

Spis treści

<i>Spis skrótów i akronimów</i>	3
<i>Streszczenie</i>	6
I. Część teoretyczna	7
1. Cyna i nieorganiczne związki cyny	7
1.1. <i>Właściwości cyny oraz związków nieorganicznych cyny</i>	7
1.2. <i>Źródła związków cyny</i>	9
1.3. <i>Związki cyny w żywności oraz ich wpływ na organizm ludzki</i>	9
1.4. <i>Zastosowanie związków cyny</i>	11
1.5. <i>Metody oznaczania zawartości cyny całkowitej</i>	11
2. Pochodne cynoorganiczne	12
2.1. <i>Właściwości związków organicznych cyny</i>	12
2.2. <i>Źródła emisji związków organicznych cyny</i>	13
2.3. <i>Toksyczność związków cynoorganicznych w poszczególnych elementach środowiska</i>	14
2.4. <i>Zastosowanie związków organicznych cyny</i>	14
2.5. <i>Problemy związane z analityką związków cynoorganicznych</i>	15
2.6. <i>Aspekty prawne związane z występowaniem związków cynoorganicznych w środowisku</i>	35
3. Materiały odniesienia	38
3.1. <i>Wytwarzanie materiałów odniesienia</i>	40
3.1.1. <i>Reprezentatywność</i>	42
3.1.2. <i>Jednorodność</i>	43
3.1.3. <i>Trwałość</i>	43
3.1.4. <i>Wartość certyfikowana</i>	45
3.2. <i>Zastosowanie materiałów odniesienia</i>	46
3.3. <i>Materiały odniesienia związków cynoorganicznych w obiektach materialnych o różnym składzie matrycy</i>	46
4. Projekt MODAS	47
II. CEL PRACY	49
III. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA	50
1. <i>Aparatura</i>	50
2. <i>Sprzęt laboratoryjny</i>	50
3. <i>Odczynniki</i>	51

4. Charakterystyka analizowanych próbek	52
4.1. <i>Osad denny</i>	52
4.2. <i>Mączka śledziowa</i>	53
4.3. <i>Filety dorsza</i>	54
4.4. <i>Tkanka kormorana czarnego</i>	57
5. Przygotowanie próbek do analizy	60
5.1. <i>Liofilizacja</i>	60
5.2. <i>Mineralizacja</i>	62
6. Opracowanie procedur analitycznych oznaczania zawartości cyny całkowitej oraz związków organicznych cyny w próbkach osadu dennego, mączki śledziowej, filetów dorsza i tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego	63
6.1. <i>Wyznaczenie optymalnych warunków pracy spektrometru</i>	64
6.2. <i>Przygotowanie roztworów wzorcowych</i>	66
6.3. <i>Liniowość</i>	67
6.4. <i>Granica wykrywalności i granica oznaczalności</i>	69
6.5. <i>Powtarzalność</i>	70
7. Wyniki oznaczania zawartości cyny całkowitej i związków organicznych cyny w próbkach osadów dennych, mączce śledziowej, tkance dorsza i tkance mięśnia piersiowego kormorana czarnego	71
7.1. <i>Poziomy zawartości cyny całkowitej oraz tributylcyny</i>	74
7.2. <i>Analiza wariancji – określenie jednorodności kandydatów na materiał odniesienia</i>	78
7.3. <i>Oszacowanie wpływu temperatury przechowywania na wyniki oznaczania cyny całkowitej oraz tributylcyny</i>	81
8. Podsumowanie	81
9. Wnioski	87

Spis skrótów i akronimów

SKRÓT/AKRONIM	Termin w języku angielskim	Termin w języku polskim
AAS	<i>Atomic Absorption Spectroscopy</i>	Atomowa spektrometria absorpcyjna
AED	<i>Atomic Emission Detector</i>	Detektor emisji atomowej
AFS	<i>Atomic Fluorescence Spectrometry</i>	Spektrometria fluorescencji atomowej
ANOVA	<i>Analysis Of Variance</i>	Analiza wariancji
CITAC	<i>Co-operation on International Traceability in Analytical Chemistry</i>	Międzynarodowa współpraca w zakresie spójności pomiarów w chemii analitycznej
CRM	<i>Certified Reference Materials</i>	Certyfikowane materiały odniesienia
DBT	<i>Dibutyltin</i>	Dibutylocyna
DDT	<i>Dichlorodiphenyltrichloroethane</i>	Dichlorodifenylotrichloroetan
DLLME	<i>Dispersive Liquid-Liquid Microextraction</i>	Dyspersyjna mikroekstrakcja w układzie ciecz – ciecz
DPhT	<i>Diphenyltin</i>	Difenylocyna
ET – AAS	<i>Electrothermal Atomic Absorption Spectroscopy</i>	Atomowa spektrometria absorpcyjna z atomizacją elektrotermiczną
F – AAS	<i>Flame Atomic Absorption Spectroscopy</i>	Atomowa spektrometria absorpcyjna z atomizacją w płomieniu
FID	<i>Flame Ionization Detector</i>	Detektor płomieniowo – jonizacyjny
FPD	<i>Flame Photometric Detector</i>	Detektor płomieniowo - fotometryczny
GC	<i>Gas Chromatography</i>	Chromatografia gazowa
GF – AAS	<i>Graphite Furnance Atomic Absorption Spectroscopy</i>	Atomowa spektrometria absorpcyjna z atomizacją w piecu grafitowym
HG – AAS	<i>Hydride Generation Atomic Absorption Spectroscopy</i>	Atomowa spektrometria absorpcyjna z techniką generacji wodorków

Spis skrótów i akronimów c.d.

HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>	Wysokosprawna chromatografia cieczowa
ICHTiJ	-	Instytut Chemii i Techniki Jądrowej
ICP – AES	<i>Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry</i>	Atomowa spektrometria emisyjna z plazmą wzbudzoną indukcyjnie
ICP – MS	<i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>	Spektrometria mas z jonizacją w plazmie sprzężonej indukcyjnie
ILAC	<i>International Laboratory Accreditation Cooperation</i>	Międzynarodowa Laboratoryjna Współpraca Akredytacyjna
IMO	<i>International Maritime Organization</i>	Międzynarodowa organizacja morska
IRMM	<i>Institute for Reference Materials and Measurements</i>	Instytut Materiałów Odniesienia i Pomiarów (UE)
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>	Międzynarodowa Organizacja Normalizacyjna
IUPAC	<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>	Międzynarodowa Unia Chemii Czystej i Stosowanej
LLE	<i>Liquid - Liquid Extraction</i>	Ekstrakcja ciecz - ciecz
LPME	<i>Liquid Phase Microextraction</i>	Mikroekstrakcja do fazy ciekłej
LRM	<i>Laboratory Reference Materials</i>	Laboratoryjne materiały odniesienia
MASE	<i>Microwave Assisted Solvent Extraction</i>	Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika wspomagana promieniowaniem mikrofalowym (ultradźwiękami)
MBT	<i>Monobutyltin</i>	Monobutylocyna
MIP – AES	<i>Microwave Induced Plasma Atomic Emission Spectrometry</i>	Spektrometria emisji atomowej z promieniowaniem mikrofalowym w plazmie indukowanej

Spis skrótów i akronimów c.d.

MPhT	<i>Monophenyltin</i>	Monofenylocyna
MS	<i>Mass Spectrometry</i>	Spektrometria mas
NAA	<i>Neutron Activation Analysis</i>	Neutronowa analiza aktywacyjna
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>	Narodowy Instytut Standaryzacji i Technologii
OT	<i>Organotin</i>	Związki organiczne cyny
PCV	<i>Polyvinylchloride</i>	Polichlorek winylu (PCW)
PFPD	<i>Pulse Flame Photometric Detector</i>	Pulsacyjny detektor płomieniowo - fotometryczny
PLE	<i>Pressurized Liquid Extraction</i>	Ekstrakcja za pomocą cieczy pod ciśnieniem
QA/QC	<i>Quality Assurance/ Quality Control</i>	Zapewnienie jakości/ Kontrola jakości
QSIL - FPD	<i>Flame Photometric Detector Using Quartz Surface-Induced</i>	-
QCM	<i>Quality Control Materials</i>	Materiały do kontroli jakości
RM	<i>Reference Materials</i>	Materiały odniesienia
SecRM	<i>Secondary Reference Materials</i>	Wtórne materiały odniesienia
SDME	<i>Single Drop Microextraction</i>	Mikroekstrakcja do (za pomocą) pojedynczej kropli
SFE	<i>Supercritical Fluid Extraction</i>	Ekstrakcja za pomocą płynu w stanie nadkrytycznym
SI (układ SI)	<i>International System of Units</i>	Układ Jednostek Miar
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i>	Ekstrakcja do fazy stałej
SPME	<i>Solid Phase Microextraction</i>	Mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej
TBT	<i>Tributyltin</i>	Tributylocyna
TPhT	<i>Triphenyltin</i>	Trifenylocyna
UPS	<i>Ultrasound Probe Sonication</i>	Sonifikacja z użyciem sondy ultradźwiękowej
UV	<i>Ultraviolet</i>	Ultrafiolet
WWA	<i>Polycyclic Aromatic Hydrocarbon</i>	Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne

Streszczenie

Wyniki pomiarów uzyskiwane w trakcie badań różnego typu próbek środowiskowych stanowią podstawę nie tylko do lepszego poznania stanu środowiska, ale także do oceny efektywności podejmowanych zabiegów sozotechnicznych. Konieczne są do tego materiały odniesienia o odpowiedniej charakterystyce metrologicznej. Prowadzi to do podnoszenia poziomu miarodajności informacji analitycznych.

W 2012 roku rozpoczęła się realizacja zadań w ramach projektu MODAS. Ostatecznym wynikiem prac prowadzonych w ramach projektu będzie uzyskanie "pakietu" sześciu certyfikowanych materiałów odniesienia, które mogą być traktowane jako odpowiedź na potrzeby polskich laboratoriów analitycznych w zakresie oceny jakości poszczególnych elementów środowiska. Cztery z nich (osad denny, tkanki śledź, dorsz tkanka, tkanka kormoran) zostały wybrane jako charakterystyczne dla polskiego łańcucha troficznego ekosystemu morskiego. Najważniejszą właściwością wyprodukowanych materiałów odniesienia, będzie reprezentatywność składu zarówno matrycy jak i poziomu zawartości analitów, w tym poziomu zawartości cyny całkowitej, w stosunku do typowych próbek środowiskowych badanych w polskich laboratoriach analitycznych.

Badania jednorodności i trwałości kandydatów na materiał odniesienia stanowią podstawowe etapy w trakcie ich wytwarzania. Nie spełnienie warunków jednorodności (zarówno wewnątrz – jak i międzyopakowaniowej) oraz trwałości (krótko – lub długoterminowej) dyskwalifikuje wyprodukowany materiał przed procesem certyfikacji. W trakcie przeprowadzonych badań oznaczano poziom zawartości cyny całkowitej oraz tributyllocyny w próbkach osadów dennych, mączki śledziowej, tkance dorsza (filety) oraz w tkance mięśnia piersiowego kormorana czarnego, pochodzących z terenów Polski. Poziomy zawartości cyny całkowitej w tkankach oznaczano za pomocą atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w kuwecie grafitowej, natomiast poziom zawartości tributyllocyny za pomocą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas.

Jednoczynnikowa analiza wariancji (ANOVA) została zastosowana w celu zbadania jednorodności kandydatów na materiał odniesienia. Oceniony został również wpływ temperatury przechowywania próbek na zawartość cyny całkowitej i tributyllocyny w poszczególnych materiałach.

I. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

1. Cyna i nieorganiczne związki cyny

Cyna i jej związki są bardzo ważnymi, ale też bardzo kontrowersyjnymi związkami chemicznymi w środowisku [1]. Cyna uważana jest za jeden z niezbędnych składników odżywczych, jednakże jej związki występujące w organizmie człowieka są poddawane serii reakcji z tkankami i enzymami, które prowadzą do ich rozkładu oraz różnych form zatrucia organizmów [1].

1.1. Właściwości cyny oraz związków nieorganicznych cyny

Cyna jest biało – szarym metalem o liczbie atomowej 50 i masie atomowej 118,71.

Naturalnie występuje w postaci 10 stabilnych izotopów, z czego najbardziej rozpowszechniony jest izotop ^{120}Sn (ok. 33%). Cyna w postaci czystej występuje w dwóch formach: cyny szarej (forma α) oraz cyny białej (forma β). W temperaturze powyżej 18°C cyna szara przemienia się w cynę białą.

Cyna tworzy związki nieorganiczne na +2 stopniu utlenienia lub na +4 stopniu utlenienia [2]. Związki cyny (II) są to na ogół związki jonowe, które są trwałe w postaci roztworów wodnych. Najważniejszymi związkami cyny są chlorki, tlenki i fluorki cyny oraz cyniany sodu oraz potasu. [3,4]

W tabeli 1 zestawiono informacje o fizykochemicznych właściwościach cyny i niektórych nieorganicznych związków cyny [2].

Ze względu na swój charakter amfoteryczny, cyna reaguje z mocnymi kwasami i mocnymi zasadami, lecz jest stosunkowo odporna w roztworach obojętnych. Cyna jest łatwo atakowana przez jodowodór i bromowodór, ale trudniej przez chlorowodór. Gorący stężony kwas siarkowy reaguje z cyną w celu wytworzenia siarczanu cyny (II), a rozcieńczony kwas reaguje powoli z cyną, w temperaturze pokojowej. Reakcja cyny z rozcieńczonym kwasem azotowym daje rozpuszczalne azotany cyny, natomiast w stężonym kwasie azotowym, cyna utlenia się do nierozpuszczalnego uwodnionego dwutlenku cyny. Stopiona cyna reaguje z fosforem, tworząc fosforek. Cyniany wytwarza się przez działanie silnego wodorotlenku potasu lub wodorotlenku sodu na cynę [2]. Chlorek cyny (IV) reaguje z wodą w celu wytworzenia koloidalnych tlenków cyny [2].

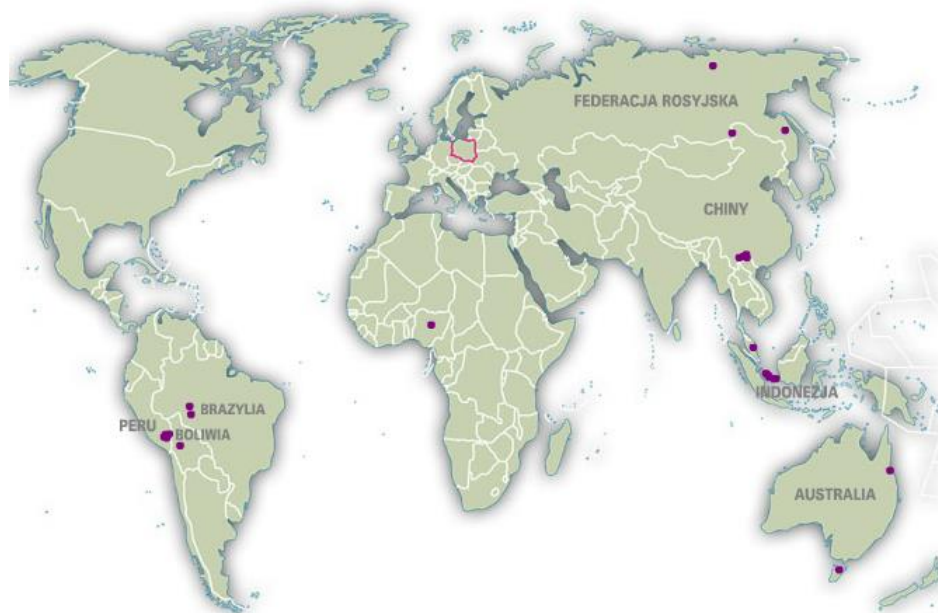
Tabela 1. Informacje o fizykochemicznych właściwościach cyny i niektórych nieorganicznych związków cyny [2, 4]

Nazwa chemiczna	Synonimy	Wzór chemiczny	Względna masa cząsteczkowa	Temperatura topnienia (° C)	Temperatura wrzenia (° C)	Rozpuszczalność w wodzie
Cyna		Sn	118,7	232	2602	Nierozpuszczalny
Cynian potasu	Dipotasowy trójtlenek cyny	K ₂ SnO ₃	244,9	-	-	-
Bromek cyny (IV)	Czterobromek cyna; bromek cyny	SnBr ₄	438,3	31	205	Słabo rozpuszczalny
Chlorek cyny (II)	chlorek cynawy	SnCl ₂	189,6	247	Rozkłada się przy temp. 623 – 652	Rozpuszczalny
chlorek cyny (IV)	Czterochlorek cyny	SnCl ₄	260,5	-33	114	Słabo rozpuszczalny (reaguje z wodą)
Difluoroboran cyny (II)	Fluoroboran cyny	Sn (BF ₄) ₂	292,3	-	-	-
fluorek cyny (II)	Difluorek cyny; fluorek cynawy	SnF ₂	156,7	213	850	Słabo rozpuszczalny
jodek cyny (II)	Dijodek cyny	SnI ₂	372,5	320	714	Słabo rozpuszczalny
jodek cyny (IV)	Tetrajodek cyny	SnI ₄	626,3	143	365	Słabo rozpuszczalny
tlenek Cyny (II)	Tlenek cyny	SnO	134,7	1080	Brak danych	Nierozpuszczalny
Ditlenek Cyny (IV)	Dwutlenek cyny	SnO ₂	150,7	1630	1900	Nierozpuszczalny
pirofosforan cyny (II)	Pirofosforan cynawy	Sn ₂ P ₂ O ₇	411,3	Rozkłada się w temperaturze 400	-	Nierozpuszczalny
siarczan cyny (IV)	Siarczan cynowy	Sn(SO ₄) ₂	310,9	Rozkłada się przy > 378	-	Reaguje z wodą

1.2. Źródła związków cyny

Cyna nie występuje naturalnie w środowisku, ale pozyskiwana jest z różnych rud, głównie z kasyterytu (SnO_2). W niewielkich ilościach, cyna jest również odzyskiwana z minerałów siarczku cyny, takich jak cylindryt ($\text{Pb}_3\text{Sn}_4\text{FeSb}_2\text{S}_{14}$) czy stannit ($\text{Cu}_2\text{FeSnS}_4$) [5].

Na rysunku 1 przedstawiono informacje o rozmieszczeniu głównych złóż cyny na świecie.



Rys. 1: Rozmieszczenie głównych złóż cyny na świecie [6]

Główny światowy obszar znajduje się w południowo – wschodniej Azji, znany jako *Southeast Asia Tin Belt*. Obszar ten jest to strefa od Birmy (*Myanmar*) i Tajlandii do Półwyspu Malajskiego i Indonezyjskich wysp, o długości 2800 km i szerokości 400 km [5,7]. Łącznie wydobywa się tam ok. 9,5 mln ton cyny rocznie, co stanowi ponad 50% produkcji cyny na świecie [7]. Wielkimi złożami cyny dysponują również Chiny, Australia, Brazylia, Boliwia i Rosja [8].

W Polsce rudy cyny występują jedynie w Sudetach w dwóch złożach: Gierczyn i Krobica [9].

1.3. Związki cyny w żywności oraz jej wpływ na organizm ludzki

Cyna jest uważana za mikroelement, występujący w niewielkich ilościach w naszym organizmie i prawdopodobnie odgrywa rolę w ogólnych procesach dla zdrowia i ciała [10].

Cyna występuje w ludzkich tkankach, m.in. w nadnerczach, wątrobie, mózgu, śledzionie i tarczycy [10,11].

Cyna wiąże się z jodem w ten sam sposób jak wapń związany jest z magnezem. Cyna wspomaga działanie nadnerczy, a jod wspomaga pracę tarczycy, oba natomiast wpływają

na pojemność minutową serca: cyna + nadnercza kontrolują lewą stronę serca, a jod + tarczycza kontrolują odpowiednie receptory komórkowe boku serca oraz prawą stronę serca [10]. Niedobór cyny może powodować lewostronną niewydolność krążenia, co prowadzi do depresji, zmęczenia, trudności w oddychaniu, a nawet astmy [10,11].

Cyna jest wprowadzana w postaci różnych związków do organizmu ludzkiego przede wszystkim drogą pokarmową. Ilość cyny w produktach żywnościowych w dużym stopniu zależy od zawartości cyny w glebie, na której żywność ta jest uprawiana [10,12]. Obiekty przemysłowe są często winne uwalniania toksycznych metali, takich jak cyna, do środowiska, dlatego też wysokie stężenie cyny jest zwykle w próbkach powietrza i gleb.

Głównymi źródłami cyny w żywności są produkty owocowe i warzywa przechowywane w puszkach [10,13].

Naturalnymi źródłami związków cyny w żywności są [10]:

- Warzywa i owoce
- Zioła, takie jak: jałowiec, borówka, oset, waleriana, irlandzki mech, pokrzywa, berberys, krwawnik, ostu, wodorosty, lukrecja, czarci pazur, senes.

Cyna, oprócz wspomagania pracy nadnerczy, spełnia następujące funkcje [10]:

- Stymulacja wzrostu włosów i poprawa refleksu
- Możliwe właściwości przeciwnowotworowe
- Pomoc w leczeniu niektórych przypadków bezsenności.
- Jest stosowana w leczeniu depresji, zmęczenia i zmienności nastrojów, szczególnie, kiedy inne sposoby leczenia okazały się nieskuteczne.
- leczenie pasożytów jelitowych.

Informacje o objawach niedoboru i nadmiaru cyny w organizmie ludzkim oraz objawy zatrucia cyną zostały zestawione w tabeli 2 [10,11,13,14].

Tabela 2: Objawy niedoboru i nadmiaru związków cyny w organizmie ludzkim.

Objawy niedoboru związków cyny w organizmie	Objawy nadmiaru związków cyny w organizmie
może powodować symetryczne łysienie, zmniejszenie reakcji na hałas	nieprawidłowe działanie układu odpornościowego
może prowadzić do depresji, zmęczenia, trudności w oddychaniu lub astmy	pył cynowy może podrażniać skórę i delikatną tkankę, zwłaszcza oczy i drogi oddechowe
	uszkodzenie wątroby
	zmniejszony metabolizm plemników, co może prowadzić do bezpłodności
	nudności, wymioty i biegunka
	uszkodzenia chromosomów
	problemy z oddawaniem moczu
	duszności
	niedobór czerwonych krwinek
	uszkodzenie mózgu

1.4. Zastosowanie związków cyny

Cyna jest uważana za „strategiczny” towar mineralny z powodu stosowania jej przy produkcji blachy. W większości przypadków stosowania cyny, inne metale, takie jak aluminium lub tworzywa sztuczne mogą zastąpić cynę, ale z utratą wydajności i ze zwiększeniem kosztów. [5]

Cyna metaliczna jest odporna na korozję i często stosuje się ją jako powłokę na inne metale, takie jak stal. Najbardziej znanym przykładem jest stosowanie cyny jako „wyściółki” wnętrza puszek do napojów oraz pojemników na żywność.

W tabeli 3 zestawiono informacje o niektórych zastosowaniach cyny oraz jej związków nieorganicznych.

1.5. Metody oznaczania zawartości cyny całkowitej

Oznaczanie cyny wiąże się z wieloma trudnościami ze względu na lotność wielu jej związków. Znane i powszechnie stosowane techniki analityczne takie jak F – AAS, ICP – AES, i NAA charakteryzują się stosunkowo wysokimi granicami oznaczalności. Obecnie wymaganą czułość dla oznaczania zawartości cyny całkowitej na niskich poziomach w próbkach środowiskowych posiada technika ICP – MS oraz GF – AAS. [1]

W tabeli 4 zestawiono parametry metrologiczne oraz wady i zalety obu technik.

Tabela 3: Wybrane zastosowania cyny nieorganicznej i jej związków [4,14]

Związek	Zastosowanie
Cyna metaliczna	produkcja płytek cyny, brązu i spoiwa, stopy, amalgamaty
Tlenek cyny (IV)	pigmenty ceramiczne, emaliowanie naczyń żelaznych, otrzymywanie szkła mlecznego, czujniki gazu
Wodorek cyny (IV)	ceramika
Octan cyny (II)	katalizator
Chlorek cyny (II)	katalizator w reakcjach organicznych, dodatek do płuczek wiertniczych, stabilizator perfum w mydłach
fluoroboran cyny (II)	kąpiele cynowe
Fluorek cyny (II)	pasta do zębów, preparaty dentystyczne
2 – etylokapronian cyny (II)	katalizator do produkcji pianki poliuretanowej
Szczawian cyny (II)	katalizatorem uwodornienia węgla, transestryfikacji lub poliestryfikacji
Siarczan cyny (II)	farbowania i drukowania tkanin
Winian cyny (II)	zaprawa w barwienia jedwabiu, przygotowanie innych form nieorganicznych i organicznych, produkcja papierów światłoczułych

2. Pochodne cynoorganiczne

2.1. Właściwości związków organicznych cyny.

Związki organiczne cyny (OT) są to związki metaloorganiczne [17], które charakteryzują się co najmniej jednym wiązaniem kowalencyjnym Sn – C [18, 19, 20]. Wyróżnia się mono-, di-, tri- lub tetra podstawione związki [20]. Ich wzór ogólny ma postać [20]:

R_mSnX_{4-m} , gdzie $m = 1,2,3,4$

R – podstawnik alkilowy lub aryłowy

X – halogen: -OH, -SH, -OR'

Ilość i rodzaj podstawników organicznych związanych z atomem cyny determinuje ich właściwości i obszar zastosowania poszczególnych związków cynoorganicznych. Grupa X nie ma prawie żadnego wpływu na właściwości związków cynoorganicznych, natomiast długość łańcucha alkilowego ma znaczny wpływ na ich toksyczność [21]. Z danych

literaturowych wynika, że w przypadku związków di-cynoorganicznych R_2SnX_2 , organiczne grupy R określają potencjał aktywności, natomiast grupy X kontrolują dostarczenie aktywnych jonów $R_2Sn_2^+$.

W tabeli 5 zestawiono informacje o wybranych związkach cynoorganicznych.

Tabela 5. Wybrane związki cyny

Związek	Wzór
Związki alkilocyny	
Octan trimetylocyny	$(CH_3)_3SnO-CO-CH_3$
octan trietylocyny	$(C_2H_5)_3SnO-CO-CH_3$
Octan tri-r-propylocyny	$(C_3H_7)_3SnO-CO-CH_3$
Octan tri-sopropylocyny	$(C_3H_7)_3SnO-CO-CH_3$
Octan tri-r-butylocyny	$(C_4H_9)_3SnO-CO-CH_3$
Octan tri-n-heksylocyny	$(C_8H_{13})_3SnO-COCH_3$
Octan tri-n-oktylocyny	$(C_8H_{17})_3SnO-CO-CH_3$
tetra-etylocyna	$(C_2H_5)_3Sn$
Chlorek dietylocyny	$(C_2H_5)_2SnCl_2$
Związki arylowe cyny	
Octan trifenylocyny	$(\text{C}_6\text{H}_5)_3\text{SnOCOCH}_3$
wodorotlenek tricykloheksylocyny	$(\text{C}_6\text{H}_{11})_3\text{SnOH}$
Tricyclohexyl (diisopropoxyphosphinothioyl)thio stannane	$(\text{C}_6\text{H}_{11})_3\text{Sn-S-P}(\text{OC}_3\text{H}_7)_2$
Hexakis (,B,f -dimethylphenethyl)distannoxane	$\left[\left(\text{C}_6\text{H}_4 \left(\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{C}-\text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \right) \right)_3 \text{Sn} \right]_2\text{O}$

2.2. Źródła emisji związków organicznych cyny.

Cyna i jej związki mogą być uwalniane do środowiska ze źródeł naturalnych i antropogenicznych. Cyna jest składnikiem wielu gleb, a związki cyny mogą być uwalniane m.in. z pyłów powstałych podczas działalności rolniczej. Uwalnianie związków cyny do środowiska może również wystąpić z odpadów powstałych podczas procesów produkcyjnych. Na ogół, związki cynoorganiczne są uwalniane do otoczenia poprzez ich wytwarzanie

i stosowania. Tributyllocyny i trifenylocyny uwalniane są do środowiska bezpośrednio z ich stosowania jako farby przeciwporostowe i jako pestycydy. W mniejszym stopniu, organiczne związki cyny mogą również przeniknąć do środowiska przez ługowanie z produktów konsumenckich i w wyniku zbycia wyrobów zawierających związki cynoorganiczne na składowiskach [22].

W tabeli 6 przedstawiono główne źródła emisji związków cynoorganicznych do poszczególnych elementów środowiska.

Na rysunku 2 przedstawiono schematycznie los środowiskowy związków cynoorganicznych w środowisku.

2.3. Toksyczność związków cynoorganicznych w poszczególnych elementach środowiska

Cyna w postaci nieorganicznej jest ogólnie przyjęta jako nietoksyczna, ale toksykologiczna struktura związków cynoorganicznych jest bardzo złożona. Efekty biologiczne substancji zależą zarówno od rodzaju jak i liczby grupy organicznych związanych z kationem Sn. Na ogół, działanie toksyczne na organizmy jest udowodnione dla tripodstawionych związków R_nSnX_{4-n} . Charakter podstawnika X w pochodnych R_3SnX ma niewielki lub brak wpływu na aktywność biocydów, z wyjątkiem, jeśli X sam w sobie jest składnikiem toksycznym. W takim przypadku aktywność biologiczna związków organicznych cyny może być zwiększona [23].

