



You have downloaded a document from
RE-BUŚ
repository of the University of Silesia in Katowice

Title: Badania nad metodą oznaczania rtęci w wybranych elementach środowiska

Author: Adam Prokopowicz

Citation style: Prokopowicz Adam. (2007). Badania nad metodą oznaczania rtęci w wybranych elementach środowiska. Praca doktorska. Katowice : Uniwersytet Śląski

© Korzystanie z tego materiału jest możliwe zgodnie z właściwymi przepisami o dozwolonym użytku lub o innych wyjątkach przewidzianych w przepisach prawa, a korzystanie w szerszym zakresie wymaga uzyskania zgody uprawnionego.



UNIWERSYTET ŚLĄSKI
W KATOWICACH



Biblioteka
Uniwersytetu Śląskiego



Ministerstwo Nauki
i Szkolnictwa Wyższego

Adam Prokopowicz

Badania nad metodą oznaczania rtęci w wybranych elementach środowiska

Praca wykonana w Zakładzie Szkodliwości Chemicznych
Instytutu Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego
w Sosnowcu i przedstawiona Radzie Instytutu Chemii
Uniwersytetu Śląskiego jako rozprawa doktorska

promotor: dr hab. inż. Wojciech Mniszek, prof. IMPiZŚ

Katowice 2006

Składam serdeczne podziękowania

*Panu Profesorowi Wojciechowi Mniszkowi
za ukierunkowanie niniejszej pracy
oraz życzliwość i pomoc okazaną w trakcie jej wykonywania*

*Pracownikom Zakładu Szkodliwości Chemicznych
za życzliwą atmosferę jaka towarzyszyła mi podczas
wykonywania badań*

Najbliższym za cierpliwość i wyrozumiałość

*Adam
Jankowski*

Spis treści

I.	Wstęp	5
II.	Cel pracy	7
III.	Część teoretyczna	
1.	Chemiczne i fizyczne właściwości rtęci i jej związków	9
2.	Rtęć w środowisku przyrodniczym	
2.1.	Rtęć w powietrzu atmosferycznym	11
2.2.	Rtęć w glebach i wodach	16
2.3.	Emisja rtęci	18
2.4.	Bilans rtęci w środowisku	21
3.	Aspekty toksykologiczne narażenia na rtęć	22
4.	Przegląd metod analitycznych oznaczania rtęci w wybranych elementach środowiska	
4.1.	Oznaczanie rtęci w powietrzu	26
4.2.	Oznaczanie rtęci w moczu	30
IV.	Część doświadczalna	
1.	Aparatura, odczynniki i roztwory	35
2.	Badania nad wykorzystaniem techniki amalgamowania	
2.1.	Wprowadzenie	38
2.2.	Budowa układu amalgamującego	39
2.3.	Parametry pracy układu i aparatury	40
2.4.	Optymalizacja pracy układu amalgamującego	
2.4.1.	Optymalizacja czułości	42
2.4.2.	Interferencje pochodzące od par kwasów i pary wodnej	44
2.4.3.	Masa charakterystyczna	45
3.	Badania nad oznaczaniem rtęci w powietrzu otaczającym	
3.1.	Wprowadzenie	47
3.2.	Oznaczanie rtęci w powietrzu otaczającym z zastosowaniem hopkalitu jako sorbentu	
3.2.1.	Budowa rurki sorpcyjnej z hopkalitem	48
3.2.2.	Warunki desorpcji i oznaczania rtęci	50
3.2.3.	Obliczanie wyników analizy	52
3.3.	Określenie wydajności sorpcyjnej hopkalitu	53

3.4. Walidacja metody oznaczania par rtęci w powietrzu	
3.4.1. Wyznaczenie liniowości metody	56
3.4.2. Wyznaczenie granicy wykrywalności i granicy oznaczania ilościowego	59
3.4.3. Badanie poprawności metody	62
3.4.4. Badanie precyzji metody	64
3.4.5. Szacowanie niepewności pomiaru	66
3.4.6. Badanie stabilności próbek	67
4. Badania nad metodą oznaczania rtęci całkowitej w moczu	
4.1. Wprowadzenie	69
4.2. Dobór warunków mineralizacji i oznaczania	70
4.3. Obliczanie wyników analizy	73
4.4. Walidacja metody oznaczania rtęci całkowitej w moczu	
4.4.1. Wyznaczenie liniowości metody	73
4.4.2. Wyznaczenie granicy wykrywalności i granicy oznaczania ilościowego	76
4.4.3. Badanie poprawności metody	77
4.4.4. Badanie precyzji metody	80
4.4.5. Dokładność metody	82
5. Zastosowanie metod oznaczania par rtęci w powietrzu i rtęci całkowitej w moczu w analizie próbek rzeczywistych	
5.1. Analiza próbek powietrza otaczającego	87
5.2. Analiza próbek moczu	93
V. Podsumowanie i wnioski	95
VI. Piśmiennictwo	100

I. Wstęp

Od kilkunastu lat w analizie śladowych i ultraśladowych stężeń rtęci w różnych elementach środowiska dokonuje się ogromny postęp. Rozwój ten przejawia się przede wszystkim we wzroście czułości metod analitycznych, jak również w zakresie analizy specjacyjnej rtęci. Jest to jednak związane z nieustanną walką przeciwko otrzymywaniu „przygodnych” wyników obarczonych znacznymi błędami różnego rodzaju. W wielu wypadkach czułość zwykle stosowanych metodyk i technik analitycznych nie jest wystarczająca dla próbek środowiskowych. Walidacja metody oznaczania jest konieczna, choć nie zawsze możliwa z powodu braku materiałów odniesienia. Nawet gdy materiały odniesienia są dostępne, stanowią one tylko jeden aspekt kontroli jakości oznaczeń. W niektórych przypadkach stężenia są tak ekstremalnie niskie (np. w powietrzu czy w wodzie), że nawet wysublimowana aparatura nie gwarantuje dobrego wyniku, ponieważ ten zależy nie tylko od używanego systemu detekcji. Na rzetelność wyniku ma wpływ całość procedury analitycznej z włączeniem etapu pobierania próbki, sposobu jej przechowywania jak i obchodzenia się z nią w laboratorium.

W przypadku rtęci postęp w zakresie analizy tego metalu umożliwia przede wszystkim oszacowanie antropogenicznego wpływu na cykl rtęci w przyrodzie oraz poznanie rodzaju i kinetyki jej przemian w środowisku, dla przewidywania następstw jej emisji. Globalne modele krążenia rtęci identyfikują mokrą i suchą depozycję rtęci oraz odparowywanie rozpuszczonej gazowej rtęci z oceanów i lądów jako kluczowe dla krążenia i losów rtęci na powierzchni Ziemi. Obecne oszacowania wskazują, że istnieje dodatni bilans w transporcie rtęci ze środowisk lądowych do oceanów oraz że stężenie rtęci w głębi oceanów wzrasta o kilka procent rocznie. Z tej też przyczyny bioakumulacja rtęci w rybach i ssakach morskich jest obecnie szeroko rozpowszechnionym problemem zdrowotnym, z powodu wpływu rtęci, a w szczególności metylortęci, na zdrowie organizmów znajdujących się na najwyższych poziomach troficznych, zarówno człowieka jak i zwierząt. Ważnego znaczenia nabrała możliwość oceny poziomu narażenia na rtęć przy wykorzystaniu próbek materiału biologicznego głównie moczu i krwi. Próbkę płynów fizjologicznych są bardzo dobrym materiałem do dokonania takiej oceny. Posiadają jednak bardzo skomplikowaną, organiczną matrycę i najczęściej nie jest możliwe bezpośrednie oznaczanie analitu.

Rtęć oraz jej związki włączone są obecnie na listę najbardziej niebezpiecznych substancji dla organizmów żywych. Problemowi jej emisji, redystrybucji oraz wpływu na zdrowie poświęconych zostało już wiele opracowań. Wśród nich na pierwszy plan wysuwa się raport Agencji Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych dla Kongresu Amerykańskiego [1], w którym dokonano oceny wielkości emisji rtęci w zależności od rodzaju przemysłu, wpływu na zdrowie i środowisko tej emisji oraz możliwości i koszty jej kontroli. Również amerykańska regulacja dotycząca czystości powietrza (Clean Air Act Amendments) wymaga oszacowania ryzyka zdrowotnego dla ludzi oraz dzikiej przyrody spowodowanego przez emisję rtęci. W Dyrektywie Unii Europejskiej EC/62/96, która dotyczy oceny i zarządzania jakością otaczającego powietrza, rtęć wymieniana jest w grupie zanieczyszczeń powietrza, dla których przewiduje się wprowadzenie systematycznego monitoringu. Problemu tego dotyczy specjalny raport (Ambient Air Pollution by Mercury. Position Paper), którego celem jest wsparcie przygotowań odpowiednich uregulowań prawnych w tym zakresie. Ryzyko zdrowotne, w odniesieniu do spożywania zanieczyszczonych rtęcią ryb, obejmują regulacje prawne wprowadzone przez 30 stanów Ameryki Północnej oraz Kanadę, kraje Skandynawskie jak również Światową Organizację Zdrowia, Food and Drug Administration (FDA) i wiele innych krajów i agencji rządowych. Wiele organizacji i programów włączyło rtęć na listę pierwszoplanowych zanieczyszczeń środowiska. W 2004 roku w stolicy Słowenii Lublanie odbyła się już siódma międzynarodowa konferencja poświęcona rtęci jako zanieczyszczeniu globalnemu („Mercury as a Global Pollutant”). Objęła 650 prezentacji i zgromadziła prawie 1000 ekspertów z pięćdziesięciu krajów. Ta międzynarodowa seria konferencji została zapoczątkowana w 1990 roku w Szwecji. Słoweńska konferencja była przygotowana w kraju, który posiadał drugą największą kopalnię rtęci na świecie. Kopalnia ta, która mieściła się w miejscowości Idrija, była użytkowana przez 500 lat aż do lat osiemdziesiątych XX wieku. Na konferencji oprócz grup tematycznych jakimi były wspomniana kopalnia rtęci w Idrija, zanieczyszczenie rtęcią powodowane przez przemysł ciężki, globalne krążenie rtęci i jej wpływ na odległe północne ekosystemy, poruszono narastający problem zanieczyszczenia rtęcią przez kopalnie złota w krajach rozwijających się.

Wskazuje się, że aby uniknąć poważnych problemów w przyszłości już teraz należy znacznie ograniczyć emisję rtęci, prowadzić badania z zakresu jej fizyczno-chemicznych przemian w środowisku oraz kontrolować jej stężenia w jego elementach [2].

II. Cel pracy

Dotychczas w Polsce sporadycznie wykonuje się pomiary stężenia rtęci w powietrzu otaczającym. Wyniki pomiarów są dostępne jedynie w kilku pracach naukowych [3, 4, 5]. W Polskich Normach dostępna jest metoda oznaczania rtęci w powietrzu [6]. Zbyt wysoka granica oznaczalności rtęci w tej metodzie tj. 100 ng/m^3 sprawia, że obecnie nie nadaje się ona do oznaczania rtęci w powietrzu otaczającym. Stężenia rtęci w tym elemencie środowiska obserwowane są na poziomach dużo niższych. Istnieje zatem potrzeba obniżenia granicy oznaczalności rtęci w powietrzu z zastosowaniem tej metodyki analitycznej.

W celu określenia wielkości narażenia na parę rtęci oznacza się rtęć całkowitą w moczu. U pracowników narażonych zawodowo jest to badanie zalecane dla profilaktyki przewlekłych zatruc rtęcią. Przyjęta w Polsce wartość dopuszczalnego stężenia w materiale biologicznym (DSB) dla rtęci w moczu wynosi $35 \text{ } \mu\text{g/g}$ kreatyniny i jest identyczna z zaproponowaną przez American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). Rtęć nie jest pierwiastkiem fizjologicznym, jej obecność w moczu, nawet w bardzo niskich stężeniach, zawsze określa poziom aktualnego narażenia na ten metal. Dla celów klinicznych przyjmuje się, że wystarczy oznaczać rtęć w moczu z granicą oznaczalności około $5 \text{ } \mu\text{g/l}$, oznaczone stężenie przelicza się następnie na gram wydalonej z moczem kreatyniny. Wyniki licznych prac wskazują, że dla głębszej interpretacji, zwłaszcza danych epidemiologicznych, oznaczanie rtęci powinno być możliwe poniżej tej wartości. Istotne więc jest, aby oznaczać rtęć w moczu w zakresie niskich stężeń, rzędu kilkudziesięciu nanogramów w litrze moczu.

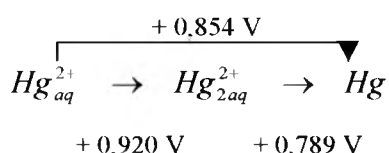
Celem pracy było:

1. Obniżenie granicy oznaczalności rtęci w powietrzu i w moczu poprzez modyfikacje znanych metod analitycznych.
2. Sprawdzenie przydatności zmodyfikowanych metod analitycznych do oznaczania rtęci w powietrzu i w moczu na poziomach stężeń śladowych

III. CZĘŚĆ TEORETYCZNA

1. Chemiczne i fizyczne właściwości rtęci i jej związków

Rtęć (Hg) jako substancja prosta jest metalem o srebrzystobiałej barwie, który posiada najniższą temperaturę topnienia i wrzenia oraz pozostaje cieczą w szerokim zakresie temperatur. Jest ostatnim pierwiastkiem d-elektronowym w szóstym okresie układu okresowego. Tworzy związki o małej trwałości i jest metalem szlachetnym. W zwykłej temperaturze jest zupełnie odporna na działanie powietrza atmosferycznego, ogrzewana do około 300°C ulega powoli utleniającemu działaniu powietrza. W szeregu napięciowym metali rtęć zajmuje miejsce między platyną i srebrem i jako metal o dodatnim potencjale standardowym rozтворя się tylko w kwasach utleniających. Łatwo reaguje również z wolnymi fluorowcami oraz siarką elementarną. Niższa aktywność chemiczna spowodowana jest wpływem dużego ładunku jądra oraz orbitali 5d i 4f na elektrony 6s². Rtęć może występować na +2 i +1 stopniu utlenienia. Diagram utleniania i redukcji Hg(II) i Hg(I) przedstawia się następująco:



W związkach rtęci dwuwartościowej najczęściej występują liczby koordynacji 2 (HgO; HgNH₂Cl; Hg(CN)₂) i 4 (HgS). Na +1 stopniu utlenienia rtęć tworzy tlenek rtęci Hg₂O, halogenki rtęci (Hg₂Hal₂) i inne sole, w których występuje ugrupowanie klastrkowe Hg₂²⁺ z atomami rtęci połączonymi wiązaniem kowalencyjnym. Związki Hg₂²⁺ wykazują skłonność do dysproporcjonacji z wydzieleniem Hg⁰ i Hg²⁺ [7]. Rtęć tworzy także związki metaloorganiczne, w których atom rtęci jest bezpośrednio połączony wiązaniem kowalencyjnym z jednym lub dwoma atomami węgla. Najpowszechniejsze są RHgX, gdzie R jest częścią organiczną, a X wymiennym anionem. Składowa organiczna może mieć zmienną budowę, czasem zwykłą alkilową, fenyłową bądź rodnika metoksyetylowego. Połączenia węgla z rtęcią są trwałe chemicznie. Nie dysocjują w wodzie ani w słabych kwasach i zasadach. Trwałość ta nie jest wynikiem szczególnie wysokiej siły wiązania węgiel–rtęć lecz niskiego powinowactwa rtęci do tlenu [8]. Wybrane właściwości fizyczne rtęci oraz niektórych jej związków przedstawione są w tabeli 1. Rtęć i jej związki są lotne co może być przyczyną strat, a nawet czasem niewykrycia tego pierwiastka podczas analizy.

Tabela 1. Właściwości fizyczne rtęci i jej wybranych związków [9]

Nazwa	Wzór chemiczny	Ciężar właściwy [g/cm ³]	Rozpuszczalność w wodzie	Temp. topnienia [°C]	Temp. wrzenia [°C]
Rtęć elementarna	Hg	13,5	56 µg/l w 25°C	-38,87	356,72
Chlorek rtęci (II)	HgCl ₂	5,4	1 g/35 ml	277	302
Siarczek rtęci	HgS	7,7	n. rozp.	583	b.d.
Chlorek rtęci (I)	Hg ₂ Cl ₂	7,15	2 mg/l w 25°C	Subl. 400-500	384
Octan rtęci	(CH ₃ COO) ₂ Hg	3,28	250 g/l w 10°C	178-180	b.d.
Chlorek metylortęci	CH ₃ HgCl	4,06	<0,1 mg/ml w 21°C	170	b.d.
Dimetylorięć	(CH ₃) ₂ Hg	3,18	n. rozp.	b.d.	92
Octan fenylortęci	(CH ₃ COO)Hg(C ₆ H ₅)	b.d.	1 g/180 ml	149	b.d.

b.d. – brak danych

W stanie ciekłym rtęć paruje, a jej pary są bezbarwne i bezwonne. W tabeli 2 zostały przedstawione wartości prężności par rtęci i ich stężenie w stanie nasycenia dla niektórych temperatur, obliczone z równania gazu doskonałego. W warunkach równowagowych na każde 10 stopni wzrostu temperatury około dwukrotnie wzrasta intensywność parowania metalicznej rtęci.

Tabela 2. Prężność par rtęci i ich stężenie w stanie nasycenia dla niektórych temperatur

Temperatura [°C]	Prężność par rtęci [mmHg]	Stężenie par rtęci w stanie nasycenia [mg/m ³]
0	0,000185	2,18
10	0,000490	5,88
20	0,001201	13,2
24	0,001691	18,3
28	0,002359	25,2
30	0,002777	29,1
32	0,003261	34,4
36	0,004471	46,6
40	0,006079	62,6

Odpowiednie obliczenia wskazują, że entalpia parowania rtęci w zakresie temperatur od 273 do 473 K wynosi 59,11 kJ/mol [10].

Rtęć elementarna rozpuszcza w sobie większość metali tworząc tzw. amalgamaty. Szczególnie energicznie i egzotermicznie reagują z rtęcią litowce. Z metali ciężkich najłatwiej amalgamowaniu ulega złoto, a najbardziej odporne na działanie rtęci są żelazowce i platynowce. Niektóre z amalgamatów posiadają wyraźny charakter związków chemicznych rtęci z drugim metalem lub roztworów tych związków w nadmiarze rtęci. Amalgamaty w zwykłych warunkach bywają stałe lub ciekłe, zależnie od rodzaju i zawartości składników. Prężność par rtęci nad amalgamatem jest bardzo niska, jednak wszystkie amalgamaty rozkładają się w wyższej temperaturze, przy czym rtęć odparowuje, podczas gdy drugi metal jako mniej lotny pozostaje. W metodach oznaczania rtęci właściwość ta jest wykorzystywana do izolacji i zatężania rtęci po wcześniejszym wydzieleniu jej z analizowanego materiału.

2. Rtęć w środowisku przyrodniczym

Właściwości rtęci sprawiają, że jest pierwiastkiem wszechobecnym w środowisku przyrodniczym. Występuje tam w wielu różnorodnych formach fizycznych i chemicznych o szerokim spektrum właściwości. Biochemiczne i geochemiczne przemiany pomiędzy tymi formami powodują dystrybucję rtęci na lokalną i globalną skalę, a także jej bioakumulację w organizmach żywych. Do najważniejszych form rtęci w środowisku należy zaliczyć rtęć elementarną, nieorganiczną rtęć dwuwartościową, metylortęć i dimetylortęć. Istnieje jeden bio- i geochemiczny cykl, w którym zachodzą przemiany pomiędzy tymi formami i gdzie następuje ich wymiana pomiędzy atmosferą, geosferą i hydrosferą.

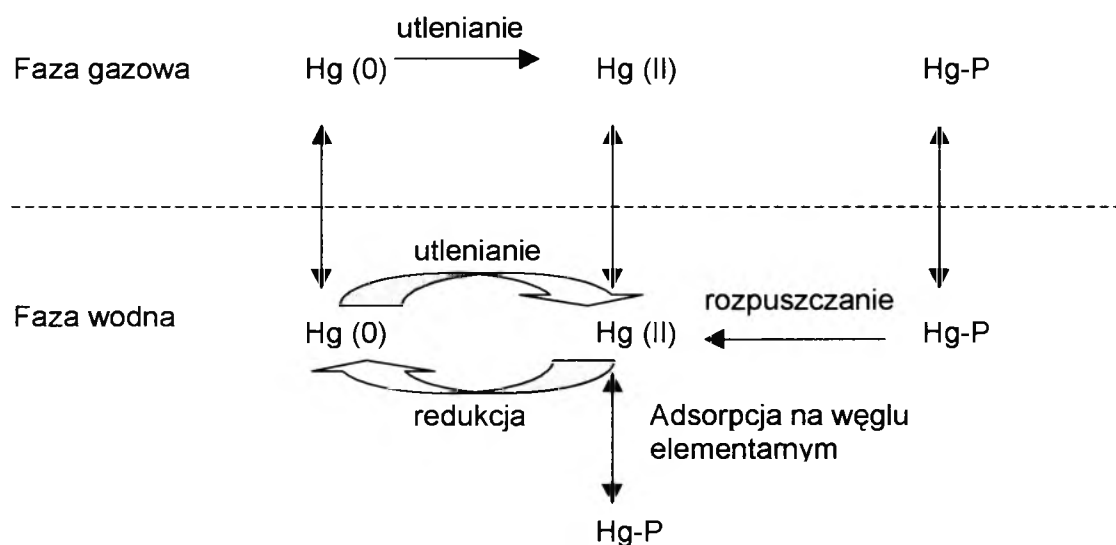
2.1. Rtęć w powietrzu atmosferycznym

Atmosfera odgrywa niezwykle ważną rolę w globalnym krążeniu rtęci i jej redystrybucji w środowisku. Jeszcze w latach 80-tych ubiegłego wieku w powietrzu wyróżniano głównie bardzo stabilną rtęć elementarną. Nowe techniki analityczne pozwoliły wyodrębnić także inne jej formy i rzuciły światło na niezwykle obszerną chemię tego metalu w powietrzu. Obecnie w atmosferze wyróżnia się trzy główne formy specjacyjne rtęci, opierając się na ich właściwościach chemicznych jak

i fizycznych: gazową rtęć elementarną (Hg^0), gazową jonową rtęć dwuwartościową zwaną reaktywną gazową rtęcią (RGHg), oraz rtęć związaną z cząstkami zawieszonymi (Hg-P). Specjacja RGHg nie jest obecnie znana ale zalicza się do niej głównie chlorek rtęci (II) i inne halogenki rtęci (II). Formy rtęci występujące na cząstkach zawieszonych także nie są zdefiniowane. W przeciwieństwie do innych metali zanieczyszczających atmosferę, które głównie występują zawieszone na cząstkach stałych, rtęć ze względu na specyficzne właściwości, występuje w powietrzu przede wszystkim w postaci gazowej. Elementarna rtęć posiada stosunkowo wysoką prężność par i niską stałą podziału Henry'ego, co oznacza dla niej niewielką rozpuszczalność w wodzie. Pozostałe formy rtęci są efektywnie usuwane z powietrza na drodze mokrej i suchej depozycji i posiadają czas trwania w atmosferze od kilku minut do kilku tygodni. RGHg, którą charakteryzuje się stosunkowo wysoką reaktywnością i rozpuszczalnością w wodzie, ma najkrótszy czas przebywania w atmosferze podczas gdy rtęć elementarna jest najbardziej stabilną formą z czasem przebywania w powietrzu od 6 miesięcy do 2 lat [11].

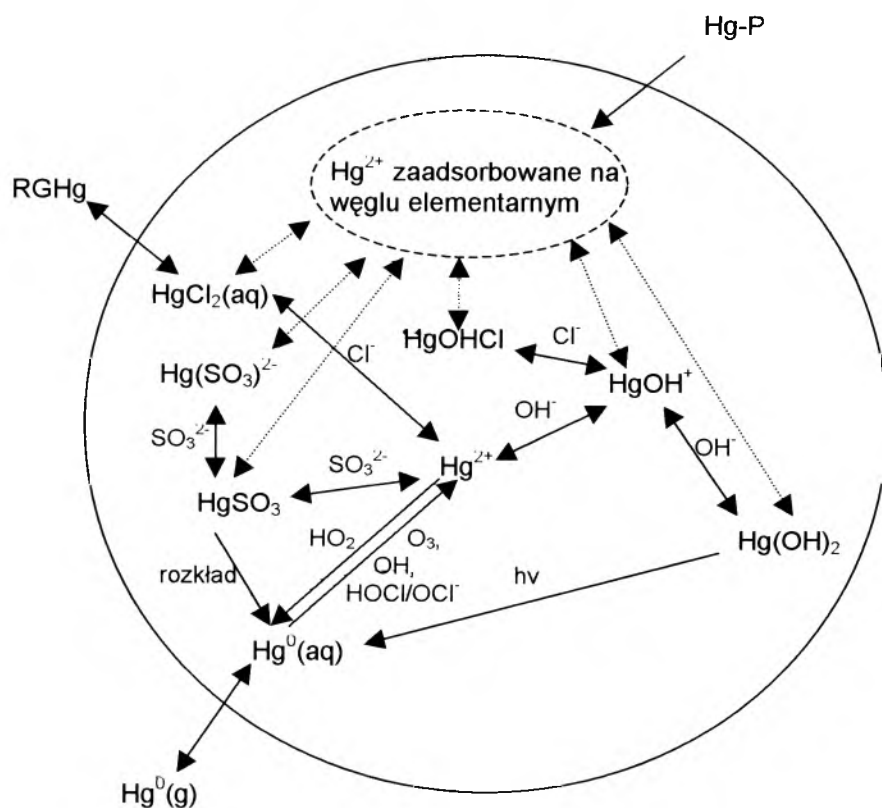
Hg^0 jest głównie usuwana z atmosfery przez utlenianie do formy jonowej i następnie depozycji. Rtęć elementarna obecna w atmosferze może być utleniana przez wiele czynników jak np. O_3 , Cl_2 , HCl , H_2O_2 , OH w fazie gazowej oraz O_3 , OH , HOCl i OCl^- w fazie wodnej. Ozon uznawany jest za główny czynnik utleniający rtęć elementarną w powietrzu atmosferycznym. Procesy w fazie gazowej zachodzą jednak bardzo wolno ze stałą szybkości reakcji wynoszącą dla reakcji z ozonem $3 \cdot 10^{-20} \text{ cm}^3 \text{ cząsteczka}^{-1} \text{ s}^{-1}$. W fazie wodnej tj. chmurach, mgie, śniegu szybkości reakcji są znacznie większe i dla reakcji z ozonem stała szybkości wynosi np. $4,7 \cdot 10^7 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$. Jednak ze względu na bardzo małą rozpuszczalność rtęci elementarnej w wodzie całkowita ilość utlenionej rtęci jest podobna dla fazy wodnej i gazowej. Utleniona rtęć może również zostać zredukowana w procesie rozkładu HgSO_3 , $\text{Hg}(\text{SO}_3)_2^{2-}$, reakcji z HO_2 czy przez fotochemiczną redukcję $\text{Hg}(\text{OH})_2$. Reakcje te charakteryzują się szeroką rozpiętością stałych szybkości reakcji i wszystkie przebiegają w fazie wodnej. Chociaż w fazie gazowej również mogą zachodzić pewne reakcje redukcji rtęci to jednak mają one bardzo niewielkie znaczenie a ich mechanizm i kinetyka są mało poznane. Znaczny wpływ na kinetykę reakcji rtęci w atmosferze ma obecność substancji nierozpuszczalnych w wodzie, ponieważ rtęć szczególnie łatwo adsorbuje się do substancji bogatych w węgiel elementarny, co zmniejsza jej dostępność dla reakcji utleniania i redukcji. Cykl przemian z udziałem rodników uzależniony jest

z kolei od pory dnia, ponieważ największe ich stężenia pojawiają się w czasie dużego nasłonecznienia [12, 13]. Główne drogi przemian chemicznych i fizycznych rtęci w atmosferze przedstawione są na rysunku 1. Natomiast na rysunku 2 przedstawiano szczegółowo drogi przemian rtęci zachodzące w fazie wodnej.



Rysunek 1. Główne drogi przemian rtęci w atmosferze [12]

Konsekwencją tych faktów jest to, że główną formą rtęci w powietrzu jest rtęć elementarna a pozostałe formy rtęci stanowią tylko kilka procent jej całkowitej zawartości. Jakkolwiek, powietrze może być znacznie wzbogacone w RGHg i Hg-P w pobliżu źródeł emisji (Tabela 3). W tej sytuacji sucha depozycja RGHg dominuje w całkowitym bilansie depozycji i ma to niewątpliwie wpływ na zanieczyszczenie rtęcią wód i gleb środowiska lokalnego.



Rysunek 2. Fizyko-chemiczne przemiany rtęci w powietrzu w fazie wodnej [13]

Chociaż RGHg pochodzi głównie ze źródeł antropogenicznych okazuje się, że znaczne jej ilości mogą występować również w czystych rejonach Arktyki przy specyficznych warunkach pogodowych. Zjawisko to jest tłumaczone powstawaniem RGHg poprzez szybkie reakcje utleniania Hg^0 . Spadek stężenia Hg^0 nakłada się na ubywanie w atmosferze ozonu sugerując podobny mechanizm utleniania rtęci. Ozon usuwany jest przez reakcje z reaktywnymi halogenkami BrO, Br, Br₂. Podobnym reakcjom ulega prawdopodobnie rtęć elementarna [14]. RGHg może się także tworzyć stosunkowo szybko z Hg^0 w warstwie przejściowej nad powierzchnią mórz i oceanów (ang. *marine boundary layer*), gdzie również występują reaktywne halogenki takie

jak Cl_2 , Br_2 , BrCl . Powstają one tam przez serię reakcji inicjowanych rodnikiem hydroksylowym z anionami halogenków na cząstkach soli, lub przez reakcje tlenków azotu z cząstkami soli morskiej. Zjawisko to przyczynia się do zwiększenia strumienia depozycji rtęci do oceanów [15, 16].

Podjmuje się wiele prób zastosowania modeli matematycznych dla symulowania zachowania się rtęci w atmosferze. Ze względu na mnogość procesów, które w konsekwencji są odpowiedzialne za depozycję rtęci obecnej w powietrzu, nie nadaje się zbytnio do tego celu model Lagrangeowski. Traktuje on wydzielone w nim płynne elementy w sposób od siebie niezależny. Tymczasem ewidentne są wzajemne wpływy pomiędzy rtęcią pochodzącą z różnych źródeł i to zarówno pomiędzy różnymi formami rtęci jak również pomiędzy innymi składnikami powietrza. Dlatego, w celu dokładniejszego symulowania chemicznych i fizycznych transformacji rtęci w powietrzu i chmurach, korzysta się z bardziej zaawansowanego modelu typu Eulera. Opracowano już wiele tego typu modeli dla rtęci, obejmujących zarówno skalę lokalną, jak i globalną. Różnice w równaniach opisujących modele i podstawowe założenia dotyczące procesów zachodzących w atmosferze w ogólności, jak również zachowania się rtęci w szczególności są bardzo liczne. Wyniki otrzymywane za pomocą modelowania są sprawdzane w oparciu o faktyczne wyniki badań stężeń rtęci w powietrzu i depozycji.

