na zachowanie sorpcyjne zanieczyszczeń, co skutkuje różnicami w dostępności dla sorbatu [44, 45].

Tabela 4. Charakterystyka porów występujących w osadach dennych.

	Wielkość [Å]	Ogólna charakterystyka
Makropory	>500	<ul style="list-style-type: none"> wypełniają przestrzeń pomiędzy cząstkami osadu transport masy przebiega głównie poprzez adwekcję (przepływ) i dyspersję
Mezopory	20- 500	<ul style="list-style-type: none"> odpowiedzialne za proces szybkiej desorpcji stanowią większość przestrzeni wewnątrz cząstek osadów wypełnione wodą ze względu na kondensację kapilarną występuje w nich opóźnienie sorpcji spowodowane oddziaływaniem ze ściankami porów długość porów jest porównywalna z promieniem cząstek osadów
Mikropory	<20	<ul style="list-style-type: none"> odpowiedzialne za proces powolnej sorpcji/desorpcji obecne wewnątrz cząstek osadów stanowią odgałęzienia mezoporów

2.4.1.1 Faza amorficzna – naturalna materia organiczna

Faza amorficzna, zwana również naturalną materią organiczną () stanowi zwykle mniej niż 15% masy osadów dennych. Jest produktem degradacji martwych organizmów (alg, roślin, zwierząt), zawiera również fekalia (odchody), które osiadły na cząstkach osadów [46]. Może być rozpatrywana jako trójwymiarowa struktura polimerowa składająca się ze złożonej mieszaniny makromolekuł pochodzenia biologicznego (polisacharydy, lipidy, proteiny, celuloza itp.) oraz produktów ich degradacji chemicznej i mikrobiologicznej (kwas humusowe i fulwowe, huminy) [46, 47]. Materia organiczna w osadach może występować w kilku postaciach:

- małe cząstki występujące niezależnie od cząstek mineralnych;
- cienki film pokrywający cząstki mineralne;
- rodzaj żelu wypełniającego pory obecne w cząstkach mineralnych.

Lipidy są silnym sorbentem dla niepolarnych związków organicznych, ze względu na swoją wysoką hydrofobowość. Jednakże ich zawartość w większości gleb i osadów kształtuje się na bardzo niskim poziomie i w związku z tym odgrywają niewielką rolę w całościowym procesie sorpcji. Inne biopolimery charakteryzują się niskim powinowactwem do związków hydrofobowych [48, 49] i w związku z tym nie są brane pod uwagę przy badaniach domen sorpcyjnych w glebach i osadach [50].

Głównym organicznym składnikiem gleb i osadów są substancje humusowe [51, 52]. Ze względu na zdolność do oddawania i przyjmowania protonu przy zmianach pH środowiska są one powszechnie uważane za kwasy wielkocząsteczkowe lub oligoelektrolity [53, 54].

Substancje humusowe stanowią złożoną mieszaninę niejednorodnych barwnych struktur organicznych. Są to polimery o średniej masie molekularnej 1000÷10 000 daltonów [55], zawierające niejednorodne struktury, takie jak związki metoksyaromatyczne, fenole i ketony akrylowe. W ich budowie można wyodrębnić skupiska aromatycznych i alifatycznych jednostek kowalencyjnie połączonych ze sobą tzw. mostkami atomów (np. tlenowym -O-, azotowym -N=), posiadających liczne grupy karboksylowe, fenylowe, metoksykowe, alkoholowe, aminowe i inne przyłączone do części alifatycznej i aromatycznej, które nadają im elektroujemny charakter i silne właściwości sorpcyjne [56, 57]

Powstają w wyniku humifikacji, czyli oddziaływania czynników chemiczno-fizycznych (odczyn wody, tlen, temperatura) i fermentacyjnych (bakterie, grzyby) na martwe, trudno rozkładające się szczątki roślinne (lignina, celuloza).

Substancje humusowe dzielą się na 3 frakcje [52, 58, 59]:

- kwasy fulwowe są rozpuszczalne w wodzie w całym zakresie pH.
- kwasy huminowe są nierozpuszczalne w wodzie w warunkach kwaśnych ($\text{pH} < 2$) i ulegają strąceniu po zakwaszeniu roztworu.
- huminy są frakcją związków nierozpuszczalnych w wodzie niezależnie od jej odczynu.

Kwasy fulwowe charakteryzują się wyższą zawartością grup karboksylowych i fenolowych oraz wyższymi stosunkami zawartości wodoru do węgla (H/C) oraz tlenu do węgla (O/C) w porównaniu z kwasami humusowymi [60].

Substancje humusowe wykazują również właściwości podobne do właściwości organicznych materiałów polimerowych, między innymi pęcznienie [61] oraz zjawisko przejścia w stan szklisty [50, 62-65]. Podczas badań procesu sorpcji związków z grupy WWA stwierdzono, że proces sorpcji przebiega w sposób nieliniowy w temperaturze niższej niż temperatura zeszklenia, z kolei w temperaturze powyżej punktu zeszklenia sorpcja zachodzi w sposób liniowy [66].

Naturalna materia organiczna ze względu na swoją hydrofobową naturę jest preferowaną matrycą sorpcyjną niejonowych zanieczyszczeń organicznych. Pomimo faktu, że przy bardzo niskich poziomach zawartości materii organicznej (<0,02-0,1% suchej masy osadu) sorpcja może częściowo zachodzić na matrycy nieorganicznej (mineralnej) [67], materia organiczna jest zwykle rozpatrywana jako główna frakcja wiążąca związki hydrofobowe [42, 68]. Ze względu na swoje właściwości jest również często traktowana jako rodzaj rozpuszczalnika organicznego dla związków hydrofobowych. Pomimo ograniczonej pojemności (ang. *capacity*) sorpcyjnej materii organicznej, rozpuszczanie w niej hydrofobowych zanieczyszczeń jest procesem o liniowym przebiegu w szerokim zakresie stężeń. Badania prowadzone w ciągu ostatnich lat wykazały jednak, że założenie o liniowości procesu sorpcji hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych na naturalnej materii organicznej nie zawsze jest prawidłowe.

Wykazano również, że proces sorpcji hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych na naturalnej materii organicznej jest silnie skorelowany z tak zwaną frakcją węgla organicznego [42]. W skład materii organicznej poza fragmentami hydrofobowymi wchodzi również grupy funkcyjne (karboksylowe, hydroksylowe, fenolowe, karbonylowe czy aminowe) o charakterze polarnym. Obojętne ksenobiotyki mają o wiele większe powinowactwo do grup hydrofobowych (domen węglowodorowych typu aromatycznego czy alifatycznego) niż do

grup silnie polarnych. W wyniku tego wprowadzono pojęcie tak zwanego znormalizowanego współczynnika podziału węgla organicznego K_{OC} (patrz r-nie /2/).

Przeprowadzone w ciągu ostatnich lat badania wykazały, że proces sorpcji nie zawsze można opisać w sposób tak uproszczony, jak to przedstawiono powyżej. Zaobserwowano zarówno zjawisko sorpcji nieliniowej, jak i znaczące wahania wartości liczbowych współczynnika K_{oc} , przejawiające się w znacznych przekroczeniach wartości przewidywanej na podstawie liniowego modelu podziału. Jednym z możliwych wyjaśnień tego zjawiska może być proces „starzenia się” osadów.

2.4.1.2 Proces „starzenie się” osadów

Badania dystrybucji hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych są często wykonywane w układach składających się z próbek wody i osadu, do których dodano badane związki chemiczne. Po określonym czasie wytrząsania próbek rozdziela się fazy układu i określa stężenie badanego związku w każdej z nich (ale równie często jedynie w fazie wodnej) z wykorzystaniem ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika. Badania prowadzone w latach osiemdziesiątych i wczesnych dziewięćdziesiątych wykazały, że czas trwania takiego doświadczenia może silnie wpływać na jego końcowy wynik [69-71]. Początkowo uważano, że 24-48 godzin są czasem wystarczającym na dojście układu doświadczalnego do stanu równowagi [43], jednak szybko zauważono, że wydłużenie tego czasu (do dni, miesięcy czy lat) daje w efekcie znacznie wyższe wartości liczbowe współczynnika K_D [70, 71]. Proces ten jest często określany mianem „starzenia się” osadu lub „wolnej sorpcji” i przebiega dwutorowo. Po pierwsze zanieczyszczenia hydrofobowe nie tylko *adsorbują* na zewnętrznych fragmentach materii organicznej, ale również ulegają *absorpcji* w jej wnętrzu i przemieszczają się w mikroporach (patrz **Tabela 2**) matrycy mineralnej (nieorganicznej) osadów [71-74]. Podstawą tych procesów jest dyfuzja molekularna i dlatego są one długotrwałe, również ze względu na fakt, że dyfuzja w matrycach polimerowych, do których zalicza się materię organiczną, oraz w mikrosporach, jest znacząco wolniejsza w porównaniu z dyfuzją w roztworach wodnych [71]. Związki hydrofobowe będą więc powoli penetrowały domeny sorpcyjne i przez to stawały się mniej podatne na proces desorpcji [71, 75]. Istnieje również hipoteza mówiąca o możliwości uwięzienia analitów wewnątrz pustych przestrzeni o rozmiarach molekularnych lub w porach wewnątrz materii organicznej [76, 77].

Drugi mechanizm tłumaczący „starzenie się” osadów jest związany z mineralizacją materii organicznej. Mineralizacja (inaczej diagenеза) jest to złożony proces będący wynikiem działania mikroorganizmów oraz procesów fizykochemicznych, zachodzących w obecności wody. W jego wyniku stosunkowo polarna mieszanina biomolekuł przechodzi w postać bardziej hydrofobową, co zmienia jej właściwości sorpcyjne [48]. W porównaniu ze świeżą materią organiczną jej starsza, bardziej zdegradowana postać, charakteryzuje się zwiększonymi właściwościami sorpcyjnymi w stosunku do związków hydrofobowych [48, 78].

2.4.1.3 Faza skondensowana – geosorbenty węglowe

W skład fazy skondensowanej (twardej, szklistej) wchodzi kerogen, różne rodzaje węgla oraz sadza.

Badania przeprowadzone w ostatnich latach wykazały, że dojrzały kerogen, węgiel oraz sadza są ważnym składnikiem gleb i osadów, a ich zawartość może się wahać od kilku do 80% całkowitej zawartości węgla organicznego [79, 80]. Dojrzały kerogen jest głównym rodzajem materii organicznej w skałach osadowych [81] i charakteryzuje się odpornością na działanie fizycznych i chemicznych procesów wietrzenia.

Węgiel kopalny (ang. *coal*), składający się w dużej mierze z kerogenu, jest rozprzestrzeniany w środowisku poprzez górnictwo, transport i procesy spalania. Niewielkie cząstki węgla mogą być przenoszone poprzez cyrkulacje powietrza atmosferycznego oraz wody spływne i łączyć się z glebami i osadami [57, 79, 82, 83].

W zależności od pochodzenia czarny węgiel (ang. *black carbon*) świeżo uformowany w wyniku spalania paliw płynnych może być silnie aromatyczny i zredukowany (sadza), natomiast węgiel utworzony w wyniku niecałkowitego spalania biomasy i węgla kopalnego (ang. *char*) często zachowuje budowę (morfologię) i strukturę materiału pierwotnego [84, 85].

Struktura molekularna kerogenu i czarnego węgla różni się zasadniczo od struktury substancji humusowych. Kerogen charakteryzuje się trójwymiarową budową z jądrami aromatycznymi połączonymi mostkami alifatycznymi [81, 86]. Jądra aromatyczne są zbudowane z grup/skupień (średnicy około 100 nm) 24 lub więcej równoległych warstw rozdzielonych przez luki (szczeliny) lub puste przestrzenie o średnicy 30-40 nm, zdolne do wyłapywania (zatrzymywania) cząsteczek związków organicznych. Warstwy zawierają do 10 skondensowanych aromatycznych pierścieni homo- lub heterocyklicznych, natomiast mostki

łązące jądra są zbudowane z liniowych lub rozgałęzionych łańcuchów alifatycznych oraz grup funkcyjnych zawierających siarkę i tlen [81, 87].

Czarny węgiel posiada trójwymiarową strukturę z warstw aromatycznych ułożonych w stosy. Badania petrograficzne ujawniły w jego budowie macerały³ fuzynitu i semifuzynitu, wysoce porowate i przez to bardziej kruche niż cząstki węgla kopalnych [79].

Charakterystykę różnego typu geosorbentów węglowych występujących w osadach dennych przedstawiono w **Tabeli 5**.

Należy zauważyć, że zarówno kerogen jak i czarny węgiel zawarte w osadach i glebach mogą ulegać różnym przemianom fizykochemicznym podczas procesów transportu i osadzania i w związku z tym ich właściwości powierzchniowe, a nawet budowa chemiczna, mogą się różnić od właściwości niezwięzniętego kerogenu i świeżo uformowanego czarnego węgla [79, 89].

Jak już wspomniano wcześniej liniowy model podziału hydrofobowych związków organicznych opiera się na założeniu, że nie istnieją ograniczenia w liczbie miejsc wiążących cząsteczki zanieczyszczeń przy wzroście ich stężenia w roztworze [90]. Jednakże zarówno kerogen jak i czarny węgiel charakteryzują się ograniczonymi zdolnościami sorpcyjnymi, co jest związane z ich budową. Najprostszym modelem opisującym równowagi sorpcyjny przy limitowanej liczbie miejsc wiążących jest model Langmuira (patrz równanie /5/) [91].

Ponieważ gleby i osady są strukturami niejednorodnymi w celu wyjaśnienia zjawiska nieliniowej sorpcji hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych wprowadzono pojęcie „złożonych nieciągłych mineralnych i organicznych domen reaktywnych” (ang. *multiple discrete reactive mineral and SOM domains*) oraz zdefiniowano tzw. kompozytowy model rozkładu reaktywności (DRM). Podstawą modelu DRM jest założenie, że gleby i osady są traktowane jako heterogeniczne mieszaniny aktywnych organicznych i nieorganicznych składników o różnych właściwościach. Każdy ze składników charakteryzuje unikalna siła wiązania analitów oraz właściwości sorpcyjne i każdy z nich wykazuje nieliniowe bądź liniowe izotermy sorpcji. Proces sorpcji jest w związku z tym sumą izoterm sorpcji poszczególnych aktywnych składników gleby bądź osadu [39].

³ Macerały są elementarnymi składnikami budowy petrograficznej węgla pochodzenia organicznego, możliwymi do wydzielenia z węgla metodami fizycznymi. W odróżnieniu od minerałów nie mają one uporządkowanej budowy wewnętrznej, a ich różnorodne własności zmieniają się wraz z stopniem uwęglenia.

Tabela 5. Charakterystyka geosorbentów węglowych występujących w osadach dennych [88].

	Rodzaj sorbentu	Powstawanie	Źródło	Budowa	Cechy charakterystyczne
Czarny węgiel	sadza	niecałkowite spalanie	węgiel kamienny, drewno, odpadki rolnicze i spalanie biomasy	sub-mikrometrowe konglomeraty aromatycznych warstw utworzonych przez kondensację wolnych rodników acetylenowych w benzenie i zw. benzenowych	budowa podobna do cebuli, wielowarstwowa 20-90% C
	węgiel odbarwiający i węgiel drzewny	niecałkowite spalanie	-	1-100 µm cząstki	materiał mniej nieuporządkowany niż sadza; 20-90% C
	cenosfery	roztopiony stan węgla	węgiel	1-100 µm cząstki	-
	koks	stopiony popiół	bitumiczny węgiel	1-100 µm cząstki	-
	sadza lampowa	stała pozostałość z rozkładu nie przerobionego oleju	nie przerobiony olej	prawdopodobnie 1-100 µm cząstki	-
	atmosferyczne zanieczyszczenia smoliste	pozostałość z niecałkowicie roztopionej biomasy	biomasa	brak mikroskopowej struktury	~90% C
Węgiel kopalny	-	diageneza ⁴ i katageneza ⁵ roślin	ziemskie wyższe rośliny	nieuporządkowana makrocząsteczka	50-90% C
Kerogen	-	diageneza i katageneza bakterii i alg	Bakterie i algi	nieuporządkowane makrocząsteczki połączone przez heteroatomowe wiązania lub alifatyczne łańcuchy	70-90% C

Dalsze badania wykazały jednak, że pojemność sorpcyjna osadów może być mniejsza niż obliczona na podstawie zawartości sorbentów węglowych i substancji humusowych oraz odpowiadających im pojemności sorpcyjnych. Sugeruje to, że kerogen i czarny węgiel związane z osadami nie są w pełni dostępne dla związków hydrofobowych (tutaj fenantrenu), ponieważ na ich powierzchni występują tlenki metali, wodorotlenki i związki

⁴ **Diageneza** - proces powstawania skały zwięzłej ze skał luźnych polegający na łączeniu (zlepianiu) spoiwem ziaren skalnych. Świeżo zdeponowany osad jest luźny, miękki, przesiąknięty wodą. Pod wpływem różnych czynników (np. pod wpływem wody morskiej, bakterii, alg) ulega przeobrażeniom, które prowadzą do tego, że staje się on spoiwy, twardy i prawie zupełnie pozbawiony wody. Procesy do tego prowadzące przebiegają w warunkach ciśnienia i temperatury nieróżniących się lub niewiele różniących się od tych warunków, w jakich osad został złożony. Procesy diagenety (cementacji) związane są ze strącaniem się substancji mineralnych stopniowo wypełniających przestrzenie międzyziarnowe.

⁵ **Katageneza** – zachodzi, kiedy osad został już przykryty pokładem innego osadu, pod wpływem zwiększonego ciśnienia i temperatury, często nazywana diagenezą postsedymentacyjną.

humusowe [92]. Ta hipoteza jest zgodna z wcześniejszymi obserwacjami, podczas których stwierdzono zjawisko blokowanie mikroporów na powierzchni węgla aktywnego przez cząsteczki rozpuszczonych kwasów humusowych, co zmniejszało pojemność sorpcyjną węgla dla zanieczyszczeń organicznych o mniejszych rozmiarach cząsteczek [93].

Złożona budowa osadów i gleb sprawia, że przewidywanie ich całkowitych zdolności sorpcyjnych na podstawie analizy zawartości sorbentów węglowych, kerogenu i substancji humusowych jest dużym wyzwaniem. Ponadto, pomimo faktu, że czarny węgiel jest uważany za najważniejszy sorbent środowiskowy, jego mechanizmy sorpcyjne nie zostały dokładnie scharakteryzowane w sposób bezpośredni. Wynika to z faktu, że metody izolacji powodują modyfikację (utlenianie) powierzchni cząstek węglowych [80, 92] a ponadto nie umożliwiają całkowitego usunięcia kerogenu. Stwierdzono jednak, że czarny węgiel charakteryzuje się nieliniowym przebiegiem izoterm sorpcji i większą pojemnością sorpcyjną niż kwasy humusowe ze względu na wysoce specyficzną powierzchnię, dużą porowatość i silnie hydrofobową naturę.

2.4.2 Szybkość procesów sorpcji i desorpcji

Sorpcja oraz następująca po niej desorpcja z osadów i gleb wymaga wieloetapowego transferu masy cząsteczek sorbatu poprzez matryce żelowe oraz dyfuzji wewnątrz matryc skondensowanych [50, 94-99]. Podczas gdy wymiana masy pomiędzy fazą ciekłą a zewnętrzną powierzchnią cząstek osadów zachodzi stosunkowo szybko, dyfuzja wewnątrz materii pochodzenia organicznego oraz w mikro- i mezoporach może zachodzić skrajnie powoli i często limituje proces sorpcji/desorpcji. Stwierdzono, że sorpcja perchloroetyleny i tetrachlorobenzenu na materiałach piaszczystych osiąga stan pozornej równowagi w ciągu 10 do 100 dni, natomiast do uzyskania stanu prawdziwej równowagi potrzebny jest znacznie dłuższy czas [100]. Do osiągnięcia stanu równowagi w procesie sorpcji fenantrenu na powierzchni łupków zawierających kerogen potrzeba od 180 do 365 dni przy wyjściowym stężeniu fenantrenu w roztworze na poziomie 500 mg/dm^3 , natomiast w przypadku stężenia wyjściowego na poziomie 5 mg/dm^3 czas ten nie wystarcza do osiągnięcia stanu równowagi. Gdy głównym składnikiem osadu są kwasy humusowe stan równowagi ustala się w ciągu 90 dni przy obu poziomach stężeń fenantrenu [96]. Analogicznie stwierdzono, że desorpcja z materiałów bogatych w kerogen odbywa się znacznie wolniej niż z próbek takich jak torf, których główną domeną sorpcyjną są kwasy humusowe [101].

Zjawisko wolnej sorpcji i desorpcji jest przypisywane hamowaniu (spowalnianiu) dyfuzji sorbatu wewnątrz matrycy organicznej [50, 71, 102] oraz wewnątrz mikroporów matrycy nieorganicznej [45, 100, 103]. Jest to związane z faktem, że hamowanie dyfuzji molekularnej wewnątrz porów o rozmiarach nieznacznie większych od rozmiarów cząsteczek sorbatu jest znacznie większe, niż wewnątrz porów o rozmiarach dużo większych niż rozmiary sorbowanych cząstek. Zaobserwowano również zjawisko poszerzania porów o niewielkich rozmiarach oraz penetracji obszarów materii organicznej nie zawierających porów i ich tworzenie w miarę wzrostu stężenia sorbatu [50]. Tego typu rozluźnienie lub rekonfiguracja struktury materii organicznej może zachodzić w wyniku różnych procesów w określonych warunkach.

Dodatkowo szybkość rozluźniania (relaksacji) matrycy polimerowej po sorpcji małych cząsteczek jest funkcją energii oddziaływań sorbent-sorbat i sieciowania (ang. *crosslinkage*). Kwasy humusowe są odpowiednio luźno (swobodnie) powiązane i mogą ulegać rozluźnieniu szybciej niż zwarty strukturalnie kerogen. Są one również bardziej polarne niż kerogen, w związku z tym mogą ulegać pęcznieniu pod wpływem wody, przez co stają się bardziej elastyczne i umożliwiają cząsteczkom sorbatu szybszą dyfuzję do wnętrza i na zewnątrz matrycy.

2.4.3 Podsumowanie

Identyfikacja i oznaczenia ilościowe kerogenu oraz czarnego węgla (sorbentów węglowych) oraz odkrycie zdolności przechodzenia kwasów humusowych w postać szklistą poprawiły mechanistyczne zrozumienie zjawiska sorpcji hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych przez gleby i osady. Stwierdzono, że różne typy materii pochodzenia organicznego mają rozmaite pochodzenie i niejednolite właściwości fizykochemiczne, a także prezentują różne typy zachowań sorpcyjnych względem hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych – od procesu liniowego podziału lub rozpuszczania analitów (absorpcji) aż do procesów zlokalizowanej adsorpcji na zewnętrznych i wewnętrznych powierzchniach.

Szybkości i równowaga procesów sorpcji i desorpcji są skorelowane z typem materii organicznej i jej właściwościami. Kwasy humusowe są bezpostaciowe i charakteryzują się wysoką wartością liczbową stosunku O/C, a ponadto ulegają spęcznieniu w wodzie. Sorpcja do kwasów humusowych jest procesem w wysokim stopniu liniowym i szybkim. Odwrotna sytuacja ma miejsce w przypadku kerogenu, który posiada stosunkowo sztywną,

trójwymiarową strukturę i niski stosunek zawartości tlenu do węgla. Izotermy sorpcji dla kerogenu są nieliniowe a szybkość sorpcji jest niewielka. Analogicznie desorpcja hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych z kwasów humusowych jest procesem stosunkowo szybkim, natomiast z kerogenu raczej powolnym. Czarny węgiel jest natomiast fazą charakteryzującą się, w zależności od pochodzenia, różnymi szybkościami i izotermami sorpcji/desorpcji i konieczne są dalsze badania jego właściwości w celu lepszego wyjaśnienia mechanizmów sorpcyjnych i ilościowego określenia szybkości i równowag sorpcji zanieczyszczeń organicznych na powierzchni tej fazy.

Dalsze mechanistyczne wyjaśnienia i ilościowe przewidywania zjawiska sorpcji/desorpcji będą wymagały systematycznej charakterystyki kerogenu, różnych typów czarnego węgla oraz substancji humusowych posiadających różny skład, strukturę i właściwości. Korelacje pomiędzy szczegółową charakterystyką różnych typów sorbentów pochodzenia organicznego i ich zachowaniami sorpcyjnymi powinny pomóc w pogłębieniu zrozumienia wpływu heterogeniczności materii pochodzenia organicznego na sorpcję i sekwestrację hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych w glebach i osadach dennych.

2.5 Oznaczanie analitów z grupy WWA i PCB w próbkach osadów dennych.

Próbki osadów dennych i zawiesiny, ze względu na bardzo skomplikowaną strukturę fizykochemiczną, wymagają zazwyczaj stosowania kilku następujących po sobie etapów obróbki, w trakcie których powinny zostać usunięte składniki niepożądane podczas analizy, takie jak [104]

- siarka elementarna (S_8),
- związki makromolekularne (np. tłuszcze, woski) o masach molekularnych w zakresie 600 – 1500. Charakteryzują się one niską lotnością oraz obecnością grup polarnych, które mogą tworzyć wiązania wodorowe,
- związki o rozmiarach cząstek zbliżonych do rozmiarów analitów.

Podstawowe informacje na temat technik ekstrakcji analitów grupy WWA i PCB z próbek osadów dennych zestawiono w **Tabeli 6**.

Tabela 6. Zestawienie podstawowych informacji o technikach izolacji i wzbogacania analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów [106- 118]

Technika ekstrakcji	Zasada	Wykorzystywane rozpuszczalniki/ ilość [cm ³]	Czas ekstrakcji	Ilość próbek [g]	Uwagi
Ekstrakcja w układzie ciecz-ciało stałe	Proces polega na przejściu analitów z matrycy próbki do odpowiednio dobranego rozpuszczalnika.	Aceton, dichlorometan, heksan/ 2÷300	5 min÷24 h	1÷10	Możliwe jest ręczne lub automatyczne wytrząsanie próbki z rozpuszczalnikiem lub wykorzystanie aparatu Soxhleta.
Ekstrakcja za pomocą płynów w stanie nadkrytycznym	Proces polega na przejściu analitów z matrycy próbki do płynu w stanie nadkrytycznym.	CO ₂ , tlenek azotu, woda/ 10÷20	0,5÷1,0 h	1÷10	Często stosuje się dodatek modyfikatorów np. metanolu czy etanolu.
Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika wspomagana promieniowaniem mikrofalowym	Proces uwalniania analitów z matrycy jest wspomagany promieniowaniem mikrofalowym.	Aceton, heksan, dichlorometan/ 25÷45	1÷5 min	2÷5	Ekstrakcja może być prowadzona w naczyniu zamkniętym lub otwartym.
Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika pod zwiększonym ciśnieniem	Proces zachodzi w zamkniętym naczyniu ekstrakcyjnym, w podwyższonej temperaturze i pod zwiększonym ciśnieniem.	Aceton, heksan, dichlorometan/25	10÷15 min	30	Warunki prowadzenia procesu pozwalają na utrzymanie gorących rozpuszczalników w fazie ciekłej, co ułatwia ekstrakcję analitów.
Ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami	Proces uwalniania analitów z matrycy jest wspomagany ultradźwiękami i zachodzi w specjalnej łaźni ultradźwiękowej.	Aceton, heksan, dichlorometan/300	5÷30 min	2÷30	Można ekstrahować jednocześnie wiele próbek.

Zestaw GC-MS stanowi dogodne i popularne narzędzie wykorzystywane do oznaczania analitów z grupy WWA i PCB w próbkach środowiskowych.

Tak jak w przypadku każdego przyrządu, którego praca jest oparta na zasadzie pomiarów względnych, przy jego stosowaniu konieczne są odpowiednie substancje wzorcowe. W przypadku stosowania spektrometru mas dogodnymi substancjami wzorcowymi są stabilne pochodne izotopowe analitów. Mogą one być użyte do śledzenia i kompensowanie strat analitów na poszczególnych etapach procedury analitycznej, takich jak oczyszczanie czy rozcieńczanie oraz zmienności wynikającej z ustawień i czułości instrumentów. Przy oznaczaniu zanieczyszczeń takich jak polichlorowane dibenzo-para

dioksyny, dibenzofurany, bifenyle i wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne stosuje się zwykle związki znaczone izotopami ^{13}C , ^2H i ^{37}Cl . Wzorce znaczone izotopowo umożliwiają oznaczanie analitów na poziomie śladów (ng/g do fg/g) z dużą precyzją [119-123]. W tym celu wykorzystuje się technikę spektrometrii mas rozcieńczenia izotopowego. Jest to odmiana techniki dodatku wzorca wewnętrznego, zaliczana do pierwotnych technik pomiarowych, czyli bezpośrednio związana z układem SI [124, 125].

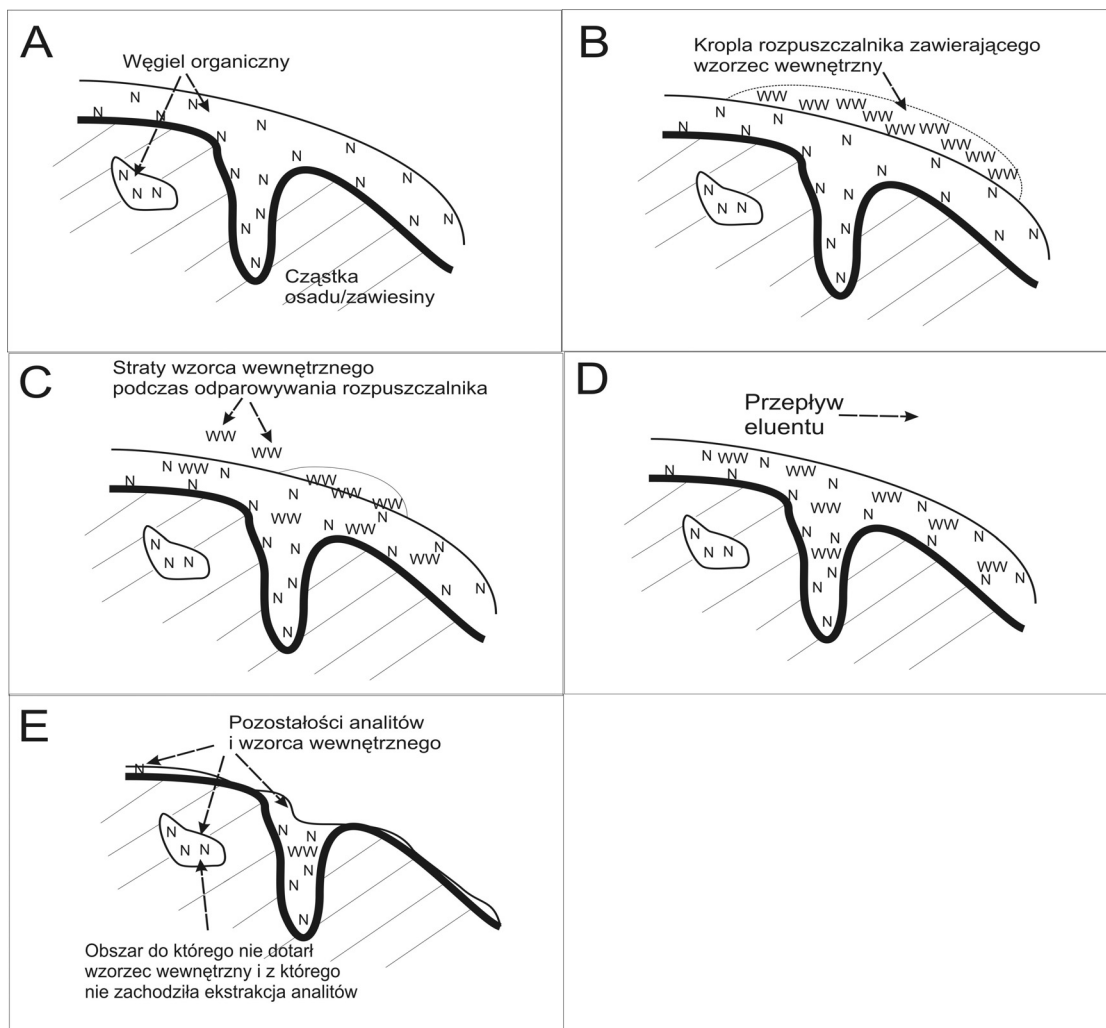
Znanych jest kilka sposobów dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do badanych próbek stałych. W dostępnych przewodnikach i zaleceniach zawarte są informacje na temat właściwych warunków pracy z próbkami biologicznymi ze stosunkowo wysoką zawartością lipidów, jednakże odzysk związków, dodawanych jako wzorzec wewnętrzny, z próbek o złożonym składzie jest zmienny i różni się w zależności od rodzaju matrycy i techniki dodawania wzorca [126].

Najczęściej wzorzec wewnętrzny jest dodawany do próbki w niewielkiej (0,1-1 ml) ilości rozpuszczalnika organicznego. Stosowane są również bardziej skomplikowane systemy wykorzystujące wirówki do jednolitego rozprowadzenia wzorca w matrycy próbki i redukcji dużych objętości rozpuszczalnika [127]. Nie istnieje jednak technika umożliwiająca dodanie wzorca wewnętrznego w sposób doskonale odtwarzający wiązanie się analitów z matrycą próbki, szczególnie w przypadku analiz środowiskowych, gdzie mamy do czynienia z próbkami o bardzo różnorodnej matrycy.

Większość cząstek osadów i materii zawieszonych składa się z minerałów pokrytych warstwą materii organicznej o różnym składzie, na powierzchni której może zachodzić proces sorpcji [42]. W związku z tym istnieje wiele możliwych mechanizmów sorpcji związków organicznych, w tym substancji używanych w charakterze wzorców wewnętrznych, na powierzchni cząstek stałych.

W przypadku gdy wzorzec wewnętrzny jest dozowany (w postaci roztworu w odpowiednim rozpuszczalniku) na powierzchnię cząstek stanowiących próbkę stałą, nie można mieć pewności, że wiąże się on z powierzchnią w sposób identyczny jak anality, które są związane z cząstkami próbki stałej (zawiesina, osady denne, gleba). Powodem tego jest fakt, że anality oraz wzorzec wewnętrzny są transportowane do matrycy próbki w różny sposób (wzorzec dodawany jest w rozpuszczalniku organicznym, co wiąże się z solwatacją przez cząsteczki rozpuszczalnika, a nie wody, jak to ma miejsce w przypadku analitów) i w związku z tym mogą ulegać sorpcji w różnym stopniu.

Zwykle wzorec wewnętrzny (przynajmniej częściowo) jest związany z matrycą słabiej niż anality. W związku z tym wydajność ekstrakcji analitów i substancji wykorzystywanych jako wzorce wewnętrzne może się różnić [120]. Jest to szczególnie istotne w przypadku technik ekstrakcyjnych charakteryzujących się niskim odzyskiem analitów. Ponadto może wystąpić błąd związany z odparowaniem części wzorca wewnętrznego zadsorowanego na powierzchni próbki, szczególnie w przypadku analitów stosunkowo lotnych [120, 128]. W sposób poglądowy przebieg zjawiska sorpcji i ekstrakcji przy wykorzystaniu wzorca wewnętrznego przedstawiono na **Rysunku 2**.



Rysunek 2. Schematyczna prezentacja procesów zachodzących podczas dodatku wzorca wewnętrznego do matrycy próbki. **A.** matryca złożona ze stałych cząstek, pokrytych materią organiczną, która zawiera zaabsorbowany analit (N). **B.** dodanie roztworu wzorca wewnętrznego (WW) w rozpuszczalniku organicznym na powierzchnię cząstek osadu **C.** wprowadzenie wzorca wewnętrznego do matrycy podczas odparowywania rozpuszczalnika, (ulotnienie się części wzorca wpływające na błąd ilościowy wyniku analizy) **D.** ekstrakcja eluentem organicznym **E.** niewyekstrahowane pozostałości analitu i wzorca wewnętrznego [128].

W literaturze brak jest szczegółowych informacji na temat wpływu techniki dodatku wzorca na uzyskiwane wyniki końcowe oznaczeń analitów z grupy WWA i PCB w próbkach środowiskowych.

Badania nad wydajnością procesu ekstrakcji analitów z grupy WWA oraz ich deuterowanych analogów z próbek środowiskowych, z wykorzystaniem techniki ekstrakcji ditlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym oraz ekstrakcji dichlorometanem wspomaganą ultradźwiękami (sonikacja) wykazały znaczące różnice w odzysku analitów. Niezależnie od techniki dodatku wzorca (nastrzykiwanie roztworu wzorca do próbki lub zawieszanie próbki w roztworze wzorca) wydajność ekstrakcji deuterowanych węglowodorów była znacząco wyższa (>90% przy 30-minutowej ekstrakcji ditlenkiem węgla w stanie nadkrytycznym) niż wydajność ekstrakcji odpowiednich analitów występujących naturalnie (25-40% w warunkach jak wyżej). Różnice te były największe dla związków z grupy WWA o niższej masie. Podobne różnice zaobserwowano w przypadku ekstrakcji za pomocą dichlorometanu [129].

Tabela 7. Zestawienie różnych sposobów wprowadzania określonej ilości wzorca wewnętrznego do próbki osadu.

