

SOCIETY OF ECOLOGICAL CHEMISTRY AND ENGINEERING

**ECOLOGICAL CHEMISTRY
AND ENGINEERING S**

CHEMIA I INŻYNIERIA EKOLOGICZNA S

Vol. 16

No. 4

Opole 2009

EDITORIAL COMMITTEE

Witold Waclawek (University, Opole) - Editor-in-Chief
Milan Kraitr (Western Bohemian University, Plzen, CZ)
Jerzy Skrzypski (University of Technology, Łódź)
Maria Waclawek (University, Opole)
Tadeusz Majcherczyk (University, Opole) - Secretary

PROGRAMMING BOARD

Witold Waclawek (University, Opole) - Chairman
Jerzy Bartnicki (Meteorological Institute - DNMI, Oslo-Blindern, NO)
Mykhaylo Bratychak (National University of Technology, Lviv, UA)
Bogusław Buszewski (Nicolaus Copernicus University, Toruń)
Andrzej Kulig (University of Technology, Warszawa)
Bernd Markert (International Graduate School [IHI], Zittau, DE)
Nelson Marmioli (University, Parma, IT)
Jacek Namieśnik (University of Technology, Gdańsk)
Wanda Pasiuk-Bronikowska (Institute of Physical Chemistry PAS, Warszawa)
Lucjan Pawłowski (University of Technology, Lublin)
Krzysztof J. Rudziński (Institute of Physical Chemistry, PAS, Warszawa)
Manfred Sager (Agency for Health and Food Safety, Vienna, AT)
Mark R.D. Seaward (University of Bradford, Bradford, UK)
Jiří Ševčík (Charles University, Prague, CZ)
Piotr Tomasik (Agricultural University, Kraków)
Roman Zarzycki (University of Technology, Łódź)
Tadeusz Majcherczyk (University, Opole) - Secretary

EDITORIAL OFFICE

Opole University, Chair of Chemical Physics
POB 313, ul. Oleska 48, 45-951 OPOLE
tel./fax +48 77 455 91 49
email: waclawek@uni.opole.pl
<http://tchie.uni.opole.pl>

SECRETARIES

Agnieszka Dothańczuk-Śródka, tel. +48 77 401 60 45, email: agna@uni.opole.pl
Małgorzata Rajfur, tel. +48 77 401 60 42, email: mrajfur@o2.pl

SECRETARIES' OFFICE

tel. +48 77 401 60 42
email: mrajfur@o2.pl

Copyright © by
Society of Ecological Chemistry and Engineering

Wydawnictwo dofinansowane przez
Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego w Warszawie
oraz Wojewódzki Fundusz Ochrony Środowiska i Gospodarki Wodnej w Opolu

ISSN 1898-6196

Dear Readers,

We would like to inform you, that our quarterly
Ecological Chemistry and Engineering S/Chemia i Inżynieria Ekologiczna S
starting from vol. **14**(1) 2007

has been selected by the Thomson Scientific in Philadelphia for coverage in:

Science Citation Index Expanded
Journal Citation Reports/Science Edition

We thank very much
all Editorial Board members and Reviewers
for their efforts
and also Authors for presenting valuable papers

Editors

Szanowni Czytelnicy,

Miło jest nam poinformować, że kwartalnik
Ecological Chemistry and Engineering S/Chemia i Inżynieria Ekologiczna S
począwszy od vol. **14**(1) 2007 został wybrany
przez the Thomson Scientific w Filadelfii do umieszczenia w następujących bazach:

Science Citation Index Expanded
Journal Citation Reports/Science Edition

Serdecznie dziękujemy Członkom Rady Programowej i Recenzentom
za dokładanie starań o wysoki poziom naukowy czasopisma,
a także Autorom za przedstawianie interesujących wyników badań

Redakcja

CONTENTS

Joanna MARSZAŁEK and Władysław KAMIŃSKI Environmental impact of bioethanol production	429
Edward NIEDŹWIECKI, Mikołaj PROTASOWICKI, Ryszard MALINOWSKI Anna BUCIOR and Gorzysław POLESZCZUK Water and soil conditions facilitating halophyte development in the Polish western coastal areas of the Baltic Sea	439
Teresa KORNIŁŁOWICZ-KOWALSKA and Ignacy KITOWSKI Diversity of fungi in nests and pellets of Montagu's Harrier (<i>Circus pygargus</i>) from eastern Poland - importance of chemical and ecological factors	453
Bogdan SZOSTAK, Teresa KORNIŁŁOWICZ-KOWALSKA and Ewa BEKIER-JAWORSKA Fungal flora occurrence in swine farm soil environment	473
Angelika BEYER and Marek BIZIUK QuEChERS approach for the determination of pesticide residues in food matrixes	483
Henryk MATUSIEWICZ and Piotr GAŁA Optical emission spectrometry for determination of trace amounts of platinum metals (Pt, Pd, Ru, Rh, Ir) and Ca, Mg, Pb, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd in environmental samples	497
REVIEW	
Piotr KONIECZKA and Jacek NAMIEŚNIK Quality Assurance and Quality Control in the Analytical Chemical Laboratory. A Practical Approach reviewed by Jerzy Siepak	535
INDEXES	
Contents of Volume 16 of "Ecological Chemistry and Engineering S"	539
Author index of Volume 16 of "Ecological Chemistry and Engineering S"	542
Subjects index	544
Indeks rzeczowy	546
VARIA	
15 th International Conference on heavy metals in the environment	551
Invitation for ECOpole'10 Conference	553
Zaproszenie na Konferencję ECOpole'10	555
Guide for Authors on submission of manuscripts	557
Zalecenia dotyczące przygotowania manuskryptów	558

SPIS TREŚCI

Joanna MARSZAŁEK i Władysław KAMIŃSKI Wpływ produkcji bioetanolu na środowisko	429
Edward NIEDŹWIECKI, Mikołaj PROTASOWICKI, Ryszard MALINOWSKI Anna BUCIOR i Gorzysław POLESZCZUK Warunki wodno-glebowe sprzyjające rozwojowi halofitów w zachodniej strefie przybałtyckiej Polski	439
Teresa KORNIŁŁOWICZ-KOWALSKA i Ignacy KITOWSKI Różnorodność grzybów w gniazdach i wyplwkach błotniaka łąkowego (<i>Circus pygargus</i>) występującego we wschodniej Polsce - wpływ czynników chemicznych i ekologicznych	453
Bogdan SZOSTAK, Teresa KORNIŁŁOWICZ-KOWALSKA i Ewa BEKIER-JAWORSKA Występowanie grzybów w środowisku glebowym fermy świń	473
Angelika BEYER i Marek BIZIUK Oznaczanie pozostałości pestycydów w próbkach żywności z wykorzystaniem metodyki QuEChERS	483
Henryk MATUSIEWICZ i Piotr GAŁA Oznaczanie śladowych ilości platynowców i wybranych pierwiastków w próbkach środowiskowych z zastosowaniem techniki optycznej spektrometrii emisyjnej	497
RECENZJE	
Piotr KONIECZKA i Jacek NAMIEŚNIK Quality Assurance and Quality Control in the Analytical Chemical Laboratory. A Practical Approach; recenzent Jerzy Siepak	535
INDEKSY	
Spisy treści tomu 16 kwartalnika „Chemia i Inżynieria Ekologiczna S”	539
Wykaz autorów publikacji zamieszczonych w tomie 16 kwartalnika „Chemia i Inżynieria Ekologiczna S”	542
Subjects index	544
Indeks rzeczowy	546
VARIA	
15 th International Conference on heavy metals in the environment	551
Invitation for ECOpole'10 Conference	553

Zaproszenie na Konferencję ECOpole'10	555
Guide for Authors on submission of manuscripts	557
Zalecenia dotyczące przygotowania manuskryptów	558

Joanna MARSZAŁEK^{*1} and Władysław KAMIŃSKI*

ENVIRONMENTAL IMPACT OF BIOETHANOL PRODUCTION

WPLYW PRODUKCJI BIOETANOLU NA ŚRODOWISKO

Abstract: Renewable energy sources enable improvement of environmental protection and are an important element of sustainable development. The contribution of renewable energy to the total world energy balance will grow continuously. Ethanol produced from renewable energy sources - biomass, is the most promising future biofuel. At present, it is used in fuel industry as an additive to petrol. In view of the development of biofuel production and ecological aspects, according to the EU recommendations, it will be produced and subsidised in the nearest several years. The use of biofuel has a positive effect on ecology, diminishes the emission of exhaust gases and improves the work of transport facilities and energy safety. It is suggested that fuelling cars with bioethanol would reduce greenhouse gas emission by 10÷15% compared with ordinary petrol. Presently, there are a number of advanced technologies of ethyl alcohol production in the world depending on raw material subjected to fermentation. According to the degree of processing, raw materials for the production of ethanol, the energy output of the process is different. In the future the production of ethanol (for fuel) will depend largely on waste materials. The authors describe modern techniques of ethanol production, dehydration systems mainly pervaporation and hybrid solutions. On the basis of available literature and our own data, process energy efficiency was compared with different raw materials, transformation technology and dewatering techniques.

Keywords: biofuel, ethanol production, dehydration

Over millions of years the solar energy was accumulated in form of fossil fuels such as coal, petroleum, natural gas. The secondary carriers of energy that arose from their processing, such as petrol from petroleum, coke and gas from coal, are being adjusted to civilisation demands. The traditional fuels, intensely used for over 200 years now, are reduced as they are used, irrespective of new geographical discoveries and technological progress. In view of the approaching crisis, there is more and more interest in alternative (renewable) carriers of energy, including biofuels, biomass, biogas, water power industry, wind power industry, solar collectors, photovoltaic cells, heat pumps and geothermal energy.

Renewable energy sources enable both improvement of environmental protection and are an important element of sustainable development. According to the experts

¹ Faculty of Process and Environmental Engineering, Lodz University of Technology, ul. Wólczańska 213, 90-924 Łódź, tel. +48 42 631 37 02

* Corresponding author: email: marszalek@wipos.p.lodz.pl

programs of the World Committee of Energy Council, it is predicted that in 2070 the contribution of renewable energy to the total world energy balance will be about 60%. This results mainly from improving environmental protection due to reduction of the emissions of carbon, sulphur and nitrogen oxides and waste minimisation [1-7].

Biofuels are liquid or gaseous fuels used in transport which are produced from biomass - biodegradable fractions of products, wastes and remains from agricultural production, forestry as well as biodegradable fractions of municipal and industrial wastes. Ethanol produced from renewable energy sources - biomass, is the most promising future biofuel. At present it is used in fuel industry as an additive to petrol that heightens its octane number and combustibility. A small addition of ethanol to petrol significantly increases the octane number of the mixture and at 10% content the present engine structure need not be modified. Addition of ethanol to fuel means that combustion is more efficient and emission of exhaust gases is reduced. In view of the development of recoverable fuel production and ecological aspects, according to the EU recommendations, ethanol will be produced and subsidised in the period of the nearest several years (6% of all transport fuels sold by 2010) [8-12].

According to a new analysis from Cornell and the University of California at Berkeley bioethanol and biodiesel do not provide nearly as much energy as it takes to create them. In that case we should ask questions: is production of bioethanol energetically justified or is this a political reason only that we produce the ethanol and talk about it?

Ethanol production technologies

Ethanol can be obtained by chemical synthesis or by ethanol fermentation (biological method) which is much more frequently applied in industry. Fermentation is a reaction induced by catalysts - enzymes produced by living cells. Raw materials in the ethanol fermentation can be all products that contain simple sugars and polysaccharides after relevant technological processing. In the process of alcohol fermentation affected by zymase, ie a system of dozen or so enzymes contained among others in yeast, from one molecule of glucose at least two molecules of ethanol and carbon dioxide arise. The course of fermentation is affected by such factors as: pH, temperature, type of substrate, dissolved oxygen, presence of nutrients, and biological impurities.

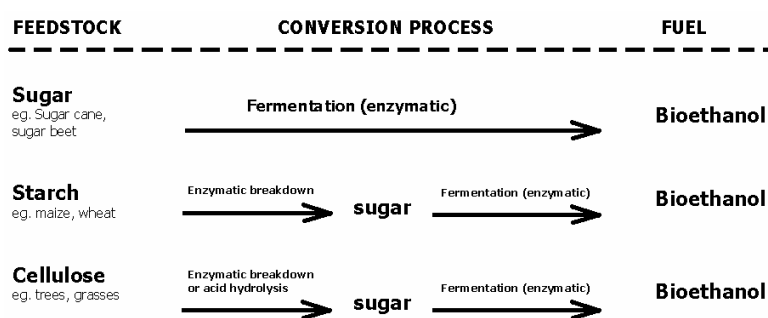


Fig. 1. Feedstocks, conversion processes and fuel-bioethanol from biomass

There are a number of advanced technologies of ethyl alcohol production in the world presently, depending on the raw material subjected to fermentation. The raw materials containing simple sugars and suitable for direct processing through fermentation are white beet and its processing products, sugar cane, domestic and citrus fruits, some tropical plants (pump), juices of certain trees (birches, maple), honey. The group of raw materials containing starch and polysaccharides, such as cellulose and inulin used for the production of ethanol should comprise cereals in form of food grain of rye, barley, corn, oat, wheat, sorghum, besides also vegetable bulbs of potato vegetable roots, seeds of bifoliate plants, fruits, timber, grass, moss, etc. Figure 1 presents a range of bioethanol with different feedstocks and conversion processes. Using current production technology the cheapest bioethanol produced in world comes from sugar cane in Brazil and in Europe from starch crops [13].

Presently the production of ethanol (for fuel) largely depends on waste materials: lignocellulosic biomass such as crop residues, wasted and energy crops (switchgrass), fast-growing trees such as poplar and willow, waste paper and package material, cereals in form of grain unsuitable for consumption, domestic and agricultural waste (maize and wheat stalks) [14-18]. However ethanol production from lignocellulosic biomass is not yet at commercial scale, even though many technologies are mooted. The total potential bioethanol production from crop residues and wasted crops is about 16 times higher than the current world ethanol production ($31 \cdot 10^9 \text{ dm}^3$ in 2001) [19].

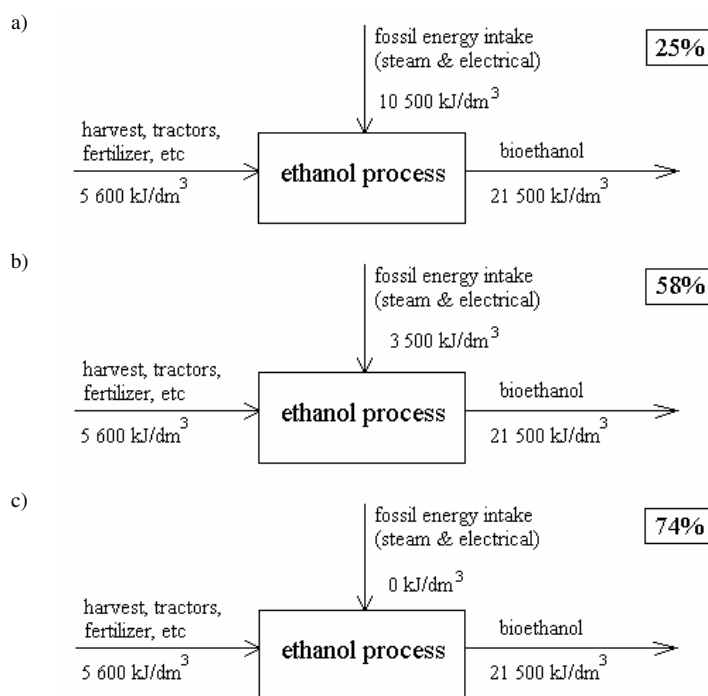


Fig. 2. Ethanol energy balance depending on applied production technologies: a) based on processed materials, b) currently worked out technologies, c) future technologies

Energy contents are expressed as Lower or Higher Heating Value. For most biomass feedstocks this difference appears to be 6÷7% and depends upon the application. Ethanol energy content for LHV amounts to 21.1 MJ/dm³ and for HHV 23.4 MJ/dm³ at ethanol density (average) = 0.79 g/cm³.

Production costs of bioethanol vary and are dependent on the prices of raw materials, the method of production, the extent of refining undertaken and the supplementary utilisation of bioproducts and waste. Depending on the degree of processing the raw materials for the production of ethanol, the energy output of the process defined as the ratio of energy contents and energy supplied for production is different. The energy output in case of ethanol production ranges from 1.7 to 3.8. The more processed the materials subjected to fermentation, the lower the energy gain of the entire process (Fig. 2). Hence the current vast interests in biofuel production technologies using waste materials eg agricultural and forest waste such as straw or shavings. Among other eg the continuous production process composed of thermo-pressure hydrolysis, enzymatic hydrolysis, fermentation and ethanol dewatering is proposed, which is characterised by a high level of heat recovery and recuperation (2.95) and low production price (0.24 EUR/kg EtOH) [20]. Another alternative for the future are biorefinery – multisystems producing fuels, solvents, plastics and food from waste biomass and involving ethanol and lactic acid fermentation [21].

Ethanol dehydration methods

Ethanol obtained during ethanol fermentation and rectification has about 95% vol. ethanol. Production of anhydrous ethanol used for fuel purposes requires overcoming the barriers of a positive homoazeotrope. Now, the most important ethanol dehydration techniques used in the world industry include azeotropic distillation and dehydration on molecular sieves.

Azeotropic distillation used in ethanol dehydration consists in adding a third component which is directly connected with higher energy consumption, demand for more space for the installation, complicated process control, increased labour consumption of the ordering operations that minimise losses of the azeotropic agent and environmental pollution [22].

The process of dehydration on molecular sieves can adsorb much water or other compounds and removes liquid and gaseous pollutant to very low concentrations (ppm or less). For ethanol dehydration on industrial scale, potassium and sodium zeolites are used [23, 24]. Ethanol dehydration on molecular sieves is connected with cyclic work in changeable conditions, consumption of big amounts of vapour under high pressure and recycling big quantities of ethanol to the process.

An alternative to the discussed traditional methods of ethanol dehydration is pervaporation (PV) or vapour permeation (VP). PV and VP are the new generation of membrane separation techniques [25-27]. During pervaporation, a liquid stream is separated on a semi-permeable membrane (for ethanol dehydration - hydrophilic laminated membranes from PVAL) into two streams: a gaseous permeate and liquid retentate. A permeate is enriched with a component transmitted preferentially by the membrane (water) opposite to the retentate which has a small amount of this component. Since separation on the membrane does not much depend on liquid-vapour equilibrium

(in the pervaporation a transport of water is usually preferred), the process can be used efficiently for separating azeotropes and near-boiling liquids [28].

The first and presently the broadest application of the pervaporation in the world industry is dehydration of organic solvents, including alcohols, multifunctional systems, esters, ethers and mixtures of solvents [29].

When analysing the literature on the subject, it is possible to identify concrete trends in the development of pervaporation in ethanol dehydration industry. The PV installation can be an independent, final stage of dehydration (in order to overcome the azeotropic point), a direct stage after fermentation process (to concentrate the ethanol below the azeotropic concentration) or an element of a hybrid solution combined with the presently used techniques (distillation and dehydration on molecular sieves).

A comparison of cost for small installations (100 dm³/day) of ethanol dehydration to 99.5% by different methods such as PV, distillation and adsorption shows PV technique as the most advantageous [30]. The cost of ethanol dehydration by azeotropic distillation is twice as high, and in the case of adsorption 1.5 times higher than in PV. It enables cost reduction on the average by 1 US cent/dm³ of the produced ethanol. Additionally, due to the modular nature of the process, costs related to pervaporation are not so sensitive to scaling up as in the case of distillation or adsorption. For PV systems operating above 100 dm³/h the product costs grow linearly with capacity. A comparison of the costs of ethanol dehydration by various techniques in a bigger system (Tab. 1) indicates that operating costs of the membrane techniques are smaller by half than other dehydrating methods. The system of capacity was 30 Mg/day \approx 1580 dm³/h. Costs were estimated in US\$ per ton of dehydrated ethanol (99.8% wt.) [31, 32]. Distillation becomes more cost-effective than pervaporation only just at the capacity of 5000 dm³/h [33].

Table 1
Comparison of the cost of ethanol dehydration (94% wt.) by various techniques [US \$/Mg] [19, 20]

Operating costs	Vapour permeation	Pervaporation	Azeotropic distillation (cyclohexane)	Adsorption on molecular sieves
Vapour pressure reduction	-	3.2	25÷37.5	20
Water cooling	1	1	3.75	2.5
Electric energy	10	4.4	2	1.3
Distillation component	-	-	1.2÷2.4	-
Exchange of membranes or sieves	4.75	4÷8	-	12.5
Total cost	15.75	12.6÷16.6	31.95÷45.65	36.3

Pervaporation is economically justified when at the inlet water concentration in the system is less than 10% and when at the outlet we expect dehydration of the order of 100÷10 ppm of its content. If still higher product dehydration is expected, then much bigger membrane surface and higher pressure reduction on the side of permeate is required. Cost of ethanol dehydration decreases with an increase of permeation flux and mass fraction of ethanol in permeate and grows with an increase of membrane cost.

Pervaporation can be applied in continuous fermentation that is related to the concentration of ethanol below the azeotropic concentration. For such a system dehydrating 21 600 dm³/h ethanol [34], investment and operating costs become more competitive than the traditional fermentation with distillation above (Fig. 3). This can be obtained by using more efficient membranes or by increasing feed temperature. In the future, we should tend to develop more selective membranes and decrease the production cost. The latter constitutes 20% of the pervaporation cost (8% operating costs of the whole system) and follows from a relatively small market [35].

In literature there are many examples of hybrid processes of pervaporation with distillation (Fig. 4) [31, 33, 36]. Such hybrid processes enable savings of operating costs but not always of investment outlays. Lower operating costs result mainly from a lower energy demand and not from the use of additives. On the other hand, high investment outlays are a result of process complexity and high membrane prices. The development of hybrid processes of distillation-pervaporation and broad applications in industry will depend not only on high process efficiency but first of all on reduction of the membrane cost. The hybrid systems will bring about economic advantages at long-term processes but they are not profitable in the case of small ethanol dehydration systems.

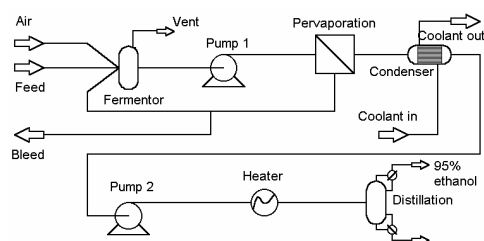


Fig. 3. Flow chart of continuous fermentation with ethanol removal by means of pervaporation [34]

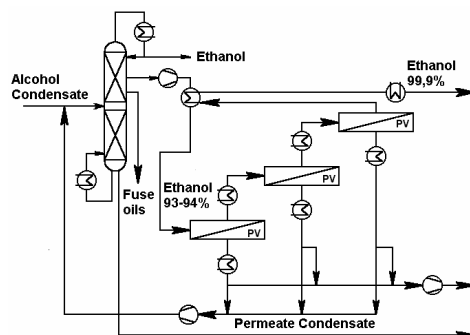


Fig. 4. Flow chart of industrial ethanol production based on a hybrid process of pervaporation and distillation with final PV stage [31]

Beside building of new ethanol dehydration systems based on hybrid processes of distillation-pervaporation, producers offer also implementation of the pervaporation in the already existing installations [25]. The main aim of such a procedure is

de-bottlenecking of processes and effective cost reduction. The PV module can be placed between the distillation and azeotropic column, this will be a double increase of efficiency and related reduction of energy cost, dehydration costs, more efficient use of the existing system and a possibility to control the PV module.

Similarly, the PV module can be connected to the already existing dehydration on molecular sieves, this will cause an increase of process efficiency and the quantity and quality of water removed, reduction of product recirculation degree and energy consumption. Just this last application that consists in placing PV between distillation and adsorption on molecular sieves, can bring in the future the biggest economic benefits in the process of ethanol dehydration.

Reduction of greenhouse gas emissions

The emissions of CO₂ and other greenhouse gases are combined and represented as with CO₂-equivalent emission units by multiplying the different emissions by Global Warming Potentials of the individual greenhouse gases and summing together, eg for CO₂ GWP = 1; for CH₄ GWP = 21. This means that in 100 years, one tonne of methane will have an effect on global warming that is 21 times greater than one tonne of carbon dioxide.

The estimation of greenhouse gas and energy balances of bioethanol is complex. For comparison with fossil fuels the full fuel cycle must be considered: production which requires inputs and combustion which is considered to be CO₂-neutral. The final accounting is country-specific and is a function of raw material cultivated, the associated agricultural yield and utilisation of by- and co-products.

Table 2
Overview of CO₂-equivalent emissions (cultivation, production, distribution and vehicle emissions) savings from bioethanol compared with reference fossil fuel vehicle [37]

Feedstock	CO ₂ -equivalent emission savings	
	[g/km]	[Mg/1000 dm ³]
Sugar crops	90	1.2
Starch crops	30	0.4
Lignocellulosic crops	183	2.5
Lignocellulosic residues	191	2.6
Brazilian sugar cane	212	2.9

Table 2 presents total greenhouse gas emissions weighted in terms of their global warming potentials, as a result of utilising bioethanol over the corresponding fossil fuel. Calculations were based on a reference petrol vehicle which consumes 2.5 MJ/km (0.073 dm³/km) and produces 230 g/km CO₂-equivalent emissions. The values in the last column of Table 2 converts the estimates of the reductions in CO₂-equivalent emissions from g/km to the quantity CO₂-equivalent emissions that would be saved by substituting 1000 dm³ of petrol with the energy equivalent biofuel dm³. For example: 1.2 Mg of CO₂-equivalent emissions saved per 1000 dm³ of petrol substituted with energy equivalent bioethanol from sugar crops = (90 g/km)/(0.073 dm³/km)×1000 [37].

Use of European bioethanol yields CO₂ emission savings of 13÷83% compared with operation of standard petrol vehicle. Bioethanol produced from Brazilian sugar cane has

a better well-to-wheels energy balance and CO₂ emission savings above 85% [37-39]. This is due to the high productivity of sugar cane crops in Brazil and use of by-products to provide energy to nearly all processing plants. As a result, the fossil fuel requirement is close to zero.

Conclusions

The dwindling fossil fuel resources and their increasing prices have led to a worldwide search for alternative energy resources so the demand for alternative fuels is on the increase these days. Biomass has been recognized as a major world renewable energy source to supplement declining fossil fuel resources.

The most traditional biofuels, such as bioethanol is a petrol additive/substitute. Ethanol can be produced not only from highly processed raw materials, such as corn, wheat or sugar beets but also from plentiful, domestic, cellulose biomass resources, agricultural and forestry residues, and a large portion of municipal solid waste and industrial waste streams. The biochemical method of ethanol production is less expensive and more efficient. The lower processed the materials subjected to ethanol production, the more the energy gain of the entire process.

Using biofuels as a substitute of fossil fuels has a positive effect on ecology, diminishes the emission of exhaust gases and improves the work of transport facilities and energy safety. It is suggested that fuelling cars with European bioethanol would reduce greenhouse gas emission compared with ordinary petrol even up to 80%.

Therefore, the substitution of fossil fuels with biofuels has been proposed in the European Union as part of strategy to mitigate greenhouse gas emissions from road transport, increase security of energy supply and support of rural communities. Now bioethanol is blended with petrol with no major changes in distribution systems and used in conventional vehicles. In the near future, bioethanol will be supplied in the distribution systems and used in conventional vehicles with only minor adaptations. Some governments are already undergoing a fundamental change in their preference of fuel sourcing and promote technologies with the most flexibility and best performance.

References

- [1] Bauen A.: *Future energy sources and systems - Acting on climate change and energy security*. J. Power. Sourc., 2006, **157**, 893-901.
- [2] Amundsen A.: *Joint management of energy and environment*. J. Clean. Prod., 2000, **8**, 483-494.
- [3] Tomita A.: *Suppression of nitrogen oxides emission by carbonaceous reductants*. Fuel Proc. Techn., 2001, **71**, 1-3, 53-70.
- [4] Berthiaume R., Bouchard Ch. and Rosen M.A.: *Exergetic evaluation of the renewability of a biofuel*. Exergy Int. J., 2001, **1**, **4**, 256-268.
- [5] Beltran C.O.B.: *Structural and environmental aspects of bioethanol production in Colombia*. Int. Sugar J., 2007, **109**, 1297, 41-45.
- [6] Beer T., Grant T., Williams D. and Watson H.: *Fuel-cycle greenhouse gas emissions from alternative fuels in Australian heavy vehicles*. Atmos. Environ., 2002, **36**, 753-763.
- [7] Beer T. and Grant T.: *Life-cycle analysis of emissions from fuel ethanol and blends in Australian heavy and light vehicles*. J. Clean. Prod., 2007, **15**, 833-837.
- [8] European Union Commission: *White Paper for a Community Strategy and Action Plan Energy for the Future: Renewable Sources of Energy 1997* (COM/97/599).
- [9] Jonquières A., Clément R., Lochon P., Néel J., Dresch M. and Chrétien B.: *Industrial state-of-the-art of pervaporation and vapour permeation in the western countries*. J. Membr. Sci., 2002, **206**, 87-117.

- [10] Warshaw B.: *The future is bright for bioethanol*. Petrol. Rev., 2002, **56**(664), 26-27.
- [11] Zanin G.M., Santana C.C., Bon E.P.S., Giordano R.C.L., De Moraes F.F., Andrietta S.R., Coelho De Corvalho Neto C., Macedo I.C., Lahr Fo.D., Ramos L.P. and Fontana J.D.: *Brazilian Bioethanol Program*. Appl. Biochem. Biotechnol. A Enzyme Eng. Biotechnol., 2000, **84-86**, 1147-1161.
- [12] Van Wyk J.P.H.: *Wastepaper as a bioenergy resource*. Biocycle, 2000, **41**(2), 80.
- [13] Ryan L., Convery F. and Ferreira S.: *Stimulating the use of biofuels in the European Union: Implications for climate change policy*. Ener. Policy, 2006, **34**, 3184-3194.
- [14] Kim S. and Dale B.E.: *Global potential bioethanol production from wasted crops and crop residues*. Biomass Bioener., 2004, **26**, 361-375.
- [15] Murphy J.D. and McCarthy K.: *Ethanol production from energy crops and wastes for use as a transport fuel in Ireland*. Appl. Ener., 2005, **82**, 148-166.
- [16] Demirbas A.: *Bioethanol from cellulosic materials: A renewable motor fuel from biomass*. Ener. Sourc., 2005, **27**(4), 327-337.
- [17] Paszner L.: *Bioethanol - Fuel of the future*. Pulp and Paper Canada, 2006, **107**(4), 26-29.
- [18] Azizov A.Sh.: *The obtaining of fuel bioethanol*. Appl. Solar Ener., 2006, **42**(3), 55-56.
- [19] Berg C.: *World ethanol production 2001*. The distillery and Bioethanol Network. Available at http://www.distill.com/world_ethanol_production.htm
- [20] *Low-cost technology to produce high-grade ethanol from agricultural and forest wastes*. Cordis focus RTD Supplement, 2006, **59**, 19.
- [21] Ohara H.: *Biorefinery*. Appl. Microbiol. Biotechnol., 2003, **62**, 474-477.
- [22] Perry S.: *Perry's Chemical Engineers Handbook*. McGraw-Hill 1997.
- [23] Trent R.E.: *Fundamentals and applications to Ethanol Drying*. Dedini International Workshop, Ribeirao Preto, Brazil 1993, 1-15.
- [24] Guan J., Hu X.: *Simulation and analysis of pressure swing adsorption: ethanol drying process by the electrical analogue*. Sep. Purif. Techn., 2003, **31**, 31-35.
- [25] Sulzer Chemtech: *Pervaporation and vapor permeation technology. Application of pervaporation (brochure)*. Sulzer Chemtech, Switzerland 2004.
- [26] Kujawski W.: *Application of pervaporation and vapor permeation in environmental protection*. Polish J. Environ. Stud., 2000, **9**, 13-26.
- [27] Kamiński W. and Marszałek J.: *Pervaporation for drying and dewatering*. Dry Techn., 2006, **24**, 835-847.
- [28] Rautenbach R.: *Membrane processes*. WNT, Warsaw 1996, 151-354 (in Polish).
- [29] Smitha B., Suhanya D., Sridhar S. and Ramakrishna M.: *Separation of organic-organic mixtures by pervaporation - a review*. J. Membr. Sci., 2004, **241**, 1-21.
- [30] Brüschke H.E.A. and Tüsel G.F.: *Economics of industrial pervaporation processes*. Proc. Conf. Membr. Membr. Processes, 1986, 581-586.
- [31] Sander U. and Soukup P.B.: *Design and operation of pervaporation plant for ethanol dehydration*. J. Membr. Sci., 1988, **36**, 463-475.
- [32] Sander U. and Soukup P.B.: *Practical experience with pervaporation systems for liquid and vapour separation*. J. Membr. Sci., 1991, **62**, 67-89.
- [33] Baker R.W.: *Pervaporation, membrane separation systems - recent developments and future directions*. William Andrew Publishing, Noyes 1991, 161-186.
- [34] O'Brien D., Roth L. and McAloon A.: *Ethanol production by continuous fermentation-pervaporation: a preliminary economic analysis*. J. Membr. Sci., 2000, **166**, 105-111.
- [35] Luccio M. Di., Borges C.P. and Alves T.L.M.: *Economic analysis of ethanol and fructose production by selective fermentation coupled to pervaporation: effect of membrane costs on process economics*. Desalination, 2002, **147**, 161-166.
- [36] Gooding C.H. and Bahouth F.J.: *Membrane-aided distillation of azeotropic solution*. Chem. Eng. Com., 1985, **35**, 267-279.
- [37] Ryan L., Convery F. and Ferreira S.: *Stimulating the use of biofuels in the European Union: Implications for climate change policy*. Ener. Policy, 2006, **34**, 3184-3194.
- [38] Bomb Ch., McCormick K., Deurwaarder E. and Kaberger T.: *Biofuels fao transport in Europe: Lesson from German and UK*. Ener. Policy, 2007, **35**, 2256-2267.
- [39] Demirbas A.: *Progress and recent trends in biofuels*. Progr. Ener. Combust. Sci., 2007, **33**, 1-18.

WPLYW PRODUKCJI BIOETANOLU NA ŚRODOWISKO

Wydział Inżynierii Procesowej i Ochrony Środowiska, Politechnika Łódzka

Abstrakt: Odnawialne źródła energii umożliwiają zarówno poprawę stanu ochrony środowiska, jak i są ważnym elementem zrównoważonego rozwoju. Udział energii odnawialnej w ogólnym bilansie energetycznym świata stale wzrasta także z powodu zmniejszenia emisji gazów i minimalizacji odpadów. Etanol wytwarzany ze źródeł odnawialnych, jakim jest biomasa, jest najbardziej obiecującym biopaliwem przyszłości. Póki co, używany jest w przemyśle paliwowym jako dodatek do benzyny. Z uwagi na szybki rozwój produkcji paliw i aspekty ekologiczne, zgodnie z wytycznymi Unii Europejskiej, produkcja etanolu i jego dodatek do paliw w najbliższych latach będzie wzrastać. Biopaliwa przynoszą pozytywny efekt ekologiczny, zmniejszając emisję gazów wylotowych, polepszając zdolność spalania i bezpieczeństwo energetyczne. Przewiduje się, iż samochody na bioetanol w porównaniu z konwencjonalnymi mogłyby zredukować emisję gazów szklarniowych o 10÷15%. Obecnie na świecie istnieje szereg zaawansowanych technologii produkcji alkoholu etylowego w zależności od surowca poddawanego fermentacji. Stopień zaawansowania technologii i przetworzenia surowca wpływa na wydajność energetyczną procesu. Przewiduje się, iż w przyszłości produkcja etanolu do celów paliwowych w dużej mierze będzie zależeć od surowców odpadowych. W artykule przedstawiono nowoczesne techniki produkcji etanolu, systemów odwadniania, w tym głównie perwaporacji i rozwiązań hybrydowych. Na podstawie dostępnej literatury i własnych doświadczeń porównano wydajność energetyczną procesu w zależności od zastosowania surowców, technologii i technik odwadniania.

Słowa kluczowe: biopaliwo, produkcja etanolu, odwadnianie

Edward NIEDŹWIECKI*, Mikołaj PROTASOWICKI**, Ryszard MALINOWSKI*
Anna BUCIOR*** and Gorzysław POLESZCZUK***¹

WATER AND SOIL CONDITIONS FACILITATING HALOPHYTE DEVELOPMENT IN THE POLISH WESTERN COASTAL AREAS OF THE BALTIC SEA

WARUNKI WODNO-GLEBOWE SPRZYJAJĄCE ROZWOJOWI HALOFITÓW W ZACHODNIEJ STREFIE PRZYBAŁTYCKIEJ POLSKI

Abstract: The article presents results obtained in a study of 4 grassland areas containing halophyte plants located within the Island Karsiborska Kepa, Island Chrzaszczewska, in the valley of the river Dziwna close to Jarzewowo and in the valley of the river Rega, close to Włodarka. The chemical properties of alluvial soils and peat-silt-marshy soils (4 studied grassland areas) were determined as well as the chemical composition of ground and surface waters (3 studied grassland areas), with special attention to the method of the agricultural exploitation of soil. In general, the surface layer (0÷25 cm) of the examined soils is acidic, it contains considerable amount of organic matter (>20%), favorable ration of C:N, high content of 0.5 M HCl extractable of magnesium, potassium and phosphorus (in the case of potassium, it was solely the soils in the Karsiborska Kepa that showed its high content). Sodium concentration, extracted with 0.5 M HCl, fell within the range 1280÷3247 mg·kg⁻¹ and increased down the soil profile. The average salinity was within the range to 3.45÷11.68 g NaCl·dm⁻³. Soil waters and surface waters from the areas of halophyte plant occurrence showed elevated mineralization, with total salinity 2.0÷8.0 g·dm⁻³. This elevated salinity resulted from the inflows of salt marine waters and frequently (Chrzaszczewska Island) from the seepages of salt water (with salinity ca 18 g NaCl·dm⁻³) from the deeper ground layers. These seeping waters contained considerable amounts of mineral and organic compounds of nitrogen and phosphorus as well as significant quantities of dissolved organic matter (COD-Cr up to 250 mg O₂ · dm⁻³). The mineralization of organic matter in soil waters went under anoxic conditions leading to weak acidification (6.50 < pH < 7.00) of these waters. The redox status in soil waters was reducing (Eh of the order of 110 mV) and influenced mainly by iron. In surface waters, relatively well oxygenated and with 7.0 < pH ≤ 8.0 (indicating the ongoing assimilation processes), the redox status was oxidative (Eh of the order of 400 mV) and influenced by nitrogen compounds (redox pair NO₃⁻ / NH₄⁺). Pasture or mowed-pasture type of agricultural exploitation is dominant in the studied grassland areas, this type being favourable in halophyte communities protection.

* Soils Sciences Chair, Western Pomeranian University of Technology in Szczecin, ul. J. Słowackiego 17, 71-434 Szczecin, email: kgleb@agro.ar.szczecin.pl

** Toxicology Chair, Western Pomeranian University of Technology in Szczecin, ul. Papieża Pawła VI 3, 71-459 Szczecin, email: promik@tz.ar.szczecin.pl

*** Department of Chemistry and Waters Ecosystems Management, Faculty of Natural Sciences, University of Szczecin, ul. Felczaka 3C, 71-412 Szczecin

¹ Corresponding author: Gorzysław Poleszczuk, email: polesz@univ.szczecin.pl

Keywords: halophyte communities, soil-hydrological conditions, soil exploitation

According to [1, 2], the natural environment in the Polish western coastal areas of the Baltic Sea does not present optimal conditions for the development of halophytes. The author based this opinion mainly on low salinity of the Baltic Sea (7.5‰ on average, in the Pomeranian Bay) and the geomorphological characteristics of the shoreline. Because, both the cliff shores and sandy dunes obstruct the seepage of seawater inland. For this reason it is solely the flat, lowland and marshy coastal areas where shallow occurrences of salty ground water are encountered, facilitating the development of halophilic plants.

The optimal conditions for halophytes occur within the mouth areas of the rivers, especially within the Oder estuary, in the Swina and Dziwna valleys, which are connecting the Szczecin Lagoon with the Baltic Sea [1-8]. The characteristic feature of hydrological conditions in the Szczecin Lagoon is changeability. During storm surges, accompanied by high sea level in the Pomeranian Bay, seawater from the Bay is inflowing into the Lagoon through the Swina and Dziwna channels. The average salinity of the Szczecin Lagoon is about 1.1‰ and during the inflows of seawater it can rise to 6.0‰. Additionally, Quaternary sediments within the Kujawsko-Pomorski Belt are touching upon Jurassic sediments rich in highly mineralized water, this resulting in salt water occurrence in marshes and peat areas in the Kamien Pomorski region and close to Kolobrzeg (between Budzistow and Kolobrzeg).

Similar situation, though on a much smaller scale, occurs in the northern, flat and depression area in the Trzebiatow rural district, this area being supplied with water from the rivers Rega, Blotnica and Debosznica. The latter one is inflowing into the lake Resko Pomorskie. This lake, in turn, is connected with the sea by an artificial channel [9, 10], therefore the salinity of groundwater and soil is much more pronounced here. Additionally, according to [11], certain role in salinity of the groundwater and soil in this region can be attributed to salt springs, coming out onto or under the surface soil due to favorable geological conditions. Bosiacka [12] pointed out to the fact that marshy salinas, supplied by salt springs, can have salinity several times higher than the seawater in the Baltic Sea.

This article presents a synthesis of results (presented in fragments at a number of scientific conferences) of studies carried out since 1998 and concerning the hydrological and soil conditions in pastures and greenland areas with halophyte flora in the coastal areas of the Western Pomeranian province (Poland).

Methods

Studies of soil in greenland areas in the western coastal areas of the Baltic Sea in Poland were carried out by the Pedology and Toxicology Chairs of the Agricultural Academy in Szczecin and by the Chemistry and Environmental Protection Chair of the Szczecin University since 1998. Detailed soil studies were conducted in the Island Karsiborska Kepa (10 study fields) and in the Chrzaszczewska Island (6 study fields). Additional soil studies were carried out in the valleys of the rivers Dziwna (close to

Jarzewowo locality - 4 study fields) and Rega (close to Wlodarka near Trzebiatow - 4 study fields). Soil and surface waters were also analyzed in the Karsiborska Kepa Island and Chrzaszczewska Island as well as in the Wolin Island (close to Jarzewowo).

Altogether, 24 soil outcrops were prepared in the study fields and soil samples were collected from defined layers for laboratory analyses. Additionally, 2 deep drillings were made in peat-clay-marshy soils of the Chrzaszczewska Island and in the Rega valley to document the composition and thickness of the gyttja-peat layer. The analyses of collected soil samples comprised the determination of pH, organic matter content, organic carbon, total nitrogen, total sulphur, assimilable potassium, phosphorus, magnesium and sodium and salinity. Assimilable potassium and phosphorus in the soils from the Karsiborska Kepa were determined using Egner-Riehm method, and assimilable magnesium and sodium were determined in a CaCl_2 solution. In the other study fields, assimilable forms of Na, K, P and Mg were extracted with 0.5 M HCl according to the method by [13]. Additionally, concentrations of macro- and microelements extracted in concentrated acid solution $\text{HNO}_3+\text{HClO}_4$ (1:1) were determined by atomic spectrometry (AAS Unicam Solaar 929), and phosphorus was analyzed by colorimetric method.

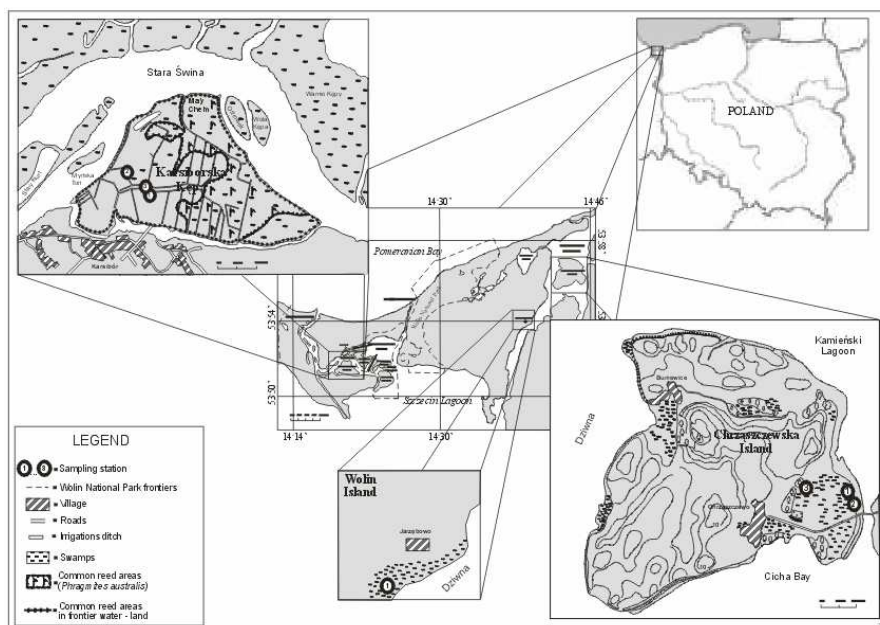


Fig. 1. Location of measurement stations in the Karsiborska Kepa Island and Chrzaszczewska Island

Soil water samples, collected at 3 soil outcrops of 80 ± 20 cm depth, and surface water, from 3 ditches and inundations, were sampled in the islands Karsiborska Kepa and Chrzaszczewska every 3-4 months between 2002-2004. Soil water samples in the Island Wolin and in the meadows of the Dziwna river valley, nearby Jarzewowo, were collected in two outcrops on single occasion. Location of sampling stations of soil and surface water is presented in Figure 1. Water temperature, pH, redox potential (Eh) and HCO_3^-

concentration, determined as total alkalinity, were measured immediately in the field. Separate samples were taken for dissolved oxygen determination. Water samples destined for laboratory analyses were preserved [14] and the analyses were carried out within 24 h. 20 water quality indicators were determined altogether including indicators characterizing water mineralization (conductivity, the concentrations of Cl^- , SO_4^{2-} , Na^+ and K^+ , separately Mg^{2+} and Ca^{2+} and water hardness), trophic level indicators (NO_3^- , NO_2^- , NH_4^+ , TN, PO_4^{3-} , TP) as well as COD-Mn, COD-Cr, water saturation with oxygen was calculated from the oxygen concentration values. All presented indicators were determined based on methods described by Hermanowicz et al [14].

Water quality was assessed based on the Decree [15], ie following the procedures applied by PIOŚ (National Inspectorate for Environmental Protection) in the national monitoring and water quality assessment schemes in that period.

Results and discussion

Halophyte occurrence in the western coastal areas of the Baltic Sea in Poland is determined by the following conditions:

- the coastal meadows and pastures have low location in relation to sea level and additionally there is the effect of a backflow - seawater from the Pomeranian Bay is pushed by storm winds into the Szczecin Lagoon and other coastal basins in the Western Pomerania;
- salty groundwaters occur in this region, they are called salt springs, and exert influence on the soil and flora of the region;
- morphological properties of pasture and greenland soils on which halophyte flora occurs,
- exploitation methods of meadows and pastures containing halophytes.

Location of study fields in relation to adjacent terrain

Topographic charts 1:10 000 point out that it is the Island Karsiborska Kepa that is showing the lowest location in relation to sea level; its ordinates vary from 0.1 m over the sea level at the shores to not more than 1.25 m inland. The island is protected against inflows by 1.0÷1.5 m flood barrier.