Z innych wykorzystywanych modeli matematycznych należy wymienić modele receptorowe, które zaczynają z zaobserwowanymi stężeniami przy receptorze i dążą do podziału zaobserwowanych stężeń przy punkcie pobierania próbek na różne rodzaje źródeł. Jest to wykonywane w oparciu o znane składy chemiczne źródła i substancji receptora. Modele te korzystają z równań zachowania masy i są całkowicie statystyczne. W przypadku rtęci należy założyć, że zachowuje się ona w podobny sposób jak inne metale w atmosferze. Jakkolwiek trudno to założenie dotrzymać, ponieważ niektóre formy rtęci są bardzo reaktywne, w przeciwieństwie do innych metali, które są praktycznie całkowicie obecne w pyle zawieszonym i stosunkowo bierne. Stąd model ten dobrze nadaje się właściwie tylko dla rtęci związanej z pyłem zawieszonym i to raczej w krótkim czasie aby nie następowała adsorpcja i desorpcja Hg^{+2} na cząstkach pyłu.

Dyspersja i transport rtęci w powietrzu są jednak tylko częścią jednego całkowitego globalnego krążenia rtęci. Dąży się, aby w przyszłości włączyć powietrze, środowiska wodne i lądowe w jeden model. W obecnym czasie jednak nie jest jeszcze

znanych wiele czynników, które kierują przepływem i bioakumulacją rtęci w tak szerokim zakresie [17].

2.2. Rteć w glebach i wodach

Elementarna rteć może być transportowana wraz z masami powietrza na bardzo dalekie odległości, zanim przekształci się w inne jej formy i nim zostanie zdeponowana na drodze mokrej i suchej depozycji do środowisk lądowych i wodnych. W niektórych zbiornikach wodnych rteć z atmosfery jest głównym, a czasem jedynym źródłem tego metalu. Sucha depozycja stanowi ponad 70% całkowitej depozycji rtęci w czasie letnich miesięcy gdy opady są sporadyczne. W nie zanieczyszczonym powietrzu atmosferycznym tylko poniżej 5% rtęci całkowitej jest związane z cząstkami pyłów i występuje w postaci reaktywnej gazowej rtęci. Dlatego ten rodzaj depozycji w rejonach oddalonych od źródeł emisji dotyczy głównie rtęci elementarnej, która może być sorbowana zarówno przez powierzchnię gleb, jak i szatę roślinną. W bilansie rocznym mokra i sucha depozycja mają jednak podobne udziały, a za podstawową drogę usuwania rtęci z atmosfery uważa się mokrą depozycję ponieważ to ona jest odpowiedzialna za usuwanie rozpuszczalnych form rtęci.

W glebach i wodach rteć występuje związana w różnorodnych kompleksach. Transport i podział rtęci w wodach i glebach jest zależny od poszczególnych właściwości tych związków. Lotne formy rtęci (rteć elementarna i dimetylortęć) odparowują do atmosfery, podczas gdy pozostałe formy rtęci przylegają do cząstek stałych i są transportowane w wodach do osadów dennych. Metylortęć i inne frakcje rtęci są w wodach silnie związane z materią organiczną. Większość rtęci zdeponowanej w glebie również jest silnie zaadsorbowana, zwłaszcza na materii organicznej i tylko niewielka jej część (<0,1%) jest wymywana przez wody gruntowe. Obserwuje się wyraźnie większą średnią zawartość rtęci w glebach bogatych w materię organiczną w porównaniu do gleb mineralnych.

Najważniejszą przemianą rtęci w wodach powierzchniowych jest jej biotransformacja. W odpowiednich warunkach każda forma rtęci wprowadzona do wód może być przekształcona przez mikroorganizmy do jonu metylortęciowego. Za proces metylacji rtęci odpowiadają głównie bakterie redukujące siarczany, których aktywność wzrasta w warunkach beztlenowych. Niektóre gatunki drożdżaków, których wzrost stymuluje niskie pH, również są zdolne do metylacji rtęci oraz do redukcji jonowej rtęci do jej formy elementarnej. Proces metylacji jest wynikiem nieenzymatycznego

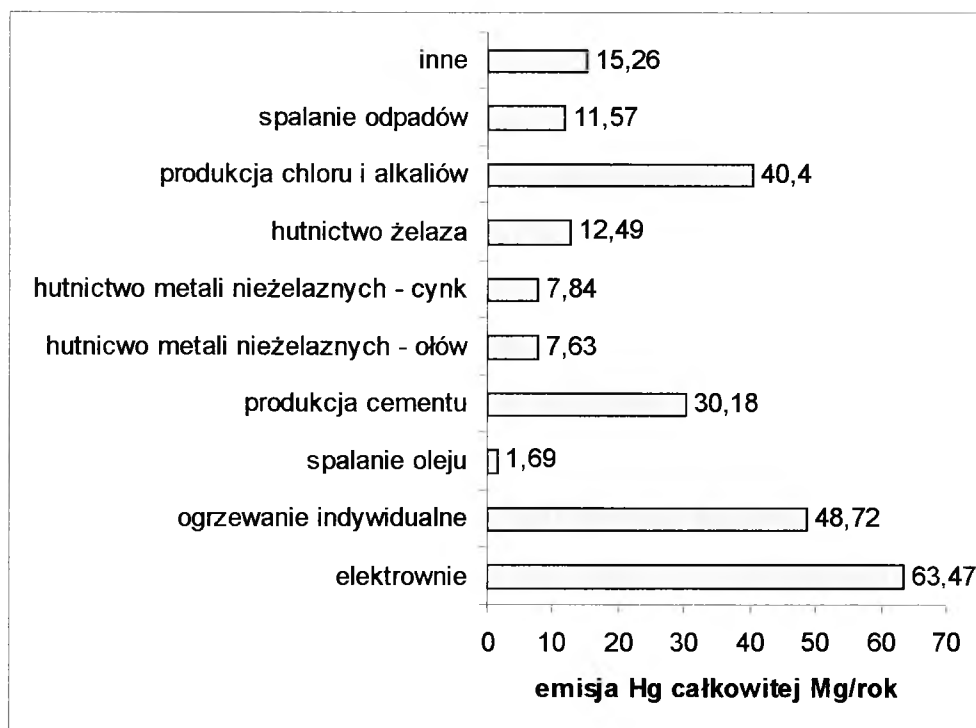
przeniesienia grup metylowych z metylokobalamin – produktów syntezy bakteryjnej – na jony rtęci. Proces ten jest silnie związany ze stężeniem metylokobalamin, jonów rtęci i tlenu rozpuszczonego w wodzie. Wzrost rozpuszczonej materii organicznej zmniejsza metylację rtęci w wodach. Transformacja do rtęci elementarnej może odbywać się przez demetylację metylortęci lub redukcję rtęci nieorganicznej. Może również mieć miejsce abiotyczna redukcja rtęci z rtęci nieorganicznej, szczególnie w obecności rozpuszczonych substancji humusowych.

Przy pH 4 – 9 i prawidłowym stężeniu jonów siarczkowych rtęć tworzy praktycznie nierozpuszczalny siarczek rtęci i opada na dno zbiornika. W warunkach bardziej kwaśnych zmniejsza się tworzenie siarczku rtęci i zwiększa transformacja do metylortęci. Tak więc tworzeniu się metylortęci sprzyja niskie pH i wysokie stężenie rtęci w osadach dennych. Metylortęć jest najbardziej mobilną formą rtęci w środowisku wodnym i szybko przenika do łańcucha pokarmowego gdzie jest akumulowana w tkankach biologicznych w znacznie większym stopniu niż rtęć nieorganiczna. Stężenia rtęci w mięsożernych rybach na szczycie łańcucha troficznego wód słodkowodnych i słonowodnych, jak szczupak czy rekin, są 10 000 – 100 000 razy wyższe od stężeń rtęci w otaczającej je wodzie. Prawie 100% bioakumulowanej rtęci w tkankach ryb jest zmetylowana, a jej biologiczny okres półtrwania jest rzędu 2 lat. Źródłem metylortęci w rybach jest zarówno woda jak i pokarm chociaż zasadniczo jest nim pokarm. Spożywanie ryb to główne źródło środowiskowego narażenia człowieka na rtęć.

W glebach i osadach dennych rtęć ulega tym samym chemicznym i biochemicznym przemianom co w wodach powierzchniowych. Tworzenie i degradacja związków rtęcioorganicznych w glebie polega na tym samym rodzaju biotransformacji co w wodach. Mogą także zachodzić procesy abiotyczne. Odparowywanie rtęci elementarnej z gleb jest związane z temperaturą i wzrasta w ciepłe dni kiedy redukcja rtęci, w obecności materii organicznej i reakcji fotolitycznych z organicznymi i innymi składnikami gleb, osiąga największą intensywność [9, 18, 24].

2.3. Emisja rtęci

Obecne oszacowania emisji rtęci są ciągle niekompletne i nieściśle. Wiadomo, że głównymi antropogenicznymi źródłami rtęci pozostają takie procesy jak spalanie kopalni a w szczególności węgla, przemysł hutniczy, produkcja chloru i alkaliów metodą elektrolizy z katodą rtęciową, produkcja cementu oraz spalanie odpadów. Dla przykładu wielkości emisji rtęci z poszczególnych źródeł Europie w 2000 roku przedstawia rysunek 3.



Rysunek 3. Wielkości antropogenicznej emisji rtęci całkowitej z poszczególnych źródeł w Europie w 2000 roku [19]

Oszacowano, że w tymże roku wyemitowano 239,25 Mg rtęci, głównie do atmosfery. Jak można zauważyć spalanie węgla dla uzyskania energii elektrycznej i ciepła, zarówno w elektrowniach jak i domowych paleniskach, zajmują prawie połowę udziału w całkowitej emisji rtęci w Europie. Stężenie rtęci w węglu zawiera się w dosyć szerokim zakresie pomiędzy 0,01 a 1,5 ppm i zależy od rodzaju węgla. Spalanie gazu ziemnego, który pomimo że zawiera pewne ilości rtęci, nie powoduje znaczącej jej emisji, ponieważ jest ona usuwana z tego surowca podczas jego obróbki.

W Europie, w krajach należących do Unii Europejskiej, technologia produkcji chloru i alkaliów z zastosowaniem elektrody rtęciowej zostaje zastępowana alternatywną, co niewątpliwie spowoduje zmniejszenie emisji rtęci. Podobnie eliminowane są inne źródła, do których należy używanie rtęci w produkcji baterii, aparatury kontrolno-pomiarowej czy styczników elektrycznych, poprzez wprowadzanie alternatywnych technik. Globalnie największą emisję rtęci posiada kontynent azjatycki, a w szczególności Chiny i Indie. Wiąże się to z ogromnym zapotrzebowaniem tych krajów na energię elektryczną, którą pozyskują z konwencjonalnych źródeł [20].

W Polsce wielkość krajowej emisji rtęci w 2001 roku wynosiła 23,2 Mg (0,116 Mmol). Jej głównymi źródłami jest spalanie paliw dla celów produkcji energii elektrycznej i ciepła. Udział emisji rtęci w tych procesach wynosił w tymże roku ponad 60%. Główną przyczyną tak dużych emisji rtęci z procesów spalania jest fakt stosowania w Polsce węgla, którego udział w krajowej strukturze paliw wynosi prawie 2/3. Tak wysoki udział procesów spalania węgla jest najwyższy w Europie [21]. Wydobywany w Polsce węgiel kamienny zawiera średnio 399 ppb rtęci w złożach dolnośląskich, 105 ppb rtęci w złożach lubelskich i najmniej 60 ppb rtęci w węglu pochodzącym z Górnego Śląska. Średnie zawartości rtęci w węglu brunatnym są na ogół wyższe, niż w większości złóż węgla kamiennego. Najwyższą stwierdzono w złożu Bełchatów 416 ppb, a najniższą w złożu Lubstów 199 ppb [22].

Możliwość redukcji emisji rtęci z procesów spalania może być osiągnięta przez stosowanie instalacji do kontroli i redukcji emisji. Sam proces odsiarczania spalin może powodować redukcję emisji rtęci w zakresie od 30 – 85 % [23]. Dotychczasowa praktyka wskazuje, że najbardziej selektywnymi i wysokosprawnymi metodami usuwania rtęci z gazów technologicznych są metody adsorpcyjne. Ich wadą jest jednak wysoki koszt stosowania.

Rtęć jest także naturalnym pierwiastkiem w atmosferze i emitowana jest z wielu naturalnych źródeł jakimi są erupcje wulkanów, procesy geotermiczne, pożary lasów, parowanie z powierzchni wód, gleb oraz wegetacja roślin. Emisja rtęci występuje również z powierzchni lądowych i wodnych, które wcześniej były zanieczyszczone przez działalność człowieka. Komplikuje to definicję naturalnych źródeł, dlatego emisja rtęci, która nie jest spowodowana obecną aktywnością człowieka ani nie pochodzi z rzeczywistych naturalnych jej źródeł, zaliczana jest do tzw. recyrkulującej emisji antropogenicznej. Naturalna i recyrkulująca antropogeniczna emisja występuje głównie w postaci rtęci elementarnej ale w wysokotemperaturowych procesach, jak wybuchy

wulkanów i pożary lasów, dochodzi też do emisji rtęci w postaci utlenionej, zarówno gazowej, jak i związanej z pyłem. Stosunkowo mała ilość dimetylortęci może dyfundować do powietrza z wód, gdzie powstaje pod wpływem procesów biologicznych z rtęci nieorganicznej. Dimetylortęć posiada jednak bardzo krótki okres trwania w atmosferze z powodu szybkich reakcji z wszechobecnymi utleniaczami znajdującymi się w powietrzu. Może to być źródłem wysoce toksycznej metylortęci, która jest także wykrywana w niskich stężeniach w powietrzu i opadach [24].

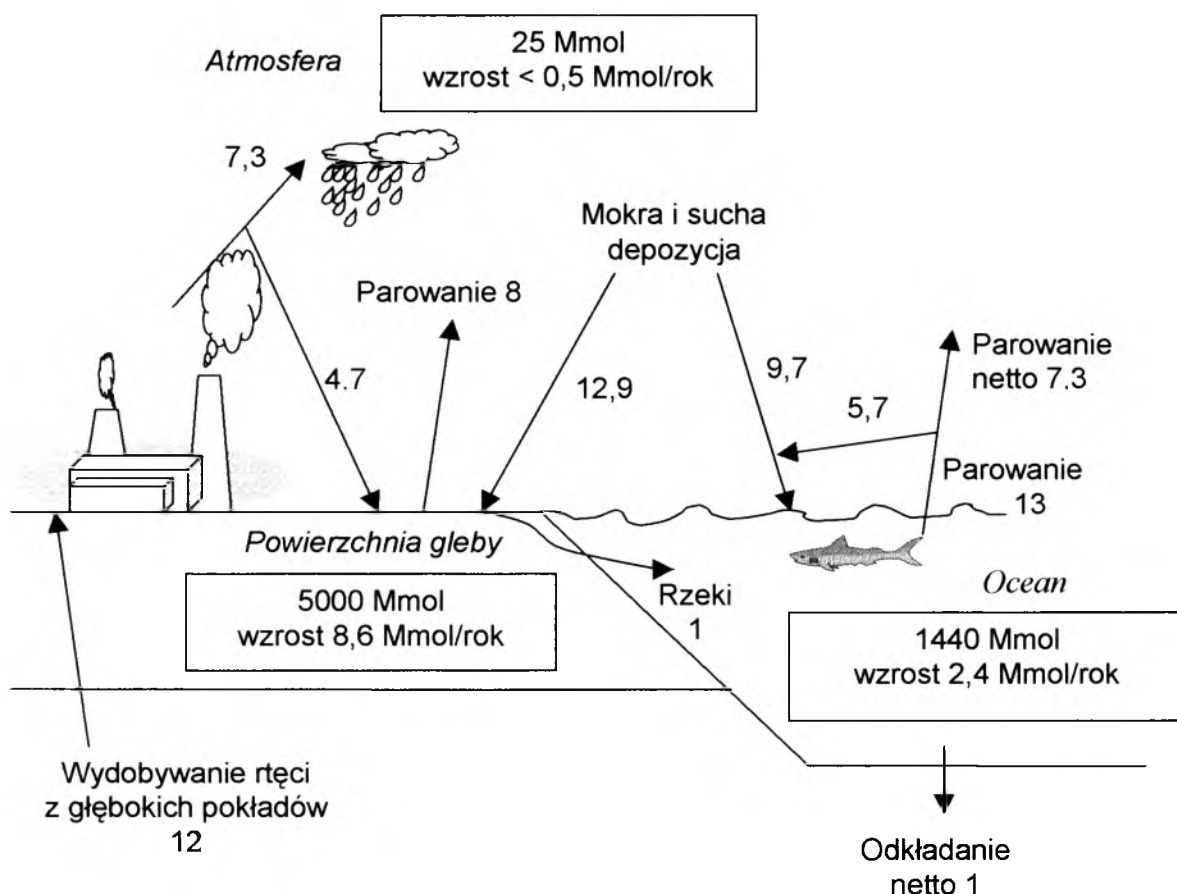
Właściwie do lat 90-tych ubiegłego wieku inwentarz emisji rtęci generalnie brał pod uwagę tylko całkowitą masę rtęci z pominięciem jej fizycznych i chemicznych form. Ogromna część emitowanej rtęci była znana w postaci gazowej i przypuszczano, że jest nią rtęć elementarna. RGHg nie można było mierzyć w powietrzu atmosferycznym i sądzono, że szybko jest usuwana z powietrza lub redukowana do rtęci elementarnej. Piśmiennictwo na początku lat 90-tych potwierdzało, że Hg^0 powinno grać pierwszoplanową rolę w chemii tego metalu w atmosferze i ewentualnej depozycji. Jakkolwiek potwierdza się, że jest tak w rzeczywistości na skalę globalną, to rtęć na drugim stopniu utlenienia może mieć pierwszoplanową rolę przy lokalnej i kontynentalnej depozycji rtęci [14]. Dlatego istnieje obecnie potrzeba specjacji rtęci w emisji aby trafnie przewidywać skutki jakie mogą być przez nią wywołane. Oszacowania dotyczące specjacji rtęci w zależności od rodzaju źródła emisji przedstawia tabela 3.

Tabela 3. Typowe udziały Hg^0 , RGHg i Hg-P w gazach emisyjnych w zależności od rodzaju źródła emisji [25]

Źródło emisji	Hg^0 [%]	RGHg [%]	Hg-P [%]
Spalanie węgla	50	40	10
Spalarnie odpadów	20	60	20
Produkcja cementu	80	15	5
Produkcja chloru i alkaliów	70	30	0
Inne	80	15	5

2.4. Bilans rtęci w środowisku

Porównując krążenie rtęci w okresie sprzed rozwoju przemysłu można stwierdzić, że działalność człowieka przyczyniła się do wzrostu depozycji rtęci o około 300%, chociaż depozycja do oceanu jest mniejsza od depozycji na lądzie. Dla obydwu środowisk podwoiło się odparowywanie rtęci z powierzchni, co jest rezultatem emisji antropogenicznej. Większość rtęci, która jest deponowana do oceanu odparowuje i prawdopodobnie krąży pomiędzy powierzchnią oceanu a warstwą przejściową nim zostanie przekazana do atmosfery lub w głąb oceanu. Obecnie nie jest możliwy pomiar tak niewielkich zmian w stężeniu rtęci w głębi oceanu, chociaż wzrost ten szacowany jest na około 0,2% rocznie. Całkowity bilans dla oceanu przewiduje, że około 30% wprowadzanego do oceanu strumienia rtęci jest deponowane w osadach dennych. Górny ocean jest w równowadze i stężenia na powierzchni zmieniają się bardzo wolno. Kontrastuje to z innymi metalami ciężkimi np. ołowiem i potwierdza, że pył zawieszony, który jest głównym źródłem ołowiu, ma niewielki wpływ na depozycję rtęci. Na rysunku 4 zostało przedstawione jedno z obecnych oszacowań dotyczących globalnego krążenia rtęci. Można zauważyć, że aktualnie istnieje transfer netto ze środowisk lądowych do oceanu. Tak więc środowisko lądowe, a w tym działalność człowieka, przyczynia się do zwiększania zawartości rtęci na powierzchni i w głębi oceanu. Mały wzrost netto o około 1% rocznie daje się zauważyć w stężeniu całkowitej gazowej rtęci w atmosferze. Podobnie dotyczy to również gleb. Jako że rtęć silnie jest związana w glebie z materią organiczną (>80% retencja) stanowią one duży rezerwuár rtęci w środowisku lądowym, który utrzymuje się przez długi okres nawet pomimo zaprzestania emisji. Trzeba jednak zauważyć, że obecnie tylko < 10% zawartości rtęci w glebie jest wynikiem zwiększonej depozycji rtęci w ubiegłym wieku [15].



Rysunek 4. Globalne krążenie rtęci – wszystkie wartości podane w Mmol/rok [15]

3. Aspekty toksykologiczne narażenia na rtęć

Toksyczne właściwości rtęci są dobrze znane i udokumentowane [9,26]. Duże powinowactwo dwudodatnich jonów rtęci do białkowych grup siarkowodorowych jest uważane za główny mechanizm jej biologicznej aktywności. Rtęć jest pokazowym przykładem jak bardzo działanie to uzależnione jest od formy związku i drogi, w jakiej metal zostaje wprowadzony do ustroju. Organiczne związki rtęci są o wiele bardziej toksyczne niż nieorganiczne sole rtęci. Różnice te są spowodowane zdolnością

przenikania bariery krew/mózg i bariery łożyskowej, która to zdolność jest największa w przypadku lipofilnych organicznych związków rtęci o krótkich łańcuchach (metylortęć, etylortęć). Stąd związki te charakteryzują się silnym działaniem neurotoksycznym i teratogennym, podczas gdy związki rtęci nieorganicznej mogą być głównie przyczyną niewydolności nerek. Rtęć elementarna nie wykazuje tak dużej toksyczności. Mało prawdopodobne są też zatrucia chlorkiem rtęci (I), oraz takimi związkami organicznymi jak: acetomeroktol, amidochlorek rtęciowy, mercurchrom, merkokrezol, nitromersol, tiomersal (meriolat) i jodek rtęci (I) ponieważ źle wchłaniają się z przewodu pokarmowego. Ich jednorazowa dawka śmiertelna jest 3-5 razy większa od rozpuszczalnych związków rtęciowych [27].

Człowiek może być narażony na rtęć wszystkimi trzema drogami narażenia: oddechową, pokarmową i skórą. Najczęściej jednak narażenie jest spowodowane wdychaniem par rtęci metalicznej oraz spożywaniem zanieczyszczonych metylortęcią ryb.

Pary rtęci prawie całkowicie wchłaniane są w drogach oddechowych i ze względu na dobrą rozpuszczalność w lipidach rtęć elementarna również łatwo przenika barierę krew/mózg gromadząc się w korze mózgowej i mózdzku. Szybko jest jednak utleniana przez układy enzymatyczne we krwi, sercu i mózgu. Bardzo nieznaczna ilość rtęci elementarnej może być wchłaniana przez skórę i błony śluzowe. Absorpcja rtęci metalicznej w przewodzie pokarmowym jest minimalna i nie ma znaczenia kliniczno-toksykologicznego. Ostatecznie najwięcej rtęci gromadzi się w nerkach, które stanowią swoistą pułapkę dla zjonizowanej formy rtęci. Wydalanie rtęci po wchłonięciu jej par zachodzi wszystkimi możliwymi drogami tj. z kałem, moczem, potem, łzami i wydychanym powietrzem. W przypadku narażenia na pary rtęci ocena wydalania rtęci z moczem jest najlepszym wskaźnikiem długotrwałej ekspozycji. W wyniku narażenia może także dochodzić do zatruc, które mają charakter ostrego lub przewlekłego. Postać ostra występuje niezwykle rzadko i jest związana z ciężką encefalopatią, obrzękiem mózgu, krwotocznym zapaleniem jelit i ostrą niewydolnością nerek. Rtęć działa także drażniaco na oczy, skórę i drogi oddechowe. Początkowymi symptomami zatrucia parami rtęci są kaszel, trudności w oddychaniu, ból w klatce piersiowej. W zatruciach przewlekłych objawy występują po kilku lub kilkunastu latach od rozpoczęcia narażenia. Najczęściej zmiany pojawiają się w układzie nerwowym. Proces chorobowy rozwija się powoli i charakteryzuje się bólami i zawrotami głowy,

zaburzeniami snu, wzmożoną pobudliwością, drżeniem powiek, języka i rąk. Po przerwaniu narażenia wymienione objawy mogą ustąpić całkowicie lub częściowo.

Metylortęć, jak już wspomniano, powstaje w przyrodzie poprzez biologiczną transformację z nieorganicznych związków rtęci. Ze względu na możliwość jej nagromadzenia się w mięśniach ryb oraz prawie całkowitemu wchłanianiu z przewodu pokarmowego, znane są przypadki poważnych zatruc po spożywaniu ryb skażonych metylowymi związkami rtęci. Wypadek w Minamata Bay w Japonii (1956 r.) został spowodowany spożyciem skażonych metylortęcią ryb pochodzących z wód, które zostały zanieczyszczone rtęcią. Zatrutych zostało 121 osób z czego 46 zmarło. Początek choroby rozpoczynał się drętwieniem kończyn i zaburzeniami czucia. Występował brak koordynacji ruchów, osłabienie, drżenie, powolna i bełkotliwa mowa, bezwładny ǳód, a następnie zaburzenia w słyszeniu i widzeniu. Symptomy te pogłębiały się i prowadziły do ogólnego paraliżu, deformacji kończyn, trudności w przełykaniu, drgawek i śmierci. Jeszcze cięższymi skutkami charakteryzowało się zatrucie w Iraku 1971/1972 r., które spowodowane było stosowaniem nadmiernej ilości fungicydów na bazie organicznych związków rtęci. Opisanych jest więcej tego rodzaju przypadków, które stały się bezpośrednim powodem zwrócenia bacznej uwagi, jak poważne skutki niesie ze sobą nadmierna i niekontrolowana emisja rtęci w środowisku. Okres połowicznej eliminacji metylortęci z organizmu człowieka wynosi około 70 dni i wydalana jest głównie z żółcią. Właściwym badaniem toksykologicznym przy ocenie narażenia na metylortęć i inne organiczne związki rtęci jest oznaczanie jej zawartości we krwi i włosach.

W celu ochrony zdrowia przed następstwami toksycznego działania substancji chemicznych istnieją określone wartości normatywów higienicznych oraz wartości odniesienia, które dla par rtęci elementarnej przedstawione są w tabeli 4. ATSDR [9] bazując na danych z narażenia zawodowego ustaliła tzw. poziom minimalnego ryzyka zdrowotnego przy trwającym bez przerwy narażeniu na pary rtęci, który wynosi $0,2 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Agencja Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych bazując na tych samych danych ustaliła tzw. poziom odniesienia na $0,3 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Ponadto w celu określenia bezpośredniego narażenia na pary rtęci i jej związki nieorganiczne można oznaczać rtęć całkowitą w moczu. W Polsce dopuszczalne stężenie (przy narażeniu zawodowym) rtęci w moczu wynosi $35 \mu\text{g}/\text{g}$ kreatyniny. W populacji nie narażonej zawodowo rtęć w moczu występuje zwykle na poziomie poniżej $5 \mu\text{g}/\text{g}$ kreatyniny.

Tabela 4. Normatywy higieniczne dla par rtęci oraz wartości odniesienia dla rtęci w powietrzu otaczającym

Środowisko pracy (Dz. U. Nr 217/2002, poz. 1833)	
NDS ¹	NDSch ²
25 µg/m ³	200 µg/m ³
Pomieszczenia zamknięte (M.P. nr 19, poz.231)	
Kat. A ³	Kat. B ⁴
1 µg/m ³	3 µg/m ³
Powietrze atmosferyczne (Dz. U. Nr 1/2003, poz. 12)	
Stężenie 1-godzinne	Stężenie roczne
0,3 µg/m ³	0,04 µg/m ³

W przypadku narażenia środowiskowego na metylortęć wartości dopuszczalne dotyczą poziomu rtęci zawartej w produktach spożywczych głównie rybach, który nie może przekraczać 1 ppm.

Ocenę aktualnego narażenia na metylortęć można dokonać w oparciu o oznaczenie rtęci we krwi i włosach. Stężenie we krwi nie powinno przekraczać 5 µg/l, a we włosach 7 µg/g.

¹ NDS - najwyższe dopuszczalne stężenie, czyli wartość stężenia, które oddziałując przez cały okres aktywności zawodowej w ciągu 8-godzinnego czasu pracy nie powinno spowodować ujemnych zmian stanu zdrowia pracowników oraz przyszłych pokoleń

² NDSch - najwyższe dopuszczalne stężenie chwilowe czyli średnie stężenie, które nie może trwać dłużej niż 15 min. w czasie zmiany roboczej

³ Pomieszczenia kategorii A – pomieszczenia mieszkalne, pomieszczenia przeznaczone na stały pobyt chorych w budynkach służby zdrowia oraz przeznaczone na stały pobyt dzieci i młodzieży w budynkach oświaty, a także pomieszczenia do przechowywania produktów żywnościowych

⁴ Pomieszczenia kategorii B – pomieszczenia przeznaczone na pobyt ludzi w budynkach użyteczności publicznej inne niż zaliczone do pomieszczeń kategorii A oraz pomieszczenia pomocnicze w mieszkaniu

4. Przegląd metod analitycznych oznaczania rtęci w wybranych elementach środowiska

4.1 Oznaczanie rtęci w powietrzu

W odniesieniu do danych zawartych w piśmiennictwie stężenia rtęci całkowitej w powietrzu na terenach nie zanieczyszczonych mieszczą się w granicach od 0,5 do 10 ng/m³ (średnio 1,5 ng/m³), natomiast na terenach gdzie znajdują się źródła emisji zawartość ta może dochodzić nawet do 20 µg/m³ [28]. Główną formą rtęci w powietrzu jest rtęć elementarna. Rtęć związana z cząstkami zawieszonymi stanowi zwykle tylko 4% lub mniej całkowitej zawartości rtęci. Inne formy jak np. metylortęć i dimetylortęć są oszacowane na od 0 – 5%. Reaktywna gazowa rtęć występuje w czystym powietrzu na bardzo niskim poziomie. Typowe stężenia poszczególnych form rtęci w powietrzu przedstawione są w tabeli 5. Jakkolwiek, rzetelne dane na ich temat są dosyć ograniczone i stąd konieczny jest dalszy rozwój metod analitycznych w tym zakresie.

Tabela 5. Typowe stężenia poszczególnych form rtęci w powietrzu otaczającym [24]

Forma rtęci	Stężenie [ng/m ³]
Rtęć całkowita	1,2 – 3,7
Pary rtęci (Hg ⁰)	1,0 – 3,6
Reaktywna Gazowa Rtęć (RGHg)	0,001 – 0,050
Rtęć związana z pyłem zawieszonym (Hg-P)	0,001 – 0,050
Metylortęć	0,001 – 0,020

Z uwagi na bardzo niskie stężenia rtęci w powietrzu otaczającym większość metod analitycznych musi obejmować etap wzbogacania. Obecnie najczęściej stosowana metoda oznaczania rtęci gazowej w powietrzu (rtęć elementarna oraz niewielkie ilości innych związków rtęci w fazie gazowej jak HgCl₂, CH₃HgCl, (CH₃)₂Hg) opiera się na zatężaniu rtęci na złocie i następnie oznaczaniu techniką zimnych par fluorescencyjnej spektrometrii atomowej (CVAFS). Zaadsorbowana na złocie rtęć jest termicznie desorbowana, a następnie przenoszona za pomocą

obojętnego gazu (helu lub argonu) na drugą - permanentną złotą pułapkę, z której po kolejnej termicznej desorpcji rtęć wprowadzana jest do kuwety spektrometru fluorescencji atomowej. Metoda ta jest niezwykle czuła i specyficzna stąd bardzo dobrze nadaje się do oznaczania rtęci w powietrzu na terenach nie zanieczyszczonych. Jednak z powodu niewielkiej pojemności sorpcyjnej złota i jego wrażliwości na interferencje, do monitorowania zawartości rtęci na terenach i w miejscach zanieczyszczonych lepiej stosować inne metody wzbogacania i analizy. Należy do nich adsorpcja rtęci na takich mediach jak węgiel aktywny czy hopkalit a następnie chemiczna desorpcja, redukcja rtęci chlorkiem cyny (II) i analiza techniką zimnych par absorpcyjnej spektrometrii atomowej (CVAAS). Metoda adsorpcji rtęci na węglu aktywnym jest również łączona z instrumentalną neutronową analizą aktywacyjną (INAA). Podejmowane są próby zastosowania tej metody jako metody referencyjnej. Dotychczasowe problemy ze zbyt wysoką wartością i brakiem powtarzalności dla ślepej próbki powodują, że metoda ta jest ciągle w fazie intensywnych badań. Istnieje również doniesienie o próbie zastosowania hopkalitu jako sorbentu w połączeniu z INAA. Istotnym problemem okazały się niewielkie ilości selenu, zawarte w hopkalicie, który to pierwiastek powoduje spektralne interferencje w oznaczaniu rtęci. Dla obydwu radioizotopów (^{203}Hg i ^{75}Se) sygnał emitowanego promieniowania pojawia się przy 239 keV. Uniemożliwiło to oznaczanie rtęci w powietrzu poniżej wartości 14 ng/m^3 [29].

