



**POLITECHNIKA
GDAŃSKA**

WYDZIAŁ CHEMICZNY



Imię i nazwisko autora rozprawy: Małgorzata Rutkowska
Dyscyplina naukowa: Chemia

ROZPRAWA DOKTORSKA

Tytuł rozprawy w języku polskim: Badanie jednorodności i trwałości kandydatów na materiały odniesienia (gleba, osad denny, tkanka śledzia, tkanka dorsza, tkanka kormorana) na podstawie wyników oznaczania całkowitej zawartości rtęci i metylortęci

Tytuł rozprawy w języku angielskim: Homogeneity and stability study of the candidates on reference materials (soil, bottom sediment, herring tissue, cod tissue, cormorant tissue) based on the determination of total mercury and methylmercury

Promotor	Promotor
Prof. dr hab. inż. Piotr Konieczka	Prof. dr hab. inż. Jacek Namieśnik

Gdańsk, 24 stycznia 2017 r.

*Składam serdeczne podziękowania moim promotorom
Panu prof. dr hab. inż. JACKOWI NAMIEŚNIKOWI*

oraz

*Panu prof. dr hab. inż. PIOTROWI KONIECZCE
za nieocenioną pomoc, poświęcony czas, przekazaną wiedzę, ogromną życzliwość i cierpliwość
a także za mobilizację do pracy*

Dziękuję również

*Wszystkim Pracownikom i Doktorantom
Katedry Chemii Analitycznej
za stworzenie wspianiałej atmosfery pracy*

Szczególnie dziękuję

*MOIM RODZICOM
za wsparcie na całej mojej drodze edukacji, wiarę we mnie i nieustającą pomoc*

*MOJEMU MĘŻOWI GRZEGORZOWI
za wsparcie duchowe, wyrozumiałość i cierpliwość*

*MOIM SIOSTROM
za szczerą troskę i wszystkie dobre życzenia*



Spis treści

Streszczenie	5
SPIS SKRÓTÓW I AKRONIMÓW	6
I CZĘŚĆ TEORETYCZNA.....	9
1.1. Wstęp.....	9
1.2. Charakterystyka rtęci.....	9
1.2.1. Metylacja	11
1.2.2. Bioakumulacja.....	12
1.2.3. Specjacja rtęci.....	13
1.2.4. Szkodliwe działanie związków rtęcioorganicznych	14
1.2.5. Informacje o zawartości związków rtęcioorganicznych w próbkach środowiskowych	15
1.3. Analiza specjacyjna rtęci	32
1.3.1. Ekstrakcja	32
1.3.2. Przekształcanie analitu w lotne pochodne	33
1.3.3. Techniki rozdzielania i detekcji analitów	35
1.4. Materiały odniesienia	37
1.4.1. Podstawowe definicje i wymagania	40
1.4.2. Produkcja materiałów odniesienia.....	42
1.4.3. Parametry charakteryzujące materiał odniesienia	44
1.4.3.1. <i>Reprezentatywność</i>	44
1.4.3.2. <i>Jednorodność</i>	44
1.4.3.3. <i>Trwałość</i>	45
1.4.3.4. <i>Wartość certyfikowana</i>	46
1.4.3.5. <i>Niepewność</i>	46
1.5. Certyfikowane materiały odniesienia – problemy i wyzwania	47
1.6. Projekt MODAS	50
II CEL PRACY.....	52
III CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA.....	53
1. Sprzęt laboratoryjny i aparatura.....	53
2. Odczynniki i wzorce	53
3. Charakterystyka analizowanych próbek.....	54
3.1. Gleba.....	54



3.2. Osad denny	55
3.3. Tkanka śledzia.....	55
3.4. Tkanka dorsza	57
3.5. Tkanka kormorana	59
4. Przygotowanie próbek do analizy	60
4.1. Liofilizacja i homogenizacja.....	60
5. Procedura oznaczania całkowitej zawartości rtęci i metylortęci w próbkach kandydatów na CRM z wykorzystaniem techniki CV-AAS.....	62
5.1. Charakterystyka procesu ekstrakcji metylortęci z próbek kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia	63
5.2. Kalibracja	65
5.3. Wyznaczanie parametrów walidacyjnych.....	66
6. Wyniki.....	69
6.1. Badanie jednorodności kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia	69
6.1.1. Wyniki oznaczania całkowitej zawartości rtęci w próbkach, których martyce stanowią: gleba, osad denny, tkanka śledzia, tkanka dorsza i tkanka kormorana czarnego.....	69
6.1.2. Analiza wariancji – określenie jednorodności kandydatów na materiał odniesienia (rtęć)	71
6.1.3. Wyniki oznaczania metylortęci w próbkach, których martyce stanowią: tkanka śledzia, tkanka dorsza i tkanka kormorana czarnego... ..	87
6.1.4. Analiza wariancji – określenie jednorodności kandydatów na materiał odniesienia (metylortęć)	91
6.2. Badanie trwałości certyfikowanych materiałów odniesienia.....	99
7. Podsumowanie	110
LITERATURA.....	111
SPIS DOROBKU NAUKOWEGO.....	127
STYPENDIA I NAGRODY	129
ANEKS 1	130
ANEKS 2.....	131
ANEKS 3.....	139



Streszczenie

Ze względu na specyficzne właściwości rtęci oraz możliwość utworzenia połączeń, które wykazują zdolność do bioakumulacji w tkankach i narządach organizmów na różnych poziomach łańcucha troficznego, konieczne stało się uzyskanie szczegółowych informacji na temat źródeł emisji do środowiska oraz losu środowiskowego rtęci. W związku z tym, że pomiary analityczne ukierunkowane są na identyfikację oraz ilościowe oznaczanie trucizn środowiskowych tj. rtęć i jej związki, które w badanych próbkach o złożonej matrycy, występują na coraz niższych poziomach stężeń, konieczne stało się opracowanie odpowiednich metodyk analitycznych i materiałów odniesienia, które będą stanowiły narzędzia do uzyskiwania wiarygodnych informacji analitycznych.

Jeśli efektem działalności chemika-analityka są wyniki pomiarów obarczone błędem to odpowiednie informacje analityczne mogą być przyczyną dezinformacji. Dlatego też konieczne jest zapewnienie kontroli jakości prowadzonych badań związanych z analizowaniem wszelkich elementów środowiska. Materiały odniesienia odgrywają istotną rolę we wszystkich elementach systemu zapewniania jakości wyników pomiarów. Kontrola jakości opiera się na analizie materiałów odniesienia z wykorzystaniem testowanej metody analitycznej oraz porównaniu uzyskanych wyników z wartościami certyfikowanymi. W związku z tym, niezwykle ważne jest aby stale wzbogacać asortyment dostępnych certyfikowanych materiałów odniesienia (CRM), tak aby były one jak najbardziej „identyczne” pod względem składu chemicznego matrycy oraz postaci fizycznej do badanych próbek oraz aby oznaczana substancja była na poziomie jak najbardziej zbliżonym do zawartości w badanych próbkach.

Jako odpowiedź na zapotrzebowanie polskich laboratoriów analitycznych w zakresie szeroko pojętej analityki środowiskowej stworzono projekt MODAS, którego celem było wyprodukowanie „pakietu” 6-ciu certyfikowanych materiałów odniesienia (gleba, osad denny, tkanka śledzia, tkanka dorsza, tkanka kormorana, włókna szklane).

W pracy przedstawiono wyniki badań jednorodności i trwałości (w oparciu o wyniki jednoczynnikowej analizy wariancji ANOVA) próbek materiałów - kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia MODAS na podstawie oznaczania całkowitej zawartości rtęci i metylortęci z wykorzystaniem techniki CV-AAS.

SPIS SKRÓTÓW I AKRONIMÓW

SKRÓT/AKRONIM	OBJAŚNIENIE W JĘZYKU ANGIELSKIM	OBJAŚNIENIE 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
BCR	<i>Community Bureau of Reference</i>	-
CE	<i>Capillary electrophoresis</i>	Elektroforeza kapilarna
CM	<i>Control Materials</i>	Materiały kontrolne
COMAR	<i>International Data Bank on Reference Materials</i>	Międzynarodowa baza danych dotycząca materiałów odniesienia
CRM	<i>Certified Reference Materials</i>	Certyfikowane materiały odniesienia
CV	<i>Cold vapor</i>	Zimne pary
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>	Kwas deoksyrybonukleinowy
ECD	<i>Electron Capture Detector</i>	Detektor wychwytu elektronów
GC	<i>Gas Chromatography</i>	Chromatografia gazowa
GF - AAS	<i>Graphite Furnace Atomic Absorption Spectroscopy</i>	Atomowa spektrometria absorpcyjna z atomizacją w piecu grafitowym
GUM	<i>Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement</i>	Przewodnik z opisem sposobów wyznaczania niepewności pomiarów
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>	Wysokosprawna chromatografia cieczowa

IAEA	<i>International Atomic Energy Agency</i>	Międzynarodowa Agencja Energii Atomowej
ICHtJ	-	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
INAA	<i>Instrumental Neutron Activation Analysis</i>	<i>Instrumentalna neutronowa analiza aktywacyjna</i>
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
LC	<i>Liquid Chromatography</i>	Chromatografia cieczowa
LOD	<i>Limit of Detection</i>	Granica wykrywalności
LOQ	<i>Limit of Quantification</i>	Granica oznaczalności
MAE	<i>Microwave assisted extraction</i>	Ekstrakcja wspomagana promieniowaniem mikrofalowym
MDL	<i>Method Limit of Detection</i>	Granica wykrywalności metody
MQL	<i>Method Limit of Quantification</i>	Granica oznaczalności metody
MeHg	<i>Methylmercury</i>	Metylortęć
MIP – AES	<i>Microwave Induced Plasma Atomic Emission Spectrometry</i>	Spektrometria emisji atomowej z promieniowaniem mikrofalowym w plazmie indukowanej
NBS	<i>National Bureau of Standards</i>	Narodowe Biuro Wzorców
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology (USA)</i>	Narodowy Instytut Standardów i Technologii Stanów Zjednoczonych (USA)

NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>	Narodowy Instytut Standaryzacji i Technologii
NMIJ	<i>National Metrology Institute of Japan</i>	Narodowy Insytut Metrologii (Japonia)
NRC	<i>National Research Council Canada</i>	-
PFE-ASE	<i>Pressurised fluid extraction</i>	Ekstrakcja za pomocą rozpylania pod zwiększonym i podwyższonej temperaturze
QA/QC	<i>Quality Assurance/ Quality Control</i>	Zapewnienie jakości/ Kontrola jakości
QCRM	<i>Quality Control Reference Materials</i>	Materiały odniesienia do kontroli jakości
QCS	<i>Quality Control Samples</i>	Próbki do kontroli jakości
RM	<i>Reference Material</i>	Materiał Odniesienia
SFE	<i>Supercritical Fluid Extraction</i>	<i>Ekstrakcja za pomocą płynu w stanie nadkrytycznym</i>
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i>	<i>Ekstrakcja do fazy stałej</i>
U.S. EPA	<i>Environmental Protection Agency</i>	Agencja Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych
U.S. FDA	<i>United States Food and Drug Administration</i>	Agencja Żywności i Leków Stanów Zjednoczonych
UAE	<i>Ultrasound assisted extraction</i>	Ekstrakcja wspomagana ultradźwiękami
UV	<i>Ultraviolet</i>	Ultrafiolet
UV-Vis	<i>Ultraviolet-visible</i>	Nadfiolet i światło widzialne

I CZĘŚĆ TEORETYCZNA

1.1. Wstęp

Ze względu na specyficzne właściwości rtęci oraz możliwość utworzenia połączeń, które wykazują zdolność do bioakumulacji w tkankach i narządach organizmów na różnych poziomach łańcucha troficznego, konieczne stało się uzyskanie szczegółowych informacji na temat źródeł emisji do środowiska oraz losu środowiskowego rtęci. W związku z tym, że pomiary analityczne ukierunkowane są na identyfikację oraz ilościowe oznaczanie trucizn środowiskowych tj. rtęć i jej związki, które w badanych próbkach o skomplikowanym składzie matrycy, występują na coraz niższych poziomach stężeń, konieczne stało się opracowanie odpowiednich metodyk analitycznych i materiałów odniesienia, które będą stanowiły narzędzia do uzyskiwania wiarygodnych informacji analitycznych.

Jeśli efektem działalności chemika-analityka są wyniki pomiarów obarczone błędem to odpowiednie informacje analityczne mogą być przyczyną dezinformacji. Dlatego też konieczne jest zapewnienie kontroli jakości prowadzonych badań związanych z analizowaniem wszelkich elementów środowiska. Materiały odniesienia odgrywają istotną rolę we wszystkich elementach systemu zapewniania jakości wyników pomiarów. Kontrola jakości opiera się na analizie materiałów odniesienia z wykorzystaniem testowanej metody analitycznej oraz porównaniu uzyskanych wyników z wartościami certyfikowanymi. W związku z tym, niezwykle ważne jest aby stale wzbogacać asortyment dostępnych certyfikowanych materiałów odniesienia (CRM), tak aby były one jak najbardziej „identyczne” pod względem składu chemicznego matrycy oraz postaci fizycznej do badanych próbek oraz aby oznaczana substancja była na poziomie jak najbardziej zbliżonym do zawartości w badanych próbkach.

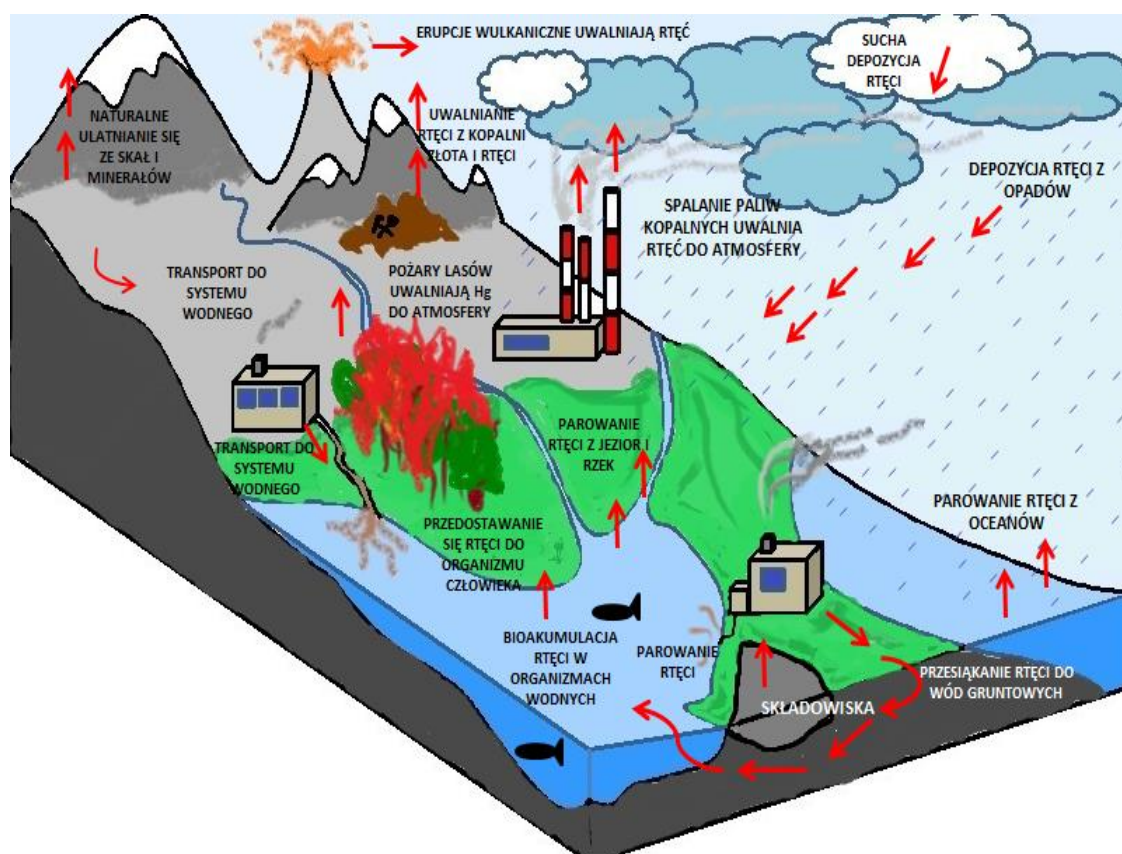
1.2. Charakterystyka rtęci

Rtęć uważana jest przez specjalistów z różnych organizacji w tym także przez ekspertów z Agencji Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych (U.S. EPA), za jeden z najbardziej toksycznych pierwiastków [1]. Toksyczność, biochemiczne właściwości oraz cykl rtęci w środowisku zależny jest od stężenia oraz postaci chemicznej tego pierwiastka [2-6].

Utworzenie rtęcioorganicznych połączeń głównie na skutek naturalnych procesów jest szczególnie niebezpieczne ze względu na to, że związki rtęcioorganiczne są zwykle bardziej toksyczne niż nieorganiczne sole rtęci [7]. Najczęściej spotykana, organiczna forma rtęci – metylortęć (MeHg) jest silną neurotoksyną, która ulega procesowi bioakumulacji, a trwały charakter tego związku w organizmach i środowisku, ma wpływ na zdrowie i rozwój ludzi oraz przyrody [1,8].

Rtęć wprowadzana jest do środowiska zarówno ze źródeł biogenicznych jak i antropogenicznych. Jeśli chodzi o sztuczne źródła emisji rtęci to należy wymienić m.in.: spalanie paliw kopalnych i ogrzewanie innych materiałów zawierających rtęć, wydobywanie złota, produkcję papieru czy leków [1,9-11]. Do naturalnych źródeł emisji rtęci, które mają największy wpływ na stopień zanieczyszczenia rtęcią środowiska, należą: erupcje wulkanów, pożary lasów, wietrzenie skał, ruchy tektoniczne i związane z nimi odgazowywanie skorupy ziemskiej [12-15].

Działalność człowieka spowodowała znaczny wzrost emisji rtęci do środowiska w ciągu ostatnich stu lat [16,17]. Choć rtęć występuje naturalnie w środowisku, to działania człowieka mają wpływ na jej globalny obieg poprzez uwalnianie coraz większych ilości jej związków do środowiska, co sprawia, że ilość Hg, która dostaje się do środowiska ze źródeł antropogenicznych jest znacznie większa od tej pochodzącej ze źródeł naturalnych [18]. Po emisji rtęci do środowiska, zostaje ona natychmiast włączona do globalnego obiegu rtęci w przyrodzie [10,11]. Schemat obiegu rtęci w przyrodzie przedstawiono na rysunku 1.



Rysunek 1: Cykl obiegu rtęci w biosferze.

Rtęć w środowisku ulega wielu procesom i przemianom do których należą m.in.:

- ✓ depozycja sucha i mokra (w ten sposób rtęć przedostaje się do zbiorników wodnych i wód gruntowych),
- ✓ sorpcja/desorpcja,
- ✓ re-emisja do atmosfery rtęci pierwiastkowej i/lub lotnych form rtęci,
- ✓ biometylacja/demetylacja,
- ✓ bioakumulacja (biowzmacnianie i biowzbogacanie) [19].

Procesami, które mają największe znaczenie pod względem toksyczności rtęci oraz wpływu tego pierwiastka na zdrowie ludzi i zwierząt są: biometylacja i bioakumulacja rtęci.

1.2.1. Metylacja

Biorąc pod uwagę obieg rtęci w przyrodzie oraz przemiany tego pierwiastka w środowisku, to wodne ekosystemy (oceany, morza, jeziora, rzeki czy osady dennie) są najbardziej podatne na zanieczyszczenie przez rtęć [20] ponieważ praktycznie wszystkie formy rtęci mogą ulec przekształceniu w metylortęć na skutek procesów naturalnych [1, 21-23]. Za proces ten odpowiedzialne są niektóre grupy organizmów takie jak: grzyby [24], makroglony i bakterie biorące udział w procesie etylujacji rtęci - (redukujące siarczany), które przeważnie w warunkach beztlenowych, w powierzchniowej warstwie osadów dennych (grubość do 2 cm) gdzie aktywność mikrobiologiczna jest najwyższa tworzą MeHg [25-33].

Natomiast metylortęć ze względu na:

- ✓ łatwą przyswajalność,
- ✓ powolny proces eliminacji z organizmu [34],
- ✓ lipofilowe właściwości,

stanowi od około 60 % do 90 % całkowitej zawartości rtęci w organizmach żywych [35].

Szybkość i stopień metylacji jonów rtęci (II) w wodach i osadach dennych zależy od takich czynników jak:

- ✓ forma rtęci,
- ✓ czynnik metylujący,
- ✓ skład chemiczny osadu,
- ✓ ilość obecnego w osadzie tlenu,
- ✓ pH osadu [1].

Najważniejszymi czynnikami, które mogą spowalniać biologiczne procesy syntezy metylortęci są:

- ✓ trudności związane z przeprowadzeniem reakcji metylacji w fazie wodnej,
- ✓ możliwość rozkładu organicznych związków rtęci przez promieniowanie UV [1,36].

Z osadu i wody metylortęć może przedostać się do tkanek organizmów wodnych [37], gdzie może ulegać procesowi bioakumulacji [38]. Z tego powodu zostały określone maksymalne poziomy zawartości rtęci i metylortęci w żywności. Takie normy zostały m.in. określone przez specjalistów z Wielkiej

Brytanii, Unii Europejskiej i Chin, którzy ustalili maksymalny poziom całkowitej zawartości rtęci w tkankach jadalnych ryb na poziomie 0,5 ppm natomiast specjaliści z Agencji Żywności i Leków Stanów Zjednoczonych (U.S. FDA) ustalili maksymalny poziom zawartości metylortęci w tkankach ryb na poziomie 1 ppm (mokrej masy) [39].

1.2.2. Bioakumulacja

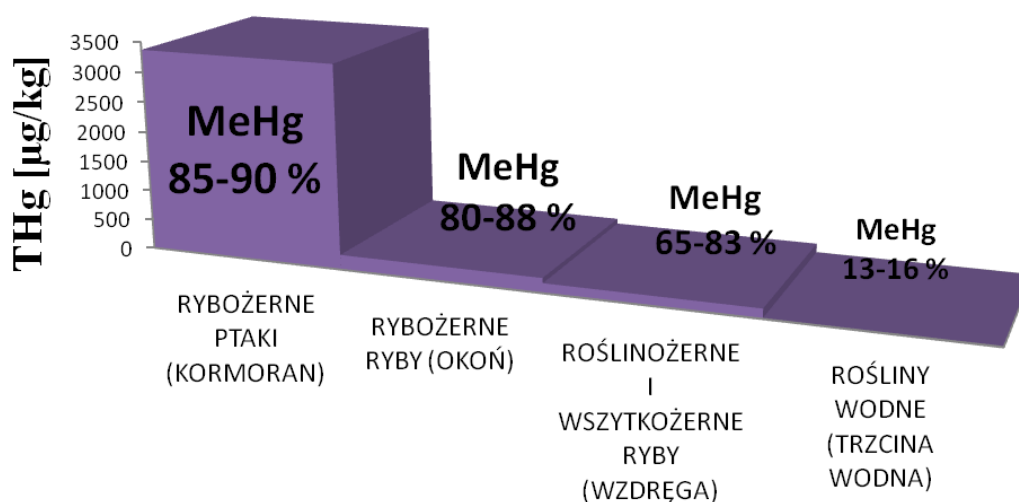
Proces bioakumulacji metylortęci zachodzi wzdłuż wodnego łańcucha pokarmowego: woda morska - fitoplankton - zooplankton - małe ryby roślinożerne – duże ryby drapieżne – ssaki morskie [39]. Każdy organizm z danego ogniwa w łańcuchu pokarmowym charakteryzuje się wyższym poziomem zawartości metylortęci, czego konsekwencją są duże stężenia metylortęci w tkankach zwierząt na kolejnych poziomach łańcucha pokarmowego, w stosunku do początkowego stężenia w wodzie, osadzie dennym czy glebie [40-44].

Zawartość metylortęci w próbkach gleb jest zazwyczaj niezbyt duża. Natomiast udział metylortęci w całkowitej zawartości rtęci w glebie mieści się w zakresie od 0,5 % do 1,5 % [15]. Rtęć, gromadzi się przeważnie w górnych warstwach gleby. Spowodowane jest to bardzo silnym powinowactwem tego pierwiastka do substancji organicznych i niektórych minerałów znajdujących się w glebie [45], co z kolei sprawia, że biodostępność rtęci w glebach jest niska [46].

W ekosystemach wodnych zarówno nieorganiczne jak i organiczne formy rtęci, mają tendencję do akumulowania się w osadach dennych. Z racji tego, że w osadach niektóre organizmy biorą udział w przekształcaniu poszczególnych związków rtęci w metylortęć, poziomy zawartości tego toksycznego związku są przeważnie wyższe niż w glebie [47].

Niebezpiecznie wysokie poziomy zawartości organicznych form rtęci stwierdzono w tkankach ryb, ptaków i ssaków wodnych oraz lądowych, żywiących się rybami. W tkankach ryb, większość z oznaczanych form rtęci to toksyczna metylortęć. Najbardziej istotnymi czynnikami wpływającymi na stopień bioakumulacji MeHg w rybach są: wielkość ryby i/lub zawartość tłuszczu, mechanizm powinowactwa białek [48], oraz zawartość rozpuszczonego w wodzie tlenu w miejscu bytowania ryb. W sprzyjających warunkach organizmy te, mogą akumulować znaczne zawartości metylortęci. Ryby są istotnym elementem w biologicznym obiegu organicznych związków rtęci w przyrodzie. Spowodowane jest to tym, że są one ważnym ogniwem łańcucha troficznego, będąc podstawą diety nie tylko wielu organizmów wodnych, ale i ludzi [1,6,16,17,27,49-52]. Przykładowo, w tkankach i narządach rybożernych ptaków takich jak np.: kormorany będące drapieżnikami ekosystemów wodnych, gromadzone są znaczne ilości MeHg, podczas gdy inne gatunki jak np. perkoz dwuczuby, którego dieta oprócz małych ryb składa się z owadów i skorupiaków, akumuluje znacznie mniejsze ilości toksycznej formy rtęci [7]. Wysoki poziom stężenia MeHg w tkankach ptaków może mieć wpływ na ich układ odpornościowy, detoksykację, układ nerwowy, a nawet ich zdolności rozrodcze [10,53]. Na rysunku 2

przedstawiono w sposób poglądowy informacje o poziomach zawartości rtęci całkowitej oraz procentowy udział metylortęci w próbkach organizmów tworzących przykładowy łańcuch pokarmowy ekosystemu wodnego.



Rysunek 2: Poziomy stężenie rtęci całkowitej w organizmach/próbkach [$\mu\text{g}/\text{kg}$] oraz procentowy udział metylortęci w ogólnej zawartości rtęci [7].

1.2.3. Specjacja rtęci

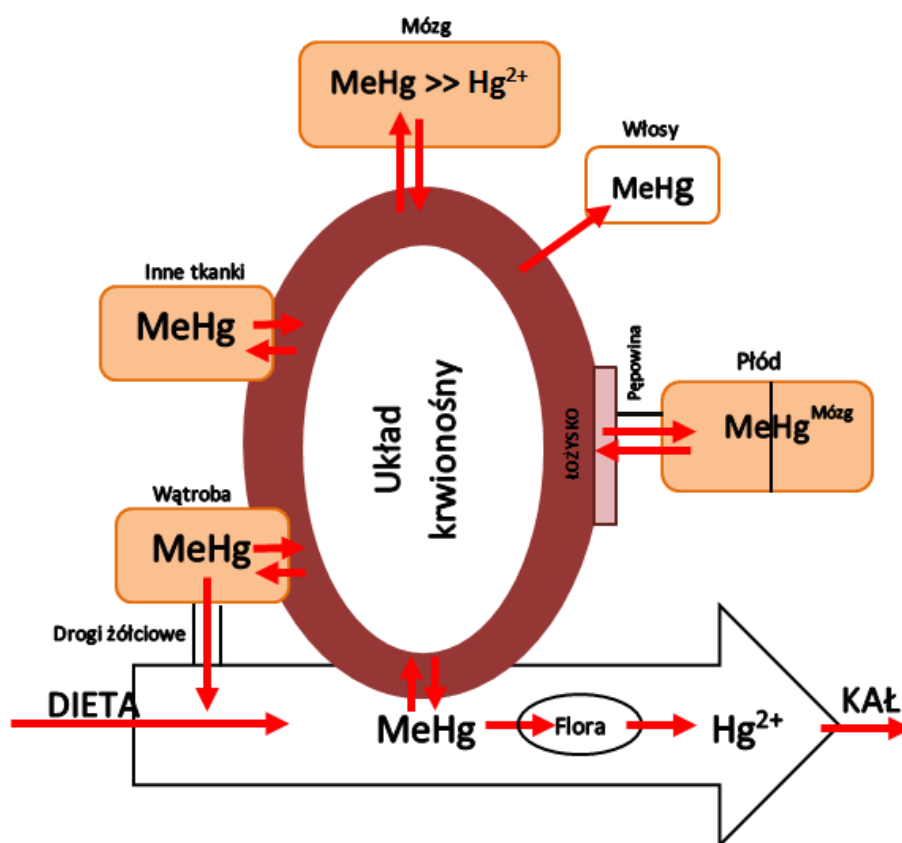
Specjacja jako jedna z dziedzin badań pojawiła się w chemii analitycznej dopiero w drugiej połowie XX wieku. Okazało się bowiem, że oznaczenie całkowitej zawartości pierwiastków metalicznych nie jest wystarczające do poznania właściwości zarówno biologicznych jak i chemicznych badanych obiektów, gdyż pierwiastki występują w zróżnicowanej formie chemicznej [54]. Zgodnie ze współczesnym rozumieniem terminu, specjacja w chemii to występowanie danego pierwiastka w różnej postaci (w postaci jonów lub związków chemicznych na różnych stopniach utlenienia oraz w połączeniu z różnymi ligandami) [55].

Działalność człowieka powoduje emisję do środowiska znacznej ilości rtęci, która może przybierać bardzo toksyczne formy. W związku z tym, że toksyczność, mobilność, biodostępność i bioakumulacja rtęci zależy od formy chemicznej tego pierwiastka, konieczne jest oznaczanie poszczególnych form rtęci a nie zaś całkowitego stężenia rtęci w próbkach środowiskowych [1,56].

1.2.4. Szkodliwe działanie związków rtęcioorganicznych

Rtęć podlega w poszczególnych elementach środowiska procesom przekształcenia a kontakt z jakąkolwiek formą rtęci powoduje efekty toksyczne. Zatrucie rtęcią zachodzi na skutek połknięcia, wdychania (inhalacji) lub wchłaniania przez skórę. W przypadku organicznych form rtęci do zatrucia dochodzi przeważnie poprzez spożycie toksycznej metylortęci lub innych związków wraz z pokarmem. Szczególnie niebezpieczne są związki tj. metylortęć czy etylortęć, które praktycznie w całości wchłaniane są w przewodzie pokarmowym [6,8,11,48,57,58] oraz łatwo przenikają przez bariery biologiczne - barierę krew – mózg a także barierę łożyskową, akumulując się tym samym w płodzie i mleku matki [59-62]. Mimo, że etylortęć charakteryzuje się mniejszą toksycznością niż metylortęć, to oba związki wywołują podobne objawy [63,64]. Ekspozycja na organiczne związki rtęci, w szczególności metylortęć, w okresie prenatalnym oraz w okresie tuż po urodzeniu (poprzez spożycie ich wraz z mlekiem matki) wpływa na wczesny rozwój w okresie dzieciństwa [57]. Na rysunku 3 przedstawiono schemat obiegu metylortęci w organizmie matki i płodu.

Po ekspozycji na metylortęć, jej metabolity (powstające w procesie demetylacji w wątrobie) wydalone są razem z moczem i kałem, jednak tylko w niewielkim stopniu gdyż metylortęć ulega recyrkulacji wątrobowo-jelitowej [11].



Rysunek 3: Obieg metylortęci w organizmie matki i płodu [65].

Ze względu na silne powinowactwo do siarki i tym samym do grup sulfhydrylowych, MeHg reaguje z białkami i enzymami powodując zaburzenia czynności narządów, zablokowanie miejsc wiązania enzymów, syntezę białek, utrudnia wbudowywanie tymidyny do DNA [1] oraz ma niezwykle szkodliwy wpływ na cały ośrodkowy układ nerwowy człowieka i innych organizmów [23, 66]. Dlatego też metylortęć kumuluje się w znacznie większym stopniu w tkankach bogatych w sulfhydrylowe grupy aminokwasów niż np. w tkance tłuszczowej [23]. Ponadto związki krótkołańcuchowe tj.: metylortęć czy etylortęć z łatwością przenikają do czerwonych krwinek gdzie łączą się z hemoglobina. Z tego powodu metylortęć (w przeciwieństwie do nieorganicznych form rtęci) jest kumulowana w erytrocytach [8].

1.2.5. Informacje o zawartości związków rtęcioorganicznych w próbkach środowiskowych

Najważniejszym czynnikiem wpływającym na poziom zawartości rtęcioorganicznych związków w tkankach danego zwierzęcia wydaje się być dieta [43,67,68]. Dlatego też rodzaj oraz różnorodność spożywanego pokarmu są ściśle związane z poziomem zawartości rtęci w tkankach i narządach organizmów. W tabeli 1 zestawiono informacje literaturowe dotyczące poziomów zawartości organicznych połączeń rtęci w próbkach wody, osadów oraz w tkankach organizmów znajdujących się na różnych poziomach łańcucha troficznego.

Tabela 1: Dane literaturowe odnośnie zawartości rtęci organicznej i metylortęci w próbkach środowiskowych z różnych regionów geograficznych.

Typ próbki	Region geograficzny	Procedura analityczna	Królestwo	Typ	Gromada	Rodzina	Gatunek	Średnie stężenie związku [mg/kg s.m.] *		MeHg/TH g [%] **	Odnosnik
								OHg	MeHg		
Osad rzeczny	Rzeka Jihlava, Czechy	HPLC - CV-AFS						-	0,046	32	[19]
	Rzeka Loučka, Czechy							-	0,022	18,5	
	Rzeka Bečva, Czechy							-	0,031	22,3	
Osad denný	Rzeka Beni, Boliwia - Amazonia	GC - CV- AFS						-	0,4-1,2	-	[69]
Osad rzeczny	Rzeka Haihe, Tianjin, Chiny	HPLC - CV - AFS						-	1	-	[70]
	Kanał Dagu Drainage, Tianjin, Chiny							-	21,7	-	
Woda	Rzeka Tapajós, Brazylia	GC-CV - AFS						-	0,02	1,8	[71]
Woda	Rzeka Carreras, Pd.-Zach. Hiszpania	HPLC-CV-AFS						-	52	-	[72]
	Rzeka Piedras, Pd.-Zach. Hiszpania							-	49,5	-	

Tabela 1: c.d.

Całe organizmy	Jezioro Gaobeidian, Pekin, Chiny	HPLC-UV-AFS	Rośliny	-	Zielonice	Zrośnicowate	Skrętnica (<i>Spirogyra</i>)	-	<0,05	-	[53]
Całe organizmy	Rzeka Tapajós, Brazylia	CV-AFS	Zwierzęta	-	-	-	Fitoplankton	-	0,01	14,8	[71]
Całe organizmy	Jezioro Górne, USA	GC-CV - AAS		Zooplankton	-	0,073	48,25				
Całe organizmy	Jezioro Górne, USA	GC - CV - AAS		Zooplankton	-	0,035 - 0,050	-	[73]			
Całe organizmy	Jezioro Górne, USA	GC - CV - AAS		Zooplankton (<i>Mysis relicta</i>)	-	0,033-0,054	-				
Całe organizmy	Jezioro Gaobeidian, Pekin, Chiny	HPLC-UV-AFS		Zooplankton (<i>Monia rectirostris</i> , <i>Monia micrura</i> , <i>Monia macrocopa</i>)	-	<0,05	-	[53]			
Całe organizmy	Rzeka Jihlava, Czechy	HPLC - CV-AFS	Zwierzęta	-	-	-	Zoobentos	-	0,168	66	[19]
	Rzeka Loučka, Czechy							-	0,158	43,6	
	Rzeka Bečva, Czechy							-	0,082	33,7	
Całe ganizmy	Zatoka Guanabara, Brazylia	GC - ECD	Rośliny / Zwierzęta	-	-	-	Mikroplankton	-	0,0089	33,8	[74]
							Mezoplankton	-	0,0359	75,4	
Całe ganizmy	Jezioro Górne, USA	GC - CV - AAS	Zwierzęta	Stawonogi	Owady	Ochołkowate	Larwy ochotkowatych (<i>Chironomidae</i>)	-	0,008	-	[73]



Tabela 1: c.d.

Mięśnie	Zatoka Kagoshima, Japonia	CV - AAS	Zwierzęta	Pierścienice	Wieloszczety	Rurkoczulkowce	Robak vestimentiferan (<i>Lamellibrachia satsuma</i>)	0,014	-	-	[39]		
Cały organizm	Wybrzeże Nowej Ziemi na Oceanie Arktycznym	-		Szkarłupnie	Rozgwiazdy	-	(<i>Maldanes sarsi</i>)	-	0,16	48,6	[75]		
Cały organizm	-	-				-	(<i>Asteroidea</i>)	-	0,008	2,4			
Tkanki miękkie	Dunkirk i Calais, Pn, Wybrzeże Francji	GC - CV - AFS		Mięczaki	Małże	Omulkowate / Ostrygowate	Ostryżycy japońska (<i>Crassostrea gigas</i>), Omulek jadalny (<i>Mytilus edulis</i>)	-	0,056	66	[76]		
	Lorient, Zach, Wybrzeże Francji							-	0,113	74			
	Region Basque, Pd,- Zach, Wybrzeże Francji							-	0,094	52			
	Tulon, Pd, - Wsch, wybrzeże Francji							-	0,073	37			
Jadalna część	Ujście rzeki Krka, Chorwacja	CV - AAS									Małże śródziemnomorskie (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	-	5,925
Tkanki miękkie	Malezja	INAA						Arkowate	Kąkol krwi (<i>Anadara granosa</i>)	0,32	-	75,5	[57]
Tkanki miękkie	Zatoka Terra Nova, Antarktyda	AAS						Przegrzebkowate	Małże (<i>Adamussium colbecki</i>)	-	0,295	49,55	[78]



Tabela 1: c.d.

Układ pokarmowy	Wybrzeże Portugalii	GC - AFS	Zwierzęta	Mięczaki	Głownogi	Ośmiornicowate	Ośmiornica zwyczajna, Ośmiornica pospolita (<i>Octopus vulgaris</i>)	-	0,18-5,0	-	[79]
Powłoka ciała						Ośmiornicowate	-	0,11-0,75	-		
Mięśnie	Malezja	INAA				Kalmarowate	Loligo sp	0,22	-	64,4	[73]
Mięśnie	USA	-				Kalmarowate	Loligo bleekeri (<i>Calamar Lanceolado</i>)	-	0,01	33	[80]
Cały organizm	Morze Liguryjskie	GF - AAS		Stawonogi	Pancerzowce	<i>Euphausiidae</i>	Kryl północny (<i>Meganyctiphanes norvegica</i>)	0,24	-	71,3	[81]
						<i>Benthicymidae</i>	(<i>Gennadas elegans</i>)	0,252	-	70,9	
						<i>Pasiphaeidae</i>	Krewetka (<i>Pasiphaea sivado</i>)	0,81	-	84,6	
Krewetki różowe (<i>Pasiphaea multidentata</i>)	2,68	-					88,22				
Mięśnie						<i>Pasiphaeidae</i>	Krewetki czerwone (<i>Aristeus antennatus</i>)	2,933	-	85,28	
Mięśnie	Malezja	INAA				<i>Penaeidae</i>	Krewetki (<i>penaeus sp.</i>)	0,23	-	62,6	[57]
Cały organizm	Jezioro Górne, USA	GC-CV - AAS	-			Obunogi (<i>Amphipoda</i>)	-	0,032	-	[73]	
Mięśnie	USA		<i>Lithodidae</i>			Krab królewski (<i>Paralithodes camtschaticus</i>)	-	0,01	50	[80]	



Tabela 1: c.d.

Mięśnie	Morze Śródziemne	GC- ECD	Zwierzęta	Strunowce	Chrzęstnoszkieletowe	Chimerowate	Chimera pospolita (<i>Chimaera monstrosa</i>)	-	2,67	83,6	[82]
						Drętowate	Drętwa brunatna (<i>Torpedo nobiliana</i>)	-	1,90	81	
Mięśnie	Malezja	INAA	Zwierzęta	Strunowce	Pomieniopłetwe	Makrelowate	Makrela (<i>Rastrelliger kanagurta</i>)	0,21	-	75,8	[57]
							Makrela komersonka (<i>Scomberomorus commersoni</i>)	0,31	-	77	
Mięśnie	Kuantan, Pahang Malezja	GC					Tuńczyk (<i>Thunnus tonggol</i>)	-	0,405	78	[29]
Wątroba							Tuńczyk (<i>Thunnus tonggol</i>)	-	0,619	43	
Mięśnie							Makrela (<i>Rastrelliger brachysoma</i>)	-	0,219	70	
Wątroba							Makrela (<i>Rastrelliger brachysoma</i>)	-	0,388	40	
Mięśnie	Chendring, Terengganu, Malezja						Tuńczyk (<i>Thunnus tonggol</i>)	-	0,708	76	
Wątroba							Tuńczyk (<i>Thunnus tonggol</i>)	-	0,651	47	
Mięśnie							Makrela (<i>Rastrelliger brachysoma</i>)	-	0,665	82	
Wątroba							Makrela (<i>Rastrelliger brachysoma</i>)	-	0,616	46	
Mięśnie	Perlis, Kedah, Malezja						Tuńczyk (<i>Thunnus tonggol</i>)	-	0,187	81	
Wątroba							Tuńczyk (<i>Thunnus tonggol</i>)	-	0,236	45	
Mięśnie							Makrela (<i>Rastrelliger brachysoma</i>)	-	0,179	76	
Wątroba							Makrela (<i>Rastrelliger brachysoma</i>)	-	0,242	41	

Tabela 1: c.d..

Mięśnie	Ocean Atlantycki	GC/LC	Zwierzęta	Strunowce	Pomieniopłetwe	Makrelowate	Tuńczyk błękitnopłetwy (<i>Thunnus thynnus</i>)	-	0,29	70	[80]
Mięśnie	Ocean Spokojny						Tuńczyk południowy (<i>Thunnus maccoyii</i>)	-	0,49	77	
Mięśnie	Ocean Indyjski						Tuńczyk wielkooki (<i>Thunnus obesus</i>)	-	0,19	71	
Mięśnie	Ocean Atlantycki						Tuńczyk wielkooki (<i>Thunnus obesus</i>)	-	0,19	71	
Mięśnie	Ocean Spokojny						Tuńczyk wielkooki (<i>Thunnus obesus</i>)	-	0,69	71	
Mięśnie	Filipiny						Tuńczyk skoczek (<i>Katsuwonus pelamis</i>)	-	0,03	60	
Mięśnie	Kiribati, Ocean Spokojny						Tuńczyk skoczek (<i>Katsuwonus pelamis</i>)	-	0,03	75	
Mięśnie	Australia						Tuńczyk południowy (hodowlany) (<i>Thunnus maccoyii</i>)	-	0,19	64	
Mięśnie	Włochy						Tuńczyk błękitnopłetwy (hodowlany) (<i>Thunnus thynnus</i>)	-	1,02	70	
Mięśnie							Tuńczyk błękitnopłetwy (<i>Thunnus thynnus</i>)	-	0,56	58	
Mięśnie	Marshall						Tuńczyk żółtopłetwy (<i>Thunnus albacares</i>)	-	0,03	75	
Mięśnie	Indonezja						Tuńczyk wielkooki (<i>Thunnus obesus</i>)	-	0,31	66	



Tabela 1: c.d.