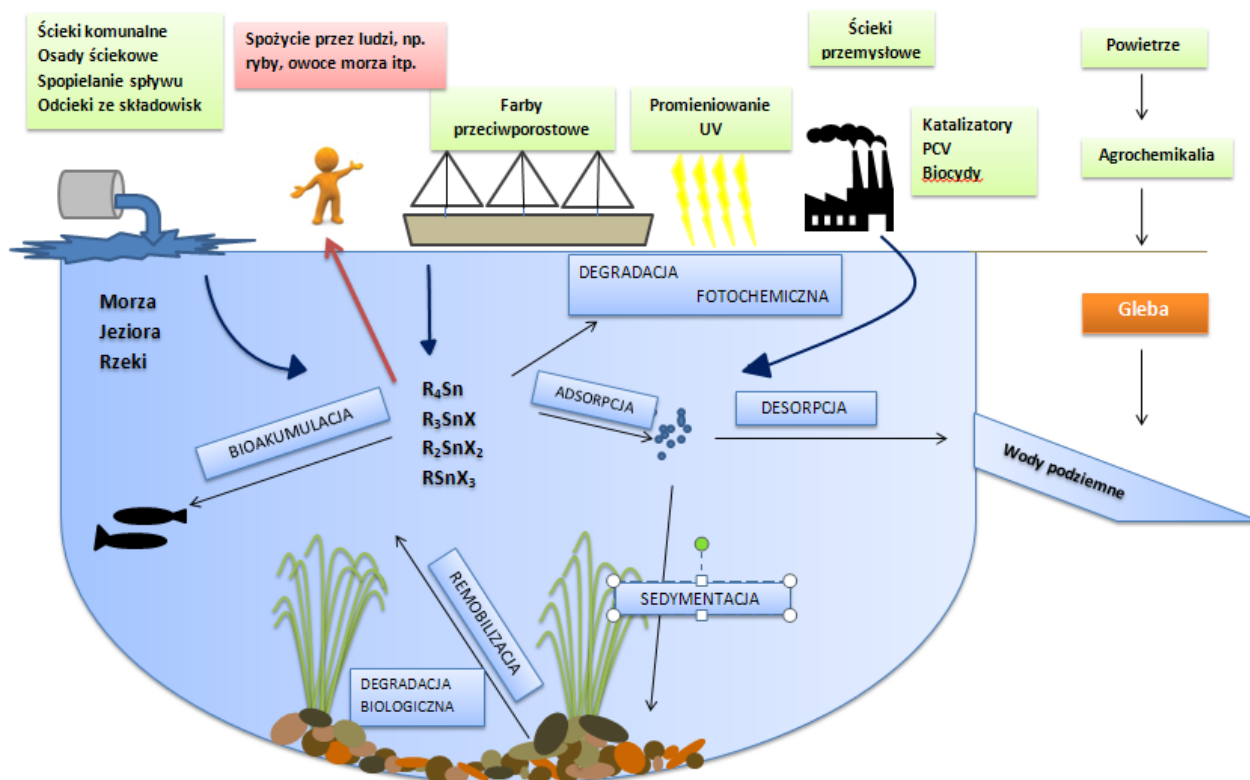
W tabeli 6 przedstawiono efekt toksyczny działania związków cynoorganicznych w poszczególnych elementach środowiska.

2.4. Zastosowanie związków organicznych cyny.

Związki cyny są bardzo różne pod względem właściwości biologicznych, chemicznych i fizycznych. W związku z tym, cyna ma większą liczbę swoich metaloorganicznych pochodnych w zastosowaniach komercyjnych, niż inny element. Znajduje to odzwierciedlenie w ich zróżnicowanych zastosowaniach przemysłowych, które są głównie ograniczone do związków typu R_4Sn , R_3SnX , R_2SnX_2 , R_3SnX_3 . Związki czteropodstawione nie mają żadnych komercyjnych zastosowań, ale są ważnymi związkami pośrednimi w produkcji mniej alkilowanych pochodnych [23].

W tabeli 7 zestawiono informacje o obszarze wykorzystania poszczególnych grup związków cynoorganicznych.

Na rysunku 2 przedstawiono schematycznie los środowiskowy związków cynoorganicznych.



Rys.2: Los środowiskowy związków cynoorganicznych [17,42].

2.5. Problemy związane z analityką związków cynoorganicznych

Ze względu na niskie poziomy stężenie związków cynoorganicznych oraz złożoną matrycę próbek środowiskowych, procedura analityczna wymaga kilku etapów. Każdy etap (przygotowanie próbki, ekstrakcja, separacja i detekcja) może mieć wpływ na dokładność i precyzję ostatecznych wyników oznaczeń [83,94-96]. Na rysunku 3 przedstawiono poszczególne etapy procedur oznaczania w oznaczaniu związków cynoorganicznych.

W wielu środowiskach naukowych trwają intensywne prace ukierunkowane na opracowanie nowych procedur, które oprócz tego, że charakteryzują się odpowiednią czułością i dokładnością zapewniając możliwość jednoczesnego oznaczenia kilku związków cynoorganicznych, które występują w badanych próbkach na niskich poziomach stężeń [42, 97, 98, 99].

Tabela 4: Parametry metrologiczne oraz wady i zalety technik AAS i ICP - MS [16, 24, 25, 26]

	F – AAS	GF – AAS	ICP – MS
Temperatura/gaz	2300 °C/acetylen – powietrze 2800 °C/ acetylen – podtlenek azotu	2600 °C/argon	10 000 °C
Granica wykrywalności	0,095 ppm	0,6 ppb	0,01-0,1 ppt
Zakres dynamiczny	10 ³	10 ²	10 ⁸
Liczba pierwiastków możliwych do oznaczenia	68 +	50 +	82
Wymagana objętości próbek	Duża	Bardzo mała	Bardzo mała/średnia
Analiza izotopów	Nie	Nie	Tak
Wady	<ul style="list-style-type: none"> • umiarkowane granice wykrywalności • można analizować tylko roztwory rozcieńczone; • niska czułość pomiaru; • metoda oznaczania pojedynczych pierwiastków; <p>nie nadaje się do oznaczania składników głównych</p>	<ul style="list-style-type: none"> • dłuższy czas analizy • zakłócenia chemiczne • w wielu przypadkach konieczność stosowania modyfikatorów <p>metoda oznaczania pojedynczych pierwiastków</p>	<ul style="list-style-type: none"> • duże rozcieńczenie powoduje ograniczenia związane z oznaczaniem niektórych pierwiastków; • konieczność usuwania substancji przeszkadzających ze środowiska pomiaru; • konieczność eliminacji lub redukcji efektu matrycy • do roztwarzania i płukania należy używać kwasów wysokiej czystości • wysokie koszty analizy; • konieczność stosowania argonu i innych odczynników o bardzo wysokiej czystości; • konieczność roztwarzania próbek o złożonej matrycy; • konieczność rozcieńczania próbek
Zalety	<ul style="list-style-type: none"> • łatwy, bezpośredni pomiar; • stosunkowo niski koszt aparatury; • prosta obsługa; • krótki i szybki czas pomiaru • dobra odtwarzalność. • stosunkowo niewiele zakłóceń 	<ul style="list-style-type: none"> • wysokie granice wykrywalności • potrzebna mała ilość próbki • średnie koszty eksploatacyjne <p>niewielkie zakłócenia</p>	<ul style="list-style-type: none"> • umożliwia analizę zarówno jednego pierwiastka jak i analizę wielopierwiastkową; • wysoka temperatura plazmy pozwala na oznaczenie pierwiastków o wysokich potencjałach wzbudzenia • duży zakres prostoliniowości wskazań obejmujący 4 – 5 rzędów wielkości stężenia analitów w próbce; • pozwala oznaczać zarówno składniki głównej jak i śladowe w tej samej próbce; • do wzbudzenia nie używa się elektrod (brak zanieczyszczeń); • wysoka czułość; • duża selektywność; • prosta i szybka analiza; • niewielkie interferencje związane z wpływem matrycy

Tabela 6: Wpływ związków cynoorganicznych na poszczególne elementy środowiska.

Poszczególne elementy środowiska	Źródło emisji	Właściwości	Efekt toksyczny	Odnosnik literaturowy
Powietrze	<ul style="list-style-type: none"> ➤ pyły pochodzące z dróg i działalności rolniczej ➤ transport przez wiatr lub wymywanie z powietrza przez deszcz czy też śnieg. ➤ procesy przemysłowe takie jak: <ul style="list-style-type: none"> • rafinacja cyny, • spalanie odpadów • spalanie paliw kopalnych 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ związki cynoorganiczne mogą ulegać degradacji w powietrzu ➤ ilości w powietrzu w pobliżu składowisk odpadów niebezpiecznych może być wyższa 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ ludzie są zwykle narażeni na cynę w ilości mniejszej niż 1 ppm (z powietrza) ➤ związki cynoorganiczne wdychane wraz z powietrzem mogą kumulować się w płucach 	22, 27, 28
Woda i osady	<ul style="list-style-type: none"> ➤ związki organiczne cyny mogą być uwalniane do wody z: <ul style="list-style-type: none"> • wycieków rolniczych, • procesów przemysłowych • wydostawaniem cynoorganicznego stabilizowanego chlorku winylu (PCW) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ wysokie powinowactwo do cząstek stałych, dzięki czemu łatwiej przenika do osadów dennych ➤ adsorpcja na powierzchni osadów pomaga usunąć pochodne cynoorganiczne, ale stanowi zagrożenie ich ponownego wprowadzenia do środowiska 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ ludzie są zwykle narażeni na cynę w ilości mniejszej niż 1 ppm (z powietrza) 	22, 29 – 40

Tabela 6 c.d.

<p style="text-align: center;">Mikroorganizmy i skorupiaki</p>	<p>➤ związki cynoorganiczne są pobierane przez ciała mikroorganizmów z wody</p>	<p>➤ wykorzystanie mikroorganizmów jako biomarkerów zanieczyszczeń środowiska przez związki cynoorganiczne, ze względu na powolne uwalnianie TBT z ich tkanek tuż po jej wchłonięciu</p> <p>➤ brak odpowiedniego układu enzymatycznego zdolnego do rozkładu TBT przez organizm zwierzęcia</p> <p>➤ ulegają degradacji do nieorganicznej formy cyny</p> <p>➤ toksyczność zmniejsza się w szeregu : $R_3SnX > R_2SnX_2 > RSnX_3$</p>	<p>➤ tbt wywiera działanie toksyczne na mikroorganizmy wodne w stężeniu nawet kilku ng/g , a w przypadku skorupiaków działanie toksyczne zauważono przy stężeniu 1 mg/g</p> <p>➤ powoduje:</p> <ul style="list-style-type: none"> • hamowanie wzrostu larw homarów, • deformacje skorupy ostryg, • „imposex” ślimaków morskich <p>➤ u samic skorupiaków narażonych na działanie TBT stwierdzono:</p> <ul style="list-style-type: none"> • rozwój cech męskich • podwyższony poziom androgenów • obniżony poziom estrogenu w tkankach <p>➤ negatywny wpływ na płodność odpowiada hamowaniu enzymu aromatazy</p>	<p>20, 23, 29, 31, 32, 40, 42 – 53, 83</p>
<p style="text-align: center;">Ryby</p>	<p>➤ ryby pobierają zanieczyszczenia poprzez dwie główne drogi:</p> <ul style="list-style-type: none"> • bezpośredni wychwyty z wody przez skrzela • wychwyty dietetyczny 	<p>➤ bardziej wrażliwe na działanie TBT są zwierzęta we wczesnym etapie życia niż w etapach późniejszych</p> <p>➤ ryby posiadają w swoich organizmach układ enzymatyczny zdolny do rozkładania związków cynoorganicznych</p>	<p>➤ TBT wywiera toksyczny wpływ na:</p> <ul style="list-style-type: none"> • czerwone ciała krwi, skrzela i wątrobę, • może powodować zanik grasicy i zmiany w rogówce <p>➤ TBT może być wchłaniany do jaj ryb</p>	<p>17, 20, 29, 54</p>

Tabela 6 c.d.

Ptaki	<ul style="list-style-type: none"> ➤ związki cynoorganiczne są pobierane wraz z pokarmem 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ tkanka tłuszczowa nie wykazuje zdolności akumulacyjnych w stosunku do związków cynoorganicznych. ➤ na proces kumulacji związków cynoorganicznych w tkankach ptaków wpływają takie czynniki jak: <ul style="list-style-type: none"> • budowa ciała, • zwyczaje żywieniowe • zdolność metabolizowania butylocyny. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ tlenek tri-n-butylocyny działa jako substancja ekotoksyczna; wywiera negatywny wpływ na: <ul style="list-style-type: none"> • płodność, • układ immunologiczny • zmniejszenie działania enzymów I hormonów u ptaków. 	55 – 58
Ssaki	<ul style="list-style-type: none"> ➤ związki cynoorganiczne są pobierane: <ul style="list-style-type: none"> • wraz z pokarmem • przez absorpcję przez skórę. 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ najwyższe stężenia odnotowano dla próbek wątroby ssaków pochodzących z obszarów przybrzeżnych krajów wysoko uprzemysłowionych. ➤ w miejscach metabolicznie aktywnych, takich jak wątroba, nerki i śledziona, stwierdzono wyższy poziom zawartości DBT i MBT, natomiast w pozostałych tkankach, np. mięśniach, stwierdzono wyższy poziom zawartości TBT. ➤ na reakcję organizmu na związki cynoorganiczne ma wpływ: <ul style="list-style-type: none"> • przynależność gatunkowa, • wiek (młode osobniki są bardziej podatne na działanie toksyczne związków cyny) • płeć osobnika (osobniki płci żeńskiej kumulują wyższe stężenie związków cynoorganicznych) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Nagromadzenie przez ssaki związków butylocyny w wątrobie i nerkach może powodować: <ul style="list-style-type: none"> • obniżenie odporności zwierząt <p>Utrata odporności immunologicznych ssaków przyczynia się do rozwoju wielu chorób, np.</p> <ul style="list-style-type: none"> • zaniku grasicy, • niedokrwistości, • limfocytopenii • oraz podatności na choroby zakaźne 	29, 59 – 61

Tabela 6 c.d.

<p style="text-align: center;">Człowiek</p>	<ul style="list-style-type: none"> ➤ związki cynoorganiczne przedostają się do organizmu ludzkiego poprzez: <ul style="list-style-type: none"> • pożywienie (głównie ryby i owoce morza) • wodę (skażona przez ścieki przemysłowe oraz rury wodociągowe PCV) • inhalację i wnikanie przez skórę (praca w fabrykach produkujących farby lub stabilizatory PCV) 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ gromadzą się w określonych narządach głównie w: <ul style="list-style-type: none"> • mózgu, • wątrobie • tkankach limfatycznych. ➤ nie odnotowano ich szkodliwego wpływu na kręgowce przy niskich stężeniach 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ toksyczność najczęściej objawia się: <ul style="list-style-type: none"> • - utratą pamięci, • - bezsennością, • - drgawkami, • - może prowadzić nawet do śmierci ➤ DBT i TBT powodują: <ul style="list-style-type: none"> • podrażnienie i zmiany skórne • uszkodzenia neuronów układu limbicznego, np. zaburzenia psychiczne, • uszkodzenia wątroby ➤ problemy z układem mięśniowym i oddechowym 	<p style="text-align: center;">28, 29, 53, 62 – 67</p>
---	--	---	--	--

Tabela 7: Przemysłowe zastosowanie związków cyanoorganicznych [43, 61, 72, 84]

	Zastosowanie	Związek	Reference
R₃SnX	ROLNICTWO <ul style="list-style-type: none"> • Fungicydy • Akaracydy 	Ph ₃ SnX (X = OH, OAc) Ph ₃ SnX (X = OH) [(PhMe ₂ CCH ₂) ₃ Sn] ₂ O	17, 49, 68-70
	Farby przeciwporostowe	Ph ₃ SnX (X = OH, OAc, F, SCS, N(CH ₃),OCOCH ₂ Cl, OCOC ₅ H ₄ N); (Bu ₃ Sn) ₂ O	17-20, 31, 55, 56, 63, 68, 72-80
	Środki grzybobójcze do konserwacji drewna	(Bu ₃ Sn) ₂ O, Bu ₃ SnO, (Bu ₃ Sn) ₃ PO ₄	18, 42, 60
	Środki dezynfekujące	Bu ₃ SnOCOPh, (Bu ₃ Sn) ₂ O, TBT, TPhT	17, 18, 49, 56
	Środki mięczakobójcze (w terenie)	Bu ₃ SnF, (Bu ₃ Sn) ₂ O	23, 80
R₂SnX₂	Stabilizatory ciepła do obróbki PCW	R ₂ Sn(SCH ₂ COO-1-Oct) ₂ (R=Me, Bu, Oct, BuOCOCH ₂ CH ₂), (R ₂ SnOCOH=CHCOO) _n	17-20, 31,49, 72, 76, 80-81
	Homogeniczne katalizatory RTV silikonu, pianek poliuretanowych i reakcji transestryfikacji	Bu ₂ Sn(OCOCH ₃) ₂ , Bu ₂ Sn(OCO- 1-Oct), Bu ₂ Sn(OCOC ₁₂ H ₂₅) ₂ , (Bu ₂ SnO) _n	17, 23, 72, 80, 82
	Prekursor tworzenia filmów SnO ₂ na szkle	Me ₂ SnO ₂	
RSnX₃	Stabilizatory ciepła do obróbki PCW	RSn(SCH ₂ COO-1-Oct) ₃ (R=Me, Bu, Oct, BuOCOCH ₂ CH ₂), (BuSnS _{1,5}) ₄	17-20, 31, 49, 72, 80- 81
	Homogeniczne katalizatory reakcji transestryfikacji	(BuSn(O)OH) _n , BuSn(OH) ₂ Cl	81
	Prekursor tworzenia filmów SnO ₂ na szkle	BuSnCl ₃ , MeSnCl ₃	

Tabela 8: Informacje literaturowe o zawartości związków cynoorganicznych w różnych próbkach środowiskowych .

ORGANIZM	REGION	TYP PRÓBK	TECHNIKA	MBT	DBT	TBT	ODNOŚNIK LITERATUROWY
WODA							
				ng/l			
Jezioro Michigan, Michigan, USA			AAS	1220±60	1660±80	n.o.	[70]
Zatoka San Diego, Kalifornia, USA			AAS	0	0	n.o.	
Zatoka San Francisco, Kalifornia, USA			AAS	0	0	n.o.	
Północne Wybrzeże Kyoto, Japan				2,5–23	2,1–13	3,9–27	[83]
Południowo – wschodnie wybrzeże Francji				-	-	0,015–0,12	[83,84]
Wybrzeże Malezji				5,0–360	3,8–310	2,8–1100	[83,85]
Północne wybrzeże Japonii				860–2870	150–710	50–5480	[83]
BEZKRĘGOWCE							
				ng/g			
Małgiew piaskołaz (<i>Mya arenaria</i>)	Tianjin	Mięsień	GC – QSIL – FPD	Nd	65,2	103,2	[46]
Omulek jadalny (<i>Mytilus edulis</i>)	Danish coastal waters			4,1	4,8	11	[86]
Cyprina islandzka (<i>Arctica islandica</i>)	Danish coastal waters			<0,3	2,2	9	
<i>Hyas araneus</i>	Danish coastal waters			4,3	3,6	1,9	
Trąbik zwyczajny (<i>Buccinum undatum</i>)	Danish coastal waters			3,7	11	1,5	
<i>Caprella danilevski</i>	Otsuchi Bay, Japan		GC – FPD	11	9,2	59	[60]
<i>Caprella subinermis</i>	Otsuchi Bay, Japan			17	15	57	
<i>Caprella equilibra</i>	Otsuchi Bay, Japan			28	13	71	
<i>Caprella mutica</i>	Otsuchi Bay, Japan			19	13	94	
<i>Jassa</i>	Otsuchi Bay, Japan			25	9,5	12	
<i>Mytilus galloprovincialis</i>	Otsuchi Bay, Japan	soft tissue		9,4	34	45	
<i>Halocynthia roretzi</i>	Otsuchi Bay, Japan			<9	13	42	
<i>Storonylocentrotus intermedius</i>	Otsuchi Bay Japan	Soft tissue		<9	11	41	

Tabela 8 c.d.

RYBY							
				ng/g			
węgorz,	Netherland	wątroba	GC – MS	92	150	508	[57]
jazgarz,	Netherlands	wątroba	GC – MS	13	76	215	
Szczupak	Netherlands,	wątroba	GC – MS	950	6300	100	[57]
Dorsz (<i>Gadus morhua</i>)	Danish coastal water	wątroba	GC – QSIL – FPD	<0,3	6,7	13	[86]
Śledź (<i>Clupea harengus</i>)	Danish coastal water	wątroba	GC – QSIL – FPD	4,8	19	28	
Kur diabeł (<i>Myoxocephalus scorpius</i>),	Danish coastal water	wątroba	GC – QSIL – FPD	8,1	15	0,6	
<i>Conger myriaster</i>	Otsuchi Bay, Japan	mięsień	GC – FPD	21	13	13	[60]
<i>Conger myriaster</i>	Otsuchi Bay	wątroba	GC – FPD	66	60	28	
<i>Hexagrammos otakii</i>	Otsuchi Bay, Japan	mięsień	GC – FPD	12	2,1	4,2	
<i>Pholis neblosa</i>	Otsuchi Bay, Japan		GC – FPD	<9	6,1	31	
<i>Pholis crassispina</i>	Otsuchi Bay, Japan		GC – FPD	11	8,8	61	
<i>Pseudoblennius cottoides</i>	Otsuchi Bay, Japan		GC – FPD	<9	7,3	79	
flądra (<i>Platichthys flesus</i>)	Gdańsk –Brzeźno, Poland	wątroba	GC – EPD	8,9	169,2	18,1	[78]
Flądra (<i>Platichthys flesus</i>)	Danish coastal water	wątroba	GC – QSIL – FPD	19	200	40	[86]
PTAKI							
				ng/g			
Perkoz	Neatherlands	wątroba	GC – MS	370	360	48	[57]
Kaczka	Neatherlands	wątroba	GC – MS	39	200	42	
Kaczka	Neatherlands	mięsień	GC – MS	<10	<20	<20	
Mute Swan (<i>Cygnus olor</i>)	Danish coastal waters	wątroba	GC – QSIL – FPD	4,3	<0,3	<0,3	[86]
Common Eider (<i>Somateria mollissima</i>)	Danish coastal waters	wątroba	GC – QSIL – FPD	8,9	73	<0,3	

Tabela 8 c.d.

Markaczka (<i>Melanitta nigra</i>)	Danish coastal waters	wątroba	GC – QSIL – FPD	2,1	18	<0,2	[86]
Mewa siodłata (<i>Larus marinus</i>)	Danish coastal waters	wątroba	GC – QSIL – FPD	4,2	14	<0,3	
Kormoran zwyczajny (<i>Phalacrocorax carbo</i>)	Danish coastal waters	wątroba	GC – QSIL – FPD	9,3	29	0,4	[55]
	Lake Biwa, Japan	wątroba	GC – FPD	110	160	16	
	Shinobazu Pond, Japan	wątroba	GC – FPD	30	54	15	
	Netherlands	wątroba	GC – MS	32	110	<10	[57]
Nurzyk polarny (<i>Uria lomvia</i>)	Hokkaido, Japan	wątroba	GC – FPD	10	67	2	[55]
Bielik olbrzymi (<i>Haliaeetus pelagicus</i>)	Hokkaido, Japan	wątroba	GC – FPD	<5	<3	<1	
Albatros lasjański (<i>Diomedea immutabilis</i>)	North Pacific Ocean	wątroba	GC – FPD	28	15	0,4	
Albatros ciemnogłowy (<i>Phoebetria palpebrata</i>)	South Indian Ocean	Wątroba	GC – FPD	4	1,7	4,1	
Albatros królewski (<i>Diomedea epomophora</i>)	South Indian Ocean	wątroba	GC – FPD	<5	4,2	1,6	
Mewa blade (<i>Larus hyperboreus</i>)	Bear Island, Norway	wątroba	GC – AED	<3,2	<11,7	<2	[92]
SSAKI							
				ng/g			
Jenot (<i>Nyctereutes procyonoids</i>)	Tokyo, Japan	wątroba	GC-MS	17	59	6.2	[87]
Wydra morska (<i>Enhydra lutris</i>)	California Coastal Waters	wątroba	GC – FPD	87	726	606	[73]
	Alaska, USA			12	70	51	[19]
	Washington State, USA			15	120	71	
Słoń morski (<i>Mirounga augustirostris</i>)	Pebble Beach, California, USA (male) *	wątroba	GC – FPD	9,5	50	0,55	[63]
	Pebble Beach, California, USA			19	78	2,1	

Tabela 8 c.d.

Uchatka grzywiasta (<i>Eumetopias jubatus</i>)	Hokkaido, Japan (male)	wątroba	GC – FPD	100	130	16	[88]
	Hokkaido, Japan (female)			52	120	22	
	Alaska, USA wątroba (male)			7,1	7,6	18	[89]
	Alaska, USA (female)			5,9	7,5	17	
Uchatka kalifornijska (<i>Zalophus californianus</i>)	Moss Landing, California, USA (male) *	wątroba	GC – FPD	21	14	2,8	[63]
	Moss Landing, California, USA (male) *			30	36	1,7	
Kotik zwyczajny (<i>Callorinus ursinus</i>)	Sanriku Coast, Japan	wątroba	GC-FPD	93	130	93	[90]
Foka kaspijska (<i>Phoca caspica</i>)	Caspian Sea (male) *	wątroba	GC – FPD	4,6	2	0,53	[91]
	Caspian Sea (female) *			9,3	2	0,59	
	Azerbaijan (male) *			<4,6	<2	0,53	
	Azerbaijan (female) *			9,3	<2	0,59	
Foka pospolita (<i>Phoca vitulina</i>)	Danish coastal waters	wątroba	GC – QSIL – FPD	11	3,2	<0,5	[86]
	Coast of Møre, Norway*			11,7	8,06	1,2	[92]
	Abbott's lagoon, California, USA (male) *		GC – FPD	<2,3	<2,4	2	[63]
	Tomales Bay, California, USA (female) *			5	6,5	0,69	
Foka pręgowana (<i>Histriophoca fasciata</i>)	Rausu, Hokkaido Coast, Japan	wątroba	GC-FPD	23	25	27	[90]
Foka obrączkowana (<i>Phoca hispida</i>)	Spitsbergen (Kongsfjorden), Norway *	wątroba	GC-AED	<1	<1,6	<1	[92]
Foka pstra (<i>Phoca largha</i>)	Rausu, Hokkaido Coast, Japan	wątroba	GC-FPD	21	23	5,9	[90]

Tabela 8 c.d.

Dall's porpoise (<i>Phocoenoides dalli</i>)	Sanriku, Japan (female)	wątroba	GC – FPD	220	780	220	[69]
	Sanriku, Japan (male)			97	430	230	[90]
	Otsuchi Bay, Japan (male)			97	430	230	[60]
	Bering Sea, Northwest Pacific (male)			27	42	16	[90]
	northwestern N, Pacific (male)			37	44	16	
	moss Landing, California, USA (male)			33	59	26	
Morświn (<i>Phocoena phocoena</i>)	Danish coastal waters	wątroba	GC – QSIL – FPD	12	419	106	[86]
	Inner Danish water**		GC-PFPD	17	1293	208	[74]
	Danish North Sea**			40	1252	279	
	West Greenland**			0,4	13	4,1	
	Barents Sea in Finnmark, Norway *		GC-AED	10,7	66,5	34,4	[92]
	Karmøy, Norway *			18,9	121,8	39,6	
Morświn bezpłetwy (<i>Neophocaena phocaenoides</i>)	Chiba, Pacific Coast, Japan	wątroba	GC-FPD	680	1800	810	[90]
	Seto Inland Sea, Japan			3000	6100	1100	
	Nagasaki, Japan			940	3700	510	
	Ise Bay, Japan			130	790	200	
	Dongshan, China			130	670	90	
Dziobogłowiec północny (<i>Berardius bairdii</i>)	Ayukawa, Japan	wątroba	GC-FPD	46	140	23	
Kaszalot mały (<i>Kogia briveceps</i>)	Tottori, Japan	wątroba	GC-FPD	75	120	31	
Kaszalot karłowaty (<i>Kogia simus</i>)	Toyohashi, Japan	wątroba	GC-FPD	200	470	55	
Humbak z Pacyfiku (<i>Sousa hinensis</i>)	Bay of Bengal, India	wątroba	GC-FPD	22	47	54	

Tabela 8 c.d.

Orka (<i>Orcinus orca</i>)	Rausu, Japan (male) *	wątroba	GC – FPD	84	110	4,4	[45]
	Rausu, Japan (female) *		GC – FPD	41	360	34	
	Taiji, Japan		GC-FPD	710	1600	180	[90]
Grindwal krótkopłetwy (<i>Globicephala macrorhynchus</i>)	Ayukawa, Japan	wątroba	GC-FPD	510	1200	350	
Delfin szary (<i>Grampus griseus</i>)	Taiji, Japan (male) *	wątroba	GC – FPD	0,29	1,9	0,71	[93]
	Taiji, Japan (female) *		GC – FPD	0,53	2,7	0,91	
Delfin butlonosy (<i>Tursiops truncatus</i>)	Taiji, Japan (female)	wątroba	GC-FPD	480	1900	470	[90]
	Bay of Bengal, India		GC-FPD	26	44	35	
Delfin długopyski (<i>Steno bredanensis</i>)	West Pacific Ocean	wątroba	GC-FPD	5,7	10	6,7	
Delfin długoszczęki (<i>Stanella longirostris</i>)	Sulu Seam, Philippines	wątroba	GC-FPD	2	32	21	
	Bay of Bengal, India		GC-FPD	10	32	53	
Delfin malajski (<i>Lagenodelphis hosei</i>)	Sulu Seam, Philippines	wątroba	GC-FPD	15	53	26	
Makak japoński (<i>Macaca fuscata</i>)	Kanagawa, Japan	wątroba	GC-MS	<4	<3	2	[87]

*Stężenia podane w µg/g;

**Stężenia podane w mg/g

nd – nie oznaczono

Wartości liczbowe podane w zapisie oryginalnym z cytowanej literatury.