Rtęć może być pochłaniana w roztworze absorpcyjnym jak np. kwaśnym roztworze KMnO_4 . Metoda ta jest szczególnie często stosowana przy badaniach emisji rtęci czy przy oznaczaniu rtęci w powietrzu środowiska pracy. Istnieją obecnie automatyczne systemy oznaczania rtęci w powietrzu, które obejmują etapy pobierania próbki i oznaczania z pominięciem czynnika ludzkiego. Przegląd metod analitycznych dotyczących oznaczania par rtęci w powietrzu zestawiono w tabeli 6.

Niezwykle ważne jest aby zastosować odpowiedni system kontroli jakości, który musi obejmować bez wyjątku wszystkie poszczególne etapy analizy włączając pobieranie próbki, kalibrację aparatury pomiarowej i w miarę możliwości także porównania międzylaboratoryjne. Głównym źródłem błędów w analizie niskich zawartości rtęci jest zanieczyszczenie próbek w czasie ich obróbki. Rtęć jest pierwiastkiem wszechobecnym i jeśli analizy nie prowadzi się w „ultra czystych” warunkach może to powodować otrzymywanie niewspółmiernie wysokich stężeń w porównaniu z faktycznie badanymi. W odniesieniu do precyzji i powtarzalności

zwykle większymi błędami charakteryzują się metody manualne, dlatego gdzie tylko to możliwe należałoby automatyzować etapy procedury analitycznej. Systematyczne błędy mogą pochodzić np. z niewłaściwie wywzorcowanych rotametrów. Ostatecznie, aby dobrze zinterpretować otrzymane wyniki badań zawartości rtęci w powietrzu, każde sprawozdanie z przeprowadzonych pomiarów powinno zawierać pełny opis procedury analitycznej z włączeniem stosowanego systemu kontroli jakości. Dokładność, czyli ocena w jakim stopniu zmierzona lub obliczona wartość jest zgodna z prawdziwym stężeniem analitu, najczęściej jest wykonywana w oparciu o analizę materiału odniesienia. Certyfikowane materiały odniesienia dla par rtęci w powietrzu, nie są dostępne, co praktycznie uniemożliwia ocenę dokładności dla tego rodzaju próbek.

Tabela 6. Przegląd metod oznaczania par rtęci w powietrzu

Sposób wzbogacenia i przygotowania próbki	Metoda instrumentalna	Granica wykrywalności	Piśmiennictwo
<ul style="list-style-type: none"> - Amalgamowanie na złocie lub srebrze: folia, wiórki, złoto lub srebro naniesione na nośnik (piasek, wata szklana) dla zwiększenia powierzchni sorpcyjnej; termiczna desorpcja 	<p>Zimne pary ASA Zimne pary AFS</p>	<p>< 0,1 ng/m³</p>	<p>[30,31,32]</p>
<ul style="list-style-type: none"> - Adsorpcja na węglu aktywnym; termiczna desorpcja lub napromieniowanie przy INAA - Adsorpcja na węglu impregnowanym jodem; - desorpcja na gorąco 7:3 HNO₃: H₂SO₄ dodatek BrCl i redukcja SnCl₂ 	<p>Zimne pary ASA Zimne pary AFS INAA</p>	<p>0,5 - 1 ng/m³</p>	<p>[33,34,35]</p>
<p>Adsorpcja na hopkalcie;</p> <ul style="list-style-type: none"> - rozpuszczenie sorbentu w HNO₃ i HCl, rozcieńczenie i redukcja SnCl₂ - desorpcja 6 mol/l HNO₃ i redukcja SnCl₂ 	<p>Zimne pary ASA</p>	<p>0,1 – 0,5 µg/m³</p>	<p>[36,37,38]</p>
<p>Absorpcja w roztworze:</p> <ul style="list-style-type: none"> - KMnO₄/H₂SO₄ dodatek NH₂OH·HCl i redukcja SnCl₂ 	<p>Zimne pary ASA</p>	<p>2,5 µg/m³</p>	<p>[39]</p>
<p>Metody automatyczne</p> <ul style="list-style-type: none"> - PSA - Sir Galahad II System - Tekran Gas Phase Mercury Analyser - Gardis Mercury Analyser 	<p>AFS ASA</p>	<p>0,1 – 0,15 ng/m³</p>	<p>[34,40,41]</p>

4.2. Oznaczanie rtęci całkowitej w moczu

Oznaczanie rtęci całkowitej w moczu służy do oceny narażenia zawodowego i środowiskowego na rtęć nieorganiczną, głównie pary rtęci metalicznej. Jest to nieinwazyjna metoda odzwierciedlająca skumulowane narażenie trwające co najmniej przez 2 – 4 miesiące. Dla grupy narażonej zawodowo Światowa Organizacja Zdrowia zaleciła wartość dopuszczalnego stężenia rtęci w moczu jako 50 µg/g kreatyniny, natomiast ACGiH ustaliła poziom 35 µg/g kreatyniny odnoszący się tylko do rtęci nieorganicznej w moczu tj. elementarnej i jonowej. Ma to na celu ochronę zdrowia pracownika przed symptomami chorobowymi ze strony ośrodkowego układu nerwowego. Stężenia występujące wśród osób nie narażonych zawodowo zależą zarówno od stosowanej procedury analitycznej, jak również od środowiska i warunków życia. Istnieje ogólnie przyjęta zgoda, że w tej grupie ludzi wydalanie rtęci z moczem jest niższe od 5 µg/l lub przy korekcie diurezy od 5 µg/g kreatyniny.

W analizie rtęci w moczu najczęściej stosuje się ogólnie zaakceptowaną i dającą rzetelne wyniki technikę zimnych par absorpcyjnej spektrometrii atomowej (CVAAS). Rtęć obecna w próbce jest zredukowana do postaci elementarnej, następnie wydzielana z próbki i wprowadzana ilościowo do kuwety pomiarowej z okienkami kwarcowymi, ustawionej na drodze promieniowania lampy katodowej lub lampy bezelektrodowej. Czynnikiem redukującym jest najczęściej chlorek cyny (II), który redukuje rtęć obecną wyłącznie w postaci jonowej. Dlatego aby oznaczyć rtęć całkowitą, konieczna jest wcześniejsza mineralizacja próbek moczu, w celu przeprowadzenia rtęci, związanej w silnych kompleksach organicznych i kowalencyjnie w związkach organicznych, do postaci jonowej. Jest to dosyć krytyczny etap analizy, ponieważ należy mieć pewność, że cała rtęć zawarta w zmineralizowanej próbce występuje w formie jonowej. Niektórzy autorzy oznaczali rtęć całkowitą bez wcześniejszej mineralizacji ale z użyciem takich reduktorów jak mieszanina chlorku cyny(II) z chlorkiem kadmu(II) czy borowodorek sodu. W obecności cysteiny dodatek chlorku kadmu do chlorku cyny powoduje również szybką redukcję metylortęci. Wiele pracy zostało także poświęcone redukcji rtęci za pomocą borowodorku sodu [42].

W celu odpowiedniej mineralizacji moczu często wykorzystywaną metodą jest utlenianie próbki nadmanganianem potasu w obecności kwasu siarkowego (VI). Nadmanganian potasu utlenia wiele związków rtęcioorganicznych, chociaż niektóre badania wskazują, że część z nich, włączając octan fenylortęci, czy chlorek metylortęci może być przez ten związek utleniana tylko częściowo. Stąd, przez niektórych autorów,

stosowany jest po mineralizacji w nadmanganianie potasu dodatkowy etap mineralizacji nadsiarczanem potasu, który wykazuje właściwości utleniające wobec wszystkich związków rtęcioorganicznych i zapewnia ich pełny odzysk [43]. Inną metodą mineralizacji jest stosowanie bomb tlenowych czy piroliza np. w rurce pieca grafitowego. Stosowanie mieszaniny kwasu azotowego i nadchlorowego i pozostawienie próbki przez noc również jest często opisywaną metodą mineralizacji moczu i krwi. Otwarte systemy mineralizacji mogą prowadzić do strat rtęci zwłaszcza jeśli proces jest prowadzony w podwyższonej temperaturze. Obecnie szeroko stosowana jest kwaśna mineralizacja w systemie zamkniętym z użyciem energii mikrofal, chociaż ogrzewanie w sposób konwekcyjny np. w bombach Paara, szczelnie zamykanych naczyniach z PTFE czy kwarcu, również daje dobre rezultaty.

Z innych technik instrumentalnych, które stosowano przy analizie rtęci w moczu należy wymienić: atomową spektrometrię emisyjną ze wzbudzeniem w płazmie indukcyjnie sprzężonej (ICP-AES), spektrometrię mas ze wzbudzeniem w indukowanej płazmie - zarówno w konwencjonalnym trybie pracy układu detekcyjnego (ICP-MS), jak i z aktywną komorą reakcyjną (ICP-DRC-MS), spektrometrię fluorescencji atomowej (AFS), absorpcyjną spektrometrię atomową z atomizacją elektrotermiczną (ETAAS), instrumentalną neutronową analizę aktywacyjną (INAA), fluorescencję rengenowską, spektrofotometrię (metoda z ditizonem) czy woltamperometrię inwersyjną (ASV). Technikę zimnych par łączy się także z takimi technikami jak AFS, ICP-AES, ICP-MS czy metodami woltamperometrycznymi. Pozwala to na ograniczenie interferencji pochodzących z matrycy próbki i znaczne obniżenie granicy wykrywalności. Przy stosowaniu technik CVAAS i CVAFS dla wzrostu czułości metody analitycznej i redukcji interferencji możliwe jest wprowadzenie techniki amalgamowania. Przegląd metod analitycznych oznaczania rtęci w moczu przedstawiono w tabeli 7.

Tabela 7. Przegląd metod oznaczania rtęci całkowitej w moczu

Sposób przygotowania próbki	Metoda instrumentalna	Granica wykrywalności	Piśmiennictwo
Rozcieńczenie próbki w buforze amonowym; redukcja NaBH_4	ICP-AES	0,5 $\mu\text{g/l}$	[44]
Dodanie do rozcieńczonej (1:1) wodą próbki roztworu Na_2EDTA , rozcieńczonego HCl zawierającego chlorowodorek cysteiny i stężonego HCl ; odwirowanie; filtrowanie		0,2 $\mu\text{g/l}$	[45]
Rozcieńczenie próbki 1:10 w 2% HCl i $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (57 mg/l)		0,15 $\mu\text{g/l}$	[46]
Rozcieńczenie próbki roztworami $\text{NH}_3/(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{EDTA}/\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ i $\text{NH}_4\text{OH}/1\%$ TritonX-100 oraz wodą	ICP-MS	0,27 $\mu\text{g/l}$	[47]
Zakwaszenie próbki HCl do $\text{pH}=2$, rozcieńczenie izotopowe znaną ilością ^{201}Hg i odparowywanie w piecu grafitowym zawierającym wcześniej naniesiony modyfikator martycy ($\text{Pd} + \text{Mg}$)		0,02 $\mu\text{g/l}$	[48]
Analiza wstrzykowo-przepływowa z mineralizacją w mieszaninie 40% H_2SO_4 i 5% $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ w temperaturze 85°C; redukcja SnCl_2		0,4 $\mu\text{g/l}$	[49]
Mineralizacja w mieszmie kwasu azotowego i nadchlorowego przez noc		1 $\mu\text{g/l}$	[50]
Mineralizacja $\text{KMnO}_4/\text{H}_2\text{SO}_4$ dodatek $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ i redukcja SnCl_2		0,7 $\mu\text{g/l}$	[51]
Mineralizacja mikrofalowa w mieszaninie $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$, retencja kompleksu rtęci z kwasem O,O-dietyloditiofosforowym na kolumnkach C_{18} , elucja metanolem z NaBH_4	Zimne pary ASA	0,02 $\mu\text{g/l}$	[52]
Mineralizacja z HNO_3 w szczelnie zamykanych naczyniach teflonowych lub krzemowych		0,05 $\mu\text{g/l}$	[53]

Tabela 7. Przegląd metod oznaczania rtęci całkowitej w moczu – ciąg dalszy

Sposób przygotowania próbki	Metoda instrumentalna	Granica wykrywalności	Piśmiennictwo
Rozcieńczenie z 1% HNO ₃ i H ₂ SO ₄ ; dodatek 0,1 ml 5% KMnO ₄ ; redukcja borowodorkiem sodu	Zimne pary ASA	0,3 – 0,4 µg/l	[54]
Dodatek stężonego HNO ₃ i ogrzewanie przez 90 min w temp. 90°C; ekstrakcja nasyconym roztworem ditazonu w cykloheksanie	ETAAS	1 µg/l	[55]
Mineralizacja w kwasie azotowym, a następnie nadchlorowym; rozcieńczenie elektrolitem podstawowym	ASV	1,6 µg/l	[56]
Mineralizacja za pomocą KBr/KBrO ₃ i KMnO ₄ ; redukcja borowodorkiem sodu z wydzieleniem par rtęci i adsorpcją na elektrodzie grafitowej pokrytej złotem, a następnie wydzielenie elektrolityczne w HClO ₄ 0,1 mol/l + HCl 3·10 ⁻³ mol/l	Zimne pary DPV	0,4 µg/l	[57]
Dodanie do próbki stężonego HCl i roztworu KBr/KBrO ₃ ; 15 min w temp. pokojowej; rozkład Br ₂ za pomocą NH ₃ OHCl, rozcieńczenie i redukcja SnCl ₂	Zimne pary AFS	1 ng/l	[58]
Mineralizacja z HNO ₃ w piecu mikrofalowym, rozcieńczenie i redukcja SnCl ₂	Zimne pary AFS	0,9 ng/l	[59]
Odparowanie 20 ml próbki z 20 ml stężonego HNO ₃ do 2 ml, napromieniowanie przez 70 godzin	INAA	1 µg/l	[60]
Tworzenie barwnego kompleksu z ditazonem (difenylotiokarbazonem) ekstrahowanego rozpuszczalnikiem organicznym (np. chloroformem)	spektrofotometryczna	50 µg/l	[8]
Redukcja do Hg ⁰ i bezpośrednia reakcja z wodnym kompleksem Mo zawierającym mostek siarczkowy typu kubanu	spektrofotometryczna	50 µg/l	[61]

IV. CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

1. Aparatura, odczynniki i roztwory

1.1. Aparatura

1.1.1. Spektrometr Absorpcji Atomowej SOLAAR 939 firmy ATI UNICAM
o parametrach:

źródło promieniowania: lampa z katodą wnątkową

optyka: aparat jednowiązkowy z elementami optycznymi pokrytymi warstwą kwarcu

zakres długości fali: 180 – 880 nm

detektor: fotopowielacz S-20 obejmujący cały zakres widma

monochromator: układ Eberta z możliwością ustawienia szczeliny 0,2; 0,5; 1,0 nm

zakres absorbancji: -0,150 A do 3,000 A

Korekcja tła: D2 typu Quadline

1.1.2 Aspirator Easy Gas firmy Tecora do pobierania próbek powietrza

zakres przepływu: 0.2-1,2 l/min

pułapka ochronna: wysokowydajny żel silikonowy

wyposażenie: rotometr, gazomierz mieszkowy, bezobsługowy akumulator

1.1.2. Sterownik procesorowy zaworów i grzałki przedsiębiorstwa wielobranżowego
„SEAM” Piotr Czarnecki ul. Skłodowskiej 9/11 Siemianowice Śl.

1.1.3. Rotometr tablicowy z podstawą RTU-06-300 produkcji Zakładów Automatyki
„ROTAMETR” Sp.z o.o.

Zakres pomiarowy: 3 – 35 dm³/h dla azotu; 2 – 30 dm³/h dla argonu

Rodzaj podziałki: milimetrowa z wykresem przepływu dla azotu w warunkach roboczych: temperatura robocza 293 K; ciśnienie robocze absolutne 0,1 MPa; gęstość 1,25 kg/m³

Dodatkowy wykres dla argonu w warunkach roboczych: temperatura 293K; ciśnienie 0,1 MPa; gęstość 1,78 kg/m³

1.1.4. Jednomiarowe i wielomiarowe pipety automatyczne o pojemnościach: 5 µl; 10µl; 20 – 200 µl; 100 – 1000 µl; 1000 – 5000 µl firmy HTL

1.1.5. Wyrząsarka laboratoryjna 358S produkcji ELPAN

1.1.6. Suszarka laboratoryjna SML 32/250 produkcji ZAL-M ZATMED Warszawa

1.1.7. Mineralizator typu Meditherm TH – 2 produkcji DHN PAN Warszawa

Materiał bloku grzejnego: aluminium

Zakres stabilizacji temperatury: 20 – 400 °C

1.1.8. Waga laboratoryjna WPS 510/C/1 produkcji RADWAG o dokładności ±0,001 g

1.1.9. Waga analityczna Sartorius o dokładności $\pm 0,0001$ g

1.2. Odczynniki i roztwory

- 1.2.1. Kwas azotowy (V) [HNO_3] stężony 65%; gęstość $1,40 \text{ g/cm}^3$; maksymalnie 5 ppb Hg produkcji J.T. Baker
- 1.2.2. Kwas azotowy (V) [HNO_3] o stężeniu 6 mol/l; 413 ml stężonego HNO_3 rozcieńczano wodą dejonizowaną do 1000 ml
- 1.2.3. Kwas solny [HCl] dymiący 37% GR do analizy, gęstość $1,19 \text{ g/cm}^3$, maksymalnie 0,001 ppm Hg produkcji Merck
- 1.2.4. Kwas siarkowy (VI) [H_2SO_4] stężony 95 - 98%; gęstość $1,84 \text{ g/cm}^3$ maksymalnie 5 ppb Hg produkcji J.T. Baker
- 1.2.5. Chlorek cyny (II) 2*hydrat [$\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$] cz.d.a. produkcji POCH Gliwice
- 1.2.6. Roztwór chlorku cyny (II) 20% (m/v); 23,7 g chlorku cyny (II) rozpuszczano na gorąco w 36 ml dymiącego HCl, następnie przelewano do kolby pomiarowej z zawartością około 50 ml wody i uzupełniano wodą do 100 ml. Dla usunięcia śladów rtęci roztwór aerowano przez 2 godziny z natężeniem przepływu strumienia powietrza 5 l/min
- 1.2.7. Chlorowodorek hydroksyloaminy [$\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$] cz.d.a. produkcji POCH Gliwice
- 1.2.8. Roztwór chlorowodoru hydroksyloaminy 20% (m/v); 20 g $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ rozpuszczano w około 50 ml wody, a następnie uzupełniano wodą do 100 ml w kolbie pomiarowej. Dla pozbycia tego roztworu śladów rtęci dodawano do niego 0,075 ml roztworu chlorku cyny (II) wg 1.2.6. i aerowano przez 4 godziny z natężeniem przepływu strumienia powietrza 1 l/min
- 1.2.9. Nadmanganian potasu [KMnO_4] GR do analizy; maksymalnie 0,000005% Hg; ACS
- 1.2.10. Wzorzec stężenia masowego Hg^{2+} (roztwór wodny) o stężeniu $1,0000 \pm 0,0012 \text{ g/dm}^3$ produkcji Głównego Urzędu Miar w Warszawie
- 1.2.11. Wzorcowy roztwór roboczy I o stężeniu rtęci 10 $\mu\text{g/ml}$; 1 ml roztworu podstawowego rozcieńczano w kolbie pomiarowej do 100 ml

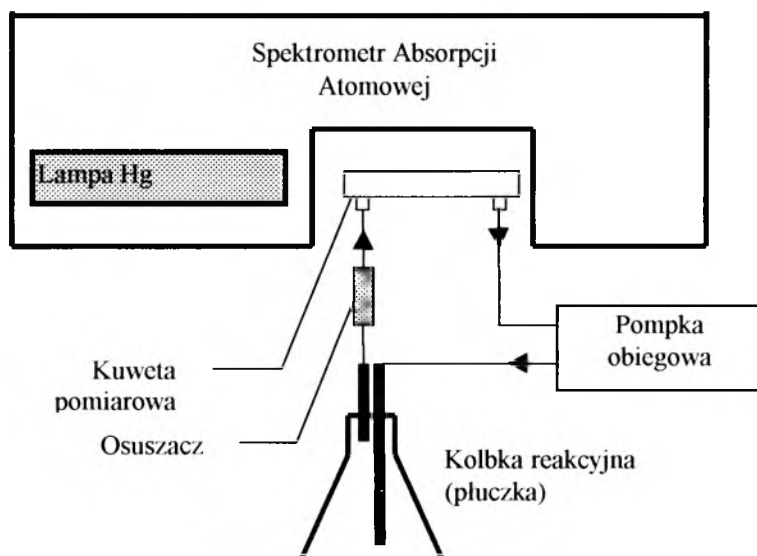
- 1.2.12. Wzorcowy roztwór roboczy II o stężeniu rtęci 0,05 $\mu\text{g/ml}$; 0,5 ml roztworu roboczego I rozcieńczano w kolbie pomiarowej do 100 ml; dla przedłużenia trwałości dodawano 1 ml stężonego HCl
- 1.2.13. Izopropanol [$\text{CH}_3\text{CHOHCH}_3$] cz.d.a. produkcji POCH Gliwice
- 1.2.14. Chlorek metylortęci [CH_3HgCl] 99% Dr. Ehrenstorfer GmbH;
- 1.2.15. Roztwór wzorcowy chlorku metylortęci o stężeniu 142 $\mu\text{g/ml}$; 0,0142 g soli rozpuszczano w izopropanolu i uzupełniano do 100 ml w kolbie pomiarowej
- 1.2.16. Roztwór roboczy chlorku metylortęci o stężeniu 0,142 $\mu\text{g/ml}$; 0,1 ml wzorcowego roztworu chlorku metylortęci rozcieńczano wodą do 100 ml w kolbie pomiarowej
- 1.2.17. Hopkalit gatunek S o uziarnieniu 0,5 – 1,5 mm produkcji Inowrocławskich Zakładów Chemicznych Soda Mątwy S.A.
- 1.2.18. Żel krzemionkowy produkcji Merck

Wszystkie roztwory sporządzano przy stosowaniu wody dejonizowanej 18,2 M Ωcm otrzymanej w dejonizatorze Mili_Qplus ultra-pure water system (Millipore, USA)

2. Badania nad wykorzystaniem techniki amalgamowania

2.1. Wprowadzenie

Rtęć jest wyjątkowym metalem, ponieważ jako jedyny posiada na tyle wysoką prężność par w temperaturze pokojowej, że może być bez trudności ilościowo wprowadzony w postaci par wolnych atomów do kuwety pomiarowej spektrometru absorpcji atomowej. Właściwość ta jest wykorzystywana do oznaczania rtęci tzw. techniką zimnych par absorpcyjnej spektrometrii atomowej (CVAAS) [42, 62]. Oznaczanie można prowadzić w układzie zamkniętym lub otwartym. Próbkę w naczynku reakcyjnym poddawana jest działaniu reduktora, najczęściej chlorku cyny (II) i zredukowana do postaci elementarnej rtęć jest przeprowadzana gazem nośnym (powietrze, azot, argon) do kuwety pomiarowej z okienkami kwarcowymi. Źródłem promieniowania charakterystycznego jest lampa z katodą wnątkową lub lampa bezelektrodowa, przy czym ta druga cechuje się intensywniejszym promieniowaniem i mniejszym tłem. Pomiar absorpcji odbywa się przy długości fali 253,7 nm po ustabilizowaniu się wskazań aparatu, jeśli wykorzystuje się układ zamknięty jak na rysunku 5. W układzie otwartym, sygnał pomiarowy występuje w postaci piku absorpcyjnego. Para wodna lub związki organiczne obecne w układzie mogą powodować intensywną absorpcję niespecyficzną. Wpływ pary wodnej można łatwo wyeliminować przez zastosowanie odpowiedniego osuszacza, którym może być wata bawełniana, a nawet chłodzona lodem woda. Aby wyeliminować wpływ na pomiar absorbujących w tym zakresie widma związków organicznych, trzeba zastosować deuterową korektę tła lub korektę tła wykorzystującą efekt Zeemana.



Rysunek 5. Układ zamknięty do oznaczania rtęci techniką zimnych par

Wprowadzenie na drogę wiązki promieniowania wolnych atomów rtęci oraz możliwość wykorzystania w analizie znacznej objętości próbki umożliwiło na osiągnięcie tą metodą bardzo wysokiej czułości i oznaczania rtęci na poziomie śladowych ilości. Zdecydowane polepszenie granicy oznaczalności można osiągnąć przez zastosowanie tzw. techniki amalgamowania, która polega na wstępnej adsorpcji uwolnionych par rtęci na metalach szlachetnych takich jak złoto, srebro lub platyna. Metale te można używać w postaci siatki, drutu lub naniesione na żel krzemionkowy czy szklane perełki. Spotykane jest też stosowanie stopów metali szlachetnych np. siatki ze stopu złota i platyny. Najłatwiej z nich amalgamowaniu ulega złoto. Szybkie ogrzanie utworzonego amalgamatu powoduje odparowanie rtęci, którą wprowadza się za pomocą azotu lub argonu do kuwety pomiarowej i mierzy wartość absorpcji promieniowania charakterystycznego. Technika ta, oprócz znacznego obniżenia granicy detekcji, umożliwia również eliminację interferencji pochodzących z matrycy, zwłaszcza gdy całkowita mineralizacja próbki jest trudna do wykonania nawet z użyciem silnych kwasów utleniających.

2.2. Budowa układu amalgamującego

W pracy zastosowano układ do amalgamowania własnej konstrukcji, przedstawiony na Rysunku 6, który umożliwił wprowadzenie etapu amalgamowania bezpośrednio do modyfikowanych metod analitycznych i utrzymanie stałej efektywności tego procesu. Układ ten składa się z następujących elementów:

- płuczki szklanej z rurką boczną i spiekami G1 o pojemności 250 ml spełniającej rolę naczynka reakcyjnego - w przypadku oznaczania rtęci w powietrzu (1a) lub kolby Kjeldahla z nasadką na płuczkę szklaną ze spiekami G1, w której przeprowadzano mineralizację próbki moczu (1b);
- dwóch płuczek szklanych do gazów ze spiekami G1 zawierające odpowiednio 10% i 5% roztwór NaOH (2), które spełniają rolę roztworów absorbujących pary kwasów, wydzielonych w czasie intensywnego przepuszczania gazu przez próbkę w naczyniu reakcyjnym;
- rurki z wyprażonym w temp. 200⁰C przez 3 godz. żelem krzemionkowym, który spełnia rolę osuszacza i zabezpiecza przed osiadaniami pary wodnej na złotej spirali i okienkach kuwety pomiarowej (3);

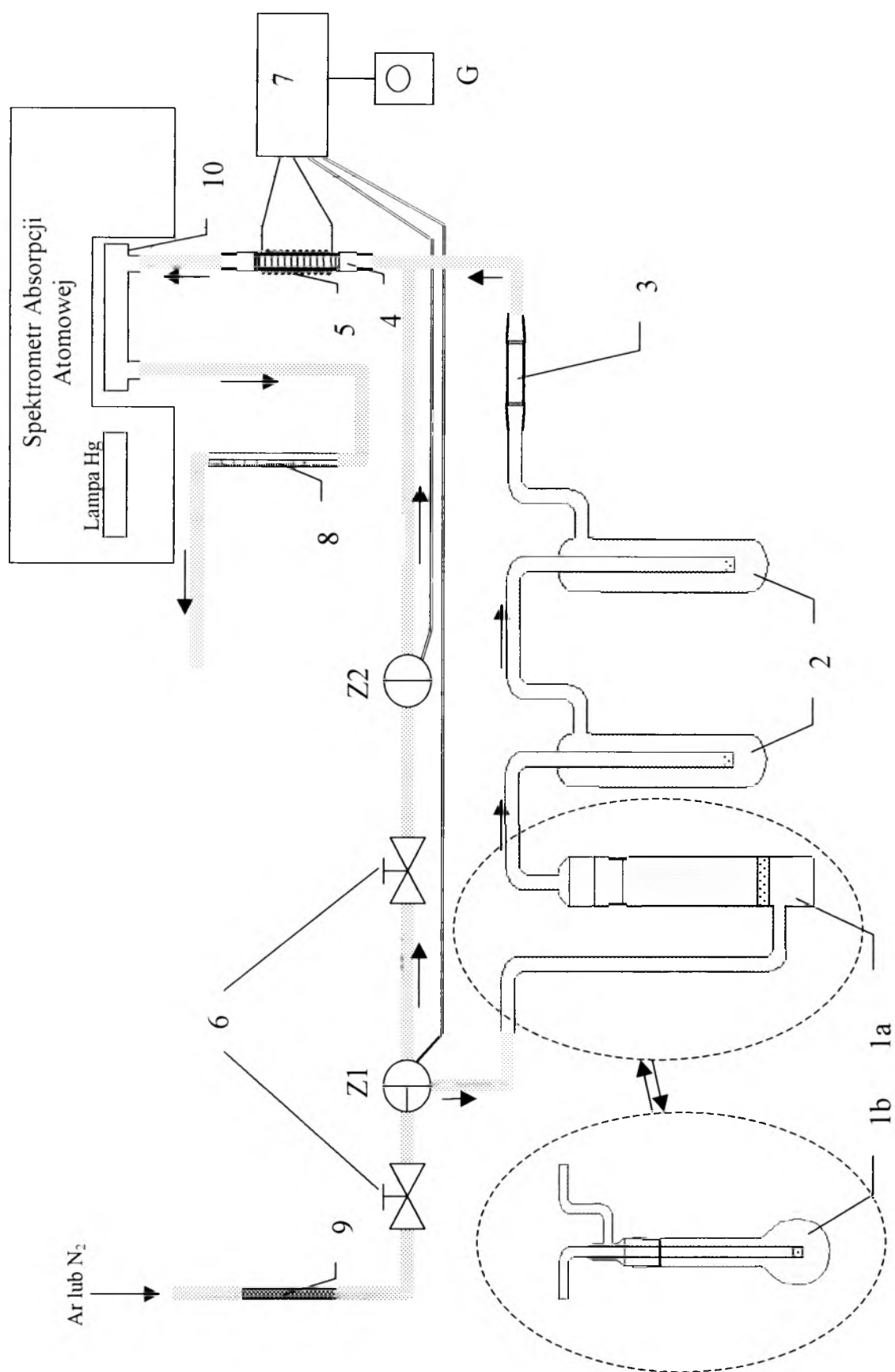
- rurki kwarcowej z umieszczonym w niej 1 g czystego złota (0,999) w formie zwiniętego w spiralę drutu o średnicy 0,3 mm (4);
- wężyków i łączników z PTFE (wężyk o średnicy zewnętrznej 0,125” i grubości 0,030” oraz wężyk o średnicy zewnętrznej 0,250” i grubości 0,030”); łączniki redukcyjne i łącznik potrójny w kształcie litery T);
- spirali grzejnej z drutu oporowego do ogrzewania rurki kwarcowej ze złotem (5),
- autotransformatora (G);
- zaworków elektromagnetycznych firmy ColePalmer: zawór trójdrożny (Z1), zawór dwudrożny normalnie zamknięty (Z2);
- ~~zaworów~~ zaworów regulujących przepływ gazu nośnego (6);
- procesorowego sterownika, wykonanego wg własnego projektu, do sterowania pracą zaworków i autotransformatora (7);
- rotometru (8);
- rurki wypełnionej hopkalitem w celu oczyszczenia gazu nośnego z rtęci (9);
- kuwety pomiarowej z okienkami kwarcowymi firmy ATI UNICAM o długości 10 cm (10).