The area nearby Jarzewowo in the Dziwna valley is also located on a slight elevation over the sea level, and the left shore of the Dziwna river exceeds the sea level of only 0.1 m and this is not protected by a flood barrier. Halophyte communities occur in this area in pastures of not more than 1.25 m height over the sea level. At similar elevation (not exceeding 1.25 m over sea level), halophyte plants occur also in the valley of the river Rega, close to locality Włodarka. The area is protected against flooding by a 4 m flood barrier.

The described study fields, become partly flooded and the lower parts become completely flooded during strong storms despite the protective barrier, while during draughts - water is detected at the depth of 85÷90 cm (Karsiborska Kepa - 2008).

Quality assessment of soil water and surface water

The results of quality indicators determination and quality assessment of soil water (soil outcrops) and surface water (irrigation ditches and floodings/inundations), in the form of multi-year means are presented in Table 1. Quality assessment was conducted following the criteria of the Decree [15] regarding groundwater and surface water.

Table 1
Results of chemical investigation of surface waters of stagnation pockets, irrigation ditch and soil waters in the Karsiborska Kepa Island and Chrzaszczewska Island (in brackets: water quality classes according to the Decree 2004)

No.	Water quality indices (units)	Karsiborska Kepa Island *)			Chrzaszczewska Island **)			Wolin Island **)
		Station No. 1	Station No. 2	Station No. 3	Station No. 1	Station No. 2	Station No. 3	Station No. 1
		soil waters	irrigation ditch	stagnation pockets	soil waters	irrigation ditch	stagnation pockets	soil waters
Mineralization indices								
1	Specific electrolytic conductivity [$\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$]	6530 (V)	3704 (V)	4076 (V)	4358 (V)	4992 (V)	10837 (V)	3235 (V)
2	Cl^- [$\text{mg Cl}\cdot\text{dm}^{-3}$]	2360 (V)	1292 (V)	1510 (V)	1532 (V)	1942 (V)	4967 (V)	1141 (V)
3	SO_4^{2-} [$\text{mg SO}_4\cdot\text{dm}^{-3}$]	295 (IV)	282 (IV)	265 (IV)	422 (V)	230 (IV)	216 (IV)	214 (IV)
4	Na^+ [$\text{mg Na}\cdot\text{dm}^{-3}$]	1176 (o.c.)	664 (o.c.)	796 (o.c.)	1009 (o.c.)	1054 (o.c.)	3188 (o.c.)	277 (o.c.)
5	K^+ [$\text{mg K}\cdot\text{dm}^{-3}$]	49 (o.c.)	35 (o.c.)	33 (o.c.)	8 (o.c.)	10 (o.c.)	24 (o.c.)	23 (o.c.)
6	Ca^{2+} [$\text{mg Ca}\cdot\text{dm}^{-3}$]	142 (III)	85 (II)	101 (III)	248 (IV)	200 (III)	359 (IV)	136 (III)
7	Mg^{2+} [$\text{mg Mg}\cdot\text{dm}^{-3}$]	199 (IV)	90 (III)	104 (IV)	137 (IV)	99 (III)	113 (IV)	102 (IV)
8	HCO_3^- as total alkalinity [$\text{mg CaCO}_3\cdot\text{dm}^{-3}$]	483 (I)	173 (II)	172 (II)	366 (I)	244 (I)	230 (I)	127 (II)
Selected biogenic abundant indices								
9	NO_3^- [$\text{mg N-NO}_3\cdot\text{dm}^{-3}$]	0.66 (I)	0.74 (I)	0.47 (I)	0.09 (I)	0.40 (I)	0.41 (I)	0.24 (I)
10	NO_2^- [$\text{mg N-NO}_2\cdot\text{dm}^{-3}$]	0.019 (I)	0.017 (I)	0.013 (I)	0.003 (I)	0.032 (II)	0.023 (I)	0.033 (II)
11	NH_4^+ [$\text{mg N-NH}_4\cdot\text{dm}^{-3}$]	1.09 (III)	0.58 (II)	0.42 (I)	1.20 (III)	0.40 (I)	1.45 (III)	0.51 (II)
12	N_{tot} [$\text{mg N}\cdot\text{dm}^{-3}$]	10.50(o.c.)	8.40 (III)	6.20 (III)	9.80 (o.c.)	6.30 (III)	4.90 (II)	3.30 (o.c.)
13	PO_4^{3-} diss. [$\text{mg PO}_4\cdot\text{dm}^{-3}$]	0.50 (III)	0.37 (II)	0.59 (III)	0.54 (III)	0.70 (III)	0.31 (II)	0.21 (II)
14	P_{tot} [$\text{mg P}\cdot\text{dm}^{-3}$]	0.33 (II)	0.45 (III)	0.38 (II)	0.49 (III)	0.81 (IV)	0.74 (IV)	0.23 (II)
Indices classified acid-bases and redox status								
15	pH [pH units]	6.86 (I)	7.76 (I)	7.72 (I)	6.64 (I)	7.20 (I)	6.56 (I)	7.94 (I)
16	Eh [mV]	110 (o.c.)	375 (o.c.)	374 (o.c.)	203 (o.c.)	409 (o.c.)	218 (o.c.)	233 (o.c.)
17	COD-Mn [$\text{mg O}_2\cdot\text{dm}^{-3}$]	28.5 (V)	25.7 (V)	23.5 (IV)	29.5 (V)	24.7 (IV)	27.7 (V)	18.3 (IV)
18	COD-Cr [$\text{mg O}_2\cdot\text{dm}^{-3}$]	243.7 (V)	158.1 (V)	158.7 (V)	220.0 (V)	120.2 (V)	77.7 (V)	-
19	O_2 diss. [$\text{mg O}_2\cdot\text{dm}^{-3}$]	0.0 (V)	9.1 (I)	6.7 (I)	0.0 (V)	6.7 (I)	2.5 (V)	3.2 (V)
20	Saturation by O_2 *** [%]	0.0 (o.c.)	93.2 (o.c.)	71.4 (o.c.)	0.0 (o.c.)	63.4 (o.c.)	22.7 (o.c.)	28.4 (o.c.)

(I)...(V) and (o.c.) - water quality class and waters not included (o.c. - over classification) after the Decree (2004) respectively

Explanations:

*) Mean value of sampling on: 05.2002; 03.06.2003; 24.10.2003; 28.05.2004; 24.09.2004

**) Near Jarzebowo Village - mean values of sampling from two soil stations on 24.09.2004 (sampling from two soil stations)

***) Calculated as: $\frac{\text{measured concentration of O}_2}{\text{saturated concentration of O}_2 \text{ in pure water}} \cdot 100\%$

Judging by the conductivity values as well as chloride and sulphate(VI) concentrations, all the examined waters showed considerable mineralization. Soil waters from the Island Karsiborska Kepa showed the highest salinity, chloride concentration reached ca $2.4 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ while the total sum of ionic macrocomponents (total salinity) was ca $4.0 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$, hence it was a lower level of mineralization than measured at present in the seawater of the Pomeranian Bay in the backflows into the Szczecin Lagoon [16].

As regards surface waters, the highest salinity was measured in samples from the Island Chrzaszczewska, with chloride concentrations reaching $5.0 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ and total salinity up to $8.0 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$. This high salinity of water in inundations in the Island Chrzaszczewska, exceeding the mean salinity of seawater in the Pomeranian Bay [16] gives evidence that the inundations were supplied by waters seeping from deeper soil layers. Seepages of salty Cretaceous and Jurassic waters (chloride concentration up to $10.0 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$) into Quaternary level appear in the region of Kamień Pomorski [17, 18]. The lowest salinity was found in soil waters from Jarzebowo location in the Wolin Island (ca $1.15 \text{ g Cl}^- \cdot \text{dm}^{-3}$ and total ca $2.0 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$). The lowest salinity in surface waters was found in irrigation ditches in the Island Karsiborska Kepa (ca $1.30 \text{ g Cl}^- \cdot \text{dm}^{-3}$ and total ca $2.2 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$). It was salinity very much alike the one in the straits of the Old Swina and Dziwna rivers, indicating their seeping into or flooding over the respective study fields.

Basing on SEC and chloride concentrations, the examined waters were classified in the V water quality class, and SO_4^{2-} and Mg^{2+} levels resulted in IV quality class assessment. High concentrations of SO_4^{2-} and Mg^{2+} are indicative of the marine origin of these macrocomponents. This marine origin seems to be proved also by the quantitative relations between the mineral components of the examined waters, though they are slightly different from those in seawater of the Pomeranian Bay, but this fact can be easily explained by the influence of soil sorptive complexes [19].

Regarding nitrogen and phosphorus pools in the studied waters, the concentrations of respective compounds were relatively high, resulting in the classification of II-III water quality class with respect to NH_4^+ and TN as well as PO_4^{3-} and TP. Nutrient concentrations in the examined waters were of the order of nutrient levels found in the peatbogs adjacent to the Szczecin Lagoon [20, 21].

The analyzed soil waters were usually acidified ($6.5 < \text{pH} < 7.0$) and showed low Eh, ca 110 mV in the Island Karsiborska Kepa, ca 200 mV in the Island Chrzaszczewska and ca 230 mV close to Jarzebowo in the Wolin Island. These soil waters did not contain oxygen (from Karsiborska Kepa and Chrzaszczewska islands) or had very low oxygen content (Jarzebowo in the Wolin Island). This fact was indicative of the ongoing processes of organic matter mineralization (acidification) with the use of different from oxygen oxygenating agents [19]. These waters contained considerable amounts of dissolved organic matter (COD-Cr over $200 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$), with significant contribution of the easily oxidizable organic matter (COD-Mn ca $30 \text{ mg O}_2 \cdot \text{dm}^{-3}$ in waters from the Karsiborska Kepa and Chrzaszczewska islands, and ca $20 \text{ mg O}_2 \cdot \text{dm}^{-3}$ in waters from

the Jarzebowo locality in the Wolin Island). Redox potential of the studied waters was clearly influenced by iron [22].

The pH of surface waters was usually >7.0 and Eh values fell in the range 375÷400 mV. It was solely water from the inundation in the Chrzaszczewska Island, strongly affected by salty groundwater seepage, that showed pH <7.0 and Eh ca 220 mV.

Oxygen concentrations in surface waters, except for the inundation in the Chrzaszczewska Island, were relatively high and the corresponding saturation values, calculated against saturation of pure water at the same temperature, were also elevated. Taking into account considerable mineralization of the analyzed waters, in which the solubility equilibrium of oxygen was decidedly lower than in pure water, their observed oxygen content indicated good oxygenation and even oversaturation with oxygen, suggesting that intensive assimilation processes were active in these waters.

Surface waters contained considerable amounts of dissolved organic matter (in samples from the Karsiborska Kepa COD-Cr was ca 160 mg O₂ dm⁻³, in Chrzaszczewska Island - ca 120 mg O₂ · dm⁻³, with COD-Mn ca 25 mg O₂ · dm⁻³ in both cases), though smaller than measured in the soil waters, with the exception of water from the inundation in the Chrzaszczewska Island which showed characteristics similar to soil waters. The values of COD-Cr and COD-Mn together with oxygen concentration were indicative of effective organic matter oxidation processes ongoing in the examined surface waters.

The redox potential of the analyzed waters was apparently influenced by the ionic pair NO₃⁻ / NH₄⁺ [22], as indicated by relatively high concentrations of both ions in these waters.

Soils and their properties

The results of pedologic studies and laboratory analyses of the soils (Tab. 2) revealed morphologic characteristics and properties of the soils in the study fields. The studies showed the Island Karsiborska Kepa as a special area with majority of alluvial soils [23], formed due to the interaction of riverine and marine waters. The soils are composed of sandy sediments, frequently layered, with labile and often powdery sand in which gleying is increasing down the soil profile. These sandy sediments are covered with a layer of silt and alluvion (their thickness is not exceeding 20 cm) rich in organic matter (9.7÷51.0%). In the Island Karsiborska Kepa, hydrogenic silty-marsh soils occur besides the alluvial ones (up to 71% of organic matter), on the layer of sandy mineral sediments.

In the remaining study areas (Chrzaszczewska Island, Jarzebowo locality, Wlodarka), the dominant soils are the hydrogenic peat-silt-marsh ones or peat-silty ones (Tab. 2). These soils are built of low peat (in the case of Chrzaszczewska Island - reed low peat). The common feature of these sediments is considerable content of silt in their surface layer, at times down to 40 cm thickness.

The acidity of organic soils was usually <7.0 , and incidentally it happened to be highly acidic (pH_{KCl} = 4.3÷5.6), however the alluvial soils of the Karsiborska Kepa revealed much stronger acidification, especially in the deeper layers, where the lowest measured pH reached 2.3. This high acidification was determined in both organic peat mass and in the sandy, strongly gleyed, alluvial layers. Prac [24] also pointed out to the fact of strong natural acidification of soils in the Polish coastal areas during studies of

soil salinity and ionic composition of ground and surface waters. Despite the strong acidification of the soils, the determined C:N ratio was on average from 12.4:1 to 14.4:1.

Table 2

Chemical properties of surface layer (0÷20 cm) of organic soil in areas with halophyte plants exploited as grassland

Chemical properties of soils		Depth [cm]	Halophilous areas							
			Karsiborska Kepa Island		Chrzaszczewska Island		Dziwna river valley		Rega river valley	
			Soil sub-type							
			Peat-muck, mud-muck, marsh alluvial soils		Peat-mud		Peat-mud-muck		Peat-mud-muck, mineral-mud-muck	
		Average	Minimum-maximum	Average	Minimum-maximum	Average	Minimum-maximum	Average	Minimum-maximum	
Organic matter [%]	0÷25* 25÷50	43.4 18.8	9.7÷71.0 1.6÷44.6	24.1 15.0	12.7÷38.3 10.4÷20.3	37.2 62.7	17.3÷75.3 47.7÷86.2	40.6 23.3	28.7÷60.1 3.8÷57.8	
pH _{KCl}	0÷25 25÷50		3.6÷5.3 2.5÷5.0		4.3÷5.6 4.7÷5.7		5.2÷5.4 4.3÷5.5		4.8÷5.3 5.1÷6.3	
C:N	0÷25 25÷50	13.2 14.4	11.3÷15.5 12.7÷16.3	12.8 12.9	10.4÷15.7 9.7÷15.0	13.0 12.8	11.5÷14.6 12.4÷13.3	12.4 13.9	11.8÷13.0 12.9÷15.0	
Available forms [mg · kg ⁻¹]	K	0÷25	355	96÷612	36.2	2.2÷58	187.1	51.8÷383.0	77.7	42.4÷146.7
		25÷50	116	14÷366	35.7	2.6÷58	80.3	48.0÷167.6	49.7	25.5÷82.8
	P	0÷25	29.5	13.2÷54.4	10.5	3.5÷23.0	23.5	2.6÷39.6	67.5	13.2÷215.6
		25÷50	11.0	9.1÷14.0	4.4	1.8÷6.2	23.6	6.2÷145.2	29.5	8.8÷48.4
Mg	0÷25	1168	750÷1672	515	327÷606	1242	448÷2296	570	578÷648	
	25÷50	1012	100÷3090	594	476÷804	1341	928÷2032	416	99÷1152	
Na	0÷25	3247	850÷10050	1519	601÷3093	1280	720÷2110	n.o.	n.o.	
	25÷50	3774	150÷12130	1450	985÷1605	1664	912÷2418			
Salinity [g NaCl · dm ⁻³]	0÷25 25÷50	4.12 7.80	1.08÷11.96 1.70÷20.07	3.45 4.95	1.24÷6.60 2.26÷8.91	11.68 12.30	4.81÷25.72 4.80÷35.34	9.21 10.07	3.36÷14.64 1.54÷22.80	
Total forms [mg · kg ⁻¹ d.m.]	Na	0÷25	3.96	0.95÷12.90	1.67	0.90÷3.25	1.88	0.95÷3.56	2.53	1.16÷4.40
		25÷50	5.98	0.30÷14.40	4.29	1.40÷11.95	2.90	1.95÷4.04	2.07	1.10÷2.87
	K	0÷25	3.92	2.20÷6.50	3.31	0.63÷5.18	25.2	13.89÷50.98	19.2	9.21÷31.61
		25÷50	4.06	0.22÷5.25	3.16	0.80÷4.63	1.90	0.82÷3.26	20.7	5.00÷40.00
	P	0÷25	0.93	0.55÷1.36	0.53	0.15÷0.92	0.47	0.26÷0.68	0.75	0.51÷0.90
		25÷50	0.52	0.18÷0.68	0.33	0.11÷0.66	0.38	0.29÷0.55	0.43	0.31÷0.51
	Mg	0÷25	3.70	2.55÷6.07	3.41	0.70÷5.29	3.45	1.84÷5.24	2.40	1.87÷3.13
		25÷50	4.76	0.30÷7.13	4.51	4.09÷4.95	3.80	2.77÷4.38	2.70	1.51÷3.61
S	0÷30	21.1	4.3÷68.4	1.8	0.2÷2.1	8.0	3.3÷16.2	3.8	1.5÷6.1	
	30÷60	13.0	4.5÷26.8	3.6	0.9÷8.5	32.3	14.1÷57.7	3.4	0.5÷9.1	

* The thickness of soils in the Karsiborska Kepa Island is usually 0÷17 (20 cm)

n.o. - not determined

d.m. - dry matter

According to the criteria presented in the IUNG Guidelines [13] for organic soils classification, the examined soils were classified as having low or very low content of phosphorus and potassium. Though, an exception were the soils from the Karsiborska Kepa, in which high amount of potassium was found. Both phosphorus and potassium content were decreasing down the soil profiles. Contrary to low phosphorus and potassium contents in the analyzed soils, the concentration of Mg²⁺, extracted with 0.5 M HCl, was medium to very high. Similar levels of assimilable phosphorus,

potassium and magnesium was determined by [25], and the authors pointed out to low concentrations of these components in the meadow greenness growth.

The total content of phosphorus, potassium and magnesium (after extraction with a mixture of concentrated acids $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$) was typical of the hydrogenic soils with considerable contribution of silt (Tab. 2), characteristically occurring in the Pomeranian region of Szczecin. The data presented in Table 2 point out to rather low contribution of 0.5 M HCl soluble fraction of phosphorus and potassium in their total contents in the soils; 1.2÷9.0% and 0.2÷9.1%, respectively. The contribution of 0.5 M HCl soluble magnesium in its total content fell within the range 13.2÷36.0%. The growth of halophyte flora is influenced by water salinity and also by soil salt content. The highest concentrations of sodium (labile and total) were determined in surface soil layers in the Island Karsiborska Kepa, lower in the soils from the Chrzaszczewska Island and the minimal ones were found in the soils from the Jarzebowo locality in the river Dziwna valley (Tab. 2). Labile sodium amounted up to 33.8÷90.0% of its total content in these soils. Also, an increasing tendency of sodium concentration with the soil depth was noted. Deeper soil layers showed higher salinity as well. As regards the soils from the Island Karsiborska Kepa, [6, 26] pointed out to the fact that sodium concentration along the soil profile increased parallel to organic matter content. The deep, peat layers of these soils, which contained considerable amounts of organic matter, showed salinity of the order of $31.5 \text{ g NaCl} \cdot \text{dm}^{-3}$. In the case of the soils from the river Rega valley, in the low peat (>80% of organic matter), salt content was within the range $33.8 \div 44.9 \text{ g NaCl} \cdot \text{dm}^{-3}$ at 200÷400 cm depth [27]. The presented data contradict the long living conviction concerning the organic soils under grassland areas in the western coastal areas in Poland that their low salinity is unfavorable for halophyte flora development. This situation is observed solely in the surficial 0÷25 (30) cm soil layer, where the meadow plants and halophyte roots are found. Studies by [28] indicated that sodium chloride concentration of about $5 \div 10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ in the soil is close to optimal for halophyte *Puccinella distans*, while its concentration exceeding $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ disables rooting of the meadow greenness.

The examined soils showed also high content of total sulphur, ie extracted with the mixture of concentrated acids. The values presented in Table 2, reaching up to $68.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ at some study fields, are indicative of considerable pollution of these soils with sulphur, taking into account limit values suggested by [29]. This issue was explained by [11] and [24] who pointed out that groundwaters of chloride-sodium character could contain significant amounts of SO_4^{2-} anions, this could, under certain circumstance, result in accumulation of sulphides in these waters, mainly in the form of pyrite. Further transformation of sulphides in chemical-microbiological processes could lead to strong acidification of the soil and formation of sulphide soils. Such soils occur in the coastal areas around Mrzezyno, especially in close vicinity of acidic sulphate soils [11].

Agricultural exploitation of meadows and greenlands with halophyte flora

Besides the natural conditions of the habitat, concerning the optimal soil humidity in the growing season, chemical composition of water and soil (including salinity level), the occurrence of halophytes is strongly dependent on agricultural exploitation of the ground. The conducted studies provided evidence that the protection of halophyte

communities requires continuous inflow of salty waters and extensive agricultural exploitation of meadows. A minimal requirement of a single mowing per year prevents or weakens the succession of reed (*Phragmites australis*), which delimits or supplants halophyte species from the greenness growth. The recommended method of active protection is pasture or mowing-pasture exploitation with horses, cattle and sheep. Such active protection is facilitated nowadays by EU donations. Both agricultural systems became more intensive in recent years and are well observed in the study fields (Figs. 2 and 3).



Fig. 2. Meadows and pastures extensively exploited in the Island Karsiborska Kepa



Fig. 3. Meadows and pastures extensively exploited in the valley of the river Dziwna close to Jarzebowo

Conclusions

The occurrence of halophyte communities in the meadow greenness in the Polish western coastal areas of the Baltic Sea results from the fact that these pastures are situated in lowland locations, the ground- and surface waters are salty, their occurrence is

also facilitated by soil properties and pasture or mowed-pasture type of agricultural exploitation.

1. In the studied areas, pastures containing halophyte flora occur on alluvial soils (formed as a result of the marine and riverine water influence) and on hydrogenic soils, mainly peat-silt-marshy.
2. Soil waters and surface waters from the spots with halophyte flora showed atypical high total salinity, $2.0\div 8.0 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ (V water quality class) caused by seeping seawater and frequently (Chrzaszczewska Island) by salt water (salinity ca $18 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$) seepages from deeper soil layers, which contained nutrients (II and III water quality classes) and organic matter (V water quality class) at levels typical of the soil waters and drained waters (ditches and inundations) in peatbogs surrounding the Szczecin Lagoon.
3. The examined soils showed the following properties in the surface (0÷25 cm) layer: acidic pH, high content of organic matter (>20%), favorable C:N, low content of 0.5 M HCl soluble phosphorus and potassium (the soils in the Karsiborska Kępa Island showed high content of those elements) and high content of magnesium. The concentration of sodium, extracted with 0.5 M HCl, was $1280\div 3267 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, on average, and increased downwards along the soil profile. Soil water salinity was $3.45\div 11.68 \text{ g NaCl} \cdot \text{dm}^{-3}$, on average.
4. Agricultural exploitation of the examined areas in the form of pastures or mowed-pastures is an active protection method of the halophyte communities. Because of the origin of these areas, their stratigraphy, plant diversity (especially halophyte flora), as well as their function as bird refuge, they form meadow representations of high agricultural and natural values.

References

- [1] Piotrowska H.: *Geobotanic conditions in the islands Wolin and south-eastern Uznam*. Monog. Bot., 1966, **22**, 156 (in Polish).
- [2] Piotrowska H.: *Marine coastal halophyte communities and their protection problems*. Zakład Ochrony Przyrody PAN, Ochr. Przynr., 1974, **39**, 7-60 (in Polish).
- [3] Czekañska M.: *Mouth section of the river Oder*, ed. A. Grodka et al. Inst. Zachodni, Poznań 1948, 156-178 (in Polish).
- [4] Linke A.: *Protection of flora and fauna of the Kamieñ Pomorski and its surroundings*. Miesięcznik Pomorza Zachodniego, Szczecin 1958, **4-5(7-8)**, 90-120 (in Polish).
- [5] Sągin P., Fałtynowicz W. and Markowski R.: *Reverse delta of the river Świna (from Zielonka hill)*. Przewodnik Sesji Terenowej 51 Zjazdu PTB. 1998, 53-56 (in Polish).
- [6] Niedźwiecki E., Protasowicki M., Wojcieszczuk T. and Malinowski R.: *The soils of the Karsiborska Kępa Island within the Świna Reverse delta*. Fol. Univ. Agric. Stetin., 1999, 203, Agricultura (80), 51-57.
- [7] Niedźwiecki E., Protasowicki M., Poleszczuk G. and Meller E.: *Properties of organic soils in the Chrzaszczewska Island under the influence of salty waters*. Acta Agrophys., 2003, **1(2)**, 279-285 (in Polish).
- [8] Grinn-Gofroń A. and Bosiacka B.: *Threats to halophyte communities along the western coast of Poland*. [In:] M. Ciaciura and J. Girjatowicz (ed.): Peace with God and the whole Creation. Ed. Promocyjne „Albatros”, Szczecin 2001, 301-309 (in Polish).
- [9] Dobracka E.: *Explanation to the detailed geological chart of Poland*. PIG, Warszawa 1992 (in Polish).
- [10] Dobracki R.: *Geological map of the Polish coast of the Baltic Sea - section Niechorze-Kotobrzeg*. Post. Nauk PIG, 1995, **51(3)**, 113-114.
- [11] Prac J. and Kwasowski W.: *Characterisation of the acidic sulphate soils in the Mrzeżyno region*. Roczn. Glebozn., 2001, **52(1/2)**, 23-37 (in Polish).

- [12] Bosiacka B.: *Plant cover of the grassland areas in agricultural-environmental packets in the Western Pomeranian region of Poland*. [In:] Agricultural-environmental programme and its importance in nature protection in grassland areas in the Western Pomeranian region of Poland, condition in year 2006. Monography ed. J. Kaliciuk, Soft Vision, Szczecin, 2007, 35-38 (in Polish).
- [13] Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa: *Fertilization recommendations part I. Limiting values of macro and microelement contents in soils*. 1990, Seria P (44), Puławy, 26 pp. (in Polish).
- [14] Hermanowicz W., Dojlido J., Dożańska W., Koziarowski B. and Zerbe J.: *Physico-chemical examination of water and wastewater*. Ed. II. Arkady, Warszawa 1999, 556 pp. (in Polish).
- [15] *Decree of the Minister of Environment from 11.02.2004 regarding classification presentation of surface and ground waters, monitoring procedures and interpretation of results as well as presentation of the status of these waters*. DzU 2004. no. 32. pos. 284 (in Polish).
- [16] Poleszczuk G., Niedźwiecki E., Wolnomiejski N. and Bucior A.: *On Great Lagoon (Szczecin Lagoon) water salinity - once again*. Baltic Coast. Zone, 2005, **9**, 53-72.
- [17] Dobracki R.: *Surface waters in the region of Szczecin*. Aura, 1985, (5), 16-18 (in Polish).
- [18] Dobracka E., Dobracki R. and Matkowska Z.: *Explanation to the detailed geological chart of Poland, Part - Dziwnów (76), Part - Kamień Pomorski (115)*. Wyd. Geologiczne, Warszawa 1977, 110 pp. (in Polish).
- [19] Kowalik P.: *Protection of soil environment*. WN PWN, Warszawa 2001, 258 pp. (in Polish).
- [20] Jasnowski M.: *Studies and flora of the peatbogs in the Szczecin Pomeranian region*. Ed. STN, Szczecin 1962, 340 pp. (in Polish).
- [21] Borowiec S. and Zabłocki Z.: *Changes in concentrations of nitrogen and phosphorus compounds in basins and watercourses draining agricultural catchment areas in the Western Pomeranian region of Poland in 1975-1992*. Pollut. Environ. (Olsztyn), 1993, **3**, 31-35 (in Polish).
- [22] Kölling M.: *Vergleich verschiedener Methoden zur Bestimmung des Redoxpotentials natürlicher Wässer*. Meyniana, 1986, **38**, 1-19.
- [23] Systematics of soils in Poland: *Polskie Tow. Glebozn.*, Rocz. Glebozn., 1989, **40**(3/4), 190 pp. (in Polish).
- [24] Prac J.: *Properties of soils formed under the influence of salty groundwater in the Polish coastal areas of the Baltic Sea*. Wyd. SGGW-AR, Warszawa 1989, 92 pp. (in Polish).
- [25] Czyż H., Niedźwiecki E., Trzaskoś M. and Protasowicki M.: *Macro- and microelements content in the sward depending on soil chemical composition*. Fol. Univ. Agric. Stetin., 1999, 203, Agricultura (80), 73-76.
- [26] Niedźwiecki E., Protasowicki M., Czyż H., Wojcieszczuk T. and Malinowski R.: *Chemical properties of strongly acidic soils in the Island Karsiborska Kępa influenced by riverine-marine waters*. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 2002, **482**, 397-402 (in Polish).
- [27] Niedźwiecki E., Wojcieszczuk T., Malinowski R., Meller E. and Szewa E.: *Chemical properties of soils of the Rega valley in the vicinity of Władarka under the meadows vegetation with the participation of halophytes*. [In:] Salt grasslands and coastal meadows, ed. H. Czyż. AR, Szczecin 2006, 85-90.
- [28] Kozłowski S., Goliński P. and Zielewicz W.: *Phytochemical properties of sward plant elements of soline communities*. [In:] Salt grasslands and coastal meadows, ed. H. Czyż. AR, Szczecin 2006, 123-131.
- [29] Motowicka-Terelak T. and Terelak H.: *Sulphur in soils in Poland - status and threats*. PIOŚ, Bibl. Monit. Środ., 1998, 106 pp. (in Polish).

WARUNKI WODNO-GLEBOWE SPRZYJAJĄCE ROZWOJOWI HALOFITÓW W ZACHODNIEJ STREFIE PRZYBAŁTYCKIEJ POLSKI

Katedra Gleboznawstwa, Zachodniopomorski Uniwersytet Techniczny w Szczecinie

Katedra Toksykologii, Zachodniopomorski Uniwersytet Techniczny w Szczecinie

Katedra Chemii i Ochrony Środowiska Wodnego, Wydział Nauk Przyrodniczych, Uniwersytet Szczeciński

Abstrakt: Praca przedstawia wyniki uzyskane z badań 4 obiektów użytków zielonych za zbiorowiskami halofitów występującymi w obrębie Wyspy Karsiborskiej Kępy, Wyspy Chrząszczewskiej, doliny Dziwny k. miejscowości Jarzębowo i doliny Regi k. miejscowości Władarka. Określono właściwości chemiczne gleb

aluwialnych i torfowo-mułowo-murszowych (4 badane użytki zielone) oraz chemizm wód glebowych i powierzchniowych (3 badane użytki zielone), zwracając przy tym uwagę na sposób użytkowania terenu. W ogólnym ujęciu gleby te w powierzchniowej 0÷25 cm warstwie wykazują odczyn kwaśny, dużą zawartość materii organicznej (większej od 20%), korzystny stosunek C:N, dużą zawartość magnezu i małą zawartość fosforu i potasu rozpuszczalnego w kwasie solnym o stężeniu $0,5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (w przypadku potasu jedynie gleby Karsiborskiej Kępy wykazywały się dużą zawartością tego pierwiastka). Zawartość sodu rozpuszczalnego w kwasie solnym o stężeniu $0,5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ wynosiła średnio od 1280 do $3247 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ gleby i wzrastała z głębokością profilu, a zasolenie utrzymywało się średnio od 3,45 do $11,68 \text{ g NaCl} \cdot \text{dm}^{-3}$. Wody glebowe i powierzchniowe w miejscach występowania halofitów to wody o zwiększonej mineralizacji, których zasolenie ogólne wynosiło $2,0\div 8,0 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$ i było związane z napływami słonych wód morskich i niekiedy (Wyspa Chrząszczewska) z podsiąkaniem wody słonej (o stężeniu ok. $18 \text{ g soli} \cdot \text{dm}^{-3}$) z głębszych warstw ziemi, cechujące się znaczną zawartością mineralnych i organicznych związków azotu i fosforu, a także zawierające znaczne ilości rozpuszczonej materii organicznej (ChZT-Cr do $250 \text{ mg O}_2 \cdot \text{dm}^{-3}$), która, ulegając mineralizacji w warunkach beztlenowych w wodach glebowych, zakwaszała je nieznacznie ($6,50 < \text{pH} < 7,00$), przy statusie redoks redukującym (Eh rzędu ok. 110 mV), kształtowanym przez związki żelaza, zaś w wodach powierzchniowych - stosunkowo dobrze natlenionych o $\text{pH}: 7,0 < \text{pH} \leq 8,0$ (co świadczy o zachodzeniu w nich procesów asymilacyjnych), o statusie utleniającym (Eh rzędu 400 mV), kształtowanym przez mineralne związki azotowe (para redoksowa $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$). Na badanych użytkach zielonych dominuje system gospodarowania pastwiskowy bądź pastwiskowo-kośny sprzyjający ochronie halofitów.

Słowa kluczowe: zbiorowiska halofitów, warunki wodno-glebowe, użytkowanie terenu

Teresa KORNIŁOWICZ-KOWALSKA^{*1} and Ignacy KITOWSKI^{**}

**DIVERSITY OF FUNGI IN NESTS AND PELLETS
OF MONTAGU'S HARRIER (*Circus pygargus*)
FROM EASTERN POLAND - IMPORTANCE OF CHEMICAL
AND ECOLOGICAL FACTORS**

**RÓŻNORODNOŚĆ GRZYBÓW W GNIAZDACH
I WYPLUWKACH BŁOTNIAKA ŁĄKOWEGO (*Circus pygargus*)
WYSTĘPUJĄCEGO WE WSCHODNIEJ POLSCE -
WPLYW CZYNNIKÓW CHEMICZNYCH I EKOLOGICZNYCH**

Abstract: General species amount, diversity and frequency of saprophytic and potentially pathogenic for homoiothermic organisms fungal species were studied in 7 nests and pellets of Montagu's Harrier (*Circus pygargus*) from pit bogs of Calcereous Marshes near Chelm (Poland). It was found that examined nests exhibited the environmental properties promoting a great diversity and frequency of *Micromycetes* communities. Mitosporic fungi were the most representative taxonomic groups among these communities. In ecophysiological aspect, the fungal communities found in nests belonged mostly to ubiquitous fungi (polyphags) including cellulolytic species, while keratinolytic species were less abundant. On the other side, both ubiquitous and keratinolytic species were isolated from pellets. Among characterized fungi, the most common were: *Trichoderma viride* in nests and *Doratomyces stemonites* in pellets. The two tested sources were found to be settled by typically saprophytic but also potentially pathogenic fungi, including *Aspergillus fumigatus*, *Scopulariopsis brevicaulis*, *Chrysosporium tropicum* and *Ch. georgii*. Water content, pH and temperature during nestling affected the profile of fungal species in nests and pellets, which was demonstrated by the presence of hydrophilic, alkalitolerant and thermotolerant species isolated from examined material.

Keywords: fungi, nests, pellets, Montagu's Harrier, chemical and ecological factors

Nests of wild birds are the specific niche of microscopic fungi which is rarely studied in ecological and chemical aspects [1]. Relatively precise information concerns keratinolytic species dermatophytes and *Chrysosporium* genus [2]. These fungi colonize

^{*} Mycological Laboratory, Department of Agricultural Microbiology, University of Life Sciences in Lublin, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin, Poland, email: teresa.kornilowicz@up.lublin.pl

^{**} Department of Nature Conservation, Institute of Biology, University of Maria Curie-Skłodowska, ul. Akademicka 19, 20-033 Lublin, Poland, email: ignacyk@autograf.pl

¹ Corresponding author: Teresa Kornilowicz-Kowalska, tel. +48 81 524 71 49, fax +48 81 524 71 06, email: teresa.kornilowicz@up.lublin.pl

and gradually degrade keratin-containing material in nests: feather, hair and food leftovers [1-3]. Some of these fungi, eg *Microsporium gypseum*, are opportunistic pathogens responsible for human and animal mycoses. Special danger, also for birds in light of increased mortality among nestling, arises from *Aspergillus fumigatus*, a main factor of lung aspergillosis [1, 4-6]. Pellets are even less studied in mycological aspects [1]. Pellets, produced by some groups of birds, as shrikes (*Lanidae*), corvids (*Corvidae*) and birds of prey, are small bullets containing remains of birds' prey, with lots of indigested leftovers of their quarry. The content of pellets depends of food preferences of particular raptor species; pellets serve also as a medium for fungal growth [7].

Montagu's Harrier nests and pellets, still hardly known as a niche of fungi, are interesting models for studies on diversity of fungal species. This bird is a diurnal raptor, highly specialized at hunting for rodents (*Rodentia*), which supplements his diet with insects (*Insecta*) and small passerine (*Passeriformes*) [8]. Montagu's Harrier nests on ground, which facilitates its access for researchers [9] and its pellet can be collected in nests and under perch sites for adults, localized near nests.

The aim of this work was the presentation of diversity of microscopic fungi found in nests and pellets of Montagu's Harrier (*Circus pygargus*) and analysis of some chemical and ecological factors determining occurrence of particular groups and species of fungi.

Study area and methods

Nests: content and structure

Material for research was isolated from 7 nests of Montagu's Harriers from Blota Serebryckie Marsh, collected in 2004 (nests I and II) and 2005 (nests III, IV, V, VI and VII) year. Blota Serebryckie Marsh is one of pit bogs of Calcareous Marshes near Chelm (Eastern Poland: 51°07'-51°11'N, 23°30'-23°42'E). The Marshes are lowland bogs lying in CaCO₃ beds. Bogs are dominated by *Cladietum marisci* community. Water table levels fluctuate in range: 40±10 cm in the spring and 20±0 cm in the summer. In studied area, Montagu's Harriers locate their nests exclusively in fields of saw sedge (*Cladium mariscus*) where pH of soil ranges between 7 and 8 [10].

Montagu's Harriers' nests in basal and external parts are constructed with twigs, usually birch's (*Betula* sp.) and willow's *Salix* sp. ones, common reed *Phragmites australis* stems of 10±50 cm in length and other plants, often including goosefoots (*Chenopodium* sp.) and common broom (*Sarothamnus scoparius*). Nests lining is build from saw sedge leaves. Center of nests, where the birds lay eggs, is stuffed with delicate straw leaves and radicles, mixed with females' feathers. During incubation and early nestling period, the nest is rarely being rebuilt; its extension may happen only in case of water soaking. However, during late nestling period, the nest becomes to be developed and rebuilt. This process lasts until the young leaves the nest. Within this period, the content of organic substances in nest is enriched with new nest material, young's pellets, feces and leftovers of non-consumed food. The nest, at the moment of eggs-lying, is usually oval with 39 cm in diameter (22±51 cm), with internal lining sphere of 10±15 cm in diameter (unpublished data). Within the time, the nest, containing feathers, pellets and other materials, becomes pressed by weight of growing young. For the ethic reasons, nests for studies were collected after fledging of chicks, at the end of July 2004 and 2005.

Pellets

Pellets for analysis, containing undigested leftovers of food, were collected from under perch sites (bushes, dead trees, pales or other elements sticking out over the fields of saw sedge, where the birds clean their plumage, rest or look out for a danger. Montagu's Harriers pellets are composed mainly of hair and bones of rodents, usually common voles (*Microtus arvalis*), feathers of passerines and leftovers of insects, mainly great green bush cricket (*Tettigonia viridissima*) and beetles (*Coleoptera*) armours. For the studies, 5 Montagu's Harrier pellets were collected from perches localized near the nests within the nestling period.

Estimation of frequency and identification of fungal species

Nest material was isolated from the lining (inner layer), side part (outer layer) and the part in between (middle layer) [11]. In case of one of the studied nests, with hardly distinguished layers, the material for studies was taken from the whole nest. Samples for experiments (100±200 g) were collected from randomly chosen fragments of nests, taken together and homogenized. Samples from pellets were collected in analogous mode.

Fungi were isolated by plate dilution method using Martin medium (1951), containing (g in dm⁻³ H₂O): glucose 10.0, pepton 5.0, KH₂PO₄ 1.0, MgSO₄·7H₂O 0.5, agar 20.0, bengal rose 33.3 mg, streptomycin 0.03%, chlorotetracycline 0.002% and Sabouraud medium [13] containing (g · dm⁻³ H₂O): glucose 40.0, pepton 10.0, agar 20.0, streptomycin 0.03%, chlorotetracycline 0.002%. Choice of isolation media was determined by kind of nestling material, its chemical composition and anticipated ecological status of fungi colonizing the nests. Martin medium is used for isolation of saprophytic fungi colonizing mainly plant leftovers in different environments and was developed for identification of soil fungi [12]. Sabouraud medium is commonly applied for isolation of pathogenic or potentially pathogenic (for people and animals) fungi [13], indirectly transferred by animal substrates. All fungal cultures, in triplicate, were incubated at 26°C.

Frequency of fungi was estimated in average values of cfu g⁻¹ of dry mass of nest material. Dry mass was estimated by drying method at 105°C. Pure fungal cultures were transferred to glucose-potato medium (PDA [g · dm⁻³): glucose 20.0, agar 20.0, potato extract 1 dm³ or Sabouraud medium. Identification of isolates was performed on a base of macromorphological features observations (colonies) and micromorphological observations of microcultures, using systematic pictorial dictionaries: Domsch et al [14], Kwaśna et al [15], van Oorschot [16].

Estimation of humidity and chemical composition of nests

Water content in nests was determined using drying method at 105°C. Chemical analysis included estimation of: pH and total carbon and total sulphur contents, using high-temperature firing in oxygen and temperature conductivity methods, organic carbon content by Tiurin method, total nitrogen and total phosphorus contents by flow spectrophotometry method, potassium content by flame emission spectrometry and Ca and Mg content by atomic absorption spectrometry method.

Evaluation of results

Results of fungal groups frequency estimation were analyzed by the statistic method, counting the standard deviations (SD). Analysis of diversity of fungal communities (on a base of fungal isolates frequency representing particular species in analyzed groups) was performed on a base of Simpson factor [17], calculated according to a formula:

$$D = 1 - \sum_{i=1}^S p_i^2$$

where p_i is a percentage of isolated species from "i" species in particular fungal community (the nests or one of its layers) and is equal to a ratio of amount of species isolates to amount of isolates of all species on particular isolation medium. Values of Simpson factor ranged between 1 and $1/S$, where S is an amount of all species in community [17].

Species domination [18] was determined using a formula:

$$D = 100 \cdot (S_a : S)$$

where S_a is a sum of isolates from species "a" and S is a sum of isolates from tested group. Systemic groups domination on fungal class level was determined analogically, according to the same formula, where S_a is a sum of isolates from systemic unit isolated on particular medium and S is a sum of isolates of all fungi isolated on this medium. For estimation of frequency of fungal species and taxonomic groups, the following scale was accepted:

sporadically	<1%
rarely	1÷10%
often	10÷25%
very often (abundantly)	26÷50%
massively	>50%

Results

1. Chemical content, pH and humidity of Montagu's Harriers nests

Nests of Montagu's Harrier contained high but diverse amounts of basal nutritious components necessary for fungal growth, mainly organic carbon and nitrogen. pH of nests was close to neutral or slightly alkaline values which was probably due to a high Ca content in the soil and also to presence of nitrogen (in a form of NH_4^+ groups, resulting from degradation of keratin from hair and feathers) and uric acid-containing birds' feces.

Chemical content of Montagu's Harrier nests

Table 1

Nest number	Content [% of d.m.]							
	C total	C organic	N total	S total	P	K	Ca	Mg
I	43.15	41.46	2.19	0.25	0.21	0.14	1.27	0.055
II	45.77	42.43	1.44	0.19	0.09	0.11	0.85	0.040
III	45.97	44.14	2.50	0.36	0.19	0.20	0.76	0.046
IV	26.86	25.74	1.31	0.16	0.08	0.22	1.95	0.144
V	44.42	41.60	1.52	0.19	0.14	0.19	1.08	0.059
VI	44.43	41.14	2.72	0.42	0.40	0.25	1.35	0.080

Humidity was high but also diverse and was the highest for nest V and the lowest for nest III. In some nests (IV) humidity of lining was higher than that observed for other layers (Tabs. 1, 2).

Table 2

Water content and pH in particular layers in Montagu's Harrier nests

Nest number	Layer	pH		Humidity [%]
		H ₂ O	KCl	
III	1	-	-	25.12
	2	-	-	25.17
	3	-	-	23.26
IV	1	-	-	40.15
	2	-	-	63.11
	3	-	-	45.68
V	1	7.60	7.50	70.65
	2	7.36	7.47	70.69
	3	7.33	7.40	70.61
VI	1	7.26	7.35	71.72
	2	7.70	7.60	70.58
	3	7.58	7.60	68.62
VII	-	6.70	7.10	52.50

Explanations: 1, 2, 3 - nest layer; 1 - outside, 2 - middle, 3 - lining; „-“ not studied

2. General frequency of fungi in Montagu's Harrier nests

General frequency of fungal isolates in Montagu's Harrier nests was high. In case of saprophytic fungi isolated on Martin medium it ranged between $6.0 \cdot 10^5 \div 1.2 \cdot 10^7$ cfu g⁻¹ dry mass (Fig. 1A). Isolation of saprophytic fungi from nests collected in 2004 was impossible, because of the massive overgrowth of isolating plates by *Mucorales*; therefore, in Figure 1A only the data concerning the nests collected in 2005 were presented. Frequency of fungi isolated on Sabouraud medium, favoring the growth of pathogenic species, was lower: $7.0 \cdot 10^4 \div 1.1 \cdot 10^6$ cfu g⁻¹ dry mass (Fig. 1B).

Significant diversities in frequency of saprophytic and pathogenic fungal groups for particular nests were found. These parameters were determined by nests humidity. Nests of higher humidity (V, VI and VII) were characterized by higher content of saprophytic species than those of lower humidity (III and also VI) (Tab. 2, Fig. 1A). Fungi were isolated on Sabouraud medium with the highest frequency for nest II and the lowest for nest III (Tab. 2, Fig. 1B).

Frequency of fungal species within the particular nest spaces was also distinct and the most significant in most humid nests: V and VI. In nest V, the most fungal species was observed within the lining in comparison with outer layer. In nest VI the observation was the opposite (Fig. 1A, B). In one case (nest IV) the most numerous fungi were observed for middle layer, when compared with others (Fig. 1B).