Nie ma wątpliwości, że etap przygotowania próbki jest to najważniejszy etap procedur analitycznych wykorzystywanych w analityce związków cynoorganicznych. Etap ten obejmuje takie operacje jak:

- ekstrakcję analitów z próbki,
- derywatyzację,
- wzbogacanie,
- oczyszczanie próbki,

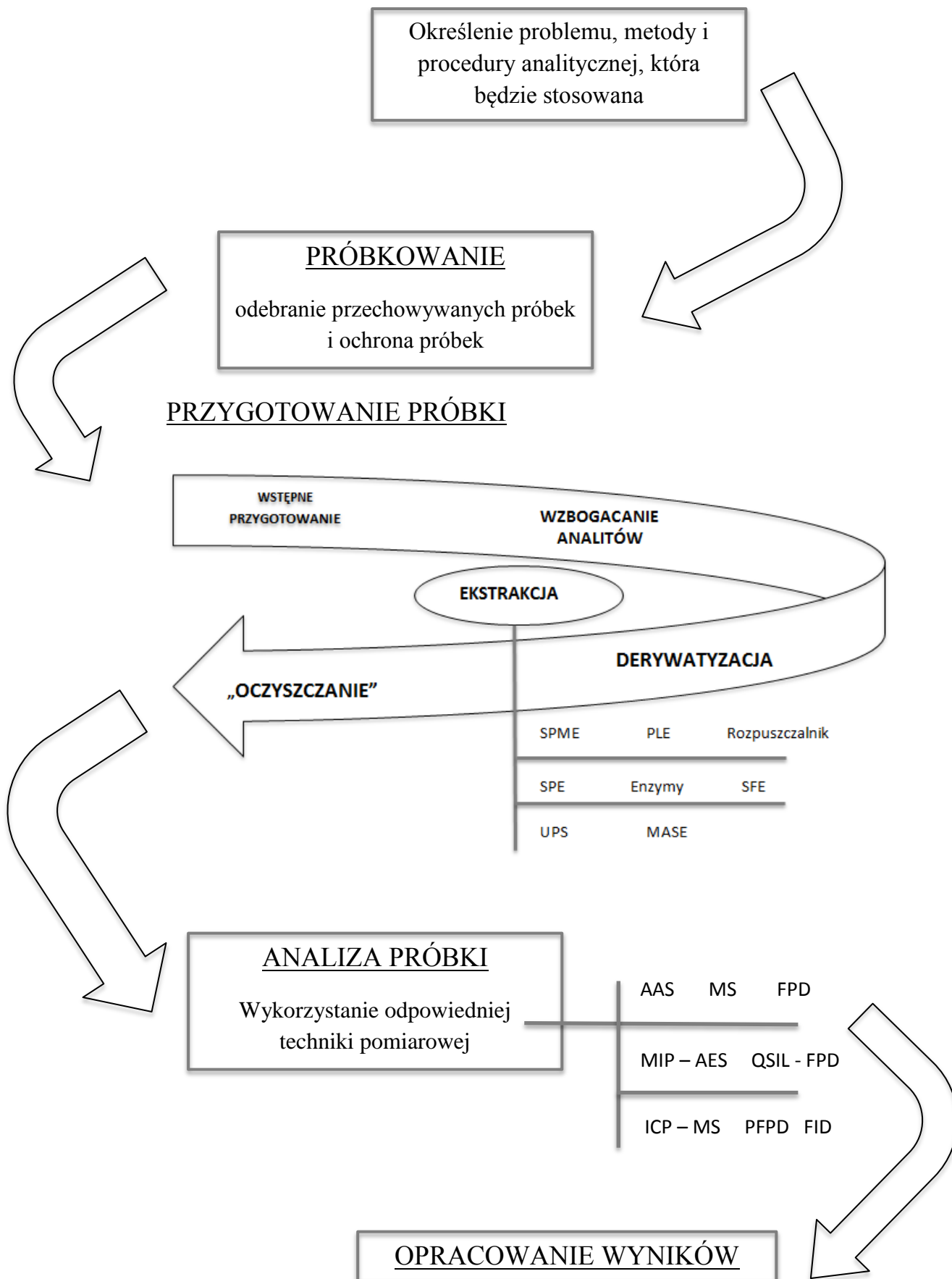
dlatego ważne jest zachowanie ostrożności, aby uniknąć straty analitów [100, 101].

Sposób przechowywania próbek jest równie istotny ze względu na ryzyko zmian fizycznych i chemicznych, wpływających na stężenie związków [101-105]. Według wyników przeprowadzonych badań, przechowywanie próbek w niskich temperaturach oraz w ciemności zapewnia stabilność związków cynoorganicznych [101,106] oraz zapewnia możliwość utrzymania równowagi pomiędzy wszystkimi formami chemicznymi cyny [101].

Na etapie ekstrakcji następuje przeniesienie analitów z badanej próbki, która często charakteryzuje się złożonym składem matrycy, do medium odbierającego, które charakteryzuje się jednorodnym i prostym składem matrycy [107]. Na tym etapie zastosowanie znajdują takie grupy technik ekstrakcyjnych jak:

- ekstrakcja za pomocą strumienia gazu,
- ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika, w tym także rozpuszczalnika w postaci płynu w stanie nadkrytycznym.

Niekiedy ze względu na to, że anality mogą występować w postaci jonowej, proces ekstrakcji rozpuszczalnikami organicznymi wspomagany jest dodatkiem substancji kompleksujących, np. tropolone (2-hydroksy-2,4,6-cycloheptatrienon). Często ekstrakcja wspomagana jest wykorzystaniem promieniowania mikrofalowego lub ultradźwięków [107]. Dobór odpowiednich technik ekstrakcji zależy od wielu czynników takich jak charakter próbki, rodzaj analitów, dostępnego sprzętu oraz doświadczenia analityka [107]. Do tej pory nie opracowano uniwersalnej metody ekstrakcji analitów z próbki, o czym świadczy stosowanie licznych metod ekstrakcji opisanych w literaturze.



Rys. 3: Ogólny schemat procedur analitycznych oznaczania związków cyanoorganicznych w próbkach charakteryzujących się złożonym składem matrycy. [101]

W tabeli 8 zostały zawarte informacje na temat poziomów zawartości związków cynoorganicznych w różnych próbkach środowiskowych oraz stosowanych metodyk analitycznych w trakcie badań zebranych próbek.

W tabeli 9 zestawiono informacje o najczęściej stosowanych technikach ekstrakcji związków cynoorganicznych z próbek środowiskowych [107].

Tabela 9: Informacje literaturowe o technikach ekstrakcji związków cynoorganicznych z próbek środowiskowych.

TYP PRÓBKII	ANALIT	WARUNKI EKSTRAKЦИИ	ODNOŚNIK LITERATUROWY
OSADY	MBT, DBT, TBT	<ul style="list-style-type: none"> • próbki osadów zostały strawione przez wodę królewską 	[108]
	MBT, DBT, TBT	<ul style="list-style-type: none"> • pobieranie próbek analitów z wykorzystaniem techniki SPME 	[97]
MIKROORGANIZMY I SKORUPIAKI	DBT, TBT, DPhT, TPhT	<ul style="list-style-type: none"> • ekstrakcja próbki w 0,1% mieszaninie tropolonu/benzenu i 1N HBr/etanol 	[48,98]
	MBT, DBT, TBT	<ul style="list-style-type: none"> • homogenizacja próbki, • dodanie TBT jako wzorca wewnętrznego, • zakwaszenie mieszaniną THF – HCl, • ekstrakcja z 0,01% tropolonu/heksanu w wyparce obrotowej 	[30]
RYBY	MBT, DBT	<ul style="list-style-type: none"> • Zakwaszenie próbek tkanek ryby za pomocą HCl • ekstrakcja za pomocą 0,5% mieszaniny tropolonu/heksanu 	[63]
	MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT, TPhT	<ul style="list-style-type: none"> • homogenizacja próbki; • dodanie tripropylocyny jako wzorca wewnętrznego; • dodanie 1 M HCl, • poddanie działaniu ultradźwięków 	[40]
PTAKI	MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT, TPhT	<ul style="list-style-type: none"> • homogenizacja próbki; • dodanie tripropylocyny jako wzorca wewnętrznego; • dodanie 1 M HCl, • poddanie działaniu ultradźwięków 	[86]

Tabela 9 c.d.

PTAKI	MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT, TPhT	<ul style="list-style-type: none"> zakwaszenie homogenatu za pomocą rozcieńzonego kwasu solnego i chlorku sodu (1:3); dodanie świeżo przygotowanego (mniej niż 3 h wcześniej) 0,3% tropolonu w eterze dietylowym; ekstrakcja łącznie z wirowaniem (30 s), sonifikacją i wytrząsaniem (5 min); separacja faz za pomocą wirowania (3 min); oddzielenie fazy organicznej i ponowna dwukrotna ekstrakcja homogenatu; suszenie siarczanem sodowym przez 30 min. 	[57]
	MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT, TPhT	<ul style="list-style-type: none"> homogenizacja próbki za pomocą a 0,1% mieszaniny tropolonu/heksanu; wirowanie mieszaniny przez 15 min; przeniesienie roztworu z nad osadu do 100 ml 0,1% tropolonu/benzenu i 500 ml mieszaniny heksan-woda do rozdzielacza; dekantacja warstwy; usuwanie wilgoci za pomocą 35 g bezwodnego siarczanu sodu 	[55, 56]
SSAKI	MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT, TPhT	<ul style="list-style-type: none"> homogenizacja próbki; dodanie tripropylocyny jako wzorca wewnętrznego; dodanie 1 M HCl, homogenizacja i poddanie działaniu ultradźwięków 	[86]
	MBT, DBT, TBT, MPhT, DPhT, TPhT	<ul style="list-style-type: none"> rozpuszczanie około 1 g tkanki (losowo próbki) za pomocą tetraetylu wodorotlenku amonu 	[92]
	MBT, DBT, TBT	<ul style="list-style-type: none"> homogenizacja zakwaszonej próbki za pomocą 0.1% tropolonu/acetone, przeniesienie próbki do 100 ml 0,1% mieszaniny tropolonu/benzenu, usuwanie wilgoci w organicznym ekstrakcie z wykorzystaniem 35 g bezwodnego siarczanu sodu 	[73]

Przed wprowadzeniem próbki do układu pomiarowego, związki cynoorganiczne muszą zostać poddane derywatywacji, czyli przekształceniu w pochodne o wyższej lotności [98, 107]. Najczęściej wykorzystuje się metodę alkilowania odczynnikiem Grignarda [42, 98, 99, 109-112], redukcję za pomocą tetrahydroboranu sodu (NaBH_4) oraz etylowanie z wykorzystaniem tetraetyloboranu sodu (NaBEt_4). Powyższe sposoby derywatywacji umożliwiają szybsze i łatwiejsze przygotowanie próbki [99].

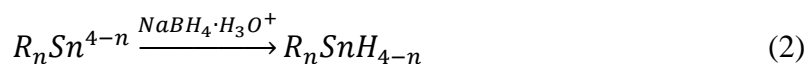
Odczynnik Grignarda jest nieaktywny w obecności wody i może być używany tylko z nieprotonowymi apolarnymi rozpuszczalnikami, w związku z czym stosuje się środek kompleksujący do wyodrębnienia postaci jonowej organocyny do fazy organicznej [98, 112]. Reakcja alkilowania przy użyciu związków Grignarda przebiega zgodnie z poniższym równaniem (1):



gdzie R to podstawnik organiczny, a n zawiera się w przedziale od 1 do 3.

Alkilowanie jest popularną metodą derywatywacji ze względu na dostępność związków metaloorganicznych. Najczęściej stosowane są związki umożliwiające metylowanie etylowanie i propylowanie. Alkilowanie przy użyciu odczynników Grignarda prowadzi do powstania tetralkilocyn, charakteryzujących się dużą stabilnością i doskonale nadających się do rozdzielania techniką chromatografii gazowej.

Generowanie wodorków za pomocą NaBH_4 jest procedurą powszechnie stosowaną do oznaczania związków butylocyny w próbkach środowiskowych [112]. Reakcja przebiega zgodnie z równaniem (2):



gdzie R to podstawnik organiczny, a n zawiera się w przedziale od 1 do 3.

Proces ten polega na dodaniu zalkalizowanego roztworu borowodoru sodu do zakwaszonego roztworu zawierającego anality [82]. W przypadku związków cynoorganicznych najczęściej do zakwaszenia używa się kwasu octowego [112].

Lotne wodorki, będące produktem powyższej reakcji, są wypłukiwane z naczynia reakcyjnego, a następnie osuszane i kierowane do pułapki kriogenicznej w postaci U - rurki wypełnionej materiałem do chromatografii, przed etapem oznaczeń z wykorzystaniem techniki AAS.

Etylowanie za pomocą etyloboranu sodu, jest bardziej nowoczesną metodą, która wykorzystuje jednostopniową ekstrakcję [99]. Reakcja alkilowania przy użyciu alkiloboranów przebiega zgodnie z poniższym równaniem (3):



gdzie R to podstawnik organiczny, a n zawiera się w przedziale od 1 do 3.

NaBEt₄ jest odczynnikiem, dzięki któremu można uzyskać ilościowe etylowanie w wodnych lub polarnych rozpuszczalnikach. Mimo iż metoda generowania wodorków charakteryzuje się większą czułością, to w wyniku etylowania NaBEt₄ uzyskuje się wyniki charakteryzujące się większą powtarzalnością [112].

W tabeli 10 zestawiono informacje literaturowe na temat wad i zalet stosowanych sposobów derywatywacji związków cynoorganicznych.

Tabela 10: Wady i zalety różnych sposobów derywatywacji związków cynoorganicznych

Metoda	Wady	Zalety	Odnosnik literaturowy
ALKILOWANIE Z WYKORZYSTANIEM METODY GRIGNARDA	zasochłonna i wieloetapowa	duża dostępność związków magnezoorganicznych	[113]
	mogą powstawać siarczki alkilowe zakłócające proces detekcji pochodnych cynoorganicznych	powstające tetraalkilocyny doskonale nadają się do rozdzielania metodą GC	
		może być prowadzone w środowisku bezwodnym	
		reakcja przebiega szybko i z dużą wydajnością	
GENEROWANIE WODORKÓW (REDUKCJA ZA POMOCĄ BOROWODORKU SODU (NaBH ₄))	obecność substancji humusowych i metali ma wpływ na: - zmniejszenie wydajności generacji wodorków - pogarszanie powtarzalności wyników - zakłócenia przebiegu wypłukiwania analitów	szczególnie dobrze sprawdza się podczas analizy próbek o stosunkowo prostym składzie	[107]
	adsorpcja wodorków na powierzchni osadów, powstałych podczas generacji wodorków	-	
	skłonność próbek zawierających tłuszcze (np. próbki biologiczne) do pienienia się podczas barbotażu analitów (85)	-	

Tabela 10 c.d.

ETYLOWANIE NaBEt_4	niewielka ilość dostępnych alkiloboranów	procedura może być wykorzystana bezpośrednio w fazie wodnej	[112]
	nadaje się do specjacji pochodnych etylowych	niewrażliwa na większość substancji zakłócających (np. metali, substancji humusowych)	
	-	etylacja w fazie wodnej i ekstrakcja mogą być wykonywane jednocześnie	
	-	w wyniku etylacji powstają stabilne termicznie i lotne pochodne, doskonale nadające się do rozdzielania techniką chromatografii gazowej	

Stosowana metodyka analityczna powinna zapewniać niezależność wyniku, szczególnie kiedy poziom zawartości zanieczyszczeń może przekraczać poziom zawartości analitu nawet o kilka rzędów [114]. Poziomy zawartości związków cynoorganicznych w próbkach środowiskowych z reguły są tak niskie, że czułość danego detektora nie jest w stanie dostarczyć miarodajnych wyników na temat zawartości analitów [107]. Stąd wynika istotne znaczenie metod wzbogacania, które nie tylko umożliwiają zwiększenie stężenia analitów, ale również zmniejszają poziom zawartości zanieczyszczeń [107, 114].

Proces wzbogacania z reguły polega na wykorzystaniu jednej z wielu technik ekstrakcyjnych [107, 101, 113]. Do najczęściej wykorzystywanych do izolacji i wzbogacania analitów z grupy związków cynoorganicznych z próbek środowiskowych należy zaliczyć [107, 98, 115, 116]:

- ekstrakcja ciecz – ciecz (LLE),
- ekstrakcję do fazy stałej (SPE),
- mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej (SPME),
- mikroekstrakcja z zastosowaniem wirującego elementu sorpcyjnego (SBSE),
- mikroekstrakcja do fazy ciekłej (LPME),
- dyspersyjna mikroekstrakcja ciecz – ciecz (DLLME),
- mikroekstrakcja do pojedynczej kropli (SDME).

W celu oczyszczenia ekstraktów z substancji przeszkadzających wykorzystuje się sorbenty posiadające polarne grupy funkcyjne. Mechanizm oczyszczania polega na różnicy powinowactwa analitów i substancji przeszkadzających do powierzchni sorbentów.

Do najczęściej stosowanych należy żel krzemionkowy, tlenek glinu i „Florisil” (konglomerat magnezowo – silikażelowy).

Układ pomiarowy, do analizy próbek środowiskowych, w którym oznaczane będą związki cynoorganiczne powinien charakteryzować się wysoką czułością. Takie właściwości wykazują tzw. techniki łączone, które dzięki połączeniu odpowiedniej techniki rozdzielania z wysokoczułymi metodami detekcji, pozwalają uzyskać jakościowe i ilościowe informacje na temat badanej próbki [100, 107, 111, 112]. W ostatnich latach, oprócz chromatografii gazowej, wykorzystuje się rozmaite odmiany chromatografii cieczowej oraz elektroforezę kapilarną [117, 107, 111, 112].

W tabeli 11 zestawiono informacje na temat wad i zalet stosowanych technik rozdzielania, detekcji i oznaczania związków cynoorganicznych w odpowiednio przygotowanych próbkach.

2.6. Aspekty prawne związane z występowaniem związków cynoorganicznych w środowisku

Na podstawie badań wykazano zależność między podwyższonym poziomem zawartości TBT w wodzie morskiej a częstotliwością występowania anomalii muszli ostryg [42]. Instytucje odpowiedzialne za zarządzanie zasobami środowiska we Francji wprowadziły zakaz stosowania farb przeciwporostowych w 1982 roku. Zakaz ten wprowadzono także w innych państwach. W 2003 roku Parlament Europejski wydał rozporządzenie w którym zabrania się stosowania tych farb na terenie Unii Europejskiej [41, 29, 118].

W tabeli 12 zostały zawarte informacje na temat regulacji prawnych dotyczących związków cynoorganicznych na terenie Unii Europejskiej oraz Polski.

Tabela 11: Techniki rozdzielania i oznaczania związków cynoorganicznych w odpowiednio przygotowanych próbkach środowiskowych.

Metoda	Wady	Zalety	Stosowane detektory	LOD	Odnosnik literaturowy
Chromatografia gazowa	<ul style="list-style-type: none"> ↘ wymaga derywatywacji analitów obecnych w próbce ↘ konieczne specjalne warunki analizy 	<ul style="list-style-type: none"> ↘ wysoki stopień rozdzielania analitów <ul style="list-style-type: none"> ↘ krótki czas analizy ↘ dostępność selektywnych i czułych detektorów w stosunku do ceny <ul style="list-style-type: none"> ↘ wysoka precyzja oznaczeń ↘ niższe granice wykrywalności niż w analizie przy użyciu HPLC ↘ łączona z powodzeniem z innymi technikami analitycznymi 	AAS	0,5 pg	19, 100, 97, 57, 69, 98, 99, 109, 112, 119-121
			QSIL – FPD	TBT 0,5 ng/l DBT 1,5 ng/l MBT 19,4 ng/l	
			ICP – AES	0,6 ng/l	
			FPD	TBT < 6 ng/l DBT < 7 ng/l MBT < 16 ng/l	
			MIP – AES	0,04-10 ng/l	
Wysokosprawna chromatografia cieczowa	<ul style="list-style-type: none"> ↘ słabsza rozdzielczość niż w przypadku GC ↘ słabsza selektywność metody przy analizie złożonych matryc 	<ul style="list-style-type: none"> ↘ nie wymaga derywatywacji ↘ wymaga użycia dużej ilości rozpuszczalników organicznych <ul style="list-style-type: none"> ↘ wysoka selektywność ↘ możliwość łączenia HPLC z innymi metodami detekcji 	AAS		100, 111, 112, 121
			ICP – AES	0,1 µg/l	
			ICP – MS	0,03-0,15 µg Sn ⁻¹	
			fluorometryczne	TPhT 0,02 µg/l TBT 20 ng/l	
Elektroforeza kapilarna	<ul style="list-style-type: none"> ↘ mała stabilność ↘ niska czułość 	<ul style="list-style-type: none"> ↘ wyższa skuteczność separacji ↘ krótki czas analizy <ul style="list-style-type: none"> ↘ małe koszty ↘ wymaga mniejszej ilości próbki 	UV	-	100, 111, 112
			AFS		
			ICP – MS		

Tabela 12: Informacje o regulacjach prawnych dotyczących stosowania związków cynoorganicznych.

Wydane rozporządzenie	Treść rozporządzenia	Odnosińnik literaturowy
Dyrektywa 76/769/EWG i rozporządzenie (WE) nr 782/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 14 kwietnia 2003 r	stosowanie farb przeciwporostowych, których składnikiem jest TBT zostało zabronione	[118]
	od dnia 1 stycznia 2008 roku są zabrania się wpuszczania do portów wspólnotowych statki, które posiadać będą powłokę zawierająca TBT	
	dodatkowo wprowadza się badania wszystkich statków o tonażu brutto 400 ton i więcej – niezależnie od charakteru rejsu, natomiast statki o długości 24 m lub więcej i wspomnianym wyżej tonażu brutto powinny posiadać deklarację zgodności z tym rozporządzeniem	
Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 18 listopada 2005 r.	zabrania się: używania farb produkowanych na bazie związków organiczno-cynowych (TBT) do konserwacji technicznych konstrukcji podwodnych.	[122]
Rozporządzenie Ministra Środowiska z dnia 20 sierpnia 2008 r. w sprawie sposobu klasyfikacji stanu jednolitych części wód powierzchniowych	dopuszczalne stężenie tributylcyny nie może być większe niż $1,5 \text{ ng} \cdot \text{dm}^{-3}$	[123]
Decyzja Komisji z dnia 28 maja 2009 roku, zmieniająca dyrektywę Rady 76/769/EWG w odniesieniu do ograniczeń we wprowadzaniu do obrotu i stosowaniu związków cynoorganicznych w celu dostosowania załącznika I do tej dyrektywy do postępu technicznego	należy ograniczyć wyroby zawierające związki DBT	[124]
	niektóre dibutylocyny, m.in. chlorek DBT, po klasyfikacji zgodnie z dyrektywą rady 67/548/EWG, zostanie wprowadzony zakaz sprzedaży substancji czy też mieszanin zawierających DBT	
	z dniem 1 lipca 2010 roku w wyrobach nie stosuje się TBT oraz TPT, jeżeli stężenie cyny w danym wyrobie (bądź też jej części) jest większe niż równowartość 0,1 % masy.	
	z dniem 1 lipca 2012 w wyrobach przeznaczonych do sprzedaży, nie stosuje się związków DBT w danym wyrobie jeżeli masa cyny w wyrobie (bądź też jego części) jest większe lub równe 0,1% masy	

3. Materiały odniesienia

Jednym z podstawowych zadań chemii analitycznej w analizie i monitoringu jest rozwój metod, dzięki którym możliwe jest wykonywanie niezwykle istotnych dla społeczeństwa pomiarów w różnych dziedzinach takich jak sektor biomedyczny, sektor rolniczy czy też przemysłowy [125]. Pomiary te polegają na oznaczaniu toksyn środowiskowych oraz innych analitów na coraz niższych poziomach stężeń w próbkach, które zazwyczaj charakteryzują się bardzo skomplikowaną matrycą. Tego typu analizy są procesami wieloetapowymi, stąd też istnieje wiele możliwości popełnienia błędów związanych zarówno z pracą analityka jak i wykorzystywanej aparatury, co może prowadzić do uzyskania wyników obciążonych dużym błędem. Otrzymanie błędnych wyników analiz może powodować wiele negatywnych konsekwencji, dlatego też konieczne jest zapewnienie kontroli jakości prowadzonych badań związanych z analizowaniem wszelkich elementów środowiska [125–130]. Elementy systemu kontroli i zapewnienia jakości danych pomiarowych przedstawiono na rys 4.



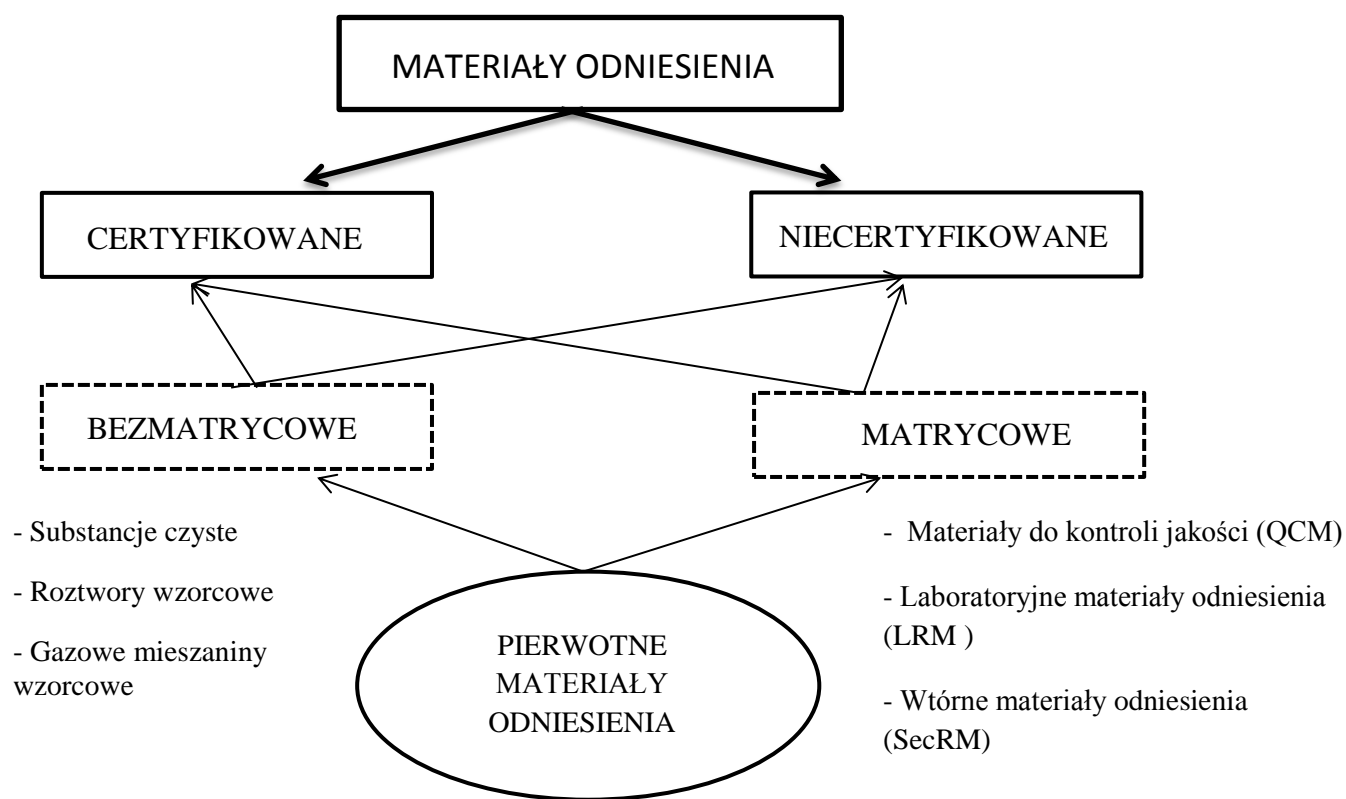
Rys. 4: Elementy systemu kontroli i zapewnienia jakości danych pomiarowych (QA/QC).

Materiały odniesienia (RM) oraz certyfikowane materiały odniesienia (CRM) odgrywają istotną rolę we wszystkich elementach systemu zapewnienia jakości wyników pomiarów [131]. Zgodnie z informacjami zawartymi w opracowaniach przeglądowych przez specjalistów współpracujących z takimi organizacjami jak ISO, IUPAC, CITAC oraz ILAC

stosowanie certyfikowanych materiałów odniesienia jest powszechnie wymagane w celu uzyskania wiarygodnych i spójnych wyników pomiarów w różnych dziedzinach życia.

Niecertyfikowane materiały odniesienia (laboratoryjny materiał odniesienia i materiał do kontroli jakości) i certyfikowane materiały odniesienia (pierwotny materiał odniesienia i certyfikowany materiał odniesienia) różnią się głównie dokładnością, precyzją i wartością niepewności wyznaczenia określonych parametrów. Informacje o podstawowych typach materiałów odniesienia zestawiono w tabeli 13 [132]. Z tego też względu certyfikowane materiały odniesienia zajmują wyższe miejsce w hierarchii metrologicznej.

Ogólną klasyfikację materiałów odniesienia przedstawiono na rysunku 5 [132].



