



**POLITECHNIKA
BYDGOSKA**
im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich

RADA NAUKOWA DYSCYPLINY NAUKI CHEMICZNE

ROZPRAWA DOKTORSKA

**w formie zbioru opublikowanych i powiązanych tematycznie artykułów
naukowych w dyscyplinie nauki chemiczne**

mgr inż. Izabela Narloch

**OPRACOWANIE I OCENA PROEKOLOGICZNYCH
ROZWIĄZAŃ DEDYKOWANYCH DO OZNACZANIA
ZANIECZYSZCZEŃ W PRÓBKACH ŚRODOWISKOWYCH**

***Development and assessment of pro-ecological solutions dedicated
to determination of pollutants in environmental samples***

DZIEDZINA: Nauki ścisłe i przyrodnicze
DYSCYPLINA: Nauki chemiczne

PROMOTOR PRACY

DR HAB. PRZEMYSŁAW KOSOBUCKI, PROF. PBŚ
POLITECHNIKA BYDGOSKA IM. JANA I JĘDRZEJA ŚNIADECKICH

PROMOTOR POMOCNICZY

DR INŻ. GRAŻYNA WEJNEROWSKA
POLITECHNIKA BYDGOSKA IM. JANA I JĘDRZEJA ŚNIADECKICH

Bydgoszcz, 2025

Składam serdeczne podziękowania Promotorowi mojej pracy
Panu dr hab. Przemysławowi Kosobuckiemu, prof. PBŚ
za opiekę naukową, życzliwość, a także cenne sugestie i uwagi
oraz Promotor Pomocniczej
Pani dr inż. Grażynie Wejnerowskiej
za nieustanne wsparcie, zaangażowanie
oraz wskazówki na każdym etapie rozwoju naukowego.

Ponadto dziękuję Pracownikom
Zakładu Analityki Żywności i Ochrony Środowiska
za wszechstronną pomoc udzieloną mi podczas powstawania tej pracy.

*Pragnę również podziękować mojej **Rodzinie i Bliskim***
za nieustanną motywację, cierpliwość oraz wiarę w moje możliwości.

*Pracę dedykuję moim **Rodzicom.***

SPIS TREŚCI

1. WSTĘP	7
1.1. FILTRY PROMIENIOCHRONNE.....	7
1.2. BENZOFENONY	8
1.3. KWASY TŁUSZCZOWE	9
1.4. ZIELONA CHEMIA ANALITYCZNA.....	10
1.5. BIAŁA CHEMIA ANALITYCZNA.....	11
1.6. NARZĘDZIA OCENY EKOLOGICZNOŚCI METOD ANALITYCZNYCH ..	12
1.6.1. National Environmental Method Index	12
1.6.2. Analytical Eco-Scale.....	13
1.6.3. Green Analytical Procedure Index	13
1.6.4. Analytical GREEnness.....	14
1.6.5. Analytical Greenness Metric for Sample Preparation	14
1.6.6. Blue Applicability Grade Index	15
1.6.7. Algorytm RGB 12.....	16
2. WYKAZ ARTYKUŁÓW NAUKOWYCH STANOWIĄCYCH CYKL PUBLIKACJI ROZPRAWY DOKTORSKIEJ	17
3. UZASADNIENIE SPÓJNOŚCI TEMATYCZNEJ CYKLU PUBLIKACJI ROZPRAWY DOKTORSKIEJ	18
3.1. WYKAZ SKRÓTÓW	20
3.2. HIPOTEZA BADAWCZA, CEL I ZAKRES BADAŃ.....	22
3.3. MATERIAŁY I METODY BADAŃ	23
3.3.1. Materiały stosowane podczas badań	23
3.3.1.1. Publikacja [P2]	23
3.3.1.2. Publikacja [P3]	23
3.3.1.3. Publikacja [P4]	23
3.3.1.4. Publikacja [P7]	23
3.3.2. Metody badań	24
3.3.2.1. Warunki prowadzenia metod ekstrakcyjnych do oznaczania benzofenonów i parabenów.....	24
3.3.2.1.1. Ekstrakcja do fazy stałej	24
3.3.2.1.2. Mikroekstrakcja do upakowanego sorbentu	25
3.3.2.1.3. Dyspersyjna ekstrakcja do fazy stałej	26
3.3.2.2. Oznaczanie profili kwasów tłuszczowych w próbkach żywności	27
3.3.3. Aparatura wykorzystywana podczas badań	27
3.3.4. Narzędzia oceny ekologiczności metod analitycznych	28

3.4. WYNIKI I DYSKUSJA	29
3.4.1. Opracowanie procedury analitycznej MEPS do oznaczania benzofenonów w próbkach wody oraz kosmetyków.....	29
3.4.2. Ocena ekologiczności metod analitycznych do oznaczania filtrów UV w próbkach kosmetyków	32
3.4.3. Ocena ekologiczności metod analitycznych do oznaczania filtrów UV w próbkach wody	34
3.4.4. Opracowanie procedury analitycznej dSPE do oznaczania benzofenonów oraz parabenów w próbkach wody.....	38
3.4.5. Ocena metod analitycznych do oznaczania profili kwasów tłuszczowych w próbkach mleka i sera	42
3.5. PODSUMOWANIE I WNIOSKI.....	44
3.6. LITERATURA	45
4. STRESZCZENIE	50
5. ABSTRACT	52
6. DOROBK NAUKOWY NIE WCHODZĄCY W SKŁAD NINIEJSZEJ ROZPRAWY DOKTORSKIEJ	54
6.1. PUBLIKACJE NAUKOWE.....	54
6.2. ROZDZIAŁY W MONOGRAFIACH NAUKOWYCH	54
6.3. UDZIAŁ W PROJEKTACH BADAWCZYCH	54
6.4. UDZIAŁ W PRZEDSIĘWZIĘCIACH BADAWCZYCH.....	54
6.5. AKTYWNE UCZESTNICTWO W KONFERENCJACH NAUKOWYCH.....	55
6.6. STAŻE NAUKOWE	56
7. ZAŁĄCZNIKI	57
7.1. KOPIE ARTYKUŁÓW NAUKOWYCH STANOWIĄCYCH CYKL PUBLIKACJI	57
7.2. OŚWIADCZENIE AUTORA ROZPRAWY DOKTORSKIEJ.....	220
7.3. OŚWIADCZENIE WSPÓŁAUTORÓW ROZPRAWY DOKTORSKIEJ	224

1. WSTĘP

1.1. FILTRY PROMIENIOCHRONNE

Filtry promieniochronne (filtry UV) to substancje naturalne lub syntetyczne, których zadaniem jest rozpraszanie, odbijanie lub absorbowanie promieniowania ultrafioletowego. Filtry UV stanowią aktywne składniki produktów kosmetycznych oraz farmaceutycznych, które przeznaczone są do ochrony ludzkiej skóry przed negatywnymi skutkami wywołwanymi przez promieniowanie UV-A oraz UV-B.

W zależności od sposobu działania filtry UV dzielimy na:

- filtry fizyczne (mineralne) – odbijające i/lub rozpraszające promieniowanie UV-A oraz UV-B, do których zalicza się m.in. mikię, bentonit, tlenki żelaza, kaolin, dwutlenek tytanu, tlenek cynku oraz dwutlenek cedru;
- filtry chemiczne (organiczne) – absorbujące i zamieniające promieniowanie w zakresie UV-A oraz UV-B w energię cieplną, albo w światło o odmiennym zakresie pasma, w swojej budowie cząsteczkowej zawierają grupę karboksylową, która to pod wpływem najmniejszej porcji energii promieniowania ulega reakcji izomeryzacji, należą do nich kwas 4-aminobenzoowy, kwas salicylowy, terpeny, benzofenony, fenylobenzotriazole, pochodne benzylidenokamfory oraz butylometoksydibenzoylometanu [1].

Lista substancji promieniochronnych dozwolonych do stosowania w produktach kosmetycznych została przedstawiona w załączniku VI rozporządzenia Parlamentu Europejskiego i Rady nr 1223/2009 z późniejszymi zmianami. Na liście tej znajdują się 34 związki, które mogą być stosowane jako substancje promieniochronne w produktach kosmetycznych. Maksymalne stężenie filtru w kosmetykach musi mieścić się w granicach od 3 do 15%, wyjątek stanowią związki nieorganiczne: dwutlenek tytanu oraz tlenek cynku, dla których stężenie filtru może wynosić nawet 25% [2]. Natomiast w przypadku zawartości filtrów UV w próbkach wodnych, w światowych regulacjach nie istnieje informacja na temat dopuszczalnych zawartości filtrów UV w próbkach środowiskowych.