Sposób wprowadzania roztworu zawierającego wzorec wewnętrzny	Uwagi	Literatura
do finalnego ekstraktu przed analizą chromatograficzną	- nie uwzględnia odzysku analitów z osadu i strat podczas kolejnych etapów przygotowania i izolacji związków z grupy WWA i PCB z osadu;	[131, 132]
do ekstraktu surowego, przed etapem oczyszczania i frakcjonowania ekstraktu	-nie uwzględnia odzysku analitów podczas procesu izolacji - brak możliwości oszacowania wydajności procesu ekstrakcji;	[133]
bezpośrednio do próbki osadu (suchego lub mokrego)	-najczęściej spotykany sposób wprowadzania roztworu zawierającego wzorec wewnętrzny do próbek osadu; -odzysk wzorców wewnętrznych dość wysoki, zależny od stosowanej techniki ekstrakcji; -punktowe wprowadzenie roztworu zawierającego wzorec wewnętrzny nie pozwala na odtworzenie charakteru wiązania analitów w osadzie; -możliwe straty wzorca wewnętrznego związane z odparowaniem nadmiaru rozpuszczalnika z powierzchni próbki	[80, 107, 129, 134-137]
do osadu zwilżonego rozpuszczalnikiem	- umożliwia jednorodne rozprowadzenia roztworu zawierającego wzorec wewnętrzny w próbce osadu; - umożliwia odtworzenia charakteru wiązania analitów;	[138, 139]

Stwierdzono również różnice w odzysku wzorców wewnętrznych w przypadku stosowania analitów z grupy WWA znaczonych węglem ^{13}C oraz deuterem ^2H przy wykorzystaniu techniki ekstrakcji rozpuszczalnikiem pod zwiększonym ciśnieniem (*PLE*). Dla wszystkich badanych związków z grupy WWA, stężenia obliczone na podstawie wyników

analiz próbek zawierających wzorce deuterowane były 1,9-4,3% niższe wtedy gdy stosowano jako wzorce wewnętrzne związki znaczone węglem ^{13}C . Było to najprawdopodobniej spowodowane uprzywilejowaną elucją węglowodorów deuterowanych w porównaniu z wzorcami znaczoneymi węglem ^{13}C z osadu wynikającą z różnicy mas cząsteczkowych oraz wyższą trwałością wzorców deuterowanych w warunkach zwiększonego ciśnienia a także ogólną niższą trwałości związków znaczoneymi węglem ^{13}C w porównaniu z WWA deuterowanymi podczas procesu analitycznego [130].

W **Tabeli 7** zestawiono stosowane techniki dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do próbek osadów.

2.6 Gorąca woda jako alternatywa dla rozpuszczalników organicznych wykorzystywanych w procesie ekstrakcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów.

„Zrównoważony rozwój to rozwój, który **odpowiada potrzebom dzisiejszego pokolenia, nie zagrażając możliwościom przyszłych pokoleń**, zaspokajając potrzeby obecne i przyszłe. Bazuje na dwóch podstawowych założeniach:

- w pierwszej kolejności należy skupić się na koncepcji potrzeb, w szczególności potrzeb podstawowych najbiedniejszych;
- **przy zaspokajaniu aktualnych i przyszłych potrzeb trzeba uwzględnić również ograniczone możliwości, nie ignorować granic wyznaczanych postępowi techniki i społecznego porządku przez środowisko.**“ [140]

Coraz powszechniejsza akceptacja koncepcji zrównoważonego rozwoju (ang. *sustainable development*) jest ściśle związana z zasadami tzw. „zielonej chemii”, coraz częściej stosowanej zarówno w przemyśle, jak i laboratoriach. Zakłada ona wykonywanie wszelkich czynności i operacji w sposób przyjazny dla środowiska poprzez minimalizację szkodliwych oddziaływań na nie i jest ujęta w 12 punktach, mówiących między innymi o efektywnym wykorzystywaniu energii i surowców oraz o eliminacji (w miarę możliwości) substancji stanowiących zagrożenie dla środowiska z przemysłu i laboratoriów.

Istotną część „zielonej chemii” stanowi „zielona chemia analityczna”, której podstawowe reguły obejmują:

- redukcję ilości zużywanych odczynników, szczególnie rozpuszczalników organicznych;

- zmniejszenie emisji oparów i gazów oraz spadek ilości wytwarzanych odpadów ciekłych i stałych;
- eliminację z procedur analitycznych odczynników charakteryzujących się wysoką (eko)toksycznością;
- ograniczenie zużycia pracy i energii w procedurach analitycznych.

Prace związane z tworzeniem nowych metodyk analitycznych, przyjaznych dla środowiska, stanowią jedno z najważniejszych wyzwań dla szerokiego grona chemików-analityków. Jednym z założeń „zielonej chemii” jest ograniczenie wykorzystania toksycznych związków chemicznych, do których niewątpliwie zaliczają się rozpuszczalniki (aceton, dichlorometan, heksan i inne) powszechnie stosowane w procesie izolacji różnego typu związków z próbek środowiskowych. Stąd wynikają próby ich wyeliminowania z metodyk analitycznych poprzez stosowanie tzw. „metod bezrozpuszczalnikowych” bądź zastąpienie przez rozpuszczalniki przyjazne dla środowiska, takie jak ditlenek węgla w stanie nadkrytycznym bądź wodę.

2.6.1 Właściwości fizykochemiczne wody

Woda jako rozpuszczalnik charakteryzuje się unikalnymi właściwościami związanymi z budową jej cząsteczki, która umożliwia tworzenie licznych wiązań wodorowych. Dzięki nim charakteryzuje się bardzo wysoką, w stosunku do masy cząsteczkowej, temperaturą wrzenia, wysoką wartością stałej dielektrycznej i dużą polarnością. Podczas ogrzewania własności wody wyraźnie zmieniają się, co jest związane ze zrywaniem siatki wiązań wodorowych. Skutkuje to obniżeniem wartości liczbowej stałej dielektrycznej, spadkiem lepkości i napięcia powierzchniowego oraz wzrostem szybkości dyfuzji [141].

Ciśnienia wymagane do utrzymania skondensowanego stanu wody są umiarkowane i wynoszą 15 barów przy 200°C i 85 barów przy 300°C. W temperaturze pokojowej i ciśnieniu otoczenia woda jest polarnym rozpuszczalnikiem z wysoką stałą dielektryczną $\epsilon = 78$, ale wraz ze wzrostem temperatury wartość stałej dielektrycznej zmienia się na bardzo podobną do wartości typowych rozpuszczalników organicznych w temperaturze pokojowej (np. woda przy 220°C $\epsilon = 30$, metanol $\epsilon = 33$; woda $\epsilon = 21$ przy 300°C, etanol $\epsilon = 24$, aceton $\epsilon = 20,7$) [141, 142].

2.6.2 Ekstrakcja za pomocą gorącej wody

Woda w temperaturze powyżej punktu wrzenia jest od wielu lat wykorzystywana w przemyśle, między innymi do poprawiania wydajności ekstrakcji łupków olejowych (bitumicznych) oraz ekstrakcji siarki ze złóż metodą Frascha⁶. W postaci pary wodnej jest powszechnie stosowana do destylacji lotnych składników z materiału roślinnego w celu otrzymania olejków eterycznych stosowanych w przemyśle perfumeryjnym.

Pierwsze zastosowania przegrzanej wody w analityce datują się na początek lat dziewięćdziesiątych, kiedy to wykorzystano ją do ekstrakcji szerokiej gamy analitów polarnych i niepolarnych z próbek gleb [143]. W temperaturze 400°C (stała dielektryczna $\epsilon = 8$, warunki nadkrytyczne) uzyskano ilościową ekstrakcję związków z grupy WWA, n-alkanów (C₁₃-C₃₀) i wszystkich bardziej polarnych analitów. W warunkach podkrytycznych (250°C, $\epsilon = 29$) węglowodory aromatyczne oraz bardziej polarne anality odzyskiwano w ponad 97%, natomiast znacząco spadała wydajność ekstrakcji wyższych n-alkanów. Zwiększanie ciśnienia od 50 do 600 barów w temperaturze 250°C nie wpływało na wydajność ekstrakcji, jednak jego obniżenie do 5 barów wpływało na spadek odzysku [143]. Kolejne badania dotyczyły ekstrakcji polichlorowanych bifenyli [144] i zainicjowały serię doświadczeń nad ekstrakcją próbek środowiskowych z wykorzystaniem gorącej wody.

Technikę tą zastosowano również do oznaczania pozostałości pestycydów w glebach i roślinach [145] oraz do ekstrakcji substancji smakowych i zapachowych z żywności [146, 147]. Alternatywna technika ekstrakcji z wykorzystaniem ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym wymaga stosowania znacznie większych ciśnień, co przekłada się na cenę i stopień komplikacji aparatury i, ze względu na słabsze właściwości ekstrakcyjne ditlenku węgla, charakteryzuje się niższymi odzyskami analitów.

Studia nad zmianami rozpuszczalności w wodzie z temperaturą typowo oznaczanych w próbkach środowiskowych analitów wykazały że w niższych temperaturach cząsteczki wody są w stanie zerwać wiązania dipolowe pomiędzy cząsteczkami analitów i matrycą, do zerwania wiązań van der Waalsa potrzebne są wyższe temperatury, zaś największa energia jest wymagana do zerwania oddziaływań elektronowych typu π - π [148].

⁶ Metoda Frascha polega na wtłoczeniu do wnętrza złoża przez otwór przegrzanej pary wodnej, co powoduje topienie się siarki i wypływanie jej na powierzchnię.

Badania nad rozpuszczalnością wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych dowiodły, że rozpuszczalność antracenu, chryzenu i perylenu wzrastała 20000 razy przy wzroście temperatury z 25 do 200°C. Nie stwierdzono natomiast wpływu ciśnienia na rozpuszczalność tych analitów, odwrotnie, niż ma to miejsce w przypadku ekstrakcji za pomocą ditlenku węgla w stanie nadkrytycznym [149]. Analogiczne wyniki zaobserwowano dla naftalenu i benzo[a]pirenu [150] oraz triazyn [151].

Przykłady stosowania techniki ekstrakcji przegrzaną wodą do oznaczania związków niepolarnych w próbkach środowiskowych zestawiono w **Tabeli 8**.

Tabela 8. Zastosowanie techniki ekstrakcji za pomocą gorącej wody do oznaczania związków niepolarnych w próbkach środowiskowych.

Anality	Matryca próbki	Warunki ekstrakcji	Technika końcowych	oznaczeń	Literatura
Benzen, etylobenzen, naftalen	Piasek	200°C	LC – UV		[152]
Polichlorowane benzofurany, naftalen	Gleba, piasek	300 – 350 °C	GC - MS		[153]
WWA	Gleba	250- 400°C, 50 bar	GC - MS		[143]
Polarne, średniopolarne i niepolarne związki organiczne	Gleba, ścieki	50 – 300°C	GC - MS		[154]
WWA, pestycydy	ścieki	110°C pestycydy 150°C WWA	GC – MS lub HPLC		[155]
PCB	Gleba, osad	250 – 300°C	GC – MS		[144]
WWA	Gleba	150°C	LC - F		[156]
WWA	Gleba	250°C	GC – MS		[157]
WWA	Gleba	250°C / dyski ekstrakcyjne	GC – MS		[158]
WWA	Osad	300°C	LC - GC		[159]
Alkany, WWA	Piasek morski	250°C	GC		[160]
Polichlorowane benzofurany, naftalen	Gleba	200 – 400°C, para wodna	GC – MS		[161]
PCB	Gleba	140°C	GC - MS		[162]
PCB	Gleba	250°C	GC - ECD		[163]
WWA	Piasek, powietrze	250 - 300°C	SPME / GC		[164]
WWA	Gleba, osad	SWE	Oznaczenie uodpornionymi enzymami		[165]
Odchlorowane PCB	olej	250°C + proszek żelaza	GC - ECD		[166]
BTEX, WWA	Gleba, piasek	100 - 200°C	LC		[167]

Ze stosowaniem wody w stanie podkrytycznym do ekstrakcji analitów niepolarnych wiąże się dwa ograniczenia [168]:

- straty analitów poprzez readsorpcję na wyjściowej matrycy po schłodzeniu,
- silne rozcieńczenie otrzymanego ekstraktu.

Pierwsze z nich można wyeliminować poprzez stosowanie aparatu do przyspieszonej ekstrakcji rozpuszczalnikiem (ASE), natomiast drugie poprzez wykorzystanie dodatkowego etapu sorpcji na stałym sorbencie (SPE), włóknie do mikroekstrakcji (SPME), czy ruchomym elemencie sorpcyjnym (SBSE) [141, 142].

3. Cel i zakres pracy

Jednym z podstawowych celów badań stanu środowiska i procesów w nim zachodzących jest zrozumienie wpływu różnego typu zanieczyszczeń (głównie pochodzenia antropogenicznego) na równowagę panującą w poszczególnych ekosystemach. Efektem takich badań, oprócz wartości czysto poznawczych, jest możliwość podjęcia odpowiednich zabiegów sozotechnicznych w celu eliminacji, bądź też zmniejszenia intensywności tych oddziaływań.

Ze względu na różnice we właściwościach fizykochemicznych, zanieczyszczenia organiczne mają tendencję do oddziaływania w różnym stopniu z materią zwieszoną, osadami i organizmami żywymi oraz do podlegania różnorodnym przemianom chemicznym, biologicznym i fotochemicznym. Określenie całkowitej zawartości ksenobiotyków w środowisku nie może być źródłem informacji o rzeczywistym ryzyku przez nie wywołanym, ponieważ substancje chemiczne mogą być wiązane przez składniki gleb lub osadów. W tym stanie nie są one dostępne dla organizmów żywych lub, w zależności od rodzaju materii stałej, mogą być słabo związane i dostępne po wcześniejszym procesie uwolnienia. Informacje takie można natomiast uzyskać w przypadku przeprowadzenia badań z zakresu fizycznej analityki specjacyjnej. Poprzez określenie formy, w jakiej występują zanieczyszczenia, umożliwia ona uzyskanie informacji dotyczących szkodliwości i możliwego wpływu ksenobiotyków na organizmy żywe, stając się podstawowym trendem rozwojowym analityki.

Znajomość lokalizacji oraz mechanizmu wiązania zanieczyszczeń w osadach dennych jest niezbędna zarówno w przypadku opracowywania procedur analitycznych służących do oznaczania badanych związków w próbkach środowiskowych, jak i do oceny stanu środowiska, do której to oceny owe procedury są konieczne.

Pomimo, że związki z grupy WWA i PCB są oznaczane w próbkach środowiskowych od wielu lat, ich analityka wciąż może sprawiać wiele problemów. Poza problemami związanymi z etapem izolacji i wzbogacania drugą istotną grupę stanowią problemy związane z etapem analizy ilościowej. Oprócz doboru techniki kalibracji (wzorzec wewnętrzny czy zewnętrzny), bardzo ważny jest też dobór właściwych wzorców oraz wybór momentu (etapu procedury) i sposobu ich dodawania. W literaturze nie ma wielu informacji na temat wpływu techniki

dotadku wzorca na uzyskiwane wyniki końcowe oznaczeń analitów z grupy WWA i PCB w próbkach środowiskowych.

Stanowiło to impuls do podjęcia zadania badawczego ukierunkowanego na problematykę związaną z analizą ilościową związków z grupy WWA i PCB w próbkach osadów dennych z wykorzystaniem układu GC-MS.

Celem przeprowadzonych badań było zbadanie wpływu następujących czynników na wyniki oznaczeń analitów z grupy WWA i PCB w próbkach osadów:

- wydajność procesu ekstrakcji analitów,
- sposób dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne,
- ilość dodawanego roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne,
- kalibracja układu GC-MS.

Podjęto również próbę interpretacji uzyskanych wyników w oparciu o dane literaturowe opisujące skład i budowę osadów dennych.

Dodatkowo przeprowadzono wstępne badania nad możliwością wykorzystania gorącej wody jako medium ekstrakcyjnego w procesie izolacji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów przy wykorzystaniu dostępnej aparatury (*Dionex 200*). Podjęcie tej problematyki było związane z rozwojem „zielonej chemii”, której istotną część stanowi „zielona chemia analityczna”. Jednym z założeń „zielonej chemii” jest ograniczenie wykorzystania toksycznych związków chemicznych, do których niewątpliwie zaliczają się rozpuszczalniki (aceton, dichlorometan, heksan i inne) powszechnie stosowane w procesie izolacji różnego typu związków z próbek środowiskowych. Stąd wynikają próby ich zastąpienia przez rozpuszczalnik przyjazny dla środowiska, jakim jest niewątpliwie woda.

Nie ma również wątpliwości, że konieczne są dalsze badania specjacji fizycznej analitów z grupy WWA i PCB w środowisku wodnym, i to zarówno w układach modelowych, jak i w oparciu o badania próbek rzeczywistych. Badania te stanowiły drugi etap programu badawczego realizowanego w ramach rozprawy doktorskiej.

W ich trakcie podjęto próbę zbadania procesu desorpcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów. Wiązało się to z realizacją następujących zadań badawczych:

- zbadaniem efektywności procesu desorpcji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych oraz polichlorowanych bifenyli w układach modelowych osad/woda, a w efekcie z określeniem wartości liczbowych współczynnika podziału tych związków pomiędzy materią stałą a fazą ciekłą.

- określeniem wpływu stosunku objętości faz (osadu i wody) na efektywność procesu desorpcji.

Również w tym przypadku otrzymane wyniki zinterpretowano wykorzystując informacje dotyczące budowy i składu osadów dennych.

4. Część doświadczalna

4.1 Odczynniki

- materiał odniesienia: osad rzeczny METRANAL2 (*Analytika, Czechy*);
- dichlorometan (czystość 99,9%, *Merck-Niemcy*);
- metanol (czystość 99,8%, *Merck-Niemcy*);
- pentan (czystość 99,9%, *Merck-Niemcy*);
- kwas siarkowy 95% (czda, P.P.H. „Standard” sp. zo.o.),
- żel krzemionkowy (średnica ziaren 40µm, *J.T. Baker - Holandia*)
- miedź sproszkowana (*J.T. Baker - Holandia*)
- silanizowana wata szklana (*Alltech Associates - England*),
- mieszanina wzorcowa 16 związków z grupy WWA w dichlorometanie zawierająca każdy z analitów na poziomie stężeń 2000 µg/ml (*Restek Corporation – USA*):

Naftalen	Benzo(a)antracen	Chryzen	Piren
Benzo(b)fluoranten	Benzo(k) fluoranten	Benzo(a)piren	Fluoranten
Indeno(123-cd)piren	Dibenzo(ah)antracen	Benzo(ghi)perylene	Antracen
Acenaftylen	Acenaften	Fluoren	Fenantren

- certyfikowany roztwór wzorcowy Natalenu-d8 w dichlorometanie o stężeniu 2000 µg/ml (*Supelco – USA*);
- certyfikowany roztwór wzorcowy Benzo(a)antracenu-d12 w dichlorometanie o stężeniu 2000 µg/ml (*Supelco – USA*);
- roztwory wzorcowe 7 związków z grupy PCB w izooktanie zawierające anality na poziomie 10 µg/ml (*Restek Corporation – USA*):

PCB28 – 2,4,4’ trichlorobifenyl	PCB138 – 2,2’,3,4,4’,5’ heksachlorobifenyl
PCB52 – 2,2’,5,5’ tetrachlorobifenyl	PCB153 – 2,2’,4,4’,5,5’ heksachlorobifenyl
PCB101 – 2,2’,4,5,5’ pentachlorobifenyl	PCB180 – 2,2’,3,4,4’,5,5’ heptachlorobifenyl;
PCB118 – 2,3’,4,4’,5’ pentachlorobifenyl	

- certyfikowany roztwór wzorcowy PCB 209 (dekachlorobifenyl) w izooktanie o stężeniu 200 µg/ml (*Dr Ehrenstorfer GmbH – Niemcy*);
- azot (N₂) do odparowywania nadmiaru rozpuszczalnika z ekstraktów (czystość 99,8%, *AGA – Polska*).

4.2 Aparatura i sprzęt laboratoryjny

- zestaw do prowadzenia procesu ekstrakcji do fazy stałej (*J.T. Baker – USA*);
- aparat do przyspieszonej ekstrakcji rozpuszczalnikiem (ASE) – Dionex 200
- handlowe kolumnienki do SPE wypełnione złożem żelu krzemionkowego z chemicznie związaną fazą oktadecylową (C18), o objętości 3 ml, (*Merck – Niemcy*);
- wytrząsarka laboratoryjna (*Elpan, Polska*);
- zestaw do odparowywania w strumieniu gazu obojętnego (*J.T.Baker - USA*);
- strzykawki szklane o objętości 10, 100 i 500 μl (*Hamilton*);
- chromatograf gazowy *Trace GC* sprzężony ze spektrometrem mas *Trace MS*, pracującym w trybie monitorowania wybranych jonów (SIM) – GC-MS-SIM (*Finningan*).

4.3 Warunki pracy chromatografu gazowego i spektrometru mas

Typ kolumny chromatograficznej oraz warunki pracy chromatografu gazowego zostały dobrane w oparciu o dane literaturowe oraz wyniki wcześniejszych prac prowadzonych w Katedrze Chemii Analitycznej. Parametry pracy układu chromatograf gazowy-spektrometr mas (GC-MS) wykorzystywanego w badaniach przedstawiono w **Tabeli 9**.

Spektrometr mas pracował w trybie SIM, czyli w trybie monitorowania wybranych jonów. Wybrano po dwa charakterystyczne jony fragmentacyjne jako podstawę do analizy jakościowej (wykrywania) analitów z grupy WWA i PCB (patrz **Tabela 10**).

Tabela 9. Warunki pracy układu GC-MS w trakcie prowadzonych badań.

System dozowania	Dozownik do bezpośredniego wprowadzania próbki do kolumny na zimno (ang. cold on-column)
Objętość dozowanej próbki	2 μl
Gaz nośny	Hel – 70 kPa
Temperatura złącza	280°C
Kolumna	Rtx – 5MS (30m; 0,25mm; 0,25 μm)
Detektor	Trace MS z jonizacją elektronową (EI) pracujący w trybie SIM
System integrujący	Excalibur
Program temperaturowy	40°C do 120°C (40°C/min); do 280°C (5°C/min); 280°C przez 12 min

Dodatkowo, w celu podniesienia dokładności oznaczeń zastosowano technikę dodatku wzorca wewnętrznego. Roztwór zawierający substancje wykorzystywane w charakterze wzorców wewnętrznych jest wprowadzany do badanej próbki na określonym etapie procesu jej przygotowania do fazy oznaczeń końcowych. Substancje te zachowują się identycznie jak

związki analizowane, a ich odzysk wyznaczony na końcu procesu przygotowania próbki stanowi podstawę do określenia odzysku analitów.

W charakterze wzorców wewnętrznych użyto naftalenu-d8 i benzo(a)antracenu-d12, czyli znaczonej izotopowo związków z grupy WWA oraz PCB 209. W **Tabeli 11.** zestawiono charakterystyczne jony fragmentacyjne tych analitów.

Tabela 10. Masy i czasy retencji monitorowanych jonów fragmentacyjnych dla poszczególnych analitów.

Analit	Masy monitorowanych jonów
PCB28 – 2,4,4'-trichlorobifenyl	256, 258
PCB52 – 2,2',5,5'-tetrachlorobifenyl	290, 292
PCB101 – 2,2',4,5,5'-pentachlorobifenyl	234, 326
PCB118 – 2,3',4,4',5'-pentachlorobifenyl	234, 326
PCB138 – 2,2',3,4,4',5'-heksachlorobifenyl	358, 360
PCB153 – 2,2',4,4',5,5'-heksachlorobifenyl	358, 360
PCB180 – 2,2',3,4,4',5,5'-heptachlorobifenyl	392, 394
Naftalen	128, 127
Acenaftylen	152, 151
Acenaften	154, 153
Fluoren	166, 165
Fenantren	178, 176
Antracen	178, 176
Fluoranten	202, 203
Piren	202, 203
Benzo(a)antracen	228, 226
Chryzen	228, 226
Benzo(b)fluoranten	252, 250
Benzo(k) fluoranten	252, 250
Benzo(a)piren	252, 250
Indeno(123-cd)piren	277, 276
Dibenzo(ah)antracen	279, 278
Benzo(ghi)perylene	277, 276

Tabela 11. Masy i czasy retencji monitorowanych jonów fragmentacyjnych substancji wzorcowych.

Substancja wzorcowa	Masy monitorowanych jonów
Naftalen-d8	136
Benzo(a)antracenu-d12	240
PCB-209	496, 494

4.4 Procedura obliczania ilości analitów wprowadzanych do kolumny chromatograficznej.

Obliczenie ilości analitów wprowadzanych w próbce do kolumny chromatograficznej możliwe było na drodze porównania wyników pomiarów otrzymanych w trakcie dwóch równoległych analiz chromatograficznych:

- analizy próbki badanego ekstraktu (zawierającej wzorce wewnętrzne w określonej ilości),

- analizy próbki roztworu wzorcowego, zawierającego wzorce wewnętrzne w znanej ilości (informacje o stosowanych w badaniach roztworach wzorcowych przedstawiono w **Tabeli 12**).

Tabela 12. Podstawowe informacje o roztworach wzorcowych wykorzystywanych podczas badań.

Roztwór wzorcowy I		Roztwór wzorcowy II	
Ilość analitów z grupy WWA wprowadzanych do kolumny chromatograficznej [ng]	Ilość deuterowanych analitów z grupy WWA wprowadzanych do kolumny chromatograficznej [ng]	Ilość analitów z grupy WWA wprowadzanych do kolumny chromatograficznej [ng]	Ilość deuterowanych analitów z grupy WWA wprowadzanych do kolumny chromatograficznej [ng]
0,266	0,334	0,1067	0,133
Ilość analitów z grupy PCB wprowadzanych do kolumny chromatograficznej [ng]	Ilość dekachlorobifenylu (PCB 209) wprowadzanego do kolumny chromatograficznej [ng]	-	-
0,2	0,1907	-	-

Ilość analitu w próbce wprowadzanej do kolumny chromatograficznej obliczano na podstawie poniższego wzoru:

$$mY^p = mN_d^p \times \frac{pY^p}{pN_d^p} \times \frac{pN_d^{st}}{pY^{st}} \times \frac{mY^{st}}{mN_d^{st}} \quad /6/$$

gdzie:

mY^p, mY^{st} - masa analitu odpowiednio: w próbce badanego ekstraktu i w próbce roztworu wzorcowego,

pY^p, pY^{st} - powierzchnia pików chromatograficznych odpowiadających analitowi odpowiednio: w próbce badanego ekstraktu i w próbce roztworu wzorcowego,

mN_d^p, mN_d^{st} - masa wzorca wewnętrznego odpowiednio: w próbce badanego ekstraktu i w próbce roztworu wzorcowego,

pN_d^p, pN_d^{st} - powierzchnia pików chromatograficznych odpowiadających wzorcowi wewnętrznemu odpowiednio: w próbce badanego ekstraktu i w próbce roztworu wzorcowego.

W niektórych przypadkach ilość analitów w badanej próbce obliczono z wykorzystaniem metody wzorca zewnętrznego (poprzez porównanie pól powierzchni pików chromatograficznych odpowiadających analitowi w próbce badanego ekstraktu i w próbce roztworu wzorcowego):

$$mY^p = (pY^p \times mY_d^{st}) / pY_d^{st} \quad /7/$$

gdzie:

mY^p - masa analitu w próbce badanego ekstraktu,

pY^p - powierzchnia pików chromatograficznych odpowiadających analitowi w próbce badanego ekstraktu,

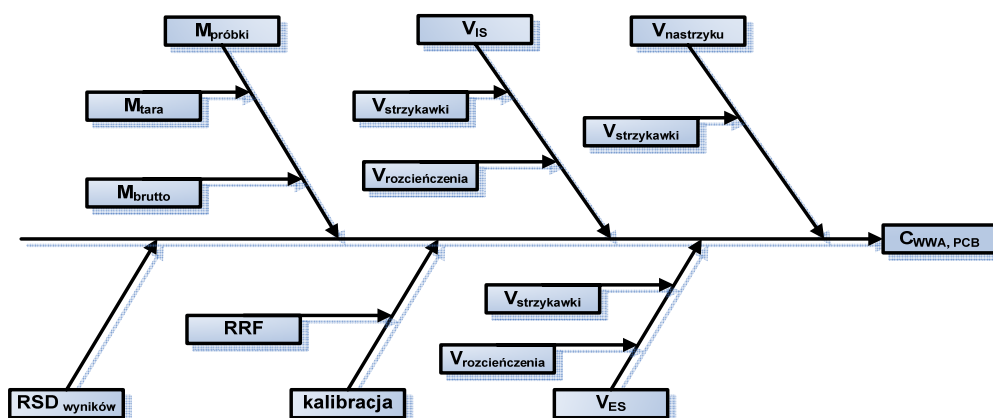
pY_d^{st} - powierzchnia pików chromatograficznych odpowiadających analitowi w próbce roztworu wzorcowego,

mY_d^{st} - masa analitu w próbce roztworu wzorcowego.

4.5 Kontrola i zapewnienie jakości wyników oznaczeń.

Jednym z podstawowych kierunków rozwojowych w chemii analitycznej jest dążność do oznaczania coraz niższych stężeń analitów w próbkach charakteryzujących się złożonym składem matrycy. Tego typu zadanie stanowi wielkie wyzwanie dla analityków i wymaga zwrócenia uwagi na kontrolę i zapewnienie jakości uzyskiwanych wyników (QC/QA). Jest to szczególnie istotne w przypadku prowadzenia badań dotyczących wpływu różnych czynników na wyniki oznaczeń ilościowych.

Na **Rysunku 3** w postaci diagramu Ishikawy przedstawiono schematycznie wpływ różnych parametrów na wyniki oznaczeń analitów z grupy WWA i PCB w próbkach osadów.



Rysunek 3. Diagram Ishikawy prezentujący składowe niepewności oznaczania zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych i polichlorowanych bifenyli w próbkach osadów. M próbki: masa próbki osadu; M tara: masa naczynka, w którym odważano próbkę, M brutto: masa brutto (naczynko+próbka); RSD wyników: względne odchylenie standardowe wyników, V IS: objętość wzorca wewnętrznego dodawanego do próbki; V ES: objętość nastrzykiwanego roztworu kalibracyjnego; V nastrzyku: objętość nastrzykiwanego ekstraktu rozpuszczalnikowego otrzymanego z badanej próbki; RRF: względny współczynnik odpowiedzi detektora; V strzykawki: objętość wykorzystywanej strzykawki (strzykawk); V rozcieńczenia: niepewność związana z przygotowaniem roztworów wzorcowych

Wartość rozszerzonej niepewności wyników oznaczeń zawartości analitów z grupy WWA i PCB w próbkach osadów obliczano zgodnie z zależnością:

$$U = kc_{PAHs} \sqrt{u(c_{cal})^2 + u(m_{próbkki})^2 + \frac{1}{n} (RSD_{wyników})^2} \quad /8/$$

gdzie:

U – rozszerzona niepewność,

k – współczynnik rozszerzenia (przyjmujący zwykle wartość 2),

$c_{WWA, PCB}$ – średnia zawartość analitów z grupy WWA lub PCB na jednostkę masy próbki,

$u(c_{cal})$ – niepewność związana z etapem kalibracji (wykorzystanie roztworów wzorcowych analitów z grupy WWA),

$u(m_{próbkki})$ – niepewność związana z ważeniem próbki osadu,

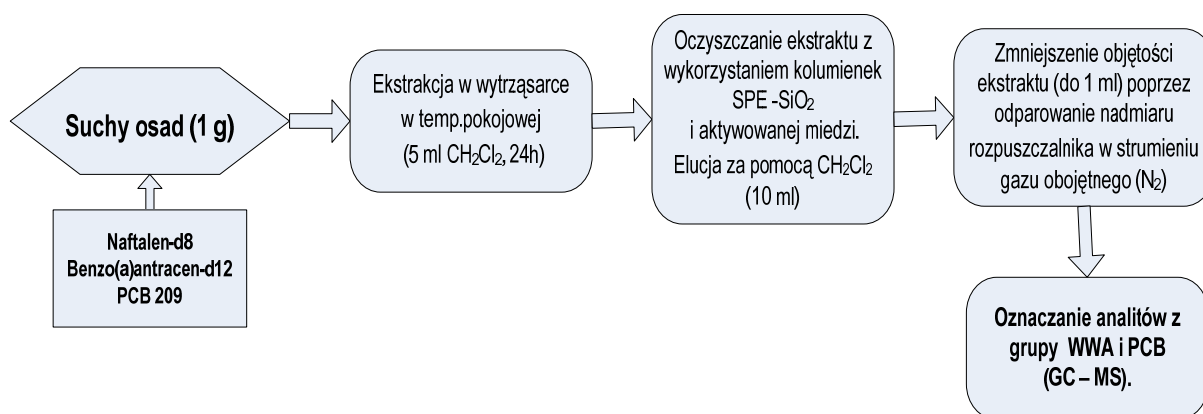
$RSD_{wyników}$ – względne odchylenie standardowe wyników, gdzie n jest liczbą niezależnych oznaczeń.

4.6 Procedury analityczne

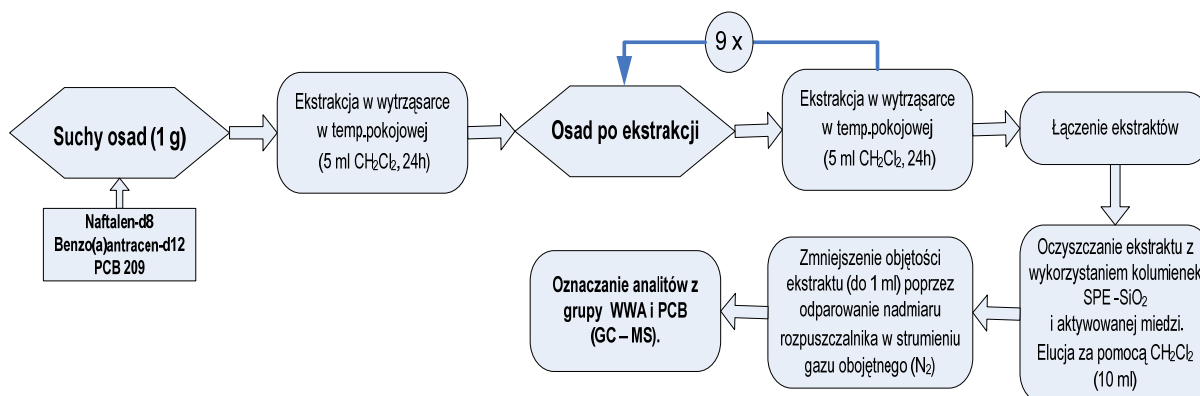
4.6.1 Badanie wydajności procesu ekstrakcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów

W doświadczeniu porównano wydajność ekstrakcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów przy jedno- i dziesięciokrotnym przeprowadzeniu procesu ekstrakcji.

Schemat etapu ekstrakcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów wykorzystywanych w badaniach (ekstrakcja jednokrotna i ekstrakcja dziesięciokrotna) przedstawiony został odpowiednio na **Rysunku 4 i 5**.



Rysunek 4. Schemat etapu ekstrakcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów.



Rysunek 5. Schemat etapu dziesięciokrotnej ekstrakcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów.

Opisana procedura oznaczania analitów z grupy WWA i PCB w próbkach osadów dennych została zweryfikowana w 1998 roku przez Międzynarodową Agencję Energii Atomowej (IAEA) [169].

4.6.2 Badanie wpływu sposobu dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do próbek osadów na wyniki oznaczania analitów z grupy WWA i PCB

W dostępnych źródłach literaturowych można znaleźć szcątkowe informacje o wpływie sposobu dodawania substancji wzorcowych do próbek środowiskowych na otrzymywane wyniki oznaczeń. W zależności od zastosowanej techniki anality obecne w dodawanych roztworach wzorcowych ulegają wiązaniu do matrycy próbki z różną siłą, co wpływa na wielkość ich późniejszego odzysku podczas procesu ekstrakcji, a tym samym na wyniki analizy ilościowej [15].

Postanowiono zbadać wpływ sposobu dodawania wzorca do próbek osadów na wyniki oznaczeń analitów z grupy WWA i PCB, w przypadku gdy wykorzystywane są dwie powszechnie stosowane techniki ekstrakcji, a mianowicie:

- ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika przeprowadzana w wytrząsarce w temperaturze pokojowej;
- przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika.

W **Tabeli 13** zestawiono informacje o sposobach dodawania roztworów zawierających substancje wzorcowe do próbek osadów zastosowanych w badaniach.