Rys.5: Klasyfikacja materiałów odniesienia.

Tabela 13: Charakterystyka podstawowych typów materiałów odniesienia. [132]

Rodzaj materiału odniesienia	Charakterystyka
Pierwotny materiał Odniesienia	<ul style="list-style-type: none"> • materiał o najwyższej metrologicznej jakości, którego wartości właściwości są określane (certyfikowane) z wykorzystaniem metod pierwotnych; • „sporządzany” przez narodowy instytut metrologiczny; • uznawany przez narodowe instytucje; • spójny z jednostkami układu SI i sprawdzany w porównaniach międzylaboratoryjnych.
Certyfikowany materiał Odniesienia	<ul style="list-style-type: none"> • „Spełniający” wymogi zawarte w definicji proponowanej przez przewodnik ISO nr 30; • „sporządzany” przez narodowe laboratoria odniesienia lub specjalne instytucje czy też organizacje; • weryfikowany przy użyciu metodyk odniesienia, przez porównania wyników różnych metod lub zastosowanie dwóch procedur analitycznych; • uznawany przez narodowe i specjalistyczne organizacje; • posiadający certyfikat (wartość niepewności certyfikowanej właściwości oraz opisana spójność pomiarowa);
Laboratoryjny materiał odniesienia i materiał do kontroli jakości	<ul style="list-style-type: none"> • „spełniający” wymogi zawarte w definicji proponowanej przez przewodnik ISO nr 30; • produkowany przez organizację akredytacyjną; • mający ustanowione wartości odniesienia; • wyposażony w opis spójności pomiarowej oraz oszacowania niepewności.

3.1. Wytwarzanie materiałów odniesienia

Kontrola jakości opiera się na analizie materiałów odniesienia z wykorzystaniem testowanej metody analitycznej oraz porównaniu uzyskanych wyników z wartościami certyfikowanymi.

Wyróżnia się dwa typy materiałów odniesienia: materiały odniesienia i certyfikowane materiały odniesienia [128, 133].

Zgodnie z definicją materiał odniesienia (RM) to materiał lub substancja, dla których uznano wartości jednej lub większej liczby właściwości za dostatecznie jednorodne i na tyle dobrze określone, aby mogły być stosowane do wzorcowania przyrządu, do oceny metody pomiarowej lub do przypisania wartości właściwościom materiałów, natomiast certyfikowany materiał odniesienia (CRM) to materiał odniesienia opatrzony certyfikatem, charakteryzujący się wartością lub wartościami danej właściwości, które certyfikowano zgodnie z procedurą zapewniającą odniesienie do dokładnej realizacji jednostki miary, w której wyrażane są wartości danej właściwości; każdej wartości certyfikowanej powinna być przy tym przypisana niepewność odpowiadająca określonemu poziomowi ufności [134–138].

Istotnym faktem jest jednak to, że wytwarzanie i certyfikacja materiałów odniesienia jest procesem niezwykle trudnym, czasochłonnym i pracochłonnym. Na przygotowanie materiału odniesienia składają się następujące czynności [133]:

- wybór rodzaju materiału,
- pozyskanie odpowiedniej ilości materiału,
- dobór i zakup odpowiednich pojemników, etykiet, itp.,
- wstępne przygotowanie materiału (rozdrobienie, przesiewanie, wydzielenie frakcji o odpowiedniej wielkości ziarna),
- wstępne badanie jednorodności materiału,
- określenie zawartości składników głównych,
- konfekcjonowanie materiału do pojemników,
- ostateczne badanie jednorodności materiału,
- sterylizacja materiału (zapewnienie trwałości biologicznej),
- oznaczenie wilgotności,
- organizacja porównań międzylaboratoryjnych w celu przeprowadzenia procesu certyfikacji,
- statystyczne opracowanie uzyskanych wyników (odrzućenie wyników odbiegających, obliczenie średnich, odchyłeń standardowych, przedziałów ufności),
- ustalenie wartości atestowanych na podstawie sformułowanych wcześniej kryteriów, a następnie wydrukowanie atestu [133].

Najważniejsze parametry, które należy wziąć pod uwagę w produkcji certyfikowanych materiałów odniesienia to [133-140]:

- **reprezentatywność** – podobieństwo pomiędzy poszczególnymi próbkami pod względem składu matrycy, poziomu zawartości analitów, sposobu związania analitów z matrycą, rodzaju i stężenia substancji przeszkadzających oraz fizycznego stanu materiału
- **jednorodność składu** – cecha określająca stopień jednorodności struktury lub składu wobec jednej lub wielu właściwości
- **trwałość materiału** – zdolność materiału odniesienia do zachowania deklarowanej właściwości w określonych granicach w określonym okresie czasu, gdy jest on przechowywany w określonych warunkach
- **wartość certyfikowana** – proces certyfikacji polega na wykonaniu analiz próbek materiału z wykorzystaniem jednej metody w kilku laboratoriach lub większej liczby metod w jednym lub kilku laboratoriach., w których każda z serii pomiarów przeprowadzana jest z największą możliwą dokładnością i zachowaniem spójności pomiarowej [125].

3.1.1. Reprezentatywność

Certyfikowany materiał odniesienia powinien charakteryzować się składem matrycy jak najbardziej zbliżonym do próbek rzeczywistych. Dlatego ważna jest ocena reprezentatywności próbki. Wymóg reprezentatywności RM oznacza w większości przypadków podobieństwo:

- składu matrycy
- zawartości analitów
- charakteru wiążącego tych analitów
- Stanu fizycznego materiału [131, 141].

Przygotowując materiał odniesienia, oprócz wymienionych parametrów należy również wziąć pod uwagę takie czynniki jak:

- Położenie geograficzne
- Populację organizmów lub ekosystemów na danym terenie
- Porę roku [139, 141]

Uzyskanie pełnej zgodności wszystkich cech materiału z cechami badanych próbek nie zawsze jest możliwe, ponieważ wymagania związane z tym, że materiał powinien być jednorodny i trwały, oznaczają, że w procesie homogenizacji i stabilizacji może nastąpić zmiana sposobu związania analitu ze składnikami matrycy.

3.1.2. Jednorodność

Badania jednorodności to kluczowy etap procedur przygotowania i certyfikacji materiałów odniesienia [142, 143].

W trakcie badań jednorodności spełnione muszą być określone wymagania. Do najważniejszych należy zaliczyć [139, 144]:

- możliwość zastosowania „szybkich” technik analitycznych;
- możliwość zastosowania procedur analitycznych charakteryzujących się małym zużyciem badanego materiału (próbki o małej masie)
- wysoka powtarzalność wyników pomiarowych.

Parametr ten może być rozpatrywany w dwóch aspektach:

- jednorodność wewnątrzpakowaniowa (*within-bottle homogeneity*)
- jednorodność międzyopakowaniowa (*between-bottle homogeneity*)

Pierwszy rodzaj narzuca minimalną ilość próbki, dla której ustalona wartość niepewności jest stałym parametrem. [145].

Sprawdzanie jednorodności (*homogeneity study*) polega na porównywaniu uzyskanych wyników dla losowo pobranych próbek materiału odniesienia.

3.1.3. Trwałość

Sprawdzanie trwałości jest etapem niezbędnym w procesie certyfikowania materiałów odniesienia [145, 146], w celu zagwarantowania, że skład materiałów odniesienia pozostanie niezmienny w czasie [146].

Trwałość materiału odniesienia wyznaczana jest w oparciu o porównanie wartości certyfikowanych parametrów uzyskanych w wyniku ich oznaczania w próbkach danego materiału [146]:

- przechowywanych w tzw. temperaturze odniesienia, przy założeniu, iż w tej temperaturze nie następuje zmiana składu materiału odniesienia;
- przechowywanych w temperaturze zalecanej przez producenta.

W stosunku do wykorzystywanych w trakcie badań trwałości procedur analitycznych muszą być spełnione takie same wymagania jak w przypadku badań jednorodności.

Podstawowym celem badań trwałości jest zbadanie wpływu warunków przechowywania na trwałość samego analitu, jego matrycy i połączenia tych dwóch aspektów [148, 140]. Kolejnym celem badań jest zagwarantowanie przez producenta trwałości materiału podczas transportu [146]. Badanie trwałości materiałów odniesienia jest etapem wymagającym szczególnej uwagi [148, 140].

Materiały odniesienia są zwykle przygotowywane w ilości, która jest wystarczająca na kilka lat i z tego powodu muszą być one produkowane w sposób zapewniający trwałość podczas planowanego czasu eksploatacji [140, 147]. Wiele czynników może wpłynąć na trwałość materiałów, uwzględniając aktywność chemiczną i biologiczną [140]. Badając trwałość materiału – „kandydata” na certyfikowany materiał odniesienia należy ustalić najbardziej odpowiednie i ekonomiczne warunki przechowywania i transportu [140].

Badanie trwałości jest często bardziej skomplikowane niż badanie jednorodności. Powodem tego jest fakt, że przeważnie co najmniej jeden parametr wpływający na niepewność zostaje dodany (czas), a w niektórych przypadkach dodaje się ich więcej (czas, kalibracja itp.) [146].

Wyróżnia się dwa rodzaje trwałości analitycznej materiału odniesienia [146, 148]:

- Długoterminowa trwałość (np. okres trwałości)
- Krótkoterminowa trwałość (np. trwałość materiału w "warunkach transportu")

Badanie trwałości krótkoterminowej należy wykonać w temperaturze przechowywania, w celu uzyskania informacji o trwałości w czasie przechowywania. Ocena ta może być oparta na jednoczynnikowej analizie wariancji (ANOVA). Próba oszacowania trwałości poprzez ekstrapolację danych z temperatur za pośrednictwem równania Arrheniusa nie jest zalecana, gdyż zazwyczaj procesy leżące u podstaw problemu trwałości są zbyt skomplikowane, aby być modelowane. Symulacja długotrwałego przechowywania w trudnych warunkach zazwyczaj nie jest właściwa, ponieważ mechanizm degradacji może ulec zmianie [145, 149].

Badanie trwałości długoterminowej należy wykonać w podwyższonej temperaturze w celu sprawdzenia, czy może wystąpić degradacja materiału podczas transportu. Badanie to jest zazwyczaj krótkotrwałe, zwykle nie dłużej niż 4 tygodnie. W oparciu o wyniki wielu badań, należy wybrać takie warunki transportu, które zapewniają, że udział trwałości krótkotrwałej jest nieistotny [145].

Zazwyczaj badanie trwałości składa się z serii pomiarów wykonywanych różnym czasie. Dla niewielkich tendencji, pomiary można oceniać przez jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA i przez analizę regresji. Jednakże w wielu przypadkach, ocena ta nie przyniesie ilościowych wyników, zwłaszcza gdy materiał przygotowuje się w sposób zapewniający optymalną trwałość. Częstotliwości tej sytuacji można uniknąć wybierając wysoce powtarzalne metody, dużą liczbę powtórzeń lub zakres izochroniczny [145, 150].

Planowanie i realizacja badań trwałości wymagają należytej staranności, aby pomiary na próbkach przechowywanych w różnych odstępach czasu lub w różnych temperaturach były porównywalne. Sprawdzanie trwałości materiałów odniesienia może być rozpatrywane w dwóch płaszczyznach:

- klasycznej (długookresowej)
- izochronicznej

W przypadku klasycznego sposobu sprawdzania trwałości materiałów odniesienia jest ona wyznaczana na podstawie porównania wyników uzyskanych dla próbek przechowywanych w zalecanych warunkach i dla próbek odniesienia – najczęściej przechowywanych w niskich temperaturach badania takie przeprowadza się krótko przed wyznaczonym terminem trwałości i na ich podstawie decyduje się o przedłużeniu trwałości.

Z kolei izochroniczny sposób sprawdzania trwałości materiałów odniesienia polega na wnioskowaniu o trwałości materiału odniesienia na podstawie wyników analiz próbek przechowywanych w krótkim okresie czasu i w różnych temperaturach. Szacowanie niepewności długoterminowej trwałości (w płaszczyźnie izochronicznej) opiera się na analizie regresji.

3.1.4. Wartość certyfikowana

Proces certyfikacji przeprowadzany jest w celu wyznaczenia wartości parametru charakteryzującego materiał odniesienia przez odpowiednio wybrane laboratoria. Kampania certyfikacyjna jest zazwyczaj poprzedzana badaniami wstępnymi, w których uczestniczy

najczęściej liczna grupa laboratoriów, z których wybierane są następnie laboratoria będące uczestnikami właściwego procesu certyfikacji materiału [151].

3.2. Zastosowanie materiałów odniesienia

Każde laboratorium analityczne zobowiązane jest do przedstawienia obiektywnych dowodów swoich technicznych kompetencji oraz miarodajności uzyskiwanych wyników. Jest to konieczne ze względu na to, że wyniki pomiarów analitycznych, będące źródłem informacji analitycznych, są podstawą procesów decyzyjnych dotyczących spraw naukowych, technicznych, ekonomicznych, a nawet politycznych.

Procedura analityczna wymaga kontroli każdego etapu procesu, począwszy od pobierania próbki aż do oznaczania analitów w próbce. Stosowanie certyfikowanych materiałów odniesienia służy kontroli oraz potwierdzenia jakości wyników oznaczeń. Podstawowe obszary zastosowań materiałów zaliczanych do CRM to:

- wyznaczanie parametrów walidacyjnych (poprawność, dokładność);
- szacowanie niepewności pomiarowej;
- kontrola i zapewnienie spójności pomiarowej;
- wspomaganie procesu akredytacji laboratorium;
- sprawdzanie umiejętności analityka;
- kalibracja przyrządów pomiarowych;
- przedmiot porównań międzylaboratoryjnych;
- kontrola jakości pracy laboratorium.

Jednakże pomimo znacznej ilości istniejących materiałów odniesienia wciąż istnieje ogromne zapotrzebowanie na certyfikowane materiały odniesienia o złożonym składzie matrycy.

3.3. Materiały odniesienia związków cynoorganicznych w obiektach materialnych o różnym składzie matrycy

Główni światowi wytwórcy certyfikowanych materiałów odniesienia (IRMM, NIST) nie są, i przypuszczalnie nigdy nie będą w stanie zaspokoić wszystkich lokalnych potrzeb. Wynika stąd konieczność tworzenia materiałów o składach matrycy charakterystycznych dla danego terytorium i umożliwiających tworzenie efektywnego systemu sterowania jakością pracy laboratoriów analitycznych.

Praca badawcza realizowana jest w ramach programu grantu badawczo – rozwojowego MODAS przyznanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju na temat opracowania i produkcji materiałów odniesienia. Wyprodukowane certyfikowane materiały odniesienia, po zakończeniu realizacji projektu będą uzupełnieniem obecnie istniejącej na rynku oferty.

Informacje o materiałach odniesienia związków cynoorganicznych zestawiono w tabeli 14.

Tabela 14: Materiały odniesienia cyny oraz związków cynoorganicznych dostępne na rynku.

Materiał odniesienia	Analit	Wartość certyfikowana	Jednostka wytwarzająca
BCR – 277R Osad w ujściach rzek	Sn	6,5 ± 1,8 mg/kg	IRMM
BCR – 280R Osad z jeziora	Sn	9,5 ± 1,7 mg/kg	IRMM
ERM – CD281 Żyto	Sn	0,062 ± 0,011 mg/kg	IRMM
BCR – 010 Ruda cyny	Sn	765,9 ± 1,2 mg/kg	IRMM
BCR – 462 Osad przybrzeżny	TBT DBT	54 ± 15 µg/kg 68 ± 12 µg/kg	IRMM
BCR – 646 Osad słodkowodny	TBT DBT MBT TPhT DPhT MPhT	480 ± 80 µg/kg 770 ± 90 µg/kg 610 ± 120 µg/kg 29 ± 11 µg/kg 36 ± 8 µg/kg 69 ± 18 µg/kg	IRMM
ERM – CE477 Tkanka małży	TBT DBT MBT	2,20 ± 0,19 mg/kg 1,54 ± 0,12 mg/kg 1,50 ± 0,18 mg/kg	IRMM
NRC HIPA – 1 Osad morski	TBT	79 ± 9 ng/kg	NRC (National Research Council Canada)
NIM-GBW07424 Gleba	Sn	3,4 ± 0,4 µg/kg	National Research Centre for Certified Reference Materials, China
NIES15 Przegrzebek	TBT TPhT Sn	0,404 ± 0,027 mg/kg 0,0170 ± 0,0017 mg/kg 0,179 ± 0,021 mg/kg	National Institute for Environmental Studies (Japan)

4. Projekt MODAS.

Celem projektu MODAS jest wyprodukowanie „pakietu” 6-ciu certyfikowanych materiałów odniesienia, które można traktować jako odpowiedź na zapotrzebowanie polskich laboratoriów analitycznych w zakresie szeroko pojętej analityki środowiskowej. Materiały te będą charakteryzowały się zarówno różnorodnością składu matrycy jak i szerokim wachlarzem analitów.

W skład projektu wchodzi 9 zadań badawczych. Pierwsze sześć z nich dotyczy bezpośredniej produkcji poszczególnych materiałów odniesienia, a pozostałe trzy związane są z certyfikacją.

Informacje o zadaniach realizowanych w ramach projektu oraz anality zestawiono w tabeli 15.

Tabela 15: Zadania realizowane w ramach projektu MODAS.

L.p.		Matryca materiały	Oznaczone substancje (anality)
1.	PRODUKCJA	Gleba silnie zanieczyszczona przez związki z grupy zanieczyszczeń organicznych	WWA, PCB, pestycydy, związki metaloorganiczne, pozostałości farmaceutyków DODATKOWO: metale
2.		Osad denny	metale, związki cynoorganiczne oraz rtęcioorganiczne i pozostałości farmaceutyków DODATKOWO: WWA, PCB, farmaceutyki
3.		Tkanka dorsza (filety)	metale ciężkie oraz ksenobiotyki z grupy WWA i PCB DODAKOWO: farmaceutyki
4.		Tkanka kormorana	metale ciężkie oraz trwałe związki organiczne DODATKOWO: związki cynoorganiczne , farmaceutyki
5.		Tkanka śledzia	metale ciężkie oraz związki cynoorganiczne oraz trwałe związki organiczne
6.		Włókna szklane	związki powierzchniowe (chemicznie związane z powierzchnią włókna) będące źródłem lotnych związków organicznych
7.	CERTYFIKACJA	Badania trwałości i jednorodności wytworzonych materiałów	
8.		Badania certyfikacyjne wytworzonych materiałów	
9.		Statystyczne opracowanie wyników badań certyfikacyjnych, porządzenie raportów certyfikacyjnych	

Informacje o zespołach realizujących poszczególne zadania można znaleźć na stronie domowej projektu (<http://www.pg.gda.pl/chem/modas/>).

Członkowie Konsorcjum będą uczestniczyli w realizacji zadań (każdy w ramach swoich możliwości) na poszczególnych etapach produkcji od etapu pobrania materiału wyjściowego poprzez badania jednorodności i trwałości kończąc na etapie certyfikacji.

II. CEL PRACY

Już od wielu lat monitoring poziomu zanieczyszczenia poszczególnych elementów środowiska przez związki organiczne jest przedmiotem coraz powszechniejszego zainteresowania. Jest oczywiste, że wraz ze wzrostem poziomu świadomości prośrodowiskowej, kluczowego znaczenia nabiera zagadnienie rozwoju i wprowadzenia do praktyki laboratoryjnej odpowiednich systemów kontroli i oceny jakości wyników pomiarów analitycznych (QA/QC). Elementem składowym takich systemów są materiały odniesienia o różnej charakterystyce metrologicznej.

Choć liczba materiałów odniesienia dostępnych w handlu ciągle rośnie to nadal istnieją takie obszary analityki środowiskowej gdzie odczuwa się ich brak. Opracowanie, wytwarzanie i wdrożenie do praktyki analitycznej jest procesem pracochłonnym – i czasochłonnym.

Badania jednorodności stanowią jeden z podstawowych etapów w trakcie wytwarzania materiałów odniesienia. Jeśli nie jest możliwe spełnienie któregoś z warunków jednorodności (zarówno wewnątrz – jak i międzyopakowaniowej) to jest to równoważne z dyskwalifikacją wyprodukowanego materiału jeszcze przed procesem certyfikacji.

Z powodu z negatywnego wpływu związków cynoorganicznych na organizmy żywe oraz coraz większe zapotrzebowanie na nowe typy materiałów odniesienia praca badawcza została ukierunkowana na:

- opracowanie metodyki oznaczania cyny całkowitej w próbkach osadu dennego, mączki śledziowej, tkanki dorsza oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego za pomocą GF – AAS i wykorzystanie jej do badań
- wykorzystanie opracowanej procedury do oznaczania cyny całkowitej w próbkach materiału – „kandydata” na materiał odniesienia
- oznaczanie związków organicznych cyny w próbkach środowiskowych za pomocą za pomocą GC – MS
- badania jednorodności wewnątrz – oraz międzyopakowaniowej kandydatów na materiał odniesienia cyny całkowitej
- badania jednorodności wewnątrz – oraz międzyopakowaniowej kandydatów na materiał odniesienia związków cynoorganicznych

III. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

1. Aparatura

- 1.1. Kulometr KF firmy Metrohm
- 1.2. Zestaw do otrzymywania czystej wody – Milli-Q Gradient A10 System
- 1.3. Mineralizator Multiwave GO
- 1.4. Spektrometr SavantAA Zeeman
- 1.5. Chromatograf gazowy *Agilent Technologies* 7890A sprzężony ze spektrometrem mas *Agilent Technologies* 5975C pracujący w trybie SIM (monitorowanie wybranych jonów)

2. Sprzęt laboratoryjny

Podczas badań w celu oznaczenia cyny całkowitej oraz organicznych związków cyny korzystano z następującego sprzętu laboratoryjnego:

- a) Kolby miarowe z tworzywa sztucznego (PMP):
 - o pojemności $25\text{ cm}^3 \pm 0,06\text{ cm}^3$ firmy VITLAB
 - o pojemności $50\text{ cm}^3 \pm 0,12\text{ cm}^3$ firmy BRAND, Niemcy
- b) Kolby miarowe szklane o pojemności $10\text{ cm}^3 \pm 0,04\text{ cm}^3$ firmy BRAND, Niemcy
- c) Pipety z tworzywa sztucznego (PP) firmy BRAND, o pojemności $10\text{ cm}^3 \pm 0,1\text{ cm}^3$
- d) Lejek z tworzywa sztucznego
- e) Probówki plastikowe z zamknięciem o pojemności 30 cm^3
- f) Mikropipety automatyczne, Biohit, Niemcy
 - $0,5 - 5\text{ cm}^3$, dokładność 0,13%, precyzja 0,05%,
 - $0,1 - 1\text{ cm}^3$, dokładność 0,21%, precyzja 0,01%
- g) Waga elektroniczna, odczyt 0,1 mg – 220 g, odtwarzalność +/- 0,1 mg, liniowość +/- 0,2 g, Sartorius, Niemcy
- h) probówki szklane – firma *Cole – Parmer* (USA)
- i) szklane pipety Pasteura – firma *Brand* (Niemcy)
- j) fiolki do automatycznego podajnika próbek, o objętości 1,5 cm³, z membranami uszczelniającymi wykonanymi z politetrafluoroetylenu (PTFE) oraz nakrętkami z tworzywa sztucznego – firma *Agilent* (USA)
- k) Automatyczna strzykawka do chromatografii eVol®
- l) wytrząsarka laboratoryjna Promax 2020 – firma *Heidolph* (Niemcy)
- m) wirówka
- n) urządzenie z łaźnią wodną do odparowania nadmiaru rozpuszczalnika z próbek w strumieniu azotu TurboVap LV - firma *Caliper Life Sciences*(USA)

- o) waga analityczna XP50H – firma *Mettler Toledo* (Szwajcaria)

3. Odczynniki

W celu oznaczenia zawartości wody w próbkach środowiskowych korzystano z następujących odczynników:

- metanolowy roztwór jodu,
- tlenek siarki (IV)
- pirydyna.

W celu oznaczenia zawartości cyny całkowitej w próbkach korzystano z następujących odczynników:

- a) Roztwór wzorcowy 1000 mg/L Sn^{2+} (± 4 mg/L) w 2% HNO_3 , Fluka Analytical, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Francja
- b) Modyfikator 1% Pd in 10% HNO_3 100 cm³, CPI International
- c) Modyfikator 1% $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ in 1% HNO_3 100 cm³, CPI International
- d) Woda dejonizowana
- e) Kwas azotowy 65% Merck KGaA, Niemcy

W celu oznaczenia zawartości tributyllocyny w próbkach korzystano z następujących odczynników:

- wodorotlenek sodu, tabletki (cz.d.a.) – firma *Sigma-Aldrich* (Niemcy)
- kwas octowy (cz.d.a.) – firma *POCH* (Polska)
- bezwodny siarczan sodu – firma Eurochem BGD (Polska)
- n-heksan LiChrosolv® – firma *Merck* (Niemcy)
- metanol – firma *Sigma-Aldrich* (Niemcy)
- tetraetyloboran sodu (97 %) – firma *Sigma-Aldrich* (Niemcy)
- tetrafenyloboran sodu ($\geq 99,5$ %) – firma *Sigma-Aldrich* (Niemcy)
- tlenek glinu (70-230 mesh ATM) – firma *Merck* (Niemcy)
- silanizowana wata szklana
- wzorce:
 - chlorek metylortęci (II) – firma *Sigma-Aldrich* (Niemcy)
 - chlorek tributyllocyny – firma *Merck* (Niemcy)
 - dichlorekdibutyllocyny – firma *Merck* (Niemcy)

4. Charakterystyka analizowanych próbek

4.1. Osad denny

Osady denne zgodnie z definicją stanowią materiał zalegający na dnie zbiornika wodnego, w wyniku sedymentacji [152]. W jego skład wchodzi zarówno cząstki mineralne jak i cząstki organiczne (np. szczątki mikroorganizmów) [152].

Skład osadu dennego jest ściśle związany z czynnikami pochodzenia naturalnego (warunki klimatyczne, geomorfologia terenu) i antropogenicznego (działalność człowieka – głównie przemysł) [153]. Proces gromadzenia się (akumulacji) pierwiastków i innych związków chemicznych w osadach dennych, jest niepożądanym skutkiem działalności człowieka [154]. Zanieczyszczenie osadów dennych stanowią głównie metale ciężkie (takich jak rtęć, ołów, kadm) i trwałe związki organiczne (WWA, DDT), przedostające się między innymi z wód powierzchniowych w wyniku procesu samooczyszczania [153, 154].

Osady denne są nieodłączną częścią środowiska wodnego, ze względu na miejsce bytowania, odżywiania i rozmnażania wielu organizmów [153, 154]. Duże stężenie zanieczyszczeń akumulowanych w osadach dennych, powoduje wymieranie niektórych gatunków organizmów wodnych. Stanowi również zagrożenie dla zdrowia i życia człowieka, spożywającego ryby i skorupiaki [153]. Poziom zanieczyszczeń osadów dennych w Polsce jest określany na podstawie „kryteriów geochemicznych”, nie uwzględniających zanieczyszczeń pochodzących z wód powierzchniowych [153].

Obecnie prowadzi się coraz więcej badań na zawartość metali oraz trwałych zanieczyszczeń organicznych w osadach dennych. Według wielu doniesień zawartość substancji chemicznych w większości zbiorników wodnych jest coraz niższa co świadczy o coraz większej świadomości człowieka na temat negatywnego wpływu substancji chemicznych na środowisko.

Osad denny został pobrany przez zespół z Uniwersytety Mikołaja Kopernika z Torunia. Materiał badawczy został pobrany w trzech turach z obszaru Zalewu Włocławskiego (zapora). Następnie osad został przesiany w celu uzyskania odpowiedniej wielkości frakcji.

4.2. *Mączka śledziowa*

Śledź bałtycki (*Clupea harengus membras*), zwany również sałaką, jest niedużą rybą morską z rodziny śledziowatych, żyjącym na głębokości do 250 m. Ciało śledzia jest bocznie spłaszczone o maksymalnej długości 40 cm. Śledź, często mylony ze szprotą, wyróżnia się umiejscowieniem płetwy grzbietowej – znajduje się ona przed nasadą płetw przybrzusznych [155]. Ciało śledzia pokryte jest licznymi, łatwo wypadającymi kolistymi łuskami z wyjątkiem głowy. Ubarwienie grzbietu śledzia jest najczęściej ciemnoszare a strona brzuszna srebrzysta [156].

Śledzie odżywiają się planktonem, żerując w ciągu dnia bliżej dna, natomiast nocą bliżej powierzchni [155, 156].

Śledź bałtycki osiąga dojrzałość płciową ok. 3 roku życia. Samica składa do 100 000 jaj. Ikra opada na dno, układając się warstwowo (tworzy się kilka warstw ikry) [156]. Larwy śledzia początkowo bytują na płytkich wodach przybrzeżnych, natomiast starsze osobniki bytują na wodach głębszych, tworząc duże ławice [156].

Śledzie mają olbrzymie znaczenie gospodarcze. Stanowi on główny cel połowów w rybołówstwie, między innymi ze względu na ich powszechne zastosowanie w gastronomii od wielu pokoleń [155, 156].

W połowie XX. wieku nastąpiło załamanie populacji śledzia ze względu na jego przełowienie, a odbudowa liczebności tego gatunku zajęła 20 lat w Norwegii oraz 10 lat w na Morzu Północnym [157]. W chwili obecnej połowy utrzymywane są na zrównoważonym poziomie.