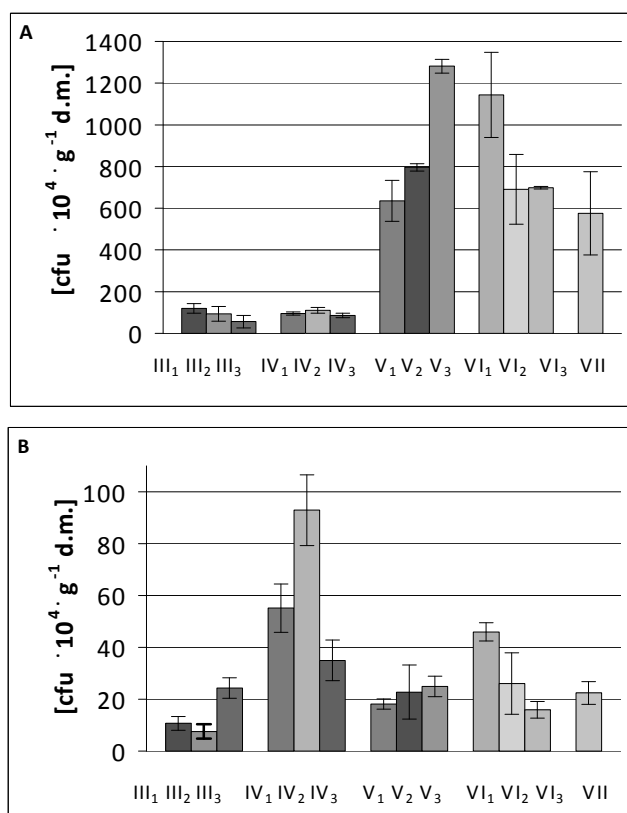


Fig. 1. General frequency of fungi isolated from Montagu's Harrier nests collected in 2005: A - Martin medium, B - Sabouraud medium. Explanation as in Table 2

3. Species and ecological diversity of fungi settling the nests of Montagu's Harrier

Among 7 tested nests of Montagu's Harrier (2 collected in 2004 and 5 in 2005) 2070 fungal species were isolated. They were identified as belonging to 28 genera and 50 species: 45 isolated were classified to genera only while 110 (in majority yeasts and dark pigmented and nonsporulating moulds) were not classified (Tabs. 3-5). On average, 8 species of fungi were found per 1 nest. Considering the amount of isolated species, two groups of fungi, isolated either on Martin or Sabouraud medium, were similar and contained 28 or 29 species, relatively; however, they differed in species content. The difference was reflected in, eg, the lack of *Trichoderma* spp. and sporadically appearing *Chaetomium* species within the fungi growing on Sabouraud medium. The differences concerned also the frequency of particular populations. It was found that 81% fungi growing on Martin medium and 66% fungi growing on Sabouraud medium represented mitospic fungi (*Fungi imperfecti*). 28% and 33% of isolated species, relatively, were classified to Zygomycetes (*Absidia*, *Mucor*, *Zygorhynchus*). *Ascomycetes* (*Chaetomium*) represented approximately 1% of all fungal isolates (Tabs. 3-5).

Table 3

Fungal species isolated from Montagu's Harrier nests and pellets (2004 and 2005)

No.	Species of fungus	Martin medium	Sabouraud medium
1	<i>Absidia glauca</i> Hagem	-	+
2	<i>Acremonium kiliense</i> Grütz	+	+
3	<i>A. strictum</i> W. Gams	+	-
4	<i>Actinomicor elegans</i> (Eidam) C.R. Benjamin & Hesseltine	+	-
5	<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler	+	+
6	<i>Aspergillus flavus</i> * Link ex Gray	+	-
7	<i>Aspergillus fumigatus</i> Fres.	+	-
8	<i>Beauveria bassiana</i> (Bals.) Vuill.	-	+
9	<i>Botritis cinerea</i> Pers. Ex Nocca & Balb.	+	-
10	<i>Botryotrichum piluliferum</i> Sacc.& March.	-	+
11	<i>Candida</i> sp.	-	+
12	<i>Ch. elatum</i> Kunze ex Steud.	+	-
13	<i>Ch. funicola</i> Cooke	+	-
14	<i>Ch. globosum</i> Kunze ex. Steud.	+	+
15	<i>Chrysosporium georgii</i> * (Varsavski & Ajello) van Oorschot	+	-
16	<i>Ch. merdarium</i> * (Link ex Gray) Carm.	+	-
17	<i>Ch. queenslandicum</i> * Apis & Ress	+	+
18	<i>Ch. pannicola</i> (Corda) van Oorschot & Stalpers	-	+
19	<i>Chrysosporium pannorum</i> (Link) Hughes	+	+
20	<i>Ch. tropicum</i> Carmichael	+	+
21	<i>Chrysosporium anam. Arthroderma curreyi</i> Berk	+	+
22	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vries	+	+
23	<i>Cl. sphaerospermum</i> Penz.	+	-
24	<i>Cylindrocarpon destructans</i> (Zinssm.) Scholten	-	+
25	<i>Doratomyces microsporus</i> (Sacc.) Morton & G. Sm.	-	+
26	<i>D. stemonites</i> (Pers. Ex Steud) Morton & G. Sm.	+	+
27	<i>Emmonsia parva</i> (Emmons & Ashburn) Cif. & Montemartini	-	+
28	<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht. emend. Sny & Hans	-	+
29	<i>F. sporotrichioides</i> Sherb.	-	+
30	<i>Geotrichum candidum</i> Link ex Leman	-	+
31	<i>Gliocladium roseum</i> Bain.	-	+
32	<i>Mortierella biramosa</i> * van Tiegh.	+	-
33	<i>Mucor circinelloides</i> van Tiegh.	+	-
34	<i>M. hiemalis</i> Wehmer	+	+
35	<i>M. mucedo</i> Mich. Ex St.-Am.	-	+
36	<i>M. pusillus</i> Lindt	+	-
37	<i>M. racemosus</i> Fres.	+	-
38	<i>M. spinosus</i> van Tiegh.	+	+
39	<i>M. ramonissimus</i> Samutsevitch	+	+
40	<i>Myrothecium roridum</i> Tode ex Steudel	-	+
41	<i>Paecilomyces marquandii</i> (Masse) Hughes	-	+

42	<i>P. lilacinus*</i> (Thom) Samson	-	+
43	<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom	-	+
44	<i>P. expansum</i> Link ex Gray	-	+
45	<i>P. janthinellum*</i> Biourge	+	-
46	<i>P. nigricans*</i> Bain ex Thom	+	-
47	<i>P. verrucosum</i> Dierckx	+	-
48	<i>Phoma exiqua</i> Desm.	+	+
49	<i>P. herbarum</i> Westend.	-	+
50	<i>Scedosporium apiospermum*</i> (Sacc.) Sacc.ex Castell. & Chalmes	+	-
51	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (Delacr) Vuill.	-	+
52	<i>Torula herbarum</i> Pers. ex Gray	-	+
53	<i>Trichoderma koningii</i> Oudem	+	-
54	<i>T. viride</i> Pers. ex Gray	+	-
55	<i>Trichothecium roseum</i> (Pers.) Link ex Gray	+	+
56	<i>Trichosporon beigeli</i> (Kuchenn. Rabenh.) Vuill.	+	+
57	<i>Verticillium lecanii</i> (Zimm.) Viegas	+	+
58	<i>Zygorrhynchus moelleri</i> Vuill.	+	-

* - isolated only from pellets

Analysis of diversity of fungal communities isolated from nests, taking into account frequency of fungi representing the species content of studied fungal groups (isolated on Martin and Sabouraud medium) was performed on a base of Simpson's coefficient (D) for 4 nests (III, VI, V, VI), collected in 2005. D values for fungi growing on Martin medium were higher than those for isolates on Sabouraud medium (Tab. 6). This fact was correlated with different quantitative proportions within particular fungal species in both studied groups, which was shown by the lack of fungal dominants on Sabouraud medium in comparison with Martin medium. The most common species within the fungal group isolated on Sabouraud medium reached only 15% of total species amount while on Martin medium - 25% (Tab. 6). Values of this parameter for fungal communities isolated from particular nests layers (lining, middle, outside) were similar, namely, they were lower for these growing on Sabouraud medium than on Martin medium (Tab. 7).

In ecological-chemical aspects of estimation of the species content for fungi colonizing the Montagu's Harrier nests, ubiquitous species (polyphags) growing on relatively accessible organic polymers: polysaccharides including cellulose, proteins (excepting keratin), lipids etc, were the most common. These fungi included *Acremonium*, *Aspergillus*, *Doratomyces*, *Penicillium*, *Scopulariopsis*, *Trichoderma*, *Trichothecium*, *Verticillum* populations (Tabs. 4 and 5). Among saprophytic fungi isolated on Martin medium, *Trichoderma koningii* dominated (24% of total isolated amount). *T. koningii* and *T. viride* made 34% of all isolates amount (Tab. 4). The most common species isolated on Sabouraud medium belonged to ubiquitous *Doratomyces stemonites* (15%) and *Chrysosporium pannorum* (13%). Sugar fungi, including yeast-like fungi (7%) apart of *Mucorales*, were found with high percentage (35%) on Sabouraud medium (Tab. 5).

Table 4

Frequency of isolation of particular fungal species from Montagu's Harrier nests (collected in 2005) on Martin medium

No.	Fungal species	III			IV			V			VI			VII			Total
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	
1	<i>Acremonium kiliense</i>	-	-	-	7	-	-	2	6	-	-	5	2	2	-	29	
2	<i>A. strictum</i>	-	-	1	-	-	2	-	-	-	-	3	3	5	6	17	
3	<i>Acremonium</i> sp.	-	-	-	-	-	3	2	2	-	3	1	5	-	11		
4	<i>Alternaria alternata</i>	-	-	-	5	-	6	3	3	4	2	-	-	-	25		
5	<i>Aspergillus fumigatus</i>	9*	-	11	-	5	16	-	-	-	-	-	-	-	41		
6	<i>Botrytis cinerea</i>	-	-	-	16	8	-	-	-	-	-	-	-	-	24		
7	<i>Chaetomium globosum</i>	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4		
8	<i>Chryso sporium pannorum</i>	-	-	-	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	12		
9	<i>Cladosporium cladosporioides</i>	1	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	3		
10	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1		
11	<i>Donatomyces stemonites</i>	5	2	-	-	11	3	15	8	9	7	8	-	11	79		
12	<i>Mucor circinelloides</i>	3	3	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9		
13	<i>Mucor hiemalis</i>	9	1	2	9	2	5	5	-	-	-	-	-	-	33		
14	<i>Mucor racemosus</i>	1	5	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11		
15	<i>Mucor spinosus</i>	1	-	-	7	4	3	-	-	-	-	-	-	-	15		
16	<i>Mucor</i> sp.	-	-	-	1	-	-	-	2	-	-	-	-	-	3		
17	<i>Penicillium verrucosum</i>	2	-	-	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8		
18	<i>Penicillium</i> sp.	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2		
19	<i>Phoma</i> sp.	-	-	-	3	8	-	-	-	22	-	-	-	-	33		
20	<i>Trichoderma koningii</i>	2	10	-	-	-	-	21	19	17	27	15	21	36	168		
21	<i>Trichoderma viride</i>	-	-	-	-	-	-	3	6	8	7	15	10	21	70		
22	<i>Verticillium lecanii</i>	-	-	-	-	-	-	10	14	-	22	8	12	-	66		
23	<i>Zygorrhynchus moelleri</i>	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11		
24	nonsporing dark pigmented	-	-	-	-	-	-	-	-	8	26	-	-	-	34		
	Total	44	21	14	69	50	36	65	60	70	99	55	50	76	709		
			79			155			195			204					

Explanations: III, IV, V, VI, VII - nest number; 1, 2, 3 - nest layer; 1 - outside, 2 - middle, 3 - lining; * isolates amounts

Table 6

Simpson coefficients (D) for 4 whole nests of Montagu's Harrier (*Circus pygargus*)

Nest number	Sabouraud medium	Martin medium
III	0.485	0.850
IV	0.535	0.909
V	0.787	0.830
VI	0.594	0.772
Total for III-VI	0.760	0.908
Pellets	0.575	0.639

Table 7

Simpson coefficients (D) for particular layers of Montagu's Harrier (*Circus pygargus*) nests

Nest layer	Sabouraud medium	Martin medium
outside	0.740*	0.909*
middle	0.661*	0.878*
lining	0.754*	0.865*

* average values for nests: III, IV, V, VI

Among fungal species isolated on both media, native cellulolytic (*Chaetomium* sp.) and native keratin-degrading species (*Chrysosporium pannicola*, *Ch. tropicum*) (Tabs. 4 and 5) were found, although with a low frequency. These highly nutritively specialized fungi are less abundant in their natural communities than ubiquitous species and are less efficient as saprophytic competitors. Therefore, isolation of these species requires more selective media and methods, as eg baiting method.

Mycobiota of Montagu's Harrier nests, aside of typical saprophytic strains as *Trichoderma* spp., *Gliocladium* spp., *Chaetomium* spp., included many potentially pathogenic species, classified to opportunistic pathogens, causing dermatomycoses or organ mycoses: *Aspergillus fumigatus*, *Acremonium kiliense*, *Candida* spp., *Chrysosporium* spp., *Emmonsia parva*, *Geotrichum candidum*, *Mucor* spp., *Scopulariopsis brevicaulis*, *Trichosporon beigeli*. Considering general frequency, the species mentioned above belonged to rarely or sporadically appearing ones; however, in some nests they were isolated very often. It concerned specially: *A. kiliense*, appearing in lining and middle layer of nest IV with frequencies 30% and 40%, respectively, *S. brevicaulis*, found in analogous layers in nest II with frequencies 35% and 40%, respectively, and especially *A. fumigatus*, with frequencies of 44% and 79% of all strains isolated from nests IV and III (Sabouraud medium) (Tab. 5). Mycotoxins-producing strains were represented by *Penicilium* spp., specially *P. verrucosum*, *A. fumigatus*, *Alternaria alternata*, *Fusarium* spp. (Tabs. 4 and 5). The last two species: *Alternaria* and *Fusarium*, but also *Botrytis cinerea*, *Cladosporium* spp., *Cylindrocarpon* spp., *Phoma* spp. represented fungi of potentially pathogenic properties (Tabs. 4 and 5). Montagu's Harrier nests were also colonized by fungi known as insecticidal and nematocidal: *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces marquandii*, *P. lilacinus*, *Verticillium lecani* (Tabs. 4 and 5) which, as well as chitin leftovers in pellets, reflected probably the presence of many insects and other invertebrates in nests.

4. Species content and diversity of fungi colonizing Montagu's Harrier pellets

751 fungal strains were isolated from 5 examined pellets (395 on Martin and 356 on Sabouraud medium). Collected material was classified to 22 species, although 32 isolated

strains, mainly dark pigmenting and nonsporing ones, remained not classified (Tab. 8). Fungi growing on Martin medium belonged to 18 species and these on Sabouraud medium - to 8, which corresponded, in calculation per one pellet, to 3.6 and 1.6 species, respectively. Considering all isolated species (on both media), fungal growth coefficient was equal to 4.4 species per one pellet. All isolated species (22) belonged to: anamorphic (mitosporic) fungi (77%; 17 species), *Ascomycetes* (represented by *Chaetomium*) (14%; 3 species) and *Zygomycetes* (9%; 2 species). *Doratomyces stemonites* was a dominating species - over 50% isolates on Martin medium and 60% on Sabouraud medium; codominating species were *Chrysosporium*, with frequencies of 38% and 26%, respectively. The most frequently isolated representatives of *Chrysosporium* were: *Ch. tropicum* (24% on Martin and 17% on Sabouraud medium) and *Ch. georgii* (17%, exclusively on Martin medium).

Table 8

Fungal species isolated from Montagu's Harrier (*Circus pygargus*) pellets

No.	Fungal species	Martin medium	Sabouraud medium	Total
1	<i>Actinomucor elegans</i>	6*	-	6
2	<i>Aspergillus flavus</i>	3	-	3
3	<i>Chaetomium elatum</i>	5	-	5
4	<i>Chaetomium funicola</i>	1	-	1
5	<i>Chaetomium globosum</i>	1	-	1
6	<i>Chrysosporium georgii</i>	50	-	50
7	<i>Ch.merdarium</i> var. <i>roseum</i>	1	-	1
8	<i>Ch. pannicola</i>	-	13	13
9	<i>Ch. pannorum</i>	1	-	1
10	<i>Ch. queenslandicum</i>	6	-	6
11	<i>Ch. tropicum</i>	92	61	153
12	<i>Chrysosporium</i> anam. <i>Arthroderma curreyi</i>	1	18	19
13	<i>Doratomyces stemonites</i>	199	213	412
14	<i>Mortierella biramosa</i>	4	-	4
15	<i>Paecilomyces marquandii</i>	-	15	15
16	<i>Penicillium lilacinus</i>	-	22	22
17	<i>Penicillium janthinellum</i>	1	-	1
18	<i>P. nigricans</i>	1	-	1
19	<i>Penicillium</i> sp.	1	1	2
20	<i>Scedosporium apiospermum</i>	1	-	1
21	<i>Trichosporon beigeli</i>	1	-	1
22	<i>Trichothecium roseum</i>	-	1	1
23	not identified yeasts	19	12	31
24	nonsporing dark pigmenting	1	-	1
	Total	395	356	751

* - isolates amount

In ecologically-physiological aspect, species colonizing the pellets were represented mainly by typically keratinolytic (*Chrysosporium georgii*, *Ch. merdarium*, *Ch. pannicola*, *Ch. queenslandicum*, *Chrysosporium* anam., *Arthroderma curreyi*) and ubiquitous (including *Chaetomium* spp. and *Trichothecium roseum*, highly specialized at cellulose degradation) fungi (Tab. 6). These two fungal groups appeared in following proportions: 38% or 54% (Martin medium) and 26% or 70% (Sabouraud medium).

Isolation of fungi from pellets was facilitated by very low frequency of *Mucorales*. The representatives of the last group belong to very quickly growing fungi, hindering or even making impossible the growth of slowly growing species (including keratinolytic ones) on isolating media. Sugar fungi (non-identified yeasts, *Candida* spp., *Trichosporon beigelii* and *Actinomucor elegans*), found in Montagu's Harrier pellets, were isolated using Martin and Sabouraud media with frequencies of 7% and 4%, respectively (Tab. 8). Among them, *Chrysosporium* spp., *Candida* spp., *Emmonsia parva*, *Trichosporon beigelii* and *Scedosporium apiospermum* belonged to opportunistic pathogens and *Aspergillus flavus*, *Paecilomyces* spp. and *Penicillium* spp. - to potentially toxinogenic ones.

Discussion

The results obtained during the course of performed studies lead to the conclusion that Montagu's Harrier nests are the microhabitat characterized by high frequency and species diversity of *Micromycetes*. Generally, amount of propagules found on Martin medium, reaching even up to 12 million cfu g⁻¹ of dry mass of nest material, corresponded to general amount of fungi in composts prepared of feather and plant leftovers [19]. However, these values exceeded average amounts of fungal species in soils, reaching 1÷10 · 10⁵ cfu g⁻¹ [20, 21]. High frequency of microscopic fungi in Montagu's Harrier nests resulted from accessibility and broad spectrum of organic carbon sources in nest material, continuous inflow of nitrogen-rich substrates (feather, prey's leftovers and feces), high content of other macroelements (P, K, S, Mg, Ca) and humidity close to optimal for fungal growth (50÷60%) [20, 22]. Even in nest of lower (23÷25%) humidity, frequency of fungal species exceeded 1 · 10⁶ cfu g⁻¹ which may be explained by high tolerance of fungi to drought, reflected in their low water-activity coefficient (a_w): 0.6÷0.91 [22, 23]. Hydrological parameters of peatbogs, characterized by high water table fluctuations, promoted such an adaptation of fungi.

Important ecological factor, affecting the frequency and fungal species affiliation, is a chemical content of nest material. More abundant populations of fungi isolated on Martin medium, in comparison with those isolated on Sabouraud medium, pointed on a fact that saprophytic fungi, dependent on plant organic material dominating in nests over animal-derived (feather, prey's leftovers, feces) organic substance, were a major group among all fungi isolated from nest material. Saprophytic fungi appearing in natural habitats, in contrast to bacteria [20], are basically adapted to biodegradation of plant biomaterial with a high C:N rate, as eg straw (C:N is 180:1; non-published data). Fungi specialized at degradation of animal-derived leftovers (of lower C:N rate; eg feather's C:N rate is 3:1) are less common [24]. This feature arises from fungal high requirement for organic carbon because 50% of carbon substrate in growth medium of these fungi is being built into their mycelium [20]. During the degradation of substrates of low C:N rate, the majority of organic carbon is being immobilized in the mycelium while the excess of nitrogen is being released to surrounding environment in a form of NH₃ [24]. Preferential conditions of growth for this fungal group, specially the fungi potentially pathogenic for people and animals, are provided by Sabouraud medium, containing less nitrogen than Martin medium.

Apart of general frequency, intensity of fungal growth in Montagu's Harrier nests was measured by amount of the species and frequency of their appearance. Material taken from 7 nests allowed for isolation of 50 *Micromycetes* species, representing mainly mitosporic fungi, with overall score of approx. 7 species isolated per one nest. These numbers suggest that the nests were colonized by numerous fungal species.

Simpson coefficients confirmed the diversity of fungal species in nests or their layers. The higher these values were, the lower was the quantitative diversification of populations representing particular organisms communities and vice versa [17]. It was found that, in contrast to general fungal species frequency, the species diversity was higher in case of fungi growing on Sabouraud medium (lower values of D coefficient) than on Martin medium. This is an indirect proof for higher quantitative diversification of *Micromycetes* populations colonizing the animal components of studied nests in comparison with the plant ones. It was therefore clear that Sabouraud medium did not allow to isolate any particular dominant between fungal species: only 2 often but not common species (*Doratomyces stemontes* and *Chrysosporium pannorum*) were found on this medium. However, the group growing on Martin medium showed the presence of highly dominating population, represented by *Trichoderma* spp., specially by *T. koningii*. *Trichoderma* was selected from studied materials due to its high affinity to cellulose-rich stems of Saw Sedge, main component of Montagu's Harrier nests. *Trichoderma* species were reported to be specialized at cellulose degradation [25]. Their presence in nests was also related to lignin presence [7]. *Trichoderma* is also highly tolerant to varying environmental conditions, especially to humidity [6, 26]. *Trichoderma* is a fungus which appears and grows intensively in humid soil and on wood [27]; moreover, it shows highly antagonistic properties [26, 28] facilitating quick colonization of growth medium.

Nutritious specialization at cellulose degradation concerned also the nests-colonizing fungi other than *Trichoderma koningii* and *T. viride*, namely *Doratomyces stemonites*, *D. microsporus*, *Chrysosporium pannorum*, *Trichothecium roseum* [6, 14, 29]. These fungi (except of *T. roseum*) were also classified by some authors [30-32] to keratinolytic species. Isolation media used in this work, however, do not favor the growth of *Cheatomium* - the most efficient, except of *Trichoderma*, cellulose-degrading *Micromycetes* species. Such a phenomenon resulted from weak abilities of this taxon representatives to saprophytic competition with fast-growing on Martin medium representatives of sugar and ubiquitous fungi. This species, however, was detected with a high frequency on cellulose-containing medium (data not published).

Relatively numerous colonizers of Montagu's Harrier nests belonged also to simple organic carbon-utilizing sources: *Mucor*, *Absidia* yeasts and ubiquitous fungi, preferring significantly humid environments: *Acremonium*, *Fusarium*. Also Hubalek [7] frequently isolated the species mentioned above from water birds nests.

Apart of substrate affinity and humidity, pH and temperature belong to important ecological factors determining species content of fungi colonizing Montagu's Harrier nests. Alkaline pH, significant environment humidity and high temperature of nest during the nestling period undoubtedly favored the growth of majority of *Penicillium* species. This genus colonizes mainly niches of low and moderate temperature and humidity, and its representatives are classified to psychrophilic and xerophilic fungi [23]. High temperatures during nestling period, however, favored the growth of thermophilic and thermotolerant species represented by *Aspergillus* (*A. fumigatus*). This species is

classified as a thermotolerant mesophile growing in a broad range of temperatures: 12–52°C [23] with an optimum at 37°C [33]. Its appearance is specially abundant in environments of raised (also temporarily) temperature, such as composts [34] and nests [7].

Absidia glauca and keratinolytic (as *Chrysosporium pannicola*) and proteolytic (as *Scopulariopsis brevicaulis*) species belonged to specially alkaliphilic and alkalitolerant colonizers of Montagu's Harrier nests [2, 14, 20, 35]. *S. brevicaulis* was one of species the most frequently isolated from starlings (*Sturnus vulgaris*) feather. This fungus was isolated from feather of 10 from 110 studied birds which made approx. 9% of total amount of tested starlings [36]. Appearance of these fungi was analyzed also in soil with high content of feather under the alkalization-accompanied degradation process [37, 38] and it was showed that protein ammonification coupled with fungal keratinolysis of feather resulted in release of high amounts of ammonium and followed by alkalization of environment to values ≥ 8.0 .

Specially high diversity of keratinolytic, proteolytic and alkaliphilic fungi was observed in Montagu's Harrier pellets found near the nests and containing non-digested prey's leftovers. High frequency of *Chrysosporium* spp., mainly *Ch. georgii* and *Ch. tropicum*, should be explained by high abundance of rodents (*Rodentia*) and passerines (*Passiformes*) (including *Passer* spp. and *Sturnus vulgaris*) in tested birds' diet. These both keratinolytic fungal species often appears in fur of small mammalian species and in feather of mentioned birds [1, 36, 39]. Among the fungi of strong proteolytic properties or weakly keratinolytic and alkalitolerant together ones, *Paecilomyces* spp., specially *P. lilacinus*, were found. *P. lilacinus* belongs to common feather decomposers [26, 37]. Kornilowicz-Kowalska [24] showed that when this species was cultured on medium containing feathers as a sole carbon and nitrogen source, it degraded this substrate in 33%. Very high frequency of appearance of *Doratomyces stemonites*, a species colonizing feathers of numerous wild birds, in the pellets may indicate that it reveals high potency for keratinolysis, which was previously reported by Dominik [31] and Dominik & Majchrowicz [32]. Hubalek [7] defined this species as often appearing in water birds nests. Appearance of *D. stemonites*, *S. brevicaulis*, *Chrysosporium* spp., *Chaetomium* spp., *Paecilomyces* spp. in both nests and pellets suggested high similarity between these two microenvironments, with mainly quantitative differences.

Presence of the same *Micromycetes* species in Montagu's Harrier pellets and nests suggested the phenomenon of fungal species transmission between different birds of prey's species and also between birds and their nests. This phenomenon may suggest the transmission of saprophytic and potentially pathogenic fungi by some birds of prey and their pellets. Such a fungal-transmission aspect of birds behavior must be taken into account. Montagu's Harrier is an Eurasian migratory species, having its wintering area in Africa and India. It may therefore play a role of a migratory factor of opportunistic mycoses-causing species (including *Chrysosporium* spp.) and toxinogenic ones (as *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. brevicaulis*). The phenomenon of transmission of fungi of different pathogenic spectrum against people and animals by water-mud birds was previously highlighted by Kisicka-Madziar [40].

A. fumigatus, frequently isolated from birds' pellets [40] lungs, air sacks [41], feathers [7] and birds' (also water birds') nests [5, 7] is one of the most important fungal

species, from epidemiological and epizootiological points of view. This species is a main pathogenic factor causing bird aspergillosis (mainly of the lungs) [42]. Thermotolerance and presence of protein (also keratin)-containing substrates in Montagu's Harrier nests were main factors favoring the appearance of this zoopathogens. *A. fumigatus* presents high activities of extracellular proteases (including elastase, collagenase, keratinase) [43-45] - enzymes participating in fungal pathogenesis. Its abundant presence in some studied nests causes a real danger for young of wetland birds, considering the conditions in nests (temperature, humidity, pH), favoring *A. fumigatus* growth and proteolytic activity of this fungus [45]. The highest amounts of this species were found in internal nests layer, where the young live and concentration of fungal aerosol is usually the highest. Kisicka-Madziar [40] showed that the young of Wader birds (*Charadriidae*) were more susceptible to fungal infections than the adults. *A. fumigatus* is also considered as the most dangerous fungal species causing human lung mycosis [46].

Other common species of opportunistic, often isolated from Montagu's Harrier nests pathogen is *Scopulariopsis brevicaulis*, a thermotolerant fungus presenting proteolytic [14] and keratinolytic properties [47], causing human nail mycosis.

Apart of high frequency of mentioned opportunistic pathogens, Montagu's Harrier nests were characterized by presence of other potentially dangerous fungal species: *Acremonium kiliense*, *Aspergillus flavus*, *Geotrichum candidum*, *Candida* spp., *Chrysosporium* spp., *Fusarium* spp., *Aspergillus*, *Candida* and *Geotrichum* spp. were also often isolated from litter of goshawk *Accipiter gentilis* nests [48]. In context of these facts, nests of Montagu's Harrier may be considered as one of mycosis and mycotoxycosis reservoirs in the environment common for birds of prey and people.

Acknowledgements

This work was supported by Polish Science Committee 2P04G03330.

The authors are very grateful to dr Helena Iglík (Department of Agricultural Microbiology, Mycological Laboratory, University of Life Sciences in Lublin) for her excellent technical assistance.

References

- [1] Hubalek Z.: *Keratinophilic fungi associated with free living mammals and birds*. [In:] Biology of dermatophytes and other keratinophilic fungi. R.K.S. Kushwaha and J. Guarro (eds.). Rev. Iber. Micol., 2000, **17**, 104-108.
- [2] Kushwaha R.K.S.: *The genus Chrysosporium, its physiology and biotechnological potential*. [In:] Biology of dermatophytes and other keratinophilic fungi. R.K.S. Kushwaha and J. Guarro (eds.). Rev. Iber. Micol., 2000, **17**, 66-76.
- [3] Hubalek Z.: *Pathogenic microorganisms associated with free living birds (a review)*. Acta Sci. Natur., Brno, 1994, **28**, 1-74.
- [4] Joseph V.: *Aspergillosis in Raptors*. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, 2000, **9**, 66-74.
- [5] Kruszewicz A.G., Pinowski J., Kruszewicz A.H., Mazurkiewicz M., Pawiak R. and Małyszko E.: *Occurrence of fungi in House Sparrow (Passer domesticus) and Tree Sparrow (Passer montanus) nestlings*. [In:] Nestling mortality due to microorganisms and toxic substances: synthesis. J. Pinowski, B.P. Kavanagh, B. Pinowska (eds.). WN PWN, Warszawa 1995, 283-290.
- [6] Pinowski J., Pinowska B. and Haman A.: *Fungi in birds plumage and nests*. Int. Stud. Sparrow., 1999, **26**, 3-28.
- [7] Hubalek Z.: *Fungi associated with free-living birds in Czechoslovakia and Yugoslavia*. Acta Sci. Natur., Brno, 1974, **8**, 1-62.

- [8] Kitowski I.: *Trends on parental care in Montagu's Harrier during nestling period in south east Poland*. Berkut, 2003, **12**, 112-118.
- [9] Kitowski I.: *Breeding ecology of Montagu's harrier (Circus pygargus) in marshes of eastern Poland: importance of aggregated nesting*. Acta Zoolog. Lituan., 2008, **18**, 83-89.
- [10] Buczek A.: *Habitat conditions, ecology, resources and protection of Saw Sedge Cladium mariscus (L.) Pohl. in Lublin macroregion*. Acta Agrophys. 2005, **129**, 1-126 (in Polish).
- [11] Pugh G.J.F.: *Associations between bird's nests, their pH and keratinophilic fungi*. Sabouraudia, 1966, **5**, 49-53.
- [12] Martin J.P.: *Use of acid rose bengal and streptomycin in the plate method of estimating soil fungi*. Soil Sci., 1950, **19**, 215.
- [13] Dvořák J. and Otčenašek M.: *Mycological diagnosis of animal dermatophytoses*. Academia, Prague 1969.
- [14] Domsch K.H., Gams W. and Anderson T.H.: *Compendium of Soil Fungi*. 1. Acad. Press., London 1980.
- [15] Kwaśna H., Chełkowski J. and Zajkowski P.: *Flora polska. Grzyby (Mycota), 22: (Deuteromycetes), (Hyphomycetales), (Fusarium)*. WN PWN, Warszawa 1991.
- [16] Oorschot van C.A.N.: *A revision of Chrysosporium and allied genera*. Stud. Mycol., 1989, **20**, 1-89.
- [17] Krebs C.J.: *Ecology. The Experimental Analysis of Distribution and Abundance*. Harper Collins, New York 1994.
- [18] Trojan P.: *General Ecology*. PWN, Warsaw 1981 (in Polish).
- [19] Kornilowicz-Kowalska T. and Bohacz J.: *An attempt to compost feather waste with the application of fungi inoculum*. Acta Agrophys., 2002, **73**, 189-197 (in Polish).
- [20] Griffin D.H.: *Ecology of Soil Fungi*. Chapman and Hall, London 1972.
- [21] Kjölller A. and Struwe S.: *Microfungi in ecosystems: fungal occurrence and activity in litter and soil*. Oikos, 1982, **39**, 391-422.
- [22] Cooke R.C. and Rayner A.D.M.: *Ecology of saprotrophic fungi*. Longman, London 1984.
- [23] Griffin D.H.: *Fungal Physiology*. Wiley-Liss, New York 1993.
- [24] Kornilowicz-Kowalska T.: *Studies on the decomposition of keratin wastes by saprotrophic microfungi. I. Criteria for evaluating keratinolytic activity*. Acta Mycol., 1997, **32**, 51-79.
- [25] Kornilowicz-Kowalska T., Iglík H. and Wojdyło B.: *Correlations between the abundance of cellulolytic fungi and selected soil properties*. Acta Mycol., 2003, **38** (1/2), 157-168.
- [26] Kornilowicz-Kowalska T.: *Effects of soil fungi (Micromycetes) on plant pathogens and pests and their practical aspect*. Fragm. Agronom., 2000, **17**, 135-155 (in Polish).
- [27] Nielsen K.F.: *Moulds growth on building markers*. Ph.D. thesis, By og Byg. Statens Byggeforskningsinstitut, Danish Building and Urban Research, 2002.
- [28] Pietr S.: *The mode of action of Trichoderma: short summary*. [In:] Trichoderma spp., other microorganisms and plant extracts in plant diseases control. VIII Conference of the Section for Biological Control of Plant Diseases of the Polish Phytopathological Society. Skierniewice, Poland, 1997, 7-15.
- [29] Hubalek Z., Balat F. and Tuskova J.: *Mycoflora of birds nests in nest-boxes*. Mycopathol. Mycol. Appl., 1973, **49**, 1-12.
- [30] Carmichael J.W.: *Chrysosporium and some other aleuriosporic hyphomycetes*. Can. J. Bot., 1962, **40**, 1137-1173.
- [31] Dominik T.: *Chrysosporium Corda 1833*. Zesz. Nauk WSR w Szczecinie, 1967, **24**, 37-66 (in Polish).
- [32] Dominik T. and Majchrowicz J.: *Second contribution to the knowledge of keratinolytic and keratinophilic soil fungi in the region of Szczecin*. Ecol. Pol., 1965, A.13, 415-447.
- [33] Kozakiewicz Z. and Smith D.: *Physiology of Aspergillus*. [In:] T. Atkins, R.F. Sherwood (ed.): *Biotechnology Handbooks 7. Aspergillus*. Plenum Press, New York 1994.
- [34] Fischer J.L., Beffa T., Lyon P-F. and Aragno M.: *Aspergillus fumigatus in windrow composting: effect of turning frequency*. Waste Manage. Res., 1998, **16**, 320-329.
- [35] Hubalek Z.: *Influence of pH on the occurrence of fungi in birds nests*. Z. Allg. Mikrobiol., 1976, **16**, 65-72.
- [36] Camin A.M. and Chabasse D.: *Keratinophilic fungi associated with starlings (Sturnus vulgaris) in Britany, France*. Mycopathology, 1998, **143**, 9-12.
- [37] Kornilowicz T.: *Studies on mycoflora colonizing raw keratin wastes in arable soil*. Acta Mycol., 1991/92, **27**, 231-241 (in Polish).
- [38] Kornilowicz-Kowalska T.: *Studies on the mycoflora colonizing keratin-bark-urea manure*. Acta Mycol., 1993, **28**, 19-30 (in Polish).

- [39] Cabanasse D.: *Taxonomic study of keratinophilic fungi isolated from soil and some mammals in France*. Mycopathologia, 1988, **101**, 133-140.
- [40] Kisicka-Madziar J.: *Transmission of potentially pathogenic fungi for human by shorebirds*. Unpublished Ph.D. thesis. University of Warmia and Mazury, Olsztyn 2006 (in Polish).
- [41] Shin T.K., Lee H.J., Lee D.S., Kwon O.D., Yang K.C., Kim O.N. and Kim W.T.: *Aspergillus fumigatus infection in wild goose*. Korean J. Vet. Clin. Med., 1996, **13**, 195-197.
- [42] Mikaelian J., Gauthier F., Fitzgerald G., Higgins R., Clavean R. and Martinean D.: *Primary causes of death in wild birds of Quebec*. Med. Vet. Quebec., 1997, **27**, 94-102.
- [43] Frosco M.C. and Mcmillan J.D.: *Purification and properties of the elastase from Aspergillus fumigatus*. Infect. Immun., 1992, **60**, 728-734.
- [44] Monod M., Paris S., Sanglard D., Jatton-Ogay K., Bille J. and Latge J.P.: *Isolation and characterization of a secreted metalloprotease of Aspergillus fumigatus*. Infect. Immun., 1993, **61**, 4099-4104.
- [45] Santos R.M.D.B., Firmino A.P., de Sa C.M. and Felix C.R.: *Keratinolytic activity of Aspergillus fumigatus Fresenius*. Curr. Microbiol., 1996, **33**, 364-370.
- [46] Dynowska M.: *Clinical aspects of infestation by mould fungi*. [In:] Grajewski J. (ed.): *Mycotoxins and Mould Fungi*, 2006, 70-80 (in Polish).
- [47] Filipello Marchisio V., Fusconi A. and Querio F.L.: *Scopulariopsis brevicaulis: a keratinophilic or a keratinolytic fungus*. Mycoses, 2000, **43**, 281-292.
- [48] Wieliczko A., Piasecki T., Dorrestein G.M., Adamski A. and Mazurkiewicz M.: *Evaluation of the health status of goshawk chicks (Accipiter gentilis) nestling in Wrocław vicinity*. Bull. Vet. Inst. Pulawy, 2003, **47**, 247-257.

**RÓŻNORODNOŚĆ GRZYBÓW W GNIAZDACH
I WYPLWKACH BŁOTNIAKA ŁĄKOWEGO (*Circus pygargus*)
WYSTĘPUJĄCEGO WE WSCHODNIEJ POLSCE -
WPLYW CZYNNIKÓW CHEMICZNYCH I EKOLOGICZNYCH**

Pracownia Mikologiczna, Katedra Mikrobiologii Rolniczej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Zakład Ochrony Przyrody, Instytut Biologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

Abstrakt: Zbadano ogólną liczebność, skład i frekwencję gatunków grzybów saprotroficznych i potencjalnie chorobotwórczych dla organizmów stałocieplnych w 7 gniazdach oraz wyplwkach błotniaka łąkowego (*Circus pygargus*) występującego na torfowiskach węglanowych koło Chełma (Polska). Badane gniazda okazały się mikrosiedliskiem kształtującym dużą różnorodność oraz wysoką liczebność zbiorowisk *Micromycetes*. Do najliczniejszych grup taksonomicznych należały grzyby mitosporowe. Pod względem ekofizjologicznym badane zbiorowiska grzybów gniazdowych zdominowane były przez grzyby ubikwistyczne (polifagi), w tym celulolityczne. Grzyby keratynofilne były mniej liczne. Wyplwki obok grzybów ubikwistycznych cechowały się wysokim udziałem grzybów keratynofilnych. W obrębie wyodrębnionych gatunków najwyższą frekwencją odznaczały się *Trichoderma viride* w gniazdach oraz *Doratomyces stemonites* na wyplwkach. Obok gatunków typowo saprotroficznych gniazda oraz wyplwki zasiedlały grzyby potencjalnie chorobotwórcze, w tym *Aspergillus fumigatus* i *Scopulariopsis brevicaulis* oraz *Chrysosporium tropicum* i *Ch. georgii*. W obrębie wyodrębnionych gatunków spotykano gatunki hydrofilne, alkalotolerancyjne oraz termotolerancyjne, co miało związek z zawartością wody, pH oraz temperaturą podczas lęgów.

Słowa kluczowe: grzyby, gniazda, wyplwki, błotniak łąkowy, czynniki chemiczne i ekologiczne

Bogdan SZOSTAK^{*1}, Teresa KORNIŁŁOWICZ-KOWALSKA^{**}
and Ewa BEKIER-JAWORSKA^{*}

FUNGAL FLORA OCCURRENCE IN SWINE FARM SOIL ENVIRONMENT

WYSTĘPOWANIE GRZYBÓW W ŚRODOWISKU GLEBOWYM FERMY ŚWIŃ

Abstract: A dilution plate technique was employed to study molding fungi count and species composition in the soil samples (chernozem) collected from the pig farm area. There were recorded different fungi numbers subject to an object (manure plate, pig enclosure) as well as the soil horizon depth. The most abundant fungus populations were determined in a soil within 10 m distance from the manure plate and on the pig enclosure as well as in its vicinity (4 m). The topsoil (0–20 cm depth) showed a higher colonization level by fungi. In the farm soil, there were identified 375 fungal strains representing 40 species. The most prevalent ones, *Paecilomyces variotii* and *Paecilomyces elegans*, accumulated primarily in the soil close to the manure plate. From the pig enclosure area, and outside it to a less degree, there were also recovered *Thielavia terricola* and *Aspergillus flavus*.

Keywords: fungi, soil, swine farm

Environmental pollution caused by intensive livestock production systems has remained a manifold problem comprising various issues. One of them is contamination of soil environment with toxinogenic fungi, mycotoxins and parasitic fungi. The recent years have been marked with higher incidence of mycoses and mycotoxicoses [1]. Fungi are also one of major allergizing agents. Mycotic allergies are initiated by inhalation of massive amount of fungus spores which induce allergic rhinitis, bronchial asthma or alveolitis alergica [2]. Besides, fungi are known to produce immunotoxic disorders including among others, organic dust toxic syndrome (ODTS). Farmers and animal breeders are at the highest risk for development of this condition which is associated with occupational exposure to organic dusts with microorganisms absorbed on their surface, mainly toxicogenic fungus spores [2]. A source of these microorganisms at

^{*} Department of Animal Breeding and Use, Faculty of Agricultural Sciences of Zamość, University of Life Sciences of Lublin, ul. Szczepieszka 102, 22-400 Zamość

^{**} Mycological Laboratory, Department of Agricultural Microbiology, University of Life Sciences of Lublin, ul. Leszczyńskiego 7, 20-069 Lublin

¹ Corresponding author: bszostak@wnr.edu.pl

industrial animal farms are the animal facilities which house animals, bedding, animal wastes and slurry, barns and siloes to store feedstuffs, manure pits etc. [2-4] as well as soil contaminated with remnants of litter, feed, manure and excreta [5, 6]. Animal excreta are included into the most common mycological soil pollutants [7]. The studies of numerous authors [6-8] report that animal wastes are the reservoir of many species of pathogenic fungi and from a group of so called opportunistic pathogens: zoo- and geophilic dermatophytes (*Trichophyton* spp., *Microsporium* spp., *Geotrichum candidum*, *Mucor* spp., *Aspergillus fumigatus*) as well as toxinogenic and of allergizing potency (*Penicillium* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp., *Alternaria* spp). The factors considered conducive for toxinogenic and potential pathogenic fungi development include among others, heavy use of nitrogen fertilizer applied in the form of mineral fertilizers and slurry [7, 9, 10]. This type of pressure is predominantly observable in the breeding environs where huge load of animal high-nitrogen solid and liquid waste, ie, solid and liquid manure, slurry and poultry manure, is produced [11, 12]. A high nitrogen content in soil stimulates the biosynthesis of environmental toxins, that is nitrosamines and mycotoxins [9, 10]. That implicates the disturbance of soil homeostasis, which in turn among others, stimulates development of phytopathogenic and toxinogenic fungus species [9] as well as intoxication of soils caused by nitroamine and mycotoxin accumulation.

The objective of the present research was mycological evaluation of swine farm soil environment considering various contamination sources (farm facilities) and soil horizons.

Material and methods

The investigations were carried out at a pig farm located in the south-eastern part of the Lublin province. It is a pig breeding farm where the breeding material production is performed in the closed cycle. Average annual farm production amounts to ca 1500 gilts and boars as well as 2800 fatteners. The animals were maintained in the litter system, ie shallow litter removed every day. Animal wastes were collected on the manure plates located within the farm area, in the vicinity of pig facilities. The manure storage time at the manure plate (dunghill) was 6 months. During the research period, the routine preventive measures like, disinfestation, disinfection and deratization were performed.

The farm is situated on chernozem soils developed from loess that belong to II, III and IV soil quality class. Soil for analysis was sampled from two layers: 0÷20 cm and 20÷40 cm depth. The soil samples (3 replications) were taken from the sites in close proximity to the following objects: the manure plate (within 5 and 10 m distance), on the pig enclosure and at the distance of 4 m from its fencing in spring-summer season.

The fungal counts were expressed in colony forming units (CFU) per kg of dry matter of soil. Soil dry matter was established by the gravimetric method at temperature of 105°C.

Fungi species isolation was carried out by dissecting all the colonies grown on one culture plate chosen randomly (in 3 parallel replications) and transferring the pure fungal isolates from the Martin's medium surface onto the PDA potato dextrose agar medium [13], while the isolates growing on the Czapek Dox agar with antibiotics onto the Czapek Dox one without any antibiotics.

The diagnostics of the recovered isolates was performed on the basis of macromorphological characteristics (on plates and slants) and micromorphological ones observable in the fungal microcultures on the following standard media: glucose-potato PD agar, Czapek (*Penicillium*, *Aspergillus*), Sabouraud, malt extract agar (MEA) and soft nutrient agar (SNA) [14] (for *Fusarium*).

The species and genus classification was based on taxonomy assessment by Domsch et al [17], Ellis [16], Kwaśna et al [14], Raper et al [15].

Results and discussion

The present researches have indicated the differences in fungi counts in the soil samples under study, subject to farm objects and a soil horizon sampled (Tab.1). The highest numbers of fungi (Martin's medium) were determined in the soil samples taken within 10 m distance from the manure plate. Although generally, lower counts of fungi were noted on the Czapek Dox substrate, in the case of a soil sampled 10 m from the manure plate, the highest fungi numbers (1453,17 CFU 10^5 kg⁻¹ d.m. soil) were obtained. The research values exceeded those for molds determined in typologically similar soil types (chernozem) free from animal liquid waste contaminants [3]. Kluczek et al [7] indicated, that top dressing slurry resulted in even a 1000-fold increase of soil fungi count.

Table 1
The numbers of fungi in the soil samples taken from pigs farm area, depending on location and level of the soil profile

Test number	Place of sampling	Layer [cm]	Dry matter soil [%]	The numbers of fungi [CFU · 10 ⁵ · kg ⁻¹ d.m. of soil]	
				On the Martin's medium	On the Czapek-Dox's medium
1	Pig enclosure	0÷20	68.4	375.40	146.26
2	Pig enclosure	20÷40	73.6	81.51	58.86
3	4 m from pig enclosure	0÷20	91.0	428.71	40.30
4	4 m from pig enclosure	20÷40	90.4	125.42	121.73
5	Manure plate 5 m	0÷20	85.4	74.15	15.61
6	Manure plate 5 m	20÷40	87.9	45.52	22.76
7	Manure plate 10 m	0÷20	78.0	829.16	1453.17
8	Manure plate 10 m	20÷40	81.5	186.12	429.18

The top soil layers (0÷20 cm) sampled around all the farm objects showed a higher level of fungal colonization of soil and, interestingly, the fungi isolated from both, Martin's medium and Czapek-Dox agar. The research findings obtained in the present study are congruent with the results reported by other authors [7], who proved that surface-applied slurry caused the highest mycological contamination of the topsoil layer (0÷20 cm). Although fungi accumulation in the 20÷40 cm soil layer was relatively lower, it is most likely that mould fungi migrate and reach the underground water resources as it was revealed by Kornilowicz [18] in his studies on soil-borne fungi penetration into lakes.

The soil sampled at a distance of 4 m from the pig enclosure boundary displayed 3-fold higher fungi numbers in the 20÷40 cm layer but only those isolated on the Czapek Dox medium.

