

*Streszczenie rozprawy doktorskiej pt.:*

***Zastosowanie spektrometrii mas rozcieńczenia izotopowego w analizie specjacyjnej chromu w wodzie techniką sprzężoną HPLC/ICP-MS***

*Barbara Markiewicz*

Znaczące różnice we właściwościach biochemicznych dwóch najbardziej rozpowszechnionych w środowisku wodnym form specjacyjnych chromu niewątpliwie warunkują potrzebę ich dokładnego oznaczania. Informacja na temat udziału Cr(VI) w stosunku do całkowitego stężenia chromu w próbce ma o tyle istotne znaczenie, gdyż wykazuje on działanie mutagenne i genotoksyczne. Wynika to z wysokiego potencjału oksydacyjnego oraz łatwości dyfundowania przez błony biologiczne tej formy chromu. Z drugiej strony Cr(III) uważany jest za niezbędny mikroelement odżywczy, gdyż warunkuje prawidłowe funkcjonowanie naszego organizmu, wspomagając metabolizm węglowodanów, tłuszczu oraz białek. Zależność pomiędzy stopniem utlenienia chromu a jego toksycznością jest podstawowym powodem dużego zainteresowania analityków metodami umożliwiającymi oznaczanie form specjacyjnych chromu w wodzie. Spośród różnych podejść analitycznych połączenie chromatografii cieczowej ze spektrometrią mas z plazmą sprzężoną indukcyjnie jest najchętniej stosowane w tej dziedzinie badań. Rozwiązaniami problemów analitycznych związanych z pobieraniem, utrwalaniem i przechowywaniem próbek oraz opracowywaniem procedur analitycznych literatura jest już nasycona, jednak wciąż rosnące wymagania co do jakości wyników oznaczania nie są w pełni jeszcze spełnione. Niezwykle istotne jest podawanie rzetelnych wyników, co można zrealizować poprzez wprowadzenie do pomiarów chemicznych podstawowych zasad metrologii obejmujących walidację procedury analitycznej, zapewnienie i wykazanie spójności pomiarowej oraz oszacowanie niepewności pomiaru.

Przeprowadzone badania obejmowały dwa etapy: pierwszy dotyczył oznaczania chromu ogólnego w niegazowanych wodach butelkowanych metodą spektrometrii mas rozcieńczenia izotopowego z plazmą sprzężoną indukcyjnie (ICP-IDMS); drugi był związany z zastosowaniem techniki sprzężonej wysokosprawnej chromatografii cieczowej ze spektrometrią mas rozcieńczenia izotopowego z plazmą sprzężoną indukcyjnie (HPLC/ICP-IDMS) do specjacyjnego oznaczania Cr(VI) w tych samych matrycach. Natomiast stężenie Cr(III) w analizowanych próbkach wyznaczono na podstawie różnicy stężeń dla chromu ogólnego i Cr(VI). Opracowanie wiarygodnej procedury analitycznej specjacyjnego oznaczania chromu w wodzie metodą HPLC/ICP-IDMS stanowiło główny cel niniejszej pracy doktorskiej. W jego realizacji pomogło wykorzystanie definitywnej metody analitycznej – IDMS, która umożliwia uzyskanie najwyższej jakości metrologicznej spójności pomiarowej. Metoda ta oferuje ponadto uzyskanie wysoce dokładnych rezultatów analitycznych, ponieważ stężenie analitu oblicza się na podstawie stosunku sygnałów dla odpowiednich jonów masowych w próbce z dodatkiem wzbogaconego izotopowo wzorca, a nie w oparciu o intensywności tych jonów. W związku z tym, że wyznaczony stosunek izotopowy nie ulega zmianom pod wpływem niestabilności spektrometru ICP-MS wynikających z dryftu urządzenia lub matrycy próbki, zakłócenia te nie wpływają na końcowy wynik oznaczania. Kluczowe przy zastosowaniu metody rozcieńczenia izotopowego jest założenie o braku interferencji spektralnych dla przynajmniej dwóch izotopów oznaczanego pierwiastka, w przeciwnym razie metoda ta nie może być określana mianem definitywnej.