Początkowo materiał badawczy stanowiły płaty śledziowe ryb wyłowionych z Zatoki Gdańskiej przez firmę „SZKUNER” Sp. z o.o. z Władysławowa. Zebrany materiał badawczy (150 kg) został dostarczony na Politechnikę Gdańską w postaci zmrożonych bloków o masie ok. 7,5 kg każdy (rysunek 6).



Rys. 6: Wygląd zamrożonych bloków z płatami śledziowymi.

Ze względu na dużą zawartość tłuszczu w tkankach, napotkano trudności podczas procesu liofilizacji i mielenia tkanek (tworzenie emulsji). W związku z napotkanymi komplikacjami, podjęto decyzję o wykorzystaniu mączki śledziowej jako materiału wyjściowego w procesie wytwarzania materiału odniesienia.

Mączka śledziowa została pozyskana dzięki współpracy z firmą Rockworld. Mączka śledziowa została sprowadzona ze Szkocji (przygotowana ze śledzi pochodzących z wód przybrzeżnych Szkocji) i przesłana w formie liofilizatu na Politechnikę Gdańską (rysunek 7).



Rys. 7: Otrzymany liofilizat mączki śledziowej.

4.3. Filety dorsza

Dorsz jest rybą z gatunków morskich. Ciało tego osobnika jest wydłużone i owalne, łukowato wygięte ponad płetwami piersiowymi. Pokryte jest drobnymi łuskami głęboko osadzonymi w skórze. Dorsz ma trzy wyraźne płetwy grzbietowe i dwie płetwy odbytowe, gdzie pierwsza

pletwa odbytowa zaczyna się u nasady drugiej płetwy grzbietowej. Płetwy brzuszne są osadzone po bokach tuż za krawędzią pokryw skrzelowych. Głowa jest w stosunku do całej budowy ciała dość duża – szeroka i wysoka z zaostrzonym pyskiem. Dorsz charakteryzuje się równie z silnie uzębioną paszczą oraz drobnym pojedynczym wąsikiem. Ubarwienie dorsza zależne jest od miejsca bytowania oraz jego podgatunków. Dorsz bałtycki ma ciemny grzbiet (od brązowego do szarooliwkowego) i nieco jaśniejsze boki usiane ciemnymi plamkami oraz biały brzuch. W tabeli 16 zestawiono informacje o długości i masie ciała dorszy. [158].

Tabela 16: Informacje o długości i masie ciała dorszy [158].

	Wartość przeciętna	Wartość maksymalna	Odnosnik literaturowy
Długość	30 – 80 cm	130 cm	
Waga	0,8 – 2 kg	40 kg	

Dorsz bałtycki występuje głównie na głębinach. Wiosną są spotykane w licznych ławicach, natomiast w pozostałych porach roku żerują w mniejszych stadach.

Dorsz jest typową rybą drapieżną, żywiącą się głównie osobnikami z rodziny śledziowatych, a także narybkiem ryb dorszowatych czy też skorupiakami. Odnotowano również oznaki kanibalizmu – duże okazy potrafią odżywiać się młodymi osobnikami ze swojego gatunku. W zdobywaniu pożywienia pomaga kształt ciała i uzębienie, a delikatny wąsik jest pomocny przy penetracji dna [149, 150].

Dojrzałość płciową dorsz bałtycki osiąga ok 3 roku życia w przypadku samców natomiast samice ok. 4 roku życia. Tarło dorsza odbywa się na W Głębi Bornholmskiej od marca do sierpnia. Samica składa nawet pół miliona jaj, rozwijających się swobodnie unosząc się w toni wodnej. Młode wylęgają się po ok. 20 dniach nadal unoszone wraz z prądem wody, a po 3 miesiącach młode dorsze rozpoczynają żer na wodach przybrzeżnych [158, 159].

Dorsz jest zaliczany do tych gatunków ryb, które w krajach Unii Europejskiej są poławiane z bardzo dużą intensywnością. W połowie XX. wieku odławiano ponad 2 mln ton dorsza rocznie, jednak z biegiem czasu liczba wyławianych ryb znacznie zmalała. W roku 2004 złowiono ponad 70 tysięcy ton dorsza. Spadek liczby osobników tego gatunku ma związek z „niezrównoważonym rybołówstwem XX wieku” [159], który jest obecnie głównym winowajcą zaniku tego gatunku. Według niektórych doniesień oprócz przelowienia, zmiany

klimatyczne, a co za tym idzie zmiany w biomacie mórz, oraz zwiększona populacja fok (żywiącymi się m.in. dorszami) miały również duże znaczenie.

W związku ze spadkiem populacji dorsza zostały wprowadzone ograniczenia w rybołówstwie: 7 sztuk na dobę dla rejsów wędkarskich, 2 sztuki przy połowach haków [158]. W związku z dużym zapotrzebowaniem na tusze dorsza rozpoczęto hodowlę tego gatunku ryby – głównie w Norwegii, Szkocji oraz Irlandii [159].

Początkowo materiał badawczy stanowiły tkanki wątroby dorsza (rys. 8). W trakcie liofilizacji napotkano takie same trudności jak w przypadku płatów śledziowych (tworzenie emulsji), w związku z czym podjęto decyzję o wykorzystaniu filetów dorszowych jako materiału wyjściowego (rys. 9).

Zarówno wątroby dorsza jak i filety zostały pozyskane przez firmę „SZKUNER” Sp. z o.o. w ilości 300 kg i dostarczone tak jak w przypadku filetów śledziowych w formie zmrożonych bloków o masie 7,5 kg każdy.



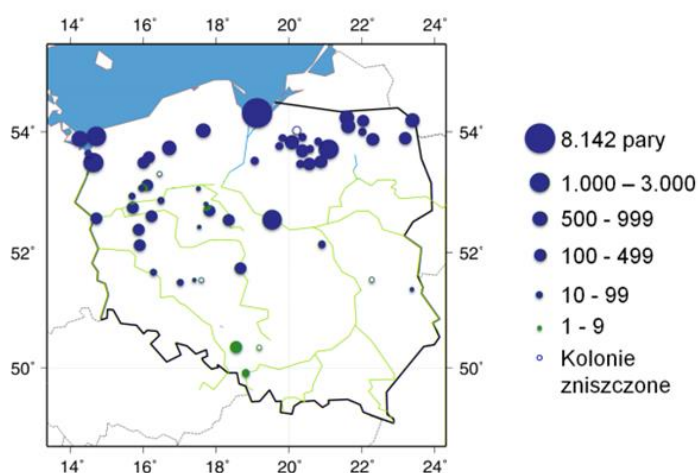
Rys. 8: Zamrożone wątroby dorsza.



Rys. 9: Filety dorsza.

4.4. Tkanka mięśnia piersiowego kormorana czarnego

Kormoran czarny *Phalacrocorax carbo* wchodzi w skład rodziny kormoranów (*Phalacrocoracidae*), należącej do rzędu pełnopłetwych (*Pelecaniformes*). Rodzina ta liczy jeden rodzaj (*Phalacrocorax*) i 39 gatunków ptaków, z których trzy występują na terenie Europy jako gatunki lęgowe. Na rysunku 10 przedstawiono rozmieszczenie kolonii lęgowych kormorana w Polsce w 2010 roku [160]. Na terenie Polski jedynym podgatunkiem lęgowym jest kormoran czarny zwyczajny (*Phalacrocorax carbo sinensis*) [161].



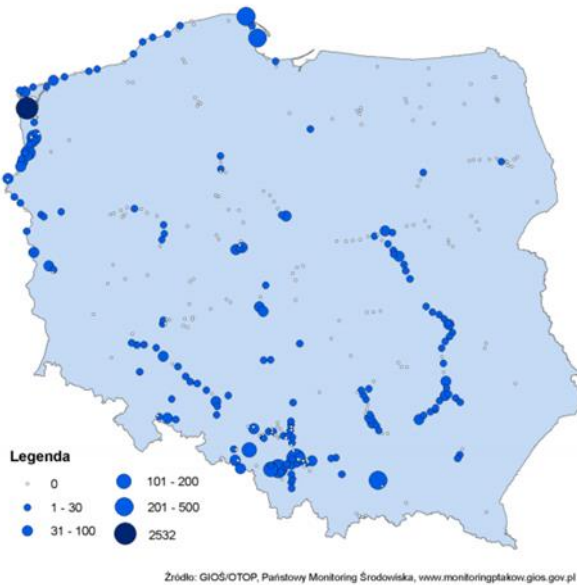
Rys. 10: Rozmieszczenie kolonii lęgowych kormorana czarnego w Polsce w 2010 roku

Podjął on regularne wędrówki zimowiskowe – po zakończeniu sezonu lęgowego kormorany gniazdujące na terenie Polski migrują głównie w kierunku zachodnim i południowo – zachodnim. Najważniejsze tereny na których zimują znajdują się na wybrzeżach basenu Morza Śródziemnego. Na rysunku 11 przedstawiono informacje o jesienno – zimowej migracji kormoranów oznakowanych w Helsinkach [162].

Rys. 11: Przebieg jesienno-zimowej migracji młodych kormoranów pozakowanych w Helsinkach (symbole oznaczają medianę pozycji dla podanych miesięcy).



W ostatnich latach zwiększyła się znacząco populacja kormoranów zimujących na terenie Polski, głównie w rejonie Zatoki Gdańskiej [160, 161]. Na rysunku 12 przedstawiono informacje o rozmieszczeniu oraz wielkości zgrupowań kormoranów zimujących na terenie Polski.



Rys. 12: Rozmieszczenie oraz wielkość zgrupowań kormoranów na obiektach Monitoringu Zimujących Ptaków Wodnych w styczniu 2011.

Kormoran czarny (*Phalacrocorax carbo*) jest stosunkowo dużym ptakiem, osiągającym około 130 – 160 cm rozpiętości skrzydeł przy długości ciała 70 - 90 cm i masie od 1,3 do 3,1 kilograma (rys. 13). Samce są zazwyczaj nieco większe i cięższe niż samice. Kormoran gniazduje wyłącznie grupowo, tworząc nawet wielotysięczne kolonie lęgowe, często także z innymi gatunkami ptaków (w Polsce najczęściej z czapłą siwą *Ardea cinerea*). W warunkach Polskich gniazda umieszczane są zazwyczaj na drzewach, chociaż odnotowano także próby lęgów w gniazdach umieszczonych bezpośrednio na podłożu [161].



Rys. 13: Kormoran czarny podczas suszenia skrzydeł [163].

W ciągu ostatnich 20 lat liczba populacji kormorana gwałtownie wzrosła od kilku tysięcy par do około 200 - 250 tysięcy par lęgowych. Po uwzględnieniu młodych, nie przystępujących jeszcze do rozrodu ptaków, ogólna liczba kormoranów z gatunku kormoran czarny (*Phalacrocorax carbo*) w Europie pod koniec zeszłego wieku wynosiła między 805 000 a 1 150 000 osobników [164]. Wzrost liczebności populacji kormorana, ich gniazdowanie w dużych skupiskach (kolonie lęgowe) w pobliżu zbiorników wodnych oraz wykorzystywanie jako pokarmu ryb spowodowało niekorzystne reakcje ze strony leśników i rybaków wskazujących na kormorana, jako na przyczyn poważnych strat gospodarczych [165, 166].

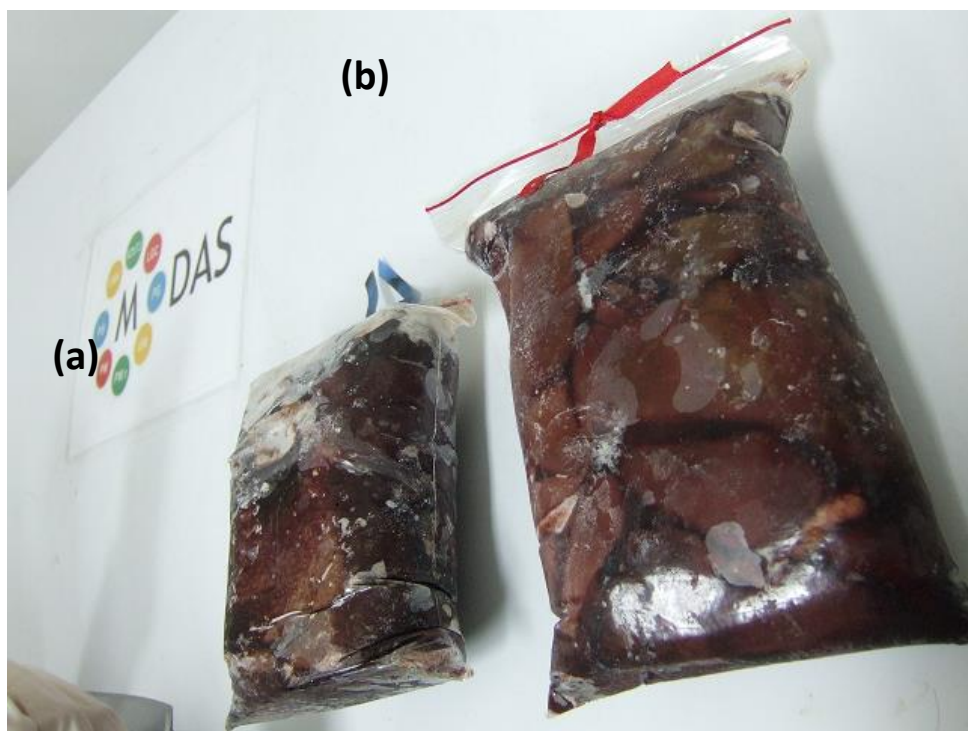
Zawartość metali ciężkich oraz związków cynoorganicznych została oznaczona w próbkach tkanki mięśnia piersiowego oraz wątroby kormorana czarnego z terenów Polski.

Przy współpracy z pracownikami Stacji Ornitologicznej Muzeum i Instytutu Zoologii Państwowej Akademii Nauk, pozyskano ok. 150 kg tkanki mięśniowej kormorana oraz ok. 30 kg wątroby zebranej od 663 osobników. Pozyskano tkankę mięśniową kormoranów, które bytowały w następujących miejscach:

- Tereny jezior pozyskanych administrowanych przez Gospodarstwo Jeziorowe sp. z o.o w Ełku (50 kormoranów)
- gospodarstwo stawowe Stawy Milickie SA w woj. dolnośląskim (167 kormoranów)
- teren kompleksu stawowego Zahlinice zarządzanego przez Rybarstvi Hulin (Czechy) - około 10 kilometrów na południe od Prerova (10 kormoranów)
- teren stawów administrowanych przez Rybnikarstvi Pohorelice, mieszczącego się kilkadziesiąt kilometrów na południe od Brna, Republika Czeska (226 kormoranów)
- Rybarstvi Treboń, mieszczącego się kilkadziesiąt kilometrów na północny wschód od Czeskich Budziejowic (180 ptaków)

Zebrany materiał został przesłany na adres Katedry Chemii Analitycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej w postaci zmrożonej, w workach o masie ok. 1 kg każdy.

Na rysunku 14 przedstawiono wygląd worków z tkanką mięśnia piersiowego oraz wątroby kormorana czarnego.



Rys 14: Worki zawierające tkanki kormorana czarnego (a) tkanka mięśnia piersiowego (b) wątroba [zdjęcie własne].

Wątroby kormorana została pozyskana dodatkowo (poza projektem), ponieważ w tej tkance podejrzewa się kumulowanie większej ilości związków cyny niż w tkance mięśnia piersiowego.

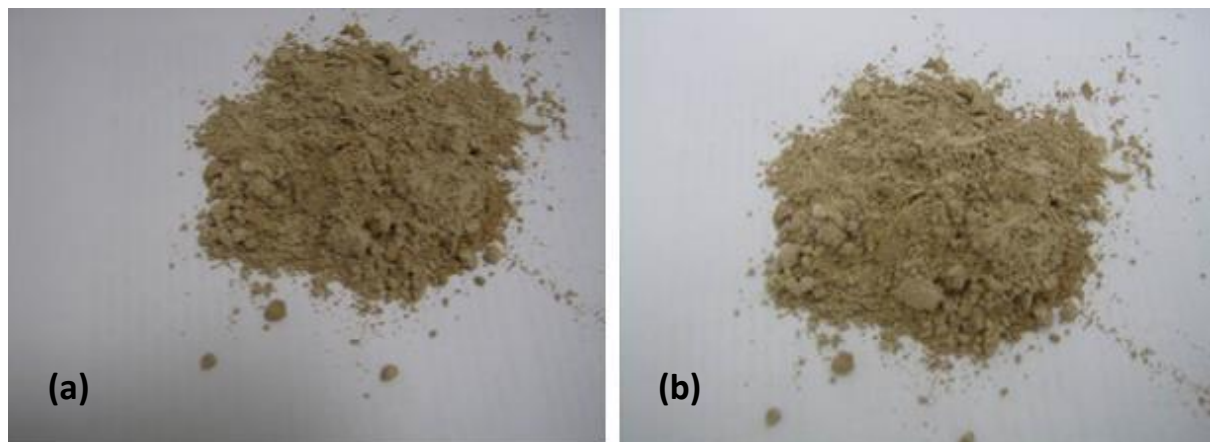
5. Przygotowanie próbek do analizy

5.1. Liofilizacja

Otrzymane próbki – tkanka dorsza oraz tkanka mięśnia piersiowego kormorana wymagały liofilizacji aby otrzymać odpowiednią postać próbek (postać proszku), natomiast osad denny oraz mączka śledziowa zostały jedynie przesiane. Zgodnie z założeniami projektu końcowa frakcja tkanki mięśnia piersiowego kormorana powinna mieć wielkość ziaren 90 μm . Uzyskany liofilizat tkanki dorsza oraz tkanki kormorana posiadał średnice ziarna ok. 1- 2 mm w związku z czym został przesłany do mielenia i przesiania w celu uzyskania odpowiedniej wielkości ziaren. Ze względu na duże ilości materiału wykonanie powyższych zadań zostało zlecone firmom zewnętrznym:

- Liofolizacja – ELENA z Kokania k/Kalisza
- Mielenie i przesianie – Młyn „REGENT” z Przytocznej.

Na rysunku 15 przedstawiono wygląd tkanki mięśnia piersiowego kormorana po liofilizacji oraz po operacji mielenia i przesiewania tkanki mięśnia piersiowego.



Rys. 15: Wygląd tkanki mięśnia piersiowego kormorana po operacjach wstępnego przygotowania: (a) liofilizacji (b) mieleniu i przesianiu [zdjęcie własne].

Zmielona i przesiana tkanka mięśnia piersiowego kormorana, zgodnie z procedurą przygotowania próbek, została przesłana do IChTJ w celu rozdozowania materiału do podpisanych i ponumerowanych pojemniczków (po 50 g jako materiał odniesienia i po 10 g do badan certyfikacyjnych).

Wymagane były pojemniki z ciemnego szkła o pojemności 50 oraz 100 ml z szeroką szyjką wraz z nakrętką z podkładką teflonową (lub z innego materiału obojętnego) oraz z pierścieniem gwarancyjnym. Ostatecznie zostały zamówione pojemniki o pojemności 60 oraz 100 ml z wymagana podkładką oraz folią termokurczliwą (zamiast pierścienia gwarancyjnego) z firmy M. Glass Project® z Raszyna.

Na rysunku 16 przedstawiono wygląd pojemników na certyfikowany materiał odniesienia.



Rys. 16: Wygląd pojemników na materiał odniesienia [zdjęcie własne].

5.2. Mineralizacja

Aby oznaczyć zawartość cyny całkowitej w próbkach należało poddać je mineralizacji wspomaganej mikrofalami. W tym celu odważono ustaloną ilość próbki (Tabela 17) do naczynia reakcyjnego. Następnie do każdego naczynia reakcyjnego dodano 8 ml HNO_3 w przypadku próbek tkanek. Do naczyń reakcyjnych z próbkami osadu dennego, dodano 6 ml HNO_3 , 1 ml HCl oraz 1 ml H_2O_2 .

Następnie zmineralizowane próbki umieszczono w kolbach o wymaganej objętości (Tabela 17) i uzupełniono wodą dejonizowaną do kreski. Po wymieszaniu każdy roztwór przelewano do probówek z tworzywa sztucznego zamykanych korkiem. Tak przygotowane próbki można poddać analizie z wykorzystaniem techniki atomowej spektrometrii absorpcyjnej.

Mineralizacji poddano po 6 próbek osadu dennego, tkanki śledzia oraz tkanki dorsza i próbek tkanki mięśnia piersiowego kormorana, po 3 powtórzenia dla każdej (łącznie 72 próbki). Trzy słoiki każdej próbki były przechowywane w temperaturze pokojowej, a pozostałe trzy – w zamrażarce.

Mineralizację przeprowadzono trzykrotnie, w przypadku osadu dennego, i czterokrotnie, w przypadku pozostałych materiałów, w celu ustalenia odpowiedniej odważki próbki oraz ostatecznej objętości, aby oznaczyć cynę całkowitą w próbkach za pomocą atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w kuwecie grafitowej.

Tabela 17: Masa próbek osadu dennego, tkanek ryb oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego użytych w procesie mineralizacji oraz objętość końcowa mineralizatu.

Typ próbki	Nr serii	Odważka [g]	Dodana objętość kwasu	Objętość kolbki [ml]
Mączka śledziowa Tkanka dorsza Tkanka kormorana	Seria I	0,5	8 mL HNO ₃	25
	Seria II			10
	Seria III	1		
	Seria IV	1,5		
Osad denny	Seria I	0,5	8 ml HNO ₃ ,	25
	Seria II		1 ml HCl	10
	Seria III	1	1 ml H ₂ O ₂	

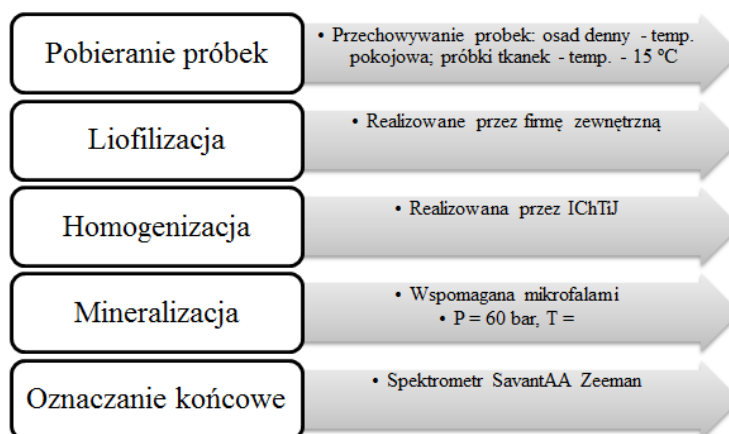
6. Opracowanie procedur analitycznych oznaczania zawartości cyny całkowitej oraz związków organicznych cyny w próbkach osadu dennego, mączki śledziowej, filetów dorsza i tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego

Całkowita zawartość cyny w próbkach została oznaczona z wykorzystaniem techniki atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją w kuwecie grafitowej.

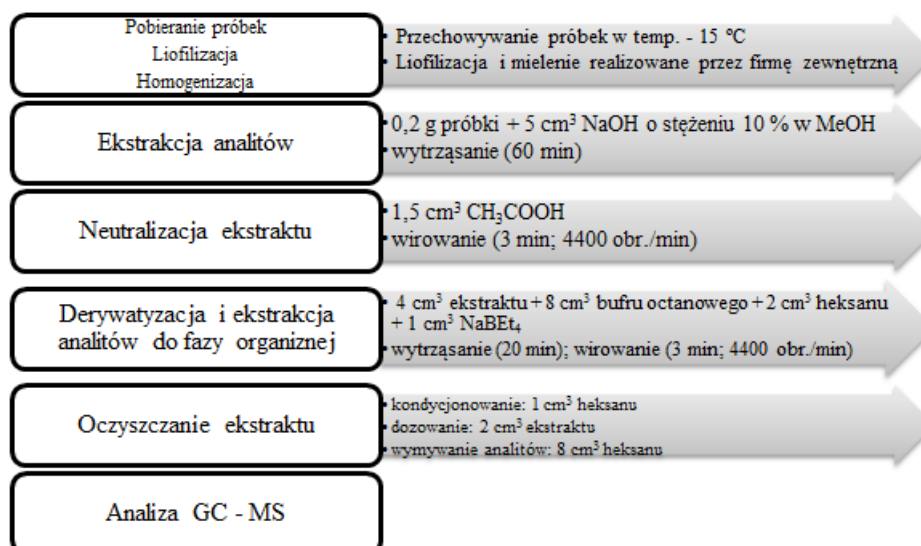
Schemat całej procedury oznaczania cyny całkowitej w próbkach został przedstawiony na rysunku 17.

W oparciu o informacje zawarte w źródłach literaturowych, w celu oznaczenia związków organicznych cyny do badań wybrano technikę chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas.

Schemat całej procedury zastosowanej do oznaczania TBT oraz DBT w próbkach został przedstawiony na rysunku 18.



Rys. 17: Schemat procedury oznaczania zawartości cyny całkowitej w próbkach osadu dennego i poszczególnych tkanek za pomocą techniki GF – AAS.



Rys.18: Schemat procedury oznaczania zawartości cyny całkowitej w próbkach osadu dennego i poszczególnych tkanek z wykorzystaniem techniki GC – MS.

6.1. Wyznaczenie optymalnych warunków pracy spektrometru i chromatografu gazowego

W celu oznaczenia cyny całkowitej za pomocą spektrometru należy dobrać odpowiednie dla danych oznaczeń parametry takie jak: długość fali, natężenie prądu lampy i stosowany modyfikator, aby otrzymać optymalne wielkości uzyskiwanych sygnałów (maksymalna wartość i powtarzalność).

Stosowano dwie długości fali (235,5 i 286,3), dwie wartości natężenia prądu (5 oraz 7 mA) oraz trzy rodzaje modyfikatorów (palladowy, amonowy i ich mieszanina). W tabeli 18 zestawiono informacje o warunkach pracy spektrometru. Jako kryterium wyboru optymalnych warunków pracy przyjęto wartość liczbową współczynnika kierunkowego uzyskanej krzywej kalibracyjnej (czułość) i wartość liczbową współczynnika zmienności dla sygnałów uzyskanych dla poszczególnych roztworów wzorcowych (precyzja pomiarów).

Po przeprowadzeniu badań stwierdzono, że najlepsze rezultaty (największą czułość i precyzję) otrzymuje się przy następujących parametrach pracy:

- Długość fali: 235,5 nm,
- Natężenie prądu lampy: 7 mA
- Stosowany modyfikator: 1% Pd w 10% HNO₃

Tabela 18: Wpływ warunków pracy spektrometru przy zastosowaniu różnych modyfikatorów przy wybranych długościach fali i natężeniach prądu lampy na charakterystykę sygnału wyjściowego..

L.p.	Długość fali [nm]	Modyfikator	Natężenie prądu lampy [mA]	Wnioski
1	235,5	1% Pd w 10% HNO ₃	5,0	duża czułość dobra powtarzalność
2			7,0	duża czułość bardzo dobra powtarzalność
3		1% NH ₄ H ₂ PO ₄ w 1% HNO ₃	5,0	mała czułość mała powtarzalność
4			7,0	duża czułość mała powtarzalność
5		Mieszanina modyfikatorów	5,0	mała czułość mała powtarzalność
6			7,0	mała powtarzalność mała powtarzalność

Tabela 18 c.d.

7	286,3	1% Pd w 10% HNO ₃	5,0	mała czułość dobra powtarzalność
8			7,0	średnia czułość bardzo dobra powtarzalność
9		1% NH ₄ H ₂ PO ₄ w 1% HNO ₃	5,0	mała czułość mała powtarzalność
10			7,0	mała czułość mała powtarzalność
11		Mieszanina modyfikatorów	5,0	mała czułość mała powtarzalność
12			7,0	mała czułość mała powtarzalność

7 - wybrane optymalne warunki pracy spektrometru w celu oznaczania cyny całkowitej

Na podstawie wcześniejszych wyników badań prowadzonych w Katedrze Chemii Analitycznej Wydziału Chemicznego PG, zostały ustalone odpowiednie warunki pracy chromatografu gazowego. W tabeli 19 zestawiono informacje dotyczące podstawowych parametrów pracy układu GC – MS wykorzystywanego w badaniach.

Tabela 19: Informacje dotyczące podstawowych parametrów pracy układu GC – MS.

System dozowania próbki	<i>Split/Splitless</i> – bez podziału strumienia
Objętość dozowanej próbki	1 μl
Gaz nośny	Hel
Kolumna	ZB – 5MS (30 m; 0,25 mm; 0,25 μm, temp. max. 320/240°C)
Program temperaturowy	40°C przez 4 minuty 40°C do 130°C (20°C/min) 130°C do 210°C (10°C/min) 210°C do 260°C (5°C/min) 260°C do 300°C (10°C/min)
Temperatura złącza	280 °C
Detektor	Agilent5975C inert MSD z jonizacją elektronową pracujący w trybie SIM (monitorowania wybranych jonów)
Temperatura źródła jonizacji	230°C
Temperatura kwadrupola	150°C
Energia strumienia elektronów	70 eV
System integrujący	MSD ChemStation

6.2. Przygotowanie roztworów wzorcowych

Pierwszym etapem analizy było sporządzenie krzywej kalibracyjnej. Krzywa generowana była automatycznie na podstawie pomiaru absorbancji roztworu wzorcowego i jego kolejnych rozcieńczeń.

W celu wykonania krzywej wzorcowej dla cyny całkowitej, został przygotowany roztwór wzorcowy o stężeniu 50 ppb (dla próbek tkanek) oraz o stężeniu 100 ppb (dla próbek osadu dennego), poprzez rozcieńczenie roztworu o stężeniu 1000 ppm za pomocą 5% kwasu azotowego (V).