Szklane części układu przed użyciem wymagały wymoczenia w zakwaszonym kwasem siarkowym (VI) roztworze nadmanganianu potasu i wielokrotnego przepłukiwania wodą dejonizowaną. Czynność tę powtarzano także wtedy, gdy nastąpiło zanieczyszczenie układu rtęcią i sygnał pomiarowy pojawiał przy oznaczaniu ślepej próbki dla samego układu. W celu zminimalizowania adsorpcji rtęci we wnętrzu układu, pozostałe elementy (wężyki, łączniki) były wykonane z PTFE. Ze względu na niską porowatość i obojętność chemiczną materiał ten idealnie sprawdza się w analizie śladowych stężeń rtęci.

2.3. Parametry pracy układu i aparatury

Dobrano doświadczalnie następujące parametry pracy układu amalgamującego:

Czas przenoszenia par rtęci z naczynka reakcyjnego na złoto:	360 s
Czas ogrzewania złotej spirali	13 s
Czas pomiaru absorbancji	20 s
Odczynnik redukujący: 1,5 – 5 ml 20% roztworu chlorku cyny (II)	
Gaz nośny: argon lub azot	



Rysunek 6. Schemat układu amalgamującego (objaśnienia w tekście)

Natężenie przepływu gazu nośnego przy przenoszeniu par rtęci z naczynka reakcyjnego na złoto: 500 ml/min

Natężenie przepływu gazu nośnego przy desorpcji rtęci ze złota i pomiarze absorpcji: 45 ml/min

Temperatura desorpcji rtęci: około 800⁰C

Parametry aparaturowe:

Typ aparatu: spektrometr absorpcji atomowej UNICAM Solaar 939

Źródło promieniowania: lampa z katodą wnątkową firmy ATI UNICAM

Natężenie prądu lampy: 60% natężenia maksymalnego

Korekta absorpcji niespecyficznego: wyłączona

Rodzaj rejestrowanego sygnału: wysokość pików lub pole powierzchni pod pikami

W celu częściowej automatyzacji oznaczania zastosowano w układzie zaworki elektromagnetyczne oraz sterownik procesorowy zaworów i grzałki według własnego projektu. Sterownik został wykonany przez Przedsiębiorstwo Wielobranżowe „SEAM” z Siemianowic Śląskich. Schemat pracy sterownika, zaworów i autotransformatora zasilającego element grzewczy przedstawiono na rysunku 7. Po zakończeniu cyklu pracy układu amalgamującego uruchamiano wentylator, który powodował szybsze schłodzenia złota do temperatury pokojowej.

2.4. Optymalizacja pracy układu amalgamującego

2.4.1. Optymalizacja czułości

Parametry pracy układu jak i aparatury dobierano tak, aby osiągnąć maksymalną czułość oznaczania. Stosunkowo długi czas płukania gazem nośnym był konieczny dla całkowitego przeprowadzenia zredukowanej rtęci na złotą spiralę. Z tego względu przerób analizowanych próbek wynosił 5 – 6 na godzinę. Krótsze czasy płukania nie były wystarczające dla całkowitego wydzielenia rtęci z próbki i powodowały pozostawanie jej par w układzie. Szybsze natężenie przepływu powodowało natomiast niecałkowitą adsorpcję par rtęci na złocie i niższą czułość. Efekt wpływu natężenia przepływu strumienia gazu nośnego na sygnał analityczny został przedstawiony w tabeli 8.

Tabela 8. Wpływ przepływu gazu nośnego przez próbkę na rejestrowany sygnał analityczny, dla masy rtęci równej 4,00 ng.

Przepływ gazu nośnego [ml/min] (T=293 K, p=0,1 MPa)	Wysokość piku (A)	Pole powierzchni pod pikiem (A·s)
500	0,097	0,582
600	0,097	0,579
700	0,095	0,570
800	0,093	0,558
900	0,091	0,546

Typowy pik absorpcyjny, rejestrowany w czasie analizy, został przedstawiony na rysunku 8a. Czas od rozpoczęcia absorpcji do maksimum piku wynosił około 5 s i pik wykazywał niewielką asymetrię (współczynnik ogonowania 1,19). Duży wpływ na rejestrowany sygnał analityczny miała temperatura desorpcji. Niższa temperatura powodowała wolniejszą desorpcję i bardziej rozciągnięty sygnał, którego przykład przedstawiono na rysunku 8b. W konsekwencji uzyskiwano niższą czułość, zwłaszcza przy rejestrowaniu sygnału w postaci wysokości pików. W tabeli 9 przedstawiono wartość sygnału analitycznego dla 1,25 ng rtęci w zależności od temperatury desorpcji. Najlepszą czułość osiągnięto przy zastosowaniu szybkiego ogrzania amalgamatu do temperatury ok. 800°C.

Tabela 9. Wpływ temperatury desorpcji na rejestrowany sygnał analityczny dla masy rtęci równej 1,25 ng

Temperatura desorpcji (°C)	Wysokość pików (A)	Pole powierzchni pod pikiem (A·s)
500	0,023	0,166
600	0,025	0,180
700	0,027	0,182
800	0,030	0,179
900	0,030	0,181

Zastosowanie jeszcze wyższej temperatury desorpcji niż 800°C nie zwiększało czułości i nie jest także wskazane ze względu na możliwość przegrzania złota i jego odkładania się na ściankach rurki kwarcowej. W konsekwencji może to spowodować efekt znacznego rozciągnięcia piku absorpcyjnego i jego „ogonowanie” bez powrotu do linii zerowej.

Stwierdzono, że przy wprowadzaniu rtęci do kuwety pomiarowej, maksymalną czułość uzyskiwano się przy natężeniu przepływu gazu nośnego pomiędzy 45-60 ml/min. Wyższe natężenie przepływu powodowało większe rozcieńczanie par rtęci i stopniowy spadek czułości. Na rysunku 8c został przedstawiony pik absorpcji przy niższym od 45 ml/min natężeniu przepływu gazu nośnego, podczas rejestrowania sygnału. W tym przypadku powstający sygnał jest bardzo rozciągnięty, nawet z powstawaniem plateau. Zastosowany sterownik mikroprocesorowy pozwalał także na wprowadzenie gazu nośnego dopiero w momencie całkowitej desorpcji rtęci ze złota. Jednak rozwiązanie to nie powodowało wzrostu czułości, a jedynie zaobserwowano większą asymetrię piku (współczynnik ogonowania 1,62). Tym sposobem zarejestrowany sygnał analityczny został pokazany na rysunku 8d.

Wykonane badania pozwoliły na stwierdzenie, że przy opisanych parametrach, w momencie maksimum piku absorpcyjnego, cała wyizolowana z próbki rtęć, zatężona na złocie i powtórnie termicznie wydzielona, wypełnia przestrzeń rurki pomiarowej.

2.4.2. Interferencje pochodzące od par kwasów i pary wodnej

W czasie badania możliwości adsorpcji rtęci na złocie zaobserwowano szybkie pogarszanie się jego właściwości adsorpcyjnych. Przyczyną tego okazały się pary kwasów i para wodna, wydzielane razem z rtęcią w naczynku reakcyjnym podczas przepuszczania przez próbkę gazu nośnego. Do absorbowania par kwasów w układzie wykorzystano roztwory wodorotlenku sodu, umieszczone w płuczkach do gazów. Ostatecznie zbadano, że wystarczające było użycie dwóch szeregowo połączonych płuczek, zawierających odpowiednio 10% i 5% roztwór wodorotlenku sodu. Roztwory te dobrze absorbowały kwaśne pary dopóki nie nastąpiło ich widoczne zużycie (zazółcenie roztworów). Do usuwania pary wodnej wykorzystywano wyprażony żel krzemionkowy, który umieszczano w szklanej rurce o średnicy 10 mm i długości 30 mm zwężanej z obu końców. Mniejsza średnica rurki powodowała zbyt duży opór dla gazu nośnego. Żel krzemionkowy umieszczano pomiędzy zatyczkami z waty szklanej i wymieniało przed każdym rozpoczęciem pracy z układem. Brak opisanych

zabezpieczeń lub ich niedostateczność powodował szybkie pogorszenie zdolności adsorpcyjnych złota i drastyczny spadek efektywności amalgamowania już po 3 – 4 cyklach pracy układu.

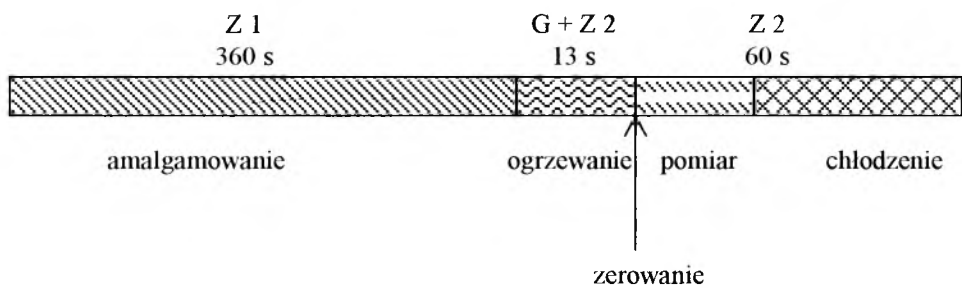
2.4.3. Masa charakterystyczna

Wartość otrzymanego sygnału zależy bezpośrednio od masy rtęci wprowadzonej do analizy, a nie od stężenia. Dlatego można posłużyć się terminem masy charakterystycznej, która jest definiowana jako ilość analitu, dla którego otrzymuje się sygnał o wysokości 0,0044 jednostek absorbancji (wartość równa 1% absorpcji emitowanego promieniowania) lub o powierzchni piku równej 0,0044 A·s (absorbancja · sekunda). Obliczona masa charakterystyczna dla rtęci, wyniosła 0,19 ng przy stosowaniu do obliczeń sygnału w jednostkach absorbancji (wysokość piku) i 0,03 ng dla jednostek absorbancji zintegrowanej (pole powierzchni pod pikiem). Stężenia odpowiadające tym masom przy zastosowaniu objętości próbki 10 ml i 50 ml zostały zamieszczone w tabeli 10. W tabeli 10 zamieszczono również masę i stężenie charakterystyczne w układzie zamkniętym bez amalgamowania, który był dotychczas wykorzystywany w modyfikowanych metodach analitycznych.

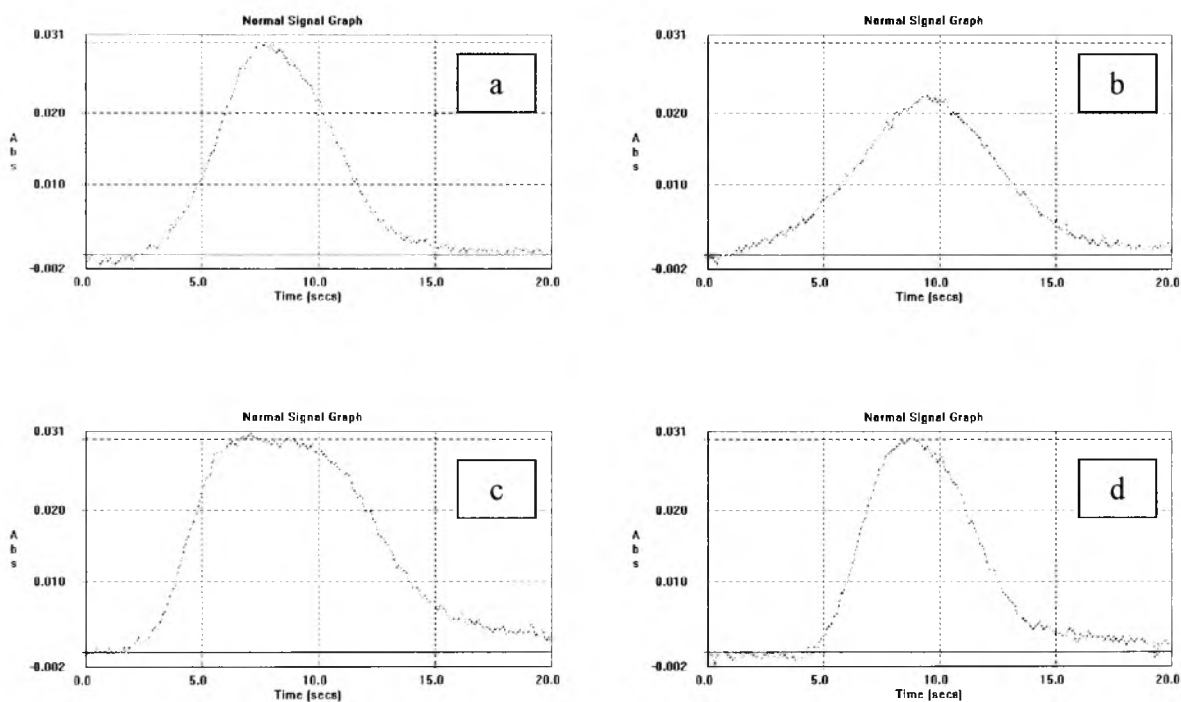
Tabela. 10. Masy charakterystyczne i odpowiadające im stężenia charakterystyczne rtęci. Porównanie układu własnej konstrukcji z amalgamowaniem i zamkniętego układu zimnych par rtęci firmy ATI UNICAM

System	Objętość próbki [ml]	Masa charakterystyczna [ng]		Stężenie charakterystyczne [µg/l]	
		obliczona z wysokości piku	obliczona z pola pow. pod pikiem	obliczone z wysokości piku	obliczone z pola pow. pod pikiem
Układ amalgamujący	10	0,19	0,03	0,019	0,003
	50			0,004	0,0006
Układ zamknięty (ATI UNICAM)	10	4,8	-	0,48	-
	50			0,10	-

Układ amalgamujący o przedstawionych parametrach wprowadzono do modyfikowanych metod analitycznych oznaczania par rtęci w powietrzu i rtęci całkowitej w moczu.



Rysunek 7. Schemat pracy układu amalgamującego



Rysunek 8. Sygnały analityczne dla 1,25 ng Hg (objaśnienia w tekście)

3. Badania nad oznaczaniem rtęci w powietrzu otaczającym

3.1. Wprowadzenie

W piśmiennictwie opisywane są metody oznaczania rtęci w powietrzu, które wykorzystują głównie adsorpcję rtęci na złocie lub srebrze, naniesionych w postaci cienkiej warstwy na szklane perełki lub kwarcowy piasek. Detekcja po termicznej desorpcji rtęci odbywa się z zastosowaniem spektrometrii atomowej fluorescencji z techniką zimnych par (CVAFS). Jakkolwiek, z punktu widzenia czułości i prostoty analizy, jest to prawie idealna metoda, to jednak posiada także swoje wady. Rurka pochłaniająca ze złotem lub srebrem szybko ulega wysyceniu, dlatego można ją stosować tylko w przypadku spodziewanych niskich stężeń rtęci, głównie w tle i w miejscach mało zanieczyszczonych. Może także dochodzić do niewyjaśnionego spadku efektywności sorpcyjnej złota szczególnie przy przepuszczaniu przez nią znacznej masy powietrza z nadłazu [63,64]. Nie jest dotąd całkowicie zbadany wpływ takich składników powietrza jak dwutlenek siarki, siarkowodór czy dwutlenek azotu na właściwości sorpcyjne tego rodzaju pochłaniacza [30].

Zastosowany w pracy sorbent o nazwie hopkalit jest znany głównie jako materiał sorpcyjny, używany do pomiarów stężenia par rtęci na stanowiskach pracy, czy w pomiarach emisji [3]. Możliwość stosowania go w tak trudnych warunkach wskazuje na jego odporność na różnego rodzaju interferencje oraz dużą pojemność sorpcyjną. Ze względu na dostępność tego sorbentu, niską cenę oraz wygodę stosowania w warunkach terenowych podjęto w pracy nowe badania nad zastosowaniem go w pomiarach par rtęci w powietrzu atmosferycznym. Zasadniczym problemem okazała się zbyt wysoka granica oznaczalności metody - z zastosowaniem hopkalitu - według metody opisanej w istniejącej Polskiej Normie. Obecne stężenia rtęci w powietrzu są tak niskie, że metoda ta praktycznie nie nadaje się do kontrolowania stężeń rtęci w otaczającym powietrzu. Wprowadzenie do tej metody etapu amalgamowania umożliwiło znaczne obniżenie granicy detekcji. Na rysunku 9 zostało przedstawione porównanie znanych metod oznaczania rtęci w powietrzu z metodą opracowaną w niniejszej pracy.

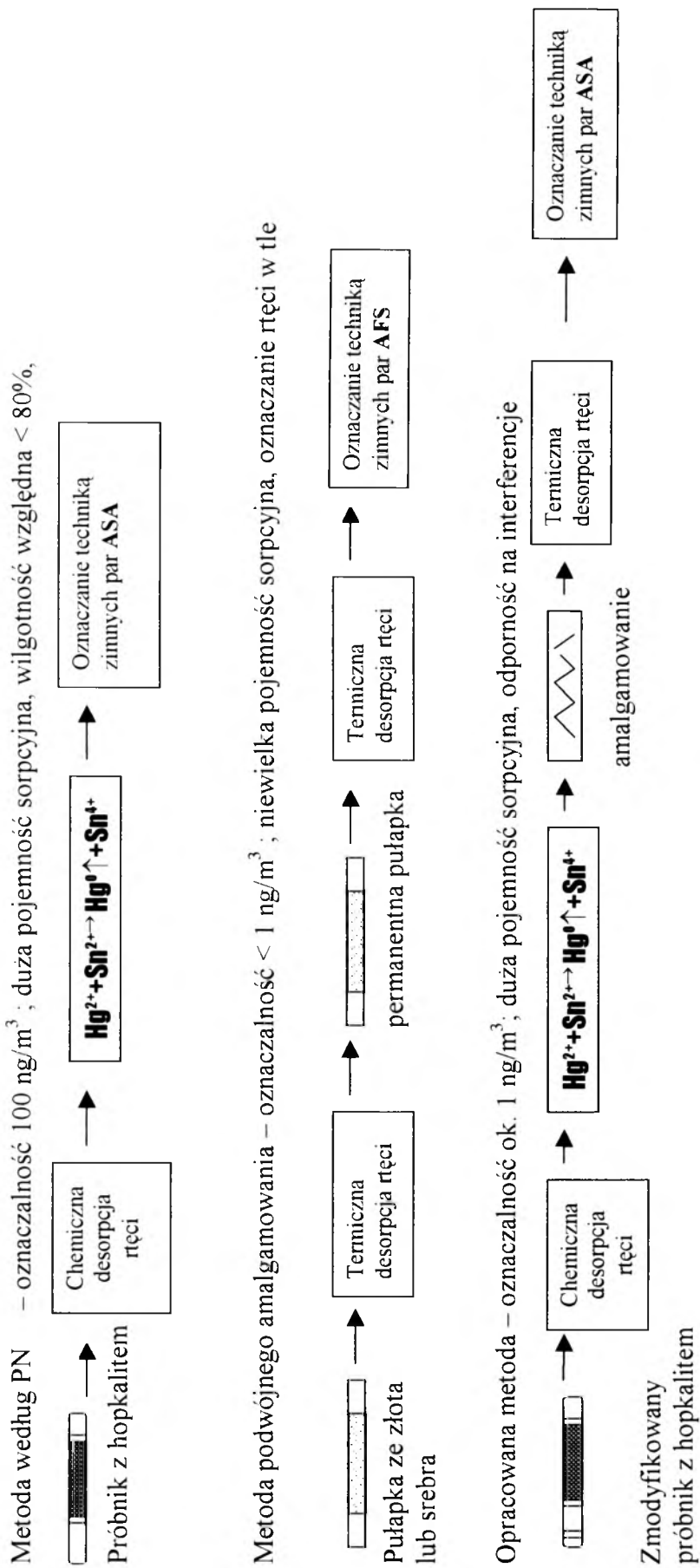
Hopkalit jest granulowaną mieszaniną tlenków manganu i miedzi, katalizującą już w temperaturze pokojowej utlenianie tlenku węgla do dwutlenku węgla. Jest wykorzystywany m.in. do wypełniania pochłaniaczy masek gazowych,

przeznaczonych do ochrony przed trującym działaniem CO. Katalizatory na bazie hopkalitu znalazły także wiele innych zastosowań jak np. w rozpadzie ozonu i tlenku etylenu. Handlowe nazwy katalizatorów typu hopkalitu to również Hydrar® i Cerulite®. Hopkalit może zawierać również pewne ilości tlenku kobaltu i srebra, jednak w stosowanej partii tego materiału nie stwierdzono znaczącej ich zawartości. W celu samodzielnego otrzymania hopkalitu tlenek miedzi (II) można wytrącić wodorotlenkiem sodu z roztworu siarczanu miedzi. Tlenek manganu (IV) natomiast można otrzymać przez wytrącenie go wodorotlenkiem sodu z roztworu siarczanu manganu (II) w obecności perhydrolu. Po zmieszaniu obu osadów, przemyciu i wysuszeniu w temperaturze 200°C można uzyskać hopkalit [65]. Istotnym problemem okazuje się zawartość rtęci w samym hopkalicie, która może wahać się znacznie. W celu zredukowania sygnału tła, zastosowano w pracy hopkalit o gatunku S i uziarnieniu od 0,5 do 1 mm, wyprodukowany częściowo w warunkach laboratoryjnych przez Zakłady Chemiczne Soda Mątwy S.A. z Inowrocławia, na specjalne zamówienie. Istnieje również możliwość zakupu handlowych rurek sorpcyjnych z pochłaniaczem na bazie hopkalitu, które charakteryzują się obecnie odpowiednimi parametrami do analizy rtęci w powietrzu atmosferycznym.

3.2. Oznaczanie rtęci w powietrzu atmosferycznym z zastosowaniem hopkalitu jako sorbentu

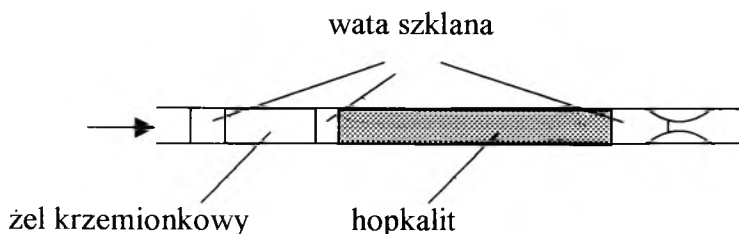
3.2.1. Budowa rurki sorpcyjnej z hopkalitem

W celu oznaczania par rtęci w powietrzu atmosferycznym znaną objętość powietrza przepuszczano przez warstwę 200 mg hopkalitu umieszczonego w rurce szklanej o długości 100 mm i średnicy wewnętrznej 5 mm z przewężeniem na jednym końcu. Pierwotnie rurka sorpcyjna zawierała 500 mg sorbentu, jednak z uwagi na zbyt duże tło pochodzące z pochłaniacza, zawartość tę zmniejszono dwuipółkrotnie. Hopkalit zabezpieczano przed wysypywaniem zatyczkami z waty szklanej. W czasie przechowywania z obydwu stron rurka była zamykana taśmą teflonową. Dodatkowo dla przeciwdziałania zawilgoceniu pochłaniacza w czasie pobierania próbki, przed warstwę hopkalitu wprowadzono około 1 cm warstwę żelu krzemionkowego, wyprażonego wcześniej przez około 3 godziny w temperaturze 200°C. Wata szklana i żel krzemionkowy umieszczone przed warstwą hopkalitu pełniły też rolę filtra



Rysunek 9. Porównanie znanych metod oznaczania par rtęci w powietrzu z metodą opracowaną

dla zatrzymania rtęci związanej z pyłem zawieszonym. Schemat rurki sorpcyjnej przedstawiony został na rysunku 10. Szybkość natężenia przepływu powietrza nie była większa niż 1 dm³/min. Do czasu analizy rurki pochłaniające z pobraną na sorbent rtęcią były przechowywane w lodówce.



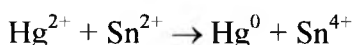
Rysunek 10. Budowa rurki sorpcyjnej z hopkalitem

3.2.2. Warunki desorpcji i oznaczania rtęci

Bezpośrednio przed oznaczaniem rtęci z hopkalitu przeprowadzano do roztworu za pomocą kwasu azotowego (V) o stężeniu 6 mol/l wymywając ją trzykrotnie porcją 5 ml kwasu. W wyniku wymywania otrzymuje się roztwór zawierający jony rtęci Hg²⁺. Przebieg reakcji jest następujący:

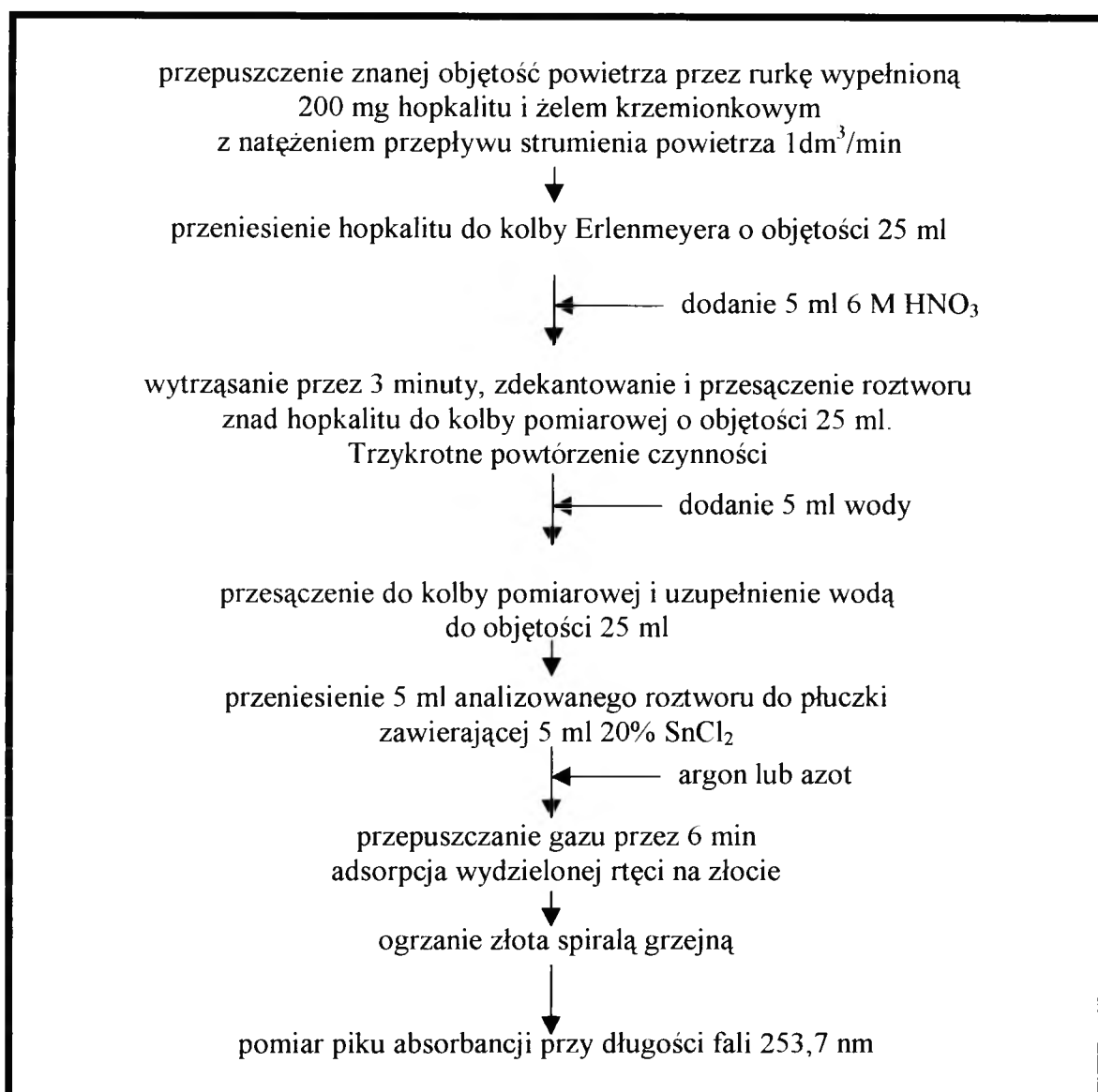


Trzykrotne wymywanie rtęci 5 ml kwasu azotowego okazało się wystarczające dla całkowitego przeprowadzenia rtęci zaadsorbowanej na hopkalicie do roztworu. Ponieważ przy tej metodzie desorpcji nie zostaje rozpuszczony zawarty w hopkalicie dwutlenek manganu, za każdym razem roztwór należało przesączyć i uzupełnić ostatecznie wodą do 25 ml w kolbie pomiarowej. Następnie maksymalnie 5 ml otrzymanego roztworu poddawano analizie techniką zimnych par ASA z zastosowaniem techniki amalgamowania. Redukcję rtęci przeprowadzano za pomocą 5 ml 20% chlorku cyny (II) [SnCl₂] w płuczce ze spiekem, umieszczonej w układzie do amalgamowania. W wyniku tej reakcji następuje redukcja jonów rtęci (II) do rtęci elementarnej Hg⁰. Przebieg reakcji jest następujący:



Przepuszczając przez płuczkę azot lub argon, zredukowaną rtęć wydzielano z próbki i adsorbowano na złocie, a następnie po termicznej desorpcji wprowadzano do kuwety

pomiarowej, zainstalowanej na drodze promieniowania lampy Hg w aparacie do ASA. Sygnał pomiarowy otrzymywany był w postaci piku absorpcyjnego, a wartość absorpcji mierzona była w jednostkach absorbancji jako wysokość piku lub w jednostkach absorbancji zintegrowanej jako pole powierzchni pod pikiem. Masę Hg w analizowanej próbce obliczano przez porównanie otrzymanej wartości absorpcji z krzywą kalibracyjną. Kalibrację przeprowadzano z użyciem wodnych roztworów wzorcowych wyznaczając współczynniki równania regresji w zależności absorbancji od masy rtęci wprowadzonej do płuczki w zakresie od 0,25 – 5,00 ng rtęci. Dla każdej serii pomiarowej analizowano co najmniej 3 próbki ślepe terenowe. Oznaczenie Hg przeprowadzano w temperaturze pokojowej. Poszczególne etapy przygotowania próbki według opracowanej metody przedstawione są szczegółowo na rysunku 11.



Rysunek 11. Schemat oznaczania stężenia par rtęci w powietrzu z wykorzystaniem techniki amalgamowania i metody zimnych par ASA

W analizie zastosowano następującą aparaturę i sprzęt laboratoryjny

- aspirator Easy Gas firmy Tecora do pobierania próbek powietrza
- spektrometr absorpcji atomowej Unicam 939
- lampa z katodą wnątkową do Hg Unicam
- układ amalgamujący własnej konstrukcji opisany w rozdziale 2 części IV pracy
- pipety automatyczne z wymiennymi końcówkami
- lejki szklane z długą nóżką
- saszki bibułowe (małe)
- kolbki Erlenmeyera o objętości 25 ml
- kolby pomiarowe o objętości 25 i 100 ml
- wytrząsarka laboratoryjna
- waga laboratoryjna ważąca z dokładnością do 0.001 g.