Tables 2 and 3 present the occurrence frequency and distribution of fungi species isolated from the soil samples collected from the pig farm under study. A total of 375 strains representing 40 fungi species that belong to 25 genera were determined. The most predominant genera identified included *Mortierella* (Zygomycotina), *Fusarium* (Deuteromycotina) and *Paecilomyces* (Deuteromycotina). Abundance of Zygomycetes (*Absidia* sp., *Mucor* spp., *Mortierella* spp.) with concurrent *Mortierella* prevalence in the pig farm soil stand as proof of disturbance of the biological balance in this environment caused by contaminated animal waste. Szostak et al [19] demonstrated that such a soil is rich in organic matter, ammonia and nitrate nitrogen that favor the moulds development.

Thielavia (Ascomycotina), *Penicillium*, *Cladosporium*, *Aspergillus* (Deuteromycotina) genera were represented in lower numbers.

Table 2
The frequency and distribution of fungi species isolated on the Martin's medium in soil samples taken from the site of the tested pig farm

Or.	Strain	Soil sample number								Sum
		11	12	13	14	15	16	17	18	
1	<i>Abisida glauca</i> Hagem			6*						6
2	<i>Aspergillus candidus</i> Link ex Link					3	2			5
3	<i>Botrytis cinerea</i> Pers. ex Nocca & Bald							3		3
4	<i>Chaetomium spirale</i> Zopf					2				2
5	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vries			1		2				3
6	<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht. emed. sny. & Hans	2								2
7	<i>Geotrichum candidum</i> Link ex Leman			1					10	11
8	<i>Gilmaniella humicola</i> Barron					4				4
9	<i>Mariannea elegans</i> (Corda) Samson							7		7
10	<i>Mortierella alpine</i> Peyronel				4					4
11	<i>Mortierella hygrophila</i> Linnem.								6	6
12	<i>Mortierella minutissima</i> van Tiegh.				5					5
13	<i>Mortierella</i> sp.			15	9					24
14	<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer	9		7	8	2	3			29
15	<i>Mucor ramosissimus</i> Samutsevitch	7	16				4			27
16	<i>Paecilomyces variotii</i> Bain.							44	39	83
17	<i>Penicillium brevicompactum</i> Dierckx		1							1
18	<i>Penicillium frequetans</i> Westling			1						1
19	<i>Penicillium nigricans</i> Bain. ex Thom					2				2
20	<i>Penicillium spinulosum</i> Thom							6		6
21	<i>Penicillium verrucosum</i> Dierckx				2		2			4
22	<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn				6			6		12
23	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib.) De Bary						1			1
24	<i>Trichoderma hamatum</i> (Bonard.) Bain.								7	7
25	<i>Trichoderma viride</i> Pers. Ex Gray	3		10						13

Explanations: * number of strains

Table 3

The frequency and distribution of fungi species isolated on the Czapek-Dox's substrate in soil samples taken from the site of the tested pig farm

Or.	Strain	Soil sample number									Sum
		11	12	13	14	15	16	17	18		
1	<i>Aspergillus flavus</i> Link ex Gray	1*									1
2	<i>Aspergillus fumigatus</i> Fres.		3								3
3	<i>Chrysosporium merdarium</i> (Link ex Grev.) Carm						1				1
4	<i>Chrysosporium pannorum</i> (Link) Hughes			2							2
5	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vries				1	1	1				3
6	<i>Cladosporium herbarum</i> (Pers.) Link ex Gray						1				1
7	<i>Fusarium culmorum</i> (W.G.Sm.) Sacc.			1							1
8	<i>Fusarium poe</i> (Peck) Wollenw.					1					1
9	<i>Gilmaniella humicola</i> Barron					1					1
10	<i>Hormiactis candida</i> Höhn				1						1
11	<i>Mariannea elegans</i> (Corda) Samson						1	20	9		30
12	<i>Mucor circinelloides</i> van Tiegh.		1				1				2
13	<i>Paecilomyces variotii</i> Bain.							10	5		15
14	<i>Penicillium brevicompactum</i> Dierckx				1						1
15	<i>Penicillium chrysogenum</i> Thom					1					1
16	<i>Penicillium digitatum</i> (Pers.ex St.-An.)	1									1
17	<i>Penicillium lanosum</i> Westling					3					3
18	<i>Penicillium nigricans</i> Bain. Ex Thom								6		6
19	<i>Penicillium purpurescens</i> (Scopp) Raper			1							1
20	<i>Phoma</i> sp.			1							1
21	<i>Thielavia terricola</i> (Gilman Abbott) Emmons	17	9	2	1						29
22	<i>Trichoderma viride</i> Pers.ex Gray								2		2
	Sum	19	13	7	4	7	5	30	22		107

Explanations: * number of strains

The qualitative composition of soil mycobiota may undergo changes under various stressing factors like animal waste and their effluents). Steadily increasing pollution of environment through the excessive and imbalanced use of organic fertilizers slurry favors growth of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* and *Trichoderma* genera populations in soil [13].

In the analyzed farm soil environs, *Paecilomyces variotii* and *Paecilomyces elegans* (*Mariannea elegans*) were recovered from the samples Nos. 17 and 18 exclusively (manure plate 10 m). In the deeper soil layer (10 m from the plate manure), there were also found abundant *Geotrichum candidum* fungi. As for the pig-run and the adjacent area to a less extent, *Thielavia terricola* (*Ascomycotina*) were also detected. The aforementioned species are commonly recovered from the environment which is

characterized with at least seasonal increase of temperature (compost, manure) and excreta [17]. According to Kluczek [11] numerous moulds that harbor animal waste prove to be most invasive microorganisms that may produce infection in animal and human organism. Generally, these are the species capable of growing at temperatures characteristic of the homoiothermics, which constitutes a basic criterion of potential pathogenicity for human and animal [20]. The studies of Kluczek [11] concerning the occurrence of fungi in breeding farms report that maximum count of fungi is detected in animal waste, litter and feeding trough (ca $0.5 \div 1 \text{ cm}^3$ CFU in 1 g of d.m.), while their minimum number in drinking water and air (ca $10\,000 \div 36\,000$ CFU in 1 cm^3). The Author found that animal liquid waste belong to the most widespread mycological pollutants of soil, plants and breeding environs.

Kluczek et al [7] recovered 16 fungal strains from the animal excreta with most prevalent *Aspergillus clavatus*, *A. fumigatus*, *A. repens*, *P. notatum* and *P. viridicatum* and sporadic occurrence of *A. ochraceus*, *Fusarium* spp., *Mucor mucedo*, *P. vermiculatum* and *T. viride*.

Whereas Kamińska et al [1] reported isolation of anascogenic yeasts and cryptococcaceae from the swine excreta, eg *Candida cifferi*, *C. parapsilosis*, *C. humicola*, *C. famata*, *C. guilliermondii*, *Cryptococcus laurentii*, *Rhodotorula minuta*.

Raw slurry applied to soil had a potential for causing an increase of mycotic infections in this environment. According to Kluczek et al [7], in 1 g of liquid slurry there was determined $1.55 \div 6.19 \times 10^4$ CFU of fungi. The soil samples investigated by the Author displayed an elevated soil fungi level recorded after the slurry spreading onto soil surface $10^5 \div 10^6/\text{g}$ as compared with the control (non-fertilized soil) in which fungi count amounted to 10^3 . In the present research, the fungi numbers ranged from 15.61 up to $1453.17 \cdot 10^5$ CFU in 1 kg of soil dry matter.

A level of soil contamination by fungi depends, among others, on the sanitary-hygienic conditions of slurry. However, the predominance of some fungus groups and species over the others depends on the ecologic conditions. At various kinds of soil pollutants, fungal growth is conducted by acidification, while the alkaline conditions promote the bacteria development but at the same time enable the selection of alkalophilic fungi. Besides, a soil type has a significant impact on fungal growth. The highest frequency of soil colonization, after slurry introduction, by majority of fungi identified was detected in forest-meadow chernozem which was associated with high availability of soil substances essential for microorganism growth and development [7]. Kluczek et al [7] reported that in the soil samples studied, moulds of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium* and *Rhizopus* genera were identified most frequently. Mycological analyses revealed that forest meadow chernozem was the most highly contaminated soil with special significance of the following genera: *Aspergillus flavatus*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. repens*, *Mucor mucedo*, *Fusarium moniliforme*, *Penicillium notatum*, *P. viridicatum*, *P. vermiculatum*. Among these pathogenic microorganisms mentioned, geophilic dermatophytes were not identified [7].

The present research findings indicate substantial accumulation of faeces-inhabiting fungi in the soil samples under study, eg *Mortierella* spp., *Paecilomyces variotii*, *Thielavia terricola* that prefer a neutral reaction-environment or weak alkaline like, *Mortierella alpine*, *Absidia glauca*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium culmorum*, *Paecilomyces variotii*, *Paecilomyces elegans*; the species tolerating higher soil moisture

levels like, *Fusarium equiseti* and other *Fusarium* species as well soil increased temperature stress (*P. variotii*, *P. elegans*) - the thermophilic and thermal and salt tolerant fungal species (among others *P. variotii*). That correlates with the properties of the investigated soil samples that had mostly a neutral reaction, approaching neutral to slightly alkaline and were shown to display a higher nitrogen level especially in the form of N-NH_4^+ and N-NO_3^- as well as available phosphorus. A soil moisture content could be elevated as well due to effluents from the manure pit [19].

As for the ecotoxicological assessment, the investigated soil samples obtained from the pig farm area showed accumulation of mycotoxin-producing fungi with *Fusarium* as the predominant fungus present. The potentially toxinogenic fungi also included *Paecilomyces* (*P. variotii*) and *Penicillium* spp. In some soil samples, *Aspergillus flavus*, a producer of the most potent mycotoxins (aflatoxin) was detected.

In the recovered fungal material, there also occurred potentially phytopathogenic fungi (mainly representatives of *Fusarium*) as well as potentially opportunistic human and animal fungal pathogen - predominantly *Aspergillus fumigatus* - a common producer of opportunistic mycoses and *Paecilomyces* producing paecilomycoses. It should be highlighted that *P. variotii* is a mould genus inducing swine toxicoses. The potential fungal pathogens for animal and human also include *Geotrichum candidum*, *Scedosporium apiospermum* and others. Laguska et al [4] identified such species like, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *G. candidum* with high frequencies in the outdoor air samples of animal farms, in that pig farms. The present researches indicate the incidence of numerous fungal species in the air of farms whose soils are contaminated with pig liquid manures which is also reported by Scarpino and Quinn [21]. This fact may imply that soils of animal farms make up one of reservoirs of opportunistic pathogens and toxinogenic fungi as well as a major source of mycotic infections.

Conclusions

The pig farm soil under study displays the disturbed microbiocenotic balance with regard to fungi association.

Fungi count in soil recorded at different farm objects (around the manure plate and pig enclosure) varied substantially. It also concerned a soil horizon (depth), yet the topsoil layer sampled around all the farm facilities showed a higher level of soil colonization by fungi.

The analysis of genus and species composition of fungi indicates a low antagonistic potential of the studied soil conditioned by low numbers of fungi that possess antagonistic properties, ie *Trichoderma* and *Penicillium*.

From an epidemiological viewpoint, a high frequency of *Paecilomyces variotii* in soils of swine farms constitutes the critical health hazard.

References

- [1] Kamińska A., Kluczek J. P. and Szejniuk B.: *Ocena mikologiczna odchodów zwierzęcych w kontekście działania środków dezynfekcyjnych*. Pr. Kom. Nauk Rol. Biol. BTN, Bydgoszcz, seria B, 1993, 27-32.
- [2] Dutkiewicz J. and Górny R.L.: *Biologiczne czynniki szkodliwe dla zdrowia - klasyfikacja i kryteria oceny narażenia*. Med. Pracy, 2002, 1, 29-39.
- [3] Kluczek P. and Kluczek E.: *Grzyby pleśniowe w biocenozie gleby po nawożeniu gnojowicą*. Pr. Wdz. Nauk Przyrod. BTN, Bydgoszcz 1995, 31, 69-83.

- [4] Lugauskas A., Krikštaponis A. and Šveistyte L.: *Airborne fungi in industrial environments - potential agents of respiratory diseases*. Ann. Agric. Environ., Med. 2004, **11**, 19-25.
- [5] Al.-Musallam A.A.: *Distribution of keratinophilic fungi in animal folds in Kuwait*. Mycopathologia, 1990, **112**, 65-70.
- [6] Periasamy A., Hilda A. and Subash Chandra Bose Gopinath.: *Keratinophilic fungi of poultry farm and feather dumping soil in Tamil Nadu, India*. Mycopathologia, 2004, **158**, 303-309.
- [7] Kluczek P., Kluczek B. and Skinder Z.: *Gnojowica a ryzyko skażenia środowiska rolniczego. - II. Flora grzybowa gleby i roślin pastewnych*. Pr. Wydz. Nauk Przyrod. BTN, Bydgoszcz, seria B, 1989, 38, 187-225.
- [8] Ali-Stayeh M.S., Arada H.M., Hassouna M. and Shaheen S.F.: *Keratinophilic fungi on the hair cows, donkeys, rabbits, cats and dogs from West Bank of Jordan*. Mycopathologia, 1998, **104**, 109-121.
- [9] Smyk B.: *Biologiczne i biogeochemiczne skutki stosowania mineralnych nawozów azotowych w rolnictwie*. Zesz. Nauk AR Kraków 1982, **10**, 57-78.
- [10] Barabasz W. and Vorisek K.: *Wpływ mineralnego nawożenia N na aktywność mikrobiologiczną gleb górskich ekosystemów trawiastych*. Mat. Konf. nt. Drobnoustroje środowiska glebowego, aspekty fizjologiczne, biochemiczne, genetyczne. UMK w Toruniu, Toruń 2001.
- [11] Kluczek P.: *Charakterystyka mikologiczna środowiska hodowlanego*. Ann. UMCS, vol. **IV**, sectio EE, 1996, 32, 203-209.
- [12] Grata K.: *Ocena skuteczności mikostatycznej fosforanu i siarczanu mocznika z bentonitem, użytych do dezynfekcji nawozu drobiowego*. Ochr. Środow., 2008, **30**, 1-5.
- [13] Martin I.P.: *Use of acid, rose bengal and streptomycin in the plate method of estimating soil fungi*. Soil Sci., 1950, **19**, 215.
- [14] Kwaśna H., Chelkowski J. and Zajkowski P.: *Flora polska. Grzyby (Mycota), 22: Sierpiak (Fusarium)*. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1991.
- [15] Raper K.B., Thom Ch. and Fennell D.I.A.: *Manual of the Penicillia*. Hafner Publish., Comp., New York 1968.
- [16] Ellis H.B.: *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth. Mycological Institute Kew Surrey, England 1971.
- [17] Domsh K.H., Gams W. and Anderson T.H.: *Compendium of soil fungi, v.1*. Academic Press, London 1980.
- [18] Kornilowicz T.: *Badania nad mikoflorą zasiedlającą surowe odpady keratynowe w glebie*. Acta Mycol., 1991/1992, **27**, 231-245.
- [19] Szostak B., Jegierska-Tys S. and Bekier-Jaworska E.: *Intensywność procesu amonifikacji i nityfikacji w glebie na terenie ferm świń*. Acta Agrophys., 2005, **6**, 251-260.
- [20] Dynowska M.: *Kliniczne aspekty zakażeń grzybami pleśniowymi*. [In:] Mikotoksyny i grzyby pleśniowe, zagrożenia dla człowieka i zwierząt, red. J. Grajewski, Wyd. Uniw. Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy, Bydgoszcz 2006, 67-80.
- [21] Scarpino P.V. and Quinn H.: *Bioaerosol distribution patterns adjacent to two swine - growing - finishing house confined units in the American Midwest. Recent research on antibiotic resistance and animal agriculture Grace Factory Farm Project*, www.factoryfarm.org 11, July, 2005.
- [22] Kornilowicz T.: *Badania nad mikoflorą zasiedlającą przetworzone odpady keratynowe w glebie*. Acta Mycol., 1993, **28**, 19-30.
- [23] Kornilowicz-Kowalska T.: *Oddziaływanie grzybów glebowych (micromycetes) na patogeny oraz szkodniki roślin i jego praktyczny aspekt*. Fragm. Agron., 2000, 17, 135-155.
- [24] Gliński Z. and Kostro K.: *Mikotoksykozy świń. Cz. I. Trzoda Chlewna*, 2002, **2**, 82-86.

WYSTĘPOWANIE GRZYBÓW W ŚRODOWISKU GLEBOWYM FERMY ŚWIŃ

Katedra Hodowli i Użytkowania Zwierząt, Wydział Nauk Rolniczych w Zamościu, UP w Lublinie

Pracownia Mikologiczna, Katedra Mikrobiologii Rolniczej, Wydział Agrobioinżynierii UP

Abstrakt: Stosując płytkową metodę rozcieńczeń, zbadano liczebność i skład gatunkowy grzybów pleśniowych w próbkach glebowych (czarnoziem) pobranych z terenu fermy świń. Wykazano, że liczebność grzybów była zróżnicowana zależnie od obiektu (płyta gnojowa, okólnik) oraz głębokości warstwy gleby. Najwyższe liczebności grzybów stwierdzono w glebie, w odległości 10 m od płyty gnojowej oraz na okólniku i w jego pobliżu (4 m). Wierzchnia warstwa gleby (głębokość 0÷20 cm) charakteryzowała się wyższym stopniem kolonizacji przez grzyby. W środowisku glebowym fermy wyodrębniono 375 szczepów reprezentujących 40 gatunków grzybów. Najliczniej występowały *Paecilomyces variotii* oraz *Paecilomyces elegans*, które nagromadzały się przede wszystkim w glebie w pobliżu płyty gnojowej. Z terenu okólnika i w mniejszym stopniu poza nim izolowano również *Thielavia terricola* oraz *Aspergillus flavus*.

Słowa kluczowe: grzyby, gleba, ferma świń

Angelika BEYER^{1*} i Marek BIZIUK¹

OZNACZANIE POZOSTAŁOŚCI PESTYCYDÓW W PRÓBKACH ŻYWNOSCI Z WYKORZYSTANIEM METODYKI QuEChERS

QuEChERS APPROACH FOR THE DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN FOOD MATRIXES

Abstrakt: Oznaczanie pozostałości pestycydów w próbkach żywności jest ogromnym wyzwaniem głównie z powodu dużych ilości substancji przeszkadzających, takich jak białka, cukry, tłuszcze, które podlegają ekstrakcji razem z analitami i najczęściej wywierają negatywny wpływ na tok analizy. Z drugiej strony zapewnienie „bezpieczeństwa żywności” wymaga monitorowania w niej pozostałości pestycydów. Z tego też powodu przed chemikami analitykami stoją nowe wyzwania w postaci konieczności opracowania metodyk oznaczania pozostałości, które pozwalają na oznaczanie pestycydów należących do różnych grup w trakcie jednej analizy. Ogromna różnorodność tych związków utrudnia jednak opracowanie procedury analitycznej pozwalającej na jednoczesne oznaczenie wszystkich analitów.

Słowa kluczowe: pestycydy, żywność, przygotowanie próbek, ekstrakcja, oczyszczanie, metodyka QuEChERS

Wstęp

Oznaczanie pozostałości pestycydów w próbkach żywności jest obecnie koniecznością ze względu na toksyczność i trwałość tych ksenobiotyków. Niestety, dostępne metodyki analityczne najczęściej stosowane w laboratoriach do oznaczeń pestycydów nie są idealne. Niektóre laboratoria, oznaczające pozostałości pestycydów, wciąż jeszcze stosują procedury opracowane 30 lat temu, gdy wymagania analityczne i legislacyjne były mniej ostre, a technologia nie była tak rozwinięta jak dziś. Tradycyjnie stosowane procedury są zarówno czaso-, jak i pracochłonne, skomplikowane, drogie, a w ich wyniku powstają znaczne ilości odpadów i często nie jest możliwe uzyskanie wystarczająco niskiej granicy oznaczalności. Nie jest również sytuacją niespotykaną potrzeba oznaczania wielu różnych (pod względem właściwości

¹ Katedra Chemii Analitycznej, Wydział Chemiczny, Politechnika Gdańska, ul. G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk, tel. 58 347 17 83, fax 58 347 26 94, email: biziuk@chem.pg.gda.pl

* Autor do korespondencji: angelika.beyer@gmail.com

fizycznych i chemicznych) związków, a nie jednego analitu czy pojedynczej klasy związków. Stąd potrzeba nowych rozwiązań dotyczących m.in. metodyk oznaczania pozostałości pestycydów w próbkach żywności.

Metodyki oznaczania pozostałości pestycydów w próbkach środowiskowych

Bez wątpienia wartym uwagi podejściem do problemu oznaczania pestycydów, ze względu na różnorodność tej grupy związków, jest zastosowanie metodyk oznaczania pozostałości (*multi-residue methods* - MRMs). Niestety, w literaturze naukowej można znaleźć stosunkowo niewiele informacji na temat takiego podejścia do oznaczania pozostałości pestycydów w próbkach żywności. Stąd próba przybliżenia czytelnikom kilku najważniejszych, zdaniem autorów, metodyk analizy pozostałości, mających zastosowanie do oznaczenia pestycydów w próbkach żywności.

Głównym założeniem metodyk oznaczania pozostałości jest gwarancja rzetelnych i precyzyjnych wyników na odpowiednio niskich poziomach stężeń dla szerokiego spektrum analitów. Ponadto, proponowane metodyki powinny się charakteryzować takimi parametrami, jak:

- szybkość analizy - małe opóźnienie czasowe pomiędzy etapem pobierania próbki a uzyskaniem informacji o ilości (stężeniu) analitów w próbce,
- łatwość wykonania analizy,
- możliwość zastosowania niedrogich odczynników i aparatury,
- selektywność oznaczania analitów,
- wysoki poziom automatyzacji, aby zredukować wpływ czynnika ludzkiego na wyniki analiz,
- możliwość stosowania niewielkich ilości rozpuszczalników i odczynników, w celu ograniczenia ilości odpadów powstających w wyniku analizy.

Jednak, jak pokazuje historia, spełnienie tych postulatów nie było i nadal nie jest łatwe.

W tabeli 1 przedstawiono chronologicznie krótki opis metodyk oznaczania pozostałości pestycydów w próbkach żywności, poczynawszy od pierwszej znanej metodyki zastosowanej do oznaczania pozostałości niepolarnych pestycydów, opracowanej przez chemika P.A. Millsa z Agencji ds. Żywności i Leków Stanów Zjednoczonych (FDA) w latach 60. XX wieku, przez metodyki przeznaczone do oznaczania szerokiego spektrum pozostałości pestycydów o różnej polarności zarówno chloroorganicznych, jak i fosforo- oraz azotoorganicznych, opracowywane w latach 70. i metodyki z lat 80., w których zaczęto zwracać większą uwagę na zanieczyszczenie środowiska i jego wpływ na zdrowie człowieka, aż do rozwoju metodyk zgodnych z zasadami rozwoju zrównoważonego i zielonej chemii.

Pomimo licznych zalet procedur i technik, których intensywny rozwój nastąpił w ciągu ostatnich 20-30 lat, żadnej z nich nie udało się przewyciężyć praktycznych ograniczeń tak, aby możliwe było jej powszechne wdrożenie. W tabeli 2 przedstawiono porównanie technik ekstrakcyjnych, które są najczęściej stosowane w analizie próbek żywności pod kątem zawartości pestycydów. Zaproponowane podejścia są użyteczne i znajdują szereg zastosowań, jednak nie są wystarczająco proste i wydajne, aby mogły

być rozpatrywane jako techniki ekstrakcyjne do procedur oznaczania pozostałości pestycydów w próbkach o złożonym składzie matrycy.

Tabela 1

Metodyki analizy pozostałości pestycydów w próbkach żywności

	Krótki opis metodyki	Lit.
lata 60. XX wieku	Metodyka opracowana przez Millsa pozwalająca na ekstrakcję insektycydów chloroorganicznych i innych niepolarnych pestycydów z żywności o małej zawartości tłuszczu za pomocą acetonitrylu, który był następnie rozcieńczany wodą. Po ekstrakcji tej mieszaniny za pomocą niepolarnego rozpuszczalnika (eter naftowy) możliwe było oznaczenie niepolarnych analitów. Jednak, względnie polarne pestycydy, jak insektycydy fosforoorganiczne, były częściowo tracone na tym etapie analizy.	[1]
	Metodyki będące w rzeczywistości niewielkimi modyfikacjami metody Millsa, w których również przeprowadzano ekstrakcję acetonitrylem, natomiast inne były etapy rozdzielania, oczyszczania czy oznaczania końcowego. Celem tych modyfikacji było rozszerzenie możliwości analitycznych procedury Millsa tak, aby możliwe było jej zastosowanie do związków o różnej polarności.	[2, 3]
lata 70. XX wieku	Nowa metodyka oznaczania szerokiego spektrum pozostałości pestycydów o różnej polarności (chloro-, fosforo- oraz azotoorganicznych), w której zamiast acetonitrylu do początkowej ekstrakcji stosowano aceton. Kolejnym etapem procedury była ekstrakcja w układzie ciecz-ciecz z zastosowaniem niepolarnych rozpuszczalników (jak dichlorometan czy mieszanina dichlorometan-eter naftowy) w celu usunięcia wody z ekstraktu. Była to pierwsza metodyka, w której dodawano również roztworu chlorku sodu do pierwszego ekstraktu, co jednak powodowało tylko częściowe nasycenie fazy wodnej solą.	[4]
	Metodyki oznaczania pozostałości różnych pestycydów, w których dodawano chlorku sodu do nasycenia fazy wodnej, co zwiększało ilość acetonu w fazie organicznej, zwiększając polarność tej fazy, i w konsekwencji prowadziło do większych odzysków polarnych analitów.	[5, 6]
lata 80. XX wieku	Procedury, w których wprowadzano operacje i procesy niepociągające za sobą konieczności używania dużych ilości chlorowanych rozpuszczalników, chlorowane rozpuszczalniki, zastępowano innymi, np. mieszaniną cykloheksan-octan etylu (1:1) zamiast dichlorometanu czy mieszaniną dichlorometan-eter naftowy (1:1), aby zainicjować rozdzielanie. W dalszym ciągu do początkowej ekstrakcji najczęściej stosowano aceton.	[7, 8]
	Procedury, w których zaczęto stosować technikę ekstrakcji do fazy stałej (SPE) do izolacji pestycydów z rozcieńczonych acetonowych ekstraktów, w celu uniknięcia konieczności stosowania ekstrakcji w układzie ciecz-ciecz.	[9, 10]
	Metodyki, w których stosowano fruktozę bądź sole, np. $MgSO_4$ i/lub $NaCl$ do rozdzielania wody i acetonu, zamiast używać niepolarnych rozpuszczalników.	[11, 12]
	Procedury, w których podjęto próby usunięcia fazy wodnej z ekstraktów poprzez jej wymrożenie. Jednak, aceton zbyt dobrze miesza się z wodą, aby możliwe było łatwe rozdzielanie wody od acetonu bez konieczności stosowania niepolarnych rozpuszczalników.	[13]
	Procedury będące modyfikacjami metodyki Millsa, w których przeprowadzano ekstrakcję za pomocą acetonitrylu, a następnie, zamiast niepolarnego współrozpuszczalnika, dodawano soli, np. $NaCl$. W przypadku zastosowania acetonitrylu dodatek soli zapewnia wystarczające oddzielenie wody.	[14]
	Kolejne metodyki oznaczania pozostałości pestycydów w próbkach żywności, korzystające z wysalania z acetonitrylu.	[15-17]
	Procedury MRM z użyciem octanu etylu, który tylko częściowo miesza się z wodą, co czyni dodawanie niepolarnych współrozpuszczalników, w celu oddzielenia wody od ekstraktu, zbędnym etapem. Jednak niektóre z najbardziej polarnych pestycydów nie rozdzielają się w octanie etylu. Dlatego też, aby zwiększyć odzyski związków polarnych, zazwyczaj dodawano większych ilości Na_2SO_4 (w celu związania wody).	[18, 19]
Kolejne metodyki oznaczania pozostałości pestycydów z użyciem octanu etylu. W celu zwiększenia polarności fazy organicznej stosowano polarne współrozpuszczalniki, takie jak metanol czy etanol.	[20]	

lata 90. XX wieku	Rozwój zielonej chemii analitycznej, zgodnej z koncepcją rozwoju zrównoważonego, doprowadził do rozwoju wielu nowych alternatywnych technik ekstrakcyjnych, takich jak: ekstrakcja za pomocą płynu w stanie nadkrytycznym (SFE), ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika wspomagana promieniowaniem mikrofalowym (MAE), ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika z próbki zmieszanej z wypełniaczem (MSPD), mikroekstrakcja do fazy stałej (SPME) oraz przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika (PLE, znana również jako ASE).	
-------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--

Tabela 2

Porównanie nowoczesnych technik ekstrakcyjnych najczęściej stosowanych w analizie próbek żywności pod kątem zawartości pestycydów

Technika	Zalety	Wady	Lit.
ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika wspomagana promieniowaniem mikrofalowym	<ul style="list-style-type: none"> - łatwość wykonania, - możliwość prowadzenia jednocześnie ekstrakcji kilku próbek, - zużycie niewielkich ilości rozpuszczalników, - krótki czas ekstrakcji, 	<ul style="list-style-type: none"> - niewystarczająca selektywność ekstrakcji, - konieczność oddzielenia ekstraktu od pozostałości poekstrakcyjnej, - brak możliwości ekstrakcji analitów nietrwałych termicznie, 	[21]
przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika	<ul style="list-style-type: none"> - możliwość automatyzacji procesu ekstrakcji pozwalająca realizować wszystkie etapy procesu w identyczny sposób, - krótki czas ekstrakcji, - możliwość ekstrakcji analitów nietrwałych termicznie, - umiarkowane zużycie rozpuszczalników, - łatwość przygotowania próbki do analizy, 	<ul style="list-style-type: none"> - duży koszt aparatury oraz jej utrzymania, - mała selektywność ekstrakcji, - konieczność czasochłonnego oczyszczania ekstraktów oraz aparatury po każdym użyciu, 	[22-24]
ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika próbki zmieszanej z wypełniaczem	<ul style="list-style-type: none"> - stosunkowo mały koszt analizy, - prostota wyposażenia - możliwość wykonywania kilku analiz równocześnie, - możliwość przeprowadzenia w warunkach <i>in situ</i>, - możliwość ograniczenia użycia dużych ilości toksycznych rozpuszczalników, 	<ul style="list-style-type: none"> - brak możliwości zapewnienia wystarczająco szerokiego zakresu analitycznego w pojedynczej procedurze, - czasem małe odzyski analitów, 	[25]
mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej	<ul style="list-style-type: none"> - możliwość całkowitego wyeliminowania użycia rozpuszczalników, - brak wrażliwości na zawiesiny, - ograniczona pojemność adsorbentu, dzięki czemu nie ma możliwości „przeładowania” kolumny w przypadku obecności w próbce dużej ilości analizowanych związków, - możliwość wielokrotnego powtórzenia analizy danej próbki, - możliwość wielokrotnego używania jednego włókna bez strat w adsorbowanej substancji, - możliwość używania do analiz chromatografów ze zwykłymi dozownikami - nie ma konieczności wprowadzania żadnych poważniejszych zmian w ich konstrukcji, 	<ul style="list-style-type: none"> - brak możliwości zapewnienia wystarczająco szerokiego zakresu analitycznego w pojedynczej procedurze, - trudności z odtwarzalnością wyników, często problemy z optymalizacją metody, 	[26, 27]

ekstrakcja za pomocą pływu w stanie nadkrytycznym	<ul style="list-style-type: none"> - możliwość znacznego zmniejszenia zużycia rozpuszczalników, - możliwość ekstrakcji analitów nietrwałych termicznie, - możliwość prowadzenia ekstrakcji frakcjonowanej, - krótki czas ekstrakcji, - stosunkowo niewielka pracochłonność ze względu na zastosowanie wyspecjalizowanego urządzenia pozwalającego na przeprowadzanie ekstrakcji w ciągły półautomatyczny sposób, 	<ul style="list-style-type: none"> - duży koszt aparatury i jej utrzymania, - mała selektywność ekstrakcji, - konieczność czasochłonnego oczyszczania ekstraktów oraz urządzenia po każdym użyciu. 	[28]
---------------------------------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------

Pomimo wielu różnych metodyk oznaczania pozostałości, które zostały opisane w ciągu ostatnich 40-50 lat, żadna z nich, jak dotąd, nie może być uważana za szybką i łatwą procedurę analityczną zapewniającą selektywność i powtarzalność przy jednoczesnym zachowaniu dużych odzysków dla szerokiego spektrum analitów.

Celem tej pracy jest przedstawienie czytelnikom prostej, szybkiej i niedrogiej procedury oznaczania pozostałości pestycydów w żywności, która dostarcza rzetelnych wyników, a jednocześnie umożliwia zmniejszenie ilości niezbędnych etapów analitycznych, odczynników i szkła laboratoryjnego. Metodyka ta upraszcza etapy ekstrakcji analitów i oczyszczania ekstraktów bez negatywnego wpływu na ilość odzyskanych analitów.

Metodyka analityczna QuEChERS

Anastassiades i współpr. [29, 30] opracowali oryginalną metodykę analityczną łączącą technikę ekstrakcji/izolacji różnorodnych pestycydów z próbek żywności oraz oczyszczania tych ekstraktów i nazwali ją „QuEChERS”, od angielskich słów:

- **Quick** - szybka,
- **Easy** - łatwa,
- **Cheap** - tania,
- **Effective** - skuteczna,
- **Rugged** - tolerancyjna, elastyczna,
- **Safe** - bezpieczna.

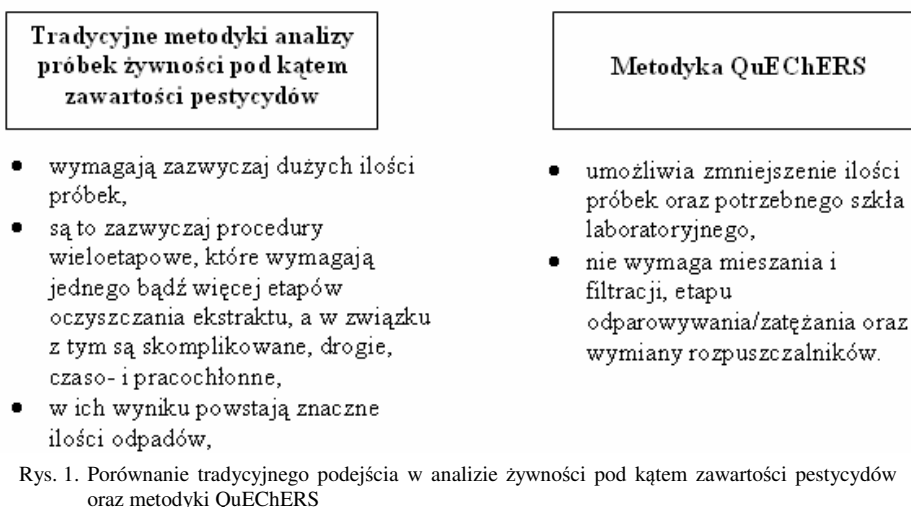
Technika ta polega na ekstrakcji za pomocą acetonitrylu w skali mikro i oczyszczaniu ekstraktu z wykorzystaniem dyspersyjnej wersji techniki ekstrakcji do fazy stałej (d-SPE).

Na rysunku 1 przedstawiono porównanie tradycyjnych metod oznaczania pestycydów w żywności oraz nowej metodyki QuEChERS. Wyraźnie wynika z niego, że zastosowanie metodyki QuEChERS pozwoli zmniejszyć ilość etapów procedury analitycznej. Jest to bardzo ważne, gdyż każdy dodatkowy etap komplikuje procedurę, jest również potencjalnym źródłem błędów.

Opracowanie nowej metodyki wymaga ustosunkowania się m.in. do następujących kwestii:

- sposobu rozdrobnienia próbki i jej ilości,
- wyboru rozpuszczalnika do ekstrakcji,
- wyboru odpowiedniego współczynnika „ilość próbki/ilość ekstrahenta”,
- sposobu prowadzenia ekstrakcji - wstrząsanie czy mieszanie,

- sposobu zainicjowania rozdzielenia faz,
- sposobu oczyszczania ekstraktu.



Sposób rozdrobnienia próbki i jej ilość

Najprostszym sposobem poprawienia wydajności metody analitycznej jest zredukowanie rozmiaru próbki do najmniejszej jej ilości, która pozwoli otrzymać rzetelne wyniki. W większości metodyk oznaczania pozostałości potrzebna ilość próbki to ok. 50÷100 g. Taka ilość próbki musi zostać rozdrobniona za pomocą odpowiednich urządzeń i technik, a w przypadku żywności również w odpowiednich warunkach. Tak przygotowana próbka żywności o masie ok. 10 g została uznana jako odpowiednia w przypadku metodyki QuEChERS. Należy pamiętać, że im lepiej rozdrobniona próbka, tym lepsza penetracja matrycy przez rozpuszczalnik.

Wybór rozpuszczalnika do ekstrakcji

W przypadku oznaczania pozostałości pestycydów w próbkach żywności najczęściej stosowanymi rozpuszczalnikami były i są: aceton [4, 5, 11, 13, 29], octan etylu [18-20] i acetonitryl [1-3, 15-17], gdyż wszystkie one pozwalają osiągnąć duże odzyski analitów. W tabeli 3 przedstawiono wady i zalety tych rozpuszczalników. Ponieważ jednak po ekstrakcji z próbek żywności (owoców i warzyw) ekstrakty acetonirylem zawierają mniej substancji przeszkadzających niż ekstrakty octanem etylu i acetonem oraz stosunkowo łatwo można oddzielić acetonitryl od wody (za pomocą dodatku soli), to acetonitryl został wybrany jako rozpuszczalnik ekstrakcyjny w przypadku stosowania metodyki QuEChERS.

Tabela 3

Porównanie rozpuszczalników najczęściej stosowanych w analizie żywności pod kątem zawartości pestycydów

Rozpuszczalnik	Zalety	Wady
acetonitryl	- jest możliwe łatwe i skuteczne oddzielenie acetonitrylu od wody, używając dodatku soli zamiast niepolarnych rozpuszczalników	- ekstrakty zawierają substancje przeszkadzające
aceton	- dobrze miesza się z wodą	- nie jest możliwe rozdzielanie wody i acetonu bez użycia niepolarnych rozpuszczalników
octan etylu	- tylko częściowo miesza się z wodą, co czyni dodawanie niepolarnych rozpuszczalników, aby oddzielić go od wody, zbędnym etapem	- niektóre z najbardziej polarnych pestycydów nie rozdzielają się w nim, - jego używanie pociąga za sobą izolację z badanej próbki znacznych ilości niepolarnych substancji przeszkadzających, takich jak lipidy czy wosk epikutylarny, które należy usunąć przed etapem oznaczeń końcowych, oczyszczenie tak otrzymanego ekstraktu wymaga czasochłonnej techniki, np. chromatografii żelowej (GPC), co również skutkuje powstaniem dużych ilości odpadów.

Współczynnik „ilość próbki/ilość ekstrahenta”

Im mniejsza ilość ekstrahenta jest używana na jednostkę masy próbki, tym bardziej skoncentrowany ekstrakt można otrzymać. Pozwala to uniknąć etapu odparowywania rozpuszczalnika i, przynajmniej teoretycznie, obniża granicę wykrywalności. W trakcie opracowywania metodyki QuEChERS autorzy porównali dwa współczynniki „ilość próbki/ilość ekstrahenta”:

- 1/1 - 10 g próbki + 10 cm³ ekstrahenta,
- 2/1 - 10 g próbki + 5 cm³ ekstrahenta.

Okazało się, że odzyski dla najbardziej polarnych pestycydów w przypadku zastosowania współczynnika „ilość próbki/ilość ekstrahenta” równego 2/1 nie były tak duże jak w przypadku współczynnika 1/1. Mimo to odzyski wszystkich pestycydów wynosiły ponad 75% zarówno dla współczynnika 2/1, jak i 1/1.

Wstrząsanie czy mieszanie

Zdaniem autorów metodyki QuEChERS, wstrząsanie powinno być zawsze rozpatrywane przed mieszaniem z użyciem określonych urządzeń (mieszalników), o ile oczywiście ekstrakcja wspomagana wstrząsaniem dostarcza możliwe do przyjęcia wyniki, np. dla materiałów odniesienia. Na poparcie swojego twierdzenia przywołują następujące zalety wstrząsania nad mieszaniem:

- w trakcie wstrząsania próbka nie jest narażona na kontakt z metalowymi powierzchniami, które występują w mieszalnikach,
- w razie potrzeby wstrząsanie może być wykonane ręcznie zarówno w laboratorium, jak i w terenie,
- brak konieczności czyszczenia pojemnika na próbkę w mieszalniku między ekstrakcjami kolejnych próbek,

- wstrząsanie odbywa się w zamkniętym naczyniu, co jest bezpieczniejsze ze względu na brak emisji par rozpuszczalnika,
- nie jest potrzebna dodatkowa ilość rozpuszczalnika do płukania naczynia, w którym odbywało się mieszanie,
- koszt zakupu i utrzymania wytrząsarki jest mniejszy niż mieszalnika,
- w trakcie mieszania w mieszalniku generowane jest ciepło wywołane przez tarcie (szczególnie w przypadku dodatku soli), wstrząsanie eliminuje ten problem.

Sposób zainicjowania rozdzielania faz

Aby uniknąć stosowania często toksycznych i drogich współrozpuszczalników, opracowując metodykę QuEChERS, przeprowadzono szereg eksperymentów z dodatkiem różnych soli, które miały zainicjować rozdzielanie faz wodnej i organicznej. Zastosowanie różnych soli umożliwiło analizę pestycydów o różnej polarności. Spośród soli, które badano, siarczan magnezu zapewniał najbardziej kompletną ekstrakcję ciecz-ciecz, co miało bezpośrednie przełożenie na największe odzyski pestycydów, szczególnie tych najbardziej polarnych, jak metamidofos, acefat czy ometoat. Do dalszych eksperymentów wybrano mieszaninę 4 g $MgSO_4$ i 1 g NaCl.

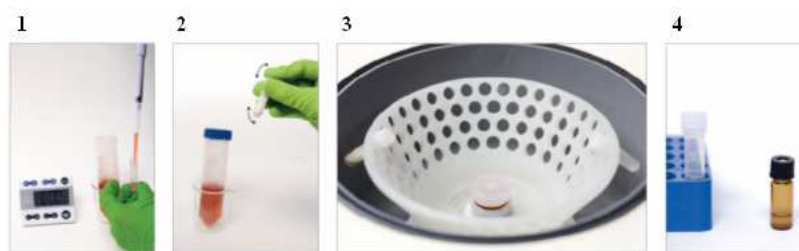
Sposób oczyszczania ekstraktu

W konwencjonalnej odmianie techniki ekstrakcji do fazy stałej używa się najczęściej plastikowych bądź szklanych kolumniek wypełnionych złożem ekstrakcyjnego o masie 250÷1000 mg. Niezbędny jest też zestaw do oczyszczania i wzbogacania ekstraktów techniką ekstrakcji do fazy stałej (komora próżniowa ze szkła borokrzemianowego, pokrywa, króćce i zawory, manometr kontrolny, pompa próżniowa, odbieralnik rozpuszczalnika i odbieralnik próbki), a także etap kondycjonowania złoża i odparowywania rozpuszczalnika. Chociaż technika SPE z zastosowaniem kolumniek ekstrakcyjnych ma wiele zalet, nie jest jednak techniką idealną. Dlatego w metodyce QuEChERS zastosowano tzw. dyspersyjny wariant techniki SPE (d-SPE), który pozwala na oszczędność czasu, wysiłku, pieniędzy i rozpuszczalników w porównaniu z tradycyjną SPE, co świetnie ilustruje rysunek 2 [31], przedstawiający schemat postępowania w dyspersyjnej technice SPE.

Probówki zawierające złożo materiału ekstrakcyjnego do d-SPE można przygotować w laboratorium, ale również są one dostępne handlowo i mogą zawierać:

- siarczan magnezu - w celu rozdzielania wody od rozpuszczalnika organicznego,
- złożo zawierające pierwszorzędowe i drugorzędowe grupy aminowe (PSA) - w celu usunięcia cukrów i kwasów tłuszczowych,
- złożo sadzy grafityzowanej (GBC) - w celu usunięcia barwników i steroli,
- złożo C_{18} - w celu usunięcia niepolarnych substancji przeszkadzających, takich jak lipidy.

Na rysunku 3 [29, 33, 35] przedstawiono porównanie dwóch odmian techniki ekstrakcji do fazy stałej: tradycyjnej (kolumnowej) oraz dyspersyjnej SPE. Na tej podstawie wybrano dyspersyjną odmianę techniki SPE na złożu PSA.



1. Przeniesienie odwirowanego ekstraktu do probówki zawierającej złożę odpowiedniego sorbentu/sorbentów.
2. Energiczne wstrząsanie (ok. 30 s - 2 min).
3. Wirowanie (5 min, 3000 obr./min) w celu oddzielenia złoża sorbentu od oczyszczonego ekstraktu.
4. Natychmiastowe nastawienie miana pH (jeśli jest to konieczne). Ekstrakt tak przygotowany jest gotowy do oznaczeń końcowych techniką GC lub LC.

Rys. 2. Schemat postępowania w przypadku techniki d-SPE

Tradycyjne kolumnowe SPE	Dyspersyjne SPE oraz d-SPE
<ul style="list-style-type: none"> • zapewnia lepsze oczyszczenie próbki, • wymaga większej ilości próbki, • wymaga kondycjonowania złoża i etapu odparowania rozpuszczalnika. 	<ul style="list-style-type: none"> • umożliwia otrzymanie większych i bardziej powtarzalnych odzysków analitów o właściwościach kwasowych bądź zasadowych (np. acefat, karbendazym, imazalil, metamidofos, pymetrozyna i tiabendazol), • nie wymaga kondycjonowania złoża i etapu odparowania rozpuszczalnika, jest więc szybszą techniką, • wymaga mniejszej ilości próbki, sorbentu oraz sprzętu, jest więc techniką tańszą i łatwiejszą, • może być stosowana tylko, gdy na złożu sorbentu zatrzymywane są substancje przeszkadzające, a nie analit.

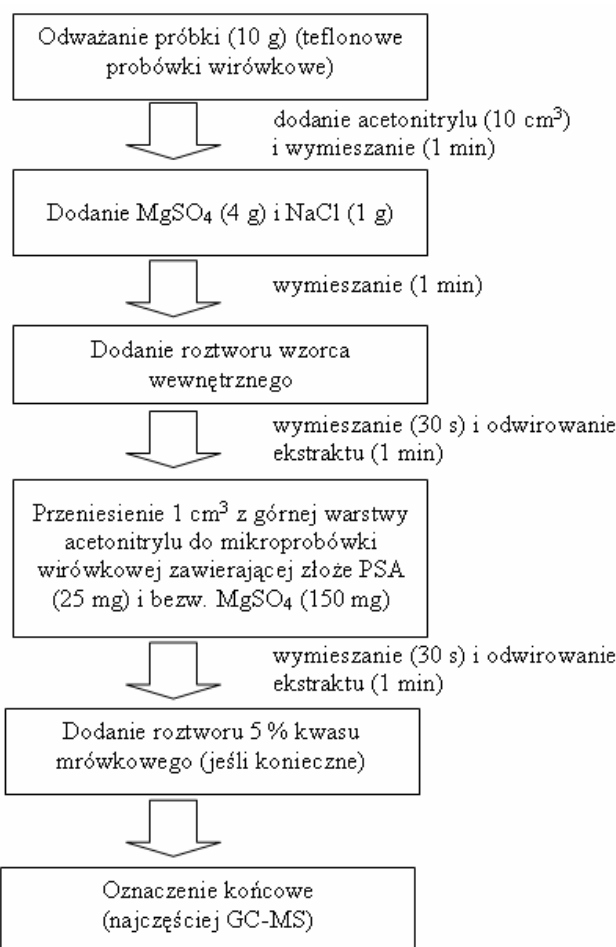
Rys. 3. Porównanie tradycyjnego kolumnowego SPE oraz dyspersyjnego SPE

Oznaczanie pozostałości pestycydów w owocach i warzywach

Opracowana przez Anastasiadesa i współpracowników w 2003 roku [29] procedura (rys. 4) polegała na ekstrakcji przez wirowanie próbki żywności z acetonitrylem. Wodę i acetonitryl rozdzielano, dodając do ekstraktu bezwodnego siarczanu magnezu oraz chlorku sodu. Następnie ekstrakt oczyszczano przy użyciu techniki d-SPE z zastosowaniem złoża PSA, które efektywnie usuwa wiele polarnych substancji przeszkadzających, znajdujących się w próbkach żywności. Tak przygotowane ekstrakty były gotowe do oznaczeń końcowych.

