

AUTOREFERAT

Dr Izabela Marta Komorowicz

Specjacja i analiza specjacyjna arsenu, chromu i antymonu w próbkach środowiskowych i żywności techniką sprzężoną HPLC/ICP-DRC-MS



Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Wydział Chemii

Poznań, 2019r.

1. Imię i Nazwisko.

Izabela Marta Komorowicz (z d. Krzyżaniak)

2. Posiadane dyplomy i stopnie naukowe.

22.06.2011	tytuł doktora nauk chemicznych w zakresie chemii, Wydział Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu Tytuł pracy: Analiza specjacyjna arsenu w wodzie techniką wysokosprawnej chromatografii cieczowej połączonej ze spektrometrią mas z jonizacją w indukowanej plazmie. Promotor: Prof. dr hab. Danuta Barałkiewicz
10.2007 – 06.2011	studia doktoranckie na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
29.05.2006	tytuł magistra chemii, specjalność: chemia środowiska, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu Tytuł pracy: Ustalanie związku między wodami podziemnymi a powierzchniowymi na terenie Wielkopolskiego Parku Narodowego na podstawie badań pierwiastków promieniotwórczych – Sr, Pb, Cs, U – metodą ICP-MS. Promotor: Prof. dr hab. Danuta Barałkiewicz
10.2001 – 05.2006	studia magisterskie, specjalność: chemia środowiska na Wydziale Chemii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
2001	egzamin dojrzałości w Liceum Ogólnokształcącym nr IX im. Karola Libelta w Poznaniu

3. Informacje o dotychczasowym zatrudnieniu.

1.05.2013 – do dzisiaj	adiunkt, Pracownia Analizy Spektroskopowej Pierwiastków, Wydział Chemii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
17.09.2016 – 16.09.2017	urlop macierzyński
20.02.2016 – 16.09.2016	długotrwała niezdolność do pracy (zwolnienie lekarskie)

4. Omówienie osiągnięć, o których mowa w art. 219 ust. 1 pkt. 2 Ustawy.

a) Tytuł osiągnięcia naukowego.

Specjacja i analiza specjacyjna arsenu, chromu i antymonu w próbkach środowiskowych i żywności techniką sprzężoną HPLC/ICP-DRC-MS

b) Cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych, zgodnie z art. 219 ust. 1. pkt 2b Ustawy.

Wskaźnik IF zgodny z rokiem publikacji i punktacja wg. Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego:

[H1] Komorowicz I., Baralkiewicz D. Arsenic and its speciation in water samples by high performance liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry - Last decade review. *Talanta* 2011, 84, 247-261.

Praca przeglądowa. Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na dobraniu tematyki tak aby uzupełniała ona luki w przeglądzie literatury światowej z danej dziedziny oraz napisaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 90%.

IF₍₂₀₁₁₎=3,794; MNiSZW=100pkt; cyt. WoS/Scopus=85/89

[H2] Komorowicz I., Baralkiewicz D. Arsenic speciation in water by high-performance liquid chromatography/inductively coupled plasma mass spectrometry-method validation and uncertainty estimation. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 2014, 28, 159-168.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na zaplanowaniu badań, wykonaniu analiz metodą HPLC/ICP-MS, interpretacji uzyskanych wyników oraz napisaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 90%.

IF₍₂₀₁₄₎=2,253; MNiSZW=70pkt; cyt. WoS/Scopus=11/11

[H3] Markiewicz B., Komorowicz I., Baralkiewicz D. Accurate quantification of total chromium and its speciation form Cr(VI) in water by ICP-DRC-IDMS and HPLC/ICP-DRC-IDMS. *Talanta* 2016, 152, 489-497.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na pomocy w ustaleniu konspektu badań i ich zaplanowaniu, interpretacji i opracowaniu wyników oraz napisaniu części manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 40%.

IF₍₂₀₁₆₎=4,162; MNiSZW=100pkt; cyt. WoS/Scopus=15/17

[H4] Marcinkowska M., Komorowicz I., Baralkiewicz D. New procedure for multielemental speciation analysis of five toxic species: As(III), As(V), Cr(VI), Sb(III) and Sb(V) in drinking water samples by advanced hyphenated technique HPLC/ICP-DRC-MS. *Analytica Chimica Acta* 2016, 920, 102-111.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na ustaleniu konspektu badań, pomocy w interpretacji wyników oraz napisaniu części manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 20%.

IF₍₂₀₁₆₎=4,950; MNiSZW=100pkt; cyt. WoS/Scopus=19/20

[H5] Komorowicz I., Baralkiewicz D. Determination of total arsenic and arsenic species in drinking water, surface water, wastewater, and snow from Wielkopolska, Kujawy-Pomerania, and Lower Silesia provinces, Poland. *Environmental Monitoring and Assessment* 2016, 188(9), 1-22.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu badań, przygotowaniu próbek do analizy, wykonaniu analiz metodami ICP-DRC-MS i HPLC/ICP-DRC-MS, interpretacji uzyskanych wyników oraz napisaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 90%.

IF₍₂₀₁₆₎=1,633; MNiSZW=70pkt; cyt. WoS/Scopus=12/15

[H6] Komorowicz I., Sajnog A., Baralkiewicz D. Total arsenic and arsenic species determination in freshwater fish by ICP-DRC-MS and HPLC/ICP-DRC-MS techniques. *Molecules* 2019, 24, 607.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na sformułowaniu koncepcji badań, zaplanowaniu badań, przygotowaniu próbek do analizy, wykonaniu analiz metodami ICP-DRC-MS i HPLC/ICP-DRC-MS, interpretacji uzyskanych wyników oraz napisaniu manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 80%.

IF₍₂₀₁₈₎=3,060; MNiSZW=100pkt; cyt. WoS/Scopus=2/3

[H7] Komorowicz I., Hanć A., Lorenc W., Barańkiewicz D., Falandysz J., Wang Y. Arsenic speciation in mushrooms using dimensional chromatography coupled to ICP-MS detector. *Chemosphere* 2019, 233, 223-233.

Mój wkład w powstanie tej pracy polegał na udziale w sformułowaniu hipotez badawczych i zaplanowaniu badań, częściowym przygotowaniu próbek do analizy, wykonaniu analiz metodą HPLC/ICP-DRS-MS i SEC-UV-Vis/ICP-DRS-MS, interpretacji uzyskanych wyników oraz napisaniu części manuskryptu. Mój udział procentowy szacuję na 60%.

IF₍₂₀₁₈₎=5,108; MNiSZW=100pkt; cyt. WoS/Scopus=1/2

Praca	IF z roku wydania	Punkty MNiSZW	Udział habilitanta [%]
[H1]	3,794	100	90
[H2]	2,253	70	90
[H3]	4,162	100	40
[H4]	4,950	100	20
[H5]	1,633	70	90
[H6]	3,060	100	80
[H7]	5,108	100	60
Podsumowanie za osiągnięcie			
Łączna wartość wskaźnika IF		24,960	
Średni IF z publikacji		3,57	
Łączna wartość	punktacji	640	
MNiSW			
Średni udział habilitanta [%]		67,14	
Cytowania za osiągnięcie			
Według bazy Web of Science		144 (130 bez autocytowań)	
Według bazy Scopus		157 (143 bez autocytowań)	
Indeks Hirscha (Web of Science)		9	
Indeks Hirscha (Scopus)		9	

c) Omówienie celu naukowego i najważniejszych osiągnięć zawartych w pracach stanowiących podstawę do ubiegania się o stopień doktora habilitowanego.

WPROWADZENIE

Pierwiastki mogą być niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania organizmu żywego lub wykazywać działanie szkodliwe, teratogenne czy rakotwórcze. Podział na pierwiastki niezbędne i szkodliwe jest jednak zbyt prosty, aby mógł odzwierciedlać rzeczywisty wpływ pierwiastków na organizmy żywe. Pierwotne zainteresowanie badaczy skupiało się na ogólnej zawartości pierwiastka występującego w badanym obiekcie na poziomie śladowym. Umożliwiał to intensywny rozwój technik analitycznych, który miał miejsce w II połowie XX wieku. Szybko uświadomiono sobie jednak, że oznaczanie całkowitej zawartości danego pierwiastka w badanym materiale nie charakteryzuje obiektu pod względem chemicznym i biologicznym, a tym samym nie daje informacji na temat toksyczności, biodostępności czy metabolizmu [Rosen i Hieftje 2004]. W latach siedemdziesiątych XX wieku w chemii analitycznej pojawiła się bardzo ważna dziedzina

badan – specjacja. Termin „specjacja” został zaczerpnięty z nauk biologicznych, gdzie definiuje procesy ewolucyjne powodujące powstawanie bioróżnorodności na każdym poziomie organizacji biologicznej, w tym na poziomie gatunku, osobniczym i molekularnym [Barańkiewicz i Bulska 2009]. W chemii termin „specjacja” posiadał wiele znaczeń, aż do momentu opublikowania raportu Międzynarodowej Unii Chemii Czystej i Stosowanej, który jednoznacznie określił definicję specjacji, analizy specjacyjnej, form specjacyjnych i frakcjonowania [Templeton i in. 2000]. Problemy i możliwości specjacji i analizy specjacyjnej oraz szczegóły wszystkich etapów procedury analitycznej dla kluczowych pierwiastków w specjacji, analizie specjacyjnej i w ważnych obszarach, takich jak środowisko, żywność i zdrowie człowieka zostały szeroko opisane w monografiach [Cornelis i in. 2003, Cornelis i in. 2005, Barańkiewicz i Bulska 2009].

Konieczność oznaczania form specjacyjnych pierwiastków skutkowałą wprowadzaniem modyfikacji do procedur analitycznych, jak również tworzeniem nowych procedur, przyczyniła się także do rozwoju nowych technik analitycznych, a w szczególności technik sprzężonych. Te ostatnie wniosły w dziedzinę analizy specjacyjnej zupełnie nowe możliwości [Szpunar i Łobiński 2003]. Przedmiotowe techniki są realizowane przez dwie różne techniki analityczne o różnych podstawach fizykochemicznych. Mają one na celu przeprowadzenie analizy w dwóch etapach: rozdzielanie badanych związków i późniejsze ich oznaczenie na poziomie śladowym. Umożliwia to prowadzenie badań specjacyjnych w układzie online w dwóch kierunkach: wspomnianego rozdzielania form specjacyjnych analitów i ich oznaczania lub rozdzielania i identyfikacji nieznanymi form specjacyjnych. Pierwiastki cieszące się zainteresowaniem w dziedzinie analizy specjacyjnej to pierwiastki śladowe, a ich formy specjacyjne są przecież tylko częścią ich śladowej już zawartości. Dlatego tylko najbardziej czułe detektory będą odpowiednie do stosowania w analizie specjacyjnej [Welz 1998]. W literaturze opisanych jest wiele różnych konfiguracji technik sprzężonych stosowanych w analizie specjacyjnej próbek o różnej matrycy [Łobiński 1997, Bouyssiere i in. 2002, Van Hulle i in. 2002, Nagajyothi i in. 2017, Chantada-Vázquez i in. 2017], a jako detektor w układzie sprzężonym szczególnie często stosowana jest technika spektrometrii mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ang. *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, ICP-MS). Pierwszy spektrometr ICP-MS pojawił się na rynku w roku 1983 i odpowiedział na potrzeby dotyczące obniżenia granicy wykrywalności pierwiastków stymulując tym samym rozwój pierwiastkowej analizy śladowej. Detektor ten pozwala uzyskać wysoką czułość oznaczania, dużą selektywność, możliwość prowadzenia analizy wielopierwiastkowej, a przede wszystkim uzyskania niskich wartości granic wykrywalności, co jest kluczowym wymogiem w analizie śladowej, w tym oczywiście w analizie specjacyjnej. Technika ICP-MS, jak zresztą wszystkie techniki analityczne, nie jest pozbawiona interferencji pochodzących od składników towarzyszących oznaczanemu analitowi. Można je podzielić na interferencje spektralne i niespektralne. Istnieje wiele sposobów ich eliminowania, jednak nie wszystkie można zastosować w przypadku każdego analitu lub efekt nie spełnia założonych oczekiwań. Problem ten jest powszechny w przypadku niskorozdzielczych spektrometrów mas, więc także w przypadku ICP-MS z kwadropolowym analizatorem mas. Dzięki rozwiązaniu technologicznemu, którym była wielopolowa komora kolizyjna, pierwszy raz komercyjnie zastosowana przez Turnera i in. [Turner i in. 1997], powstało nowe, efektywne narzędzie do eliminowania interferencji spektralnych. Aktualnie podobnymi rozwiązaniami dysponują także inne firmy obecne na rynku, a komory kolizyjne (ang. *Multiple Collision Cell*, MCC) czy dynamiczne komory reakcyjne (ang. *Dynamic Reaction Cell*, DRC) są jednym z najlepszych rozwiązań stosowanych do radzenia sobie z interferencjami. Ogromną zaletą techniki ICP-MS jest możliwość jej połączenia z różnymi technikami rozdzielania. Spektrometr ICP-MS doskonale sprawdza się jako detektor w układzie sprzężonym. Główną zaletą tych układów jest

kompatybilność pomiędzy prędkością przepływu fazy ruchomej przez kolumnę chromatograficzną a współczynnikiem pobierania cieczy przez rozpylacz, co jest newralgiczną kwestią w przypadku połączenia dwóch technik analitycznych, ponieważ decyduje o pełnej automatyzacji pracy i wykonywanych pomiarów. W układach sprzężonych w celu rozdzielania form specjacyjnych analitów najczęściej stosuje się: wysokosprawną chromatografię cieczową (ang. *High Performance Liquid Chromatography*, HPLC), chromatografię gazową (ang. *Gas Chromatography*, GC), elektroforezę kapilarną (ang. *Capillary Electrophoresis*, CE), chromatografię cienkowarstwową (ang. *Thin Layer Chromatography*, TLC) i chromatografię z eluentem w stanie nadkrytycznym (ang. *Supercritical Fluid Chromatography*, SFC), natomiast w celu detekcji lub identyfikacji stosuje się spektroskopię w podczerwieni (ang. *Infrared Spectroscopy*, IR), spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego (ang. *Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, NMR), spektrometrię mas (ang. *Mass Spectrometry*, MS) i ICP-MS [Maher i in. 2012, Thamizhanban i in 2016]. Przykładem techniki sprzężonej jest technika HPLC/ICP-MS, która umożliwia rozdzielanie i oznaczanie form specjacyjnych pierwiastków.

Obecnie opublikowanych jest wiele prac na temat badania specjacji różnych pierwiastków, takich jak: As, Se, Cr, Sb, I, Br, Pb, Hg, V, Mo, Te, Tl, Cd i W w próbkach środowiskowych, klinicznych, biologicznych, roślinnych, farmaceutycznych, żywności czy geologicznych [Marcinkowska i Barańkiewicz 2016]. Prace te dotyczą analizy specjacyjnej pierwiastków z zastosowaniem różnych mechanizmów rozdzielania oraz układów detekcji, identyfikacji nowych form specjacyjnych, przygotowania próbek stałych do analizy specjacyjnej czy opracowania nowych procedur analitycznych umożliwiających badanie specjacji pierwiastków w szerokim spektrum obiektów/matryc. Kluczową kwestią w przypadku badania specjacji jest przygotowanie próbki do analizy, nie tylko ze względu na możliwe straty analitu oraz zanieczyszczenie próbki, ale głównie ze względu na konieczność utrzymania równowagi specjacyjnej. Spełnienie tego podstawowego wymogu jest niezwykle trudne zwłaszcza w przypadku próbek stałych, ponieważ przeprowadzenie badanego materiału do roztworu, co jest elementem koniecznym przy stosowaniu wielu metod analitycznych, wymaga szeregu operacji mogących powodować przemiany chemiczne form specjacyjnych badanych analitów. Drugą niezwykle ważną kwestią jest uzyskanie miarodajnych wyników pomiarów analitycznych. Opracowanie miarodajnych metod oznaczania form specjacyjnych pierwiastków jest jednak skomplikowanym zadaniem ze względu na trudności dotyczące zapewnienia spójności pomiarowej. Brak certyfikowanych materiałów odniesienia (ang. *Certified Reference Material*, CRM) i możliwość stosowania techniki rozcieńczenia izotopowego (ang. *Isotope Dilution*, ID) tylko w niewielu przypadkach, sprawia, że często jedyną metodą zapewnienia spójności pomiarowej jest zastosowanie metody dodatku wzorca. Ponadto, postępowanie analityczne komplikują różne substancje zawarte w matrycy próbki. Tak więc, aby opracowane metody analityczne specjacyjnego oznaczania pierwiastków były miarodajne wymagają rozwiązania wielu problemów analitycznych oraz wprowadzenia zasad metrologii chemicznej w celu potwierdzenia ich miarodajności. Wprowadzenie zasad metrologii chemicznej tj.: walidacji procedur analitycznych, wykazania spójności pomiarowej oraz oszacowania budżetu niepewności jest obowiązkiem każdego analityka przy opracowywaniu lub modyfikacji procedur analitycznych i koniecznością w celu otrzymania miarodajnych wyników i wykazania własnych kompetencji. Niemniej jednak, wiele procedur analitycznych opublikowanych w literaturze światowej nie zawiera pełnej walidacji procedur analitycznych, dlatego było to ważnym aspektem mojej pracy badawczej.

Pierwsza z prac (H1) włączonych do cyklu prac habilitacyjnych jest pracą przeglądową na temat specjacji arsenu w próbkach wodnych. Obejmuje ona okres dziesięciu lat, począwszy od 2000 do 2010 roku. Napisanie tej pracy wymagało szczegółowego

i szerszego zapoznania się z tematyką specjacji arsenu, toksyczności poszczególnych związków tego pierwiastka czy technikami służącymi do ich oznaczania, była więc dla mnie inspiracją do kontynuowania tematyki analizy specjacyjnej, którą zainteresowałam się podczas studiów doktoranckich. Moja praca doktorska dotyczyła opracowania procedur analitycznych rozdzielania i oznaczania różnych form specjacyjnych arsenu (od 2 do 5 form w danej procedurze analitycznej), a przedstawione w niej problemy związane były głównie z eliminowaniem interferencji spektralnych oraz niespektralnych, optymalizacją parametrów etapu rozdzielania oraz parametrów pracy detektora ICP-MS. Obecnie oznaczanie ogólnych stężeń pierwiastków bez wykonania analizy specjacyjnej jest bezzasadne w kontekście oceny ich toksyczności, biodostępności i dróg metabolizmu. Cykl prac habilitacyjnych jest więc kontynuacją tematyki poświęconej specjacji i analizie specjacyjnej podjętej w pracy doktorskiej. Prace habilitacyjne dotyczą specjacji i analizy specjacyjnej pierwiastków w próbkach środowiskowych i żywności jednak w znacznie szerszym ujęciu. Efektem tego było: opracowanie procedury analitycznej dotyczącej jednopierwiastkowej analizy specjacyjnej arsenu wraz z obszernym omówieniem kontroli jakości wyników pomiarów/wprowadzeniem zasad metrologii chemicznej (H2); zastosowanie metodyki opisanej w pracy H2 do analizy różnych próbek rzeczywistych wody (H5); opracowanie metody pierwotnej oznaczania formy specjacyjnej Cr(VI) (H3); opracowanie wielopierwiastkowej procedury analitycznej do oznaczania pięciu toksycznych form specjacyjnych trzech pierwiastków: As(III), As(V), Cr(VI), Sb(III) i Sb(V) w jednej procedurze analitycznej (H4); opracowanie procedur analitycznych dotyczących analizy specjacyjnej arsenu w znacznie mniej poznanych i rzadko badanych rybach słodkowodnych (H6) oraz w grzybach, które mogą skutecznie bioakumulować toksyczne metale i metaloidy (H7).