Mięśnie	Zatoka Terra Nova, Antarktyda	GC/LC					Bathydraconidae	(<i>Gymnodraco acuticeps</i>)	-	0,2543	65,45	[78]
								Mawson's dragonfish (<i>Cygnodraco mawsoni</i>)	-	6,702	73,9	
							Nototeniowate	(<i>Trematomus pennelli</i>)	-	1,356	45,3	
								(<i>Trematomus bernacchii</i>)	-	0,623	67,3	
							Bielankowate	(<i>Chionodraco Hamatus</i>)	-	0,307	81,9	
Mięśnie	Prefektura Shizuoka i Chiba, Japonia	GC					Beryksowate	Beryks wspaniały (<i>Beryx splendens</i>)	-	0,52	67	[80]
Wątroba									-	1,12	32	
Mięśnie	Zatoka Guanabara, Brazylia	GC - ECD					Słedziowate	(<i>Sardinella brasiliensis</i>)	-	0,0491	59,6	[83]



Tabela 1: c.d.

Mięśnie	Zatoka Guanabara, Brazylia	GC - ECD	Zwierzęta	Strunowce	Pomieniopłetwe	Mugilowate	(<i>Mugil liza</i>)	-	0,0415	59,9	[83]
						Sumokształtne	(<i>Bagre bagre</i>)	-	0,2973	97,9	
						Huszczowate	(<i>Orthopristis ruber</i>)	-	0,3388	95,3	
						Kulbinowate	(<i>Micropogonias furnieri</i>)	-	0,5051	98,2	
						Centropomidae	(<i>Centropomus undecimalis</i>)	-	0,5184	96	
						Pałaszowate	Pałasz (<i>Trichiurus lepturus</i>)	-	0,678	99,2	
Mięśnie	Ocean Atlantycki	GC	Zwierzęta	Strunowce	Pomieniopłetwe	Żaglicowate	Marlin błękitny (<i>Makaira nigricans</i>)	-	0,24	43	[80]
							Marlin pasiasty (<i>Tetrapturus audax</i>)	-	0,39	76	
						Włócznikowate	Włócznik (<i>Xiphias gladius</i>)	-	0,34	72	



Tabela 1: c.d.

Mięśnie	Prefektura Oita, Japonia	GC	Zwierzęta	Strunowce	Pomieniopłetwe	Ostrobokowate		-	0,02	51	[80]	
Mięśnie	Prefektura Kagoshima, Japonia					Ostrobok japoński (<i>Trachurus japonicus</i>)		-	0,02	74		
Mięśnie	Prefektura Hyogo, Japonia							-	0,01	62		
Mięśnie	Prefektura Mie, Japonia							-	0,02	50		
Mięśnie	USA				Lososiowate	Łosoś nerka (<i>Oncorhynchus nerka nerka</i>)		-	0,02	67		
Mięśnie	Chile				Nototeniowate	Antar patagoński (<i>Dissostichus eleginoides</i>)		-	0,31	54		
Mięśnie	Ya-Er Lake Chiny	HPLC-AFS	Zwierzęta	Strunowce	Pomieniopłetwe	Karpowate	Tołpyga biała (<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>)		-	0,19515	-	[84]
							(<i>Cyprinus carpio</i>)		-	0,00544	-	
							Karaś pospolity (<i>Carassius carassius</i>)		-	0,05233	-	
						Żmijogłowowate	(<i>Ophiocephalus argus cantor</i>)		-	0,16438	-	



Tabela 1: c.d.

Mięśnie	Rezerwat Nyumba' ya Mungu, Tanzania	GC - ECD	Zwierzęta	Strunowce	Pomieniopłetwe	Piełęgnicowate	<i>Tilapia (Tilapia urolepis)</i>	-	0,0051	83,6	[85]
	Rezerwat Nyumba' ya Mungu, Tanzania					Pierzastowasowate	<i>(Synodontis maculipinna)</i>	-	0,0078	72,9	
						Długowasowate	<i>(Clarias mossambicus)</i>	-	0,007	77,8	
	Tanzania, Rezerwat Mtera					Kaszowate	Tiger Fish (<i>Hydrocynus vittatus</i>)	-	0,08555	68,85	
						Piełęgnicowate	<i>Tilapia (Tilapia urolepis)</i>	-	0,0347	87,45	
						Alestosowate	<i>(Brycinus affinis)</i>	-	0,056	95,6	
						<i>Clarofoeidae</i>	<i>(Bagrus orientalis)</i>	-	0,053	90,4	



Tabela 1: c.d.

Mięśnie	Rezerwat Nyumba' ya Mungu, Tanzania	GC - ECD	Zwierzęta	Strunowce	Pomieniopłetwe	Długowa sowa	<i>(Clarias mossambicus)</i>	-	0,007	77,8	[85]
	Tanzania, Rezerwat Mtera					Kaşacz owate	Tiger Fish (<i>Hydrocynus vittatus</i>)	-	0,08555	68,85	
						Pielęgni cowa	Tilapia (<i>Tilapia urolepis</i>)	-	0,0347	87,45	
						Alestes owate	<i>(Brycinus affinis)</i>	-	0,056	95,6	
						Clarotei dae	<i>(Bagrus orientalis)</i>	-	0,053	90,4	
						Pierzasto waśowate	<i>(Synodontis maculipinna)</i>	-	0,0258	63,7	
						Pielęgni owate	Tilapia (<i>Tilapia urolepis</i>)	-	0,0086	57	
						Clarotei dae	<i>(Bagrus orientalis)</i>	-	0,040	92,8	
						<i>(Hydrocynus vittatus)</i>	Tiger Fish (<i>Hydrocynus vittatus</i>)	-	0,116	97,5	
Rezerwat Kidatu, Tanzania											



Tabela 1: c.d.

Mięśnie	Rezerwat Hale and Pangani, Tanzania	GC - ECD	Zwierzęta	Strunowce	Promieniopłetwe	Pięęgnicowate	Tilapia (<i>Tilapia urolepis</i>)	-	0,0241	90,9	[85]				
						Długowosowate	(<i>Clarias mossambicus</i>)	-	0,0335	100					
						Pierzastowosowate	(<i>Synodontis maculipinna</i>)	-	0,0526	83,4					
Tkanka tłuszczowa	Zatoka Kalifornijska	CV - AFS			Zwierzęta	Strunowce	Zauropsydy	Żółwie morskie	Żółw zielony (<i>Chelonia mydas</i>)	-	0,001	17	[86]		
Mięśnie										-	0,006	22			
Wątroba										-	0,027	19			
Nerki										-	0,019	23			
Mięśnie										-	0,17	100			
Wątroba										-	0,338	41			
Nerki										-	0,208	56			
Mięśnie	Czechy	HPLC/ CV-AFS					Zwierzęta	Strunowce	Ptaki	Jastrzębiowate	Myszołów zwyczajny (<i>Buteo buteo</i>)	-	1,02	84,8	[7]
Jelita										-	0,57	71,3			
Wątroba			-	1,24					47,8						
Nerka			-	1,44					71,9						
Mięśnie			-	1,98					85,9						
Jelita			-	1,57	80,0										
Wątroba			-	4,34	60,3										
Nerka			-	3,50	74,4										



Tabela 1: c.d.

Mięśnie	Czechy	HPLC/CV-AFS	Zwierzęta	Strunowce	Ptaki	Kormorany	Kormoran Zwyczajny (<i>Phalacrocorax carbo</i>)	-	3,04	89,3	[7]
Jelita								-	1,41	78,4	
Wątroba								-	6,46	15,3	
Nerka								-	4,56	63,3	
Mięśnie								-	2,11	84,3	
Jelita								-	0,99	82,1	
Wątroba								-	4,49	59,9	
Nerka								-	2,87	70,0	
Mięśnie	Południowy-Wschód Zatoki Kalifornijskiej, USA	CV - AAS	Zwierzęta	Strunowce	Ptaki	Kormorany	Kormoran (<i>Phalacrocorax brasilianus</i>)	-	1,49	46,9	[87]
Mięśnie							Pelikany	Pelikan brunatny (<i>Pelecanus occidentalis</i>)	-	2,85	
Mięśnie						Kaczkowate	Płaskonos (<i>Anas clypeata</i>)	-	0,47	100	
Mięśnie							Cyranka modroskrzydła (<i>Anas discors</i>)	-	0,77	26,1	
Mięśnie							Ogorzałka mała (<i>Aythya affinis</i>)	-	1,06	60,8	
Wątroba						Rzeka Chaun, Syberia, Rosja	GC	Zwierzęta	Strunowce	Ptaki	
Mięśnie	-	1,6	-								
Nerki	-	3,8	-								
Pióra	-	0,9	-								
Wątroba	Pd, Część Oceanu Indyjskiego	GC	Zwierzęta	Strunowce	Ptaki	Albatrosy	Albatros królewski (<i>Diomedea epomophora</i>)	-	9,8	-	[88]
Mięśnie							-	1,1	-		
Nerki							-	3,6	-		
Wątroba							Albatros czarnonogi (<i>Phoebastria nigripes</i>)	-	20,4	-	
Mięśnie	Pn, część Oceanu Spokojnego	GC	Zwierzęta	Strunowce	Ptaki	Albatrosy	-	2,0	-	[88]	
Nerki							-	6,2	-		

Tabela 1: c.d.

Wątroba	Pd,-Wsch część Wysp Riukiu	GC	Zwierzęta	Strunowce	Ptaki	Głuptaki	Głuptak białobrzuchy (<i>Sula leucogaster</i>)	-	3,7	-	[89]	
Mięśnie								-	2,9	-		
Nerki								-	3,6	-		
Wątroba	Pd, Część Oceanu Indyjskiego					Burzykowate	Burzyk białobrody (<i>Procellaria aequinoctialis</i>)	-	8,0	-		
Mięśnie								-	0,9	-		
Nerki								-	4,3	-		
Wątroba	Pn, część Oceanu Spokojnego					Fulmar zwyczajny (<i>Fulmarus glacialis</i>)	-	3,1	-			
Mięśnie							-	0,9	-			
Nerki							-	1,7	-			
Mięśnie	Zatoka Baffina, Kanada	GC - AED	Zwierzęta	Strunowce	Ptaki	Mewa	Mewa blada (<i>Larus hyperboreus</i>)	-	4,0	77,5	[90]	
Wątroba	Rzeka Chaun, Syberia, Rosja	GC						Mewa srebrzysta (<i>Larus argentatus</i>)	-	1,2	-	[89]
Mięśnie									-	0,6	-	
Nerki						-	1,3		-			
Pióra						-	6,5	-				
Wątroba						Rybitwa popielata (<i>Sterna paradisaea</i>)	-	2,3	-			
Mięśnie							-	1,1	-			
Nerki							-	1,9	-			
Pióra							-	1,1	-			
Mięśnie	Georgia, USA	-	Zwierzęta	Strunowce	Ptaki	Chruściele	Wodnik długodzioby (<i>Rallus longirostris</i>)	-	5,0	99	[88]	
		-										
						Czaplowate	Czapla śnieżna (<i>Leucophoyx thula</i>)	-	6,3	79		



Tabela 1: c.d.

Wątroba	Japonia	AFS	Zwierzęta	Strunowce	Ssaki	Delfinowate	Orka (<i>Orcinus orca</i>)	-	1,11	1,9	[91]
Nerka								-	0,24	3,2	
Mięśnie								-	0,90	74	
Płuca								-	0,31	-	
Wątroba								-	0,06	18	
Nerka								-	0,04	19	
Mięśnie								-	0,07	85	
Mięśnie	Japonia	GC-ECD					Delfin Risso (<i>Grampus griseus</i>)	-	3,15	74	[92]
Mięśnie							Delfin długonosy (<i>Steno bredanensis</i>)	-	3,51	74	
Mięśnie							Delfin pręgoboki (<i>Stenella coeruleoalba</i>)	-	3,74	63	
Mięśnie						Grindwal krótkopłetwy (Pd,) (<i>Globicephala macrorhynchus</i>)	-	6,45	64		
Mięśnie						Delfin butlonosy (<i>Tursiops truncatus</i>)	-	6,83	54		
Mięśnie						Orka karłowata (<i>Pseudorca crassidens</i>)	-	11,2	36		
Mięśnie						Grindwal krótkopłetwy (Pn,) (<i>Globicephala macrorhynchus</i>)	-	1,25	81		
Mięśnie	Delfin tropikalny (<i>Stenella attenuata</i>)	-				2,62	54	[43]			
Nerka	Pd, Wybrzeże Brazylii	CV - AAS				Iniidae	Delfin mały (<i>Pontoporia blainvillei</i>)		0,26-1,82	-	-
Wątroba									0,05-4,21	-	-
Nerka	Pd, - Wsch, Wybrzeże Brazylii								0,16-1,13	-	-
Wątroba								0,12-2,36	-	-	



Tabela 1: c.d.

Mięśnie	Japonia	GC-ECD	Zwierzęta	Strunowce	Ssaki	Waleczobogłowe	Dziobogłowiec północny (<i>Berardius bairdii</i>)	-	1,25	78	[91]
Mięśnie						Morswinowate	Morświn białopłetwy (<i>Phocoenoides dalli</i>)	-	1,02	84	
Mięśnie	Morze Czarne	GC - ECD				Morswinowate	Morświn (<i>Phocoena phocoena</i>)	-	0,216	-	[93]
Wątroba								-	0,322	-	
Tłuszcz								-	0,0049	-	
Mięśnie	North Sea - Belgia	GC -ECD				Morswinowate	Morświn (<i>Phocoena phocoena</i>)	-	7,3	-	[94]
Wątroba								-	8,6	-	
Mięśnie	North Sea, Denmark					Morswinowate	Morświn (<i>Phocoena phocoena</i>)	-	4,0	-	
Wątroba								-	6,9	-	
Mózg	Ontario, Kanada	AFS				Łasicowate	Norka amerykańska (<i>Mustela vison</i>)	-	0,26	-	[58]
Nerka								-	0,94	-	
Wątroba								-	1,21	-	
Futro							-	11,25	-		
Mózg							Wydra kanadyjska (<i>Lontra canadensis</i>)	-	0,25	-	
Nerka			-	0,94	-						
Wątroba			-	0,87	-						
Futro			-	8,24	-						

*,** - wartości liczbowe podane w zapisie oryginalnym z cytowanej literatury

1.3. Analiza specjacyjna rtęci

Współczesna analiza specjacyjna to przede wszystkim badania dotyczące pierwiastków aktywnych biologicznie. Badania specjacji są wykorzystywane do określania metabolizmu różnych pierwiastków w organizmach żywych oraz ich aktywności biologicznej. Dodatkowo wykorzystywane są w chemii żywności, farmacji, biologii, toksykologii czy badaniach środowiskowych, a nawet w badaniach obiektów zabytkowych.

Uzyskanie miarodajnych wyników pomiarów poziomów zawartości organicznych związków rtęci w próbkach środowiskowych, wymaga stosowania procedur analitycznych, na które składają się następujące etapy:

- ✓ ekstrakcja organicznych form rtęci z próbki (gleba, osad, organizmy żywe) w taki sposób aby zapobiegać rozkładowi i przemianom chemicznym, które mogłyby zmieniać skład pierwotnie występujących w próbce związków, oraz powinny spełniać podstawowe wymagania analizy śladowej dotyczące strat analitu i możliwości zanieczyszczenia próbki [1];
- ✓ wzbogacanie analitów– w wyniku, którego stosunek stężenia lub ilości mikroskładnika (śladowych składników) i makroskładnika wzrasta tak, aby możliwe było otrzymanie wartości poniżej wartości granicy wykrywalności wybranej techniki oznaczania) [1,95];
- ✓ rozdzielanie poszczególnych form rtęci, tak, aby nie wprowadzać zmian w stężeniach poszczególnych związków w próbce [1];
- ✓ wykrywanie, identyfikacje i ilościowe oznaczanie każdej z wcześniej wyizolowanych form rtęci [1].

1.3.1. Ekstrakcja

Proces ekstrakcji poszczególnych form rtęci jest uznawany za jeden z najważniejszych etapów procesu analitycznego w analizie specjacyjnej. W zależności od rodzaju i formy próbki, w procesie przygotowania próbek do analizy specjacyjnej wykorzystywane są ekstrakcje ciecz – ciecz i ciecz – ciało stałe.

Wymagane jest, aby ekstrakcja była procesem wydajnym i efektywnym oraz przede wszystkim aby nie naruszała obecnych w próbce form rtęci oraz nie wpływała na tworzenie nowych związków w próbce [5,96]. Zdarza się jednak, że dokładność wyników końcowych może ulec pogorszeniu na skutek tworzenia się metylortęci z nieorganicznych form rtęci podczas ekstrakcji za pomocą roztworu kwasu czy zasady [5,97,98] lub przemiany form Hg między sobą [3,99,100]. Wybierając odpowiednią technikę ekstrakcji oraz ekstrahent należy kierować się:

- ✓ właściwościami chemicznymi analitu,
- ✓ formą chemiczną analitu,
- ✓ składem matrycy próbki,

- ✓ techniką oznaczania analitu.

Coraz częściej w celu poprawienia efektywności ekstrakcji wykorzystuje się wspomaganie tego procesu poprzez zastosowanie takich czynników jak:

- ✓ ultradźwięki (UAE) [48,96,101],
- ✓ podwyższone ciśnienie (PFE-ASE),
- ✓ promieniowanie mikrofalowe (MAE) [102-106].

Na rysunku 4 przedstawiono schemat wstępnego przygotowania próbek przed etapem oznaczania różnych form rtęci.

1.3.2. Przekształcanie analitu w lotne pochodne

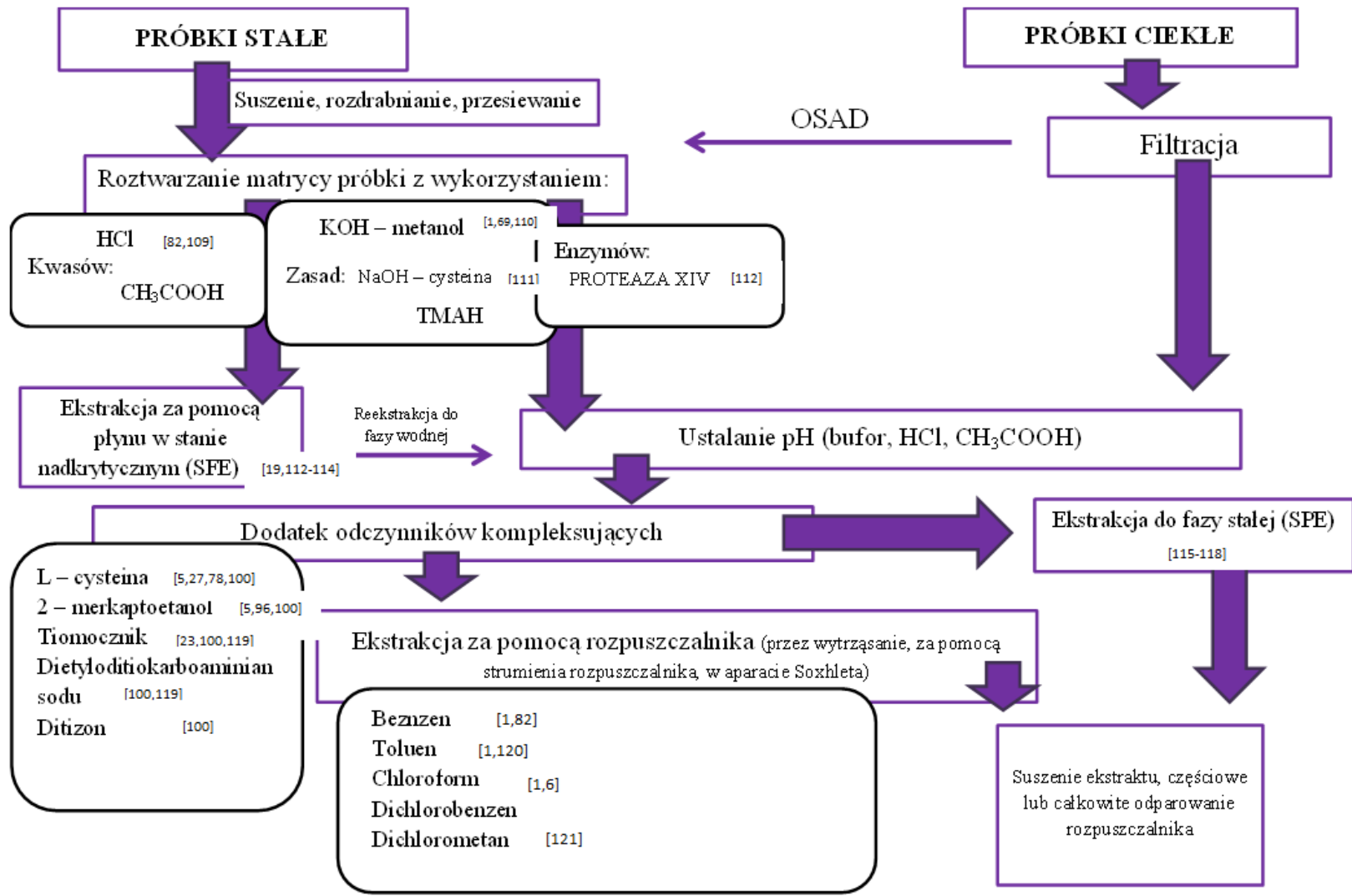
Wszelkiego rodzaju próbki środowiskowe charakteryzują się złożonym a często także i zmiennym składem matrycy oraz:

- różnorodnością występujących związków w próbce,
- zakresem poziomów zawartości analitów.

W związku z tym pomimo zastosowania wielu technik ekstrakcji, oznaczenie niektórych substancji w niezmienionej postaci w próbkach środowiskowych jest niemożliwe. W takich przypadkach wykorzystuje się proces derywatyzacji, czyli proces przeprowadzenia analitu w pochodne o takich właściwościach, które umożliwiają ich oznaczanie z wykorzystaniem danej techniki analitycznej. Proces derywatyzacji stosuje się bardzo często do izolacji różnych form rtęci z próbki lub do wzbogacania analitu, wykorzystując tym samym zdolność tego pierwiastka do tworzenia par rtęci w reakcji z odczynnikiem redukującym. Bardzo często proces przekształcania rtęci w lotne pochodne poprzedza również rozdzielanie z wykorzystaniem chromatografii gazowej.

Derywatyzacja związków rtęci przeprowadzana jest najczęściej z wykorzystaniem trzech reakcji:

1. reakcja z odczynnikiem redukującym – tetrahydroboranem sodu (NaBH_4). Zaletą tego typu reakcji jest zachowanie wiązania rtęć – węgiel w oznaczanej cząsteczce. Reakcja z NaBH_4 jest łatwa do przeprowadzenia (zachodzi w środowisku wodnym) jednak oznaczanie związków rtęci po reakcji z borowodorkiem sodu może być kłopotliwe ze względu na nietrwałość utworzonych pochodnych i możliwość zachodzenia reakcji dysproporcjonowania [107,108].
2. reakcja alkilowania. Ten sposób derywatyzacji wymaga mniejszej pracochłonności i zajmuje mniej czasu w porównaniu z derywatyzacją z odczynnikiem Grignarda, gdyż nie ma konieczności zmiany rozpuszczalników. Dodatkowo, metoda ta jest obojętna wobec większości czynników, które stanowiły problem w przypadku reakcji generowania wodorków tj.: obecność jonów metali, białek, tłuszczów czy substancji humusowych, przez co może być stosowana przy analizie próbek różnego pochodzenia, w tym próbek biologicznych [24]. Szczególnym ułatwieniem w przypadku alkilowania jest możliwość przeprowadzenia ekstrakcji i derywatyzacji w tym samym czasie, co znacznie skraca etap przygotowania próbki.



Rysunek 4: Schemat wstępnego przygotowania próbki i ekstrakcji w przypadku analityki specyjnej rtęci.

Pomimo wielu zalet tej metody derywatywacji ma ona również swoje ograniczenia. Głównym z nich jest mała liczba odczynników do derywatywacji dostępnych handlowo. NaBEt_4 jest powszechnie stosowany do specjacji związków metaloorganicznych jednak nie sprawdza się w przypadku derywatywacji nieorganicznych związków rtęci i etylortęci, gdyż obie formy tworzą ten sam związek, HgEt_2 . Rozróżnienie tych dwóch form rtęci można uzyskać stosując fenylboran sodu, który reaguje jedynie z pochodnymi rtęciowymi [122-127].

3. reakcja z odczynnikiem Grignarda (halogenki alkylomagnezowe np.: metylowe, etylowe, propylowe, butylowe, pentylowe, heksylowe czy też fenylomagnezowe chlorki lub bromki). Jednak istotnym czynnikiem ograniczającym stosowanie tej metody derywatywacji jest jej pracochłonność ze względu na konieczność prowadzenia reakcji w środowisku bezwodnym. Ekstrakty przed derywatywacją muszą zostać osuszone i/lub przeniesione do innego rozpuszczalnika, natomiast po derywatywacji konieczne jest usunięcie nadmiaru odczynnika magnezoorganicznego [128-130].

W związku z tym, że etap przekształcania analitu w lotne pochodne może być źródłem wielu błędów, to coraz częściej, jeśli jest to tylko możliwe, należy unikać etapu derywatywacji podczas przeprowadzania analizy specjacyjnej.

1.3.3. Techniki rozdzielania i detekcji analitów

W związku z tym, iż próbki biologiczne mają bardzo złożony skład a obecne w nich organiczne formy rtęci występują na bardzo niskich poziomach wymagane jest stosowanie selektywnych technik rozdzielania połączonych z czułymi i specyficznymi metodami detekcji. Połączenia takie nazywane są układami sprzężonymi, hybrydowymi lub łączonymi a dzięki nim uzyskuje się znaczną poprawę czułości układu a czas analizy jest znacznie krótszy [56].

Dobór odpowiedniej techniki rozdzielania związany jest z właściwościami fizykochemicznymi oznaczanej substancji. Najbardziej popularnymi technikami rozdzielania w analizie specjacyjnej są: chromatografia gazowa (GC), wysokosprawna chromatografia ciekłowa (HPLC) i elektroforeza kapilarna (CE). W tabeli 2 zestawiono podstawowe informacje o technikach analitycznych wykorzystywanych w badaniach próbek środowiskowych w celu wykrycia i oznaczenia różnych form specjacyjnych rtęci.

Tabela 2: Podstawowe informacje o technikach analitycznych wykorzystywanych w analizie specyjnej rtęci.

TECHNIKA ROZDZIELANIA	ZALETY	WADY	TECHNIKA WYKRYWANIA	WARTOŚCI GRANICY WYKRYWALNOŚCI			LITERATURA
				MeHg(I)	EtHg(I)	PhHg(I)	
Wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Wysoka selektywność ✓ Uniwersalna, zintegrowana, w pełni zautomatyzowana metoda specjacji rtęci ✓ Metoda szybka i prosta ✓ Nie wymaga przekształcania w lotne pochodne analitów obecnych w próbce ✓ Rozdzielanie związków rtęci możliwe w temperaturze pokojowej 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Nie jest możliwe uzyskanie tak niskich wartości granic wykrywalności jak w GC ✓ Słabsza selektywność przy analizie złożonych matryc ✓ Niższa czułość niż w przypadku analizy z wykorzystaniem GC ✓ Duże zużycie rozpuszczalników organicznych 	CV - AFS	27 pg 0,015 – 0,1 µg	26 pg	-	[131] [132-134]
			CV - AAS	0,1-16 µg/dm ³	-	-	[1,135]
			ICP - MS	16- 400 ng/ dm ³	-	-	[1]
			ICP - AES	0,1ng/ cm ³	-	-	[1]
			(CV) MIP - AES	0,35 ng/ cm ³	-	-	[1]
			UV - CVAFS	0,015 µg/kg	-	-	[134]
			UV - Vis	7,0-95,1 µg/dm ³			[1735]
Chromatografia gazowa (GC)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Wysoka precyzja oznaczeń ✓ Dużo niższe wartości granic wykrywalności niż w analizie przy użyciu HPLC ✓ Możliwe oznaczanie rtęci organicznej i nieorganicznej ✓ Najczęściej stosowana metoda do oznaczania MeHg w próbkach środowiskowych ✓ Wysoki stopień rozdzielania analitów ✓ Możliwe jest połączenie z wieloma systemami detekcji 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Wymaga przekształcenia analitów obecnych w próbce w lotne pochodne ✓ Wymagane są specjalne warunki analizy ✓ Do oznaczania MeHg wymagana jest procedura oczyszczania, aby wyeliminować interferencje związane z obecnością halogenków organicznych ✓ Etap przygotowania próbki ma znaczący wpływ na efektywność i dokładność 	MIP-AES	0,01-0,06 µg/g 0,04-10 ng/ dm ³	-	-	[1,136-140]
			AFS and GC-(CV) - AFS	5 pg and 0,01-6 ng/ dm ³ ; 0,6-1,3 pg	5pg	-	[1,141-143]
			(CV) - AAS	5-167 pg	-	-	[1,144,145]
			ICP - MS	0,9 pg 0,5 pg 0,12-1 pg	- 1,0 pg	-	[1,146,147]
			ICP - AES	3 pg, 0,6 ng/ dm ³	-	-	[1]
Elektroforeza kapilarna (CE)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Wysoka efektywność rozdzielania analitów ✓ Wykorzystywana jest mała objętość próbki ✓ Krótki czas rozdzielania 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Niska czułość ✓ Mała stabilność 	UV	47,5 ng/ cm ³ 680 ng/ cm ³	-	4,1 ng/ cm ³ -	[148,149]
			ICP - MS	54 ng/ cm ³	-	-	[149-152]
			ICP - MS	2,3 pg 128 ng/ cm ³ 80 ng/ cm ³ 13,6 ng/ cm ³ 149 ng/ cm ³	-	-	[150,152]
			AFS	2,5 pg 16,5 ng/ cm ³	2,4 pg	13,3 ng/ cm ³	[150,153]
			AAS	2,9 pg	-	-	[154]



Tak jak wybór procedury przygotowania próbki zależy od rodzaju matrycy, w jakiej występują anality, tak wybór techniki rozdzielania zależy od właściwości fizyko-chemicznych analitu (tj. lotności, ładunku, polarności). Dlatego też wykorzystując chromatografię gazową rozdziela się związki lotne (lub takie, które można przeprowadzić w lotne i stabilne pochodne), stabilne termicznie i obojętne, natomiast chromatografia cieczowa jest odpowiednią techniką do rozdzielania pozostałych związków. Ze względu na dużą różnorodność próbek środowiskowych i próbek biologicznych a także samych metod analitycznych, należy wybierać odpowiednie procedury analityczne, które umożliwiają oznaczenie jak najniższych poziomów zawartości organicznych związków rtęci w badanym materiale.

Zagrożenia wynikające z obecności rtęci i jej związków w środowisku, zwłaszcza w środowisku wodnym stwarza potrzebę poznawania dróg przemian związków oraz kontrolowania poziomów zawartości organicznych związków rtęci w tkankach organizmów na wszystkich poziomach łańcucha troficznego. Możliwość przedostawania się rtęcioorganicznych form rtęci wraz ze spożywanym pokarmem do organizmów ludzkich jest poważnym zagrożeniem, ze względu na niezwykłą toksyczność tych związków. Odnotowano wiele przypadków zachorowań wśród ludzi dorosłych i dzieci, w związku z ekspozycją na rtęcioorganiczne związki. Niektóre z nich kończyły się śmiercią. Dlatego też monitoring poziomu zanieczyszczenia poszczególnych elementów środowiska przez rtęć i jej organiczne formy jest przedmiotem coraz powszechniejszego zainteresowania. 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.

1.4. Materiały odniesienia

Laboratoria analityczne stają przed koniecznością przedstawiania obiektywnego dowodu swoich technicznych kompetencji oraz wiarygodności uzyskiwanych wyników. Konieczność ta wynika z faktu, iż wyniki pomiarów analitycznych, które są źródłem informacji analitycznych, stanowią podstawę do podejmowania decyzji naukowych, technicznych, ekonomicznych, a nawet politycznych, często o znaczeniu strategicznym. Bardzo często zdarza się, że pomiary te ukierunkowane są na wykrywanie, identyfikację oraz ilościowe oznaczanie trucizn środowiskowych czy też innych składników, które w badanych próbkach występują na coraz niższych poziomach stężeń w próbkach, które zazwyczaj charakteryzują się matrycą o złożonym składzie. W badaniach wykorzystuje się odpowiednie procedury (metodyki) analityczne, które są złożone zazwyczaj z wielu etapów i operacji co zwiększa prawdopodobieństwo popełnienia błędów zarówno związanych z pracą

analitka jak i wykorzystywanej aparatury, co może prowadzić do uzyskania wyników obarczonych dużym błędem. Jeśli takie wyniki będą stanowiły podstawę do wyciągania wniosków to może to pociągnąć za sobą wiele negatywnych konsekwencji. Z tego też powodu konieczne jest wprowadzenie odpowiedniego systemu zapewnienia kontroli jakości danych pomiarowych (QA/QC) [155-158]. W celu uzyskania miarodajnych danych, konieczne jest:

- wykorzystywanie odpowiednich atestowanych metod analitycznych (konieczna jest walidacja metod),
- prowadzenie analiz w profesjonalny sposób m.in. przez akredytowane laboratoria,
- stosowanie systematycznej kontroli jakości prac analitycznych [156].

We wszystkich wymienionych elementach systemu zapewniania jakości wyników pomiarów, niezwykle istotną rolę odgrywają materiały odniesienia (RM).

Historia materiałów odniesienia jest ściśle związana z rozwojem chemii analitycznej. Obecnie za pierwszy biologiczny materiał odniesienia uznaje się materiał zaprezentowany w 1965 roku. Nikt jednak nie przewidział tak szybkiego rozwoju produkcji biologicznych i środowiskowych materiałów odniesienia. Już czterdzieści lat później nie istnieje praktycznie żaden podręcznik z chemii analitycznej, w którym nie byłoby rozdziałów poświęconych znaczeniu materiałów odniesienia dla celów analitycznych i kontroli jakości. Ponadto w ciągu ostatnich kilkunastu lat powstała znaczna ilość naukowych publikacji nt. materiałów odniesienia. W tabeli numer 3 zestawiono informacje o kamieniach milowych w zakresie rozwoju wiedzy i wprowadzenia do praktyki analitycznej materiałów odniesienia o różnej wartości metrologicznej [159].

Tabela 3. Kamienie milowe w zakresie rozwoju wiedzy i wprowadzenia do praktyki analitycznej materiałów odniesienia o różnej wartości metrologicznej [160].

ROK	WYDARZENIE
1824	Wykorzystanie tlenku As (III) jako pierwszego chemicznego wzorca pierwotnego (Gay-Lussac, Francja).
1880	Jedna z pierwszych prób wykorzystania biologicznego materiału odniesienia do oznaczania zawartości tłuszczu w mleku (Wielka Brytania). Wykorzystanie testów dla substancji opisanych w <i>U.S. Pharmacopeia VI</i> .
1901	Powstanie Narodowego Biura Wzorców (NBS) - obecnie Narodowego Instytutu Standardów i Technologii (NIST) ze względu na wzrost zapotrzebowania na różnego rodzaju wzorce w szybko rozwijających się branżach inżynierskich.
1903	Rozwinięcie kryteriów wyboru pierwotnego wzorca chemicznego.
1905	Powstanie w NIST pierwszych czterech certyfikowanych materiałów odniesienia, które stanowiły próbki stali.

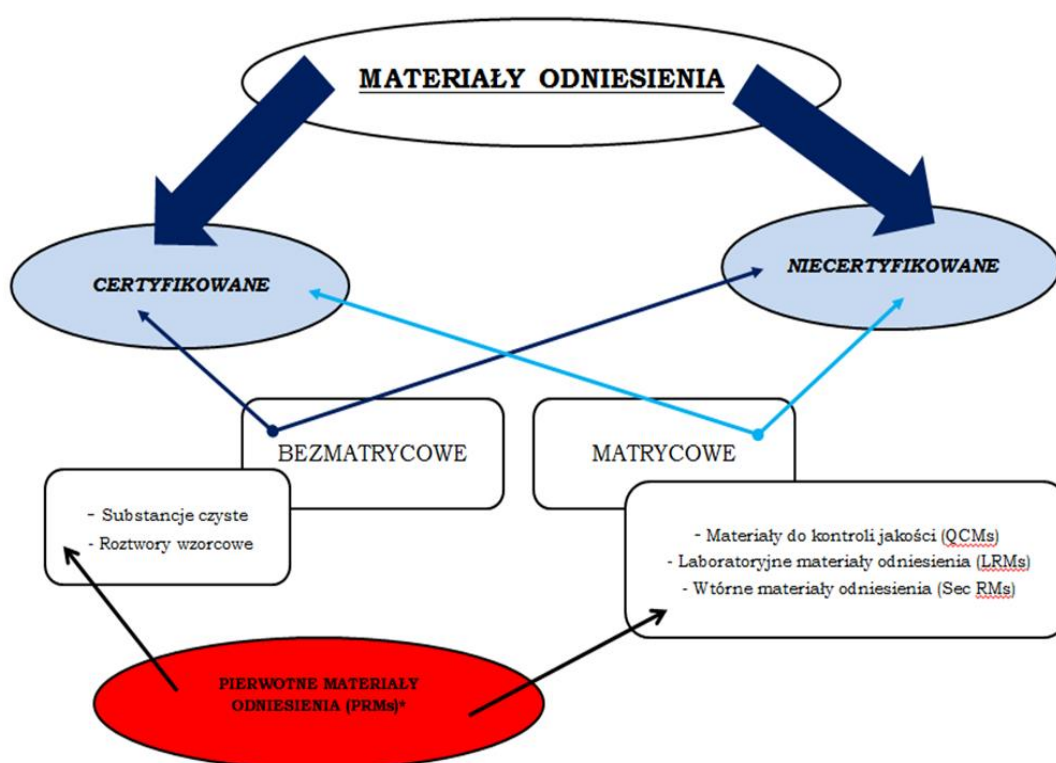
Tabela 3. C.d.

1921	Zebranie zestawu międzynarodowych wzorców dla środków leczniczych (Dania).
1930	Powiększenie zestawu międzynarodowych wzorców po odkryciu witamin i hormonów płciowych.
1948	Zgromadzenie łącznie 35 Międzynarodowych Wzorców w Narodowym Instytucie Badań Medycznych w Londynie (Wielka Brytania).
1960	Wyprodukowanie pierwszego RM w Narodowym Laboratorium Fizyki (Wielka Brytania).
1970	Ustanowienie przez Europejską Wspólnotę Gospodarczą (EEG) ogólnospółnotowego programu pod kierunkiem BCR (Bruksela, Belgia).
	Praca nad morskimi, biologiczno-morskimi CRM (Kanada).
1976	Wprowadzenie rutynowych międzylaboratoryjnych porównań wyników badań i regularnego stosowania materiałów odniesienia (Wielka Brytania).
1978	Rozpoczęcie produkcji serii biologicznych i środowiskowych CRM dla wielu pierwiastków śladowych (Japonia).
	Powstanie <i>Narodowego Centrum badań nad certyfikowanymi materiałami odniesienia</i> (Chiny).
1980	Odnotowanie wzmożonych działań dotyczących produkcji i certyfikacji biologicznych, środowiskowych i geologicznych CRM (Polska).
1983	Wyprodukowanie pierwszego biologicznego materiału odniesienia (Belgia).
1984	Wyprodukowanie przez IRMM ok 100 nowych CRM (Belgia).
1993	Udostępnienie około 60 RM i CRM (Chiny).
1999	Udostępnienie kolejnych 1000 RM i CRM (Chiny).

Obecnie w bazie COMAR znajduje się lista obejmująca tysiące certyfikowanych materiałów odniesienia, które są produkowane na całym świecie przez około 220 producentów pochodzących z 25 krajów [161]. Ok. 80 % z nich ma certyfikowane wartości składu chemicznego, pozostałe 20 % ma certyfikowane właściwości fizyczne i techniczne. Najszersze spektrum materiałów odniesienia są oferowane przez renomowane instytucje NIST i IRMM. Istnieje również szereg krajowych instytucji zaangażowanych w wytwarzanie materiałów odniesienia, są to m.in. IChTiJ oraz Okręgowy Urząd Miar w Łodzi. W praktyce stosuje się szeroką gamę materiałów odniesienia, a ilość materiałów dostępnych na rynku ciągle rośnie. Biorąc jednak pod uwagę ich znaczenie w procesie kontroli, zapewnienia jakości wyników oraz potrzeb harmonizacji i wzajemnych porównań wyników pomiarów analitycznych jest ich ciągle mało i nie spełniają współczesnych wymagań dotyczących certyfikowanych materiałów odniesienia.

1.4.1. Podstawowe definicje i wymagania

Kontrola jakości opiera się na analizie materiałów odniesienia z wykorzystaniem testowanej metody analitycznej oraz porównaniu uzyskanych wyników z wartościami certyfikowanymi [162]. Istnieją dwa typy materiałów odniesienia: materiały odniesienia i certyfikowane materiały odniesienia [163]. Na rysunku 5 przedstawiono ogólną klasyfikację materiałów odniesienia. W literaturze oprócz ogólnej klasyfikacji można znaleźć wiele bardziej szczegółowych, które uwzględniają podział ze względu na: właściwości, skład chemiczny, spójność pomiarową z układem SI, niepewność określenia stężenia (ilości) analitu w materiale czy zastosowanie w badaniach chemicznych.



Rysunek 5: Klasyfikacja materiałów odniesienia.

W tabeli 4 zestawiono natomiast definicje pojęć związanych z tematyką materiałów odniesienia.

Tabela 4: Pojęcia związane z tematyką materiałów odniesienia.