Wszystkie naczynia szklane były myte gorącą wodą z dodatkiem detergentu, kilkakrotnie płukane wodą wodociągową i dejonizowaną, następnie moczone przez 24 godz. w roztworze HNO₃ o stężeniu 1 mol/l podgrzewanym na płycie grzejnej o temperaturze 100°C, ponownie płukane kilkakrotnie wodą dejonizowaną i suszone w suszarce laboratoryjnej. Saszki bibułowe umieszczone na lejkach, tuż przed samą desorpcją rtęci z pochłaniacza, były przemywane dwukrotnie 5 ml kwasu azotowego o stężeniu 6 mol/l, a następnie 5-krotnie wodą dejonizowaną. Wszystkie wymienione czynności miały na celu maksymalnie zmniejszyć ryzyko zanieczyszczenia próbek rtęcią w czasie ich przygotowywania.

3.2.3. Obliczanie wyników analizy

Po wykonaniu oznaczenia przeliczano otrzymane wartości absorbancji na masę rtęci, masę rtęci w próbce, masę rtęci pobraną na hopkalit i następnie na stężenie par rtęci w powietrzu według następujących wzorów:

$$\text{masa Hg} = \frac{\text{absorbancja} - a}{b} \text{ [ng]}$$

w którym a i b są współczynnikami równania regresji liniowej, wyznaczanymi w czasie kalibracji

Masę rtęci w próbce obliczano według wzoru:

$$\text{masa Hg w próbce} = \text{masa Hg} \cdot \frac{25}{v}$$

gdzie v jest objętością próbki użytą do oznaczania [ml]

Masę rtęci zaadsorbowaną na hopkalicie obliczano według wzoru:

$$\text{masa Hg pobrana na hopkalit} = \text{masa Hg w próbce badanej} - \text{masa Hg w próbce ślepej terenowej}$$

Stężenie par rtęci w powietrzu w ng/m^3 obliczano wg wzoru

$$c = \frac{\text{masa Hg pobrana na hopkalit}}{V}$$

gdzie:

c = stężenie Hg w powietrzu [ng/m^3]

V = objętość przepuszczonego przez rurkę powietrza [m^3] przeliczona na warunki standardowe tj. 760 mmHg i 20°C wg wzoru:

$$V = V_g \left(\frac{p}{760} \right) \cdot \left(\frac{293}{273 + t} \right)$$

w którym

p – średnie ciśnienie atmosferyczne w trakcie pobierania próbki [mmHg]

t – średnia temperatura powietrza w trakcie pobierania próbki [°C]

3.3. Określenie wydajności sorpcyjnej hopkalitu

Dla zmodyfikowanej rurki sorpcyjnej niezbędne było przeprowadzenie badań nad wyznaczeniem wydajności sorpcyjnej hopkalitu. W tym celu połączono szeregowo dwie płuczki o objętości 250 ml i w jednej z nich umieszczono małą kroplę rtęci dla wzbogacenia powietrza w pary rtęci elementarnej. Powietrze atmosferyczne przechodzące przez płuczki aspirowano przez dwie rurki sorpcyjne umieszczone jedna po drugiej, z natężeniem przepływu strumienia powietrza 1 dm^3/min . Schemat aparatury

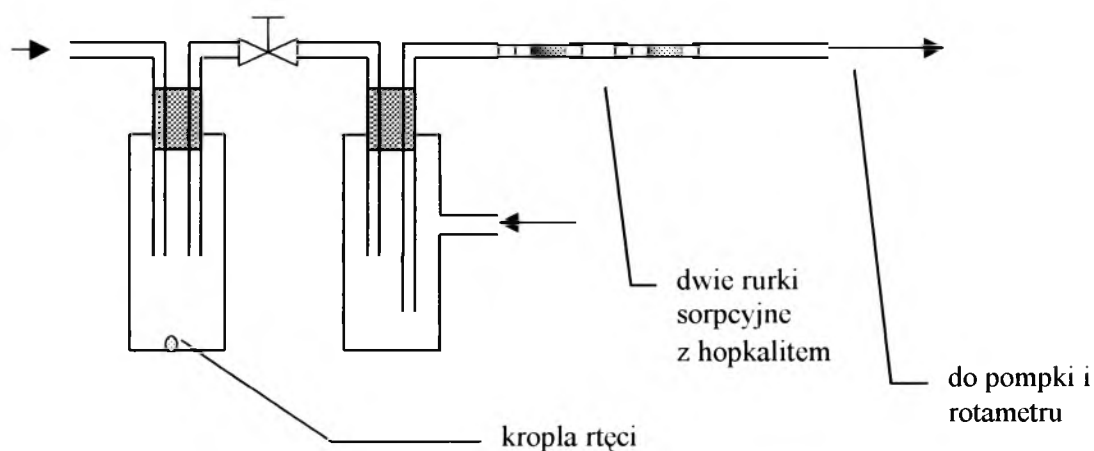
przedstawiony został na rysunku 12. Dodatkowy wlot powietrza w drugiej płuczce umożliwił rozcieńczanie strumienia powietrza pochodzącego z płuczki zawierającej rtęć. Powodowało to możliwość znacznego obniżenia stężenia par rtęci w powietrzu dochodzącym do pochłaniacza. Dzięki kranikowi można było dodatkowo zwiększać lub zmniejszać strumień powietrza pochodzący z płuczki z rtęcią. Rtęć zaadsorbowaną na hopkalicie oznaczano metodą zimnych par ASA. Zakładano całkowitą adsorpcję rtęci na dwóch rurkach sorpcyjnych. Z tego względu wydajność adsorpcji obliczano według wzoru:

$$\% \text{wydajność} = \frac{m_I}{m_I + m_{II}} \cdot 100\%$$

w którym

m_I – masa rtęci zaadsorbowana na pierwszej rurce sorpcyjnej

m_{II} – masa rtęci zaadsorbowana na drugiej rurce sorpcyjnej



Rysunek 12. Schemat układu do badań wydajności adsorpcji hopkalitu

Wyniki badań zostały zestawione w tabeli 11. Z analizy wykonanych oznaczeń wynika, że przy średnich stężeniach par rtęci w powietrzu kilkudziesięciokrotnie większych od występujących w otaczającym powietrzu „przebiecie” pierwszej warstwy hopkalitu nie następowało w sposób znaczący i wydajność adsorpcji wynosiła powyżej 90%. Stężenia tysiące razy wyższe także nie powodowały znacznego „przebiecia” i wydajność adsorpcji w tym przypadku była bliska 90%. Można również zauważyć, że w miarę zmniejszania się stężenia rtęci w powietrzu wydajność ta rosła.

Nie stwierdzono także, aby znaczna wilgotność powietrza powodowała zmniejszenie zdolności sorpcyjnej hopkalitu przy zastosowaniu próbniaka w jego zmodyfikowanym kształcie. Wcześniejsze badania wykazały, że pojemność adsorpcyjna 200 mg hopkalitu wynosi co najmniej około $6 \cdot 10^4$ ng rtęci.

Tabela 11. Wydajność adsorpcji par rtęci na hopkalicie z zastosowaniem zmodyfikowanej rurki sorpcyjnej

Czas pobierania próbki [min]	Masa Hg pobrana na hopkalit [ng]		Wydajność adsorpcji [%]	Średnie stężenie par Hg [ng/m ³]	Wilgotność względna [%]
	I rurka	II rurka			
1250	24,1	p.w.	> 97	19	53 – 100 (średnia 86)
980	28,9	p.w.	> 98	30	45 – 100 (średnia 88)
780	36,2	1,6	96	48	49 – 100 (średnia 85)
1120	58,1	1,5	97	53	39 – 100 (średnia 78)
360	54,8	4,4	93	164	15 – 33 (średnia 25)
270	91,1	8,8	91	370	31 – 88 (średnia 40)
950	10498	1263	89	12380	38 – 100 (średnia 85)
1400	15630	1642	90	12337	41 – 100 (średnia 83)
1440	28409	4500	87	22853	54 – 100 (średnia 89)

p.w. – poniżej wykrywalności

Ponadto, w celu sprawdzenia możliwości ewentualnego „przebicia” pochłaniacza w czasie pobierania rzeczywistych próbek, przepuszczano przez około 24 godziny strumień powietrza atmosferycznego przez rurki sorpcyjne, w których umieszczono dwie warstwy hopkalitu. Wyniki oznaczania rtęci w poszczególnych warstwach hopkalitu zostały zebrane w tabeli 12. W żadnym przypadku nie stwierdzono, aby na drugiej warstwie hopkalitu, masa zaadsorbowanej rtęci była wyższa od granicy wykrywalności. Wszystkie uzyskane wyniki przekonały do rezygnacji ze stosowania

podwójnej warstwy hopkalitu w trakcie pobierania rzeczywistych próbek do oznaczania par rtęci w powietrzu atmosferycznym.

Tabela 12. Wyniki oznaczania rtęci w powietrzu przy zastosowaniu podwójnej warstwy pochłaniacza

Lp.	Masa Hg pobrana na hopkalit [ng]		Stężenie par rtęci [ng/m ³]	Wilgotność względna [%]
	I warstwa	II warstwa		
1	2,4	p.w.	2,2	37 – 100 (średnia 75)
2	2,1	p.w.	1,8	27 – 98 (średnia 69)
3	2,6	p.w.	2,3	39 – 100 (średnia 70)
4	2,2	p.w.	1,7	50 – 100 (średnia 90)

p.w. – poniżej wykrywalności

3.4. Walidacja metody oznaczania par rtęci w powietrzu

3.4.1. Wyznaczenie liniowości metody

Liniowość to przedział zawartości analitu, dla którego sygnał wyjściowy urządzenia pomiarowego jest proporcjonalny do tej zawartości. Najczęstszym sposobem wyznaczenia zakresu liniowego jest sposób oparty na wykorzystaniu krzywej kalibracyjnej urządzenia pomiarowego. W celu sporządzenia krzywej kalibracyjnej wykorzystano wzorcowy roboczy roztwór rtęci o stężeniu 0,050 µg/ml. Do płuczki w układzie do amalgamowania, zawierającej roztwór próbki, z której wydzielono rtęć, wprowadzano znaną objętość wzorca zawierającego odpowiednią masę rtęci. Otrzymane wyniki dla wysokości piku absorpcyjnego oraz powierzchni pola pod pikiem przedstawiono w tabeli 13.

Tabela 13. Absorbancja i absorbancja zintegrowana dla próbek roztworu wzorcowego o stężeniu rtęci 0,050 µg/ml

Lp. wzorca	Objętość roztworu wzorca [µl]	Masa rtęci [ng]	Absorbancja [A]			Absorbancja zintegrowana [A·s]		
			Seria wzorców 1	Seria wzorców 2	Średnia	Seria wzorców 1	Seria wzorców 2	Średnia
1	5	0,25	0,0057	0,0059	0,0058	0,0314	0,0324	0,0319
2	10	0,50	0,0104	0,0106	0,0105	0,0575	0,0628	0,0602
3	20	1,00	0,0221	0,0235	0,0228	0,1342	0,1383	0,1363
4	30	1,50	0,0337	0,0336	0,0337	0,2031	0,2073	0,2052
5	40	2,00	0,0442	0,0448	0,0445	0,2682	0,277	0,2726
6	50	2,50	0,0547	0,0554	0,0551	0,3374	0,3379	0,3377
7	60	3,00	0,0657	0,0670	0,0664	0,4089	0,4124	0,4107
8	70	3,50	0,0775	0,0792	0,0784	0,4748	0,4886	0,4817
9	80	4,00	0,0889	0,0933	0,0911	0,5473	0,5772	0,5470
10	90	4,50	0,0997	0,0994	0,0996	0,615	0,6131	0,6141
11	100	5,00	0,1096	0,1102	0,1099	0,6725	0,6848	0,6787

Krzywą wzorcową otrzymaną dla serii wzorców przedstawiono w postaci funkcji równania regresji:

$$y = a + bx$$

w którym

y – sygnał analityczny (wysokość pików lub pole powierzchni pod pikami)

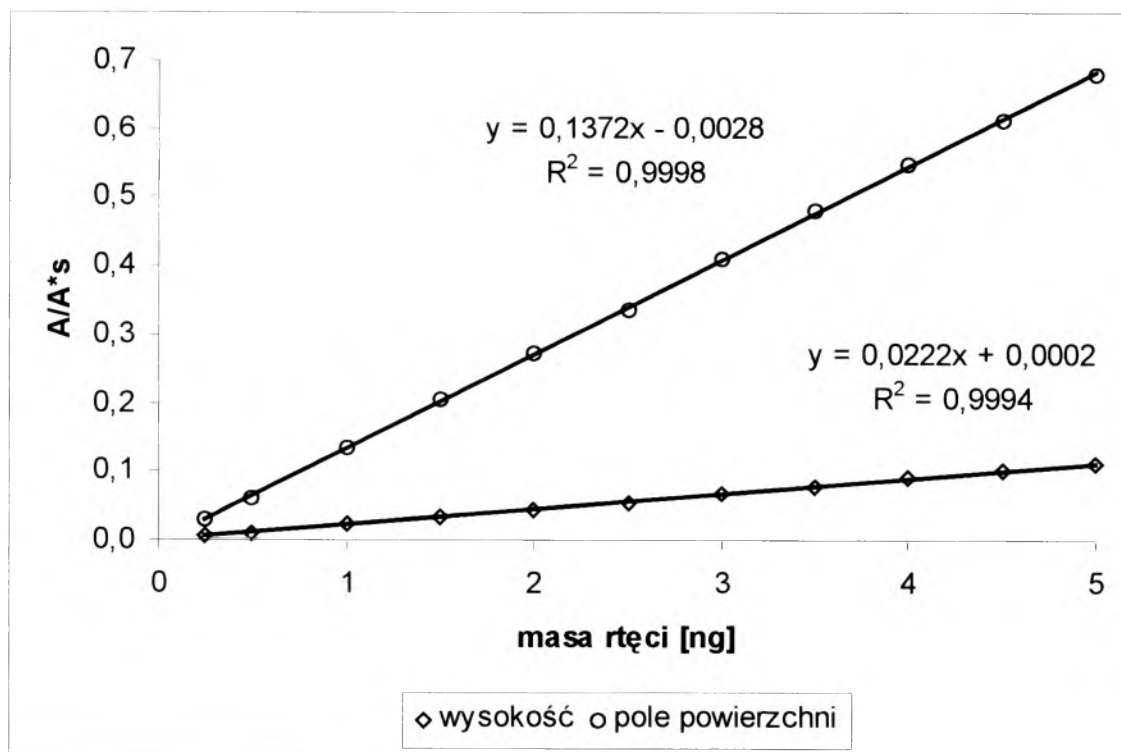
x – masa rtęci (w nanogramach)

b – współczynnik nachylenia (czułość)

a – współczynnik przesunięcia

Współczynniki b i a obliczono metodą najmniejszych kwadratów. Stwierdzono liniową zależność odczytów absorbancji i absorbancji zintegrowanej (wyrażone wysokością pików i polem powierzchni pod pikami) od masy rtęci w zakresie od 0,25 – 5,00 ng. Otrzymane współczynniki korelacji r wynosiły powyżej 0,998. Nie rozszerzano tego

zakresu ze względu na to, aby nie obciążać większą ilością rtęci układu amalgamującego. Krzywe wzorcowe, równania regresji liniowej oraz kwadraty współczynników korelacji przedstawione zostały na rysunku 13.



Rysunek 13. Wykresy krzywych kalibracyjnych oznaczania rtęci metodą zimnych par ASA z wykorzystaniem układu amalgamującego

Obliczono także wartości odchyłeń standardowych współczynnika kierunkowego - s_b i wyrazu wolnego - s_a oraz tzw. szcążkowe odchylenie standardowe współczynnika regresji - s_{xy} .

Dla wysokości piku:

$$s_b = 0,000184; s_a = 0,000545; s_{xy} = 0,000944$$

Dla pola powierzchni pod pikiem:

$$s_b = 0,000622; s_a = 0,001841; s_{xy} = 0,003192$$

Celem stwierdzenia czy współczynnik przesunięcia a nie różni się istotnie od zera, obliczono dla niego przedział ufności na podstawie równania:

$$\Delta a = t_{\alpha} \cdot s_a$$

w którym:

$t_{\alpha,f}$ – wartość statystyki t-Studenta dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$ i liczby stopni swobody $f = m - 2$ (m – liczba wzorców w skali wzorców)

s_a – odchylenie standardowe współczynnika przesunięcia a

Odpowiednio dla sygnału analitycznego w postaci wysokości piku oraz pola powierzchni pod pikiem przedział ufności współczynnika a ma wartość:

$$\mu_{95} = a \pm \Delta a_{(wysokość)} = 0,0002 \pm 2,26 \cdot 0,000545 = 0,0002 \pm 0,0012$$

$$\mu_{95} = a \pm \Delta a_{(pole)} = -0,0028 \pm 2,26 \cdot 0,001841 = -0,0028 \pm 0,0042$$

Przedziały ufności współczynnika przesunięcia a obejmują również wartość zero tzn., że z przyjętym prawdopodobieństwem, nie różnią się one w sposób statystycznie istotny od wartości zero. Istotnie różniący się od zera współczynnik przysunięcia a mógłby świadczyć o pojawieniu się błędu systematycznego lub braku specyficzności metody, związanych z jakością pochłaniacza dla próbki, użytymi odczynnikami czy z właściwościami przyrządu pomiarowego [66].

3.4.2. Wyznaczenie granicy wykrywalności i granicy oznaczania ilościowego

Granica wykrywalności jest to najmniejsze stężenie, jakie można wykryć daną metodą z przyjętym prawdopodobieństwem. W opracowanej metodzie analizy oznaczało to minimalne stężenie analitu w próbce, które jest mierzalne i rozróżnialne od sygnału tła, pochodzącego z zastosowanego rodzaju pochłaniacza. Do jej wyznaczenia posłużono się wynikami analizy ślepych próbek terenowych. Obliczono ją zgodnie z równaniem:

$$x_{gw} = \frac{3 \cdot s_{sp}}{b}$$

w którym

s_{sp} – odchylenie standardowe ślepej próbki terenowej obliczone dla sygnału pomiarowego (wysokość piku lub powierzchnia pola pod pikiem); b – czułość metody

Dane do obliczenia granicy wykrywalności przedstawiono w tabeli 14. Absorbancje i absorbancje zintegrowane ślepych próbek terenowych podano jako y .

Tabela 14. Dane do wyznaczenia granicy wykrywalności rtęci

Lp.	y_i		$(y_i - \bar{y}_{sp})$		$(y_i - \bar{y}_{sp})^2$	
	wysokość piku	pole pow. pod pikiem	wysokość piku	pole pow. pod pikiem	wysokość piku	pole pow. pod pikiem
1	0,0067	0,0398	0,0002	-0,0032	0,00000003	0,00000925
2	0,0079	0,0520	0,0014	0,0090	0,00000185	0,00008388
3	0,0079	0,0511	0,0014	0,0081	0,00000185	0,00006820
4	0,0066	0,0501	0,0001	0,0071	0,00000000	0,00005268
5	0,0056	0,0359	-0,0009	-0,0071	0,00000089	0,00004819
6	0,0053	0,0325	-0,0012	-0,0105	0,00000154	0,00010695
7	0,0068	0,0437	0,0003	0,0007	0,00000007	0,00000074
8	0,0047	0,0321	-0,0018	-0,0109	0,00000339	0,00011538
9	0,0044	0,0298	-0,0021	-0,0132	0,00000459	0,00017009
10	0,0051	0,0333	-0,0014	-0,0097	0,00000208	0,00009104
11	0,0082	0,0514	0,0017	0,0084	0,00000275	0,00007325
12	0,0060	0,0383	-0,0005	-0,0047	0,00000029	0,00002063
13	0,0060	0,0417	-0,0005	-0,0013	0,00000029	0,00000130
14	0,0089	0,0527	0,0024	0,0099	0,00000556	0,00009719
15	0,0057	0,0443	-0,0008	0,0013	0,00000071	0,00000213
16	0,0072	0,0420	0,0007	-0,0010	0,00000043	0,00000071
17	0,0059	0,0439	-0,0006	0,0009	0,00000041	0,00000112
18	0,0070	0,0475	0,0005	0,0045	0,00000021	0,00002170
19	0,0078	0,0534	0,0013	0,0104	0,00000158	0,00011148
20	0,0069	0,0435	0,0004	0,0005	0,00000013	0,00000043
21	0,0061	0,0359	-0,0004	-0,0071	0,00000020	0,00004819
22	0,0066	0,0463	0,0001	0,0033	0,00000000	0,00001196
23	0,0069	0,0454	0,0004	0,0024	0,00000013	0,00000655
24	0,0068	0,0416	0,0003	-0,0014	0,00000007	0,00000154

Wysokość $\sum (y_i - \bar{y}_{sp})^2 = 0,00002904$

Pole $\sum (y_i - \bar{y}_{sp})^2 = 0,00114456$

$$s_{sp} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \bar{y}_{sp})^2}{n - 1}}$$

$$s_{sp(\text{wysokość})} = \sqrt{\frac{0,00002904}{23}} = 0,0011$$

$$s_{sp(\text{pole})} = \sqrt{\frac{0,00114456}{23}} = 0,0070$$

Obliczony wcześniej dla przyjętego zakresu krzywej wzorcowej współczynnik nachylenia b (czułość) wyniósł 0,0222 dla sygnału w postaci wysokości piku oraz 0,1372 dla sygnału w postaci pola powierzchni pod pikiem. Masa rtęci, dla której wyznaczono zależności wyrażona jest w nanogramach. Odpowiednia granica wykrywalności wynosi:

$$\text{Dla wysokości piku: } x = \frac{3 \cdot s_{sp(\text{wysokość})}}{b} = \frac{3 \cdot 0,0011}{0,0222} = 0,15 \text{ ng}$$

$$\text{Dla pola powierzchni pod pikiem: } x = \frac{3 \cdot s_{sp(\text{pole})}}{b} = \frac{3 \cdot 0,0070}{0,1372} = 0,15 \text{ ng}$$

Biorąc pod uwagę objętość próbki wykorzystaną do analizy (5 ml) granica wykrywalności rtęci jest równa 0,75 ng (dla 200 mg pochłaniacza).

Granica oznaczalności to stężenie lub ilość substancji w badanej próbce, które można jeszcze oznaczyć ilościowo z określonym błędem. W pracy za granicę oznaczalności w odniesieniu do analitu przyjęto wartość obliczoną według wzoru:

$$x_{ozn} = \frac{6 \cdot s_{sp}}{b}$$

odpowiednia granica oznaczalności wynosi:

$$\text{Dla wysokości piku: } x_{ozn} = \frac{6 \cdot s_{sp(\text{wysokość})}}{b} = \frac{6 \cdot 0,0011}{0,0222} = 0,30 \text{ ng}$$

$$\text{Dla pola powierzchni pod pikiem: } x_{ozn} = \frac{6 \cdot s_{sp(\text{pole})}}{b} = \frac{6 \cdot 0,0074}{0,1440} = 0,31 \text{ ng}$$

Po uwzględnieniu objętości próbki wykorzystanej do analizy (5 ml) granica oznaczalności rtęci wynosi 1,5 ng. (dla 200 mg pochłaniacza)

Granica oznaczalności rtęci w powietrzu zależy od objętości przepuszczonego przez pochłaniacz powietrza. Uwzględniając 24-godzinne pobieranie próbki z natężeniem przepływu strumienia powietrza 1 dm³/min, objętość powietrza wynosi 1,440 m³. Przy tej objętości granica oznaczalności rtęci w powietrzu wynosi 1,1 ng/m³.

3.4.3. Badanie poprawności metody

Poprawność metody jest to stopień zgodności między wartością średnią otrzymaną z długich serii wyników analiz, a przyjętą wartością odniesienia. Za miarę poprawności wyników badania przyjmuje się zwykle obciążenia, charakteryzujące błąd systematyczny metody. Pomijając błędy systematyczne związane z niesprawnymi przyrządami pomiarowymi lub umiejętnościami wykonawcy, które zostały praktycznie wyeliminowane - sprawdzenie metody w tym obszarze dotyczyło określenia wydajności pochłaniania (odzysku) z zastosowanego pochłaniacza. Sprawdzenie wykonano nanosząc na hopkalit znaną ilość rtęci elementarnej, którą zredukowano uprzednio z roztworu zawierającego Hg^{2+} za pomocą chlorku cyny (II). Doświadczenie przeprowadzono dla trzech różnych stężeń zakresu pomiarowego. Wydajność pochłaniania (odzysku) obliczono jako błąd względny na podstawie równania:

$$B_{wi} = \frac{|\bar{x}_i - x_{iref}|}{x_{iref}} \cdot 100\%,$$

w którym

B_{wi} – błąd względny dla i-tego stężenia zakresu pomiarowego

\bar{x} – średnia doświadczalna z badań pochłaniacza (odzysku) dla i-tego stężenia, obliczona co najmniej z 6 próbek powtórzonych

x_{iref} – wartość odniesienia dla i-tego stężenia

Wyniki sprawdzenia poprawności metody zostały przedstawione w tabeli 15.

Średnią wartość błędu względnego dla trzech stężeń zakresu pomiarowego oblicza się na podstawie równania:

$$\bar{B}_w = \frac{\sum B_{wi}}{3}$$

Wynosi ona 5,6% i 8,4% odpowiednio dla wysokości pików i pola powierzchni pod pikami. Średni odzysk dla badanego zakresu wynosi 100,0% przy pomiarze wysokości pików oraz 101,6% jeśli sygnał odczytywany jest jako pole powierzchni pod pikami, a odpowiednie przedziały ufności odzysku wzorca mieszczą się w granicach od 85 – 120% i 87 - 130% .

Tabela 15. Wyniki badania odzysku rtęci z hopkalitu

Lp.	Wynik oznaczania [ng]					
	<i>obliczony z:</i>					
	<i>wysokości piku</i>	<i>pola pow. pod pikiem</i>	<i>wysokości piku</i>	<i>pola pow. pod pikiem</i>	<i>wysokości piku</i>	<i>pola pow. pod pikiem</i>
1	1,3	1,8	4,6	4,6	9,2	9,3
2	1,8	1,6	5,7	5,7	9,7	9,7
3	1,7	1,7	4,2	4,2	9,3	9,2
4	1,8	1,8	4,4	4,4	9,3	9,4
5	2,2	2,5	5,7	5,7	9,4	8,8
6	1,2	1,4	4,3	4,1	9,9	9,7
7	1,4	1,5	4,6	4,6	9,9	9,5
8	1,3	1,3	4,5	4,5	9,3	9,3
9	1,7	1,8	5,8	5,8	9,6	9,5
10	1,8	1,8	4,4	4,4	9,6	9,4
Liczba próbek	10		10		10	
X_{iref}	1,5		5,0		10,0	
\bar{x}_j	1,6	1,7	4,8	4,8	9,5	9,4
Średni odzysk w serii [%]	108,5	115,0	96,3	95,8	95,3	93,8
Przedział ufności odzysku ($\alpha=0,05$) [%]	93 – 120	100 – 130	85 – 107	87 – 107	93 – 97	92 – 96
B_{wi}	8,5	15,0	3,7	4,2	4,7	6,1

3.4.4. Badanie precyzji metody

Precyzja wyraża stopień zgodności między niezależnymi wynikami analizy otrzymanymi w określonych warunkach laboratoryjnych. Zależy ona tylko od rozkładu błędów przypadkowych i nie odnosi się do wartości odniesienia ani do żadnej innej szczególnej wartości. Za miarę precyzji przyjmuje się odchylenie standardowe s lub co jest bardziej praktyczne, współczynnik zmienności v wyrażony w procentach i wyznaczany na podstawie równań:

$$s = \sqrt{\frac{1}{n_j - 1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

$$v = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100\%$$

w których:

x_i – oznaczoną wartość dla i -tego poziomu stężenia

\bar{x} – średnia i -tego poziomu stężenia

n_j – liczba próbek powtórzonych, co najmniej 6

Precyzję etapu analitycznego wyznaczono dla trzech przyjętych poziomów zakresu pomiarowego, korzystając z wyników otrzymanych z oceny poprawności metody. Wyniki zestawiono w tabeli 16

Tabela 16. Wyniki sprawdzania precyzji metody oznaczania par rtęci w powietrzu

Rodzaj sygnału	wysokość	pole	wysokość	pole	wysokość	pole
Liczba próbek	10		10		10	
\bar{x}_i	1,6	1,7	4,8	4,8	9,5	9,4
s	0,30	0,32	0,65	0,66	0,26	0,27
v [%]	18,5	18,3	13,5	13,8	2,8	2,8

Średnią precyzję dla zakresu, wyrażoną współczynnikiem zmienności, można obliczyć na podstawie równania:

$$v_z = \sqrt{\frac{\sum (n_j - 1)v_i^2}{\sum (n_j - 1)}}$$

w którym:

v_z – średni współczynnik zmienności dla zakresu pomiarowego

v_i – współczynnik zmienności dla danego poziomu stężenia

odpowiednio dla opracowanej metody średni współczynnik zmienności wynosi:

$$\text{dla wysokości pików: } v_z = \sqrt{\frac{9 \cdot 18,5^2 + 9 \cdot 13,5^2 + 9 \cdot 2,8^2}{27}} = 13,3\%$$

$$\text{dla pola powierzchni: } v_z = \sqrt{\frac{9 \cdot 18,3^2 + 9 \cdot 13,8^2 + 9 \cdot 2,8^2}{27}} = 13,3\%$$

Aby określić całkowitą precyzję metody należało również wyznaczyć precyzję etapu pobierania próbki. W tym celu sprawdzono odchylenia wskazań aspiratora stosowanego do pobierania próbek powietrza wyposażonego w gazomierz mieszkowy. Wskazania przyrządu odczytywano po 24-godzinnym aspirowaniu powietrza z natężeniem przepływu strumienia powietrza 1 dm³/min, który był regularnie kontrolowany. Wyniki zostały przedstawione w tabeli 17.

Tabela 17. Wyniki sprawdzania precyzji aspiratora

Lp.	Objętość powietrza [m ³]
1	1,4404
2	1,4344
3	1,4408
4	1,4400
5	1,4196
6	1,4398
7	1,4114
8	1,4618
9	1,4768
10	1,4546
średnia	1,4420
s	0,0191
v	1,32

Całkowita precyzja badania, uwzględniająca precyzję laboratoryjną dla zakresu pomiarowego i technik pobierania próbek powietrza, wyraża się równaniem:

$$v_c = \sqrt{v_z^2 + v_p^2}$$

w którym:

v_c – precyzja całkowita metody

v_z – średnia precyzja dla trzech poziomów stężeń

v_p – precyzja przyrządu do pobierania próbek

w opisywanej metodzie całkowita precyzja jest więc równa:

$$v_c = \sqrt{13,3^2 + 1,32^2} = 13,7\%$$

Precyzja obliczana dla wyników pochodzących z tego samego laboratorium nosi nazwę powtarzalności.

3.4.5. Szacowanie niepewności

Wyniki uzyskane w trakcie walidacji stały się podstawą do oszacowania niepewności pomiarów. Przy obliczaniu niepewności standardowych, gdy dane pochodzą z pomiarów uzyskanych na etapie walidacji, niepewności standardowe przyjęto w postaci współczynnika zmienności metody. Ostatecznie niepewność rozszerzoną U obliczono w postaci iloczynu niepewności standardowej oraz współczynnika pokrycia k równego 2:

$$U = 2 \cdot v_c$$

Stąd niepewność rozszerzona dla opisywanej metody wynosi:

$$U = 2 \cdot 13,7 = 27,4\%$$

W oszacowaniu niepewności uwzględniono więc tylko wartość mającą najbardziej istotny wpływ na wielkość niepewności. Dla współczynnika rozszerzenia $k = 2$ poziom prawdopodobieństwa wynosi 95%.