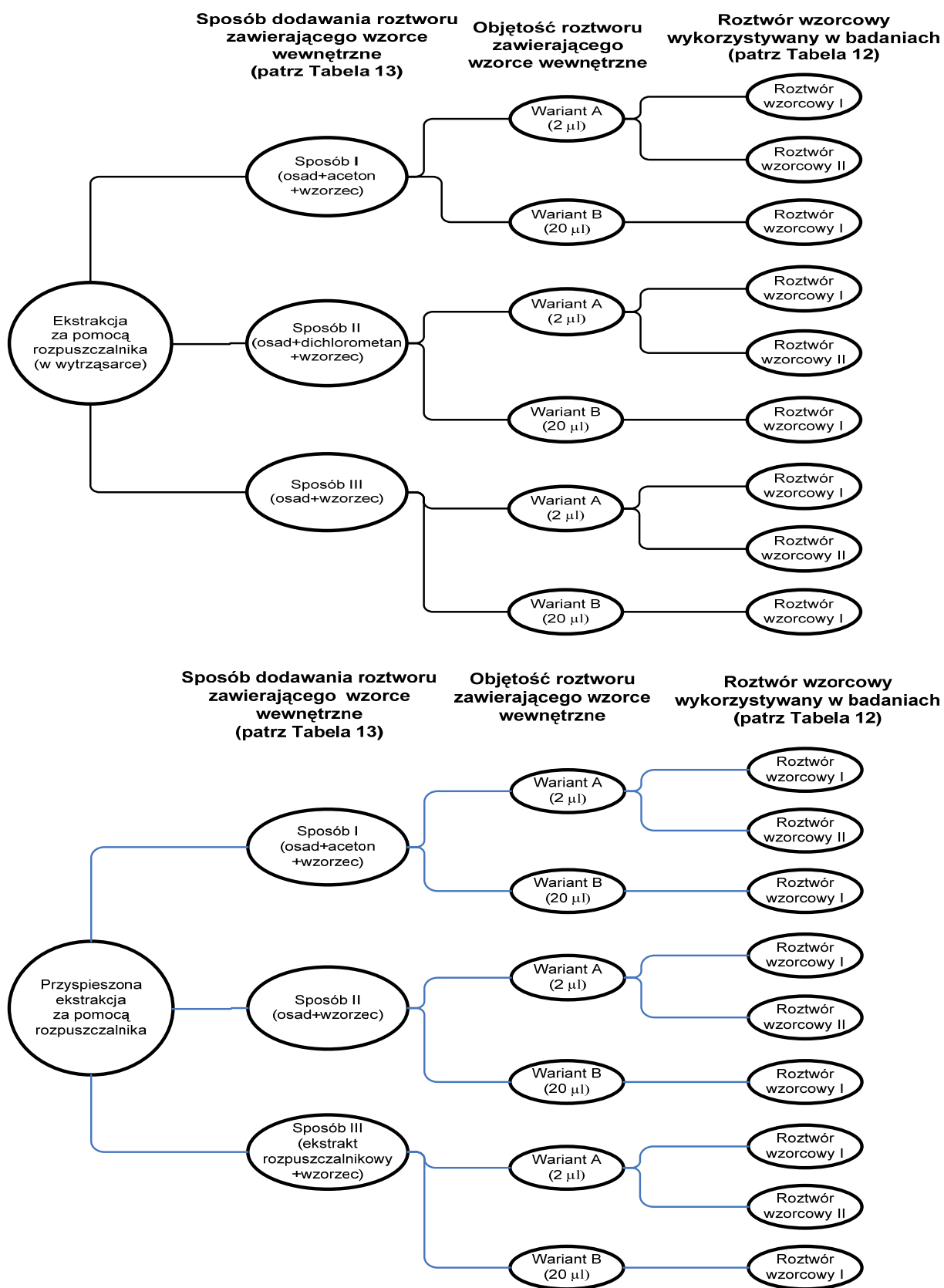
Próbki roztworu wzorcowego dodawano do osadu wykorzystując trzy warianty techniki przedstawione na **Rysunku 6** oraz opisane w **Tabeli 13** i dodając odpowiednio 2 μl (**wariant A**) i 20 μl (**wariant B**) roztworu wzorcowego zawierającego Naftalen-d8, Benzo(a)antracen-d12 oraz PCB209.

Schemat postępowania na etapie badania wpływu techniki dodawania roztworu wzorca do próbek osadów na wyniki oznaczania analitów z grupy WWA i PCB przedstawiono na Rysunku 3, natomiast na **Rysunkach 7 i 8** przedstawiono poszczególne etapy postępowania na etapie przygotowania odpowiednich próbek modelowych do analizy. Przebieg i warunki przyspieszonej ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika przedstawiono na **Rysunku 9**.

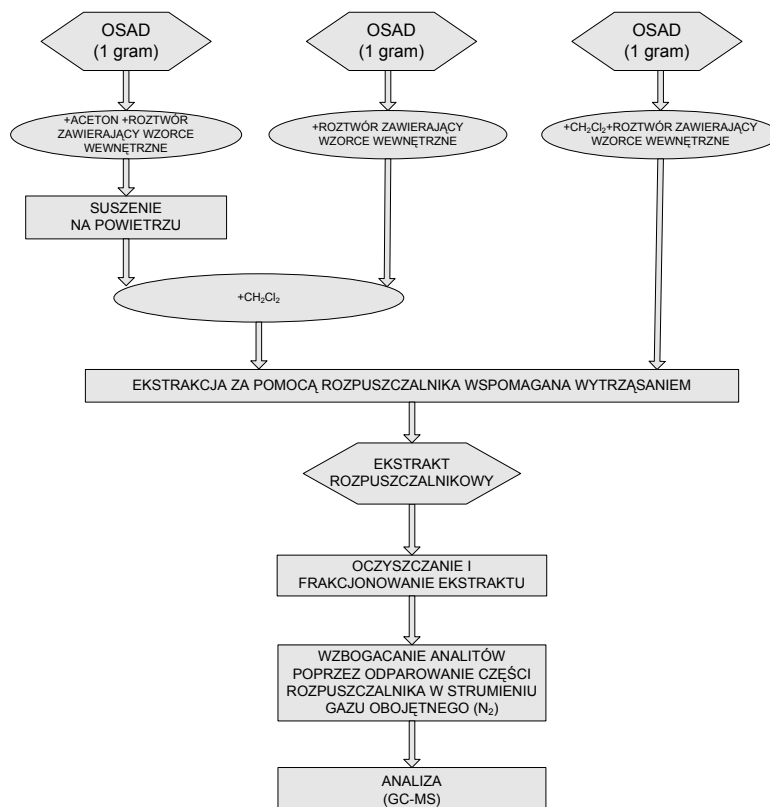
Uzyskane wyniki przedstawiono w postaci odzysku analitów, przy założeniu, że wartość certyfikowana określona dla danego analitu w materiale odniesienia stanowi 100%.

Tabela 13. Zestawienie informacji o sposobach dodawania roztworów zawierających substancje wzorcowe do próbek osadów zastosowanych w badaniach.

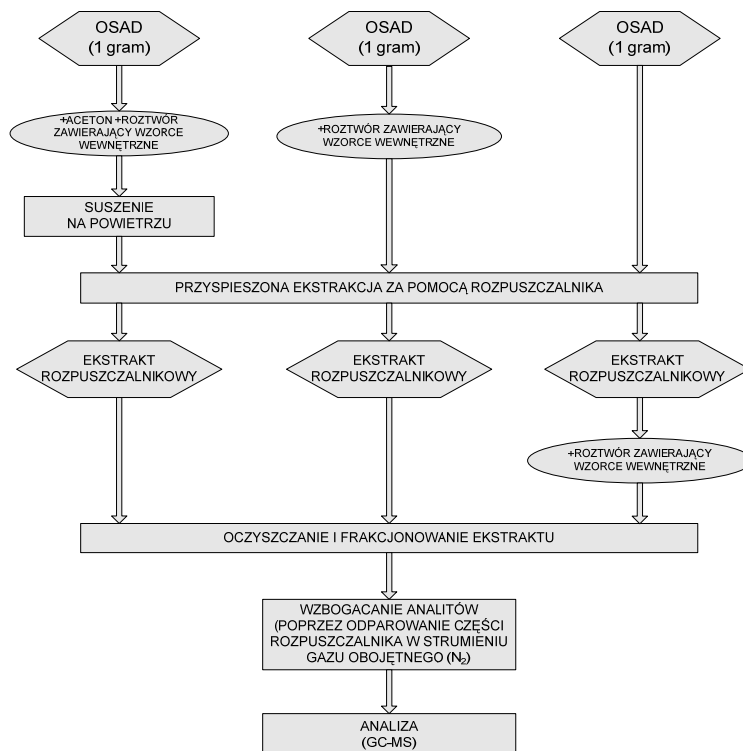
Technika ekstrakcji	Sposób dodawania roztworów substancji wzorcowych do próbki osadów	Dodatkowe wyjaśnienia
Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika w wytrząsarce	Sposób I: dodawanie roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do osadu zwilżonego acetonem i pozostawienie całości do wyschnięcia	Jest to symulacja procesu sorpcji analitów zachodzącego w środowisku wodnym
	Sposób II: dodawanie roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne bezpośrednio do rozpuszczalnika, za pomocą którego przeprowadzano proces ekstrakcji	Uniemożliwia określenie wydajności procesu ekstrakcji.
	Sposób III: dodawanie roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne bezpośrednio do suchego osadu	Wzorce wprowadzane są w sposób punktowy, co może wpływać na siłę ich wiązania z matrycą.
Przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika (ASE)	Sposób I: dodawanie roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do osadu zwilżonego acetonem i pozostawienie całości do wyschnięcia	Jest to symulacja procesu sorpcji analitów zachodzącego w środowisku wodnym
	Sposób II: dodawanie roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne bezpośrednio do suchego osadu	Wzorce wprowadzane są w sposób punktowy, co może wpływać na siłę ich wiązania z matrycą.
	Sposób III: dodawanie roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do otrzymanego ekstraktu rozpuszczalnikowego	Uniemożliwia określenie wydajności procesu ekstrakcji



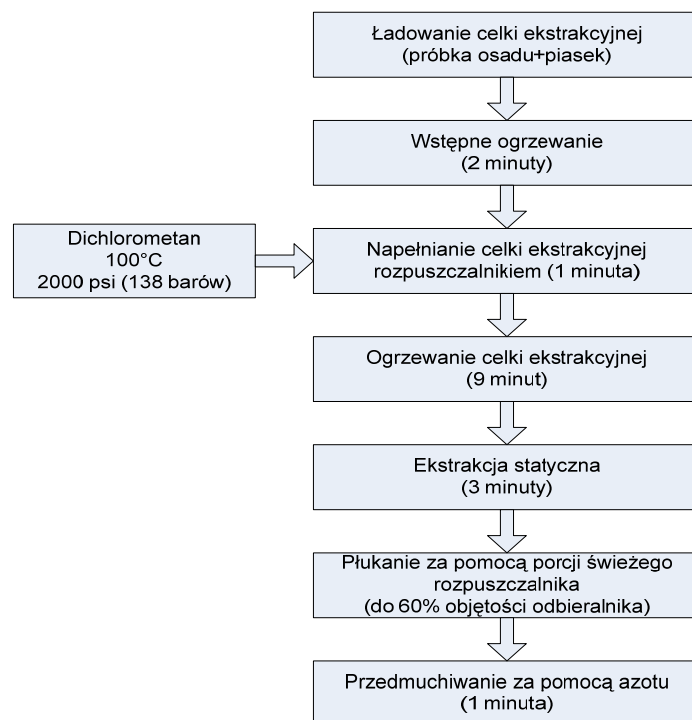
Rysunek 6. Schemat postępowania na etapie badań wpływu techniki dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do próbek osadów na wyniki oznaczania analitów z grupy WWA i PCB



Rysunek 7. Schemat procedury wykorzystywanej na etapie badania wpływu techniki dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do próbek osadów na wyniki oznaczania analitów z grupy WWA i PCB z wykorzystaniem ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika w wyrząsarce



Rysunek 8. Schemat procedury wykorzystywanej na etapie badania wpływu techniki dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do próbek osadów na wyniki oznaczania analitów z grupy WWA z wykorzystaniem przyspieszonej ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika.



Rysunek 9. Przebieg i warunki ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika analitów z grupy WWA z próbek osadów z wykorzystaniem techniki (ASE)

4.6.3 Kalibracja układu GC-MS

4.6.3.1 Wyznaczenie krzywych kalibracyjnych

Etap ten polegał na sporządzeniu krzywych wzorcowych dla poszczególnych analitów poprzez wyznaczenie zależności pomiędzy powierzchnią piku chromatograficznego dla danej substancji a jej stężeniem w próbce wprowadzonej do urządzenia kontrolno-pomiarowego. Kalibrację układu GC-MS przeprowadzono dla 16 analitów z grupy WWA oraz 7 analitów z grupy PCB, w celu poprawienia dokładności obliczeń stosując dodatek stałej ilości wzorca wewnętrznego, a także dla dwóch analitów znaczonych izotopowo oraz dekalchlorobifenylu (wykorzystywanych jako wzorzec wewnętrzny).

Dla wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych przygotowano roztwory wzorcowe w zakresie 1-3200 pg każdego z analitów w dozowanej próbce, natomiast dla polichlorowanych bifenyli w zakresie 0,48-2000 pg każdego z analitów w dozowanej próbce. Do kolumny chromatograficznej dozowano próbki roztworów wzorcowych o objętości 2 μ l. Na podstawie otrzymanych punktów pomiarowych (z których każdy był średnią z trzech równoległych oznaczeń), sporządzono krzywe kalibracyjne.

4.6.3.2 Obliczanie granicy wykrywalności i granicy oznaczalności stosowanego układu GC-MS

Granica oznaczalności (*LOD*) jest definiowana jako najmniejsza ilość lub stężenie substancji możliwe do wykrycia za pomocą danej metody lub techniki analitycznej z określonym prawdopodobieństwem. Z kolei granica oznaczalności (*LOQ*) jest to najmniejsza ilość lub stężenie substancji możliwe do ilościowego oznaczenia daną metodą lub techniką analityczną, z założoną dokładnością, precyzją i niepewnością.

Granice wykrywalności i oznaczalności stosowanej metody można obliczyć wykorzystując odchylenie standardowe zbioru sygnałów i kąt nachylenia krzywej kalibracyjnej. Na tej podstawie granicę wykrywalności oblicza się za pomocą zależności opisanej za pomocą następującego równania:

$$LOD = \frac{3,3 \cdot s}{b} \quad /9/$$

gdzie: *s* – odchylenie standardowe wyrazu wolnego uzyskanej dla związku krzywej kalibracyjnej,

b – współczynnik kierunkowy krzywej kalibracyjnej.

Wartość odchylenia standardowego (*s*) można w tym przypadku obliczyć w trojaki sposób:

- odchylenie standardowe wyników uzyskanych w trakcie analizy serii próbek ślepych;
- szcztkowe odchylenie standardowe krzywej kalibracyjnej (*s_x*, *s_y*);
- odchylenie standardowe wyrazu wolnego uzyskanej krzywej kalibracyjnej (*s_a*).

Przy obliczaniu granicy oznaczalności (*LOQ*) wykorzystuje się zależność, opisywaną za pomocą równania:

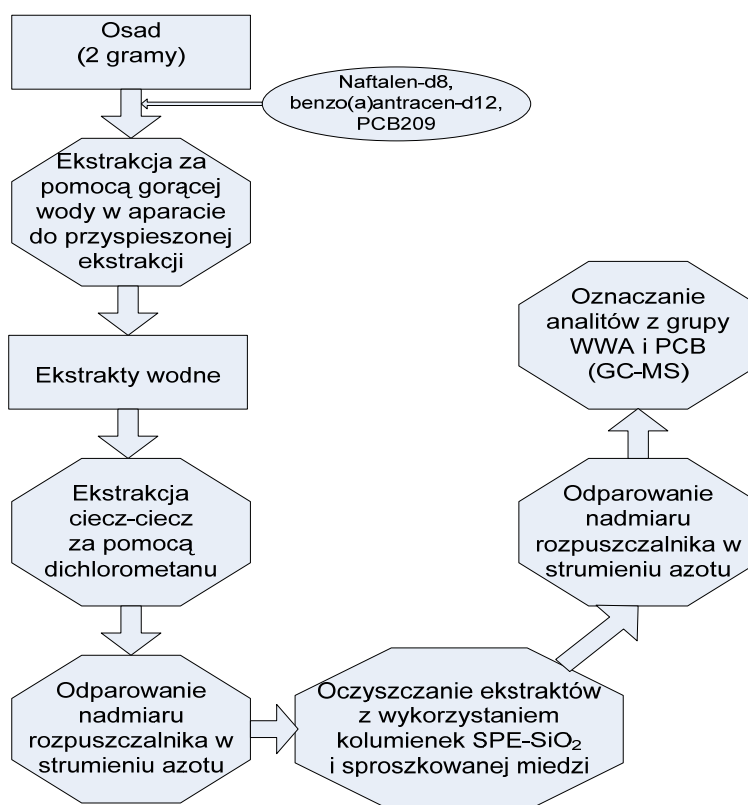
$$LOQ = 3 \cdot LOD. \quad /10/$$

4.6.4 Badanie możliwości wykorzystania wody w stanie podkrytycznym jako rozpuszczalnika w procesie izolacji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów.

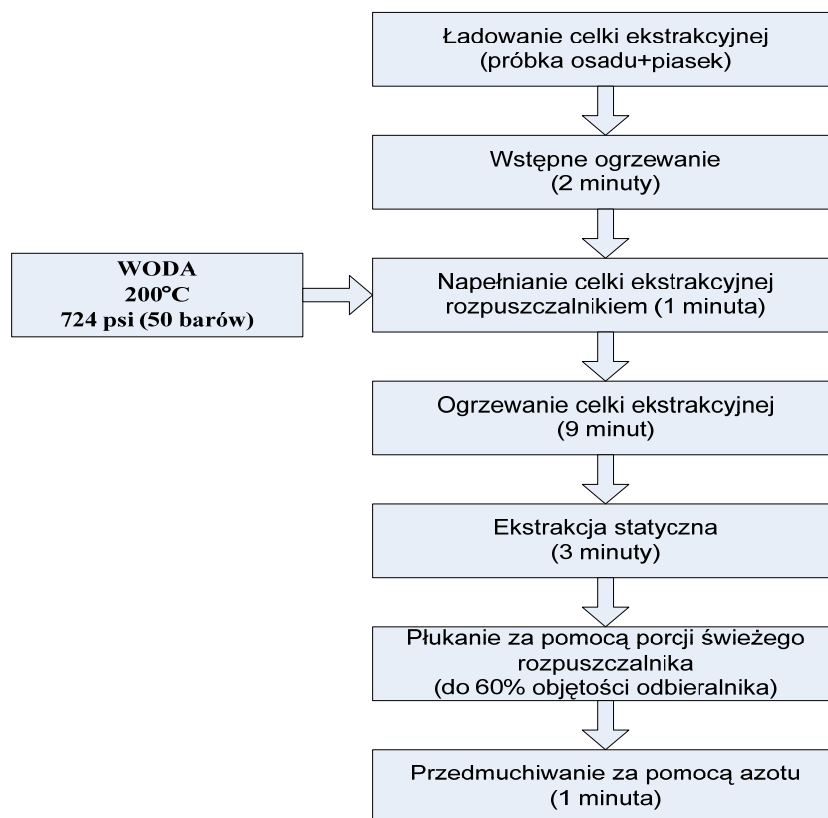
Znane procedury oznaczania analitów z grupy WWA i PCB w próbkach środowiskowych wymagają zazwyczaj stosowania dużych ilości toksycznych i drogich rozpuszczalników organicznych na etapie izolacji i wzbogacania analitów. Konieczne więc było podjęcie prac ukierunkowanych na ograniczenie zużycia rozpuszczalników i działania te stały się sprawą priorytetową w ostatnich latach. Zmodernizowane techniki to między innymi: ekstrakcja z pomocą rozpuszczalnika wspomaganą promieniowaniem mikrofalowym

(MASE), ekstrakcja za pomocą płynu w stanie nadkrytycznym (SFE), ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika przy podwyższonej temperaturze i ciśnieniu (PLE) oraz ekstrakcja za pomocą wody w stanie podkrytycznym (SWE) [27]. Wykorzystanie wody jako medium ekstrakcyjnego obojętnego dla środowiska było naturalną konsekwencją dążenia do ograniczenia wykorzystanie rozpuszczalników organicznych.

Zbadano możliwość wykorzystania wody jako rozpuszczalnika w procesie ekstrakcji analitów z grupy WWA i PCB z wykorzystaniem przyspieszonej ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika. Na **Rysunku 10** przedstawiono schemat toku postępowania w trakcie badania procesu ekstrakcji analitów z grupy WWA i PCB za pomocą wody w aparacie do przyspieszonej ekstrakcji, natomiast na **Rysunku 11** przedstawiono przebieg i warunki ekstrakcji.



Rysunek 10. Schemat procedury wykorzystywanej w badaniu możliwości wykorzystania gorącej wody jako rozpuszczalnika w procesie ekstrakcji analitów z grupy WWA i PCB z wykorzystaniem techniki ASE.



Rysunek 11. Przebieg i warunki ekstrakcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów za pomocą gorącej wody.

4.6.5 Badanie procesu desorpcji analitów z grupy WWA i PCB z osadów.

Istotnym obszarem współczesnej analityki środowiskowej są badania dotyczące specjacji fizycznej wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych i polichlorowanych bifenyli. Znajomość proporcji pomiędzy poszczególnymi formami specjacyjnymi tych analitów w środowisku jest niezbędna między innymi do:

- przewidywania przebiegu procesów transportu;
- szacowania ekotoksyczności i biodostępności;
- wyboru odpowiednich technik remediacji.

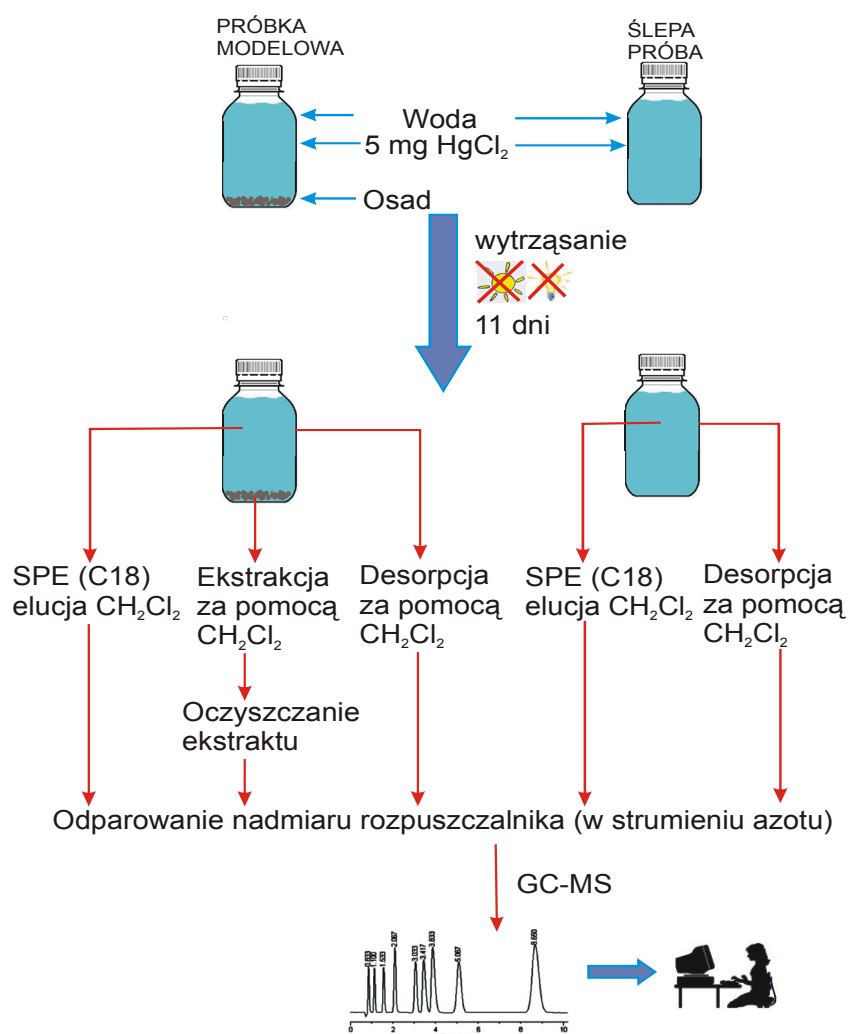
W związku z tym przeprowadzono badania modelowe w celu zbadania efektywności procesu desorpcji analitów z grupy WWA i PCB z osadów. Doświadczenie zostało przeprowadzone z wykorzystaniem modelowych układów woda-osad przygotowywanych i przechowywanych w szklanych butelkach.

W szklanych butelkach o objętości 1000 ml przygotowano 3 serie układów modelowych zawierające próbki osadów i wodę w różnych proporcjach oraz HgCl₂ (biocyd) w ilości około 5 mg. W każdej serii sporządzono 5 próbek i ślepą próbę (bez osadu). Próbki

przechowywano bez dostępu światła, w stałej temperaturze przez 11 dni i codziennie wytrząsano. Szczegóły dotyczące przygotowanych układów modelowych przedstawiono w **Tabeli 14**, natomiast schemat procedury wykorzystanej do badania procesu desorpcji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych z próbek osadów przedstawiono na **Rysunku 12**.

Tabela 14. Parametry układów modelowych osad-woda wykorzystywanych w badaniach procesów desorpcji analitów z grupy WWA i PCB.

	I seria	II seria	III seria
Masa fazy stałej [g]	3	3	3
Objętość wody [cm ³]	500	250	150



Rysunek 12. Schemat procedury wykorzystywanej na etapie badania procesu desorpcji analitów z grupy WWA i PCB w układzie woda-osad.

Po okresie 11 dni inkubacji przeprowadzono proces ekstrakcji analitów z fazy wodnej z osadu. Dla analitów zawartych w fazie wodnej przeprowadzono proces ekstrakcji z wykorzystaniem techniki SPE, natomiast anality zawarte w osadzie izolowane przy użyciu

techniki ekstrakcji za pomocą cieczy. Odpowiednie schematy toku postępowania przedstawiono na **Rysunkach 13-14**.

Aby uniknąć strat analitów związanych z sorpcją na ściankach przewodów służących do transportu próbki wodnej do kolumny SPE, zastosowano układ odwrócony, w którym kolumny sorpcyjne zanurzone były bezpośrednio w badanej próbce. Przedstawiono to na **Rysunku 15**. Dodatkowo ścianki pustej, wysuszonej butelki przepłukiwano za pomocą dichlorometanu (20 ml), a ekstrakt zbierano do fiolki. Następnie odparowano nadmiar rozpuszczalnika w strumieniu gazu obojętnego (azot):

- ekstrakt uzyskany z fazy wodnej oraz ekstrakt otrzymany w wyniku przemywania ścianek butelek - do objętości końcowej 300 µl,
- ekstrakt uzyskany z osadu - do objętości 1 ml.

Próbki otrzymanych ekstraktów poddano analizie chromatograficznej z wykorzystaniem układu GC-MS (parametry pracy – **Tabela 9**) w celu oznaczenia ilości poszczególnych analitów.

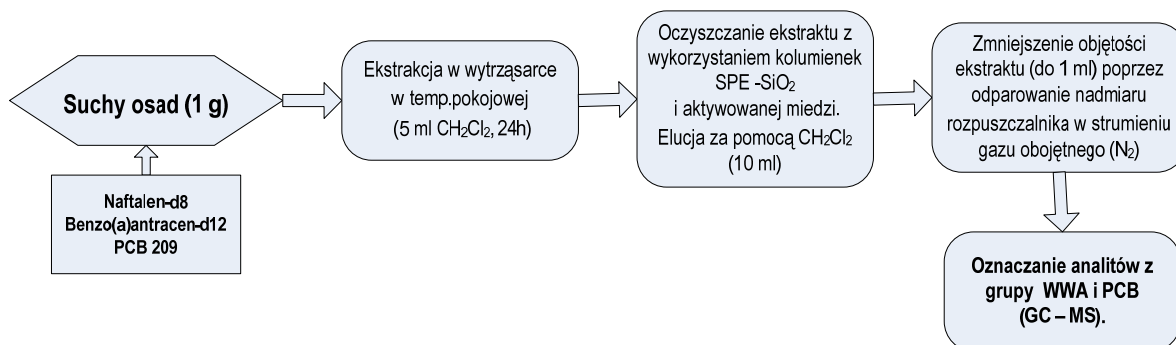
Na podstawie zawartości analitów w poszczególnych fazach układu modelowego obliczono wartości liczbowe współczynnika podziału w układzie osad/woda dla wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych i polichlorowanych bifenyli, korzystając z poniższego wzoru:

$$K_D = \frac{C_S}{C_W} \quad /11/$$

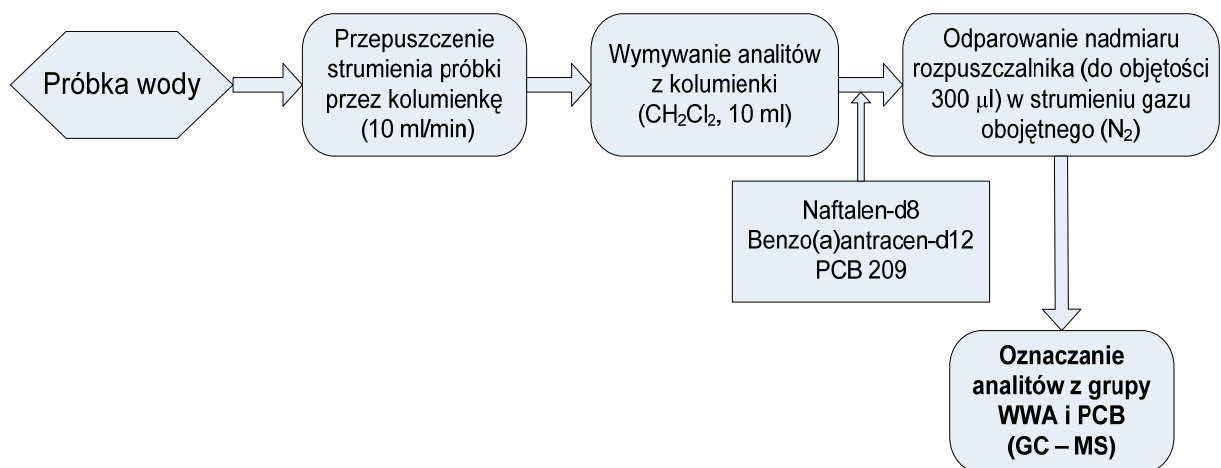
gdzie: K_D – współczynnik podziału analitu

C_S – stężenie/ilość analitów pozostałych w osadzie po procesie desorpcji [ng/g / ng],

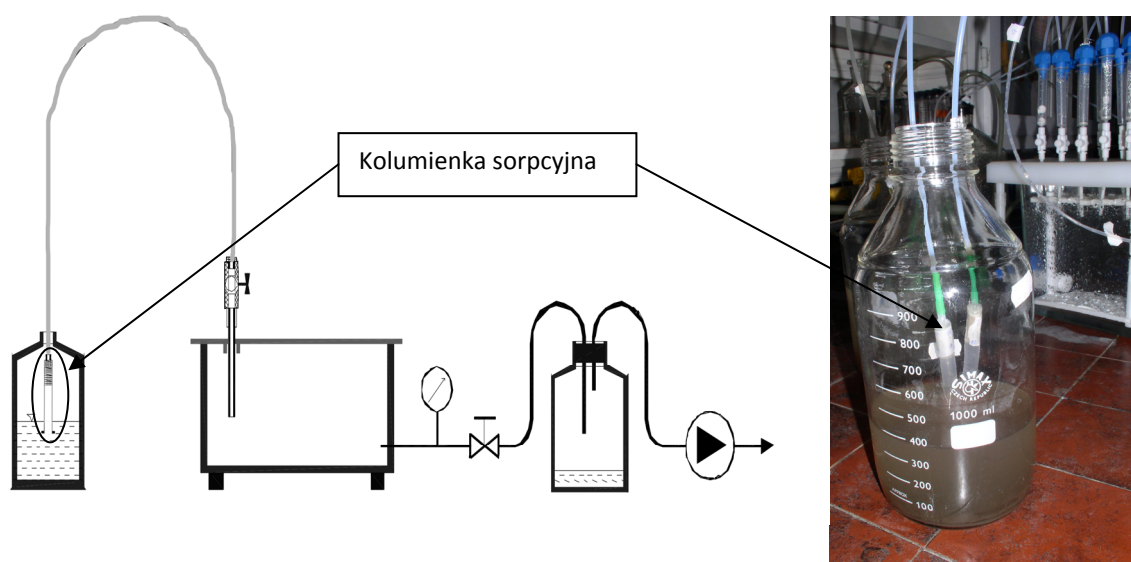
C_W – stężenie/ilość analitów zdesorbowanych z osadu w ekstrakcie [ng/g / ng].



Rysunek 13. Schemat etapu izolacji i wzbogacania analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów.



Rysunek 14. Schemat etapu izolacji i wzbogacania analitów z grupy WWA i PCB z próbek wody.



Rysunek 15. Schemat układu do SPE wykorzystywanego w trakcie badań modelowych procesu desorpcji analitów z grupy WWA i PCB w układzie osad/woda.

4.7. Wyniki i ich omówienie

4.7.1 Etap izolacji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów

Pomimo faktu, iż wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne i polichlorowane bifenyle oznaczane są w próbkach środowiskowych od wielu lat, wciąż przysparzają analitykom wielu problemów. Istotne jest więc zwrócenie uwagi na zjawiska i procesy mogące mieć wpływ na wyniki oznaczeń tych składników w próbkach charakteryzujących się złożonym i zmiennym składem matrycy.

Wykorzystanie techniki dodatku wzorca wewnętrznego, w celu określenia wydajności ekstrakcji oraz strat analitów na kolejnych etapach procedury analitycznej, jest od lat powszechnie stosowane w analityce. O ile w przypadku próbek charakteryzujących się jednorodną budową matrycy, takich jak na przykład sorbenty na bazie żywic, nie sprawia to problemów (jeśli oczywiście związki dodane w charakterze wzorca wewnętrznego mają kontakt z tymi samymi centrami aktywnymi żywicy, na których sorbowały się anality), o tyle wzorce wewnętrzne dodane do próbek środowiskowych, charakteryzujących się bardziej złożonym składem matrycy, takich jak gleby, osady czy ścieki, mogą niedokładnie reprezentować procesy zachodzące podczas ekstrakcji analitów. Jest to związane między innymi różnymi mechanizmami sorpcji, a następnie desorpcji podczas procesu ekstrakcji. W związku z tym podjęto badania mające na celu określenie czynników wpływających na wyniki oznaczeń analitów z grupy WWA i PCB w próbkach osadów.

4.7.1.1 Badanie wydajności procesu ekstrakcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów.

Celem przeprowadzonego doświadczenia było określenie wydajności procesu ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika (w wytrząsarce) oraz określenie czy ma ona wpływ na wyniki oznaczeń analitów z grupy WWA i PCB w próbkach osadów (przy jednokrotnym i dziesięciokrotnym przeprowadzeniu procesu ekstrakcji z tej samej próbki). Wyniki oznaczeń zostały przedstawione w **Tabeli 15**. Obliczenia zawartości analitów prowadzono zgodnie z równaniem /6/.

W celu sprawdzenia, czy otrzymane wartości średnie nie różnią się w sposób statystycznie istotny zastosowano test T – Studenta.

Biorąc pod uwagę fakt, że wartość liczbową parametru $t_{obliczone}$ była mniejsza niż wartość liczbową parametru $t_{krytyczne}$ (dla poziomu ufności $\alpha = 0.05$ i $n = 4$), stwierdzono, że oznaczone średnie zawartości analitów z grupy WWA i PCB nie różnią się między sobą w sposób istotny statystycznie. Jedynie w przypadku naftalenu i antracenu wartości liczbowe parametru $t_{obliczone}$ były nieznacznie wyższe niż $t_{krytyczne}$. Oznacza to, że w przypadku ekstrakcji jedno- i dziesięciokrotnej składniki dodane do próbki w charakterze wzorca wewnętrznego ulegały ekstrakcji w porównywalnym stopniu jak anality, czyli prawdopodobnie były w podobny sposób związane ze składnikami matrycy próbki osadu.

Dodatkowo zostały wykonane obliczenia zawartości analitów w próbce na podstawie równania /7/. Uzyskane wyniki zostały przedstawione w **Tabeli 16**.

W przypadku jednokrotnego przeprowadzenia procesu ekstrakcji odzysk poszczególnych analitów był rzędu od 18 do 31 %, natomiast dla procesu dziesięciokrotnego od 30 do 67% dla związków z grupy WWA oraz odpowiednio 37-85% i 47-112% dla analitów z grupy PCB. Dla analitów z grupy WWA kolejne cykle procesu ekstrakcji pozwalały zwiększyć jej wydajność dwukrotnie zarówno dla oznaczanych związków jak i analitów deuterowanych, natomiast dla analitów z grupy PCB wydajność ekstrakcji wzrastała jedynie o około 20% dla oznaczanych związków oraz o 30% dla dekachlorobifenylu (PCB 209), dodawanego do osadu w charakterze wzorca wewnętrznego. Potwierdza to założenie o podobnej sile wiązania analitów i substancji dodawanych w charakterze wzorców wewnętrznych z matrycą próbki, co jest jednym z warunków uzyskania prawidłowego wyniku analizy ilościowej.

Różnice w wydajności ekstrakcji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych oraz polichlorowanych bifenyli można wyjaśnić biorąc pod uwagę źródła pochodzenia tych związków w osadach.

Według danych literaturowych większa część (nawet do 80%) wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych dostaje się do wód powierzchniowych, a następnie do osadów dennych w wyniku depozycji atmosferycznej. Są to związki pochodzące głównie z procesów spalania, związane z cząstkami stałymi zbudowanymi z sadzy bądź innych odmian węgla. Cząstki te mają strukturę porowatą, co sprawia, że po osadzeniu na powierzchni wód będą się gromadziły na powierzchni skupisk materii organicznej, będącej składnikiem zawiesiny.