Ze względu na coraz większą popularność stosowania filtrów UV w celu ochrony zdrowia człowieka przed negatywnymi skutkami promieniowania ultrafioletowego, filtry UV zaczęły coraz częściej pojawiać się w środowisku wodnym zarówno ze źródeł pośrednich, jak i bezpośrednich [3]. Do bezpośrednich źródeł w środowisku należy wkład z codziennej działalności człowieka poprzez zmywanie produktów higieny osobistej ze skóry oraz odzieży podczas zajęć rekreacyjnych, w szczególności w okresie letnim. Natomiast do źródeł pośrednich zaliczyć można zrzuty domowe oraz przemysłowe, jak również ścieki z oczyszczalni ścieków [4]. Wysoka lipofilowość filtrów UV powoduje, że mogą się one zatrzymywać w osadach lub bioakumulować w faunie oraz florze. Ponadto, związki te mogą ulegać degradacji, głównie pod wpływem promieniowania słonecznego, ale również w wyniku reakcji ze związkami dezynfekującymi, np. gazowym chlorem czy chloranem (I) sodu [5].

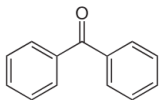
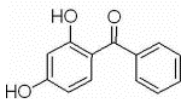
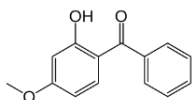
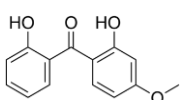
Filtry UV stanowią coraz poważniejszy problem ekologiczny ze względu na ich coraz to szersze wykrywanie w wodach oraz w biocie morskiej. W zależności od czynników, takich jak pora roku, lokalizacja, poziom dostępu publicznego, wykrywalność filtrów UV w próbkach wodnych waha się od ng/l do mg/l. Rosnące obawy związane z możliwymi szkodliwymi skutkami obecności tych związków w środowisku wodnym spowodowały rosnącą liczbę badań mających na celu określenie ich skutków ekologicznych i fizjologicznych. Wykazano, że filtry UV wpływają na aktywność hormonalną, która może zaburzać rozwój i reprodukcję organizmów żywych [6]. Z wyżej wymienionych powodów istotne jest monitorowanie oraz ścisłe kontrolowanie środowiska pod względem zawartych w nim filtrów UV.

1.2. BENZOFENONY

Do jednych z najczęściej występujących w produktach kosmetycznych chemicznych filtrów UV zaliczyć można benzofenony. Jest to grupa związków chemicznych należących do ketonów. Benzofenony w swojej strukturze posiadają grupę karbonylową łączącą dwa pierścienie benzenowe, natomiast jego pochodne zawierają w swojej budowie podstawniki zlokalizowane w pierścieniach aromatycznych [7].

Grupa benzofenonów obejmuje około trzydziestu związków, jednak spośród nich najczęściej wykrywaniymi w produktach kosmetycznych są benzofenon, benzofenon-1, benzofenon-3 oraz benzofenon-8. W poniższej tabeli (Tabela 1) przedstawiono najważniejsze właściwości fizykochemiczne wybranych benzofenonów.

Tabela 1. Właściwości fizykochemiczne wybranych benzofenonów [8]

Nazwa	Numer CAS	Wzór sumaryczny	Wzór strukturalny	Masa molowa [g/mol]	Log K _{ow}	pK _a
Benzofenon	119-61-9	C ₁₃ H ₁₀ O		182,22	3,18	7,50
2,4-dihydroksybenzofenon/ Benzofenon-1	131-56-6	C ₁₃ H ₁₀ O ₃		214,22	3,15	7,53
2-hydroksy-4-metoksybenzofenon/ Benzofenon-3	131-57-7	C ₁₄ H ₁₂ O ₃		228,24	3,79	7,56
2,2'-dihydroksy-4-metoksybenzofenon/ Benzofenon-8	131-53-3	C ₁₄ H ₁₂ O ₄		244,24	3,82	6,99

Benzofenony występują w śladowych poziomach stężeń w środowisku wodnym, w związku z czym istotny jest wybór odpowiednich metod analitycznych oraz ich kompleksowe oznaczanie. W ostatnim czasie zwraca się szczególną uwagę na wybieranie metod eliminujących zużycie rozpuszczalników oraz innych materiałów, jak również metod opartych na automatyzacji oraz miniaturyzacji. Dlatego też, również w oznaczaniu benzofenonów w próbkach wodnych wykorzystuje się głównie metody mikroekstrakcyjne, tj. mikroekstrakcję do fazy stałej (SPME), dyspersyjną ekstrakcję do fazy stałej (dSPE), ekstrakcję z wykorzystaniem ruchomego elementu sorpcyjnego (SBSE), dyspersyjną mikroekstrakcję ciecz-ciecz (DLLME), jak również mikroekstrakcję do pojedynczej kropli (SDME). Z kolei analizy tych związków przeprowadzane są z wykorzystaniem chromatografii cieczowej oraz gazowej z użyciem odpowiednich detektorów, np. DAD, MS oraz MS/MS [9].

1.3. KWASY TŁUSZCZOWE

Kwasy tłuszczowe (ang. *fatty acids*, FA) to związki chemiczne składające się z prostych łańcuchów węglowodorowych z grupą karboksylową na jednym z ich końców. Większość kwasów tłuszczowych posiada łańcuch o parzystej liczbie atomów węgla, zwykle od 4 do 24. Naturalne kwasy tłuszczowe wchodzi w skład tłuszczów (trójglicerydów lub fosfolipidów) lub występują w postaci „wolnej”, tzn. nie są przyłączone do innych cząsteczek [10].

Ze względu na obecność oraz liczbę wiązań podwójnych kwasy tłuszczowe można podzielić na:

- nasycone (ang. *saturated fatty acids*, SFA) – nie posiadające w swojej budowie wiązań podwójnych, np. kwas masłowy (C4:0), kwas pentanowy (C5:0), kwas kapronowy (C6:0), kwas kaprynowy (C10:0), kwas palmitynowy (C16:0), kwas margarynowy (C17:0), kwas stearynowy (C18:0), kwas arachidowy (C20:0);
- jednonienasycone (ang. *monounsaturated fatty acids*, MUFA) – posiadające w swojej budowie jedno wiązanie podwójne, np. kwas oleinowy (C18:1), kwas erukowy (C22:1), kwas nerwonowy (24:1);
- wielonienasycone (ang. *polyunsaturated fatty acids*, PUFA) – posiadające w swojej budowie co najmniej dwa wiązania podwójne, np. kwas linolowy (C18:2), kwas α -linolenowy (C18:3n6), kwas γ -linolenowy (C18:3n3), kwas arachidonowy (C20:4) [11].

Wiązania podwójne występujące w nienasyconych kwasach tłuszczowych mogą występować w konfiguracji *cis* (reszty kwasów tłuszczowych występują po tej samej stronie wiązania podwójnego) lub *trans* (reszty kwasów tłuszczowych występują po przeciwnych stronach wiązania podwójnego). Kwasy tłuszczowe występujące w przyrodzie posiadają głównie konfigurację *cis*, wyjątek stanowią izomery *trans* powstające w żołądku przeżuwaczy w wyniku reakcji enzymatycznej. Natomiast kwasy tłuszczowe w konfiguracji *trans* powstają w głównej mierze w wyniku przemysłowej przeróbki tłuszczów, m.in. w reakcji uwodornienia [12].

Kwasy tłuszczowe stanowią główny składnik błon komórkowych, dostarczają energii metabolicznej, uczestniczą w produkcji hormonów, jak również pełnią funkcje ochronne w organizmie człowieka [13]. W związku z tym analiza kwasów tłuszczowych w produktach żywnościowych jest bardzo istotna z punktu widzenia wartości odżywczej i właściwości fizykochemicznych. Istnieje kilka metod oznaczania profili kwasów tłuszczowych w produktach spożywczych, do których zaliczyć można metodę Folcha [14] oraz metodę Rose-Gottlieba [15]. Metody te polegają na ekstrakcji tłuszczu za pomocą odpowiednich rozpuszczalników organicznych, a następnie na przekształceniu kwasów tłuszczowych w estry metylowe oraz ich końcowe oznaczenie głównie za pomocą chromatografii gazowej. Ze względu na duże zużycie toksycznych odczynników potrzebnych do wyekstrahowania tłuszczu oraz do przeprowadzenia etapu derywatyzacji, coraz częściej metody te są modyfikowane.