HIPOTEZY BADAWCZE ROZPRAWY HABILITACYJNEJ

Prace naukowe składające się na osiągnięcie naukowe rozprawy habilitacyjnej stanowią cykl siedmiu artykułów H1 – H7 dotyczących specjacji jedno- i wielopierwiastkowej takich pierwiastków jak arsen, antymon i chrom. W pracach poruszane są zagadnienia kluczowe w analizie specjacyjnej: 1) przygotowanie próbek ciekłych i stałych (środowiskowych i żywności); 2) przygotowanie nowych procedur analitycznych poprzez optymalizację rozdzielania form specjacyjnych pierwiastków techniką HPLC oraz detekcji techniką ICP-MS; 3) wprowadzenie zasad metrologii chemicznej poprzez walidację procedury analitycznej, wykazanie spójności pomiarowej i oszacowanie niepewności pomiarowej czyli pełna kontrola jakości uzyskiwanych wyników pomiarów analitycznych; 4) praktyczne zastosowanie procedur pomiarowych do analizy specjacyjnej wybranych pierwiastków w badanych próbkach środowiskowych i żywności.

1. Analiza specjacyjna arsenu, chromu i antymonu w próbkach środowiskowych techniką sprzężoną HPLC/ICP-MS z wykorzystaniem dynamicznej komory reakcyjnej (HPLC/ICP-DRC-MS) oraz spektrometrii mas rozcieńczenia izotopowego (HPLC/ICP-DRC-IDMS)

Nowoczesne techniki analityczne umożliwiają oznaczanie ogólnej zawartości pierwiastków w próbkach na poziomie śladowym. Choć informacja ta jest ważna, w przypadku analityków, których formy specjacyjne charakteryzują się różną toksycznością, co ściśle łączy się z ich biodostępnością oraz drogami metabolizmu, informacja ta jest niewystarczająca do oceny ryzyka narażenia zdrowia człowieka na toksyczne związki czy

zanieczyszczenia środowiska. Analiza specjacyjna umożliwia identyfikację i oznaczanie form specjacyjnych pierwiastków w badanym obiekcie, co pozwala uzyskać informację na temat rzeczywistej zawartości toksycznych form specjacyjnych pierwiastków, a więc realnego ryzyka jakie z sobą niosą. Przedmiotem mojego zainteresowania były takie pierwiastki jak: arsen (**H2**, **H4**, **H5**), chrom (**H3**, **H4**) oraz antymon (**H4**), których formy specjacyjne wykazują działanie toksyczne, mogą być również niezbędne dla funkcjonowania organizmu człowieka lub neutralne.

Toksyczność form specjacyjnych arsenu można przedstawić w następującym szeregu: arsenowódor > arseniany(III) > organiczne związki arsenu(III) > arseniany(V) > organiczne związki arsenu(V) > arsen pierwiastkowy (elementarny) > arsenobetaina, arsenocholina (związki uznane za praktycznie nietoksyczne) (**H1**, **H2**) [Komorowicz i Barańkiewicz 2009]. Informacje dotyczące toksyczności, chemii arsenu w wodzie, uregulowań prawnych, a także sposobu postępowania podczas analizy specjacyjnej arsenu techniką HPLC/ICP-MS zostały ujęte w pracy przeglądowej rozpoczynającej cykl prac habilitacyjnych (**H1**). Spośród wielu zidentyfikowanych form specjacyjnych arsenu, głównym przedmiotem zainteresowania są najbardziej toksyczne nieorganiczne formy arsenu – arseniany(III) i arseniany(V) oraz metylokwasy, takie jak kwas monometyloarsenowy (MMA) i dimetyloarsenowy (DMA). Również, w przypadku antymonu, najczęściej oznaczane są formy nieorganiczne: antymoniany(III) oraz antymoniany(V) jako te uznane za najbardziej toksyczne (**H4**). Formy specjacyjne arsenu i antymonu na trzecim stopniu utlenienia charakteryzują się zdecydowanie wyższą toksycznością niż formy na piątym stopniu utlenienia. Chrom natomiast jest wyjątkowym przykładem pierwiastka, którego dwie najbardziej rozpowszechnione w środowisku wodnym formy, wykazują znaczące różnice we właściwościach biochemicznych. Cr(III) w ilości śladowej jest niezbędnym składnikiem warunkującym prawidłowe funkcjonowanie organizmu ludzkiego poprzez wspomaganie metabolizmu białek, tłuszczu i węglowodanów, natomiast Cr(VI) wykazuje działanie mutagenne i toksyczne (**H3**) [Markiewicz i in. 2015]. Nieorganiczne formy arsenu, mianowicie As(III) i As(V) oraz Cr(VI) zostały zaklasyfikowane przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem (IARC) do grupy 1 czyli substancji rakotwórczych z wystarczającymi dowodami na rakotwórczość u ludzi [IARC 2012, IARC 1990]. Trójtlenek antymonu został zaklasyfikowany przez IARC do związków potencjalnie rakotwórczych dla człowieka [Ackley i in. 2005]. Dlatego zawartość toksycznych form wymienionych pierwiastków powinna być stale monitorowana w celu oceny narażenia nie tylko środowiska, ale również zdrowia i życia człowieka. Jednak, aktualne uregulowania prawne określają jedynie ogólną zawartość arsenu, chromu i antymonu w wodzie do picia na poziomie odpowiednio $10 \mu\text{g L}^{-1}$, $50 \mu\text{g L}^{-1}$ i $20 \mu\text{g L}^{-1}$ [WHO 2011]. Istnieje więc potrzeba opracowania procedur analitycznych, dedykowanych analizie specjacyjnej pierwiastków, umożliwiających uzyskanie miarodajnych wyników pomiarów. Wówczas możliwe będzie tworzenie odpowiednich uregulowań prawnych uwzględniających oznaczanie form specjacyjnych, a opracowane procedury analityczne wykorzystujące zaawansowane techniki sprzężone, pozwolą na obniżenie granicy oznaczalności do wartości zalecanej przez Światową Organizację Zdrowia [WHO 2011].

Celem prac **H2-H5** było opracowanie nowych, zwalidowanych procedur analitycznych umożliwiających rozdzielanie i oznaczanie form specjacyjnych arsenu, chromu i antymonu techniką sprzężoną HPLC/ICP-MS oraz ich zastosowanie do analizy próbek środowiskowych. Opracowano procedury analityczne dotyczące:

- a) analizy specjacyjnej AsB, As(III), DMA, MMA i As(V) techniką HPLC/ICP-MS w próbkach wody do picia, wody powierzchniowej, ścieków i śniegu (**H2**).
- b) oznaczania chromu ogólnego techniką ICP-DRC-IDMS oraz Cr(VI) techniką HPLC/ICP-DRC-IDMS w próbkach wody do picia (**H3**).

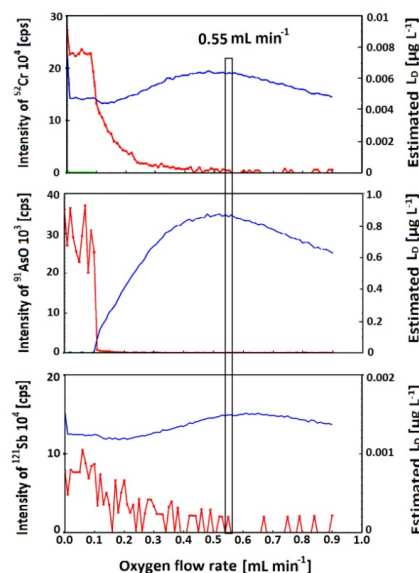
- c) wielopierwiastkowej analizy specjacyjnej As(III), As(V), Cr(VI), Sb(III) i Sb(V) techniką HPLC/ICP-DRC-MS w próbkach wody do picia (**H4**).

Niniejsza część autoreferatu dotyczyć będzie kluczowych kwestii, które należy podjąć w trakcie opracowywania nowych procedur analitycznych: i) optymalizacji warunków pracy spektrometru ICP-DRC-MS; ii) optymalizacji warunków rozdzielania chromatograficznego techniką HPLC oraz iii) kontroli jakości uzyskiwanych wyników pomiarów analitycznych.

1.1. Optymalizacja warunków pracy spektrometru ICP-DRC-MS

Pierwszym etapem opracowania procedury analitycznej była staranna optymalizacja warunków prowadzenia pomiarów tak, aby otrzymać jak najwyższe intensywności dla oznaczanego analitu lub analitów. W przypadku każdej z opracowanych procedur optymalizowano warunki pracy spektrometru ICP-MS, takie jak: prędkość przepływu gazu rozpylającego, napięcie na soczewkach ogniskujących jony czy moc generatora plazmy. Szczególny nacisk położono na optymalizację komory DRC poprzez wybranie optymalnej prędkości przepływu gazu reakcyjnego przez komorę oraz wartości parametrów odrzucenia a i q odpowiedzialnych za odpowiednie ustawienie napięć RF i DC prętów kwadrupola (R_{pq} i R_{pa}). Komora DRC jest powszechnie stosowanym narzędziem, które pozwala na eliminację interferencji spektralnych, poprawę granic wykrywalności oraz zmniejszenie poziomu tła [D'Ilio i in. 2011]. W celu oznaczenia ogólnej zawartości analitów podczas jednej analizy techniką ICP-DRC-MS, możliwy jest wybór optymalnych parametrów DRC dla każdego z analitów [Tanner i in. 2000, D'Ilio i in. 2006]. Jednak w przypadku wielopierwiastkowej analizy specjacyjnej techniką HPLC/ICP-DRC-MS konieczne jest wybranie tylko jednej wartości każdego z parametrów optymalizowanych przy użyciu DRC, tak aby był on optymalny jednocześnie dla wszystkich analitów. W jednopierwiastkowej analizie specjacyjnej (**H2**, **H3**), dobór odpowiednich warunków pracy komory DRC po ich wcześniejszej optymalizacji był bezkompromisowy. Kiedy jednak przedmiotem badań było kilka analitów, które wymagają innych warunków pracy komory, należało wybrać odpowiedni gaz reakcyjny i dobrać warunki kompromisowe, co szczegółowo przedstawiono w pracy **H4**.

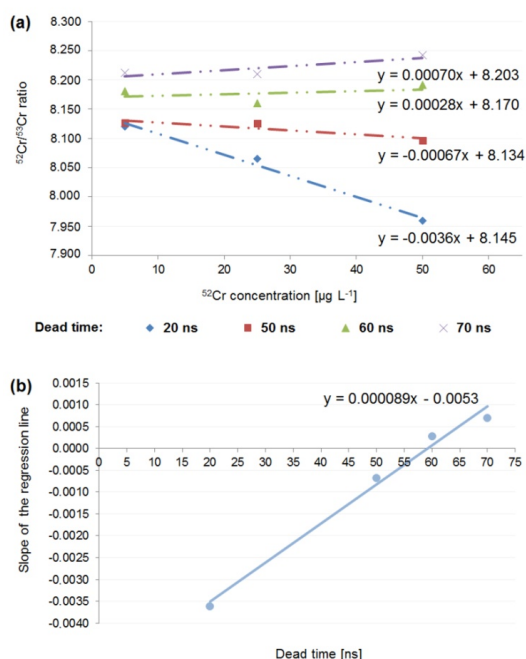
W wymienionych pracach zoptymalizowano prędkość przepływu gazu reakcyjnego, jak również parametry R_{pq} i R_{pa} . Zastosowanie amoniaku jako gazu reakcyjnego znajdowało zastosowanie w przypadku chromu. W pracy **H3** zastosowano amoniak do eliminacji interferencji spektralnych przy oznaczaniu Cr ogólnego oraz Cr(VI), optymalna wartość prędkości przepływu amoniaku mieściła się w zakresie od $0,35 \text{ mL min}^{-1}$ do $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ (**H3**). Użycie amoniaku w przypadku arsenu zamiast eliminować interferencje spektralne powodowało znaczny wzrost sygnału dla monitorowanego jonu $^{75}\text{As}^+$ [Marcinkowska i in. 2015, **H4**]. W konsekwencji, odrzucono amoniak i zastosowano tlen w celu znalezienia optymalnych parametrów pracy komory DRC dla As, Cr i Sb. Monitorowano następujące jony: $^{91}\text{AsO}^+$, $^{52}\text{Cr}^+$ i $^{121}\text{Sb}^+$.



Rysunek 1. Zależność intensywności sygnału jonów $^{91}\text{AsO}^+$, $^{52}\text{Cr}^+$ i $^{121}\text{Sb}^+$ od prędkości przepływu tlenu przez komorę DRC. Niebieska linia przedstawia intensywność sygnału analitów o stężeniu $10 \mu\text{g L}^{-1}$, natomiast czerwona linia przedstawia oszacowaną wartość granicy wykrywalności (**H4**).

Optymalizację DRC wykonano poprzez analizę próbki ślepej, którą stanowiła woda dejonizowana lub roztwór o składzie podobnym do fazy ruchomej oraz próbki, przygotowanej podobnie jak wyżej opisana próbka ślepa, lecz z dodatkiem analitów o stężeniu $10 \mu\text{g L}^{-1}$. Nie zaobserwowano różnic w wynikach otrzymanych dla ślepych próbek przygotowanych w różny sposób. Największe różnice pomiędzy wartościami otrzymanymi dla próbki ślepej i dla próbki z dodatkiem analitów zaobserwowano w zakresie od $0,4 \text{ ml min}^{-1}$ do $0,65 \text{ ml min}^{-1}$ w zależności od pierwiastka. Za optymalną, kompromisową prędkość przepływu gazu przez komorę DRC dla As, Cr i Sb uznano wartość $0,55 \text{ ml min}^{-1}$ (Rysunek 1) i zastosowano ją do oznaczania As, Cr i Sb w próbkach wody do picia (H4). Optymalne wartości parametrów RPq i RPa wynosiły odpowiednio 0,45 i 0. Efektywność pracy komory DRC sprawdzono poprzez analizę CRM: SLRS-5 River Water (National Research Council Canada) i TM 27.3 Fortified Water (National Water Research Institute), otrzymane odzyski były zadowalające i mieściły się w granicach od 98% do 124% (H4).

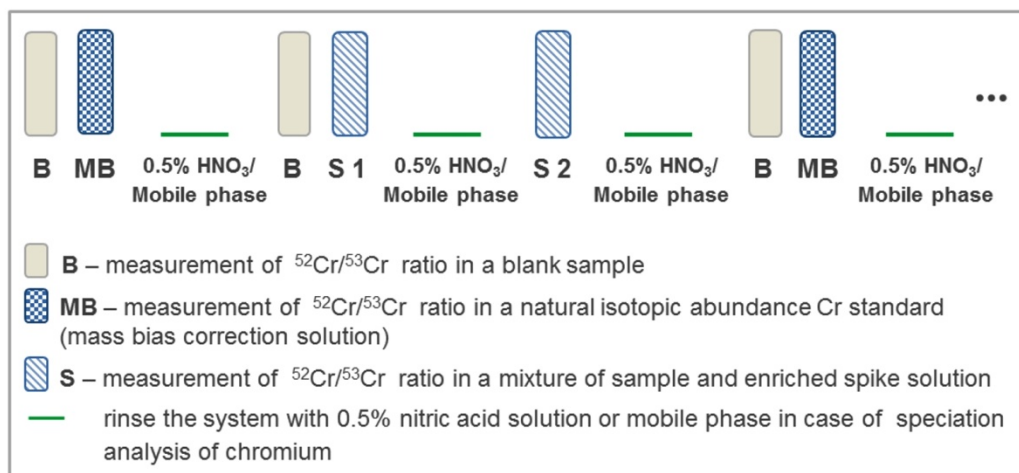
Jak wspomniano technika ICP-MS posiada ograniczenia w postaci interferencji spektralnych, których występowanie jest ściśle związane z rozdzielczością analizatora mas. Analizator kwadropolowy posiada stosunkowo niską rozdzielczość ($R=300$), co skutkuje występowaniem szeregu interferencji spektralnych, mimo tego ten typ analizatora może być z powodzeniem stosowany w technice spektrometrii mas rozcieńczenia izotopowego (IDMS). Absolutnie niezbędne jest wtedy użycie komory DRC, która efektywnie eliminuje interferencje spektralne. Jedną z kluczowych zalet techniki IDMS jest możliwość odniesienia uzyskanych za jej pomocą wyników pomiarów bezpośrednio do układu jednostek SI, ponieważ może być ona zaklasyfikowana do grupy pierwotnych metod analitycznych [Markiewicz i in. 2016]. Technika ta pozwala na bardzo dokładne i precyzyjne oznaczenie wielu form specjacyjnych pierwiastków w próbkach o różnej matrycy. Założeniem spektrometrii mas rozcieńczenia izotopowego jest celowe zaburzenie naturalnego składu izotopowego analitu w próbce poprzez dodanie do próbki wzorca wzbogaconego izotopowo [Rodríguez-Gonzalez i in. 2005; Yang i in. 2006]. Najczęściej wzorec ten stanowi stabilny izotop analitu o niskiej naturalnej zawartości w środowisku. Niezbędnym do spełnienia warunkiem jest występowanie przynajmniej dwóch izotopów oznaczanego pierwiastka, nieobciążonych interferencjami spektralnymi. Metoda pierwotna, spektrometria mas rozcieńczenia izotopowego, została wykorzystana do oznaczania chromu ogólnego oraz jego formy specjacyjnej Cr(VI) (H3). Opracowano dwie procedury analityczne: 1) oznaczania Cr ogólnego (TCr) techniką ICP-DRC-IDMS oraz 2) oznaczania toksycznej formy specjacyjnej chromu – Cr(VI) techniką HPLC/ICP-DRC-IDMS; w próbkach wody do picia (H3) [Markiewicz i in. 2016]. W przypadku analizy specjacyjnej wykorzystano chromatografię par jonowych z odwróconym układem faz (ang. *Ion-Pair Reverse-Phase Chromatography*, RPIPC). Procedura



Rysunek 2. Korekcja czasu martwego, (a) – wpływ czasu martwego na stosunek izotopowy $^{52}\text{Cr}/^{53}\text{Cr}$ w funkcji stężenia roztworu wzorcowego chromu, (b) – zależność współczynnika nachylenia prostej od wartości czasu martwego (H3).

analityczna oznaczania Cr(VI) techniką HPLC/ICP-DRC-IDMS była modyfikacją wcześniej opracowanej procedury oznaczania Cr(III) i Cr(VI) metodą HPLC/ICP-DRC-MS [Barańkiewicz i in. 2013]. Opracowanie ww. procedur, w kontekście zastosowania IDMS, wymagało uwzględnienia kilku istotnych kwestii: 1) zbadanie wpływu interferencji spektralnych na wynik pomiaru, 2) ilość wzorca wzbogaconego izotopowo, dodawanego do próbki, 3) zapewnienie równowagi izotopowej w mieszaninie wzorca wzbogaconego izotopowo i próbki oraz 4) kontrola parametrów spektrometru mas wpływających na pomiar [Markiewicz i in. 2016]. Zoptymalizowano dwa fundamentalne parametry bezpośrednio wpływające na mierzone stosunki izotopowe, do których zaliczyć można czas martwy detektora oraz rozróżnienie mas. Czas, który jest niezbędny dla detektora aby wygenerować sygnał z jonu na niego padającego zdefiniować można jako czas martwy. W tym właśnie czasie detektor nie jest w stanie zmierzyć kolejnej cząstki, która do niego dociera, co jest szczególnie problematyczne przy dużych szybkościach zliczeń (>1000000 cps) [Nelms i in. 2001]. W takim właśnie trybie pracuje spektrometr ICP-MS model ELAN DRC II (PerkinElmer Sciex, Kanada), który stosowany był jako detektor we wszystkich badaniach opisanych w pracach **H2-H7**. Dlatego, konieczne jest wyznaczenie optymalnej wartości czasu martwego. W tym celu zastosowano roztwory wzorcowe o stężeniu $5 \mu\text{g L}^{-1}$, $25 \mu\text{g L}^{-1}$ i $50 \mu\text{g L}^{-1}$ chromu o naturalnej abundancji ($^{52}\text{Cr} - 83,789\%$, $^{53}\text{Cr} - 9,501\%$), dla których, podana przez IUPAC, wartość oczekiwanego stosunku izotopowego $^{52}\text{Cr}/^{53}\text{Cr}$ wynosi 8,819 (**H3**). Na Rysunku 2 przedstawiono wyniki otrzymane podczas wyznaczania optymalnego czasu martwego.