Termin	Definicja	Literatura
Materiał odniesienia (RM)	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	[164]
	Materiał dostatecznie jednorodny i stabilny, jeżeli chodzi o określone właściwości, który przyjęto jako odpowiedni do zamierzonego jego wykorzystania w pomiarach lub przy badaniu cech nominalnych	[165]
Certyfikowany materiał odniesienia (CRM)	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	[164]
	Materiał odniesienia, któremu towarzyszy dokumentacja wystawiona przez miarodajną instytucję i posiadająca jedną lub więcej wartości określonej właściwości wraz ze związanymi z nimi niepewnościami i spójnością, przy użyciu zwalidowanych procedur	[165]
Wzorzec pierwotny (Primary Standard)	Wzorzec jednostki miary, który jest ustalony lub powszechnie uznany jako charakteryzujący się najwyższą jakością metrologiczną i którego wartość jest przyjęta bez odniesienia do innych wzorców jednostki miary tej samej wielkości.	[164]
Wzorzec wtórny (Secondary Standard)	Wzorzec jednostki miar, którego wartość jest utworzona przez porównanie z wzorcem pierwotnym jednostki miary tej samej wielkości.	[164]
Substancje czyste	Substancje, które charakteryzują się wysokim i ściśle zdefiniowanym poziomem czystości.	[166]

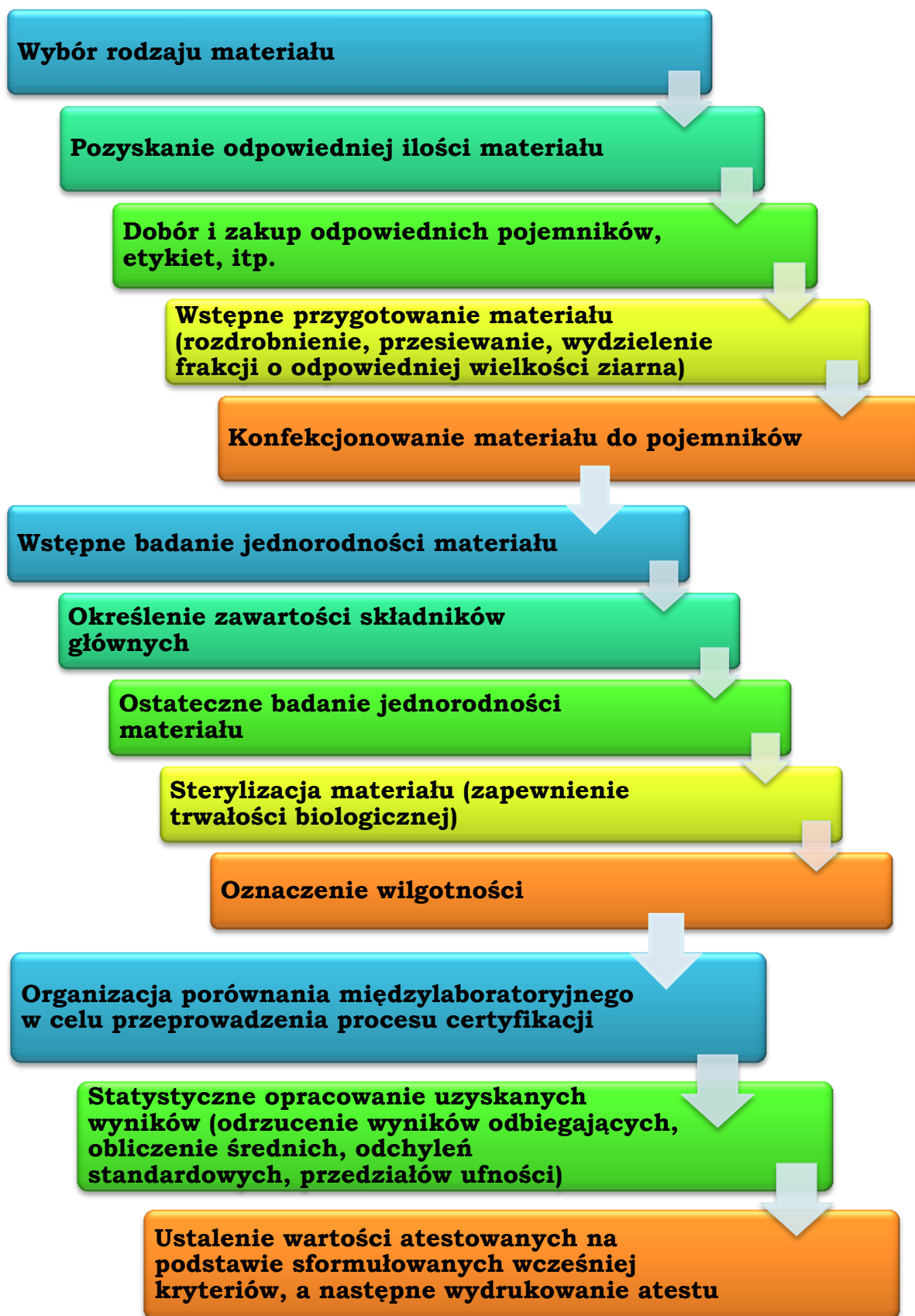
Niecertyfikowane materiały odniesienia (laboratoryjny materiał odniesienia i materiał do kontroli jakości) i certyfikowane materiały odniesienia (pierwotny materiał odniesienia i certyfikowany materiał odniesienia) różnią się głównie takimi parametrami jak: dokładność, precyzja i wartość niepewności wyznaczenia określonych parametrów. Z tego też względu certyfikowane materiały odniesienia zajmują wyższe miejsce w hierarchii metrologicznej [167]. Wymagania na etapie ich produkcji, opracowane przez ekspertów z Międzynarodowej Organizacji Normalizacyjnej ISO), są bardziej rygorystyczne. W związku z tym wzrasta cena takiego materiału, a co za tym idzie maleje dostępność. Niecertyfikowane materiały odniesienia, w tym laboratoryjne materiały odniesienia są zdecydowanie tańsze i łatwiej dostępne. Używane są one głównie do bieżącej kontroli jakości pracy laboratorium a także do kalibracji aparatury analitycznej [167,168]. Jednakże zakres zastosowań certyfikowanych materiałów odniesienia jest bardzo szeroki, są one wykorzystywane w trakcie:

- ✓ procesu walidacji procedur analitycznych gdzie stosowane są do wyznaczenia dokładności i poprawności,
- ✓ porównań międzylaboratoryjnych, gdzie stosowane są jako ich przedmiot – materiał do badań,
- ✓ szacowania niepewności pomiaru,
- ✓ dokumentowania spójności pomiarowej,
- ✓ wspomagania procesu akredytacji laboratorium,
- ✓ sprawdzania umiejętności analityka,
- ✓ kontroli jakości pracy laboratorium [169].

1.4.2. Produkcja materiałów odniesienia

Produkcja i certyfikacja materiałów odniesienia jest wieloetapowym procesem, który charakteryzuje się dużą praco- i czasochłonnością. Na rysunku 6 w sposób schematyczny przedstawiono główne etapy w procesie przygotowania certyfikowanego materiału odniesienia. Materiały odniesienia należy przygotować w taki sposób, aby były jednorodne, trwałe i miały stałą charakterystykę w wystarczająco długim okresie czasu. Parametrami, które charakteryzują certyfikowany materiał odniesienia są:

- ✓ reprezentatywność,
- ✓ jednorodność,
- ✓ trwałość,
- ✓ wartość certyfikowana.



Rysunek 6: Etapy procesu produkcji certyfikowanego materiału odniesienia.

1.4.3. Parametry charakteryzujące materiał odniesienia

1.4.3.1. Reprezentatywność

Wymagane jest aby materiały odniesienia charakteryzowały się jak największym podobieństwem do próbek rzeczywistych pod względem:

- ✓ składu matrycy,
- ✓ poziomu zawartości analitów,
- ✓ sposobu związania analitów z matrycą,
- ✓ rodzaju i stężenia substancji przeszkadzających,
- ✓ fizycznego stanu materiału.

Użytkownik powinien być poinformowany przez producenta danego materiału odniesienia o rzeczywistym stanie materiału, sposobie jego obróbki i sposobie uzyskania reprezentatywnej próbki materiału do analizy [170].

1.4.3.2. Jednorodność

Jednorodność jest to cecha określająca stopień jednorodności struktury lub składu wobec jednej lub wielu właściwości. Sprawdzanie jednorodności jest jednym z najistotniejszych etapów w procesie przygotowania i certyfikacji materiału odniesienia. Polega ono na porównywaniu uzyskanych wyników dla pobranych losowo próbek materiału odniesienia. Wykonywane jest ono po etapie konfekcjonowania materiału odniesienia do odpowiednich pojemników. Niejednorodność materiału może wynikać z:

- ✓ fizycznych cech tego materiału,
- ✓ składu chemicznego,
- ✓ niewłaściwego sposobu pobierania i przechowywania próbek,
- ✓ nieodpowiedniego procesu przygotowania próbek (mielenia, przesiewania),
- ✓ zanieczyszczenia próbek podczas etapu przygotowywania ich do analizy.

Wyróżnić można dwa rodzaje jednorodności: jednorodność materiału w jednym opakowaniu (*within-bottle homogeneity*), jednorodność materiału pomiędzy opakowaniami (*between-bottle homogeneity*). Wpływ niejednorodności materiału w ramach jednego opakowania na wynik oznaczenia wartości certyfikowanej można wyeliminować poprzez pobieranie do oznaczeń większej ilości próbki materiału. Z tego powodu konieczne jest zdefiniowanie minimalnej ilości (masy) próbki materiału odniesienia pobieranego do oznaczeń. Użytkownik nie ma jednak wpływu na zmniejszenie udziału niejednorodności materiału pomiędzy opakowaniami na wynik oznaczenia. Wartość ta powinna zostać określona przez producenta materiału odniesienia i uwzględniona w budżecie niepewności wartości certyfikowanej [170].

1.4.3.3. Trwałość

Trwałość materiału określa zdolność materiału odniesienia do zachowania deklarowanej właściwości w określonych granicach w podanym okresie czasu, gdy jest on przechowywany w określonych warunkach. Badanie trwałości spełnia obok sprawdzania jednorodności, decydującą rolę w procesie produkcji i certyfikacji materiałów odniesienia.

Trwałość materiału zależy od rodzaju substancji i wpływu czynników środowiskowych takich jak temperatura czy wilgotność, na jego stan chemiczny i fizyczny. Materiał odniesienia powinien charakteryzować się stabilnością w okresie jego ważności, zgodnie z deklaracją producenta. W związku z tym każdy producent materiałów odniesienia zobowiązany jest do podania parametrów dotyczących warunków przechowywania danego materiału (najczęściej jest to temperatura i wilgotność), które będą gwarantowały deklarowaną trwałość. Producent powinien również zagwarantować trwałości materiału podczas transportu [171].

Trwałość materiału odniesienia określana jest w oparciu o analizę wartości certyfikowanych parametrów, w próbkach materiałów przechowywanych w tzw. temperaturze odniesienia (zakłada się, iż w tej temperaturze nie następują żadne procesy mogące mieć wpływ na zmianę składu materiału odniesienia) w stosunku do próbek przechowywanych w temperaturach zalecanych przez producenta danego materiału odniesienia [171]. Można wyróżnić dwa typy (nie)trwałości materiałów odniesienia:

- ✓ długoterminową trwałość materiału (np. okres trwałości),
- ✓ krótkoterminową trwałość materiału (np. trwałość podczas transportu).

Badania stabilności materiałów odniesienia wymagają zastosowania „szybkich” metod pomiarowych, dzięki którym możliwe jest uzyskanie wysokiej powtarzalności pomiarów oraz stosowania małej masy próbek. Badania trwałości przeprowadza się dla różnych wartości temperatur i czasów przechowywania tak aby ustalić jak najbardziej odpowiednie i ekonomiczne warunki przechowywania i transportu kandydatów na materiały odniesienia [172]. Sprawdzanie trwałości materiałów odniesienia może być rozpatrywane na dwóch płaszczyznach – klasycznej (długookresowej) i izochronicznej.

W przypadku klasycznego sposobu sprawdzania trwałości materiałów odniesienia, jest ona wyznaczana na podstawie porównania wyników uzyskanych dla próbek przechowywanych w zalecanych przez producenta warunkach i dla próbek odniesienia (najczęściej przechowywanych w obniżonej temperaturze, np. – 40° C). Badania takie przeprowadza się krótko przed wyznaczonym terminem trwałości i na ich podstawie decyduje się o przedłużeniu trwałości danego materiału [170].

Izochroniczny sposób sprawdzania trwałości materiałów odniesienia polega natomiast na wnioskowaniu o trwałości materiału odniesienia na podstawie wyników analiz próbek przechowywanych w krótkim okresie czasu (kilka

tygodni) i w różnych temperaturach (zazwyczaj w wyższych niż zalecana przez producenta temperatura przechowywania) [170].

1.4.3.4. Wartość certyfikowana

Certyfikacja materiałów odniesienia jest czymś więcej niż tylko przeprowadzeniem serii precyzyjnych i dokładnych pomiarów spójnych z wzorcami układu SI lub innego systemu miar [173]. 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 procesie tym każda z serii pomiarów, przeprowadzana jest z największą możliwą dokładnością z zachowaniem spójności pomiarowej i musi być udokumentowana pełnym budżetem niepewności. Miarodajność uzyskanych wyników pomiarów analitycznych jest oczywistym warunkiem niezbędnym w procesie certyfikacji.

Proces certyfikacji jest zazwyczaj poprzedzany badaniami wstępnymi, w których uczestniczy najczęściej liczna grupa laboratoriów, z których wybierane są następnie laboratoria będące uczestnikami właściwego procesu certyfikacji materiału. Należy podkreślić, że we wszystkich przypadkach w badaniach certyfikacyjnych powinny brać udział jedynie laboratoria o najwyższej, udowodnionej biegłości [170].

1.4.3.5. Niepewność

Finalna wartość niepewności certyfikowanego materiału odniesienia powinna być oszacowana zgodnie z GUM. Wymiar niepewności wartości certyfikowanej materiału odniesienia opisany jest równaniem [170,174]:

$$u_{CRM} = \sqrt{u_{cert}^2 + u_{op}^2 + u_{dt}^2 + u_{kt}^2} \quad (1.1)$$

Na wartość niepewności wartości certyfikowanej materiału odniesienia mają wpływ niepewności związane z [174]:

- 1) charakterystyką materiału i niepewnością procesu certyfikacji (u_{cert}) wyrażoną jako [175]:

$$u_{cert} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (1.2)$$

gdzie:

s – sumaryczne odchylenie standardowe obliczone jako:

$$s^2 = s_A^2 + \frac{s_z^2}{f} \quad (1.3)$$

gdzie:

s_A – odchylenie standardowe między grupami wyników,

s_z – odchylenie standardowe wyników ,

f – liczba stopni swobody,

n – liczba wyników.

- 2) jednorodnością - niepewnością cechy materiału między opakowaniami (u_{op}) wyrażoną jako [174]:

$$u_{op}^2 = s_{pow}^2 + s_{op}^2 \quad (1.4)$$

gdzie:

S_{pow} – odchylenie standardowe związane z powtarzalnością pomiarów

S_{op} – odchylenie standardowe cechy materiału między opakowaniami

- 3) trwałością krótkoterminową (u_{kt}) i długoterminową (u_{dt})

1.5. Certyfikowane materiały odniesienia – problemy i wyzwania

Wszelkiego rodzaju analizy, których wyniki dotyczą ochrony zdrowia i życia ludzkiego a także ochrony środowiska, mają ogromne znaczenie i są czynnościami wymagającymi nowych metodyk analitycznych, gdzie w celu zapewnienia kontroli jakości wyników pomiarów stosuje się certyfikowane materiały odniesienia. W efekcie obserwowany jest wzrost zapotrzebowania na CRM, które charakteryzują się złożonym składem matrycy oraz certyfikowaną zawartością szerokiej gamy analitów. Jednakże skomplikowany i czasochłonny proces produkcji certyfikowanych materiałów odniesienia oraz wymagania stawiane im przez metrologię chemiczną (np.: spójność pomiarowa) są dla producentów CRM ogromnym wyzwaniem. Dodatkowo przy wyborze odpowiedniego materiału odniesienia użytkownicy kierują się przede wszystkim jego zbieżnością z badanym materiałem ze względu na skład chemiczny i postać fizyczną matrycy oraz ze względu na zawartość oznaczanej substancji. Dlatego też poszukiwane są jak najbardziej „identyczne materiały odniesienia” w odniesieniu do badanej próbki. W związku z tym, niezwykle ważne jest aby stale wzbogacać asortyment dostępnych certyfikowanych materiałów odniesienia, tak aby możliwe było „odwzorowywanie” rzeczywistego składu matrycy analizowanych próbek. W tabeli 5 zestawiono informacje dotyczące aktualnie dostępnych materiałów odniesienia z certyfikowaną zawartością rtęci i metylortęci, których matryce stanowią osady dennie i tkanki zwierzęce, wraz z danymi dotyczącymi miejsca pozyskania materiału.

Tabela 5: Materiały odniesienia z certyfikowaną zawartością rtęci i metylortęci dostępne na rynku.

Matryca	Charakterystyka matrycy	Miejsce pozyskania materiału	Oznaczenie materiału	Producent	Certyfikowana zawartość [mg/kg]*	
					Hg	MeHg
Osad denny	-	Laguna Ravenna (Włochy)	ERM-CC580	IRMM	132 ± 3	0,0755 ± 0,0037

Tabela 5: c.d.

Tkanka ryby	Palia jeziorowa (<i>Salvelinus namaycush</i>)	Jezioro Górne (USA/Kanada)	SRM 1946	NIST	0,433 ± 0,009	0,394 ± 0,015
Tkanka ryby	Palia jeziorowa (<i>Salvelinus namaycush</i>)	Jezioro Michigan (USA)	SRM 1947	NIST	0,254 ± 0,005	0,233 ± 0,010
Tkanka małża	Omulek jadalny (<i>Mytilus edulis</i>)	Zatoka Dorchester (USA)	SRM 2974a	NIST	0,195 ± 0,003	0,06906 ± 0,00081
Tkanka małża	Omulek śródziemnomorski (<i>Mytilus galloprovincialis</i>)	Laguna Étang de Thau (Francja)	SRM 2976	NIST	0,0610 ± 0,0036	0,02809 ± 0,00031
Wątroba dorsza	-	-	DOLT-4	NRC-CNRC	2,58 ± 0,22	1,33 ± 0,12
Morski osad dennny	-	Morze Śródziemne (Wybrzeże Algierii)	IAEA-433	IAEA	0,168 ± 0,017	0,00017 ± 0,00007
Tkanka ryby	Gromadnik (<i>Mallotus villosus</i>)	Morze Północne	IAEA-407	IAEA	0,222 ± 0,024	0,200 ± 0,021
Osad dennny	-	Ujście rzeki Tag (Portugalia)	IAEA-405	IAEA	0,81 ± 0,04	-
Tkanka ryby	Tuńczyk (<i>Thunnus</i>)	Morze Śródziemne	IAEA-436	IAEA	4,19 ± 0,15	3,67 ± 0,37
Morski osad dennny	-	Pd.-wsch. część wyspy Arran, ujście rzeki Clyde (Szkocja, Wielka Brytania)	IAEA-158	IAEA	0,132± 0,014	-
Tkanka małża	Przegrzebek zwyczajny (<i>Pecten maximus</i>)	Pertuis Breton (Francja)	IAEA-452	IAEA	0,16 ± 0,02	-
Białko ryby	-	-	DORM - 3	NRC-CNRC	0,382 ± 0,060	0,355 ± 0,056
Morski osad dennny	-	-	CRM 7302-a	NMIJ	0,52 ± 0,03	-

Tabela 5: c.d.

Osad denny	-	Ujście rzeki Po w pobliżu Sacca di Goro (Włochy)	BCR-320R	IRMM	0,85 ± 0,009	-
Osad denny	-	Ujście rzeki Po w pobliżu Sacca di Goro (Włochy)	BCR-277R	IRMM	0,128 ± 0,017	-
Morski osad denny	-	Port w Esquimalt (Kolumbia Brytyjska, Kanada)	PACS-3	NRC-CNRC	2,98 ± 0,36	-
Osad denny	-	Port w Toronto (Kanada)	NWTH-2	NRC-CNRC	0,620 ± 0,075	-
Jeziorny osad denny	-	-	CRM 7303-a	NMIJ	0,067 ± 0,006	-
Tkanka ryby	Dorsz (<i>Gadus morhu</i>)	Północna część Morza Japońskiego	CRM 7402-a	NMIJ	0,61 ± 0,02	0,58 ± 0,02
Tkanka ryby	Miecznik (<i>Xiphias gladius</i>)	Ocean Spokojny, (okolice Japonii)	CRM 7403-a	NMIJ	5,34 ± 0,14	5,00 ± 0,22
Tkanka małża	Omulek jadalny (<i>Mytilus edulis</i>)		SRM 1974b	NIST	0,167 ± 0,011	0,0696 ± 0,0043
Tkanka małża	(<i>Perna perna</i>)	Zatoka Guanabara (Brazylia)	SRM 2977	NIST	0,101 ± 0,004	0,0366 ± 0,0010
Tkanka małża	Ostryżycy amerykańska (<i>Crassostrea virginica</i>)	Zatoka Meksykańska	SRM 1566b	NIST	0,0371 ± 0,0013	0,0132 ± 0,0007
Białko ryby	-	-	DORM-3	NRC-CNRC	0,382 ± 0,060	0,355 ± 0,056
Tkanka homara	-	-	TORT-3	NRC-CNRC	0,27 ± 0,06	0,152 ± 0,013

*Wyniki podano zgodnie z zapisem oryginalnym pochodzącym z certyfikatów materiałów odniesienia.

Innym często spotykanym problemem dla użytkowników materiałów odniesienia jest ich niespójna nomenklatura. Na rynku dostępne są: materiały odniesienia do kontroli jakości (QCRM), materiały kontrolne (CM), próbki do kontroli jakości (QCS) itp. Materiały te stosowane są w zamian z certyfikowanymi materiałami odniesienia z powodu braku reprezentatywnych CRM a przez producentów opisywane są jako referencyjne [176].

Ważne i problematyczne jest również to, że materiałów odniesienia nie można kupić „na zapas” gdyż są one ważne tak długo jak są w sprzedaży. W tym czasie bowiem są one regularnie kontrolowane przez producenta pod względem ich trwałości a jakiegokolwiek zmiany są natychmiastowo zgłaszane nabywcom danego materiału [177].

1.6. Projekt MODAS

W 2012 roku Narodowe Centrum Badań i Rozwoju przyznało grant badawczo - rozwojowy zatytułowany: „Opracowanie i atestacja nowych typów materiałów odniesienia niezbędnych do uzyskania akredytacji europejskiej przez polskie laboratoria, zajmujące się analityką przemysłową (MODAS)” dla konsorcjum w składzie:

- Katedra Chemii Analitycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Gdańskiej,
- Instytut Chemii i Techniki Jądrowej w Warszawie,
- Katedra Chemii Analitycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Warszawskiej,
- Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego,
- Wydział Chemii Uniwersytetu Mikołaja Kopernika,
- Instytut Technologii Nieorganicznej i Nawozów Mineralnych Wydziału Chemicznego Politechniki Wrocławskiej,
- Katedra Chemii Analitycznej Wydziału Chemicznego Politechniki Śląskiej,
- LGC Standards Sp. z o.o.

Celem projektu było 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 charakteryzują się zarówno różnorodnością składu matrycy (gleba, osad denny, tkanki zwierząt, materiały „bezmatrixowe”) jak i szerokim wachlarzem analitów: metale, związki organiczne, związki metaloorganiczne. Najważniejszą jednak ich właściwością jest reprezentatywność składu zarówno matrycy jak i poziomu zawartości analitów w stosunku do typowych próbek środowiskowych badanych w polskich laboratoriach analitycznych. Sześć certyfikowanych materiałów odniesienia wyprodukowano w ramach projektu „od początku do końca” tzn.

począwszy od etapu pobrania materiału wyjściowego poprzez badania jednorodności i trwałości na etapie certyfikacji kończąc.

Członkowie Konsorcjum uczestniczyli w realizacji 9 zadań badawczych. Pierwsze sześć z nich dotyczyło bezpośredniej produkcji poszczególnych materiałów odniesienia:

1. Polskiego certyfikowanego materiału odniesienia (CRM) dla analizy niektórych analitów z grupy PCB i WWA- **Gleba: MODAS-1A Soil (M-1A Soil)**;
2. Polskiego certyfikowanego materiału odniesienia (CRM) dla wielopierwiastkowej analizy śladowej, wraz z wartościami polecanymi i informacyjnymi dla wybranych radionuklidów - **Osad Denny: MODAS-2 Bottom Sediment (M-2 BotSed)**;
3. Polskiego certyfikowanego materiału odniesienia (CRM) dla wielopierwiastkowej analizy śladowej, wraz z wartościami informacyjnymi dla wybranych radionuklidów i niektórych analitów z grupy PCB i WWA - **Tkanka Śledzia: MODAS-3 Herring Tissue (M-3 HerTis)**;
4. Polskiego certyfikowanego materiału odniesienia (CRM) dla wielopierwiastkowej analizy śladowej, wraz z wartościami informacyjnymi dla niektórych analitów z grupy PCB i WWA - **Tkanka Kormorana: MODAS-4 Cormorant Tissue (M-4 CormTis)**;
5. Polskiego certyfikowanego materiału odniesienia (CRM) dla wielopierwiastkowej analizy śladowej, wraz z wartościami informacyjnymi dla niektórych analitów z grupy PCB i WWA - **Tkanka Dorsza: MODAS-5 Cod Tissue (M-5 CodTis)**;
6. Polskiego certyfikowanego materiału odniesienia (CRM) - **Włókna szklane zawierające związki powierzchniowe (chemicznie związane z powierzchnią włókna)** będące źródłem lotnych związków organicznych.

Pozostałe trzy z zadań głównych projektu, związane były z certyfikacją:

7. Badania trwałości i jednorodności wytworzonych materiałów;
8. Badania certyfikacyjne wytworzonych materiałów;
9. Statystyczne opracowanie wyników badań certyfikacyjnych, sporządzenie raportów certyfikacyjnych.

Materiały te stanowią istotne uzupełnienie dla aktualnej oferty certyfikowanych materiałów odniesienia dostępnych na rynku i oferowanych przez renomowane ośrodki i instytucje (NIST, IRMM, IChTJ) przede wszystkim ze względu na spełnienie warunku reprezentatywności.

II CEL PRACY

Już od wielu lat monitoring poziomu zanieczyszczenia poszczególnych elementów środowiska przez rtęć i metylortęć jest przedmiotem powszechnego zainteresowania. Ze względu na specyficzne właściwości rtęci (biowzmacnianie, biowzbogacanie), konieczne stało się opracowanie nowych typów materiałów odniesienia, które będą stanowiły narzędzia do uzyskiwania wiarygodnych informacji analitycznych. Materiały odniesienia pełnią kluczową rolę w systemach kontroli i zapewnienia jakości wyników pomiarów analitycznych. Ich stosowanie jest niezbędne zarówno w trakcie procesu walidacji procedur analitycznych jak i w trakcie rutynowych kontroli wykorzystywanych procedur. Dostępne na rynku materiały odniesienia (gleby, osady dennie, tkanki zwierzęce) nie spełniają w pełni oczekiwań polskich laboratoriów, ze względu na inne miejsca pochodzenia, inną charakterystykę geochemiczną, inne zanieczyszczenia antropogenne itp., co ogranicza ich stosowalność i przydatność w laboratoriach na terenie naszego kraju.

Z uwagi na negatywny wpływ rtęci i jej organicznych form – w szczególności metylortęci - na organizmy żywe oraz coraz większe zapotrzebowanie na nowe typy materiałów odniesienia główne cele pracy badawczej realizowane były w ramach projektu MODAS i dotyczyły:

1. Pozyskania odpowiedniej ilości materiałów na kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia (tkanek śledzia, tkanek dorsza, tkanek kormorana czarnego);

2. Przygotowania odpowiedniej ilości tkanek organizmów oraz liofilizacja zgromadzonego materiału;

3. Opracowania metodyki ekstrakcji metylortęci z próbek tkanki śledzia, tkanki dorsza oraz tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego i wykorzystanie jej do badań;

4. Zbadania jednorodności pięciu kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia w ramach jednego opakowania i między opakowaniami w oparciu o wyniki oznaczeń:

▶ całkowitej zawartości rtęci (oznaczanie z wykorzystaniem techniki atomowej spektroskopii absorpcji połączonej z techniką zimnych par);

▶ zawartości metylortęci (oznaczanie z wykorzystaniem techniki atomowej spektroskopii absorpcji połączonej z techniką zimnych par, poprzedzone ekstrakcją analitu z próbki);

5. Zbadania trwałości certyfikowanych materiałów odniesienia w oparciu o wyniki oznaczeń całkowitej zawartości rtęci (przeprowadzanie kilku serii pomiarów);

6. Statystycznej obróbki wszystkich uzyskanych wyników.

III CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

1. Sprzęt laboratoryjny i aparatura

- 1.1. Dejonizator wody Millipore – firma *Milli-Q Water Purification System* (USA);
- 1.2. Waga elektroniczna – firma *Sartorius* (Niemcy);
- 1.3. Piec do wyprężania łożek ceramicznych – firma *Heraeus* (Niemcy);
- 1.4. Wirówka 5702 – firma *Eppendorf* (Niemcy);
- 1.5. Wytrząsarka laboratoryjna Promax 2020 – firma *Heidolph* (Niemcy);
- 1.6. Analizator rtęci MA – 2000 – firma *Nippon Instruments Corporation* (Japonia);
- 1.7. Kolbki o obj. 25 cm³ – firma *Brand* (Niemcy);
- 1.8. Pipety automatyczne (poj. 20-200 µL i 100-1000 µL) – firma *Brand* (Niemcy);
- 1.9. Łódeczki porcelanowe – firma *Nippon Instruments Corporation* (Japonia);
- 1.10. Probówki typu Falcon (poj. 25 ml) – firma *Bionovo* (Polska);
- 1.11. Probówki szklane – firma *Cole – Parmer* (USA);

2. Odczynniki i wzorce

W celu oznaczenia całkowitej zawartości rtęci i metylortęci w próbkach kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia wykorzystano z następujących odczynników, wzorców i certyfikowanych materiałów odniesienia:

- ✓ kwas azotowy (Suprapur), 65 % – firma *Merck* (Niemcy);
- ✓ L-cysteina, 98 % – firma *NacalaiTesque, Inc.* (Japonia);
- ✓ dodatek B (aktywowany tlenek glinowy)– firma *WakoPureChemicalIndustries, Ltd.* (Japonia);
- ✓ dodatek M (węglan sodu + wodorotlenek wapnia)– firma *POCH* (Polska);
- ✓ roztwór buforowy, pH = 7,00 ± 0,05 – firma *POCH* (Polska);
- ✓ kwas bromowodorowy 47 % – firma *Merck* (Niemcy);
- ✓ toluen– firma *Merck* (Niemcy);
- ✓ siarczan sodu (bezwodny) 99 % - firma *POCH SA* (Polska);
- ✓ octan sodu (bezwodny) – firma *P.P.H. Stanlab* (Polska);
- ✓ MSHG o stężeniu 100 µg/g w HCl dla Hg – firma *Inorganic Ventures, Inc.* (USA);
- ✓ BCR-463: rtęć całkowita i metylortęć w tuńczyku – firma *IRMM*, (Geel, Belgia);



3. Charakterystyka analizowanych próbek

3.1. Gleba

Gleba jest naturalną, trójfazową, biologicznie czynną, powierzchniową warstwą skorupy ziemskiej, ukształtowaną poprzez procesy glebotwórcze ze skały macierzystej w wyniku oddziaływania klimatu i organizmów żywych, przy określonej rzeźbie terenu, w określonym przedziale czasu, często przy wpływie działalności człowieka [178]. Metale ciężkie takie jak rtęć, występują w każdym rodzaju gleby. Zbyt wysokie stężenie metali w glebie jest najczęściej wynikiem działalności człowieka. Metale ciężkie w glebach stanowić mogą potencjalne źródło zagrożenia dla roślin oraz dla wód podziemnych, a w konsekwencji – mogą być włączone do łańcucha pokarmowego [179]. Pobieranie pierwiastków śladowych z zanieczyszczonych gleb przez rośliny przekracza często ich zapotrzebowanie fizjologiczne, co powoduje, że nadmiar toksycznych metali w glebach może działać fitotoksycznie [180]

Materiał wyjściowy do produkcji certyfikowanego materiału odniesienia: Gleba: MODAS-1A Soil (M-1A Soil) został pobrany przez jednego z Członków Konsorcjum projektu MODAS - grupy z Politechniki Wrocławskiej, która pozyskała materiał z terenów zakładów PCC Rokita Brzeg Dolny. Materiał (ok 200 kg) został poddany liofilizacji i ujednorodniony (zdjęcie 1).



Zdjęcie 1: Materiał stanowiący kandydata na certyfikowany materiał odniesienia – gleba [zdjęcie własne].

3.2. Osad denny

Osady denne są materia zalegającą na dnie zbiorników wodnych, która dostała się tam w wyniku sedymentacji. W skład osadu dennego wchodzi zarówno części mineralne (iły, muły, piaski, żwiry) jak i organiczne (drobnocząsteczkowa i grubocząsteczkowa materia organiczna) [178]. Osady denne rzek i zbiorników wodnych stanowią istotny element ekosystemów wodnych, biorąc czynny udział w cyklu geochemicznym pierwiastków i materii organicznej. Mają również istotny wpływ na stan środowiska, ponieważ zawierają zarówno zanieczyszczenia organiczne jak i nieorganiczne, do których należą pierwiastki śladowe takie jak rtęć. Dodatkowo, w przypadku cyklu bio-geo-chemicznego rtęci to właśnie w warstwie osadów dennych tworzona jest przez mikroorganizmy najbardziej toksyczna forma rtęci – metylortęć [181]. Skład chemiczny osadów dennych rzek i zbiorników wodnych jest w znacznym stopniu uzależniony od działalności człowieka (ścieki komunalne i przemysłowe, rolnictwo, transport), która wpływa na sytuację geochemiczną panującą w zlewni.

Wysokie stężenia ksenobiotyków w osadach dennych mogą być potencjalnie toksyczne dla organizmów wodnych, a w przypadku niewłaściwego zagospodarowania osadów m.in. z odmulanych zbiorników wodnych, również stwarzać ryzyko toksycznego oddziaływania dla organizmów lądowych [181].

Materiał wyjściowy do produkcji certyfikowanego materiału odniesienia: Osad Denny: MODAS–2 Bottom Sediment (M–2 BotSed), został pobrany przez zespół z Uniwersytetu 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.

3.3. Tkanka śledzia

Śledź bałtycki (*Clupea harengus membras*) jest gatunkiem ławicowej ryby morskiej mającym olbrzymie znaczenie gospodarcze - stanowiąc główny cel połowów w rybołówstwie morskim. Ryba ta jest niezwykle popularna w zastosowaniach kulinarnych już od zamierzchłych czasów dzięki łatwości przechowywania jej po zasoleniu. Śledź bałtycki spożywany jest również w stanie świeżym, wędzonym, po zamrożeniu, w postaci konserw i marynat [178]. Mięso tych ryb jest dobrym źródłem białka oraz wielonienasyconych kwasów tłuszczowych omega-3, które mają korzystny wpływ na organizm ludzki. Niestety oprócz korzyści wynikających ze spożycia ryb istnieje też pewne ryzyko związane z tym, że są one również źródłem toksycznych pierwiastków takich jak np. rtęć. ma to związek z faktem, iż zanieczyszczenia

obecne w zbiornikach wodnych bardzo łatwo przedostają się do organizmów ryb. Ilość substancji toksycznych zależy jest od gatunku ryby, od zbiornika wodnego, w którym żyje oraz od wieku ryby.

Śledzie odżywiają się planktonem. W dzień żerują bliżej dna, nocą bliżej powierzchni. Śledź bałtycki osiąga dojrzałość płciową ok 2–3 roku życia. Po osiągnięciu takiego wieku samice śledzi składają od 10 000 do 100 000 jaj. Larwy przeobrażają się przy długości 3–6 mm, po czym płyną stadami w stronę płytkich wód przybrzeżnych, gdzie pozostają do osiągnięcia wieku 6 miesięcy. Dojrzałe ryby przenoszą się w głębsze wody. Średnia długość życia śledzia to ok 20 lat [178].

Początkowo materiał wyjściowy do produkcji certyfikowanego materiału odniesienia: Tkanka Śledzia: MODAS–3 Herring Tissue (M–3 HerTis), miały stanowić filety ze śledzia. Tkanki te pozyskano z ryb wyłowionych z Zatoki Gdańskiej i dostarczone zostały przez przedsiębiorstwo „SZKUNER” Sp. z o. o mające swoją siedzibę we Władysławowie. Na Politechnikę Gdańską dostarczono ok. 150 kg filetów śledziowych (zdjęcie 2) w formie głęboko zmrożonych bloków o masie ok. 7 kg każdy.



Zdjęcie 2: Fotografie przedstawiające zamrożone bloki filetów ze śledzi [zdjęcie własne].

Kolejnymi etapami, zaraz po pozyskaniu materiałów, w procesie produkcyjnym certyfikowanych materiałów odniesienia była liofilizacja i mielenie tkanek ryb. Podczas procesu liofilizacji i mielenia liofilizatów filetów ze śledzi wynikły komplikacje, które związane były ze stosunkowo dużą zawartością tłuszczu w tkankach pozyskanych ryb. Napotkano na trudności wywołane przez tworzenie się emulsji podczas mielenia liofilizatów śledziowych.

Na etapie przygotowania projektu MODAS założono, że wytworzony materiał odniesienia będzie w postaci stałej (proszek o wielkości frakcji < 90 μm). W przypadku filetów śledziowych warunki te nie mogły być spełnione gdyż postać stałą materiał zachowywał do granulacji ok 2 mm. Zdecydowano

zatem o zmianie rodzaju obiektów materialnych kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia. Filety ze śledzia zastąpiono mączką śledziową (100 kg). Mączkę śledziową uzyskano w ramach współpracy z firmą ROCKWORLD, była ona sprowadzana ze Szkocji (środowiskiem bytowania tych śledzi były wody przybrzeżne Szkocji) i została dostarczona w formie zmielonego liofilizatu (zdjęcie 3).



Zdjęcie 3: Liofilizat mączki śledziowej [zdjęcie własne].

3.4. Tkanka dorsza

Dorsz bałtycki (*G. morhua callarias*) jest gatunkiem wędrownym drapieżnej ryby morskiej. Żywi się głównie rybami z rodziny śledziowatych, babkowatych, makrelami, narybkiem ryb dorszowatych i skorupiakami. Wśród tego gatunku ryb powszechny jest kanibalizm – im większy okaz, tym częściej odżywia się młodymi swojego gatunku. Mimo drapieżnego stylu życia dorsz jest jednym z ogniw pokarmowych wśród innych drapieżników (np. dla foki) [178].

W Bałtyku dojrzałość płciową samce osiągają po 2-3. roku życia, a samice po 3-4. roku życia. Pojedyncza, dorosła, duża samica dorsza może złożyć nawet 9 mln jaj, które unoszą się następnie swobodnie w wodzie. Po 3 miesiącach młode dorsze osiągają długość 3–6 cm i przystosowują się do przydenne go trybu życia. Rozmiary poszczególnych osobników zależą od ich wieku, gdyż ryby rosną przez całe swoje życie. Dorsz może przeżyć ponad 20 lat.

Dorsz jest łatwo dostępną i pożywną rybą łowną. Dla przemysłu rybnego wielu krajów ciągle jest jedną z najważniejszych poławianych ryb. W konkurencji o jego malejące zasoby dochodziło do międzynarodowych konfliktów [178].

Początkowo materiał wyjściowy do produkcji certyfikowanego materiału odniesienia: Tkanka Dorsza: MODAS-5 Cod Tissue (M-5 CodTis), miały stanowić wątroby dorsza. Podobnie jak w przypadku tkanek śledzia, wątroby dorsza zostały pozyskane z ryb wyłowionych z Zatoki Gdańskiej i dostarczone

przez przedsiębiorstwo „SZKUNER” Sp. z o. o. w ilości ok 100 kg w formie głęboko zmrożonych bloków o masie ok. 7 kg każdy (zdjęcie 4).



Zdjęcie 4: *Wątroby dorszy [zdjęcie własne].*

Podobnie jak w przypadku filetów śledziowych podczas procesu liofilizacji i mielenia liofilizatów wątróbek rybich wynikły komplikacje, które związane były ze stosunkowo dużą zawartością tłuszczu w tkankach pozyskanych ryb. Napotkano na trudności wywołane przez tworzenie się emulsji podczas liofilizowania tkanek dorszy. W związku z tym również w przypadku tych materiałów założone w projekcie warunki nie mogły być spełnione (proszek o wielkości frakcji $< 90 \mu\text{m}$). Zdecydowano zatem o zmianie rodzaju obiektów materialnych kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia. Zamiast wątrób dorsza wyjściowy materiał stanowić miały filety z dorsza (w ilości 55 kg) o znacznie niższej procentowej zawartości tłuszczu. Filety zamówiono w firmie „SZKUNER” i dostarczono je, podobnie jak w przypadku filetów śledziowych i wątróbek, w postaci zamrożonych bloków o masie ok 7,25 kg (zdjęcie 5).



Zdjęcie 5: *Pojedyncze filety z dorsza [zdjęcie własne].*

3.5. Tkanka kormorana

Kormoran zwyczajny (kormoran czarny) (*Phalacrocorax carbo*) jest gatunkiem dużego ptaka wodnego zamieszkującym przeważnie płytkie, zarówno słodkie jak i słone zbiorniki wodne obfitujące w ryby, jak również bogate w ryby duże rzeki i morskie wybrzeża. 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 [182].

W ciągu ostatnich 20 lat liczba populacji kormorana gwałtownie wzrosła od kilku tysięcy par do około 200 - 250 tysięcy par lęgowych. 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 [183,184].

Materiał wyjściowy do produkcji certyfikowanego materiału odniesienia: Tkanka Kormorana: MODAS-4 Cormorant Tissue (M-4 CormTis), został pozyskany przy współpracy z pracownikami Stacji Ornitologicznej Muzeum i Instytutu Zoologii Polskiej Akademii Nauk. Uzyskano ok. 150 kg tkanki mięśnia piersiowego kormorana zebranej od 663 osobników. Pozyskano tkanek mięśniową kormoranów, które bytowały w następujących miejscach:

- ✓ tereny jezior administrowanych przez Gospodarstwo Jeziorowe sp. z o.o w Elku (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, (Czechy) (226 kormoranów);
- ✓ Rybarstvi Treboń, mieszczącego się kilkadziesiąt kilometrów na północny wschód od Czeskich Budziejowic (180 ptaków);

Zebrany materiał dostarczono na Wydział Chemiczny Politechniki Gdańskiej w postaci zamrożonej, w workach o masie ok. 1 kg każdy (zdjęcie 6).



Zdjęcie 6: Worek zawierający tkanki mięśnia piersiowego kormorana czarnego [zdjęcie własne].

4. Przygotowanie próbek do analizy

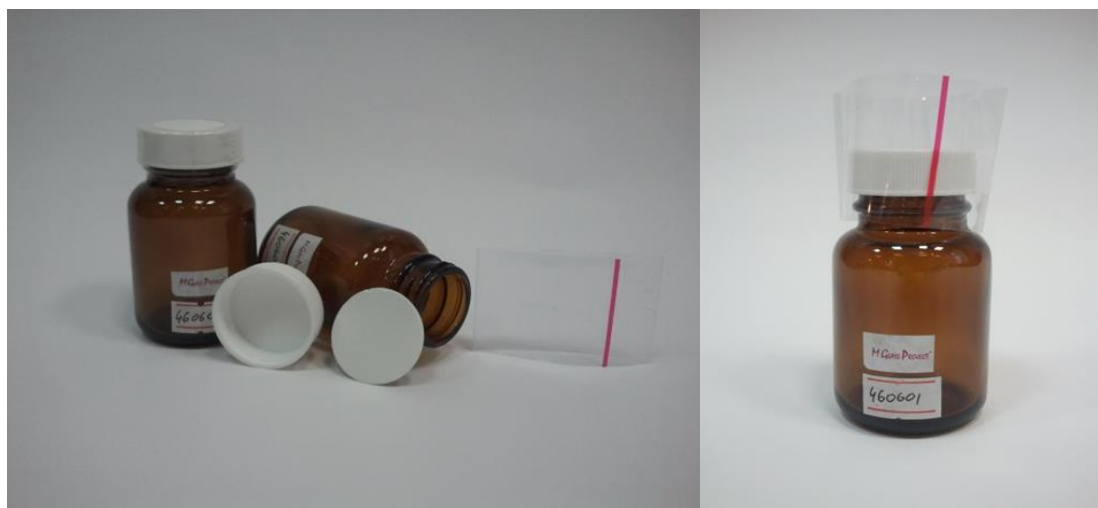
4.1. Liofilizacja i homogenizacja

Zgodnie z założeniami projektu MODAS każdy z materiałów powinien występować w postaci proszku o wielkości ziaren $90\ \mu\text{m}$. W związku z tym dwie partie pozyskanych próbek kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia – tkanki dorsza i tkanki kormorana poddano procesowi liofilizacji. Zważywszy na fakt, że całkowita masa materiału, który miał być poddany procesowi liofilizacji wynosiła ponad 200 kg, usługę tę zlecono firmie zewnętrznej. Etap liofilizacji wraz z wstępnym mieleniem próbek przeprowadzono przy współpracy z firmą ELENA z Kokania k/Kalisza.

Uzyskane liofilizaty, podobnie jak liofilizat mączki śledziowej, nie spełniały wymagań odnośnie odpowiedniej granulacji materiału – konieczne było dodatkowe zmielenie próbek. Usługę tę zlecono firmie „Regent” z miejscowości Przytoczna, mającą w swojej ofercie możliwość nietypowych przemiałów w młynach, które nie posiadały metalowych części.

Po dodatkowym mieleniu uzyskano pożądaną frakcję materiału o średnicy ziaren nie przekraczającej $90\ \mu\text{m}$.

Tak przygotowany materiał przesłano do Instytutu Chemii i Techniki Jądrowej gdzie poddano go procesom: homogenizacji, mieszania, sterylizacji radiacyjnej i rozdozowano go do wcześniej zakupionych opakowań (Zdjęcie 7).



Zdjęcie 7: Opakowania na wyprodukowane certyfikowane materiały odniesienia [zdjęcie własne].

Opakowania z ciemnego szkła, z nakrętką wyposażoną w wkładkę z materiału obojętnego chemicznie oraz folie gwarancyjne zamówiono w firmie M. Glass Project z Raszyna. W opisany powyżej sposób przygotowano pakiet pięciu kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia (zdjęcie 8).