1.4. ZIELONA CHEMIA ANALITYCZNA

W ostatnich dekadach zaobserwowano coraz większe obawy dotyczące kwestii środowiskowych związane z szybkim rozwojem przemysłu chemicznego. W związku z tym, na początku lat 90. XX wieku, chemicy zaczęli zwracać szczególną uwagę na ograniczenie stosowania niebezpiecznych odczynników w syntezie chemicznej, eliminując lub zmniejszając wytwarzanie toksycznych odpadów oraz wprowadzając odnawialne źródła energii w produkcji chemicznej [16]. W następstwie tych wydarzeń, w 1998 roku Paul Anastas i John Warner wprowadzili koncepcję zielonej chemii (ang. *green chemistry*, GC) oraz sformułowali tzw. 12 zasad zielonej chemii. Wspomniani autorzy zdefiniowali pojęcie „zielonej chemii” jako „wykorzystanie zbioru zasad, które ograniczają lub eliminują użycie, bądź wytwarzanie niebezpiecznych substancji podczas projektowania, wytwarzania i stosowania produktów chemicznych”. Natomiast 12 zasad zielonej chemii stanowi zalecenia i wytyczne dla społeczności naukowej dotyczące ekologizacji procesów chemicznych [17]. Z kolei w 1999 roku Paul Anastas opublikował artykuł, w którym omówił zastosowanie 12 zasad zielonej chemii w opracowywaniu nowych metod i technik analitycznych w celu zmniejszenia ich negatywnego wpływu na środowisko [18]. W kolejnych latach, inni naukowcy, m.in. Namieśnik [19], Koel i Kalijurand [20] czy Armenta oraz współautorzy [21] przedstawiali i rozwijali w dalszym ciągu ideę wdrażania zasad zielonej chemii w procedurach analitycznych, tworząc tzw. „zieloną chemię analityczną” (ang. *green analytical Chemistry*, GAC). W 2001 roku, Namieśnik po raz pierwszy wykorzystał nazwę „green analytical chemistry” w tytule artykułu [22] - „Green analytical chemistry – some remarks”, w którym rozwinął znaczenie tego pojęcia w szerszym aspekcie. Ze względu na fakt, że tylko wybrane zasady zielonej chemii odnalazły zastosowanie w analityce chemicznej, w 2013 roku Gałuszka ze współautorami [23] opracowali 12 zasad GAC, które zostały sformułowane w taki sposób, aby wyrażały chęć dbania o środowisko i bezpieczeństwo człowieka podczas opracowywania i stosowania procedur analitycznych. Zasady te opierają się głównie na wyeliminowaniu lub zminimalizowaniu stosowania substancji chemicznych, co wiąże się z ograniczeniem wytwarzanych toksycznych odpadów, jak i na zapewnieniu większego bezpieczeństwa analityków. Najważniejszym wyzwaniem w stosowaniu GAC w analityce chemicznej jest osiągnięcie równowagi pomiędzy jakością otrzymywanych wyników, a ekologicznością metod analitycznych stosowanych w celu ich uzyskania. Zaproponowane przez Gałuszkę i współautorów [23] zasady GAC obejmują:

1. Stosowanie bezpośrednich technik analitycznych w celu uniknięcia obróbki próbek.
2. Minimalizację wielkości próbki i liczby próbek.
3. Wykonywanie pomiarów *in situ*.
4. Integrację procesów i operacji analitycznych w celu zaoszczędzenia energii i zmniejszenia zużycia odczynników.
5. Wybieranie zautomatyzowanych i zminiaturyzowanych metod.
6. Unikanie etapu derywatywacji.
7. Unikanie wytwarzania odpadów analitycznych i odpowiednie nimi zarządzanie.
8. Wybieranie metod wieloanalitowych lub wieloparametrowych – jednoczesne oznaczanie większej ilości analitów.
9. Zmniejszenie zużycia energii.
10. Preferowanie odczynników pochodzących ze źródeł odnawialnych.
11. Wyeliminowanie lub zastępowanie toksycznych odczynników.
12. Zwiększenie bezpieczeństwa operatora.

1.5. BIAŁA CHEMIA ANALITYCZNA

W 2021 roku, Nowak i współautorzy [24] przedstawili koncepcję białej chemii analitycznej (ang. *white analytical chemistry*, WAC) jako rozszerzenie GAC. Koncepcja WAC, w porównaniu do GAC, bierze również pod uwagę zrównoważony rozwój chemii analitycznej. Idea ta, odwołująca się do modelu kolorów RGB (Red-Green-Blue), łączy aspekty ekologiczne (zielone) z praktycznością (niebieskie) oraz z wydajnością analityczną (czerwone), definiując opracowaną metodę analityczną jako białą. Autorzy konceptu sformułowali 12 zasad WAC, w analogii do przedstawionych powyżej 12 zasad GAC.

Dwanaście zasad białej chemii analitycznej zostało podzielone na trzy kategorie:

- zasady w obszarze wydajności analitycznej
 1. Zakres stosowania – metody analityczne powinny mieć możliwie najszerszy zakres stosowalności wyrażony jako liczba jednocześnie oznaczanych analitów, zakres liniowości oznaczeń, zgodność z różnymi typami próbek i odporność na obecność potencjalnych zakłóceń.
 2. Granica wykrywalności i oznaczalności – metody analityczne powinny mieć możliwie najniższe granice wykrywalności i oznaczalności.
 3. Precyzja – metody analityczne powinny charakteryzować się możliwie najlepszą precyzją wyrażoną jako powtarzalność i odtwarzalność wyników.
 4. Dokładność – metody analityczne powinny być możliwie jak najdokładniejsze.
- zasady w obszarze ekologiczności
 1. Toksyczność odczynników – metody analityczne powinny charakteryzować się najniższą możliwą toksycznością stosowanych odczynników i maksymalnym udziałem odnawialnych odczynników i materiałów.
 2. Liczba oraz ilość odczynników i odpadów – metody analityczne powinny charakteryzować się najniższym możliwym zużyciem odczynników i wytwarzaniem odpadów.
 3. Energia i inne media – metody analityczne powinny charakteryzować się najniższym możliwym zużyciem energii elektrycznej i innych mediów; w celu oszczędzania energii preferowane są metody on-site, zautomatyzowane i wysokoprzepustowe.
 4. Bezpośrednie oddziaływanie – stosowanie metod analitycznych nie powinno bezpośrednio wpływać na ludzi, zwierzęta i naturalność genetyczną.
- zasady w obszarze praktyczności
 1. Opłacalność kosztowa – metody analityczne powinny być tak opłacalne, jak to możliwe (całkowity koszt analizy powinien uwzględniać aparaturę, materiał, media i personel).
 2. Opłacalność czasowa – metody analityczne powinny charakteryzować się jak najwyższą efektywnością czasową.
 3. Wymagania – metody analityczne powinny charakteryzować się minimalnymi wymaganiami praktycznymi, w tym ilością użytej próbki, dostępem do zaawansowanego sprzętu, kwalifikacjami personelu i infrastrukturą laboratoryjną.
 4. Prostota operacyjna – metody analityczne powinny charakteryzować się możliwie najwyższym poziomem miniaturyzacji, integracji, automatyzacji i przenośności.

1.6. NARZĘDZIA OCENY „EKOLOGICZNOŚCI” METOD ANALITYCZNYCH

Zielona i biała chemia analityczna stały się koncepcjami powszechnie stosowanymi przy opracowywaniu procedur analitycznych. Jednym z głównych wyzwań stawianym tym koncepcjom jest opracowywanie narzędzi metrycznych, które pozwolą na rzetelną ocenę ekologiczności danej procedury analitycznej. Trudność w opracowywaniu tych narzędzi polega na odpowiednim zebraniu wszystkich kryteriów opisujących daną metodę, jak i również na prostocie przedstawienia wyniku oceny. W związku z tym, autorzy narzędzi metrycznych poszukują rozwiązań, aby w odpowiednio przystępny dla użytkowników narzędzi sposób przedstawić kompleksową ocenę ekologiczności procedury analitycznej. W literaturze można odnaleźć wiele narzędzi oceny ekologiczności [16, 25], jednak w niniejszej pracy przedstawiono najpopularniejsze narzędzia, do których zalicza się National Environmental Methods Index, Green Analytical Procedure Index, Analytical Eco-Scale, Analytical GREENness, Analytical Greenness Metric for Sample Preparation, Blue Applicability Grade Index oraz algorytm RGB 12.