W przypadku czterech występujących w środowisku izotopów chromu o różnej naturalnej abundancji, wszystkie obciążone są wspomnianymi interferencjami. Dlatego też w przypadku wykorzystywanego w pracy kwadropolowego spektrometru mas konieczne było zastosowanie dynamicznej komory reakcyjnej (DRC), która efektywnie eliminuje czynniki przeszkadzające. Użycie amoniaku jako gazu reakcyjnego pozwoliło na skuteczne usunięcie jonów  $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$  oraz  $^{37}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$  zakłócających właściwy pomiar izotopów odpowiednio  $^{52}\text{Cr}$  i  $^{53}\text{Cr}$ . Poprawność wyznaczonego stosunku  $^{52}\text{Cr}/^{53}\text{Cr}$  sprawdzano na próbkach bez dodatku wzbogaconego izotopowo wzorca  $^{53}\text{Cr}$ . Otrzymane wartości stosunku izotopowego (8,790–8,860) nie różniły się znacząco od tej podawanej przez IUPAC (8,819). Dowodzi to o skutecznym działaniu komory reakcyjnej.

Ponadto zoptymalizowano parametry związane z pracą detektora ICP-MS, takie jak czas martwy oraz poprawka na rozróżnienie mas, wpływające na precyzję i poprawność wyznaczonych stosunków izotopowych.

Celem zagwarantowania jakości otrzymywanych wyników wykonano walidację dwóch procedur analitycznych tj. oznaczania chromu ogólnego oraz Cr(VI) w wodzie (obejmującą wyznaczenie parametrów takich jak: granica wykrywalności (LOD), granica oznaczalności (LOQ), precyzja, dokładność) wraz z zapewnieniem spójności pomiarowej oraz określeniem niepewności pomiaru. Dokonano porównania wyznaczonych parametrów uzyskanych dla oznaczania Cr(VI) metodą HPLC/ICP-MS z zastosowaniem spektrometrii mas rozcieńczenia izotopowego (definitywnej metody analitycznej) z wcześniej opublikowanymi danymi otrzymanymi dla oznaczania tego samego analitu metodą porównawczą HPLC/ICP-MS. Opracowana procedura analityczna specjacyjnego oznaczania Cr(VI) w wodzie metodą HPLC/ICP-IDMS spełnia wymagania stawiane analizie specjacyjnej. Potwierdzeniem tego są uzyskane wartości LOD i LOQ wynoszące odpowiednio  $0,020 \mu\text{g L}^{-1}$  i  $0,060 \mu\text{g L}^{-1}$ , które są niższe niż najwyższe dopuszczalne stężenie chromu ogólnego w wodzie przeznaczonej do picia, rekomendowane przez WHO ( $50 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Otrzymana wartość LOD stanowi 5-krotnie niższą wartość dla tego parametru walidacyjnego w odniesieniu do metody porównawczej. Zgodnie z przewidywaniami, w przypadku zastosowania metody HPLC/ICP-IDMS zaobserwowano znaczącą poprawę precyzji (określonej zarówno w warunkach powtarzalności, jak i warunkach precyzji pośredniej, których wartości wyniosły odpowiednio 0,42% oraz 0,95%) w porównaniu z wynikami wcześniejszych badań dotyczących oznaczania Cr(VI) w wodzie metodą porównawczą – HPLC/ICP-MS. Niepewność wyniku pomiaru szacowano metodą modelową opartą na równaniu matematycznym i prawie propagacji niepewności. Otrzymano niską (3,8%) wartość złożonej standardowej niepewności w przypadku oznaczania Cr(VI) metodą HPLC/ICP-IDMS, co jest cechą charakterystyczną techniki IDMS. Stosując metodę rozcieńczenia izotopowego uzyskano możliwość zapewnienia najwyższej jakości metrologicznej spójności pomiarowej podczas specjacyjnego oznaczania chromu w matrycach wodnych. Metoda ta pozwala na odniesienie otrzymanych rezultatów bezpośrednio do jednostek układu SI, co nie jest możliwe do zrealizowania w przypadku metod porównawczych. Zastosowanie metody IDMS gwarantuje uzyskanie wiarygodnych wyników oznaczania, które są podstawowym wymogiem wprowadzenia nowych uregulowań prawnych.