Korekcję na rozróżnienie mas wykonano stosując roztwór wzorcowy zawierający izotop ^{52}Cr o naturalnym rozpowszechnieniu w środowisku. Roztwór ten poddawano analizie po każdych dwóch próbkach z dodatkiem wzorca wzbogaconego izotopowo w każdej wykonywanej serii pomiarowej [Markiewicz i in. 2016]. Schemat takiego postępowania, którego podstawowym celem było kompensowanie możliwych dryftów masy, przedstawiono na Rysunku 3.



Rysunek 3. Schemat sekwencji pomiarowej stosowanej podczas oznaczania chromu ogólnego w próbkach wody metodą ICP-IDMS (**H3**).

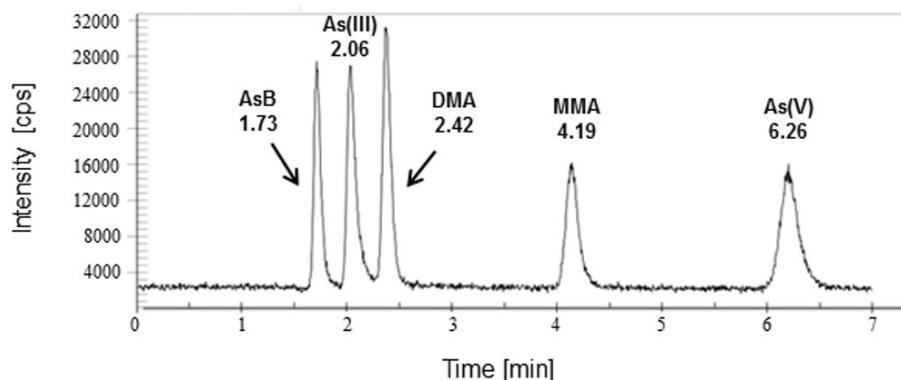
Wykonane optymalizacje umożliwiły uzyskanie precyzyjnych i poprawnych wyników oznaczania TCr i Cr(VI) metodą IDMS. Uzyskano bardzo dobrą precyzję oznaczania: 0,60% dla TCr i 0,42% dla Cr(VI). Dla porównania precyzja obliczona dla Cr(VI) oznaczanego za pomocą techniki HPLC/ICP-DRC-MS wynosiła 1,6%. Zastosowanie techniki IDMS pozwoliło więc na 4-krotne polepszenie precyzji. Natomiast poprawność, której miarą jest odzysk wynosiła: od 99% do 104% dla TCr, od 103% do 106% dla Cr(VI) przy zastosowaniu

spektrometrii mas rozcieńczenia izotopowego. Poprawność dla Cr(VI) wyznaczona przy zastosowaniu techniki HPLC/ICP-DRC-MS mieściła się w granicach od 93% do 106%. Poprawność wyznaczono dodając analit na poziomie $2 \mu\text{g L}^{-1}$ (**H3**).

1.2. Optymalizacja warunków rozdzielania chromatograficznego techniką HPLC

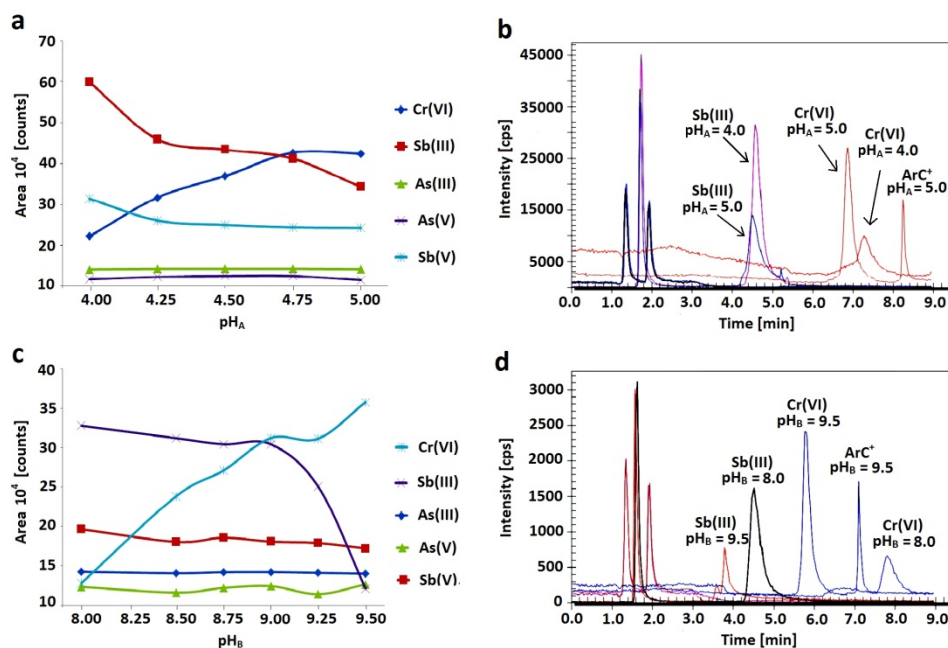
W przypadku stosowania technik sprzężonych, należy zoptymalizować parametry pracy zarówno jednej, jak i drugiej techniki analitycznej w odniesieniu do założonego celu badań. Optymalizacja parametrów pracy wysokosprawnego chromatografu cieczonego obejmowała: 1) skład oraz stężenie składników fazy ruchomej; 2) prędkość przepływu fazy ruchomej; 3) objętość dozowanej próbki oraz 4) temperaturę procesu rozdzielania. W pracach **H2-H4** wykorzystano dwa mechanizmy rozdzielania chromatograficznego: chromatografię anionowymienną – IEC (**H2, H4**) i chromatografię par jonowych z odwróconym układem faz – RPIPC (**H3**).

W pracy **H2** w celu rozdzielania pięciu wymienionych form specjacyjnych arsenu jako mechanizm rozdzielania w chromatografii cieczonej wybrano chromatografię jonowymienną (kolumnę chromatograficzną Hamilton PRP-X100). W warunkach pH, które przyjęto za optymalne dla niniejszej procedury, następujące formy specjacyjne arsenu: As(III), DMA, MMA i As(V) występują w postaci jonowej, jedynie AsB występuje w postaci cząsteczki obojętnej, co umożliwia całkowite rozdzielanie sygnałów pochodzących od ww. form specjacyjnych. W celu rozdzielania pięciu form specjacyjnych arsenu zastosowano mieszaninę wodorofosforanu amonu oraz azotanu(V) amonu. Taki skład fazy ruchomej stosowano z powodzeniem do analizy specjacyjnej arsenu w próbkach wody do picia czy próbkach wód środowiskowych [Milstein i in. 2002; Castillo i in. 2008]. Optymalizowano parametry rozdzielania chromatograficznego: stężenie składników fazy ruchomej, pH fazy ruchomej, prędkość przepływu fazy ruchomej oraz objętość dozowanej próbki. W badaniach wykorzystano elucję izokratyczną i jak wspomniano, jako fazę ruchomą zastosowano bufor fosforanowo-azotanowy (10 mmol L^{-1} diwodorofosforanu amonu i 10 mmol L^{-1} azotanu(V) amonu). Całkowity czas analizy wyniósł 7 min. Chromatogram przedstawiający rozdzielanie AsB, As(III), DMA, MMA i As(V) w wyżej opisanych warunkach na przykładzie roztworu standardowego zawierającego 5 form specjacyjnych arsenu o stężeniu $10 \mu\text{g L}^{-1}$ zaprezentowano na Rysunku 4. Próbkę różnych rodzajów wody zostały zastosowane w celu wyznaczenia części parametrów charakteryzujących procedurę analityczną oznaczania form specjacyjnych arsenu techniką sprzężoną HPLC/ICP-DRC-MS w pracy **H2**. Zawartość arsenu ogólnego oraz form specjacyjnych tego pierwiastka w różnych rodzajach wody była również celem badań opisanych w pracy **H5**.

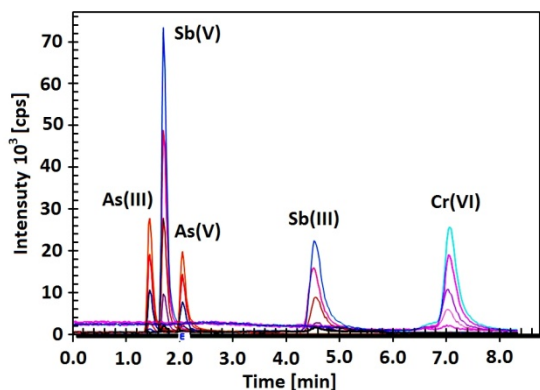


Rysunek 4. Chromatogram przedstawiający rozdzielanie pięciu form specjacyjnych arsenu na poziomie stężeń $10 \mu\text{g L}^{-1}$ każdej z form, uzyskany przy użyciu ww. warunków rozdzielania stosując chromatografię anionowymienną z kolumną Hamilton PRP-X100 (**H2**).

Podążając za najnowszymi światowymi badaniami podjęto się przygotowania nowej procedury analitycznej dotyczącej wielopierwiastkowej analizy specjacyjnej pięciu toksycznych form pierwiastków, takich jak As, Cr i Sb techniką HPLC/ICP-DRS-MS (H4). Opracowanie niniejszej procedury wymagało znalezienia optymalnych warunków rozdzielania chromatograficznego dla wszystkich form specjacyjnych jednocześnie. Ze względu na anionowy charakter form specjacyjnych Sb(III), Sb(V), As(III), As(V) i Cr(VI) również wykorzystano chromatografię anionowymienną. Początkowo, jako bazowe, przy opracowywaniu niniejszej procedury wykorzystano warunki rozdzielania z pracy dedykowanej rozdzielaniu form specjacyjnych: As(III), As(V) i Cr(VI) [Marcinkowska i in. 2015]. Zastosowanie fazy ruchomej składającej się wyłącznie z 22 mmol L⁻¹ diwodorofosforanu amonu i 25 mmol L⁻¹ azotanu(V) amonu uniemożliwiało obserwację formy Sb(III), ponieważ ze względu na brak czynnika kompleksującego Sb(III) prawie całkowicie utleniał się do Sb(V). Dopiero zastosowanie soli EDTA jako czynnika kompleksującego jony Sb(III) umożliwiło rozdzielanie pięciu omawianych form specjacyjnych. Zaobserwowano pojawienie się dodatkowego, nieznanego sygnału, który podlegał elucji w czasie retencji bliskim sygnałowi pochodzącego od Cr(VI). Podejrzewano, że sygnał ten odpowiada interferującemu poliatomowemu jonowi lub pochodzi od Cr(III), ponieważ zaobserwowano sygnały ⁵³Cr⁺ i ⁵⁰Cr⁺ dla Cr(VI) a także dla nieznanego sygnału, który charakteryzuje się stosunkiem intensywności odpowiadającym naturalnemu stosunkowi rozpowszechnienia dla izotopów chromu. Optymalizacja składu oraz stężeń poszczególnych składników fazy ruchomej umożliwiła uzyskanie całkowitego rozdzielania sygnału od Cr(VI) i nieznanego sygnału, co dało pewność, że sygnał ten nie wpływa na oznaczanie Cr(VI). W wyniku dalszej optymalizacji uzyskano optymalne warunki rozdzielania Sb(III), Sb(V), As(III), As(V) i Cr(VI) przy użyciu 36 mmol L⁻¹ azotanu amonu i 3 mmol L⁻¹ soli sodowej EDTA. Otrzymanie odpowiednio wysokich intensywności dla wszystkich sygnałów analitycznych wymagało zastosowania elucji gradientowej. Fazy A i B różniły się wartością pH, w fazie A wynosiło ono 4,6 i umożliwiało uzyskanie znacznie wyższej intensywności dla sygnału pochodzącego od Sb(III), natomiast zastosowanie fazy B (pH=9,0) spowodowało, że otrzymane intensywności dla Cr(V) były znacznie wyższe. Optymalizację pH przedstawiono na Rysunku 5.



Rysunek 5. Optymalizacja pH fazy ruchomej: a) faza ruchoma A i b) faza ruchoma B wraz z chromatogramami otrzymanymi przy skrajnych wartościach pH: a) fazy ruchomej A i b) fazy ruchomej B (H4).



Rysunek 6. Chromatogram przedstawiający rozdzielanie analitów w roztworach wzorcowych, użytych do konstrukcji krzywych kalibracyjnych, w następujących zakresach stężeń: $0.2 \mu\text{g L}^{-1}$ do $10.0 \mu\text{g L}^{-1}$ for As(III), As(V), $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ do $10.0 \mu\text{g L}^{-1}$ for Sb(V), $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$ do $10.0 \mu\text{g L}^{-1}$ for Sb(III) and Cr(VI) (H4).

W pracy **H4** opracowano procedurę oznaczania As(III), As(V), Cr(VI), Sb(III) i Sb(V) w próbkach niskomineralizowanej wody do picia techniką HPLC/ICP-DRC-MS. Jest to nowa procedura dedykowana wielopierwiastkowej analizie specjacyjnej toksycznych form As, Cr i Sb. Zgodnie z moją wiedzą nie było innych doniesień literaturowych dotyczących rozdzielania i oznaczania wymienionych pierwiastków w jednej procedurze, poza procedurą oznaczania As(III), As(V), Cr(VI), Mo(VI), Sb(III), Sb(V), Se(IV), Se(VI) and V(V) w próbkach odcieków z materiału na bazie cementu, opracowaną przez zespół Mulugety [Mulugeta i in. 2010]. Procedura ta jednak znacznie różniła się od opisanej w pracy **H4**. Autorzy wymienionej pracy wykorzystali fazę ruchomą o wysokim stopniu zasolenia, a w celu eliminowania interferencji spektralnych dla jonu o masie $^{52}\text{Cr}^+$, autorzy zastosowali izotop $^{53}\text{Cr}^+$ co znacznie pogorszyło granicę wykrywalności dla tego pierwiastka. Natomiast, w pracy **H4** uzyskano 5-krotnie niższą wartość LOD dla chromu, a przedstawiona w niej procedura jest odpowiednia do oznaczania toksycznych form As, Cr i Sb występujących na ultraśladowym poziomie stężeń w próbkach wody do picia.

1.3. Kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych

Pierwiastki, które są przedmiotem badań składających się na cykl prac habilitacyjnych budzą duże zainteresowanie w dziedzinie analizy specjacyjnej ze względu na różną toksyczność, którą wykazują w zależności od formy występowania. Mimo znacznej liczby prac opublikowanych w tej dziedzinie brakuje pełnej walidacji procedur analitycznych dotyczących analizy specjacyjnej, a w szczególności wykazania spójności pomiarowej oraz oszacowania niepewności wyniku pomiaru. Kluczowymi parametrami, które powinny być walidowane w analizie śladowej, do której należy analiza specjacyjna, są granice wykrywalności i oznaczalności poszczególnych form specjacyjnych. Istotne jest również wykazanie spójności pomiarowej oraz oszacowanie budżetu niepewności.

W pracy **H2**, która dotyczyła specjacji arsenu, podjęto się pełnej walidacji procedury analitycznej rozdzielania i oznaczania AsB, As(III), DMA, MMA i As(V) w próbkach wody techniką HPLC/ICP-MS. Oszacowano również niepewność pomiarową dla TAs, co przedstawiono w pracy **H5**. Pełna walidacja obejmowała wyznaczenie następujących parametrów charakteryzujących procedurę analityczną: selektywność, liniowość, granica wykrywalności, granica oznaczalności, powtarzalność i poprawność. W przypadku arsenu, ograniczenia, takie jak brak odpowiednich CRM, brak możliwości zastosowania metody

Zoptymalizowanie wszystkich parametrów rozdzielania chromatograficznego umożliwiło pełne rozdzielanie sygnałów pochodzących od pięciu toksycznych form specjacyjnych: Sb(III), Sb(V), As(III), As(V) i Cr(VI) w czasie 8 minut. Po uwzględnieniu czasu koniecznego do ponownego zrównoważenia kolumny chromatograficznej, całkowity czas analizy, to 15 minut. Chromatogram przedstawiający rozdzielanie uzyskane dla analitów obecnych w roztworach standardowych w zakresie stężeń: od $0.2 \mu\text{g L}^{-1}$ do $10.0 \mu\text{g L}^{-1}$ dla As(III), As(V), $0.1 \mu\text{g L}^{-1}$ do $10.0 \mu\text{g L}^{-1}$ dla Sb(V), $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$ do $10.0 \mu\text{g L}^{-1}$ dla Sb(III) i Cr(VI) zaprezentowano na Rysunku 6.

spektrometrii mas rozcieńczenia izotopowego czy innej metody analitycznej (np. wysokosprawnej chromatografii cieczowej sprzężonej z atomową spektrometrią mas z generowaniem wodorków (HPLC-HG-AAS)), sprawiło, że najlepszym sposobem wykazania spójności pomiarowej oraz wyznaczenia poprawności metody analitycznej była metoda dodatku wzorca. Parametry charakteryzujące procedurę analityczną przedstawiono w Tabeli 1.

Tabela 1. Charakterystyka procedury analitycznej oznaczania AsB, As(III), DMA, MMA i As(V) w próbkach wody techniką sprzężoną HPLC/ICP-MS. Parametry obliczono jako wartość średnią z 10 powtórzeń (**H2**).

Analytical procedure parameters	Measurement result					
	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)	
Retention time [min]	1.73	2.06	2.42	4.19	6.26	
S/N ratio*	LOD [$\mu\text{g L}^{-1}$]	0.3	0.3	0.3	0.5	0.5
	LOQ [$\mu\text{g L}^{-1}$]	0.9	0.9	0.9	1.5	1.5
Computational method*	LOD [$\mu\text{g L}^{-1}$]	0.34	0.44	0.19	0.29	0.34
	LOQ [$\mu\text{g L}^{-1}$]	1.02	1.32	0.57	0.87	1.02
Experimental method*	LOD [$\mu\text{g L}^{-1}$]	0.074	0.074	0.070	0.13	0.11
	LOQ [$\mu\text{g L}^{-1}$]	0.22	0.22	0.21	0.39	0.33
Correlation coefficient	0.9997	0.9998	0.9999	0.9998	0.9998	
Linear range [$\mu\text{g L}^{-1}$]	0.2 - 10	0.2 - 10	0.2 - 10	0.2 - 10	0.2 - 10	
Precision/retention time [% , CV]**	0.53	0.56	0.68	0.69	0.21	
Precision/concentration [% , CV]**	2.4	2.0	1.6	2.3	1.6	
Recovery [%]	99	100	100	98	101	

*Signal to noise ratio – approach which enables to assess the LOD values only approximately

Computational method - LOD values were calculated according to the equation: $LOD = (3.3 * s_{y/x})/a$

Experimental method - LOD values defined as three times the standard deviation of the average from the blank samples ($n=10$) with addition of the measurable arsenic concentration

LOQ values were calculated as three times LOD values

**Precision expressed as CV [%] was calculated as RSD of retention time and RSD of concentration

Wartości granic wykrywalności i oznaczalności, przedstawione w Tabeli 1, są zgodne z wartościami otrzymanymi przez innych badaczy [Ronkart i in. 2007, Verdon i in. 2009, Day i in. 2002]. Procedura charakteryzowała się wysoką precyzją oznaczania oraz poprawnością. Dzięki wykazaniu spójności pomiarowej oraz oszacowaniu budżetu niepewności, udowodniono, że wyniki otrzymane przy użyciu procedury opisanej w pracy **H2** są rzetelne i miarodajne. Spójność pomiarowa oraz szacowanie budżetu niepewności dla procedury oznaczania AsB, As(III), DMA, MMA i As(V) są opisane w dalszej części tego rozdziału.