Tabela 15. Średnie zawartości analitów z grupy WWA i PCB oznaczone w próbkach ekstraktów rozpuszczalnikowych w wyniku przeprowadzenia jedno- i dziesięciokrotnej ekstrakcji próbek osadu wraz z odpowiednimi wartościami parametru t testu T – Studenta

Związek	Wartość certyfikowana [ng/g]	ekstrakcja jednokrotna		ekstrakcja dziesięciokrotna		$t_{obliczone}$ $t_{krytyczne}$ $\alpha=0.05,$ $n=3, f=4$
		stężenie [ng/g]	odchylenie standardowe [ng/g]	stężenie [ng/g]	odchylenie standardowe [ng/g]	
Naftalen		180	16	195	26,5	2,917
Acenaftylen		17,9	2,2	16,7	21,9	2,301
Acenaften		68,4	5,7	53	70	0,070
Fluoren		85,9	2,3	94	123	1,063
Fenantren	982	700	250	286	1389,9	3,816
Antracen	393	329	39	118	426,9	2,322
Fluoranten	1995	2680	360	1840	2406,2	1,181
Piren	1677	2190	340	1500	1967,5	0,624
Benzo(a)antracen	998	1086	70	1100	1128,5	0,462
Chrysen	831	885	62	468	923,1	0,506
Benzo(b)fluoranten	829	1090	140	814	1066,3	0,301
Benzo(k)fluoranten	423	484	45	349	457,4	0,777
Benzo(a)piren	742	607	84	459	601,2	0,095
Indeno(1,2,3-cd)piren	585	462	60	310	406,3	0,684
Dibenzo(a,h)antracen	89	97	14	75	97,8	0,020
Benzo(g,h,i)perylene	546	517	91	382	501,3	0,178
PCB 28	23,3	27,0	1,3	26,5	4,3	0,204
PCB 52	29,2	25,6	2,6	22,2	5,2	1,011
PCB 101	28,1	23,0	3,0	18,4	3,7	1,673
PCB 118	12,2	6,22	0,76	5,68	0,46	1,060
PCB 153	61,3	63,2	7,6	56,0	8,6	1,090
PCB 138	70,2	189	23	176	30	0,576
PCB 180	63,6	43,8	7,5	40,3	6,8	0,603

2,776

Uzasadniają to badania [68] przeprowadzone z wykorzystaniem metod spektroskopowych, podczas których udowodniono, że największe ilości związków z grupy WWA znajdują się na powierzchni rejonów zbudowanych z węgla elementarnego bądź pochodnych drewna. Pomimo, że stanowią one niewielką (do 5%) część masy osadu, znajduje się w nich ponad 60% całkowitej zawartości związków z grupy WWA.

Tabela 16. Średnie zawartości analitów z grupy WWA oznaczone w próbkach ekstraktów rozpuszczalnikowych otrzymanych w wyniku przeprowadzenia jedno- i dziesięciokrotnej ekstrakcji próbek osadu (bez uwzględnienia odzysku analitów).

Związek	Ekstrakcja jednokrotna			Ekstrakcja dziesięciokrotna		
	stężenie [ng/g]	Odchylenie standardowe [ng/g]	Odzysk	stężenie [ng/g]	Odchylenie standardowe [ng/g]	Odzysk
Naftalen	52,8	9,9	-	85,2	24	-
Naftalen-d8	29,6	4,8	30%	39,0	5,2	39%
Acenaftylen	4,1	0,36	-	10,0	1,6	-
Acenaften	15,9	1,6	-	33,2	18	-
Fluoren	19,8	2,5	-	59,4	37	-
Fenantren	162,8	25	17%	653,5	53	67%
Antracen	76,8	5,2	20%	201,1	22	51%
Fluoranten	613,6	20	31%	1095,1	180	55%
Piren	500,4	4,7	30%	867,9	59	52%
Benzo(a)antracen	250,9	57	25%	508,8	75	51%
Chrysen	204,3	25	25%	416,2	69	50%
Benzo(a)antracen-d12	23,2	4,3	23%	46,1	33	46%
Benzo(b)fluoranten	251,0	8,2	30%	485,1	83	59%
Benzo(k)fluoranten	111,2	7,4	26%	208,1	36	49%
Benzo(a)piren	139,4	3,1	19%	275,0	61	37%
Indeno(1,2,3-cd)piren	106,7	6,5	18%	177,5	11	30%
Dibenzo(a,h)antracen	22,3	0,49	25%	42,4	6,8	48%
Benzo(g,h,i)perylene	119,5	9,6	22%	222,2	18	41%
PCB 28	19,7	1,71	85%	26,1	2,91	112%
PCB 52	18,7	2,47	64%	21,6	0,85	74%
PCB 101	16,9	3,46	60%	18,0	1,22	64%
PCB 118	4,5	0,81	37%	5,7	1,06	47%
PCB 153	46,4	9,67	76%	55,3	6,91	90%
PCB 138	138,5	29,46	197%*	173,2	19,48	247%*
PCB 180	32,3	8,68	51%	39,6	4,24	62%
PCB 209	21,2	2,01	71%	30,6	7,25	102%

* związek PCB 138 ma zbliżony czas elucji do związku PCB 160 (koelucja) [170]

Potwierdzeniem pirogenicznego pochodzenia analitów z grupy WWA w badanym materiale odniesienia może być stosunek zawartości fenantrenu do antracenu (który wynosi 2,5) oraz stosunek zawartości fluorantenu do pirenu (wynoszący 1,2). Wykazano, że jeśli stosunek stężeń fenantrenu i antracenu przyjmuje wartości mniejsze niż 10 a stosunek stężeń fluorantenu i piranu większe od 1,0 to w sposób jednoznaczny można mówić o pirogenicznym pochodzenie węglowodorów aromatycznych w badanej próbce [171]. Innym

tego typu wskaźnikiem jest stosunek zawartości fluorantenu do sumy zawartości fluorantenu i piranu, który w badanym materiale wynosi 0,3 (wartość poniżej 0,5 sygnalizuje pirogeniczne pochodzenie analitów), oraz stosunek zawartości antracenu do sumy zawartości antracenu i fenantrenu wynoszący 0,54 (wartość powyżej 0,1 wskazuje na procesy spalania jako główne źródło analitów) [172].

Deuterowane pochodne analitów dodawane jako wzorce wewnętrzne do próbek osadów będą w pierwszej kolejności podlegały sorpcji na powierzchni cząsteczek osadów, ze szczególnym uwzględnieniem materii organicznej oraz różnych typów węgla. Wyjaśnia to podobną efektywność ekstrakcji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych oraz ich deuterowanych pochodnych.

Nieco inaczej wygląda sytuacja w przypadku polichlorowanych bifenyli. Dostają się one do środowiska wodnego głównie w postaci rozpuszczonej w fazie organicznej (typu olejowego) wraz ze ściekami i wodami spływnymi. Faza organiczna będzie osiadała na powierzchni cząstek stałych i w przypadku zetknięcia się z materią organiczną możliwe będzie przemieszczanie się polichlorowanych bifenyli (na drodze dyfuzji) w głąb materii organicznej. Zjawisko to jest związane z tak zwanym „starzeniem” osadów i prowadzi do zmniejszenia podatności analitów na ekstrakcję oraz spadku ich biodostępności [41, 71-78]. Ponieważ „starzenie” osadu jest procesem długotrwałym, dekachlorobifenyl dodawany do próbek w charakterze wzorca wewnętrznego, nie podlega temu zjawisku. W związku z tym wydajność ekstrakcji tego związku jest wyższa od wydajności ekstrakcji oznaczanych polichlorowanych bifenyli. Może to powodować zaniżanie wyników oznaczeń analitów z grupy PCB. Rozwiązaniem tego problemu mogłoby być odstawienie osadu po etapie dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne na określony czas, umożliwiającą zmianę charakteru wiązania PCB 209 na rodzaj wiązania analogiczny do wiązania oznaczanych związków.

Należy podkreślić fakt, że pomimo niewielkiej wydajności jednostopniowej ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika wspomaganą wytrząsaniem, otrzymywane wyniki oznaczeń są zgodne z wartościami certyfikowanymi (**Tabela 15**), co zostało sprawdzone z wykorzystaniem testu t-Studenta. Zastosowanie techniki wzorca wewnętrznego, pomimo niewielkiej wydajności ekstrakcji analitów, umożliwia uzyskanie dokładnych wyników charakteryzujących się precyzją akceptowalną dla analizy śladowej, oczywiście przy zachowaniu warunku jednakowej siły wiązania analitów i substancji dodawanych w

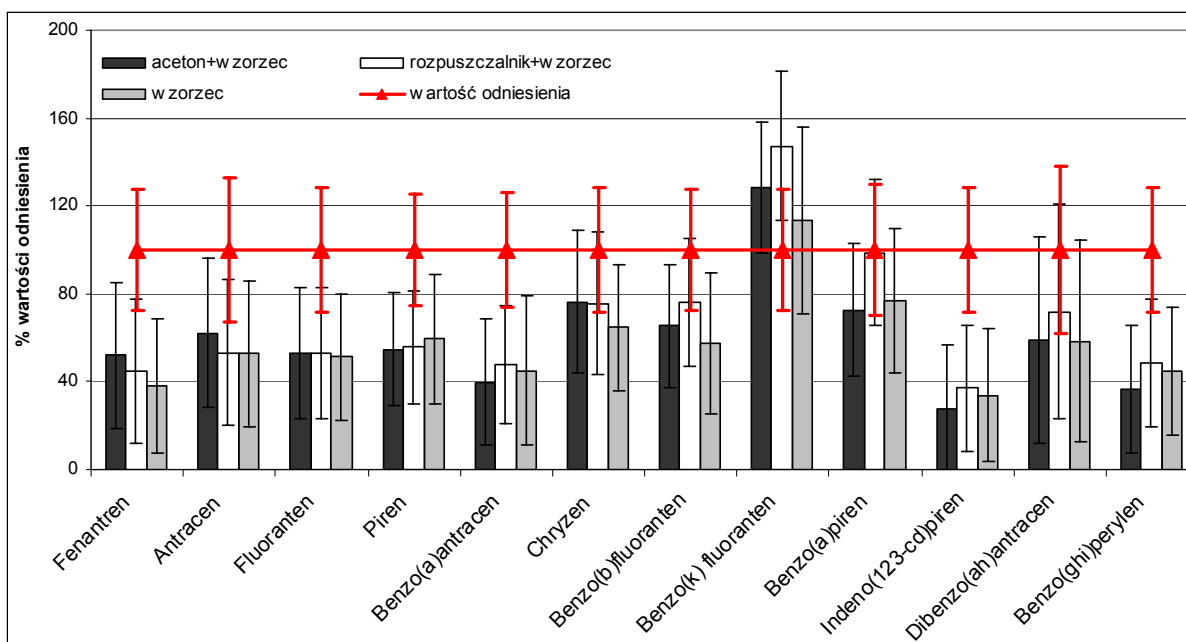
charakterze wzorców wewnętrznych do składników cząstek osadów. Technika ta posiada ponadto szereg zalet, wśród których należy wymienić:

- prostotę wykonania i niskie wymagania sprzętowe,
- pominięcie etapu suszenia próbek osadów,
- niewielkie zużycie rozpuszczalników (około 3-5 mililitrów), co jest zgodne z zasadami „zielonej chemii”,
- oraz (co wynika z powyższych) stosunkowo niski koszt wykonania oznaczenia.

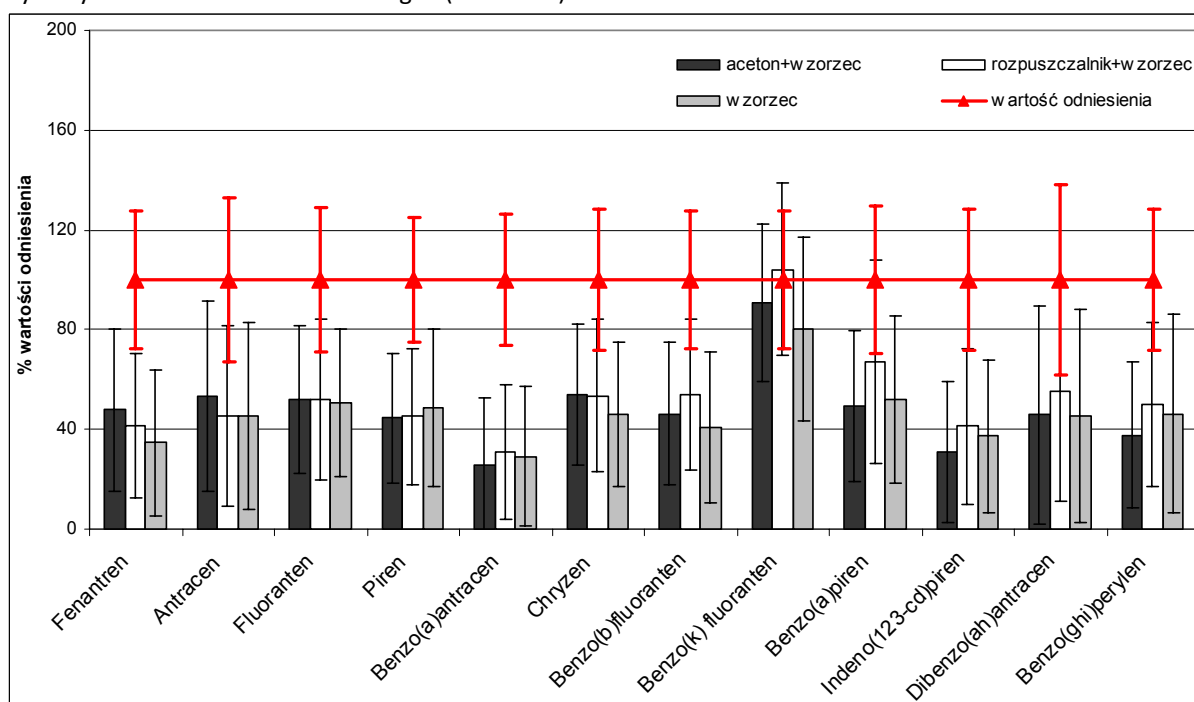
4.7.1.2 Badanie wpływu sposobu dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do próbek osadów na wyniki oznaczeń analitów z grupy WWA i PCB.

Celem kolejnego etapu badań związanych z oznaczaniem związków z grupy WWA i PCB w próbkach osadów było określenie wpływu sposobu dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do próbek osadów na wyniki oznaczeń analitów.

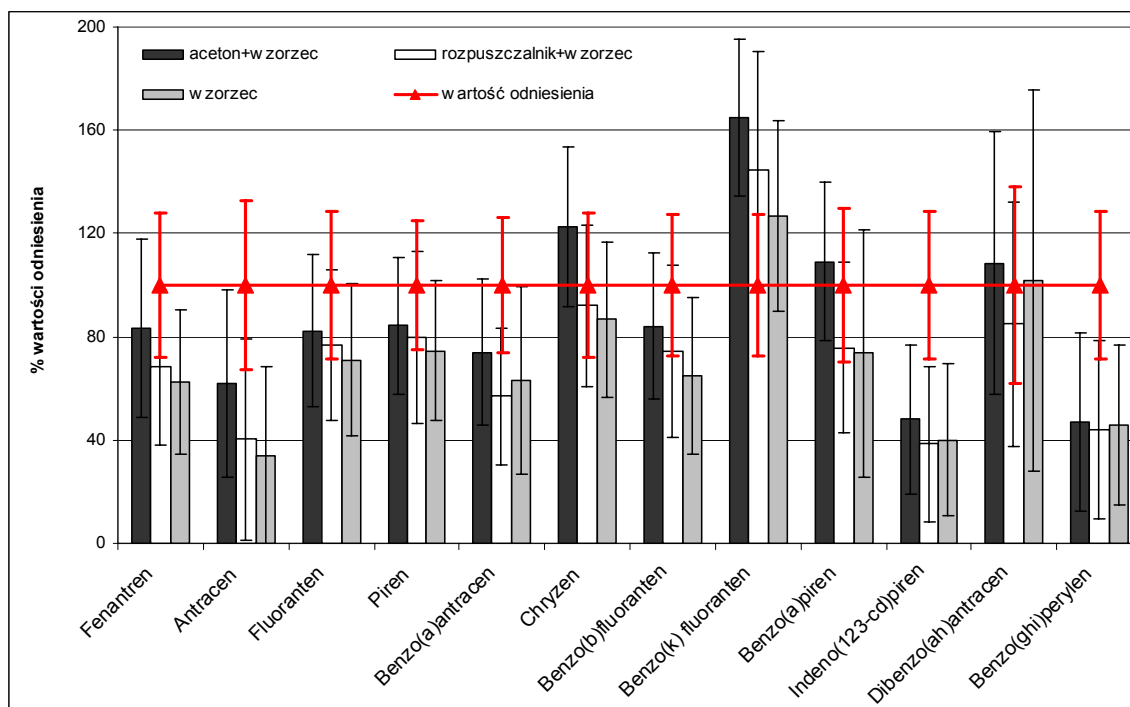
Przy przeprowadzeniu ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika w temperaturze pokojowej wyniki oznaczeń zawartości analitów z grupy WWA w próbkach osadów uzyskane w wyniku zastosowania różnych sposobów dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do badanych próbek nie różnią się między sobą w sposób statystycznie istotny (**Rysunki 16-18**). Wskazuje to na fakt, że w każdym przypadku odzysk wzorców wewnętrznych podczas procesu ekstrakcji zachodzi w podobnym stopniu, niezależnie od sposobu jego dodawania. Można natomiast zaobserwować, że wyniki bliższe wartości certyfikowanej otrzymano w przypadku dodawania próbki roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne o objętości 20 μ l (wariant B), natomiast wyniki otrzymane dla wariantu A (dodawanie próbki roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne o objętości 2 μ l) są niższe (**Rysunki 19-21**).



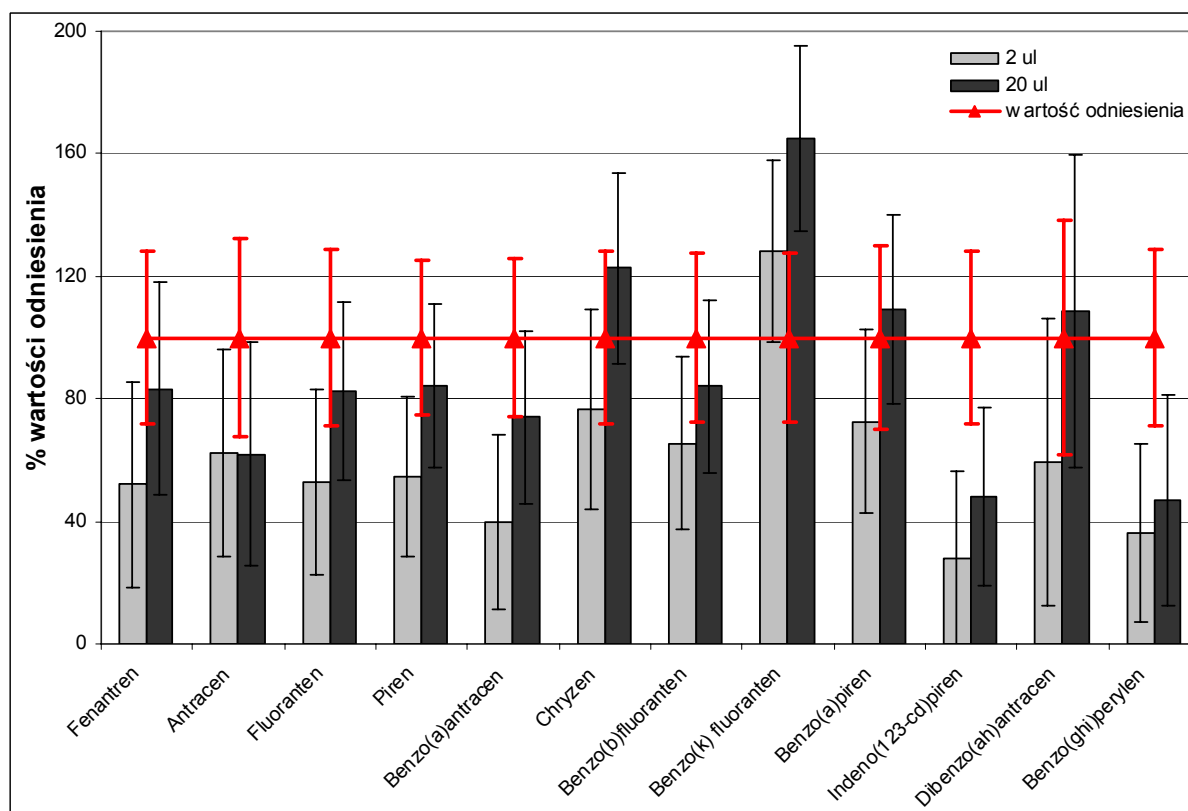
Rysunek 16. Porównanie wyników oznaczeń analitów z grupy WWA w próbkach osadów uzyskanych w wyniku zastosowania 3 różnych sposobów dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne. Wariant A (dodatek próbki roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne o objętości 2 μ l), badania przeprowadzono z wykorzystaniem roztworu wzorcowego I (Tabela 12)



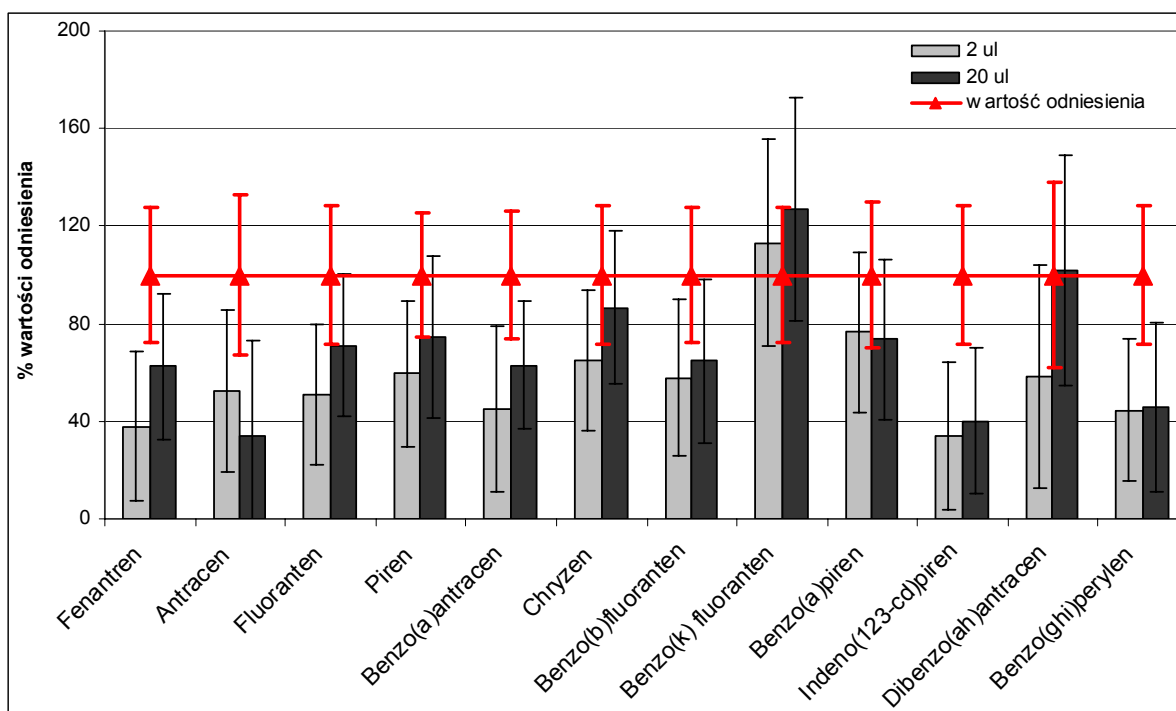
Rysunek 17. Porównanie wyników oznaczeń analitów z grupy WWA w próbkach osadów uzyskane w wyniku zastosowania 3 różnych sposobów dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne. Wariant A (dodatek próbki roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne o objętości 2 μ l), badania przeprowadzono z wykorzystaniem roztworu wzorcowego II (Tabela 12)



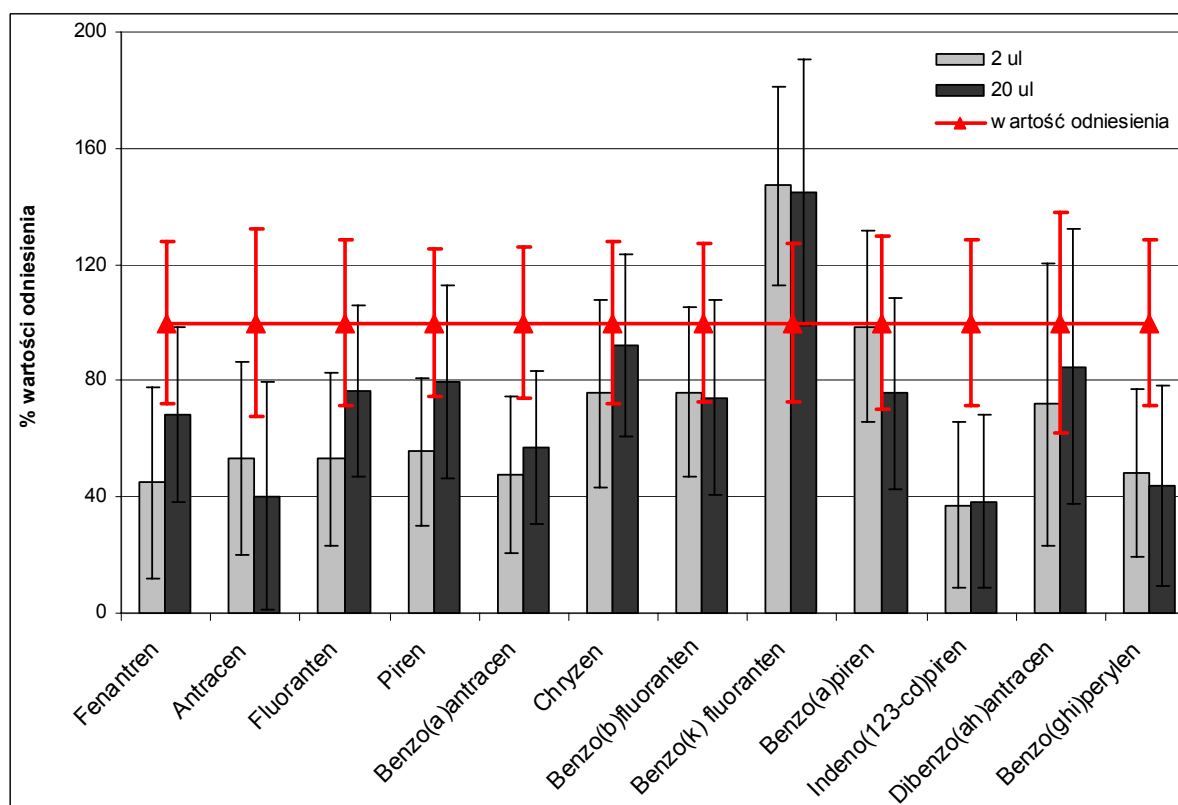
Rysunek 18. Porównanie wyników oznaczeń analitów z grupy WWA w próbkach osadów uzyskane w wyniku zastosowania 3 różnych sposobów dodatku roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne. Wariant B(dodatek roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne o objętości 20 μ l), badania przeprowadzono z wykorzystaniem roztworu wzorcowego I (Tabela 12)



Rysunek 19. Porównanie wyników oznaczeń analitów z grupy WWA w próbkach osadów uzyskanych w wyniku zastosowania I sposobu dodatku roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne (osad+acetone+wzorec). Badania przeprowadzono z wykorzystaniem roztworu wzorcowego I (Tabela 12)



Rysunek 20. Porównanie wyników oznaczeń analitów z grupy WWA w próbkach osadów uzyskanych w wyniku zastosowania II sposobu dodatku roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne (osad+wzorzec). Badania przeprowadzono z wykorzystaniem roztworu wzorcowego I (Tabela 12)

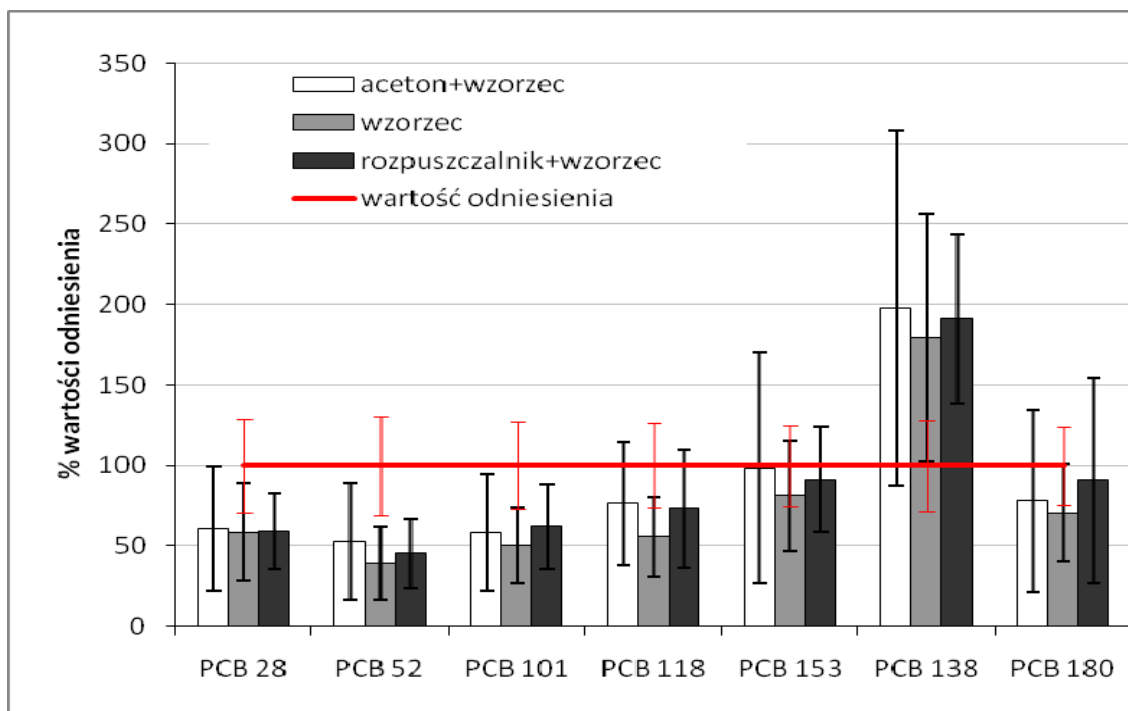


Rysunek 21. Porównanie wyników oznaczeń analitów z grupy WWA w próbkach osadów uzyskanych w wyniku zastosowania III sposobu dodatku roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne (osad+dichlorometan+wzorzec). Badania przeprowadzono z wykorzystaniem roztworu wzorcowego I (Tabela 12)

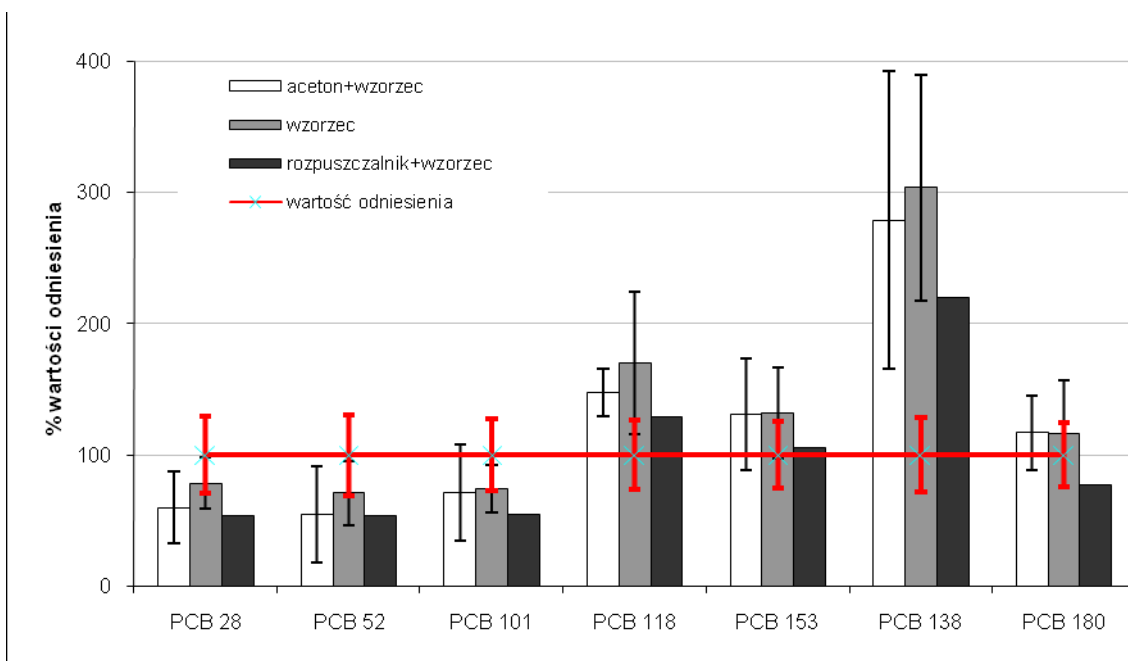
Analogiczne doświadczenie przeprowadzono dla analitów z grupy PCB. Ze względu na niską czułość spektrometru mas w stosunku do PCB 209, wykorzystywanego jak wzorzec wewnętrzny, obliczenia wykonano wykorzystując tylko roztwór wzorcowy I (patrz **Tabela 12**). Chromatogramy otrzymane w wyniku analizy próbek roztworu wzorcowego II nie zawierały pików odpowiadających obecności PCB 209.

Uzyskane wnioski są zbieżne z wnioskami otrzymanymi dla wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych – wyniki otrzymane przy zastosowaniu różnych sposobów dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do badanych próbek nie różnią się między sobą w sposób statystycznie istotny (**Rysunki 22 i 23**), a wyniki bliższe wartości certyfikowanej uzyskano przy dodawaniu roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne o objętości 20 μl (wariant B). Wyniki uzyskiwane dla wariantu A (dodawanie próbek roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne o objętości 2 μl) są generalnie niższe (**Rysunki 24-26**). Zawyżone wyniki dla PCB 138 są związane z faktem, iż w warunkach prowadzenia analizy chromatograficznej występowała koelucja z PCB 160 [170].

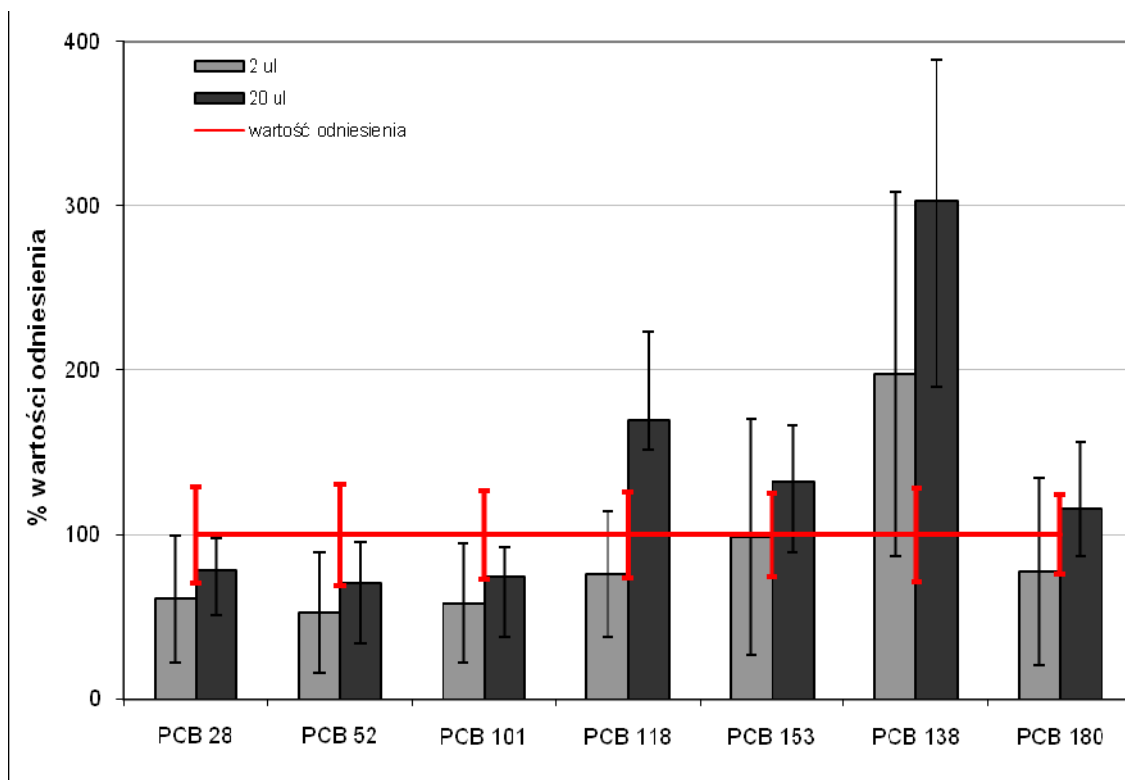
Na podstawie uzyskanych wyników można stwierdzić, że w przypadku ekstrakcji analitów w łagodnych warunkach sposób dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do próbek nie ma wpływu na wyniki oznaczeń analitów z grupy WWA i PCB w próbkach osadów, natomiast istotna jest ilość dodawanego roztworu. Ponadto wyniki najbliższe wartości certyfikowanej otrzymano w przypadku dodawania próbek roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne o objętości 20 μl (wariant B) do osadu zwilżonego acetonem (sposób I), co pozwala wysnuć wniosek, że sposób ten jest najlepszym spośród przebadanych (wydaje się, że w sposób najbliższy rzeczywistości odwzorowywany jest proces wiązania analitów do matrycy osadów zachodzący w środowisku wodnym). Posiada on dodatkową zaletę – otóż w przypadku dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do próbki zwilżonej acetonem nie jest konieczne jej wcześniej suszenie czy też poddawanie liofilizacji.