Kontynuacją badań Anastasiadesa i współpracowników była przeprowadzona przez Lehotaya i współpracowników w 2005 roku [32] walidacja procedury dla ponad 200 różnych pestycydów w kilkunastu próbkach o zróżnicowanym składzie matrycy. Na etapie oznaczeń końco-

wych wykorzystano chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas (GC-MS) oraz chromatografię cieczową z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS). Otrzymane wyniki były bardzo dobre dla większości pozostałości analizowanych pestycydów w warzywach i owocach, wyjątek stanowiły pewne pestycydy stabilne wyłącznie w środowisku o określonym pH. W próbkach, których matryce nie zawierają kwasów, jak sałata, zaobserwowano degradację pestycydów wrażliwych w środowisku zasadowym, takich jak kaptan, folpet, dichlorofluanid i chlorotalonil. Problem ten jednak przezwyciężono, dodając podczas ekstrakcji 0,1% roztworu kwasu octowego lub mrówkowego [33, 34]. Dla różnych warzyw i owoców z dodatkiem pestycydów zarówno polarnych, jak i zasadowych otrzymano odzyski przekraczające zazwyczaj 90% oraz powtarzalność najczęściej mniejszą niż 5% (miarą powtarzalności jest odchylenie standardowe powtarzalności oznaczeń).



Rys. 4. Główne etapy procedury analitycznej wykorzystywanej do oznaczania pestycydów w próbkach żywności (owoce i warzywa)

Oznaczanie pozostałości pestycydów w żywności o dużej zawartości tłuszczu

Bardzo dobre wyniki, które udało się otrzymać, stosując metodykę QuEChERS do analizy warzyw i owoców, spowodowały zainteresowanie tą procedurą i próby jej zastosowania do oznaczania pozostałości pestycydów w żywności zawierającej większe ilości tłuszczu [35].

Lehotay i współpr. [35] postawili sobie za cel oznaczyć zawartość pozostałości pestycydów w żywności zawierającej do 20% tłuszczu (mleko i jaja) metodyką QuEChERS. Uznali oni, że w żywności zawierającej od 2 do 20% tłuszczu mogą występować pozostałości zarówno lipofilowych, jak i hydrofilowych pestycydów, stąd słuszność poszukiwania i rozwoju metod analitycznych pozwalających na jednoczesne oznaczanie analitów o szerokim spektrum polarności. Do żywności takiej zaliczyć można m.in. mleko, jaja, orzechy, kukurydzę, soję, pszenicę oraz inne ziarna, ryby i owoce morza, a także nerki, wątrobę i mięso drobiowe, wieprzowe czy też wołowe, również awokado. Natomiast w żywności zawierającej powyżej 20% tłuszczu (m.in. oleje roślinne, tłuszcz zwierzęcy oraz masło) występują głównie anality niepolarne, stąd brak konieczności opracowywania metodyk analitycznych pozwalających na oznaczanie polarnych pestycydów w próbkach o takim składzie matrycy.

Chociaż tłuszcze nie rozpuszczają się najlepiej w acetonitrylu, jednak pewne ich ilości będą się współekstrahowały z analitami, stąd konieczność usunięcia ich przed etapem oznaczeń końcowych. Dlatego też modyfikacje metodyki QuEChERS zmierzające do zastosowania jej do analizy żywności zawierającej tłuszcz rozpoczęto od ponownego ocenienia etapu oczyszczania ekstraktu. W przypadku próbek praktycznie niezawierających tłuszczu (owoce i warzywa) oczyszczanie za pomocą techniki d-SPE (na złożu PSA z dodatkiem bezwodnego $MgSO_4$) zapewniało możliwość usunięcia substancji przeszkadzających bez negatywnego wpływu na odzysk analitów [29]. W przypadku „tłustych” próbek oczyszczanie ekstraktów na złożu sadzy grafityzowanej (GCB) najlepiej spośród analizowanych złożów usuwało substancje przeszkadzające, usuwało jednak równocześnie niektóre pestycydy, jak terbufos, tiabendazol, heksachlorobenzen i inne - zawierające w molekułę płaskie pierścienie. Dlatego porównano efektywność oczyszczania takich „tłustych próbek”, jak jaja, mleko, awokado i tkanki zwierzęce, metodyką QuEChERS z wykorzystaniem takich sorbentów, jak PSA, GCB i C_{18} za pomocą różnych odmian techniki SPE (tradycyjnej i d-SPE). Porównano również „oryginalną” metodykę QuEChERS, w której zastosowano $NaCl$ i $MgSO_4$, aby zapoczątkować rozdzielenie acetonitrylu i wody, oraz procedurę zmodyfikowaną, w której do acetonitrylu dodano 1% roztworu lodowatego kwasu octowego i soli sodowej kwasu octowego zamiast $NaCl$, aby osiągnąć stałe pH procedury niezależnie od początkowego pH próbki.

Okazało się, że zastosowanie zmodyfikowanej metodyki QuEChERS pozwoliło na otrzymanie większych odzysków analitów i większej stabilności tych pestycydów, które są wrażliwe na zmiany pH, dlatego w dalszych eksperymentach stosowano tę metodę [33]. Dowiedziono również, iż zastosowanie złoża sadzy grafityzowanej do oczyszczania próbek może mieć miejsce tylko w przypadku analizowania ich pod kątem zawartości pestycydów innych niż anality zawierające płaskie pierścienie w molekułę. Zastosowanie kombinacji sorbentów PSA i C_{18} na etapie oczyszczania ekstraktów za pomocą techniki d-SPE pozwoliło na efektywne oczyszczanie próbek w przypadku konieczności oznacze-

nia analitów zawierających płaskie pierścienie w molekuale. Udowodniono też, że tradycyjna kolumnowa technika ekstrakcji do fazy stałej zastosowana w zmodyfikowanej metodyce QuEChERS pozwala na usunięcie większej ilości substancji przeszkadzających z ekstraktów z jaj niż technika d-SPE [35].

Podjęto również próby zastosowania metodyki QuEChERS do badań analitycznych innych próbek żywności o dużej zawartości tłuszczu, jak oliwki i olej z oliwek, pod kątem zawartości pestycydów należących do różnych klas [36] (chloroorganiczne, fosforoorganiczne oraz triazyny). Na etapie oczyszczania ekstraktów zastosowano mieszaninę 3 sorbentów: C₁₈, PSA i GCB, otrzymując obiecujące wyniki. Dla większości analitów otrzymano duże odzyski, jedynie dla mało polarnych analitów (chloroorganiczne) odzyski były mniejsze niż 70%.

Podsumowanie

Zmodyfikowana metodyka QuEChERS z wykorzystaniem dyspersyjnego wariantu techniki SPE jest łatwym i szybkim podejściem w przypadku konieczności przygotowania próbki pod kątem analizy zawartości pozostałości pestycydów. Jednak wydaje się, iż nie nadaje się do zastosowania w przypadku ekstrakcji lipofilowych pestycydów z próbek żywności o dużej zawartości tłuszczu. Może być natomiast przydatna do ekstrakcji pestycydów polarnych i średniopolarnych z żywności o różnej zawartości tłuszczu. Z całą pewnością jest to użyteczna technika ekstrakcyjna w przypadku analizy żywności niezawierającej tłuszczu pod kątem zawartości pestycydów o szerokim zakresie polarności.

Spis akronimów

Akronim	Termin obcojęzyczny	Termin polski
ASE	Accelerated Solvent Extraction	Przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika
FDA	Food and Drug Administration	Agencja ds. Żywności i Leków
GC-MS	Gas Chromatography - Mass Spectrometry	Chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas
GCB	Graphitized Carbon Black	Sadza (czerni węglowa) grafityzowana
GPC	Gel Permeation Chromatography	Chromatografia żelowa
LC-MS/MS	Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry	Chromatografia cieczowa sprzężona z tandemową spektrometrią mas
MAE	Microwave - Assisted Extraction	Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika wspomagana promieniowaniem mikrofalowym
MRMs	Multi-Residue Methods	Metodyki oznaczania pozostałości
MSPD	Matrix Solid Phase Dispersion	Ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika z próbki zmieszanej z wypełniaczem
PLE	Pressurized Liquid Extraction	Przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika
PSA	Primary Secondary Amine	Złoże zawierające pierwszorzędowe i drugorzędowe grupy aminowe
SFE	Supercritical Fluid Extraction	Ekstrakcja za pomocą płynu w stanie nadkrytycznym
SPE	Solid Phase Extraction	Ekstrakcja do fazy stałej
SPME	Solid Phase Microextraction	Mikroekstrakcja do fazy stałej

Literatura

- [1] Mills P.A., Onley J.H. i Guither R.A.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1963, **46**, 186-191.
- [2] Thier H.P. i Bergner K.G.: *Dtsch. Lebensm. Rundsch.*, 1966, **62**, 399-402.
- [3] Storherr R.W., Ott P. i Watts R.R.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1971, **54**, 513-516.
- [4] Becker G.: *Dtsch. Lebensm. Rundsch.*, 1971, **67**, 125-126.
- [5] Luke M., Froberg J.E. i Masumoto H.T.: *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1975, **58**, 1020-1026.
- [6] Specht W. i Tilkes M.: *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1980, **301**, 300-307.
- [7] Specht W., Pelz S. i Gilsbach W.: *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1995, **353**, 183-190.
- [8] Anastassiades M. i Scherbaum E.: *Dtsch. Lebensm. Rundsch.*, 1997, **93**, 316-327.
- [9] Casanova J.: *J. AOAC Int.*, 1996, **79**, 936-940.
- [10] Nordenmeyer K. i Thier H.P.: *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A.*, 1999, **208**, 259-263.
- [11] Luke M., Cassias I. i Yee S.: *Lab. Inform. Bull. No. 4178 Office of Regulatory Affairs, U.S. Food and Drug Administration, Rockville* 1999.
- [12] Schenck F.J., Callery P., Gannett P.M., Daft J.R. i Lehotay S.J.: *J. AOAC Int.*, 2002, **85**, 1177-1180.
- [13] Parfitt C.H.: *Lab. Inform. Bull. No. 3616 Office of Regulatory Affairs, U.S. Food and Drug Administration, Rockville* 1991.
- [14] Lee S.M., Papathakis M.L., Hsiao-Ming C.F. i Carr J.E.: *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1991, **339**, 376-383.
- [15] Fillion J., Sauve F. i Selwyn J.: *J. AOAC Int.*, 2000, **83**, 698-713.
- [16] Lehotay S.J.: *J. AOAC Int.*, 2002, **83**, 680-697.
- [17] Lehotay S.J., Lightfield A.R., Harman-Fetcho J.A. i Donoghue D.A.: *J. Agric. Food Chem.*, 2001, **51**, 4589-4596.
- [18] Andersson A. i Palsheden H.: *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1991, **339**, 365-367.
- [19] Fernandez-Alba A.R., Valverde A., Aguera A. i Contreras M.: *J. Chromatogr. A*, 1993, **686**, 263-271.
- [20] Holstege D.M., Scharberg D.L., Tor E.R., Hart L.C. i Galey F.D.: *J. AOAC Int.*, 1994, **77**, 1263-1274.
- [21] Camel V.: *Trends Anal. Chem.*, 2000, **19**, 229-248.
- [22] Giergielewicz-Możajska H., Dąbrowski Ł. i Namieśnik J.: *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 2001, **31**, 149-165.
- [23] Ramos L., Kristenson E.M. i Brinkman U.A.Th.: *J. Chromatogr. A*, 2002, **975**, 3-29.
- [24] Carabias-Martinez R., Rodriguez-Gonzalo E., Revilla-Ruiz P. i Hernandez-Mendez J.: *J. Chromatogr. A*, 2005, **1089**, 1-17.
- [25] Valsamaki V.I., Boti V.I., Sakkas V.A. i Albanis T.A.: *Anal. Chim. Acta*, 2006, **573-574**, 195-201.
- [26] Pawliszyn J.: *Solid Phase Microextraction, Theory and Applications*. Wiley-VCH, New York 1997.
- [27] Wardencki W., Michulec M. i Curyło J.: *J. Food Sci. Technol.*, 2004, **39**, 703-717.
- [28] Camel V.: *J. Chromatogr. A*, 1998, **26**, 99-111.
- [29] Anastassiades M., Lehotay S.J., Stajnbaher D. i Schenck F.J.: *J. AOAC Int.*, 2003, **86**, 412-431.
- [30] Sadowska-Rociek A. i Cieślak E.: *Chem. Dydak. Ekol. Metrol.*, 2008, **13**(1/2), 33-38.
- [31] <http://www.restek.com/restek/images/external/805-01-003.pdf>
- [32] Lehotay S.J., de Kok A., Hiemstra M. i van Bodegraven P.: *J. AOAC Int.*, 2005, **88**, 595-614.
- [33] Lehotay S.J., Mastovska K. i Lightfield A.R.: *J. AOAC Int.*, 2005, **88**, 615-629.
- [34] Mastovska K. i Lehotay S.J.: *J. Chromatogr. A*, 2004, **1040**, 259-272.
- [35] Lehotay S.J., Mastovska K. i Yun S.J.: *J. AOAC Int.*, 2005, **88**, 630-638.
- [36] Garcia-Reyes J.F., Ferrer C., Gomez-Ramos M.J., Molina-Diaz A. i Fernandez-Alba A.R.: *Trends Anal. Chem.*, 2007, **26**, 239-251.

QUECHERS APPROACH FOR THE DETERMINATION OF PESTICIDE RESIDUES IN FOOD MATRIXES

Department of Analytical Chemistry, Chemical Faculty, Gdansk University of Technology

Abstract: Pesticide-residue determination in food samples is becoming a very challenging issue because of large amounts of interferences, such as proteins, saccharides and fats, which in most cases cause negative impact on the method. On the other hand, ensuring „food safety” requires monitoring pesticide residues. For this task, the development of multi-residue methods, which allow proper control of a large number of pesticides in a unique analysis, is the most common strategy. However, the different classes and physicochemical properties makes it difficult to develop methodologies that cover all the analytes under one study.

Keywords: pesticides, food, sample preparation, extraction, clean-up, QuEChERS method

Henryk MATUSIEWICZ^{*1} i Piotr GAŁA^{*}

OZNACZANIE ŚLADOWYCH ILOŚCI PLATYNOWCÓW I WYBRANYCH PIERWIASTKÓW W PRÓBKACH ŚRODOWISKOWYCH Z ZASTOSOWANIEM TECHNIKI OPTYCZNEJ SPEKTROMETRII EMISYJNEJ

OPTICAL EMISSION SPECTROMETRY FOR DETERMINATION OF TRACE AMOUNTS OF PLATINUM METALS (Pt, Pd, Ru, Rh, Ir) AND Ca, Mg, Pb, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd IN ENVIRONMENTAL SAMPLES

Abstrakt: Rozwojowi technologicznemu powinna towarzyszyć dbałość o środowisko naturalne. Zdarza się jednak, że przy likwidacji jednego zanieczyszczenia powstaje inne. Tak stało się, gdy wprowadzono katalizatory samochodowe. Platynowce, które zostały zastosowane w budowie konwerterów katalitycznych, będących częścią układu wydechowego pojazdów, przedostają się do środowiska, przyczyniając się do zanieczyszczenia gleby, roślin i zbiorników wodnych. Oznaczanie zawartości platynowców w próbkach środowiskowych we frakcjach o różnym rozmiarze cząstek stałych jest zadaniem wymagającym opracowania metody analitycznej, pozwalającej na oznaczenie pierwiastków na poziomie ng/g. Tak małe zawartości tych analitów powodują konieczność oddzielania ich od matrycy oraz wzbogacania pierwiastków obecnych w próbce. W pracy przedstawiono metodę oznaczania platynowców (Pt, Pd, Ru, Rh oraz Ir) oraz wybranych pierwiastków (Ca, Mg, Pb, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn i Cd) w certyfikowanych materiałach odniesienia (kurz uliczny, kurz drogowy) i próbkach rzeczywistych (kurz uliczny, kurz drogowy oraz pył z instalacji przemysłowej). Stałe próbki środowiskowe roztworzono w wysokociśnieniowym, wysokotemperaturowym systemie mikrofalowym. Pierwiastki wzbogacono na węglu aktywnym. Dodatkowo w celu zwiększenia lotności pierwiastków zastosowano modyfikatory chemiczne - PTFE (gaz, emulsja) oraz tiomocznik (roztwór), służący do modyfikacji powierzchni węgla aktywnego. Zastosowano technikę elektrotermicznego odparowania w optycznej emisyjnej spektrometrii ze wzbudzeniem w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ETV-ICP-OES) w celu oznaczania platynowców i 11 wybranych pierwiastków. Sprawdzone przydatność zastosowanej metody w celu oznaczania śladowych ilości pierwiastków w certyfikowanych materiałach odniesienia oraz w próbkach środowiskowych: kurzu ulicznym, kurzu drogowym i pyłe z instalacji przemysłowej. Oznaczone zawartości były porównywalne z zawartościami określonymi w certyfikowanych materiałach odniesienia oraz w cytowanej literaturze.

Słowa kluczowe: certyfikowane materiały odniesienia, odparowanie elektrotermiczne, optyczna spektrometria emisyjna z plazmą sprzężoną indukcyjnie, oznaczanie platynowców, wzbogacanie na węglu aktywnym, oznaczanie wybranych pierwiastków

^{*} Zakład Chemii Analitycznej, Politechnika Poznańska, ul. Piotrowo 3, 60-965 Poznań, tel. 61 665 23 12, fax 61 665 25 71

¹ Autor do korespondencji: Henryk.Matusiewicz@put.poznan.pl

Platynowce stanowią ułamek masy litosfery, największe ich stężenie znajduje się w jądrze Ziemi [1]. Na powierzchni ziemi ich zawartość waha się w granicach 1÷5 ng/g platyny, 15 ng/g palladu, 0,1 ng/g rodu, 0,1 ng/g rutenu, 1 ng/g irydu oraz 5 ng/g osmu. Często jest jednak większa, dzieje się tak na skutek powszechnego rozwiązywania technologicznego - konwertora katalitycznego znajdującego się w każdym pojeździe napędzanym paliwem ciekłym lub gazowym. Od 1975 roku w USA, a od 1992 roku w krajach Unii Europejskiej układy wydechowe nowych samochodów produkowanych w tych dwóch obszarach geograficznych są wyposażone w katalizatory.

Katalizator spalin wewnątrz ma kształt „plastra miodu” zbudowanego z aragonitu (tlenek glinu(III)) na powierzchni, którego naniesione są platyna, pallad i rod [1-3]. Proporcje tych pierwiastków różnią się od siebie, najczęściej jednak występują one w stosunkach 5:1 dla Pt:Rh i Pd:Rh (silniki benzynowe) oraz 9:1 dla Pt:Rh i Pd:Rh (silniki wysokoprężne). Pierwiastki te z układów wydechowych podczas jazdy przedostają się do środowiska, powodując jego zanieczyszczenie. Zawartość platynowców na poboczach dróg, w kurzu ulicznym i drogowym znajduje się na poziomie ng/g, przekraczając zawartości tych pierwiastków występujących w środowisku.

W literaturze opisano wiele metod oznaczania platynowców, jednak nie każda pozwala na oznaczanie pierwiastków w śladowych ilościach. Wśród metod pozwalających na oznaczanie platynowców na poziomie ng/g bez konieczności zastosowania technik zatężania lub oddzielania pierwiastków od matrycy można wyróżnić: absorpcyjną spektrometrię atomową z atomizacją w piecu grafitowym (GF-AAS) (*graphite furnace atomic absorption spectrometry*), spektrometrię mas z jonizacją w plazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-MS) (*inductively coupled plasma mass spectrometry*), aktywacyjną analizę neutronową (NAA) (*neutron activation analysis*), woltamperometrię inwersyjną z rozpuszczaniem anodowym (ASV) (*anodic stripping voltammetry*), fluorescencję rentgenowską (XRF) (*X-ray fluorescence spectrometry*). Metodą z zastosowaniem optycznej spektrometrii emisyjnej z plazmą indukcyjnie sprzężoną (ICP-OES) (*inductively coupled plasma optical emission spectrometry*) można oznaczać pierwiastki, których zawartość nie jest mniejsza niż $\mu\text{g/g}$. Stosując optyczną spektrometrię emisyjną z plazmą indukowaną mikrofalowo (MIP-OES) (*microwave induced plasma optical emission spectrometry*), zawartość pierwiastków, które można oznaczać tą techniką, nie powinna być również mniejsza niż $\mu\text{g/g}$. Łącząc technikę spektrometrii emisyjnej z techniką wprowadzania par pierwiastków - elektrotermiczne odparowanie (ETV) (*electrothermal vaporization*), otrzymuje się technikę (ETV-ICP-OES), której granice wykrywalności pierwiastków zostają obniżone do zawartości wyrażonej w ng/g. Zaletą techniki elektrotermicznego odparowania jest możliwość kontroli temperatury odparowania próbki. Skuteczność transportu par pierwiastków dodatkowo można poprawić poprzez zastosowanie modyfikatorów chemicznych.

Przeprowadzono wiele badań, poszukując związków pozwalających na wzrost efektywności transportu pierwiastków do plazmy. Byrne i współpracownicy [4] odnotowali wzrost sygnału Ir, Pd, Pt, Rh, Ru i Os po zastosowaniu jako modyfikatora 100 ppm TeCl_2 w 0,2 M HCl. Dobrowolski [5] zastosował dodatek emulsji PTFE do usuwania SiO_2 z matrycy próbki podczas oznaczania selenu. Dias i współpracownicy [6] dowiedli, że zastosowanie PdNO_3 jako modyfikatora do oznaczenia Cd, Pb, Ni i Co wpływa na polepszenie transportu i nie powoduje zmniejszenia sygnału analitycznego. Ertas i Halcombe [7] wykazali, że efektywność transportu Be, Cd, In i Pb zwiększyła się, gdy proces odparowania

wania elektrotermicznego próbek roztworowych był przeprowadzony w obecności NaCl z zastosowaniem modyfikatora PdNO₃. Krivan i Schäffer [8] zaproponowali podczas jednoczesnego oznaczania Al, Ag, As, Bi, Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, K, Li, Mg, Na, Ni i Pb w graficie dodatek freonu 1,2 do gazu nośnego. Autorzy uzyskali zwiększenie efektywności transportu pierwiastków z jednoczesnym obniżeniem granicy wykrywalności. Nickel i Zadgórska [9], odparowując elektrotermicznie proszek SiC w obecności modyfikatora CoF₂+BaO, wskazali na brak strat oznaczanych pierwiastków podczas ich transportu do plazmy. Wende i Broekaert [10], oznaczając zanieczyszczenia w zawieszynie Al₂O₃ z zastosowaniem elektrotermicznego odparowania pierwiastków, odnotowali wzrost efektywności odparowania i transportu pierwiastków do plazmy w obecności modyfikatora PdCl₂, co pozwoliło na obniżenie granic wykrywalności pierwiastków. Fuyi i współpr. [11] poddali procesowi fluorowania z wykorzystaniem PTFE próbki zawierające Mo, Yb, Cr. Poprawę efektywności odparowania oznaczanych pierwiastków osiągnięto na skutek przekształcenia ich w trwałe termicznie i zarazem lotne fluorki. Zaray i Kantor [12] zbadali wpływ NaNO₃ oraz Na₂SeO₃ na etap elektrotermicznego odparowania pierwiastków z próbek gleby i osadów; wykazali zwiększenie efektywności transportu pierwiastków As, Cd, Zn do plazmy.

Zestawienia metod oznaczania platynowców zostały opracowane przez Balcerzak [13] oraz Maysedova i współpr. [14].

Oznaczanie zawartości platynowców w wymienionych próbkach środowiskowych może być poprzedzone podziałem na frakcje. Analiza frakcyjna pozwala na określenie zakresu średnic cząstek materiału, w którym znajduje się największa zawartość metali. Oznaczanie śladowych ilości pierwiastków w różnych frakcjach materiałów stałych przeprowadza się po ich uprzednim rozтворzeniu często z udziałem energii mikrofalowej [15].

Część eksperymentalna

Aparatura

System mikrofalowy

Rozkład próbek na mokro przeprowadzono w mikrofalowym, wysokociśnieniowym, wysokotemperaturowym mineralizatorze o częstotliwości 2450 MHz i maksymalnej mocy 300 W, model UniClever, Plazmatronika, Wrocław.

Próbki umieszczano w zamykanym naczyniu z Hostaflonu (TFM-PTFE) o pojemności 110 cm³.

Naczynie reakcyjne z próbką i odczynnikami umieszczano w stalowym korpusie mineralizatora, do którego doprowadzano poprzez antenę energię mikrofalową.

Spektrograf

Analizę jakościową próbek wykonano za pomocą spektrografu Q-24, firmy Carl Zeiss Jena, Niemcy. Spektrograf ze wzbudzeniem pierwiastków w łuku prądu stałego wybrano ze względu na możliwość wykrycia wielu pierwiastków równocześnie.

Parametry spektrografu Q-24

Dobrano doświadczalnie wartości parametrów: czas naświetlania, wysokość przesłony, szerokość i wysokość szczeliny, przerwę analityczną, aby otrzymać prawidłowo naświetloną płytę fotograficzną. Parametry spektrografu zostały zestawione w tabeli 1.

Tabela 1

Parametry spektrografu Q-24

Zakres widma	220÷460 nm
Wysokość przesłony	5
Przesłona obiektywu	1:15
Szerokość szczeliny	25 μm
Wysokość szczeliny	3 mm, osłabiacz 3-stopniowy
Przerwa analityczna	4 mm
Źródło wzbudzenia	łuk prądu stałego, 8 A; generator uniwersalny UBI-1, Carl Zeiss Jena (Niemcy)
Czas ekspozycji	30÷40 s
Czas przedpalenia	1 s
Atmosfera	powietrze

Elektrody spektrograficzne

Zastosowano elektrody o odpowiednio dobranym kształcie wykonane z grafitu o średnicy 6 mm, model SU-302 oraz SU-202 wyprodukowane przez firmę Elektrokarbon-Topolcany, Czechy.

Płyty spektrograficzne i odczynniki fotograficzne

Zastosowano płyty spektrograficzne firmy Agfa-Gevaert o wymiarach 6 x 24 cm oraz wywoływacz i utrwalacz firmy Kodak.

Spektroprojektor SP 2

Zastosowano spektroprojektor SP 2 o powiększeniu 20-krotnym, który służył do obserwacji widm zarejestrowanych na płytach spektrograficznych.

Spektrometr emisyjny ICP

Spektrometr emisyjny ze wzbudzeniem w plazmie sprzężonej indukcyjnie z polem o wysokiej częstotliwości (IRIS, Thermo Jarell Ash, USA) wyposażony jest w układ optyczny *Echelle*. Następuje w nim rozszczepienie promieniowania przez pryzmat, później na siatce dyfrakcyjnej w płaszczyźnie prostopadłej. Układ taki zastosowany we współpracy z oprogramowaniem *ThermoSpec* pozwala na dwuwymiarową prezentację widma emisyjnego.

Aparat jest wyposażony w oprogramowanie pozwalające na rejestrację sygnałów uzyskanych z detektora CID. Matryca detektora składa się z 262 144 pól. Każdej z linii analitycznych odpowiada obszar złożony z 45 pól. W odpowiednich polach mierzona jest intensywność emisji wzbudzonych pierwiastków.

W spektrometrze zastosowano poziome zamontowanie palnika. Kierunek przepływu próbki jest równoległy i pokrywa się z osią optyczną; plazmę obserwuje się osiowo. Parametry spektrometru ICP znajdują się w tabeli 2.

Tabela 2

Parametry spektrometru ICP

System optyczny	<i>Echelle</i>
Ogniskowa	381 mm
Nacięcia siatki dyfrakcyjnej	52,6 linii/mm
Rozmiar siatki dyfrakcyjnej	60 x 110 mm
Kąt odbicia	64,1°
Szczelina wejściowa	550 x 100 μm dla długości fali 175÷333 nm, średnica 45 μm dla długości fali 270÷900 nm
Szerokość wejściowa	< 0,005 nm przy 200 nm, <0,01 nm przy 400 nm, < 0,02 nm przy 600 nm
Zakres długości fal	175÷900 nm
Detektor	Półprzewodnikowy CID (matryca 512 x 512 elementów)
Częstotliwość wzbudzenia	27,12 MHz
Moc wzbudzenia	750÷1750 W

Regulator masowego przepływu gazu

W celu płynnej regulacji masowego przepływu pomocniczego gazu do plazmy ICP zastosowano elektroniczny regulator ERG 1000 (BETAERG, Warszawa) sterowany za pomocą układu kontrolującego ERG 2M (BETAERG, Warszawa).

Układ elektrotermicznego odparowania

Elektrotermiczne odparowanie (ETV; *electrothermal vaporization*) polega na przeprowadzeniu pierwiastków w stan gazowy, a następnie wprowadzaniu ich do źródła wzbudzenia. Komora odparowania jest umieszczona między elektrodami i jest ogrzewana oporowo. Próbka (ciekła lub stała) jest umieszczana w kuwecie, we wnętrzu pieca grafitowego, do elektrod przykładany jest prąd, który oporowo ogrzewa piec. Pary próbki wraz z gazem nośnym i gazem pomocniczym trafiają poprzez dyszę do źródła wzbudzenia. System jest chłodzony wodą. Piec grafitowy jest dodatkowo chroniony przed utlenianiem strumieniem gazu ochronnego. ETV został wyposażony w trzy dopływy gazów do pieca grafitowego: nośny, dodatkowy i ochronny.

Tabela 3

Parametry układu elektrotermicznego odparowania ETV 4000

Wymiary pieca grafitowego	Średnica wewnętrzna 8,4 mm Średnica zewnętrzna 10,7 mm Długość 53 mm
Programowanie temperatury pieca grafitowego	Mikrokomputer
Chłodzenie	Wodne
Przepływ gazu nośnego	10÷1000 cm ³ min ⁻¹
Przepływ gazu dodatkowego	10÷1000 cm ³ min ⁻¹
Przepływ gazu reakcyjnego	0,5÷50 cm ³ min ⁻¹
Przepływ gazu ochronnego	10÷1000 cm ³ min ⁻¹
Maksymalna temperatura pieca grafitowego	ok. 3000°C

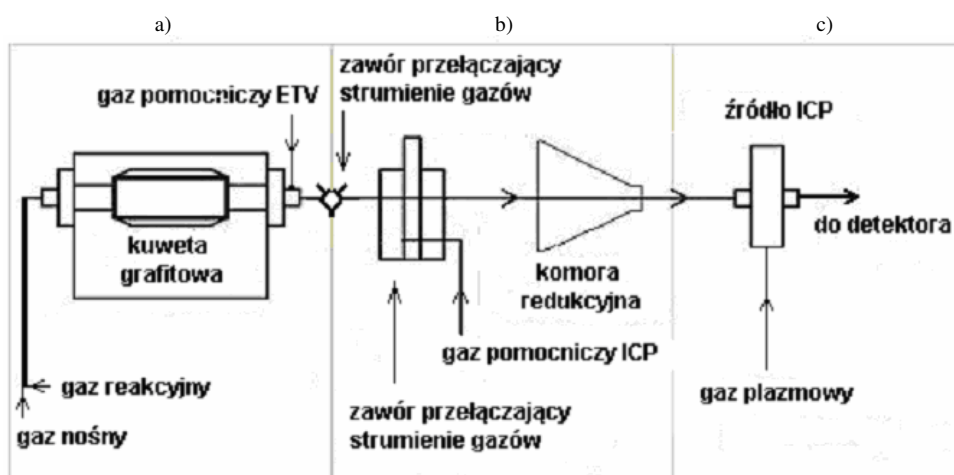
Do badań zastosowano argon, graniczne szybkości przepływu gazów zestawiono w tabeli 3. Układ ETV ma także dodatkowy króciec umożliwiający wprowadzenie do pieca grafitowego czwartego strumienia gazu - gazu reakcyjnego (wybrano CHF_3), którego wartości graniczne szybkości przepływu zestawiono również w tabeli 3.

Kalibracja układu ETV (zależność temperatury pieca grafitowego od natężenia prądu) została dokonana przez producenta. Programowanie temperatury pieca grafitowego odbywało się za pośrednictwem komputera stanowiącego część układu ETV.

Połączenie systemu elektrotermicznego odparowania ze spektrometrem emisyjnym

Przygotowano rurki z PTFE o odpowiedniej długości tak, aby nie występowały skłębienia lub ugięcia przewodów. Połączenie powinno być również jak najkrótsze w celu ograniczenia czasu przebywania par pierwiastków pomiędzy ETV a plazmą [16, 17].

Innym rozwiązaniem jest zastosowanie zaworów pozwalających na przełączanie strumieni gazów; wpływa to korzystnie na ograniczenia ilości wprowadzanych do plazmy zanieczyszczeń pochodzących z pieca ETV [18]. Na rysunku 1 przedstawiono schemat zastosowanej techniki łączonej ETV-ICP-OES.



Rys. 1. Schemat techniki łączonej ETV-ICP-OES: a) ETV, b) układ dostarczania produktów odparowania do plazmy, c) ICP-OES

Mieszadło magnetyczne

Roztworzone próbki dodawano do zawiesiny węgla aktywnego; tak przygotowaną zawiesinę mieszano przez 30 minut z szybkością 250 obrotów/min.

Wagi analityczne

Próbki stałe przeznaczone do roztwarzania oraz węgiel aktywny odważano na wadze analitycznej (MERA - WAG, Gdańsk) z dokładnością do 0,1 mg.

Przygotowane próbki (mieszanki: materiału odniesienia próbki rzeczywistej, węgla aktywnego, modyfikatora) były odważane na wadze mikroanalitycznej (Metler Toledo, Włochy) z dokładnością do 0,001 mg.

Gazy, odczynniki i roztwory

Stosowano następujące gazy: argon 5,0 o czystości 99,999% (BOC Gazy, Poznań), trifluorometan R23 (Praxair, Poznań) oraz azot techniczny o czystości 95% (BOC Gazy, Poznań).

Roztwory wzorcowe oznaczanych pierwiastków przygotowywano przez rozcieńczenie roztworów standardowych o stężeniu 1000 mg/dm³ Pd (Merck, Darmstadt, Niemcy), Pt (BDH, Chemicals Pool, Wielka Brytania), Ru (Venton, Danvers, USA), Rh (Merck, Darmstadt, Niemcy) i Ir (Aldrich, St. Louis, USA).

Roztwory wzorcowe zawierające określone stężenia wybranych pierwiastków (Ca, Mg, Ba, Cr, Mo, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Ag, Zn, Cd, Al oraz Pb) przygotowywano przez rozcieńczenie roztworu standardowego Certipure IV o stężeniu 1000 mg/dm³ (Merck, Darmstadt, Niemcy).

W celu zwiększenia efektywności transportu pierwiastków z ETV do źródła wzbudzenia stosowano dodatek modyfikatora. Jako modyfikatory stosowano: tiomocznik (Fluka AG, Buchs, Szwajcaria), roztwór 2,5% przygotowano przez rozpuszczenie 2,5 g substancji w 100 dm³ wody redestylowanej oraz emulsję PTFE (dyspersję tarflenową) typ N, 60% (Zakłady Azotowe, Puławy).

Zawiesinę węgla aktywnego przygotowywano, dodając 50 mg węgla aktywnego o powierzchni właściwej 1500 m²/g, Norit 50 C (Wielka Brytania), do 10 cm³ 0,1% roztworu Tritonu X-100 (Dow Chemicals, USA) z dodatkiem 0,1 cm³ dekanolu o czystości > 99% (Merck, Darmstadt, Niemcy).

W celu rozтворzenia próbek zastosowano: kwas azotowy 65%, Extrapure (Merck, Darmstadt, Niemcy), kwas fluorowodorowy 20%, Suprapure (Merck, Darmstadt, Niemcy) oraz kwas nadchlorowy (chlorowy(VII)) 70%, Extrapure (Merck, Darmstadt, Niemcy).

W pracy korzystano z wody o bardzo dużej czystości otrzymywanej w układzie odwróconej osmozy z wymiennicem jonowym (DEMIWA 5, Rosa Watek, Czechy). Wodę demineralizowaną dodatkowo destylowano w aparacie kwarcowym Bi18 (Heraeus, Niemcy).

Wzorce porównawcze i certyfikowane materiały odniesienia

Sprawdzenie metody spektrograficznej zostało przeprowadzone za pomocą wzorców porównawczych: Spectromel 1, mieszanina 52 pierwiastków, każdy o zawartości 1,18% (JMC, Londyn, Wielka Brytania) (*Standard powder mixture no. 1*); Spectromel 2, mieszanina 8 pierwiastków, każdy o zawartości 12,5%, (JMC, Londyn, Wielka Brytania) (*Standard powder mixture no. 2*); R.U. proszek, mieszanina 52 pierwiastków (JMC, Londyn, Wielka Brytania) (*R.U. powder*).

Sprawdzenie (walidacja) procedury analitycznej zostało przeprowadzone za pomocą certyfikowanych materiałów odniesienia: NIES nr 8, pył zebrany z filtrów elektrostatycznych wentylatorów tunelowych, Japonia (*Tunnel Dust*); BCR-723, kurz drogowy, Niemcy (*Road Dust*); NIST 1648, cząstki stałe obecne w powietrzu, USA

(*Urban Particulate Matter*), oraz materiału przeznaczonego do badań międzylaboratoryjnych: CW-7, kurz drogowy zebrany w tunelu Tanzenberg, Austria (*Tunnel Dust*).

Próbki rzeczywiste

Dokonano oznaczeń wybranych pierwiastków w próbkach rzeczywistych, mających podobne właściwości fizyczne do zastosowanych certyfikowanych materiałów odniesienia. Zastosowane próbki rzeczywiste: kurz z filtru powietrza ciągnika siodłowego, kurz z filtrów powietrza samochodów osobowych oraz kurz z filtrów uzyskany podczas pomiaru testowego emisji cząstek stałych i pył z instalacji przemysłowej do produkcji tworzyw sztucznych. Próbki zostały podzielone na dwie frakcje: całkowitą i poniżej 0,2 μm (średnica cząstek).

Przygotowanie próbek do analizy jakościowej

Analizę jakościową próbek poprzedzało oczyszczanie elektrod w łuku. Próbki były rozcieńczane w stosunku 1:1 grafitem; tak przygotowanym materiałem wypełniano krater elektrody grafitowej.

Przygotowanie próbek

Do oznaczeń odważono około 100 mg próbki, które następnie przenoszono do mieszaniny kwasów (1 cm^3 HF, 1 cm^3 HNO₃, 1 cm^3 HClO₄, 3 cm^3 H₂O₂) znajdującej się w naczyniu teflonowym, który umieszczono we wnętrzu korpusu systemu mikrofalowego. Program temperaturowy zastosowany do roztwarzania materiałów odniesienia i próbek rzeczywistych składał się z jednego etapu, który trwał 10 minut; zastosowano maksymalną moc 300 W. Następnie system mineralizatora chłodzono wodą przez 30 minut. Roztworzone materiały odniesienia i próbki rzeczywiste przenoszono ilościowo do kolby miarowej i uzupełniono wodą do 10 cm^3 .

Przygotowanie próbek - filtry

Filtry zostały dostarczone z Pracowni Badań Toksyczności Spalin OBR SM BOSMAL w Bielsku-Białej do Zakładu Chemii Analitycznej Politechniki Poznańskiej.

Do pobierania próbek cząstek stałych zastosowano metodę grawimetryczną z częściowym przepływem spalin poprzez tunel rozcieńczający.

W celu zebrania cząstek na filtry rozrzedzone spaliny o prędkości przepływu od 35 do 85 cm s^{-1} były przepuszczane przez dozownik (*smart sampler*), we wnętrzu którego umieszczano filtr. Każda z frakcji była zbierana na oddzielnym filtrze [19, 20].

Pierwszym etapem procedury analitycznej było zważenie filtra zawierającego pył, następnie porównanie jego masy z filtrem niezawierającym pyłu w celu określenia masy próbki. Kolejne etapy przygotowania próbek filtrów pokrywają się z procedurą opisaną w punkcie „Przygotowanie próbek”.

Wzbogacanie pierwiastków na węglu aktywnym

Zawiesinę węgla aktywnego przygotowywano, dodając 50 mg węgla aktywnego do 10 cm^3 0,1% roztworu Tritonu X-100 z dodatkiem 0,1 cm^3 dekanolu.

Do wcześniej przygotowanych mieszanin: materiałów odniesienia, próbek rzeczywistych (punkty „Przygotowanie próbek”, „Przygotowanie próbek - filtry”) dodawano zawiesiny węgla aktywnego. Do mieszaniny dodawano, jednocześnie mieszając (30 min), roztworu tiomocznika lub emulsji PTFE tak, aby osiągnąć stężenie w mieszaninie $0,3 \text{ mol/dm}^3$ (roztwór) lub 6% (emulsja). Następnie zawiesinę przenoszono na sączek i odsączano (15 min). Pozostałość przenoszono na folię teflonową i pozostawiono do odparowania roztworu w temperaturze pokojowej (ok. 12 godzin).

Odważono konieczną ilość odważek przygotowanego wcześniej węgla aktywnego z zaadsorbowanymi pierwiastkami o masie 2,5 mg, następnie dodano do każdej z odważek odpowiedniej ilości roztworu w celu zastosowania metody dodatku wzorca. Tak przygotowane próbki były gotowe do oznaczania zawartych w nich pierwiastków metodą ETV-ICP-OES.

Przygotowanie spektrometru ICP

W skład procedury inicjującej pomiary intensywności emisji pierwiastków wchodziły etapy:

1. Włączenie zasilania elementów składowych systemu: spektrometru emisyjnego, komputera sterującego, układu chłodzenia detektora, ustalenie przepływu gazu płuczącego detektor.
2. Uruchomienie systemu *ThermoSPEC* sterującego spektrometrem wraz z programami *Subarray* lub *Time Study* (zależnie od etapu).
3. Doprowadzenie układu detekcyjnego (CID) do temperatury poniżej -80°C .
4. Ustalenie przepływu gazu plazmowego.
5. Zapalenie plazmy i ustabilizowanie parametrów jej pracy.
6. Rozpoczęcie właściwych pomiarów.

Przygotowanie układu elektrotermicznego odparowania ETV 4000

Przed przystąpieniem do etapu odparowania pierwiastków z próbki wykonywano czynności:

1. Włączenie zasilania systemu.
2. Załączenie układu chłodzenia wodnego (odczekać, aż przepływ się ustabilizuje).
3. Otwarcie dopływu gazów do systemu.
4. Otwarcie zaworu wewnętrznego systemu.
 - 4.1. Ustalenie przepływu gazu nośnego.
 - 4.2. Ustalenie przepływu gazu pomocniczego.
 - 4.3. Ustalenie przepływu gazu reakcyjnego (opcjonalnie).
5. Wprowadzenie programu temperaturowego sterującego etapami elektrotermicznego odparowania.
6. Umieszczenie we wnętrzu pieca grafitowej kuwety z próbką.
7. Włączenie wybranego programu temperaturowego.

Równoczesne oznaczanie platynowców i wybranych pierwiastków metodą ETV-ICP-OES

Materiały odniesienia i próbki rzeczywiste rozтворzono w mieszaninie kwasów ($1 \text{ cm}^3 \text{ HF}$, $1 \text{ cm}^3 \text{ HNO}_3$, $1 \text{ cm}^3 \text{ HClO}_4$, $3 \text{ cm}^3 \text{ H}_2\text{O}_2$). Następnie pierwiastki w nich zawarte wzbogacano na węglu aktywnym zgodnie z procedurą opisaną w punkcie „Wzbogacanie pierwiastków na węglu aktywnym”. Próbki (materiał odniesienia próbka rzeczywista, węgiel aktywny, modyfikator) o masie 2,5 mg umieszczano w kuwecie grafitowej, którą wprowadzano do wnętrza pieca grafitowego.

Równoczesne oznaczanie platynowców i wybranych pierwiastków rozpoczynało się od uruchomienia odpowiednio przygotowanego programu temperaturowego ETV.

Przed rozpoczęciem etapu elektrotermicznego odparowania ustawiano zawór w pozycji łączącej aparat ETV z układem wentylacji w celu odprowadzenia produktów suszenia próbki. Następnie po 60 s zmieniano pozycję zaworu tak, aby umożliwić transport par pierwiastków wraz z gazami: nośnym, reakcyjnym (opcja) oraz pomocniczym do plazmy. Po upływie 15 s po załączeniu układu ETV uruchamiano program pomiarowy spektrometru ICP (*Time study*), umożliwiający pomiar intensywności emisji pierwiastków (detektor CID). Na 10 s przed zakończeniem cyklu pomiarowego przełączano zawór w pozycję umożliwiającą odprowadzanie produktów czyszczenia pieca ETV do układu wentylacji.

Wyniki i ich omówienie

Analiza spektrograficzna

W wybranych wzorcach porównawczych: Spectromel 1, Spectromel 2, proszek R.U., materiałach odniesienia NIES nr 8, BCR-723, próbce kurzu pochodzącego z filtru samochodu osobowego oraz roztworach Pt, Pd, Ru, Rh i Ir o stężeniu 1000 ppm potwierdzono obecność: Pt (1 linia widmowa), Pd (1 linia widmowa), Ru (4 linie widmowe), Rh (2 linie widmowe), Ir (4 linie widmowe), Ca (9 linii widmowych), Mg (9 linii widmowych), Pb (9 linii widmowych), Cr (9 linii widmowych), Mn (9 linii widmowych), Co (9 linii widmowych), Fe (9 linii widmowych), Ni (9 linii widmowych), Cu (8 linii widmowych), Zn (8 linii widmowych) oraz Cd (3 linie widmowe). Wysokość przesłony, przesłonę obiektywu, szerokość i wysokość szczeliny oraz przerwę analityczną dobrano tak, aby otrzymać największą intensywność emisji pierwiastków. Sygnały pierwiastków rejestrowano na kliszy spektrograficznej podczas ekspozycji w czasie od 30 do 40 s.

Kształt elektrod został odpowiednio dobrany dla stałych materiałów: wzorców, certyfikowanych materiałów odniesienia, próbek rzeczywistych oraz dla roztworów wzorcowych.