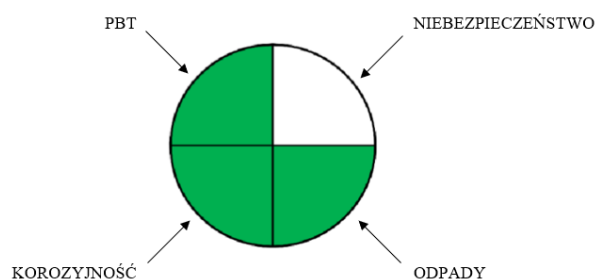
1.6.1. National Environmental Methods Index

Jednym z pierwszych opracowanych narzędzi do oceny ekologiczności procedury analitycznej jest National Environmental Methods Index (NEMI), które zostało opracowane przez Radę ds. Porównywalności Metod i Danych Agencji Ochrony Środowiska Stanów Zjednoczonych w 2002 roku [26]. NEMI stanowi ogólnie dostępną bazę danych metod analitycznych dotyczących zanieczyszczeń środowiska, znajdującą się na stronie internetowej <https://www.nemi.gov/home/>. Proponowane przez bazę procedury analityczne są opisywane przy pomocy, składających się z czterech części, piktogramów NEMI. Piktogramy te biorą pod uwagę wybrane aspekty metody analitycznej, które mogą stanowić potencjalne zagrożenia dla środowiska.

NEMI obejmuje następujące kryteria metody analitycznej:

- I. PBT – stosowane związki nie są definiowane jako: trwałe zanieczyszczenia w środowisku, wykazujące zdolność do bioakumulacji oraz wykazujące właściwości toksyczne.
- II. niebezpieczeństwo – stosowane związki nie są definiowane jako niebezpieczne.
- III. korozyjność – stosowanie odczynników niewywołujących proces korozji (pH w trakcie procesu analitycznego jest utrzymywane w zakresie $2 < \text{pH} < 12$).
- IV. odpady – ilość wytwarzanych odpadów (wytwarzane nie jest więcej niż 50 g odpadów podczas jednej analizy próbki).

Odpowiednie pole piktogramu NEMI jest oznaczone kolorem zielonym, gdy wartość danego kryterium jest spełniona. W przypadku, gdy kryterium nie zostało spełnione, dana część piktogramu pozostaje bezbarwna (Rysunek 1).



Rys. 1. Przykładowy piktogram NEMI

1.6.2. Analytical Eco-Scale

Analytical Eco-Scale jest narzędziem oceny ekologiczności metod analitycznych, które zostało wprowadzone przez Gałuszkę i innych naukowców z Politechniki Gdańskiej [27] w 2012 roku. Ocena metody analitycznej za pomocą Analytical Eco-Scale opiera się na przypisywaniu punktów karnych parametrom, które nie są zgodne z zasadami GAC. Do parametrów tych zalicza się między innymi:

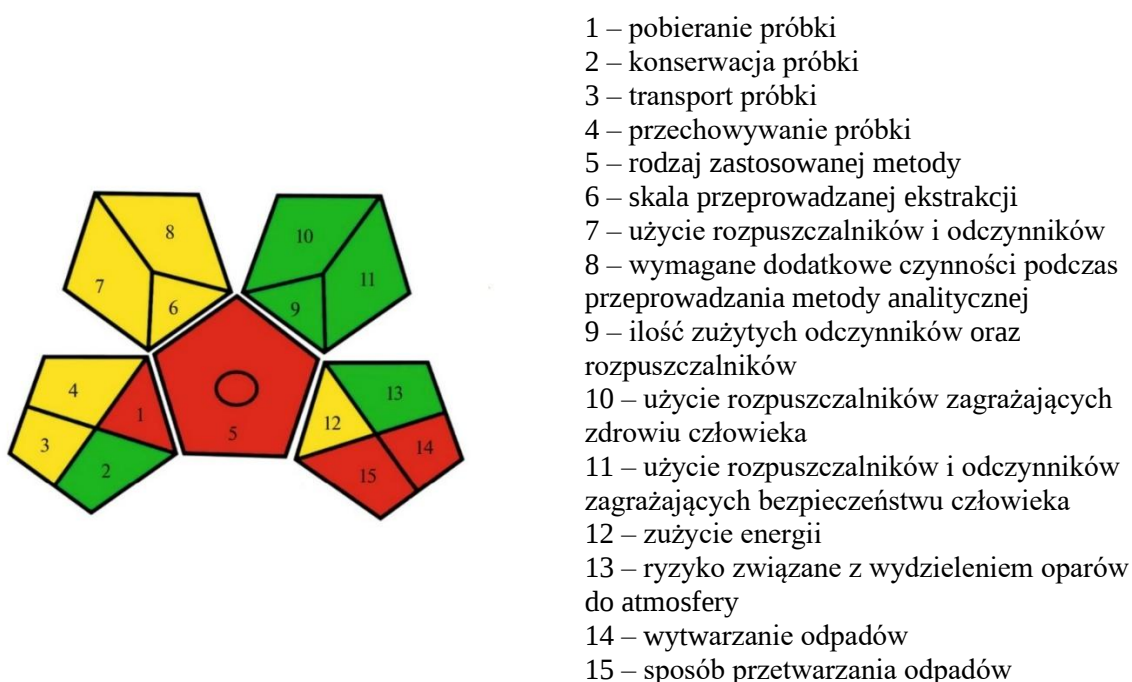
- zużycie rozpuszczalników i odczynników;
- energię zużywaną podczas metody analitycznej;
- generowanie odpadów;
- bezpieczeństwo stosowanych rozpuszczalników i odczynników.

W przypadku, gdy metoda analityczna jest idealnie zielona otrzymuje ona wartość 100. Natomiast, kiedy oceniana metoda analityczna otrzymuje punkty karne, wartość oceny zmniejsza się, przy czym wynik:

- > 75 oznacza doskonałą zieloną metodykę;
- > 50 oznacza akceptowalną zieloną metodykę;
- < 50 oznacza niewystarczającą zieloną metodykę.

1.6.3. Green Analytical Procedure Index

Kolejnym narzędziem szeroko stosowanym w ocenie ekologiczności metod analitycznych jest Green Analytical Procedure Index (GAPI) opracowane w 2018 roku przez Płotkę-Wasyłkę [28]. Narzędzie to pozwala na ocenę zielonego charakteru całej metodologii analitycznej, od pobrania próbki do jej końcowego oznaczenia. Wynikiem oceny zieloności wykonanej przy pomocy narzędzia GAPI jest piktogram składający się z pięciu pentagramów. Każdy pentagram składa się z kilku pól, które odnoszą się do określonych aspektów metodologii analitycznej. Kolor pola przedstawia wpływ danego parametru na środowisko. Kolor czerwony oznacza wysoki, kolor żółty - średni, a kolor zielony niski wpływ na środowisko. Przykładowy wynik oceny uzyskany za pomocą GAPI przedstawiono na Rysunku 2.

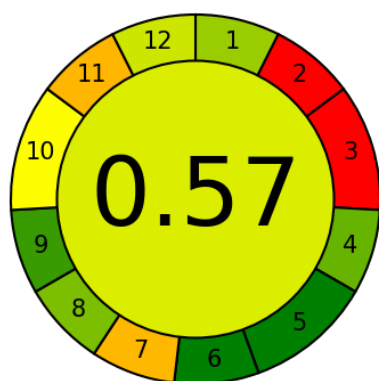


Rys. 2. Przykładowy piktogram GAPI

1.6.4. Analytical GREEnness

Analytical GREEnness (skr. AGREE) to narzędzie do oceny „zieloności” całej procedury analitycznej zaproponowane przez Pena-Pereira i współautorów [29] w 2020 roku.

Narzędzie AGREE ocenia dwanaście kryteriów opartych na zasadach GAC, którym przypisuje się wynik od 0 do 1. Ogólnym wynikiem oceny jest piktogram przypominający zegar, w którego środkowej części umieszczony jest ogólny wynik oceny. Wydajność procedury w każdym kryterium jest odzwierciedlona za pomocą skali kolorów: czerwonego, żółtego i zielonego, natomiast nadana waga dla każdego kryterium jest ukazana za pomocą szerokości poszczególnej części piktogramu. W przypadku, gdy piktogram zyskuje kolor ciemnozielony, a ogólna wartość wyniku końcowego jest około 1 to ocenianą procedurę określa się jako „bardzo zieloną”. Przykładowy piktogram otrzymany dla oceny procedury analitycznej za pomocą narzędzia AGREE przedstawiono na Rysunku 3.