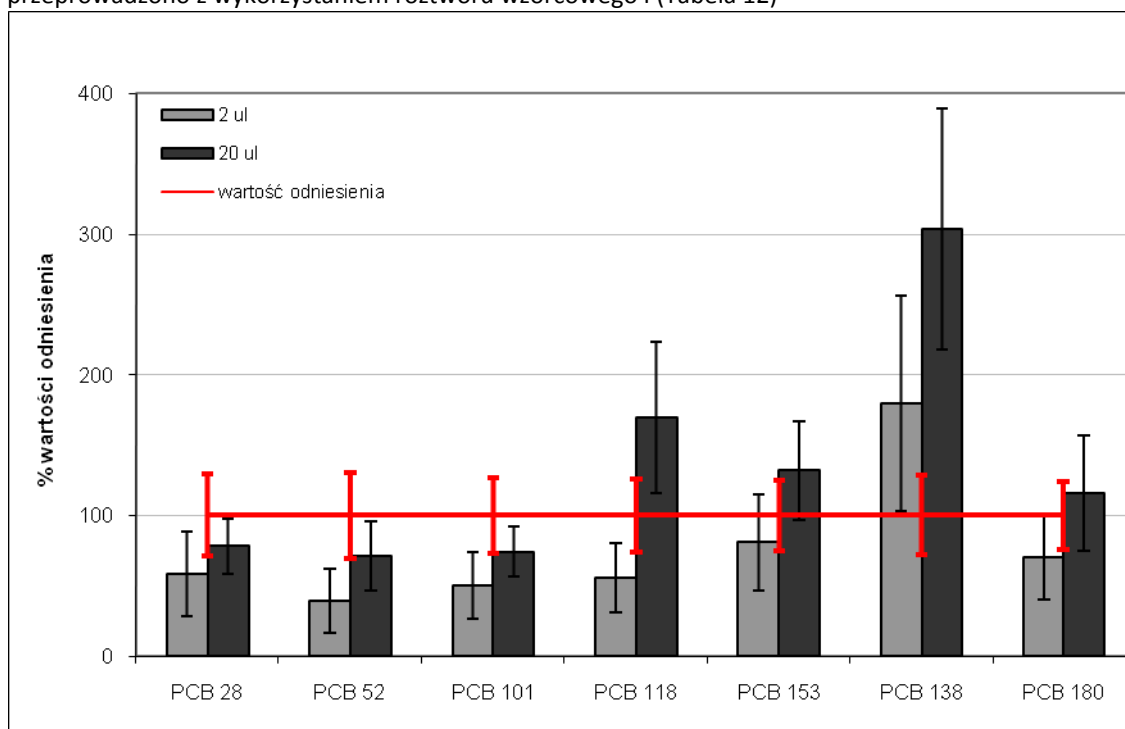
Rysunek 22. Porównanie wyników oznaczeń analitów z grupy PCB w próbkach osadów dla 3 sposobów dodatku roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne. Wariant A (dodatek próbki roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne o objętości 2 μ l), Badania przeprowadzono z wykorzystaniem roztworu wzorcowego I (Tabela 12)



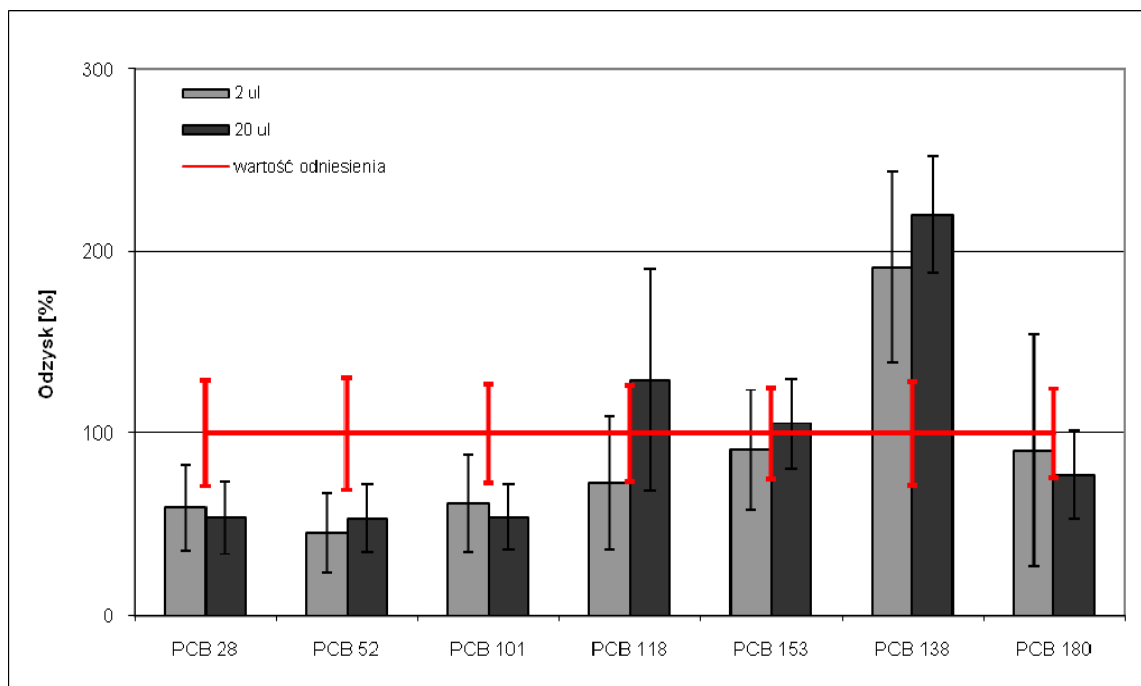
Rysunek 23. Porównanie wyników oznaczeń analitów z grupy PCB w próbkach osadów uzyskane w wyniku zastosowania 3 sposobów dodatku roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne. Wariant B (dodatek próbki roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne o objętości 20 μ l), badania przeprowadzono z wykorzystaniem roztworu wzorcowego I (Tabela 12)



Rysunek 24. Porównanie wyników oznaczeń analitów z grupy PCB w próbkach osadów uzyskanych w wyniku zastosowania I sposobu dodatku roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne (osad+aceton+wzorzec). Badania przeprowadzono z wykorzystaniem roztworu wzorcowego I (Tabela 12)

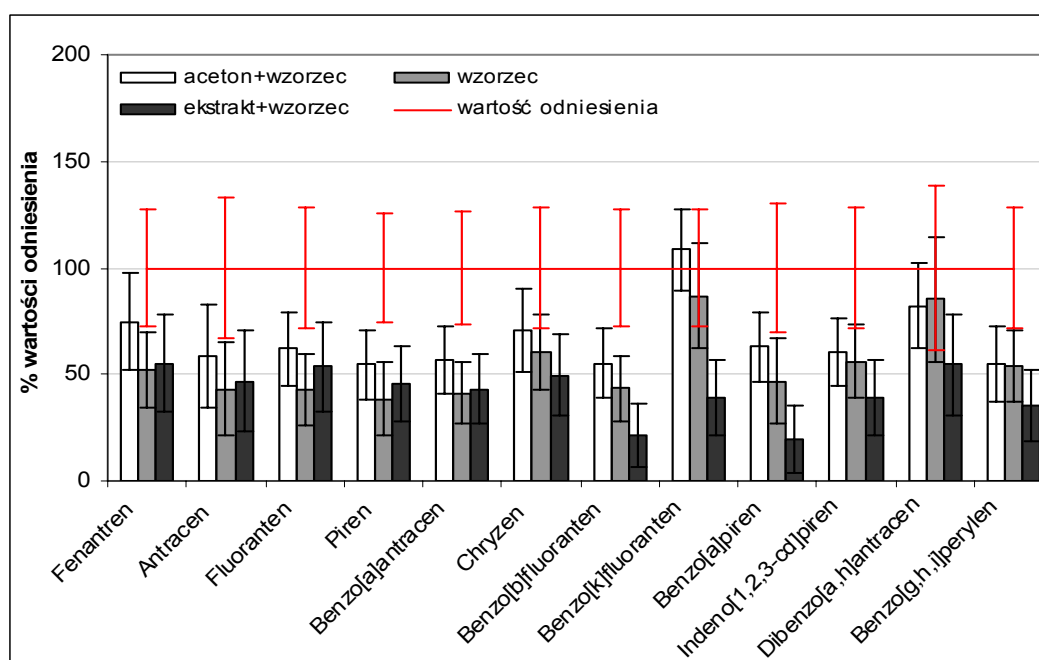


Rysunek 25. Porównanie wyników oznaczeń analitów z grupy PCB w próbkach osadów uzyskanych w wyniku zastosowania II sposobu dodatku roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne (osad+wzorzec). Badania przeprowadzono z wykorzystaniem roztworu wzorcowego I (Tabela 12)

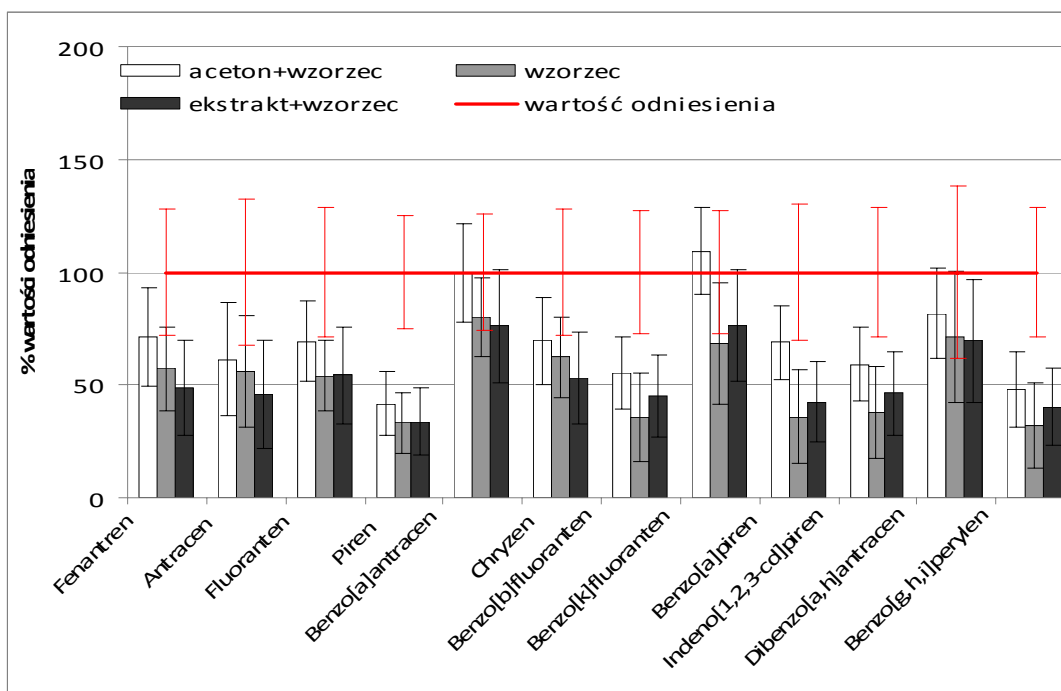


Rysunek 26. Porównanie wyników oznaczeń analitów z grupy PCB w próbkach osadów uzyskanych w wyniku zastosowania III sposobu dodatku roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne (osad+dichlorometan+wzorzec). Badania przeprowadzono z wykorzystaniem roztworu wzorcowego I (Tabela 12)

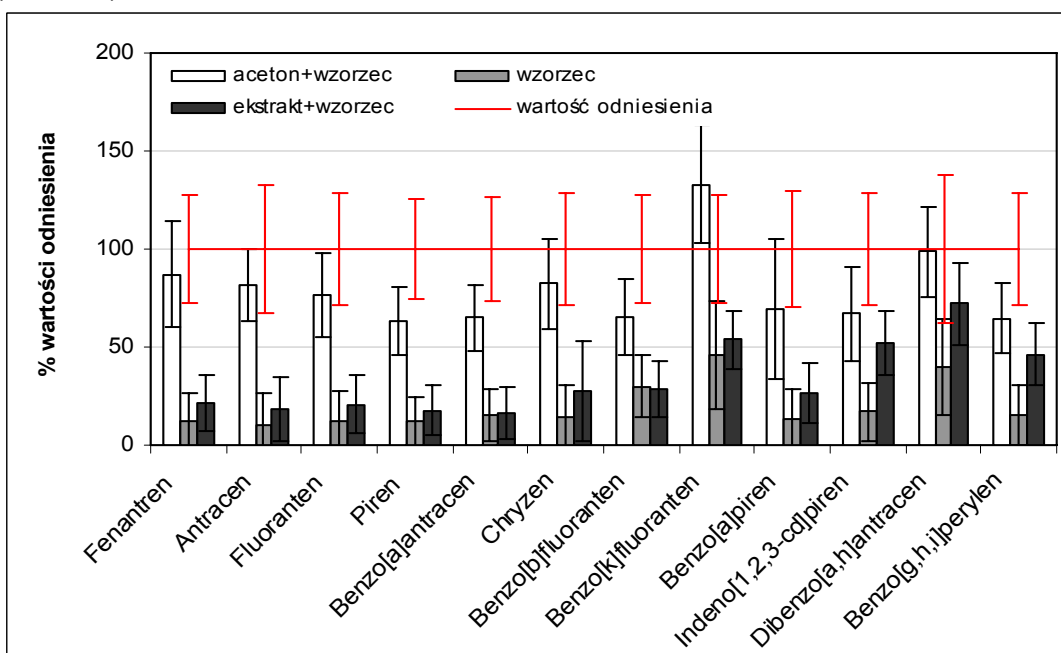
Odmienne wyniki dla analitów z grupy WWA otrzymano w przypadku wykorzystania ekstrakcji w podwyższonej temperaturze i pod zwiększonym ciśnieniem (ASE) – **Rysunki 27-29.**



Rysunek 27. Porównanie wyników oznaczeń analitów z grupy WWA w próbkach osadów dla 3 sposobów dodatku roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne. Wariant A (dodatek próbki roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne o objętości 2 µl), badania przeprowadzono z wykorzystaniem roztworu wzorcowego I (Tabela 12)



Rysunek 28. Porównanie wyników oznaczeń analitów z grupy WWA w próbkach osadów dla 3 sposobów dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne. Wariant A (dodatek próbki roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne o objętości 2 μ l), badania przeprowadzono z wykorzystaniem roztworu wzorcowego II (Tabela 12)



Rysunek 29. Porównanie wyników oznaczeń analitów z grupy WWA w próbkach osadów dla 3 sposobów dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne. Wariant B (dodatek próbki roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne o objętości 20 μ l), badania przeprowadzono z wykorzystaniem roztworu wzorcowego I (Tabela 12)

Podobnie jak w przypadku ekstrakcji za pomocą rozpuszczalnika w temperaturze pokojowej wyższe wyniki otrzymano w przypadku dodawania roztworu zawierającego wzorce

wewnętrzne o objętości 20 μl (wariant B). Wyniki niższe od wartości certyfikowanej uzyskane w przypadku dodawania 2 μl roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne (wariant A) wskazują, że odzysk wzorców wewnętrznych jest w tym przypadku wyższy niż analitów.

Wyniki uzyskane w przypadku dodawania roztworu o objętości 20 μl zawierającego wzorce wewnętrzne wyraźnie pozwalają dostrzec różnice w sile wiązania wzorców wewnętrznych do powierzchni osadów. W przypadku dodawania roztworu wzorców do próbki osadu zwilżonej acetonem (sposób I) wyraźnie widać, że siła wiązania analitów i wzorców wewnętrznych jest podobna, co w efekcie umożliwia uzyskanie prawidłowych wyników oznaczeń.

Dla dwóch pozostałych sposobów dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne ze względu na ich zawyżony (w stosunku do analitów) odzysk, co w efekcie powoduje niedoszacowanie wydajności ekstrakcji – otrzymane wyniki są znacząco niższe od wartości certyfikowanej. Jest to oczywiste w przypadku dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do ekstraktu rozpuszczalnikowego – technika ta nie umożliwia określenia odzysku analitów i zakłada 100% wydajność procesu ekstrakcji.

W przypadku punktowego dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do próbek suchego osadu, wzorce wewnętrzne nie mają możliwości związania się z cząstkami osadu w sposób analogiczny do analitów, chociażby ze względu na brak możliwości penetracji całej próbki. Ponadto, biorąc pod uwagę, że w przypadku adsorpcji na powierzchni cząstek osadów występuje ograniczona liczba miejsc wiązania analitów, można wytłumaczyć różnice w wynikach oznaczeń otrzymanych w przypadku dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne o objętości 2 oraz 20 μl . W wyniku dodania większej ilości roztworu (zawierającego więcej cząsteczek wzorców wewnętrznych) następuje „przesycenie” i prawdopodobnie zmienia się charakter wiązania substancji wzorcowych do cząstek osadu. Można przypuszczać, że zachodzi wtedy wiązania analitów na powierzchni materii nieorganicznej słabsze niż wiązanie z powierzchnią węgla i materii organicznej.

Ekstrakcja analitów z grupy WWA z cząsteczek zawierających sadzę i inne postacie węgla, jest procesem trudnym i wymagającym użycia wydajnych metod izolacji, takich jak na przykład ekstrakcja w aparacie Soxhleta. Badanie wpływu wykorzystania różnych rozpuszczalników na wydajność procesu ekstrakcji analitów z grupy WWA z próbek zawierających różnego typu fazy węglowe wykazało, że najwydajniejszym rozpuszczalnikiem była mieszanina toluenu i metanolu (1:6). Interesujące jest, że najsłabszym

rozpuszczalnikiem okazał się najczęściej najpopularniejszy dichlorometan. Najlepszym ekstrahentem okazała się więc mieszanina rozpuszczalnika o małych cząsteczkach umożliwiających dobrą penetrację fazy węglowej (metanol), a jednocześnie dobrze ją spęczniająca, co zwiększało dostępność do miejsc wiązania dla cząsteczek rozpuszczalnika aromatycznego (toluen), mającego możliwość konkurowania ze związkami z grupy WWA.

Na tej podstawie można stwierdzić, że woda będzie zdolna do ekstrahowania bardzo niewielkich ilości zanieczyszczeń hydrofobowych z cząstek osadów/zawiesiny zawierających fazy węglowe. Będzie to wynikało z jej małej zdolności do penetracji hydrofobowych domen węglowych, braku możliwości konkurowania z analitami o miejsca wiążące i małej hydrofilowości analitów (co jest związane z ich niską rozpuszczalnością w wodzie).

Ponadto można stwierdzić, że skoro nawet stosunkowo mocne rozpuszczalniki, takie jak dichlorometan, nie są w stanie wyekstrahować całości zawartych we frakcjach węglowych analitów, prawdopodobnie są one fizycznie uwięzione wewnątrz tych frakcji (w wyniku jednoczesnego powstawania sadzy i związków z grupy WWA). W związku z tym desorpcja, a także biodostępność wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych pochodzenia pirogenicznego (związanych z sadzą) w środowisku wodnym jest krańcowo ograniczona [173]

4.7.1.3 Badanie możliwości wykorzystania gorącej wody jako rozpuszczalnika w procesie izolacji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów.

Celem doświadczenia było sprawdzenie możliwości wykorzystania gorącej wody jako rozpuszczalnika w procesie izolacji związków z grupy WWA i PCB z próbek osadów.

Otrzymane wyniki oznaczeń związków z grupy WWA i PCB w próbkach badanego materiału odniesienia (*Metranal 2*) przedstawiono w **Tabeli 17**.

Odzysk analitów mieścił się w przedziale od 1 do 9% dla związków z grupy WWA i od 6 do 17% dla związków z grupy PCB. Z powodu niskiej wydajności ekstrakcji nie udało się oznaczyć związków wykorzystywanych w charakterze wzorców wewnętrznych (naftalen-d8, benzo[a]antracen-d12, PCB 209) dlatego zastosowanie do obliczeń wzoru /6/ okazało się niemożliwe. Zawartość badanych związków w próbkach obliczono metodą wzorca zewnętrznego, na podstawie wzoru /7/. Odzysk analitów oszacowano w stosunku do wartości certyfikowanej badanego materiału odniesienia.

Tabela 17. Wyniki oznaczania związków z grupy WWA i PCB w próbkach osadów przy wykorzystaniu gorącej wody jako rozpuszczalnika w procesie ekstrakcji.

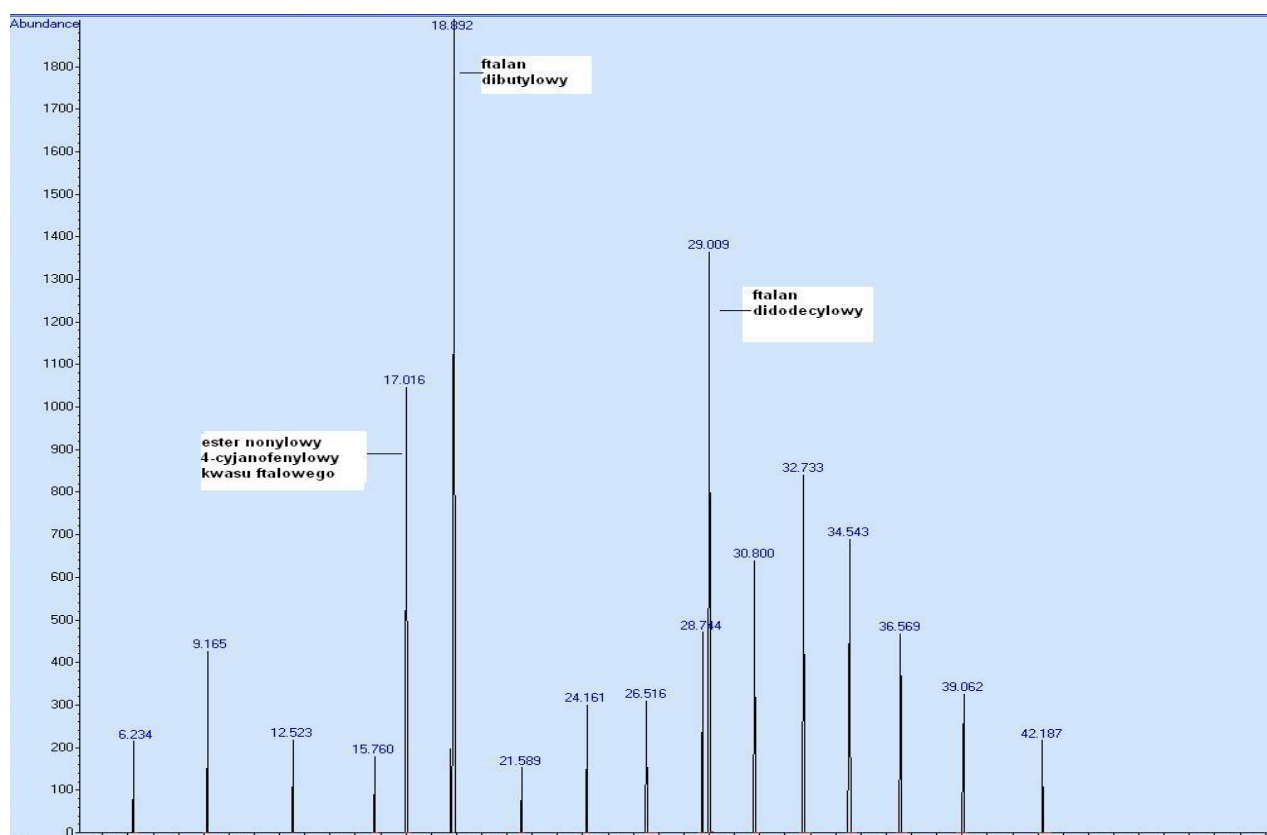
	Oznaczone stężenie [ng/g]					Średnia [ng/g]	Odchylenie standardowe [ng/g]	Odzysk analitów [%]
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅			
Naftalen	45	68	43	46	19	44	18	-
Acenaftylen	4	6	2	4	2	4	2	-
Acenaften	5	6	4	6	3	5	1	-
Fluoren	10	10	5	10	4	8	3	-
Fenantren	137	120	50	100	51	91	40	9
Antracen	26	31	9	25	10	20	10	5
Fluoranten	320	218	67	164	75	169	105	8
Piren	228	157	48	111	56	122	86	7
Benzo[a]antracen	55	39	10	27	14	29	18	3
Chryzen	82	55	15	35	18	41	28	5
Benzo[b]fluoranten	36	27	8	16	11	20	12	2
Benzo[k]fluoranten	39	26	8	13	12	19	13	5
Benzo[a]piren	19	16	4	11	7	11	6	2
Indeno[1,2,3-cd]piren	9	7	3	4	4	5	3	1
Dibenzo[a,h]antracen	3	2	1	1	1	2	1	2
Benzo[g,h,i]perylene	9	8	3	5	4	6	3	1
PCB 28	7	7	2	2	1	4	3	17
PCB 52	6	8	4	3	2	4	3	15
PCB 101	4	7	2	3	3	4	2	13
PCB 118	2	2	1	0,5	2	2	1	13
PCB 153	1	11	3	3	3	4	4	6
PCB 138	6	16	4	6	4	7	5	11
PCB 180	1	8	2	3	4	4	3	6

Na podstawie wniosków wynikających z analizy danych literaturowych [157, 158, 165] można wywnioskować, że przy zastosowaniu wyższych temperatur (>200°C) prowadzenia procesu możliwe jest uzyskanie większej wydajności procesu ekstrakcji. Wymaga to jednak przeprowadzenia dalszych badań oraz zbudowania odpowiedniego aparatu, ze względu na fakt, iż aparat do przyspieszonej ekstrakcji typu *Dionex 200* nie daje możliwości uzyskiwania wyższych temperatur czynnika ekstrahującego. Dodatkowym problemem okazał się fakt, że woda w warunkach ekstrakcji (200°C, 50 bar) powodowała wmywanie z elementów urządzenia wykonanych z tworzyw sztucznych (uszczelki silikonowych, przewodów) substancji, mających zbliżone czasy retencji do oznaczanych związków.

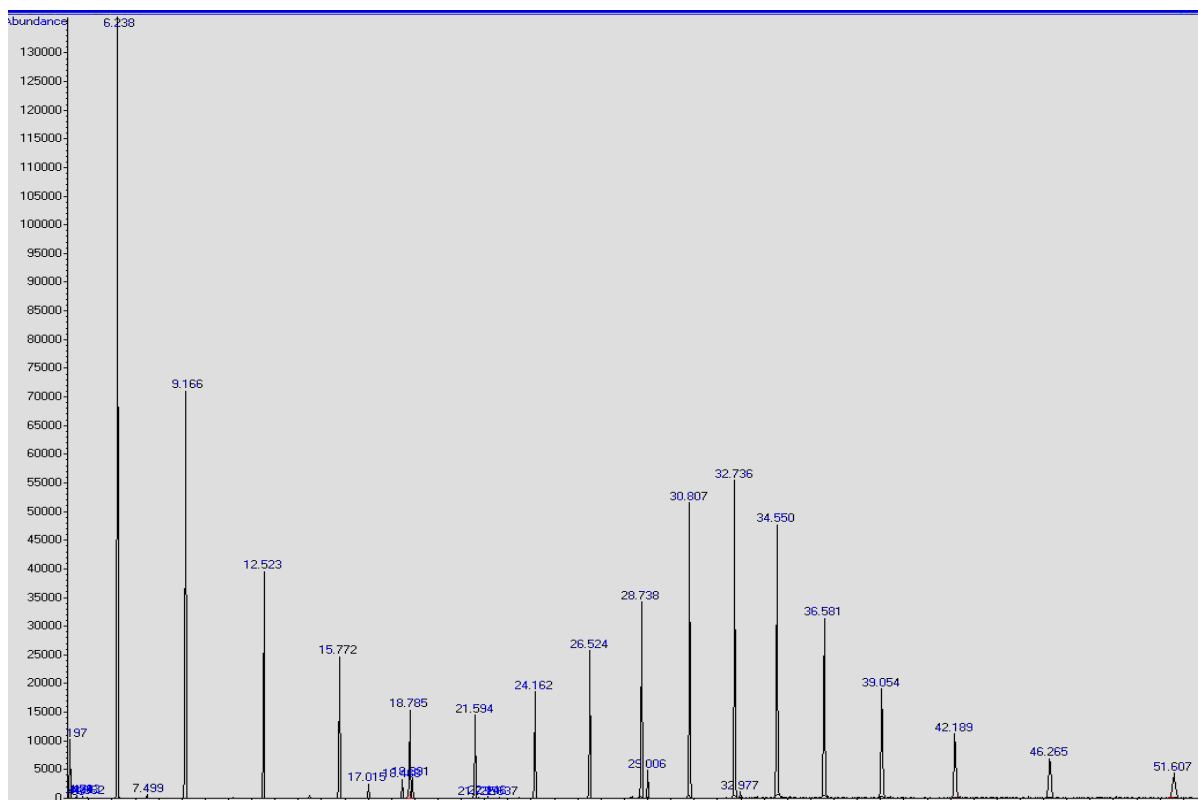
Analiza chromatogramów uzyskanych w trakcie badań (**Rysunki 30 i 31**) wskazała na obecność w ekstrakcie dużych ilości związków z grup ftalanów i siloksanów. W **Tabeli 17** kolorem szarym zaznaczono anality, których czasy retencji pokrywają się z czasami retencji siloksanów lub ftalanów.

Dodatkowym problemem może być fakt, że podczas ekstrakcji gorącą wodą powstają liczne produkty degradacji i utleniania wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych, takie jak ketony, kwas benzoesowy czy fenol [174-176].

Podsumowując technika ekstrakcji analitów z grupy WWA i PCB za pomocą gorącej wody wymaga podjęcia dalszych badań mających na celu optymalizację warunków prowadzenia procesu. Uzasadnione wydaje się natomiast wykorzystanie tej techniki do remediacji gleb i osadów skażonych przez związki z grupy WWA i PCB oraz inne zanieczyszczenia organiczne [177, 178].



Rysunek 30. Chromatogram (w trybie SIM dla jonu 149 charakterystyczny dla ftalanów) uzyskany w trakcie analizy próbki ekstraktu rozpuszczalnikowego otrzymanego z materiału odniesienia (Metranal2) przy wykorzystaniu gorącej wody jako rozpuszczalnika ekstrakcyjnego.



Rysunek 31. Chromatogram (w trybie scan) uzyskany w trakcie analizy próbki ekstraktu rozpuszczalnikowego otrzymanego z materiału odniesienia (Metrana2) przy wykorzystaniu gorącej wody jako rozpuszczalnika ekstrakcyjnego.

4.7.2 Etap oznaczeń końcowych

Oznaczanie związków organicznych w tak złożonych mieszaninach, jakimi w przeważającej liczbie przypadków są ekstrakty uzyskane w wyniku izolacji analitów z próbek zawiesiny i osadów dennych, jest możliwe jedynie z zastosowaniem technik chromatograficznych.

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne i polichlorowane bifenylole można oznaczać wykorzystując zarówno technikę chromatografii gazowej (GC), jak i chromatografii cieczowej (HPLC) [179, 180] oraz odpowiednie detektory na etapie wykrywania i oznaczania ilościowego poszczególnych analitów.

W ekstraktach, nawet po ich oczyszczeniu i frakcjonowaniu, może występować cała gama związków o podobnych do analitów właściwościach fizykochemicznych, co w efekcie znacznie utrudnia interpretację chromatogramów. Będą to między innymi alkilowe pochodne węglowodorów aromatycznych oraz bifenylole, pochodne aromatyczne dibenzodooksanu i dibenzofuranu, ftalany i wiele innych związków koeluujących z analitami. Przy złożonym składzie próbki problemem staje się identyfikacja analitów. Jest ona możliwa

przy zastosowaniu specyficznych czy selektywnych detektorów. W przypadku chromatografii ciekowej stosowane są najczęściej dwa typy detektorów: detektor fluorescencyjny i detektor z matrycą diodową (DAD). Przy ich pomocy można oznaczać wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne na poziomie ng/ml [181], przy czym pewność identyfikacji jest dobra lub średnia. Chromatografia ciekowa sprzężona z detektorem DAD umożliwiającym rejestrowanie widma w zakresie UV - VIS umożliwia dodatkowo identyfikację badanego związku. Jednak potencjał rozdzielczy i identyfikacyjny tej techniki jest znacznie niższy niż w przypadku zastosowania techniki GC - MS.

Dużym problemem w przypadku rozdzielania analitów niepolarnych z wykorzystaniem chromatografii ciekowej jest konieczność wymiany rozpuszczalnika w przypadku stosowania układu faz odwróconych. Jest to związane z faktem, że próbka powinna być wprowadzona do kolumny chromatograficznej w rozpuszczalniku polarnym (np. metanolu lub acetonitrylu), natomiast do procesu ekstrakcji stosuje się zwykle rozpuszczalniki niepolarne, takie jak heksan czy dichlorometan. Operacja wymiany rozpuszczalnika, związana z odparowywaniem otrzymanego ekstraktu do sucha, może więc być poważnym źródłem błędów, spowodowanego między innymi stratami najbardziej lotnych analitów. Problem ten nie występuje w przypadku wykorzystania na etapie rozdzielania i oznaczeń końcowych chromatografii gazowej.

W przypadku chromatografii gazowej do oznaczania wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych wykorzystywany jest detektor płomieniowo-jonizacyjny (FID) lub detektor mas (MSD). Zaletami detektora płomieniowo-jonizacyjnego są: liniowość odpowiedzi w szerokim zakresie stężeń, dość wysoka czułość i odtwarzalność wyników. Granica wykrywalności analitów z grupy WWA jest rzędu 10^{-12} g. Wadą tego detektora jest brak selektywności i związana z nim niska pewność identyfikacji analitów.

Polichlorowane bifenyle można oznaczać stosując detektor wychwytu elektronów (ECD). Zaletami tego detektora są: wysoka czułość na poziomie pikogramów (10^{-12} g) i dobra odtwarzalność wyników. Jego wadą jest stosunkowo szeroki zakres wykrywanych związków (praktycznie wszystkie związki zawierające atomy elektroujemne) co sprawia, że interpretacja chromatogramów próbek rzeczywistych powinna być prowadzona z dużą ostrożnością i potwierdzona za pomocą techniki GC - MS [182].

Technika GC - MS również nie jest pozbawiona wad. Widma mas analitów z grupy WWA o danej masie cząsteczkowej są mało charakterystyczne np. widma

benzo(b)fluorantenu, benzo(k)fluorantenu oraz benzo(a)pirenu o masach cząsteczkowych 252 są praktycznie identyczne, pomimo, że związki te zasadniczo różnią się budową, co powoduje, że ich widma UV - VIS różnią się w sposób zdecydowany. Tak więc identyfikacja poszczególnych analitów z grupy WWA w przypadku stosowania techniki GC - MS na etapie oznaczeń końcowych wymaga zgodności widma mas i czasu retencji.

Biorąc jednak pod uwagę potencjał rozdzielczy, jednoznaczność analizy jakościowej oraz możliwość kontrolowania procesu analitycznego przez stosowanie izotopowo znaczonej substancji w charakterze wzorców wewnętrznych, kapilarna chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas wydaje się być techniką optymalną w badaniach związków z grupy WWA i PCB.

4.7.2.1 Kalibracja układu GC-MS

Poza omówionymi w punkcie 4.7.1 niniejszej pracy elementami wpływającymi na wyniki oznaczeń analitów z grupy WWA i PCB w próbkach osadów, równie istotny jest etap kalibracji urządzenia kontrolno-pomiarowego, w tym przypadku zestawu chromatograf gazowy – spektrometr mas.

Ze względu na fakt, że otrzymane krzywe kalibracyjne nie przebiegały liniowo w całym badanym zakresie stężeń, zarówno dla analitów z grupy WWA jak i analitów z grupy PCB, konieczny okazał się podział na dwa zakresy pomiarowe, które można było opisać przy pomocy liniowych równań regresji.

Dla wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych dokonano podziału dla poniższych zakresów stężeń:

- 1-120 pg każdego z analitów w dozowanej próbce,
- 160-3200 pg każdego z analitów w dozowanej próbce.

Natomiast dla analitów z grupy PCB zakresy pomiarowe obejmowały następujące stężenia:

- 0,48-62,5 pg każdego z analitów w dozowanej próbce,
- 125-2000 pg każdego z analitów w dozowanej próbce.

Równania krzywych wzorcowych uzyskanych w trakcie kalibracji zestawu GC-MS oraz wartości liczbowe współczynników dopasowania zebrano w **Tabeli 18**.