Na podstawie wybranych linii analitycznych dokonano identyfikacji jakościowej pierwiastków zawartych we wzorcach porównawczych, materiałach odniesienia i próbce rzeczywistej. Podczas analizy uwzględniono wpływ linii widmowych Fe powodujących koincydencję z liniami widmowymi Ca, Pb, Cr, Mn, Co, N i Cu. Potwierdzono koincydencję linii Pb, Fe z pasmami cyjanowymi, utrudniającymi wykrycie pierwiastków. Stwierdzono występowanie koincydencji linii widmowych Cr z liniami widmowymi Mn oraz linii widmowych Co z liniami widmowymi Ni. Zaobserwowane zjawiska są zgodne z doniesieniami literaturowymi [21].

Uzyskane linie widmowe zarejestrowane na kliszy (a pochodzące od platynowców) są mniej liczne w porównaniu z pozostałymi 11 pierwiastkami. Wyjątek stanowi Cd, zidentyfikowano 3 linie widmowe. Z powodu małych zawartości zidentyfikowane linie nie pozwalają na dokonanie analizy ilościowej platynowców oraz Cd. Jednocześnie odnalezienie i zidentyfikowanie 1 linii widmowej pierwiastka nie gwarantuje obecności pierwiastka w próbce, jednak nie można wykluczyć, że jego zawartość jest na tyle mała, że oznaczenie jest niemożliwe z zastosowaniem techniki spektrograficznej. Dlatego konieczne jest zastosowanie techniki analitycznej, pozwalającej na oznaczenie nie tylko makroskładników, ale również pierwiastków występujących w próbkach na poziomie śladowym.

Optymalizacja parametrów pracy spektrometru emisyjnego

Optymalizacja mocy generatora plazmy indukcyjnie sprzężonej

Z dostępnego przedziału mocy od 750 do 1750 W wybrano wartość 1150 W, która została ustalona podczas wcześniej wykonywanych badań.

Przepływ gazów w palniku

Konstrukcja palnika plazmowego wskazuje na zastosowanie przepływu gazu chłodzącego $14 \text{ dm}^3/\text{min}$ oraz przepływu gazu pomocniczego $1,5 \text{ dm}^3/\text{min}$.

Zastosowane rozwiązanie w odróżnieniu od oryginalnego zestawu (rozpylacz pneumatyczny, komora rozpylająca) zakłada dostarczanie do plazmy produktów powstałych podczas elektrotermicznego odparowania (ETV). Takie rozwiązanie wymusza jednak zastosowanie dodatkowego gazu nośnego o natężeniu przepływu $0,75 \text{ dm}^3/\text{min}$, ponieważ łączne natężenie przepływu gazu z układu elektrotermicznego odparowania to tylko $0,75 \text{ dm}^3/\text{min}$, a całkowity przepływ gazu trafiający do plazmy nie może być mniejszy niż założony przez producenta ($1,5 \text{ dm}^3/\text{min}$).

Przełączanie strumieni gazów w ETV jest związane z koniecznością odprowadzenia produktów czyszczenia układu do wentylacji pomieszczenia laboratoryjnego. Dodatkowo zastosowano komorę (150 cm^3) redukującą wzrost ciśnienia gorących produktów odparowania w strumieniu gazu nośnego.

Zastosowanie programu Subarray w procedurze optymalizacji

Program *Subarray* jest jednym z programów sterujących detektorem CID. Jego zadaniem jest śledzenie intensywności sygnałów analitycznych pochodzących od pierwiastków, porównywanie ich ze sobą oraz pomiar tła pochodzącego od próbki (matrycy).

Program zastosowano do pomiaru intensywności emisji sygnałów krótkotrwałych, pochodzących od wybranych pierwiastków.

Zastosowanie programu Time Study w procedurze optymalizacji

Pomiar sygnałów analitycznych pochodzących od pierwiastków wprowadzanych z układu ETV, z którym spektrometr emisyjny jest połączony, odbywa się za pomocą oprogramowania o nazwie *Time Study*. Program służy do pomiaru intensywności krótkotrwałych sygnałów, pochodzących od pierwiastków wprowadzanych do obszaru wzbudzenia w postaci par.

Po zastosowaniu oprogramowania otrzymane granice wykrywalności dla platynowców były wyrażone w $\mu\text{g/g}$. Oznaczanie pierwiastków w próbce o zawartości poniżej tej wartości nie było możliwe. Wskazało to na konieczność modyfikacji oprogramowania tak, aby sygnały krótkotrwałe pochodzące od pierwiastków o bardzo małej zawartości w próbce [ng/g] mogły być rejestrowane. W tym celu zmieniono kod oprogramowania sterującego czasem, w którym wiązka omiata poszczególne pola matrycy detektora, zwiększając tym samym czas ekspozycji dla każdego z pól. Przeprogramowanie spowodowało przestawienie detektora pracującego oryginalnie na dwóch szczelinach na tryb pracy jednoszczelinowy o zwiększonej czułości w porównaniu z oryginalnym zestawem zaproponowanym przez producenta.

Optimalizacja parametrów elektrotermicznego odparowania za pomocą metody sympleksów

Optymalizację parametrów pracy układu ETV oraz zawartość zastosowanych modyfikatorów zostały oszacowane za pomocą chemometrycznej metody sympleksów. Odpowiednie wartości parametrów wprowadzono do oprogramowania (*MultiSimplex*, wersja 2,0) w celu otrzymania wartości granicznych parametrów oraz wartości optymalnych. Rezultaty obliczeń zestawiono w tabeli 4.

Tabela 4

Optymalizowane parametry ETV metodą sympleksów

Optymalizowany parametr	Graniczne wartości parametrów/ Zaproponowane wartości
Stężenie emulsji PTFE [%]	1÷10/ 5
Stężenie tiomocznika [mol/dm^3]	0,1÷1/ 0,2
Przepływ gazu nośnego [cm^3/min]	100÷500/ 200
Przepływ gazu dodatkowego [cm^3/min]	200÷800/ 450
Przepływ gazu reakcyjnego [cm^3/min]	0,1÷5/ 2

Otrzymane w ten sposób optymalne wartości parametrów zostały następnie wykorzystane do dalszych badań. Sprawdzone doświadczalnie zaproponowane przez oprogramowanie wartości. Zbadano zależność intensywności emisji Pt od natężenia przepływu dwóch strumieni gazów w układzie ETV. Do badań wybrano jeden pierwiastek, ponieważ optymalne wartości przepływu gazów są wspólne dla wszystkich pierwiastków.

Następnie zbadano zależność intensywności emisji platynowców od zawartości modyfikatorów (emulsja PTFE, tiomocznik, trifluorometan). Badania przeprowadzono z zastosowaniem roztworów wzorcowych Pt, Pd, Rh Ru i Ir. Stwierdzono różny wpływ zawartości modyfikatorów na intensywności emisji poszczególnych pierwiastków.

Optimalizacja parametrów układu elektrotermicznego odparowania

Przepływ gazów w układzie ETV 4000

Układ ETV 4000 jest wyposażony w dwie drogi dopływu gazów. Pierwsza z nich służy do dostarczania gazu, który wchodzi w reakcję z odparowywanymi składnikami próbki, w celu wzrostu ich lotności. Druga służy do wprowadzania argonu, który jest dzielony na trzy strumienie:

- gaz omywający elektrody w celu ich ochrony przed utlenianiem,
- gaz jako nośny dla produktów odparowania,
- gaz jako gaz dodatkowy (pomocniczy), zapewniający laminarny przepływ wzdłuż ścianek przewodu doprowadzającego produkty odparowania do plazmy.

Zbadano zależność intensywności emisji Pt od natężenia przepływu gazu nośnego w przedziale od 50 do 450 cm³/min. Do dalszych badań wybrano wartość przepływu 200 cm³/min.

Sprawdzono również zależność intensywności emisji Pt od natężenia przepływu gazu pomocniczego w przedziale od 100 do 650 cm³/min. Do dalszych badań wybrano wartość przepływu 550 cm³/min. Sumaryczne natężenie przepływu gazu na króćcu wylotowym z ETV było równe 750 cm³/min.

Optymalizacja programów temperaturowych ETV

Wszystkie oznaczone pierwiastki w materiałach odniesienia i próbkach środowiskowych mają podobną lub taką samą matrycę (kurz uliczny, kurz drogowy), wyjątek stanowi próbka pyłu z instalacji przemysłowej.

Optymalizacja polegała na poszukiwaniu największej intensywności emisji dla oznaczanych pierwiastków w zależności od temperatury etapu pirolizy i odparowania. Zadanie to zostało zrealizowane za pomocą programu *Subarray*, będącego częścią oprogramowania spektrometru emisyjnego ICP.

Zastosowanie techniki dodatku wzorca (dodawano roztwór) powodowało konieczność zastosowania etapu suszenia. W celu wyeliminowania „rozpraszania” się próbki wewnątrz pieca na skutek wrzenia roztworu pierwszy etap suszenia przeprowadzano w temperaturze 90°C, a w drugim etapie suszenia zwiększano temperaturę do 120°C.

Końcowym etapem optymalizacji było opracowanie programu temperaturowego wspólnego dla wszystkich oznaczanych pierwiastków. Z powodu odmiennych właściwości poszczególnych pierwiastków zastosowano dwa programy temperaturowe. Pierwszy program opracowano w celu odparowywania Pt, Pd, Rh, Ru i Ir. Drugi program powstał dla odparowania Ca, Mg, Fe, Co, Cr, Ni, Cu, Zn, Cd i Pb. Celem rozdzielenia obu programów było uzyskanie jak najwyższych sygnałów intensywności emisji dla wszystkich pierwiastków.

Podczas optymalizacji programu temperaturowego zaobserwowano wzrost intensywności emisji Pt wraz ze wzrostem temperatury pirolizy do 1300°C, a temperatury odparowania do 2400°C. Dla Pd obserwowano względnie stałą intensywność emisji dla temperatury pirolizy powyżej 900°C. Zbadano również wpływ temperatury odparowania na intensywność emisji Pd, powyżej temperatury 2400°C nie stwierdzono znacznego wzrostu intensywności emisji. Zaobserwowano zwiększenie się intensywności emisji dla Rh, gdy temperatura pirolizy wzrosła do 1200°C, po osiągnięciu tej temperatury intensywność emisji utrzymywała podobne wartości. Temperatura odparowania w przedziale od 2400 do 2700°C pozwala otrzymać największe wartości intensywności emisji Rh. Temperatura pirolizy Ru wzrastała aż do osiągnięcia 1300°C. Powyżej wymienionej temperatury obserwowano nieznaczny spadek intensywności emisji. Dla temperatury odparowania 2300°C zaobserwowano największą intensywność emisji Ru. Intensywność emisji Ir miała największą wartość, gdy temperatura pirolizy osiągnęła 1450°C, a temperatura odparowania 2400°C.

Z powodu koniecznego ujednolicenia programu temperaturowego zastosowano temperaturę pirolizy 1300°C, a temperaturę odparowania 2700°C.

Dla pozostałych 11 pierwiastków program temperaturowy został tak dobrany, aby uzyskać możliwie najwyższe sygnały intensywności emisji pochodzących od wybranych pierwiastków. W ostatecznej wersji programu temperatura pirolizy to 400°C, a temperatura odparowania 2700°C.

Optymalizacja zawartości/stężenia zastosowanych modyfikatorów

W celu zwiększenia efektywności transportu pierwiastków z ETV do źródła wzbudzenia zdecydowano się na dodatek modyfikatora, aby uzyskać większe wartości sygnałów intensywności oznaczanych pierwiastków.

Zbadano wpływ stężenia tiomocznika na intensywność emisji platynowców. Największą intensywność emisji Pt, Pd, Ru, Rh i Ir zarejestrowano dla stężenia 0,3 mol/dm³ tiomocznika. Dlatego do dalszych badań wybrano to stężenie.

Drugim zastosowanym modyfikatorem była emulsja teflonowa. Sprawdzono zależność intensywności emisji wybranych platynowców od stężenia emulsji PTFE w przedziale od 1 do 9%. Największą intensywność emisji Pd, Ru zmierzono dla 5% stężenia emulsji PTFE, Pt i Ir dla 3% stężenia emulsji PTFE, Rh dla 6% stężenia emulsji PTFE. Do dalszych badań wybrano 6% stężenie emulsji PTFE.

Do badań zastosowano również dodatkowy gaz reakcyjny wprowadzany przez króciec do układu ETV. Zbadano zależność intensywności emisji wybranych platynowców od natężenia przepływu trifluorometanu w przedziale od 0,25 do 1,75 cm³/min. Największą intensywność Pt, Ru i Ir zmierzono dla gazu reakcyjnego CHF₃ o natężeniu przepływu 1 cm³/min. Dla Pd największą intensywność emisji stwierdzono przy natężeniu przepływu gazu reakcyjnego CHF₃ 0,65 cm³/min, dla Rh przy natężeniu przepływu gazu reakcyjnego CHF₃ 1,25 cm³/min. Optymalna wartość przepływu gazu reakcyjnego miała wartość 1 cm³/min.

Sygnały intensywności emisji platynowców zmierzone z zastosowaniem metody ETV-ICP-OES i gazu reakcyjnego mają mniejsze intensywności emisji w porównaniu do sygnałów uzyskanych z dodatkiem modyfikatorów: emulsji PTFE i tiomocznika. Związane jest to z większą efektywnością tworzenia się lotnych związków podczas dodawania ich bezpośrednio do próbki w porównaniu z dodatkiem związków zwiększających lotność pierwiastków do strumienia gazu nośnego [8, 11].

Ponadto, podczas zastosowania tiomocznika tworzą się trwałe połączenia kompleksowe, które w warunkach utleniających rozkładają się z wydzieleniem cyjanamidu, siarkowodoru oraz elementarnej siarki. Możliwe jest powstanie siarczków, zatrzymywanych w piecu grafitowym ETV w wyższych temperaturach, poprawiając tym samym czułość oznaczeń [22, 23]. Z powyższych powodów do dalszych badań wybrano emulsję PTFE oraz tiomocznik.

Efekt pamięciowy

Zastosowanie etapu czyszczenia pieca grafitowego w temperaturze 3000°C skutecznie wyeliminowało efekt pamięciowy układu. W przypadku próbek o dużej zawartości pierwiastków głównych zastosowano dodatkowo czyszczenie pieca z pozostałych składników. Etap ten powtarzano do całkowitego oczyszczenia układu.

Masa węgla aktywnego

Sprawdzono zależność intensywności emisji platynowców od masy węgla aktywnego, wprowadzanego do kuwety układu ETV. W przedziale zalecanym przez producenta (od 1 do 5 mg) największą emisję Pt i Rh zarejestrowano dla masy 2 mg węgla aktywnego, Pd, Ru i Ir dla masy 3 mg węgla aktywnego. Do dalszych badań wybrano masę 2,5 mg.

Wybór linii analitycznych

Wyboru linii analitycznych dokonano na podstawie intensywności emisji pierwiastków zmierzonych z zastosowaniem programu *Subarray* oraz w porównaniu z literaturą. W tabeli 5 dodatkowo pogrubioną czcionką zaznaczono linie, które uprzednio zastosowano w celu identyfikacji pierwiastków techniką spektrograficzną.

Zestawienie wybranych linii analitycznych

Tabela 5

Pierwiastek	Zastosowane linie analityczne [nm]
Pt	203,646; 214,423; 265,945
Pd	324,270 ; 363,470
Ru	240,272; 245,644; 267,876; 349,849
Rh	233,477; 343,489 ; 369,236
Ir	212,681 ; 215,268; 224,268; 236,804
Ca	184,006; 317,933 ; 393,366
Mg	280,270 ; 279,553; 285,213
Pb	182,203; 216,499; 220,353; 261,418; 283,306
Cr	205,552; 206,149; 267,716 ; 283,563;
Mn	257,610 ; 259,373; 260,569
Fe	238,204 ; 239,562; 259,837; 259,940; 271,441
Co	228,616; 237,862
Ni	221,647; 231,604 ; 341,476
Cu	224,700; 324,754; 327,396
Zn	202,548; 206,200; 213,896
Cd	214,438 ; 226,502; 228,802

Parametry analityczne metody elektrotermicznego odparowania - optycznej spektrometrii emisyjnej z plazmą indukcyjnie sprzężoną

Wyznaczono podstawowe parametry opisujące metodę analityczną: wartość ślepej próby, granicę wykrywalności, granicę oznaczalności, precyzję. W tabelach 6-9 przedstawiono parametry analityczne metody ETV-ICP-OES z zastosowaniem dwóch modyfikatorów: tiomocznika i emulsji PTFE. Otrzymane wartości parametrów porównano z danymi literaturowymi.

Analityczna „ślepa” próba

W przypadku metod wykorzystujących bezpośrednio oznaczanie pierwiastków w próbce stałej klasyczna definicja „ślepej” próby (próbka zawierająca wszystkie odczynniki, ale niezawierająca pierwiastka oznaczanego) nie zawsze może być zastosowana [24]. W przypadku próbek stałych uzyskanie materiału niezawierającego składnika oznaczanego jest najczęściej niemożliwe. Dlatego w metodach elektrotermicznego odparowania

wania stosuje się często jako ślepą próbę „sygnał masy zerowej”, pochodzący z układu ETV, w którym umieszczono platformę grafitową bez próbki.

Na potrzeby badań analitycznych wyznaczono „ślepa” próbę dla techniki ETV-ICP-OES. W tym celu oznaczono ilości zanieczyszczeń wprowadzanych z kuwety ETV, zastosowanego węgla aktywnego oraz zastosowanych odczynników (kwas, modyfikatory polepszające lotność). Porównanie wartości „ślepej” próby zamieszczono w tabeli 6.

Tabela 6

Porównanie wyznaczonych wartości „ślepej” próby¹

Pierwiastek	„Ślepa” próba ² [ng]	„Ślepa” próba ³ [ng]	„Ślepa” próba ⁴ [ng]	„Ślepa” próba ⁵ [ng]
Pt	0,30	0,38	0,31	0,41
Pd	0,01	0,01	0,02	0,01
Ru	0,31	0,33	0,38	0,37
Rh	0,13	0,16	0,15	0,13
Ir	0,03	0,03	0,03	0,03
Ca	9,56	10,78	10,84	10,78
Mg	4,94	5,23	5,78	5,32
Pb	0,42	0,63	0,76	0,72
Cr	0,25	0,32	0,43	0,35
Mn	8,23	10,63	10,34	10,22
Fe	3,94	3,72	3,75	4,24
Co	0,72	0,82	0,91	0,83
Ni	0,93	1,26	1,37	0,33
Cu	8,94	8,84	9,93	9,25
Zn	6,78	7,78	8,19	2,32
Cd	5,32	5,82	6,31	6,71

¹ Masa (102 mg) próbki (BCR-723) stałej rozтворzonej i zatężonej na węglu aktywnym.

² Wartość „ślepej” próby dla techniki ETV-ICP-OES z kuwetą grafitową bez próbki.

³ Wartość „ślepej” próby dla techniki ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów.

⁴ Wartość „ślepej” próby dla techniki ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów/ tiomocznika.

⁵ Wartość „ślepej” próby dla techniki ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów/ emulsji PTFE.

Najmniejszą wartość „ślepej” próby zarejestrowano dla Pd (0,01 ng) z zastosowaniem jako modyfikatora emulsji PTFE, największą wartość otrzymano dla Pt (0,41 ng) również z zastosowaniem emulsji PTFE.

Najmniejszą wartość „ślepej” próby spośród 11 wybranych pierwiastków otrzymano dla Co (0,8 ng) z zastosowaniem jako modyfikatora emulsji PTFE, największą otrzymano dla Ca (10,8 ng) również z zastosowaniem emulsji PTFE.

Różnica wartości „ślepej” próby ma swoje źródło w odczynnikach zastosowanych do oznaczeń obecności pierwiastków na ściankach łącznika pomiędzy układem do elektrotermicznego odparowania a spektrometrem emisyjnym oraz na ściankach pieca grafitowego, zaadsorbowanych podczas badań oraz wprowadzonych zanieczyszczeń z naczyń laboratoryjnych.

Granica wykrywalności

W tabeli 7 zestawiono granice wykrywalności dla 16 oznaczanych pierwiastków. Porównano wartości „sygnału zerowego” dla kuwety grafitowej bez próbki z sygnałami pochodzącymi od pierwiastków wprowadzanych z odczynników.

Wartość granicy wykrywalności została obliczona wg wzoru:

$$\text{LOD} = 3 \cdot \text{SD}$$

gdzie:

LOD - granica wykrywalności (*limit of detection*),

SD - odchylenie standardowe „ślepej” próby (*standard deviation*).

Tabela 7

Porównanie granic wykrywalności pierwiastków¹

Pierwiastek	Granica wykrywalności ² [ng/g]	Granica wykrywalności ³ [ng/g]	Granica wykrywalności ⁴ [ng/g]	Granica wykrywalności ⁵ [ng/g]
Pt	1,7	1,0	4,2	1,0
Pd	2,5	1,0	4,2	1,0
Ru	3,0	1,0	5,2	1,0
Rh	2,7	1,0	5,2	1,0
Ir	0,6	1,2	0,7	1,4
Ca	1,7	1,0	4,2	1,0
Mg	1,3	1,3	1,4	1,4
Pb	2,7	3,9	4,5	4,0
Cr	1,8	3,0	3,4	4,0
Mn	1,9	2,0	2,0	1,9
Fe	7,8	8,0	8,7	8,4
Co	5,8	5,8	7,1	5,8
Ni	2,7	2,7	4,0	3,3
Cu	8,8	9,8	9,9	9,9
Zn	3,2	3,2	3,2	4,0
Cd	5,1	5,9	6,6	6,0

¹ Masa (102 mg) próbki (BCR-723) stałej roztworzonej w mieszaninie kwasów i zateżonej na węglu aktywnym.

² Wartość granicy wykrywalności pierwiastków dla techniki ETV-ICP-OES z kuwetą grafitową bez próbki.

³ Wartość granicy wykrywalności pierwiastków dla techniki ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/mieszaniny kwasów.

⁴ Wartość granicy wykrywalności pierwiastków dla techniki ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/mieszaniny kwasów/ tiomocznika.

⁵ Wartość granicy wykrywalności pierwiastków dla techniki ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/mieszaniny kwasów/ emulsji PTFE.

Otrzymane wartości granic wykrywalności: Pt (2,9 ng/g) i Ru (8,5 ng/g) z zastosowaniem tiomocznika jako modyfikatora oraz Pd (1,0 ng/g), Rh (1,0 ng/g) oraz Ir (1,8 ng/g) z zastosowaniem emulsji PTFE jako modyfikatora są porównywalne z granicami otrzymanymi przez innych badaczy: Pt (1,6 ng/g), Pd (1,2 ng/g), Ru (1,7 ng/g), Rh (1,4 ng/g) i Ir (0,2 ng/g) [4].

Największa różnica w wartości granic wykrywalności jest zauważalna dla Pt, Ru i Ir; ma to swoje uzasadnienie w porównaniu granic wykrywalności pierwiastków ozna-

czanych z zastosowaniem różnych technik. Zestawiono technikę ETV-ICP-MS [4] z techniką ETV-ICP-OES zastosowaną w pracy.

Wartości granic wykrywalności dla Pd i Rh są mniejsze od zawartych w cytowanej literaturze. Tak małe wartości uzyskano pomimo zastosowania mniej czułego detektora CID (optyczna spektrometria emisyjna) wraz z wzbogacaniem pierwiastków na węglu aktywnym w porównaniu do detektora kwadrupolowego (spektrometria mas).

Wartości granic wykrywalności uzyskanych dla pozostałych pierwiastków mieszczą się w przedziale wartości otrzymanych przez innych badaczy. Wyjątek stanowią dwa pierwiastki: Co (30 ng/g) i Ni (40 ng/g), dla których granice wykrywalności przedstawione w cytowanej literaturze mają większe wartości w porównaniu do otrzymanych dla Co (5,8 ng/g) i Ni (3,3 ng/g) z zastosowaniem emulsji PTFE jako modyfikatora.

Różnica w wartościach granic wykrywalności ma uzasadnienie w porównaniu z wynikami otrzymanymi z zastosowaniem metody z dodatkiem gazu reakcyjnego wprowadzanego wraz z gazem nośnym do ETV [8], z metodą zastosowaną w pracy, bezpośredniego dodatku modyfikatora chemicznego do roztworzonej próbki.

Największą wartość granicy wykrywalności otrzymano dla Mg (1,4 ng/g). Wartość jest wyższa od przedziału (0,01÷0,05 ng/g) zamieszczonego w literaturze. Większa granica wykrywalności dla Mg ma swoje uzasadnienie w występowaniu tego pierwiastka w ściankach łącznika pomiędzy układem do elektrotermicznego odparowania a palnikiem ICP spektrometru emisyjnego. Pierwiastek został zaadsorbowany w łączniku podczas pracy z techniką łączoną i nie został całkowicie usunięty podczas czyszczenia. Zaobserwowany efekt jest związany z obecnością Mg w materiałach odniesienia oraz próbkach rzeczywistych, w których zawartość pierwiastka jest wyrażona w mg/g. Podobny efekt jest zauważalny dla pozostałych pierwiastków (Ca, Fe, Zn) obecnych w próbkach na wyższych poziomach zawartości.

Granica oznaczalności

W tabeli 8 zestawiono wartości granic oznaczalności dla 16 wybranych pierwiastków. Porównano granice oznaczalności pierwiastków z „sygnałem zerowym” dla kuwety grafitowej bez próbki.

Wartość granicy oznaczalności została obliczona wg wzoru:

$$LOQ = 10 \cdot SD$$

gdzie:

LOQ - granica wykrywalności (*limit of quantification*),

SD - odchylenie standardowe „ślepej próby” (*standard deviation*).

Otrzymane wartości granic oznaczalności: Pt (8,2 ng/g), Pd (3,1 ng/g) i Rh (3,1 ng/g) z zastosowaniem emulsji PTFE oraz Ru (27,4 ng/g) i Ir (5,8 ng/g) z zastosowaniem tiomocznika są porównywalne z granicami otrzymanymi przez innych badaczy Pt (2,0 ng/g), Pd (4,0 ng/g), Ru (5,7 ng/g), Rh (4,7 ng/g) i Ir (0,5 ng/g) [4]. Najwyższa różnica w wartości granic oznaczalności jest zauważalna dla Pt, Ru i Ir, ma to swoje uzasadnienie w porównaniu granic oznaczalności otrzymanych różnymi technikami. Zestawiono metodę ETV-ICP-MS [4] z metodą ETV-ICP-OES zastosowaną w tej pracy.

Wartości granic oznaczalności dla Pd i Rh są mniejsze od zawartych w cytowanej literaturze. Tak małe wartości uzyskano pomimo zastosowania mniej czułego detektora

CID (optyczna spektrometria emisyjna) wraz ze wzbogacaniem pierwiastków na węglu aktywnym w porównaniu do detektora kwadrupolowego (spektrometria mas).

Tabela 8

Porównanie granic oznaczalności pierwiastków¹

Pierwiastek	Granica oznaczalności ² [ng/g]	Granica oznaczalności ³ [ng/g]	Granica oznaczalności ⁴ [ng/g]	Granica oznaczalności ⁵ [ng/g]
Pt	5,7	8,2	9,7	8,2
Pd	3,0	3,1	3,1	3,3
Ru	13,8	13,9	17,2	17,4
Rh	3,1	3,2	3,3	3,1
Ir	1,9	2,6	2,8	2,9
Ca	5,7	5,0	5,8	6,0
Mg	4,2	4,5	4,7	4,5
Pb	9,0	12,9	15,1	12,0
Cr	6,1	9,9	11,4	12,0
Mn	6,2	6,3	6,5	6,4
Fe	25,9	26,6	28,8	28,1
Co	19,3	19,4	23,7	19,4
Ni	8,9	9,0	13,2	11,2
Cu	29,2	32,8	33,1	33,1
Zn	10,6	10,6	10,6	13,4
Cd	17,1	19,5	22,1	20,2

¹ Masa (102 mg) próbki (BCR-723) stałej roztworzonej w mieszaninie kwasów i zażęzonej na węglu aktywnym.

² Wartość granicy oznaczalności pierwiastków dla techniki ETV-ICP-OES z pustą kuletą grafitową.

³ Wartość granicy oznaczalności pierwiastków dla techniki ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/mieszaniny kwasów.

⁴ Wartość granicy oznaczalności pierwiastków dla techniki ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów/ tiomocznika.

⁵ Wartość granicy oznaczalności pierwiastków dla techniki ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów/ emulsji PTFE.

Wartości granic oznaczalności pozostałych 11 pierwiastków mieszczą się w przedziale wartości otrzymanych przez innych badaczy. Wyjątkami są dwa pierwiastki: Co (100,0 ng/g) i Ni (266,7 ng/g), dla których granice oznaczalności przedstawione w cytowanej literaturze mają większe wartości w porównaniu do wartości otrzymanych dla Co (19,4 ng/g) i Ni (11,2 ng/g) z zastosowaniem modyfikatora, emulsji PTFE.

Różnica w wartościach granic oznaczalności ma uzasadnienie w porównaniu wyników otrzymanych z zastosowaniem metody z dodatkiem gazu reakcyjnego wprowadzanego wraz z gazem nośnym do ETV [8], z metodą zastosowaną w pracy, bezpośredniego dodatku modyfikatora chemicznego do roztworzonej próbki.

Najmniejszą wartość granicy oznaczalności otrzymano dla Mg (4,7 ng/g) z zastosowaniem modyfikatora, emulsji PTFE. Otrzymana wartość jest większa od przedziału wartości 0,03÷0,2 ng/g zamieszczonego w literaturze. Wyższa granica wykrywalności dla Mg ma swoje uzasadnienie w występowaniu tego pierwiastka w ściankach łącznika pomiędzy układem do elektrotermicznego odparowania a palnikiem ICP spektrometru emisyjnego. Pierwiastek został zaadsorbowany w łączniku podczas pracy z techniką łączoną i nie został całkowicie usunięty podczas

etapu czyszczenia. Zaobserwowany efekt jest związany z obecnością Mg w materiałach odniesienia oraz próbkach rzeczywistych, w których zawartość jest wyrażona w mg/g. Pozostałe zawartości pierwiastków (Ca, Fe i Zn) w łączniku (rys. 1, część b), stanowiące główne składniki materiałów odniesienia, są również trudno usuwalne.

Precyzja metody

W tabeli 9 zestawiono wartości precyzji metody dla 16 oznaczonych pierwiastków. Wartość precyzji została wyznaczona ze wzoru:

$$CV = RSD \cdot 100\%$$

gdzie:

CV - współczynnik zmienności (*coefficient of variation*),

RSD - względne odchylenie standardowe (*relative standard deviaton*),

Tabela 9

Porównanie wyznaczonych wartości precyzji metody dla 16 wybranych pierwiastków¹

Pierwiastek	Precyzja ² [%]	Precyzja ³ [%]	Precyzja ⁴ [%]
Pt	9	11	9
Pd	8	9	9
Ru	9	10	9
Rh	9	10	9
Ir	15	15	14
Ca	13	12	13
Mg	12	14	12
Pb	12	10	11
Cr	14	10	12
Mn	14	10	11
Fe	13	13	14
Co	10	12	10
Ni	11	12	11
Cu	10	11	11
Zn	13	11	10
Cd	10	12	13

¹ Masa (103 mg) próbki (CW-7) stałej roztworzonej w mieszaninie kwasów i zateżonej na węglu aktywnym.

² Wartość precyzji wyznaczona dla techniki ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/mieszaniny kwasów.

³ Wartość precyzji wyznaczona dla techniki ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/mieszaniny kwasów/ tiomocznika.

⁴ Wartość precyzji wyznaczona dla techniki ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/mieszaniny kwasów/ emulsji PTFE.

Wartość odchylenia standardowego obliczona z pięciu pomiarów.

Wartości precyzji metody dla platynowców mieszczą się w przedziale od 8 do 15%. Najmniejszą wartość precyzji otrzymano dla Pd, największą dla Ir. Różne wartości precyzji wyznaczono dla techniki ETV-ICP-OES z zastosowaniem mieszaniny kwasów i węgla aktywnego. Wartości precyzji wskazują na zróżnicowanie efektywności odparowania pierwiastków z porów węgla aktywnego w obecności modyfikatorów chemicznych (tiomocznik, emulsja PTFE). Różnica precyzji metody jest związana z różną masą (próbka + węgiel aktywny + modyfikator), która trafia do źródła

wzbudzenia. Jednym ze źródeł różnic masy jest osiadanie na ściankach łącznika pomiędzy ETV i palnikiem ICP spektrometru emisyjnego węgla aktywnego wraz z zaadsorbowanymi na jego powierzchni pierwiastkami. Bardzo ważna jest również zawartość pierwiastka, który oznaczamy. W przypadku małych zawartości pierwiastków bliskich granicy wykrywalności wpływ na precyzję metody jest znaczący - powoduje jej pogorszenie. Przykładem jest Ir, którego mała zawartość (od $2,2 \pm 1,3$ do $2,8 \pm 1,3$ ng/g) w materiale CW-7 oznacza większą wartość precyzji metody od 14 do 15%. Dla porównania zawartości Pt w materiale CW-7 (od $52,5 \pm 7,1$ do $58,3 \pm 1,7$ ng/g) towarzyszy precyzja metody od 9 do 11%.

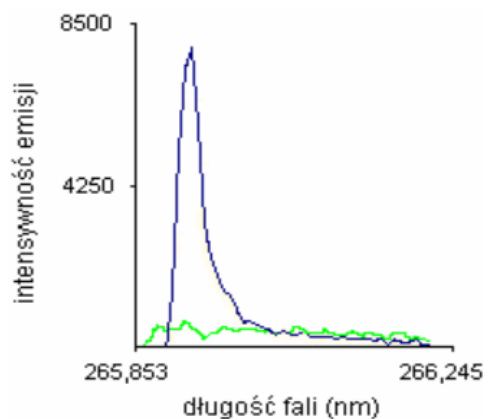
Wartości precyzji metody dla pozostałych 11 pierwiastków mieszczą się w przedziale od 10 do 14%. Największe rozbieżności precyzji wyznaczono dla Mn (od 10 do 14%). Wartości precyzji od 6% (Pb) do 14% (Mg) dla 11 wybranych pierwiastków są większe w porównaniu do wartości uzyskanych dla platynowców (od 9 do 11%) z wyjątkiem Ir (od 14 do 15%). Różnica ma swoje uzasadnienie w mniejszej zawartości Pt, Pd, Rh, Ru i Ir w porównaniu do zawartości Ca, Mg, Pb, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn i Cd w próbce.

Wartości precyzji metody wskazują na zróżnicowanie efektywności odparowania pierwiastków z porów węgla aktywnego oraz osiadania cząstek węgla aktywnego wraz z zaadsorbowanymi pierwiastkami na ściankach łącznika pomiędzy ETV i palnikiem ICP.

Źródłem różnicy w wartości precyzji metody dla wszystkich oznaczanych pierwiastków są także: temperatura pirolizy, temperatura odparowania, które są składowymi zoptimalizowanych programów temperaturowych w celu oznaczania 16 pierwiastków. Wpływ powyższych czynników zależy także od zawartości pierwiastków w próbce. Zaobserwowano relację pomiędzy zawartością pierwiastka w próbce a precyzją metody, im większa zawartość pierwiastka, tym lepsza precyzja metody.

Sprawdzenie (walidacja) metody ETV-ICP-OES

Sprawdzenia metody oznaczania pierwiastków w próbkach stałych dokonano, oznaczając platynowce i wybrane pierwiastki w certyfikowanych materiałach odniesienia. Na rysunku 2 przedstawiono przykładowe widmo emisyjne platyny.



Rys. 2. Fragment widma emisyjnego platyny, $\lambda_{\max} = 265,945$ nm

Tabela 10

Sprawdzenie metody dla wybranych platynowców z zastosowaniem materiału odniesienia BCR-723 (kurz uliczny)¹

Pierwiastek	Długość fali [nm]	Wartość certyfikowana/ szacowana [ng/g]	Wartość oznaczona ² [ng/g]	Odzysk [%]	Wartość oznaczona ³ [ng/g]	Odzysk [%]	Wartość oznaczona ⁴ [ng/g]	Odzysk [%]
Pt	265,945	81,3 ± 3,3	80,2 ± 5,1	99	82,8 ± 3,4	102	77,9 ± 7,8	96
Pd	324,270	6,0 ± 1,8	5,9 ± 2,0	98	6,4 ± 2,3	107	6,3 ± 2,1	105
Ru	240,272	-	-	-	-	-	-	-
Rh	233,477	12,8 ± 1,2	12,3 ± 2,4	96	13,0 ± 2,8	102	11,7 ± 2,4	91
Ir	236,804	-	-	-	-	-	-	-

¹ Masa (102 mg) próbki (BCR-723) stałej rozтворzonej w mieszaninie kwasów i zatężonej na węglu aktywnym.

² Zawartość pierwiastków oznaczonych techniką ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/mieszaniny kwasów.

³ Zawartość pierwiastków oznaczonych techniką ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/mieszaniny kwasów/ tiomocznika.

⁴ Zawartość pierwiastków oznaczonych techniką ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/mieszaniny kwasów/ emulsji PTFE.

- Wartość poniżej granicy wykrywalności.

Wartość średnia ± odchylenie standardowe z siedmiu pomiarów.

Tabela 11

Zawartość 11 wybranych pierwiastków w materiale BCR-723 (kurz uliczny)¹

Pierwiastek	Długość fali [nm]	Wartość oznaczona ² [%] ^a , [mg/g] ^b , [µg/g]	Wartość oznaczona ³ [%] ^a , [mg/g] ^b , [µg/g]	Wartość oznaczona ⁴ [%] ^a , [mg/g] ^b , [µg/g]
Ca	317,933	10,12 ± 0,23 ^a	11,12 ± 0,52 ^a	11,43 ± 0,21 ^a
Mg	280,270	2,75 ± 0,31 ^a	2,75 ± 0,43 ^a	2,74 ± 0,28 ^a
Pb	283,306	856 ± 25	862 ± 23	872 ± 27
Cr	267,716	460 ± 18	465 ± 26	474 ± 15
Mn	257,610	15,9 ± 2,1 ^b	17,4 ± 3,2 ^b	18,1 ± 2,2 ^b
Fe	238,204	32,2 ± 4,2 ^b	34,2 ± 3,2 ^b	33,2 ± 4,1 ^b
Co	228,616	29,4 ± 3,4	33,3 ± 4,5	36,2 ± 4,6
Ni	231,604	165 ± 7	173 ± 5	174 ± 5
Cu	327,396	355 ± 19	361 ± 23	372 ± 23
Zn	213,896	2,4 ± 0,2 ^b	2,6 ± 0,4 ^b	3,5 ± 0,4 ^b
Cd	214,438	2,64 ± 0,32	2,74 ± 0,24	2,79 ± 0,23

¹ Masa (102 mg) próbki (BCR-723) stałej rozтворzonej w mieszaninie kwasów i zatężonej na węglu aktywnym.

² Zawartość pierwiastków oznaczonych techniką ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/mieszaniny kwasów.

³ Zawartość pierwiastków oznaczonych techniką ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/mieszaniny kwasów/ tiomocznika.

⁴ Zawartość pierwiastków oznaczonych techniką ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/mieszaniny kwasów/ emulsji PTFE.

^a Zawartość pierwiastków wyrażona w %.

^b Zawartość pierwiastków wyrażona w mg g⁻¹.

Brak indeksu przy jednostce oznacza zawartość wyrażoną w µg g⁻¹.

Wartość średnia ± odchylenie standardowe z siedmiu pomiarów.

Tabela 12

Zawartość platynowców w materiale odniesienia BCR-723¹

Technika oznaczenia	Mieszanka zastosowana do roztwarzania	Masa próbki [mg]	Zawartość Pt [ng/g]	Zawartość Pd [ng/g]	Zawartość Rh [ng/g]
ICP-MS	HNO ₃ /HCl/HF/ H ₃ BO ₃	250	75,0 ± 3,8	8,0	-
ETV-ICP-OES	HF/HNO ₃ /HClO ₄ /H ₂ O ₂	100	77,9 ± 7,8	6,3 ± 2,1	11,7 ± 2,4
ETV-ICP-OES	HF/HNO ₃ /HClO ₄ /H ₂ O ₂	100	80,2 ± 5,1	5,9 ± 2,0	12,3 ± 2,4
ETAAS	HF/ HClO ₄	100	81,0 ± 2,8	-	-
Zestawienie wielu wielu technik	Zestawienie wielu mieszanin kwasów	100÷500	81,3 ± 2,6*	6,0 ± 1,8*	12,8 ± 1,2*
Zestawienie wielu technik	Zestawienie wielu mieszanin kwasów	200÷700	81,6 ± 4,9*	5,8 ± 1,2*	12,6 ± 1,4*
ICP-MS	HF	200	81,4 ± 6,7	5,5 ± 1,2	13,0 ± 1,5
ETV-ICP-OES	HF/HNO ₃ /HClO ₄ /H ₂ O ₂	100	82,8 ± 3,4	6,4 ± 2,3	13,0 ± 2,8
ICP-MS	Próbka stała	400÷700	92,0 ± 14,0	-	12,0 ± 1,8

¹ Zawartość pierwiastków oznaczonych techniką ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów/ emulsji PTFE.

- Wartość poniżej granicy wykrywalności. * Średnia zawartość

Tabela 13

Sprawdzenie metody oznaczania platynowców w materiale CW-7 (kurz drogowy)¹

Pierwiastek	Długość fali [nm]	Wartość szacowana [ng/g]	Wartość oznaczona [ng/g]	Odzysk [%]	Wartość oznaczona [ng/g]	Odzysk [%]	Wartość oznaczona [ng/g]	Odzysk [%]
Pt	265,945	55,8 ± 8,0	52,5 ± 7,1	94	58,3 ± 1,7	104	57,9 ± 4,8	104
Pd	324,270	4,0 ± 1,3	3,7 ± 1,6	93	4,1 ± 1,3	103	4,0 ± 2,1	100
Ru	240,272	-	-	-	-	-	-	-
Rh	233,477	10,3 ± 1,4	9,8 ± 1,4	95	10,0 ± 1,5	103	10,7 ± 1,7	104
Ir	236,804	-	2,2 ± 1,3	-	2,7 ± 1,5	-	2,8 ± 1,3	-

¹ Zawartość pierwiastków oznaczonych techniką ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/mieszaniny kwasów. Masa (103 mg) próbki (CW-7) stałej roztworzonej w mieszaninie kwasów i zatężonej na węglu aktywnym.

- Wartość poniżej granicy wykrywalności.

Wartość średnia ± odchylenie standardowe z siedmiu pomiarów.

W tabelach 10-16 zestawiono wyniki oznaczeń pierwiastków metodą ETV-ICP-OES dla trzech wybranych materiałów: BCR-723 (kurz drogowy), CW-7 (kurz tunelowy), NIST-1648 (kurz uliczny). W przypadku braku certyfikowanych lub szacowanych zawartości pierwiastków w materiale porównano oznaczone zawartości z innym certyfikowanym materiałem o podobnej matrycy.

Zawartość pierwiastków w zastosowanych materiałach odniesienia jest zgodna z certyfikowanymi zawartościami w tych materiałach. Wartość odzysku dla platynowców w materiale BCR-723 mieści się w przedziale od 91% (Rh) do 105% (Pd).

Porównanie oznaczonych zawartości Pt (od 77,9 ± 7,8 do 82,8 ± 3,4 ng/g) w certyfikowanym materiale odniesienia BCR-723 z wynikami oznaczania otrzymanymi przez inne ośrodki badawcze 75,0 ± 3,8 ng/g [29], 81,3 ± 2,6 ng/g [30], 81,6 ± 4,9 ng/g [25] wskazuje duże podobieństwo zawartości Pt.

Porównanie oznaczonych zawartości Pd (od 5,9 ± 2,0 do 6,4 ± 2,3 ng/g) w certyfikowanym materiale odniesienia BCR-723 z wynikami oznaczania otrzymanymi

przez inne ośrodki badawcze $5,5 \pm 1,2$ ng/g [32], $6,0 \pm 1,8$ ng/g [29], $5,8 \pm 1,2$ ng/g [25] wskazuje duże podobieństwo zawartości Pd.

Tabela 14

Zawartość wybranych pierwiastków w materiale CW-7 (kurz drogowy)¹

Pierwiastek	Długość fali [nm]	Wartość oznaczona [$\mu\text{g/g}$] ^a , [mg/g]	Wartość oznaczona [$\mu\text{g/g}$] ^a , [mg/g]	Wartość oznaczona [$\mu\text{g/g}$] ^a , [mg/g]
Ca	317,933	996 ± 178^a	1112 ± 252^a	1143 ± 212^a
Mg	280,270	7065 ± 321^a	7075 ± 432^a	7072 ± 451^a
Pb	261,418	456 ± 34^a	462 ± 28^a	472 ± 32^a
Cr	267,716	480 ± 24^a	485 ± 26^a	494 ± 15^a
Mn	260,569	15 ± 2	17 ± 3	18 ± 2
Fe	238,204	34 ± 2	38 ± 3	41 ± 4
Co	237,862	29 ± 3^a	33 ± 4^a	36 ± 4^a
Ni	231,604	165 ± 7^a	173 ± 5^a	184 ± 5^a
Cu	327,396	358 ± 19^a	361 ± 23^a	362 ± 17^a
Zn	213,896	$1,2 \pm 0,3$	$1,2 \pm 0,4$	$1,4 \pm 0,3$
Cd	226,502	318 ± 42^a	322 ± 40^a	320 ± 42^a

¹ Zawartość pierwiastków oznaczonych techniką ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywno-go/mieszanki kwasów. Masa (103 mg) próbki (CW-7) stałej roztworzonej w mieszaninie kwasów i zateżo-nej na węglu aktywnym

^a Zawartość pierwiastków wyrażona w $\mu\text{g g}^{-1}$

^b Zawartość pierwiastków wyrażona w mg g^{-1}

Brak indeksu górnego oznacza zawartość pierwiastków wyrażoną w mg g^{-1}

Brak indeksu przy wymiarze jednostki oznacza zawartość wyrażoną w %

Wartość średnia \pm odchylenie standardowe z siedmiu pomiarów

Materiał CW-7 nie ma szacowanych zawartości wybranych pierwiastków

Porównanie oznaczonych zawartości Rh (od $11,7 \pm 2,4$ do $13,0 \pm 2,8$ ng/g) w certyfikowanym materiale odniesienia BCR-723 z wynikami oznaczania otrzymanymi przez inne ośrodki badawcze $13,0 \pm 1,5$ ng/g [26], $12,8 \pm 1,2$ ng/g [26], $12,6 \pm 1,4$ ng/g [26] wskazuje duże podobieństwo zawartości Rh.

Podobnie porównywalne są zawartości 11 wybranych pierwiastków w certyfikowanym materiale BCR-723 (tab. 11). Z porównania wynika największe podobieństwo pomiędzy oznaczoną zawartością Mg (od $2,74 \pm 0,28$ do $2,75 \pm 0,31$ mg/g) a oznaczoną zawartością Mg ($2,81 \pm 0,02$ mg/g) z cytowanej literatury [26]. Największą rozbieżność pomiędzy zawartością oznaczoną (od 460 ± 18 do 474 ± 15 $\mu\text{g/g}$), a zawartością 440 ± 18 $\mu\text{g/g}$ podaną w literaturze [26] zaobserwowano dla Cr.

Wartości odzysku platynowców dla materiału CW-7 (tab. 13) mieszczą się w przedziale od 93% (Pd) do 104% (Pt, Rh).

Porównanie oznaczonych zawartości Pt (od $52,5 \pm 7,1$ do $58,3 \pm 1,7$ ng/g) w materiale CW-7 z zawartością pierwiastka oznaczoną przez inny ośrodek badawczy 55 ± 8 ng/g [27] pokazuje duże podobieństwo zawartości Pt.