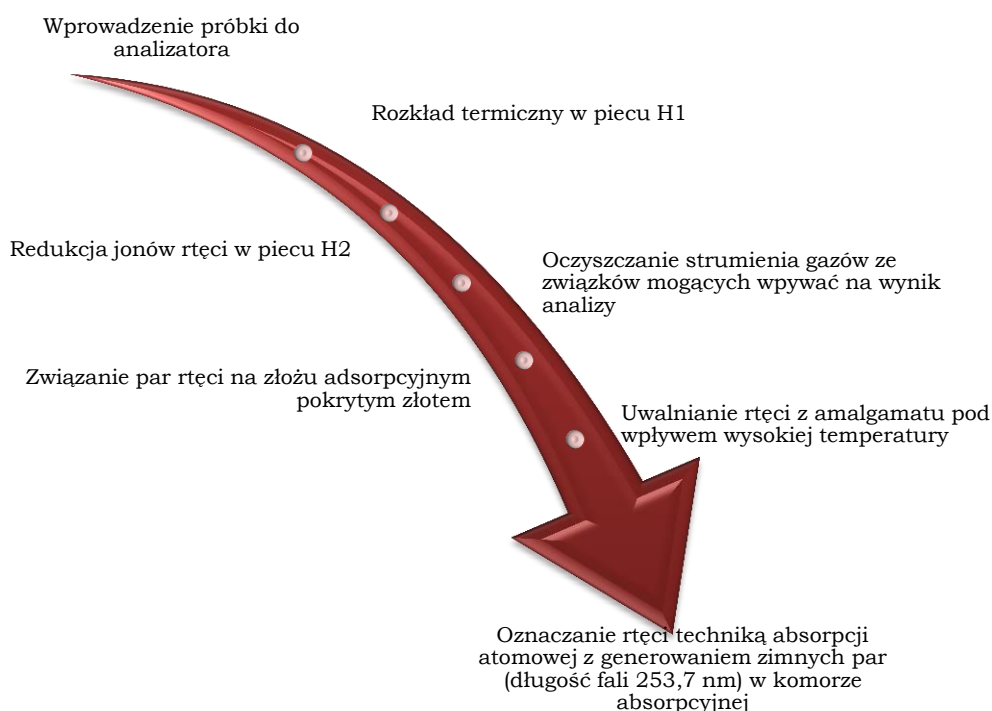


Zdjęcie 8: Kandydaci na certyfikowane materiały odniesienia, których matryce stanowi: gleba (2 opakowania), osad denny, tkanka śledzia, tkanka kormorana, tkanka dorsza.

5. Procedura oznaczania całkowitej zawartości rtęci i metylortęci w próbkach kandydatów na CRM z wykorzystaniem techniki CV-AAS

Całkowitą zawartość rtęci oraz metylortęci (analiza poprzedzona opracowaną techniką ekstrakcji) w próbkach kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia oznaczano z wykorzystaniem Analizatora Rtęci MA-2000, którego producentem jest firma Nippon Instruments Corporation (NIC, Japonia). Zastosowano technikę atomowej spektrometrii absorpcyjnej w połączeniu z techniką zimnych par.

Technika CV – AAS polega na uwolnieniu rtęci z próbki, a następnie po ewentualnej redukcji do rtęci atomowej, po przejściu przez system płuczek zostaje wzbogacona na złożu adsorpcyjnym (pokrytym złotem). Powstały amalgamat ogrzewany jest do temperatury 600°C, a uwolnione atomy rtęci są przenoszone w strumieniu powietrza do komory absorpcyjnej, gdzie mierzona jest absorpcja promieniowania ($\lambda=253,7$ nm) emitowanego przez lampę z katodą wnątkową. Na rysunku 7 przedstawiono w sposób schematyczny procedurę oznaczania rtęci w w/w analizatorze.



Rysunek 7: Schemat procedury oznaczania rtęci z wykorzystaniem analizatora rtęci MA – 2000.

Technika CV-AAS charakteryzuje się wysoką powtarzalnością ($CV < 2\%$). Jest ona również wysoce selektywna z dwóch powodów:

1. reakcja tworzenia amalgamatu jest charakterystyczna dla rtęci;
2. pomiar absorpcji promieniowania jest mierzony przy długości fali charakterystycznej dla rtęci.

Technika CV–AAS wymaga nieskomplikowanego procesu przygotowania próbki do analizy, co znacznie zmniejsza błąd pomiaru. Zliofilizowane próbki tkanek ryb były bezpośrednio zważone (ok. 100 mg z dokładnością do 0,1 mg) do wyprażonych porcelanowych łądek, a następnie automatycznie umieszczone w układzie pomiarowym analizatora rtęci. W celu usunięcia substancji mogących przeszkadzać w trakcie pomiaru (substancje o charakterze kwasowym), zgodnie z zaleceniami Nippon Instruments Corporation, zastosowano dwa rodzaje dodatków:

- Dodatek B –aktywowany tlenek glinu,
- Dodatek M – węglan sodu + wodorotlenek wapnia

5.1. Charakterystyka procesu ekstrakcji metylortęci z próbek kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia

Zdecydowano, że ekstrakcja metylortęci z tkanek kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia będzie modyfikacją metody, która polega w pierwszym etapie na wyizolowaniu jej z matrycy próbki, poprzez hydrolizę za pomocą kwasu bromowodorowego i ekstrakcji toluenem. Kolejno przeprowadzono ekstrakcję roztworem L-cysteiny, aby możliwe było wykonanie oznaczenia zawartości rtęci przy wykorzystaniu absorpcyjnej spektroskopii atomowej z techniką zimnych par. Schemat procedury analitycznej oznaczania metylortęci w próbkach środowiskowych przedstawiono na rysunku 8.

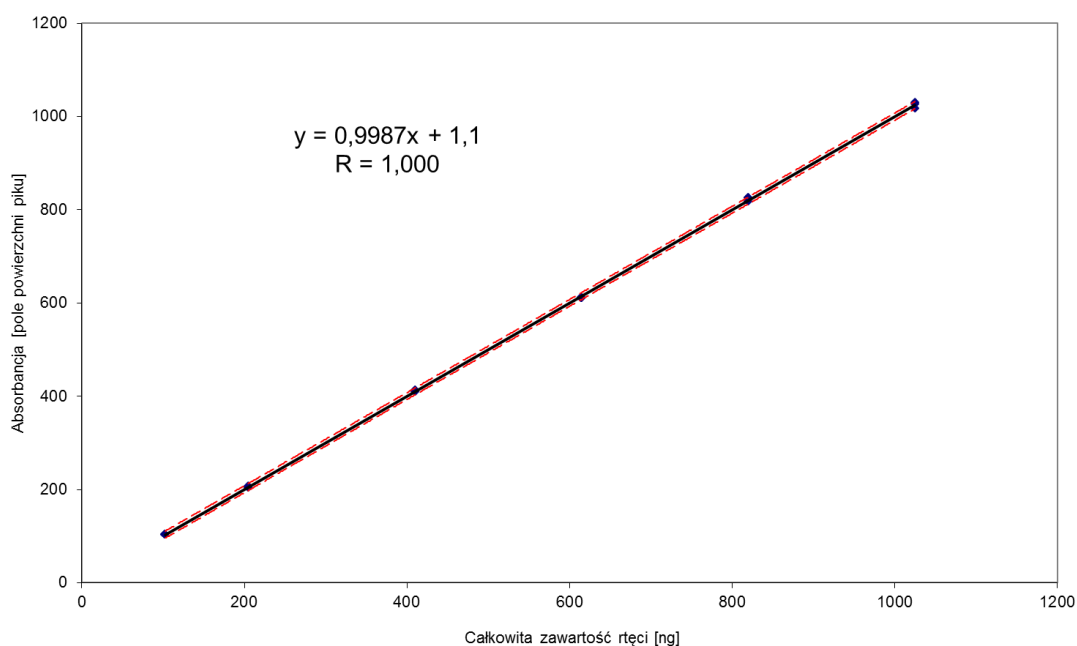


Rysunek 8: Schemat procedury analitycznej oznaczania metylortęci w próbkach biologicznych [78].

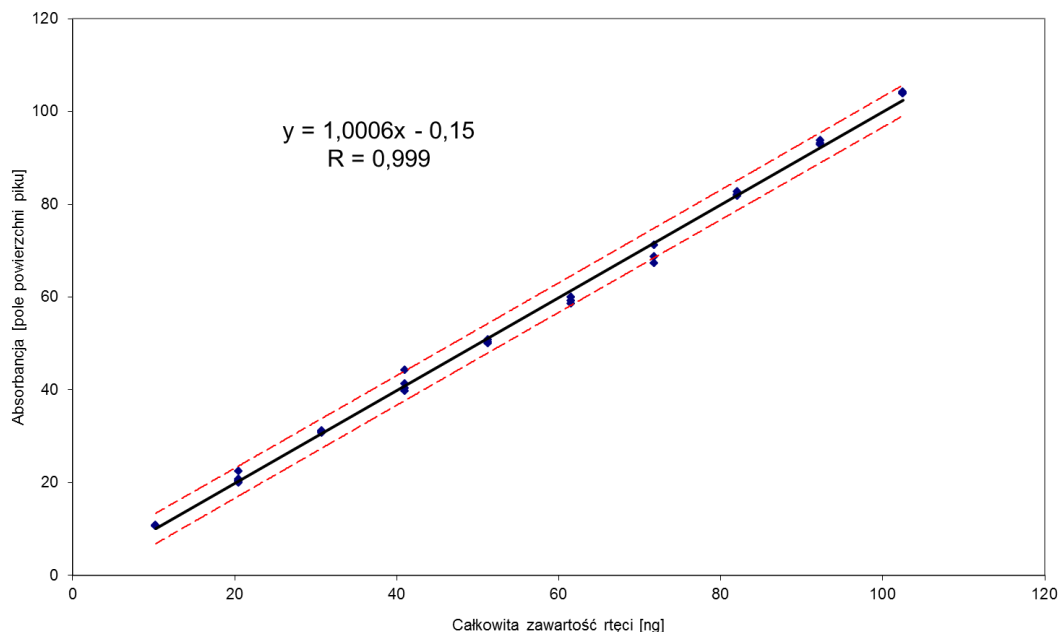
5.2. Kalibracja

Kalibracja procedury powinna w jak najlepszym stopniu odwzorowywać zależności między stężeniem analitu w próbce a sygnałem analitycznym. Kalibrację analizatora rtęci, przeprowadzono stosując metodę krzywej wzorcowej. Zdecydowano o sporządzeniu dwóch krzywych kalibracyjnych: dla niskich i wysokich poziomów zawartości rtęci. Krzywa generowana była automatycznie na podstawie pomiaru absorbancji dla roztworu wzorcowego i jego kolejnych rozcieńczeń. Do wykonania roztworów wzorcowych wykorzystano L – cysteinę zgodnie z zaleceniami producenta analizatora rtęci MA – 2000 - Nippon Instruments Corporation. Roztwory wzorcowe o zawartości rtęci 0,1 µg/g, 1,0 µg/g oraz 10 µg/g, zostały przygotowane przez rozcieńczenie roztworu wzorcowego rtęci o stężeniu rtęci 100 µg/g w wodnym roztworze L-Cysteiny.

Na podstawie wyników uzyskanych w trakcie analizy roztworów wzorcowych wykreślono dwie krzywe kalibracyjne (rysunek 9 i rysunek 10)



Rysunek 9: Krzywa kalibracyjna uzyskana dla oznaczenia całkowitej zawartości rtęci (wysokie poziomy zawartości rtęci)



Rysunek 10: Krzywa kalibracyjna uzyskana dla oznaczenia całkowitej zawartości rtęci (niskie poziomy zawartości rtęci)

Bardzo duże wartości współczynników regresji (1,000 i 0,999) świadczą o liniowości w całym badanym zakresie stężeń.

5.3. Wyznaczanie parametrów walidacyjnych

Wartości liczbowe parametrów regresyjnych krzywych kalibracyjnych stanowiły podstawę do oszacowania wartości granicy wykrywalności i oznaczalności wykorzystywanej metody analitycznej.

Granica wykrywalności (LOD) definiowana jest jako najmniejsza zawartość analitu jaka może zostać wykryta (bez jej ilościowego oznaczenia) za pomocą danego układu kontrolno-pomiarowego z określonym prawdopodobieństwem. Natomiast granica oznaczalności (LOQ) oznacza najmniejszą ilość lub najmniejsze stężenie możliwe do ilościowego oznaczenia za pomocą danego układu z założoną dokładnością i precyzją.

Granica wykrywalności (LOD) została wyznaczona korzystając z równania [185]:

$$LOD = \frac{3,3 s_a}{b} \quad (5.1)$$

s_a – odchylenie standardowe wyrazu wolnego

b – współczynnik kierunkowy prostej

Przy obliczaniu wartości liczbowej granicy oznaczalności (LOQ) wykorzystano zależność, opisywaną za pomocą równania [185]:

$$LOQ = 3 \cdot LOD \quad (5.2)$$

Otrzymane wartości liczbowe parametrów LOD oraz LOQ przeliczono na odpowiadające im wartości MDL i MQL - granice wykrywalności i oznaczalności stosowanej metody analitycznej, przy założeniu że masa analizowanej próbki wynosi 100 mg.

Kolejnymi wyznaczonymi parametrami walidacyjnymi była powtarzalność i precyzja pośrednia. Powtarzalność wyrażano jako współczynnik zmienności (CV) wyników badanych próbek w jednym cyklu analitycznym. Precyzję pośrednią obliczono jako współczynnik zmienności dla wszystkich uzyskanych wyników we wszystkich analizowanych próbkach [185].

Poprawność stosowanej procedury ekstrakcji oraz metody oznaczania rtęci została oceniona na podstawie wyników analizy próbek certyfikowanych materiałów odniesienia: BCR-463 (tuńczyk), DOLT - 4 (tkanka małży). Informacje o stężeniach analitów obliczone na podstawie wyników pomiarów wraz z odpowiednimi wartościami certyfikowanymi zestawiono w Aneksie 1.

Na podstawie uzyskanych wyników można zauważyć, że odzysk procedury analitycznej jest na zadowalającym poziomie. Akceptowalny odzysk dla tego typu analiz powinien zawierać się w przedziale od 80 do 120 %.

Wszystkie wartości liczbowe opisywanych parametrów walidacyjnych zestawiono w tabeli 6.

Tabela 6: Parametry walidacyjne procedury oznaczania całkowitej zawartości rtęci i metylortęci w próbkach kandydatów na materiały odniesienia (przy założeniu odważki = 100 mg).

Parametr		Wartość	
		Hg	MeHg
Analit			
Liniiowość	<ul style="list-style-type: none"> 10 punktów pomiarowych, 3 powtórzenia, zakres : 10,25 [ng] ÷ 103 [ng] $y = 1,0006x - 0,15$	0,999	
	<ul style="list-style-type: none"> 6 punktów pomiarowych, 3 powtórzenia, zakres stężeń: 103 [ng] ÷ 1025 [ng] $y = 0,9987x + 1,1$	1,000	
LOD [ng]		0,096	
LOQ [ng]		0,29	
MDL [ng/g]		0,96	1,0
MQL [ng/g]		2,9	3,1
Zakres pomiarowy [ng/g]		2,9 ÷ 102,5	3,1 ÷ 110,0
Powtarzalność CV [%]		2,8	1,4
Precyzja pośrednia CV [%]		4,7	3,9
Precyzja CV [%]		2,3	
		0,46	
Odzysk [%]		97,1 ± 2,4	78,4 ± 1,1 95,0 ± 1,0

6. Wyniki

6.1. Badanie jednorodności kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia

W trakcie badań jednorodności w jednym opakowaniu (wewnątrzopakowaniowej) oraz między opakowaniami (międzyopakowaniowej) kandydatów na certyfikowanie materiały odniesienia oznaczano w losowo wybranych opakowaniach całkowitą zawartość rtęci (gleba, osad denny, tkanka śledzia, tkanka dorsza, tkanka kormorana) i metylortęci (tkanka śledzia, tkanka dorsza, tkanka kormorana). Do pomiarów wykorzystywano próbki przechowywane w temperaturze pokojowej (20°C) oraz próbki przechowywane w zamrażarkach (-20°C) oznaczone literką F przy numerze próbki. W przypadku oznaczenia całkowitej zawartości rtęci jednorodność została wyznaczana dla średniej zawartości rtęci z próbek przechowywanych w temperaturze pokojowej i w temperaturze obniżonej. Jednorodność badana w oparciu o zawartość metylortęci w badanych próbkach została wyznaczana osobno dla próbek przechowywanych w temperaturze pokojowej i w temperaturze obniżonej.

W celu oznaczenia całkowitej zawartości rtęci i metylortęci w próbkach materiałów wykorzystano technikę CV-AAS, która charakteryzuje się zarówno wysoką precyzją i powtarzalnością jak i odtwarzalnością.

6.1.1. Wyniki oznaczania całkowitej zawartości rtęci w próbkach, których matryce stanowią: gleba, osad denny, tkanka śledzia, tkanka dorsza i tkanka kormorana czarnego

W wyniku przeprowadzonych badań uzyskano zbiór danych pomiarowych. W celu sprawdzenia, czy w danym zbiorze wyników nie ma wyników obarczonych błędem grubym (wyników o wartości odstającej od pozostałych uzyskanych wartości), zastosowano dwa testy statystyczne: test Grubbsa i test Q-Dixona [186].

Test Q-Dixona jest stosowany dla zbiorów o liczności od 3 do 10 wyników, aby odrzucić z danego zbioru wyniki obarczonych błędem grubym.

W celu zastosowania testu Q-Dixona dla uzyskanego zbioru danych pomiarowych uszeregowano wyniki w ciąg malejący a następnie obliczono wartość rozstępu R według wzoru:

$$R = x_n - x_1 \quad (6.1)$$

Dalej obliczono wartości parametrów Q_1 i Q_n według wzorów:



$$Q_1 = \frac{x_2 - x_1}{R} \quad (6.2)$$

$$Q_n = \frac{x_n - x_{n-1}}{R} \quad (6.3)$$

Otrzymane wartości porównano z wartością krytyczną Q_{kr} . Jeśli któryś z obliczonych parametrów był wyższy niż wartość krytyczna Q_{kr} , to dany wynik uznawano za obarczony błędem grubym i nie brano go pod uwagę przy dalszych obliczeniach.

Kolejnym zastosowanym testem statystycznym był test Grubbsa, który umożliwia wykrycie wartości odstających w danym zbiorze wyników.

W celu zastosowania testu Grubbsa uszeregowano uzyskane wartości w poszczególnych zbiorach wyników w porządku rosnącym a następnie obliczono dla nich wartości odchyłeń standardowych. Dalej obliczono wartości parametru G_p zgodnie ze wzorem:

$$G_p = \frac{(x_k - x_{\bar{s}r})}{SD} \quad (6.4)$$

gdzie:

x_k – maksymalna wartość w zbiorze wyników,

$x_{\bar{s}r}$ – wartość średnia,

SD – odchylenie standardowe.

Po porównaniu wartości obliczonych G_p z wartościami krytycznymi odrzucono wyniki odstające od pozostałych w zbiorze danych pomiarowych i nie brano ich pod uwagę przy dalszych obliczeniach.

W Aneksie 2 zestawiono pełną informację o wynikach pomiaru całkowitej zawartości rtęci wraz z wartościami odbiegającymi (wg testu Q-Dixona i testu Grubbsa).

Spośród wszystkich próbek kandydatów na materiał odniesienia, najwyższe stężenie rtęci całkowitej oznaczono w próbkach, których matrycę stanowiła tkanka mięśnia piersiowego kormorana czarnego i zawierały się w przedziale 2,0 - 2,3 mg/kg. W próbkach gleby i osadu dennego całkowitą zawartość rtęci oznaczono na podobnych poziomach i wynosiła ona odpowiednio: 813 - 920 ng/g oraz 819 - 964 ng/g. Natomiast wartości całkowitej zawartości rtęci w próbkach tkanek ryb (śledzia i dorsza) wynosiły 195-224 ng/g dla próbek kandydatów na materiał odniesienia, których matryce stanowiły tkanki śledzia oraz 263 - 333 ng/g dla tkanek dorsza.

6.1.2. Analiza wariancji – określenie jednorodności kandydatów na materiał odniesienia (rtęć)

Do opracowania uzyskanych wyników wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA, która jest jedną z najczęściej stosowanych analiz statystycznych, służącą do badania wpływu zmiennych niezależnych na zmienną zależną.

Analiza wariancji stosowana jest do porównania wartości średnich w co najmniej trzech grupach wyników. 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 wariancja wewnątrzgrupowa. Analiza wariancji to stosunek wariancji, która została obliczona pomiędzy badanymi grupami wyników a średnią wariancją, którą zaobserwowaliśmy wewnątrz grup. Analizowany czynnik ma wpływ na zmienną zależną, gdy wartość obliczona F jest większa lub równa niż wartość krytyczna $F_{krytyczne}$ dla poziomu istotności p .

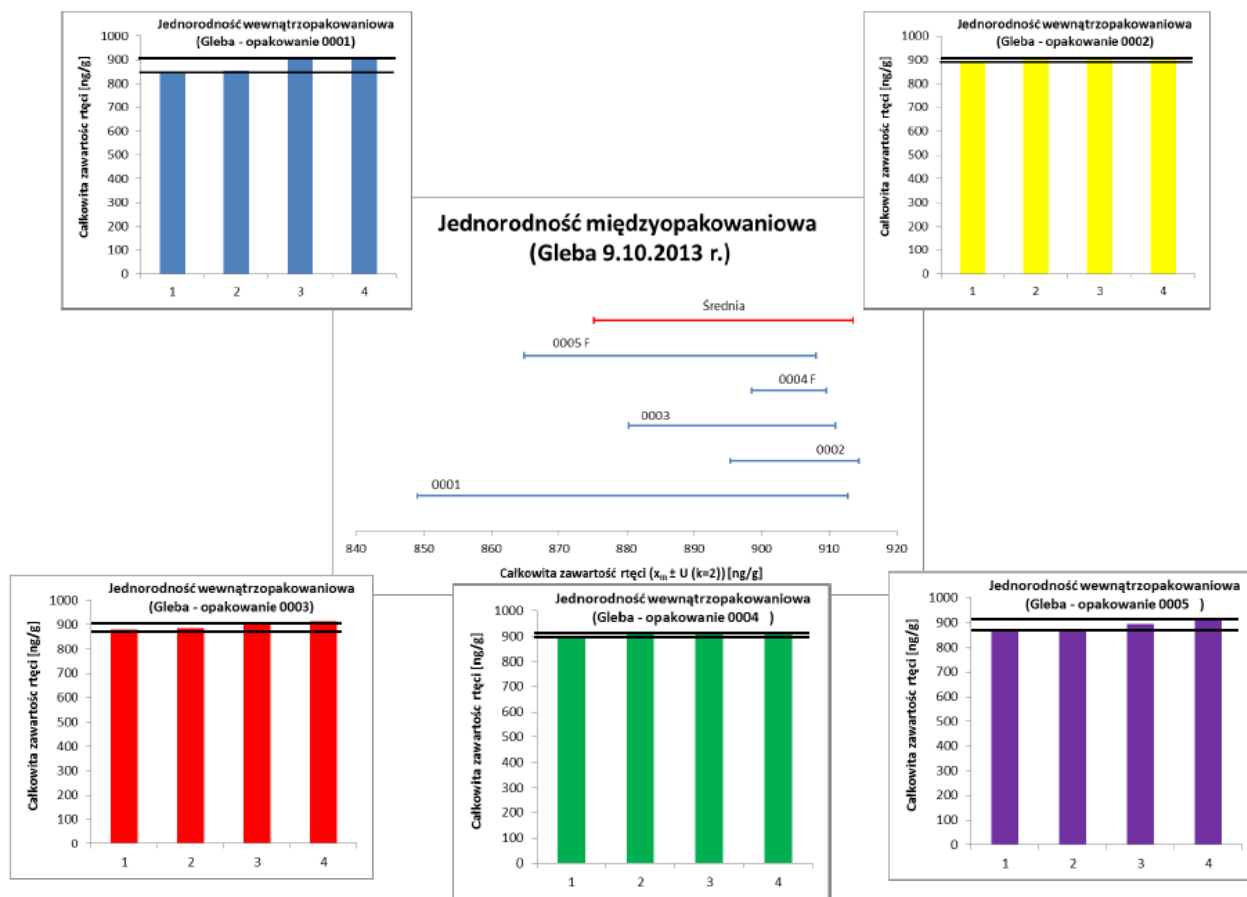
Uzyskane wyniki analizy wariancji całkowitej zawartości rtęci z odpowiadającymi im wartościami całkowitej rozszerzonej niepewności na poziomie ufności 95 % w poszczególnych próbkach zestawiono w tabelach 8 - 12. Natomiast na rysunkach 11 - 20 przedstawiono w sposób graficzny jednorodność wewnątrzopakowaniową i międzyopakowaniową (dla wybranych dwóch serii pomiarów: pierwszej i ostatniej) na podstawie wyników oznaczenia całkowitej zawartości rtęci w próbkach środowiskowych, które stanowiły kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia.

Wyniki analizy wariancji oznaczeń całkowitej zawartości rtęci wykazały, że dla próbek kandydata na certyfikowany materiał odniesienia, którego matrycę stanowi osad denny wartości parametru F są mniejsze od wartości $F_{krytyczne}$ ($F < F_{krytyczne}$) w każdej z serii pomiarów co oznacza, że główną składową niejednorodności tego materiału jest składowa wewnątrzopakowaniowa. Wartość parametru F uzyskana dla pozostałych próbek materiałów, w niektórych z serii jest większa od wartości $F_{krytyczne}$ ($F > F_{krytyczne}$). W związku z tym, w takich przypadkach został dodatkowo obliczony parametr CV_g .

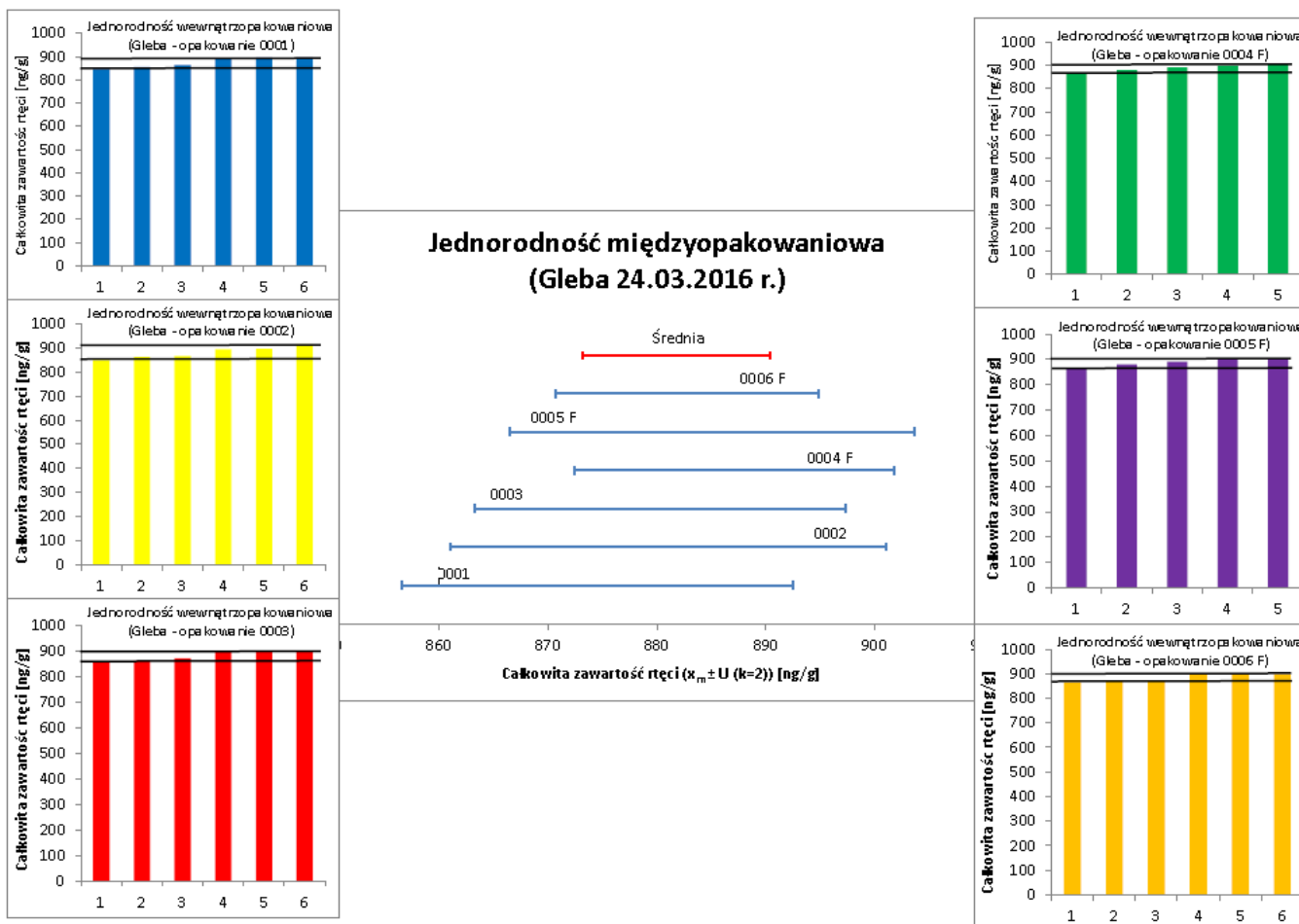
Uzyskane wartości liczbowe parametrów CV_{bb} i CV_{ub} oraz CV_g są niskie i nie przekraczają założonych wcześniej 15 % wykazując tym samym, że próbki - kandydaci na materiały odniesienia z certyfikowaną zawartością rtęci spełniają warunek niejednorodności i można je uznać za jednorodne zarówno międzyopakowaniowo jak i wewnątrzopakowaniowo. Stwierdzono, że próbki (kandydaci na CRM) okazały się jednorodne dla minimalnej masy próbki równej 100 mg i mogą zatem zostać poddane kolejnym etapom w procesie certyfikacji.

Tabela 8: Wyniki analizy wariancji jednoskładnikowej dla całkowitej zawartości rtęci w próbkach kandydatów na materiały odniesienia, których matryce stanowiła gleba.

Analit	Typ próbki	Data analizy próbki	Nr opakowania	Średnia [ng/g]	U(k=2) [ng/g]	Analiza wariancji	Źródło wariancji	F	F _{krytyczne}	CV	CV _g
Rtęć	Gleba	9.10.2013 r.	0001	881	32	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	1,23	3,06	2,4 %	-
			0002	904,9	9,5						
			0003	896	15		W obrębie grup				
			0004	904,0	5,6						
			0005	886	22						
		1.01.2014 r.	0001	883	23	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	0,76	2,57	2,1 %	-
			0002	886	25						
			0003	887,0	7,5		W obrębie grup				
			0004	861	17						
			0005 F	886	38						
			0006 F	886	13						
			0007 F	886	13						
		9.07.2014 r.	0001	845	33	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	1,94	3,55	5,6 %	-
			0002	813	23		W obrębie grup			4,0 %	
			0003 F	845	19						
		4.02.2015 r.	0001	894	26	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	4,72	2,64	5,4 %	6,0 %
			0002	887,0	7,5						
			0003	853	20		W obrębie grup				
			0004 F	920	23						
			0005 F	895	21						
			0006 F	889	13						
		9.12.2015 r.	0001	887	21	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	1,05	2,64	2,7 %	-
			0002	890	14						
			0003	919	28		W obrębie grup				
0004 F	895		14								
0005 F	888		24								
0006 F	898		22								
24.03.2016 r.	0001	875	18	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	0,26	2,56	1,2 %	-		
	0002	881	20								
	0003	880	17		W obrębie grup						
	0004 F	887	15								
	0005 F	885	19								
	0006 F	883	12								



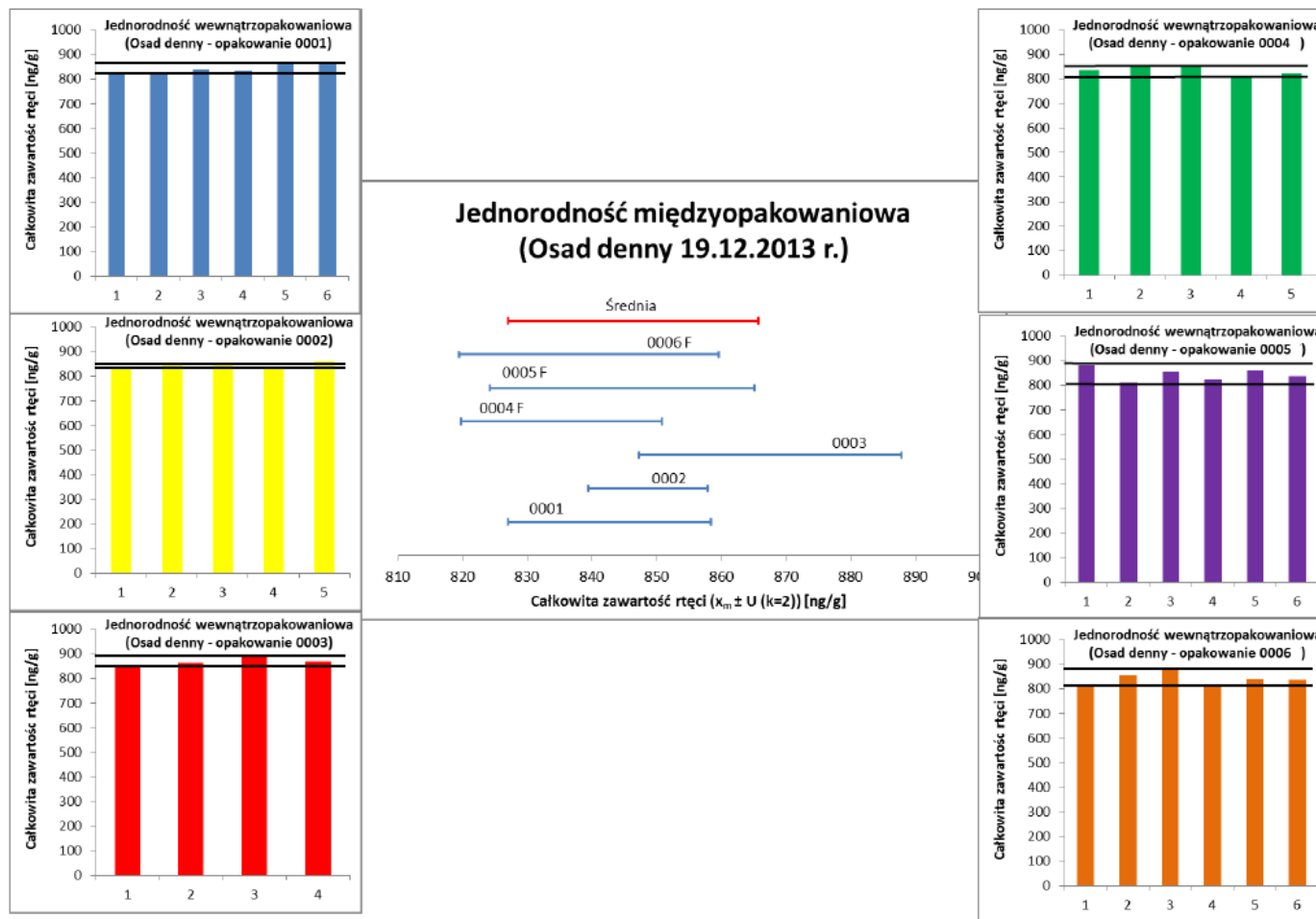
Rysunek 11: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzpakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości Hg w glebie, która stanowiła kandydata na certyfikowany materiał odniesienia (pierwsza seria).



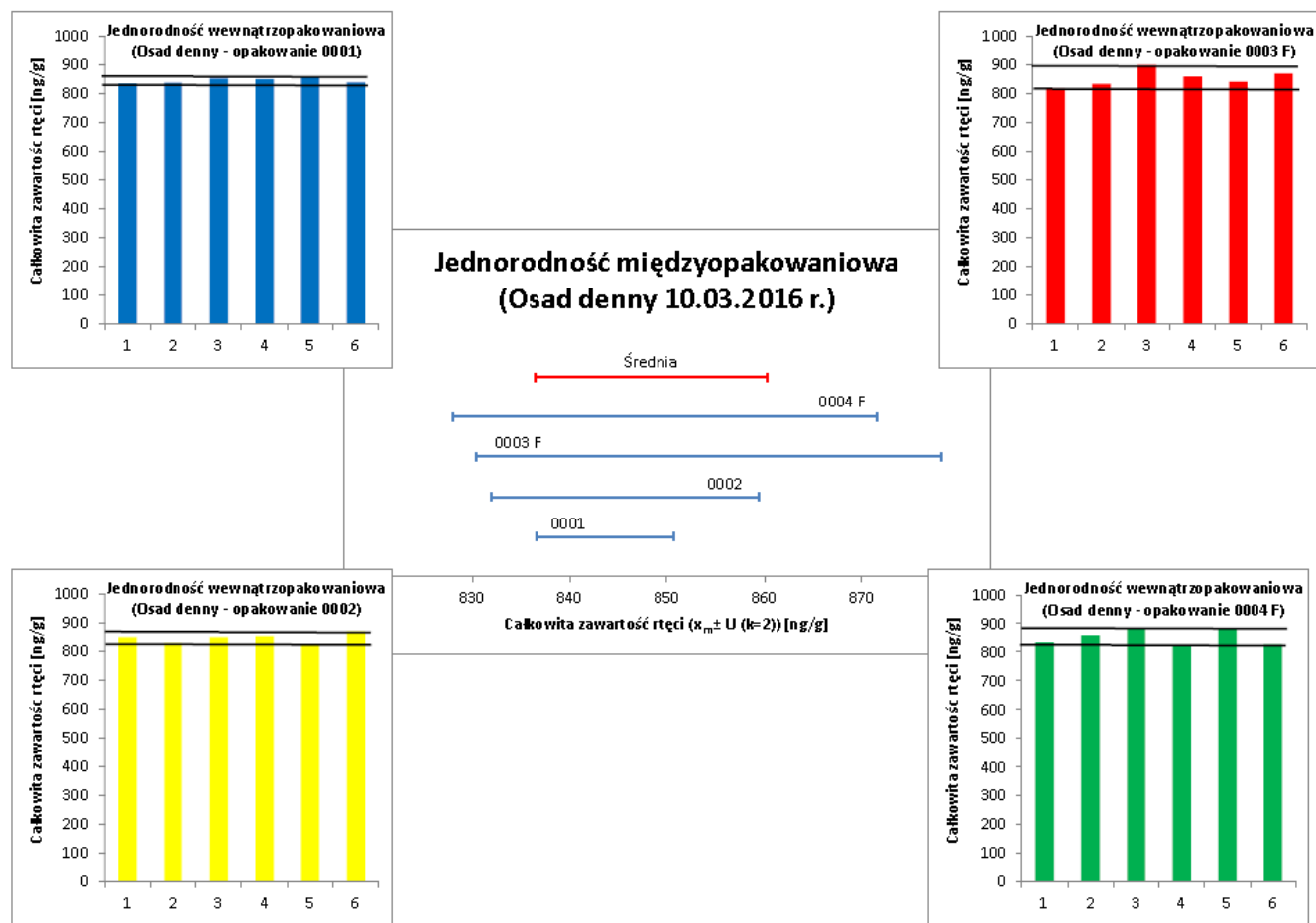
Rysunek 12: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzpakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości Hg w glebie, która stanowiła kandydata na certyfikowany materiał odniesienia (ostatnia seria).

Tabela 9: Wyniki analizy wariancji jednoskładnikowej dla całkowitej zawartości rtęci w próbkach kandydatów na materiały odniesienia, których matryce stanowił osad denny.

Analit	Typ próbki	Data analizy próbki	Nr opakowania	Średnia [ng/g]	U(k=2) [ng/g]	Analiza wariancji	Źródło wariancji	F	F _{krytyczne}	CV	CV _g
Rtęć	Osad denny	19.12.2013 r.	0001	843	16	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	1,33	2,59	2,8 %	-
			0002	848,6	9,2						
			0003	868	20		W obrębie grup				
			0004	835	16						
			0005	845	20						
			0006	840	20						
		21.02.2014 r.	0001	935	17	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	1,36	2,59	2,8 %	-
			0002	942,0	9,9						
			0003	964	23		W obrębie grup				
			0004 F	927	17						
			0005 F	938	23						
			0006 F	932	22						
		12.06.2014 r.	0001	899	18	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	1,67	2,52	8,9 %	-
			0002	883	48						
			0003	842	28		W obrębie grup				
			0004 F	924	73						
			0005 F	907	57						
			0006 F	854	44						
		20.01.2015 r.	0001	823	24	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	2,27	2,56	6,5 %	-
			0002	866	43						
			0003	819	10		W obrębie grup				
			0004 F	819	14						
			0005 F	861	40						
			0006 F	859	29						
8.06.2015 r.	0001	918	27	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	1,06	2,56	3,5 %	-		
	0002	911	19								
	0003	933	18		W obrębie grup						
	0004 F	909	37								
	0005 F	894	24								
	0006 F	912	28								
10.03.2016 r.	0001	843,7	7,1	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	0,26	2,56	1,2 %	-		
	0002	846	14								
	0003 F	854	24		W obrębie grup						
	0004 F	850	22								



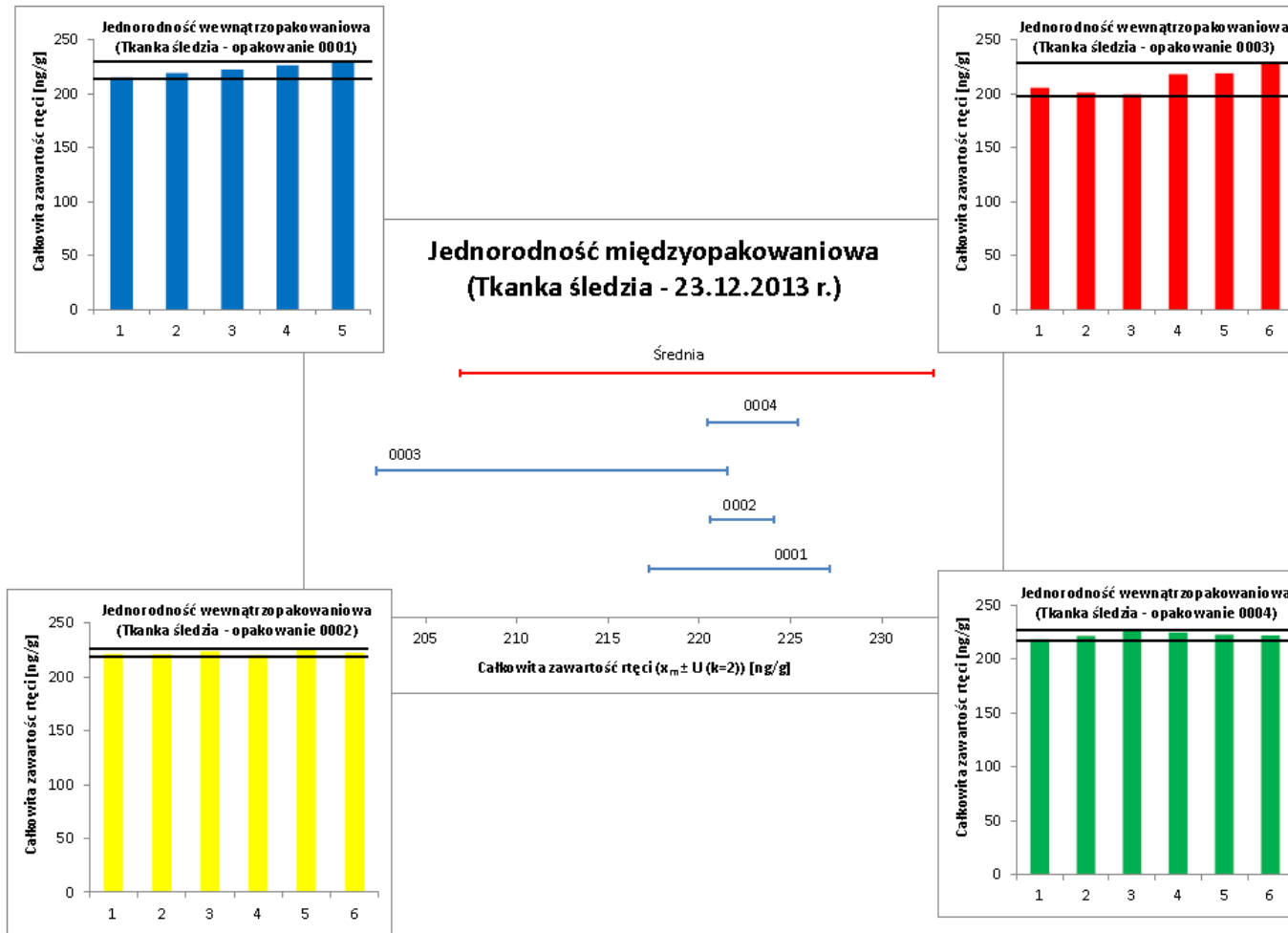
Rysunek 13: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzpakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości Hg w osadzie dennym, który stanowił kandydata na certyfikowany materiał odniesienia (pierwsza seria).



