

W rozprawie doktorskiej przedstawiono podsumowanie wyników badań prowadzonych w latach 2015 – 2020 w ramach studium doktoranckiego. Prowadzone eksperymenty miały na celu badanie specjacji arsenu, chromu i antymonu w próbkach żywności ciekłej (wody mineralne, smakowe oraz funkcjonalne) i stałej (algi). W badaniach zastosowano zaawansowane techniki sprzężone LC/ICP-DRC-MS oraz ESI-MS/MS. Istotnym elementem wszystkich prowadzonych eksperymentów było także zapewnienie jakości wyników pomiarów.

Bezpieczeństwo i jakość żywności zależą od wielu, zarówno biologicznych jak i chemicznych, czynników. Jednym z najważniejszych spośród tych czynników jest obecność w produktach żywnościowych pierwiastków chemicznych. Toksyczność i biodostępność pierwiastków chemicznych nie zależy jedynie od dawki czy drogi podania, ale również od formy w jakiej dany pierwiastek dostaje się do organizmu. W związku z powyższym oznaczenie tylko całkowitej zawartości pierwiastków chemicznych w próbce żywności nie jest wystarczające w ocenie jakości produktów żywnościowych. Informacje o formach chemicznych pierwiastków występujących w próbce można uzyskać dzięki zastosowaniu analizy specjacyjnej. Najważniejszą techniką analityczną stosowaną obecnie w analizie specjacyjnej pierwiastków chemicznych jest technika sprzężona LC/ICP-MS. Technika LC/ICP-MS posiada jednak niezwykle istotne ograniczenie, pozwala ona na identyfikację oznaczanych form specjacyjnych tylko na podstawie porównania czasów retencji z kolumny chromatograficznej. W przypadku braku dostępnych wzorców oznaczanych substancji nie jest możliwa pełna identyfikacja tych substancji. Z tego względu w ostatnich latach metody analizy specjacyjnej dążą do równoległego stosowania techniki sprzężonej LC/ICP-MS oraz technik komplementarnych, które pozwalają na identyfikację wykrywanych substancji nawet w przypadku braku dostępności substancji wzorcowych. Najpopularniejszą obecnie techniką komplementarną do techniki sprzężonej LC/ICP-MS jest LC/ESI-MS/MS. Technika ta pozwala na identyfikację szerokiego spektrum związków organicznych oraz nieorganicznych za pośrednictwem wyznaczenia dokładnej masy atomowej analizowanego związku oraz obserwacji jego ścieżki fragmentacji.

Przeprowadzone studium literaturowe dowodzi niezwykle ważnej roli analizy specjacyjnej w ocenie jakości żywności oraz wskazuje kierunek dla dalszych badań. W części literaturowej niniejszej rozprawy doktorskiej opisano następujące zagadnienia: 1) opis wybranych pierwiastków chemicznych oznaczanych w ramach badań specjacji pierwiastków chemicznych w próbkach żywności, 2) rodzaje próbek żywności w badaniach specjacji pierwiastków chemicznych przy zastosowaniu techniki sprzężonej LC/ICP-MS oraz technik komplementarnych, 3) opis wybranych technik analitycznych stosowanych w badaniach specjacji pierwiastków chemicznych w próbkach żywności, 4) krytyczny przegląd uregulowań prawnych dotyczących zawartości pierwiastków chemicznych w żywności. Obecne trendy literaturowe wyraźnie pokazują, że zmienia się podejście metodyczne do prowadzenia analizy specjacyjnej. Zastosowanie jednej techniki do analizy badanej próbki stało się niewystarczające, coraz powszechniejsze staje się stosowanie wielu technik komplementarnych w celu uzyskania większej ilości informacji o występujących formach chemicznych pierwiastków w badanej próbce. Widoczna jest także potrzeba opracowywania nowych, zwalidowanych procedur analitycznych, które pozwolą nie tylko poszerzyć naszą wiedzę o specjacji pierwiastków chemicznych w żywności, ale także pomogą w opracowaniu nowych, bardziej szczegółowych norm prawnych.

W części eksperymentalnej niniejszej rozprawy doktorskiej przedstawiono opracowane procedury analizy specjacyjnej oraz wyniki badania specjacji As, Cr i Sb w próbkach rzeczywistych żywności ciekłej (wody mineralne, smakowe oraz funkcjonalne) i stałej (algi). W prowadzonych badaniach stosowano zaawansowane techniki sprzężone takie jak IEC/ICP-DRC-MS, SEC/ICP-DRC-MS oraz UPLC/ESI-MS/MS. Rozszerzono zakres stosowalności procedury oznaczania As(III), As(V), Sb(III), Sb(V) oraz Cr(VI) dla butelkowanych wód mineralnych o szerokim zakresie zawartości składników