Wartości LOD i LOQ wyznaczono także w przypadku procedur oznaczania TCr i Cr(VI), co było przedmiotem badań ujętych w pracy **H3**. W Tabeli 2 zestawiono wartości LOD i LOQ otrzymane przy użyciu różnych metod analitycznych.

Tabela 2. Wartości granic wykrywalności i oznaczalności w przypadku oznaczania chromu metodami: ICP-DRC-IDMS, HPLC/ICP-DRC-MS [Barańkiewicz i in. 2013] i HPLC/ICP-DRC-IDMS (**H3**).

Analytical procedure parameters	Validation parameters		
	TCr	Cr(VI)	Cr(VI)
	ICP-DRC-IDMS	HPLC/ICP-DRC-MS	HPLC/ICP-DRC-IDMS
L_D [ng L^{-1}]	9.2 ^a ; 2.1 ^b	100 ^a ; 90 ^b	20 ^a ; 12 ^b
L_Q [ng L^{-1}]	28 ^a ; 6.4 ^b	300 ^a ; 270 ^b	60 ^a ; 36 ^b

^a Modified blank determination method;

^b Graphical method.

Zastosowanie metody HPLC/ICP-DRC-IDMS w celu oznaczania Cr(VI) umożliwiło znaczne obniżenie wartości LOD i LOQ w porównaniu z wartościami tych parametrów otrzymanymi przy użyciu procedury analitycznej oznaczania Cr(III) i Cr(VI) techniką HPLC/ICP-DRC-MS [Barańkiewicz i in. 2013]. Uzyskano 5-krotne niższe wartości LOD i LOQ, jeśli zostały obliczone na podstawie wyników otrzymanych poprzez analizę próbek ślepych z dodatkiem niewielkiej ilości analitu. Z kolei 7-krotne niższe wartości osiągnięto wtedy gdy wartości LOD i LOQ obliczono metodą graficzną na podstawie pomiaru wartości wyrazu wolnego otrzymanego z wykreślenia zależności liniowej odchylenia standardowego od stężenia roztworu wzorcowego (**H3**). Parametry takie jak precyzja i poprawność zostały opisane w rozdziale 1.1.

W pracy **H4** opisującej nową procedurę oznaczania As(III), As(V), Cr(VI), Sb(III) i Sb(V) w próbkach wody do picia techniką HPLC/ICP-DRC-MS, wykonano pełną walidację procedury, a uzyskane wyniki przedstawiono w Tabeli 3.

Tabela 3. Charakterystyka procedury analitycznej oznaczania As(III), As(V), Cr(VI), Sb(III) and Sb(V) w próbkach wody techniką HPLC/ICP-DRC-MS (**H4**).

Analytical procedure parameters	Measurement result					
	As(III)	As(V)	Cr(VI)	Sb(III)	Sb(V)	
Retention time [min]	1.5	2.1	7.1	4.6	1.7	
Linear range [$\mu\text{g L}^{-1}$]	0.2-10.0	0.2-10.0	0.5-10.0	0.5-10.0	0.1-10.0	
Correlation coefficient	0.9994	0.9999	0.9999	0.9988	0.9999	
L_D [$\mu\text{g L}^{-1}$]	0.067	0.068	0.098	0.083	0.038	
L_Q [$\mu\text{g L}^{-1}$]	0.20	0.20	0.29	0.25	0.11	
Recovery [%]	Level					
	0.5 $\mu\text{g L}^{-1}$	110	93	98	99	94
	7.0 $\mu\text{g L}^{-1}$	98	91	98	97	95
Repeatability [%]		1.7	2.0	1.3	2.4	2.1

Dane literaturowe dotyczące analizy specjacyjnej trzech pierwiastków, w tym As, Cr i Sb raportują, że uzyskane wartości LOD mieszczą się w następujących zakresach: (0,12-0,6) $\mu\text{g L}^{-1}$ dla As(III), (0,34-0,5) $\mu\text{g L}^{-1}$ dla As(V), (0,1-0,14) $\mu\text{g L}^{-1}$ dla Sb(V), (0,14-0,9) $\mu\text{g L}^{-1}$ dla Sb(III) i (0,29-2,2) $\mu\text{g L}^{-1}$ dla Cr(VI) [Tsoi i Leung 2010, Mulugeta i in. 2010, Lindemann i in. 1999]. W omawianej pracy uzyskano niższe wartości LOD dla każdego z analitów. Uzyskane wartości odzysków mieszczą się w przedziale (91-110)% i nie różnią się znacząco od 100%, co świadczy o poprawności otrzymywanych wyników dla procedury opisanej w pracy **H4**.

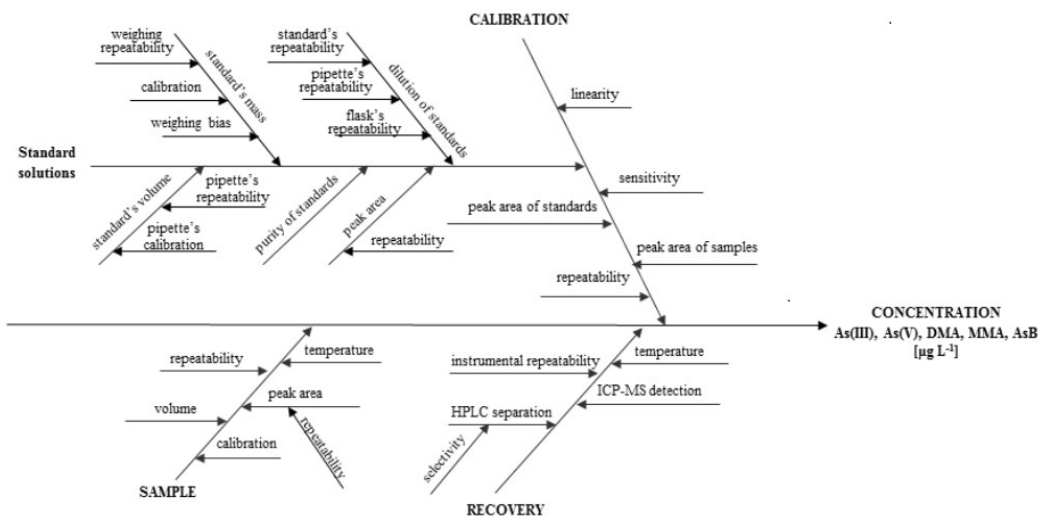
Głównym celem pracy **H2** i odpowiedzią na brak podobnych danych w literaturze było oszacowanie niepewności pomiarowej dla pięciu form specjacyjnych arsenu: AsB, As(III), DMA, MMA i As(V). Proces szacowania niepewności pomiarowej był sekwencją 9 kroków składających się na podejście modelowe do szacowania niepewności opisane w „Poradniku wyrażania niepewności pomiarów” [GUM 1993]. W pierwszym kroku stworzono równanie modelowe, które przedstawia się w następujący sposób:

$$C_a = \frac{(I_s - b)}{a} f_{dil} f_{rec}$$

C_a - concentration of analyte in the sample, $\mu\text{g L}^{-1}$; I_s - signal intensity for sample; b - y intercept of the calibration curve; a - slope of the calibration curve; f_{dil} dilution coefficient; f_{rec} - recovery coefficient.

Niezwykle ważnym krokiem była identyfikacja źródeł niepewności. Ponieważ stosowano w badaniach technikę sprzężoną, należało wyodrębnić źródła niepewności występujące zarówno w procesie rozdzielania, jak i oznaczania, co powoduje, że źródeł takich jest znacznie więcej niż w przypadku stosowania wyłącznie jednej techniki analitycznej.

Poszczególne źródła niepewności zebrano i przedstawiono na diagramie Ishikawy, co zostało zaprezentowane na Rysunku 7.



Rysunek 7. Diagram Ishikawy dla procedury analitycznej rozdzielania i oznaczania form specjacyjnych arsenu w próbkach wody techniką HPLC/ICP-MS (H2).

Niepewność pomiarową dla AsB, As(III), DMA, MMA i As(V) szacowano na podstawie: 1) standardowej niepewności określenia stężenia wykorzystywanych roztworów wzorcowych: AsB, As(III), DMA, MMA i As(V); 2) standardowej niepewności kalibracji oraz 3) standardowej niepewności odzysku. Rezultat szacowania niepewności dla każdego z poszczególnych źródeł dla każdej formy specjacyjnej arsenu przedstawiono w Tabeli 4. Otrzymane wartości niepewności rozszerzonej mieściły się w granicach od 5,6% dla DMA do 13% dla As(III).

Tabela 4. Niepewności standardowe, złożone niepewności standardowe i niepewności rozszerzone dla AsB, As(III), DMA, MMA i As(V) (H2).

Uncertainty	Calculation for particular arsenic species				
	AsB	As(III)	DMA	MMA	As(V)
$u(C_{std})$	0.033	0.019	0.0085	0.011	0.013
$u(cal.)$	0.028	0.035	0.015	0.022	0.020
$u(R)$	0.044	0.053	0.022	0.041	0.036
Combined standard uncertainty					
$u(C_a)/C_a$	0.062	0.066	0.030	0.048	0.043
$u(C_a)[\mu\text{g L}^{-1}]$	0.12	0.14	0.056	0.094	0.19
Extended uncertainty					
$C_a + U [\mu\text{g L}^{-1}]$	1.97 ± 0.24	2.09 ± 0.28	2.02 ± 0.11	1.96 ± 0.19	4.49 ± 0.39
$U(k=2)/C_a [\%]$	12	13	5.6	9.6	8.6

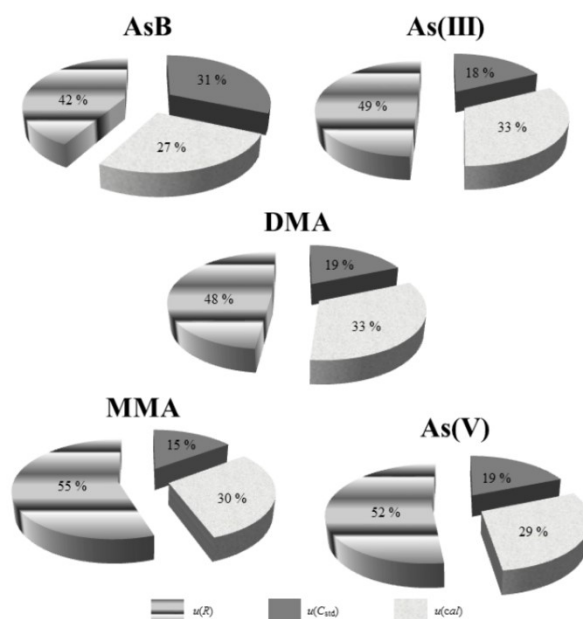
Poszczególne składniki budżetu niepewności przedstawiono na Rysunku 8. Każdy z tych składników został przedstawiony jako procent od sumy kwadratów niepewności standardowych wszystkich składników. Dowiedziono, że w przypadku wszystkich form specjacyjnych arsenu największy procent (od 42% dla AsB do 55% dla MMA) wartości złożonej niepewności standardowej stanowi odzysk. W przypadku MMA i As(V) wartość tego składnika przekroczyła 50% łącznej wartości złożonej niepewności standardowej. Wkład kalibracji był bardzo podobny w przypadku wszystkich badanych form specjacyjnych arsenu.

Stanowił około 30% (od 27% dla AsB do 33% dla As(III) i DMA). Stężenia roztworów wzorcowych wносиły najmniejszą niepewność, ponieważ uzyskane wartości były poniżej 20%. Wyjątkiem była AsB, dla której stężenie roztworów wzorcowych wносиło 31% do niepewności całkowitej. Po rozważeniu uzyskanych wyników można było stwierdzić, że podczas budowania budżetu niepewności wszystkie trzy omawiane składowe muszą być wzięte pod uwagę i oszacowane, wszystkie one bowiem mają istotny udział w złożonej niepewności standardowej. W pracy **H3** szacowano niepewność pomiarową dla TCr i Cr(VI) oznaczanych odpowiednio za pomocą technik:

ICP-DRC-IDMS i HPLC/ICP-DRC-IDMS również za pomocą metody modelowej [GUM 1993]. Niepewność pomiarową dla procedury analitycznej oznaczania

chromu ogólnego w wodzie szacowano z zastosowaniem CRM wody rzecznej – SRM 1643e (certyfikowana wartość stężenia chromu wynosiła $20,4 \mu\text{g L}^{-1}$) oraz próbki rzeczywistej wody wzbogaconej chromem o stężeniu $2 \mu\text{g L}^{-1}$. Wyodrębniono następujące źródła niepewności: stężenie wzbogaconego izotopowo roztworu ^{53}Cr , rozcieńczenie roztworu wzorcowego ^{53}Cr oraz powtarzalność pomiarów stosunku izotopowego. Rozszerzona niepewność pomiarowa ($k=2$) wynosiła: 3,2% w przypadku szacowania z zastosowaniem CRM – SRM 1643e i 3,6% w przypadku szacowania z zastosowaniem próbki rzeczywistej wody wzbogaconej chromem o stężeniu $2 \mu\text{g L}^{-1}$. Ocena wpływu poszczególnych składowych niepewności ujawniła bardzo duży udział procentowy składowej opisującej stężenie wzbogaconego izotopowo wzorca ^{53}Cr (ponad 60% dla CRM, 40% dla próbki rzeczywistej wzbogaconej). Najmniejszy udział (od 8% do 12%) w rozszerzonej niepewności miała niepewność powtarzalności. Należy jednak zauważyć, że w obu przypadkach wartości rozszerzonej niepewności pomiarowej były bardzo niskie i mieściły się w zakresie od 3,2% do 3,6% (**H3**).

Toksyczną formę specyficzną chromu - Cr(VI), oznaczano stosując dwie procedury analityczne opracowane w toku badań. W pierwszej z nich wykorzystano technikę HPLC/ICP-DRC-MS [Barańkiewicz i in. 2013], w drugiej HPLC/ICP-DRC-IDMS (**H3**). Podobnie jak w przypadku arsenu, brak CRM posiadających wartości certyfikowane dla form specyficznych chromu sprawił, że w celu wykazania spójności pomiarowej i oszacowania budżetu niepewności w przypadku oznaczania Cr(VI) techniką HPLC/ICP-DRC-MS wykorzystano metodę dodatku wzorca. Natomiast, kiedy oznaczano Cr(VI) techniką HPLC/ICP-DRC-IDMS, skorzystano z metody pierwotnej, co zagwarantowało spójność otrzymanych wyników pomiarów bezpośrednio z jednostką układu SI. Oszacowane rozszerzone niepewności pomiarowe wynosiły odpowiednio: 4,2% i 3,8% w przypadku stosowania metody dodatku wzorca i metody pierwotnej. Wyodrębnione źródła niepewności były różne w przypadku obu procedur co wynikało ze specyfiki zastosowanych metod analitycznych (**H3**). W metodzie HPLC/ICP-MS, wykorzystanej do oznaczania Cr(VI)



Rysunek 8. Udział składowych w budżecie niepewności dla poszczególnych form specyficznego arsenu oznaczanych w rzeczywistej próbce wody z dodatkiem wzorca, gdzie: $u(R)$ – niepewność odzysku, $u(C_{wz})$ – niepewność określenia stężenia roztworów wzorcowych AsB, As(III), DMA, MMA i As(V), $u(cal)$ – niepewność kalibracji (**H2**).

w próbkach wody, największy wpływ na wartość niepewności rozszerzonej miało średnie stężenie roztworów wzorcowych wykorzystywanych do sporządzenia krzywej kalibracyjnej, które wynosiło 49%. Największy udział w niepewności rozszerzonej w przypadku zastosowania metody pierwotnej HPLC/ICP-IDMS do oznaczania Cr(VI) w próbce rzeczywistej wody wzbogaconej miała składowa opisująca stężenie wzbogaconego izotopowo wzorca $^{53}\text{Cr}(\text{VI})$, która wynosiła 41% [Barańkiewicz i in. 2013, H3].

Wskazanie, które źródła niepewności mają największy udział w niepewności rozszerzonej, pozwoliło wyodrębnić krytyczne punkty procedur analitycznych, które w przypadku analizy specjacyjnej, nie tylko arsenu i chromu, ale także innych pierwiastków, będą wymagały większej uwagi.

2. Specjacja i analiza specjacyjna arsenu w próbkach żywności techniką sprzężoną HPLC/ICP-DRC-MS z wykorzystaniem różnych mechanizmów rozdzielania: chromatografii jonowymiennej (IC) i chromatografii wykluczania (SEC).

Technika ICP-MS jest dedykowana do oznaczania stężeń pierwiastków w próbkach ciekłych, niemniej jednak bardzo często wykorzystuje się ją do oznaczania stężenia pierwiastków w próbkach stałych po ich wcześniejszym przeprowadzeniu do roztworu. Etap przygotowania próbek do analizy jest najbardziej newralgicznym etapem procedury analitycznej, zwłaszcza w przypadku próbek stałych, w odniesieniu do których występuje znacznie więcej operacji analitycznych w porównaniu do próbek ciekłych. W kontekście analizy specjacyjnej jest to etap kluczowy, ponieważ należy zadbać o zachowanie równowagi specjacyjnej, co stanowić może spore wyzwanie. Dodatkową trudność powoduje wydobycie interesujących nas analitów z próbki stałej, gdyż ze względu na ich występowanie na poziomie śladowym, należy zadbać o jak najwyższe wydajności ekstrakcji.

Przedmiotem mojego zainteresowania były próbki ryb (H6) i grzybów (H7). W materiale badawczym ryb i grzybów oznaczano arsen ogólny techniką ICP-DRC-MS, a formy specjacyjne arsenu techniką HPLC/ICP-DRC-MS z zastosowaniem chromatografii anionowymiennej. W ostatniej pracy stanowiącej osiągnięcie habilitacyjne (H7) zastosowano również SEC w celu sprawdzenia czy w próbkach grzybów występują formy specjacyjne arsenu, które tworzą połączenia z białkami.