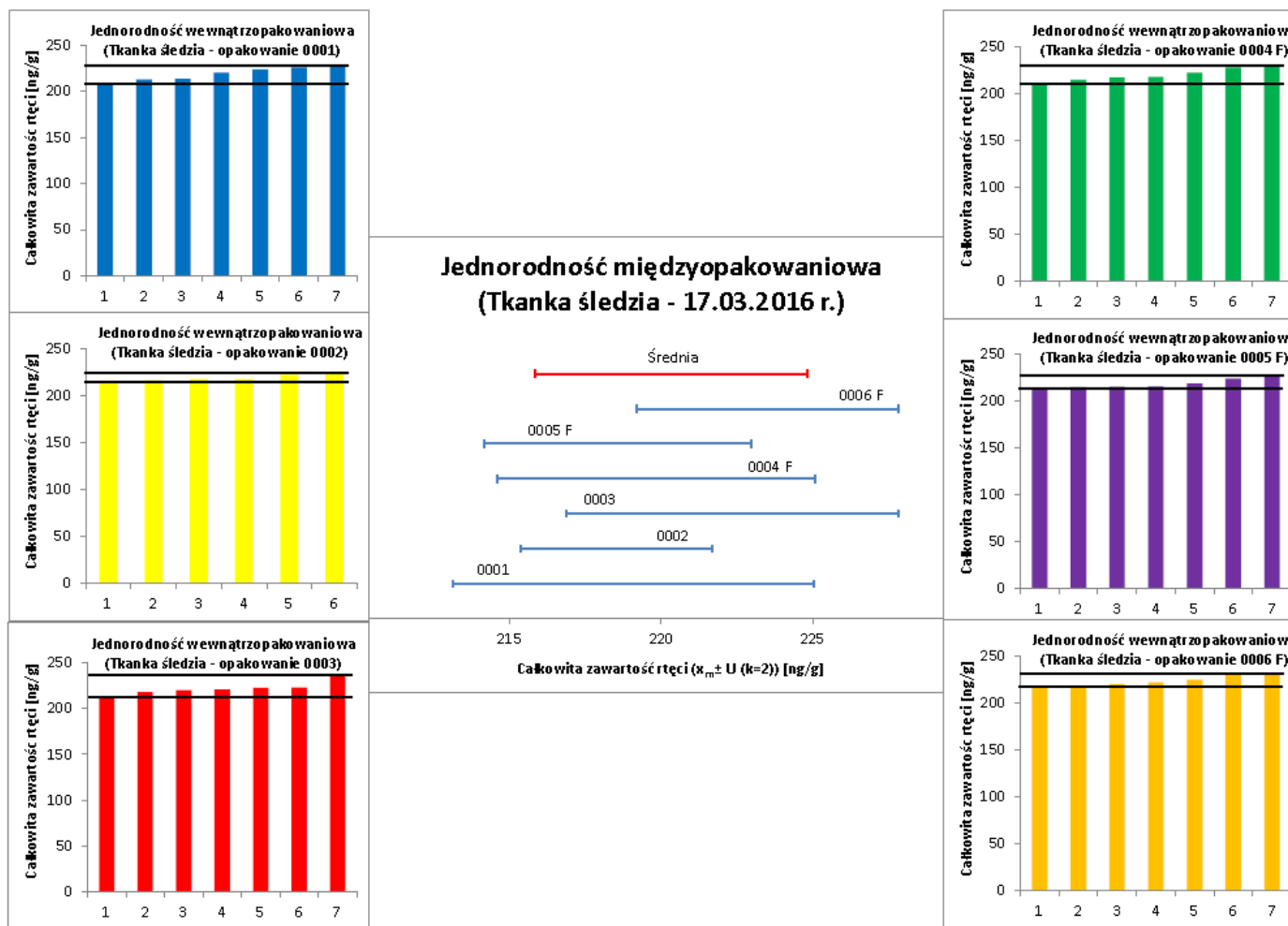
Rysunek 14: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzpakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości Hg w osadzie dennym, który stanowił kandydata na certyfikowany materiał odniesienia (ostatnia seria).

Tabela 10: Wyniki analizy wariancji jednoskładnikowej dla całkowitej zawartości rtęci w próbkach kandydatów na materiały odniesienia, których matryce stanowiła tkanka śledzia.

Analit	Typ próbki	Data analizy próbki	Nr opakowania	Średnia [ng/g]	U(k=2) [ng/g]	Analiza wariancji	Źródło wariancji	F	F _{krytyczne}	CV	CV _g
Rtęć	Tkanka śledzia	23.12.2013 r.	0001	222,2	5,0	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	3,57	3,13	5,9 %	6,6 %
			0002	222,3	1,8		W obrębie grup			3,1 %	
			0003	212	10						
		25.02.2014 r.	0001	214,8	5,1	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	1,42	2,55	3,3 %	-
			0002	216,7	5,5		W obrębie grup			2,8 %	
			0003	216,2	5,9						
			0004 F	217,9	3,8						
			0005 F	221,0	2,6						
			0006 F	222,5	5,6						
		16.06.2014 r.	0001	219,2	4,4	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	1,47	2,52	2,6 %	-
			0002	218,5	3,2		W obrębie grup			2,1 %	
			0003	219,9	2,9						
			0004 F	219,8	3,8						
			0005 F	216,9	3,4						
			0006 F	223,5	4,3						
		19.01.2015 r.	0001	198,7	7,1	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	1,31	2,60	3,2 %	-
			0002	201,5	4,5		W obrębie grup			2,8 %	
			0003	196,5	5,5						
			0004 F	198,4	4,2						
			0005 F	195,4	4,1						
			0006 F	203,0	3,8						
		19.06.2015 r.	0001	202,3	6,9	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	0,30	2,56	2,0 %	-
			0002	202,2	6,5		W obrębie grup			3,7 %	
			0003	203,7	8,4						
			0004 F	201,9	4,2						
			0005 F	199,2	4,0						
			0006 F	204,2	5,5						
		17.03.2016 r.	0001	219,1	5,9	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	0,74	2,49	2,5 %	-
			0002	218,5	3,2		W obrębie grup			2,9 %	
			0003	222,4	5,5						
0004 F	219,8		5,3								
0005 F	218,6		4,4								
0006 F	223,5		4,3								



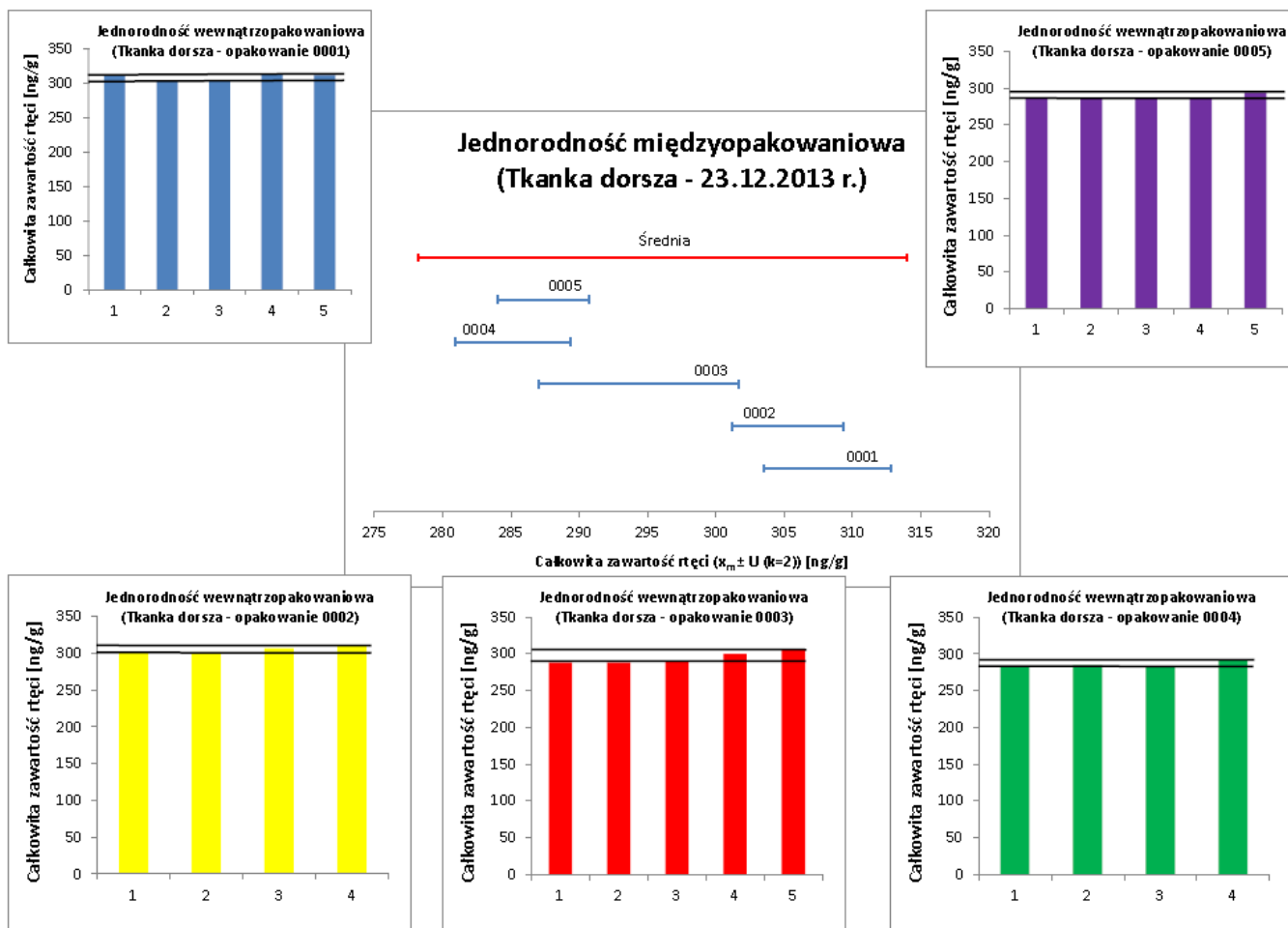
Rysunek 15: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzpakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości Hg w tkance śledzia, który stanowił kandydata na certyfikowany materiał odniesienia (pierwsza seria).



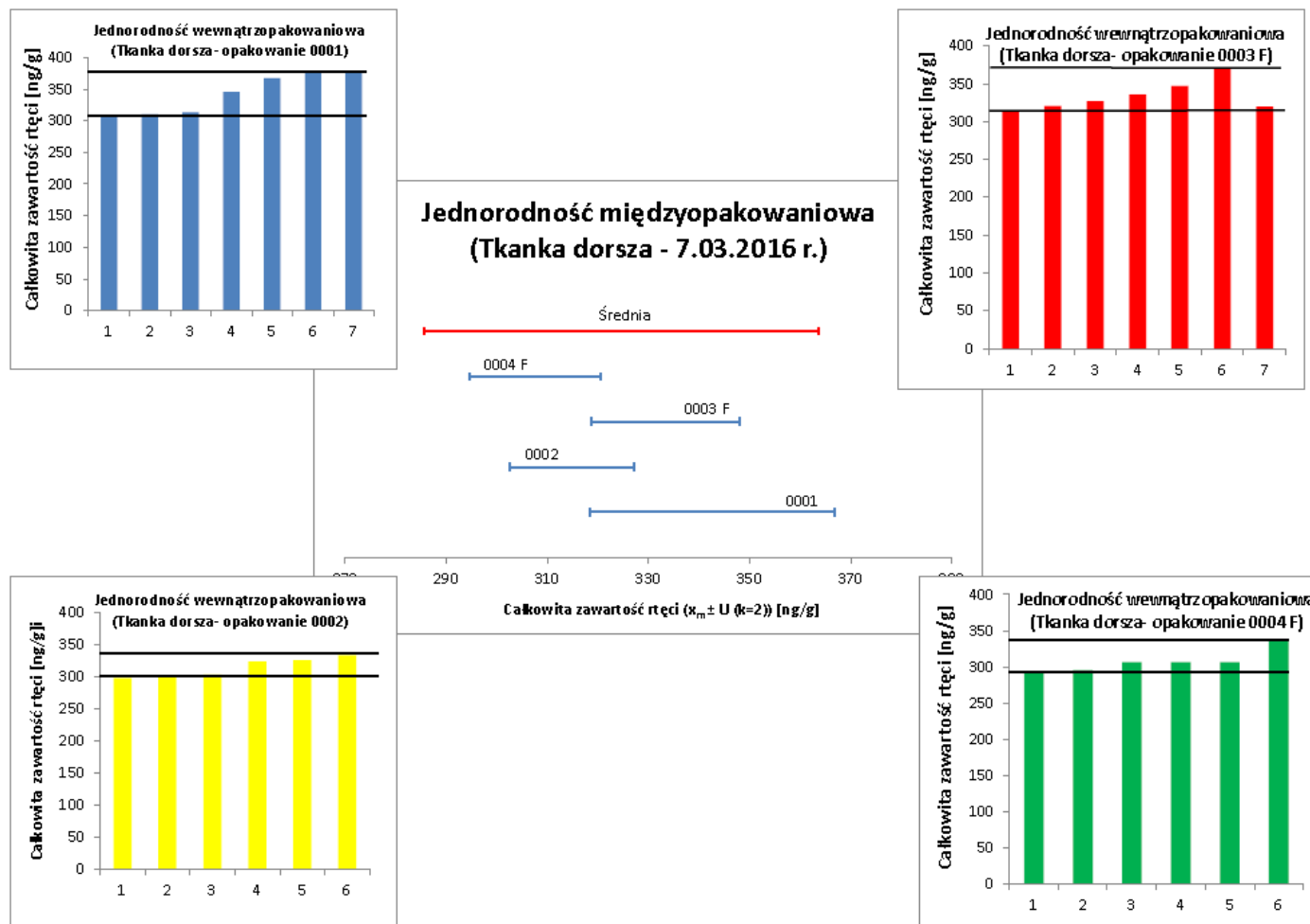
Rysunek 16: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzpakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości Hg w tkance śledzia, który stanowił kandydata na certyfikowany materiał odniesienia (ostatnia seria).

Tabela 11: Wyniki analizy wariancji jednoskładnikowej dla całkowitej zawartości rtęci w próbkach kandydatów na materiały odniesienia, których matryce stanowiła tkanka dorsza.

Analit	Typ próbki	Data analizy próbki	Nr opakowania	Średnia [ng/g]	U(k=2) [ng/g]	Analiza wariancji	Źródło wariancji	F	F _{krytyczne}	CV	CV _g
Rtęć	Tkanka dorsza	23.12.2013 r.	0001	308,2	4,7	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	16,22	2,93	7,4 %	7,66%
			0002	305,2	4,1		W obrębie grup				
			0003	294,3	7,3						
			0004	285,1	4,2						
			0005	287,4	3,3						
		6.02.2014 r.	0001	288,5	5,8	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	5,68	2,90	12 %	13,51%
			0002	315	16		W obrębie grup				
			0003	304	12						
			0004 F	335	23						
			0005 F	302,0	5,9						
		18.06.2014 r.	0001	315,3	3,6	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	1,88	2,51	3,4 %	-
			0002	320,1	8,4		W obrębie grup				
			0003	311,5	8,6						
			0004 F	311,0	5,4						
			0005 F	308,9	3,1						
			0006 F	310,4	3,0						
		12.01.2015 r.	0001	266,9	3,8	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	0,47	2,62	2,6 %	-
			0002	272	12		W obrębie grup				
			0003	268	10						
			0004 F	265,5	8,4						
			0005 F	270	10						
			0006 F	263,4	6,7						
		23.06.2015 r.	0001	296	13	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	2,63	3,24	5,6 %	-
			0002	291,6	6,4		W obrębie grup				
			0003 F	282,2	5,5						
			0004 F	298,8	9,5						
		10.12.2015 r.	0001	299,9	3,8	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	12,80	3,06	4,8 %	5,0 %
			0002	285,8	3,7		W obrębie grup				
			0003	304,9	5,0						
			0004 F	294,0	4,2						
0005 F	295,1		3,0								
7.03.2016 r.	0001	343	24	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	3,45	3,05	13 %	14 %		
	0002	315	12		W obrębie grup						
	0003 F	333	15								
	0004 F	308	13								



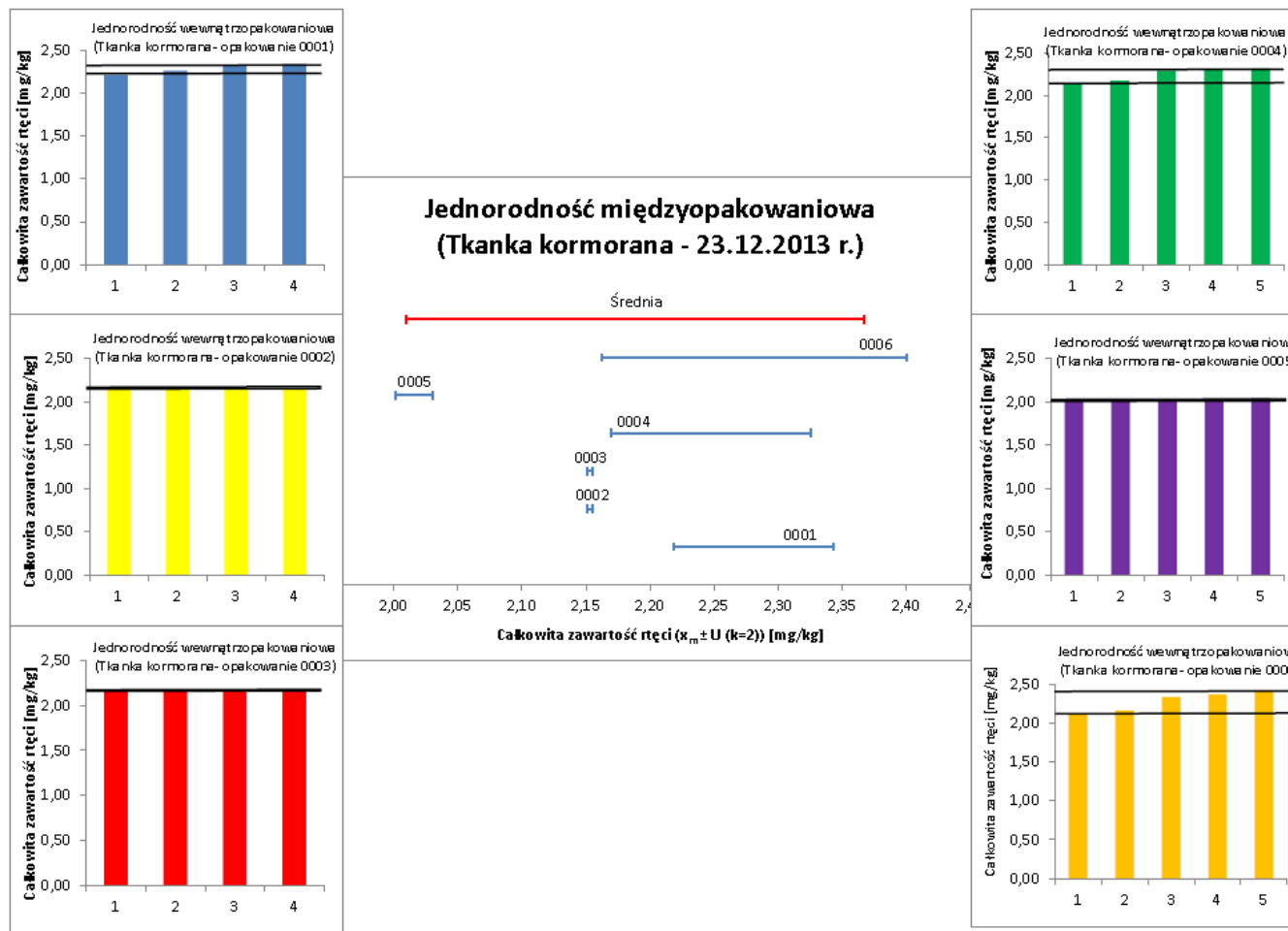
Rysunek 17: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzpakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości Hg w tkance dorsza, który stanowił kandydata na certyfikowany materiał odniesienia (pierwsza seria).



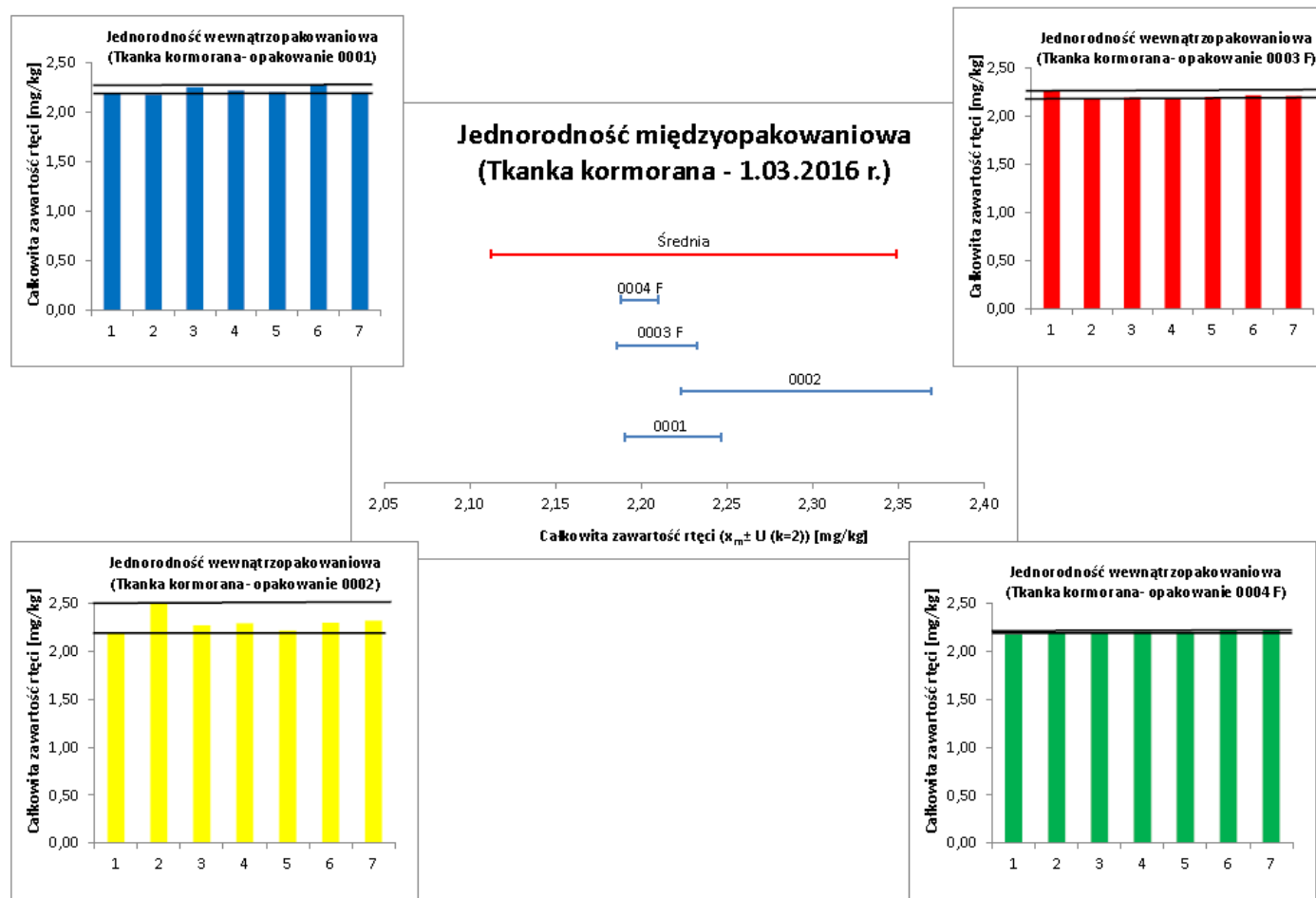
Rysunek 18: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzpakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości Hg w tkance dorsza, który stanowił kandydata na certyfikowany materiał odniesienia (ostatnia seria).

Tabela 12: Wyniki analizy wariancji jednoskładnikowej dla całkowitej zawartości rtęci w próbkach kandydatów na materiały odniesienia, których matryce stanowiła tkanka kormorana.

Aanlit	Typ próbki	Data analizy próbki	Nr opakowania	Średnia [mg/kg]	U(k=2) [mg/kg]	Analiza wariancji	Źródło wariancji	F	F _{krytyczne}	CV	CV
Rtęć	Tkanka kormorana	23.12.2013 r.	0001	2,281	0,062	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	9,36	2,68	10 %	11 %
			0002	2,1530	0,0018						
			0003	2,1531	0,0017		W obrębie grup				
			0004	2,248	0,078						
			0005	2,016	0,015						
			0006	2,28	0,12						
		19.03.2014 r.	0001	2,297	0,070	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	0,62	2,53	1,8 %	-
			0002	2,289	0,030						
			0003	2,284	0,036		W obrębie grup				
			0004 F	2,285	0,040						
			0005 F	2,320	0,039						
			0006 F	2,321	0,032						
		4.06.2014 r.	0001	2,319	0,013	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	1,19	2,53	1,2 %	-
			0002	2,333	0,008						
			0003	2,330	0,026		W obrębie grup				
			0004 F	2,341	0,022						
			0005 F	2,324	0,030						
			0006 F	2,309	0,017						
		16.12.2014 r.	0001	1,956	0,024	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	11,41	2,66	4,3 %	4,5 %
			0002	1,983	0,026						
			0003	2,000	0,028		W obrębie grup				
			0004 F	2,052	0,024						
			0005 F	1,974	0,022						
			0006 F	2,0559	0,0089						
		1.06.2015 r.	0001	2,19	0,17	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	1,10	2,76	6,9 %	-
			0002	2,11	0,11						
			0003	2,14	0,11		W obrębie grup				
			0004 F	2,20	0,12						
			0005 F	2,275	0,059						
		10.12.2015 r.	0001	2,156	0,009	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	5,92	2,62	5,8 %	6,3 %
			0002	2,312	0,089						
			0003	2,173	0,028		W obrębie grup				
			0004 F	2,178	0,018						
			0005 F	2,180	0,046						
			0006 F	2,184	0,046						
		1.03.2016 r.	0001	2,219	0,028	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	4,61	3,01	5,6 %	5,8 %
			0002	2,296	0,073						
			0003 F	2,209	0,023		W obrębie grup				
			0004 F	2,199	0,011						



Rysunek 19: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzopakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości Hg w tkance kormorana, który stanowił kandydata na certyfikowany materiał odniesienia (pierwsza seria).



Rysunek 20: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzpakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości Hg w tkance kormorana, który stanowił kandydata na certyfikowany materiał odniesienia (ostatnia seria).

6.1.3. Wyniki oznaczania metylortęci w próbkach, których matryce stanowią: tkanka śledzia, tkanka dorsza i tkanka kormorana czarnego

W wyniku przeprowadzonych analiz uzyskano zbiór danych pomiarowych. W celu sprawdzenia, czy w danym zbiorze wyników nie ma wyników obarczonych błędem grubym i wyników o wartości odstającej od pozostałych uzyskanych wartości zastosowano, podobnie jak w przypadku zbioru danych dotyczących całkowitej zawartości rtęci, dwa testy statystyczne: test Grubbsa i test Q-Dixona. Wartości uznane za obciążone błędem grubym i odstające od pozostałych nie brano były pod uwagę przy dalszych obliczeniach. W Aneksie 3 zestawiono pełną informację o wynikach pomiaru zawartości metylortęci w analizowanych próbkach wraz z wartościami odbiegającymi (wg testu Q-Dixona i testu Grubbsa).

Po wstępnym przedstawieniu w sposób graficzny jednorodności międzyopakowaniowej na podstawie oznaczenia zawartości metylortęci w analizowanych materiałach, zaobserwowano dwie grupy wyników. Jedna grupa dotyczyła średnich zawartości metylortęci w próbkach przechowywanych w obniżonej temperaturze, druga natomiast średnich wartości stężeń metylortęci w próbkach przechowywanych w temperaturze pokojowej. Ze względu na taki rozkład wyników zdecydowano o przeprowadzeniu dodatkowych testów statystycznych.

W celu porównania wartości odchyłeń standardowych dla dwóch zbiorów wyników: zbioru wartości stężeń metylortęci w próbkach przechowywanych w temperaturze pokojowej oraz zbioru wartości stężeń metylortęci w próbkach przechowywanych w zamrażarkach, zastosowano test F-Sendecora [186].

Obliczono wartości odchyłeń standardowych (*SD*) dla dwóch serii wyników średnich zawartości metylortęci uzyskanych podczas analizy próbek przechowywanych w temperaturach odpowiednio 20°C i -20°C. Następnie obliczono wartości parametrów F-Sendecora według wzoru:

$$F = \frac{\frac{n_1}{n_1-1} SD_1^2}{\frac{n_2}{n_2-1} SD_2^2} \quad (6.5)$$

Uzyskane wartości porównano z wartościami krytycznymi $F_{krytyczne}$. W przypadku wyników uzyskanych dla tkanki dorsza wartość *F* była większa niż odczytana z tablic wartość krytyczna $F_{krytyczne}$ zatem uznano, że porównywane wartości odchyłeń standardowy różnią się między sobą w sposób statystycznie istotny ($F > F_{krytyczne}$). Ze względu na otrzymany rezultat (wartości odchyłeń standardowych różnią się w sposób statystycznie istotny) zastosowano kolejno test Cochran-Coxa [186] w celu porównania wartości średnich stężeń metylortęci dla zbiorów wyników dotyczących tkanki dorsza. Postępowanie rozpoczęto od obliczenia parametru *C* według wzoru:

$$C = \frac{|x_{1\bar{s}r} - x_{2\bar{s}r}|}{\sqrt{z_1 - z_2}} \quad (6.6)$$

Przy czym:

$$z_1 = \frac{SD_1^2}{n_1 - 1} \quad (6.7)$$

$$z_2 = \frac{SD_2^2}{n_2 - 1} \quad (6.8)$$

Następnie obliczono wartość krytyczną parametru C (C_{kr}) według wzoru:

$$C_{kr} = \frac{z_1 t_1 + z_2 t_2}{z_1 + z_2} \quad (6.9)$$

Gdzie:

t_1, t_2 – wartości krytyczne odczytane z tablicy rozkładu t-Studenta odpowiednio dla $f_1 = n_1 - 1$ i $f_2 = n_2 - 1$ liczb stopni swobody dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$.

Po wykonaniu wszystkich obliczeń porównano wartość krytyczną parametru C_{kr} z wartością obliczoną C i stwierdzono, że na danym poziomie istotności porównywane wartości średnie różnią się między sobą w sposób statystycznie istotny.

W przypadku wyników uzyskanych po wykonaniu testu F-Sendecora dla tkanki śledzia i kormorana wartość F nie przewyższa odczytanej z tablic wartości krytycznej $F_{krytyczne}$ uznano zatem, że porównywane wartości odchyłeń standardowy nie różnią się między sobą w sposób statystycznie istotny ($F < F_{krytyczne}$). Ze względu na otrzymany rezultat (wykazanie nieistotności różnic wariancji dla porównywanych zbiorów wyników), kolejny etap obliczeń statystycznych dotyczył wartości średnich zawartości metylortęci w tkankach kormorana i śledzia. Dzięki wykorzystaniu testu t-Studenta [186] możliwe było porównanie dwóch wartości średnich (dotyczących różnych temperatur przechowywania próbek) pod względem ich dokładności.

Obliczenia rozpoczęto od obliczenia wartości parametru t-Studenta zgodnie z zależnością:

$$t = \frac{|x_{\bar{s}r1} - x_{\bar{s}r2}|}{\sqrt{(n_1 - 1) \cdot SD_1^2 + (n_2 - 1) \cdot SD_2^2}} \cdot \sqrt{\frac{n_1 n_2 (n_1 + n_2 - 2)}{n_1 + n_2}} \quad (6.10)$$

Następnie z tablic rozkładu t-Studenta odczytano dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$ oraz liczby stopni swobody $f = n_1 + n_2 - 2$ wartość parametru krytycznego t_{kr} i porównano go z obliczoną wartością t . W obu przypadkach- zarówno dla wyników uzyskanych po analizie tkanki kormorana jak i śledzia, wartość t przewyższała wartość t_{kr} ($t > t_{kr}$), wysnuto zatem wniosek, że uzyskane wyniki różnią się w sposób statystycznie istotny.

Biorąc pod uwagę wyniki wszystkich wykonanych testów statystycznych zdecydowano o badaniu jednorodności na podstawie średnich zawartości metylortęci w próbkach materiałów dla dwóch osobnych grup wyników: próbek przechowywanych w temperaturze pokojowej (20°C) oraz dla próbek przechowywanych w zamrażarkach (-20°C).

W tabeli 13 zestawiono pełną informację o wynikach wszystkich przeprowadzonych testów statystycznych dla wartości stężeń metylortęci w analizowanych próbkach kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia.

Tabela 13: Wyniki przeprowadzonych testów statystycznych dla wartości stężeń metylortęci w analizowanych próbkach kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia.

Analit	Typ próbki	Temp. przechowywania	Średnia [ng/g]	SD [ng/g]	CV	n	F	F _{krytyczne}	z ₁	z ₂	C	C _{kr}
Metylortęć	Tkanka dorsza	20 °C	219,4	7,7	3,5%	31	4,11	1,70	2,0	0,38	7,1	4,3
		-20 °C	208,5	3,8	1,8%	40		1,68				
				Średnia [mg/kg]							t	t_{kr}
	Tkanka kormorana	20 °C	1,702	0,082	4,8%	39	1,61	1,68	14,40	2,99		
		-20 °C	1,462	0,065	4,4%	40		1,68				
				Średnia [ng/g]							t	t_{kr}
	Tkanka śledzia	20 °C	132,1	6,3	4,8%	40	1,39	1,68	27,00	2,99		
		-20 °C	167,1	5,4	3,2%	42		1,68				

6.1.4. Analiza wariancji – określenie jednorodności kandydatów na materiał odniesienia (metylortęć)

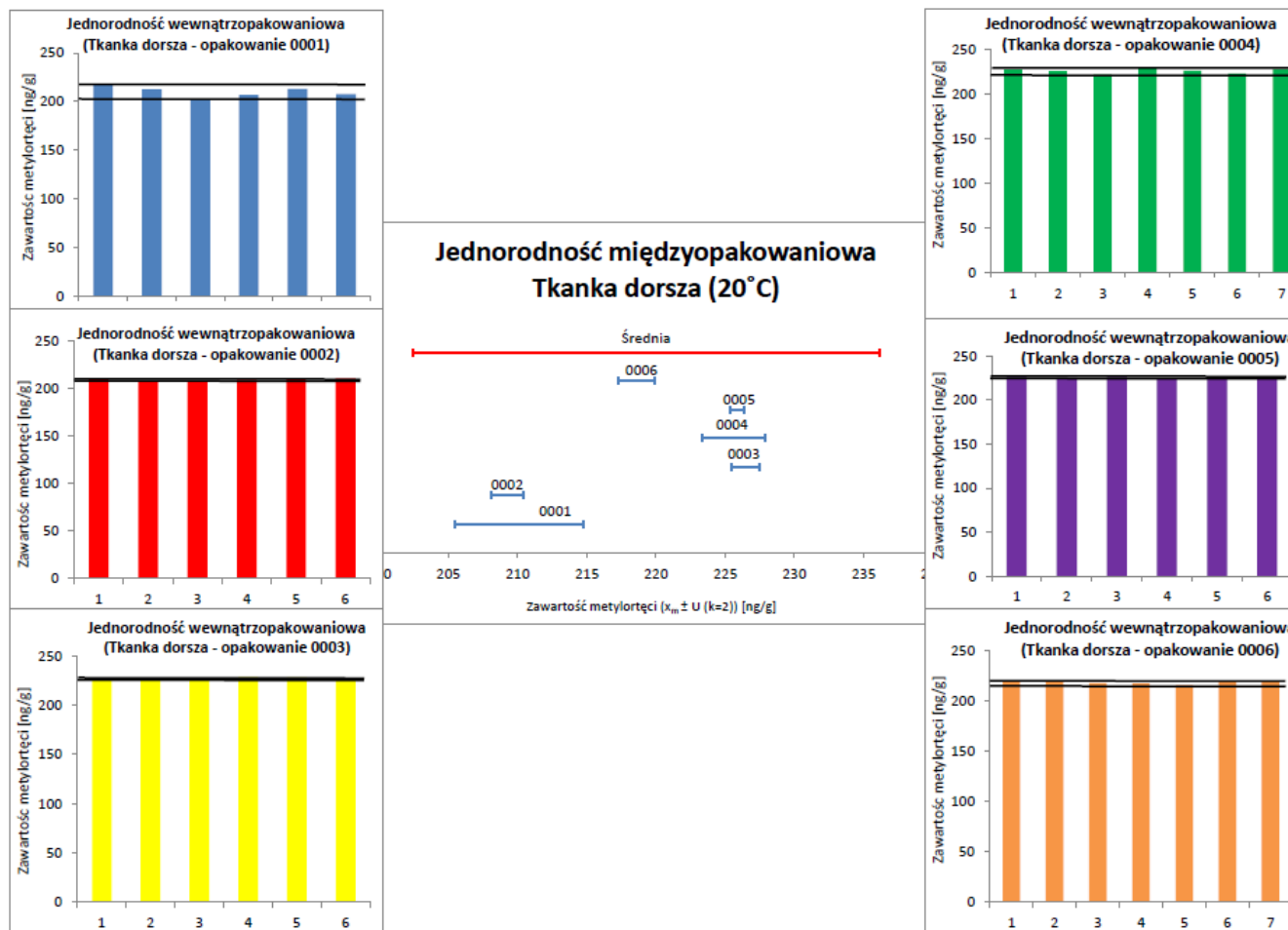
Podobnie jak w przypadku zbioru wyników całkowitej zawartości rtęci, tak i w przypadku zbioru wartości średnich stężeń metylortęci w analizowanych próbkach, do opracowania uzyskanych wyników wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji ANOVA.

Uzyskane wyniki analizy wariancji zawartości metylortęci z odpowiadającymi im wartościami całkowitej rozszerzonej niepewności na poziomie ufności 95 % w poszczególnych próbkach (podzielonych na dwie grupy- w zależności od warunków przechowywania: próbki przechowywane w zamrażarce /F/ oraz próbki przechowywane w temperaturze pokojowej /-/) zestawiono w tabeli 14. Natomiast na rysunkach 21 - 26 przedstawiono w sposób graficzny jednorodność wewnątrzopakowaniową i międzyopakowaniową podstawie wyników oznaczenia zawartości metylortęci w próbkach środowiskowych, które stanowiły kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia.

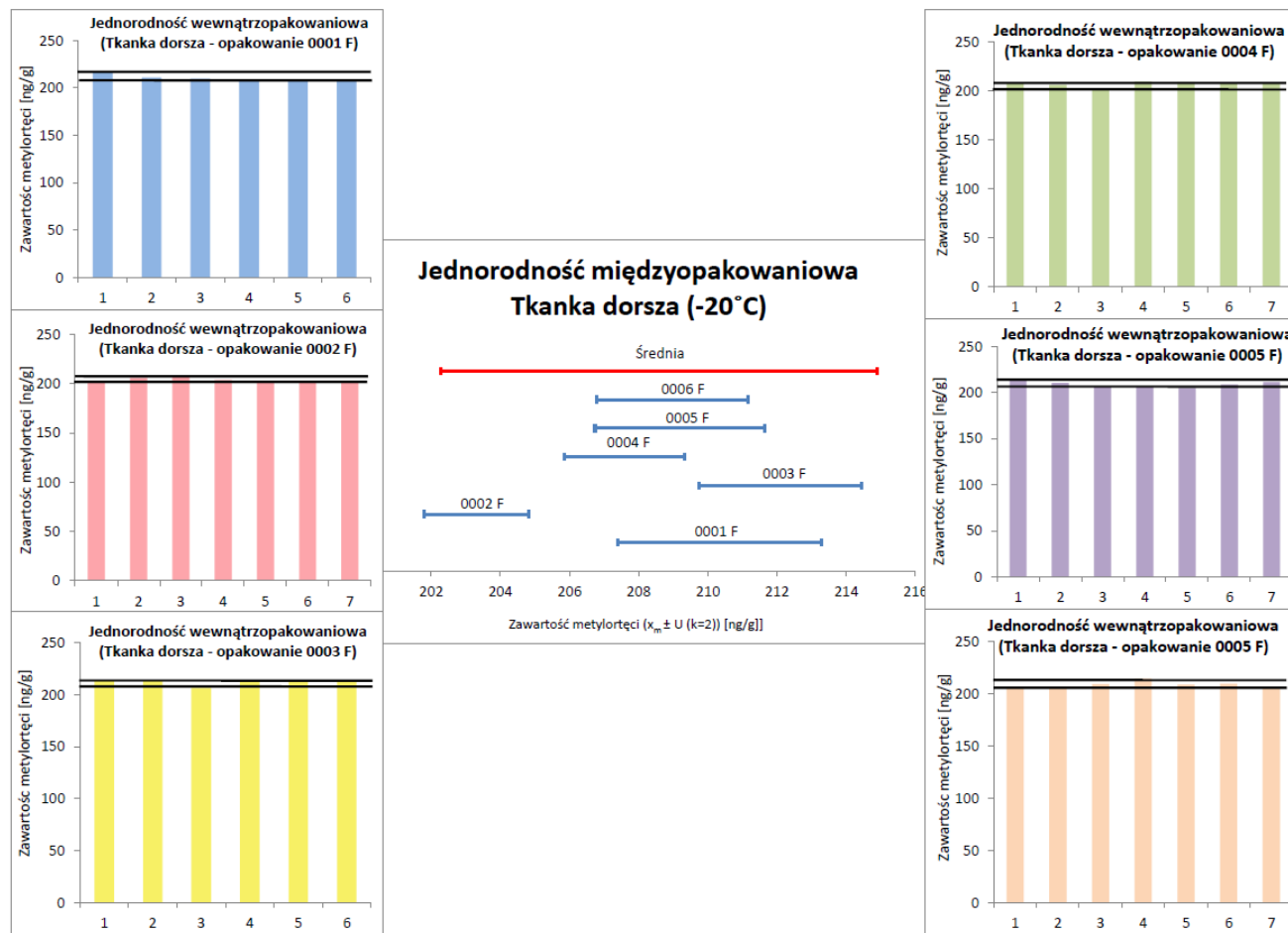
Wyniki analizy wariancji oznaczeń całkowitej zawartości rtęci wykazały, że w większości przypadków wartość parametru F jest większa od wartości $F_{krytyczne}$ ($F > F_{krytyczne}$). W związku z tym został dodatkowo obliczony parametr CV_g . Uzyskane wartości liczbowe parametrów CV_{bb} i CV_{wb} oraz CV_g są niskie i nie przekraczają założonej wartości 15 %, wykazując tym samym, że próbki - kandydaci na materiały odniesienia z certyfikowaną zawartością metylortęci spełniają warunek niejednorodności i można je uznać za jednorodne zarówno międzyopakowaniowo jak i wewnątrzopakowaniowo.

Tabela 14: Wyniki analizy wariancji jednoskładnikowej dla zawartości metylortęci w próbkach kandydatów na materiały odniesienia.