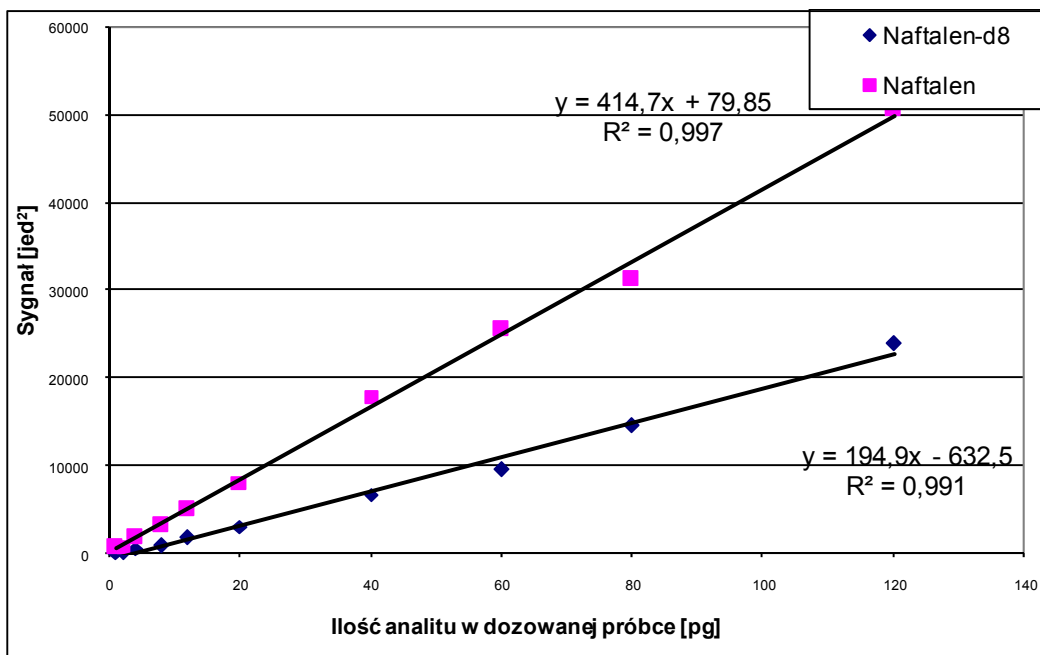
Biorąc po uwagę wartość współczynnika korelacji (r^2) będącego miarą stopnia dopasowania zmiennych (powierzchnie pików chromatograficznych i odpowiadające im stężenia analitu) można stwierdzić, że istnieje liniowa zależność pomiędzy wyznaczonymi zmiennymi w bardzo dużym zakresie stężeń

Na **Rysunkach 32-33** przedstawiono krzywe kalibracyjne otrzymane dla naftalenu i benzo(a)antracenu oraz ich deuterowanych pochodnych. Jak wynika z przebiegu tych krzywych odpowiedź spektrometru mas dla deuterowanych pochodnych jest mniejsza niż dla analitów niedeuterowanych, co wymusza wprowadzenie odpowiedniego współczynnika korekcyjnego dla odpowiedzi detektora (czyli względnego współczynnika odpowiedzi detektora) na etapie obliczeń wyniku końcowego analizy. Zostało to uwzględnione we wzorze /6/. Niższa czułość spektrometru masowego na związki deuterowane jest najprawdopodobniej spowodowana wyższą energią jonizacji wiązania węgiel-deuter w porównaniu z energią jonizacji wiązania węgiel-wodór.

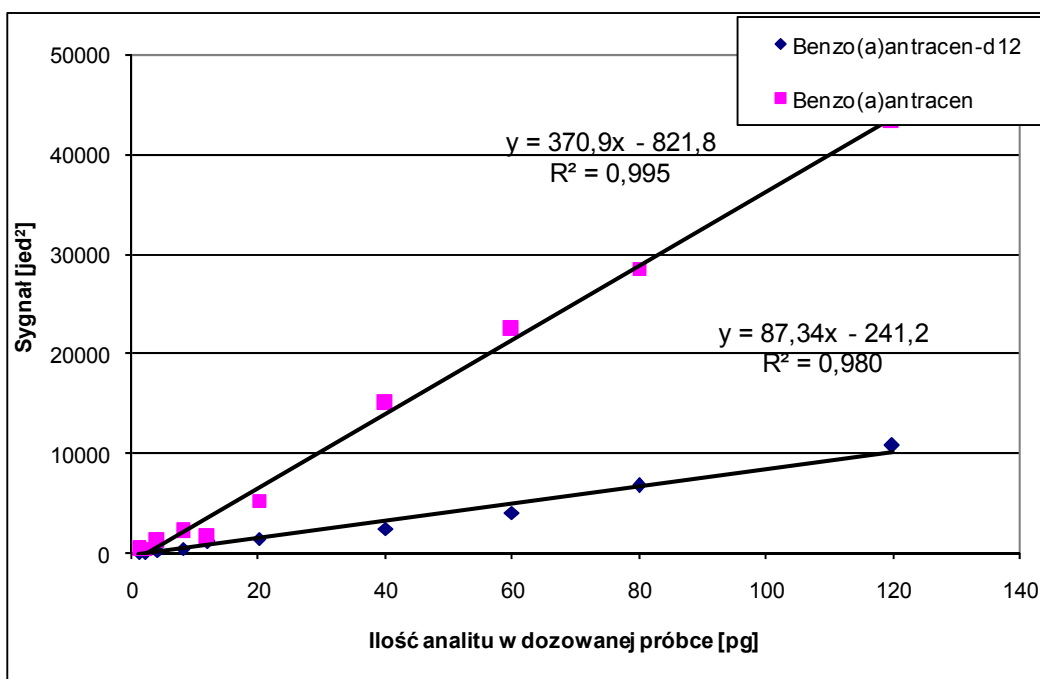
Istotny jest również fakt, że przy wyprowadzaniu wzoru /1/ poczynione zostało założenie o **równości względnych współczynników odpowiedzi** analitów w roztworze wzorcowym oraz ekstrakcie rozpuszczalnikowym z badanej próbki. W przypadku analitów z grupy WWA równość ta zachodzi jedynie w przypadku, gdy badany związek znajduje się w tym samym zakresie pomiarowym zarówno w ekstrakcie próbki, jak i w roztworze wzorcowym (patrz **Tabela 18**). Jeżeli tak nie jest, otrzymany wynik będzie nieprawidłowy. W przypadku analitów z grupy PCB względne współczynniki odpowiedzi uzyskują podobne wartości dla obu zakresów pomiarowych i problem ten nie występuje.

Wykorzystując wartości liczbowe odchylenia standardowego zbioru sygnałów i kąt nachylenia krzywej kalibracyjnej obliczono granicę wykrywalności stosowanego zestawu GC-MS.

Wartości liczbowe granicy wykrywalności (LOD) i oznaczalności (LOQ=3xLOD) obliczone dla poszczególnych analitów z grupy WWA i PCB na podstawie powyższej zależności przedstawiono w **Tabeli 18**.



Rysunek 32. Krzywe kalibracyjne zestawu GC-MS uzyskane w wyniku analizy chromatograficznej serii próbek roztworów wzorcowych zawierających naftalen i deuterowany naftalen.



Rysunek 33. Krzywe kalibracyjne zestawu GC-MS uzyskane w wyniku analizy chromatograficznej serii próbek roztworów wzorcowych zawierających benzo(a)antracen i deuterowany benzo(a)antracen.

Tabela 18. Parametry krzywych kalibracyjnych oraz wartości liczbowe LOD i LOQ zestawu GC-MS dla analitów z grupy WWA i PCB uzyskane w trakcie analizy chromatograficznej serii próbek roztworów kalibracyjnych

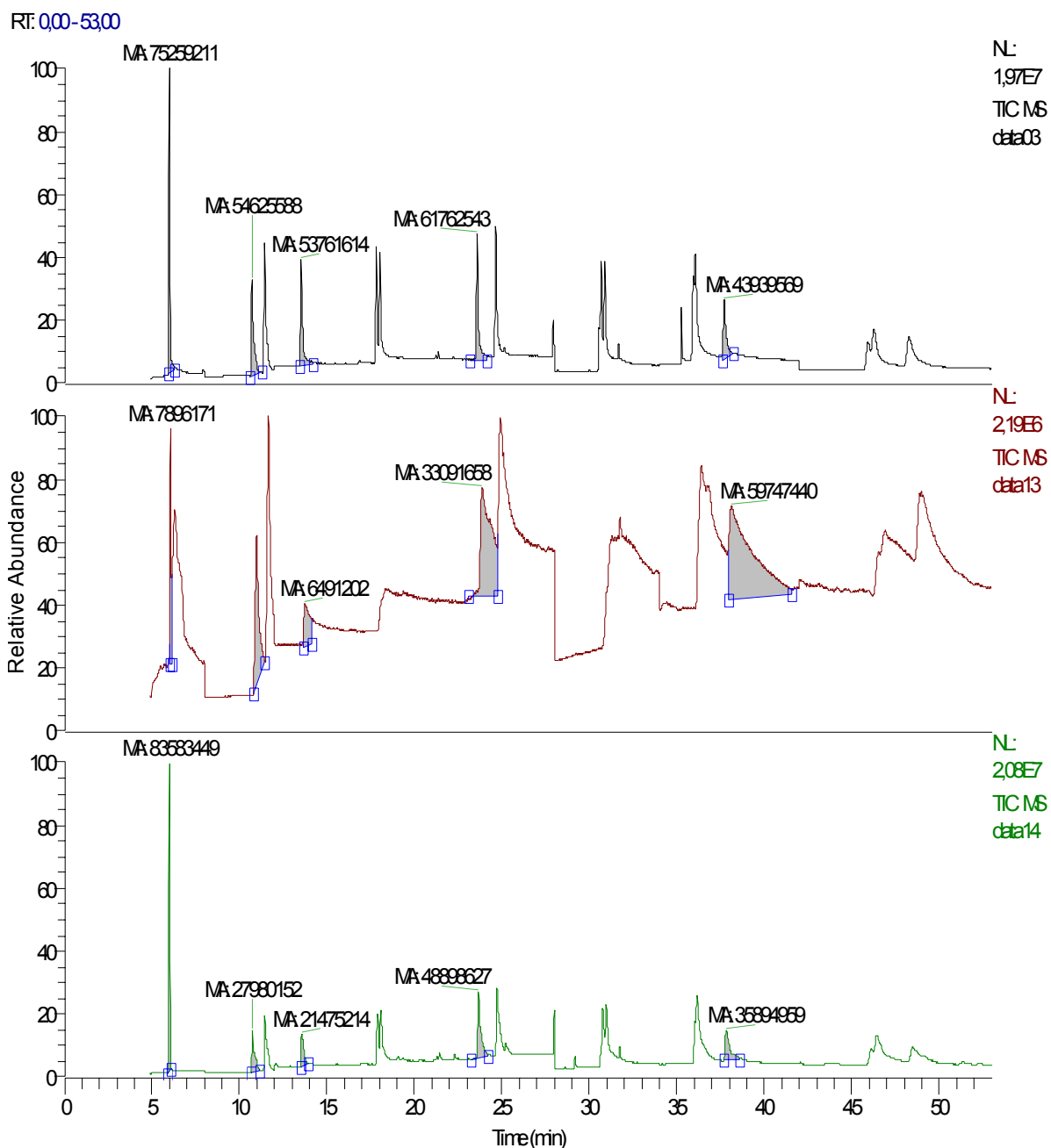
	1-120 pg/nastrzyk			160-3200 pg/nastrzyk			LOD	LOQ
	równanie regresji	R ²	RRF	równanie regresji	R ²	RRF		
Naftalen	$y = 348x + 768$	0,9810	1,79	$y = 359x - 14600$	0,9995	1,75	0.7	2.1
Naftalen-d8	$y = 195x - 632$	0,9917	1	$y = 205x - 10700$	0,9880	1		
Acenaftylen	$y = 321x + 1332$	0,9741	3,69	$y = 477x - 26800$	0,9821	7,34	1.0	3.0
Acenaften	$y = 225x + 782$	0,9812	2,59	$y = 265x - 4230$	0,9743	4,08	1.2	3.6
Fluoren	$y = 196x + 714$	0,9776	2,25	$y = 295x - 22800$	0,9782	4,54	1.2	3.6
Fenantren	$y = 312x + 1991$	0,9738	3,58	$y = 416x - 26600$	0,9931	6,40	0.7	2.1
Antracen	$y = 340x + 1545$	0,9710	3,91	$y = 432x - 6720$	0,9917	6,65	0.9	2.7
Fluoranten	$y = 347x + 1644$	0,9710	3,99	$y = 572x - 50000$	0,9981	8,80	1.5	4.5
Piren	$y = 377x + 1807$	0,9720	4,34	$y = 628x - 52900$	0,9982	9,66	1.2	3.6
Chryzen	$y = 293x + 385$	0,9797	3,37	$y = 490x - 39900$	0,9971	7,33	1.0	3.0
Benzo(a)antracen	$y = 293x + 385$	0,9797	3,37	$y = 490x - 39900$	0,9971	7,33	1.1	3.3
Benzo(a)antracen-d12	$y = 87x - 241$	0,9809	1	$y = 65x - 3600$	0,9912	1		
Benzo(b)fluoranten	$y = 249x + 311$	0,9806	2,86	$y = 546x - 62100$	0,9970	8,40	1.6	4.8
Benzo(k)fluoranten	$y = 249x + 311$	0,9806	2,86	$y = 546x - 62100$	0,9970	8,40	1.5	4.5
Benzo(a)piren	$y = 222x + 329$	0,9821	2,56	$y = 427x - 41600$	0,9992	6,57	0.1	0.3
Indeno(1,2,3-cd)piren	$y = 230x + 410$	0,9820	2,64	$y = 484x - 76500$	0,9977	7,44	2.8	8.4
Dibenzo(a,h)antracen	$y = 164x + 380$	0,9669	1,89	$y = 431x - 78300$	0,9968	6,63	1.8	5.4
Benzo(g,h,i)perylene	$y = 233x - 65$	0,9833	2,67	$y = 439x - 37900$	0,9965	6,75	2.2	6.6
	[0,48-62,5 pg / nastrzyk			125-2000 pg / nastrzyk				
PCB 28	$y = 73x - 65$	0,9853	0,77	$y = 38x + 1390$	0,9995	0,68	9,4	28,2
PCB 52	$y = 50x - 7,7$	0,9934	0,53	$y = 28x + 519$	0,9984	0,50	6,3	18,9
PCB 101	$y = 40x - 4,0$	0,9912	0,42	$y = 21x + 585$	0,9974	0,38	7,3	21,9
PCB 118	$y = 47x + 71$	0,9661	0,49	$y = 25x + 715$	0,9994	0,45	14	42
PCB 153	$y = 36x - 34$	0,9802	0,38	$y = 20x + 206$	0,9981	0,36	11	33
PCB 138	$y = 35x - 24$	0,9806	0,37	$y = 20x - 110$	0,9981	0,36	11	33
PCB 180	$y = 13x + 105$	0,9525	0,14	$y = 12x - 205$	0,9957	0,21	36	108
PCB 209	$y = 95x - 141$	0,9681	1,0	$y = 56x - 1067$	0,9956	1,0	14	42

4.7.2.2 Dodatkowe spostrzeżenia

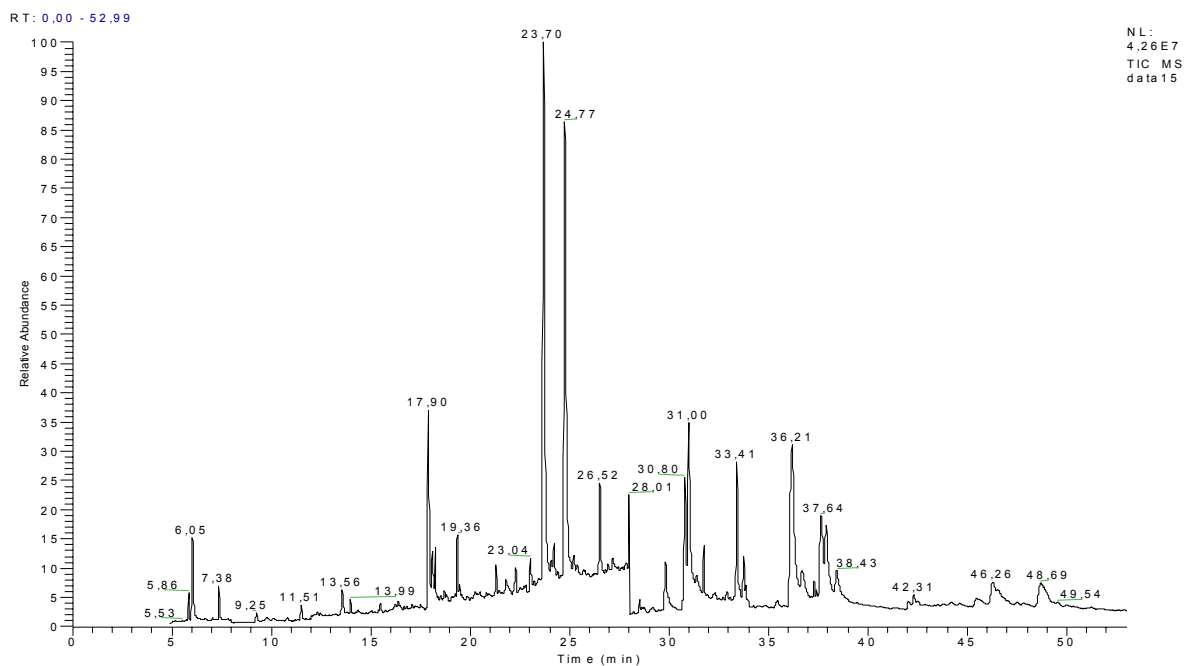
Wybór odpowiedniego sposobu dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne oraz właściwe przygotowanie próbek, a także prawidłowa kalibracja zestawu GC-MS, nie są jedynymi czynnikami wpływającymi na rzetelność i miarodajność wyników analizy ilościowej.

Równie istotny jest stan wykorzystywanej kolumny chromatograficznej. Kilka spostrzeżeń na ten temat, poczynionych w trakcie badań, przedstawiono poniżej.

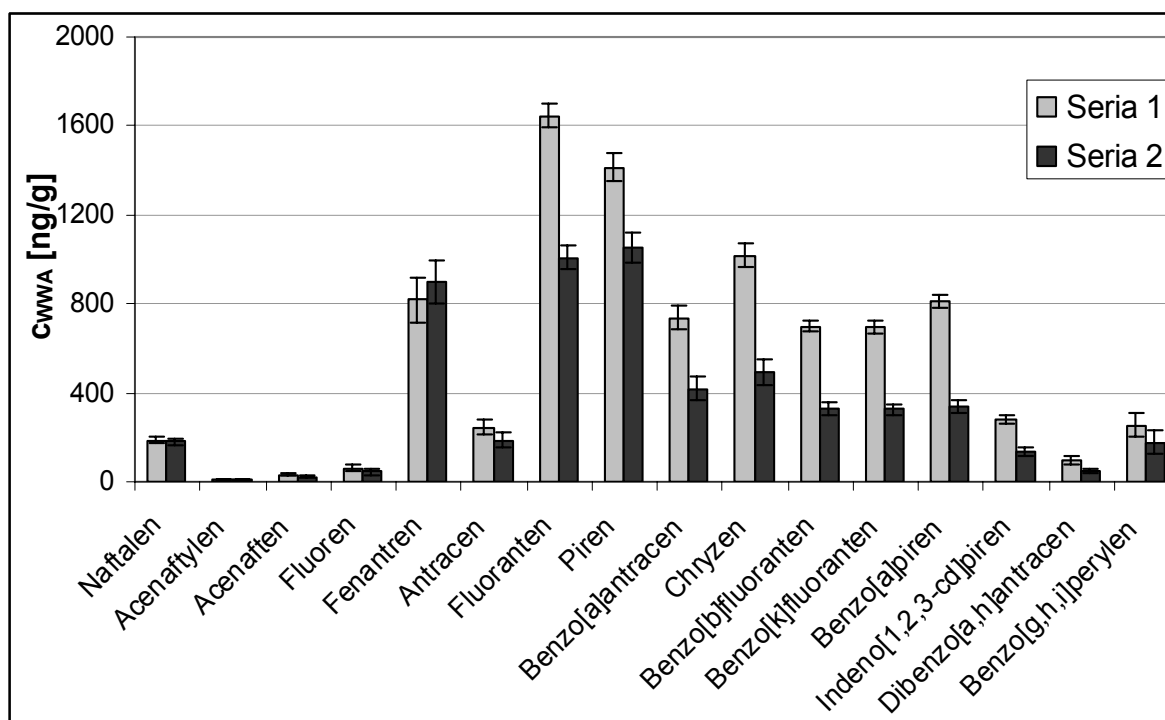
Na **Rysunku 34** przedstawiono chromatogramy uzyskane w trakcie analizy próbek roztworów wzorcowych dozowanych po raz pierwszy do nowej kolumny chromatograficznej (**a**) oraz do tej samej kolumny po przeprowadzeniu 10 analiz próbek oczyszczonych ekstraktów rozpuszczalnikowych z osadów (**b**) i poddanej procesowi oczyszczania za pomocą mieszaniny metanol-woda (**c**). Z przedstawionych chromatogramów wynika, że pasma chromatograficzne dla poszczególnych analitów z grupy WWA ulegają poszerzeniu z jednoczesną deformacją (ogonowanie) ich kształtu. Interesujący jest fakt, iż niezależnie od stanu kolumny piki obecne na chromatogramach uzyskanych w wyniku analizy ekstraktów próbek rzeczywistych pozostają dobrze rozdzielone i wąskie (**Rysunek 35**). Natomiast w przypadku chromatogramów uzyskanych w wyniku analizy próbek roztworów wzorcowych w miarę intensywnego użytkowania kolumny obserwuje się pogorszenie jej sprawności. Fakt ten rzutuje na wyniki oznaczeń. Na **Rysunku 36** porównano wyniki oznaczeń analitów z grupy WWA w próbkach materiału odniesienia (*Metranal 2*) uzyskanych przy dozowaniu próbek ekstraktów do a) nowej kolumny chromatograficznej (Seria 1) oraz b) oraz tej samej kolumny po przeprowadzeniu 10 analiz próbek oczyszczonych ekstraktów rozpuszczalnikowych z osadów (Seria 2).



Rysunek 34. Chromatogramy uzyskane w trakcie analiz próbek roztworu wzorcowego, z wykorzystaniem:
 a) nowej kolumny (pierwsza analiza);
 b) kolumny, po przeprowadzeniu analizy 10 próbek ekstraktów rozpuszczalnikowych uzyskanych z próbek osadów;
 c) kolumny, po przeprowadzeniu analizy 10 próbek ekstraktów rozpuszczalnikowych uzyskanych z próbek osadów, następnie czyszczonej za pomocą mieszaniny metanol/woda



Rysunek 35. Chromatogram uzyskany w trakcie analizy próbki ekstraktu rozpuszczalnikowego uzyskanego z osadu z wykorzystaniem techniki GC-MS.



Rysunek 36. Porównanie wyników oznaczeń analitów z grupy WWA w próbkach osadów, przy wykorzystaniu:

a) nowej kolumny (Seria 1)

b) kolumny, po przeprowadzeniu analizy 10 próbek ekstraktów rozpuszczalnikowych uzyskanych z osadów (Seria 2);.

4.7.3 Badanie procesu desorpcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów.

Sorpcja hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych na cząstkach osadów jest często rozpatrywana jako prosty, liniowy proces podziału pomiędzy wodę a frakcję organiczną osadów. Domena organiczna jest przy takim podejściu rozpatrywana jako „rozpuszczalnik” związków niepolarnych, co implikuje, że za sorpcję są odpowiedzialne jedynie oddziaływania hydrofobowe. W rezultacie powinna być możliwość określenia końcowego stanu równowagi pomiędzy wodą a osadami na podstawie właściwości chemicznych analitów (np. współczynnika podziału oktanol-woda, będącego miarą hydrofobowości). Jednakże ta teoria zawodzi w wielu przypadkach - podczas ostatnich lat poczyniono wiele obserwacji, które jej przeczą, włączając przypadki sorpcji nieliniowej oraz wyższego, niż przewidywany, współczynnika podziału osad/woda. Zjawiska te można wyjaśnić na bazie dwóch hipotez:

- sorpcji zależnej od czasu, tzn. zwiększania się sorpcji wraz z upływem czasu spowodowanego dyfuzją zanieczyszczeń w materii organicznej oraz dyfuzją w głąb porów matrycy mineralnej, prowadzącą do uwięzienia i sekwestracji związków
- występowania dwóch domen sorpcyjnych: pierwszej faktycznie odpowiedzialnej za **absorpcję** zanieczyszczeń na drodze ich rozpuszczania w amorficznej materii organicznej oraz drugiej, **adsorbującej** związki hydrofobowe na ograniczonej liczbie specyficznych miejsc wiążących.

Te specyficzne miejsca wiązania mogą być umiejscowione w diagenetycznie zmienionej, zhumifikowanej bądź zwęglonej materii organicznej, lub na powierzchni skondensowanych faz węglowych, takich jak sadza, lub węgiel drzewny. Fazy te, powstające w procesach spalania, powszechnie występują w osadach. Są one zdolne do ekstremalnie silnego wiązania zanieczyszczeń hydrofobowych, przy czym preferencyjnie wiążą związki o budowie planarnej.

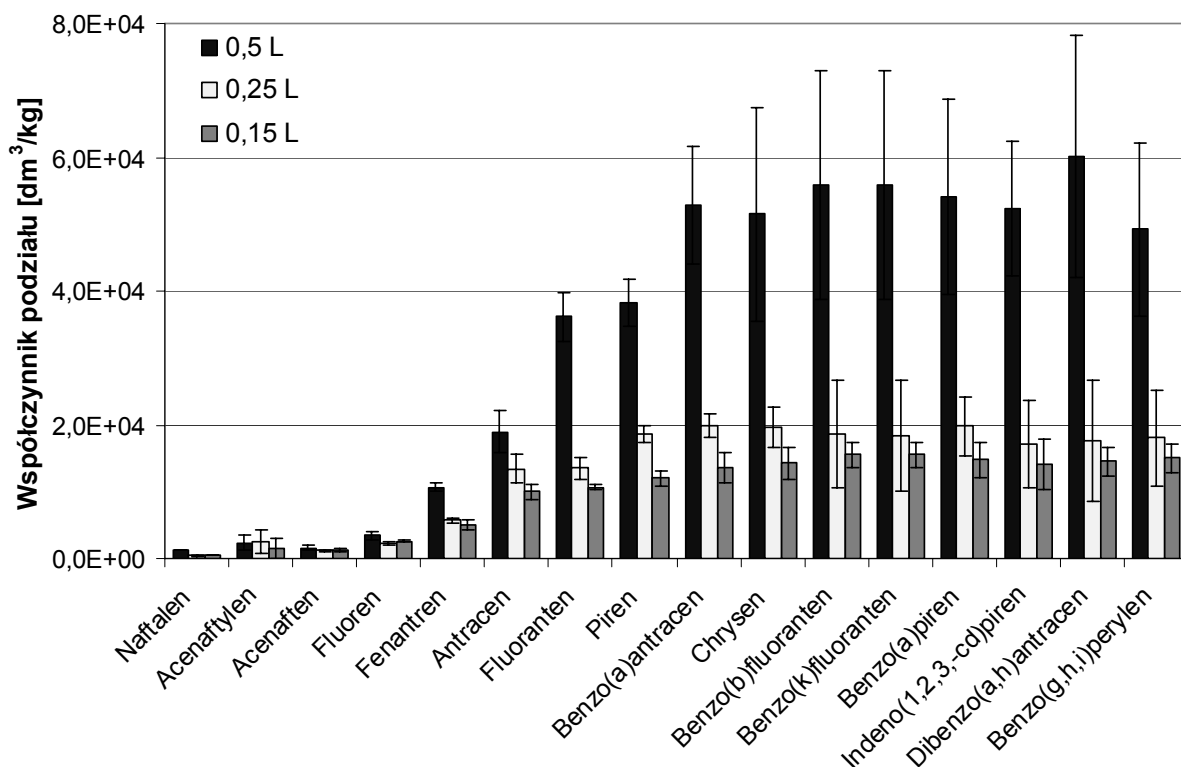
Bardzo istotną, związaną z tym kwestią, jest pytanie o to, kiedy zaadsorbowane związki mogą ulec desorpcji, co jest określane jako „remobilizacja”. W porównaniu z sorpcją mechanizm desorpcji jest o wiele słabiej poznany. Remobilizacja zanieczyszczeń jest spodziewana w ograniczonym zakresie w określonych warunkach, na przykład kiedy osady są poruszane podczas oczyszczania dna lub płytów czy zamiany potencjałów redoks lub pH. W rezultacie możliwa jest desorpcja i wtórne zanieczyszczenie środowiska danymi związkami [183-186].

Przeprowadzenie badań procesu desorpcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów zostało wykorzystane do określenia wartości liczbowych współczynnika podziału osad/woda. W oparciu o uzyskane wyniki zawartości analitów w fazie wodnej (z uwzględnieniem analitów zaadsorbowanych na ściankach butelek) i osadzie, obliczono wartości liczbowe współczynnika podziału dla modelowego układu woda – osad. Wartości liczbowe współczynnika podziału obliczono wykorzystując dwa możliwe podejścia:

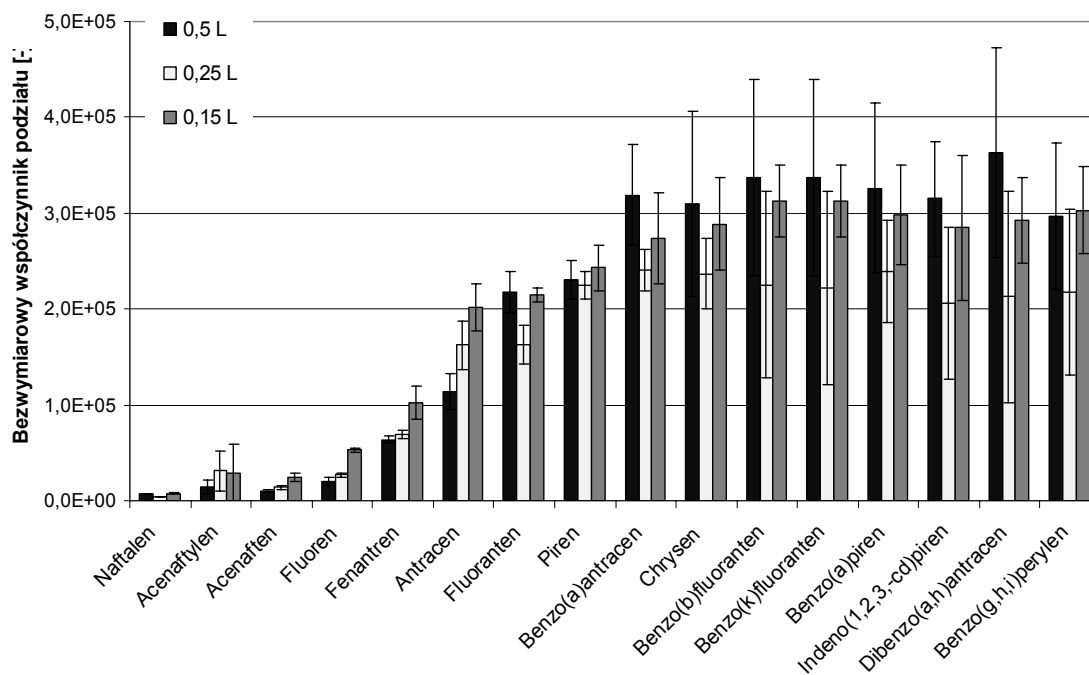
- na podstawie oznaczonych stężeń analitów w poszczególnych fazach układów modelowych (tzw. współczynnik stężeniowy),
- na podstawie oznaczonych bezwzględnych ilości analitów w poszczególnych fazach układu (tzw. współczynnik podziału dla całego układu – bezwymiarowy).

Obliczone wartości liczbowe współczynników podziału osad-woda dla analitów z grupy WWA przedstawiono na **Rysunkach 37 i 38** natomiast dla analitów z grupy PCB na **Rysunkach 39 i 40**.

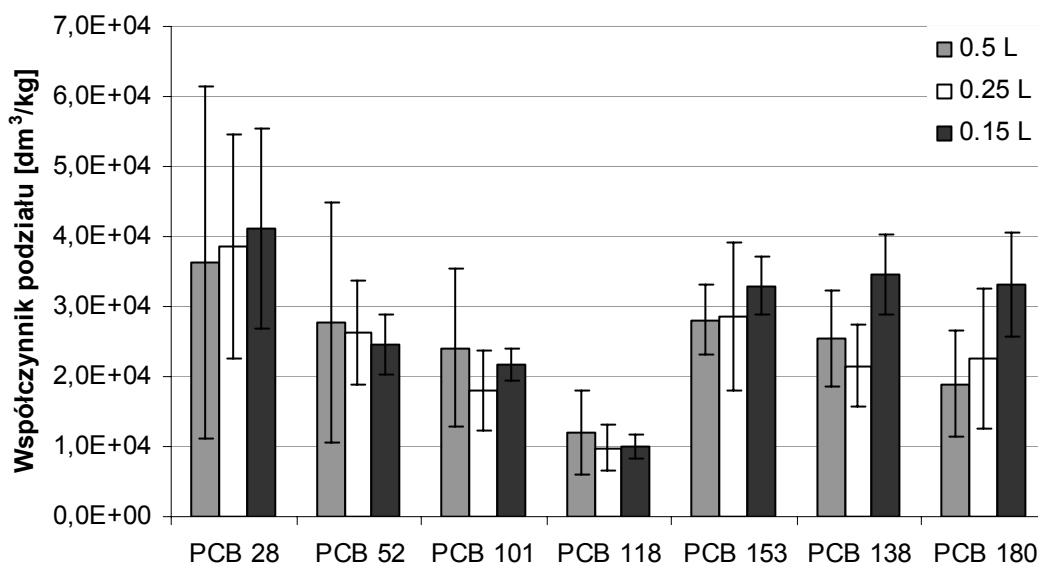
Obliczone wartości liczbowe współczynników podziału osad-woda przyjmują wartości rzędu 10^4 dm³/kg dla analitów z grupy WWA i PCB. Są one porównywalne z wartościami uzyskanymi przez innych autorów [187-189], mogą jednak sugerować, że wykorzystywana technika izolacji (czyli bezpośrednia dekantacja fazy wodnej z nad osadu do kolumny sorpcyjnej) nie zapewnia ilościowego oddzielenia formy rozpuszczonej badanych związków od formy związanej z cząstkami osadu. Podczas procesu izolacji do kolumny SPE dostawały się niewielkie ilości osadu (tym większe, im mniejsza była zawartość wody w badanym układzie modelowym), co powodowało podwyższenie wyników oznaczeń zawartości analitów w fazie wodnej, a tym samym obniżenie wartości liczbowych współczynnika podziału. Zjawisko to jest szczególnie widoczne, gdy porównane zostaną wartości liczbowe współczynników podziału otrzymane dla analitów z grupy WWA i przedstawione na **Rysunku 37.**



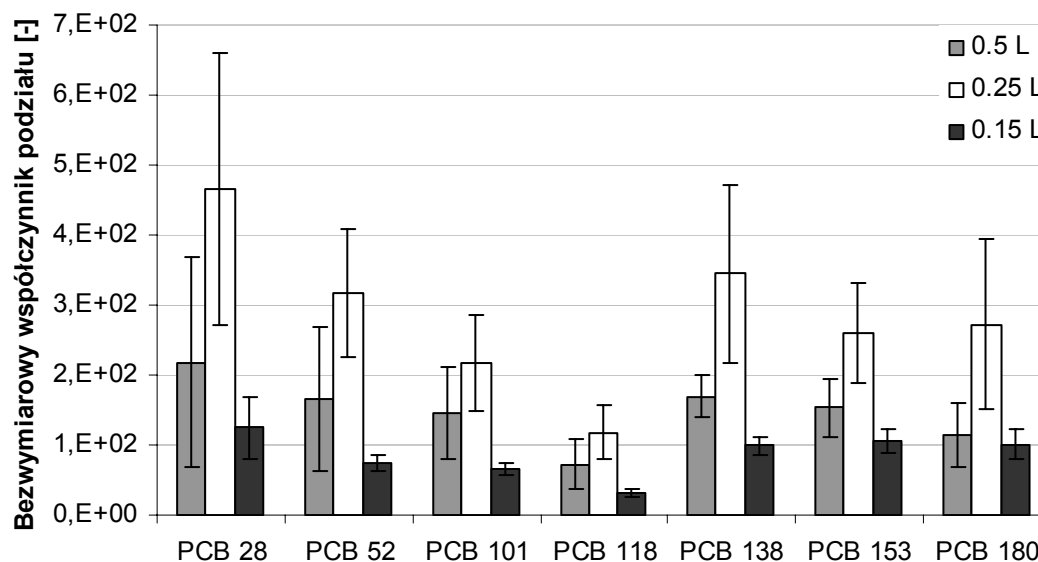
Rysunek 37. Porównanie wartości liczbowych stężeniowego współczynnika podziału osad/woda obliczonych na podstawie wyników oznaczeń analitów z grupy WWA w odpowiednich ekstraktach uzyskanych w trakcie badania procesu desorpcji analitów z grupy WWA z próbek osadów.