Mobilność arsenu w środowisku sprawia, że pierwiastek ten może się z łatwością wymywać ze skał lub minerałów do wód gruntowych, a także przenikać do elementów środowiska ze źródeł antropogenicznych, przykładowo ze spalania odpadów czy paliwa [Jankong i in. 2007, Jia i in. 2018]. Arsen jest akumulowany przez organizmy w łańcuchu troficznym w znacznym stopniu, od glonów i planktonu po drapieżne ryby, które ostatecznie są spożywane przez ludzi [Taylor i in. 2017]. Motywacją do podjęcia tematyki badań opisanych w pracy H6 było powyższe oraz fakt, że ryby słodkowodne stanowią popularne pożywienie i ważną część diety w niektórych regionach świata ze względu na to, że są one bogate w wysokowartościowe białka i niezbędne kwasy tłuszczowe. Spożycie ryb zanieczyszczonych arsenem może jednak zwiększyć ekspozycję na jego toksyczne formy, co potencjalnie zagraża zdrowiu i życiu człowieka [Jia i in. 2018, Domingo i in. 2007]. Z kolei, podjęcie tematyki badań ujętych w pracy H7 spowodowane było faktem, że grzyby mogą skutecznie bioakumulować toksyczne metale i metaloidy w owocnikach nawet jeśli występują na glebach o niskiej zawartości danego pierwiastka [Falandysz i Borovička 2013, Kabata-Pendias i Pendias 1999]. Grzyby są uważane za bogate w białka, witaminy i minerały, dzięki którym stanowią zdrową, wartościową żywność i są spożywane na całym świecie, szczególnie w krajach azjatyckich i europejskich [Chen i in. 2017, Kalač 2010, Li i in. 2011]. Mając na uwadze powyższe, spożywanie grzybów bioakumulujących toksyczne formy specjacyjne pierwiastków, w tym arsen nieorganiczny, może stanowić zagrożenie dla zdrowia i życia

człowieka [Falandysz i Borovička 2013]. Dlatego też analiza specjacyjna arsenu w rybach oraz grzybach ma ogromne znaczenie praktyczne.

2.1. Dobór warunków ekstrakcji arsenu oraz jego form specjacyjnych

2.1.1. Ryby słodkowodne

Specjacja arsenu w rybach słodkowodnych jest znacznie mniej poznana w porównaniu ze specjacją arsenu w rybach morskich, które jako organizmy zawierające znacznie więcej arsenu ogólnego cieszą się dużym zainteresowaniem [Devesa i in. 2002, Rahman i in. 2012]. W organizmach morskich arsen nieorganiczny może się przekształcić w metylokwasę, takie jak MMA i DMA oraz w AsB [Sörös i in. 2003]. Właśnie AsB jest najczęściej końcowym produktem metabolizmu arsenu, jest więc formą dominującą lub często jedyną występującą w rybach morskich. Stopień biotransformacji arsenu zależy od spożytej ilości i mechanizmów transformacji u zwierząt. Prace opublikowane w literaturze na temat ryb słodkowodnych prezentują różne wnioski dotyczące obecności poszczególnych form specjacyjnych arsenu oraz ich proporcji, a metabolizm arsenu w rybach słodkowodnych nie jest do końca poznany. Stąd potrzeba badania specjacji arsenu w rybach słodkowodnych, która stanowiła część mojej pracy badawczej. Kluczowym etapem było przygotowanie próbek ryb do analizy pod kątem oznaczania arsenu ogólnego oraz analizy specjacyjnej, czyli przeprowadzenie ekstrakcji. Stosowanie jak najmniej agresywnych odczynników i warunków ekstrakcji może zapobiec wzajemnej konwersji form specjacyjnych podczas procesu ekstrakcji, dlatego w badaniach opisanych w pracy **H6** jako czynnik ekstrahujący zastosowano wodę dejonizowaną oraz mieszaninę woda:metanol w stosunku 1:1, 1:2 i 1:3. Zastosowano następujące rodzaje ekstrakcji: ekstrakcję wspomaganą ultradźwiękami (UAE) z wykorzystaniem łaźni ultradźwiękowej oraz sondy ultradźwiękowej (Bandelin, Berlin, Germany) oraz ekstrakcję przy użyciu energii mikrofalowej (MAE) (Ethos One, Milestone Srl, Sorisole, Italy). Zoptymalizowano warunki ekstrakcji prowadzonej wszystkimi wymienionymi metodami. W toku badań dowiedziono, że woda jest najlepszym czynnikiem ekstrahującym, a otrzymane przy jej zastosowaniu wydajności ekstrakcji były wyższe o około 10% niż kiedy próbki ryb ekstrahowano mieszaniną woda:metanol w stosunku 1:1. Wraz ze wzrostem metanolu w mieszaninie wydajność ekstrakcji malała. Wyniki takie otrzymano ekstrahując i oznaczając arsen w czterech certyfikowanych materiałach odniesienia ryb: BCR-627 Tuna Fish Tissue; ERM-BB422 Fish Muscle; MODAS-3 Herring Tissue i MODAS-5 Cod Tissue i w przypadku każdego z nich uzyskano podobną tendencję. Lepsze wydajności ekstrakcji otrzymano stosując sondę ultradźwiękową niż łaźnię ultradźwiękową, niemniej jednak nadal były one około 20% niższe niż te otrzymane w wyniku ekstrakcji za pomocą energii mikrofalowej. W konsekwencji, arsen ekstrahowano z próbek ryb stosując ekstrakcję za pomocą energii mikrofalowej i wodę dejonizowaną jako czynnik ekstrahujący. W literaturze natomiast możemy znaleźć przeciwstawne wyniki, niektórzy autorzy uzyskali lepszą wydajność ekstrakcji przy użyciu mieszaniny woda:metanol, inni natomiast [Santos i in. 2013, Ruttens i in. 2012, Brisbin i in. 2002] kiedy próbki ekstrahowano wyłącznie wodą. W badaniach przedstawionych w pracy **H6** otrzymano znacznie wyższe wydajności ekstrakcji niż większość opisanych w literaturze. Może to być wynikiem bardzo dokładnego wykonania poszczególnych etapów procedury analitycznej (w tym przygotowania próbek, optymalizacji procesu ekstrakcji, optymalizacji instrumentu pomiarowego oraz walidacji), różnic międzygatunkowych pomiędzy badanymi próbkami lub występowania w badanych próbkach prawie wyłącznie arsenobetainy, którą jako formę mniej związaną łatwiej wyekstrahowano. Badane próbki stanowiły ryby słodkowodne następujących gatunków: karp (*Cyprinus carpio*); karaś (*Carassius carassius*); krąp (*Blicca bjoerkna*); leszcz (*Abramis brama*); pstrąg (*Oncorhynchus mykiss*); jesiotr (*Acipenser*) pochodzących z terenu Polski.

2.1.2. Grzyby

Wodę dejonizowaną wykorzystano jako czynnik ekstrahujący także w badaniach dotyczących grzybów opisanych w pracy **H7**. Wykonano ekstrakcję za pomocą ultradźwięków (UAE) oraz energii mikrofalowej (MAE), a następnie zanalizowano otrzymane ekstrakty za pomocą techniki IC/ICP-DRC-MS. Otrzymane wyniki wykazały obecność, AsB, As(III), MMA, DMA i As(V), w większości próbek dominowała jednak forma MMA. Informacje te wskazują, że grzyby, które pobierają arsen w postaci toksycznych form nieorganicznych lub organicznych z gleby, nie są w stanie go przekształcić do postaci nietoksycznej formy, czyli do arsenobetainy. Obecność toksycznych form specyjalnych arsenu w grzybach, które są powszechnie spożywane przez człowieka, była motywacją do wykonania ekstrakcji enzymatycznej (EAE), która umożliwiła zbadanie *in vitro* stopnia biodostępności As w przewodzie pokarmowym człowieka. Do tego celu zastosowano ujednoliczoną metodę badania biodostępności BARGE (UBM, Unified BARGE Method) opracowaną przez naukowców w ramach europejskiej grupy badawczej ds. biodostępności (BARGE; Bioaccessibility Research Group of Europe) [BARGE 2010]. Metodę UBM grupa BARGE opracowała poprzez modyfikację fizjologicznego testu ekstrakcyjnego *in vitro*. Metoda UBM stymuluje procesy zachodzące w przewodzie pokarmowym z zastosowaniem czterech sztucznych płynów trawiennych: śliny, soku żołądkowego, soku żołądkowo-jelitowego oraz żółci zawierających enzymy trawienne, takie jak: amylaza, pepsyna, pankreatyna i lipaza. Metoda ta została zmodyfikowana zgodnie z autorską koncepcją, a uzyskane wyniki przedstawiono w pracy **H7**. W Tabeli 5 przedstawiono wyniki oznaczania TAs po mineralizacji i ekstrakcji.

Tabela 5. Zawartość TAs po mineralizacji (D) i ekstrakcjach: EAE, MAE i UAE w próbkach wybranych gatunków grzybów techniką ICP-DRC-MS ($n=3$)(**H7**).

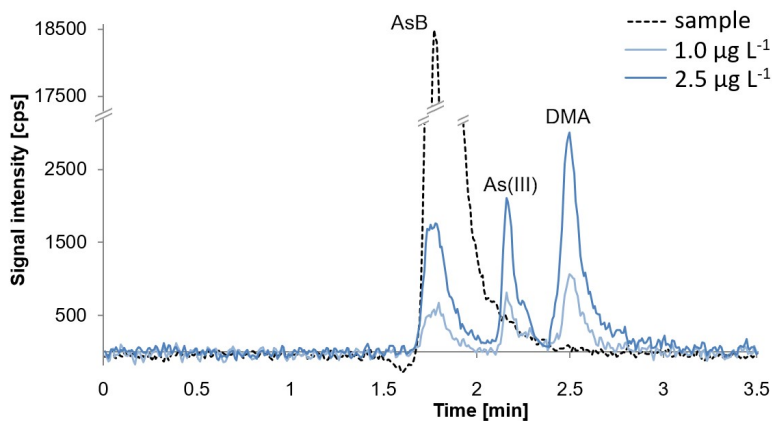
Sample	TAs Mass fraction \pm Standard deviation [$\mu\text{g g}^{-1}$ dry weight]											
	D	R [%]	Enzymatic assisted extraction						MAE	EE [%]	UEA	EE [%]
			Step 1	B %	Step 2	B %	Step 3	B %				
CS-M-3*	0.671 \pm 0.042	103	0.491 \pm 0.014	73	0.7748 \pm 0.027	11 5	0.531 \pm 0.014	79	0.577 \pm 0.02 3	86	0.617 \pm 0.031	92
<i>Boletus edulis</i>	15.75 \pm 0.50	-	16.04 \pm 0.34	102	11.610 \pm 0.048	74	2.765 \pm 0.094	18	11.81 \pm 0.19	75	13.39 \pm 0.22	85
<i>Tricholoma matsutake</i>	8.19 \pm 0.21	-	7.74 \pm 0.23	95	7.52 \pm 0.24	92	5.69 \pm 0.23	69	6.71 \pm 0.15	82	5.49 \pm 0.14	67
<i>Suillellus luridus</i>	68.3 \pm 1.8	-	62.2 \pm 1.2	91	68.7 \pm 3.1	10 0	59.5 \pm 4.1	87	61.38 \pm 1.1	90	48.49 \pm 0.78	71

* Control Material CS-M-3 for arsenic $X_{\text{ref}} \pm U$ (0.651 \pm 0.026) [$\mu\text{g g}^{-1}$]; R[%] - recovery; B [%] - bioaccessibility; EE [%] - extraction efficiency

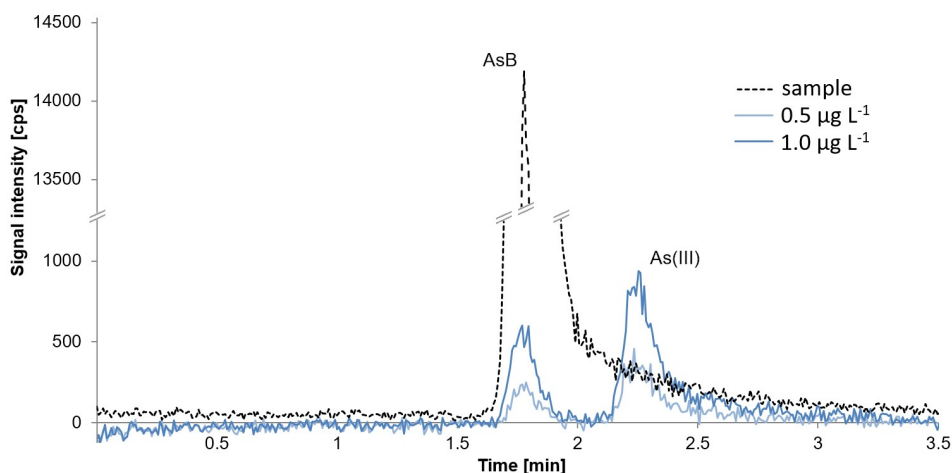
2.2. Rozdzielanie chromatograficzne

Analizę specyjalną arsenu wykonano stosując chromatografię anionowymienną. Wykorzystano wcześniej opracowaną procedurę (w kontekście rozdzielania i oznaczania) poświęconą analizie specyjalnej arsenu w próbkach wody (**H2**), która została w niewielkim stopniu zmodyfikowana. Niemniej jednak kluczowe etapy procedur analitycznych przedstawionych w pracach **H6** i **H7**, takie jak: przygotowanie próbek (mineralizacja i ekstrakcja) czy szczegółowa walidacja, zostały wykonane od podstaw.

Część badań ujętych w pracy **H6** dotyczy problemu nakładania się sygnałów analitycznych pochodzących od AsB i As(III), co jest ważnym zagadnieniem w kontekście analizy specjacyjnej próbek ryb słodkowodnych. W toku badań ustalono dokładne stężenie AsB, w obecności którego możliwe jest oznaczenie ilości śladowych As(III) oraz poziomu stężeń na jakim możemy oznaczać As(III) przy użyciu proponowanych warunków. Według mojej wiedzy są to kwestie, które nie zostały poruszone wcześniej przez innych autorów. Generalnie stwierdzić należy, że specjacja arsenu w rybach słodkowodnych jest znacznie mniej poznana w porównaniu ze specjacją arsenu w rybach morskich. W literaturze światowej można znaleźć niewiele prac dotyczących tej tematyki, a co najważniejsze doniesienia te generują sprzeczne wnioski. Dodatkowo, próby odtworzenia kilku procedur znanych z literatury nie dały podobnych wyników. Eksperyment wykazał, że niektóre z warunków zaproponowanych przez autorów doprowadziły do zmiany równowagi specjacyjnej (ekstrakcja przy użyciu kwasów, wysoka temperatura ekstrakcji). To zainspirowało mnie do opracowania własnych procedur i szczegółowych studiów na temat procesu rozdzielania. Rysunki 9 i 10 przedstawiają wpływ obecnej w próbce AsB na oznaczanie As(III).



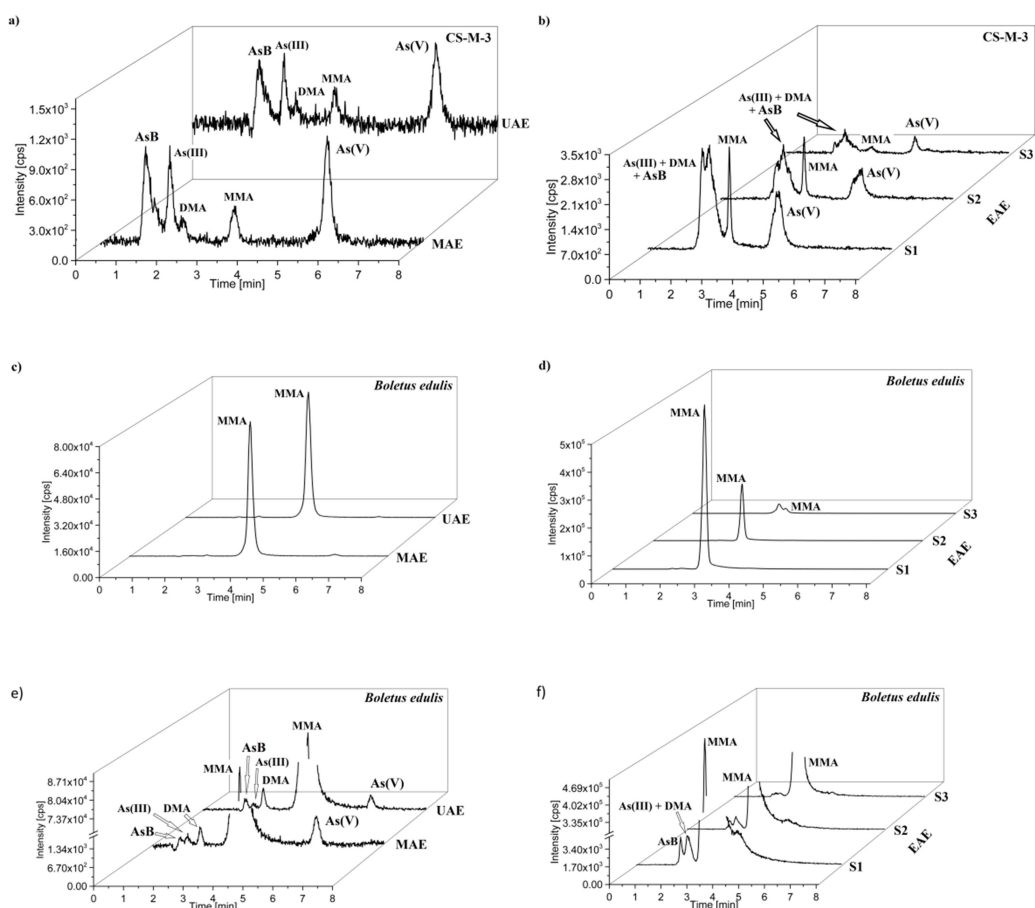
Rysunek 9. Chromatogram wybranej próbki rzeczywistej ryby zawierającej $4.5 \mu\text{g g}^{-1}$ ($35 \mu\text{g L}^{-1}$) AsB oraz wzorców zawierających AsB, As(III) i DMA na poziomie $1.0 \mu\text{g L}^{-1}$ and $2.5 \mu\text{g L}^{-1}$ uzyskany przy użyciu fazy ruchomej składającej się z 10 mmol L^{-1} diwodorofosforanu amonu i 10 mmol L^{-1} azotanu amonu (**H6**).



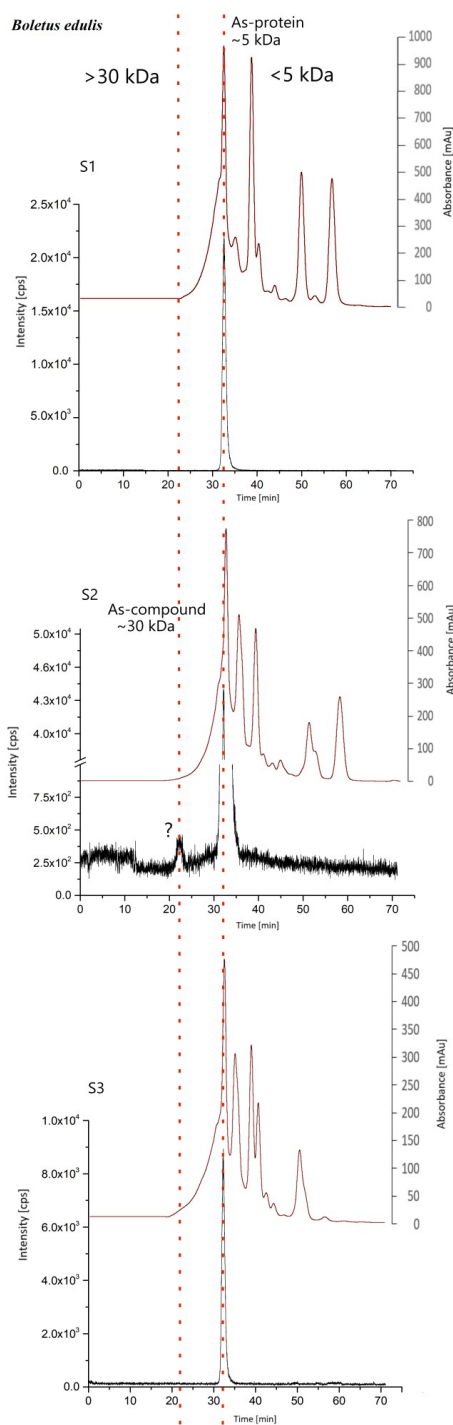
Rysunek 10. Chromatogram wybranej próbki rzeczywistej ryby zawierającej $4.5 \mu\text{g g}^{-1}$ ($35 \mu\text{g L}^{-1}$) AsB oraz wzorców zawierających AsB i As(III) na poziomie $0.5 \mu\text{g L}^{-1}$ and $1 \mu\text{g L}^{-1}$ uzyskany przy użyciu fazy ruchomej składającej się z 20 mmol L^{-1} węglanu amonu (**H6**).