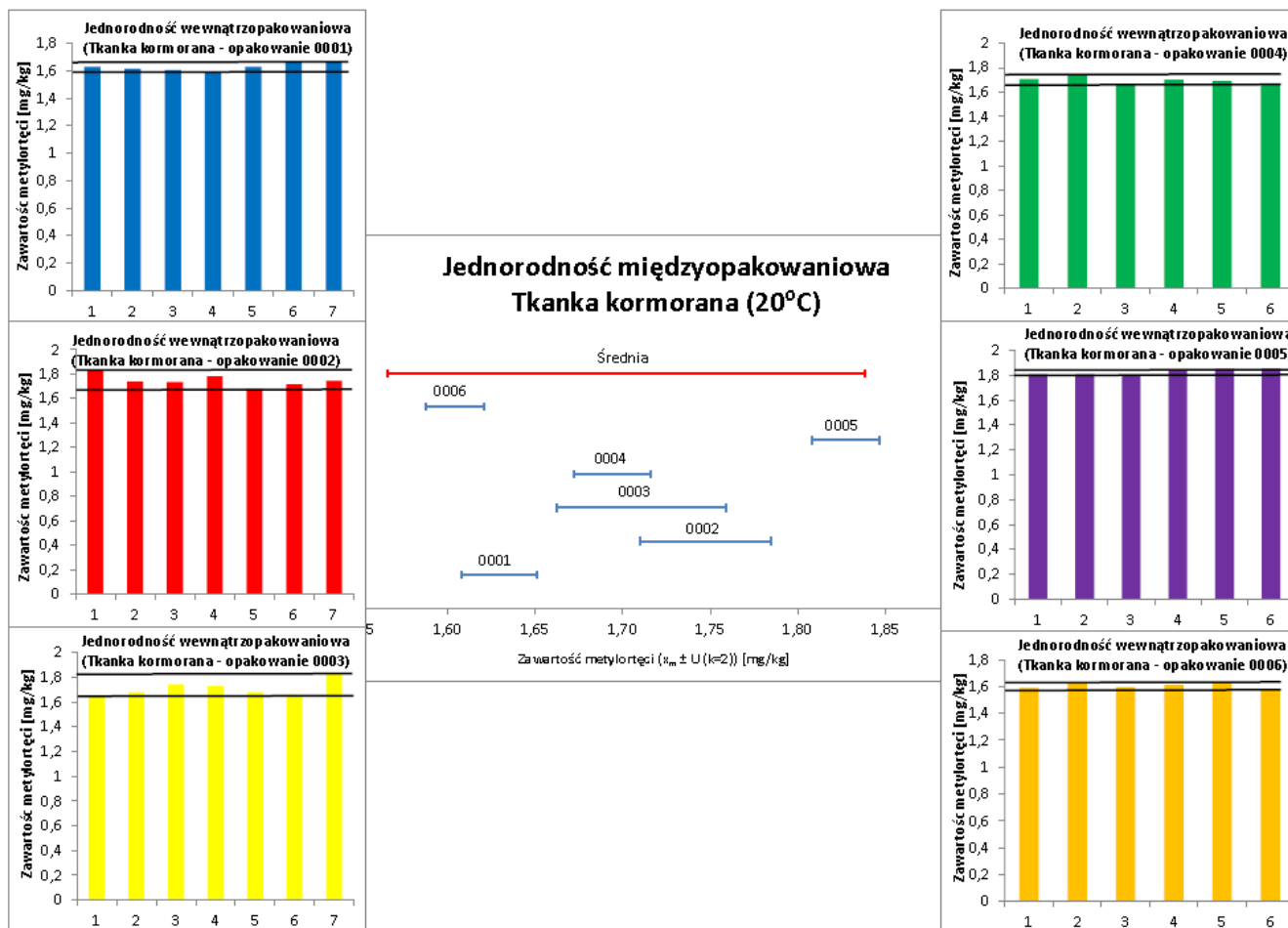
Analit	Typ próbki	Nr opakowania	Średnia [ng/g]/[mg/kg]	U(k=2) [ng/g]	Analiza wariancji	Źródło wariancji	F	F _{krytyczne}	CV	CV _g
Metylortęć	Tkanka śledzia	0001	121,4	4,1	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	151,86	2,49	13 %	13%
		0002	130,0	1,9						
		0003	127,91	0,81		W obrębie grup			1,1 %	
		0004	139,76	0,65						
		0005	137,7	1,3						
		0006	135,17	0,70						
		0001 F	176,4	2,1	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	26,76	2,48	8,2 %	8,3 %
		0002 F	165,1	1,7						
		0003 F	161,6	2,0		W obrębie grup			1,6 %	
		0004 F	166,5	2,3						
		0005 F	168,7	1,2						
		0006 F	164,1	2,5						
	Tkanka dorsza	0001	210,1	4,6	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	50,32	2,51	9,04%	9,1 %
		0002	209,2	1,2						
		0003	226,5	1,0		W obrębie grup			1,2 %	
		0004	225,6	2,3						
		0005	225,84	0,49						
		0006	218,6	1,3						
		0001 F	210,3	2,9	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	7,34	2,49	3,7 %	3,9 %
		0002 F	203,3	1,5						
		0003 F	212,1	2,3		W obrębie grup			1,4 %	
		0004 F	207,6	1,7						
		0005 F	209,2	2,4						
		0006 F	209,0	2,2						
Tkanka kormorana	0001	1,629	0,022	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	1,24	2,50	9,8 %	-	
	0002	1,747	0,038							
	0003	1,711	0,048		W obrębie grup			8,8 %		
	0004	1,694	0,022							
	0005	1,827	0,019							
	0006	1,604	0,017							
	0001 F	1,4988	0,0082	Analiza wariancji	Pomiędzy grupami	39,15	2,49	11 %	12 %	
	0002 F	1,528	0,011							
	0003 F	1,351	0,038		W obrębie grup			1,8 %		
	0004 F	1,489	0,011							
	0005 F	1,477	0,027							
	0006 F	1,4271	0,0088							



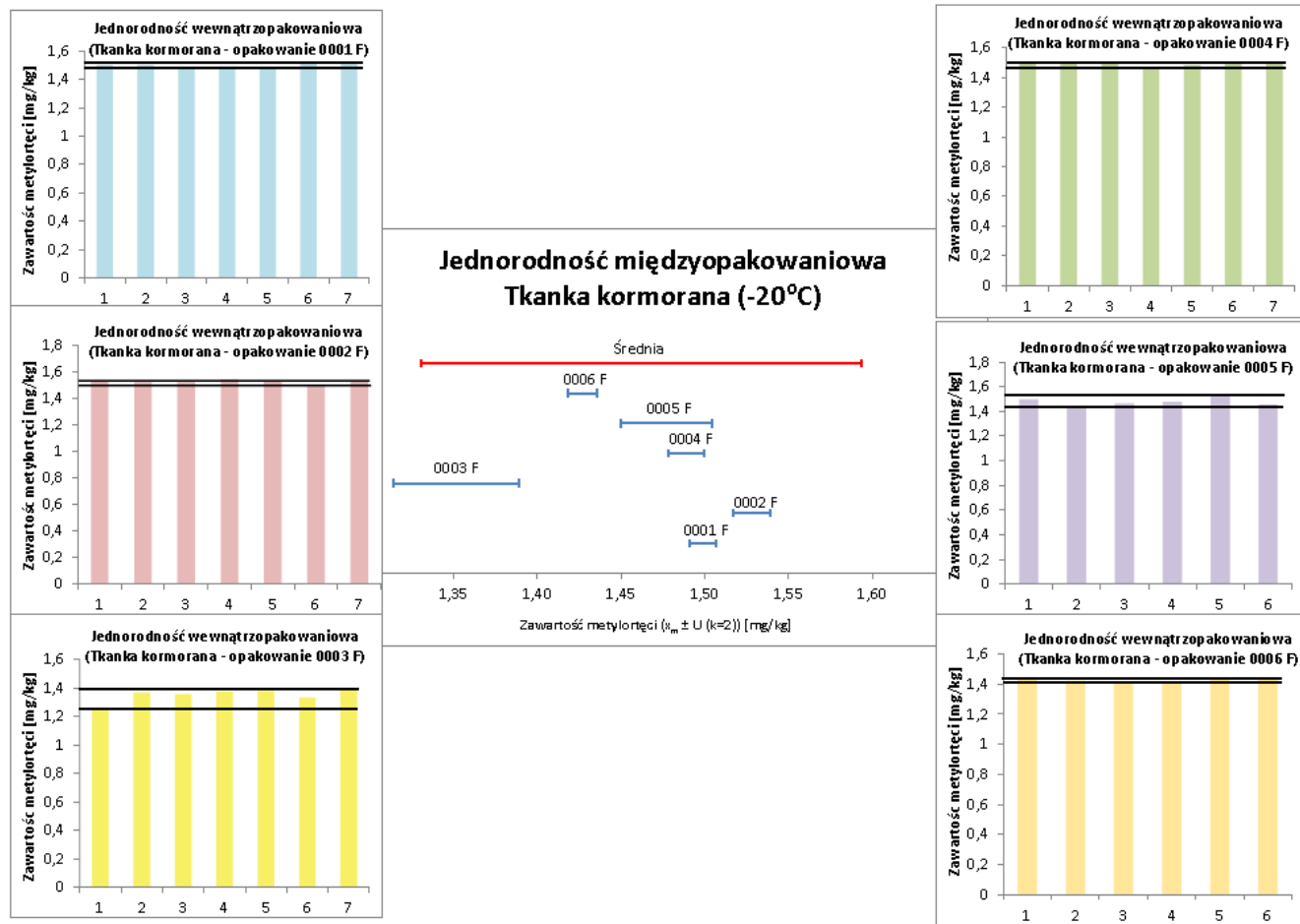
Rysunek 21: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzpakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości metylortęci w tkance dorsza przechowywanego w temperaturze 20°C, który stanowił kandydata na certyfikowany materiał odniesienia.



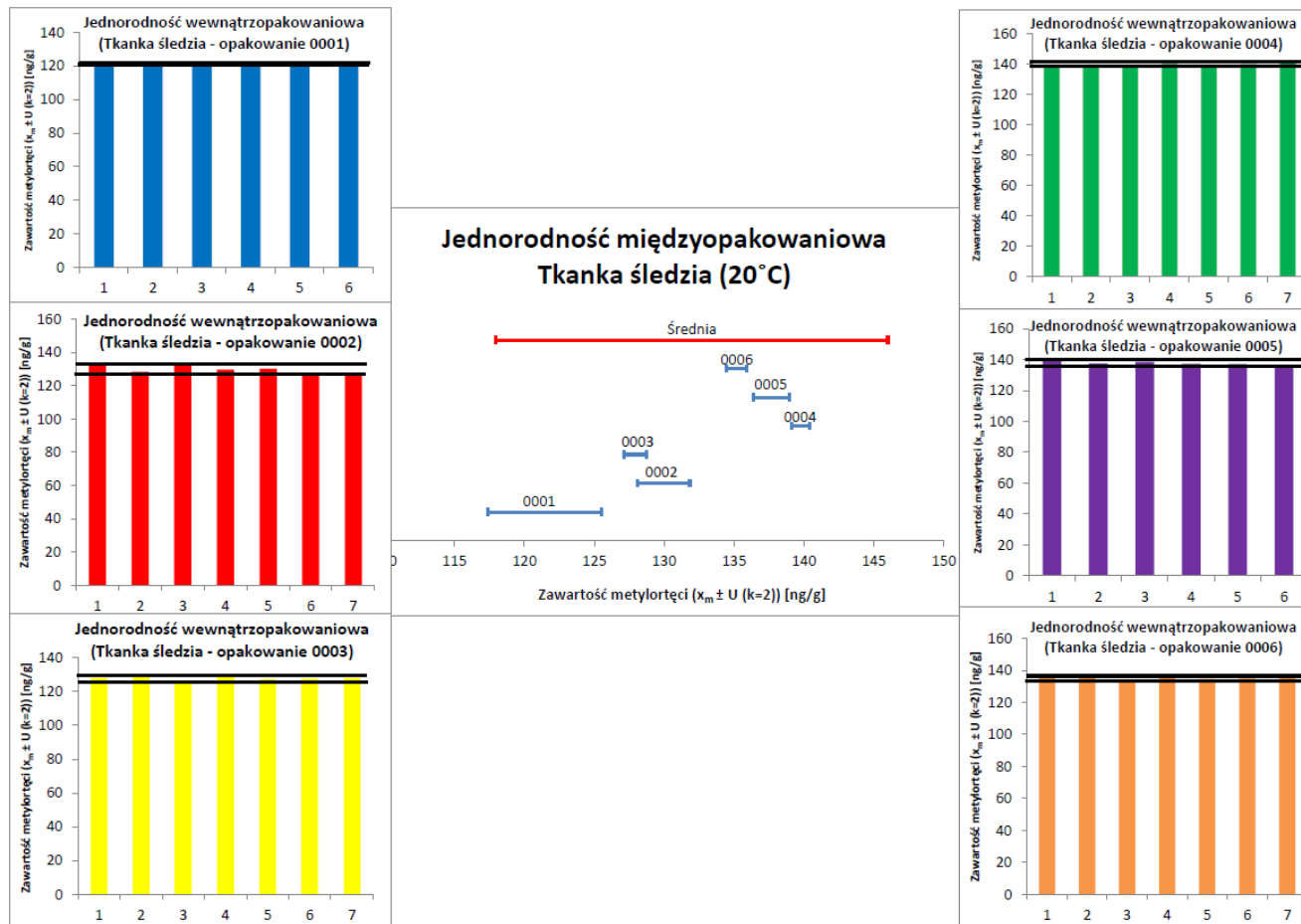
Rysunek 22: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzpakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości metylortęci w tkance dorsza przechowywanego w temperaturze -20°C, który stanowił kandydata na certyfikowany materiał odniesienia.



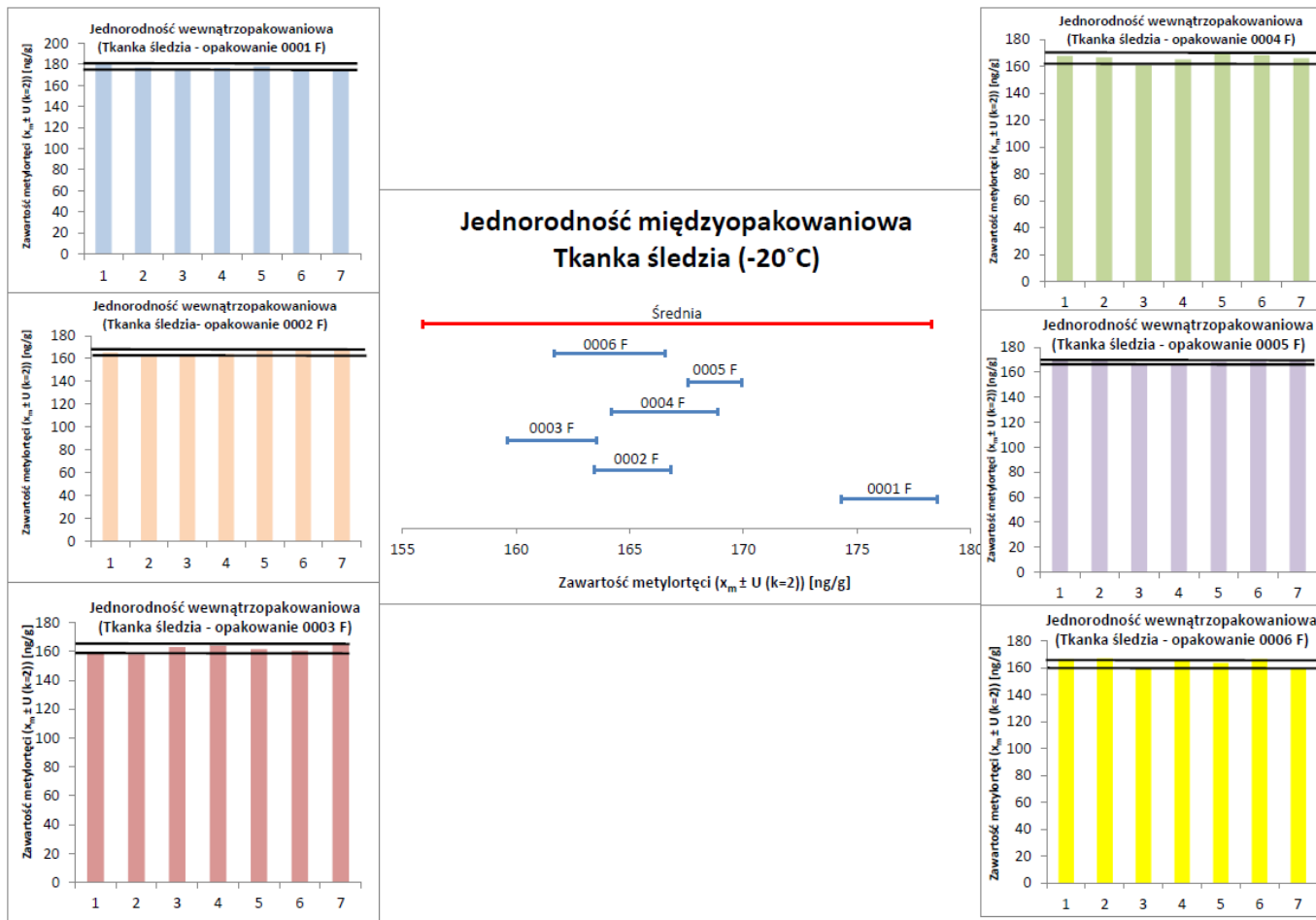
Rysunek 23: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzpakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości metylortęci w tkance kormorana przechowywanego w temperaturze 20°C, który stanowił kandydata na certyfikowany materiał odniesienia.



Rysunek 24: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzpakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości metylortęci w tkance kormorana przechowywanego w temperaturze -20°C, który stanowił kandydata na certyfikowany materiał odniesienia.



Rysunek 25: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzopakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości metylortęci w tkance śledzia przechowywanego w temperaturze 20°C, który stanowił kandydata na certyfikowany materiał odniesienia.



Rysunek 26: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań jednorodności wewnątrzopakowaniowej i międzyopakowaniowej dla zawartości metylortęci w tkance śledzia przechowywanego w temperaturze -20°C, który stanowił kandydata na certyfikowany materiał odniesienia.

6.2. Badanie trwałości certyfikowanych materiałów odniesienia

Trwałość materiału odniesienia wyznaczana jest w oparciu o analizę wartości certyfikowanych parametrów w próbkach materiałów przechowywanych w temperaturach zalecanych dla danego materiału odniesienia zakładając, że w tej temperaturze nie następuje zmiana składu materiału odniesienia. W związku z uzyskanymi wynikami w trakcie przeprowadzonych testów statystycznych dotyczących możliwej nietrwałości metylortęci w zależności od warunków przechowywania, badanie trwałości w ramach rozprawy doktorskiej zostało przeprowadzone tylko na podstawie całkowitej zawartości rtęci w badanych certyfikowanych materiałach odniesienia

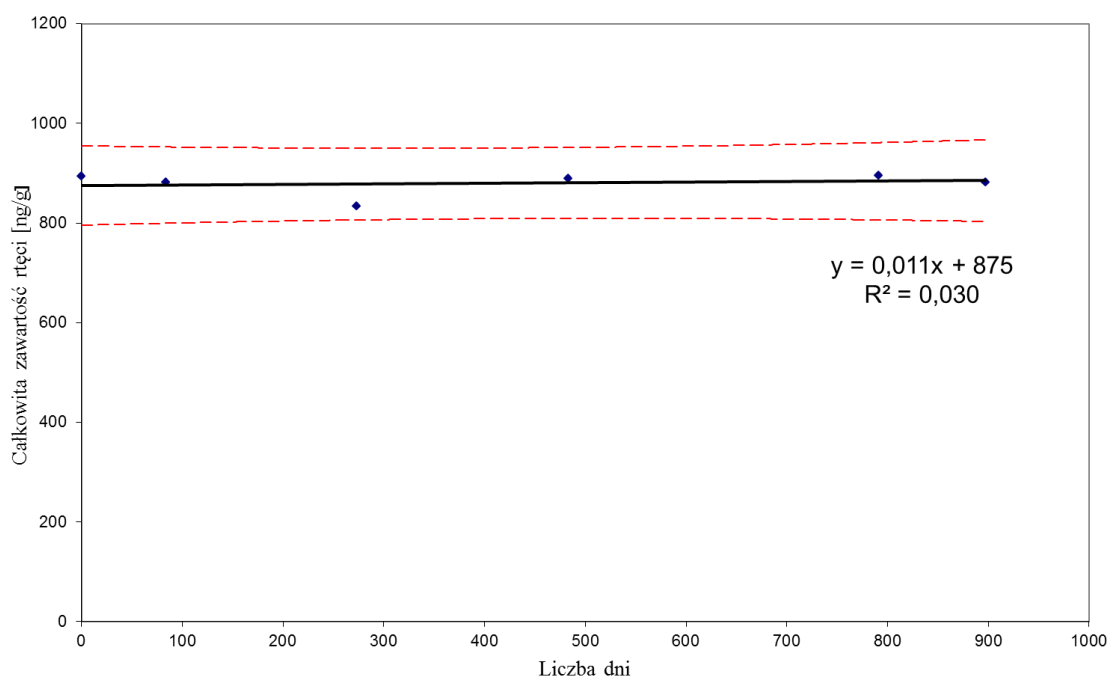
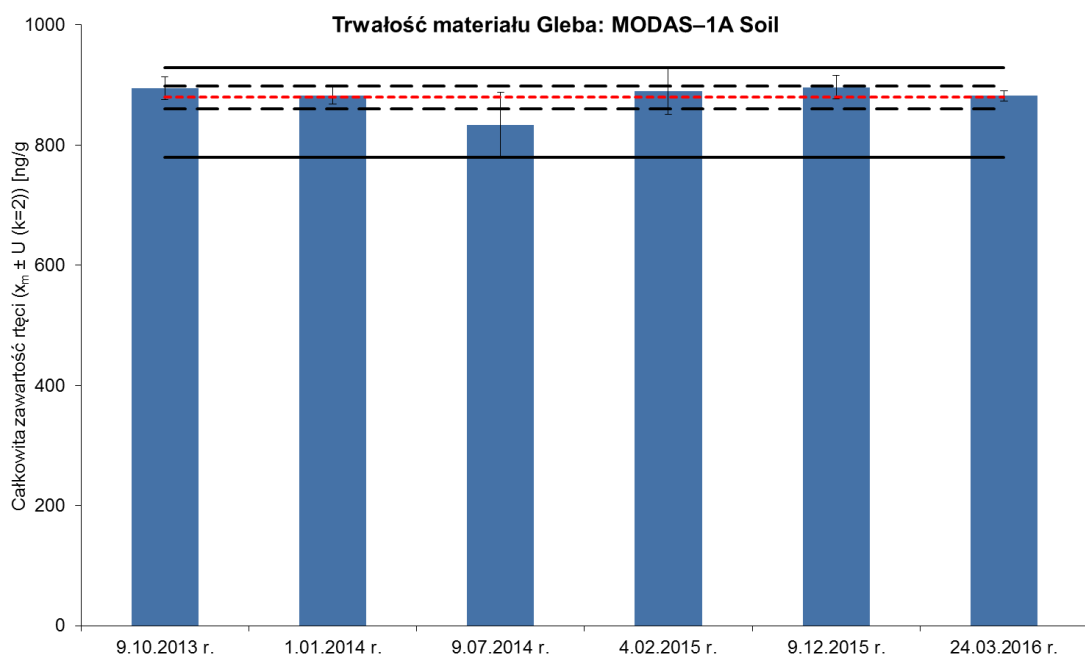
Dla każdego z materiałów w latach 2013-2016 zostało przeprowadzonych kilka serii pomiarów oznaczenia całkowitej zawartości rtęci. Uzyskane wyniki całkowitej zawartości rtęci z odpowiadającymi im wartościami całkowitej rozszerzonej niepewności na poziomie ufności 95 % w poszczególnych próbkach zestawiono w tabeli 15. Natomiast na rysunkach 27-31 przedstawiono w sposób graficzny trwałość każdego z analizowanych materiałów.

Tabela 15: Wyniki oznaczeń średniej zawartości Hg w próbkach kandydatów na CRM dla wszystkich materiałów MODAS ($x_m \pm U$, ($k = 2$)), uzyskane w trakcie serii pomiarów w latach 2013-2016.

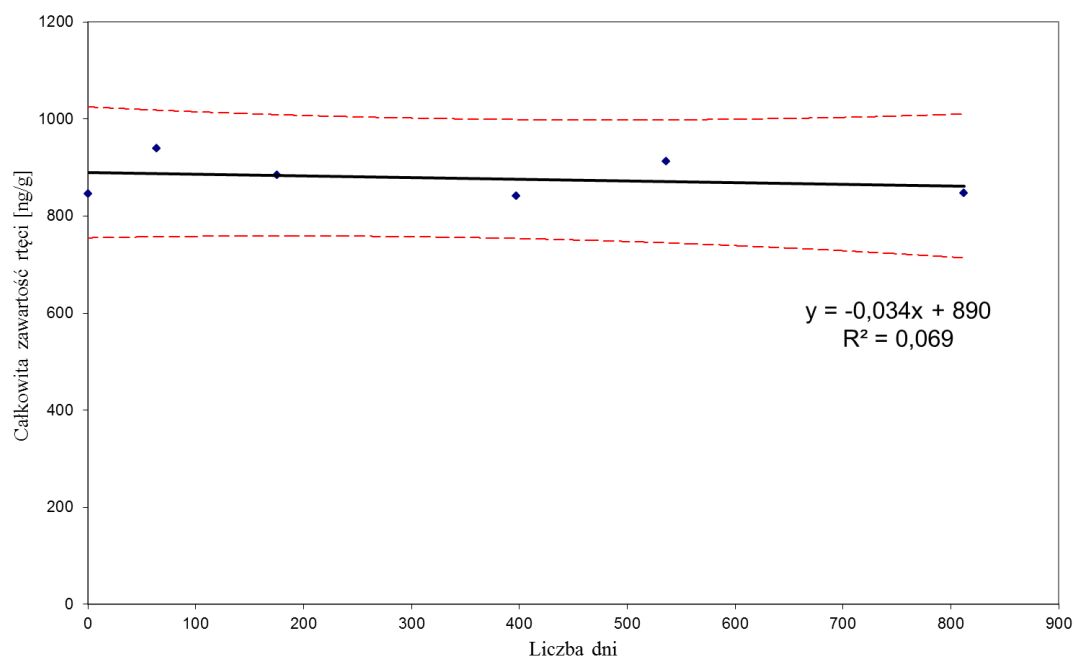
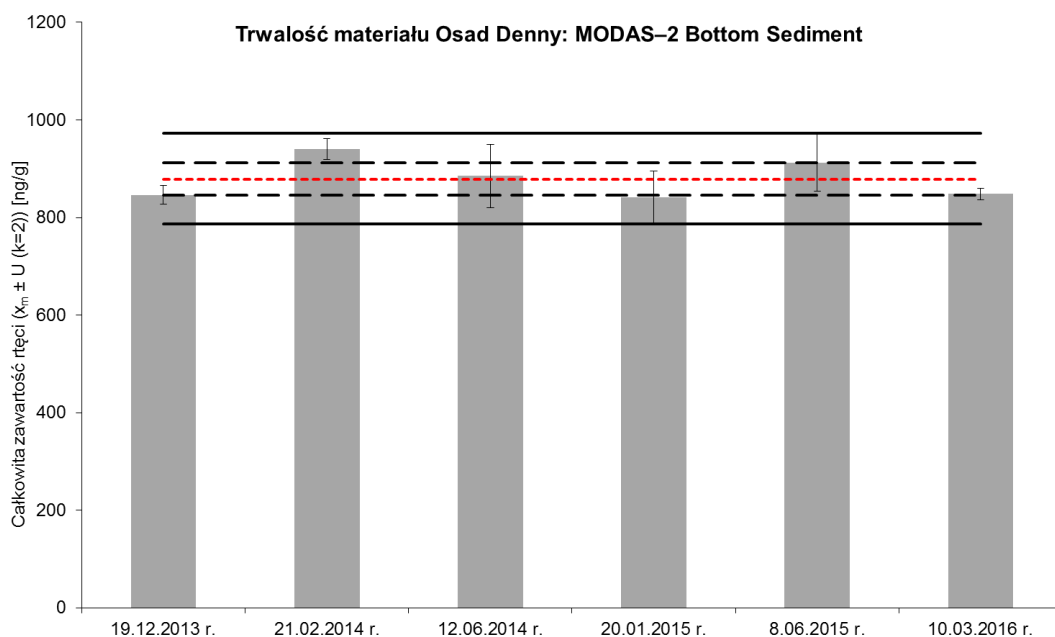
Typ próbki	Data analizy próbki	Średnia zawartość Hg [ng/g]	u [ng/g]	U(k=2) [ng/g]	U(k=2) [%]	U _D
Gleba	9.10.2013 r.	894	29	57	6,4%	19
	1.01.2014 r.	882	28	57	6,4%	14
	9.07.2014 r.	834	57	115	14%	54
	4.02.2015 r.	890	53	106	12%	39
	9.12.2015 r.	896	34	68	7,5%	20
	24.03.2016 r.	882	23	45	5,2%	8,6
Osad denny	19.12.2013 r.	846	31	62	7,4%	19
	21.02.2014 r.	940	35	70	7,4%	21
	12.06.2014 r.	885	99	198	22%	64
	20.01.2015 r.	841	66	132	16%	55
	8.06.2015 r.	913	44	88	9,6%	59
	10.03.2016 r.	848	25	50	5,8%	12
Tkanka śledzia	23.12.2013 r.	220	15	29	13%	13
	25.02.2014 r.	218	9,4	19	8,6%	5,9
	16.06.2014 r.	220	7,3	15	6,7%	4,7
	19.01.2015 r.	199	8,6	17	8,6%	5,2
	19.06.2015 r.	202	8,4	17	8,3%	3,3
	17.03.2016 r.	220	8,5	17	7,7%	4,5

Tabela 15: c.d.

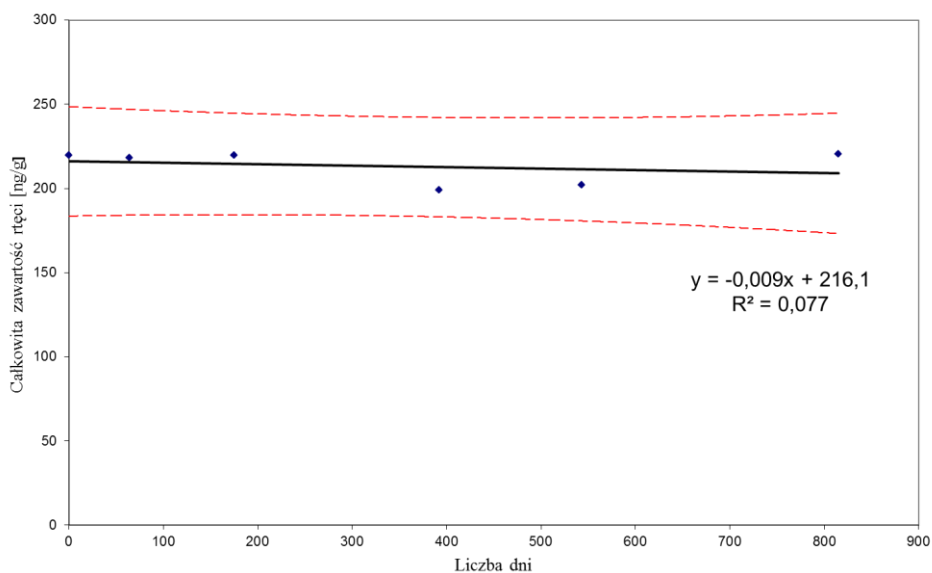
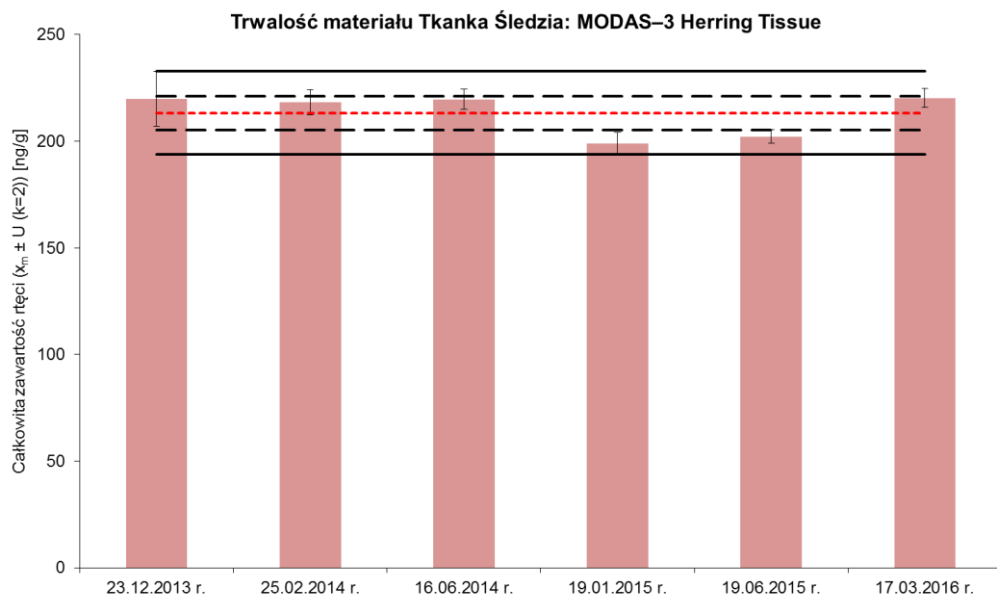
Tkanka dorsza	23.12.2013 r.	296	23	45	15%	18
	6.02.2014 r.	309	42	83	27%	33
	18.06.2014 r.	313	13	26	8,4%	10
	12.01.2015 r.	268	12	24	9,1%	6,2
	23.06.2015 r.	292	19	38	13%	16
	10.12.2015 r.	296	15	30	10%	13
	7.03.2016 r.	325	47	93	29%	39
		[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]		
Tkanka kormorana	23.12.2013 r.	2,19	0,24	0,47	22%	0,18
	19.03.2014 r.	2,30	0,068	0,14	5,9%	0,034
	4.06.2014 r.	2,326	0,037	0,075	3,2%	0,023
	16.12.2014 r.	2,00	0,091	0,18	9,0%	0,070
	1.06.2015 r.	2,18	0,21	0,41	19%	0,13
	10.12.2015 r.	2,20	0,14	0,28	13%	0,10
	1.03.2016 r.	2,23	0,13	0,26	12%	0,12



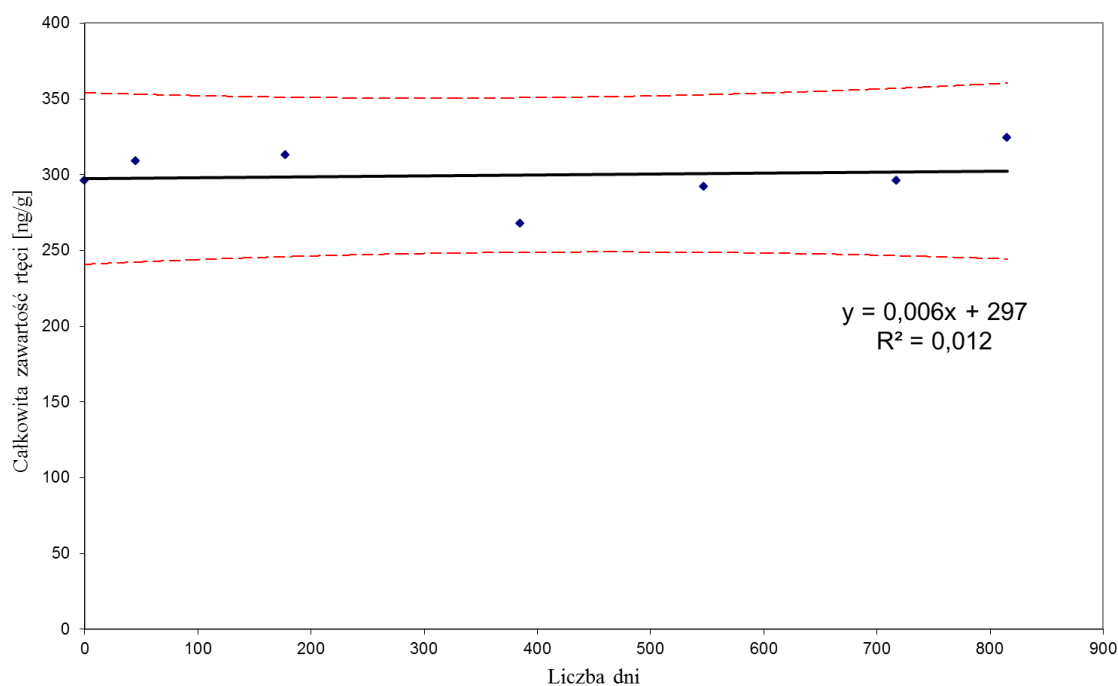
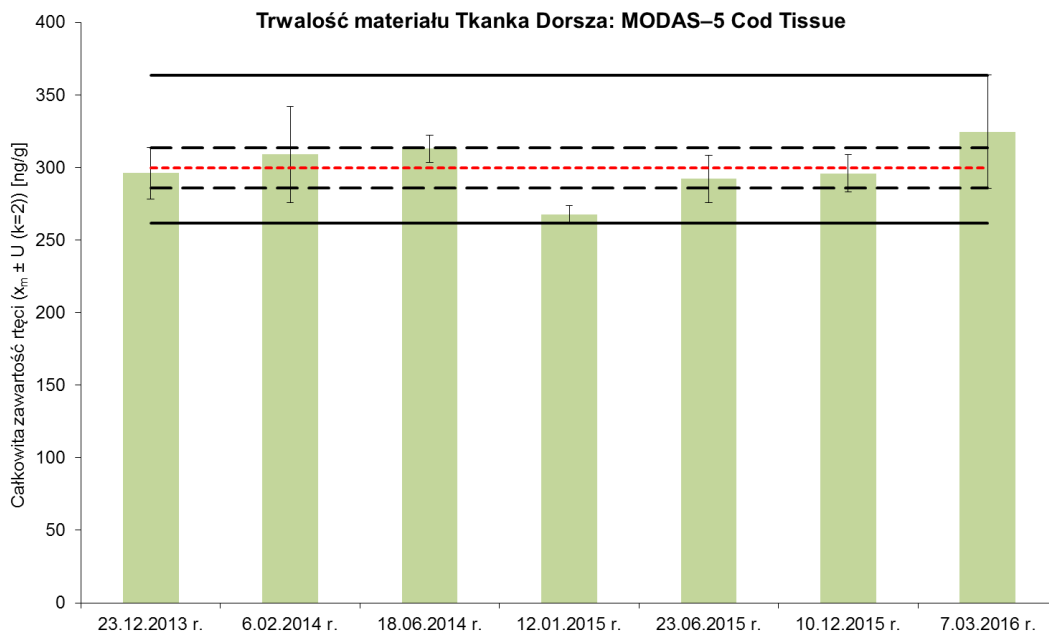
Rysunek 27: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań trwałości długoterminowej dla zawartości Hg w glebie (certyfikowany materiał odniesienia).



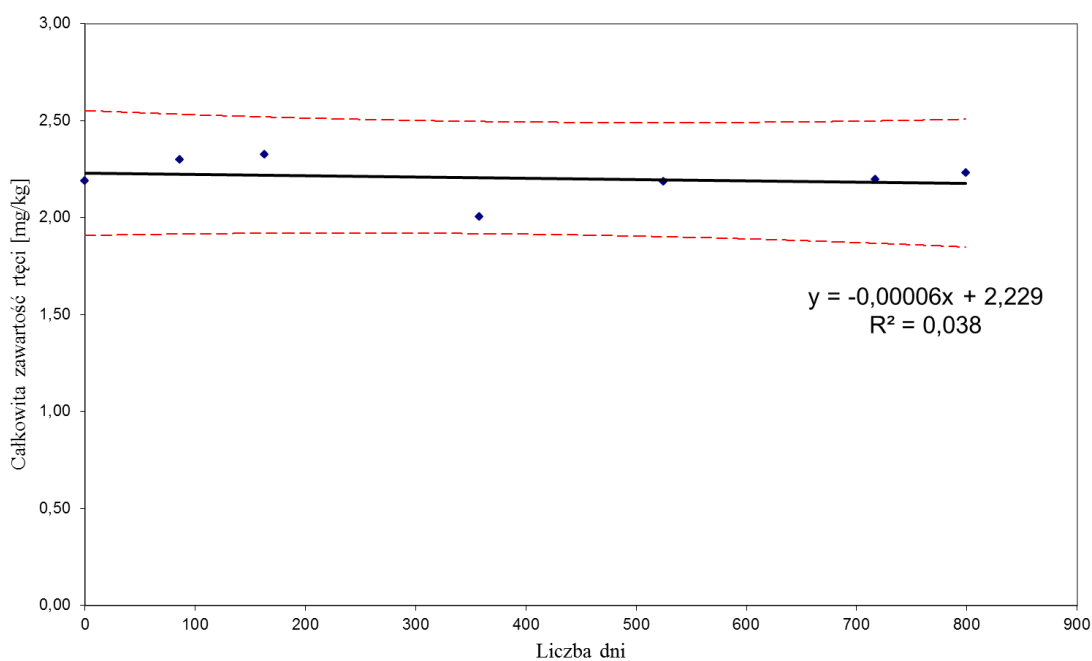
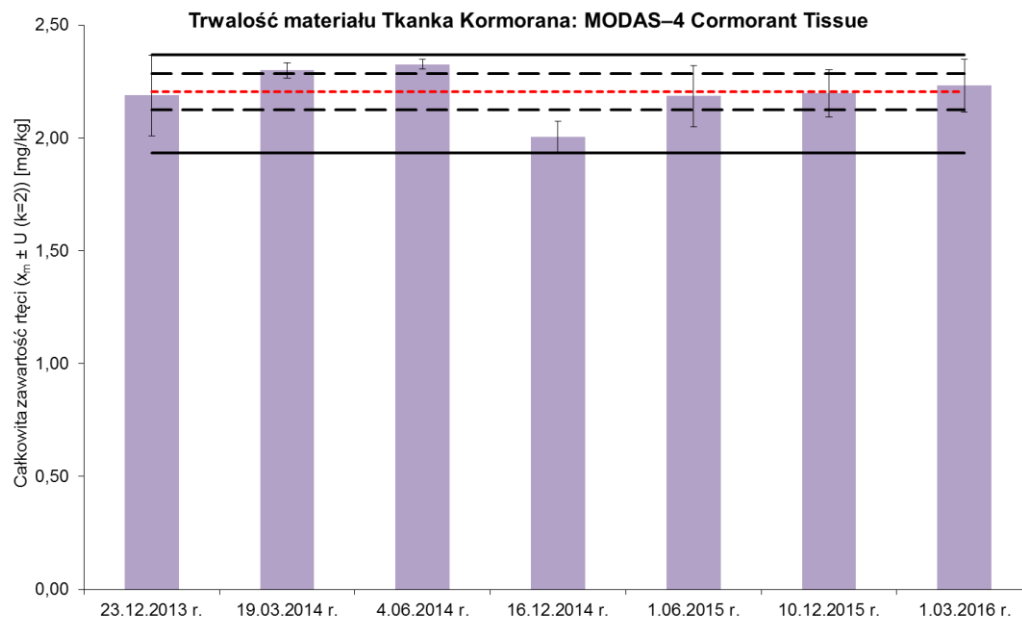
Rysunek 28: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań trwałości długoterminowej dla zawartości Hg w osadzie (certyfikowany materiał odniesienia).



Rysunek 29: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań trwałości długoterminowej dla zawartości Hg w tkance śledzia (certyfikowany materiał odniesienia).



Rysunek 30: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań trwałości długoterminowej dla zawartości Hg w tkance dorsza (certyfikowany materiał odniesienia).



Rysunek 31: Graficzne przedstawienie wyników uzyskanych w trakcie badań trwałości długoterminowej dla zawartości Hg w tkance kormorana, (certyfikowany materiał odniesienia).

Dodatkowo podczas badania trwałości pakietu certyfikowanych materiałów odniesienia MODAS wykonano analizę statystyczną z wykorzystaniem testu t-Studenta w oparciu o parametry regresyjne wykresów trwałości dla wszystkich próbek materiałów odniesienia. Uzyskane wyniki zestawiono w tabeli 16.

Tabela 16: Wyniki analizy statystycznej z wykorzystaniem testu t-Studenta w oparciu o parametry regresyjne wykresów trwałości dla pięciu kandydatów na CRM.