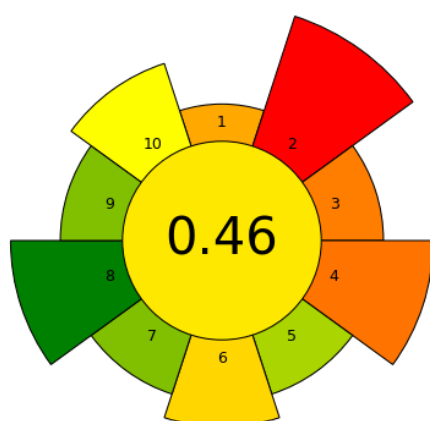
- 1 – stosowanie bezpośrednich technik analitycznych w celu uniknięcia etapu obróbki próbki
- 2 – używanie minimalnej wielkości oraz liczby próbek
- 3 – wykonywanie pomiarów *in-situ*
- 4 – integrowanie procesów analitycznych oraz operacji
- 5 – automatyzacja i miniaturyzacja metody
- 6 – unikanie etapu derywatyzacji
- 7 – unikanie generowania dużych ilości odpadów oraz sposób ich przetwarzania
- 8 – wybieranie metod wieloanalitowych oraz wieloparametrowych
- 9 – minimalizacja użycia energii
- 10 – stosowanie odczynników pochodzących ze źródeł odnawialnych
- 11 – unikanie toksycznych odczynników
- 12 – zapewnianie bezpieczeństwa operatorowi

Rys. 3. Przykładowy piktogram AGREE

1.6.5. Analytical Greenness Metric for Sample Preparation

Narzędzie Analytical Greenness Metric for Sample Preparation (skr. AGREEprep) zostało opracowane w 2022 roku przez Wojnowskiego i współautorów [30] w celu oceny „zieloności” procedur przygotowania próbek.

AGREEprep bazuje na dziesięciu kryteriach pochodzących z „zielonego przygotowania próbek” (ang. *green sample preparation*, GSP), przy czym każde kryterium jest punktowane od 0 do 1. Wynikiem ogólnym oceny AGREEprep jest kolorowy okrągły piktogram w kształcie zegara. Kolor wnętrza piktogramu i ogólny wynik w jego obrębie wskazują na zgodność ocenianych kryteriów procedury analitycznej z zasadami GSP. Na zewnętrznej części okręgu znajduje się dziesięć pól odpowiadających dziesięciu ocenianym kryteriom. Każda część może mieć inną długość w zależności od nadanej mu wagi przez użytkownika. Natomiast kolor danej części wskazuje na jej wynik – najwyższy wynik kryterium jest oznaczony na zielono, a najniższy wynik kryterium jest oznaczany na czerwono. Wynik pomiędzy 0 i 1 jest reprezentowany przez gradient kolorów pomiędzy czerwonym i zielonym, np. żółty i pomarańczowy w różnych odcieniach, zgodnie z wartością przypisaną przez narzędzie AGREEprep.



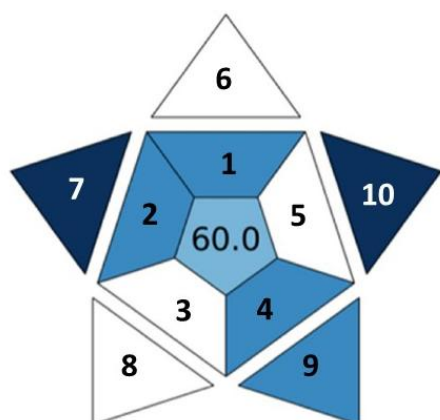
- 1 – przygotowywanie próbek *in-situ*
- 2 – stosowanie bezpiecznych rozpuszczalników oraz odczynników
- 3 – stosowanie zrównoważonych oraz odnawialnych materiałów
- 4 – ilość wytwarzanych odpadów
- 5 – ilość próbek, odczynników oraz materiałów
- 6 – przepustowość próbek
- 7 – integrowanie i automatyzacja etapów przygotowania próbek
- 8 – zużycie energii
- 9 – stosowanie technik instrumentalnych
- 10 – zapewnienie bezpieczeństwa operatorowi

Rys. 3. Przykładowy piktogram AGREEprep

1.6.6. Blue Applicability Grade Index

Blue applicability grade index (skr. BAGI) to narzędzie do oceny praktyczności metod analitycznych, wprowadzone przez Manousi i współautorów [31] w 2023 roku.

Narzędzie BAGI bierze pod uwagę dziesięć kryteriów, w ocenie których wykorzystuje się cztery oddzielne wyniki o różnej wadze. Każdy wynik odpowiada innemu odcieniowi i przyczynia się do końcowego, ogólnego wyniku. Dane kryterium może otrzymać wartość 10, 7.5, 5 i 2.5 punktów, co odpowiada odpowiednio ciemnoniebieskiemu, niebieskiemu, jasnoniebieskiemu oraz białemu kolorowi. Ogólnym wynikiem oceny jest piktogram asteroidy z liczbą w środku. Skala odcieni piktogramu pokazuje zgodność metody z ustalonymi kryteriami (np. kolor ciemnoniebieski oznacza wysoką zgodność metody z ustalonymi kryteriami). Liczba podana w wewnętrznej części piktogramu (od 25 do 100) oznacza przypisany ogólny wynik metody analitycznej, przy czym liczba 25 oznacza najgorszy wynik, podczas gdy liczba 100 odzwierciedla doskonałość metody analitycznej. W celu uznania metody za „praktyczną”, zalecane jest przez autorów narzędzia otrzymanie przez metodę co najmniej 60 punktów. Przykładowy piktogram BAGI pokazano na Rysunku 4.



- 1 – rodzaj analizy
- 2 – liczba jednocześnie oznaczanych analitów
- 3 – rodzaj techniki analitycznej i wymaganych urządzeń
- 4 – liczba jednocześnie przygotowywanych próbek
- 5 – rodzaj przygotowania próbki
- 6 – liczba próbek, które można jednocześnie przeanalizować w ciągu jednej godziny
- 7 – rodzaj odczynników i materiałów
- 8 – wymagania dotyczące wstępnego zatkania
- 9 – stopień automatyzacji
- 10 – ilość próbek

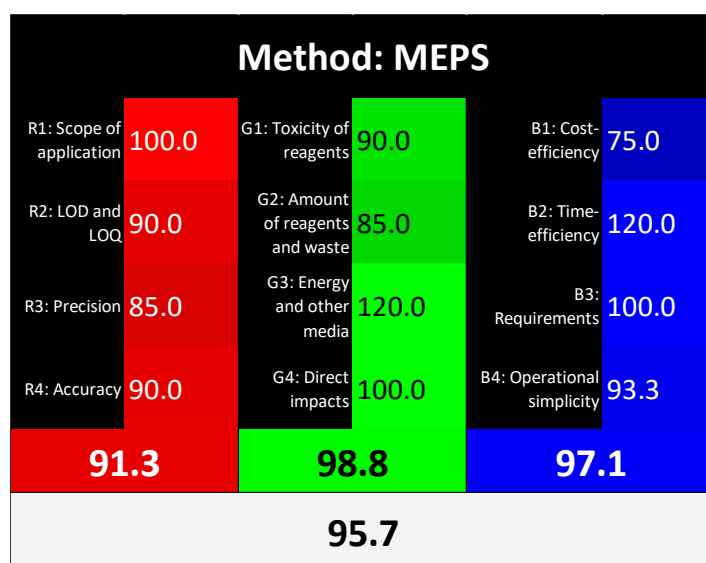
Rys. 4. Przykładowy piktogram BAGI

1.6.7. Algorytm RGB 12

Algorytm RGB 12 jest narzędziem używanym do oceny zrównoważoności procedur analitycznych, który został opracowany w 2021 roku przez Nowaka oraz współautorów [24].

Narzędziem RGB 12 oceniane są trzy kategorie kryteriów, które odpowiadają dwunastu zasadom WAC. Pierwsze kryterium (kryterium czerwone – RED PRINCIPLES) odpowiada za wydajność analityczną metody poprzez ocenę takich kryteriów jak: zakres stosowalności, granice wykrywalności i oznaczalności, precyzja oraz dokładność ocenianej metody. W drugim kryterium (kryterium zielone – GREEN PRINCIPLES) oceniana jest przyjazność dla środowiska i bezpieczeństwo stosowania danej metody analitycznej, w tym: toksyczność odczynników, liczba i ilość odczynników i odpadów, zużycie mediów oraz wpływ na środowisko. Ostatnie oceniane kryterium (kryterium niebieskie – BLUE PRINCIPLES) opisuje praktyczne oraz ekonomiczne aspekty metody analitycznej. Do kryterium niebieskiego zalicza się opłacalność metody, efektywność czasową, wymagania, jak również prostotę laboratoryjną.