Chromatografia jest techniką rozdzielania składników mieszaniny opartą na pomiarze względnym, w którym porównywany jest sygnał detektora uzyskany dla próbki wzorcowej oraz dla próbki badanej. W związku z tym niezbędne jest przeprowadzenie etapu kalibracji, a najczęściej stosowaną techniką kalibracyjną, jest technika krzywej wzorcowej.

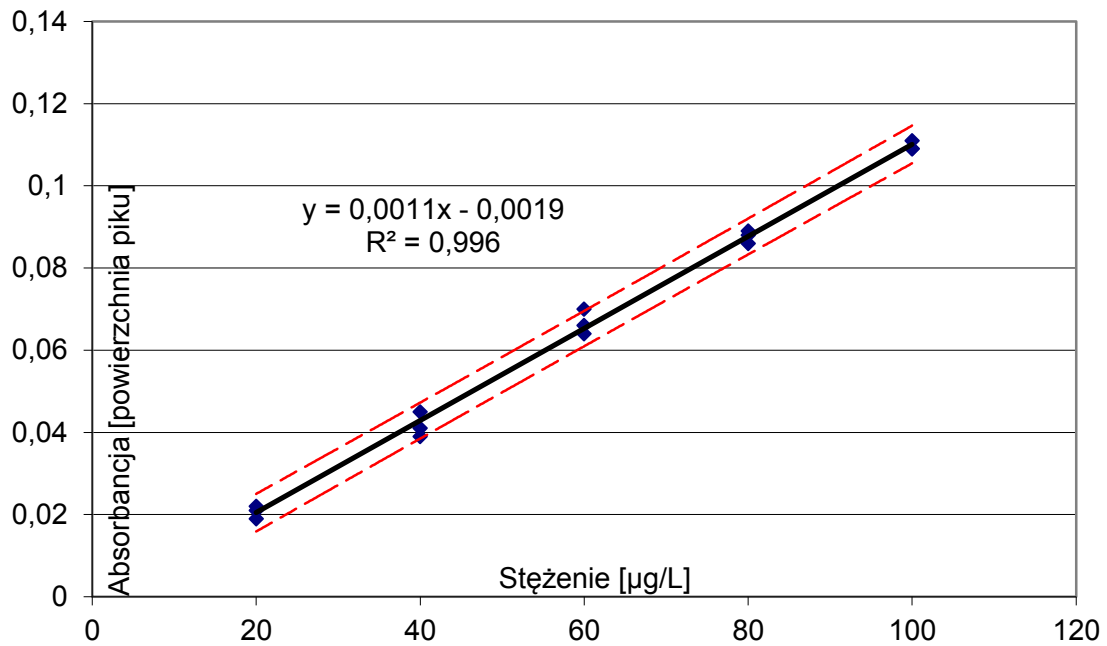
W celu wykonania krzywej wzorcowej, przygotowano kolejno roztwory wzorcowe o stężeniu 5 – 40 ppb (co 5 ppb), zgodnie z procedurą przedstawioną na rysunku 18 (z wyłączeniem etapu 1).

6.3. Liniowość

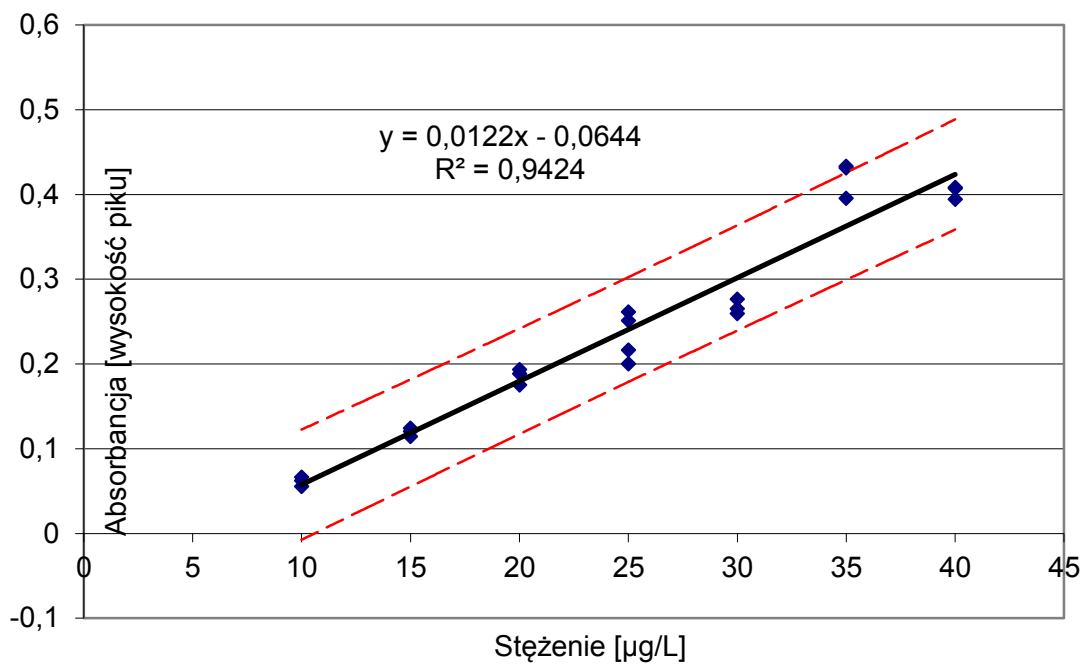
Parametry wykresów kalibracyjnych zostały wyznaczone korzystając z zależności opisanych za pomocą równań podanych w literaturze [167]. Krzywe kalibracyjne wyznaczone dla cyny całkowitej, wykorzystane do oznaczeń próbek osadu dennego przedstawiono na rysunku 19, dla pozostałych próbek na rysunku 20.

Krzywe kalibracyjne wyznaczone dla tributyllocyny oraz dibutyllocyny, generowane na podstawie pomiaru powierzchni piku dla próbek roztworu wzorcowego i jego kolejnych rozcieńczeń przedstawiono na rysunku 21 i 22.

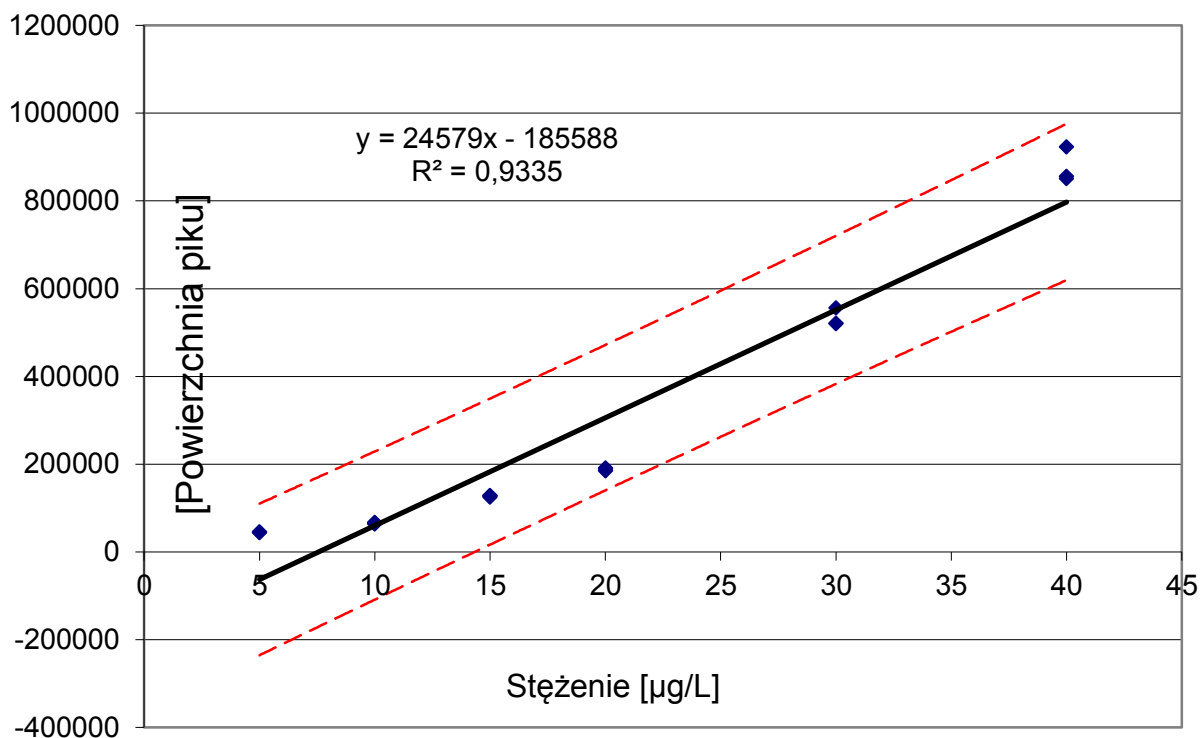
Wartości liczbowe parametrów statystycznych otrzymanych krzywych kalibracyjnych zestawiono w tabeli 20.



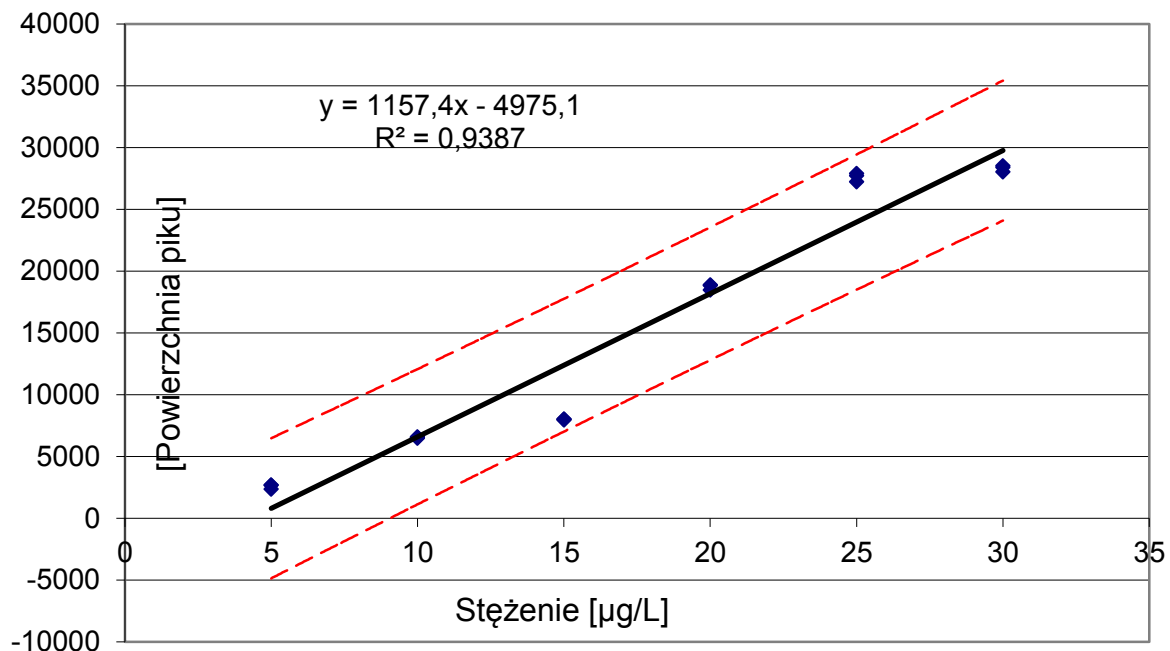
Rys. 19: Krzywa kalibracyjna dla cyny całkowitej wykorzystana do oznaczeń próbek osadu dennego.



Rys. 20: Krzywa kalibracyjna dla cyny całkowitej wykorzystana do oznaczeń próbek tkanek ryb oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana.



Rys. 21: Krzywa kalibracyjna dla tributyllocyny wykorzystana do oznaczeń osadu dennego, próbek tkanek ryb oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana.



Rys. 22: Krzywa kalibracyjna dla dibutyllocyny wykorzystana do oznaczeń osadu dennego, próbek tkanek ryb oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana.

6.4. Granica wykrywalności i granica oznaczalności

Granica wykrywalności to najmniejsze stężenie lub ilość substancji, która może być wykryta za pomocą określonej metody analitycznej z określonym prawdopodobieństwem.

Granica oznaczalności to najmniejsze stężenie lub ilość substancji, która może być ilościowo oznaczona z wykorzystaniem określonej metody analitycznej z założoną precyzją i dokładnością [167].

Granica wykrywalności (IDL) została wyznaczona korzystając z równania (4) [167]:

$$IDL = \frac{3,3 \cdot S_a}{b} \quad (4)$$

Gdzie:

IDL – granica wykrywalności stosowanego przyrządu

S_a – odchylenie standardowe wyrazu wolnego

b – współczynnik kierunkowy prostej

Do wyznaczenia granicy oznaczalności wykorzystano równanie (5) [167]:

$$IQL = 3 \cdot IDL \quad (5)$$

gdzie:

IQL – granica oznaczalności stosowanego przyrządu

Korzystając z roztworów o stężeniach 20, 30 i 40 $\mu\text{g/L}$ (w przypadku osadu dennego) oraz 10, 15, 20 $\mu\text{g/L}$ (w przypadku próbek tkanek), wyznaczone zostały wartości liczbowe wyżej wymienionych parametrów dla wykorzystywanego urządzenia kontrolno – pomiarowego.

Otrzymane wartości liczbowe parametrów IDL oraz IQL przeliczono na odpowiadające im wartości MDL i MQL za pomocą wzorów (6):

$$MDL = \frac{IDL}{m} \cdot V$$
$$MQL = 3 \cdot MDL \quad (6)$$

Gdzie:

m – masa próbki wyrażona w miligramach

V – objętość końcowa mineralizatu

Wartości liczbowe tych parametrów (IDL, IQL, MDL, MQL) zostały zestawione w tabeli 19.

W analogiczny sposób obliczono wartości liczbowych parametrów IDL oraz IQL dla chromatografu gazowego.

Korzystając z roztworów o trzech najniższych stężeniach, wyznaczone zostały granice wykrywalności i oznaczalności stosowanego przyrządu.

Wartość granicy wykrywalności oraz granicy oznaczalności przyrządu zostały zestawione w tabeli 20.

6.5. Powtarzalność

Powtarzalność to precyzja wyników dla danej serii pomiarów prowadzonych przez danego analityka w określonym laboratorium przy użyciu odpowiednich urządzeń pomiarowych i odczynników, wyznaczana na podstawie wartości obliczonego odchylenia standardowego serii pomiarów [167].

Parametr ten wyrażony został jako zakres wartości liczbowych współczynnika zmienności CV dla pomiarów kolejnych stężeń.

W celu wyznaczenia powtarzalności skorzystano ze wzorów (7) – (9) [167]:

$$S = \sum_{k=1}^n \frac{(x_i - x_{\text{sr}})^2}{n-1} \quad (7)$$

$$RSD = \frac{S}{x_{\text{sr}}} \quad (8)$$

$$CV = RSD \cdot 100\% \quad (9)$$

gdzie:

S – odchylenie standardowe serii pomiarów

x_i – wartość pojedynczego oznaczenia

x_{sr} – średnia arytmetyczna uzyskanych wyników

n – liczba pomiarów

RSD – względne odchylenie standardowe

CV – współczynnik zmienności

Wartości liczbowe CV obliczonych w oparciu o analizę serii roztworów wzorcowych zestawiono w tabeli 20.

7. Wyniki oznaczania zawartości cyny całkowitej i związków organicznych cyny oraz zawartości wody w próbkach osadów dennych, mączce śledziowej, filetach dorsza i tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego.

W trakcie badań jednorodności wewnątrzopakovaniowej oraz międzyopakovaniowej kandydatów na materiał odniesienia analizowano w losowo wybranych opakowaniach: zawartości wody, zawartość cyny całkowitej oraz zawartość tributyllocyny.

W tabeli 21 zestawiono informacje o wynikach pomiaru zawartości wody w poszczególnych kandydatach na materiał odniesienia.

Tabela 21: Wyniki oznaczeń zawartości wody w poszczególnych próbkach z losowo wybranych opakowań (1 opakowaniu przechowywanym w temp. pokojowej i 1 opakowanie przechowywane w temperaturze – 20 °C).

Nr opakowania	Nr próbki	Zawartość H ₂ O	Średnia	U (k=2)
		[%]		
Osad denny				
0038	1	1,068	1,069	0,078
	2	0,998		
	3	0,992		
0033	1	1,298	1,295	0,014
	2	1,306		
	3	1,282		
Mączka śledziowa				
0780	1	1,125	1,117	0,020
	2	1,129		
	3	1,097		
0988	1	1,289	1,261	0,031
	2	1,259		
	3	1,236		
Tkanka dorsza (filety)				
0469	1	1,036	1,069	0,057
	2	1,045		
	3	1,125		
0525	1	1,226	1,254	0,036
	2	1,287		
	3	1,248		

Tabela 21 c.d.

Tkanka mięśnia piersiowego kormorana czarnego				
0627	1	0,963	0,997	0,063
	2	0,957		
	3	1,054		
0085	1	1,269	1,258	0,013
	2	1,258		
	3	1,246		

Ze względu na fakt, że zawartość wody w poszczególnych materiałach wynosiła ok 1%, pominięto korektę związaną z jej zawartością w dalszych obliczeniach.

7.1. Poziomy zawartości cyny całkowitej oraz tributylcyny

Spośród wszystkich próbek kandydatów na materiał odniesienia, najwyższe stężenie cyny całkowitej oznaczono w próbkach osadu dennego, które zawierały się w przedziale 1700 – 2400 µg/kg. W przypadku próbek mączki śledziowej, tkanki dorsza oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego zawartość cyny całkowitej były zbliżone do siebie i nie przekroczyły 320 µg/kg.

W tabeli 22 zestawiono informacje o średniej zawartości cyny całkowitej w próbkach osadu dennego, mączki śledziowej, tkanki dorsza oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego.

W celu wyeliminowania wyników odbiegających zawartości cyny całkowitej zastosowano test Grubbsa. W związku z tym obliczono wartości parametru G_p . Następnie otrzymaną wartość porównano z wartością krytyczną G_{kr} , która wynosi 1,155. Wartość G_p obliczono ze wzoru (10) [167]:

$$G_p = \frac{(x_k - x_{\bar{s}r})}{s} \quad (10)$$

Gdzie:

x_k – maksymalna wartość w zbiorze wyników

$x_{\bar{s}r}$ – wartość średnia

S – odchylenie standardowe.

Jeśli wartość obliczona była wyższa niż wartość krytyczna G_{kr} , to dany wynik uznawano jako odbiegający.

Tabela 20: Parametry walidacyjne procedur oznaczania cyny całkowitej oraz związków cyanoorganicznych w próbkach materiałów – „kandydatów” na materiał odniesienia.

Analit	Matryca	Liniowość	IDL [µg/L]	IQL [µg/L]	MDL [µg/L]	MQL [µg/L]	CV	
							Stężenie [µg/L]	%
Sn	OSAD DENNY	$y = 0,0011x - 0,0019$ $R^2 = 0,996$	7	21	0,070	0,210	20	7,4
							40	7,3
							60	4,6
							80	1,7
							100	1,1
	MĄCZKA ŚLEDZIOWA TKANKA DORSZA TKANKA KORMORANA	$y = 0,0122x - 0,0644$ $R^2 = 0,9424$	5	15	0,033	0,100	10	9,1
							15	4,2
							20	5,0
							25	13,8
							30	0,0
TBT	OSAD DENNY MĄCZKA ŚLEDZIOWA TKANKA DORSZA TKANKA KORMORANA	$y = 24579x - 185588$ $R^2 = 0,9424$	4	12	n.o.	n.o.	35	5,1
							40	1,9
							5	1,7
							10	2,8
							15	1,3
							20	1,8
DBT	OSAD DENNY MĄCZKA ŚLEDZIOWA TKANKA DORSZA TKANKA KORMORANA	$y = 1157,4 - 4975,1$ $R^2 = 0,9387$	4	12	n.o.	n.o.	30	4,6
							40	4,6
							5	7,1
							10	0,8
							15	0,4
							20	1,2
							25	1,2
							30	0,9

n.o. – nie obliczano

W Aneksie 1 zestawiono pełną informację o wynikach pomiaru zawartości cyny całkowitej wraz z wartościami odbiegającymi.

W badanych próbkach oznaczano zawartość tri – oraz dibutylocyny. Stężenie dibutylocyny oznaczono na poziomie niższym niż granica wykrywalności, w związku z tym wyniki oznaczania DBT zostały wykluczone z analizy statystycznej. Największe stężenie TBT oznaczono w próbkach tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego, najniższe natomiast w próbkach osadów dennych.

W tabeli 23 zestawiono wyniki średnie oznaczeń tributyllocyny w próbkach osadu dennego, mączki śledziowej, tkanki dorsza oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego.

W celu wyeliminowania wyników odbiegających zawartości tributyllocyny zastosowano test Q – Dixona. W związku z tym obliczono wartość rozstępu R oraz wartości parametrów Q_1 i Q_n . Następnie otrzymaną wartość porównano z wartością krytyczną Q_{kr} , która wynosi 0,941. Rozstęp obliczono ze wzoru (11) [167]:

$$R = x_n - x_1 \quad (11)$$

Parametry Q_1 i Q_n obliczono ze wzorów (12 – 13):

$$Q_1 = \frac{x_2 - x_1}{R} \quad (12)$$

$$Q_n = \frac{x_n - x_{n-1}}{R} \quad (13)$$

Jeśli wartość obliczona była wyższa niż wartość krytyczna Q_{kr} , to dany wynik uznawano jako odbiegający.

W Aneksie 2 zestawiono pełną informację o wynikach pomiaru tributyllocyny wraz z wartościami odbiegającymi.

Tabela 22: Wyniki oznaczeń zawartości cyny całkowitej w próbkach osadu dennego, mączki śledziowej, tkanki dorsza oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego.

Rodzaj próbki	Nr opakowania	Nr próbki	Średnia	U (k =2)
			[μg/kg]	
OSAD DENNY	1	1	1,82 ± 0,17	
		2		
		3		
	2	1	1,841 ± 0,048	
		2		
		3		
	0038	1	1,88 ± 0,33	
		2		
		3		
	0023	1	2,07 ± 0,24	
		2		
		3		
	0033	1	1,98 ± 0,15	
		2		
		3		
	0034	1	1,97 ± 0,20	
		2		
		3		
MA CZKA ŚLEDZIOWA			[μg/kg]	
	0991	1	198 ± 52	
		2		
		3		
	0994	1	192 ± 92	
		2		
		3		
	0780	1	173 ± 65	
		2		
		3		
	0990	1	127 ± 43	
		2		
		3		
	0989	1	132 ± 35	
		2		
		3		
	0988	1	139 ± 24	
		2		
3				

Tabela 22 c.d.

TKANKA DORSZA (FILETY)	0469	1	161 ± 17
		2	
		3	
	0629	1	138 ± 49
		2	
		3	
	0561	1	144 ± 51
		2	
		3	
	0786	1	240 ± 34
		2	
		3	
	0525	1	228 ± 80
		2	
		3	
	0623	1	214 ± 72
		2	
		3	
TKANKA MIĘŚNIA PIERSIOWEGO KORMORANA CZARNEGO	0070	1	127 ± 29
		2	
		3	
	0021	1	119 ± 32
		2	
		3	
	0627	1	119 ± 17
		2	
		3	
	0085	1	183 ± 82
		2	
		3	
	0605	1	134 ± 41
		2	
		3	
	0588	1	114 ± 29
		2	
		3	

7.2. Analiza wariancji – określenie jednorodności kandydatów na materiał odniesienia.

W wyniku przeprowadzonych badań uzyskano ogromny zbiór danych pomiarowych. Do opracowania wyników wykorzystano analizę wariancji ANOVA, która jest to obecnie jedną z najczęściej stosowanych analiz statystycznych, służącą do badania wpływu zmiennych niezależnych na zmienną zależną.

Jednoczynnikowa analiza wariancji polega na sprawdzeniu czy pojedynczy wynik ma wpływa na zmienną zależną, przy założeniu, że czynnik ten przyjmuje „formę grup różniących się między sobą pod względem wartości czynnika” [168]. Analiza wariancji stosowana jest do porównania średnich w co najmniej 3 grupach. W jednoczynnikowej analizie wariancji wykorzystywany jest test F – *Snedecora*, który ma postać ilorazu dwóch niezależnie oszacowanych wariancji, gdzie w liczniku podawane jest wariancja międzygrupowa, a w mianowniku wariancji wewnątrzgrupowa. Analizowany czynnik ma wpływ na zmienną zależną, gdy wartość obliczona F jest większa lub równa niż wartość krytyczna F_{kr} dla poziomu istotności p .

Analiza wariancji zawartości cyny całkowitej oraz tributylocyny w poszczególnych tkankach zestawiono w tabeli 24.

Wyniki analizy wariancji oznaczeń tributylocyny wykazały, że dla próbek osadu dennego, mączki śledziowej oraz tkanki kormorana wartość parametru F jest mniejsza od wartości *test* F co oznacza, że główną składową niejednorodności jest składowa wewnątrzopakowaniowa.

Uzyskane wartości liczbowe parametrów CV_{bb} , CV_{wb} oraz u wykazują, że kandydaci na materiały odniesienia tributylocyny w wymienionych wyżej próbkach spełniają warunek niejednorodności i można je uznać za jednorodne zarówno międzyopakowaniowo jak i wewnątrzopakowaniowo.

Na podstawie wyników analizy wariancji otrzymanych dla tkanki dorsza wartość parametru F jest mniejsza od wartości *test* F co oznacza, że kandydat na materiał odniesienia nie spełnia warunku niejednorodności.

Tabela 23: Wyniki oznaczeń zawartości TBT w próbkach osadu dennego, mączki śledziowej, tkanki dorsza oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego.

Rodzaj próbki	Nr opakowania	Nr próbki	Średnia	U (k =2)
			[µg/kg]	
OSAD DENNY	1	1	54,2 ± 1,9	
		2		
		3		
	2	1	54,3 ± 2,7	
		2		
		3		
	0038	1	54,3 ± 4,2	
		2		
		3		
	0023	1	54,2 ± 1,4	
		2		
		3		
	0033	1	53,4 ± 1,7	
		2		
		3		
	0034	1	52,73 ± 0,98	
		2		
		3		
MĄCZKA ŚLEDZIOWA	0991	1	54,1 ± 0,5	
		2		
		3		
	0994	1	64 ± 15	
		2		
		3		
	0780	1	65,3 ± 7,8	
		2		
		3		
	0990	1	53,8 ± 2,3	
		2		
		3		
	0989	1	63 ± 16	
		2		
		3		
	0988	1	52,9 ± 0,7	
		2		
		3		

Tabela 23 c.d.

TKANKA DORSZA (FILETY)	0469	1	53,36 ± 0,10
		2	
		3	
	0629	1	65,4 ± 8,8
		2	
		3	
	0561	1	54,1 ± 2,7
		2	
		3	
	0786	1	53,9 ± 1,5
		2	
		3	
	0525	1	54,4 ± 2,6
		2	
		3	
0623	1	53,37 ± 0,91	
	2		
	3		
TKANKA MIĘŚNIA PIERSIOWEGO KORMORANA CZARNEGO	0070	1	54,40 ± 0,19
		2	
		3	
	0021	1	54,1 ± 1,5
		2	
		3	
	0627	1	56,8 ± 2,3
		2	
		3	
	0085	1	71,5 ± 29,9
		2	
		3	
	0605	1	85 ± 32
		2	
		3	
	0588	1	62,4 ± 6,3
		2	
		3	

7.3. Oszacowanie wpływu temperatury przechowywania na wyniki oznaczania cyny całkowitej oraz tributyllocyny.

W celu zbadania trwałości krótkoterminowej kandydatów na materiał odniesienia przeprowadzono porównanie zawartości cyny całkowitej oraz tributyllocyny ze względu na temperaturę przechowywania. Jak to zostało opisane w rozdziale 5, badaniom poddano po sześć próbek każdego kandydata na materiał odniesienia, z czego po trzy próbki przechowywano w temperaturze pokojowej (ok. 20 °C), a trzy pozostałe przechowywane były w zamrażarkach w temperaturze ok. – 20 °C.

W tabeli 25 zestawiono obliczone wartości liczbowe:

- wartości średnie zawartości cyny całkowitej oraz tributyllocyny w poszczególnych kandydatów materiałów odniesienia
- względnej standardowej niepewności związanej z powtarzalnością wyników,
- względnej złożonej standardowej niepewności wyniku oznaczenia
- współczynnik zmienności
- odzysk wraz z rozszerzoną niepewnością.

Na podstawie danych zawartych w tabeli 24 widać wyraźnie, że tkanka dorsza jako materiał odniesienia cyny całkowitej nie spełnia wymagań dotyczących trwałości materiałów odniesienia.

Wyniki pomiarów ilości cyny całkowitej oraz tributyllocyny uzyskane dla obu temperatur przechowywania nie są statystycznie istotne i mogą być podstawą do stwierdzenia, że osad denny, mączka śledziowa oraz tkanka mięśnia piersiowego kormorana czarnego są trwałe.