Analiza statystyczna dla próbek materiału Gleba: MODAS-1A Soil	
Wartość średnia (x_{sr})	880 ng/g
Liczba punktów pomiarowych n	6
Współczynnik kierunkowy:	
wartość b	0,011
odchylenie standardowe S_b	0,031
parametr testu t-Studenta $t_{obl} = \frac{ b }{s_b}$	0,354
wartość krytyczna parametru t-Studenta $t_{kr} (a = 0,05, f = 4)$	2,776
$t_{obl} < t_{kr} \rightarrow b$ nie różni się od wartości 0 w sposób statystycznie istotny	
Wyraz wolny:	
wartość a	875 ng/g
odchylenie standardowe S_a	17 ng/g
parametr testu t-Studenta $t_{obl} = \frac{ a-x_{sr} }{s_a}$	0,227
wartość krytyczna parametru t-Studenta $t_{kr} (a = 0,05, f = 4)$	2,776
$t_{obl} < t_{kr} \rightarrow a$ nie różni się od wartości x_{sr} w sposób statystycznie istotny	
Analiza statystyczna dla próbek materiału Osad Denny: MODAS-2 Bottom Sediment	
Wartość średnia (x_{sr})	879 ng/g
Liczba punktów pomiarowych n	6



Tabela 16: c.d.

Współczynnik kierunkowy:	
wartość b	-0,034
odchylenie standardowe S_b	0,063
parametr testu t -Studenta $t_{obl} = \frac{ b }{s_b}$	0,545
wartość krytyczna parametru t -Studenta $t_{kr} (a = 0,05, f = 4)$	2,776
$t_{obl} < t_{kr} \rightarrow b$ nie różni się od wartości 0 w sposób statystycznie istotny	
Wyraz wolny:	
wartość a	890ng/g
odchylenie standardowe S_a	28 ng/g
parametr testu t -Studenta $t_{obl} = \frac{ a-x_{sr} }{s_a}$	0,414
wartość krytyczna parametru t -Studenta $t_{kr} (a = 0,05, f = 4)$	2,776
$t_{obl} < t_{kr} \rightarrow a$ nie różni się od wartości x_{sr} w sposób statystycznie istotny	
Analiza statystyczna dla próbek materiału MODAS-3 Herring Tissue	
Wartość średnia (x_{sr})	213,2 ng/g
Liczba punktów pomiarowych n	6
Współczynnik kierunkowy:	
wartość b	-0,009
odchylenie standardowe S_b	0,015
parametr testu t -Studenta $t_{obl} = \frac{ b }{s_b}$	0,579
wartość krytyczna parametru t -Studenta $t_{kr} (a = 0,05, f = 4)$	2,776
$t_{obl} < t_{kr} \rightarrow b$ nie różni się od wartości 0 w sposób statystycznie istotny	



Tabela 16: c.d.

Wyraz wolny:	
wartość a	216,1 ng/g
odchylenie standardowe S_a	6,6 ng/g
parametr testu t -Studenta $t_{obl} = \frac{ a-x_{sr} }{s_a}$	0,439
wartość krytyczna parametru t -Studenta $t_{kr} (a = 0,05, f = 4)$	2,776
$t_{obl} < t_{kr} \rightarrow a$ nie różni się od wartości x_{sr} w sposób statystycznie istotny	
Analiza statystyczna dla próbek materiału MODAS-5 Cod Tissue	
Wartość średnia (x_{sr})	300 ng/g
Liczba punktów pomiarowych n	7
Współczynnik kierunkowy:	
wartość b	0,006
odchylenie standardowe S_b	0,025
parametr testu t -Studenta $t_{obl} = \frac{ b }{s_b}$	0,241
wartość krytyczna parametru t -Studenta $t_{kr} (a = 0,05, f = 4)$	2,571
$t_{obl} < t_{kr} \rightarrow b$ nie różni się od wartości 0 w sposób statystycznie istotny	
Wyraz wolny:	
wartość a	297 ng/g
odchylenie standardowe S_a	12 ng/g
parametr testu t -Studenta $t_{obl} = \frac{ a-x_{sr} }{s_a}$	0,190
wartość krytyczna parametru t -Studenta $t_{kr} (a = 0,05, f = 4)$	2,571
$t_{obl} < t_{kr} \rightarrow a$ nie różni się od wartości x_{sr} w sposób statystycznie istotny	

Tabela 16: c.d.

Analiza statystyczna dla próbek materiału MODAS-4 Cormorant Tissue	
Wartość średnia ($x_{\bar{s}r}$)	2,204 mg/kg
Liczba punktów pomiarowych n	7
Współczynnik kierunkowy:	
wartość b	-0,00006
odchylenie standardowe S_b	0,00015
parametr testu t -Studenta $t_{obl} = \frac{ b }{s_b}$	0,443
wartość krytyczna parametru t -Studenta $t_{kr} (a = 0,05, f = 4)$	2,571
$t_{obl} < t_{kr} \rightarrow b$ nie różni się od wartości 0 w sposób statystycznie istotny	
Wyraz wolny:	
wartość a	2,229 mg/kg
odchylenie standardowe S_a	0,070 mg/kg
parametr testu t -Studenta $t_{obl} = \frac{ a-x_{\bar{s}r} }{s_a}$	0,352
wartość krytyczna parametru t -Studenta $t_{kr} (a = 0,05, f = 4)$	2,571
$t_{obl} < t_{kr} \rightarrow a$ nie różni się od wartości $x_{\bar{s}r}$ w sposób statystycznie istotny	

Analiza uzyskanych wyników dowodzi, że wszystkie wartości współczynników kierunkowych są nieistotnie różne od zera ($t < t_{kr}$) a wyrazy wolne nie różnią się statystycznie istotnie od wartości średniej zawartości rtęci ($t < t_{kr}$).

Podsumowując uzyskane wyniki można stwierdzić, że każdy materiał spełnia wymagania dotyczące trwałości materiałów odniesienia.

Należy jednak podkreślić, że na Politechnice Gdańskiej i w pozostałych ośrodkach należących do Konsorcjum wciąż kontynuowane są badania trwałości certyfikowanych materiałów odniesienia i będą one prowadzone tak długo jak dostępne do użytku będą materiały odniesienia MODAS.

7. Podsumowanie

Na podstawie wyników przeprowadzonych badań można stwierdzić, że każda z pięciu analizowanych próbek (gleba osad denny, tkanka śledzia, tkanka dorsza, tkanka kormorana) stanowi odpowiednią matrycę dla materiału odniesienia z certyfikowaną zawartością rtęci. Potwierdzona jednorodność materiału wyznaczona na podstawie całkowitej zawartości rtęci stanowiła podstawę do przeprowadzenia badań trwałości. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono, że każdy z certyfikowanych materiałów odniesienia spełnia wymagania dotyczące trwałości materiałów odniesienia.

Wyznaczono również jednorodność materiału w oparciu o zawartość metylortęci w próbkach trzech materiałów (tkanka śledzia, tkanka dorsza, tkanka kormorana). Jednakże zaobserwowano w tym wypadku nietrwałość analitu co jednak nie wpływa ilościowo na całkowitą zawartość rtęci w próbkach, która jest trwała w czasie.

Dzięki opracowanym procedurom analitycznym możliwe było uzyskanie zadowolających wyników, więc z powodzeniem procedury te mogą być wykorzystywane do tego typu analiz w przyszłości.

Przy wyborze odpowiedniego materiału odniesienia należy kierować się przede wszystkim jego zbieżnością z badanym materiałem ze względu na skład chemiczny i postać fizyczną matrycy oraz ze względu na zawartość oznaczanej substancji. Dlatego też poszukiwane są jak najbardziej „identyczne materiały odniesienia” w odniesieniu do badanej próbki.

W związku z tym wytworzone w ramach projektu nowe materiały odniesienia, których matryce stanowią tkanka śledzia i dorsza (niezwykle popularnych ryb w Polsce), z certyfikowaną zawartością rtęci, będą stanowiły istotne uzupełnienie dla aktualnej oferty materiałów odniesienia dostępnych na rynku i oferowanych przez renomowane ośrodki i instytucje ponieważ charakteryzują się reprezentatywnością składu matrycy oraz reprezentatywnością poziomu zawartości analitów, jak również potrzeba produkcji nowych materiałów odniesienia dla konkretnych potrzeb analitycznych.

Dodatkową zaletą i nowatorskością podejścia jest fakt, iż cały pakiet wyprodukowanych w ramach projektu materiałów, ma stanowić swego rodzaju model łańcucha pokarmowego czego konsekwencją jest powstawanie nowych rozwiązań, pomysłów i koncepcji dotyczących badań środowiskowych.

LITERATURA

- [1] Sánchez Uría J.E., Sanz-Medel A., Inorganic and methylmercury speciation in environmental samples: Review, *Talanta* 47, 509, 1998
- [2] Selin N.E., Global Biogeochemical Cycling of Mercury: A Review, *Annu. Rev. Environ. Resour.* 34, 43, 2009
- [3] Leermakers M., Baeyens W., Quevauviller P., Horvat M., Mercury in environmental samples: speciation, artifacts and validation, *Trends Anal. Chem.* 24, 383, 2005
- [4] Peixoto N.C., Serafim M.A., Flores E.M.M., Bebianno M.J., Pereira M.E., Metallothionein, zinc, and mercury levels in tissues of young rats exposed to zinc and subsequently to mercury, *Life Sci.* 81, 1264, 2007
- [5] López I., Cuello S., Cámara C., Madrid Y., Approach for rapid extraction and speciation of mercury using a microtip ultrasonic probe followed by LC-ICP-MS, *Talanta* 82, 594, 2010
- [6] Duarte F.A., Bizzi C.A., Goldschmidt Antes F., Dressler V.L., de Moraes Flores Ê.M., Organic, inorganic and total mercury determination in fish by chemical vapor generation with collection on a gold gauze and electrothermal atomic absorption spectrometry, *Spectrochim. Acta Part B* 64, 513, 2009
- [7] Becker D.S., Bigham G.N., Distribution of mercury in the aquatic food web of Onondagal Lake, New York., *Water Air Soil Pollut.* 80, 563, 1995
- [8] Dresslera V.L., Goldschmidt Antes F., Marques Moreira C., Pozebon D., Duarte F.A., As, Hg, I, Sb, Se and Sn speciation in body fluids and biological tissues using hyphenated-ICP-MS techniques: A review, *Int. J. Mass Spectrom.* 307, 149, 2011
- [9] Magos L., Review on the toxicity of ethylmercury, including its presence as a preservative in biological and pharmaceutical products. *J. Appl. Toxicol.* 21, 1, 2001
- [10] Morel F.M.M., Kraepiel A.M.L., Amyot M., The chemical cycle and bioaccumulation of mercury, *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 29, 543, 1998
- [11] Ceccatelli S., Daré E., Moors M., Methylmercury-induced neurotoxicity and apoptosis, *Chem. Biol. Interact.* 188, 301, 2010
- [12] Schroeder W.H., Munthe J., Atmospheric mercury - an overview, *Atmos. Environ.* 32, 809, 1997
- [13] Pacyna E.G., Pacyna J.M., Steenhuisen F., Wilson S.J., Global anthropogenic mercury emission inventory for 2000, *Atmos. Environ.* 40, 4048, 2006

- [14] Swain E.B., Jakus P., Rice G., Lupi F., Maxson P.A., Pacyna J.M., Penn A., Spiegel S.J., Veiga M.M., Socioeconomic consequences of mercury use and pollution, *Ambio* 36, 46, 2007
- [15] Rieder S.R., Brunner I., Horvat M., Jacobs A., Frey B., Accumulation of mercury and methylmercury by mushrooms and earthworms from forest soils, *Environ. Pollut.* 159, 2861, 2011
- [16] Mason R.P., Fitzgerald W.F., Morel F.M.M., The biogeochemical cycling of elemental mercury: anthropogenic influences, *Geochim. Cosmochim. Acta* 58, 3191, 1994
- [17] Wu Y., Wang W.X., Accumulation, subcellular distribution and toxicity of inorganic mercury and methylmercury in marine phytoplankton, *Environ. Pollut.* 159, 3097, 2011
- [18] Pacyna E.G., Pacyna J.M., Fudala J., Strzelecka-Jastrzab E., Hlawiczka S., Panasiuk D., Mercury emissions to the atmosphere from anthropogenic sources in Europe in 2000 and their scenarios until 2020, *Sci. Tot. Environ.* 370, 147, 2006
- [19] Margetinová J., Houserová – Pelcová P., Kubáň V., Speciation analysis of mercury in sediments, zoobenthos and river water samples by high-performance liquid chromatography hyphenated to atomic fluorescence spectrometry following preconcentration by solid phase extraction, *Anal. Chim. Acta* 615, 115, 2008
- [20] Fitzgerald W.F., Lamborg C.H., Hammerschmidt C.R., Marine biogeochemical cycling of mercury, *Chem. Rev.* 107, 641, 2007
- [21] Havarinasab S., Hulman P., Organic mercury compounds and autoimmunity, *Autoimmunity Reviews* 4, 270, 2005
- [22] Yang L., Mester Z., Sturgeon R.E., Determination of methylmercury in fish tissues by isotope dilution SPME-GC-ICP-MS, *J. Anal. At. Spectrom.* 18, 431, 2003
- [23] Vereda Alonso E., Siles Cordero M.T., García de Torres A., Cañada Rudner P., Cano Pavón J.M., Mercury speciation in sea food by flow injection cold vapor atomic absorption spectrometry using selective solid phase extraction, *Talanta* 77, 53, 2008
- [24] Vonk J.W., Sijpesteijn A.K., Studies on the methylation of mercuric chloride by pure cultures of bacteria and fungi, *Antonie van Leeuwenhoek* 39, 505, 1973
- [25] Ullrich S.M., Ilyushchenko M.A., Uskov G.A., Tanton T.W., Mercury distribution and transport in a contaminated river system in Kazakhstan and associated impacts on aquatic biota, *Appl. Geochem.* 22, 2706, 2007

- [26] Benoit J.M., Gilmour C.C., Mason R.P., Riedel G.S., Riedel G.F., The sources and cycling of mercury in the Patuxent estuary, *Biogeochemistry* 40, 249, 1998
- [27] Hajeb P., Jinap S., Ahmad I., Biomagnifications of mercury and methylmercury in tuna and mackerel, *Environ. Monit. Assess.* 171, 205, 2010
- [28] Mason R.P., Lawrence A.L., Concentration, distribution, and bioavailability of mercury and methylmercury in sediments of Baltimore Harbor and Chesapeake Bay, Maryland, USA, *Environ. Toxicol. Chem.* 18, 2438, 1999
- [29] Monson B.A., Brezonik P.L., Seasonal patterns of mercury species in water and plankton from softwater lakes in Northeastern Minnesota, *Biogeochemistry* 40, 147, 1998
- [30] Gilmour C.C., Henry E.A., Mitchell R., Sulfate stimulation of mercury methylation in freshwater sediments, *Environ. Sci. Technol.* 26, 2281, 1992
- [31] Matilainen T., Involvement of bacteria in methylmercury formation in anaerobic lake waters, *Water Air Soil Pollut.* 80, 757, 1995
- [32] St. Louis V.L., Rudd J.W.M., Kelly C.A., Beatly K.G., Flett R.J., Roulet N.T., Production and loss of methylmercury and loss of total mercury from boreal forest catchments containing different types of wetlands, *Environ. Sci. Technol.* 30, 2719, 1996
- [33] Holloway J.M., Goldhaber M.B., Scow K.M., Drenovsky R.E., Spatial and seasonal variations in mercury methylation and microbial community structure in a historic mercury mining area, Yolo County, California, *Chemical Geology* 267, 85, 2009
- [34] Ebdon L., Foulkers M.E., Le Roux S., Muñoz-Olivas R., Cold vapour atomic fluorescence spectrometry and gas chromatography-pyrolysis-atomic fluorescence spectrometry for routine determination of total and organometallic mercury in food samples, *Analyst* 127, 1108, 2002
- [35] Endo T., Haraguchi K., Sakata M., Mercury and selenium concentrations in the internal organs of toothed whales and dolphins marketed for human consumption in Japan, *Sci. Total Environ.* 300, 15, 2002
- [36] Suda I., Sudal M., Hirayama K., Degradation of methyl and ethyl mercury by singlet oxygen generated from sea water exposed to sunlight or ultraviolet light, *Arch. Toxicol.* 67, 365, 1993
- [37] Clarkson T.W., Magos L., The toxicology of mercury and its chemical compounds, *Crit. Rev. Toxicol.* 36, 609, 2006

- [38] Lawrence A.L., Mc Aloon K.M., Mason R.P., Mayer L.M., Intestinal solubilization of particle associated organic and inorganic mercury as a measure of bioavailability to benthic invertebrates, *Environ. Sci. Technol.* 33, 1871, 1999
- [39] Ando T., Yamamoto M., Tomiyasu T., Hashimoto J., Miura T., Nakano A., Akiba S., Bioaccumulation of mercury in a vestimentiferan worm living in Kagoshima Bay, Japan, *Chemosphere* 49, 477, 2002
- [40] Dovydaitis T., Fish Consumption During Pregnancy: An Overview of the Risks and Benefits, *Journal of Midwifery & Women's Health* 53, 325, 2008
- [41] Kunito T., Nakamura S., Ikemoto T., Anan Y., Kubota R., Tanabe S., Rosas F.C.W., Fillmann G., Readman J.W., Concentration and subcellular distribution of trace elements in liver of small cetaceans incidentally caught along the Brazilian coast, *Mar. Pollut. Bull.* 49, 574, 2004
- [42] Feroci G., Badiello R., Fini A., Interactions between different selenium compounds and zinc, cadmium and mercury, *J. Trace Elem. Med. Biol.* 18, 227, 2005
- [43] Seixas T.G., Kehrig H.A., Costa M., Fillmann G., Di Benedetto A.P.M., Secchi E.R., Souza C.M.M., Malm O., Moreira I., Total mercury, organic mercury and selenium in liver and kidney of a South American coastal dolphin, *Environ. Pollut.* 154, 98, 2008
- [44] Wang Q., Kim D., Dionysiou D.D., Sorial G.A., Timberlake D., Sources and remediation for mercury contamination in aquatic systems - literature review, *Environ. Pollut.* 131, 323, 2004
- [45] Ravichandran M., Interactions between mercury and dissolved matter - a review, *Chemosphere* 55, 319, 2004
- [46] Tipping E., Lofts S., Hooper H., Frey B., Spurgeon D., Svendsen C., Critical limits for Hg (II) in soils, derived from chronic toxicity data, *Environ. Pollut.* 158, 2465, 2010
- [47] Barańkiewicz D., Gramowska H., Specjacja metylortęci i rtęci nieorganicznej w wodzie i osadzie jeziora Swarzędzkiego (in polish), In: Specjacja Chemiczna, Barańkiewicz D., Bulska E., 60, 2009
- [48] López I., Cuello S., Cámara C., Madrid Y., Approach for rapid extraction and speciation of mercury using a microtip ultrasonic probe followed by LC-ICP-MS, *Talanta* 82, 594, 2010
- [49] Guallar E., Sanz-Gallardo M.I., Van't Veer P., Bode P., Aro A., Gomez-Aracena J., Kark J.D., Riemersma A.R., Martín-Moreno J.M., Frans J.K., Mercury, fish oil, and the risk of myocardial infarction, *N. Engl. J. Med.* 347, 1747, 2002

- [50] Rissanen T., Voutilainen S., Nyyssönen K., Lakka T.A., Salonen J.T., Fish oil-derived fatty acids, docosahexaenoic acid and docosapentanoic acid, and the risk of acute coronary events, *Circulation* 102, 2677, 2000
- [51] Lucotte M., Mucci A., Hillaire-Marcel C., Pichet P., Grondin A., Anthropogenic mercury enrichment in remote lakes of northern Québec (Canada), *Water Air Soil Pollut.* 80, 467, 1995
- [52] Tremblay A., Lucotte M., Schetagne R., Total mercury and methylmercury accumulation in zooplankton of hydroelectric reservoirs in northern Québec (Canada), *Sci. Total Environ.* 213, 307, 1998
- [53] Fu J., Wang Y., Zhou Q., Jiang G., Trophic transfer of mercury and methylmercury in an aquatic ecosystem impacted by municipal sewage effluents in Beijing, China, *J. Environ. Sci.* 22, 1189, 2010
- [54] Konieczka P., Namieśnik J. R4: Certyfikowane materiały odniesienia, W: Specjacja chemiczna, (s. 311 – 322), MALAMUT, Warszawa, 2009
- [55] A. Hulanicki, R1.2: Specjacja – jak powstała i czym jest? W: Specjacja chemiczna, (s. 16 – 20), MALAMUT, Warszawa, 2009
- [56] Yan L., Shu-Juan L., Dong-Qing J., Yan J., Xiu-Ping Y., Gas Chromatography-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry for Mercury Speciation in Seafood, *Chin. J. Anal. Chem.* 36, 793, 2008
- [57] Rahman S.A., Wood A.K., Sarmani S., Majid A.A., Determination of mercury and organic mercury contents in Malaysian seafood, *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 217, 53, 1997
- [58] Evans R.D., Addison E.M., Villeneuve J.Y., MacDonald K.S., Joachim D.G., Distribution of Inorganic and Methylmercury among Tissues in Mink (*Mustela vison*) and Otter (*Lutra canadensis*), *Environ. Res. A* 84, 133, 2000
- [59] Amin-Zaki L., Elhassani S., Majeed M.A., Clarkson T.W., Doherty R.A., Greenwood M.R., Intra-uterine methylmercury poisoning in Iraq. *Pediatrics* 54, 587, 1974
- [60] Honda S., Hylander L., Sakamoto M., Recent advances in evaluation of health effects on mercury with special reference to methylmercury – a minireview, *Environ. Health Prev. Med.* 11, 171, 2006
- [61] Grandjean P., Jorgensen P.J., Weihe P., Human milk as a source of methylmercury exposure in infants, *Environ. Health Perspect.* 102, 74, 1994
- [62] Oskarsson A., Schultz A., Skerfving S., Hallen I.P., Ohlin B., Lagerkvist B.J., Total and inorganic mercury in breast milk in relation to fish consumption and amalgam in lactating women, *Arch. Environ. Health* 51, 234, 1996
- [63] Eto K., Pathology of Minamata Disease, *Toxicol. Pathol.* 25, 614, 1997



- [64] Peralta-Videa J.R., Lopez M.L., Narayan M., Saupe-Torresdey G., The biochemistry of environmental heavy metal uptake by plants: Implications for the food chain, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 41, 1665, 2009
- [65] Cernichiari E., Myers G.J., Ballatori N., Zareba G., Vyas J., Clarkson T., The biological monitoring of prenatal exposure to methylmercury, *NeuroToxicology* 28, 1015, 2007
- [66] Capelo J.L., Maduro C., Mota A.M., Evaluation of focused ultrasound and ozonolysis as sample treatment for direct determination of mercury by FI-CV-AAS. Optimization of parameters by full factorial design, *Ultrason. Sonochem.* 13, 98, 2006
- [67] Monaci F., Borre A., Leonzio C., Marsili L., Calzada N., Trace elements in striped dolphins (*Stenella coeruleoalba*) from the western Mediterranean, *Environ. Pollut.* 99, 61, 1998
- [68] Bustamante P., Caurant F., Fowler S.W., Miramand P., Cephalopods as a vector for the transfer of cadmium to top marine predators in the northeast Atlantic Ocean, *Sci. Total Environ.* 220, 71, 1998
- [69] Molina C.I., Gibon F.M., Duprey J.L., Dominguez E., Guimarães J.R.D., Roulet M., Transfer of mercury and methylmercury along macroinvertebrate food chains in a floodplain lake of the Beni River, Bolivian Amazonia, *Sci. Total Environ.* 408, 3382, 2010
- [70] Shia J., Lianga L., Jianga G., Jin X., The speciation and bioavailability of mercury in sediments of Haihe River, China, *Environ. Int.* 31, 357, 2005
- [71] Roulet M., Lucotte M., Guimarães J.R.D., Rheault I., Methylmercury in water, seston, and epiphyton of an Amazonian river and its floodplain, Tapajós River, Brazil, *Sci. Total Environ.* 261, 43, 2000
- [72] Gómez-Ariza J.R., Lorenzo F., García-Barrera T., Simultaneous determination of mercury and arsenic species in natural freshwater by liquid chromatography with on-line UV irradiation, generation of hydrides and cold vapor and tandem atomic fluorescence detection, *J. Chromatogr. A* 1056, 139, 2004
- [73] Back R.C., Gorski P.R., Cleckner L.B., Hurley J.P., Mercury content and speciation in the plankton and benthos of Lake Superior, *Sci. Total Environ.* 304, 349, 2003
- [74] Kehrig H.A., Seixas T.G., Baêta A.P., Malm O., Moreira I., Inorganic and methylmercury: Do they transfer along a tropical coastal food web?, *Mar. Pollut. Bull.* 60, 2350, 2010

- [75] Ali I.B, Joiris C.R., Holsbeek L., Total and organic mercury in the starfish *Ctenodiscus crispatus* and the polychaete *Maldanes sarsi* from the Barents Sea, *Sci. Total Environ.* 201, 189, 1997
- [76] Claisse D., Cossa D., Bretaudeau – Sanjuan J., Touchard G., Bombled B., Methylmercury in Molluscs along the French Coast, *Mar. Pollut. Bull.* 42, 329, 2001
- [77] Mikac N., Kwokal Ž., Martinčić D., Branica M., Uptake of mercury species by transplanted mussels *Mytilus galloprovincialis* under estuarine conditions (Krka river estuary), *Sci. Total Environ.* 184, 173, 1996
- [78] Maggi C., Berducci M.T., Bianchi J., Giani M., Campanella L., Methylmercury determination in marine sediment and organisms by Direct Mercury Analyser, *Anal. Chim. Acta* 641, 32, 2009
- [79] Raimundo J., Vale C., Canário J., Branco V., Moura I., Relations between mercury, methyl-mercury and selenium in tissues of *Octopus vulgaris* from the Portuguese Coast, *Environ. Pollut.* 158, 2094, 2010
- [80] Yamashita Y., Omura Y., Okazaki E., Total mercury and methylmercury levels in commercially important fishes in Japan, *Fish. Sci.* 71, 1029, 2005
- [81] Minganti V., Capelli R., De Pellegrini R., Orsi Relini L., Relini G., Total and organic mercury concentrations in offshore crustaceans of the Ligurian Sea and their relations to the trophic levels, *Sci. Total Environ.* 184, 149, 1996
- [82] Storelli M.M., Giacomini-Stuffler R., Marcotrigiano G.O., Total and methylmercury residues in cartilaginous fish from Mediterranean Sea, *Mar. Pollut. Bull.* 44, 1354, 2002
- [83] Kehrig H.A., Seixas T.G., Baêta A.P., Malm O., Moreira I., Inorganic and methylmercury: Do they transfer along a tropical coastal food web?, *Mar. Pollut. Bull.* 60, 2350, 2010
- [84] Jin L., Liang L., Jiang G., Xu Y., Methylmercury, total mercury and total selenium in four common freshwater fish species from Ya-Er Lake, China, *Environ. Geochem. Health* 28, 401, 2006
- [85] Ikingura J.R., Akagi H., Total mercury and methylmercury levels in fish from hydroelectric reservoirs in Tanzania, *Sci. Total Environ.* 304, 355, 2003
- [86] Kampalath R., Gardner S.C., Méndez-Rodríguez L., Jay J.A., Total and methylmercury in three species of sea turtles of Baja California Sur, *Mar. Pollut. Bull.* 52, 1784, 2006



- [87] Ruelas-Inzunza J., Hernández-Osuna J., Páez-Osuna F., Organic and total mercury in muscle tissue of five aquatic birds with different feeding habits from the SE Gulf of California, Mexico, *Chemosphere* 76, 415, 2009
- [88] Gardner W.S., Kendall D.R., Odom R.R., Windom H.L., Stephens J.A., The distribution of methylmercury in a contaminated salt marsh ecosystem, *Environ. Pollut.* 15, 243, 1978
- [89] Kim E.Y., Murakami T., Saeki K., Tatsukawa R., Mercury Levels and its Chemical Form in Tissues and Organs of Seabirds, *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 30, 259, 1996
- [90] Campbell L.M., Norstrom R.J., Hobson K.A., Muir D.C.G., Backus S., Fisk A.T., Mercury and other trace elements in a pelagic Arctic marine food web (Northwater Polynya, Baffin Bay), *Sci. Total Environ.* 351, 247, 2005
- [91] Endo T., Kimura O., Hisamichi Y., Minoshima Y., Haraguchi K., Kakumoto C., Kobayashi M., Distribution of total mercury, methyl mercury and selenium in pod of killer whales (*Orcinus Orca*) stranded in the northern area of Japan: Comparison of mature females with calves, *Environ. Pollut.* 144, 145, 2006
- [92] Endo T., Haraguchi K., Hotta Y., Hisamichi Y., Lavery S., Dalebout M.L., Scott Baker C., Total mercury, methyl mercury, and selenium levels in the red meat of small cetaceans sold for human consumption in Japan, *Environ. Sci. Technol.* 39, 5703, 2005
- [93] Joiris C.R., Holsbeek L., Bolba D., Gascard C., Stanev T., Komakhidze A., Baumgärtner W., Birkun A., Total and organic mercury in the Black Sea Harbour Porpoise *Phocoena phocoena relicta*, *Mar. Pollut. Bull.* 42, 905, 2001
- [94] Joiris C.R., Holsbeek L., Bouquegneau J., Bossicart M., Mercury contamination of the harbour porpoise *Phocoena Phocoena* and other cetaceans from the North Sea and the kattegat, *Water Air Soil Pollut.* 56, 283, 1991
- [95] IUPAC Compendium of Chemical Terminology 2nd Edition, 1997
- [96] Meng W., Weiyue F., Junwen S., Fang Z., Bing W., Motao Z., Baia L., Yuliang Z., Zhifang C., Development of a mild mercaptoethanol extraction method for determination of mercury species in biological samples by HPLC-ICP-MS, *Talanta* 71, 2034, 2007
- [97] Hintelmann H., Falter R., Ilgen G., Evans R.D., Determination of artifactual formation of monomethylmercury (CH₃Hg⁺) in environmental samples using stable Hg²⁺ isotopes with ICP-MS detection: Calculation of contents applying species specific isotope addition, *Fresenius J. Anal. Chem.* 358, 363, 1997



- [98] Cabañero Ortiz A.I., Madrid Albarrán Y., Cámara Rica C., Evaluation of different sample pre-treatment and extraction procedures for mercury speciation in fish samples, *J. Anal. At. Spectrom.* 17, 1595, 2002
- [99] Hirner A.V., Speciation of alkylated metals and metalloids in the environment, *Anal. Bioanal. Chem.* 385, 555, 2006
- [100] Maldonado Santoyo M., Landero Figueroa J.A., Wrobel K., Wrobel K., Analytical speciation of mercury in fish tissues by reversed phase liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry with Bi³⁺ as internal standard, *Talanta* 79, 706, 2009
- [101] de Souza S.S., Rodrigues J.L., de Oliveira Souza V.C., Barbosa Jr F., A fast sample preparation procedure for mercury speciation in hair samples by high-performance liquid chromatography coupled to ICP-MS, *J. Anal. At. Spectrom.* 25, 79, 2010
- [102] Reyes L.H., Mizanur Rahman G.M., Skip Kingston H.M., Robust microwave-assisted extraction protocol for determination of total mercury and methylmercury in fish tissues, *Anal. Chim. Acta* 631, 121, 2009
- [103] Chang L.F., Jiang S.J., Sahayamb A.C., Speciation analysis of mercury and lead in fish samples using liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Chromatogr. A* 1176, 143, 2007
- [104] Reyes L.H., Mizanur Rahman G.M., Fahrenholz T., Skip Kingston H.M., Comparison of methods with respect to efficiencies, recoveries, and quantitation of mercury species interconversions in food demonstrated using tuna fish, *Anal. Bioanal. Chem.* 390, 2123, 2008
- [105] Cabañero A.I., Madrid Y., Cámara C., Mercury–Selenium species ratio in representative fish samples and their bioaccessibility by an in vitro digestion method, *Biol. Trace. Elem. Res.* 119, 195, 2007
- [106] Balarama Krishna M.V., Karunasagar D., Rao S.V., Arunachalam J., Preconcentration and speciation of inorganic and methyl mercury in waters using polyaniline and gold trap-CVAAS, *Talanta* 68, 329, 2005
- [107] Rapsomanikis S., Derivatization by ethylation with sodium tetraethylborate for the speciation of metals and organometallics in environmental samples, *Analyst* 119, 1429, 1994
- [108] Abalos M., Bayona J.M., Compano R., Granados M., Leal C., Prat M.D., Analytical procedures for the determination of organotin compounds in sediment and biota: a critical review, *J. Chromatogr. A* 788, 1, 1997
- [109] Westöö G., Determination of methylmercury compounds in foodstuffs. I. Methylmercury compounds in fish, identification and determination, *Anal. Scand.* 20, 2131, 1966

[110] Desrosiers M., Planas D., Mucci A., Total mercury and methylmercury accumulation in periphyton of Boreal Shield Lakes: Influence of watershed physiographic characteristics, *Sci. Total Environ.* 355, 247, 2006

[111] Oda C.E., Ingle Jr. J.D., Speciation of Mercury by Cold Vapor Atomic Absorption Spectrometry with Selective Reduction, *Anal. Chem.* 53, 2305, 1981

[112] Chung S.W., Chan B.T., A reliable method to determine methylmercury and ethylmercury simultaneously in foods by gas chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry after enzymatic and acid digestion, *J. Chromatogr. A* 1218, 1260, 2011

[113] Foy G.P., Pacey G.E., Supercritical fluid extraction of mercury species, *Talanta* 61, 849, 2003

[114] Sun Y.C., Chung Y.T., Mierzwa J., Study of matrix influence on supercritical fluid extraction of polar mercury species from solid samples, *Analyst* 126, 1694, 2001

[115] Mishra S., Tripathi R.M., Bhalke S., Shukla V.K., Puranik V.D., Determination of methylmercury and mercury (II) in a marine ecosystem using solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta* 551, 192, 2005

[116] Muñoz J., Gallego M., Valcárcel M., Speciation of organometallic compounds in environmental samples by Gas Chromatography after Flow Preconcentration on Fullerenes and Nanotubes, *Anal. Chem.* 77, 5389, 2005

[117] Muñoz J., Gallego M., Valcárcel M., Solid-phase extraction-gas chromatography-mass spectrometry using a fullerene sorbent for the determination of inorganic mercury (II), methylmercury (I) and ethylmercury (I) in surface waters at sub-ng/ml levels, *J. Chromatogr. A* 1055, 185, 2004

[118] Sánchez D.M., Martín R., Morante R., Marín J., Munuera M.L., Preconcentration speciation method for mercury compounds in water samples using solid phase extraction followed by reversed phase high performance liquid chromatography, *Talanta* 52, 671, 2000

[119] Blanco R.M., Villanueva M.T., Sánchez Uría J.E., Sanz-Medel A., Field sampling, preconcentration and determination of mercury species in river waters, *Anal. Chim. Acta* 419, 137, 2000

[120] Beauchemin P., Siu K.W.M., Berman S.S., Determination of Organomercury in Biological Reference Materials by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry using Flow Injection Analysis, *Anal. Chem.* 60, 2587, 1988

- [121] Wagemann R., Trebacz E., Boila G., Lockhart W.L., Mercury species in the liver of ringed seals, *Sci. Total Environ.* 261, 21, 2000
- [122] Moens L., De Smaele T., Dams R., Sensitive, Simultaneous determination of Organomercury, -lead, and -tin compounds with Headspace Solid Phase Microextraction Capillary Gas Chromatography combined with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, *Anal. Chem.* 69, 1604, 1997
- [123] Fischer R., Rapsomanikis S., Andreae M.O., Determination of Methylmercury in Fish Samples Using GC/AA and Sodium Tetraethylborate Derivatization, *Anal. Chem.* 65, 763, 1993
- [124] Tseng C.M., De Diego A., Martin F.M., Amouroux D., Donard O.F.X., Rapid Determination of Inorganic Mercury and Methylmercury in Biological Reference Materials by Hydride Generation, Cryofocusing, Atomic Absorption Spectrometry After Open Focused Microwave-assisted Alkaline Digestion, *J. Anal. At. Spectrom.* 12, 743, 1997
- [125] Cai Y., Monsalud S., Furton K.G., Determination of Methyl- and Ethylmercury compounds using Gas Chromatography Atomic Fluorescence Spectrometry following aqueous derivatization with Sodium Tetraphenylborate, *Chromatographia* 52, 82, 2000
- [126] Grinberg P., Campos R.C., Mester Z., Sturgeon R.E., A comparison of alkyl derivatization methods for speciation of mercury based on solid phase microextraction gas chromatography with furnace atomization plasma emission spectrometry detection, *J. Anal. At. Spectrom.* 18, 902, 2003
- [127] Gibičar D., Logar M., Horvat N., Marn-Pernat A., Ponikvar R., Horvat M., Simultaneous determination of trace levels of ethylmercury and methylmercury in biological samples and vaccines using sodium tetra(n-propyl)borate as derivatizing agent, *Anal. Bioanal. Chem.* 388, 329, 2007
- [128] Ikonomou M.G., Fernandez M.P., He T., Cullon D., Gas chromatography-high-resolution mass spectrometry based method for the simultaneous determination of nine organotin compounds in water, sediment and tissue, *J. Chromatogr. A* 975, 319, 2002
- [129] Moens L., De Smaele T., Dams R., Sensitive, Simultaneous determination of Organomercury, -lead, and -tin compounds with Headspace Solid Phase Microextraction Capillary Gas Chromatography combined with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, *Anal. Chem.* 69, 1604, 1997
- [130] Minganti V., Capelli R., De Pellegrini R., Evaluation of different derivatization methods for the multi-element detection of Hg, Pb and Sn compounds by gas chromatography-microwave induced plasma-atomic emission spectrometry in environmental samples, *Fresenius J. Anal. Chem.* 351, 471, 1995

[131] Li Y., Yan X.P., Dong L.M., Wang S.W., Jiang Y., Jiang D.Q., Development of an ambient temperature post-column oxidation system for high-performance liquid chromatography on-line coupled with cold vapor atomic fluorescence spectrometry for mercury speciation in seafood, *J. Anal. At. Spectrom.* 20, 467, 2005

[132] Hintelmann H., Hempel M., Wilken R.D., Observation of unusual organic Mercury species in soils and sediments of industrially contaminated sites, *Environ. Sci. Technol.* 29, 1845, 1995

[133] Cai Y., Jaffé R., Jones R., Ethylmercury in the soils and sediments of the Florida Everglades, *Environ. Sci. Technol.* 31, 302, 1997

[134] Falter R., Ilgen G., Coupling of the RP C18 preconcentration HPLC-UV-PCO-system with atomic fluorescence detection for the determination of methylmercury in sediment and biological tissue, *Fresenius J. Anal. Chem.* 358, 407, 1997

[135] Falter R., Scholer H.F., A new pyrrolidinedithiocarbamate screening method for the determination of methylmercury and inorganic mercury relation in hair samples by HPLC-UV-PCO-CVAAS, *Fresenius J. Anal. Chem.* 354, 492, 1996

[136] Hempel M., Hintelman H., Wilken R.D., Determination of organic mercury species in soils by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection, *Analyst* 117, 669, 1992

[137] Palmieri H. E. L., Leonel L.V., Determination of methylmercury in fish tissue by gas chromatography with microwave-induced plasma atomic emission spectrometry after derivatization with sodium tetraphenylborate, *Fresenius J. Anal. Chem.* 366, 466, 2000

[138] Lansens P., Baeyens W., Improvement of the semiautomated headspace analysis method for the determination of methylmercury in biological samples, *Anal. Chim. Acta.* 228, 93, 1990

[139] Lansens P., Meuleman C., Leermakers M., Baeyens W., Determination of methylmercury in natural waters by headspace gas chromatography with microwave – induced plasma detection after preconcentration on a resin containing dithiocarbamate groups, *Anal. Chim. Acta.* 243, 417, 1990

[140] Johansson M., Emteborg H., Glad B., Reinholdsson F., Baxter D.C., Preliminary appraisal of a novel sampling and storage technique for the speciation analysis of lead and mercury in seawater, *Fresenius J. Anal. Chem.* 351, 461, 1995

[141] Berzas Nevado J.J., Rodríguez Martín-Doimeadios R.C., Guzmán Bernardo F.J., Jiménez Moreno M., Determination of monomethylmercury

in low- and high-polluted sediments by microwave extraction and gas chromatography with atomic fluorescence detection, *Anal. Chim. Acta.* 608, 30, 2008

[142] Cai Y., Jaffé R., Alli A., Jones R.D., Determination of organomercury compounds in aqueous samples by capillary gas chromatography-atomic fluorescence spectrometry following solid-phase extraction, *Anal. Chim. Acta.* 334, 251, 1996

[143] Zoorob G.K. , McKiernan J.W., Caruso J.A., ICP-MS for Elemental Speciation Studies, *Mikrochim. Acta* 128, 145, 1998

[144] Fischer R., Rapsomanikis S., Andreae M.O., Determination of Methylmercury in Fish Samples Using GC/AA and Sodium Tetraethylborate Derivatization, *Anal. Chem.* 65, 763, 1993

[145] Falter R., Schöler H.F., Determination of mercury species in natural waters at picogram level with on-line RP C18 preconcentration and HPLC-UV-PCO-CVAAS, *Fresenius J. Anal. Chem.* 353, 34, 1995

[146] Zoorob G.K. , McKiernan J.W., Caruso J.A., ICP-MS for Elemental Speciation Studies, *Mikrochim. Acta* 128, 145, 1998

[147] Armstrong L.H.E., Corns W.T., Stockwell P.B., O' Connor G., Ebdon L., Evans E.H., Comparison of AFS and ICP-MS detection coupled with gas chromatography for the determination of methylmercury in marine samples, *Anal. Chim. Acta.* 390, 245, 1999

[148] Yin X.B., Dual-cloud point extraction as a preconcentration and clean-up technique for capillary electrophoresis speciation analysis of mercury, *J. Chromatogr. A* 1154, 437, 2007

[149] Silva da Rocha M., Soldado A.B., Blanco-González E., Sanz-Medel A., Speciation of mercury compounds by capillary electrophoresis coupled on-line with quadrupole and double-focusing inductively coupled plasma mass spectrometry, *J. Anal. At. Spectrom.* 15, 513, 2000

[150] Fan Z., Liu X., Determination of methylmercury and phenylmercury in water samples by liquid-liquid-liquid microextraction coupled with capillary electrophoresis, *J. Chromatogr. A* 1180, 187, 2008

[151] Tu Q., Qvarnström J., Frech W., Determination of mercury species by capillary zone electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry: a comparison of two spray chamber-nebulizer combinations, *Analyst* 125, 705, 2000

[152] Lee T.H., Jiang S.J., Determination of mercury compounds by capillary electrophoresis inductively coupled plasma mass spectrometry with microconcentric nebulization, *Anal. Chim. Acta.* 413, 197, 2000

- [153] Yan X.P., Yin X.B., Jiang D.Q., He X.W., Speciation of Mercury by hydrostatically modified electroosmotic Flow Capillary Electrophoresis coupled with Volatile Species Generation Atomic Fluorescence Spectrometry, *Anal. Chem.* 75, 1726, 2003
- [154] Li Y., Jiang Y., Yan X.P., On-line hyphenation of capillary electrophoresis with flame-heated furnace atomic absorption spectrometry for trace mercury speciation, *Electrophoresis* 26, 661, 2005
- [155] Taverniers I., De Loose M., Bockstaele E., Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance, *Trends Anal. Chem.*, 23, 535, 2004;
- [156] Konieczka P., The role of and the place of method validation in the quality assurance and quality control (QA/QC) system, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 37, 173, 2007;
- [157] Jorhem L., Promoting analytical quality control of trace-element data to be presented in international journals and reports, *Accred. Qual. Assur.*, 13, 289, 2008;
- [158] Quevauviller P., Cofino W., Cortez L., Use of reference materials in accreditation systems for environmental laboratories, *Trends Anal. Chem.*, 17, 241, 1998
- [159] H. Emons, T.P.J. Linsinger, B.M. Gawlik, Reference materials: terminology and use. Can't one see the forest for the trees?, *Trends Anal. Chem.* 23, 6, 2004.
- [160] N. Majcen, A need for clearer terminology and guidance in the role of reference materials in method development and validation, *Accred. Qual. Assur.* 8, 108, 2003.
- [161] X. R. Pan, Hierarchy of reference materials certified for chemical composition, *Metrologia*, 1997, 34, 35-39
- [162] J. Namieśnik, B. Zygmunt, Role of reference materials in analysis of environmental pollutants, *Sci. Total. Environ.* 228 (1999) 243-257
- [163] E.A. Maier, A. Boenke, P. Mériquet, Importance of the Certified Reference Materials Programmes for the European Union, *Trends Anal. Chem.*, 16, 496-503 (1997).
- [164] Terms and definitions used in connection with reference materials, ISO Guide 30 (1992)
- [165] I. Taverniers, M. De Loose, E. Van Bockstaele, Trends in quality in the analytical laboratory. II. Analytical method validation and quality assurance, *Trends Anal. Chem* 23, 535, 2004