Reasumując, zastosowanie pierwszej fazy ruchomej umożliwia oznaczenie As(III) od stężenia $2 \mu\text{g L}^{-1}$, natomiast w przypadku drugiej fazy ruchomej od stężenia $1 \mu\text{g L}^{-1}$ przy obecności AsB w stężeniu około $4.5 \mu\text{g g}^{-1}$.

W pracy H7 przedstawiono wspomniane wcześniej trzy podejścia do procesu ekstrakcji AsB, As(III), DMA, MMA i As(V) z próbek grzybów z gatunku: borowik szlachetny (*Boletus edulis*), gąska sosnowa (*Tricholoma matsutake*) i borowik ponury (*Suillellus luridus*) pochodzących z Chin. Efektywności ekstrakcji otrzymane po zastosowaniu UAE i MAE mieściły się w granicach 67% do 92% dla przebadanych próbek grzybów oraz materiału kontrolnego CS-M-3 Dried Mushroom Powder, co wskazywać może, że w próbkach mogą znajdować się formy specjacyjne, które nie zostały wyekstrahowane. Próbki ekstrahowane przy pomocy UAE i MAE i poddane analizie za pomocą techniki IC/ICP-DRC-MS prezentują podobny skład, występują w nich te same formy specjacyjne (Rysunek 11). Ekstrakty otrzymane w wyniku ekstrakcji enzymatycznej próbek grzybów i CRM również zostały poddane analizie techniką IC/ICP-DRC-MS. W CRM możliwe było jedynie oznaczenie formy As(V), pozostałe formy specjacyjne nakładają się na siebie i niemożliwe jest ich rozdzielanie. Skrócenie czasów retencji i nakładanie się sygnałów analitycznych powoduje najprawdopodobniej bardzo bogaty skład próbek po ekstrakcji enzymatycznej. W przypadku rzeczywistych próbek grzybów sygnały od MMA i As(V) oraz As(III) i DMA również się nakładały, więc niemożliwe było oznaczenie wymienionych form specjacyjnych arsenu w ekstraktach próbek grzybów po EAE (Rysunek 11).



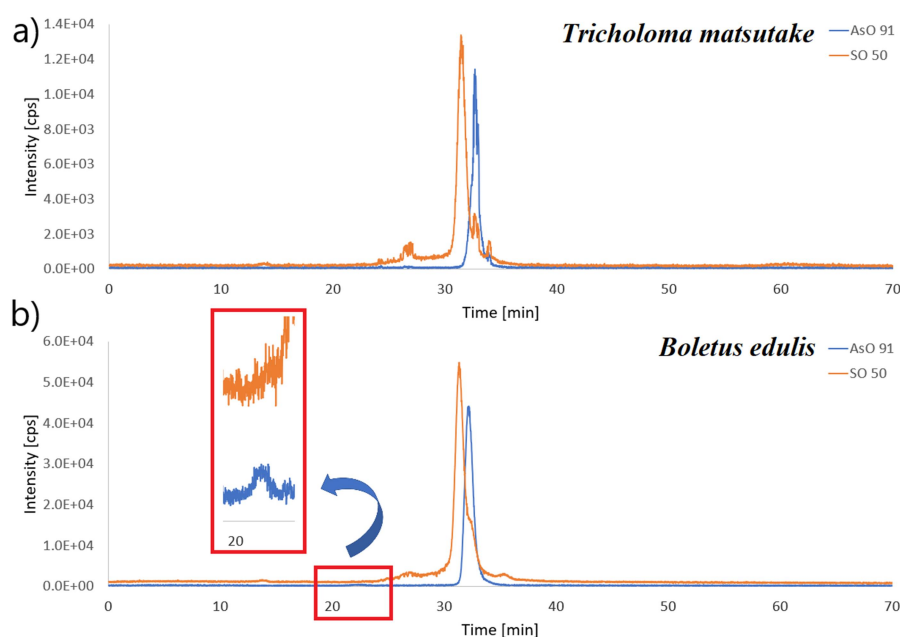
Rysunek 11. Chromatogramy przedstawiające rozdzielanie form specjacyjnych arsenu techniką IC/ICP-DRC-MS w materiale kontrolnym CS-M-3 po: a) MAE i UAE; b) EAE (S1, S2 and S3); oraz próbki grzybów z gatunku *Boletus edulis* po: c) MAE i UAE; d) EAE (S1, S2 and S3); e) powiększenie chromatogramu c; f) powiększenie chromatogramu d (H7).



Rysunek 12. Chromatogramy uzyskane techniką SEC-UV-Vis/ICP-DRC-MS dla trzech etapów EAE dla próbki grzybów z gatunku *Boletus edulis*; detektor UV-Vis użyty do monitorowania białek (czerwona linia); detektor ICP-MS użyty do monitorowania jonów arsenu (czarna linia) (H7).

Ze względu na fakt, że technika IC/ICP-DRC-MS pozwalała jedynie na rozdzielenie i oznaczenie mało złożonych organicznych i nieorganicznych form specyjalnych arsenu, zastosowano technikę sprzężoną SEC/ICP-DRC-MS, która umożliwia badanie specjacji pod kątem metaloprotein lub kompleksów metali z bioligandami. Wykonano EAE według zmodyfikowanej, zgodnie z autorską koncepcją, procedury [BARGE 2010], a następnie ekstrakty poddano analizie techniką SEC-UV-Vis/ICP-DRC-MS w celu weryfikacji obecności arsenu związanego z białkiem. Na chromatogramach uzyskanych dla wszystkich badanych próbek grzybów stwierdzono obecność intensywnego sygnału analitycznego występującego przy czasie retencji $t_R = 33$ min. Chromatogramy przykładowej próbki grzybów z gatunku *Boletus edulis* przedstawiono na Rysunku 12. Na podstawie krzywej kalibracyjnej wykonanej dla standardów białek obliczono, że sygnał ten odpowiada związkowi arsenu o masie cząsteczkowej około ~ 5 kDa. Sygnał ten obserwowano w ekstraktach otrzymanych po wykonaniu każdego z trzech etapów (S1-S3) EAE. Zaobserwowano również sygnał zarejestrowany przy użyciu detektora UV/Vis odpowiadający sygnałowi otrzymanemu przy użyciu detektora ICP-MS. Dodatkowo, pojawił się sygnał przy $t_R = 22$ min, zaobserwowany tylko w próbce grzybów z gatunku *Boletus edulis* pochodzącej z prowincji Yunnan w Chinach. Obecność tego sygnału została potwierdzona tylko w jednej próbce po etapie drugim EAE. Sygnał ten odpowiadał związkowi arsenu o masie cząsteczkowej około ~ 30 kDa i nie występował w żadnej innej próbce grzybów ani w żadnym innym etapie ekstrakcji (H7).

W dalszym etapie, monitorowano więc sygnały pochodzące od jonu $^{91}\text{AsO}^+$ i tlenku siarki $^{50}\text{SO}^+$ przy użyciu techniki SEC/ICP-DRC-MS i nie zaobserwowano sygnału pochodzącego od jonu $^{50}\text{SO}^+$ przy $t_R = 22$ min ani sygnału pochodzącego od białka przy tym samym czasie retencji monitorowanego techniką SEC/UV-Vis (Rysunek 13). Wnioskując, sygnał ten najprawdopodobniej nie pochodzi od białka, natomiast wymaga identyfikacji inną techniką analityczną.



Rysunek 13. Chromatogram uzyskany techniką SEC/ICP-DRC-MS prezentujący: a) białko związane z arsenem w próbce grzybów z gatunku *Tricholoma matsutake*; b) nieznaną związek arsenu w próbce grzybów z gatunku *Boletus edulis* (H7).

Praca H7 jest jedną z nielicznych prac dotyczących biodostępności arsenu z grzybów jadalnych i tym samym poszerza wiedzę na temat biodostępności tego pierwiastka, co jest niezwykle cenne, zwłaszcza w kontekście różnych danych na ten temat opublikowanych w literaturze.

3. Specjacja i analiza specjacyjna As, Cr i Sb w rzeczywistych próbkach środowiskowych i żywności

Opracowane i zwalidowane procedury analityczne opisane w pracach H2 - H7 zostały zastosowane do analizy próbek rzeczywistych: środowiskowych i żywności.

W przypadku próbek środowiskowych materiał badawczy stanowiły próbki wody do picia (H2-H5), wody powierzchniowej (H5), śniegu (H5) oraz ścieków (H5). Procedury: 1) oznaczania arsenu ogólnego techniką ICP-DRC-MS oraz 2) rozdzielania i oznaczania AsB, As(III), DMA, MMA i As(V) techniką HPLC/ICP-DRC-MS, opisane w pracach H2 i H5, zostały zastosowane do analizy ww. rodzajów próbek pochodzących z województw: wielkopolskiego, kujawsko-pomorskiego i dolnośląskiego położonych na terenie Polski. W wodach do picia oraz w ściekach stężenie TAs nie przekraczało $2 \mu\text{g L}^{-1}$. Wysokie stężenie TAs (do $3800 \mu\text{g L}^{-1}$) występującego wyłącznie w formie As(V) oznaczono w wodzie powierzchniowej pobranej z potoku Trująca, położonego na terenie województwa dolnośląskiego. Ciekawe wyniki uzyskano dla próbki śniegu pobranej na terenie tego samego województwa. Stężenie TAs wynosiło około $80 \mu\text{g L}^{-1}$. Analiza specjacyjna wykazała, że 97% zawartości arsenu stanowiła najbardziej toksyczna forma As(III) (H5). Procedurę opisaną w pracy H3 z powodzeniem zastosowano do analizy próbek wody do picia i niegazowanej wody butelkowanej o zawartości składników mineralnych w zakresie od 50 mg L^{-1} do 1300 mg L^{-1} . Również procedura opisana w pracy H4 została zastosowana do analizy próbek wody do picia (woda butelkowana). Potwierdzono, że może ona być z sukcesem stosowana jeśli skład mineralny próbek wody do picia nie przekracza 650 mg L^{-1} .

W przypadku próbek żywności materiał badawczy stanowiły próbki ryb słodkowodnych (H6) oraz grzybów (H7). Opracowana i zwalidowana procedura, opisana

w pracy **H6**, została zastosowana do analizy próbek ryb słodkowodnych, takich jak: karp, karaś, krąp, leszcz, pstrąg i jesiotr, pochodzących z województwa wielkopolskiego i dolnośląskiego. Dobór lokalizacji miejsc pobierania materiału badawczego implikowany był chęcią sprawdzenia czy ryby pozyskane z województwa dolnośląskiego, gdzie stwierdzono wyższe stężenia arsenu w wodzie, są bogatsze w ten pierwiastek niż ryby występujące w województwie wielkopolskim [**H5**]. Badania wykazały, że próbki pochodzące z województwa dolnośląskiego zawierają nawet około 80-krotnie więcej arsenu ogólnego niż próbki pochodzące z terenu województwa wielkopolskiego. W zdecydowanej większości zawierały one AsB. Stwierdzono obecność As(V) w ilości śladowej, stężenie tej formy mieściło się z zakresie od 0,72% do 3,34% zawartości arsenu ogólnego. Badane ryby nie stwarzają zatem zagrożenia dla zdrowia człowieka. Z kolei procedura opisana w pracy **H7**, została użyta do analizy próbek grzybów gatunków takich jak: borowik szlachetny, gąska sosnowa i borowik ponury, zebranych na terenie prowincji Yunnan w Chinach. Otrzymana zawartość TAs mieściła się w granicach: $3,9 \mu\text{g g}^{-1}$ – $8,2 \mu\text{g g}^{-1}$; $1,2 \mu\text{g g}^{-1}$ – $68,3 \mu\text{g g}^{-1}$; $0,78 \mu\text{g g}^{-1}$ – $15,75 \mu\text{g g}^{-1}$ odpowiednio dla gąski sosnowej, borowika szlachetnego i borowika ponurego. W większości próbek formą dominującą był MMA, tylko w jednej próbce dominowała AsB. Stwierdzono obecność As(III) w połowie badanych próbek grzybów, natomiast As(V) we wszystkich próbkach, jednak w ilościach śladowych (do 1,6% całego wyekstrahowanego arsenu). Zatem konsumpcja tych konkretnych gatunków grzybów, w zależności od miejsca pobrania, może być potencjalnie niebezpieczna dla ludzkiego zdrowia i życia.

PODSUMOWANIE OSIĄGNIĘCIA NAUKOWEGO WRAZ Z ELEMENTAMI NOWOŚCI I WKŁADEM DO DYSCYPLINY

Omówione prace dotyczące zaawansowanej techniki sprzężonej HPLC/ICP-MS zastosowanej do analizy specjacyjnej arsenu, chromu i antymonu w próbkach środowiskowych i żywności zostały opublikowane w wiodących czasopismach z dziedziny analityki chemicznej (Talanta (2 artykuły), Rapid Communications in Mass Spectrometry, Analytica Chimica Acta, Environmental Monitoring and Assessment, Molecules, Chemosphere). Artykuły ukazują możliwości zaawansowanej techniki sprzężonej HPLC/ICP-MS z zastosowaniem komory DRC, techniki IDMS i różnych mechanizmów rozdzielania: IC, RPIPC i SEC oraz jej praktyczne zastosowania do analizy próbek rzeczywistych: środowiskowych (wody do picia, wody powierzchniowej, śniegu oraz ścieków) i żywności (ryby słodkowodne, grzyby). Rezultatem prac przedstawionych jako monotematyczne osiągnięcie naukowe jest poszerzenie wiedzy z zakresu: I) analityki chemicznej, a bardziej precyzyjnie specjacji i analizy specjacyjnej, poprzez opracowanie nowych procedur analitycznych dedykowanych jednopierwiastkowej analizie specjacyjnej arsenu oraz chromu, a także wielopierwiastkowej analizie specjacyjnej arsenu, chromu i antymonu techniką HPLC/ICP-MS oraz wprowadzenie zasad metrologii chemicznej we wszystkich opracowanych procedurach; II) zastosowania opracowanych procedur oznaczania arsenu, chromu, antymonu i ich form specjacyjnych w próbkach środowiskowych oraz oznaczania arsenu i jego form specjacyjnych w stałych próbkach żywności.

- I. Osiągnięcia z zakresu badań podstawowych w analityce chemicznej i analizie specjacyjnej wraz z wprowadzeniem zasad metrologii chemicznej:
 - zmodyfikowałam warunki procesu rozdzielania AsB, As(III), DMA, MMA i As(V) techniką IC/ICP-MS opublikowane w literaturze światowej, które opierały się na zastosowaniu wodorofosforanu amonu i azotanu(V) amonu jako składników fazy

ruchomej. Szczegółowa optymalizacja wszystkich parametrów rozdzielania chromatograficznego umożliwiła dobranie optymalnych warunków i rozdzielenie pięciu form specjacyjnych arsenu w czasie 7 minut (**H2**, **H5**);

- opracowanie nowej procedury analitycznej z zastosowaniem techniki pierwotnej IDMS w przypadku oznaczania TCr oraz Cr(VI) odpowiednio technikami ICP-DRC-IDMS i RPIPC/ICP-DRC-IDMS umożliwiło wyeliminowanie wpływu matrycy próbki na sygnał urządzenia pomiarowego, czyli wyeliminowanie interferencji (**H3**). Technika IDMS pozwoliła na 4-krotne polepszenie precyzji w porównaniu z wynikami otrzymanymi techniką HPLC/ICP-DRC-MS. Natomiast poprawność wynosiła: od 99% do 104% dla TCr, od 103% do 106% dla Cr(VI) przy zastosowaniu spektrometrii mas rozcieńczenia izotopowego;
- opracowanie nowej, pierwszej w literaturze światowej, procedury dedykowanej wielopierwiastkowej analizie specjacyjnej oznaczania toksycznych form As(III), As(V), Cr(VI), Sb(III) i Sb(V) w próbkach wody do picia (**H4**). Zastosowanie elucji gradientowej umożliwiło uzyskanie dobrej selektywności i wykonanie analizy w czasie 15 minut. Procedura ta może być zastosowana do analizy próbek wody do picia o składzie mineralnym nie przekraczającym 650 mg L^{-1} na poziomie ultraśladowym;
- w toku badań ustaliłam dokładne stężenie AsB, w obecności którego możliwe jest oznaczenie ilości śladowych As(III) oraz poziomu stężeń na jakim możemy oznaczać As(III) przy użyciu proponowanych warunków. Problem dotyczył nakładania się sygnałów analitycznych pochodzących od AsB i As(III), co jest ważnym zagrożeniem w kontekście analizy specjacyjnej próbek ryb słodkowodnych (**H6**);
- w badaniach dotyczących próbek grzybów zastosowałam EAE, która umożliwiła zbadanie *in vitro* stopnia biodostępności As w przewodzie pokarmowym człowieka. Do tego celu wykorzystałam metodę badania biodostępności BARGE, która została zmodyfikowana zgodnie z autorską koncepcją (**H7**). Wykonałam analizy ekstraktów próbek grzybów otrzymanych po EAE techniką SEC-UV-Vis/ICP-DRC-MS w celu weryfikacji obecności w próbkach grzybów arsenu związanego z białkiem. Otrzymałam dwa sygnały analityczne. Potwierdziłam, poprzez wykonanie analiz techniką SEC-UV-Vis oraz poprzez monitorowanie jonu $^{50}\text{SO}^+$ przy użyciu techniki SEC/ICP-DRC-MS, że pierwszy sygnał pochodzi od związku arsenu z białkiem, natomiast drugi reprezentuje arsen najprawdopodobniej związany z inną grupą funkcyjną co wymaga identyfikacji (**H7**).
- poprzez wprowadzenie zasad metrologii chemicznej do opracowanych procedur analitycznych badania specjacji pierwiastków techniką HPLC/ICP-MS zapewniłam, że otrzymane wyniki są miarodajne, co jest niezwykle ważne w analizie specjacyjnej należącej do analizy śladowej, choć często nie przykłada się do tych działań odpowiedniej wagi. Przeprowadziłam pełną walidację nowych oraz zmodyfikowanych procedur analitycznych (**H2** - **H7**). Zapewniłam spójność pomiarową dla wszystkich przeprowadzonych pomiarów: w przypadku oznaczania ogólnych stężeń pierwiastków spójność zapewniono przez użycie CRM natomiast w przypadku analizy specjacyjnej spójność zapewniono stosując metodę dodatku wzorca do CRM lub próbki rzeczywistej (**H2**, **H4** - **H7**) lub stosując metodę pierwotną IDMS (**H3**). Oszacowałam budżet niepewności metodą modelową dla AsB, As(III), DMA, MMA i As(V) oznaczanych w próbkach różnych rodzajów wód techniką IC/ICP-MS (**H2**) oraz dla TCr i Cr(VI) oznaczanych w próbkach wody do picia technikami odpowiednio ICP-DRC-MS i RPIPC/ICP-DRC-MS (**H3**).