Porównanie oznaczonych zawartości Pd (od $3,7 \pm 1,6$ do $4,1 \pm 1,3$ ng/g) w materiale CW-7 z wynikami oznaczania otrzymanymi przez inne ośrodki badawcze $3,4 \pm 0,9$ ng/g [26], $4,0 \pm 1,3$ ng/g [28] wskazuje duże podobieństwo zawartości Pd.

Tabela 15

Porównanie oznaczonych zawartości wybranych pierwiastków w materiale odniesienia NIST-1648 (kurz drogowy) z materiałem odniesienia BCR-723 (kurz drogowy)¹

Pierwiastek	Długość fali [nm]	NIST-1648 Wartość oznaczona [ng/g]	NIST-1648 Wartość oznaczona [ng/g]	NIST-1648 Wartość oznaczona [ng/g]	BCR-723 Wartość certyfikowana [ng/g]
Pt	265,945	7,6 ± 0,6	7,9 ± 0,8	9,1 ± 0,9	81,3 ± 3,3
Pd	324,270	-	-	-	6,0 ± 1,8
Ru	240,272	-	-	-	-
Rh	233,477	8,6 ± 1,3	8,9 ± 1,2	9,13 ± 0,9	12,8 ± 1,2
Ir	236,804	7,9 ± 2,5	8,2 ± 2,2	7,9 ± 2,2	-

¹ Zawartość pierwiastków oznaczonych techniką ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów. Masa (102 mg) próbki (NIST-1648) stałej roztworzonej w mieszaninie kwasów i zateżonej na węglu aktywnym.

- Wartość poniżej granicy wykrywalności.

Wartość średnia ± odchylenie standardowe z siedmiu pomiarów.

Materiał odniesienia NIST-1648 nie ma certyfikowanych i szacowanych zawartości platynowców.

Materiał odniesienia NIST-1648 nie ma certyfikowanych oraz szacowanych zawartości platynowców, z tego powodu oznaczone zawartości pierwiastków porównano z materiałem odniesienia BCR-723, mającym certyfikowane zawartości platynowców.

Tabela 16

Sprawdzenie metody dla wybranych pierwiastków z zastosowaniem materiału odniesienia NIST 1648 (kurz drogowy)¹

Pierwiastek	Długość fali [nm]	Wartość certyfikowana* lub szacowana** [µg/g]	Wartość oznaczona [µg/g]	Odzysk [%]	Wartość oznaczona [µg/g]	Odzysk [%]	Wartość oznaczona [µg/g]	Odzysk [%]
Ca	317,933		3072 ± 329		3107 ± 416		3124 ± 431	
Mg	280,270	50000**	50000 ± 3200	100	50000 ± 3000	100	50000 ± 3140	100
Pb	261,418	6550 ± 80*	6620 ± 740	99	6640 ± 950	99	6630 ± 340	101
Cr	267,716	403 ± 12*	398 ± 16	99	400 ± 25	99	400 ± 21	99
Mn	260,569	786 ± 17*	788 ± 21	100	786 ± 24	99	782 ± 23	99
Fe	238,204	39100 ± 1100*	39800 ± 7300	96	39500 ± 7500	99	39170 ± 8500	101
Co	237,862	18**	17,1 ± 0,4	95	17,4 ± 0,3	99	17,2 ± 0,5	94
Ni	231,604	82 ± 3*	77 ± 4	94	81 ± 4	99	80 ± 5	97
Cu	327,396	609 ± 27*	607 ± 35	99	611 ± 32	100	612 ± 34	101
Zn	213,896	4760 ± 140*	4730 ± 220	99	4790 ± 340	101	4750 ± 230	99
Cd	226,502	75 ± 7*	74 ± 13	101	76 ± 11	101	74 ± 12	99

¹ Zawartość pierwiastków oznaczonych techniką ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów. Masa (102 mg) próbki (NIST-1648) stałej roztworzonej w mieszaninie kwasów i zateżonej na węglu aktywnym.

* Certyfikowana zawartość pierwiastków.

** Szacowana zawartość pierwiastków.

Wartość średnia ± odchylenie standardowe z siedmiu pomiarów.

Porównanie oznaczonych zawartości Rh (od 10,0 ± 1,5 do 10,3 ± 1,7 ng/g) w materiale CW-7 z zawartością pierwiastka oznaczoną przez inny ośrodek badawczy 10,3 ± 1,4 ng/g [26] pokazuje duże podobieństwo zawartości Rh.

W materiale CW-7 oznaczono również Ir, którego zawartość mieści się w przedziale od $2,7 \pm 1,5$ do $2,8 \pm 1,3$ ng/g. Oznaczona zawartość Ir jest bliska granicy wykrywalności zastosowanej metody. Brak jest informacji w dostępnej literaturze o zawartości Ir w materiale CW-7.

Podobnie porównywalne są zawartości 11 wybranych pierwiastków w materiale CW-7 (tab. 11). Z porównania wynika, że największe podobieństwo pomiędzy oznaczoną (od 165 ± 7 do 184 ± 5 $\mu\text{g/g}$) i zacytowaną z literatury [26] zawartością (152 ± 2 $\mu\text{g/g}$) jest obserwowane dla Ni. Największą rozbieżność pomiędzy zawartością oznaczoną (od 480 ± 24 do 494 ± 15 $\mu\text{g/g}$) a zawartością 234 ± 18 $\mu\text{g/g}$ podaną w literaturze [26] zaobserwowano dla Cr.

Różnica w zawartości Cr pomiędzy danymi literaturowymi a wartością oznaczaną ma swoje uzasadnienie w złożoności matrycy materiału (kurz uliczny). Przykładem różnic w zawartości pierwiastków w materiale o tej samej matrycy jest zestawienie zawartości pierwiastków w tabeli 14. Porównano tam zawartości 11 wybranych pierwiastków w materiale CW-7 z zawartościami pierwiastków w materiale BCR-723; wyniki zawartości pierwiastków są porównywalne. Wyjątki stanowią: Ca, Mg i Cd, których zawartości w materiale CW-7 odbiegają znacznie od zawartości oznaczanych w materiale odniesienia BCR-723. Oznacza to, że różnice w zawartości pierwiastków są możliwe także w przypadku materiałów o identycznej matrycy.

Zawartość platynowców (nieokreślona w certyfikacie) w materiale odniesienia NIST-1648 została przedstawiona w tabeli 15. Zawartość Pt (od $7,9 \pm 0,8$ do $9,1 \pm 0,9$ ng/g) oznaczona w materiale jest mniejsza w porównaniu do pozostałych materiałów odniesienia BCR-723 ($81,3 \pm 3,3$ ng/g), CW-7 ($55,8 \pm 8,0$ ng/g). Pozostałe platynowce mają porównywalną zawartość do oznaczonych w pozostałych materiałach odniesienia. Zawartość Rh (od $8,6 \pm 1,3$ do $9,1 \pm 0,9$ ng/g) oznaczona w materiale NIST-1648 jest porównywalna z zawartością w materiale odniesienia BCR-723 ($12,8 \pm 1,2$ ng/g), CW-7 ($10,3 \pm 1,4$ ng/g).

Zawartość Ir (od $7,9 \pm 2,5$ do $8,2 \pm 2,2$ ng/g) oznaczona w materiale NIST-1648 jest porównywalna z zawartością w materiale odniesienia CW-7 (od $2,7 \pm 1,5$ do $2,8 \pm 1,3$ ng/g). Brak jest informacji o zawartości Ir w materiale odniesienia NIST-1648 w dostępnej literaturze.

W materiale odniesienia NIST-1648 zawartość Pd i Ru jest poniżej granicy wykrywalności zastosowanej metody. W dostępnej literaturze brak jest informacji o zawartości wymienionych pierwiastków w poddanym badaniom materiale odniesienia.

Zawartość 11 wybranych pierwiastków (tab. 16) jest zgodna z certyfikatem, wartość odzysku mieści się w przedziale od 94% (Co) do 100% (Mg).

Porównanie oznaczonych zawartości Ca (od 30720 ± 3290 do 31240 ± 4310 $\mu\text{g/g}$) w materiale NIST-1648 z zawartością pierwiastka oznaczoną przez inny ośrodek badawczy 58000 ± 3000 $\mu\text{g/g}$ [29] wskazuje na różne zawartości Ca. Pierwiastek ten nie ma certyfikowanych oraz szacowanych zawartości w badanym materiale.

Porównanie oznaczonych zawartości Mg (od 50000 ± 3200 do 50000 ± 3100 $\mu\text{g/g}$) w materiale NIST-1648 z zawartością pierwiastka oznaczoną przez inny ośrodek badawczy 51000 ± 2000 $\mu\text{g/g}$ [29] wskazuje na porównywalne zawartości Mg.

Porównanie oznaczonych zawartości Pb (od 6620 ± 740 do 6640 ± 950 $\mu\text{g/g}$) w materiale NIST-1648 z zawartością pierwiastka oznaczoną przez inny ośrodek badawczy 6700 ± 300 $\mu\text{g/g}$ [29] wskazuje na zbliżone zawartości Pb.

Porównanie oznaczonych zawartości Cr (od 398 ± 16 do 400 ± 21 $\mu\text{g/g}$) w materiale NIST-1648 z zawartością pierwiastka oznaczoną przez inny ośrodek badawczy 423 ± 28 $\mu\text{g/g}$ [29] wskazuje na porównywalne zawartości Cr.

Porównanie oznaczonych zawartości Mn (od 782 ± 23 do 786 ± 24 $\mu\text{g/g}$) w materiale NIST-1648 z zawartością pierwiastka oznaczoną przez inny ośrodek badawczy 800 ± 10 $\mu\text{g/g}$ [29] wskazuje na zbliżone zawartości Mn.

Porównanie oznaczonych zawartości Fe (od 39170 ± 8500 do 39170 ± 7300 $\mu\text{g/g}$) w materiale NIST-1648 z zawartością pierwiastka oznaczoną przez inny ośrodek badawczy 41100 ± 470 $\mu\text{g/g}$ [29] wskazuje na porównywalne zawartości Fe.

Porównanie oznaczonych zawartości Co (od $17,1 \pm 0,3$ do $17,2 \pm 0,5$ $\mu\text{g/g}$) w materiale NIST-1648 z zawartością pierwiastka oznaczoną przez inny ośrodek badawczy $16,4 \pm 0,2$ $\mu\text{g/g}$ [29] wskazuje na zbliżone zawartości Co.

Porównanie oznaczonych zawartości Ni (od 77 ± 4 do 81 ± 4 $\mu\text{g/g}$) w materiale NIST-1648 z zawartością pierwiastka oznaczoną przez inny ośrodek badawczy 78 ± 3 $\mu\text{g/g}$ [29] wskazuje na zbliżone zawartości Ni.

Porównanie oznaczonych zawartości Cu (od 607 ± 35 do 612 ± 34 $\mu\text{g/g}$) w materiale NIST-1648 z zawartością pierwiastka oznaczoną przez inny ośrodek badawczy 609 ± 27 $\mu\text{g/g}$ [29] wskazuje na zbliżone zawartości Cu.

Porównanie oznaczonych zawartości Zn (od 4730 ± 220 do 4790 ± 340 $\mu\text{g/g}$) w materiale NIST-1648 z zawartością pierwiastka oznaczoną przez inny ośrodek badawczy 4760 ± 140 $\mu\text{g/g}$ [29] wskazuje na zbliżone zawartości Zn.

Porównanie oznaczonych zawartości Cd (od 74 ± 12 do 76 ± 11 $\mu\text{g/g}$) w materiale NIST-1648 z zawartością pierwiastka oznaczoną przez inny ośrodek badawczy $72,1 \pm 3,0$ $\mu\text{g/g}$ [29] wskazuje na zbliżone zawartości Cd.

Wszystkie oznaczone pierwiastki wykazują dużą zgodność pomiędzy zawartościami oznaczonymi a certyfikowanymi oraz wynikami oznaczeń przedstawionymi przez inne ośrodki naukowe.

Zastosowanie opracowanej metody analitycznej

Zawartość platynowców w próbkach rzeczywistych

Dokonano wyboru próbek środowiskowych: pyłu przemysłowego, kurzu z filtru powietrza oraz kurzu drogowego. Oznaczono zawartość pierwiastków w próbkach środowiskowych metodą ETV-ICP-OES. Wyniki zostały zestawione w tabeli 17.

Zawartość platynowców w próbkach środowiskowych (tab. 17) jest zbliżona do zawartości w materiałach odniesienia z podobnych źródeł pochodzenia [30-32]. Największą zawartość platyny oznaczono w pyle z instalacji przemysłowej, mieści się ona w przedziale od $677,3 \pm 88,3$ do $683,3 \pm 87,7$ ng/g .

W próbkach kurzu największą zawartość platyny oznaczono w kurzu drogowym z filtru zawierającym frakcję poniżej $0,2$ μm średnicy cząstek. Zawartość Pt mieści się w przedziale od $154,5 \pm 34,7$ do $161,7 \pm 74,5$ ng/g . Najmniejszą zawartość platyny oznaczono w kurzu z filtru powietrza samochodu osobowego mieści się w przedziale od $34,0 \pm 3,1$ do $36,1 \pm 5,4$ ng/g . Różnica w zawartości platyny w próbkach

o podobnej matrycy wskazuje na wzbogacenie pierwiastka w próbce we frakcji poniżej 0,2 μm średnicy cząstek.

Zawartość platyny w próbce kurzu drogowego z filtru zawierającym frakcję poniżej 0,2 μm średnicy cząstek jest zbliżona do oznaczonej w materiale odniesienia BCR-723 (przedział od $77,9 \pm 7,8$ do $82,8 \pm 3,4$ ng/g).

W próbkach rzeczywistych największą zawartość palladu oznaczono w kurzu drogowym z filtru o frakcji poniżej 0,2 μm średnicy mieści się w przedziale od $72,3 \pm 22,6$ do $79,3 \pm 34,5$ ng/g. Najmniejszą zawartość palladu oznaczono w kurzu z filtru powietrza samochodu osobowego, która mieści się w przedziale od $3,0 \pm 0,1$ do $5,2 \pm 0,2$ ng/g. Różnica w zawartości palladu w próbkach o podobnej matrycy wskazuje na wzbogacenie próbki w pierwiastek we frakcji poniżej 0,2 μm średnicy cząstek. Zawartość palladu jest zbliżona do oznaczonej w materiale odniesienia BCR-723 (przedział od $5,9 \pm 2,0$ do $6,4 \pm 2,3$ ng/g) oraz w materiale CW-7 (przedział od $3,7 \pm 1,6$ do $4,1 \pm 1,3$ ng/g).

Tabela 17

Zawartość platynowców w próbkach środowiskowych

Próbka	Metoda	Pierwiastek				
		Pt [ng/g]	Pd [ng/g]	Ru [ng/g]	Rh [ng/g]	Ir [ng/g]
Pył z instalacji przemysłowej	1	$677,3 \pm 88,3$	$23,4 \pm 8,2$	-	-	-
	2	$681,5 \pm 98,9$	$29,4 \pm 7,3$	-	-	-
	3	$683,3 \pm 87,7$	$33,5 \pm 10,6$	-	-	-
Kurz uliczny z filtru powietrza ciągnika siodłowego	1	$143,4 \pm 65,6$	$27,4 \pm 8,8$	-	$4,9 \pm 0,1$	-
	2	$151,4 \pm 58,3$	$31,3 \pm 6,8$	-	$5,6 \pm 0,2$	-
	3	$155,4 \pm 61,7$	$34,3 \pm 7,1$	-	$6,2 \pm 0,1$	-
Kurz uliczny z filtrów powietrza samochodów osobowych	1	$34,0 \pm 3,1$	$3,0 \pm 0,1$	$10,3 \pm 2,3$	$4,1 \pm 0,1$	$0,9 \pm 0,2$
	2	$36,7 \pm 4,1$	$4,9 \pm 0,3$	$11,1 \pm 3,4$	$5,2 \pm 0,6$	$1,0 \pm 0,4$
	3	$36,1 \pm 5,4$	$5,2 \pm 0,2$	$11,4 \pm 3,8$	$6,4 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,6$
Kurz drogowy z filtru	1	$85,6 \pm 25,3$	$62,7 \pm 12,4$	-	-	-
	2	$87,2 \pm 23,2$	$61,5 \pm 13,3$	-	-	-
	3	$90,2 \pm 34,7$	$63,0 \pm 23,8$	-	-	-
Kurz drogowy z filtru frakcja < 0.2 (μm)	1	$154,5 \pm 34,7$	$72,3 \pm 22,6$	$9,2 \pm 1,3$	-	-
	2	$157,3 \pm 64,1$	$76,9 \pm 23,6$	$9,3 \pm 1,7$	-	-
	3	$161,7 \pm 74,5$	$79,3 \pm 34,5$	$9,5 \pm 1,9$	-	-

- 1 - zawartość pierwiastków oznaczonych techniką ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów.
- 2 - zawartość pierwiastków oznaczonych techniką ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów/ tiomocznika.
- 3 - zawartość pierwiastków oznaczonych techniką ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów/ emulsji PTFE.

- Zawartość poniżej granicy wykrywalności.

Wartość średnia \pm odchylenie standardowe z siedmiu pomiarów.

Masa próbek stałych załadowanych na węgiel aktywnym:

- pył z instalacji przemysłowej (101 mg),
- kurz uliczny z filtru powietrza ciągnika siodłowego (104 mg),
- kurz uliczny z filtrów powietrza samochodów osobowych (105 mg),
- kurz drogowy z filtru (43 mg),
- kurz drogowy z filtru, frakcja poniżej 0,2 μm średnicy cząstek (53 mg).

W próbkach rzeczywistych zawartość rutenu jest mała w porównaniu do platyny i oznaczono ją w dwóch materiałach. Zawartość Ru w kurzu drogowym z filtru zawierającym frakcję poniżej 0,2 μm średnicy cząstek mieści się w przedziale od $9,2 \pm 1,3$ do $9,5 \pm 1,9$ ng/g. Zawartość Ru w kurzu z filtru powietrza samochodu osobowego mieści się w przedziale od $10,3 \pm 2,3$ do $11,4 \pm 3,8$ ng/g.

W próbkach rzeczywistych zawartość rodu jest mniejsza w porównaniu do platyny i oznaczono ją w dwóch materiałach. Zawartość Rh w kurzu z filtru powietrza ciągnika siodłowego mieści się w przedziale od $4,9 \pm 0,1$ do $6,2 \pm 0,1$ ng/g. Zawartość Rh w kurzu z filtru powietrza samochodu osobowego mieści się w przedziale od $4,1 \pm 0,1$ do $6,4 \pm 0,4$ ng/g. Zawartość rodu jest zbliżona do oznaczonej w materiale odniesienia BCR-723 (przedział od $11,7 \pm 2,4$ do $13,0 \pm 2,8$ ng/g) oraz w materiale CW-7 (przedział od $9,8 \pm 1,4$ do $10,7 \pm 1,7$ ng/g).

Najmniejsza zawartość Ir spośród wszystkich platynowców została oznaczona w kurzu ulicznym z filtru powietrza samochodu osobowego. Zawartość Ir mieści się w przedziale od $0,9 \pm 0,2$ do $1,1 \pm 0,6$ ng/g. Iryd nie ma certyfikowanej zawartości w żadnym z badanych materiałów odniesienia. Jednak oznaczono go w materiale CW-7 (od $2,7 \pm 1,5$ do $2,8 \pm 1,3$ ng/g) i NIST-1648 (od $7,9 \pm 2,5$ do $8,2 \pm 2,2$ ng/g). W danych literaturowych brak jest jednak doniesień o oznaczaniu Ir w wyżej wymienionych materiałach odniesienia.

Zawartość wybranych pierwiastków w próbkach rzeczywistych

W tabelach 18-22 przedstawiono zawartości 11 pierwiastków w próbkach rzeczywistych: kurzu z filtrów powietrza, kurzu drogowego (4 próbki) oraz pyłu z instalacji przemysłowej (1 próbka).

Tabela 18

Zawartość wybranych pierwiastków w pyłe z instalacji przemysłowej

Pierwiastek	1 [$\mu\text{g/g}$] ^a , [mg/g]	2 [$\mu\text{g/g}$] ^a , [mg/g]	3 [$\mu\text{g/g}$] ^a , [mg/g]
Ca	1645 ± 178^a	1652 ± 345^a	1659 ± 312^a
Mg	3421 ± 221^a	3432 ± 432^a	3437 ± 391^a
Pb	498 ± 55^a	498 ± 23^a	503 ± 37^a
Cr	380 ± 43^a	385 ± 21^a	397 ± 10^a
Mn	17 ± 2	18 ± 3	18 ± 3
Fe	31 ± 5	32 ± 4	34 ± 4
Co	23 ± 4^a	25 ± 3^a	36 ± 4^a
Ni	234 ± 7^a	237 ± 32^a	244 ± 16^a
Cu	259 ± 19^a	261 ± 21^a	265 ± 19^a
Zn	$3,1 \pm 0,2$	$2,6 \pm 0,4$	$3,5 \pm 0,4$
Cd	265 ± 67^a	272 ± 17^a	276 ± 18^a

1 - zawartość pierwiastków oznaczonych metodą ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów.

2 - zawartość pierwiastków oznaczonych metodą ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów/ tiomocznika.

3 - zawartość pierwiastków oznaczonych metodą ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów/ emulsji PTFE.

Wartość średnia \pm odchylenie standardowe z siedmiu pomiarów. ^a Zawartość pierwiastka wyrażona w $\mu\text{g g}^{-1}$. Brak indeksu górnego zawartość wyrażona w mg g^{-1} . Masa próbki stałej (101 mg) wzbogaconej na węglu aktywnym.

Zawartość Ca w próbkach rzeczywistych mieści się w przedziale od 1645 ± 178 do 3024 ± 178 $\mu\text{g/g}$. Najmniejszą zawartość oznaczono w pyłe z instalacji przemysłowej (tab. 18), najwyższą w kurzu drogowym zebrany z filtru (tab. 21). Zawartość Ca w próbce pyłu z instalacji wskazuje, że do produkcji katalizatora zastosowano jako główny składnik Ca. Oznaczona zawartość jest trzykrotnie większa w porównaniu z oznaczoną w materiale CW-7 (1112 ± 252 $\mu\text{g/g}$). Największą zawartość Ca oznaczono w materiale BCR-723 ($11,12 \pm 0,52\%$). Zawartość Ca w próbce jest zbliżona do zawartości w materiale NIST-1648 (3107 ± 416 $\mu\text{g/g}$). Zawartość Mg w próbkach rzeczywistych mieści się w przedziale od 1236 ± 221 do 3421 ± 221 $\mu\text{g/g}$. Najmniejszą zawartość oznaczono w kurzu zebrany z filtru powietrza ciągnika siodłowego (tab. 19), największą w pyłe z instalacji przemysłowej (tab. 18). Największa zawartość w pyłe z instalacji przemysłowej wskazuje, że do produkcji katalizatora zastosowano Mg jako jeden z głównych składników. Największa zawartość Mg spośród wszystkich próbek jest dwukrotnie mniejsza od oznaczonej w materiale CW-7 (7075 ± 432 $\mu\text{g/g}$).

Tabela 19

Zawartość wybranych pierwiastków w kurzu z filtru powietrza ciągnika siodłowego

Pierwiastek	1 [$\mu\text{g/g}$] ^a , [mg/g]	2 [$\mu\text{g/g}$] ^a , [mg/g]	3 [$\mu\text{g/g}$] ^a , [mg/g]
Ca	1843 ± 178^a	1852 ± 215^a	1859 ± 212^a
Mg	1236 ± 221^a	1247 ± 196^a	1254 ± 201^a
Pb	235 ± 55^a	243 ± 35^a	247 ± 54^a
Cr	345 ± 43^a	358 ± 18^a	367 ± 17^a
Mn	7 ± 2	10 ± 3	12 ± 3
Fe	37 ± 5	39 ± 4	44 ± 4
Co	43 ± 4^a	44 ± 5^a	48 ± 4^a
Ni	122 ± 23^a	127 ± 14^a	130 ± 24^a
Cu	234 ± 19^a	251 ± 21^a	255 ± 30^a
Zn	$4,5 \pm 0,2$	$4,8 \pm 0,4$	$5,2 \pm 0,7$
Cd	254 ± 67^a	258 ± 17^a	262 ± 34^a

1 - zawartość pierwiastków oznaczonych metodą ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywno-go/mieszaniny kwasów.

2 - zawartość pierwiastków oznaczonych metodą ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywno-go/mieszaniny kwasów/ tiomocznika.

3 - zawartość pierwiastków oznaczonych metodą ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywno-go/mieszaniny kwasów/ emulsji PTFE.

Wartość średnia \pm odchylenie standardowe z siedmiu pomiarów.

^a Zawartość pierwiastka wyrażona w $\mu\text{g g}^{-1}$.

Brak indeksu górnego wskazuje, że zawartość jest wyrażona w mg g^{-1} .

Masa próbki stałej (104 mg) wzbogaconej na węglu aktywnym.

Zawartość Pb w próbkach rzeczywistych mieści się w przedziale od 81 ± 17 do 503 ± 37 $\mu\text{g/g}$. Najmniejszą zawartość oznaczono w kurzu drogowym z filtru o frakcjach poniżej $0,2 \mu\text{m}$ (tab. 22), największą w pyłe z instalacji przemysłowej (tab. 18). Zawartość Pb w kurzu drogowym zawierającym frakcje poniżej $0,2 \mu\text{m}$ średnicy cząstek jest mniejsza od zawartości oznaczonej w tym samym materiale zawierającym wszystkie frakcje 278 ± 19 $\mu\text{g/g}$.

Tabela 20

Zawartość wybranych pierwiastków w kurzu z filtrów powietrza samochodu osobowego

Pierwiastek	1 [µg/g] ^a , [mg/g]	2 [µg/g] ^a , [mg/g]	3 [µg/g] ^a , [mg/g]
Ca	1954 ± 301 ^a	1975 ± 225 ^a	1985 ± 231 ^a
Mg	1298 ± 221 ^a	1267 ± 432 ^a	1278 ± 258 ^a
Pb	298 ± 55 ^a	302 ± 23 ^a	310 ± 27 ^a
Cr	424 ± 38 ^a	438 ± 21 ^a	443 ± 10 ^a
Mn	15 ± 2	16 ± 3	18 ± 4
Fe	52 ± 8	55 ± 4	57 ± 3
Co	43 ± 3 ^a	47 ± 3 ^a	49 ± 4 ^a
Ni	374 ± 7 ^a	378 ± 32 ^a	393 ± 24 ^a
Cu	253 ± 43 ^a	261 ± 21 ^a	268 ± 32 ^a
Zn	2,8 ± 0,3	3,1 ± 0,5	3,3 ± 0,7
Cd	138 ± 45 ^a	142 ± 21 ^a	152 ± 32 ^a

1 - zawartość pierwiastków oznaczonych metodą ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów.

2 - zawartość pierwiastków oznaczonych metodą ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów/ tiomocznika.

3 - zawartość pierwiastków oznaczonych metodą ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów/ emulsji PTFE.

^a Zawartość pierwiastka wyrażona w µg g⁻¹.

Brak indeksu górnego wskazuje, że zawartość jest wyrażona w mg g⁻¹.

Wartość średnia ± odchylenie standardowe z siedmiu pomiarów.

Masa próbki stałej (105 mg) wzbogaconej na węglu aktywnym.

Tabela 21

Zawartość wybranych pierwiastków w kurzu drogowym (filtr)

Pierwiastek	1 [µg/g] ^a , [mg/g]	2 [µg/g] ^a , [mg/g]	3 [µg/g] ^a , [mg/g]
Ca	3024 ± 178 ^a	3092 ± 287 ^a	3119 ± 252 ^a
Mg	2487 ± 221 ^a	2492 ± 327 ^a	2534 ± 233 ^a
Pb	245 ± 55 ^a	267 ± 32 ^a	278 ± 19 ^a
Cr	542 ± 43 ^a	565 ± 21 ^a	597 ± 23 ^a
Mn	4,4 ± 0,9	4,7 ± 1,1	4,8 ± 1,0
Fe	23 ± 3	22 ± 5	25 ± 3
Co	53 ± 4 ^a	57 ± 3 ^a	63 ± 4 ^a
Ni	326 ± 17 ^a	334 ± 32 ^a	354 ± 29 ^a
Cu	487 ± 19 ^a	491 ± 21 ^a	502 ± 32 ^a
Zn	4,4 ± 0,6	4,8 ± 0,6	5,0 ± 0,4
Cd	304 ± 54 ^a	314 ± 17 ^a	316 ± 18 ^a

1 - zawartość pierwiastków oznaczonych metodą ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów.

2 - zawartość pierwiastków oznaczonych metodą ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów/ tiomocznika.

3 - zawartość pierwiastków oznaczonych metodą ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów/ emulsji PTFE.

Wartość średnia ± odchylenie standardowe z siedmiu pomiarów.

^a Zawartość pierwiastka wyrażona w µg g⁻¹.

Brak indeksu górnego wskazuje, że zawartość wyrażona w mg g⁻¹.

Masa próbki stałej (43 mg) wzbogaconej na węglu aktywnym.

Tabela 22

Zawartość wybranych pierwiastków w kurzu drogowym (filtr) we frakcji poniżej 0,2 µm średnicy cząstek

Pierwiastek	1 [µg/g] ^a , [mg/g]	2 [µg/g] ^a , [mg/g]	3 [µg/g] ^a , [mg/g]
Ca	2067 ± 178 ^a	2072 ± 345 ^a	2069 ± 312 ^a
Mg	1434 ± 221 ^a	1448 ± 432 ^a	1457 ± 391 ^a
Pb	74 ± 23 ^a	78 ± 19 ^a	81 ± 17 ^a
Cr	43 ± 17 ^a	47 ± 21 ^a	52 ± 10 ^a
Mn	5,4 ± 1,1	5,7 ± 1,3	6,0 ± 1,4
Fe	31 ± 17	34 ± 4	37 ± 4
Co	23 ± 12 ^a	25 ± 3 ^a	28 ± 4 ^a
Ni	129 ± 7 ^a	143 ± 22 ^a	144 ± 18 ^a
Cu	159 ± 19 ^a	169 ± 21 ^a	165 ± 19 ^a
Zn	4,9 ± 0,2	5,2 ± 0,3	5,5 ± 0,4
Cd	175 ± 37 ^a	184 ± 34 ^a	188 ± 29 ^a

1 - zawartość pierwiastków oznaczonych metodą ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów.

2 - zawartość pierwiastków oznaczonych metodą ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów/ tiomocznika.

3 - zawartość pierwiastków oznaczonych metodą ETV-ICP-OES z zastosowaniem węgla aktywnego/ mieszaniny kwasów/ emulsji PTFE.

Wartość średnia ± odchylenie standardowe z siedmiu pomiarów.

^a Zawartość pierwiastka wyrażona w µg g⁻¹.

Brak indeksu górnego wskazuje, że zawartość jest wyrażona w mg g⁻¹.

Masa próbki stałej (53 mg) wzbogaconej na węglu aktywnym.

Największa zawartość Pb oznaczona w pyłe z instalacji przemysłowej wskazuje, że do produkcji katalizatora zastosowano Pb jako jeden z głównych składników. Najmniejsza oznaczona zawartość odbiega znacznie od oznaczonej w materiałach odniesienia. Największa oznaczona zawartość Pb jest zbliżona do zawartości oznaczonej w materiale CW-7 (472 ± 32 µg/g).

Zawartość Cr w próbkach rzeczywistych mieści się w przedziale od 52 ± 10 do 597 ± 23 µg/g. Najmniejszą zawartość oznaczono w kurzu drogowym z filtru o frakcji poniżej 0,2 µm średnicy cząstek (tab. 22), największą w kurzu z tego samego źródła (tab. 21). Największa oznaczona zawartość Cr jest zbliżona do zawartości oznaczonej w materiale CW-7 (494 ± 15 µg/g).

Zawartość Mn w próbkach rzeczywistych mieści się w przedziale od 6,0 ± 1,4 do 18,0 ± 4,2 mg/g. Najmniejszą zawartość oznaczono w kurzu drogowym z filtru (tab. 21), największą w pyłe z instalacji przemysłowej (tab. 18). Największa zawartość Mn jest porównywalna z oznaczoną w materiałach BCR-723 (18 ± 2 mg/g) i CW-7 (18 ± 2 mg/g).

Zawartość Fe w próbkach rzeczywistych mieści się w przedziale od 25 ± 3 do 57 ± 3 mg/g. Najmniejszą zawartość oznaczono w kurzu drogowym z filtru (tab. 20), największą w kurzu drogowym z filtru samochodów osobowych (tab. 21). Wartości oznaczone Fe są porównywalne z zawartością w materiale CW-7 (41 ± 4 mg/g).

Zawartość Co w próbkach rzeczywistych mieści się w przedziale od 28 ± 4 do 63 ± 4 mg/g. Najmniejszą zawartość oznaczono w kurzu drogowym z filtru o frakcjach poniżej 0,2 µm średnicy cząstek (tab. 22), największą w kurzu drogowym z tego samego

źródła (tab. 21). Oznaczone zawartości Co są zbliżone do zawartości w materiale odniesienia NIST-1648 ($17,2 \pm 0,5$ mg/g).

Zawartość Ni w próbkach rzeczywistych mieści się w przedziale od 144 ± 18 do 393 ± 24 $\mu\text{g/g}$. Najmniejszą zawartość oznaczono w kurzu drogowym z filtru o frakcji poniżej $0,2$ μm średnicy cząstek (tab. 22), największą w kurzu pochodzącym z filtru samochodów osobowych (tab. 20). Najmniejsza oznaczona zawartość Ni jest zbliżona do zawartości w materiałach BCR-723 (174 ± 5 $\mu\text{g/g}$) i CW-7 (184 ± 5 $\mu\text{g/g}$).

Zawartość Cu w próbkach rzeczywistych mieści się w przedziale od 165 ± 19 do 502 ± 32 $\mu\text{g/g}$. Najniższą zawartość oznaczono w kurzu drogowym z filtru o frakcji poniżej $0,2$ μm średnicy cząstek (tab. 22), największą w kurzu drogowym z tego samego źródła (tab. 21). Zawartość pierwiastka jest zbliżona do oznaczonych w materiałach BCR-723 (372 ± 23 $\mu\text{g/g}$) i NIST-1648 (611 ± 32 $\mu\text{g/g}$).

Zawartość Zn mieści się w przedziale od $2,8 \pm 0,3$ do $5,5 \pm 0,4$ mg/g. Najmniejszą zawartość oznaczono w kurzu z filtru z samochodu osobowego (tab. 20), największą w kurzu drogowym z filtru o frakcji poniżej $0,2$ μm średnicy cząstek (tab. 22). Oznacza to wzbogacenie w Zn frakcji próbki poniżej $0,2$ μm średnicy cząstek. Zawartość pierwiastka jest większa od zawartości Zn oznaczonych w materiałach BCR-723 ($2,6 \pm 0,4$ mg/g) i CW-7 ($1,4 \pm 0,4$ mg/g).

Zawartość Cd mieści się w przedziale od 175 ± 37 do 316 ± 18 $\mu\text{g/g}$. Najmniejszą zawartość oznaczono w kurzu drogowym z filtru o frakcjach poniżej $0,2$ μm średnicy cząstek (tab. 22), największą w kurzu drogowym z tego samego źródła (tab. 21). Największa zawartość jest zbliżona do oznaczonej w materiale CW-7 (320 ± 42 $\mu\text{g/g}$).

Wnioski

Wzrost ilości pojazdów wiąże się ze wzrostem emisji platynowców do środowiska przyrodniczego. W celu sprawdzenia dróg migracji oraz ilościowego ich oznaczenia konieczne jest zastosowanie odpowiednio czułych metod analitycznych.

Oznaczanie pierwiastków w próbkach na poziomie śladowym wymaga od analityka dużej staranności w wykonaniu często skomplikowanych i długotrwałych procedur analitycznych. Osiągnięcie niskich granic wykrywalności wymagało zmodyfikowania programów sterujących spektrometrem emisyjnym oraz opracowania procedury wzbogacania platynowców na węglu aktywnym. Dodatkowo zastosowano modyfikatory umożliwiające zwiększenie lotności pierwiastków. W pracy po raz pierwszy przedstawiono wyniki oznaczania Ir w materiale odniesienia NIST-1648 oraz w materiale CW-7.

Na podstawie uzyskanych wyników można sformułować następujące wnioski:

1. Chemometryczna metoda sympleksów pozwala na szybkie określenie optymalnych warunków pracy układu ETV.
2. Metoda elektrotermicznego odparowania próbek stałych jest metodą wymagającą odpowiedniego doświadczenia oraz sprawności koniecznej do wykonania procedur analitycznych, często bardziej skomplikowanych w porównaniu z klasycznymi metodami prowadzania próbek roztworowych.
3. Potwierdzono przydatność węgla aktywnego jako bardzo efektywnego sorbentu.

4. Efektywność przewodnictwa ciepła w układach odparowania pierwiastków została zwiększona na skutek zastosowania węgla aktywnego, skutkuje to wzrostem temperatury wzbudzenia.
5. Potwierdzono pozytywny wpływ wprowadzenia modyfikatorów na zwiększenie wartości intensywności emisji pierwiastków. Największe wartości intensywności emisji pierwiastków stwierdzono podczas zastosowania tiomocznika jako modyfikatora. Dodatek tego związku poprawił zdolności adsorpcyjne pierwiastków w porach węgla aktywnego; osiągnięto ten cel poprzez impregnację powierzchni sorbentu.
6. Stwierdzono wzrost efektywności transportu pierwiastków do plazmy po przeprowadzeniu ich w lotne fluorki. Zaobserwowano wzrost intensywności emisji pierwiastków po zastosowaniu emulsji PTFE oraz gazu reakcyjnego (CHF_3) dodawanego do gazu nośnego układu ETV.
7. Zastosowanie modyfikatorów: tiomocznika i emulsji PTFE bezpośrednio dodawanych do próbki w układzie ETV pozwoliło osiągnąć niższe granice wykrywalności w porównaniu z zastosowaniem modyfikatorów wprowadzanych jako gaz reakcyjny do układu ETV.
8. Zoptymalizowano masę sorbentu wprowadzanego do kuwety grafitowej w celu umożliwienia transportu par pierwiastków wraz z gazem nośnym do plazmy.
9. Opracowana metoda pozwoliła na oznaczanie pierwiastków o bardzo małych zawartościach w próbce (ng/g). Zaletą proponowanej metody jest możliwość jednoczesnego oznaczania kilkunastu pierwiastków w jednym cyklu pomiarowym.
10. Uzyskane granice wykrywalności pozwoliły na jednoczesne oznaczanie platyny, palladu, rodu, rutenu w dwóch materiałach odniesienia: BCR-723, NIST-1648 oraz w materiale CW-7 pretendującym do tego tytułu. Uzyskane granice wykrywalności umożliwiły także na oznaczenie w materiałach NIST-1648 oraz CW-7, irydu. Na tej podstawie sprawdzono poprawność zastosowanej metody analitycznej oraz przydatność jej do oznaczania platynowców.
11. Opracowana metoda umożliwiła jednoczesne oznaczanie wapnia, magnezu, manganu, żelaza, kobaltu, niklu, chromu, miedzi, cynku, kadmu i ołowiu w materiałach odniesienia: BCR-723, NIST-1648 oraz w materiale CW-7. Na tej podstawie sprawdzono poprawność zastosowanej metody analitycznej oraz przydatność jej do oznaczania 11 wybranych pierwiastków.
12. Metodę analityczną zastosowano następnie do oznaczania platynowców oraz 11 wybranych pierwiastków w próbkach rzeczywistych: kurzu ulicznym i drogowym oraz w pyle z instalacji przemysłowej.

Literatura

- [1] Garbi L.J.: Platinum Group Elements: Mineralogy, Geology, Recovery. CIM Special Volume 23. Canadian Institute of Mining and Metallurgy, Montreal 1981.
- [2] Kümmerer K. i Helmers E.: *Hospital effluents as a source for platinum in the environment*. Sci. Total Environ., 1997, **193**, 179-186.
- [3] Moldovan M.: *Origin and fate of platinum group elements in the environments*. Anal. Bioanal. Chem., 2007, **388**, 537-545.
- [4] Byrne J.P., Grégoire D.C., Benyounes M.E. i Chakrabarti C.L.: *Vaporization and atomization of the platinum group elements in the graphite furnace investigated by electrothermal vaporization-inductively coupled plasma-mass spectrometry*. Spectrochim. Acta, 1997, **52B**, 1575-1586.

- [5] Dobrowolski R.: *Determination of selenium in soils by slurry-sampling graphite furnace atomic absorption spectrometry with polytetrafluoroethylen as silica modifier*. Fresenius J. Anal. Chem., 2001, **370**, 850-865.
- [6] Dias L.F., Saint'Pierre T.D., Maia S.M., Mesquita da Silva M.A., Frescura V.L.A., Welz B. i Curtius A.J.: *Determination of arsenic, lead, selenium and tin in sediments by slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry using Ru as permanent modifier and NaCl as a carrier*. Spectrochim. Acta, 2002, **57B**, 46-56.
- [7] Ertas G. i Holcombe J.A.: *Determination of absolute transport efficiencies of Be, Cd, In, Pb and Bi for electrothermal vaporization sample introduction into an inductively coupled plasma using an in-line electrostatic precipitator*. Spectrochim. Acta, 2003, **58B**, 1597-1604.
- [8] Krivan V. i Schäffer U.: *Multielement analysis of graphite and silicon carbide by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using solid sampling and electrothermal vaporization*. Anal. Chem., 1999, **71**, 849-855.
- [9] Nickel H. i Zadgórska Z.: *A new electrothermal vaporization device for direct sampling of ceramic powders for inductively coupled plasma optical emission spectrometry*. Spectrochim. Acta, 1995, **50B**, 527-534.
- [10] Wende M.C. i Broekaert J.A.C.: *Investigations on the use of chemical modifiers for the direct determination of trace impurities in Al₂O₃ ceramic powders by slurry electrothermal evaporation coupled with inductively-coupled plasma mass spectrometry (ETV-ICP-MS)*. Fresenius J. Anal. Chem., 2001, **370**, 513-521.
- [11] Fuyi W., Zucheng J., Bin H. i Tianyou P.: *Comparative studies on chemical modification of polytetrafluoroethylene slurry in ETV-ICP-AES and ETAAS*. J. Anal. At. Spectrom., 1999, **14**, 1619-1625.
- [12] Zaray G. i Kantor T.: *Direct determination of arsenic, cadmium, lead and zinc in soils and sediments by electrothermal vaporization and inductively coupled plasma excitation spectrometry*. Spectrochim. Acta, 1995, **50B**, 489-497.
- [13] Balcerzak M.: Analytical Chemistry of Noble Metals [in:] Encyclopedia of Analytical Chemistry. J. Wiley & Sons Ltd., Chichester 2000.
- [14] Myasedova G.V., Mokhodoeva O.B. i Kubrakova I.V.: *Trends in sorption preconcentration combined with noble metal determination*. Anal. Sci., 2007, **23**, 1031-1039.
- [15] Matusiewicz H.: *Metody rozkładu próbek na mokro w analizie śladowej*. Chem. Inż. Ekol., 2004, **11**, 463-471.
- [16] Kantor T. i Zaray G.: *Improved design and optimization of an electrothermal vaporization system for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry*. Microchem. J., 1995, **51**, 266-272.
- [17] Goltz D.M., Skinner C.D. i Salin E.: *Sample introduction for inductively coupled plasma atomic emission spectrometry using an inductively heated vaporizer*. Spectrochim. Acta, 1998, **53B**, 1139-1147.
- [18] Grégoire D.C.: *Electrothermal vaporization sample introduction for inductively coupled plasma - mass spectrometry*. [W:] Discrete sample introduction techniques for inductively coupled plasma mass spectrometry. Wilson & Wilsons, Elsevier 2000.
- [19] Polska Norma PN-EN ISO 8178-1: 1996, Pomiar emisji spalin. Polski Komitet Normalizacyjny 1999.
- [20] Merkisz J., Lijewski P., Pielucha J. i Bielaczyc P.: *Uwagi o pomiarach emisji cząstek stałych i zadymienia spalin w testach stacjonarnych*. International Conference Euro Oil and Fuel, Kraków 2006.
- [21] Kemula W. i Hulanicki A.: *Spektralna analiza emisyjna*. PWN, Warszawa 1956.
- [22] Ntebogeng S.M., Wondimu T. i McCrindle R.I.: *Reductive separation and slurry nebulization of converter matter for ICP-OES analysis of some platinum group metals and gold*. J. Anal. At. Spectrom., 2004, **19**, 1493-1503.
- [23] Rodushkin I., Ruth T. i Huhtasari A.: *Comparison of two digestion methods for elemental determination in plant material by ICP techniques*. Anal. Chim. Acta, 1999, **378**, 191-201.
- [24] Kurfuerst U., Solid Sample Analysis. Springer, Heidelberg 1998.
- [25] Sutherland R.A.: *A re-examination of platinum-group element concentrations in the environmental certified reference material BCR-723*. Int. J. Environ. Anal. Chem., 2007, **87**, 501-516.
- [26] Sutherland R.A.: *Platinum group element concentrations in BCR-723: A quantitative review of published analysis*. Anal. Chim. Acta, 2007, **582**, 201-211.
- [27] Dongarra G., Sabatino G., Triscari M. i Varrica D.: *The effects of anthropogenic particulate emissions on roadway dust and Nerium oleander leaves in Messina (Sicily, Italy)*. J. Environ. Monit., 2003, **5**, 766-775.

- [28] Leśniewska B.A., Godlewska-Żytkiewicz B., Ruszczyńska A., Bulska E. i Hulanicki A.: *Elimination of interferences in determination of platinum and palladium in environmental samples by inductively coupled plasma mass spectrometry*. Anal. Chim. Acta, 2006, **564**, 236-243.
- [29] Fukai T., Kobayashi T., Sakaguchi M., Aoki M., Saito T., Fujimori E. i Haraguchi H.: *Chemical characterization of airborne particulate matter in ambient air of Nagoya, Japan, as studied by the multielement determination with ICP-AES and ICP-MS*. Anal. Sci., 2007, **23**, 207-216.
- [30] Schramel P., Zischka M., Muntau H., Stojanik B., Dams R., Gomez Gomez M. i Quevauviller Ph.: *Collaborative evaluation of the analytical state-of-art of platinum, palladium and rhodium determinations in road dust*. J. Environ. Monit., 2000, **2**, 443-451.
- [31] Zereini F., Wiseman C., Alt F., Messerschmidt J., Müller J. i Urban H.: *Platinum and rhodium concentrations in airborne particulate matter in Germany from 1988 to 1998*. Environ. Sci. Technol., 1996, **35**, 2001-2011.
- [32] Zischka M., Schramel P., Muntau H., Rehnert A., Gomez M.G., Stojanik B., Wannemaker G., Dams R., Quevauviller Ph. i Maier E.M.: *A new certified reference material for the quality control of palladium, platinum and rhodium in road dust, BCR-723*. Trends Anal. Chem., 2002, **21**, 12-23.