- [166] P. Konieczka, J. Namieśnik, Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych, Wydawnictwo Naukowo – Techniczne, Warszawa, 2007
- [167] Namieśnik J., Konieczka P., Rola materiałów odniesienia w analityce chemicznej, Materiały Szkoły Naukowej , Poznań 19 – 21.04.2006, str. 148
- [168]] B. Zygmunt, J. Namieśnik, Reference materials in environmental trace organic analysis, *Accred. Qual. Assur.* 5, 191, 2000
- [169] Ph. Quevauviller, Reference materials: an inquiry into their use and prospects in Europe, *Trends Anal. Chem.* 18, 2, 1999
- [170] B. Zygmunt, E. Kremer, M. Rompa, A. Naganowska – Nowak, A. Świtaj-Zawadka, P. Konieczka, J. Namieśnik, R6: Materiały odniesienia, W: Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych, Wydawnictwo Naukowo – Techniczne, Warszawa, 2007
- [171] A.M.H. van der Veen, T.P.J. Linsinger, A. Lamberty, J. Pauwels, Uncertainty calculations in the certification of reference materials 3. Stability study, *Accred. Qual. Assur.* 6, 257, 2001
- [172] McCarron, P., Emteborg H., Giddings S.D., Wright E., Quilliam M.A., A muscle tissue certified reference material for multiple phycotoxins. Part 3: homogeneity and stability, *Anal. Bioanal. Chem.* 400, 847, 2011
- [173] Ph. Quevauviller, W. Cofano, L. Cortez, Use of reference materials in accreditation systems for environmental laboratories, *Trends Anal. Chem.*, 17, 241, 1998.
- [174] J. Pauwels, M.H. van der Veen, A. Lamberty, H. Schimmel, Evaluation of uncertainty of reference materials, *Accred. Qual. Assur.* 5, 95, 2000
- [175] M.H. van der Veen, T.P.J. Linsinger, H. Schimmel, A. Lamberty, J. Pauwels, Uncertainty calculations in the certification of reference materials 4. Characterisation and certification, *Accred. Qual. Assur.* 6, 290, 2001
- [176] B. Jerzak, *Analityka* 1, 18, 2003
- [177] R. Kaczmarkowski, B. Jerzak, *Analityka* 1, 47, 2002
- [178] www. Wikipedia. Org (16.12.2016 r.)
- [179] Karczewska A., Kabala C., *Metodyka analiz laboratoryjnych gleb i roślin*, AR we Wrocławiu, Instytut Gleboznawstwa i Ochrony Środowiska Rolniczego, wyd. 4, Wrocław 2008
- [180] K. Niesobędzka, Metale ciężkie w roślinności i glebach narażonych na antropopresję, *Chemia I Inżynieria Ekologiczna* 12, 423, 2005

- [181] S. Siebielec, G. Siebielec, B. Smreczak, Znieczyszczenia osadów dennych rzek i zbiorników wodnych, *Studia i Raporty IUNG-PIB46*, 163, 2015
- [182] L. Tomiałojć, T. Stawarczyk, Awifauna Polski, rozmieszczenie, liczebność i zmiany, T I – II, *Polskie Towarzystwo Przyjaciół Przyrody „proNAtura”*, Wrocław 2003
- [183] K.A. Dobrowolski, R. Dejtrowski, Conflict between fishermen and cormorants *Phalacrocorax carbo* in Poland *Ekologia Polska*, 45, 279, 1997
- [184] H. Szramka, Skutki ochrony kormoranow w Nadlesnictwie Elbląg, *Las Polski*, 3, 12, 2000
- [185] P. Konieczka, J. Namieśnik, R8: Walidacja procedur analitycznych, W: Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych, *Wydawnictwo Naukowo – Techniczne*, Warszawa, 2007
- [186] P. Konieczka, R2: podstawowe pojęcia statystyki, W: Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych, *Wydawnictwo Naukowo – Techniczne*, Warszawa, 2007

SPIS DOROBKU NAUKOWEGO

Publikacje:

1. K. Dubalska, **M. Rutkowska**, G. Bajger-Nowak, P. Konieczka, J. Namieśnik „Organotincompounds. Environmental fate and analysis”, Crit. Rev. Anal. Chem. 43, 35, 2013; (IF:2,892)
2. **M. Rutkowska**, K. Dubalska, G. Bajger-Nowak, P. Konieczka, J. Namieśnik, “Organomercury compounds in environmental samples: emission sources, toxicity, environmental fate and determination”, Crit. Rev. Environ. Sci. Tech. 44, 638, 2014; (IF:3,383)
3. **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, 2014; (IF = 2,428)
4. I. Baranowska, B. Buszewski, J. Namieśnik, P. Konieczka, S. Magiera, H. Polkowska-Motrenko, P. Kościelniak, R. Gadzała-Kopciuch, A. Woźniakiewicz, Z. Samczyński, K. Kochańska, **M. Rutkowska** “Development of potential candidate reference materials for drugs in bottom sediment, cod and herring tissues” Chemosphere 169, 181, 2017; (IF = 3,698);
5. K. Owczarek, N. Szczepańska, J. Płotka-Wasyłka, **M. Rutkowska**, O. Shyshchak, M. Bratychak, J. Namieśnik „Natural deep eutectic solvents in extraction proces” Chemistry & Chemical Technology 10, 601, 2016;
6. **M. Rutkowska**, G. Bajger-Nowak, P. Konieczka, J. Namieśnik „Oznaczanie zawartości rtęci w paliwach”, Analityka 4, 39, 2012,;
7. 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;
8. M. Bodnar, K. Dubalska, **M. Rutkowska**, P. Konieczka, J. Namieśnik „Certyfikowane materiały odniesienia – niezbędne narzędzie w kontroli i zapewnieniu jakości wyników pomiarów”, Analityka 3, 33, 2013,;
9. 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, 8, 2013;
10. M. Bodnar, K. Dubalska, **M. Rutkowska**, P. Konieczka, J. Namieśnik, „Сертифицированные эталонные материалы - неотъемлемый инструмент при контроле и обеспечения качества и змерений.” Analityka: nauka i praktyka 1, 22, 2014;
11. **M. Rutkowska**, K. Kochańska, L. Kandel, G. Bajger-Nowak, M. Słomińska, Ma. Marć, K. Chojnacka, H. Polkowska – Motrenko, B.

Zabiegała, J. Namieśnik, P. Konieczka „Homogeneity study of candidate reference material (contaminated soil) based on determination of selected metals, PCBs and PAHs” *Geostand. Geoanal. Res. (w recenzji)*

Monografie:

1. **M. Rutkowska**, P. Konieczka, J. Namieśnik “Ultrasound-assisted extraction” w *The Application of Green Solvents in Separation Processes* Eds: M. Tobiszewski, F. Pena-Pereira (w druku),

Skrypty:

1. G. Bajger-Nowak, T. Chmiel, T. Dymerski, P. Konieczka, M. Kujawski, Ż. Polkowska, **M. Rutkowska**, W. Wardencki, B. Zabiegała, B. Zygmunt, „*Obliczenia w chemii analitycznej*”, Politechnika Gdańska, Gdańsk, 2012.
2. K. Dubalska, P. Konieczka, M. Marć, Ż. Polkowska, **M. Rutkowska**, A. Szreniawa-Sztajnert, B. Zabiegała, „*Laboratorium z klasycznej chemii analitycznej dla kierunku Chemia*”, Politechnika Gdańska, Gdańsk, 2014;
3. K. Dubalska, P. Konieczka, M. Marć, Ż. Polkowska, **M. Rutkowska**, A. Szreniawa-Sztajnert, B. Zabiegała, „*Laboratorium z klasycznej chemii analitycznej dla kierunku Biotechnologia*”, Politechnika Gdańska, Gdańsk, 2014;
4. K. Dubalska, P. Konieczka, M. Marć, Ż. Polkowska, **M. Rutkowska**, A. Szreniawa-Sztajnert, B. Zabiegała, „*Laboratorium z klasycznej chemii analitycznej dla kierunku Technologia Chemiczna*”, Politechnika Gdańska, Gdańsk, 2014;

Wystąpienia ustne:

1. 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, Lozanna, Szwajcaria 17 – 20 czerwiec 2014;

Poster:

1. 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, Lozanna, Szwajcaria 17 – 20 czerwiec 2014

STYPENDIA I NAGRODY

1. Stypendium w programie MISTRZ Fundacji na rzecz Nauki Polskiej (N304309740) w roku akademickim 2011/2012;
2. Stypendium naukowego: z projektu „Rozwój interdyscyplinarnych studiów doktoranckich na Politechnice Gdańskiej w zakresie nowoczesnych technologii” "The development of interdisciplinary Doctoral Studies at the Gdansk University of Technology in modern technologies" (Projekt: POKL.04.01.01-00-368/09) w roku akademickim 2012/2013;
3. Stypendium „InnoDoktorant -stypendia dla doktorantów- VI edycja” przyznana przez Departament Rozwoju Gospodarczego Urzędu Marszałkowskiego Województwa Pomorskiego, w ramach Programu Operacyjnego Kapitał Ludzki, w roku akademickim 2013/2014;
4. Stypendium dla najlepszych doktorantów w roku akademickim 2013/2014.
5. Stypendium z własnego funduszu stypendialnego Rektora Politechniki Gdańskiej dla studentów, doktorantów i pracowników w roku akademickim 2014/2015;
6. Stypendium dla najlepszych doktorantów Politechniki Gdańskiej w roku akademickim 2014/2015;
7. Stypendium doktoranckie z dotacji podmiotowej na sfinansowanie zadań projakościowych w roku akademickim 2013/2014;

ANEKS 1

Wyniki oznaczeń zawartości Hg i MeHg w próbkach certyfikowanego materiału odniesienia

Certyfikowany materiał odniesienia	Certyfikowana zawartość Hg	Niepewność U (k=2)	Oznaczona zawartość Hg	Niepewność U (k=2)	Odzysk ± U (k=2)	Certyfikowana zawartość MeHg	Niepewność U (k=2)	Oznaczona zawartość MeHg	Niepewność U (k=2)	Odzysk ± U (k=2)
	µg/g				%	µg/g				%
BCR-463	2,85	0,16	2,77	0,23	97,1 ± 2,4	3,04	0,16	2,383	0,061	78,4 ± 1,1
DOLT-4	2,58	0,22	-	-	-	1,33	0,12	1,257	0,023	95,0 ± 1,0

ANEKS 2

Wyniki pomiaru całkowitej zawartości rtęci wraz z wartościami odbiegającymi (wg testu Q-Dixona i testu Grubbsa) dla pięciu kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia.

Data	Num. Op.	Stężenie 1	Stężenie 2	Stężenie 3	Stężenie 4	Stężenie 5	Stężenie 6	Stężenie 7	Stężenie 8	R	Q1	Q2	Qkr	Średnia	SD	Gp	Gkr
		[ng/g]															
9.10.2013 r.	Gleba 0001	852,27	854,32	906,80	910,09					57,82	0,035	0,057	0,829	881	32	0,917	1,481
	Gleba 0002	890,60	909,03	909,43	910,44					19,84	0,929	0,051		905	10	0,584	
	Gleba 0003	881,24	885,28	901,50	914,29					33,05	0,122	0,387		896	15	1,228	
	Gleba 0004	895,62	906,58	906,86	907,01					0,43	25,488	0,349		904,0	5,6	0,534	
	Gleba 0005	866,89	870,93	894,43	913,22					46,33	0,087	0,406		886	22	1,241	
1.01.2014 r.	Gleba 0001	854,37	878,06	891,01	908,37					54,00	0,439	0,321	0,829	883	23	1,118	1,481
	Gleba 0002	864,32	864,89	902,77	912,24					47,92	0,012	0,198		886	25	1,045	
	Gleba 0003	879,69	881,78	890,84	895,64					15,95	0,131	0,301		887,0	7,5	1,149	
	Gleba 0004	841,73	854,54	866,74	881,16					39,43	0,325	0,366		861	17	1,193	
	Gleba 0005F	852,21	854,89	917,01	920,00					67,79	0,040	0,044		886	38	0,905	
	Gleba 0006F	867,88	888,36	888,53	899,99					32,11	0,638	0,357		886	13	1,033	
	Gleba 0007F	867,88	888,36	888,53	899,99					22,95	0,146	0,216		884	11	1,068	
9.07.2014 r.	Gleba 0001	825,45	822,25	930,27	804,25	871,41	836,99	822,09		126,02	0,142	0,467	0,569	845	43	1,989	2,020
	Gleba 0002	803,35	781,28	795,50	800,59	848,65	846,68			67,37	0,211	0,029	0,628	813	28	1,278	1,887
	Gleba 0003F	861,84	823,45	846,89	825,74	813,76	885,46	822,96	875,53	71,70	0,128	0,191	0,608	844	27	1,512	2,126

ANEKS 2 c.d.

4.02.2015 r.	Gleba 0001	864,32	864,89	902,77	912,24	928,24				63,92	0,009	0,250	0,710	894	29	1,173	1,715	
	Gleba 0002	879,69	881,78	890,84	895,64	942,79				63,10	0,033	0,747		898	26	1,731		
	Gleba 0003	821,93	841,73	854,54	866,74	881,16				59,23	0,334	0,243		853	23	1,226		
	Gleba 0004F	879,10	914,18	921,69	941,01	944,04				64,94	0,540	0,047		920	26	0,920		
	Gleba 0005F	867,88	888,36	888,53	899,99	931,54				63,66	0,322	0,496		895	23	1,554		
	Gleba 0006F	873,17	876,53	891,16	896,12	907,16				33,99	0,099	0,325		889	14	1,304		
9.12.2015 r.	Gleba 0001	861,14	867,97	885,38	898,88	920,11				58,97	0,116	0,360	0,710	887	24	1,402	1,715	
	Gleba 0002	870,76	877,50	884,26	903,06	916,89				46,13	0,146	0,300		890	19	1,386		
	Gleba 0003	884,07	901,00	942,45	946,58					62,51	0,271	0,066	0,829	919	31	0,910	1,481	
	Gleba 0004F	873,70	886,89	896,08	908,00	911,20				37,50	0,352	0,085	0,710	895	15	1,039	1,715	
	Gleba 0005F	853,46	878,79	882,95	899,86	925,52				72,06	0,352	0,356		888	27	1,401		
	Gleba 0006F	869,60	886,05	897,59	897,74	936,91				67,31	0,244	0,582		898	25	1,585		
Gleba 0001	847,30	854,40	863,30	892,90	894,50	894,80				47,50	0,149	0,006		0,628	875	22		0,921
Gleba 0002	850,80	862,90	866,90	894,60	896,20	915,00				64,20	0,188	0,293	881		25	1,383		
Gleba 0003	854,70	859,90	871,20	898,20	898,20	899,60				44,90	0,116	0,031	880		21	0,927		
24.03.2013 r.	Gleba 0004F	862,30	880,10	891,00	899,20	903,02				40,72	0,437	0,094	0,710	887	16	0,968	1,715	
	Gleba 0005F	863,10	863,30	892,90	896,80	909,10				46,00	0,004	0,267		885	21	1,156		
	Gleba 0006F	864,90	871,50	872,00	894,80	895,30	898,10				33,20	0,199	0,084	0,628	883	15	1,034	1,887
19.12.2013 r.	Osad d. 0001	825,00	826,00	839,00	833,00	868,00	865,00				43,00	0,023	0,070	0,628	843	19	1,322	1,887
	Osad d. 0002	835,00	852,00	855,00	841,00	860,00	984,00				149,00	0,040	0,832		871	56	2,013	
	Osad d. 0003	845,00	863,00	894,00	868,00						49,00	0,367	0,531	0,829	868	20	1,309	1,481
	Osad d. 0004	838,00	852,00	851,00	813,00	822,00					39,00	0,231	0,026	0,710	835	17	0,967	1,715
	Osad d. 0005	880,00	811,00	853,00	826,00	861,00	837,00				69,00	0,217	0,275	0,628	845	25	1,413	1,887
	Osad d. 0006	812,00	853,00	879,00	817,00	839,00	837,00				67,00	0,075	0,388		840	25	1,609	

ANEKS 2 c.d.

21.02.2014 r.	Osad d. 0001	916,00	917,00	931,00	924,00	964,00	960,00			48,00	0,021	0,083	0,628	935	21	1,340	1,880
	Osad d. 0002	928,00	946,00	949,00	933,00	954,00	1094,00			166,00	0,030	0,843		967	63	2,016	
	Osad d. 0003	938,00	958,00	993,00	965,00					55,00	0,364	0,509	0,829	964	23	1,297	1,481
	Osad d. 0004F	930,00	946,00	945,00	903,00	912,00	1279,00			376,00	0,024	0,886	0,628	986	145	2,027	1,880
	Osad d. 0005F	977,00	900,00	947,00	917,00	956,00	930,00			77,00	0,221	0,273		938	28	1,407	
	Osad d. 0006F	901,00	947,00	976,00	907,00	931,00	929,00			75,00	0,080	0,387		932	27	1,611	
12.06.2014 r.	Osad d. 0001	866,90	883,50	899,60	906,60	907,70	931,70	713,00		218,70	0,704	0,110	0,569	873	73	0,805	2,020
	Osad d. 0002	792,20	846,00	891,50	892,00	914,20	962,80			170,60	0,315	0,285	0,628	883	58	1,362	1,887
	Osad d. 0003	798,80	819,00	830,30	843,70	868,00	892,90			94,10	0,215	0,265		842	34	1,491	2,020
	Osad d. 0004F	795,70	848,80	901,50	995,30	1000,10	1003,70			208,00	0,255	0,017	924	89	0,891		
	Osad d. 0005F	810,30	835,30	863,70	907,50	934,40	986,50	1010,30		200,00	0,125	0,119	0,569	907	75	1,372	1,887
	Osad d. 0006F	765,70	821,40	852,50	876,60	902,40	904,40			138,70	0,402	0,014	854	53	0,947		
20.01.2015 r.	Osad d. 0001	795,10	802,70	814,20	844,50	858,50	982,00			186,90	0,041	0,661	0,628	850	69	1,910	1,880
	Osad d. 0002	818,70	830,00	834,50	866,00	882,80	961,70			143,00	0,079	0,552		866	53	1,818	
	Osad d. 0003	802,70	814,20	817,10	829,10	830,40	1387,90			585,20	0,020	0,953		914	233	2,039	
	Osad d. 0004F	801,60	801,70	815,80	817,10	833,10	844,80			43,20	0,002	0,271		819	17	1,498	
	Osad d. 0005F	801,40	830,70	846,00	867,90	877,80	944,50			143,10	0,205	0,466		861	49	1,697	
	Osad d. 0006F	829,90	834,60	849,40	850,70	863,00	926,30			96,40	0,049	0,657		859	35	1,920	
8.06.2015 r.	Osad d. 0001	866,81	888,18	922,92	929,83	950,22	947,91			83,41	0,256	0,028	0,628	918	33	0,973	2,020
	Osad d. 0002	872,79	901,08	902,08	923,96	928,78	937,56			64,77	0,437	0,136		908	27	1,119	
	Osad d. 0003	950,97	902,30	907,53	940,17	949,22	948,58			48,67	0,107	0,036		923	26	1,011	
	Osad d. 0004F	869,12	860,05	922,11	951,26	941,74				91,21	0,099	0,104	0,710	905	48	0,963	1,887
	Osad d. 0005F	884,66	865,84	875,65	880,38	908,51	946,25			80,41	0,122	0,469	0,628	894	29	1,788	2,020
	Osad d. 0006F	906,12	865,57	914,87	918,46	953,52				87,95	0,461	0,399	0,710	912	31	1,328	1,887



ANEKS 2 c.d.

10.03.2016 r.	Osad d. 0001	833,40	836,20	852,00	849,50	852,60	838,20			19,20	0,146	0,031	0,569	843,7	8,7	1,034	1,887
	Osad d. 0002	848,60	827,80	848,70	852,30	825,90	871,00			45,10	0,042	0,415		846	17	1,504	
	Osad d. 0003F	818,50	834,80	900,30	859,70	841,30	871,20			81,80	0,199	0,356		854	29	1,576	
	Osad d. 0004F	832,60	856,70	879,60	822,90	881,50	825,40			58,60	0,043	0,032		850	27	1,189	
23.12.2013 r.	Tk. Śle. 0001	215,00	219,00	222,00	226,00	229,00				14,00	0,286	0,214	0,710	222,2	5,5	1,227	1,715
	Tk. Śle. 0002	221,38	220,84	223,54	220,20	226,05	222,00			5,85	0,109	0,429	0,628	222,3	2,1	1,729	1,887
	Tk. Śle. 0003	205,60	200,90	199,30	218,10	218,80	228,80			29,50	0,054	0,024		212	12	1,436	
	Tk. Śle. 0004	218,60	221,50	227,70	224,60	223,00	222,10			9,10	0,319	0,176		222,9	3,1	1,560	
25.02.2014 r.	Tk. Śle. 0001	204,00	221,20	220,50	213,00	214,40	215,50			17,20	0,523	0,041	0,628	214,8	6,2	1,033	1,887
	Tk. Śle. 0002	210,00	209,10	224,70	218,00	223,90	214,30			15,60	0,058	0,051		216,7	6,7	1,195	
	Tk. Śle. 0003	203,00	223,60	221,60	218,50	215,10	215,40			20,60	0,587	0,097		216,2	7,3	1,016	
	Tk. Śle. 0004F	217,00	215,10	224,00	223,30	215,20	212,70			11,30	0,212	0,062		217,9	4,7	1,308	
	Tk. Śle. 0005F	221,00	224,00	223,90	218,90	217,40	204,20			19,80	0,667	0,005		218,2	7,4	0,783	
	Tk. Śle. 0006F	232,20	229,00	219,80	216,30	222,10	215,50			16,70	0,048	0,192		222,5	6,8	1,429	
16.06.2014 r.	Tk. Śle. 0001	216,90	214,10	213,30	220,50	224,40	226,20			12,90	0,062	0,140	0,569	219,2	5,4	1,299	1,887
	Tk. Śle. 0002	216,50	213,00	218,00	217,80	222,50	223,40			10,40	0,337	0,087		218,5	3,9	1,257	
	Tk. Śle. 0003	221,10	213,90	220,30	218,00	223,30	222,80			9,40	0,436	0,053		219,9	3,5	0,972	
	Tk. Śle. 0004F	214,20	221,00	216,80	217,60	221,80	227,50			13,30	0,195	0,429		219,8	4,7	1,639	
	Tk. Śle. 0005F	211,90	215,10	215,90	215,50	218,80	224,10			12,20	0,262	0,434		216,9	4,2	1,734	
	Tk. Śle. 0006F	219,70	217,70	224,70	218,60	232,40	229,80	221,70			14,70	0,061	0,177	0,628	223,5	5,7	1,556
19.01.2015 r.	Tk. Śle. 0001	187,20	193,70	202,40	204,70	205,30				18,10	0,359	0,033	0,710	198,7	7,9	0,839	1,715
	Tk. Śle. 0002	196,10	196,30	202,80	205,50	206,60				10,50	0,019	0,105		201,5	5,0	1,029	
	Tk. Śle. 0003	190,70	191,60	196,10	197,90	206,10				15,40	0,058	0,532		196,5	6,2	1,561	
	Tk. Śle. 0004F	191,70	195,00	196,10	199,30	202,40	205,80			14,10	0,234	0,241	0,628	198,4	5,2	0,778	1,887
	Tk. Śle. 0005F	188,00	195,20	195,70	198,90	199,40				11,40	0,632	0,044	0,710	195,4	4,6	0,869	1,715
	Tk. Śle. 0006F	199,80	200,20	201,80	203,00	210,20				10,40	0,038	0,692		203,0	4,2	1,705	

ANEKS 2 c.d.

19.06.2015 r.	Tk. Śle. 0001	197,50	191,10	208,20	206,00	208,70				17,60	0,364	0,028	0,710	202,3	7,7	0,830	1,715
	Tk. Śle. 0002	199,60	188,50	206,30	209,90	208,80	199,90			21,40	0,519	0,051	0,628	202,2	8,0	0,968	1,887
	Tk. Śle. 0003	221,50	199,60	201,40	194,40	209,70	195,30			27,10	0,033	0,435		204	10	1,731	
	Tk. Śle. 0004F	199,60	195,30	198,60	203,00	209,10	206,00			13,80	0,239	0,225		201,9	5,1	1,408	
	Tk. Śle. 0005F	199,40	191,90	202,50	203,20	199,00	230,20			38,30	0,185	0,705		204	13	1,946	
	Tk. Śle. 0006F	203,50	192,60	213,50	203,60	205,50	206,60			20,90	0,522	0,330		204,2	6,8	1,371	
17.03.2016 r.	Tk. Śle. 0001	206,90	213,30	214,10	220,50	224,40	226,20	228,20		21,30	0,300	0,094	0,628	219,1	7,9	1,159	2,020
	Tk. Śle. 0002	213,00	216,50	217,80	218,00	222,50	223,40			10,40	0,337	0,087	0,569	218,5	3,9	1,257	1,887
	Tk. Śle. 0003	213,90	218,00	220,30	221,10	222,80	223,30	237,10		23,20	0,177	0,595	0,628	222,4	7,2	2,035	2,020
	Tk. Śle. 0004F	211,00	214,20	216,80	217,60	221,80	227,50	230,00		19,00	0,168	0,132		219,8	7,0	1,461	
	Tk. Śle. 0005F	211,90	215,10	215,50	215,90	218,80	224,10	228,60		16,70	0,192	0,269		218,6	5,8	1,721	
	Tk. Śle. 0006F	217,70	218,60	219,70	221,70	224,70	229,80	232,40		14,70	0,061	0,177		223,5	5,7	1,556	
23.12.2013 r.	Tk. Dor. 0001	310,90	302,10	302,90	313,30	311,60				11,20	0,071	0,152	0,710	308,2	5,2	0,979	1,715
	Tk. Dor. 0002	302,78	301,07	306,91	310,11					9,04	0,189	0,354	0,829	305,2	4,1	1,199	1,481
	Tk. Dor. 0003	288,28	288,36	289,10	300,01	305,99				17,70	0,004	0,338	0,710	294,3	8,2	1,423	1,715
	Tk. Dor. 0004	281,70	284,40	283,21	291,26					9,56	0,158	0,717	0,829	285,1	4,2	1,448	1,481
	Tk. Dor. 0005	286,19	285,62	285,28	285,75	294,04				9,65	0,013	0,128	0,710	289,4	4,8	1,218	1,715
6.02.2014 r.	Tk. Dor. 0001	280,11	283,21	291,40	293,31	294,60				14,49	0,214	0,132	0,710	288,5	6,5	0,940	1,715
	Tk. Dor. 0002	345,53	313,49	307,54	310,09	297,19				48,35	0,214	0,070		315	18	1,686	
	Tk. Dor. 0003	303,73	298,55	302,70	326,25	291,21				35,04	0,209	0,029		304	13	1,658	
	Tk. Dor. 0004F	369,31	347,52	335,70	320,59	301,53				67,78	0,281	0,174		335	26	1,333	
	Tk. Dor. 0005F	306,47	293,94	306,44	301,00	337,83				43,89	0,161	0,714		309	17	1,704	



ANEKS 2 c.d.

18.06.2014 r.	Tk. Dor. 0001	320,60	316,10	314,10	310,60	310,20	319,90			10,40	0,038	0,067	0,628	315,3	4,5	1,200	1,887
	Tk. Dor. 0002	307,30	323,10	325,00	308,70	311,80	336,80	327,70		29,50	0,047	0,308	0,569	320	11	1,515	2,020
	Tk. Dor. 0003	296,20	310,40	312,90	313,10	308,90	305,10	333,70		37,50	0,237	0,549		311	11	1,949	
	Tk. Dor. 0004F	300,50	312,50	314,70	314,90	312,50	343,10			42,60	0,282	0,662	0,628	316	14	1,889	1,887
	Tk. Dor. 0005F	305,00	311,10	305,60	309,70	315,00	306,70			10,00	0,060	0,390		308,9	3,8	1,603	
	Tk. Dor. 0006F	309,90	313,10	308,50	307,90	304,70	316,60	312,20		11,90	0,269	0,294	0,569	310,4	3,9	1,583	2,020
12.01.2015 r.	Tk. Dor. 0001	266,60	266,90	262,90	264,20	274,00				11,10	0,117	0,640	0,710	266,9	4,3	1,648	1,715
	Tk. Dor. 0002	267,90	288,30	260,30	258,60	284,80				29,70	0,057	0,118		272	14	1,182	
	Tk. Dor. 0003	279,20	253,50	274,30	260,40	274,20				25,70	0,268	0,191		268	11	1,003	
	Tk. Dor. 0004F	265,30	274,60	251,40	262,70	273,60				23,20	0,487	0,043		265,5	9,4	0,964	
	Tk. Dor. 0005F	276,00	267,40	266,50	254,50	285,30				30,80	0,390	0,302		270	12	1,335	
	Tk. Dor. 0006F	268,80	272,90	255,70	256,90	262,90				17,20	0,070	0,238		263,4	7,4	1,272	
23.06.2015 r.	Tk. Dor. 0001	318,80	284,60	287,90	288,10	301,40				34,20	0,096	0,509	0,710	296	14	1,594	1,715
	Tk. Dor. 0002	286,10	287,50	286,00	297,40	301,10				15,10	0,007	0,245		291,6	7,1	1,333	
	Tk. Dor. 0003F	282,80	275,80	278,40	282,10	292,00				16,20	0,160	0,568		282,2	6,2	1,588	
	Tk. Dor. 0004F	299,60	285,00	307,70	291,50	310,10				25,10	0,259	0,096		299	11	1,066	
10.12.2015 r.	Tk. Dor. 0001	302,53	302,72	294,59	299,75					8,13	0,635	0,024	0,829	299,9	3,8	0,745	1,481
	Tk. Dor. 0002	282,26	283,03	289,11	288,85					6,85	0,112	0,038		285,8	3,7	0,898	
	Tk. Dor. 0003F	301,81	299,69	307,69	310,44					10,75	0,197	0,256		304,9	5,0	1,106	
	Tk. Dor. 0004F	287,89	296,73	296,60	294,72					8,84	0,772	0,015		294,0	4,2	0,659	
	Tk. Dor. 0005F	297,57	291,26	294,04	297,44	317,10				25,85	0,108	0,756	0,710	299	10	1,729	1,715

ANEKS 2 c.d.

7.03.2016 r.	Tk. Dor. 0001	307,54	310,09	313,49	345,53	367,44	376,29	377,84		70,29	0,036	0,022	0,569	343	32	1,102	2,020
	Tk. Dor. 0002	298,55	302,70	303,73	324,12	326,25	333,80	380,53		81,98	0,051	0,570		315	15	1,270	
	Tk. Dor. 0003F	313,44	320,59	327,21	335,70	347,52	369,31	320,00		55,88	0,117	0,390		333	19	1,845	
	Tk. Dor. 0004F	293,94	295,26	306,16	306,44	306,47	337,83	387,00		93,06	0,014	0,528		319	33	2,042	
[mg/kg]																	
23.12.2013 r.	Tk. Kor. 0001	2,204	2,256	2,325	2,337					0,133	0,393	0,087	0,710	2,281	0,062	0,904	1,715
	Tk. Kor. 0002	2,151	2,152	2,154	2,155	2,185				0,034	0,029	0,882		2,159	0,014	1,778	
	Tk. Kor. 0003	2,151	2,153	2,154	2,155	2,185				0,034	0,041	0,880		2,160	0,014	1,779	
	Tk. Kor. 0004	2,133	2,176	2,291	2,316	2,322				0,189	0,226	0,030		2,248	0,087	0,854	
	Tk. Kor. 0005	2,004	2,006	2,006	2,022	2,043				0,039	0,039	0,541		2,016	0,017	1,610	
	Tk. Kor. 0006	2,119	2,162	2,336	2,371	2,419				0,300	0,143	0,160		2,28	0,13	1,036	
19.03.2014 r.	Tk. Kor. 0001	2,186	2,220	2,308	2,321	2,321	2,428			0,242	0,140	0,442	0,628	2,297	0,086	1,526	1,887
	Tk. Kor. 0002	2,230	2,266	2,287	2,305	2,309	2,335			0,105	0,343	0,248		2,289	0,037	1,258	
	Tk. Kor. 0003	2,240	2,255	2,275	2,281	2,289	2,366			0,126	0,119	0,611		2,284	0,044	1,862	
	Tk. Kor. 0004F	2,215	2,240	2,292	2,295	2,335	2,335			0,120	0,208	0,000		2,285	0,049	1,011	
	Tk. Kor. 0005F	2,263	2,276	2,317	2,318	2,359	2,388			0,125	0,104	0,232		2,320	0,048	1,424	
	Tk. Kor. 0006F	2,263	2,294	2,320	2,325	2,354	2,372			0,109	0,284	0,165		2,321	0,039	1,283	
4.06.2014 r.	Tk. Kor. 0001	2,293	2,316	2,318	2,321	2,326	2,340			0,047	0,489	0,298	0,628	2,319	0,015	1,367	1,887
	Tk. Kor. 0002	2,320	2,323	2,335	2,335	2,337	2,347			0,027	0,111	0,370		2,333	0,010	1,433	
	Tk. Kor. 0003	2,293	2,295	2,322	2,351	2,355	2,365			0,072	0,028	0,139		2,330	0,031	1,107	
	Tk. Kor. 0004F	2,301	2,314	2,348	2,351	2,365	2,366			0,065	0,200	0,015		2,341	0,027	0,928	
	Tk. Kor. 0005F	2,260	2,312	2,317	2,343	2,343	2,366			0,106	0,491	0,217		2,324	0,037	1,155	
	Tk. Kor. 0006F	2,281	2,296	2,298	2,314	2,329	2,335			0,054	0,278	0,111		2,309	0,021	1,255	

ANEKS 2 c.d.

16.12.2014 r.	Tk. Kor. 0001	1,916	1,942	1,966	1,975	1,982				0,066	0,393	0,096	0,710	1,956	0,027	0,941	1,715
	Tk. Kor. 0002	1,954	1,971	1,975	1,984	2,030				0,077	0,224	0,599		1,983	0,029	1,648	
	Tk. Kor. 0003	1,976	1,980	1,981	2,011	2,050				0,074	0,043	0,530		2,000	0,032	1,603	
	Tk. Kor. 0004F	2,033	2,033	2,058	2,082	1,993				0,049	0,824	0,482		2,040	0,033	1,267	
	Tk. Kor. 0005F	1,955	1,956	1,963	1,982	2,013				0,058	0,029	0,530		1,974	0,024	1,602	
	Tk. Kor. 0006F	2,047	2,053	2,055	2,068					0,021	0,276	0,619	0,829	2,0559	0,0089	1,387	1,481
1.06.2015 r.	Tk. Kor. 0001	1,959	2,062	1,991	2,350	2,368	2,400			0,441	0,073	0,073	0,628	2,19	0,21	1,032	1,887
	Tk. Kor. 0002	1,975	1,985	2,022	2,214	2,232	2,262			0,287	0,035	0,103		2,11	0,13	1,093	
	Tk. Kor. 0003	2,018	2,021	2,038	2,256	2,259	2,274			0,256	0,011	0,060		2,14	0,13	0,997	
	Tk. Kor. 0004F	2,043	2,057	2,141	2,286	2,290	2,391			0,348	0,038	0,290		2,20	0,14	1,337	
	Tk. Kor. 0005F	2,199	2,200	2,241	2,318	2,323	2,370			0,171	0,005	0,276		2,275	0,072	1,322	
10.12.2015 r.	Tk. Kor. 0001	2,146	2,149	2,153	2,160	2,171				0,025	0,099	0,468	0,710	2,156	0,010	1,542	1,715
	Tk. Kor. 0002	2,162	2,273	2,336	2,371	2,419				0,257	0,433	0,187		2,312	0,099	1,074	
	Tk. Kor. 0003	2,121	2,171	2,177	2,192	2,202				0,081	0,617	0,123		2,173	0,031	0,940	
	Tk. Kor. 0004F	2,145	2,171	2,185	2,190	2,197				0,052	0,497	0,135		2,178	0,020	0,946	
	Tk. Kor. 0005F	2,098	2,162	2,206	2,217	2,219				0,121	0,527	0,017		2,180	0,051	0,750	
	Tk. Kor. 0006F	2,103	2,166	2,214	2,214	2,225				0,122	0,518	0,090		2,184	0,051	0,797	
1.03.2016 r.	Tk. Kor. 0001	2,193	2,178	2,255	2,218	2,204	2,283	2,198		0,105	0,143	0,266	0,569	2,219	0,037	1,724	2,020
	Tk. Kor. 0002	2,191	2,489	2,268	2,292	2,216	2,295	2,320		0,298	0,083	0,568		2,296	0,097	2,000	
	Tk. Kor. 0003F	2,270	2,176	2,195	2,187	2,202	2,221	2,213		0,094	0,114	0,523		2,209	0,031	1,977	
	Tk. Kor. 0004F	2,177	2,192	2,187	2,205	2,201	2,218	2,212		0,041	0,254	0,146		2,199	0,014	1,319	

ANEKS 3

Wyniki pomiaru zawartości metylortęci wraz z wartościami odbiegającymi (wg testu Q-Dixona i testu Grubbsa) dla prztech kandydatów na certyfikowane materiały odniesienia.

Num. Op.	Stężenie 1	Stężenie 2	Stężenie 3	Stężenie 4	Stężenie 5	Stężenie 6	Stężenie 7	Stężenie 8	R	Q1	Q2	Qkr	Średnia	SD	Gp	Gkr
	[ng/l]															
Tk. Śle. 0001F	9,81	9,84	9,87	9,98	9,99	10,06	10,27		0,46	0,055	0,462	0,569	9,97	0,16	1,864	2,020
Tk. Śle. 0002F	8,04	8,12	8,17	8,23	8,31	8,31	8,33		0,29	0,293	0,052		8,21	0,11	1,014	
Tk. Śle. 0003F	7,76	7,82	7,89	7,94	8,01	8,06	8,11		0,35	0,171	0,143		7,94	0,13	1,324	
Tk. Śle. 0004F	7,80	8,02	8,06	8,09	8,14	8,16	8,28		0,48	0,469	0,240		8,08	0,15	1,331	
Tk. Śle. 0005F	8,40	8,45	8,52	8,57	8,59	8,59	8,60		0,20	0,250	0,050		8,530	0,078	0,896	
Tk. Śle. 0006F	8,23	8,23	8,44	8,53	8,59	8,59	8,62		0,39	0,000	0,065		8,46	0,17	0,927	
Tk. Śle. 0001	6,08	6,08	6,11	6,12	6,13	6,13	6,21		0,14	0,037	0,593	0,569	6,121	0,045	1,986	2,020
Tk. Śle. 0002	6,30	6,35	6,37	6,43	6,46	6,58	6,64		0,34	0,134	0,179		6,44	0,12	1,557	
Tk. Śle. 0003	6,31	6,35	6,37	6,39	6,40	6,44	6,47		0,16	0,281	0,156		6,387	0,054	1,448	
Tk. Śle. 0004	6,82	6,87	6,88	6,89	6,91	6,92	6,96		0,14	0,370	0,296		6,890	0,042	1,532	
Tk. Śle. 0005	6,80	6,89	6,90	6,91	6,97	7,04	7,31		0,51	0,178	0,535		6,97	0,16	2,033	
Tk. Śle. 0006	6,79	7,24	7,27	7,29	7,32	7,36	7,36	7,37	0,59	0,769	0,026	0,608	7,25	0,19	0,640	2,126
Tk. Dor. 0001F	10,88	10,92	11,01	11,04	11,11	11,41			0,53	0,075	0,575	0,628	11,06	0,19	1,845	1,887
Tk. Dor. 0002F	10,33	10,40	10,42	10,47	10,58	10,61	10,63		0,30	0,237	0,051	0,569	10,49	0,12	1,166	2,020
Tk. Dor. 0003F	10,81	11,10	11,12	11,13	11,17	11,19	11,22		0,41	0,720	0,073		11,10	0,14	0,816	
Tk. Dor. 0004F	10,65	10,81	10,88	10,93	10,93	10,97	11,00		0,36	0,465	0,099		10,88	0,12	1,004	
Tk. Dor. 0005F	10,84	10,92	10,93	11,05	11,13	11,19	11,24		0,40	0,203	0,127		11,04	0,15	1,310	
Tk. Dor. 0006F	10,45	10,47	10,56	10,59	10,61	10,86	10,90		0,45	0,033	0,100		10,63	0,18	1,508	

ANEKS 3 c.d.

Tk. Dor. 0001	11,15	11,40	11,46	11,72	11,75	12,04			0,89	0,282	0,328	0,628	11,58	0,31	1,450	1,887
Tk. Dor. 0002	11,43	11,47	11,55	11,59	11,61	11,61	12,16		0,73	0,061	0,748	0,569	11,63	0,24	2,169	2,020
Tk. Dor. 0003	10,53	10,53	10,55	10,59	10,64	10,67	11,46		0,93	0,000	0,849		10,71	0,34	2,238	
Tk. Dor. 0004	10,60	10,65	10,78	10,81	10,87	10,89	11,01		0,41	0,110	0,293		10,80	0,14	1,474	
Tk. Dor. 0005	10,21	10,23	10,24	10,26	10,28	10,28	10,70		0,48	0,041	0,856		10,31	0,17	2,243	
Tk. Dor. 0006	10,06	10,13	10,15	10,22	10,25	10,26	10,26		0,21	0,366	0,000		10,189	0,079	0,892	
Tk. Kor. 0001F	76,51	76,69	76,84	77,31	77,39	77,70	78,06		1,55	0,117	0,230		77,21	0,56	1,499	
Tk. Kor. 0002F	78,37	79,65	79,72	80,15	80,20	80,27	80,88		2,51	0,508	0,243	79,89	0,78	1,263		
Tk. Kor. 0003F	64,32	68,62	69,81	70,46	70,74	70,97	72,14		7,82	0,549	0,150	69,6	2,6	1,002		
Tk. Kor. 0004F	74,62	75,69	76,04	76,08	76,39	76,47	76,88		2,26	0,473	0,184	76,02	0,72	1,183		
Tk. Kor. 0005F	71,14	71,96	72,38	73,09	74,04	75,74	98,55		27,41	0,030	0,832	76,7	9,7	2,241		
Tk. Kor. 0006F	72,17	72,27	72,50	73,00	73,21	73,54	80,76		8,59	0,012	0,841	73,9	3,1	2,237		
Tk. Kor. 0001	79,66	80,36	80,93	81,55	81,57	83,23	83,56		3,90	0,180	0,083	81,5	1,4	1,405	2,020	
Tk. Kor. 0002	81,48	83,34	84,23	84,39	84,84	86,55	89,06		7,58	0,245	0,331	84,8	2,4	1,750		
Tk. Kor. 0003	88,12	89,03	90,19	90,28	92,85	93,65	98,14		10,02	0,091	0,448	91,8	3,4	1,860		
Tk. Kor. 0004	90,11	90,21	91,41	92,03	92,33	93,97	102,44		12,33	0,008	0,687	93,2	4,3	2,157		
Tk. Kor. 0005	96,45	96,87	96,91	98,55	99,14	99,24	106,17		9,73	0,043	0,713	99,0	3,3	2,130		
Tk. Kor. 0006	83,50	84,38	84,56	85,55	86,04	86,26	133,69		50,20	0,018	0,945	92	18	2,265		