W celu oceny metody za pomocą algorytmu RGB 12, należy wykorzystać szablon arkusza kalkulacyjnego Excel (dostępny w danych uzupełniających w pracy Nowak i in.), w którym znajdują się specjalnie przygotowane tabele w kolorze czerwonym, zielonym i niebieskim. Szablon został zaprojektowany w taki sposób, aby było możliwe ocenienie i porównanie dziesięciu metod jednocześnie. Tabele znajdujące się w arkuszu należy uzupełnić poprzez przypisanie każdemu z kryteriów wartości punktowej w zakresie od 0 do 100, przy czym wartość 0 oznacza najgorszy wynik, a wartość 100 oznacza, że metoda jest dobrze dostosowana do planowanego zastosowania. Korzystając z narzędzia RGB 12, istnieje również możliwość przyznania dodatkowych punktów (powyżej 100) w uzasadnionych przypadkach. Zgodność metody z danym kryterium jest prezentowana zarówno numerycznie, jak i wizualnie poprzez nasycenie danej wartości kolorem (wartość 0 odpowiada czerni, natomiast 100 lub więcej punktów odpowiada pełnemu nasyceniu koloru). Podobnie jak kolor biały powstaje przez zmieszanie światła czerwonego, zielonego i niebieskiego, metoda analityczna staje się biała, a zatem kompletna, gdy osiągnie każdy kolor podstawowy. Wartość średnich arytmetycznych dla kryteriów czerwonego, zielonego i niebieskiego jest wyrażana indywidualnie jako R (%), G (%) oraz B (%), natomiast ogólny wynik przedstawiany jako % bieli. Przykładowa ocena metody analitycznej za pomocą algorytmu RGB 12 została przedstawiana na Rysunku 5.



Rys. 5. Przykładowa ocena metody analitycznej za pomocą algorytmu RGB 12

2. WYKAZ ARTYKUŁÓW NAUKOWYCH STANOWIĄCYCH CYKL PUBLIKACJI ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

[P1] Narloch, I.; Wejnerowska, G. An overview of the analytical methods for the determination of organic UV filters in cosmetic products and human samples. *Molecules* 2021, 26, 4780, <https://doi.org/10.3390/molecules26164780>, 140 pkt. MNiSW, IF = 4.2.

[P2] Wejnerowska, G.; **Narloch, I.** Determination of benzophenones in water and cosmetics samples: a comparison of solid-phase extraction and microextraction by packed sorbent methods. *Molecules* 2021, 26, 6896, <https://doi.org/10.3390/molecules26226896>, 140 pkt. MNiSW, IF = 4.2.

[P3] Narloch, I.; Wejnerowska, G. Comparison of the effectiveness and environmental impact of selected methods for the determination of fatty acids in milk samples. *Molecules*, 2022, 27, 8242, <https://doi.org/10.3390/molecules27238242>, 140 pkt. MNiSW, IF = 4.2.

[P4] Narloch, I.; Wejnerowska, G. A comparative analysis on the environmental impact of selected methods for determining the profile of fatty acids in cheese. *Molecules*, 2023, 28, 4981, <https://doi.org/10.3390/molecules28134981>, 140 pkt. MNiSW, IF = 4.2.

[P5] Wejnerowska, G.; **Narloch, I.** Comparison of the greenness assessment of chromatographic methods used for analysis of UV filters in cosmetic samples. *Analytica*, 2023, 4, 447-455. <https://doi.org/10.3390/analytica4040032>, 5 pkt. MNiSW, IF = 0.

[P6] Wejnerowska, G.; **Narloch, I.** A comprehensive assessment of sample preparation methods for the determination of UV filters in water by gas chromatography-mass spectrometry: greenness, blueness, and whiteness quantification using the AGREEprep, BAGI, and RGB 12 tools. *Applied Sciences*, 2024, 14, 7690, <https://doi.org/10.3390/app14177690>, 100 pkt. MNiSW, IF = 2.5.

[P7] Narloch, I.; Wejnerowska, G.; Kosobucki, P., Nutshell materials as a potential eco-friendly biosorbent for the effective extraction of UV filters and parabens from water samples, *Materials*, 2024, 17, 5128, <https://doi.org/10.3390/ma17205128>, 140 pkt. MNiSW, IF = 3.1.

3. UZASADNIENIE SPÓJNOŚCI TEMATYCZNEJ CYKLU PUBLIKACJI ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

Rozprawa doktorska pt. „Opracowanie i ocena proekologicznych rozwiązań dedykowanych do oznaczania zanieczyszczeń w próbkach środowiskowych” stanowi zbiór siedmiu artykułów naukowych opublikowanych w czasopismach o zasięgu międzynarodowym w latach 2021-2024. Tematyka publikacji stanowiących rozprawę doktorską jest spójna tematycznie i dotyczy opracowywania oraz oceny metod analitycznych do oznaczania zanieczyszczeń w próbkach środowiskowych zgodnie z zasadami białej i zielonej chemii analitycznej.

W skład cyklu publikacji stanowiących rozprawę doktorską wchodzi publikacja [P1], w której dokonano przeglądu literaturowego metod analitycznych do oznaczania filtrów promieniochronnych w próbkach kosmetyków, płynów biologicznych oraz tkanek. Praca ta miała na celu zestawienie procedur analitycznych do oznaczania filtrów UV we wspomnianych matrycach oraz ułatwienie analitykom wyboru najkorzystniejszej procedury. Praca ta pokazuje, że metody mikroekstrakcyjne wykorzystywane do oznaczania filtrów UV pozwalają na uzyskiwanie odpowiedniej czułości oraz wysokich odzysków. Jednocześnie wykazano, że w ostatnim dziesięcioleciu nastąpił szybki rozwój metod mikroekstrakcyjnych do oznaczania zanieczyszczeń środowiska.

Celem badań przedstawionych w publikacji [P2] było opracowanie metody mikroekstrakcji do upakowanego sorbentu (MEPS) oraz ekstrakcji do fazy stałej (SPE) do oznaczania benzofenonów w próbkach wody i kosmetyków. Praca [P2] przedstawia możliwość zastąpienia klasycznej SPE za pomocą jednej z jej zminiaturyzowanych wersji, tj. MEPS, w rutynowych badaniach laboratoryjnych. Taka zmiana wpływa na ekologiczny, jak również ekonomiczny aspekt stosowania metod analitycznych w oznaczeniach zanieczyszczeń środowiska.

W publikacjach [P5] oraz [P6] dokonano oceny ekologiczności metod przedstawionych w publikacji [P2] oraz wybranych, innych opisanych w literaturze metod analitycznych, które służyć mają oznaczaniu filtrów UV w próbkach wody i kosmetyków. W pracach tych zastosowano ogólnie dostępne narzędzia oceny ekologiczności, takie jak AGREE, AGREEprep, BAGI, GAPI czy algorytm RGB 12. Otrzymane wyniki pozwalają na charakterystykę danej metody poprzez ocenę jej wydajności analitycznej, ekologiczności, praktyczności oraz ekonomiczności, dzięki czemu wybrane metody można do siebie porównać pod kątem tych aspektów. Ponadto, dzięki takiej ocenie można dokonać wyboru najbardziej ekologicznej metody analitycznej, która będzie stosowana w rutynowych badaniach przeprowadzanych w laboratoriach.

W pracy [P7] opracowano metodę ekstrakcji benzofenonów oraz parabenów z próbek wody z zastosowaniem skorup orzechów jako biosorbentów. Metoda ta opiera się na zastosowaniu niewielkich ilości badanej próbki oraz stosowanych odczynników, krótkim czasie przygotowania oraz użyciu taniego i biodegradowalnego sorbentu. Zastosowane biosorbenty zostały scharakteryzowane, a zaproponowana metoda analityczna została zoptymalizowana, uwiarygodniona oraz oceniona za pomocą narzędzia AGREEprep. Zastosowanie biosorbentów na bazie skorup orzechów pozwala na otrzymanie taniej, szybkiej oraz przyjaznej dla środowiska i człowieka metody analitycznej do oznaczania zanieczyszczeń środowiskowych w próbkach wody.