rozpuszczonych. Opracowaną procedurę analityczną zastosowano w analizie próbek rzeczywistych. Potwierdzono zależność między materiałem i kolorem pojemnika a zawartością toksycznych form specjacyjnych As(III), As(V), Cr(VI) oraz Sb(V) w butelkowanych wodach mineralnych. Formy specjacyjnej Sb(III) nie wykryto w żadnej z badanych próbek butelkowanej wody mineralnej. W wodzie przechowywanej w butelkach szklanych obserwowano podwyższone stężenie As(III) oraz As(V). W wodzie przechowywanej w butelkach z tworzywa PET obserwowano podwyższone stężenie Sb(V). W butelkach koloru zielonego, niezależnie od stosowanego materiału, obserwowano podwyższone stężenie Cr(VI). Spośród wszystkich oznaczanych form specjacyjnych, dominującą formą w badanych próbkach butelkowanych wód mineralnych był As(V). Stężenie żadnej z oznaczonych form specjacyjnych As, Cr i Sb nie przekraczało maksymalnych dopuszczalnych stężeń arsenu, chromu i antymonu w wodzie przeznaczanej do spożycia przez ludzi które wynoszą odpowiednio 10, 50 i 20  $\mu\text{g L}^{-1}$ . W kolejnym etapie prowadzonych badań opracowano procedury analityczne oznaczania toksycznych form specjacyjnych: As(III), As(V), Sb(III), Sb(V), Cr(VI) oraz pięciu form specjacyjnych arsenu: AsB, As(III), DMA, MMA, As(V) w próbkach butelkowanych wód smakowych i funkcjonalnych. Opracowano także procedury analityczne oznaczania nieznanymi form specjacyjnych As, Cr i Sb technikami SEC/ICP-DRC-MS oraz ESI-MS/MS. Opracowane procedury analityczne zastosowano w analizie próbek rzeczywistych butelkowanych wód smakowych i funkcjonalnych. W próbkach butelkowanych wód smakowych i funkcjonalnych potwierdzono obecność form specjacyjnych takich jak AsB, As(III), As(V), Cr(III) oraz Sb(V). W badanych próbkach nie wykryto form specjacyjnych MMA, DMA, Sb(III) oraz Cr(VI). W wyniku dalszych badań stwierdzono obecność niezidentyfikowanych form specjacyjnych As, Cr oraz Sb w badanych próbkach. Podjęto próbę identyfikacji niezidentyfikowanych form specjacyjnych As, Cr i Sb, za pomocą spektrometrii cząsteczkowej. Mimo zarejestrowania widm fragmentacji sugerujących obecność organicznych kompleksów arsenu w badanych próbkach, nie udało się uzyskać satysfakcjonujących wartości delty ppm pozwalających na potwierdzenie obecności tych kompleksów w badanych próbkach. Przeprowadzono szacowanie ryzyka związanego z konsumpcją butelkowanych wód mineralnych, smakowych oraz funkcjonalnych w odniesieniu do innego niż rakotwórcze negatywnego działania As, Cr i Sb na organizm ludzki. W celu przeprowadzenia oceny ryzyka oszacowano trzy parametry: EDI, THQ oraz HI. Wszystkie spośród wymienionych parametrów oszacowano dla zawartości całkowitych As, Cr i Sb oraz dla wybranych toksycznych form specjacyjnych tych pierwiastków: suma As(III) i As(V), Sb(V) oraz Cr(VI). Uzyskane wyniki potwierdziły brak ryzyka związanego z konsumpcją butelkowanych wód mineralnych, smakowych i funkcjonalnych a oznaczone formy specjacyjne As, Cr i Sb obniżyły ryzyko w porównaniu z ryzykiem oszacowanym dla zawartości całkowitych As, Cr i Sb. Ponadto zawartości tAs, tCr oraz tSb oznaczone w butelkowanych wodach smakowych oraz funkcjonalnych znajdowały się na poziomach stężeń poniżej maksymalnych dopuszczalnych stężeń arsenu, chromu i antymonu w wodzie przeznaczanej do spożycia przez ludzi które wynoszą odpowiednio 10, 50 i 20  $\mu\text{g L}^{-1}$ . W części badań dotyczącej badania specjacji pierwiastków chemicznych w próbkach żywności stałej przeprowadzono analizę specjacyjną As w algach i produktach żywnościowych z alg. Oznaczono zawartość całkowitą arsenu w pięciu próbkach alg. Przeprowadzono optymalizację procesu ekstrakcji arsenu z alg z zastosowaniem dwóch metod ekstrakcji oraz trzech ekstrahentów. Opracowano procedurę oznaczania pięciu form specjacyjnych arsenu: AsB, As(III), DMA, MMA i As(V) w algach oraz produktach żywnościowych z alg. Opracowano procedurę analityczną identyfikacji nieznanymi form specjacyjnych arsenu przy zastosowaniu techniki sprzężonej UPLC/ESI-MS/MS. Opracowane procedury zastosowano w analizie próbek rzeczywistych alg oraz produktów żywnościowych z alg. W wyniku przeprowadzonych badań potwierdzono obecność w badanych próbkach form specjacyjnych As takich jak: AsB, As(III), DMA oraz As(V). W żadnej z badanych próbek nie wykryto formy specjacyjnej MMA. Na chromatogramach otrzymanych dla wszystkich badanych próbek zarejestrowano dodatkowe sygnały pochodzące od niezidentyfikowanych form specjacyjnych As.

Przeprowadzono identyfikację nieznaną form specjacyjnych As za pomocą spektrometrii cząsteczkowej. Prowadzone badania potwierdziły obecność 12 As-cukrów w badanych próbkach alg. Zidentyfikowano także szereg prostych związków organicznych As oraz potwierdzono obecność form specjacyjnych takich jak As(V) czy DMA. Zarejestrowano także sygnał dla nieznanego związku arsenu o jonie molekularnym  $C_6H_{12}O_5As^+$ . Wyniki prowadzonych badań potwierdziły, że fakt oznaczenia wysokich stężeń tAs w próbkach żywności nie musi być jednoznaczny z wysoką zawartością toksycznych, nieorganicznych form tego pierwiastka w badanych próbkach. Wszystkie opracowane procedury oznaczania form specjacyjnych As, Cr i Sb w próbkach żywności poddano procesowi walidacji, oszacowano niepewność wyników pomiarów oraz zapewniono spójność pomiarową wyników pomiarów.