3.4.6. Badanie stabilności próbek

W analizie par rtęci w powietrzu istnieje zazwyczaj potrzeba odłożenia analizy próbek w czasie. W ramach walidacji zbadano więc trwałość próbek w czasie przechowywania, przechowując „próbki odniesienia”, tzn. rurki sorpcyjne, do których wprowadzono na pochłaniacz znaną ilość rtęci, w lodówce w temperaturze około 4°C. Badanie trwałości prowadzono po 1 dniu od przygotowania próbek, a następnie po 5, 15 i 30 dniach. Otrzymane wyniki, które zostały przedstawione w tabeli 18, oceniono statystycznie za pomocą testu t-Studenta:

Tabela 18. Zestawienie wyników badania stabilności próbek w trakcie przechowywania w temperaturze około +4°C

nr próbki	Wyniki oznaczania [ng]							
	po 1 dniu		po 5 dniach		po 15 dniach		po 30 dniach	
	<i>obliczone z wysokości piku</i>	<i>obliczone z pola pow. pod pikiem</i>	<i>obliczone z wysokości piku</i>	<i>obliczone z pola pow. pod pikiem</i>	<i>obliczone z wysokości piku</i>	<i>obliczone z pola pow. pod pikiem</i>	<i>obliczone z wysokości piku</i>	<i>obliczone z pola pow. pod pikiem</i>
1	9,4	8,8	9,3	9,3	9,2	9,3	10,4	10,7
2	9,9	9,7	9,6	9,5	8,8	8,7	9,6	9,7
3	9,9	9,5	9,6	9,4	9,3	9,2	9,6	9,5
4	9,5	9,6	9,7	9,6	9,5	9,4	9,8	9,7
5	9,8	9,7	9,5	9,5	9,6	9,6	9,9	9,9
6	9,9	9,8	9,8	9,7	9,3	9,2	9,9	9,8
\bar{x}_i [ng]	9,7	9,5	9,6	9,5	9,3	9,2	9,9	9,9
Wariancja s^2	0,0507	0,1337	0,0297	0,0200	0,0777	0,0907	0,0867	0,1777
Wsp. zmienności, v [%]	2,3	3,8	1,8	1,5	3,0	3,3	3,0	4,3

Przy pomocy testu t-Studenta sprawdzono hipotezę o istotności różnic między średnimi (skrajnymi). W tym celu obliczono wartość statystyki t wg równania:

$$t = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{s_1^2 + s_2^2}} \cdot \sqrt{n}$$

w którym

\bar{x}_1, \bar{x}_2 są średnimi (skrajnymi) ocenianych danych, a s_1^2 i s_2^2 odpowiednimi dla nich wariancjami.

Obliczona wartość statystyki t wynosi:

$$t = \frac{|9,7 - 9,9|}{\sqrt{0,0507 + 0,0867}} \cdot \sqrt{6} = 1,32 \quad \text{dla wysokości piku}$$

$$t = \frac{|9,5 - 9,9|}{\sqrt{0,1337 + 0,1777}} \cdot \sqrt{6} = 1,76 \quad \text{dla pola powierzchni pod pikiem}$$

Obliczoną wartość statystyki t porównano z wartością krytyczną dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$ i liczby stopni swobody $f = n_1 + n_2 - 2$ czyli $f = 10$

Obliczone t jest mniejsze od t krytycznego tj. $t = 2,228$. Zatem na podstawie wykonanych badań można stwierdzić stabilność przechowywanych próbek w czasie 30 dni w temperaturze około $+4^\circ\text{C}$.

4. Badania nad metodą oznaczania rtęci całkowitej w moczu

4.1. Wprowadzenie

Próbki płynów fizjologicznych często stanowią bardzo dobry materiał zarówno do oceny narażenia na szkodliwe czynniki środowiska, jak i jakości samego środowiska, w którym toczy się życie [67]. Rtęć jest pierwiastkiem wszechobecnym więc wszystkie żywe organizmy stale absorbują pewne jej ilości i eliminują drogą odpowiednich przemian metabolicznych. Wydalanie rtęci z moczem jest w tym przypadku dobrym wskaźnikiem narażenia na rtęć elementarną wprowadzaną do ustroju drogą inhalacyjną oraz na nieorganiczne sole rtęci wchłaniane drogą pokarmową [68].

Do analizy rtęci w moczu można stosować wiele metod analitycznych, które charakteryzują się różnym sposobem przygotowania próbki, jak i czułością wykorzystanych technik instrumentalnych. Bardzo szeroko stosowana kiedyś metoda spektrofotometryczna z zastosowaniem ditizonu, ze względu na niewystarczającą czułość, obecnie nie spełnia wymagań związanych z oceną wydalania rtęci w przypadku narażenia środowiskowego. Techniki, które charakteryzują się bardzo wysoką czułością, jak ICP-MS czy przede wszystkim spektrometria fluorescencji atomowej wymagają specjalnych warunków do przeprowadzenia analizy związanych głównie z potrzebą wysoko wyspecjalizowanego personelu i zapewnienia najwyższego stopnia czystości środowiska laboratorium [69]. Ciągłe najbardziej uniwersalną metodą jest absorpcyjna spektrometria atomowa z techniką zimnych par, która pozwala na oznaczenia rtęci w moczu z odpowiednią czułością oraz nie wymaga zbytnio wysublimowanych warunków prowadzenia analizy. Spotykane w piśmiennictwie oznaczenia rtęci tą metodą różnią się sposobem mineralizacji próbki, wykorzystanymi rozwiązaniami technicznymi (wydzielanie w reaktorze, technika przepływowa, technika przepływowego wstrzykiwania) i w końcu granicą wykrywalności, który wynosi zwykle od 0,3 do 0,4 $\mu\text{g/l}$ [54]. Można stwierdzić, że jest to już niska granica wykrywalności dla oznaczania rtęci w moczu, jednak nie do końca wystarczająca, zwłaszcza dla znacznie rozcieńczonych próbek od osób narażonych środowiskowo, gdzie mamy do czynienia ze stężeniami nawet dziesięciokrotnie niższymi

Przeprowadzone modyfikacje miały na celu obniżenie granicy wykrywalności i oznaczalności metody, wykorzystującej mineralizację z nadmanganianem potasu, do poziomu kilkudziesięciu nanogramów w litrze moczu. Tak niska wykrywalność przy

stosowaniu tej metody mineralizacji i oznaczania nie była dotychczas opisana i praktycznie zawiera cały dolny zakres stężeń występujących w ludzkim moczu. Umożliwia także w następstwie jej stosowania głębszą interpretację badań epidemiologicznych i ekotoksykologicznych związanych ze środowiskowym narażeniem na ten metal.

4.2. Dobór warunków mineralizacji i oznaczania

W celu oznaczania rtęci całkowitej w moczu, przeznaczone na mocz pojemniki polietylenowe przepłukiwano wcześniej rozcieńczonym kwasem azotowym, następnie kilkakrotnie wodą dejonizowaną i suszono w temperaturze pokojowej. Do czasu analizy mocz przechowywano w głębokim zamrożeniu (-20°C). Po doprowadzeniu moczu do temperatury pokojowej, pobierano z próbki maksymalnie 5 ml dobrze wymieszanego moczu i wprowadzano do kolby Kjeldahla ze szlifem. Szlif umożliwiał bezpośrednie połączenie kłby z nasadką umieszczoną w układzie do amalgamowania. Następnie dodawano 1 ml stężonego kwasu siarkowego (VI), po czym 200 mg nadmanganianu potasu. Stwierdzono, że w zdecydowanej większości próbek, taka ilość nadmanganianu była wystarczająca do całkowitej mineralizacji 5 ml moczu i pozostania nadmiaru tego utleniacza. Nadmiar ten dawał pewność co do pełnego utlenienia wszystkich form rtęci obecnych w próbce oraz umożliwiał uniknięcie strat analitu, związanych z prowadzeniem mineralizacji w podwyższonej temperaturze. Jednak w przypadku bardziej zagęszczonych próbek moczu (wysokie stężenie kreatyniny w moczu tj. $> 1,5 \text{ g/l}$), ta ilość nadmanganianu okazywała się zwykle niewystarczająca. Aby nie było konieczności dodawania kolejnej porcji nadmanganianu, w tych przypadkach ilość wprowadzanego do analizy moczu zmniejszano o połowę i rozcieńczano do 5 ml wodą dejonizowaną. W przypadku spodziewanych wyższych stężeń rtęci w moczu od $1,1 \mu\text{g/l}$, objętość próbki odpowiednio zmniejszano, aby zmieścić się w zakresie pomiarowym krzywej wzorcowej. Kolbę umieszczano na wrzącej łaźni wodnej i prowadzono mineralizację przez około 30 minut. Po zakończeniu mineralizacji do ochłodzonej kolby dodawano 30 ml wody dejonizowanej, a następnie, w celu usunięcia nadmiaru nadmanganianu potasu, 1,5 ml 20% chlorowodoru hydroksyloaminy. Próbkę ślepą przygotowano w ten sam sposób jak próbkę badaną z tym, że zamiast 5 ml moczu wprowadzano 5 ml wody dejonizowanej.

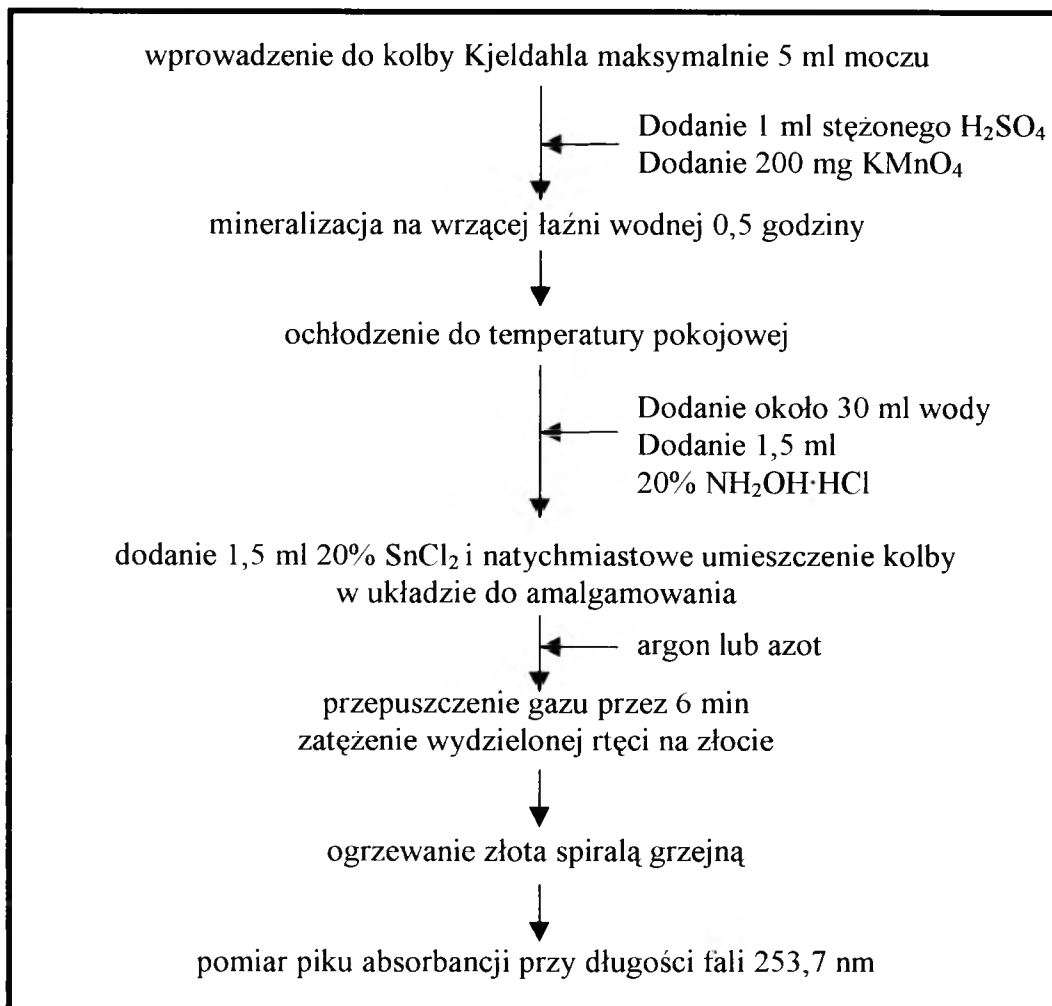
Tak przygotowane próbki poddawano w całości oznaczaniu techniką zimnych par ASA. W tym celu przed samym oznaczaniem wprowadzano do kolby 1,5 ml

20% chlorku cyny (II) i natychmiast nakładano na nią nasadkę ze spiekami umieszczoną w układzie do amalgamowania. Przepuszczając przez próbkę gaz nośny, wydzielano z niej rtęć i adsorbowano na złocie. Po termicznej desorpcji, za pomocą gazu nośnego rtęć wprowadzano do kuwety pomiarowej. Sygnał analityczny mierzono w jednostkach absorbancji (wysokość pików) lub absorbancji zintegrowanej (pole powierzchni pod pikami). Szczegółowy schemat przygotowania i oznaczania próbki został przedstawiony na rysunku 14. Masę Hg w analizowanej próbce otrzymywano przez porównanie wartości absorpcji dla próbki z krzywą kalibracyjną. Kalibrację wykonywano z użyciem wodnego roztworu wzorca rtęci, wyznaczając równanie regresji liniowej w zależności absorbancji od masy rtęci wprowadzonej do kolby, w zakresie od 0,25 – 6,0 ng. Szczegóły dotyczące kalibracji przedstawione zostały w rozdziale zawierającym walidację metody.

W analizie stosowano następującą aparaturę i sprzęt laboratoryjny

- spektrometr absorpcji atomowej Unicam 939
- lampa z katodą wewnętrzną do Hg Unicam
- układ amalgamujący własnej konstrukcji opisany w rozdziale 2 części IV pracy.
- pipety automatyczne z wymiennymi końcówkami
- kolby Kjeldahla o objętości 50 ml ze szlifem 19/26
- kolby pomiarowe o objętości 100 ml
- łożnia wodna
- płuczka ze spiekami
- waga laboratoryjna ważąca z dokładnością do 0.001 g.

Kolby Kjeldahla, w których mineralizowano mocz, były myte gorącą wodą z dodatkiem detergentu, kilkakrotnie płukane wodą wodociągową i dejonizowaną, następnie gotowane przez 3 godz. w roztworze HNO_3 o stężeniu 1 mol/l, ponownie płukane kilkakrotnie wodą dejonizowaną i suszone w suszarce laboratoryjnej lub temperaturze pokojowej.



Rysunek 14. Schemat oznaczania rtęci całkowitej w moczu

Ze względu na to, że stężenie rtęci w moczu zależne jest od wielkości diurezy, (procesu powstawania i wydalania moczu) która może ulegać znacznym wahaniom, powszechnie stosowanym sposobem standaryzacji jest przeliczanie wyników na 1 g wydalanej kreatyniny. W tym celu w tej samej próbce moczu oznaczano również stężenie wydalanej kreatyniny. Oznaczenie wykonywano metodą spektrofotometryczną z użyciem kwasu pikrynowego (metoda Jaffa). Zastosowanie określonego sposobu korekty diurezy ma na celu uzyskanie najlepszej korelacji pomiędzy wielkością ekspozycji a wydalaniem substancji lub jej metabolitu w moczu [70].

4.3. Obliczanie wyników analizy

Po wykonaniu oznaczania przeliczano otrzymane absorbancje na masę rtęci w próbce i stężenie w moczu korzystając z następujących wzorów:

$$\text{masa Hg} = \frac{\text{absorbancja} - a}{b} \text{ [ng]}$$

w którym a i b są współczynnikami równania regresji

$$\text{stężenie Hg w moczu} = \frac{\text{masa Hg w próbce} - \text{masa Hg w próbce ślepej}}{V} \text{ [}\mu\text{g/l]}$$

w którym V jest objętością moczu wziętą do analizy [ml]

Po obliczeniu stężenia rtęci w moczu przeliczano je na 1 g wydalonej kreatyniny według wzoru:

$$c_{\text{Hg/kreat}} = \frac{c_{\text{Hg}}}{c_{\text{kreat}}} \text{ [}\mu\text{g/g kreatyniny]}$$

w którym

$c_{\text{Hg/kreat}}$ – stężenie rtęci w moczu w przeliczeniu na 1 g wydalanej kreatyniny [μg/g kreatyniny]

c_{Hg} – oznaczone stężenie rtęci w mocz [μg/l]

c_{kreat} – oznaczone stężenie kreatyniny w moczu [g/l]

4.4. Walidacja metody oznaczania rtęci całkowitej w moczu

4.4.1. Wyznaczenie liniowości metody

W celu sporządzenia krzywej wzorcowej wykorzystano wzorcowy roztwór roboczy rtęci II o stężeniu 0,05 μg/ml. Do kolby Kjeldahla, zawierającej chlorek cyny (II) i mineralizat, z którego wydzielono rtęć, wprowadzano znaną objętość wzorca zawierającego odpowiednią masę rtęci. Otrzymane wyniki dla zarejestrowanych

sygnałów analitycznych w postaci wysokości pików absorpcyjnego oraz powierzchni pola pod pikami przedstawiono w tabeli 19.

Tabela 19. Absorbancja i absorbancja zintegrowana dla próbek roztworu wzorcowego o stężeniu rtęci 0,050 µg/ml

Lp. wzorca	Objętość roztworu wzorca [µl]	Masa rtęci [ng]	Absorbancja [A]			Absorbancja zintegrowana [A·s]		
			Seria wzorców 1	Seria wzorców 2	Średnia	Seria wzorców 1	Seria wzorców 2	Średnia
1	5	0,25	0,0079	0,0085	0,0082	0,0379	0,0385	0,0382
2	10	0,50	0,0152	0,0157	0,0154	0,0748	0,0759	0,0753
3	25	1,25	0,0293	0,0286	0,0289	0,1876	0,1799	0,1837
4	50	2,50	0,0609	0,0619	0,0614	0,375	0,3828	0,3789
5	70	3,50	0,0796	0,0787	0,0791	0,5211	0,5149	0,5180
6	100	5,00	0,1168	0,1138	0,1153	0,7383	0,7524	0,7453
7	120	6,00	0,1435	0,1476	0,1456	0,8989	0,8809	0,8899

Krzywą wzorcową otrzymaną dla serii wzorców można przedstawić w postaci funkcji równania regresji:

$$y = a + bx$$

w którym

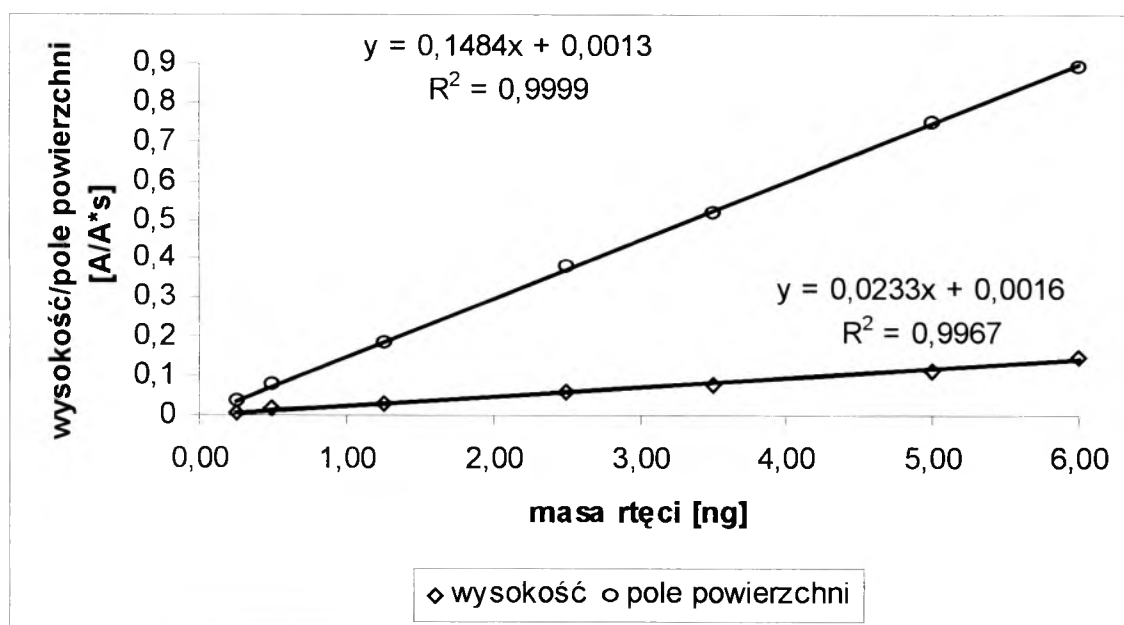
y – sygnał analityczny (wysokość pików lub pole powierzchni pod pikami)

x – masa rtęci (w nanogramach)

b – współczynnik nachylenia (czułość)

a – współczynnik przesunięcia

Współczynniki b i a obliczono metodą najmniejszych kwadratów. Stwierdzono liniową zależność odczytów absorbancji wyrażoną wysokością piku lub polem powierzchni pod pikiem od masy rtęci w zakresie od 0,25 – 6,00 ng (współczynnik korelacji $r > 0,998$). Nie rozszerzano tego zakresu aby zbyt nie obciążać rtęcią układu amalgamującego. Krzywe wzorcowe, równania regresji liniowej oraz kwadraty współczynników korelacji przedstawione są na wykresie na rysunku 15.



Rysunek 15. Wykres kalibracyjny do metody oznaczania rtęci całkowitej w moczu z zastosowaniem techniki amalgamowania

Celem stwierdzenia czy współczynnik przesunięcia a nie różni się istotnie od zera obliczono przedział ufności na podstawie równania:

$$\Delta a = t_{\alpha, f} \cdot s_a$$

w którym:

$t_{\alpha, f}$ – wartość statystyki t-Studenta dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$ i liczby stopni swobody $f = m - 2$ (m – liczba wzorców w skali wzorców) $f = 5$

s_a – odchylenie standardowe współczynnika przesunięcia a

Odpowiednio dla sygnału analitycznego w postaci wysokości piku oraz pola powierzchni pod pikiem przedział ufności współczynnika a ma wartość:

$$\mu_{95} = a \pm \Delta a_{(wysokość)} = 0,0016 \pm 2,57 \cdot 0,0020 = 0,0016 \pm 0,0051$$

$$\mu_{95} = a \pm \Delta a_{(pole)} = 0,0013 \pm 2,57 \cdot 0,0056 = 0,0013 \pm 0,0143$$

Dolna granica przedziału ufności ma wartość ujemną tzn., że z przyjętym prawdopodobieństwem współczynnik przesunięcia a obejmuje również wartość zero. Wskazuje to, że nie różni się on w sposób statystycznie istotny od wartości zero. Można stwierdzić, że nie obserwuje się istotnego błędu systematycznego lub braku specyficzności metody.

4.4.2. Wyznaczenie granicy wykrywalności i granicy oznaczania ilościowego

W celu wyznaczenia granicy oznaczalności analizowano serie zawierające od 5 – 6 próbek w celu sprawdzenia współczynnika zmienności dla niskich stężeń rtęci w próbce. Wyniki oznaczania przedstawione zostały w tabeli 20.

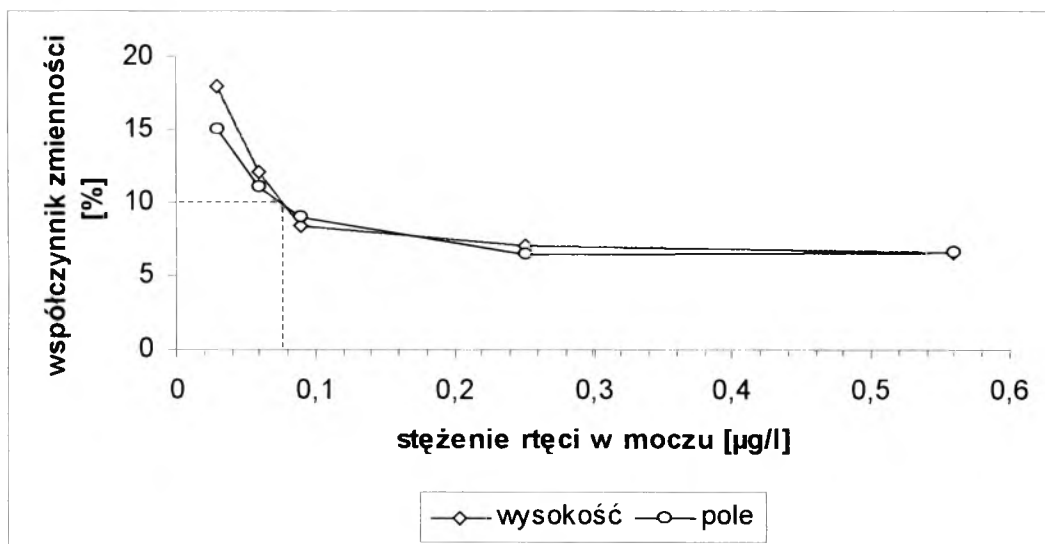
Tabela 20. Wyniki badania współczynnika zmienności w zależności od stężenia rtęci w próbkach moczu

liczba próbek	Średnie stężenie [µg/l]	Odchylenie standardowe [µg/l]		Współczynnik zmienności [%]	
		obliczone z wysokości pików	obliczone z pola pow. pod pikiem	obliczony z wysokości pików	obliczony z pola pow. pod pikiem
6	0,56	0,0370	0,0370	6,6	6,6
6	0,25	0,0163	0,0148	7,0	6,4
6	0,09	0,0076	0,0048	8,4	9,0
5	0,06	0,0072	0,0066	12	11
6	0,03	0,0054	0,0045	18	15

Sporządzono wykres przedstawiony na rysunku 16 i przyjęto dla granicy oznaczalności wartość współczynnika zmienności równą 10%. Dla tej wartości odczytano z wykresu wartość stężenia równego granicy oznaczalności, które wynosi 0,08 µg/l. Granicę wykrywalności obliczono jako:

$$\text{granica wykrywalności} = \frac{\text{granica oznaczalności}}{2}$$

$$\text{granica wykrywalności} = 0,04 \text{ µg/l}$$



Rysunek 16. Wykres zależności współczynnika zmienności od stężenia rtęci w moczu

4.4.3. Badanie poprawności metody

Poprawność jest parametrem, który określa zgodność wyników uzyskanych z zastosowaniem danej metodyki analitycznej (wyniki jako średnie obliczone na podstawie serii pomiarów) z wynikami rzeczywistymi (oczekiwanymi). Na jej wielość ma wpływ przede wszystkim wartość błędu systematycznego tej metodyki analitycznej (ang. *bias*). Poprawność wyznaczono dodając na etapie przygotowania próbki znaną ilość wzorca i badając jego odzysk. Badania odzysku przeprowadzono dla trzech różnych poziomów zakresu pomiarowego odpowiadających wartościom 20%, 40% i 70% zakresu. Wykonano 6 niezależnych oznaczeń analitu na każdym poziomie stężeń. Odzysk obliczono jako błąd względny podobnie jak w przypadku wyznaczania poprawności metody oznaczania rtęci w powietrzu. Wyniki zostały zamieszczone w tabeli 21.

Tabela 21. Wyniki badania poprawności metody oznaczania rtęci w moczu dla Hg²⁺

Lp.	Wynik oznaczania [ng]					
	obliczony z:					
	wysokości piku	poła pow. pod pikiem	wysokości piku	poła pow. pod pikiem	wysokości piku	poła pow. pod pikiem
1	1,28	1,24	2,54	2,51	3,95	3,98
2	1,29	1,32	2,49	2,49	4,16	4,14
3	1,07	1,10	2,39	2,45	3,98	3,99
4	1,25	1,27	2,26	2,24	4,06	4,05
5	1,31	1,31	2,78	2,78	4,19	4,21
6	1,29	1,28	2,66	2,67	4,13	4,16
Liczba próbek	6		6		6	
x_{iref}	1,25		2,50		4,00	
\bar{x}_i	1,25	1,25	2,52	2,52	4,01	4,09
Średni odzysk w serii [%]	100	100	101	101	102	102
Przedział ufności odzysku ($\alpha=0,05$) [%]	92 – 107	93 – 107	93 – 107	93 – 109	99 – 104	100 – 105
B_{wi}	0,04	0,1	0,8	0,9	1,9	2,2

Średnią wartość błędu względnego obliczono jako średnią arytmetyczną dla trzech stężeń zakresu pomiarowego korzystając z równania wprowadzonego przy wyznaczaniu poprawności metody oznaczania rtęci w powietrzu. Wynosi ona odpowiednio:

$$\bar{B}_w = \frac{0,04 + 0,8 + 1,9}{3} = 0,9\% \text{ przy wykorzystaniu wysokości piku}$$

$$\bar{B}_w = \frac{0,1 + 0,9 + 2,2}{3} = 1,1\% \text{ przy wykorzystaniu pola powierzchni pod pikiem}$$

Z uzyskanych wartości wynika, że metoda charakteryzuje się bardzo dobrą poprawnością, a błąd względny wynosi około 1%. Procentowe odzyski rtęci wprowadzonej do próbki w postaci jonowej mieściły się w zakresie 92 – 109% na poziomie ufności $p=0,95$.

Ponieważ rtęć w próbkach moczu może występować również w postaci związków rtęcioorganicznych, wyznaczając poprawność wzięto pod uwagę również tę formę specyficzną rtęci. Aby wyznaczyć odzysk wprowadzano do próbki na etapie jej przygotowania znaną ilość rtęci w postaci chlorku metylortęci. Roztwór chlorku metylortęci przygotowano rozpuszczając odpowiednią masę związku w izopropanolu. Wyniki oznaczeń przedstawione zostały w tabeli 22.

Badanie poprawności metody przy wyznaczeniu odzysku dla organicznego połączenia rtęci tj. chlorku metylortęci, również dało zadowalające wyniki. Średni odzysk dla wszystkich poziomów zakresu pomiarowego wynosił 106%. Wyższa wartość błędów względnego świadczy prawdopodobnie o błędzie systematycznym związanym z przygotowaniem roztworu wzorcowego chlorku metylortęci. Można stwierdzić, że stosowana procedura mineralizacji umożliwia oznaczanie całkowitej rtęci w moczu, ponieważ utlenieniu ulegają również te jej związki, w których rtęć jest związana kowalencyjnie z atomem węgla. Wymagało to zbadania, ponieważ istnieją doniesienia, że nadmanganian potasu może nie w pełni utleniać wszystkie związki rtęcioorganiczne, a w tym metylortęć, która jest jednym z najtrudniej ulegających utlenieniu związków organicznych rtęci.

Tabela 22. Wyniki badania poprawności metody oznaczania rtęci w moczu dla chlorku metylortęci

Lp.	Wynik oznaczania [ng]					
	obliczony z:					
	wysokości piku	poła pow. pod pikiem	wysokości piku	poła pow. pod pikiem	wysokości piku	poła pow. pod pikiem
1	1,18	1,18	2,98	2,95	5,77	5,74
2	1,22	1,23	3,14	3,13	5,99	5,94
3	1,21	1,19	2,81	2,79	5,89	5,85
4	-	-	3,31	3,29	-	-
Liczba próbek	3		4		3	
x_{iref} Hg w CH₃HgCl	1,13		2,80		5,67	
\bar{x}_i	1,20	1,20	3,06	3,04	5,88	5,84
Średni odzysk w serii [%]	106	106	109	109	104	103
Przedział ufności odzysku ($\alpha=0,05$) [%]	101 – 111	99 – 107	97 – 121	96 – 121	99 – 109	99 – 107
B_{wi}	6,0	5,8	9,2	8,6	3,7	3,1

4.4.4. Badanie precyzji metody

Precyzja wyznaczana jest na podstawie wartości obliczonego odchylenia standardowego serii pomiarów przeprowadzonych w danym laboratorium, przez danego analityka z wykorzystaniem danego urządzenia pomiarowego w krótkim okresie czasu. Zalecane jest także, aby analizie poddawane były próbki o różnej zawartości analitu. Właściwszym terminem dla tak zdefiniowanej precyzji jest powtarzalność. W przypadku opisanej metody oznaczania rtęci całkowitej w moczu precyzję wyznaczono dla trzech poziomów zakresu pomiarowego przeprowadzając 18 niezależnych oznaczeń (6 niezależnych oznaczeń na trzech poziomach zakresu). Wyniki badań precyzji metody zamieszczone zostały w tabeli 23.