Publikacje [P3] oraz [P4], które należą do cyklu publikacji stanowiących niniejszą rozprawę doktorską, obejmują ocenę ekologiczności procedur analitycznych pozwalających na oznaczanie profilu kwasów tłuszczowych w próbkach mleka i sera. Koncepcja tych publikacji naukowych pojawiła się podczas wykonywania wstępnych badań w projekcie „Zielone Mleko”, w którym autor rozprawy jako wykonawca projektu oznaczał profil kwasów

tłuszczowych w próbkach żywności. Metody analityczne służące do oznaczania składników próbek żywności należą zazwyczaj do klasycznych metod ekstrakcyjnych, co jest związane z ich czaso- i pracochłonnością, a dodatkowo zużywają one duże ilości rozpuszczalników. Z tego powodu modyfikacje istniejących metod oraz wybór najkorzystniejszej i najbardziej ekologicznej metody jest bardzo istotny.

Spójność tematyczna cyklu publikacji wchodzących w zakres rozprawy doktorskiej wynika z konsekwencji w dążeniu do opracowania ekologicznych metod analitycznych służących do oznaczania zanieczyszczeń środowiska, tj. benzofenonów oraz parabenów, w próbkach wody i kosmetyków oraz ocena ich „ekologiczności” z zastosowaniem różnych narzędzi metrycznych.

Autor niniejszej rozprawy doktorskiej miał udział większościowy w zaplanowaniu i przeprowadzeniu badań naukowych, opracowaniu wyników, przygotowaniu publikacji naukowych oraz ich redakcji we współpracy z promotorem oraz promotorem pomocniczym.

3.1. WYKAZ SKRÓTÓW

μ-MSPD – dyspersyjna ekstrakcja w fazie stałej mikro-matrycy (ang. *micro-matrix solid-phase dispersion*)

ACN – acetonitryl (ang. *acetonitrile*)

ATR – spektroskopia osłabionego całkowitego odbicia w podczerwieni (ang. *attenuated total reflectance*)

BP – benzofenon (ang. *benzophenone*)

BP1 – benzofenon-1 (ang. *benzophenone-1*)

BP3 – benzofenon-3 (ang. *benzophenone-3*)

BP8 – benzofenon-8 (ang. *benzophenone-8*)

DAD – detektor z matrycą diodową (ang. *diod array detector*)

DCM – dichlorometan (ang. *dichloromethane*)

DLLME – dyspersyjna mikroekstrakcja ciecz-ciecz (ang. *dispersive liquid-liquid microextraction*)

DmSPE – dyspersyjna mikroekstrakcja do fazy stałej (ang. *dispersive micro solid-phase extraction*)

dSPE – dyspersyjna ekstrakcja do fazy stałej (ang. *dispersive solid-phase extraction*)

EF – współczynnik wzbogacenia (ang. *enrichment factor*)

FID – detektor płomieniowo-jonizacyjny (ang. *flame ionization detector*)

FT-IR – spektroskopia w podczerwieni z transformacją Fouriera (ang. *Fourier-transform infrared spectroscopy*)

GC – chromatografia gazowa (ang. *gas chromatography*)

GC-FID – chromatografia gazowa z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (ang. *gas chromatography - flame ionization-detection*)

GC-MS – chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (ang. *gas chromatography-mass spectrometry*)

HF-LPME – mikroekstrakcja do fazy ciekłej z wykorzystaniem porowatej rurki (ang. *dynamic hollow fiber liquid-phase microextraction*)

K_{ow} – współczynnik podziału oktanol-woda (ang. *octanol-water partition coefficient*)

LOD – rgranica wykrywalności (ang. *limit of detection*)

MeOH – metanol (ang. *methanol*)

MEPS – mikroekstrakcja do upakowanego sorbentu (ang. *microextraction by packed sorbent*)

MNP-dSPME – dyspersyjna mikroekstrakcja do fazy stałej na bazie nanocząsteczek magnetycznych (ang. *magnetic dispersive solid-phase microextraction*)

MS – spektrometria mas (ang. *mass spectrometry*)

MS/MS – tandemowa spektrometria mas (ang. *tandem mass spectrometry*)

NaCl – chlorek sodu (ang. *sodium chloride*)

OE – octan etylu (ang. *ethyl acetate*)

pK_a – stała dysocjacji kwasu (ang. *acid dissociation constant*)

PLE – przyspieszona ekstrakcja za pomocą rozpuszczalnika (ang. *pressurized liquid extraction*)

RSD – względne odchylenie standardowe (ang. *relative standard deviation*)

SBSE – ekstrakcja z wykorzystaniem ruchomego elementu sorpcyjnego (ang. *stir bar sorptive extraction*)

SDME – mikroekstrakcja do pojedynczej kropli (ang. *single-drop microextraction*)

SEM – skaningowa mikroskopia elektronowa (ang. *scanning electron microscopy*)

SPE – ekstrakcja do fazy stałej (ang. *solid-phase extraction*)

SPME – mikroekstrakcja do fazy stałej (ang. *solid-phase microextraction*)

USAEME – mikroekstrakcja poprzez emulgację wspomaganą ultradźwiękami (ang. *ultrasound-assisted emulsification microextraction*)

US-VA-DLLME – dyspersyjna mikroekstrakcja ciecz-ciecz wspomagana ultradźwiękami oraz wirowaniem (ang. *ultrasound-vortex-assisted dispersive liquid-liquid microextraction*)

3.2. HIPOTEZA BADAWCZA, CEL I ZAKRES BADAŃ

W przedstawionej pracy pt. „Opracowanie i ocena proekologicznych rozwiązań dedykowanych do oznaczania zanieczyszczeń w próbkach środowiskowych” założono następujące hipotezy badawcze:

- istnieje możliwość opracowania metody analitycznej zgodnej z zasadami białej i zielonej chemii analitycznej pozwalającej na oznaczenie zanieczyszczeń w próbkach środowiskowych;
- istnieje możliwość opracowania metody analitycznej pozwalającej na oznaczanie śladowych ilości zanieczyszczeń w próbkach środowiskowych, która przynosi ekonomiczne i ekologiczne korzyści;
- możliwe jest wykorzystanie bioodpadów jako skutecznych biosorbentów do oznaczania śladowych ilości zanieczyszczeń środowiska;
- narzędzia metryczne do oceny „zieloności” i praktyczności procedur analitycznych pozwalają na kompleksową ocenę ich ekologiczności.

Głównym celem przeprowadzonych prac badawczych, było zastosowanie zasad białej i zielonej chemii analitycznej w opracowaniu metod analitycznych do oznaczania zanieczyszczeń w próbkach środowiskowych oraz ocena ich oddziaływania na środowisko i człowieka za pomocą wybranych narzędzi metrycznych.

Wobec tak sformułowanego celu głównego, zakres badań obejmował:

- dokonanie przeglądu literaturowego dotyczącego stosowanych metod do oznaczania zanieczyszczeń, tj. filtrów UV, w próbkach kosmetyków, płynów biologicznych oraz tkanek;
- opracowanie metody mikroekstrakcji do upakowanego sorbentu do oznaczania benzofenonów w próbkach wody i kosmetyków;
- porównanie zaproponowanej metody mikroekstrakcji do upakowanego sorbentu z klasyczną metodą ekstrakcji do fazy stałej do oznaczania benzofenonów w próbkach wody i kosmetyków;
- ocena metod analitycznych do oznaczania filtrów UV w próbkach wody i kosmetyków pod kątem ekologiczności za pomocą narzędzi metrycznych;
- opracowanie dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej wykorzystującej biosorbent do oznaczania benzofenonów i parabenów w próbkach wody;
- otrzymanie i wykonanie charakterystyki biosorbentów stosowanych w metodzie do oznaczania benzofenonów i parabenów w próbkach wody;
- zastosowanie narzędzi metrycznych do oceny zielonego charakteru metod do oznaczania profilu kwasów tłuszczowych w próbkach żywności, tj. mleka i sera.

3.3. MATERIAŁY I METODY BADAŃ

3.3.1. Materiały stosowane podczas badań

3.3.1.1. Publikacja [P2]

W badaniach opisanych w publikacji [P2] do przeprowadzenia ekstrakcji do fazy stałej wykorzystano 6 ml kolumnienki ekstrakcyjne wypełnione złożem sorpcyjnym C18 o masie 1000 mg (Supelco, Bellefonte, PA, USA), natomiast do wykonania mikroekstrakcji do upakowanego sorbentu wykorzystano złożę sorpcyjne C18 o masie 4 mg (SGE, Trajan Scientific Australia Pty Ltd., Ringwood, Australia).

Podczas badań wykorzystano roztwory wodne przygotowane z produktów kosmetycznych, tj. szampon do włosów (Schwarzkopf Schauma: 7 ziół) oraz maska do włosów (Kallos Color), które zostały zakupione w lokalnej drogerii kosmetycznej.