OPTICAL EMISSION SPECTROMETRY FOR DETERMINATION OF TRACE AMOUNTS OF PLATINUM METALS (Pt, Pd, Ru, Rh, Ir) AND Ca, Mg, Pb, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd IN ENVIRONMENTAL SAMPLES

Department of Analytical Chemistry, Poznan University of Technology

Abstract: Technological development should be accompanied by the care of natural environment. It happens that elimination of one contamination generates other. It has become when car catalysts were introduced. Platinum metals, which have been employed in production of car catalysts, reach environment and cause contamination of soil, plants and water. The amounts of platinum metals in real samples are very low. The determination of platinum metals in environmental samples is possible after enrichment or separating from matrix. The analytical performance of inductively coupled plasma optical emission spectrometry hyphenated with electrothermal vaporization (ETV-ICP-OES) was investigated. Elements were preconcentrated on active carbon. Volatility of elements was increased using chemical modifiers (PTFE and thiourea). This method was evaluated for determination of platinum metals (Pt, Pd, Ru, Rh, Ir) and Ca, Mg, Pb, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Cd in certified reference materials (tunnel dust, road dust) and real samples (tunnel dust, road dust, industrial dust). The measured contents, in reference materials, were in satisfactory agreement with the certified values.

Keywords: certified reference materials, electrothermal vaporization, inductively coupled plasma optical emission spectrometry, determination of platinum metals, preconcentration on active carbon, determination of selected elements

REVIEW

Piotr KONIECZKA i Jacek NAMIEŚNIK

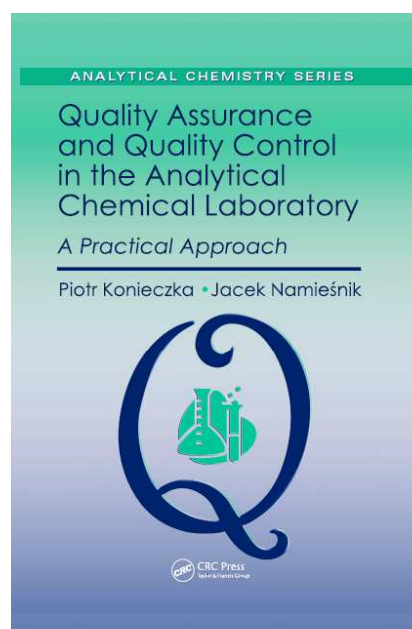
**„QUALITY ASSURANCE AND QUALITY CONTROL
IN THE ANALYTICAL CHEMICAL LABORATORY.
A PRACTICAL APPROACH”**

**TAYLOR & FRANCIS
BOCA RATON, LONDON, NEW YORK 2009, 234 SS
ISBN 978-1-4200-8270-8**

Na początku 2009 roku nakładem Wydawnictwa CRC Press Taylor & Francis Group w Analytical Chemistry Series ukazała się niezwykle wartościowa monografia „Quality Assurance and Quality Control in the Analytical Chemical Laboratory. A Practical Approach”. Książka ta jest bardzo ważną pozycją, wypełnia ona na rynku wydawniczym lukę w tej dziedzinie. Jest napisana w języku angielskim, co ma duże znaczenie dla szerokiego grona pracowników nauk ścisłych, ponieważ zawiera obecnie obowiązującą terminologię angielską, w którym to języku jest publikowana zdecydowana większość prac naukowych z zakresu chemii analitycznej.

Katedra Chemii Analitycznej Politechniki Gdańskiej, kierowana od wielu lat przez Prof. zw. dra hab. inż. Jacka Namieśnika, ma ważne osiągnięcia w zakresie badań dotyczących oceny i kontroli jakości wyników pomiarów analitycznych. Niedawno została

wydana przez Wydawnictwa Naukowo-Techniczne w Warszawie na ten temat książka zespołu pod kierunkiem Profesora, która okazała się bestsellerem. W katalogu Wydawnictwa jest ona określana jako jeden z kilku hitów wydawniczych. I istotnie ta książka jest niezbędna każdemu polskiemu chemikowi analitykowi i nie tylko analitykowi, ponieważ dobra znajomość chemii analitycznej jest potrzebna, praktycznie rzecz biorąc, każdemu, kto zajmuje się badaniami eksperymentalnymi w obszarze nauk przyrodniczych, niekoniecznie będącemu chemikiem z wykształcenia.



Celem omawianej książki było natomiast, zgodnie z jej tytułem, dostarczenie praktycznych informacji dotyczących **zapewnienia** odpowiedniej **jakości** oraz **kontroli** analiz chemicznych. W pierwszym rozdziale książki przedstawiono rozkłady zmiennych losowych, miary i testy statystyczne wraz z literaturą. Po tym wprowadzeniu podstawowych pojęć statystyki kolejne rozdziały opisują jakość wyników analitycznych, spójność pomiarową, niepewność, materiały odniesienia, badania międzylaboratoryjne i metody walidacji. Każdy z rozdziałów po wprowadzeniu definicji i podstawowych wiadomości teoretycznych zawiera ćwiczenia praktyczne wraz z literaturą. Jest to bardzo użyteczna część książki, umożliwiającą pełną aplikację przedstawionej wcześniej wiedzy, kończy się ona załącznikiem z 15 tablicami rozkładów statystycznych. Śledzenie tych zapisów ułatwia umieszczony na jej wstępie spis akronimów. Bardzo cenną stroną tej książki jest rozbudowany skorowidz oraz płyta CD, ułatwiająca dostęp do publikacji większej liczbie osób w każdych warunkach przy wykorzystaniu komputera. Praca Piotra Konieczki i Jacka Namieśnika charakteryzuje się prostym sposobem prezentacji treści w sposób łatwy edukacyjnie. Materiały graficzne (rysunki i tabele) zostały dobrze dobrane, co ułatwia szybkie przyswajanie niełatwego, a precyzyjnego problemu oceny jakości wyników analitycznych.

Z uwagi na wysoki poziom naukowo-edukacyjny książki w pełni ją rekomenduję wszystkim pracownikom nauki, doktorantom i studentom kierunków przyrodniczych na wszystkich uczelniach w kraju i za granicą. Charakteryzuje się ona interdyscyplinarnością stosowania i to w bardzo szerokim zakresie praktyki. Recenzowana monografia nie tylko wprowadza czytelnika w bardzo specyficzny nurt jakości analityki, ale w wyczerpujący sposób zaznajamia z daleko posuniętą oceną jakości wyników analitycznych w różnych laboratoriach. Pierwsze wydanie tej książki szybko znajdzie nabywców i zapewne wkrótce zostanie wyczerpane.

Prof. zw. dr hab. Jerzy Siepak
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza, Poznań

INDEXES

**CONTENTS OF VOLUME 16
OF "ECOLOGICAL CHEMISTRY AND ENGINEERING S"**

**SPISY TREŚCI TOMU 16
KWARTALNIKA „CHEMIA I INŻYNIERIA EKOLOGICZNA S"**

1

1. Henryk MATUSIEWICZ Design concept and characterization of a laser ablation - inductively coupled plasma/microwave induced plasma optical emission spectrometric system	9
2. Andrzej KOMOSA, Ignacy KITOWSKI, Radosław KOWALSKI, Grzegorz PITUCHA Zofia KOMOSA and Justyna GROCHOWICZ Total mercury concentration in kidneys of birds of prey from different part of Poland - some interspecies and geographical differences	19
3. Alicja MACHNICKA, Klaudiusz GRÜBEL and Jan SUSCHKA Comparison of phosphorus accumulation by <i>Filamentous bacteria</i> and <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	29
4. Sławomir ŻAK Application of pressurized floatation process aided by hydrogen peroxide in organic sewage treatment	41
5. Magnuss VIRCAVS Development of environmental management system in Latvia and threats of environmental terrorism	51
6. Irena RUTKIEWICZ i Jacek NAMIEŚNIK Mocz jako źródło informacji o narażeniu zawodowym na metale	63
7. Mieczysław SOBIK, Żaneta POLKOWSKA, Marek BŁAŚ, Kamila KLIMASZEWSKA Barbara WALNA i Jacek NAMIEŚNIK Wykorzystanie różnych form opadów i osadów atmosferycznych do oceny zanieczyszczenia środowiska w różnych regionach geograficznych Polski. Część III - Szron i szadź	81
8. Andrzej ŻARCZYŃSKI, Zbigniew GORZKA, Marcin ZABOROWSKI Marek KAŻMIERCZAK i Radosław CIESIELSKI Utlanianie mieszaniny aceton-woda (1:5) zawierającej kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy z udziałem katalizatora monolitycznego platynowo-rodowego	107

2

9. Ana Sofia CARDOSO, Sofia Alexandra FELICIANO and Maria Helena REBELO Optimization and validation of a SPME-GC-ECD methodology for the determination of organochlorine pesticides in natural spring waters from Portugal	137
10. Radosław KOWALSKI and Janusz WIERCINSKI Mercury content in smoke and tobacco from selected cigarette brands	155
11. Elżbieta PATKOWSKA Effect of chitosan and Zaprawa Oxafun T on the healthiness and communities of rhizosphere microorganisms of runner bean (<i>Phaseolus coccineus</i> L.)	163
12. Anna MUSZ, Beata KOWALSKA and Marcin K. WIDOMSKI Some issues concerning the problems of water quality modeling in distribution systems	175

13. Alicja PUSZKAREWICZ Effectiveness of chromium compounds removal on diatomite beds	185
14. Anna BANEL i Bogdan ZYGMUNT Lotne kwasy tłuszczowe na składowisku odpadów - występowanie i oznaczanie	193
15. Monika KOSIKOWSKA i Marek BIZIUK Przegląd metod oznaczania pozostałości pestycydów w próbkach powietrza	207
16. Iwona PUCZYŃSKA i Jerzy SKRZYPSKI Integracja działań biologicznych i technicznych jako podstawa intensyfikacji procesów samooczyszczania się zbiorników zaporowych (na przykładzie Zbiornika Sulejowskiego)	221

3

17. Elena MASAROVICHOVÁ, Katarína KRÁĽOVÁ and Matúš PEŠKO Energetic plants - cost and benefit	263
18. Marina V. FRONTASYEVA, Sergey S. PAVLOV, Liguri MOSULISHVILI Elena KIRKESALI, Eteri GINTURI and Nana KUCHAVA Accumulation of trace elements by biological matrice of <i>Spirulina platensis</i>	277
19. Waldemar WARDENCKI, Tomasz CHMIEL, Tomasz DYMERSKI, Paulina BIERNACKA and Beata PLUTOWSKA Application of gas chromatography, mass spectrometry and olfactometry for quality assessment of selected food products	287
20. Magnuss VIRCAVS Chemical composition and assessment of drinking water quality: Latvia case study	301
21. Stephan FRANKE, Agnieszka SAGAJDAKOW, Lidia WOLSKA and Jacek NAMIEŚNIK Integrated approach - the effective tool for pollution level control of sediments from Lake Turawskie	313
22. Małgorzata Anna JÓZWIAK and Marek JÓZWIAK Influence of cement industry on accumulation of heavy metals in bioindicators	323
23. Adam SMOLIŃSKI and Natalia HOWANIEC Sustainable production of clean energy carrier - hydrogen	335
24. Krzysztof BARBUSIŃSKI Fenton reaction - controversy concerning the chemistry	347
25. Klaudiusz GRÜBEL, Alicja MACHNICKA and Jan SUSCHKA Scum hydrodynamic disintegration for waste water treatment efficiency upgrading	359
26. Grzegorz ŁAGÓD, Mariola CHOMCZYŃSKA, Agnieszka MONTUSIEWICZ Jacek MALICKI and Andrzej BIEGANOWSKI Proposal of measurement and visualization methods for dominance structures in the saprobe communities	369
27. Ewa RADZIEMSKA, Piotr OSTROWSKI and Tomasz SERAMAK Chemical treatment of crystalline silicon solar cells as a main stage of PV modules recycling	379
28. Dorota KULIKOWSKA Charakterystyka oraz metody usuwania zanieczyszczeń organicznych z odcieków pochodzących z ustabilizowanych składowisk odpadów komunalnych	389

4

29. Joanna MARSZAŁEK and Władysław KAMIŃSKI
Environmental impact of bioethanol production 429
30. Edward NIEDŹWIECKI, Mikołaj PROTASOWICKI, Ryszard MALINOWSKI
Anna BUCIOR and Gorzysław POLESZCZUK
Water and soil conditions facilitating halophyte development
in the Polish eastern coastal areas of the Baltic Sea 439
31. Teresa KORNIŁOWICZ-KOWALSKA and Ignacy KITOWSKI
Diversity of fungi in nests and pellets of Montagu's Harrier (*Circus pygargus*)
from eastern Poland - importance of chemical and ecological factors 453
32. Bogdan SZOSTAK, Teresa KORNIŁOWICZ-KOWALSKA
and Ewa BEKIER-JAWORSKA
Fungal flora occurrence in swine farm soil environment 473
33. Angelika BEYER i Marek BIZIUK
Oznaczanie pozostałości pestycydów w próbkach żywności
z wykorzystaniem metodyki QuEChERS 483
34. Henryk MATUSIEWICZ i Piotr GAŁA
Oznaczanie śladowych ilości platynowców i wybranych pierwiastków
w próbkach środowiskowych z zastosowaniem techniki optycznej spektrometrii emisyjnej 497

**AUTHOR INDEX OF VOLUME 16
OF "ECOLOGICAL CHEMISTRY AND ENGINEERING S"**

**WYKAZ AUTORÓW PUBLIKACJI
ZAMIESZCZONYCH W TOMIE 16 KWARTALNIKA
„CHEMIA I INŻYNIERIA EKOLOGICZNA S"**

Meaning of the digits in the index entries - (no. of issue) first page, *no. of the article*
(in the volume contents)

Sposób zapisu odnośników haseł - (nr zeszytu) pierwsza strona artykułu, *nr artykułu*
(w spisie treści rocznika)

1. BANEL Anna (2) 193, 14
2. BARBUSIŃSKI Krzysztof (3) 347, 24
3. BEKIER-JAWORSKA Ewa (4) 473, 32
4. BEYER Angelika (4) 483, 33
5. BIEGANOWSKI Andrzej (3) 369, 26
6. BIERNACKA Paulina (3) 287, 19
7. BIZIUK Marek (2) 207, 15, (4) 483, 33
8. BŁAŚ Marek (1) 81, 7
9. BUCIOR Anna (4) 439, 30
10. CARDOSO Ana Sofia (2) 137, 9
11. CHMIEL Tomasz (3) 287, 19
12. CHOMCZYŃSKA Mariola (3) 369, 26
13. CIESIELSKI Radosław (1) 107, 8
14. DYMERSKI Tomasz (3) 287, 19
15. FELICIANO Sofia Alexandra (2) 137, 9
16. FRANKE Stephan (3) 313, 21
17. FRONTASYEVA Marina V. (3) 277, 18
18. GAŁA Piotr (4) 497, 34
19. GINTURI Eteri (3) 277, 18
20. GORZKA Zbigniew (1) 107, 8
21. GROCHOWICZ Justyna (1) 19, 2
22. GRŪBEL Klaudiusz (1) 29, 3; (3) 359, 25
23. HOWANIEC Natalia (3) 335, 23
24. JÓŹWIAK Małgorzata Anna (3) 323, 22
25. JÓŹWIAK Marek (3) 323, 22
26. KAMIŃSKI Władysław (4) 429, 29
27. KAŹMIERCZAK Marek (1) 107, 8
28. KIRKESALI Elena (3) 277, 18
29. KITOWSKI Ignacy (1) 19, 2, (4) 453, 31
30. KLIMASZEWSKA Kamila (1) 81, 7
31. KOMOSA Andrzej (1) 19, 2
32. KOMOSA Zofia (1) 19, 2
33. KORNIŁOWICZ-KOWALSKA Teresa (4) 453, 31, (4) 473, 32
34. KOSIKOWSKA Monika (2) 207, 15
35. KOWALSKA Beata (2) 175, 12
36. KOWALSKI Radosław (1) 19, 2; (2) 155, 10
37. KRÁĽOVÁ Katarína (3) 263, 17
38. KUČAVA Nana (3) 277, 18
39. KULIKOWSKA Dorota (3) 389, 28
40. ŁĄGÓD Grzegorz (3) 369, 26
41. MACHNICKA Alicja (1) 29, 3, (3) 359, 25
42. MALICKI Jacek (3) 369, 26
43. MALINOWSKI Ryszard (4) 439, 30
44. MARSZAŁEK Joanna (4) 429, 29
45. MASAROVIČOVÁ Elena (3) 263, 17
46. MATUSIEWICZ Henryk (1) 9, 1, (4) 497, 34
47. MONTUSIEWICZ Agnieszka (3) 369, 26
48. MOSULISHVILI Liguri (3) 277, 18
49. MUSZ Anna (2) 175, 12
50. NAMEŚNIK Jacek (1) 63, 6, (1) 81, 7, (3) 313, 21
51. NIEDŹWIECKI Edward (4) 439, 30
52. OSTROWSKI Piotr (3) 379, 27
53. PATKOWSKA Elżbieta (2) 163, 11
54. PAVLOV Sergey S. (3) 277, 18
55. PEŠKO Matúš (3) 263, 17
56. PITUCHA Grzegorz (1) 19, 2
57. PLUTOWSKA Beata (3) 287, 19
58. POLESZCZUK Gorzysław (4) 439, 30
59. POLKOWSKA Żaneta (1) 81, 7
60. PROTASOWICKI Mikołaj (4) 439, 30
61. PUCZYŃSKA Iwona (2) 221, 16
62. PUSZKAREWICZ Alicja (2) 185, 13
63. RADZIEMSKA Ewa (3) 379, 27
64. REBELO Maria Helena (2) 137, 9
65. RUTKIEWICZ Irena (1) 63, 6
66. SAGAJDAKOW Agnieszka (3) 313, 21
67. SERAMAK Tomasz (3) 379, 27
68. SKRZYPSKI Jerzy (2) 221, 16

-
- | | |
|--------------------------------------------|------------------------------------|
| 69. SMOLIŃSKI Adam (3) 335, 23 | 76. WIDOMSKI Marcin K. (2) 175, 12 |
| 70. SOBIK Mieczysław (1) 81, 7 | 77. WIERCIŃSKI Janusz (2) 155, 10 |
| 71. SUSCHKA Jan (1) 29, 3; (3) 359, 25 | 78. WOLSKA Lidia (3) 313, 21 |
| 72. SZOSTAK Bogdan (4) 473, 32 | 79. ZABOROWSKI Marcin (1) 107, 8 |
| 73. VIRCAVS Magnuss (1) 51, 5; (3) 301, 20 | 80. ZYGMUNT Bogdan (2) 193, 14 |
| 74. WALNA Barbara (1) 81, 7 | 81. ŻAK Sławomir (1) 41, 4 |
| 75. WARDENCKI Waldemar (3) 287, 19 | 82. ŻARCZYŃSKI Andrzej (1) 107, 8 |

SUBJECTS INDEX

Meaning of the digits in the index entries - (no. of issue) first page, *no. of the article*
(in the volume contents)

- Acinetobacter calcoaceticus* (1) 29, 3
activated sludge (3) 369, 26
adsorption (3) 389, 28
advanced oxidation processes (3) 389, 28
agriculture (1) 19, 2
air pollution (3) 323, 22
alternative energy source (3) 263, 17
anaerobic fermentation (3) 335, 23
anaerobic stabilization (3) 359, 25
anthropopresion (2) 221, 16
aroma (3) 287, 19
atmosphere (2) 207, 15
- benthos (2) 221, 16
BETX (3) 389, 28
biodiversity (2) 221, 16
bioethics (3) 263, 17
biofilm (3) 369, 26
biofuel (4) 429, 29
biofuels (3) 263, 17
biogas (3) 359, 25
biogens (2) 221, 16
bioindication (3) 369, 26
bioindicators (3) 323, 22
biological production (3) 335, 23
biomass (2) 221, 16
- catalysts (1) 107, 8
certified reference materials (4) 497, 34
chemical and ecological factors (4) 453, 31
chemical composition (3) 301, 20
chitosan (2) 163, 11
chlorine decay (2) 175, 12
chromium compounds (2) 185, 13
cigarette (2) 155, 10
clean-up (4) 483, 33
coagulation/flocculation (3) 389, 28
- dam reservoir (2) 221, 16
dehydration (4) 429, 29
dentrite (3) 369, 26
determination of platinum metals (4) 497, 34
determination of selected elements (4) 497, 34
2,4-dichlorophenoxyacetic acid (1) 107, 8
diatomite bed (2) 185, 13
dominance structure (3) 369, 26
drinking water quality (3) 301, 20
drinking water quality indexes (3) 301, 20
- electrothermal vaporization (4) 497, 34
energetic plants (3) 263, 17
environment (3) 263, 17
environmental management (1) 51, 5
environmental terrorism (1) 51, 5
essential elements (3) 277, 18
ethanol production (4) 429, 29
extraction (2) 207, 15, (4) 483, 33
- Fenton chemistry (3) 347, 24
Fenton reaction (3) 347, 24
Fenton reagent (3) 347, 24
ferryl ion (3) 347, 24
filamentous bacteria (1) 29, 3
filtration (2) 185, 13
foam (1) 29, 3
food (4) 483, 33
fungi (4) 453, 31, (4) 473, 32
- gas chromatography (2) 193, 14; (3) 287, 19
gas chromatography-mass spectrometry (3) 313, 21
- halophyte communities (4) 439, 30
healthiness (2) 163, 11
heavy metals (3) 323, 22
hoarfrost (1) 81, 7
honeys (3) 287, 19
human urine samples (1) 63, 6
hydrodynamic disintegration (3) 359, 25
hydrogen (3) 335, 23
hydrogen peroxide (1) 41, 4
hydroxyl radical (3) 347, 24
- inductively coupled plasma (1) 9, 1
inductively coupled plasma optical emission spectrometry (4) 497, 34
instrumental neutron activation analysis (3) 277, 18
instrumentation (1) 9, 1
- kidneys (1) 19, 2
- lake sediments (3) 313, 21
landfill leachate (3) 389, 28
laser ablation (1) 9, 1
Latvia (3) 301, 20
leachates (2) 193, 14
lichens (3) 323, 22

- mass spectroscopy (3) 287, 19
mathematical statistics (3) 301, 20
membrane processes (3) 389, 28
mercury (1) 19, 2; (2) 155, 10
metals (1) 63, 6
meteorological conditions (1) 81, 7
Microtox test (3) 313, 21
microwave induced plasma (1) 9, 1
Montagu's Harrier (4) 453, 31
municipal landfill (2) 193, 14
- nests (4) 453, 31
non-flame atomic spectrometry absorption (2) 155, 10
- occupational exposure (1) 63, 6
olfactometry (3) 287, 19
optical emission spectrometer (1) 9, 1
organic compounds (3) 313, 21
organic sewage treatment (1) 41, 4
organic substances (3) 389, 28
organic waste (3) 335, 23
organochlorine pesticides (2) 137, 9
owls (1) 19, 2
oxidation of chloroorganic compounds (1) 107, 8
- PAH (3) 389, 28
PCDD/Fs (1) 107, 8
pellets (4) 453, 31
pesticides (2) 207, 15, (4) 483, 33
pharmaceuticals (3) 277, 18
Phaseolus coccineus L. (2) 163, 11
phosphorous uptake (1) 29, 3
photovoltaic cells (3) 379, 27
physical-chemical sewage parameters (3) 369, 26
phytoremediation (3) 263, 17
PM (2) 207, 15
Poland (1) 19, 2
pollutants (1) 81, 7
preconcentration on active carbon (4) 497, 34
preparation of samples (2) 207, 15
pressurized floatation (1) 41, 4
pretreatment and storage of samples (1) 63, 6
purification (2) 207, 15
- QuEChERS method (4) 483, 33
- raptors (1) 19, 2
raw spirits (3) 287, 19
recycling (3) 379, 27
renewable energy sources (3) 379, 27
rhizosphere microorganisms (2) 163, 11
rime (1) 81, 7
- sample preparation (4) 483, 33
saprobes (3) 369, 26
scum (3) 359, 25
silicon (3) 379, 27
similarity coefficient (3) 369, 26
smoke (2) 155, 10
soil (4) 473, 32
soil exploitation (4) 439, 30
soil-hydrological conditions (4) 439, 30
solar energy (3) 379, 27
solid-phase microextraction (3) 287, 19
sorption (2) 185, 13
Spirulina platensis (3) 277, 18
SPME-GC-ECD methodology (2) 137, 9
spring waters (2) 137, 9
sustainable development (1) 51, 5
swine farm (4) 473, 32
- techniques of final determination (2) 207, 15
tobacco (2) 155, 10
- validation (2) 137, 9
Vibrio fischeri (3) 313, 21
volatile compounds (3) 287, 19
volatile fatty acids (2) 193, 14
volutin granules (1) 29, 3
- water distribution system (2) 175, 12
water quality modeling (2) 175, 12
- Zaprawa Oxafun T (2) 163, 11

INDEKS RZECZOWY

Sposób zapisu odnośników haseł - (nr zeszytu) pierwsza strona artykułu, *nr artykułu*
(w spisie treści rocznika)

- Acinetobacter calcoaceticus* (1) 29, 3
adsorpcja (3) 389, 28
alternatywne źródła energii (3) 263, 17
antropopresja (2) 221, 16
aparatura (1) 9, 1
atmosfera (2) 207, 15
- bakterie nitkowate (1) 29, 3
bezpłomieniowa absorpcyjna spektrometria atomowa (2) 155, 10
beztlenowa stabilizacja (3) 359, 25
bioetyka (3) 263, 17
biogaz (3) 359, 25
biogeny (2) 221, 16
bioindykacja (3) 369, 26
bioindykatory (3) 323, 22
biologiczna produkcja (3) 335, 23
biomasa (2) 221, 16
biopaliwa (3) 263, 17
biopaliwo (4) 429, 29
błona biologiczna (3) 369, 26
błotniak łąkowy (4) 453, 31
BTEX (3) 389, 28
- certyfikowane materiały odniesienia (4) 497, 34
chemizm procesu Fentona (3) 347, 24
chitozan (2) 163, 11
chromatografia gazowa (2) 193, 14; (3) 287, 19; (3) 313, 21
czynniki chemiczne i ekologiczne (4) 453, 31
- dendryty (3) 369, 26
dym papierosowy (2) 155, 10
- ekstrakcja (2) 207, 15, (4) 483, 33
energia słoneczna (3) 379, 27
- fauna denna (2) 221, 16
ferma świń (4) 473, 32
fermentacja beztlenowa (3) 335, 23
filtracja (2) 185, 13
fitoremediacja (3) 263, 17
flotacja ciśnieniowa (1) 41, 4
- gleba (4) 473, 32
gniazda (4) 453, 31
grzyby (4) 453, 31, (4) 473, 32
- hydrodynamiczna dezintegracja (3) 359, 25
- indeksy jakości wody pitnej (3) 301, 20
instrumentalna neutronowa analiza aktywacyjna (3) 277, 18
- jakość wody pitnej (3) 301, 20
jon ferrylowy (3) 347, 24
- katalizatory (1) 107, 8
koagulacja/flokulacja (3) 389, 28
krzem (3) 379, 27
kumulowanie fosforu (1) 29, 3
kwas 2,4-dichlorofenoksyoctowy (1) 107, 8
- lotne kwasy tłuszczowe (2) 193, 14
lotne związki zapachowe (3) 287, 19
- Łotwa (3) 301, 20
- metale (1) 63, 6
metale ciężkie (3) 323, 22
metodologia SPME-GC-ECD (2) 137, 9
metody membranowe (3) 389, 28
metodyka QuEChERS (4) 483, 33
Microtox® (3) 313, 21
mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej (3) 287, 19
mikroelementy niezbędne (3) 277, 18
mikroorganizmy ryzosferowe (2) 163, 11
miody (3) 287, 19
mocz (1) 63, 6
modelowanie jakości wody (2) 175, 12
- nadtlenek wodoru (1) 41, 4
narażenie zawodowe (1) 63, 6
nerki (1) 19, 2
- ochrony środowiska (3) 263, 17
oczyszczanie (2) 207, 15, (4) 483, 33
oczyszczanie ścieków organicznych (1) 41, 4
odcieki (2) 193, 14
odcieki składowiskowe (3) 389, 28
odczynnik Fentona (3) 347, 24
odnawialne źródła energii (3) 379, 27
odpady organiczne (3) 335, 23
odparowanie elektrotermiczne (4) 497, 34
odparowanie laserowe (1) 9, 1
odwadnianie (4) 429, 29

- ogniwa fotowoltaiczne (3) 379, 27
olfaktometria (3) 287, 19
optyczna spektrometria emisyjna (1) 9, 1
optyczna spektrometria emisyjna z plazmą sprzężoną indukcyjnie (4) 497, 34
osad czynny (3) 369, 26
osady denne (3) 313, 21
oznaczanie platynowców (4) 497, 34
oznaczanie wybranych pierwiastków (4) 497, 34
- papierosy (2) 155, 10
parametry meteorologiczne (1) 81, 7
parametry ścieków (3) 369, 26
PCDD/Fs (1) 107, 8
pestycydy (2) 207, 15, (4) 483, 33
pestycydy chloroorganiczne (2) 137, 9
Phaseolus coccineus L. (2) 163, 11
piana (1) 29, 3; (3) 359, 25
plazma mikrofalowa (1) 9, 1
plazma sprzężona indukcyjnie (1) 9, 1
pogłębione utlenianie (3) 389, 28
Polska (1) 19, 2
porosty (3) 323, 22
produkcja etanolu (4) 429, 29
przygotowanie i przechowywanie próbek (1) 63, 6
przygotowanie próbek (2) 207, 15, (4) 483, 33
ptaki drapieżne (1) 19, 2
pył zawieszony (2) 207, 15
- reakcja Fentona (3) 347, 24
recykling (3) 379, 27
rodnik hydroksylowy (3) 347, 24
rolnictwo (1) 19, 2
rośliny energetyczne (3) 263, 17
rozkład chloru (2) 175, 12
różnorodność biologiczna (2) 221, 16
rtęć (1) 19, 2; (2) 155, 10
- sadź (1) 81, 7
sieć wodociągowa (2) 175, 12
skład chemiczny (3) 301, 20
składowisko odpadów komunalnych (2) 193, 14
sorpcja (2) 185, 13
- spektrometria mas (3) 287, 19
Spirulina platensis (3) 277, 18
spirytusy rolnicze (3) 287, 19
statystyki matematyczne (3) 301, 20
struktury dominacji (3) 369, 26
system saprobów (3) 369, 26
szron (1) 81, 7
- środki farmaceutyczne (3) 277, 18
- techniki oznaczeń końcowych (2) 207, 15
terroryzm środowiskowy (1) 51, 5
tytoń (2) 155, 10
- utlenianie związków chloroorganicznych (1) 107, 8
użytkowanie terenu (4) 439, 30
- Vibrio fischeri* (3) 313, 21
- walidacja (2) 137, 9
warunki wodno-glebowe (4) 439, 30
wodór (3) 335, 23
wody źródlane (2) 137, 9
współczynniki podobieństwa (3) 369, 26
WWA (3) 389, 28
wypluwki (4) 453, 31
wzbogacanie na węglu aktywnym (4) 497, 34
- zanieczyszczenia (1) 81, 7
zanieczyszczenie powietrza (3) 323, 22
Zaprawa Oxafun T (2) 163, 11
zarządzanie środowiskiem (1) 51, 5
zbiorowiska halofitów (4) 439, 30
zdrowotność (2) 163, 11
ziarna wolutyny (1) 29, 3
złoże diatomitowe (2) 185, 13
zrównoważony rozwój (1) 51, 5
związki chromu (2) 185, 13
związki organiczne (3) 313, 21; (3) 389, 28
- żywność (4) 483, 33

VARIA



15th ICHMET



15th INTERNATIONAL CONFERENCE ON HEAVY METALS IN THE ENVIRONMENT

SEPTEMBER 19-23, 2010
GDAŃSK, POLAND

ORGANIZED BY
CHEMICAL FACULTY, GDANSK UNIVERSITY OF TECHNOLOGY (GUT)
TOGETHER WITH
COMMITTEE ON ANALYTICAL CHEMISTRY
OF THE POLISH ACADEMY OF SCIENCES (PAS)

15th ICHMET- is a continuation of a series of highly successful conferences that have been held in major cities of the world since 1975. These conferences typically draw 500-1000 participants from countries in many parts of the world. Well over 5000 scientists have taken part in this series of conferences including most leaders in the field. Apart from the city's natural beauty, Gdańsk is logical choice for the 15th Conference to highlight the outstanding work that is being done on heavy metals in Central Europe. The venue for the meeting will be the Gdansk University of Technology (GUT) which features many tourist attractions.

The Conference will include a number of invited lectures treating frontier topics prepared by specialist with international reputation, oral presentation and poster sessions. ICHMET welcomes contributions on all aspects of any heavy metal in the environment. All presentation will be connected with such topics as:

- Risk assessment and risk management pertaining to toxic metals in the environment
- Susceptibility and protection of children from toxic metals in their environment
- Measurement and exposure assessment
- Biomarkers of exposure and effects of heavy metals
- Gene-environment-metal interactions
- Trend tracking/analysis of heavy metal data - spatial and temporal
- Risk communication pertaining to heavy metals
- Life cycle analysis for metalliferous consumer products
- Soil quality criteria
- Remediation technologies
- Control strategies for heavy metal emissions and deposition
- Metal mixtures - mechanistic and epidemiological studies
- Nutrient-metal interactions
- Advancements in analytical tools (procedures and measurement devices)
- Toxicology of heavy metals, from cellular and genomic to ecosystem levels

- Heavy metals in foods
- Impact of global change on heavy metal cycle

For further information on the conference, please contact:

Professor Jacek Namieśnik (Conference Chairman)
Gdansk University of Technology, Chemical Faculty
Department of Analytical Chemistry
G. Narutowicza 11/12, 80-233 Gdańsk (Poland)
email: chemanal@pg.gda.pl
homepage: <http://www.pg.gda.pl/chem/ichmet/>

INVITATION FOR ECOpole'10 CONFERENCE

CHEMICAL SUBSTANCES IN ENVIRONMENT



We have the honour to invite you to take part in the 19th annual Central European Conference ECOpole'10, which will be held in **13-16 X 2010** (Thursday-Saturday) on Wilhelms Hill at Uroczysko in Piechowice, the Sudety Mts., Lower Silesia, PL.

The Conference Programme includes oral presentations and posters and will be divided into five sections - SI-SV:

- **SI Chemical Pollution of Natural Environment and its Monitoring**
- **SII Environment Friendly Production and Use of Energy**
- **SIII Risk, Crisis and Security Management**
- **SIV Forum of Young Scientists and Environmental Education in Chemistry**
- **SV Impact of Environment Pollution on Food and Human Health**

The Conference language is English.

Contributions to the Conference will be published as:

- abstracts on the CD-ROM (0.5 page of A4 paper sheet format)
- extended Abstracts (4-6 pages) in the semi-annual journal *Proceedings of ECOpole*
- full papers will be published in successive issues of the *Ecological Chemistry and Engineering/Chemia i Inżynieria Ekologiczna* (Ecol. Chem. Eng.) ser. A and S.

Additional information one could find on the Conference website:

ecopole.uni.opole.pl

The deadline for sending the Abstracts is **15.07.2010** and for the Extended Abstracts: **1.10.2010**. The actualised list (and the Abstracts) of the Conference contributions accepted for presentation by the Scientific Board, one can find (starting from 15.07.2010) on the Conference website.

The papers must be prepared according to the Guide for Authors on Submission of Manuscripts to the Journals.

At the Reception Desk each participant will obtain a CD-ROM with abstracts of the Conference contributions as well as Conference Programme (the Programme will be also published on the Conference website).

Maria Waclawek

Further information is available from:

Dr hab. Maria Waclawek, prof. UO

Chairperson of the Organising Committee
of ECOpole'10 Conference

Opole University

email: Maria.Waclawek@uni.opole.pl

and mrajfur@o2.pl

tel. +48 77 455 91 49 and +48 77 401 60 42

fax +48 77 401 60 51

Conference series

1. 1992 Monitoring '92 Opole
2. 1993 Monitoring '93 Turawa
3. 1994 Monitoring '94 Pokrzywna
4. 1995 EKO-Opole '95 Turawa
5. 1996 EKO-Opole '96 Kędzierzyn Koźle
6. 1997 EKO-Opole '97 Duszniki Zdrój
7. 1998 CEC ECOpole '98 Kędzierzyn Koźle
8. 1999 CEC ECOpole '99 Duszniki Zdrój
9. 2000 CEC ECOpole 2000 Duszniki Zdrój
10. 2001 CEC ECOpole'01 Duszniki Zdrój
11. 2002 CEC ECOpole'02 Duszniki Zdrój
12. 2003 CEC ECOpole'03 Duszniki Zdrój
13. 2004 CEC ECOpole'04 Duszniki Zdrój
14. 2005 CEC ECOpole'05 Duszniki Zdrój
15. 2006 CEC ECOpole'06 Duszniki Zdrój
16. 2007 CEC ECOpole'07 Duszniki Zdrój
17. 2008 CEC ECOpole'08 Piechowice
18. 2009 CEC ECOpole'09 Piechowice

**ZAPRASZAMY
DO UDZIAŁU W ŚRODKOWOEUROPEJSKIEJ KONFERENCJI
ECOpole'10
W DNIACH 13-16 X 2010**

SUBSTANCJE CHEMICZNE W ŚRODOWISKU PRZYRODNICZYM



Będzie to dziewiętnasta z rzędu konferencja poświęcona badaniom podstawowym oraz działaniom praktycznym dotycząca różnych aspektów ochrony środowiska przyrodniczego. Odbędzie się ona w ośrodku „Uroczysko” na Wzgórzu Wilhelma w Piechowicach koło Szklarskiej Poręby. Doroczne konferencje ECOpole mają charakter międzynarodowy i za takie są uznane przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego. Obrady konferencji ECOpole'10 będą zgrupowane w pięciu Sekcjach SI-SV:

- **SI Chemiczne substancje w środowisku przyrodniczym oraz ich monitoring**
 - **SII Odnawialne źródła energii i jej oszczędne pozyskiwanie oraz użytkowanie**
 - **SIII Zarządzanie środowiskiem w warunkach kryzysowych**
 - **SIV Forum Młodych (FM) i Edukacja prośrodowiskowa w chemii**
 - **SV Wpływ zanieczyszczeń środowiska oraz żywności na zdrowie ludzi**
- Materiały konferencyjne będą opublikowane w postaci:
- abstraktów (0,5 strony formatu A4) na CD-ROM-ie;
 - rozszerzonych streszczeń o objętości 4-6 stron w półroczniku *Proceedings of ECOpole*;
 - artykułów: w abstraktowanych czasopismach: *Ecological Chemistry and Engineering/Chemia i Inżynieria Ekologiczna (Ecol. Chem. Eng.)* ser. A i S oraz niektórych w półroczniku *Chemia-Dydaktyka-Ekologia-Metrologia*.

Termin nadsyłania angielskiego i polskiego streszczenia o objętości 0,5-1,0 strony (wersja cyfrowa + wydruk) planowanych wystąpień upływa w dniu 15 lipca 2010 r. Lista prac zakwalifikowanych przez Radę Naukową Konferencji do prezentacji będzie sukcesywnie publikowana od 15 lipca 2010 r. na stronie internetowej

ecopole.uni.opole.pl

Aby praca (dotyczy to także streszczenia, które powinno mieć tytuł w języku polskim i angielskim, słowa kluczowe w obydwu językach) przedstawiona w czasie konferencji mogła być opublikowana, jej tekst winien być przygotowany zgodnie z wymaganiami stawianymi artykułom drukowanym w czasopismach *Ecological Chemistry and Engineering* ser. A oraz S, które są dostępne w wielu bibliotekach naukowych w Polsce i za granicą. Są one takie same dla prac drukowanych w półroczniku *Chemia-Dydaktyka-Ekologia-Metrologia*.

Po konferencji zostaną wydane 4-6-stronicowe rozszerzone streszczenia wystąpień w półroczniku *Proceedings of ECOpole*. Artykuły te winny być przesłane do **1 października 2010 r.** Wszystkie nadsyłane prace podlegają zwykłej procedurze recenzyjnej. Wszystkie streszczenia oraz program Konferencji zostaną wydane na CD-ROM-ie, który otrzyma każdy z uczestników podczas rejestracji. Program będzie także umieszczony na stronie internetowej Konferencji.

dr hab. inż. Maria Waclawek, prof. UO
Przewodnicząca Komitetu Organizacyjnego
Konferencji ECOpole'10
Wszelkie uwagi i zapytania można kierować na adres:
Maria.Waclawek@uni.opole.pl
lub mrajfur@o2.pl
tel. 77 401 60 42
tel. 77 455 91 49
fax 77 401 60 51

Kalendarium

1. 1992 Monitoring '92 Opole
2. 1993 Monitoring '93 Turawa
3. 1994 Monitoring '94 Pokrzywna
4. 1995 EKO-Opole '95 Turawa
5. 1996 EKO-Opole '96 Kędzierzyn-Koźle
6. 1997 EKO-Opole '97 Duszniki Zdrój
7. 1998 ŚEK ECOpole '98 Kędzierzyn-Koźle
8. 1999 ŚEK ECOpole '99 Duszniki Zdrój
9. 2000 ŚEK ECOpole 2000 Duszniki Zdrój
10. 2001 ŚEK ECOpole '01 Duszniki Zdrój
11. 2002 ŚEK ECOpole '02 Duszniki Zdrój
12. 2003 ŚEK ECOpole '03 Duszniki Zdrój
13. 2004 ŚEK ECOpole '04 Duszniki Zdrój
14. 2005 ŚEK ECOpole '05 Duszniki Zdrój
15. 2006 ŚEK ECOpole '06 Duszniki Zdrój
16. 2007 ŚEK ECOpole '07 Duszniki Zdrój
17. 2008 ŚEK ECOpole '08 Piechowice
18. 2009 ŚEK ECOpole '09 Piechowice

GUIDE FOR AUTHORS ON SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

A digital version of the Manuscript addressed:

Professor Witold Waclawek
Editor-in-chief
Ecological Chemistry and Engineering (Ecol. Chem. Eng.)
Uniwersytet Opolski
ul. Oleska 48, 45-951 Opole, Poland
tel. +48 77 452 71 34, fax +48 77 455 91 49
email: waclawek@uni.opole.pl

should be sent by email to the Editorial Office Secretariat - mrjfur@o2.pl

The Editor assumes, that an author submitting a paper for publication has been authorised to do that. It is understood the paper submitted to be original and unpublished work, and is not being considered for publication by another journal. After printing, the copyright of the paper is transferred to *Towarzystwo Chemii i Inżynierii Ekologicznej* (*Society for Ecological Chemistry and Engineering*). In preparation of the manuscript please follow the general outline of papers published in the most recent issues of *Ecol. Chem. Eng.*, a sample copy can be sent, if requested. Papers submitted are supposed to be written in English language and should include a summary and keywords, if possible also in Polish language. If not then the Polish summary and keywords will be provided by the Editorial Office. All authors are requested to inform of their current addresses, phone and fax numbers and their email addresses.

It is urged to follow the units recommended by the *Système Internationale d'Unités* (SI). Graph axis labels and table captions must include the quantity units.

Symbols recommended by the International Union of Pure and Applied Chemistry (Pure and Appl. Chem. 1979, **51**, 1-41) are to be followed. Graphics (drawings, plots) should also be supplied in the form of digital vector - type files, eg CorelDraw, Grapher for Windows or at least in a bitmap format (TIF, JPG, PCX, BMP). In the case of any query please feel free to contact with the Editorial Office. Footnotes, tables and graphs should be prepared as separate files. References cited chronologically should follow the examples given below:

[1] Kowalski J. and Malinowski A.: *Polish J. Chem.*, 1990, **40**(3), 2080-2085.

[2] Nowak S.: *Chemia nieorganiczna*. WNT, Warszawa 1990.

Journal titles should preferably follow the Chem. Abst. Service recommended abbreviations. Receipt of a paper submitted for publication will be acknowledged by email. If no acknowledgement has been received, please check it with the Editorial Office by email, fax, letter or phone.

ZALECENIA DOTYCZĄCE PRZYGOTOWANIA MANUSKRYPTÓW

Praca przeznaczona do druku w czasopismach *Ecological Chemistry and Engineering S/Chemia i Inżynieria Ekologiczna S (Ecol. Chem. Eng. S)* powinna być przesłana na adres Redakcji:

Profesor Witold Waclawek
Redakcja
Ecological Chemistry and Engineering/Chemia i Inżynieria Ekologiczna
Uniwersytet Opolski
ul. Oleska 48, 45-951 Opole
tel. 77 452 71 34, fax 77 455 91 49
email: waclawek@uni.opole.pl

w postaci cyfrowej w formacie Microsoft Word (ver. XP dla Windows) emailem (mrajfur@o2.pl) lub na dyskietce.

Redakcja przyjmuje, że autor, przysyłając artykuł do druku, w ten sposób oświadcza, że jest upoważniony do tego, oraz zapewnia, że artykuł ten jest oryginalny i nie był wcześniej drukowany gdzie indziej i nie jest wysłany do druku gdzie indziej oraz że po jego wydrukowaniu copyright do tego artykułu uzyskuje Towarzystwo Chemii i Inżynierii Ekologicznej. W przygotowaniu manuskryptu należy przede wszystkim wzorować się na postaci artykułów w możliwie najnowszych zeszytach *Ecol. Chem. Eng.* Prace przesyłane do publikacji winny być napisane w języku angielskim lub polskim oraz zaopatrzone w streszczenia oraz słowa kluczowe w obydwu tych językach. Zalecamy, aby artykuł zawierał adresy i emaile oraz numery telefonów i faksów wszystkich autorów danej pracy, szczególnie głównego autora, którego nazwisko wyróżniamy gwiazdką.

Usilnie prosimy o stosowanie układu jednostek SI. Zwracamy uwagę, że osie wykresów oraz główki tabel powinny bezwzględnie zawierać jednostki stosownej wielkości. W przypadku artykułów pisanych po polsku podpisy tabel i rysunków powinny być podane w językach polskim i angielskim.

Polecamy symbolikę zalecaną przez PTChem (Symbole i terminologia wielkości i jednostek stosowanych w chemii fizycznej, Ossolineum, Wrocław 1989; *Pure Appl. Chem.*, 1979, **51**, 1-41).

Materiał graficzny (rysunki, wykresy), obok wersji na papierze, powinien również być dostarczony w postaci cyfrowych plików wektorowych, np. za pomocą programów: CorelDraw wersja 9.0, Grafer dla Windows lub przynajmniej bitowe (TIF, JPG, PCX, BMP).

Przypisy i tabele, podobnie jak rysunki, zapisujemy jako osobne pliki.

Literaturę prosimy zamieszczać wg poniższych przykładów:

-
- [1] Kowalski J. i Malinowski A.: *Polish J. Chem.*, 1990, **40**(3), 2080-2085.
[2] Nowak S.: *Chemia nieorganiczna*. WNT, Warszawa 1990.

Tytuły czasopism należy skracać zgodnie z zasadami przyjętymi przez amerykańską *Chemical Abstracts Service*, a w przypadku polskich publikacji niepodawanych przez CAS należy stosować skrót zgodnie z zaleceniami Biblioteki Narodowej. Autor może, jeżeli uważa to za wskazane, podawać też tytuł cytowanych artykułów z czasopism (który będzie składany kursywą) oraz numer zeszytu danego woluminu (w nawiasie, po numerze woluminu).

Redakcja potwierdza emailem otrzymanie artykułu do druku. W przypadku braku potwierdzenia prosimy o interwencję: emailem, faksem, listem lub telefonicznie.

PRZYGOTOWANIE DO DRUKU

*Zdzisława Tasarz
Lucyna Żyła
Aleksander Zaremba*

PROJEKT OKŁADKI

Marian Wojewoda

Druk: „Drukarnia Smolarski”, Józef Smolarski
ul. Sandomierska 1, 45-326 Opole
Objętość: ark. wyd. 11,7, ark. druk. 8,75