Tabela 23. Wyniki badania precyzji metody oznaczania rtęci w moczu

Lp.	Wynik oznaczania [ng]					
	obliczony z:					
	wysokości piku	poła pow. pod pikiem	wysokości piku	poła pow. pod pikiem	wysokości piku	poła pow. pod pikiem
1	1,30	1,26	2,84	2,82	4,79	4,82
2	1,31	1,34	2,79	2,80	4,99	4,98
3	1,09	1,12	2,70	2,75	4,82	4,83
4	1,27	1,29	2,56	2,54	4,90	4,90
5	1,33	1,33	3,09	3,09	5,02	5,05
6	1,31	1,30	2,97	2,98	4,97	5,01
Liczba próbek	6		6		6	
\bar{x}_i	1,27	1,27	2,83	2,83	4,91	4,93
s	0,089	0,081	0,187	0,188	0,097	0,096
v [%]	7,0	6,4	6,6	6,6	2,0	1,9

Średnią precyzję dla zakresu można obliczyć według podanego wcześniej równania korzystając z uzyskanych współczynników zmienności. Średni współczynnik zmienności wynosi:

$$v_{z(\text{wysokość piku})} = 5,7\%$$

$$v_{z(\text{pole powierzchni piku})} = 5,4\%$$

Otrzymane wyniki świadczą o zadowalającej precyzji metody. Wszystkie obliczone współczynniki zmienności nie przekraczają 7%.

4.4.5. Dokładność metody

Dokładność metody definiowana jest jako zgodność pomiędzy uzyskanym wynikiem pomiaru (pojedynczego) z wartością rzeczywistą. Dokładność stanowi więc połączenie poprawności i precyzji metody. Wartość dokładności może być wyznaczona przy stosowaniu różnych podejść: przez porównanie pomiaru z wartością otrzymaną w wyniku zastosowania metodyki odniesienia, dla której wyniki uznawane są za dokładne czy przez przeprowadzenie analizy próbki materiału odniesienia.

Celem określenia dokładności, opracowaną metodykę zastosowano do analizy próbek moczu w ramach niemieckiej kontroli jakości badań toksykologicznych w materiale biologicznym (German External Quality Assessment Scheme; Intercoparison programme 37- 2006 for toxicological analyses in biological material). Otrzymano 4 próbki, po dwie dla poziomu narażenia środowiskowego i zawodowego. Stężenia odniesienia były oznaczone przez grupę wyspecjalizowanych laboratoriów, których wyniki zostały uznane za dokładne. Uzyskane rezultaty zostały przedstawione w tabeli 24.

Tabela 24. Uzyskane wyniki i wartości odniesienia w ramach G-EQAS 37-2006

Symbol próbki	Oznaczany parametr	Uzyskany wynik [µg/l]	Wartość odniesienia [µg/l]	Zakres tolerancji (±3s) [µg/l]
8A	Rtęć w moczu (poziom środowiskowy)	1,09	1,09	0,69 – 1,48
8B	Rtęć w moczu (poziom środowiskowy)	4,21	4,03	2,83 – 5,22
2A	Rtęć w moczu (poziom zawodowy)	2,9	3,2	2,3 – 4,1
2B	Rtęć w moczu (poziom zawodowy)	46,9	42,2	34,1 – 50,3

Pomimo, że według kryteriów przyjętych przez organizatora wszystkie uzyskane wyniki mieściły się w zakresie tolerancji, to zgodność uzyskanych wyników z wartością odniesienia sprawdzono także uwzględniając ich niepewności w oparciu o poniższe zależności:

$$\frac{|x_i - x_{odn}|}{2\sqrt{u(x_i)^2 + u(x_{odn})^2}}$$

w których

x_i – wartość wyniku oznaczenia

x_{odn} – wartość odniesienia

$u(x_i)$ – niepewność wyniku oznaczenia

$u(x_{odn})$ – niepewność wartości odniesienia

Wnioskowanie jest następujące:

$$\text{Jeśli } |x_i - x_{odn}| < 2\sqrt{u(x_i)^2 + u(x_{odn})^2}$$

to wynik uznawany jest za zgodny z wartością odniesienia

$$\text{Natomiast gdy: } |x_i - x_{odn}| \geq 2\sqrt{u(x_i)^2 + u(x_{odn})^2}$$

to wynik uznawany jest za niezgodny z wartością odniesienia [71].

Jako niepewności dla wyników oznaczania przyjęto wartość średniego współczynnika zmienności, obliczonego przy wyznaczaniu precyzji metody. Natomiast jako niepewność wartości odniesienia przyjęto wartość jednego odchylenia standardowego.

Dla tak przedstawionych założeń obliczono podane zależności otrzymując następujące wyniki:

$$|x_i - x_{odn}| = |1,09 - 1,09| = 0$$

$$2\sqrt{u(x_i)^2 + u(x_{odn})^2} = 2\sqrt{0,06^2 + 0,13^2} = 0,29$$

$0 < 0,29$ wynik zgodny z wartością odniesienia

$$|x_i - x_{odn}| = |4,21 - 4,03| = 0,18$$

$$2\sqrt{u(x_i)^2 + u(x_{odn})^2} = 2\sqrt{0,23^2 + 0,40^2} = 0,92$$

$0,18 < 0,92$ wynik zgodny z wartością odniesienia

$$|x_i - x_{odn}| = |2,9 - 3,2| = 0,3$$

$$2\sqrt{u(x_i)^2 + u(x_{odn})^2} = 2\sqrt{0,16^2 + 0,3^2} = 0,7$$

$0,3 < 0,7$ wynik zgodny z wartością odniesienia

$$|x_i - x_{odn}| = |46,9 - 42,2| = 4,7$$

$$2\sqrt{u(x_i)^2 + u(x_{odn})^2} = 2\sqrt{2,5^2 + 2,7^2} = 7,4$$

$4,7 < 7,4$ wynik zgodny z wartością odniesienia

Otrzymane wyniki wskazują, że za pomocą opracowanej metody uzyskiwane są dokładne wyniki, biorąc pod uwagę przyjętą niepewność badania. Raporty z uczestnictwa w międzylaboratoryjnym badaniu biegłości został przedstawiony na następujących stronach. Wyniki uzyskane w ramach tych badań i badań z poprzednich lat wskazują, że wciąż istnieją znaczące problemy związane z analizą rtęci w moczu. Zwykle tylko około 60% wszystkich laboratoriów spełnia wymagania stawiane przez organizatora badań biegłości [72]. Granice tolerancji zależą tutaj od stężenia i wynoszą od 15 – 28%. G-EQUAS jest jednym z największych międzylaboratoryjnych badań biegłości laboratoriów zorganizowanych na świecie, który skupia drugą co do wielkości liczbę laboratoriów, po podobnym programie organizowanym przez Centrum of Toxicology of Quebec w Kanadzie.

Prof. Dr. med. H. Drexler

Institute and Outpatient Clinic for Occupational, Social and Environmental Medicine of the University of Erlangen-Nuremberg
Schillerstr. 25 D - 91054 Erlangen, Germany

External intercomparison programme 37, 2006 for toxicological analyses in biological materials

Inst. für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin, Schillerstr. 25, D-91054 Erlangen

Dr. Mniszek

332

Inst. of Occupational Med. and Environ. Health
13 Koscielna Street

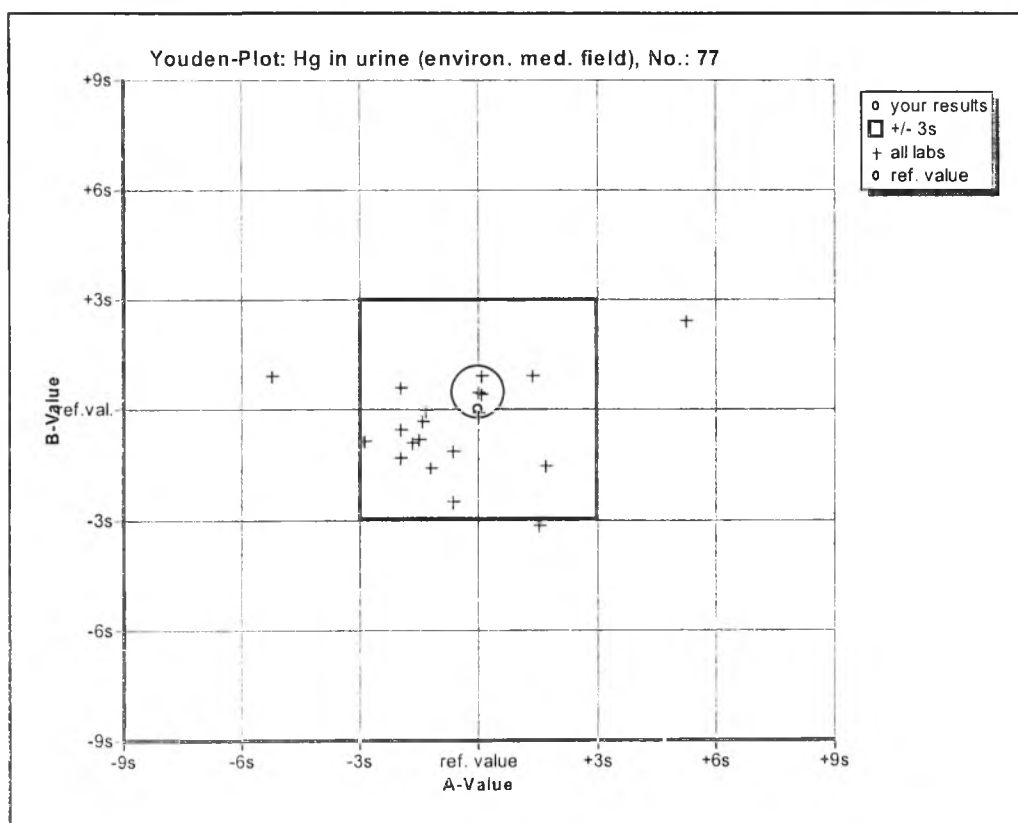
PL - 41-200 Sosnowiec
Poland



Report

Erlangen, 10.07.2006

No.	parameter	evaluation	your result	ref. value	tolerance range	unit
77	Hg in urine	A: + B: +	1,09 4,21	1,09 4,03	0,69 - 1,48 2,83 - 5,22	µg/l



	A	B
No. of participants	22	22
No. of results within the +/- 9s-range	22	22
Mean of results within the +/- 9s-range	1,01	3,87
s (standard deviation)	0,1319	0,399
CV (ref. value)	12,1 %	9,9 %
Both results within the +/- 3s-range	19 Labs; 86,4 %	

External intercomparison programme 37, 2006 for toxicological analyses in biological materials

Inst. für Arbeits-, Sozial- und Umweltmedizin, Schillerstr. 25, D-91054 Erlangen

Dr. Mniszek

332

Inst. of Occupational Med. and Environ. Health

13 Koscielna Street

PL - 41-200 Sosnowiec

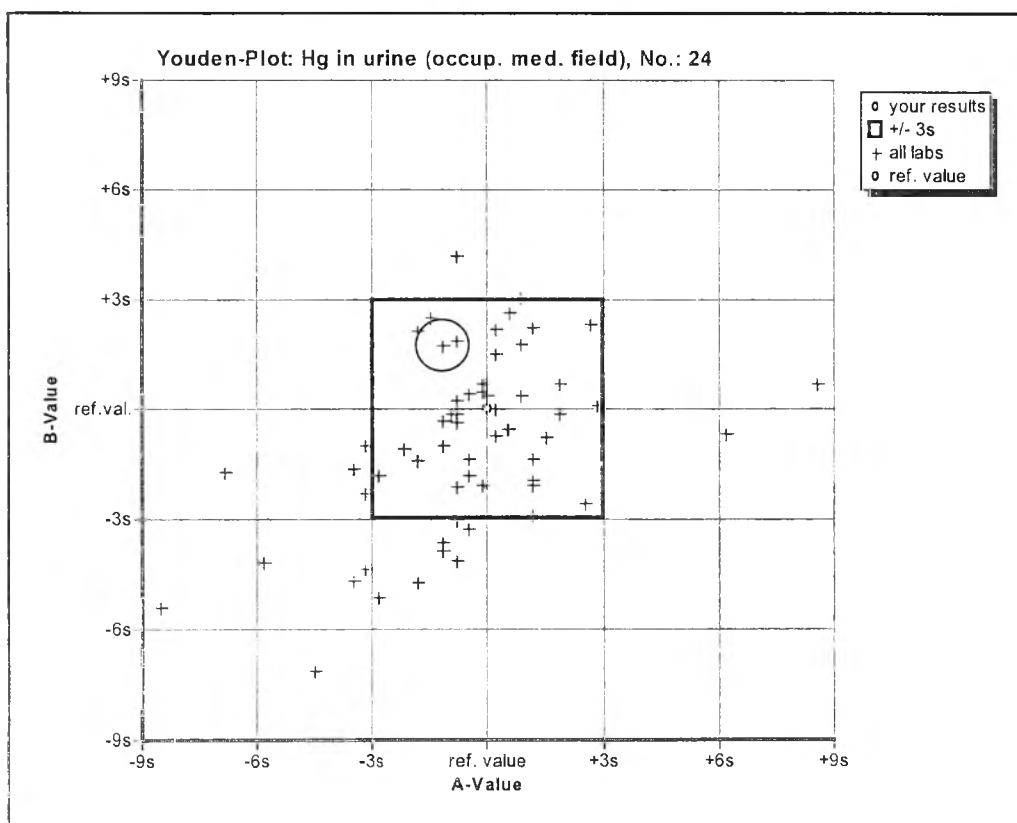
Poland



Report

Erlangen, 10.07.2006

No.	parameter	evaluation	your result	ref. value	tolerance range	unit
24	Hg in urine	A: +	2,9	3,2	2,3 - 4,1	µg/l
		B: +	46,9	42,2	34,1 - 50,3	



	A	B
No. of participants	63	63
No. of results within the +/- 9s-range	60	63
Mean of results within the +/- 9s-range	3,07	39,5
s (standard deviation)	0,2987	2,7
CV (ref. value)	9,33 %	6,4 %

Both results within the +/- 3s-range

40 Labs; 63,5 %

5. Zastosowanie metod oznaczania par rtęci w powietrzu i rtęci całkowitej w moczu w analizie próbek rzeczywistych

Przeprowadzona walidacja metod oznaczania i charakterystyka ich cech wskazała na możliwość zastosowania tych metod do analizy rzeczywistych próbek powietrza i moczu.

5.1. Analiza próbek powietrza otaczającego

Zmodyfikowaną metodę oznaczania par rtęci w powietrzu atmosferycznym zastosowano do badań powietrza otaczającego terenów miejskich. Próbki pobierano zwykle przez okres 24 godzin z natężeniem przepływu strumienia powietrza $1 \text{ dm}^3/\text{min}$. Próbki pobierano na terenie Katowic, Sosnowca, Piekar Śląskich i Częstochowy. Aby zmniejszyć do minimum ryzyko zanieczyszczenia pochłaniacza rtęcią, ze wszystkimi próbkami obchodzono się bardzo ostrożnie. Do czasu analizy próbki z pochłaniaczem przechowywano w lodówce szczelnie zamknięte z obu stron taśmą teflonową. Do każdej serii próbek dołączano przynajmniej 3 próbki ślepe terenowe. Przed desorpcją rtęci z pochłaniacza ostrożnie oddzielano zatyczki z waty szklanej i żel krzemionkowy, a hopkalit przesypywano do specjalnie przygotowanych kolbek Erlenmeyera. Następnie postępowano ściśle według schematu zamieszczonego w pracy. Do obliczeń wykorzystano sygnał analityczny w postaci wysokości pików.

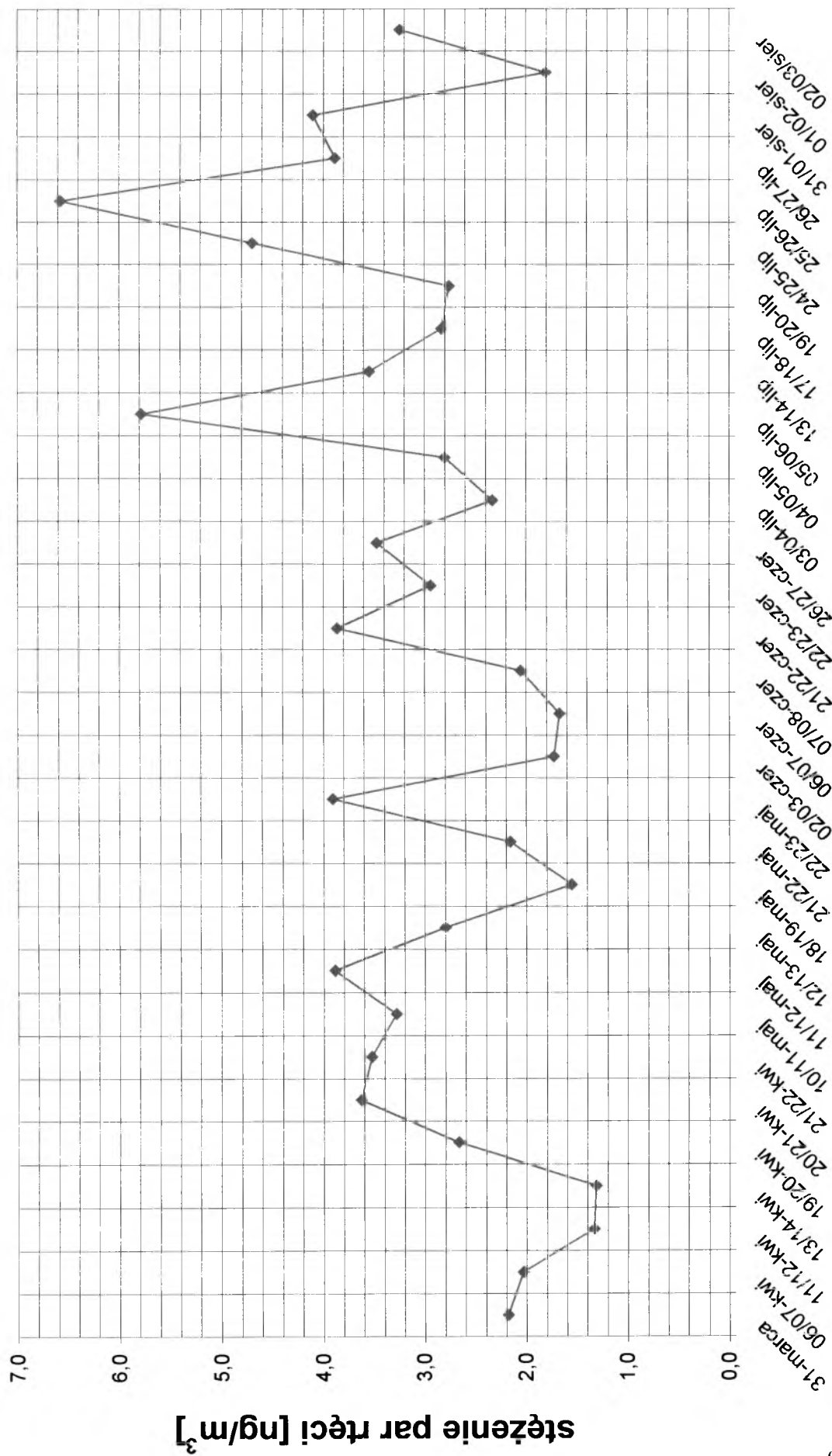
Wyniki tych pomiarów wraz z objętością przepuszczonego przez próbnik powietrza, w przeliczeniu na warunki standardowe ($t=20^\circ\text{C}$; $p=760 \text{ mmHg}$) oraz czasem pobierania próbek zawiera tabela 25. Informacje o warunkach atmosferycznych zaczerpnięto z danych Śląskiego Monitoringu Powietrza. Od końca marca do początku sierpnia przeprowadzono długą serię badań stężenia par rtęci w centrum Katowic. Mediana tych wyników wynosi $2,8 \text{ ng/m}^3$, a ich zakres od $1,3 - 6,6 \text{ ng/m}^3$, (średnia $3,1 \text{ ng/m}^3 \pm 1,2$). Dla lepszego zobrazowania zmian stężenia rtęci w powietrzu, wyniki tych badań zostały przedstawione także na wykresie przedstawionym na rysunku 17.

Wyniki pomiarów stężeń par Hg w powietrzu z terenu Sosnowca mieszczą się w zakresie od $1,3 - 3,2 \text{ ng/m}^3$ z medianą $2,3 \text{ ng/m}^3$ (średnia $2,3 \text{ ng/m}^3 \pm 0,7$).

Tabela 25. Wyniki oznaczania par rtęci w powietrzu otaczającym z zastosowaniem hopakalitu jako sorbentu i techniki amalgamowania

Lp	Data pobierania próbki		Godzina		Objętość powietrza [m ³]	Wynik oznaczania [ng/m ³]
	Początek	Koniec	Początek	Koniec		
Częstochowa al. Wolności						
1	26.04.2005	26.04.2005	8:00	14:25	0,3790	5,0
Piekary Śląskie						
2	28.10.2005	29.10.2005	8:00	7:30	1,4148	2,0
Katowice ul. Bankowa						
3	31.03.2006	31.03.2006	8:00	19:30	0,6679	2,2
4	6.04.2006	7.04.2006	22:00	15:45	1,0798	2,0
5	11.04.2006	12.04.2006	9:45	0:45	1,1893	1,3
6	13.04.2006	14.04.2006	15:30	9:30	1,1287	1,3
7	19.04.2006	20.04.2006	11:00	8:00	1,3086	2,7
8	20.04.2006	21.04.2006	11:00	8:00	1,2607	3,6
9	21.04.2006	22.04.2006	11:00	9:00	1,3086	3,5
10	10.05.2006	11.05.2006	10:30	9:30	1,3698	3,3
11	11.05.2006	12.05.2006	10:30	9:30	1,3702	3,9
12	12.05.2006	13.05.2006	10:00	6:00	1,1876	2,8
13	18.05.2006	19.05.2006	8:10	8:10	1,3997	1,6
14	21.05.2006	22.05.2006	9:00	8:30	1,4187	2,2
15	22.05.2006	23.05.2006	9:00	8:00	1,3588	3,9
16	02.06.2006	03.06.2006	8:00	6:00	1,3087	1,7
17	06.06.2006	07.06.2006	8:00	8:00	1,4505	1,7
18	07.06.2006	08.06.2006	8:30	9:00	1,4984	2,1
19	21.06.2006	22.06.2006	8:30	8:30	1,3713	3,9
20	22.06.2006	23.06.2006	8:30	8:10	1,3529	2,9

Lp	Data pobierania próbki		Godzina		Objętość powietrza [m ³]	Wynik oznaczania [ng/m ³]
	Początek	Koniec	Początek	Koniec		
21	26.06.2006	27.06.2006	8:10	8:10	1,3401	3,5
22	03.07.2006	04.07.2006	8:30	8:30	1,4132	2,3
23	04.07.2006	05.07.2006	8:30	8:30	1,3975	2,8
24	05.07.2006	06.07.2006	8:30	8:30	1,3743	5,8
25	13.07.2006	14.07.2006	8:00	8:00	1,4008	3,5
26	17.07.2006	18.07.2006	8:30	8:30	1,4456	2,8
27	19.07.2006	20.07.2006	8:15	8:15	1,3973	2,8
28	24.07.2006	25.07.2006	9:00	9:00	0,7204	4,7
29	25.07.2006	26.07.2006	9:10	9:10	0,7220	6,6
30	26.07.2006	27.07.2006	9:30	9:30	0,7126	3,9
31	31.07.2006	01.08.2006	9:10	9:10	1,1487	4,1
32	01.08.2006	02.08.2006	9:15	8:15	1,1113	1,8
33	02.08.2006	03.08.2006	11:30	11:45	1,1870	3,2
Sosnowiec ul. Kościelna						
33	9.08.2006	10.08.2006	9:45	9:05	1,2241	1,3
34	22.08.2006	22.08.2006	10:30	19:00	0,4676	3,2
35	12.09.2006	13.09.2006	10:30	10:30	1,0478	2,3
36	13.09.2006	14.09.2006	11:00	11:10	0,8729	2,9
37	14.09.2006	15.09.2006	11:20	11:30	0,8900	2,4
38	21.09.2006	21.09.2006	9:00	0:45	0,9465	1,6



Data pobierania próbki

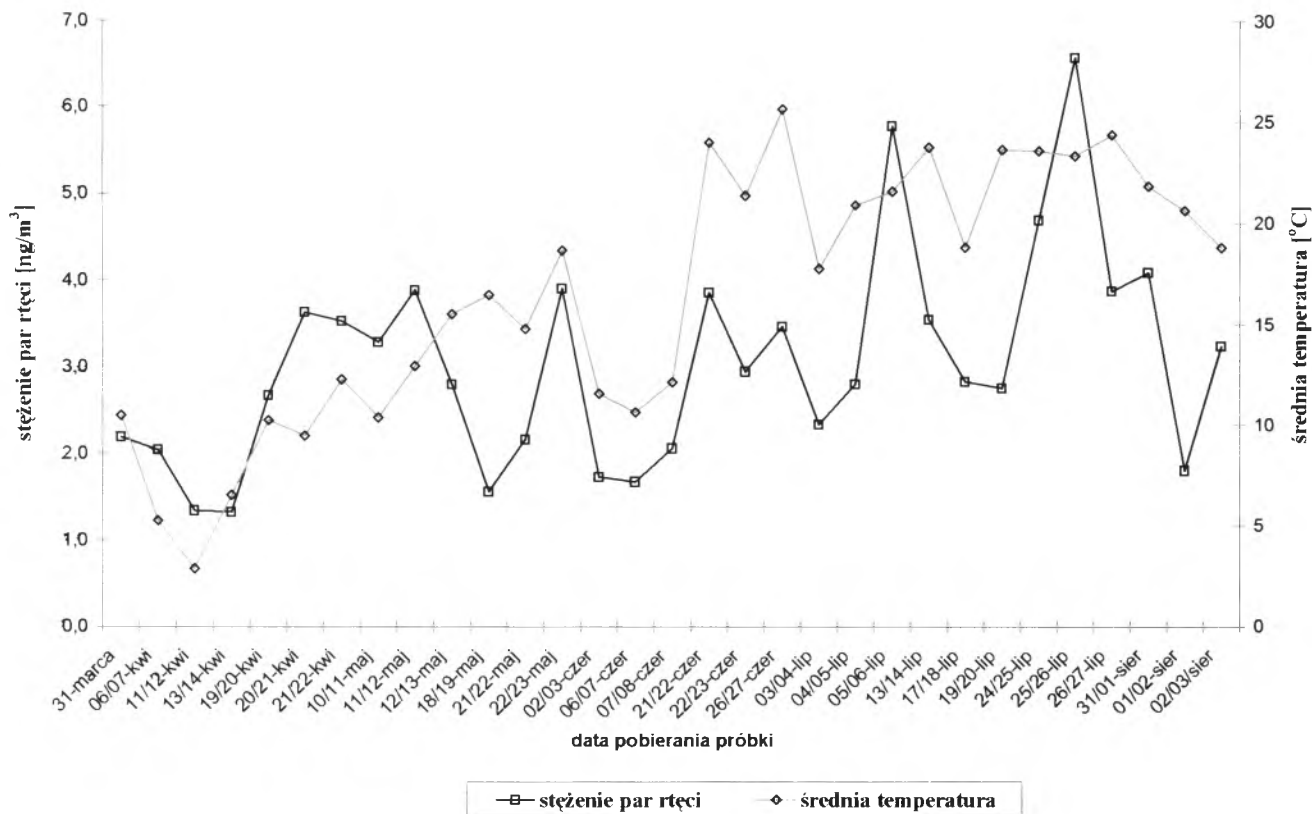
Rysunek 17. Stężenie par rtęci w powietrzu w centrum Katowic (kwiecień – sierpień 2006)

Oznaczone stężenia par rtęci okazały się znacznie niższe od stężeń jakie otrzymano w latach 1998-1990, wykorzystując podobną metodę, na podstawie której wprowadzono Polską Normę oznaczania rtęci w powietrzu otaczającym. W tamtym okresie, oznaczone średnio-miesięczne stężenia par rtęci, wynosiły nawet 171 ng/m^3 , a stężenia średnioroczne wynosiły około 100 ng/m^3 [3]. Obecne, o wiele niższe stężenia rtęci, wynikają niewątpliwie z ogólnego spadku zanieczyszczenia środowiska metalami ciężkimi, w związku z redukcją ich emisji. Przemiany ekonomiczne w kierunku wprowadzenia gospodarki rynkowej i co za tym idzie zmniejszenie się sektora przemysłu ciężkiego, wycofywanie uciążliwych dla środowiska technologii oraz konieczność odsiarczania gazów emisyjnych, wpłynęło wyraźnie na zmniejszenie emisji rtęci w czasie ostatnich kilkunastu lat. Niedawne badania zawartości rtęci na terenach rolniczych południowej Polski, które zostały wykonane w 2003 i 2004 roku, wykazały stężenia rtęci gazowej w powietrzu wynoszące średnio $1,63 \pm 0,35 \text{ ng/m}^3$ w okresie letnim oraz 2,5 razy wyższe stężenia w okresie zimowym. Wzrost stężenia w okresie zimowym został przypisany rtęci pochodzącej z indywidualnych palenisk domowych [4]. Wyniki otrzymane w moich badaniach świadczą o wyższych stężeniach par rtęci na terenie przemysłowym i zurbanizowanym w porównaniu do terenów rolniczych o około 1 ng/m^3 . W obecnej serii pomiarowej nie prowadzono badań zimą ale można przyjąć, że stężenia w sezonie grzewczym również będą wyższe od stężeń poza tym sezonem.

Stężenia par rtęci w powietrzu otaczającym na terenie niektórych miast Górnego Śląska są na poziomie porównywalnym z innymi podobnymi rejonami Europy. Dzieje się tak pomimo bliskości licznych antropogenicznych źródeł emisji rtęci, w tym głównie elektrowni węglowych. Sposoby odprowadzania gazów emisyjnych, tzw. wysoka emisja nie powodują więc znacznego wzrostu narażenia ludności na pary rtęci obecne we wdychanym powietrzu.

Stężenia par rtęci otrzymane w serii pomiarów w centrum Katowic zestawiono z występującymi w tym czasie średnimi temperaturami powietrza. Zaobserwowano tendencję do wzrastania stężenia par rtęci w powietrzu otaczającym wraz ze wzrostem średniej temperatury powietrza (współczynnik korelacji wyniósł 0,58 przy istotności $p < 0,05$). Związek ten potwierdza wzrost naturalnej emisji i reemisji rtęci wraz ze wzrostem temperatury powietrza. Na rysunku 18 naniesiono na wykres wartości stężenia par rtęci wraz z odpowiadającymi im średnimi temperaturami powietrza, występującymi w czasie pobierania próbek. W sezonie grzewczym obserwowana jest

zwykle odwrotna korelacja, ponieważ wraz ze spadkiem temperatury powietrza wzrasta również zapotrzebowanie na ciepło. Efektem tego jest wzrost emisji rtęci z procesów spalania i wyższe jej stężenia w powietrzu otaczającym [4].