Rysunek 38. Porównanie wartości liczbowych bezwymiarowego współczynnika podziału osad/woda obliczonych na podstawie wyników oznaczeń analitów z grupy WWA w odpowiednich ekstraktach uzyskanych w trakcie badania procesu desorpcji analitów z grupy WWA z próbek osadów.



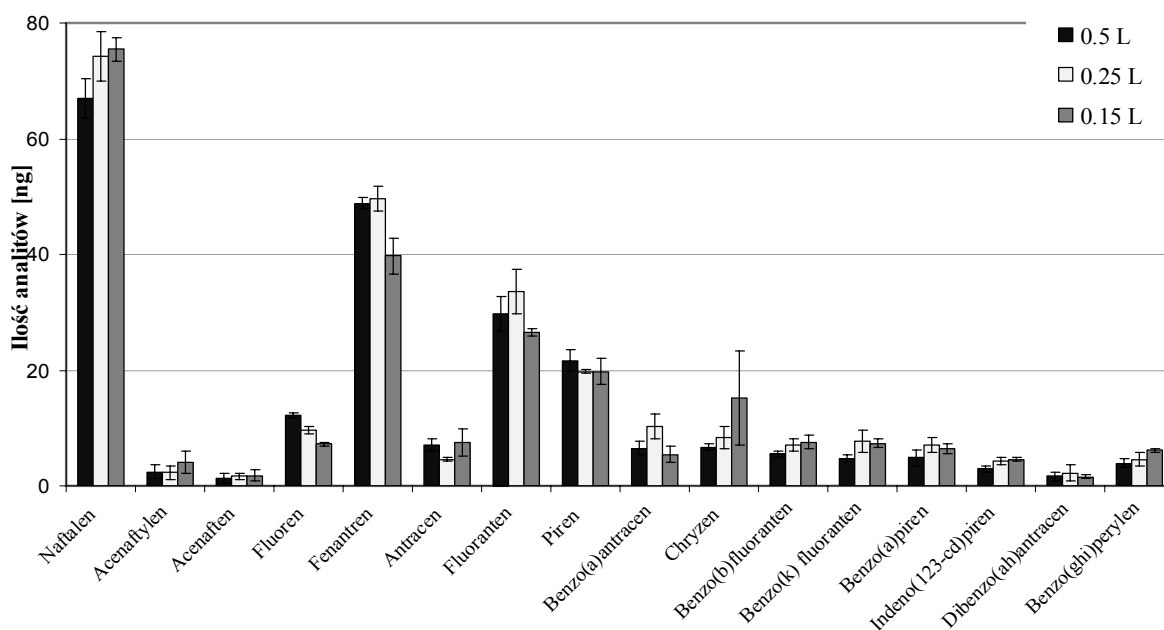
Rysunek 39. Porównanie wartości liczbowych stężeniowego współczynnika podziału osad/woda obliczonych na podstawie wyników oznaczeń analitów z grupy PCB w odpowiednich ekstraktach uzyskanych w trakcie badania procesu desorpcji analitów z próbek osadów.



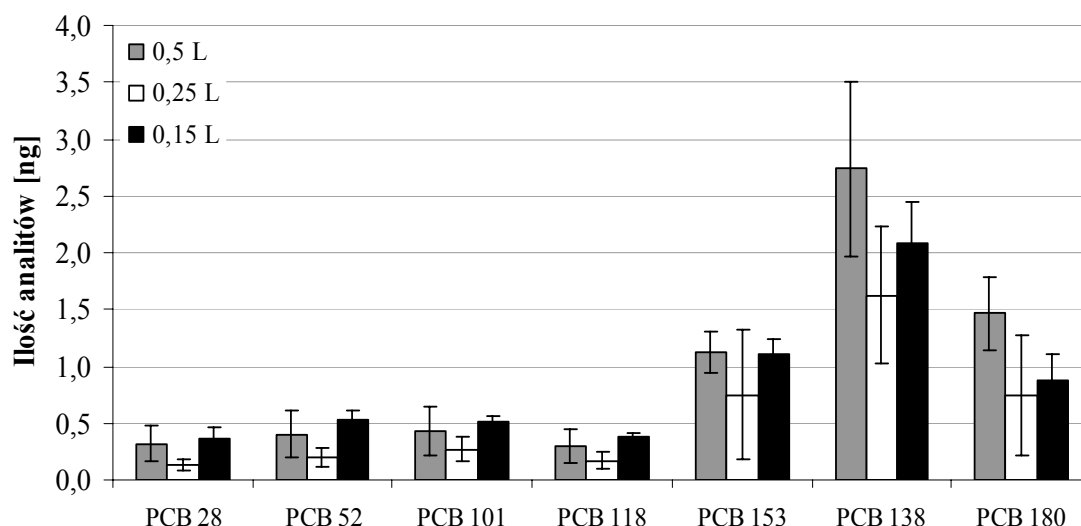
Rysunek 40. Porównanie wartości liczbowych bezwymiarowego współczynnika podziału osad/woda obliczonych na podstawie wyników oznaczeń analitów z grupy PCB w odpowiednich ekstraktach uzyskanych w trakcie badania procesu desorpcji analitów z próbek osadów.

Na **Rysunkach 41 i 42** porównano ilości analitów z grupy WWA oraz PCB zdesorbowanych z osadów w trakcie trwania doświadczenia, dla trzech serii różniących się

między sobą zawartością wody w układzie. **Niezależnie od ilości wody w badanym układzie, zawartość analitów w fazie wodnej przyjmowała w każdym przypadku podobne wartości.** Są one jednak nieznacznie wyższe dla układów o mniejszej zawartości wody, co pozwala potwierdzić fakt, że frakcja oznaczana jako „związki rozpuszczone” jest w istocie sumą zawartości analitów w fazie wodnej oraz nieokreślonej części analitów związanych z osadem, którego cząstki dostały się do kolumniki sorpcyjnej podczas procesu izolacji.

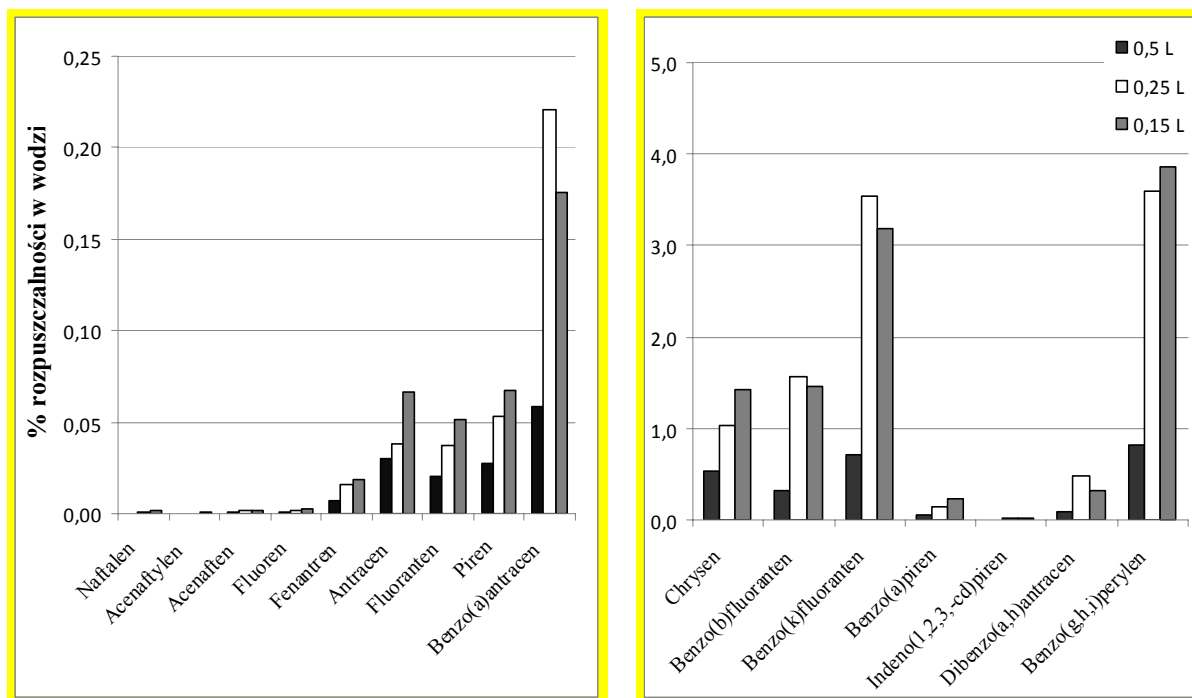


Rysunek 41. Oznaczone ilości analitów z grupy WWA, które zostały zdesorbowane z osadów w trakcie trwania doświadczenia.

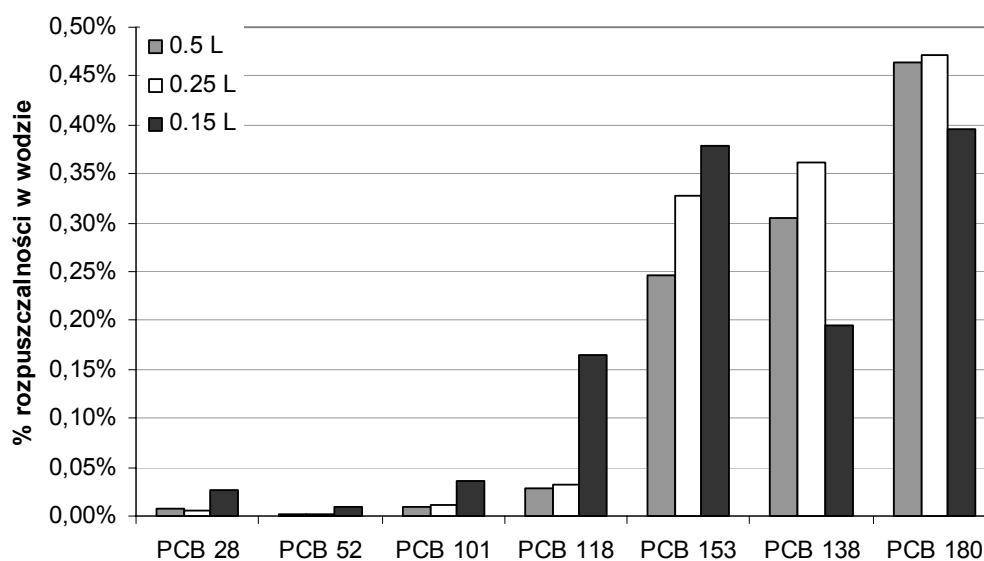


Rysunek 42. Oznaczone ilości analitów z grupy PCB, które zostały zdesorbowanych z osadów w trakcie trwania badań modelowych w układzie osad-woda.

W celu sprawdzenia, czy czynnikiem kontrolującym proces desorpcji analitów nie jest ich rozpuszczalność w wodzie, porównano ilości analitów, jakie uległy desorpcji w danym układzie z teoretyczną ilością, jaka mogła się rozpuścić w danej objętości wody. Uzyskane wyniki wyrażono jako część (w %) rozpuszczalności danego związku w wodzie. Otrzymane dane przedstawiono na **Rysunkach 43 i 44**.



Rysunek 43. Zestawienie ilości zdesorbowanych w trakcie doświadczenia analitów z grupy WWA, w porównaniu do teoretycznej (maksymalnej) ilości, która mogła się rozpuścić w danej objętości wody.



Rysunek 44. Zestawienie ilości zdesorbowanych w trakcie doświadczenia analitów z grupy PCB, w porównaniu do teoretycznej (maksymalnej) ilości, która mogła się rozpuścić w danej objętości wody.

Otrzymane wyniki potwierdzają przypuszczenie, iż rozpuszczalność w wodzie nie jest czynnikiem ograniczającym proces desorpcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów w badanym układzie. Ilość zdesorbowanych związków stanowi znikomą część (mniej niż 1%) teoretycznej ilości, która mogła się rozpuścić w danej objętości wody dla węglowodorów aromatycznych o niższej masie cząsteczkowej, natomiast dla związków o wyższej masie cząsteczkowej sięga maksymalnie 4% tej ilości. Dla związków z grupy PCB stężenie analitów oznaczonych w wodzie (po desorpcji z osadu) stanowi mniej niż 0,5% teoretycznej ilości, która mogła się rozpuścić w danej objętości wody.

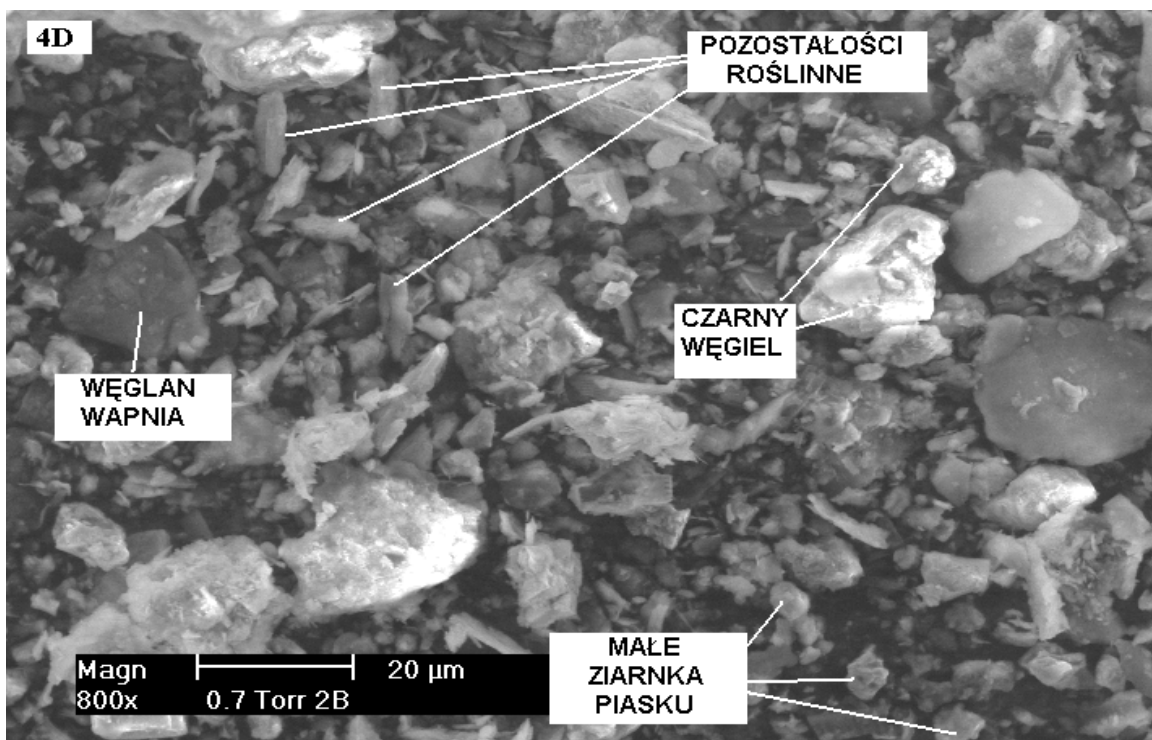
Należy przypomnieć, że wartości te są nieco zawyżone, ponieważ stosowana technika izolacji (ekstrakcja do fazy stałej - SPE) nie zapewnia ilościowego przebiegu izolacji jedynie rozpuszczonej formy specyficzynej tych związków.

Dodatkowo wykonano również zdjęcie próbki osadu wykorzystywanego w badaniach za pomocą środowiskowego elektronowego mikroskopu skaningowego (ESEM Philips – FEIXL 30), pracującego w temperaturze otoczenia i pod napięciem 15 kV. Próbkę oraz jej interpretację przygotowano w Katedrze Technologii Polimerów Wydziału Chemicznego (przy pomocy dr hab. inż. Heleny Janik). Obserwacja mikroskopowa została wykonana w Katedrze Inżynierii Materiałowej Wydziału Mechanicznego (obsługa mikroskopu: mgr inż. Jan Stryjewski).

Na podstawie wykonanego zdjęcia stwierdzono występowanie w badanej próbce czterech zasadniczych rodzajów cząstek:

- małe ziarnka piasku o wielkości od 1 do 20 μm , tworzące liczne aglomeraty;
- pałeczkowate pozostałości roślinne o długości od 2 do 15 μm , szerokości od 0,5 do 4 μm ;
- cząstki o ostrych krawędziach identyfikowane jako czarny węgiel o wymiarach od 5 do 25 μm ;
- nieliczne duże cząstki o zaokrąglonych, obłych krawędziach, prawdopodobnie węglan wapnia, o średnicy od 3 do 20 μm .

Powyższe cząstki zidentyfikowano na podstawie ich cech morfologicznych. Na ogół wygląd cząstek jest tak zróżnicowany, że cecha ta wystarczą do poprawnej ich identyfikacji. Aby potwierdzić powyższą identyfikację cząstek wskazane jest w przyszłości wrywkowe przeprowadzenie punktowej mikroanalizy chemicznej przy użyciu skaningowego mikroskopu elektronowego, bądź wykonanie badań z wykorzystaniem widm w podczerwieni.



Rysunek 45. Obraz cząstek wykorzystywanego w badaniach osadu uzyskany za pomocą skaningowego mikroskopu elektronowego (powiększenie 800 razy).

Uzyskane wyniki potwierdzają występowanie w badanym osadzie zarówno faz węglowych pochodzenia pirogenicznego odpowiedzialnych za adsorpcję zanieczyszczeń hydrofobowych, jak i cząstek zbudowanych z naturalnej materii organicznej (pozostałości roślinne o różnym stopniu rozkładu), na których powierzchni może zachodzić absorpcja zanieczyszczeń.

Przedstawione wyniki potwierdzają założenie o bardzo silnym charakterze wiązania związków z grupy WWA oraz nieco słabszym związków z grupy PCB do cząstek osadów dennych. W przypadku wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych jest to związane z ich „uwięzieniem” w fazach węglowych, a przede wszystkim w sadzy, co wynika z pirogenicznego pochodzenia analitów w próbkach badanego osadu (punkt 4.7.1.1 niniejszej pracy). Niska wydajność procesu desorpcji polichlorowanych bifenyli jest natomiast wynikiem procesu starzenia osadu, związanego z dyfuzją związków w głąb materii organicznej, będącej istotnym składnikiem osadów oraz do wnętrza porów matrycy nieorganicznej.

Tak więc, pomimo różnych mechanizmów procesów wiązania badanych związków do powierzchni cząstek osadów, sorpcja prowadzi do obniżenia stężenia w wodzie zarówno związków z grupy PCB jak i WWA oraz redukuje ich ruchliwość (mobilność), biodostępność

oraz procesy chemicznej i biologicznej degradacji. Na podstawie przedstawionych powyżej wyników badań modelowych procesu desorpcji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych oraz polichlorowanych bifenyli można postawić tezę, że **ryzyko związane z ewentualną remobilizacją badanych związków z osadów dennych jest niewielkie**, co jest uwarunkowane trwałym (silnym) związaniem analitów z cząstkami osadów, a tym samym ich niską mobilnością na granicy faz ciało stałe-woda.

5. Podsumowanie

Osady denne, deponowane na dnie rzek, jezior, mórz, zbiorników zaporowych i kanałów portowych są ważnym elementem ekosystemów wodnych. Stanowią one swoistą niszę ekologiczną, w której rozwijają się zwierzęta i rośliny żyjące na dnie wód, są również źródłem pokarmu dla niektórych organizmów wodnych.

Struktura osadów oraz ich rozwinięta powierzchnia czynią je naturalnym sorbentem, na którym zachodzi zatrzymywanie różnych składników, takich jak metale ciężkie oraz hydrofobowe zanieczyszczenia organiczne (lotne związki chlorowcoorganiczne, polichlorowane bifenyle, pestycydy, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, fenole).

Wiedza o tym, jak monitorować środowisko, ocena potencjalnych niebezpiecznych oddziaływań ksenobiotyków, określenie polityki dopuszczania do użytku nowych związków chemicznych oraz ustalanie priorytetów dla remediacji wymagają znajomości losu środowiskowego zanieczyszczeń. Dlatego poznanie zjawisk zachodzących na powierzchniach faz granicznych (woda-osad) lub w ich wnętrzu jest niezbędne do opisanie losu substancji toksycznych w środowisku.

Istotnym składnikiem osadów odpowiedzialnym za sorpcję hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych są składniki pochodzenia organicznego. Można je podzielić na dwie fazy: amorficzną (miękką, plastyczną) i skondensowaną (twardą, szklistą). Obydwie fazy są zdolne do wiązania zanieczyszczeń organicznych, jednak przy wykorzystaniu różnych mechanizmów. Faza amorficzna cechuje się elastycznymi wiązaniami o słabej sile oddziaływania z zanieczyszczeniami hydrofobowymi, natomiast faza skondensowana charakteryzuje się znaczną siłą oddziaływań z ksenobiotykami. Opisywane fazy cechuje różny wiek, budowa, pochodzenie, jak również zróżnicowana kinetyka procesów sorpcji/desorpcji. Znajomość lokalizacji oraz mechanizmu wiązania zanieczyszczeń w osadach dennych jest niezbędna zarówno w przypadku opracowywania procedur analitycznych służących do oznaczania analitów w próbkach środowiskowych, jak i do oceny stanu środowiska, do której to oceny owe procedury są konieczne.

Rozwój procedur analitycznych stosowanych do oznaczania wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych i polichlorowanych bifenyli w próbkach osadów był i nadal jest związany z próbami rozwiązywania pojawiających się problemów. Możliwość

zastosowania związków znaczonej izotopowo, w charakterze wzorców wewnętrznych, w wieloetapowej procedurze izolacji i oznaczania, znacznie przyczyniła się do poprawy dokładności i precyzji oznaczeń. W przypadku oznaczania analitów z grupy WWA i PCB w próbkach osadów należy zwrócić uwagę na następujące zagadnienia:

- **niższy współczynnik odpowiedzi spektrometru mas dla deuterowanych pochodnych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w przeciwieństwie do odpowiedzi uzyskiwanej dla analitów niedeuterowanych.** Wynika on prawdopodobnie z różnic w potencjale jonizacji związków deuterowanych oraz niedeuterowanych. Uwzględnienie współczynników odpowiedzi detektora dla deuterowanych i niedeuterowanych analitów we wzorze wykorzystywanym do oznaczeń ilościowych (patrz wzór /1/) pozwala uzyskać poprawne wyniki oznaczeń związków z grupy WWA w próbkach osadów.
- **sposób wprowadzania wzorca wewnętrznego do próbki osadu.** Wzorzec należy wprowadzać w taki sposób, by od chwili dodania do próbki do momentu oznaczeń końcowych zarówno analit jak i wzorzec wewnętrzny zachowywały się w podobny sposób, tzn. m.in. ulegały ekstrakcji w jednakowym stopniu. Aby spełnić ten warunek **konieczne jest dodawanie wzorca wewnętrznego techniką, która zapewnia wiązanie się z matrycą próbki w sposób jak najbardziej zbliżony do formy wiązania analitu w osadzie.** Dzięki temu dokładność wyników oznaczeń jest niezależna od stopnia odzysku, oczywiście w przypadku, gdy wartość otrzymywanego sygnału analitycznego jest większa od granicy oznaczalności stosowanej procedury. Uzyskane wyniki wskazują, że zwilżenie próbki osadu acetonem, wprowadzenie wzorców deuterowanych do acetonu, intensywne mieszanie próbki (w celu wyrównania stężenia wzorców w objętości próbki) i swobodne odparowanie acetonu (przez ok. 12 godz.) pozwala osiągnąć zbliżoną formę wiązania się dodawanych wzorców z matrycą osadu.
- **wpływ sposobu wiązania oznaczanych związków do cząstek osadów dennych na wydajność ekstrakcji analitów i związków dodawanych w charakterze wzorców wewnętrznych.** Anality z grupy WWA występują w osadach głównie w postaci zaadsorbowanej na powierzchni faz węglowych powstających w procesach spalania. W analogiczny sposób wiążą się z osadami związki deuterowane wykorzystywane w charakterze wzorców wewnętrznych, co skutkuje jednakową wydajnością procesu

ekstrakcji dla obu typów związków. Anality z grupy PCB są zwykle związane z materią amorficzną (absorpcja) i podlegają procesowi starzenia, co prowadzi do zmniejszenia efektywności ekstrakcji. Dekachlorobifenyl (PCB 209) dodawany jako wzorzec wewnętrzny nie podlega temu procesowi, co w efekcie powoduje, że wydajność jego ekstrakcji jest wyższa niż wydajność ekstrakcji oznaczanych związków z grupy PCB. Może to powodować zaniżanie wyników oznaczeń analitów z grupy PCB. Oczywiście należy pamiętać, że problem sposobu dodawania roztworów zawierających wzorce wewnętrzne do próbek osadów nie występuje, gdy wybrana technika izolacji zapewnia 100% wydajność ekstrakcji analitów.

- **stan kolumny chromatograficznej wykorzystywanej w trakcie analizy.** Dodatkowo należy zwrócić uwagę na fakt, że **pomimo oczyszczanie ekstraktów uzyskanych z próbek osadów** (z zastosowaniem powszechnie stosowanego frakcjonowania na żelu krzemionkowym i usuwania siarki z zastosowaniem złoża sproszkowanej miedzi), **pozostają w nich substancje oddziałujące z fazą stacjonarną kolumny chromatograficznej, co w efekcie końcowym prowadzi do stopniowego pogorszenia jej sprawności.** Dlatego w celu uzyskania poprawnych wyników oznaczeń konieczne jest, poza właściwym przygotowaniem próbek, również odpowiednie oczyszczanie kolumny z tych substancji, co można uzyskać wprowadzając do kolumny (pomiędzy kolejnymi analizami) próbki mieszaniny metanol:woda (1:1).

Zastosowanie techniki dodatku wzorca wewnętrznego, pomimo niewielkiej wydajności ekstrakcji analitów umożliwia uzyskanie dokładnych wyników o precyzji akceptowalnej przy analizie śladowej, oczywiście przy zachowaniu warunku jednakowej siły wiązania analitów i substancji dodawanych w charakterze wzorców wewnętrznych do składników cząstek osadów.

Technika ekstrakcji wykorzystywana w badaniach spełnia również wymogi „zielonej chemii analitycznej” ze względu na prostotę wykonania i niskie wymagania sprzętowe oraz niewielkie zużycie rozpuszczalników (około 3-5 mililitrów).

Określenie całkowitej zawartości zanieczyszczeń organicznych, takich jak wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne i polichlorowane bifenyle, w wodach powierzchniowych nie może być jednym źródłem informacji o ryzyku wywołanym ich obecnością. Informacje takie można natomiast uzyskać w przypadku przeprowadzenia badań

z zakresu fizycznej analityki specjacyjnej. Poprzez określenie formy, w jakiej występują zanieczyszczenia, daje ona odpowiedź na pytania dotyczące szkodliwości i możliwego ich wpływu na organizmy żywe, stając się podstawowym trendem rozwojowym analityki.

Wyniki przeprowadzonych badań procesu desorpcji analitów z grupy WWA i PCB w układzie osad/woda mogą stanowić podstawę do wyciągnięcia następujących wniosków:

- **w środowisku wodnym, dominującą postacią występowania związków z grupy WWA i PCB jest forma związana z materią zawieszoną i/lub koloidalną**, przy czym oszacowane wartości liczbowe współczynnika podziału stężenia związków w zawieszynie (osadzie) do stężenia w fazie wodnej przyjmują wartości rzędu $10^4 \text{ dm}^3/\text{kg}$;
- porównanie ilości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych i polichlorowanych bifenyli zdesorbowanych z osadów podczas badań modelowych wskazuje, że niezależnie od objętości wody zawartej w układzie uwalnia się podobna ilość analitów z grupy WWA i PCB;
- frakcja oznaczana jako „związki rozpuszczone” (przy wykorzystaniu jako techniki izolacji ekstrakcji do fazy stałej) jest w istocie sumą zawartości analitów w fazie wodnej oraz nieokreślonej części analitów związanych z osadem, którego cząstki dostają się do kolumny sorpcyjnej podczas procesu izolacji;
- związki z grupy WWA występują w osadach głównie w postaci związanej z powierzchnią cząstek zbudowanych z różnych form węgla (powstających głównie w procesach spalania), natomiast polichlorowane bifenyle są zwykle zaabsorbowane w materii o charakterze amorficznym (faza olejowa wprowadzana do środowiska wodnego wraz ze ściekami oraz materia organiczna powstająca w wyniku rozkładu materiału roślinnego);
- **zjawisko desorpcji z materii stałej do fazy wodnej występuje w ograniczonym zakresie**, a oznaczane w fazie wodnej poziomy stężeń analitów są znikomo niskie (poniżej 0,5% dla analitów z grupy PCB i poniżej 5% dla analitów z grupy WWA) w stosunku do ich rozpuszczalności w wodzie. **Można na tej podstawie stwierdzić, że ryzyko ponownego skażenia wód związane z remobilizacją wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych i polichlorowanych bifenyli jest niewielkie.**

6. Streszczenie

W pracy przedstawiono istotne zagadnienia związane z lokalizacją i sposobami wiązania zanieczyszczeń w osadach dennych oraz konsekwencjami tego dla opracowywanych metodyk analitycznych oraz stanu środowiska.

Na podstawie przeprowadzonych badań własnych oraz studiów literaturowych uzyskano następujące efekty:

- określono wpływ sposobu dodawania roztworu zawierającego wzorce wewnętrzne do próbek osadów oraz przebieg procesu ekstrakcji na wyniki oznaczeń analitów z grupy WWA i PCB;
- uzyskane wyniki zinterpretowano pod kątem składu i budowy osadów dennych;
- zbadano proces desorpcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów w warunkach modelowych;
- na tej podstawie udowodniono, że sposób wiązania analitów ma wpływ na skalę procesu desorpcji zanieczyszczeń i ryzyko związane z ich remobilizacją z osadów dennych.

Ponadto podjęto próbę wykorzystania gorącej wody jako rozpuszczalnika w procesie ekstrakcji analitów z grupy WWA i PCB z próbek osadów.

7. Dorobek naukowy

Publikacje

- L. Wolska, M. Rawa – Adkonis, **M. Gdaniec**, J. Namieśnik, *Critical evaluation of employment possibilities of the OTT technique for isolation of the PAHs and PCBs from samples of water*. Chem. Inż. Ekol., **12**, 611, 2005
- **M. Gdaniec**, L. Wolska, J. Namieśnik, *Specjacja fizyczna analitów z grupy WWA w środowisku wodnym*, Chem. Inż. Ekol., **12**, 455, 2005
- **M. Gdaniec**, L. Wolska, J. Namieśnik, *Physical speciation of polychlorinated biphenyls in the aquatic environment*, Trends Anal. Chem. **26**, 1005, 2007

Prace objęte procesem redakcyjnym

- **M. Gdaniec-Pietryka**, L. Wolska, P. Konieczka, J. Namieśnik, *Problems of PAH quantification by GC-MS method using isotope-labelled standard*, Talanta (przyjęta do druku)
- **M. Gdaniec-Pietryka**, L. Wolska, J. Namieśnik, *Estimation of risk associated with PAHs desorption (remobilization) from sediments*, Environmental Science and Technology (wysłana do redakcji)
- **M. Gdaniec-Pietryka**, L. Wolska, J. Namieśnik, *Estimation of risk associated with PCBs desorption (remobilization) from sediments*, International Journal of Environmental Analytical Chemistry (wysłane do redakcji)

Doniesienia konferencyjne

a) referaty, komunikaty, postery

- M. Rawa – Adkonis, L. Wolska, **M. Gdaniec**, J. Namieśnik, *Looking for new analytical methods of determination of polyaromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in water samples – sample preparation problems*, materiały 27th International Symposium on Capillary Chromatography, 31. 05 – 4. 06. 2004, Riva del Garda, Włochy, D-11 (brak numeracji stron)

- **M. Gdaniec**, M. Rawa-Adkonis, L. Wolska, J. Namieśnik, *Oznaczanie analitów z grupy WWA i PCB w próbkach wody. Źródła błędów i próba oszacowania ich wielkości.*, materiały VII Polskiej Konferencji Chemii Analitycznej, 3-7.07.2005, Toruń
- **M. Gdaniec**, M. Urbanowicz, L. Wolska, J. Namieśnik, *Determination of Establishing Equilibrium for PAHs in Water-Sediment System*, materiały 6th Balaton Symposium, 7-9.09.2005, Siofok, Węgry
- **M. Gdaniec-Pietryka**, L. Wolska, J. Namieśnik, *The influence of addition of internal standards on PAHs determination in sediment samples*, materiały 12th International Symposium on Separation Sciences, 27-29.09.2006, Lipica, Słowenia
- **M. Gdaniec-Pietryka**, L. Wolska, J. Namieśnik, *Analityka specjacyjna analitów z grupy WWA i PCB w środowisku wodnym*, II Seminarium Specjacyjne, 14.12.2006, Warszawa
- **M. Gdaniec-Pietryka**, *Specjacja fizyczna wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych i polichlorowanych bifenyli w środowisku wodnym*. Sesja Sprawozdawcza Studium Doktoranckiego przy Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, 25-26.09.2006, Gdańsk
- **M. Gdaniec-Pietryka**, L. Wolska, J. Namieśnik, *The influence of addition of internal standards on PCBs determination in sediment samples*, materiały 13th International Symposium on Separation Sciences, 27-29.06 2007, Štrbské Pleso, Słowacja
- **M. Gdaniec-Pietryka**, L. Wolska, J. Namieśnik, *Physical speciation of polychlorinated biphenyls in the aquatic environment*, materiały 50 ZJAZDU PTChem i SITPChem, 07-12 września 2007, Toruń
- **M. Gdaniec-Pietryka**, L. Wolska, J. Namieśnik, *Investigation of PAHs desorption in aquatic environment - model research*, materiały 35th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry, 22-26 czerwca 2008, Gdańsk
- A. Mechlińska, **M. Gdaniec-Pietryka**, L. Wolska, J. Namieśnik, *Hot water as alternative for organic solvents used in process of PCB's and PAH's extraction from sediment*, materiały 51 Zjazdu PTChem i SITPChem, 7-12 września 2008, Opole
- **M. Gdaniec-Pietryka**, A. Mechlińska, L. Wolska, J. Namieśnik, *Comparison of currently used extraction methods with a modern technique – hot water extraction, for isolation of PCB's and PAH's from sediment*, materiały 14th International

Symposium on Separation Sciences, 30 września-3 października 2008, Primosten, Chorwacja

b) wystąpienia ustne

- M. Gdaniec-Pietryka, *Analityka specjacyjna wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych*, Seminarium Katedralne, 16-17.04.2005, Sobieszewo
- M. Gdaniec-Pietryka, *Specjacja fizyczna wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w środowisku wodnym*, Sesja Sprawozdawcza Studium Doktoranckiego przy Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, 22-23.09.2005, Gdańsk
- M. Gdaniec-Pietryka, *Modelowe badania procesu desorpcji wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w układzie osad-woda*, 49 ZJAZD PTChem i SITPChem, 18-22 września 2006, Gdańsk
- M. Gdaniec-Pietryka, *Specjacja fizyczna wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w środowisku wodnym*. Sesja Sprawozdawcza Studium Doktoranckiego przy Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej, 24-25.09.2007, Gdańsk
- M. Gdaniec-Pietryka, *Próba oszacowania zagrożenia związanego z desorpcją (remobilizacją) związków z grupy PCB z osadów dennych*, 51 ZJAZD PTChem i SITPChem, 7-12 września 2008, Opole