- II. Zastosowanie opracowanych procedur analitycznych oznaczania As, Cr i Sb w wybranych próbkach środowiskowych i żywności:
- oznaczałam TAs, AsB, As(III), DMA, MMA i As(V) w próbkach wody do picia, wody powierzchniowej, ścieków i śniegu (**H2**, **H5**):
 - w wodach do picia oraz w ściekach stężenie TAs nie przekraczało $2 \mu\text{g L}^{-1}$;
 - w wodzie powierzchniowej pobranej z potoku Trująca położonego na terenie województwa dolnośląskiego stężenie TAs wynosiło nawet $3800 \mu\text{g L}^{-1}$ (arsen występował wyłącznie w formie As(V));
 - stężenie TAs w próbce śniegu pobranej na terenie tego samego województwa wynosiło około $80 \mu\text{g L}^{-1}$ (97% stanowiła najbardziej toksyczna forma As(III));
 - TCr i Cr(VI) z powodzeniem oznaczano w próbkach wody do picia i niegazowanej wody butelkowanej o zawartości składników mineralnych w zakresie od 50mg L^{-1} do 1300mg L^{-1} (**H3**);
 - As(III), As(V), Cr(VI), Sb(III) i Sb(V) z powodzeniem oznaczano w butelkowanej wodzie do picia, jeśli jej skład mineralny nie przekraczał 650mg L^{-1} (**H4**);
 - oznaczałam TAs, AsB, As(III), DMA, MMA i As(V) w próbkach żywności:
 - ryby słodkowodne – próbki ryb pochodzące z województwa dolnośląskiego zawierają nawet około 80-krotnie więcej TAs niż próbki pochodzące z terenu województwa wielkopolskiego, w zdecydowanej większości zawierały one AsB. Stwierdzono obecność As(V) w ilości śladowej (**H6**);
 - grzyby - zawartość TAs w badanych gatunkach grzybów mieściła się w granicach: $0.78 \mu\text{g g}^{-1}$ – $68.3 \mu\text{g g}^{-1}$. W większości próbek formą dominującą był MMA. Stwierdzono obecność As(III) w połowie badanych próbek grzybów, natomiast As(V) we wszystkich próbkach, jednak w ilościach śladowych (do 1,6% całego wyekstrahowanego arsenu) (**H7**).

Podsumowując, prace badawcze, opisane w cyklu prac składających się na osiągnięcie habilitacyjne, związane są z rozwijaniem metod analitycznych bazujących na zaawansowanej technice analitycznej HPLC/ICP-DRC-MS i jej rzeczywistym zastosowaniu. Są to pionierskie prace badawcze z dziedziny analizy specjacyjnej, łączące wykorzystanie zaawansowanej techniki analitycznej, jaką jest wysokosprawna chromatografia cieczowa połączona ze spektrometrią mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej, z wprowadzeniem reguł metrologii chemicznej w celu rozdzielenia i oznaczenia śladowych i ultra śladowych stężeń wybranych pierwiastków.

LITERATURA

1. Rosen A.L., Hieftje G.M. (2004). *Spectrochim. Acta B*, 59, 135-146.
2. Barankiewicz D., Bulska E. (2009). Specjacja chemiczna. Problemy i możliwości, Wydawnictwo Malamut, Warszawa.
3. Templeton D.M., Ariese F., Cornelis R., Danielsson L., Muntau H., van Leeuwen H.P., Łobiński R. (2000). *Pure Appl. Chem.*, 72(8), 1453-1470.
4. Cornelis R., Caruso J., Crews H., Heumann K. (Edytorzy) (2003). Handbook of Elemental Speciation. Techniques and Methodology. Wiley & Sons Ltd., New York.
5. Cornelis R., Caruso J., Crews H., Heumann K. (Edytorzy) (2005). Handbook of Elemental Speciation II. Species in the environment, Food, Medicine and Occupational Health. Wiley & Sons Ltd., New York.
6. Szpunar J., Łobiński R. (2003). Hyphenated Techniques in Speciation Analysis. Royal Society of Chemistry, Cambridge.
7. Welz B. (1998). *J. Anal. At. Spectrom.*, 13, 413-417.
8. Lobinski R. (1997). *Appl. Spectrosc.*, 51, 260A-278A.

9. Bouyssiere B., Szpunar J., Lobinski R. (2002). *Spectrochim. Acta B*, 57, 805-828.
10. Van Hulle M., Zhnag C., Zhang X., Cornelis R. (2002). *Analyst*, 127, 634-640.
11. Nagajyothi S., Swetha Y., Neeharika J., Suresh P.V., Ramarao N. (2017). *International J. Adv. Res. Dev.* 2(4), 63-70.
12. Chantada-Vázquez M.P., Moreda-Piñeiro A., Barciela-Alonso M.C., Bermejo-Barrera P. (2017). *Appl. Spectrosc. Rev.*, 52(2), 145-174.
13. Turner P., Merren T., Speakman J., Haines C. (1997). Interface studies in the ICP-mass spectrometer, w: Holland G., Tanner S.D. (Edytorzy), *Plasma Source Mass Spectrometry: Developments and Applications*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 28-34.
14. Maher W., Krikowa F., Ellwood M., Foster S., Jagtap R., Raber G. (2012). *Microchem. J.* 105, 15-31.
15. Thamizhanban D., Rani T., Pravalika P. (2016) *IOSR Int. J. Pharm. Biol. Sci.*, 11(6), 65-74.
16. Marcinkowska M., Barańkiewicz D. (2016). *Talanta* 161, 177-204.
17. Komorowicz I., Barańkiewicz D., (2009). *Analityka* 4, 12-14.
18. Markiewicz B., Komorowicz I., Sajnog A., Belter M., Barańkiewicz D. (2015). *Talanta*, 132, 814-828.
19. International Agency for Research on Cancer, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Arsenic, Metals, Fibres, and Dusts, Volume 100 C, A Review of Human Carcinogens, Lyon, 2012, 41-85.
20. International Agency for Research on Cancer, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Chromium, Nickel and Welding vol.49, Lyon, 1990, 49-214.
21. Ackley K.L., Caruso J.A., Introduction in: Cornelis R., Crews H., Caruso J., Heumann K.G. (Eds.), *Handbook of Elemental Speciation II: Species in the Environment, Food, Medicine and Occupational Health*, John Wiley & Sons Ltd., New York, 2005, 149-151.
22. World Health Organization Guidelines for Drinking-water Quality, Fourth Edition (2011) www.unicef.org/cholera/Chapter_4_prevention/01_WHO_Guidelines_for_drinking_water_quality.pdf
23. D'Ilio S., Violante N., Majorani C., Petrucci F. (2011). *Anal. Chim. Acta* 698, 6-13.
24. Tanner S.D., Baranov V.I., Vallkopf U. (2000). *J. Anal. At. Spectrom.* 15, 1261-1269.
25. D'Ilio S., Violante N., Di Gregorio M., Senofonte O., Petrucci F. (2006). *Anal. Chim. Acta* 579, 202-208.
26. Marcinkowska M., Komorowicz I., Barańkiewicz D. (2015). *Talanta*, 144, 233-240.
27. Rodríguez-González P., Marchante-Gayón J.M., García Alonso J.I., Sanz-Medel A. (2005). *Spectrochim. Acta B* 60, 151-207.
28. Yang L., Ciceri E., Mester Z., Sturgeon R.E. (2006). *Anal. Bioanal. Chem.* 386, 1673-1680.
29. Markiewicz B., Komorowicz I., Barańkiewicz D. (2016). *Analityka* 3, 10-17.
30. Barańkiewicz D., Pikosz B., Belter M., Marcinkowska M. (2013). *Accredit. Qual. Assur.* 18, 391-401.
31. Nelms S.M., Quetel C.R., Prohaska T., Vogl J., Taylor P.D.P. (2001). *J. Anal. At. Spectrom.* 16, 333-338.
32. Milstein L.S., Essader A., Pellizzari E.D., Fernando R.A., Akinbo O. (2002). *Environ. Int.* 28, 277-283.
33. Castillo A., Riog-Navarro A.F., Pozo O.J. (2008). *J. Chromatogr. A* 1202, 132-137.
34. Mulugeta M., Wibetoe G., Engelsen C.J., Lund W. (2010). *J. Chromatogr. A* 1217, 6186-6194.
35. Ronkart S.N., Laurent V., Carbonnelle P., Mabon N., Copin A., Barthelemy J.P. (2007). *Chemosphere* 66, 738-.
36. Verdon C.P., Caldwell K.L., Fresquez M.R., Jones R.L. (2009). *Anal. Bioanal. Chem.* 393, 937.
37. Day J.A., Montes-Bayon M., Vonderheide A.P., Caruso J.A. (2002). *Anal. Bioanal. Chem.* 373, 664.
38. Tsoi Y.-K., Leung K.S.-Y. (2010). *J. Anal. At. Spectrom.*, 25, 880-885.
39. Lindemann T., Prange A., Dannecker W., Neidhart B. (1999). *Fresenius J. Anal. Chem.* 364, 462-466.
40. Guide to the expression of uncertainty in measurement, International Organization for Standardization, Geneva:also JCGM 100:2008. Available from: <http://www.bipm.org/en/publications/guides/gum>, 1993.
41. Jankong P., Chalhoub C., Kienzl N., Goessler W., Francesconi K.A., Visoottiviseth P. (2007). *Environ. Chem.* 4, 11.
42. Jia Y., Wang L., Li S., Cao J., Yang Z. (2018). *Sci. Total Environ.* 625, 600-607.
43. Taylor V., Goodale B., Raab A., Schwerdtle T., Reimer K., Conklin S., Karagas M.R., Francesconi K.A. (2017). *Sci. Total Environ.* 580, 266-282.
44. Domingo J.L., Bocio A., Falcó G., Llobet J.M. (2007). *Toxicology* 230, 219-226.
45. Falandysz J., Borovička J. (2013). *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 97, 477-501.
46. Kabata-Pendias, A., Pendias, H. (1999). *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. Wydawnictwo Naukowe PWN.
47. Chen S., Guo Q., Liu L. (2017). *Food Anal. Methods* 10, 740-748.
48. Kalač P. (2010). *Food Chem.* 122, 2-15.
49. Li T., Wang Y., Zhang J., Zhao Y., Liu H. (2011). *Food Chem.* 127, 1828-1830.
50. Devesa V., Súnier M.A., Lai V.W.-M., Granchinho S.C.R., Martínez J.M., Vélez D., Cullen W.R., Montoro R. (2002). *Appl. Organomet. Chem.* 16, 123-132.
51. Azizur Rahman M., Hasegawa H., Peter Lim R. (2012). *Environ. Res.* 116, 118-135.

52. Sörös C., Bodó T.E., Fodor P., Morabito R. (2003). *Anal. Bioanal. Chem.* 377, 25–31.
53. Santos C.M.M., Nunes M.A.G., Barbosa I.S., Santos G.L., Peso-Aguiar M.C., Korn M.G.A., Flores E.M.M., Dressler V.L. (2013). *Spectrochim. Acta B* 86, 108–114.
54. Ruttens A., Blanpain A.C., De Temmerman L., Waegeneers N. (2012). *J. Geochem. Explor.* 121, 55–61.
55. Brisbin J.A., B'Hymer C., Joseph A.C. (2002). *Talanta* 58, 133–145.
56. BARGE/INERIS, 2010. UBM procedure for the measurement of inorganic contaminant bioaccessibility from solid matrices [WWW Document]. URL http://www.bgs.ac.uk/barge/docs/BARGE_UBM_DEC_2010.pdf (accessed 2.27.19).

5. Informacja o wykazywaniu się istotną aktywnością naukową albo artystyczną realizowaną w więcej niż jednej uczelni, instytucji naukowej lub instytucji kultury, w szczególności zagranicznej.

Staże naukowe

Wyjazd na 2-miesięczny staż zagraniczny dla młodych doktorów w laboratorium profesora Alfredo Sanz-Medela z Department of Physical and Analytical Chemistry, University of Oviedo, Hiszpania, będącego wybitnym naukowcem w dziedzinie chemii analitycznej, a w szczególności w stosowaniu technik sprzężonych w analityce chemicznej. Staż odbyłam w ramach projektu: „UAM: Unikatowy Absolwent = Możliwości. Wzrost potencjału dydaktycznego Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza poprzez proinnowacyjne kształcenie w jęz. angielskim, interdyscyplinarność, e-learning, inwestycje w kadry”. Efektem stażu było poznanie, poprzez pracę laboratoryjną, wielu najnowocześniejszych zaawansowanych technik analitycznych. Celem stażu była nauka i kształcenie, mój pobyt tam polegał na częstej zmianie laboratorium oraz techniki analitycznej, tak aby możliwe było zapoznanie się z jak największą liczbą stosowanej tam aparatury. W związku z tym nie było możliwe wykonanie w tym czasie badań, które mogłyby zostać zakończone artykułem naukowym. Niemniej jednak, uważam, że nawiązane kontakty umożliwią mi podjęcie współpracy z ośrodkiem w którym wykonywałam staż, zwłaszcza w świetle podejmowanej przeze mnie w ostatnim czasie tematyki badań związanej z poszukiwaniem połączeń białkowych z arsenem w próbkach żywności, a konkretnie grzybów.

Aktywność naukowa publikacyjna

1. Współpracowałam z prof. UPP dr hab. n. o zdr. Joanną Suliburską z Instytutu Żywienia Człowieka i Dietetyki Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu oraz z dr n. med. Rafałem Kocyłowskim z Kliniki Perinatologii i Ginekologii Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi czego efektem są 2 wspólne prace:

Suliburska J., Kocyłowski R., **Komorowicz I.**, Grzesiak M., Bogdański P., Barańkiewicz D., (2016). Concentrations of Mineral in Amniotic Fluid and Their Relations to Selected Maternal and Fetal Parameters. *Biological Trace Element Research*, 172(1), 37-45;

Markiewicz, B., Sajnog, A., Lorenc, W., Hanć, A., **Komorowicz, I.**, Kocyłowski R., Suliburska, J., Barańkiewicz D., Multielemental analysis of 18 essential and toxic elements in amniotic fluid samples by ICP-MS: Full procedure validation and estimation of measurement uncertainty. *Talanta*, 174 (2017)122-170.

2. Współpracowałam z prof. dr hab. Ryszardem Gołdynem z Zakładu Ochrony Wód Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Wynikiem omawianej współpracy są następujące prace:

Barańkiewicz D., Gramowska H., Kanecka (Hanć) A., **Krzyżaniak (Komorowicz) I.**, Gołdyn R., (2008). Spatial distribution of major and trace elements in the water of Swarzedzkie Lake (Poland). *Environmental Monitoring and Assessment*, 143, 327-336.

Gramowska H., **Krzyżaniak (Komorowicz) I.**, Barańkiewicz D., Gołdyn R., (2010). Environmental applications of ICP-MS for simultaneous determination of trace elements and statistical data analysis. *Environmental Monitoring and Assessment*, 160, 479-490.

Chudzińska M., **Komorowicz I.**, Hanć A., Gołdyn R., Barańkiewicz D., (2016). Chemometric approach to evaluate element distribution in muscle, liver and fish bone of roach (*Rutilus rutilus*), silver bream (*Blicca bjoerkna*) and crucian carp (*Carassius carassius*) from Swarzędzkie Lake (Poland) using ICP-MS and FIAS-CVAAS techniques. *Journal of Environmental Science and Health - Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 51(11), 790-800.

3. Brałam także udział w badaniach interdyscyplinarnych z dziedziny chemii oraz medycyny. Współpracowałam z prof. dr hab. n. med. Marią Iskrą z Katedry Chemii i Biochemii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu oraz z prof. dr hab. n. med. Wacławem Majewskim z Kliniki Chirurgii Ogólnej i Naczyń Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu czego rezultatem jest praca:

Hanć A., **Komorowicz I.**, Iskra M., Majewski W., Barańkiewicz D., (2011) Application of spectroscopic techniques: ICP-OES, LA-ICP-MS and chemometric methods for studying the relationships between trace elements in clinical samples from patients with atherosclerosis obliterans. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 399(9), 3221-3231.

4. Podjęłam współpracę z dr Joanną Wojterą-Kwiczor Zakładu Biochemii Instytutu Biologii Molekularnej i Biotechnologii z Wydziału Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu w wyniku której została opublikowana następująca praca:

Wojtera Kwiczor J., Żukowska W., Graj W., Małecka A., Piechalak A., Ciszewska L., Chrzanowski Ł., Lisiecki P., **Komorowicz I.**, Barańkiewicz D., Voss I., Scheibe R., Tomaszewska B., (2014). Rhizoremediation of diesel-contaminated soil with two rapeseed varieties and petroleum degraders reveals different responses of the plant defence mechanisms. *International Journal of Phytoremediation*, 16, 770-789.

Tematykę ujętych w niniejszym punkcie prac szczegółowo opisano w pkt. 7 Omówienie pozostałych (nie ujętych jako cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych) osiągnięć naukowo-badawczych) autoreferatu.

Prowadzenie prac naukowych

Współpraca naukowa z prof. dr hab. Jerzym Falandyszem z Zakładu Chemii Środowiska i Ekotoksykologii z Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego oraz z dr Yuanzhong Wangiem z Institute of Medicinal Plants z Yunnan Academy of Agricultural Sciences w Chinach. Efektem tej współpracy jest wspólna publikacja dotycząca oznaczania arsenu ogólnego i jego form specjacyjnych w grzybach pochodzenia chińskiego.

Komorowicz I., Hanć A., Lorenc W., Barańkiewicz D., Falandysz J., Wang Y. Arsenic speciation in mushrooms using dimensional chromatography coupled to ICP-MS detector, *Chemosphere* 2019, 233, 223-233.

Niniejsze badania były przeze mnie prowadzone, jestem zarówno pierwszym autorem pracy, jak i autorem korespondencyjnym. Praca ta jest jedną z prac włączonych do cyklu powiązanych tematycznie artykułów naukowych stanowiących moje osiągnięcie habilitacyjne (H7).

Członkostwo w zespołach i towarzystwach naukowych:

Członek Zespołu Analizy Spektralnej Komitetu Chemii Analitycznej w Polskiej Akademii Nauk od 2016r.

Funkcja redaktora gościnnego

Edytor gościnny specjalnego wydania „Speciation analysis” w czasopiśmie Molecules, od 14.03.2019r. do 31.03.2020r.

6. Informacja o osiągnięciach dydaktycznych, organizacyjnych oraz popularyzujących naukę lub sztukę.Osiągnięcia dydaktyczne i w zakresie popularyzacji nauki lub sztuki

1. Udział w opracowaniu nowych ćwiczeń laboratoryjnych dla studentów z takich przedmiotów jak: „Metrologia w chemii”, „Spektrometria atomowa”, „Aspekty metodyczne i specjacyjne oznaczania pierwiastków śladowych w wodzie”, „Metrologia w praktyce”.
2. Udział w opracowaniu nowych ćwiczeń laboratoryjnych AMU-PIE „Metrology in chemistry” dla studentów z programu ERASMUS.
3. Udział w opracowaniu nowych ćwiczeń laboratoryjnych dla studentów Studiów Podyplomowych „Analityka Chemiczna”.
4. Prowadzenie zajęć dla studentów Studiów Podyplomowych „Analityka Chemiczna” dotyczących metod ICP-MS oraz HPLC/ICP-MS od 2010 roku do chwili obecnej.
5. Prowadzenie zajęć dydaktycznych (komputerowych i laboratoryjnych) dla studentów studiów na I i II stopniu nauczania, od 2012r. do dzisiaj w wymiarze nie mniej niż 210 godzin w roku akademickim:
 - metrologia w chemii. Specjalność: Chemia środowiska, Chemia ogólna, Chemia kosmetyczna, Chemia materiałowa, Chemia biologiczna, Synteza i analiza chemiczna. Rok studiów: II;
 - metrologia w praktyce. Specjalność: Analityka chemiczna. Rok studiów III;
 - spektrometria atomowa. Specjalność: Chemia środowiska, Synteza i analiza chemiczna, Chemia podstawowa, Chemia z informatyką, Analityka Chemiczna. Rok studiów: II;
 - aspekty metodyczne i specjacyjne oznaczania pierwiastków śladowych w próbkach środowiskowych metodami spektroskopowymi: F-AAS, ET-AAS, ICP-OES, ICP-MS. Kierunek studiów: Magisterskie uzupełniające (fakultet);
 - techniki sprzężone w analizie śladowej: FIAS/ICP-MS, HPLC/ICP-MS i LA/ICP-MS. Studia II stopnia, 1 rok;
 - pracownia licencjacka. Rok studiów: III;
 - pracownia magisterska. Kierunek studiów: Magisterskie uzupełniające;
 - International AMU-PIE „Metrology in Chemistry”. Rok studiów: II.