Rysunek 18. Stężenie par rtęci i średnia temperatura powietrza w czasie pomiarów przeprowadzanych w Katowicach

5.2. Analiza próbek moczu

Analizę rtęci całkowitej w moczu wykonywano w próbkach moczu pochodzących od osób narażonych środowiskowo. Pierwszą grupę osób stanowili mieszkańcy terenu miejskiego – Tarnowa i Oświęcimia – na których terenie znajdowały się również zakłady produkujące chlor i alkalia metodą elektrolizy z elektrodą rtęciową. Drugą grupę osób stanowiła grupa referencyjna, zamieszkująca teren wiejski - Lichwin, położony około 20 km na wschód od Tarnowa. Każdą próbkę moczu analizowano co najmniej dwukrotnie. Mediany oraz zakresy stężenia rtęci w moczu, w przeliczeniu na 1 gram wydalonej kreatyniny, przedstawione zostały w tabeli 26. Średnie stężenie kreatyniny w moczu wynosiło 1 g/l. Część badań wykonano w ramach projektu European Mercury Emission from Chlor-Alkali Plant (EMECAP) realizowanego w 5 Programie Ramowym. Uzyskane wyniki zostały już w części opublikowane [73].

Tabela 26. Wyniki badań rtęci całkowitej w moczu

Grupa badana	Liczba próbek	Rtęć w moczu mediana (zakres) [µg/g kreatyniny]
Tarnów (poza sezonem grzewczym)	75	0,32 (p.o. – 19,3)
Tarnów (sezon grzewczy)	75	0,31 (p.o. – 3,74)
Oświęcim (poza sezonem grzewczym)	19	0,19 (p.o. – 1,97)
Lichwin (poza sezonem grzewczym))	100	0,20 (p.o. – 15,5)
Lichwin (sezon grzewczy)	86	0,31 (p.o. – 7,49)

p.o. – poniżej oznaczalności

Wyznaczone mediany stężenia rtęci w moczu mieszczą się w dolnym zakresie porównywalnych wielkości w odniesieniu do ogólnej populacji Europy [74]. Analizę statystyczną dla porównania między sobą grup wyników przeprowadzono za pomocą nieparametrycznych testów rang Wilcozona lub Kruskala-Wallisa. Jej rezultaty są przedstawione w tabeli 27. Wynika z nich, że występuje statystycznie istotny wzrost wydalania rtęci z moczem u grupy osób posiadających amalgamaty dentystyczne, co potwierdza, że jest to najważniejsze źródło środowiskowego narażenia na rtęć elementarną. Poza tym zaobserwować można istotnie zmniejszanie się stężenia rtęci w moczu wraz ze wzrostem wieku badanych osób, oraz wyższe stężenia u kobiet niż

u mężczyzn. Tylko wśród grupy osób bez amalgamatów dentystycznych można było zauważyć statystycznie istotne wyższe stężenia rtęci, występujące wraz ze wzrostem ilości spożywanego posiłku z ryb. Odzwierciedla to prawdopodobnie zachodzące w organizmie procesy demetylacji metylortęci, która jest spożywana wraz z rybami i „owocami morza” [74, 75]. Nie stwierdzono natomiast żadnego statystycznie istotnego efektu związanego z miejscem zamieszkania. Dotyczyło to zarówno całej badanej grupy jak i grupy nie zawierającej amalgamatów dentystycznych. W odniesieniu do całej grupy nie obserwowano również wpływu sezonu grzewczego na wzrost wydalania rtęci z moczem.

Tabela 27. Wpływ głównych czynników na wydalanie rtęci z moczem w badanej populacji

Zmienna	Cała grupa	Grupa bez wypełnień amalgamatowych
Płeć (kobiety)	+	+
Wiek	-	-
Amalgamaty dentystyczne	+	nie ma zastosowania
Spożywanie ryb	0	+
Bliskość zakładu	0	0
Sezon grzewczy	0	nie badano

Znaczenie symboli: + statystycznie istotne wzrost; - statystycznie istotne zmniejszenie; 0 brak statystycznie istotnego efektu

V. Podsumowanie i wnioski

Przeprowadzone badania dotyczyły metod oznaczania śladowych zawartości rtęci w powietrzu atmosferycznym i w próbkach ludzkiego moczu. W wymienionych elementach środowiska rtęć występuje zwykle w bardzo niskich stężeniach i nie ma możliwości osiągnięcia odpowiedniej granicy wykrywalności, a co za tym idzie także granicy oznaczalności za pomocą powszechnie dostępnej aparatury pomiarowej. Z tych powodów uzasadnione jest poszukiwanie rozwiązań, umożliwiających dostosowanie parametrów detekcji do śladowych stężeń rtęci w badanych elementach środowiska i redukcję interferencji mogących zafałszować ostateczny wynik analizy. W badaniach wprowadziłem do znanej procedury analitycznej dodatkowy etap polegający na izolacji, zateżeniu i powtórny wydzieleniu oznaczanego pierwiastka. Rtęć jest zdolna do tworzenia trwałego amalgamatu ze złotem, dlatego właściwość tę wykorzystano do jej wstępnego oddzielenia z matrycy próbki. Technika ta zwana amalgamowaniem umożliwiła nie tylko izolację rtęci, ale przede wszystkim wzrost czułości metody poprzez zgromadzenie rtęci i powtórne jej wydzielenie w małej objętości.

1. W niniejszej pracy amalgamowanie zostało z powodzeniem wykorzystane do obniżenia granicy oznaczalności znanej metody analizy par rtęci w powietrzu z zastosowaniem hopkalitu jako sorbentu, a także przy oznaczaniu rtęci w moczu.

W celu bezpośredniego zastosowania techniki amalgamowania w modyfikowanych metodach analitycznych zaprojektowano i skonstruowano własny układ do amalgamowania. Do adsorpcji rtęci wybrano złoto - w postaci drutu zwiniętego w spiralę - jako metal szlachetny najłatwiej ulegający amalgamowaniu. W celu utrzymania stałej efektywności tego procesu niezbędne było wprowadzenie do znanego układu do oznaczania rtęci techniką zimnych par ASA serii dodatkowych płuczek do absorbowania par kwasów oraz osuszanie gazu nośnego na specjalnie przygotowanym żelu krzemionkowym. Zabezpieczenia te okazały się konieczne, aby nie następowało pogorszenie zdolności adsorpcyjnych złota, uniemożliwiające dalszą analizę. Dobrano doświadczalnie parametry pracy układu aby osiągnąć maksymalną czułość i efektywność oznaczeń. Optymalne warunki umożliwiły osiągnięcie masy charakterystycznej rtęci równej 0,19 ng przy pomiarze wysokości piku i 0,03 ng przy wykorzystaniu do obliczeń pola powierzchni pod pikiem. Otrzymany sygnał

analityczny był wyraźny i pozbawiony interferencji, dlatego nie było konieczności używania korekty absorpcji niespecyficzej. Dla częściowej automatyzacji pracy układu zaprojektowano urządzenie mikroprocesorowe, sterujące czasami otwarcia zaworków elektromagnetycznych wprowadzonymi do układu oraz pracą elementu grzejnego.

2. Wprowadzenie dodatkowych etapów i elementów do układu znanej techniki zimnych par w oznaczaniu rtęci metodą ASA, zapewniło powtarzalne wyniki i odpowiednią czułość do oznaczania rtęci w ilościach śladowych.

W znanej analizie par rtęci w powietrzu atmosferycznym z użyciem hopkalitu wykonano kilka modyfikacji rurki sorpcyjnej do pobierania par rtęci z powietrza. W pierwszej kolejności zmniejszono masę sorbentu w próbniku z 500 mg do 200 mg, przyjmując maksymalne natężenie przepływu powietrza przez próbnik jako równe $1 \text{ dm}^3/\text{min}$. Przed warstwę hopkalitu wprowadzono dodatkowo żel krzemionkowy dla przeciwdziałania zawilgoceniu pochłaniacza. Wcześniejsze badania wskazywały na spadek zdolności sorpcyjnych hopkalitu przy wilgotności powietrza powyżej 80%. Zbadano zdolności sorpcyjne tak przygotowanej rurki pochłaniającej i stwierdzono, że wydajność adsorpcji przy stężeniach rtęci znacznie przekraczających występujące w powietrzu atmosferycznym wynosiła powyżej 90% nawet w warunkach znacznej wilgotności powietrza.

3. Modyfikacja rurki sorpcyjnej do adsorbowania par rtęci z powietrza wyeliminowała jej ograniczenie do pobierania par rtęci przy wysokiej wilgotności powietrza i obniżyła masę rtęci zawartą w tle, którą wprowadza się do analizy z hopkalitem

Walidacja zmodyfikowanej metody analizy rtęci w powietrzu udowodniła możliwość jej zastosowania do oznaczania niskich stężeń par rtęci w powietrzu otaczającym. Otrzymana granica oznaczalności wyniosła $1,1 \text{ ng}/\text{m}^3$ przy 24-godzinnym pobieraniu próbki z natężeniem przepływu strumienia powietrza $1 \text{ dm}^3/\text{min}$. Metoda może być więc przydatna do oznaczania rtęci na terenach miejskich i przemysłowych, gdzie średnie stężenia wynoszą około $2 \text{ ng}/\text{m}^3$ i powyżej. Obniżenie granicy oznaczalności par rtęci w powietrzu osiągnięto przez wprowadzenie techniki amalgamowania do układu do oznaczania techniką zimnych par ASA i poprzez inne opisane modyfikacje. Precyzję metody w zakresie pomiarowym wyrażono średnim

współczynnikiem zmienności, który wynosił 13,7%, a błąd względny związany z odzyskiem rtęci z pochłaniacza wynosił około 6%.

4. Osiągnięto obniżenie granicy oznaczalności w metodzie analizy par rtęci w powietrzu przy pobieraniu par rtęci z powietrza na sorbent hopkalit i oznaczaniu techniką zimnych par ASA do 1,1 ng Hg/m³ powietrza, przy jednoczesnym zachowaniu wystarczającej precyzji oznaczania.

Zbadano również zastosowanie techniki amalgamowania do oznaczania rtęci całkowitej w moczu, gdzie stężenia rtęci mogą wynosić od kilkudziesięciu nanogramów w litrze moczu, przy narażeniu środowiskowym do nawet ponad kilkaset mikrogramów w litrze moczu przy narażeniu zawodowym. Mineralizując mocz nadmanganianem potasu w środowisku kwasu siarkowego (VI) i biorąc do mineralizacji 5 ml próbki moczu osiągnięto granicę oznaczalności równą 0,08 µg Hg/l moczu. Precyzja metody okazała się zadowalająca – średni współczynnik zmienności wyniósł 5,4%. Błąd względny okazał się niewielki tj. około 1,0%. W ramach walidacji stwierdzono, że mineralizacji ulega także metylortęć, czyli związek rtęci, w którym występuje rtęć kowalencyjnie związana z atomem węgla. Dokładność uzyskiwanych wyników sprawdzono biorąc udział w międzylaboratoryjnym badaniu biegłości, które jest organizowane w ramach niemieckiej zewnątrzlaboratoryjnej oceny jakości badań toksykologicznych. Wszystkie otrzymane w kontroli wyniki uznano za zgodne z wartością odniesienia. Rezultaty innych laboratoriów w ramach tej kontroli wskazują, że wciąż istnieją znaczące problemy w analizie rtęci w moczu. W obecnej kontroli tylko 40 (63,5%) laboratoriów spośród 63, które brały udział w badaniach uzyskało wyniki mieszczące się w zakresie 3s w odniesieniu do wartości odniesienia, przy stężeniach występujących w narażeniu zawodowym. W zakresie niskich stężeń wymagania spełniło 19 (86,4%) laboratoriów spośród tylko 22, które brały udział w kontroli. Dzięki spełnieniu wymagań stawianych przez organizatora badań biegłości można wnioskować, że opracowana metoda daje rzetelne wyniki.

5. Wprowadzenie amalgamowania w oznaczaniu rtęci całkowitej w moczu techniką zimnych par ASA przy mineralizacji moczu nadmanganianem potasu, przyniosło pozytywny wpływ na uzyskanie niskiej granicy oznaczalności rtęci w moczu o wartości 0,08 µg /l moczu. Stworzyło to możliwość oznaczania rtęci w moczu osób narażonych środowiskowo.

Opracowaną metodę oznaczania rtęci w powietrzu atmosferycznym zastosowano do oznaczania par rtęci w powietrzu w Katowicach i innych miastach województwa śląskiego. Główne badania prowadzono przez okres od kwietnia do września 2006 r. W porównaniu do wyników oznaczeń rtęci przeprowadzonych na początku lat 90-tych obecne stężenia par rtęci w powietrzu są znacznie niższe. Spadek ten można przypisać redukcji emisji rtęci w związku ze stosowaniem filtrów i technologii odsiarczania spalin, oraz zmniejszeniem się udziału w gospodarce przemysłu ciężkiego. Zaobserwowano dodatnią korelację pomiędzy średnią temperaturą powietrza, a stężeniem rtęci w powietrzu co potwierdza zwiększanie się naturalnej emisji i reemisji rtęci wraz ze wzrostem temperatury.

6. Obecnie stwierdzane niskie stężenia par rtęci w powietrzu w porównaniu z okresem początku lat 90 potwierdzają zasadność dokonanej modyfikacji metody analizy w kierunku dostosowania jej do oznaczania obecnie niskich stężeń.

Opracowaną metodę oznaczania rtęci całkowitej w moczu zastosowano do analizy próbek moczu osób narażonych środowiskowo na ten metal. Dzięki niskiej granicy wykrywalności i oznaczalności można było ocenić wpływ warunków środowiskowych na wydalanie rtęci z moczem. Otrzymane mediany wyników świadczą o niskim narażeniu badanych grup osób na rtęć nieorganiczną, a największy wpływ na wzrost wydalania rtęci z moczem można było zaobserwować u osób posiadających dentystyczne wypełnienia amalgamatowe. Miejsce zamieszkania na terenie zurbanizowanym i również w pobliżu zakładu wykorzystującego metodę rtęciową do produkcji chloru i alkaliów, oraz występowanie sezonu grzewczego nie powodowały istotnego wzrostu wydalania rtęci z moczem u badanych grup osób. Otrzymane wyniki wskazują, że niskie stężenia par rtęci w powietrzu otaczającym wywierają mały efekt na stężenia rtęci w moczu.

7. Opracowaną metodę oznaczania rtęci w moczu zastosowano do oznaczania rtęci całkowitej w moczu ludzi narażonych na rtęć tylko środowiskowo, niska granica oznaczalności okazała się dobrze dopasowana do występujących poziomów rtęci w moczu osób takiej grupy badanych

W wyniku badań osiągnięto cel, którym było obniżenie granicy wykrywalności i oznaczalności metod analitycznych w celu dostosowania ich do występujących niskich

stężeń rtęci w wybranych elementach środowiska. Opracowane metody nie wymagają specjalistycznej aparatury do przygotowania próbek i korzystają z ogólnie dostępnej aparatury pomiarowej. Charakteryzują się prostotą i możliwością samodzielnego wykonania potrzebnych elementów. Mogą być zatem dostępną alternatywą dla innych metod oznaczania rtęci w wybranych przez mnie elementach środowiska. W okresie gdy prowadzonych jest wiele badań, które dotyczą zachowania się rtęci w środowisku, opracowywania nowych modeli matematycznych jej migracji w środowisku, a także scenariuszy i strategii dotyczących redukcji emisji rtęci, opisane metody okazały się być przydatne do oceny poziomu występujących stężeń tego „wszędobylskiego” metalu.

VI. Piśmiennictwo

- [1] US Environmental Protection Agency: Mercury Report Study to the Congress: EPA-452/R-97-001 to -008, Office of Air Quality Planning and Standards and Office of Research and Development, US EPA, Washington, DC, 1997
- [2] Pirrone N., Wichmann-Fiebig M.: Some recommendation on mercury measurements and research activities in the European Union. *Atmos. Environ.* 2003; 37 (1) s.3-8
- [3] Mniszek W.: Określanie emisji rtęci ze źródeł przemysłowych. *Zeszyty Naukowe Politechniki Śląskiej. Chemia.* z. 133, 1995
- [4] Zielonka U., Hlawiczka S., Fudala J., Wangberg I., Munthe J.: Seasonal mercury concentrations measured in rural air in Southern Poland. *Atmos. Environ.* 2005; 39, s. 7580-7586
- [5] Beldowska M., Falkowska L., Lewandowska A.: Poziom stężenia gazowej rtęci we wdychanym powietrzu w strefie brzegowej Zatoki Gdańskiej. w *Ochrona Powietrza w Teorii i Praktyce; Tom 2; Zanieczyszczenia Powietrza, przemiany zanieczyszczeń, modelowania i prognozowanie stanu czystości powietrza oraz monitoring.* pod red. J. Konieczynskiego; IPIŚ PAN Zabrze 2006
- [6] PN-90/Z-04133/06 Ochrona czystości powietrza. Badania zawartości rtęci i jej związków. Oznaczanie par rtęci w powietrzu (emisja) metodą zimnych par absorpcyjnej spektrometrii atomowej.
- [7] Dziegielewski J. *Chemia nieorganiczna. Część III: Chemia Metali Grup Pobocznych;* Uniwersytet Śląski – Katowice 1987
- [8] *Kryteria zdrowotne środowiska – tom I Rtęć.* PZWL Warszawa 1983
- [9] *Toxicological Profile for Mercury (Update).* U.S. Dept. Of Health and Human Services, Public Health Service, Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta, 1999: 185, 312
- [10] *CRC Handbook of Chemistry and Physics* David R. Lide, Ph.D. 81st edition CRC PRESS LLC 2000-2001
- [11] Schroeder W. H., Munthe J.: Atmospheric mercury – an overview. *Atmos. Environ.* 1998; 32 (5) s. 809-822
- [12] Ryaboshapka A., Bullock R., Ebinghaus R., Ilyin I., Lohman K., Munthe J., Petersen G., Seigneur Ch., Wangberg I.: Comparison of mercury chemistry models. *Atmos. Environ.* 2002; 36 s. 3881-3898
- [13] Bullock O. R. Jr., Brehme K.: Atmospheric mercury simulation using the CMAQ model: formulation description and analysis of wet deposition results. *Atmos. Environ.* 2002; 36 s. 2135-2146
- [14] Schroeder W.H., Anlauf K., Barrie L.A., Lu J.Y., Steffen A., Schneeberger D.R., Berg T.: Arctic springtime depletion of mercury. *Nature* 1998; 394, s. 331 –332.
- [15] Manson R. P., Sheu G. R.: Role of the ocean in the global mercury cycle. *Global Biogeochem. Cycles*, 2002; 16(4)
- [16] Sprovieri F., Pirrone N., Gardfeldt K., Sommar J.: Mercury speciation in the marine boundary layer a 6000 km cruise path around the Mediterranean Sea. *Atmos. Environ.* 2003; 37 s. 63-71
- [17] Bullock O. R. Jr.: Current methods and research strategies for modeling atmospheric mercury.: *Fuel Proces. Technol.* 2000; 65-66, s. 459-471
- [18] Capri A., Lindberg S. E.: Sunlight-Mediated Emission of Elemental Mercury from Soil Amended with Municipal Sewage Sludge. *Envir. Sci. Technol.* 1997; 31, s. 2085-2091

- [19] Pacyna E. G., Pacyna J. M., Fudała J., Strzelecka-Jastrzab E., Hławiczka S., Panasiuk D.: Mercury emissions to the atmosphere from anthropogenic sources in Europe in 2000 and their scenarios until 2020. *Sci. Tot. Environ.* 2006; 370, s. 147-156
- [20] Travnikov O.: Contribution of the intercontinental atmospheric transport to mercury pollution in the Northern Hemisphere. *Atmos. Environ.* 2005; 39, s. 7541–7548
- [21] Hławiczka S., Fudała J., Jassowicz-Kosiń M.: Emisja rtęci do atmosfery w Polsce i możliwości jej ograniczenia. *Mikrozanieczyszczenia w Środowisku Człowieka pod redakcją Marty Janosz-Rajczyk. Wydawnictwa Politechniki Częstochowskiej* 2004
- [22] Bojakowska I., Sokołowska G.: Rtęć w kopalinach wydobywanych w Polsce jako potencjalne źródło zanieczyszczeń środowiska. *Biul. Państ. Inst. Geol.* 2001; 394, s. 5-53
- [23] Hławiczka S., Jarema-Suchorowska S., Głowacki E.: Ocena wpływu stosowanych w Polsce technologii odsiarczania spalin oraz spalania w kotłach fluidalnych na krajową emisję metali ciężkich do atmosfery, *Ochr. Pow. Probl. Odpad.* 2004; 38 (4) s. 121-128
- [24] Ambient Air Pollution by Mercury (Hg). Position Paper. Office for Official Publications of the European Communities, Luxemburg 2001
- [25] <http://espreme.ier.uni-stuttgart.de>
- [26] Ratcliffe, H. E., Swanson, G. M.: Human exposure to mercury: a critical assessment of the evidence of adverse health effects. *J. Toxicol. Environ. Health.* 1996, 49, s. 221-270
- [27] Affelska-Jercha A.: Toksyczne działanie rtęci w narażeniu zawodowym i środowiskowym. *Med. Pr.* 1999, 4, s. 305-314
- [28] Horvat M., Zvonka J., Spiric Z., Jacimovic R., Miklavcic V.: Mercury and other elements near the INA Naftaplin gas treatment plant, Molve, Croatia. *J. Environ. Monit.* 2000; 2, s. 139-144
- [29] Leyni-Barbaz D., Zikovsky L., Poissant L.: Determination of mercury in air by adsorption on Hopkalite and by neutron activation analysis. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 2002; 252 (3), s. 577-578
- [30] Sampling and Analysis for Atmospheric Mercury. Compendium of Methods for the Determination of Inorganic Compounds in Ambient Air, Chapter IO-5. EPA/625/R-96/010a; Center for Environmental Research and Development USEPA, Cincinnati, 1999
- [31] Friese K. H., Roschig M., Wuenscher G.: A new calibration method for the determination of trace amounts of mercury in air and biological materials. *Fresenius J. Anal. Chem.* 1990; 337 (8): 860-866
- [32] Bloom N.S., Fitzgerald W.F.: Determination of Volatile Mercury Species at the Picogram Level by Low-Temperature Gas Chromatography with Cold-Vapor Atomic Fluorescence Detection,” *Anal. Chim. Acta* 1988; 209, s. 151 - 161
- [33] Bloom N.S., Prestbo E. M., Hall B., Vondergeest E. J., 1995, Determination of Atmospheric mercury by collection on iodated carbon, acid digestion and CVAFS detection. *Water Air Soil Pollut.*, 80 s.1315
- [34] Munthe J., Wangberg I., Pirrone N., Iverfeldt A., Ferrara R., Ebinghaus R., Feng X., Gardfelt K., Keeler G., Lanzillotta E., Lindberg S. E., Lu J., Mamane Y., Prestbo E., Schmolke, S., Schroeder W. H., Sommar J., Sprovieri F., Stevens R. K., Stratton W., Tuncel G., Urba A.: Intercomparison of methods for sampling and analysis of atmospheric mercury species. *Atmos. Environ.* 2001, 35, 3007–3017.

- [35] Dumarey R., Dams R., Hoste J.: Comparison of the collection and Desorption Efficiency of Activated Charcoal, Silver, and Gold for the determination of Vapor-Phase Atmospheric Mercury. *Anal. Chem.*, 1985, 57 (13), s. 2638-2643
- [36] Nickolson K. R., Steele M. R.: Mercury: Method 6009, NIOSH Manual of Analytical Methods, 4th ed., 1994
- [37] OSHA Method: ID-140: Mercury Vapor in Workplace Atmospheres
- [38] Mniszek W., Zielonka U., Masny N.: Zastosowanie hopkalitu jako sorbentu przy oznaczaniu rtęci w powietrzu atmosferycznym. *Chem. Anal.*, 1991, 36, s. 483-491
- [39] PN-81/Z-04133.01 Ochrona czystości powietrza - Badania zawartości rtęci i jej związków - Oznaczanie par rtęci metalicznej na stanowiskach pracy metodą bezpłomieniowej absorpcyjnej spektrometrii atomowej
- [40] TEKRAN, 1998. Model 2357A. <http://tekran.com/products/ambient/2537.aspx>
- [41] PSA, http://www.psanalytical.com/sir_galahad.htm
- [42] Morita M., Yoshinaga J., Edmonds J. S.: The determination of Mercury Species in Environmental and Biological Samples. *Pure Appl. Chem.* 1998, 70 (8) s. 1585-1615
- [43] Perkin-Elmer Method 245.1A: Determination of Mercury in Drinking Water and Wastewater by Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry. S. McIntosh, B. Welz. Perkin-Elmer Environmental Application Note, ENV-1
- [44] Buneaux F., Buisine A., Bourdon S., Bourdon R.: Continuous-flow quantification of total mercury in whole blood, plasma, erythrocytes and urine by inductively coupled plasma atomic-emission spectroscopy. 1992, *J. Anal. Toxicol.* 16 (2) s. 99-101
- [45] Kalamegham R., Ash K. O.: Simple ICP MS procedure for the determination of total mercury in whole blood and urine., *J. Clin. Lab. Anal.* 1992; 6(4) s. 190-193
- [46] Nixon D. E., Burritt M. F. Moyer T. P.: The determination of mercury in whole blood and urine by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B.* 1999; 54(8), s. 1141-1153
- [47] Moreton J. A., Delves H. T.: Simple direct method for the determination of total mercury levels in blood and urine and nitric acid digests of fish by inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* 1998; 13(7) s. 659-665
- [48] Lee K. H., Jiang S. J., Liu H. W.: Determination of mercury in urine by electrothermal vaporization isotope dilution inductively coupled mass spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* 1998; 13(11) s. 1227-1231
- [49] Ryo-Segade S., Bendicho C.: Determination of total and inorganic mercury in biological and environmental samples with on-line oxidation coupled to flow injection-cold vapor atomic absorption spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B* 1999, 54, s. 1129-1139
- [50] Vesterberg O.: Automatic method for quantification of mercury in blood, plasma and urine. *J. Biochem. Biophys. Methods* 1991; 23(3) s. 227-236
- [51] Hanna Ch. P., Tyson J. F.: Determination of total mercury in waters and urine by Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry Procedures involving On- and Off-Line Oxidation of Organomercury Species. *Anal. Chem.*, 1993; 65, s. 653-656
- [52] Dressler V. L., Flores E. M. M., Pozebon D., Kaercher L. E.: On-line pre-concentration of mercury in blood and urine and determination by cold-vapour (CV) AAS. *J. Anal. At. Spectrom.* 2002; 17(8), s. 790-793
- [53] Barregard L., Horvat M., Mazzolai B., Sallsten G., Gibicar D., Fajon V.: Urinary mercury in people living near point sources of mercury emissions. *Sci. Total Environ.* 2006; 368, s. 326-34.
- [54] Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace Guideline, Volume 1; WHO Geneva 1996

- [55] Burrini C., Cagnini A.: Determination of mercury in urine by ETAAS using complexation with dithizone and extraction with cyclohexane. *Talanta*. 1997; 44(7), s. 1219-1223
- [56] Bonfil Y., Brand M., Kirowa-Eisner E.: Trace determination of mercury by anodic-stripping voltammetry at the rotating gold electrode. *Anal Chim Acta*. 2000; 424(1) s. 65-76
- [57] Korolczuk M.: Application of Cold Vapor Differential Pulse Voltammetric Method for Determination of Mercury in Urine Samples. *Microchem. J.* 1997; 57, s. 81-85
- [58] Corns W. T., Stockwell P. B., Jameel M.: Rapid method for the determination of total mercury in urine samples using cold vapour atomic fluorescence spectrometry. *Analyst (London)*. 1994; 119(11), s. 2481-2484
- [59] Winfield S. A., Boyd N. D., Vimy M. J., Lorscheider F. L.: Measurement of total mercury in biological specimens by cold vapour atomic-fluorescence spectrometry. *Clin-Chem (Winston-Salem, NC)* 1994; 40(2) s. 206-210
- [60] Blotcky A. J., Claassen J. P., Fung Y. K., Meade A. G., Rack E. P.: Optimization of procedures for mercury-203 instrumental neutron-activation analysis in human urine. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 1995; 195(1), s. 109-116
- [61] Aikoh H., Shibahara T.: Determination of mercury levels in human urine and blood by ultra-violet - visible spectrophotometry. *Analyst (London)*. 1993; 118(10), s. 1329-1332
- [62] Drwięga I., Szmyd E.: Absorpcyjna spektrometria atomowa. w *Poradnik chemika analityka Tom 2. Analiza instrumentalna. Praca zbiorowa pod red. J. Ciby*, WNT Warszawa 1998
- [63] Schrodeder W. H., Keeler G., Kock H., Roussel P., Schneeberger D., Schaedlich F.: International field Intercomparison of Atmospheric Mercury Measurement Methods. *Water Air Soil Pollut.* 1995, 80, s. 611-620
- [64] Brosset C., Iverfeldt A.: Interaction of solid gold with mercury in ambient air. *Water Air Soil Pollut.* 1989; 43(1-2) s. 147-168
- [65] *Preparatyka nieorganiczna*, J. Supniewski, PWN, Warszawa 1958
- [66] M. Dobecki: Walidacja metod badań chemicznych i pyłowych zanieczyszczeń powietrza na stanowiskach pracy. *Podst. Met. Ocen. Środ. Prac.* 2000 3 (25) s. 5-14
- [67] Polkowska Z., Kozłowska K., Namieśnik J., Przyjazny A.: Biological fluids as a source of information on the exposure of man to environmental chemical agents. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 2004; 34(2), s. 105-119
- [68] WHO. Concise International Chemical Assessment Document 50. Elemental mercury and inorganic mercury compounds: human health aspects. Geneva, Switzerland 7 IPCS, WHO; 2003.
- [69] Ferrari C. P., Moreau A. L., Boutron C. F.: Clean conditions for the determination of ultra-low levels of mercury in ice and snow samples. *Fresenius J. Anal. Chem.* 2000 366, s. 433-437
- [70] M. Jakubowski: Biologiczne wskaźniki wchłaniania. w *Monitoring biologiczny narażenia na czynniki chemiczne w środowisku pracy pod red. M. Jakubowskiego*; Instytut Medycyny Pracy im prof. dra n. med. Józefa Nofera, Łódź 1997
- [71] Konieczka P., Namieśnik J., Zygmunt B., Bulska E., Świtaj-Zawadka A., Naganowska A., Kremer E., Rompa M.: Ocena i kontrola jakości wyników analitycznych, Centrum Doskonałości Analityki i Monitoringu Środowiska. Gdańsk 2004

- [72] Schaller K. H., Weltle D., Angerer J.: Analytical validity of the determination of mercury in whole blood and urine – Results of the German external assurance programme for toxicological analysis in biological materials. *Fresenius J. Anal. Chem.* 2000, 366, s.: 449–452
- [73] Jarosinska D., Barregard L., Biesiada M., Muszyńska-Graca M., Dąbkowska B., Denby B., Pacyna J., Fudała J., Zielonka U.: Urinary mercury in adults in Poland living near a chloralkali plant. *Sci. Total. Environ.* 2006; 368(1) s. 335-343
- [74] Barregard L.: Exposure to mercury in the general population of Europe and the arctic circle, rozdział 4. w *Dynamics of mercury pollution on regional and global scales: atmospheric processes and human exposures around the world.* pod red. Pirrone N., Mahaffey K., Boston, MA7 Kluwer Academic Publishers; 2004
- [75] Apostoli P, Cortesi I, Mangili A, Elia G, Drago I, Gagliardi T.: Assessment of reference values for mercury in urine: the results of an Italian polycentric study. *Sci. Total. Environ.* 2002; 289, s.13 – 24.