Przyznane granty, stypendia i wyróżnienia

- stypendium naukowe za wyniki w nauce w roku 2007/2008

8. Literatura

1. Organisation for Economic Co-operation and Development. The state of the environment. OECD, Paris (1991)
2. Jones K. C., De Voogt P., Persistent organic pollutants (POPs): state of the science, *Environ. Pollut.*, **100**, 209-221 (1999)
3. Halsall C. J., Sweetman A. J., Barrie L. A., Jones K. C., Modelling the behaviour of PAHs during atmospheric transport from the UK to the Arctic, *Atmos. Environ.*, **35**, 255-267 (2001)
4. Weber K., Goerke H., Persistent organic pollutants (POPs) in antarctic fish: levels, patterns, changes, *Chemosphere*, **53**, 667-678 (2003)
5. De Swart R. L., Ross P. S., Vedder L. J., Timmerman H. H., Heisterkamp S. H., Van Loveren H., Vos J. G., Reijnders P. J. H., Osterhaus A. D. M. E., Impairment of immune function in harbor seals (*Phoca vitulina*) feeding on fish from polluted waters, *Ambio*, **23**, 155-159 (1994)
6. Vethaak A. D., Jol J. G., Meijboom A., Eggens M. L., Rheinallt T., Wester P. W., Van de Zande T., Bergman A., Dankers N., Ariese F., Baan R. A., Everts J. M., Opperhuizen A., Marquenie J. M., Skin and Liver Diseases Induced in Flounder (*Platichthys flesus*) after Long-term Exposure to Contaminated Sediments in Large-Scale Mesocosms, *Environ. Health Perspect.*, **104**, 1218-1229 (1996)
7. Vos J. G., Dybing E., Greim H. A., Ladefoged O., Lambre C., Tarazona J. V., Brandt I., Vethaak A. D., Health Effects of Endocrine-Disrupting Chemicals on Wildlife, with Special Reference to the European Situation, *Crit. Rev. Toxicol.*, **30**, 71-133 (2000)
8. De Jonge V. N., Essink K., Boddeke R., The Dutch Wadden Sea: a changed ecosystem *Hydrobiologia*, **265**, 45-71 (1993)
9. Reijnders P. J. H., Ries E. H., Tougaard S., Norgaard N., Heidemann G., Schwarz J., Vareschi E., Traut I. M., Population development of harbour seals *Phoca vitulina* in the Wadden Sea after the 1988 virus epizootic, *J. Sea Res.*, **38**, 161-168 (1997)
10. Schwarzenbach R. P., Gschwend P. M., Imboden D. M., *Environmental Organic Chemistry*; John Wiley & Sons, Inc.: New York (1993)
11. Mackay, D.; Shiu, W. Y.; Ma, K. C. *Illustrated handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals*. Vol. I and II.; Lewis Publishers: Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1992.
12. Hawker D. W., Connell D. W., Octanol-water partition coefficients of polychlorinated biphenyl congeners, *Environ. Sci. Technol.*, **22**, 382-38 (1988)
13. DeVoogt P., Wells D. E., Reutergardh L., Brinkman U. A. T., Review: Biological Activity, Determination and Occurrence of Planar, Mono- and Di-Ortho PCBs, *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, **40**, 1-46 (1990)
14. Safe S. H., Polychlorinated Biphenyls (PCBs): Environmental Impact, Biochemical and Toxic Responses, and Implications for Risk Assessment, *Crit. Rev. Toxicol.*, **24**, 87-149 (1994),
15. Shaw G. R., Connell D. W., Physicochemical properties controlling polychlorinated biphenyl (PCB) concentrations in aquatic organisms, *Environ. Sci. Technol.*, **18**, 18-23 (1984)
16. Willman E. J., Manchester N. J., Agrell C., Armstrong D. E., Influence of ortho-substitution homolog group on polychlorobiphenyl bioaccumulation factors and fugacity ratios in plankton and zebra mussels (*Dreissena polymorpha*), *Environ. Toxicol. Chem.*, **18**, 1380-1389 (1999)
17. U.S. Environmental Protection Agency. Industrial use and environmental distribution of PCBs. NTISPB 252-01
18. Falandysz J., *Polichlorowane bifenylo (PCBs) w środowisku: chemia, analiza, toksyczność, stężenia i ocena ryzyka*, Fundacja Rozwoju Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk (1999)
19. Environmental Health, *PCBs, PCDDs and PCDFs in breast milk: Assessment of health risks*, WHO Copenhagen, 29-34 (1988)

20. *Toxicological Profile for Polychlorinated Biphenyls*. U.S. Department of Health and Human Services. February 20, 1996
21. Nisbet I.C.T., Sarofim A.F., Rates and routes of transport of PCBs in the environment, *Environ. Health Perspect.*, **1**, 21-38 (1972)
22. Murk A. J., *Biomarkers for the assessment of exposure and sublethal effects of PHAHs in wildlife*. PhD thesis. Wageningen University. Wageningen, the Netherlands (1997)
23. Neff J. M., *Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Aquatic Environment: Sources, Fates and Biological Effects*, Applied Science Publishers: London (1979)
24. Kanaly, R. A., Harayama S. J., Biodegradation of High-Molecular-Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by Bacteria, *Bacteriol.* **182**, 2059-2067 (2000)
25. Pelletier M. C., Burgess R. M., Ho K. T., Kuhn A., McKinney R. A., Ryba S. A., Phototoxicity of individual polycyclic aromatic hydrocarbons and petroleum to marine invertebrate larvae and juveniles, *Environ. Toxicol. Chem.*, **16**, 2190-2199 (1997)
26. Kochany J., Maguire R. J., Abiotic transformations of polynuclear aromatic hydrocarbons and polynuclear aromatic nitrogen heterocycles in aquatic environments, *Sci. Total Environ.*, **144**, 17-31 (1994)
27. Behnisch P. A., Hosoe K., Sakai S., Brominated dioxin-like compounds: in vitro assessment in comparison to classical dioxin-like compounds and other polyaromatic compounds, *Environ. Int.*, **29**, 861-877 (2003)
28. Machala M., Vondracek J., Blaha L., Ciganek M., Neca J., Aryl hydrocarbon receptor-mediated activity of mutagenic polycyclic aromatic hydrocarbons determined using in vitro reporter gene assay, *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, **497**, 49-62 (2001)
29. Van Wezel A. P., Opperhuizen, A., Narcosis Due to Environmental Pollutants in Aquatic Organisms: Residue-Based Toxicity, Mechanisms, and Membrane Burdens, *Crit. Rev. Toxicol.* **25**, 255-279 (1995)
30. Lijklema L., Koelmans A. A., Portielje R., Water quality impacts of sediment pollution and the role of early diagenesis, *Water Sci. Technol.* **28**, 1-12 (1993)
31. Beurskens J. E. M., Stortelder P. B. M., Microbial transformation of PCBs in sediments: What can we learn to solve practical problems? *Water Sci. Technol.* **31**, 99-107 (1995)
32. Coates J. D., Woodward J., Allen J., Philp P., Lovley D. R., Anaerobic degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons and alkanes in petroleum-contaminated marine harbor sediments, *Appl. Environ. Microbiol.*, **63**, 3589-3593 (1997)
33. Rothermich M. M., Hayes L. A., Lovley D. R., Anaerobic, Sulfate-Dependent Degradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Petroleum-Contaminated Harbor Sediment, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 4811-4817 (2002)
34. Atlas R. M., Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective, *Microbiol. Rev.*, **45**, 180-209 (1981)
35. Ościk J., *Adsorpcja*, Warszawa, PWN (1979)
36. Oleszczuk P., Biodostępność i bioakumulacja hydrofobowych zanieczyszczeń organicznych. Część II. Sorpcja zanieczyszczeń oraz czynniki wpływające na ten proces, *Biotechnologia*, **76**, 26-39 (2007)
37. Jonker M. O., Koelmans A. A., Sorption of PAHs and Pcb's to soot and soot-like materials in the aqueous environment: Mechanistic Considerations, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 3725-3734 (2002)
38. Xing B., Pignatello J. J., Gigliotti B., Competitive Sorption between Atrazine and Other Organic Compounds in Soils and Model Sorbents, *Environ. Sci. Technol.*, **30**, 2432-2440 (1996)
39. Weber W. J., McGinley P. M., Katz L. E., A Distributed Reactivity Model for Sorption by Soils and Sediments. 1. Conceptual Basis and Equilibrium Assessments, *Environ. Sci. Technol.*, **26**, 1955-1962 (1992)
40. Huang W., Peng P., Yu Z., Fu J., Effects of organic matter heterogeneity on sorption and desorption of organic contaminants by soils and sediments, *Appl. Geochem.*, **18**, 955-972 (2003)

41. Weber W. J., Huang W., LeBoeuf E. J., Geosorbent organic matter and its relationship to the binding and sequestration of organic contaminants, *Colloids Surf. A*, **151**, 167-179 (1999)
42. Karickhoff, S. W.; Brown, D. S.; Scott, T. A. Sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments, *Water Res.*, **13**, 241-248 (1979)
43. Munz C., Roberts P. V., Effect of solute concentration and cosolvents on the aqueous activity coefficient of halogenated hydrocarbons, *Environ. Sci. Technol.*, **20**, 830-836 (1986)
44. Ehlers G. A. C., Loibner A. P., Linking organic pollutant (bio)availability with geosorbent properties and biomimetic methodology: A review of geosorbent characterisation and (bio)availability prediction, *Environ. Pollut.*, **141**, 494-512 (2006)
45. Werth C. J., Reinhard M., Effects of Temperature on Trichloroethylene Desorption from Silica Gel and Natural Sediments. 2. Kinetics, *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 697-703 (1997)
46. Wersha, R. L., Model for humus in soils and sediments, *Environ. Sci. Technol.*, **27**, 814-8016 (1993)
47. Schulten H. R., The three-dimensional structure of humic substances and soil organic matter studied by computative analytical chemistry, *Fres. J. Anal. Chem.*, **351**, 62-73 (1995)
48. Grathwohl P., Influence of organic matter from soils and sediments from various origins on the sorption of some chlorinated aliphatic hydrocarbons: implications on KOC correlations, *Environ. Sci. Technol.*, **24**, 1687-1693 (1990)
49. Xing B., McGill W.B., Dudas M.J., Cross-correlation of polarity curves to predict partition coefficients of non-ionic organic contaminants, *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 1929-1933 (1994)
50. Weber Jr. W.J., LeBoeuf E.J., Young T.M., Huang W., Contaminant interactions with geosorbent organic matter: insights drawn from polymer sciences, *Water Res.*, **35**, 853-868 (2001)
51. Schnitzer M., Humic Substances: Chemistry and Reactions. W: Schnitzer M., Khan S.U., *Soil Organic Matter*, Elsevier, Amsterdam (1978)
52. Stevenson, F.J., *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reaction*. John Wiley & Sons, New York (1994)
53. Mao J.-D., Xing B., Schmidt-Rohr K., New structural information on a humic acid from two-dimensional ¹H-¹³C correlation solid-state nuclear magnetic resonance, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 1928-1934 (2001)
54. Christl I., Kretzschmar R., Relating ion binding by fulvic and humic acids to chemical composition and molecular size. 1. Proton binding, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 2505-2511 (2001)
55. Cabaniss S.E., Zhou Q.H., Maurice P.A., Chin Y.P., Aiken G.R., A log-normal distribution model for the molecular weight of aquatic fulvic acids, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 1103-1109 (2000)
56. Van Noort P. C. M., Cornelissen G., Ten Hulscher T. E. M., Vrind B. A., Rigterink H., Belford A., Slow and very slow desorption of organic compounds from sediment: influence of sorbate planarity, *Water Res.*, **37**, 2317-2322 (2003)
57. Ghosh U., Zimmerman J. R., Luthy R. G., PCB and PAH Speciation among Particle Types in Contaminated Harbor Sediments and Effects on PAH Bioavailability, *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 2209-2217 (2003)
58. Karickhoff S. W., Morris K. R., Impact of Tubificid Oligochaetes on Pollutant Transport in Bottom Sediments, *Environ. Sci. Technol.*, **19**, 51-56 (1985)
59. Reible D. D., Popov V., Valsaraj K. T., Thibodeaux L. J., Lin F., Dikshit M., Todaro M. A., Fleeger J., W. Contaminant fluxes from sediment due to tubificid oligochaete bioturbation, *Water Res.*, **30**, 704-714 (1996)
60. Aiken G.R., McKnight D.M., Wershaw R.L., MacCarthy P., *Humic Substances in Soil, Sediment, and Water: Geochemistry, Isolation, and Characterization*. Wiley-Interscience, New York (1985)

61. Lyon W.G., Swelling of peats in liquid methyl, tetramethylene and propyl sulfoxides and in liquid propyl sulfone, *Environ. Toxic. Chem.*, **14**, 229–23 (1995)
62. LeBoeuf E.J., Weber Jr. W.J., Macromolecular characteristics of natural organic matter: 1. Insights from glass transitions and enthalpy relaxations, *Environ. Sci. Technol.* **34**, 3623–3631 (2000)
63. LeBoeuf E.J., Weber Jr. W.J., A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments: 8. Identification of a humic acid glass transition and a logic for invoking polymer sorption theory, *Environ. Sci. Technol.* **3**, 1697–1702 (1997)
64. LeBoeuf E.J., Weber Jr. W.J., Macromolecular characteristics of natural organic matter: 2. Sorption and desorption behavior, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 3632–3640 (2000)
65. Young K.D., LeBoeuf E.J., Glass transition behavior of a peat humic acid and a stream fulvic acid, *Environ. Sci. Technol.* **34**, 4549–4553 (2000)
66. Kopinke F.D., Georgi A., Mackenzie K., Sorption of Pyrene to Dissolved Humic Substances and Related Model Polymers. 1. Structure-Property Correlation, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 2536-2542 (2001)
67. Mader B. T., UweGoss K., Eisenreich S. J., Sorption of Nonionic, Hydrophobic Organic Chemicals to Mineral Surfaces, *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 1079-1086 (1997)
68. Ghosh U., Gillette J. S., Luthy R. G., Zare R. N., Microscale location, characterization, and association of polycyclic aromatic hydrocarbons on harbor sediment particles, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 1729-1736 (2000)
69. Karickhoff S. W., Organic pollutant sorption in aquatic systems, *J. Hydraul. Eng.* **110**, 707-735 (1984)
70. Loehr R. C.; Webster M. T. J., Behaviour of fresh vs. aged chemicals in soil, *Soil Contam.*, **5**, 361-383 (1996)
71. Pignatello J. J., Xing B. S., Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles, *Environ. Sci. Technol.*, **30**, 1-11 (1996)
72. Wu S. C.; Gschwend P. M., Sorption kinetics of hydrophobic organic compounds to natural sediments and soils, *Environ. Sci. Technol.*, **20**, 717-725 (1986)
73. Cornelissen G., *Mechanism and consequences of slow desorption of organic compounds from sediments*, PhD thesis. University of Amsterdam. Amsterdam, the Netherlands (1999)
74. Brusseau M. L.; Rao P. S. C., Sorption nonideality during organic contaminant transport in porous media, *Crit. Rev. Environ. Control*, **19**, 33-99 (1989)
75. Alexander M., How Toxic Are Toxic Chemicals in Soil?, *Environ. Sci. Technol.*, **29**, 2713-2717 (1995)
76. Xing B. S., Pignatello J., Dual-Mode Sorption of Low-Polarity Compounds in Glassy Poly(Vinyl Chloride) and Soil Organic Matter, *J. Environ. Sci. Technol.*, **31**, 792-799 (1997)
77. Pignatello J., Soil organic matter as a nanoporous sorbent of organic pollutants, *Adv. Colloid Interface Sci.*, **76-77**, 445-467 (1998)
78. Koelmans A. A., Gillissen F., Makatita W., Van den Berg M., Organic carbon normalisation of PCB, PAH and pesticide concentrations in suspended solids, *Water Res.*, **31**, 461-470 (1997)
79. Song J., Peng P., Huang, W., Black carbon and kerogen in soils and sediments: 1. Quantification and characterization. *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 3960–3967 (2002)
80. Accardi-Dey A., Gschwend P.M., Assessing the combined roles of natural organic matter and black carbon as sorbents in sediments, *Environ. Sci. Technol.*, **36**, 21–29 (2002)
81. Durand B., *Kerogen: Insoluble Organic Matter from Sedimentary Rocks*, Technip, Paris (1980)
82. Karapanagioti H.K., Childs J., Sabaini D., Impacts of heterogeneous organic matter on phenanthrene sorption: different soil and sediment samples, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 4684–4698 (2001)
83. Karapanagioti H.K., Kleinedam S.E., Sabatini D.A., Grathwohl P., Ligouis B.D., Impacts of heterogeneous organic matter on phenanthrene sorption: equilibrium and kinetic studies with aquifer material, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 406–414 (2000)

84. Goldberg E.D., *Black Carbon in the Environment: Properties and Distributions*, John Wiley & Sons, New York (1985)
85. Donnet J.-B., Bansal R.C., Wang M.J., *Carbon Black*. Marcel Dekker, New York (1993)
86. Tissot, B.P., Welte D.H., *Petroleum Formation and Occurrence*, Springer-Verlag, New York (1984)
87. Engel M.H., Macko S.A., *Organic Geochemistry: Principles and Applications*, Plenum Press, New York (1993)
88. Cornelissen G., Gustafsson Ó., Bucheli T. D., Jonker M. T. O., Koelmans A. A., Van Noort P. C. M., Extensive Sorption of Organic Compounds to Black Carbon, Coal, and Kerogen in Sediments and Soils: Mechanisms and Consequences for Distribution, Bioaccumulation, and Biodegradation, *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 6881-6895 (2005)
89. Binger C.A., Martin J.P., Allen-King R.M., Fowler M., Variability of chlorinated-Organic solvent sorption associated with oxidative weathering of kerogen, *J. Contam. Hydrol.*, **40**, 137–158 (1999)
90. Chiou C.T., Porter P.E., Schmedding D.W., Partition equilibria of nonionic organic compounds between soil organic matter and water, *Environ. Sci. Technol.*, **17**, 227–231 (1983)
91. Weber Jr. W.J., DiGiano F.A., *Process Dynamics in Environmental Systems*. Wiley-Interscience, New York (1996)
92. Xiao B., Yu Z., Peng P., Song J., Huang W., 2002. Black carbon and kerogen in soils and sediments: 2. Their role in phenanthrene and naphthalene sorption equilibria, *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 5842-5852 (2004)
93. Kilduff J.E., Wigton A., Sorption of TCE by humic preloaded activated carbon: incorporating size-exclusion and pore blockage phenomena in a competitive adsorption model, *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 250–256 (1999)
94. Weber Jr. W.J., Miller C.T., Modeling the sorption of hydrophobic contaminants by aquifer materials: I. Rates and equilibria, *Water. Res.* **22**, 457–464 (1988)
95. Holmen, B.A., Gschwend, P.M., 1997. Estimating sorption rates of hydrophobic organic compounds in iron oxide- and aluminosilicate clay-coated aquifer sands. *Environ. Sci. Technol.* **31**, 105–113.
96. Huang, W., Weber Jr., W.J., 1998. A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments. 11: Slow concentration-dependent sorption rates. *Environ. Sci. Technol.* **32**, 3549–3555.
97. Cornelissen G., Van Noort P.M., Govers H.J., Mechanism of slow desorption of organic compounds from sediments: a study using model sorbents, *Environ. Sci. Technol.*, **32**, 3124–3131 (1998)
98. Rogner K.N., Kleineidam S.E., Grathwohl P., Longterm sorption kinetics of phenanthrene in aquifer materials, *Environ. Sci. Technol.* **33**, 1645–1651 (1999)
99. Johnson M.D., Keinath II T.M., Weber Jr. W.J., A distributed reactivity model for sorption by soils and sediments. 14. Characterization and modeling of phenanthrene desorption rates, *Environ. Sci. Technol.* **5**, 1688–1695 (2001)
100. Ball W.P., Roberts P.V., Long-term sorption of halogenated organic chemicals by aquifer materials: Part 2. Intraparticle diffusion, *Environ. Sci. Technol.*, **25**, 1237–1249 (1991)
101. Lueking A.D., Huang W., Soderstrom-Schwarz S., Kim M., Weber Jr. W.J., The chemical structure of soil/sediment organic matter and its role in the sequestration and bioavailability of sorbed organic contaminants, *J. Environ. Qual.* **29**, 317–323 (2000)
102. Carroll K.M., Harkness M.R., Bracco A.A., Balcarcel R.R., Application of a permeate/polymer diffusional model to desorption of polychlorinated biphenyls from Hudson River sediments, *Environ. Sci. Technol.* **28**, 253–258 (1994)
103. Farrell J., Reinhard M., Desorption of halogenated organics from model solids, sediments, and soil under unsaturated conditions: 2. Kinetics, *Environ. Sci. Technol.* **28**, 63–72 (1994)

104. Doong R., Lin Y., Characterization and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminations in surface sediment and water from Gao-ping River, Taiwan, *Water Res.*, **38**, 1733-1744 (2004)
105. Blanco E.V., Mahía P.L., Lorenzo S.M., Rodríguez D.P., Fernández E.F., Optimization of microwave-assisted extraction of hydrocarbons in marine sediments: comparison with the Soxhlet extraction method, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **366**, 283-288 (2000)
106. Dean J.R., Xiong G., Extraction of organic pollutants from environmental matrices: selection of extraction technique, *Trends Anal. Chem.*, **19**, 553-564 (2000)
107. Gfrerer M., Serschen M., Lankmayr E., Optimized extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soil samples, *J. Biochem. Biophys. Methods*, **53**, 203-216 (2002)
108. Friedrich C., Kleibohmer W., Supercritical CO₂-assisted liquid extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated dibenzo-p-dioxins and -furans from solid matrices., *J. Chromatogr. A.*, **777**, 289-294 (1997)
109. Budzinski H., Letellier M., Thompson S., LeMenach K., Garrigue P., Combined protocol for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and polychlorobiphenyls (PCBs) from sediments using focussed microwave assisted (FMW) extraction at atmospheric pressure, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **367**, 165-171 (2000)
110. Budzinski H., Letellier M., Garrigues P., Le Menach K., Optimisation of the microwave-assisted extraction in open cell of polycyclic aromatic hydrocarbons from soils and sediments. Study of moisture effect, *J. Chromatogr. A.*, **837**, 187-200 (1999)
111. Bjoerklund E., Nilsson T., Bøwadt S., Pressurised liquid extraction of persistent organic pollutants in environmental analysis, *Trends Anal. Chem.*, **19**, 434-445 (2000)
112. Kima J.H., Moon J.K., Li Q.X., Choc J.Y., One-step pressurized liquid extraction method for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Anal. Chim. Acta.*, **498**, 55-60 (2003)
113. Dąbrowski Ł., Giergielewicz-Mozajska H., Biziuk M., Gaca J., Namieśnik J., Some aspects of the analysis of environmental pollutants in sediments using pressurized liquid extraction and gas chromatography–mass spectrometry, *J. Chromatogr. A.*, **957**, 59-67 (2002)
114. Namieśnik J., Zygmunt B., Biziuk M., Wiergowski M., Torres L., Organic pollutants of soils and sediments. Methods of sample preparation and isolation-preconcentration of analytes prior to their final determination, *Pol. J. Environ. Stud.*, **5**, 5-25 (1996)
115. Noordkamp E.R., Grotenhuis J.T.C. i Rulkens W.H.: *Chemosphere*, 1997, **35**, 1907-1917. Selection of an efficient extraction method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in contaminated soil and sediment
116. Mitra S., Dellapenna T.M. i Dickhut R.M.: *Estuarine, Coastal and Shelf Sci.*, 1999, **49**, 311-326. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Distribution within Lower Hudson River Estuarine Sediments: Physical Mixing vs Sediment Geochemistry
117. Fuoco R., Colombini M.P. i Ceccarini A., Analytical quality control for the determination of polychlorobiphenyls in environmental matrices, *Mikrochim. Acta*, **123**, 175-183 (1996)
118. Majors R.E., *Sample Prep Perspectives: Trends in Sample Preparation*, *LC-GC Int.*, **9**, 638-645 (1996,
119. Namieśnik J., Górecki T., Preparation of Environmental Samples for the Determination of Trace Constituents, *Pol. J. Environ. Stud.*, **10**, 77-84 (2001)
120. Kjeller L. O., Jonsson B., Kulp S. E., Rappe C., Methodology for the Determination of Polyhalogenated Dibenzo-p-Dioxins and Dibenzofurans in Sediment Samples, *Toxicol. Environ. Chem.*, **39**, 1-12 (1993)
121. Filipkowska, A., Lubecki, L., Kowalewska G., Polycyclic aromatic hydrocarbon analysis in different matrices of the marine environment, *Anal. Chim. Acta*, **547**, 243- 254 (2005)
122. Jira W., A GC/MS method for the determination of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in smoked meat products and liquid smokes, *Eur. Food Res. Technol.*, **218**, 208-212 (2004)

123. Boden A.R., Reiner E.J., Development of an isotope-dilution gas chromatographic-mass spectrometric method for the analysis of polycyclic aromatic compounds in environmental matrices, *Polycyclic Aromat. Compd.*, **24**, 309-323 (2004)
124. Quinn T.J., Primary methods of measurement and primary standards, *Metrologia*, **34**, 61-65 (1997)
125. Ellerbe P., Meiselman S., Sniegowski L.T., Welch, M.J., White V, E., Determination of serum cholesterol by a modification of the isotope dilution mass spectrometric definitive method, *Anal. Chem.*, **61**, 1718-1723 (1989)
126. Albro P. W. Validation of extraction and cleanup procedures for environmental analysis. In: Environmental health chemistry. The butterworth group; (1980) s. 163
127. Haddock J.D., Landrum P.F., Glesy J.P., Extraction efficiency of anthracene from sediments., *Anal. Chem.*, **55**, 1197-1200 (1983)
128. Kjeller L. O., Fresenius J., Addition of internal standards to particulate sample matrices for routine trace analyses of semivolatile organic compounds: A source of systematic and random errors, *Anal. Chem.*, **361**, 791-796 (1998)
129. Burford M.D., Hawthorne S.B., Miller D.J., Extraction rates of spiked versus native PAHs from heterogeneous environmental samples using supercritical fluid extraction and sonication in methylene chloride, *Anal. Chem.*, **65**, 1497-1505 (1993)
130. Itoh N., Numata M., Aoyagi Y., Yarita T., Comparison of the behavior of ¹³C- and deuterium-labeled polycyclic aromatic hydrocarbons in analyses by isotope dilution mass spectrometry in combination with pressurized liquid extraction, *J. of Chromatogr. A*, **1138**, 26-31 (2007)
131. Notar M., Leskovšek H., Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediments using a new ASE-SFE extraction technique, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **366**, 846-850 (2000)
132. Wang X-Ch., Zhang Y-X., Chen R., Distribution and partitioning of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in different size fractions in sediments from Boston harbor, United States, *Marine Poll. Bull.*, **42**, 1139-1149 (2001)
133. Yang Y., Ratte D., Smets B.F., Pignatello J.J., Grasso D., Mobilization of soil organic matter by complexing agents and implication for polycyclic aromatic hydrocarbon desorption, *Chemosphere*, **43**, 1013-1021 (2001)
134. Booij K., Hoedemaker J.R., Bakker J. F., Dissolved PCBs, PAHs, and HCB in Pore Waters and Overlying Waters of Contaminated Harbor Sediments, *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 4213-4220 (2003)
135. Ahrens M.J., Depree C.V., Inhomogeneous distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in different size and density fractions of contaminated sediment from Auckland Harbour, New Zealand: an opportunity for mitigation, *Marine Poll. Bull.*, **48**, 341-350 (2004)
136. Arzayus K.M., Dickhut R.M., Canuel E.A., Effects of physical mixing on the attenuation of polycyclic aromatic hydrocarbons in estuarine sediments, *Organic Geochemistry*, **33**, 1759-1769 (2002)
137. Gustafsson, O., Haghseta, F., Chan, C., MacFarlane, J., Gschwend, P. M., Quantification of the Dilute Sedimentary Soot Phase: Implications for PAH Speciation and Bioavailability, *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 203-209 (1997)
138. Sawada A., Kanai K., Fukushima M., Preparation of artificially spiked soil with polycyclic aromatic hydrocarbons for soil pollution analysis, *Anal. Sci.*, **20**, 239-241 (2004)
139. Northcott G., Jones K., Partitioning, Extractability, and Formation of Nonextractable PAH Residues in Soil. 1. Compound Differences in Aging and Sequestration, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 1103-1110 (2001)
140. Raport Światowej Komisji Środowiska i Rozwoju (Raport Brundtlanda) (1987)
141. Smith R. M., Extractions with superheated water, *J. of Chrom. A*, **975**, 31-46 (2002)
142. Rodil R., Popp P., Development of pressurized subcritical water extraction combined with stir bar sorptive extraction for the analysis of organochlorine pesticides and chlorobenzenes in soils, *J. of Chrom. A*, **1124**, 82-90 (2006)

143. Hawthorne S.B., Yang Y., Miller D.J., Extraction of Organic Pollutants from Environmental Solid with Sub- and Supercritical Water, *Anal. Chem.*, **66**, 2912-2920 (1994)
144. Yang Y., Bøwadt S., Hawthorne S.B., Miller D.J., Subcritical Water Extraction of Polychlorinated Biphenyls from Soil and Sediment, *Anal. Chem.*, **67**, 4571-4576 (1995)
145. Crescenzi C., D'Ascenzo G., Di Corcia A., Nazzari M., Marchese S., Samperi R., Multiresidue Herbicide Analysis in Soil: Subcritical Water Extraction with an On-Line Sorbent Trap, *Anal. Chem.* **71**, 2157-2163 (1999)
146. Ayala R.S., Luque de Castro M.D., Continuous subcritical water extraction as a useful tool for isolation of edible essential oils, *Food Chem.*, **75**, 109-113 (2001)
147. Kubatova A., Lagadec A.J.M., Miller D.J., Hawthorne S.B., Selective extraction of oxygenates from savory and peppermint using subcritical water, *Flavour. Fragr. J.*, **16**, 64-73 (2001)
148. Yang Y., Belghazi M., Lagadec A., Miller D.J., Hawthorne S.B., Elution of organic solutes from different polarity sorbents using subcritical water, *J. Chromatogr. A*, **810**, 149-159 (1998)
149. Miller D.J., Hawthorne S.B., Gizir A.M., Clifford A.A., Solubility of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Subcritical Water from 298 K to 498 K, *J. Chem. Eng. Data*, **43**, 1043-1047 (1998)
150. Miller D.J., Hawthorne S.B., Method for Determining the Solubilities of Hydrophobic Organics in Subcritical Water, *Anal. Chem.*, **70**, 1618-1621 (1998)
151. Curren M.S.S., King J.W., Solubility of Triazine Pesticides in Pure and Modified Subcritical Water, *Anal. Chem.*, **73**, 740-745 (2001)
152. Young T.E., Ecker S.T., Synovec R.E., Hawley N.T., Lomber, J.P., Wai C.N., Bonded stationary phases for reversed phase liquid chromatography with a water mobile phase: application to subcritical water extraction, *Talanta*, **45**, 1189-1196 (1998)
153. Van Bavel B., Hartonen K., Rappe C., Riekkola M.-L., Pressurised hot water/steam extraction of polychlorinated dibenzofurans and naphthalenes from industrial soil, *Analyst*, **124**, 1351-1354 (1999)
154. Yang Y., Hawthorne S.B., Miller D.J., Class-selective extraction of polar and nonpolar organics from hydrocarbon wastes using subcritical water, *Environ. Sci. Technol.*, **31**, 430-446 (1997)
155. McGowin A.E., Adom K.K., Obubuafo A.K., Screening of compost for PAH and pesticides using static subcritical water extraction, *Chemosphere*, **45**, 857-864 (2001)
156. Fernandez-Perez V., Luque de Castro M.D., Micelle formation for improvement of continuous subcritical water extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil prior to high-performance liquid chromatography–fluorescence detection, *J. Chromatogr. A*, **902**, 357-367 (2000)
157. Hawthorne S.B., Grabanski C.B., Martin E., Miller D.J., Comparisons of Soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix, *J. Chromatogr. A*, **892**, 421-433 (2000)
158. Hawthorne S.B., Trembley S., Moniot C.L., Grabanski, C.B., Miller D.J., Static subcritical water extraction with simultaneous solid-phase extraction for determining polycyclic aromatic hydrocarbons on environmental solids, *J. Chromatogr. A*, **886**, 237-244 (2000)
159. Hyotylainen T., Andersson T., Hartonen K., Kuosmanen K., Riekkola M.-L., Pressurised hot water extraction coupled on-line with liquid chromatography–gas chromatography: determination of polyaromatic hydrocarbons in sediment, *Anal. Chem.*, **72**, 3070-3080 (2000)
160. Hartonen K., Meissner G., Kesala T., Riekkola M.-L., Pressurized Hot Water Extraction (PHWE) of n-Alkanes and Polyaromatic Hydrocarbons (PAHs): Comparison for PAHs with Supercritical Fluid Extraction, *J. Microcol. Sep.*, **12**, 412-418 (2000)
161. Lagadec A.J.M., Miller D.J., Lilke A.V., Hawthorne S.B., Pilot-Scale Subcritical Water Remediation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon- and Pesticide-Contaminated Soil, *Environ. Sci. Technol.*, **34**, 1542-1548 (2000)

162. Pross S., Gau W., Wenclawiak B.W., Extraction of polychlorinated biphenyl with supercritical carbon dioxide, sulfur hexafluoride and subcritical water, *Fresenius J. of Anal. Chem.*, **367**, 89-90 (2000)
163. Hawthorne S.B., Grabanski C.B., Hageman K.J., Miller D.J., Simple method for estimating polychlorinated biphenyl concentrations on soils and sediments using subcritical water extraction coupled with solid-phase microextraction, *J. of Chromatogr. A*, **814**, 151-160 (1998)
164. Daimon H., Pawliszyn J., High temperature water extraction combined with solid phase microextraction, *Anal. Commun.*, **33**, 421-424 (1996)
165. Kipp S., Peyrer H., Kleibohmer W., Coupling superheated water extraction with enzyme immunoassay for an efficient and fast PAH screening in soil, *Talanta*, **46**, 385-393 (1998)
166. Yak H.K., Wenclawiak B.W., Cheng I.F., Doyle J.G., Wai C.M., Reductive dechlorination of polychlorinated biphenyls by zerovalent iron in subcritical water, *Environ. Sci. Technol.*, **33**, 1307-1312 (1999)
167. Yang Y., Li B., Subcritical Water Extraction Coupled to High-Performance Liquid Chromatography, *Anal. Chem.*, **71**, 1491-1495 (1999)
168. Carbias – Martinez R., Rodriguez – Gonzalo E., Revilla – Ruiz P. Hernandez – Mendez J., Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples, *J. of Chrom. A*, **1089**, 1-17 (2005)
169. Wolska L., Miniaturised analytical procedure of determining polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated biphenyls in bottom sediments, *J. Chromatogr.* **959**, 173-180 (2000)
170. EPA Method 1668:1999, Revision A: Chlorinated Biphenyl Congeners in Water, Soil, Sediment, and Tissue by HRGC/HRMS
171. Budzinski, H.; Jones, I.; Bellocq, J.; Pierard, C.; Garrigues, P. *Marine Chem.* **1997**, *58*, 85-97.
172. Chen Y., Zhu L., Zhou R., Characterization and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbon in surface water and sediment from Qiantang River, China, *J. Hazard. Mater.*, **141**, 148–155 (2007)
173. Jonker M. T. O., Koelmans A. A., Extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Soot and Sediment: Solvent Evaluation and Implications for Sorption Mechanism, *Environ. Sci. Technol.*, **36** (19), 4107 -4113 (2002)
174. Zougagh M., Valcarcel M., Rios A., Supercritical fluid extraction: a critical review of its analytical usefulness, *Trends Anal. Chem.*, **23**, 399-405 (2004)
175. Siskin M. Katritzky A.R., A review of the reactivity of organic compounds with oxygen-containing functionality in superheated water, *J. Anal. Appl. Pyrol.*, **54**, 193-214 (2000).
176. Siskin M., Katritzky A.R., Reactivity of organic compounds in superheated water: general background, *Chem. Rev.*, **101**, 825-835 (2001)
177. Hawthorne S.B., Grabanski C.B., Martin E., Miller D.J., Comparisons of Soxhlet extraction, pressurized liquid extraction, supercritical fluid extraction and subcritical water extraction for environmental solids: recovery, selectivity and effects on sample matrix, *J. Chromatogr. A*, **892**, 421–433 (2000)
178. Kronholm J., Kuosmanen T., Hartonen K., Riekkola M-L., Destruction of PAHs from soil by using pressurized hot water extraction coupled with supercritical water oxidation, *Waste Management*, **23**, 253–260 (2003)
179. Haglund P., Asplund L., Jarnberg U., Jansson B., Isolation of toxic polychlorinated biphenyls by electron donor-acceptor high-performance liquid chromatography on a 2-(1-pyrenyl)ethyltrimethylsilylated silica column, *J. Chromatogr. A*, **507**, 389-398 (1990)
180. Law J. R., Biscaya J. L., Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH)-problems and progress in sampling, analysis and interpretation, *Mar. Poll. Bull.*, **29**, 235-241 (1994)
181. Bartulewicz J., Bartulewicz E., Gawłowski J.: GC-MS i HPLC z detektorem diodowym w analizie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w próbkach środowiskowych.,

Materiały sympozium, Związki organiczne w środowisku i metody ich oznaczania, 12-16 maja 1997, Jachranka, s.105

182. Fuoco R., Colombini M. P., Ceccarini A., Analytical quality control for the determination of polychlorobiphenyls in environmental matrices, *Mikrochim. Acta*, **123**, 175-183 (1996)
183. Bjorklund E., Nilsson T., Bøwadt S., Pilorz K., Mathiasson L., Hawthorne S.B. Introducing selective supercritical fluid extraction as a new tool for determining sorption/desorption behavior and bioavailability of persistent organic pollutants in sediment, *J. Biochem. Biophys. Methods.*, **43**, 295–311 (2000)
184. Cornelissen G., Zuailen H., Noort P.C.M., Particle size dependence of slow desorption of in situ PAHs from sediments, *Chemosphere*, **38**, 2369-2380 (1999)
185. Bowman J.C., Zhou J.L., Readman J.W., Sorption and desorption of benzo(a)pyrene in aquatic systems, *J. Environ. Monit.*, **4**, 761-766 (2002)
186. Shor L.M., Rockne K.J., Taghon G.L., Young L.Y., Kosson D.S., Desorption Kinetics for Field-Aged Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Sediments, *Environ. Sci. Technol.*, **37**, 1535-1544 (2003)
187. Witt G., Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in water and sediment of the Baltic Sea, *Marine Poll.Bull.*, **31**, 237-248 (1995)
188. Poerschmann J., Kopinke F.D., Pawliszyn J., Solid-phase microextraction for determining the binding state of organic pollutants in contaminated water rich in humic organic matter, *J. Chromatogr. A*, **816**, 159-167 (1998)
189. Jiang X., Martens D., Schramm K.W., Kettrup A., Xu S.F., Wang L.S., Polychlorinated organic compounds (PCOCs) in waters, suspended solids and sediments of the Yangtse River, *Chemosphere*, **41**, 901-905 (2000)