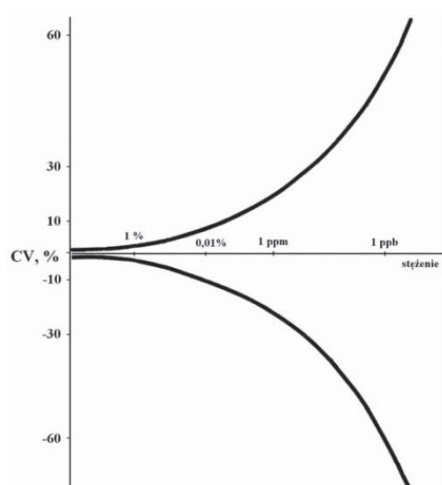
8. Podsumowanie

Powszechnie wiadomo, że zanieczyszczenia mogą podlegać procesowi bioakumulacji wzdłuż łańcucha pokarmowego. Z tego względu coraz częściej obok oznaczania samych zanieczyszczeń przeprowadza się oznaczenia metali oraz ich organicznych pochodnych w celu oceny pozycji troficznej badanego organizmu i zbadania preferencji żywieniowych, co pomaga w identyfikacji możliwych źródeł pochodzenia ksenobiotyków w badanym osobniku. Należy jednak pamiętać, że akumulacja pierwiastków w tkankach zwierząt zależy nie tylko od zawartości tych metali w środowisku, ale również od procesów zachodzących w organizmie oraz od migracji zwierząt w zależności od pory roku.

Niepewność wyniku analizy chemicznej jest jednym z najważniejszych parametrów kontroli jakości, wyznaczanym w trakcie walidacji danej procedury analitycznej. Niepewność jest również istotnym elementem oceny wyników w procesie certyfikacji materiałów odniesienia [169].

Niepewność pomiaru w zależności od stężenia analitu została ujęta w równaniu Horwitza, które opisuje wykładniczą zależność między stężeniem a odchyleniem standardowym uzyskanym w trakcie badań.

Na rysunku 23 przedstawiono tzw. Trąbkę Horwitza opisującą zależność między stężeniem analitu a odchyleniem standardowym [169].



Rys. 23: Trąbka Horwitza opisująca zależność między stężeniem analitu a odchyleniem standardowym [169].

Zgodnie z założeniami równania Horwitza wartość liczbowa CV została zastąpiona przez względne międzylaboratoryjne odchylenie standardowe RSD_R , a wzór (14) przyjął postać:

$$RSD_R (\%) = 2 \cdot C^{-0,1505} \quad (14)$$

Na podstawie tego wzoru obliczono RSD_R dla niektórych rozcieńczeń (tabela 26).

Tabela 26: Wyznaczone wartości RSD_R obliczonych dla niektórych rozcieńczeń.

Stężenie	RSD_R
10 %	2,8 %
1 %	4,0%
0,1 %	5,7 %
0,01 %	8,0 %
1 ppm	16 %
1 ppb	45 %
0,1 ppb	64 %

Na podstawie informacji zawartych w tabeli 26 stwierdzono, że niepewność pomiarów uzyskanych w ramach rozprawy doktorskiej może wynosić 60%. Wyniki analiz zgodnie nie przekraczają 64% w związku z czym są uznawane jako statystycznie istotne i zostały poddane dalszej analizie wariancji.

Akceptowalny odzysk dla analizy spektrometrycznej i GC – MS powinien się zawierać w przedziale 80 – 120 %. Na podstawie uzyskanych wyników, można stwierdzić, że odzysk w przypadku tej procedury analitycznej nie znajduje się na zadowalającym poziomie. Dla cyny całkowitej odzysk w dla próbki mączki śledziowej i tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego wynosi odpowiednio 142 i 85, a niepewność wynosi niemalże połowę tych wartości, natomiast przypadku tkanki dorsza odzysk nie przekracza 70%.

Wyniki uzyskane w trakcie przeprowadzonych badań wykazują wpływ temperatury przechowywania na zawartość cyny całkowitej w tkankach. Średnie stężenia cyny całkowitej w osadach dennych znajdowało się na podobnym poziomie zawartości, a powtarzalność oraz odzysk znajdowały się w założonych granicach procentowych (odpowiednio < 10% oraz między 80 – 120 %).

W przypadku tkanek największą różnicę zauważono w przypadku próbek tkanki dorsza (filetów). Może to wynikać zarówno z błędów podczas przygotowywania próbki, jak i możliwości aparatury na jakiej wykonano oznaczenia.

Przyczyn niezadowalających wartości odzysków można doszukiwać się przede wszystkim na etapie przygotowania próbki. Podczas mineralizacji próbka nie zostaje całkowicie rozłożona; podczas przenoszenia próbki na skutek błędu część została utracona. Dla tributyllocyny odzysk dla wszystkich typów próbek wartość odzysku mieściła się w wyznaczonym zakresie.

Na podstawie uzyskanych danych obliczono złożoną niepewność standardową zgodnie ze wzorem (15):

$$u_c = \sqrt{u_{bb}^2 + u_{wb}^2 + u_{st}^2} \quad (15)$$

Gdzie:

u_{bb} – niepewność związana z jednorodnością wewnątrzpakowaniową

u_{wb} – niepewność związana z jednorodnością międzyopakowaniową

u_{st} – niepewność związana z trwałością

Udział poszczególnych niepewności w złożonej niepewności standardowej przedstawiono na wykresach załączonych w aneksie 3.

Tabela 24: Wyniki analizy wariancji jednoskładnikowej dla zawartości cyny całkowitej oraz tributyllocyny w poszczególnych typach próbek.

Analit	Typ próbki	Nr próbki	Suma	Średnia	Wariancja	Źródło wariancji	SS	df	MS	F	Wartość-p	Test F	CV	
Sn	Osad denny	1	5472,001	1824,000	27472,825	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	133037,761	5	26607,552	0,623	0,686	3,106	8,5%
		2	5521,641	1840,547	2289,3712									
		0038	5646,170	1882,057	105892,68		W obrębie grup	512616,853	12	42718,071	-	-	-	11%
		0023	6209,133	2069,711	57760,353									
		0033	5926,447	1975,482	22709,659									
		0034	5898,300	1966,100	40183,537									
	Mączka śledziowa	0991	594,289	198,096	2709,478	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	14993,506	5	2998,701	0,945	0,487	3,106	34,2%
		0994	576,494	192,165	8427,248									
		0780	519,478	173,159	4246,673		W obrębie grup	38082,643	12	3173,554	-	-	-	35,2%
		0990	379,690	126,563	1856,305									
		0989	395,851	131,950	1246,681									
		0988	417,491	139,164	554,936									
	Tkanka dorsza	0469	484,146	161,382	278,839	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	30198,813	5	6039,763	2,014	0,149	3,106	41,4%
		0629	414,489	138,163	2387,432									
		0561	432,295	144,098	2616,990		W obrębie grup	35985,077	12	2998,756	-	-	-	29,2%
		0786	719,801	239,934	1189,254									
		0525	683,768	227,923	6335,582									
		0623	640,904	213,635	5184,441									
	Tkanka kormorana	0070	381,710	127,237	862,827	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	9794,018	5	1958,804	1,025	0,445	3,106	33,4%
		0021	356,267	118,756	1046,768									
0627		357,734	119,245	293,538	W obrębie grup		22923,042	12	1910,254	-	-	-	33,0%	
0085		547,816	182,605	6749,429										
0605		400,704	133,568	1648,845										
0588		340,527	113,509	860,114										

Tabela 24 c.d.

TBT	Osad denny	1	162,747	54,249	3,520	Analiza wariacji	Pomiędzy grupami	6,401	5	1,280	0,220	0,947	3,106	2,1%							
		2	162,857	54,286	7,291																
		0038	162,952	54,317	18,026		Analiza wariacji	W obrębie grup	69,853	12	5,821	-	-	-	4,5%						
		0023	162,546	54,182	2,088																
		0033	160,236	53,412	3,031																
		0034	158,175	52,725	0,969																
	0991	162,147	54,049	0,289	Analiza wariacji	Pomiędzy grupami	504,037									5	100,807	1,084	0,417	3,106	17,1%
	0994	191,682	63,894	232,780																	
	0780	195,797	65,266	61,584		Analiza wariacji	W obrębie grup	1115,551	12	92,963	-	-	-	16,4%							
	0990	161,486	53,829	5,446																	
	0989	189,349	63,116	257,122																	
	0988	158,816	52,939	0,553																	
	0469	160,064	53,355	0,011	Analiza wariacji	Pomiędzy grupami									337,052	5	67,410	4,296	0,018	3,106	14,7%
	0629	196,223	65,408	77,226																	
	0561	162,333	54,111	7,230		Analiza wariacji	W obrębie grup	188,277	12	15,690	-	-	-	7,1%							
	0786	161,836	53,945	2,107																	
	0525	163,290	54,430	6,744																	
	0623	160,115	53,372	0,820																	
	0070	163,212	54,404	0,033	Analiza wariacji	Pomiędzy grupami									2213,562	5	442,712	1,373	0,301	3,106	32,9%
	0021	162,278	54,093	2,141																	
	0627	170,318	56,773	5,306		Analiza wariacji	W obrębie grup	3867,981	12	322,332	-	-	-	28,1%							
0085	214,384	71,461	897,333																		
0605	254,717	84,906	990,047																		
0588	187,112	62,371	39,131																		

Tabela 25: Obliczone średnie stężenie (wraz z niepewnością) oznaczenia ilości cyny całkowitej oraz tributyllocyny w poszczególnych próbkach kandydatów na materiał odniesienia w zależności od temperatury przechowywania.

Analit	Typ materiału	Temperatura	Średnia	SD	u	U (k=2)	CV	R ± U (k = 2)
			[µg/kg]				[%]	[%]
Sn	Osad denny*	T = 20 °C	1,8	1,9	1,07	2,15	5,8	92,3 ± 14,4
		T = - 20 °C	2,0	1,8	1,04	2,09	5,2	
	Mączka śledziowa	T = 20 °C	187,8	63,0	36,4	72,8	19	141,7 ± 66,7
		T = - 20 °C	132,6	30,7	17,7	35,5	13	
	Tkanka dorsza	T = 20 °C	147,9	37,8	21,8	43,7	15	65,1 ± 27,0
		T = - 20 °C	227,2	57,5	33,2	66,4	15	
Tkanka kormorana	T = 20 °C	121,7	23,8	13,8	27,5	11	85,0 ± 43,6	
	T = - 20 °C	143,2	57,1	33,0	66,0	23		
TBT	Osad denny	T = 20 °C	54,3	2,7	1,55	3,10	2,9	101,6 ± 6,6
		T = - 20 °C	53,4	1,4	0,80	1,60	1,5	
	Mączka śledziowa	T = 20 °C	61,1	10,1	5,82	11,65	9,5	107,8 ± 29,3
		T = - 20 °C	56,6	9,5	5,47	10,93	9,7	
	Tkanka dorsza	T = 20 °C	57,6	7,4	4,29	8,59	7,5	106,9 ± 16,4
		T = - 20 °C	53,9	1,6	0,94	1,87	1,7	
Tkanka kormorana	T = 20 °C	55,1	1,9	1,08	2,15	2,0	75,6 ± 28,9	
	T = - 20 °C	72,9	24,0	13,88	27,76	19		

* średnia zawartość dla osadu dennego podana w [µg/g]

9. Podsumowanie

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań można stwierdzić, że osad denny, mączka śledziowa oraz tkanka mięśnia piersiowego kormorana czarnego stanowią materiał na kandydata na materiał odniesienia cyny całkowitej. Potwierdzona jednorodność materiału oraz trwałość w oparciu o temperaturę przechowywania materiałów stanowią podstawę do przeprowadzenia dalszych badań trwałości krótko – oraz długoterminowej.

Informacji literaturowych na temat zawartości cyny całkowitej w próbkach środowiskowych, jest stosunkowo niewiele. Warto zauważyć, że atomowa spektrometria absorpcyjna z atomizacją w kuwecie grafitowej jest w chwili obecnej techniką pomiarową rzadko stosowaną w praktyce analitycznej, dlatego należałoby powtórzyć badania za pomocą innych metod, np. ICP – MS. Ze względów aparaturowych badania z wykorzystaniem tej techniki nie zostały przeprowadzone w ramach pracy doktorskiej, lecz może stać się tematem pracy, jako kontynuacja wykonanych badań.

Dla tkanki dorsza jako kandydata na materiał odniesienia cyny całkowitej, uzyskane wyniki nie są zadowalające, co może wynikać z niedoskonałości matrycy jak i stosowanej metody. Uzyskane wyniki mogą być podstawą do kontynuacji badań jednorodności i trwałości dla tkanki dorsza przy użyciu innej metody.

Celem badań było również określenie zawartości tri – oraz dibutylocyny w poszczególnych tkankach. Na podstawie uzyskanych badań stwierdzono, że zawartość tributyllocyny w poszczególnych typach próbek stanowi podstawę do potwierdzenia jednorodności i trwałości kandydatów na materiał odniesienia. Mała zawartość tributyllocyny może oznaczać, że zastosowana metoda ekstrakcji jest niewystarczająca do analizy próbek osadu, tkanek ryb i tkanki kormorana. W przypadku oznaczeń dibutylocyny w próbkach materiałów – „kandydatów” na materiał odniesienia, nie można jednoznacznie stwierdzić braku obecności tego związku w poszczególnych tkankach. W tym celu należałoby wykonać badania przy użyciu innej techniki ekstrakcji, w celu potwierdzenia uzyskanych wyników.

Literatura

- [1] Brzezińska – Paudyn A., Van Loon J.C., Fresenius Z Anal. Chem. 331, 707, 1988
- [2] World Health Organization Tin and organotin compounds a Preliminary Review Geneva, 1980
- [3] World Health Organization *Tin and inorganic tin compounds* Geneva, 2005
- [4] <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=5352426#x27>
- [5] <http://pubs.usgs.gov/circ/1990/0930j/report.pdf>
- [6] <http://www.wiking.edu.pl/article.php?id=275>
- [7] Schwartz M.O., Rajah S.S., Askury A.K., Putthapiban P., Djaswadi S., Earth-Science Reviews 38, 95, 1995
- [8] Wague M., Roczniki Nauk Rolniczych, Seria G, 98, (1), 112, 2011
- [9] Bilans zasobów złóż kopalin w Polsce, Państwowy Instytut Geologiczny Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa 2013, ISSN 2299-4459
- [10] <http://blissreturned.wordpress.com/2012/03/15/tin-this-trace-mineral-importance-stems-primarily-from-it-supporting-the-function-of-adrenal-gland/>
- [11] <http://www.acu-cell.com/sni.html>
- [12] http://multimedia.food.gov.uk/multimedia/pdfs/evm_tin.pdf
- [13] <http://www.globalhealingcenter.com/natural-health/toxic-metal-health-dangers-of-tin/>
- [14] <http://www.lenntech.com/periodic/elements/sn.htm>
- [15] www.its.waw.pl
- [16] http://chem.pg.edu.pl/documents/175289/4236129/1Chemia_analityczna_Analiza_Spektrofotometryczna.pdf
- [17] Arambarri, I.; Garcia, R.; Millan, E.; Chemosphere 51, 643, 2003
- [18] J. M. Batt, The world of organotin chemicals: applications, substitutes, and the environment. Organotin Environmental Programme Association (ORTEPA) [online] 2006 <http://www.ortepa.org/WorldofOrganotinChemicals.pdf>
- [19] S. Murata, S. Takahashi, T. Agusa, N.J. Thomas, K. Kannan, S. Tanabe, Mar. Pollut. Bull. 56, 641, 2008
- [20] L. el Hassani, A. Garrido Frenich, J.L. Martinez Vidalb, Ma. J. Sanchez Murosc, M.H. Benajiba, Sci. Total Environ. 348, 191, 2005
- [21] Thoonen S.H.L., Deelman B.-J., van Koten G.; Synthetic aspects of tetraorganotins and organotin(IV) halides; J. Organometal. Chem. 689, 2145, 2004
- [22] Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR); from: www.atsdr.cdc.gov
- [23] M. Hoch, Appl. Geochem. 16, 719, 2001

- [24] Roncevic S., Benutić A., Nemet I., Gabelica B. *Int. J. Anal. Chem.*, 1, 1, 2012
- [25] www.researchgate.net
- [26] www.eag.com
- [27] G.S. Senesi, G. Baldassarre, N. Senesi. *Chemosphere* 39, 343, 1999
- [28] WHO. 1980. Tin and organotin compounds: A preliminary review. *Environmental Health criteria* 15. World Health Organization, Geneva, Switzerland., <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc.ehc015.htm>. 2003
- [29] Wasik A.; *Zeszyty Naukowe Politechniki Gdańskiej*, Gdańsk 2012, *Chemia* 71
- [30] H. Harino, M. Fukushima, Y. Kurokawa, S. Kawai *Environ. Pollut.* 98, 157, 1997
- [31] M. Giltrap, A. Macken, B. Mchugh, E. McGovern, B. Foley, M. Davoren *Environ. Toxicol. Chem.* 1, 154, 2011
- [32] S. Kan – Antireklap, S. Tanebe, J. Sanguansin, *Mar. Pollut. Bull.* 11, 894, 1997
- [33] T. Ciesielski, A. Wasik, I. Kuklik, K. Skóra, J. Namieśnik, P. Szefer, *Environ. Sci. Technol.* 38, 1415, 2004
- [34] W.T. Piver, *Environ. Health Perspect.* 4, 61, 1973
- [35] S.J. De Mora, C. Stewart, D. Phillips, *Mar. Pollut. Bull.* 30, 50, 1995
- [36] M.M.C. Ko, G.C. Bradley, A.H. Beller, M.J. Broom; *Mar. Pollut. Bull.* 31, 249, 1995
- [37] K. Kannan, S. Corsolini, S. Focardi, S. Tanabe, R. Tatsukawa, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 31, 19, 1996
- [38] J. Strand, J.A. Jacobsen, B. Pedersen, A. Granmo, *Environ. Pollut.* 124, 7, 2003
- [39] P.F. Seligman, A.O. Valkirs, P.M. Stang, R.F. Lee, *Mar. Pollut. Bull.* 19, 531, 1988
- [40] Organotin Analysis in Environmental samples, from:
<http://www.measurement.gov.au/Services/EnvironmentalTesting/Documents/Organotin%20analysis%20in%20marine%20samples.pdf>
- [41] B. Antizar-Ladislao, *Environ. Intern.* 34, 292, 2008
- [42] I. Omae, *Appl. Organometal. Chem.* 17, 81, 2003
- [43] J. Heroult, Y. Nia, L. Denaix, M. Bueno, G. Lespes, *Chemosphere* 72, 940, 2008
- [44] A.C. Belfroid, M. Purperhart, F. Ariese, *Mar. Pollut. Bull.* 40, 226, 2000
- [45] N. Kajiwara, T. Kunisue, S. Kamikawa, Y. Ochi, S. Yano, S. Tanabe, *Mar. Pollut. Bull.* 52, 1066, 2006
- [46] Z. Qun-Fang, L. Zhong-Yang, J. Gui-Bin, Y. Rui-Qiang, *Environ. Pollut.* 125, 301, 2003
- [47] G.M. Gadd, *Sci. Total Environ.* 258, 119, 2000
- [48] T. Horiguchi, H. Shiraishi, M. Shimizu, M. Morita, *Environ. Pollut.* 95, 85, 1997

- [49] G. J. M. van der Kerk, Organotin Chemistry: Past, Present, and Future; In Organotin Compounds: New Chemistry and Applications. J. Zuckerman, Advances in Chemistry; American Chemical Society: Washington, DC, 1976
- [50] G.W. Bryan, P.E. Gibbs, L.G. Hummerstone, G.R. Burt, J. Mar. Biol. Ass. 66, 611, 1986
- [51] L.L. Liu, S.J. Chen, W.Y. Pengaand., J.J. Hun, Environ. Pollut. 98, 113, 1997
- [52] L.L. Liu, I.J. Suen, J Fish Soc. Taiwan 23, 149, 1996
- [53] G.M. Cooke, Toxicology Letters 126, 121, 2002
- [54] P.W. Wester, J.H. Canton, A.A.J. Van Iersel, E.I. Krajnc, H.A.M.G. Vaessen, Aquat. Toxicol. 16, 53, 1990
- [55] K.S. Guruge, H. Iwata, H. Tanaka, S. Tanabe, Mar. Environ. Res. 44, 191, 1997
- [56] K.S. Guruge, S. Tanabe, H. Iwata, R. Taksukawa, S. Yamagishi, Arch. Environ. Contam. Toxicol. 31, 210, 1996
- [57] J.A. Stab, T.P. Traas, G. Stroomberg, J. van Kesteren, P. Leonards, B. van Hattum, U.A.Th. Brinkman, W.P. Cofino, Arch. Environ. Contam. Toxicol. 31, 319, 1996
- [58] B. Schlatterer, T.M.M. Coenon, E. Ebert, R. Grau, V. Hilbig, R. Munk, Arch. Environ. Contam. Toxicol. 24, 440, 1993
- [59] J. Strand, M.M. Larsena, Lockyer, C.; Sci. Total Environ. 350, 59, 2005
- [60] S. Takahashi, S. Tanabe, I. Takeuchi, N. Miyazaki, Arch. Environ. Contam. Toxicol. 37, 50, 1999
- [61] A. Starek, Rocznik PZH, 60, 3, 2009
- [62] F. Cima, L. Ballarin, G. Bressa, G. Martinucci, P. Burighel, Ecotoxicol. Environ. Saf. 35, 174, 1996
- [63] N. Kajiwara, K. Kannan, M. Muraoka, M. Watanabe, S. Takahashi, F. Gulland, H. Olsen, A.L. Blankenship, P.D. Jones, S. Tanabe, J.P. Giesy, Arch. Environ. Contam. Toxicol. 41, 90, 2001
- [64] Ministerstwo Gospodarki we współpracy z Instytutem Przemysłu Skórzanego Oddział w Krakowie; Przewodnik dla producentów i użytkowników wyrobów skórzanych i skóropodobnych, Warszawa, 2009
- [65] ORGANOTIN (Methyl and Butyl) TOXICITY from:
http://ntp-server.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/Chem_Background/ExSumPdf/Organotins.pdf
- [66] E. Borenfreund, H. Babich, Cell Biology and Toxicology, 3, 63, 1987
- [67] N.J. Snoeij, A.H. Penninks, W. Seinen, Environ. Res. 44, 335, 1987
- [68] R.D. Kimbrough, Environ. Health Perspect. 14, 51, 1976

- [69] H. Nakata, A. Sakakibara, M. Kanoh, S. Kudo, H. Watanabe, N. Nagai, N. Miyazaki, Y. Asano, S. Tanabe, *Environ. Pollut* 120, 245, 2002
- [70] V.F. Hodge, S.L. Seidel, E.D. Goldberg, *Anal. Chem.* 51, 1256, 1979
- [71] K. Kannan, R.A. Grove, K. Senthilkumar, C.J. Henny, J.P. Giesy, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 36, 462, 1999
- [72] M. Słaba, N. Wrońska, A. Felczak, J. Długoński, *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych*; 42, 62, 2010
- [73] K. Kannan, K.S. Guruge, N.J. Thomas, S. Tanabe, J.P. Giesy, *Environ. Sci. Technol.* 32, 1169, 1998
- [74] A. Kungolos, S. Hadjispyrou, P. Samaras, M. Petala, V. Tsiridis, K. Aravossis, G.P. Sakellaropoulos, *Proceedings of the 7th International Conference on Environmental Science and Technology* 499, 2001
- [75] A. Wasik, T. Ciesielski, *Anal Bioanal Chem* 378, 1357, 2004
- [76] J. Sun, B. He, Y. Yin, L. Li, G. Jiang, *Anal. Methods* 2, 2025, 2010
- [77] N. Voulvolis, M.D. Scrimshaw, J.N. Lester, *Mar. Pollut. Bull.* 40, 938, 2000
- [78] A. Albalat, J. Potrykus, J. Pempkowiak, C. Porte, *Chemosphere* 47, 165, 2002
- [79] K. Kannan, K. Senthilkumar, J.E. Elliott, L.A. Feyk, J.P. Giesy, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 35, 64, 1998
- [80] B. Radke, M. Staniszewska, A. Wasik, J. Namieśnik, J. Bolątek, *Pol. J. Environ. Stud.* 17, 643, 2008
- [81] K.A. Dafforn, J.A. Lewis, E.L. Johnston, *Mar. Pollut. Bull.* 62, 453, 2011
- [82] R.A. Correa C., D. Claus, Quantification of organotin Compounds Using S/SL Injection and LVI-GC-MS [online], <http://www.interscience.be/interscience/topics/organotins.pdf>
- [83] B. Antizar-Ladislao, *Environ. Intern.* 34, 292, 2008
- [84] P. Michel, B. Avert, *Environ. Sci. Technol.* 33, 2524, 1999
- [85] A. Sudaryanto, S. Takahashi, H. Iwata, S. Tanabe, A. Ismail, *Environ. Pollut.* 130, 347, 2004
- [86] Strand, J.; Jacobsen, J.A.; *Sci. Total Environ.* 350, 72, 2005
- [87] S. Takahashi, H. Mukai, S. Tanabe, K. Sakayama, T. Miyazaki, H. Masuno, *Environ. Pollut.* 106, 213, 1999
- [88] G.B. Kim, J.S. Lee, S. Tanabe, H. Iwata, R. Tatsukawa, K. Shimazaki, *Mar. Pollu. Bull.* 32, 558, 1996
- [89] G.B. Kim, S. Tanabe, R. Tatsukawa, T.R. Loughlin, K. Shimazaki, *Environ. Toxicol. Chem.* 15, 2043, 1996

- [90] S. Tanabe, M. Prudente, T. Mizuno, J. Hasewaga, H. Iwata, N. Miyazaki, *Environ. Sci. Technol.* 32, 193, 1998
- [91] N. Kajiwara, S. Niimi, M. Watanabe, Y. Ito, S. Takahashi, S. Tanabe, L.S. Khuraskin, N. Miyazaki, *Environ. Pollut.* 117, 391, 2002
- [92] J.A. Berge, E.M. Brevik, A. Bjørge, N. Følsvik, G.W. Gabrielsen, H. Wolker, J. *Environ. Monit.* 6, 108, 2004
- [93] G.B. Kim, S. Tanabe, R. Iwakiri, R. Tatsukawa, M. Amano, N. Miyazaki, H. Tanaka, *Environ. Sci. Technol.* 30, 2620, 1996
- [94] F. Adams, S. Slaets *Trends Anal Chem* 19, 80, 2000
- [95] C. Dietz, J. Sanz, E. Sanz, R. Muñoz-Olivas, C. Cámara, *J Chromatogr A* 1153, 114, 2007
- [96] R. Morabito, P. Massanisso, P. Quevauviller, *Trends Anal Chem* 19, 113, 2000
- [97] S.J. Blunden and A.H. Chapman, *Organotin Compounds in the Environment*, P.J. Crag ed. Longman, London, 1986; *Int. Tin Res. Inst. Publication No. 665*, 1986
- [98] J.A. Jacobsen, *Organotin compounds in the Danish marine environment: analysis & fate studies.*, PhD Thesis, 2000
- [99] N.S. Thomaidis, F.C. Adams, T.D. Lekkas, *Mikrochim. Acta* 136, 137, 2001
- [100] G. Yang, J. Xu, L. Xu, G. Chen, F. Fu, *Talanta* 80, 1913, 2010
- [101] R. Oliveira, R.E. Santeli; *Talanta* 82, 9, 2010
- [102] J.L. Gomez-Ariza, E. Morales, I. Giraldez, R. Beltran, J.A. Pozas Escobar; *Fresenius J Anal Chem* 357, 1007, 1997
- [103] H. Serra, J.M.F. Nogueir, *J. Chromatogr. A* 1094, 130, 2005
- [104] J. Muñoz, J.R. Baena, M. Gallego, M. Valcárcé, *J. Chromatogr. A* 1023, 175, 2004
- [105] S. Aguerre, G. Lespes, V. Desauziers, M. Potin-Gautier, *J. Anal. At. Spectrom.* 16, 263, 2001
- [106] J.J. Cleary, A.R.D. Stebbing, *Mar. Pollut. Bull.* 18, 238, 1987
- [107] Wasik A.; *Zeszyty Naukowe Politechniki Gdańskiej*, Gdańsk 2012, *Chemia* 71
- [108] Arambarri, I.; Garcia, R.; Millan, E.; *Chemosphere* 51, 643, 2003
- [109] C. Carlier-Pinasseau, G. Lespes, M. Astruc, *Talanta* 44, 1163, 1997
- [110] E. Kremer, M. Rompa, P. Sowiński, W. Wardencki, B. Zygmunt, R23: Oznaczenie wybranych zanieczyszczeń środowiska za pomocą techniki chromatografii gazowej po ich derywatywacji. W: *Nowe horyzonty i wyzwania w analityce i monitoringu środowiskowym*; CEEAM, 2003
- [111] M.D. Mueller, *Fresenius Z Anal Chem* 317, 32, 1984