Opieka naukowa nad studentami w toku specjalizacji

1. Opieka naukowa nad magistrantami w latach: 2014 (1 osoba), 2015 (1 osoba), 2016 (1 osoba), 2019 (1 osoba). Prace były wykonywane w Pracowni Analizy Spektroskopowej Pierwiastków Wydziału Chemii, UAM.

2. Opieka naukowa nad licencjuszami w latach: 2014 (1 osoba); 2019 (1 osoba). Prace były wykonywane w Pracowni Analizy spektroskopowej Pierwiastków Wydziału Chemii, UAM.

Opieka naukowa nad doktorantami w charakterze opiekuna naukowego lub promotora pomocniczego

Promotor pomocniczy rozprawy doktorskiej mgr Moniki Anny Marcinkowskiej. Tytuł rozprawy: „Wielopierwiastkowa analiza specjacyjna wody zaawansowaną techniką sprzężoną HPLC/ICP-DRC-MS”. Data wszczęcia przewodu doktorskiego mgr Moniki Marcinkowskiej – 22.05.2015r, data obrony rozprawy doktorskiej mgr Moniki Anny Marcinkowskiej – 18.01.2017r.

Osiągnięcia organizacyjne zostały ujęte w *Wykazie osiągnięć naukowych albo artystycznych, stanowiących znaczny wkład w rozwój określonej dyscypliny* (załącznik nr 4) w punktach: 8, 10 i 12.

7. Inne ważne informacje.

a) Omówienie pozostałych (nie ujętych jako cykl powiązanych tematycznie artykułów naukowych) osiągnięć naukowo-badawczych.

Moje zainteresowania przed uzyskaniem stopnia doktora nauk chemicznych skupiały się głównie na procedurach dedykowanych analizie próbek środowiskowych. Przedmiotem opublikowanych w tamtym okresie prac badawczych było oznaczanie pierwiastków śladowych, a także makropierwiastków, w celu oceny migracji oraz ich rozmieszczenia przestrzennego przy zastosowaniu technik ICP-OES oraz ICP-MS. Materiał badawczy stanowiły próbki wody pobrane z różnych zbiorników i jezior położonych na terenie miasta Poznania i okolic: jezioro Swarzędzkie, jezioro Malta oraz zbiornik Antoninek [II2.8; II4.8; II4.9; II4.11-II4.13]. Zastosowanie zaawansowanych technik analitycznych umożliwiających wykonanie analizy wielopierwiastkowej, skutkowało uzyskaniem dużej ilości danych. W celu ich interpretacji oraz wizualizacji, zastosowano metody statystyczne i chemometryczne. Te ostatnie posłużyły do klasyfikacji i projekcji danych eksperymentalnych, dzięki czemu możliwe było wyciągnięcie konkretnych wniosków na temat: i) zmienności stężeń poszczególnych pierwiastków oznaczanych w próbkach pobranych z jeziora Malta w zależności od miejsc pobierania próbek oraz pór roku [II4.8]; ii) oceny stopnia oczyszczania w małych zbiornikach położonych w cieku wodnym pomiędzy badanymi jeziorami: Malta i Swarzędzkie [II4.9]; iii) badania stopnia migracji pierwiastków antropogenicznych w wodzie pobranej ze zbiornika Antoninek oraz z jeziora Malta [II4.11; II4.12] oraz pierwiastków śladowych i mikropierwiastków w próbkach pochodzących z jeziora Swarzędzkiego [II2.8; II4.13]. Dodatkowo, celem jednej z prac było zidentyfikowanie źródeł zanieczyszczenia osadów ściekowych w zależności od zakładów przemysłowych znajdujących się na terenie zlewni osadów ściekowych [II4.10]. Przedmiotem moich badań był również wpływ składowiska odpadów paleniskowych na ekosystem wodny w okolicy elektrowni Dolna Odra [II2.5; II2.7]. Prowadziłam także badania związane z walidacją metod analitycznych oznaczania pierwiastków w próbkach wody metodami ICP-OES i ICP-MS [II4.14].

Moje zainteresowania po uzyskaniu stopnia doktora nauk chemicznych skupiały się głównie na opracowywaniu procedur analitycznych dedykowanych: i) analizie wielopierwiastkowej w próbkach wód owodniowych [II4.1; II4.3]; ii) analizie wielopierwiastkowej próbek różnych gatunków ryb [II4.2]; iii) analizie specjacyjnej As i Cr

w próbkach wody do picia [II4.4; II2.1; II2.2; II2.4]; iv) oznaczaniu wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w próbkach gleby zanieczyszczonej olejem napędowym [II4.6]; v) oznaczaniu Ca, Mg, Zn i Cu w surowicy krwi i w ścianie tętniczej próbek klinicznych pobranych od pacjentów z miażdżycą tętnic oraz badaniu rozmieszczenia tych pierwiastków w tkankach tętnic i żył metodą LA-ICP-MS [II4.7]. W celu wykonaniu analiz, we wszystkich pracach, zastosowano zaawansowane techniki analityczne: ICP-MS, ICP-OES, ICP-DRC-MS, HPLC/ICP-DRC-MS, wstrzykowo-przepływową atomową spektrometrię absorpcyjną z generowaniem zimnych par rtęci (FIAS-CVAAS), HPLC z detektorem fluorescencyjnym [II4.1-4; II4.6, II4.7].

i) Badanie próbek płynów owodniowych pod kątem zawartości i poziomu stężeń konkretnych pierwiastków jest niezwykle ważne, ponieważ niesie ze sobą informacje na temat niezbędnych i toksycznych pierwiastków występujących w tego rodzaju próbkach klinicznych, a te, z kolei, mają niekwestionowany wpływ na rozwój płodu. Badania prowadzone we współpracy z Prof. UPP dr hab. Joanną Suliburską z Katedry Higieny Żywnienia Człowieka Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu oraz z dr n. med. Rafałem Kocyłowskim z Kliniki Perinatologii i Ginekologii Centrum Zdrowia Matki Polki w Łodzi miały na celu opracowanie procedury analitycznej oznaczania pierwiastków takich jak: Al, As, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Mg, Mn, Ni, Sr, U i V w próbkach płynów owodniowych z zastosowaniem techniki ICP-DRC-MS [II4.3]. Badania te poszerzono o oznaczanie kolejnych pierwiastków (As, Ca, Pb, Sb i Zn) [II4.1]. W toku badań optymalizowano parametry pracy detektora ICP-MS oraz komory DRC. Wykonano szczegółową walidację procedury analitycznej za pomocą certyfikowanych materiałów odniesienia: surowicy krwi (Seronorm Trace Elements Serum L-2) oraz wody (SLRS-6 – river water; TM-28.4 - fortified lake water). Uzyskane wartości granic wykrywalności dla oznaczanych pierwiastków były niskie, co umożliwiło wykonanie analizy śladowej. Opracowana procedura, opisana jako pierwsza w literaturze, była dedykowana śladowej analizie wielopierwiastkowej w próbkach płynów owodniowych.

ii) Celem badań było opracowanie procedur analitycznych umożliwiających oznaczanie: Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb i Zn techniką ICP-DRC-MS oraz Hg techniką FIAS-CVAAS w próbkach trzech gatunków ryb: płoci (*Rutilus rutilus*), leszcza (*Blicca bjoerkna*) i karasiu (*Carassius carassius*) pochodzących z jeziora Swarzędzkiego [II4.2]. Badania prowadzono we współpracy z Prof. dr hab. Ryszardem Gołdynem z Zakładu Ochrony Wód Wydziału Biologii Uniwersytetu im. Adama Mickiewicza w Poznaniu. Wymienione pierwiastki oznaczano w mięśniach, wątrobie oraz szkieletce próbek ryb. Wyniki wskazały duże różnice w zawartości poszczególnych pierwiastków w badanych organach ryb. Stosowaną procedurę analityczną oceniono pod kątem dokładności i precyzji, a także zapewniono spójność pomiarową poprzez zastosowanie certyfikowanego materiału odniesienia ERM BB422 Fish Muscle. Ze względu na dużą ilość danych zastosowano metody chemometryczne, takie jak analiza skupień (CA) oraz analiza głównych składowych (PCA), które pomogły zwizualizować różnice w zawartości poszczególnych pierwiastków i ocenić potencjalne zagrożenie związane ze spożyciem tych ryb przez ludzi i zwierzęta.

iii) Celem badań było opracowanie procedur umożliwiających wielopierwiastkową analizę specyficzną As i Cr na różnych poziomach stężeń w próbkach wody do picia techniką sprzężoną HPLC/ICP-DRC-MS [II4.4]. Przedmiotem badań były toksyczne formy wymienionych pierwiastków: As(III), As(V) i Cr(VI). Kluczowe było dobranie odpowiednich warunków rozdzielania i oznaczania wymienionych form specyficznych, tak aby uzyskać dobrą selektywność oraz niskie granice wykrywalności. Opracowane procedury zostały szczegółowo zwalidowane. Wyznaczono parametry charakteryzujące procedury analityczne: selektywność, liniowość, LOD, LOQ, powtarzalność i poprawność. Procedury analityczne

umożliwiają oznaczanie As(III), As(V) i Cr(VI) w następujących zakresach stężeń: (0.5–10.0) $\mu\text{g L}^{-1}$ dla procedury A i (5–50) $\mu\text{g L}^{-1}$ dla procedury B.

iv) Bioremediacja wspomagana roślinami (rizoremediacja) wyróżnia się jako potencjalne narzędzie do dezaktywacji lub całkowitego usunięcia ksenobiotyków z zanieczyszczonego środowiska. Dlatego kluczowe znaczenie ma znalezienie odpowiedniej kombinacji gatunków roślin i mikroorganizmów, które razem poprawią proces oczyszczania. Aby zrozumieć reakcję roślin na bioaugmentację, analizowano system antyoksydacyjny i detoksykacyjny w odmianach rzepaku o wysokiej i niskiej zawartości kwasu erukowego. Zdolność fotosyntetyczna roślin, jak również zawartość WWA w liściach i usuwanie oleju napędowego z gleby, zostały zbadane w celu oceny skuteczności remediacji [II4.6]. Badania te były realizowane we współpracy z dr Joanną Wojterą-Kwiczor z Zakładu Biochemii Instytutu Biologii Molekularnej i Biotechnologii z Wydziału Biologii Uniwersytetu im. A. Mickiewicza w Poznaniu, która była głównym autorem pracy. Mój udział w tej pracy polegał na opracowaniu procedury analitycznej oznaczania WWA w roślinach techniką HPLC z detektorem fluorescencyjnym, przygotowaniu próbek roślin do analizy oraz wykonaniu samych analiz.

v) Celem kolejnej pracy było określenie stężenia Ca, Mg, Zn i Cu w surowicy krwi i w ścianie tętniczej u ludzi chorych na miażdżycę tętnic techniką ICP-OES oraz zbadanie rozmieszczenia tych pierwiastków i lokalizacji miejsc gromadzenia się składników mineralnych, co było możliwe dzięki zastosowaniu metody LA-ICP-MS [II4.7]. Opracowano procedury oznaczania Ca, Mg, Zn i Cu w próbkach klinicznych po mineralizacji oraz analizy próbek tkanek miękkich metodą LA-ICP-MS. próbki tkanek oraz krew zostały pobrane przez prof. dr hab. n. med. Wacława Majewskiego podczas zabiegów operacyjnych przeprowadzonych w Klinice Chirurgii Ogólnej i Naczyń Uniwersytetu Medycznego im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu. Bardzo duży wkład do merytorycznej interpretacji wyników, a także udział w dyskusji nad wynikami badań miała prof. dr hab. n. med. Maria Iskra z Katedry Chemii i Biochemii Klinicznej Uniwersytetu Medycznego w Poznaniu. W pracy, poza wymienionymi technikami analitycznymi, zastosowano również metody chemometryczne w celu określenia zależności pomiędzy pierwiastkami.

Poza opisanymi, oryginalnymi pracami, jestem także współautorem pracy przeglądowej na temat specjacji chromu. Praca ta dotyczy specjacji chromu w próbkach wody techniką HPLC/ICP-MS i powstała w oparciu o artykuły o tej tematyce opublikowane w latach 2000-2015 [II4.5]. W pracy poruszono następujące zagadnienia: chemia chromu, możliwości eliminowania interferencji, aspekty metrologiczne oraz zastosowanie techniki spektrometrii mas rozcieńczenia izotopowego jako techniki pierwotnej w analizie specjacyjnej chromu.

b) Nagrody za działalność naukową.

1. Zespołowa nagroda naukowa III° Rektora UAM w Poznaniu za osiągnięcia naukowe za rok 2018.
2. Zespołowa nagroda naukowa III° Rektora UAM w Poznaniu za osiągnięcia naukowe za rok 2017.
3. Zespołowa nagroda naukowa III° Rektora UAM w Poznaniu za osiągnięcia naukowe za rok 2015.
4. Zespołowa nagroda naukowa III° Rektora UAM w Poznaniu za osiągnięcia naukowe za rok 2014.

5. Nagrody za najlepsze plakaty na konferencjach naukowych.

Rok 2015:

1. Chudzińska M., Hanć A., **Komorowicz I.**, Barańkiewicz D., Gołdyn R. Badanie akumulacji pierwiastków w rybach pochodzących z jeziora Swarzędzkiego metodą ICP-MS. *XXIV Poznańskie Konwersatorium Analityczne*, 9-10 kwietnia 2015, Poznań.
2. Grobelna P., Marcinkowska M., **Komorowicz I.**, Barańkiewicz D. Optymalizacja warunków pracy HPLC/ICP-DRS-MS w celu oznaczania Cr(VI), As(III), As(V). *XXIV Poznańskie Konwersatorium Analityczne*, 9-10 kwietnia 2015, Poznań.
3. Marcinkowska M., **Komorowicz I.**, Barańkiewicz D. Możliwości i problemy wielopierwiastkowej analizy specjacyjnej techniką sprzężoną HPLC/ICP-DRS-MS. *XXIV Poznańskie Konwersatorium Analityczne*, 9-10 kwietnia 2015, Poznań.
4. Nowacka M., **Komorowicz I.**, Barańkiewicz D. Oznaczanie wybranych pierwiastków w surowicy krwi kobiet w ciąży metodą ICP-MS. *XXIV Poznańskie Konwersatorium Analityczne*, 9-10 kwietnia 2015, Poznań.

Rok 2014:

1. **Komorowicz I.**, Marcinkowska M., Barańkiewicz D. Zastosowanie techniki ICP-MS do oznaczania chromu w surowicy: sposoby przygotowania próbek i strategie kalibracji. *XXIII Poznańskie Konwersatorium Analityczne*, 8-9 maja 2014, Poznań.

Rok 2009:

1. Olenderek M., Gramowska H., **Komorowicz I.**, Barańkiewicz D., Szpakowska B., Gołdyn R., (2009). Wpływ ścieków deszczowych spływających z powierzchni dróg na jakość wód powierzchniowych miasta Poznania. *XVIII Poznańskie Konwersatorium Analityczne*, Poznań, 2009.
2. Kierszko K., Gramowska H., **Komorowicz I.**, Barańkiewicz D., Gołdyn R., Szpakowska B., (2009). Wpływ zanieczyszczeń wód opadowych pochodzących z terenów przemysłowych na jakość wód powierzchniowych na terenie miasta Poznania. *XVIII Poznańskie Konwersatorium Analityczne*, Poznań, 2009.

Rok 2008:

1. Żygoń K., **Krzyżaniak (Komorowicz) I.**, Barańkiewicz D., (2008). Porównanie technik AAS i ICP pod kątem zawartości As, Cd i Pb w próbkach gleb oraz ziaren i warzyw. *XVII Poznańskie Konwersatorium Analityczne*, Poznań, 2008.

c) Udział w kursach i szkoleniach.

1. Udział w „Warsztatach z wykorzystania metod chemometrycznych w praktyce (kurs zaawansowany)” zorganizowanych w ramach VII konferencji „Chemometria i Metrologia w Analityce”, 6-8 marca 2019r, Poznań.
2. Udział w „Warsztatach z zasad stosowania metrologii w pomiarach chemicznych” zorganizowanych w ramach VII konferencji „Chemometria i Metrologia w Analityce”, 6-8 marca 2019r, Poznań.
3. Kurs „Statystyka w środowisku Excel”. Kurs został zrealizowany przez Zintegrowane Centrum Podnoszenia Kompetencji, 11-15 czerwca 2018r, Poznań.
4. Udział w „Warsztatach z zasad stosowania metrologii w pomiarach chemicznych” zorganizowanych w ramach VI konferencji „Chemometria i Metrologia w Analityce”, 1-3 marca 2017, Poznań.
5. Udział w „Warsztatach z wykorzystania metod chemometrycznych w praktyce (kurs podstawowy)” zorganizowanych w ramach VI konferencji „Chemometria i Metrologia w Analityce”, 1-3 marca 2017, Poznań.

6. Kurs „Fundamentals on ICP-MS”. Prowadzący: R.S. Houk, 30. 01. 2011, European Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, Saragossa, Hiszpania.
7. Kurs „Laser Ablation”. Prowadzący: D. Gunther, 31. 01. 2011, European Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, Saragossa, Hiszpania.
8. Kurs „Metallomics/Speciation”. Prowadzący: J.Szpunar, M.Montes-Bayon, 4. 02. 2011, European Winter Conference on Plasma Spectrochemistry, Saragossa, Hiszpania.
9. Kurs „XXII Dni Variana – seminarium w zakresie nowoczesnych technik analizy instrumentalnej” zorganizowany przez firmy: Varian, CEM i Candela, 15-16 kwiecień 2009, Poznań
10. Kurs „Podstawy działania oraz obsługa spektrometru ICP-MS Elan DRC II, systemu chromatografii ciekowej Series 200 z oprogramowaniem Chromera oraz przystawek do analizy strzykowej FIAS 400 i ablacji laserowej LSX-500” zorganizowany przez firmę Perkin Elmer Polska, 26-30 styczeń 2009, Poznań.
11. Warsztaty szkoleniowe TrainMiC “*Metrologia w Chemii*” organizowane przez Institute for Reference Materials and Measurements IRMM z Belgii, Wydział Chemii Uniwersytetu Warszawskiego i Wydział Chemii im. Adama Mickiewicza w Poznaniu, 15 – 16 maj 2007, Poznań.
12. Świadectwo szkolenia firmy COMEF w zakresie obsługi i zastosowania systemu mineralizacji mikrofalowej Multiwave 3000 (firma Anton Paar), 19 kwiecień 2007, Poznań UAM.
13. Certyfikat London Tests of English, Pearson Language Assessments B2 (upper intermediate communication) czerwiec 2007.

Podsumowanie	
Łączna wartość wskaźnika IF	53,751
Łączna wartość punktacji MNiSW	1570
Całkowita liczba cytowań	
Według bazy Web of Science	286 (263 bez autocytowań)
Według bazy Scopus	316 (291 bez autocytowań)
Indeks Hirscha (Web of Science)	9
Indeks Hirscha (Scopus)	9

Poznań, 21.11.2019

Izabela Komorowicz