- [112] M. Takeuchi, K. Mizuishi, T. Hobo, *Anal. Sci.* **16** 349, 2000
- [113] M. Abalos, J.M. Bayona, R. Compano, M. Granados, C. Leal, M.D. Prat, *J. of Chromatogr. A* **788**,1, 1997
- [114] E. Kozłowski, Problematyka oceny miarodajności wyników w analizie śladowej; <http://www.pg.gda.pl/chem/Dydaktyka/Analityczna/STAT/stat1.pdf>
- [115] V. Colombini, C. Bancon-Montigny, L. Yang, P. Maxwell, R.E. Sturgeon, Z. Mester, *Talanta* **63**, 555, 2004
- [116] V. Camel, *Spectrochim. Acta, Part B* **58**, 1177, 2003
- [117] H.G. Riepe, D. Erber, J. Bettmer, K. Cammann, *Fresenius J Anal Chem* **359**, 239, 1997
- [118] Rozporządzenie (WE) Nr 782/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 14 kwietnia 2003 r. w sprawie zakazu stosowania związków cynoorganicznych na statkach.
- [119] J.W. Waggoner, M. Belkina, K.L. Suttona, J.A. Caruso, H.B. Fannin, *J. Anal. At. Spectrom.* **13**, 879, 1998
- [120] I. Tolosa, J.M. Bayona, J. Albaigs, L.F. Alencastro, J. Tarradellas, *Fresenius J Anal Chem* **339**, 646, 1991
- [121] G. Bajger, P. Konieczka, J. Namieśnik, *Analityka* **3**, 35, 2010
- [122] Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 18 listopada 2005 r.
- [123] Obwieszczenie Marszałka Sejmu Rzeczypospolitej Polskiej z dnia 18 listopada 2005 r.
- [124] Decyzja Komisji z dnia 28 maja 2009 r. zmieniająca dyrektywę Rady 76/769/EWG w odniesieniu do ograniczeń we wprowadzaniu do obrotu i stosowaniu związków cynoorganicznych w celu dostosowania załącznika I do tej dyrektywy do postępu technicznego
- [125] I. Taverniers, M. De Loose, and E. Van Bockstaele, *Trends Anal. Chem.* **23**, 535, 2004
- [126] P. Konieczka *Crit. Rev. Anal. Chem.* **37**, 173, 2007
- [127] L. Jorhem, *Accred. Qual. Assur.* **13**, 289, 2008
- [128] E.A. Maier, A. Boenke, and P. Mériquet, *Trends Anal. Chem.* **16**, 496, 1997
- [129] H. Emons, *Accred. Qual. Assur.* **10**, 690, 2006
- [130] P. Quevauviller, W. Cofano, and L. Cortez, *Trends Anal. Chem.* **17**, 241, 1998
- [131] Konieczka P., Namieśnik J. R4: Certyfikowane materiały odniesienia, W: Specjacja chemiczna, (s. 311 – 322), MALAMUT, Warszawa, 2009
- [132] Namieśnik J., Konieczka P., Rola materiałów odniesienia w analityce chemicznej, Materiały Szkoły Naukowej , Poznań 19 – 21.04.2006, str. 148
- [133] Namieśnik J., Zygmunt B., *Sci. Total Environ.* **228**, 234, 1999

- [134] General requirements for the competence of calibration and testing laboratories, ISO/IEC Guide 25, Geneva, (1990).
- [135] International standard for quality management and quality assurance, ISO series 9000, Geneva, (1992).
- [136] International standards for quality assurance requirements for measuring equipment, ISO 10012, Geneva, (1992).
- [137] IUPAC Technical Report, Pure Appl. Chem. 65, 2123 (1993).
- [138] International guide to quality in analytical chemistry, CITAC Guide 1, UK, (1995).
- [139] Quevauviller P., Spectrochim. Acta, Part B 53, 126, 1998
- [140] McCarron, P., Emteborg H., Giddings S.D., Wright E., Quilliam M.A., Anal. Bioanal. Chem. 400, 847, 2011
- [141] S. McSheehy, J. Szpunar, R. Morabito, P. Quevauviller, Trends Anal. Chem. 4, 191, 2003
- [142] A.M.H. van der Veen, T. Linsinger, J. Pauwels, Accred. Qual. Assur. 6, 26, 2001
- [143] G. Holcombe, R. Lawn, M. Sargent, Accred. Qual. Assur. 9, 198, 2004
- [144] Guidelines for the Production of BAM Reference Materials, Version 1, 20 June 2006 (update: April 2010)
- [145] T.P.J. Linsinger, J. Pauwels, A.M.H. van der Veen, H. Schimmel, A. Lamberty, Accred. Qual. Assur 6, 20, 2001
- [146] A.M.H. van der Veen, T.P.J. Linsinger, A. Lamberty, J. Pauwels, Accred. Qual. Assur. 6, 257, 2001
- [147] R. Dybczyński, B. Danko, K. Kulisa, E. Maleszewska, H. Polkowska- Motrenko, Z. Samczyński, Z. Szopa, J. of Radioanal. and Nucl. Chem. 3, 409, 2004
- [148] B.M. Gawlik, R. Loos, G. Bidoglio, G. Fauler, X. Guo, E. Lankmayr, T. Linsinger; Trends Anal. Chem. 36, 2012
- [149] P. Robouch, R. Filon. Th. Linsinger, U. Waerjen Certification VADEMECUM ISO – 34 compliant, the fly ash attempt, June 2001
- [150] A. Lamberty, H. Schimmel, J. Pauwels, Fresenius J Anal. Chem. 360, 359, 1998
- [151] J. Pauwels, A. van der Veen, A. Lamberty, H. Schimmel, Accred. Qual. Assur. 5, 95, 2000
- [152] www.ekologia.pl
- [153] I. Bojakowska, T. Gliwicz, H. Szatkowska – Konon „Osady denne w wodach powierzchniowych”; pobrane ze strony: www.orka.sejm.gov.pl 20.06.2015, 10:30

- [154] M. Madeyski, M. Tarnawski „Ocena stanu ekologicznego osadów dennych wybranych małych zbiorników wodnych”, *Infrastruktura i ekologia terenów wiejskich*, Czasopismo naukowe Komisji Technicznej Infrastruktury Wsi PAN, Oddz. w Krakowie, 4, 107, 2006
- [155] www.pzw.org.pl, 13.07.2015, 16:48
- [156] www.ryby.fishing.pl, 13.07.2015, 16:50
- [157] <http://ryby.wwf.pl/sledz/>, 13.07.2015, 16:53
- [158] www.wedkarstwotv.pl, 13.07.2015
- [159] atlasryb.rybowanie.pl, 13.07.2015
- [160] S. Bzoma, Strategia zarządzania populacją kormorana w Polsce, Warszawa, 2011 (<http://www.sMZ.waw.pl/>)
- [161] L. Tomiałojć, T. Stawarczyk, Awifauna Polski, rozmieszczenie, liczebność i zmiany, T I – II, Polskie Towarzystwo Przyjaciół Przyrody „proNatura”, Wrocław 2003
- [162] W. Steffens, Sytuacja kormorana w Niemczech, W: Kormoran w aspekcie zrównoważonego korzystania z zasobów rybackich, Gdynia, 2012
- [163] <http://animalia-life.com/birds/great-cormorant.html>;
https://pl.wikipedia.org/wiki/Kormoran_zwyczajny
- [164] B. Trolliet, Gibier faunae Sauvage 16, 177, 1999
- [165] K.A. Dobrowolski, R. Dejtrowski, *Ekologia Polska*, 45, 279, 1997A
- [166] H. Szramka, *Las Polski*, 3, 12, 2000
- [167] „Ocena kontroli i jakości wyników pomiarów analitycznych”, praca zbiorowa pod redakcją P. Konieczki i J. Namieśnika, Wydawnictwo WNT, Warszawa, ISBN 978-83-204-3631-0
- [168] www.naukowiec.org.pl
- [169] M. Kubiczek, G. Stankiewicz, W. Spiewok, *Prace IMŻ*, 1, 7, 2013

Dorobek naukowy

Publikacje

K. Dubalska, M. Rutkowska, G. Bajger-Nowak, P. Konieczka, J. Namieśnik „Organotin compounds. Environmental fate and analysis”, *Critical Review in Analytical Chemistry* **43**, 35 – 54, 2013 (IF = 2,892)

M. Rutkowska, **K. Dubalska**, G. Bajger-Nowak, P. Konieczka, J. Namieśnik “Organomercury compounds in environmental samples: emission sources, toxicity, environmental fate and determination”, *Critical Review in Environmental Science and Technology* **44**, 638, 2014 (IF = 3,383)

M. Rutkowska, **K. Dubalska**, P. Konieczka, J. Namieśnik „Microextraction Techniques Used in the Procedures for determining Organomercury and Organotin Compounds in Environmental Samples” *Molecules*, **19**, 7581 – 7609, 2014

K. Dubalska, M. Bodnar, P. Konieczka, J. Namieśnik; „Zdolność roślin do bioakumulacji. Wykorzystanie w fitoremediacji i fitogórnictwie.” *Analityka*, **4**, 51, 2011

M. Bodnar, **K. Dubalska**, M. Rutkowska, P. Konieczka, J. Namieśnik „Certyfikowane materiały odniesienia – niezbędne narzędzie w kontroli i zapewnieniu jakości wyników pomiarów” *Analityka*, **3**, 2013, 33 – 39

M. Bodnar, **K. Dubalska**, M. Rutkowska, P. Konieczka, J. Namieśnik, “Certified Reference Materials – as a necessary tool for the quality control and quality assurance of measurements” *Analityka Euroanalysis Special Edition*, **14**, 2013

M. Bodnar, **K. Dubalska**, M. Rutkowska, P. Konieczka, J. Namieśnik, „Сертифицированные эталонные материалы – неотъемлемый инструмент при контроле и обеспечения качества измерений.” *Analityka: nauka i praktyka*. **1**, 22, 2014

Wystąpienia konferencyjne

K. Dubalska, M. Rutkowska, P. Konieczka, J. Namieśnik „Materiały odniesienia – krótka charakterystyka oraz wymagania dotyczące ich produkcji w oparciu o projekt MODAS”, *Metrologia i Probiernictwo*, **2**, 2013, 8 – 10

B. Kusznierevich, P. Konieczka, A. Bartoszek, R. Bączek--Kwinta, A. Piekarska, M. Szczygłowska, G. Bajger, N. Kujawska, A. Milewczyk, M. Bodnar, **K. Dubalska**, J.

Namieśnik; “The influence of soil contamination by heavy metals on bioactive compounds concentration in white cabbage (*Brassica Oleracea* var *capitata* f *alba*)”; 16th European Conference on Analytical Chemistry : Challenges in Modern Analytical Chemistry : abstracts, Belgrade, Serbia, 11-15 September 2011; nr abstraktu: EN47; str. 384 (poster)

G. Bajger-Nowak, A. Fortuna, M. Słomińska, M. Marć, **K. Dubalska**, M. Rutkowska, L. Kandel, B. Zabiegała, P. Konieczka, J. Namieśnik “Homogeneity study of candidate reference material based on determination of selected metal and persistent organic compounds in soil”; 38th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry: abstracts, Lausanne, Switzerland, 17 – 20 June 2014 (poster)

K. Dubalska, M. Rutkowska, P. Konieczka, J. Namieśnik „Dedicated reference materials as an essential tool for quality control in environmental research (project MODAS)”; 38th International Symposium on Environmental Analytical Chemistry: abstracts, Lausanne, Switzerland, 17 – 20 June 2014 (wystąpienie ustne)

Stypendia i nagrody

Rok akademicki 2011/2012 – stypendium naukowe w ramach projektu MISTRZ przyznawanych przez Fundusz na rzecz Nauki Polskiej.

Rok akademicki 2012/2013 – stypendium ze środków projektu „Rozwój interdyscyplinarnych studiów doktoranckich na Politechnice Gdańskiej w zakresie nowych technologii” realizowanego w ramach Programu Operacyjnego Kapitału Ludzkiego

Rok akademicki 2013/2014 – stypendium ramach projektu „InnoDoktorant– stypendia dla doktorantów, VI edycja”, realizowanego w ramach poddziałania 8.2.2 Regionalne Strategie Innowacji, Priorytetu VIII, Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, współfinansowanego przez Unię Europejską ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego oraz środków budżetu państwa i budżetu Samorządu Województwa Pomorskiego

Rok akademicki 2013/2014 – zwiększenie stypendium doktoranckiego z dotacji podmiotowej na sfinansowanie zadań projakościowych

Rok akademicki 2013/2014 – stypendium dla najlepszych doktorantów

ANEKS 1

Wyniki oznaczeń zawartości cyny całkowitej w próbkach osadu dennego, mączki śledziowej, tkanki dorsza oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego.

Nr opakowania	Nr próbki	Stężenie Sn w próbce *	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs 4	Abs śr *	CV*	Zawartość Sn w próbce	Średnia	U (k=2)	CV
		[ppb]						[%]				[%]
Osad denny										[μg/g]		
1	1	66,012	0,071	0,073	0,072	0,064	0,072	1%	1656,759	1,82	0,17	9
	2	72,708	0,065	0,079	0,095	0,08	0,080	1%	1827,026			
	3	79,107	0,07	0,084	0,087	0,089	0,087	3%	1988,216			
2	1	74,345	0,092	0,08	0,085	0,079	0,081	4%	1860,864	1,841	0,048	3
	2	71,071	0,095	0,085	0,074	0,074	0,078	8%	1785,894			
	3	74,643	0,076	0,086	0,083	0,071	0,082	6%	1874,883			
0038	1	71,369	0,064	0,072	0,084	0,078	0,078	8%	1788,877	1,88	0,33	17
	2	89,226	0,103	0,094	0,102	0,093	0,098	5%	2243,894			
	3	64,226	0,086	0,069	0,068	0,073	0,070	4%	1613,399			
0023	1	75,387	0,062	0,077	0,088	0,102	0,083	9%	1886,559	2,07	0,24	12
	2	79,182	0,081	0,083	0,091	0,092	0,087	6%	1980,727			
	3	93,393	0,101	0,081	0,108	0,099	0,103	5%	2341,847			
0033	1	78,214	0,086	0,089	0,085	0,086	0,086	1%	1956,923	1,98	0,15	8
	2	85,060	0,086	0,092	0,102	0,067	0,093	9%	2134,600			
	3	73,155	0,113	0,073	0,081	0,086	0,080	8%	1834,924			
0034	1	69,881	0,077	0,064	0,075	0,077	0,076	2%	1754,921	1,97	0,20	10
	2	79,107	0,086	0,075	0,086	0,088	0,087	1%	1989,616			
	3	85,952	0,093	0,09	0,095	0,095	0,094	1%	2153,763			

ANEKS 1 c.d. Wyniki oznaczeń zawartości cyny całkowitej w próbkach osadu dennego, mączki śledziowej, tkanki dorsza oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego.

Mączka śledziowa									[µg/kg]			
0991	1	36,192	0,43	0,302	0,401	0,093	0,378	18%	248,979	198	52	26
	2	28,750	0,603	0,206	0,231	0,423	0,287	41%	200,362			
	3	20,572	1,151	0,116	0,307	0,137	0,187	56%	144,948			
0994	1	40,853	0,419	0,128	0,417	0,468	0,435	7%	293,863	192	92	48
	2	23,680	0,242	0,24	0,138	0,192	0,225	13%	167,207			
	3	15,557	0,365	0,084	0,144	0,148	0,125	29%	115,424			
0780	1	34,856	0,396	0,141	0,28	0,408	0,361	20%	247,223	173	65	38
	2	21,826	0,758	0,265	0,244	0,097	0,202	45%	147,645			
	3	17,165	0,16	0,109	0,077	0,166	0,145	22%	124,611			
0990	1	13,840	0,151	0,099	0,106	0,108	0,104	5%	95,709	127	43	34
	2	15,421	0,106	0,102	0,475	0,163	0,124	28%	108,192			
	3	25,043	0,119	0,306	0,299	0,782	0,241	44%	175,789			
0989	1	25,206	0,448	0,324	0,177	0,229	0,243	31%	172,151	132	35	27
	2	14,739	0,134	0,088	0,124	0,553	0,115	21%	105,968			
	3	17,547	0,084	0,196	0,497	0,169	0,150	39%	117,732			
0988	1	17,738	0,174	1,002	0,129	0,153	0,152	15%	118,171	139	24	17
	2	23,789	0,34	0,336	0,097	0,131	0,226	58%	164,641			
	3	19,864	0,217	0,197	0,169	0,168	0,178	9%	134,678			
Tkanka dorsza (filety)												
0469	1	25,370	0,414	0,144	0,178	0,843	0,245	60%	180,069	161	17	10
	2	21,881	0,152	0,442	0,208	0,248	0,203	24%	147,923			
	3	22,753	0,261	0,173	0,206	0,362	0,213	21%	156,153			
0629	1	15,257	0,152	0,105	0,108	0,402	0,122	22%	107,391	138	49	35
	2	16,647	0,126	0,149	0,141	0,229	0,139	8%	112,595			
	3	28,287	0,843	0,359	0,247	0,237	0,281	24%	194,503			
0561	1	15,257	0,109	0,095	0,126	0,13	0,122	9%	105,878	144	51	36
	2	17,738	0,486	0,155	0,111	0,19	0,152	26%	124,204			
	3	29,622	0,142	0,767	0,547	0,203	0,297	73%	202,214			

ANEKS 1 c.d. Wyniki oznaczeń zawartości cyny całkowitej w próbkach osadu dennego, mączki śledziowej, tkanki dorsza oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego.

0786	1	18,692	0,217	0,152	0,145	0,194	0,164	16%	256,207	240	34	14
	2	19,250	0,161	0,041	0,18	0,284	0,171	8%	263,271			
	3	14,058	0,027	0,183	0,111	0,429	0,107	73%	200,323			
0525	1	15,448	0,519	0,119	0,175	0,078	0,124	39%	209,903	228	80	35
	2	22,917	0,262	0,137	0,247	0,053	0,215	32%	314,984			
	3	11,550	0,077	0,444	0,065	0,087	0,076	14%	158,881			
0623	1	18,692	0,175	0,212	0,08	0,104	0,164	34%	261,293	214	72	34
	2	17,792	0,065	0,108	0,171	0,179	0,153	25%	248,805			
	3	9,478	0,064	0,056	0,182	0,033	0,051	32%	130,806			
Tkanka mięśnia piersiowego kormorana czarnego												
0070	1	16,974	0,107	0,180	0,842	0,141	0,143	26%	118,943	127	29	23
	2	14,657	0,124	0,737	0,098	0,121	0,114	12%	102,902			
	3	11,441	0,075	0,070	0,080	0,061	0,075	7%	159,866			
0021	1	11,632	1,230	0,087	0,061	0,084	0,077	18%	81,867	119	32	27
	2	19,237	0,110	0,602	0,210	0,191	0,170	31%	132,084			
	3	20,845	0,224	0,208	0,068	0,138	0,190	24%	142,316			
0627	1	14,903	0,236	0,150	0,101	0,101	0,117	24%	100,721	119	17	14
	2	19,646	0,141	0,343	0,210	0,175	0,175	20%	134,522			
	3	17,765	0,102	0,048	0,184	0,171	0,152	29%	122,491			
0085	1	38,325	0,581	0,232	0,491	0,311	0,404	40%	271,709	183	82	45
	2	24,171	0,694	0,181	0,436	0,075	0,231	80%	166,246			
	3	15,775	0,136	0,095	0,153	0,876	0,128	23%	109,861			
0605	1	14,058	0,377	0,117	0,098	0,106	0,107	9%	98,360	134	41	30
	2	17,288	0,072	0,080	0,237	0,197	0,147	57%	124,355			
	3	26,351	0,140	0,400	0,856	0,232	0,257	51%	177,989			
0588	1	17,656	0,360	0,105	0,271	0,077	0,151	69%	120,410	114	29	26
	2	19,564	0,175	0,159	0,189	0,078	0,174	9%	138,770			
	3	11,795	0,126	0,096	0,077	0,065	0,079	20%	81,346			

*Podane wartości po odrzuceniu wartości odbiegających za pomocą testy Grubbsa

ANEKS 2

Wyniki oznaczeń zawartości TBT w próbkach osadu dennego, mączki śledziowej, tkanki dorsza oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego.

Nr opakowania	Nr próbki	Stężenie TBT w próbce *	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Abs śr *	RSD*	Zawartość TBT w próbce	Średnia	U (k =2)	CV
		[ppb]					[%]				
Osad denny											
1	1	7,583	731	771	814	792	3,82%	53,134	54,2	1,9	3%
	2	7,577	882	570	526	659	29,37%	53,197			
	3	8,075	11326	13656	13666	12883	10,46%	56,415			
2	1	7,583	803	823	793	806	1,90%	53,374	54,3	2,7	5%
	2	7,596	1101	1254	1029	1128	10,19%	52,159			
	3	8,396	20525	20732	21097	20785	1,39%	57,324			
0038	1	7,604	1346	1317	1251	1305	3,73%	51,390	54,3	4,2	8%
	2	8,644	26575	26708	27317	26867	1,47%	59,187			
	3	7,596	909	1172	1268	1116	16,67%	52,375			
0023	1	7,714	4227	3455	4373	4018	12,28%	54,690	54,2	1,4	3%
	2	7,640	2238	2230	2157	2208	2,02%	52,551			
	3	7,941	9570	9826	9401	9599	2,23%	55,304			
0033	1	7,577	697	662	602	654	7,36%	53,017	53,4	1,7	3%
	2	7,690	3497	3478	3316	3430	2,90%	55,317			
	3	7,684	3338	3390	3125	3284	4,28%	51,903			
0034	1	7,632	2221	2030	1765	2005	11,42%	52,051	52,73	0,98	2%
	2	7,592	1168	999	922	1030	12,23%	53,855			
	3	7,579	743	722	640	702	7,79%	52,270			

ANEKS 2 c.d. Wyniki oznaczeń zawartości TBT w próbkach osadu dennego, mączki śledziowej, tkanki dorsza oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego.

Mączka śledziowa											
0991	1	7,642	1804	2446	2511	2254	17%	53,551	54,05	0,54	1%
	2	7,688	3547	3242	3377	3389	5%	53,977			
	3	7,818	6780	6673	6244	6566	4%	54,620			
0994	1	11,579	97776	98698	100609	99028	1%	81,500	63,9	15,3	24%
	2	8,104	13311	13695	13808	13605	2%	55,645			
	3	7,988	10492	10799	10970	10754	2%	54,537			
0780	1	9,845	56558	56470	56153	56394	0%	66,538	65,3	7,8	12%
	2	8,304	18320	18687	18536	18514	1%	56,860			
	3	10,500	71567	72772	73154	72498	1%	72,400			
0990	1	7,972	10421	10319	10337	10359	1%	56,519	53,8	2,3	4%
	2	7,612	1974	834	1718	1509	40%	52,355			
	3	7,554	10606	60	128	94	52%	52,611			
0989	1	7,730	4645	4351	4230	4409	5%	54,086	63,12	16,04	25%
	2	11,348	93315	94392	93371	93343	0,04%	81,630			
	3	7,940	9306	9677	9756	9580	3%	53,633			
0988	1	7,756	4755	5031	5048	5040	0,2%	52,892	52,9	0,7	1%
	2	7,571	509	381	506	508	0,5%	53,704			
	3	7,572	518	506	538	521	3%	52,219			
Tkanka dorsza											
0469	1	7,621	1588	1624	1969	1727	12%	53,401	53,36	0,10	0,2%
	2	7,611	1546	1468	1419	1478	4%	53,431			
	3	7,619	1669	1644	1742	1685	3%	53,232			
0629	1	10,711	76319	78785	77969	77691	2%	75,390	65,4	8,8	13%
	2	8,569	25425	24812	24868	25035	1%	58,838			
	3	9,081	37746	38116	36953	37605	2%	61,996			
0561	1	8,448	21743	21871	22585	22066	2%	57,099	54,1	2,7	5%
	2	7,577	659	658	722	659	0,04%	51,886			
	3	7,737	4592	4551	4612	4585	1%	53,348			

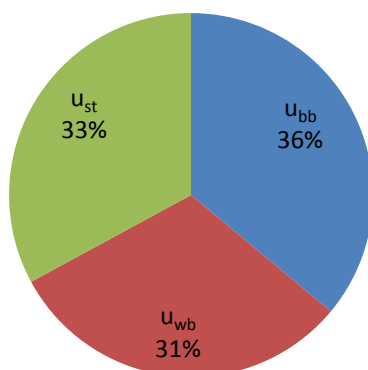
ANEKS 2 c.d. Wyniki oznaczeń zawartości TBT w próbkach osadu dennego, mączki śledziowej, tkanki dorsza oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego.

0786	1	7,724	4263	4271	4273	4269	0%	54,763	53,9	1,5	3%
	2	7,599	1220	1199	1187	1202	1%	52,270			
	3	7,869	7616	7800	8088	7835	3%	54,804			
0525	1	8,083	12734	13351	13169	13085	2%	56,556	54,4	2,6	5%
	2	7,674	3051	3073	2958	3027	2%	55,199			
	3	7,630	2031	1887	1926	1948	4%	51,536			
0623	1	7,858	7234	7451	7973	7553	5%	53,590	53,37	0,91	2%
	2	7,634	2111	2000	2027	2046	3%	54,148			
	3	7,595	1093	1062	1093	1083	2%	52,377			
Tkanka mięśnia piersiowego kormorana czarnego											
0070	1	7,783	5727	5554	5860	5714	3%	54,537	54,40	0,19	0,3%
	2	7,760	5073	5240	5121	5145	2%	54,478			
	3	7,757	4896	5050	5288	5078	4%	54,197			
0021	1	7,730	6265	4458	4365	4412	1%	54,406	54,1	1,5	3%
	2	7,646	2464	2293	2264	2340	5%	52,498			
	3	8,111	13668	13858	9792	13763	1%	55,373			
0627	1	8,788	32173	29609	29480	30421	5%	59,396	56,8	2,3	4%
	2	8,155	15085	14731	14753	14856	1%	55,841			
	3	7,988	10626	10670	10988	10761	2%	55,081			
0085	1	7,702	3770	3867	3536	3724	5%	54,605	71,5	29,9	42%
	2	7,812	6550	6495	6232	6426	3%	53,731			
	3	15,227	179733	191335	195001	188690	4%	106,047			
0605	1	16,187	190999	219434	226374	212269	9%	113,257	84,9	31,5	37%
	2	12,569	119954	123253	123423	123338	0%	90,408			
	3	7,558	81669	180	201	191	8%	51,053			
0588	1	8,097	13528	13464	13326	13439	1%	55,223	62,4	6,3	10%
	2	9,424	45714	45898	46533	46048	1%	66,847			
	3	9,431	46206	45489	46242	46224	0,1%	65,043			

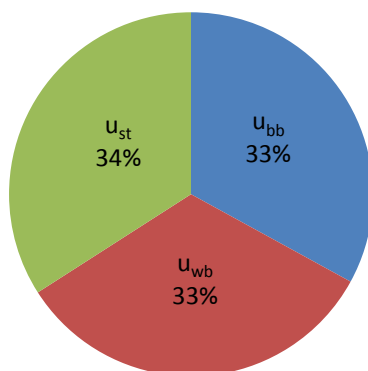
*Podane wartości po odrzuceniu wartości odbiegających za pomocą testy Q - Dixona

ANEKS 3 *Udział poszczególnych niepewności w złożonej niepewności standardowej w poszczególnych kandydatach na materiał odniesienia cyny całkowitej oraz tributyllocyny.*

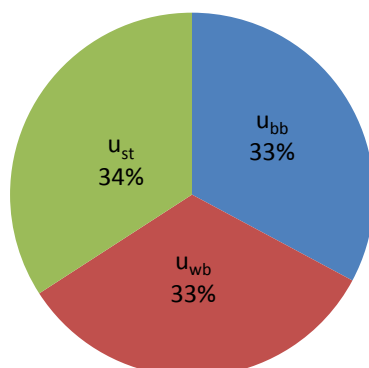
Udział poszczególnych niepewności w złożonej niepewności standardowej w osadzie dennym dla oznaczeń cyny całkowitej



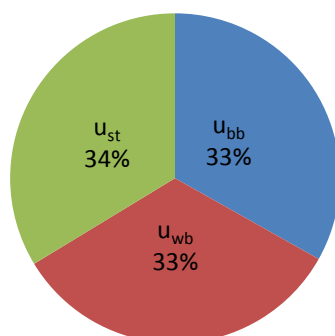
Udział poszczególnych niepewności w złożonej niepewności standardowej w mączce śledziowej dla oznaczeń cyny całkowitej



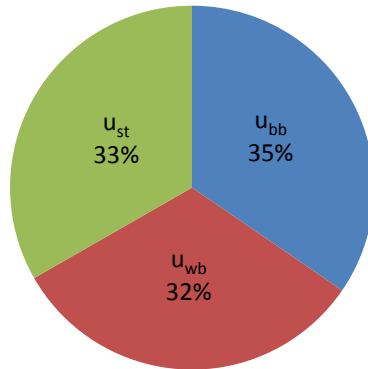
**Udział poszczególnych niepewności w złożonej
niepewności standardowej w tkance dorsza
dla oznaczeń cyny całkowitej**



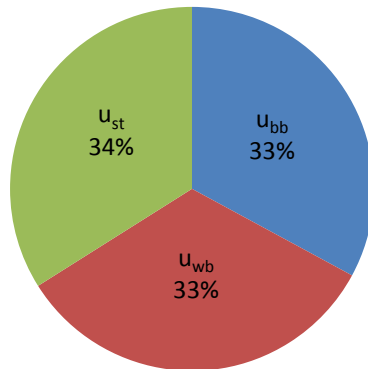
**Udział poszczególnych niepewności w złożonej
niepewności standardowej w tkance mięśnia
piersiowego kormorana czarnego
dla oznaczeń cyny całkowitej**



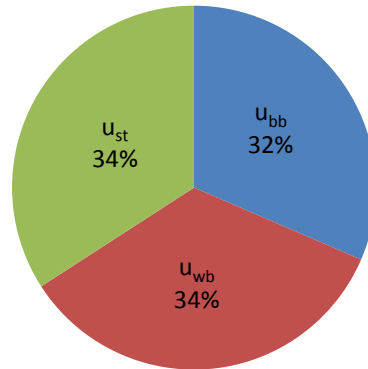
Udział poszczególnych niepewności w złożonej niepewności standardowej w osadzie dennym dla oznaczeń tributyllocyny



Udział poszczególnych niepewności w złożonej niepewności standardowej w mączce śledziowej dla oznaczeń tributyllocyny



Udział poszczególnych niepewności w złożonej niepewności standardowej w tkance dorsza dla oznaczeń tributyllocyny



Udział poszczególnych niepewności w złożonej niepewności standardowej w tkance mięśnia piersiowego kormorana czarnego dla oznaczeń tributyllocyny