3.3.1.2. Publikacja [P3]

W celu dokonania oceny ekologiczności metod analitycznych służących do oznaczania profili kwasów tłuszczowych w próbkach mleka, w publikacji [P3] do badań wykorzystano próbkę mleka pochodzącą z lokalnego gospodarstwa mieszczącego się na terenie województwa pomorskiego. Próbka ta została pobrana podczas popołudniowego udoju mleka, zawartość tłuszczu wyniosła 3,9 %. Pobrana próbka była przechowywana w zamrażalniku w temperaturze -18°C, a następnie była odmrażana w laboratorium w celu przeprowadzenia badań.

3.3.1.3. Publikacja [P4]

W przypadku oznaczania profili kwasów tłuszczowych w próbkach serów, do przeprowadzenia badań przedstawionych w publikacji [P4] użyto próbkę sera typu Gouda wyprodukowanego z mleka krowiego przez mleczarnię Spomlek (oddział Chojnice, województwo pomorskie). Próbka sera została pokrojona na mniejsze kawałki, zapakowana próżniowo i zamrożona w temperaturze -18°C. W celu przeprowadzenia badań próbka była odmrażana i ścierana na wiórki za pomocą tarki.

3.3.1.4. Publikacja [P7]

W badaniach zawartych w publikacji [P7] jako sorbenty w opracowanej metodzie dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej wykorzystano skorupy orzechów: włoskiego, laskowego, ziemnego oraz pistacji. Skorupy orzechów pozyskano kupując orzechy ze skorupami w sklepie spożywczym w Bydgoszczy. Po oddzieleniu skorup od orzechów, skorupy te zostały obficie przepłukane wodą kranową w temperaturze pokojowej. Następnie materiały te suszono w suszarce laboratoryjnej przez 12 godzin w temperaturze 80°C. Po wysuszeniu, skorupy były mielone przy użyciu młynka laboratoryjnego (Polymix PX MFC 90D, Kinematica, Szwajcaria), a następnie otrzymane cząstki były rozdrabniane na mniejsze cząstki stosując młyn nożowy (Grindomix GM 200, Retsch, Niemcy). Tak otrzymane cząstki umieszczano w zlewce laboratoryjnej i materiał przemywano gorącą wodą (temperatura około 80°C) do uzyskania bezbarwnego przesączu. Następnie sorbent doczyszczano poprzez zastosowanie octanu etylu. Na koniec materiał suszono w suszarce laboratoryjnej przez 12 godzin w temperaturze 80°C. Przygotowane biosorbenty przechowywano w szczelnie zamkniętych pojemnikach.

Analizę strukturalną otrzymanych biosorbentów przeprowadzono z zastosowaniem spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera i całkowitym osłabionym odbiciem przy użyciu aparatu ALPHA (Bruker, Berlin, Niemcy). Natomiast morfologię biosorbentów

obserwowano za pomocą skaningowej mikroskopii elektronowej przy użyciu mikroskopu LEO Electron Microscopy Ltd. 1430 VP (Cambridge, Wielka Brytania).

3.3.2. Metody badań

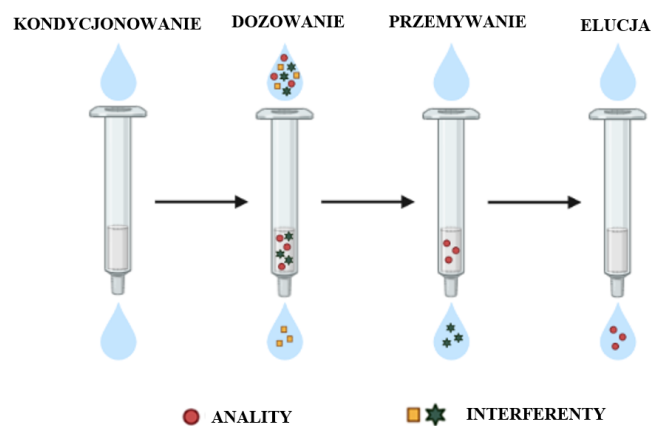
Metody wykorzystywane podczas prowadzenia badań zostały podzielone na:

- metody wykorzystane do oznaczania benzofenonów i parabenów w próbkach wody oraz kosmetyków;
- metody wykorzystywane do oznaczania profili kwasów tłuszczowych w próbkach mleka oraz sera.

3.3.2.1. Warunki prowadzenia metod ekstrakcyjnych do oznaczania benzofenonów i parabenów

3.3.2.1.1. Ekstrakcja do fazy stałej

Metoda ekstrakcji do fazy stałej służąca do oznaczania benzofenonów w próbkach wody i kosmetyków została wykorzystana w publikacji [P2] i opierała się na procedurach analitycznych opisanych przez Giokasa i współautorów [32] oraz Lambropoulou i współautorów [33]. Metoda ta polega na przepuszczeniu roztworów wody oraz kosmetyku przez kolumnkę ekstrakcyjną, w której znajduje się złożo sorbentu. Efektem tego działania jest zaadsorbowanie analitów na cząsteczkach złoża. Następnie złożo przemywa się odpowiednio dobranym rozpuszczalnikiem w celu usunięcia substancji przeszkadzających. Kolejnym etapem ekstrakcji jest wymycie zaadsorbowanych analitów za pomocą niewielkiej ilości rozpuszczalnika. Tak otrzymany ekstrakt analizuje się metodą chromatografii gazowej. Schemat ekstrakcji do fazy stałej został przedstawiony na poniższym schemacie (Rysunek 6).



Rys. 5. Schemat ekstrakcji do fazy stałej

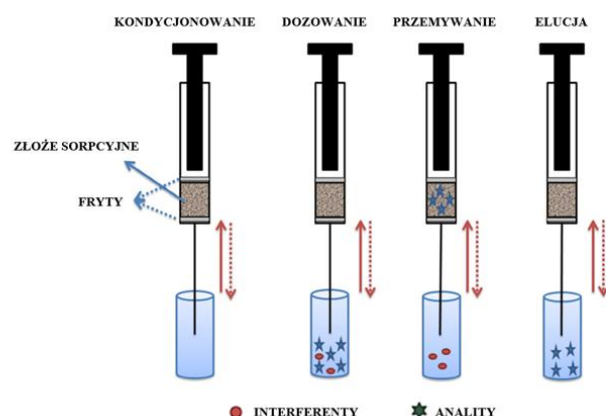
W poniższej tabeli (Tabela 2) przedstawiono warunki prowadzenia ekstrakcji do fazy stałej opisanej w publikacji [P2].

Tabela 2. Warunki prowadzenia SPE

Rodzaj złoza w kolumnie	C18
Ilość i rodzaj rozpuszczalnika użytego do kondycjonowania złoza	5 ml OE + 5 ml DCM
Ilość roztworu wodnego	500 ml
Ilość roztworu kosmetyku	100 ml
Ilość i rodzaj rozpuszczalnika użytego do przemywania złoza	5 ml wody destylowanej
Ilość i rodzaj rozpuszczalnika użytego do elucji analitów	5 ml mieszaniny OE:DCM (1:1; v:v)

3.3.2.1.2. Mikroekstrakcja do upakowanego sorbentu

Mikroekstrakcja do upakowanego sorbentu została opracowana do oznaczania benzofenonów w próbkach wody i kosmetyków (publikacja [P2]). Mikroekstrakcja ta jest miniaturyzacją SPE i wykorzystuje strzykawkę, we wnętrzu której umieszczone jest złoże sorpcyjne. Różnica pomiędzy MEPS a SPE polega na tym, że w SPE przepływ roztworu odbywa się w jednym kierunku (roztwór przepuszcza się przez złoże sorpcyjne), natomiast w MEPS przepływ roztworu odbywa się dwukierunkowo. Mikroekstrakcja do upakowanego sorbentu obejmuje podobne etapy jak w metodzie SPE. Po kondycjonowaniu złoza, odpowiednią ilość próbki przepuszcza się w strzykawce przez sorbent poprzez wielokrotne pobieranie i wypuszczanie próbki. Następnie złoże sorpcyjne przepłukuje się małą objętością rozpuszczalnika, aby usunąć substancje przeszkadzające. W kolejnym kroku złoże należy wysuszyć, po czym następuje elucja analitów ze złoza bezpośrednio do dozownika chromatografu gazowego. Schemat wykonywania mikroekstrakcji do upakowanego sorbentu przedstawiono na Rysunku 6.



Rys. 6. Schemat mikroekstrakcji do upakowanego sorbentu [34]

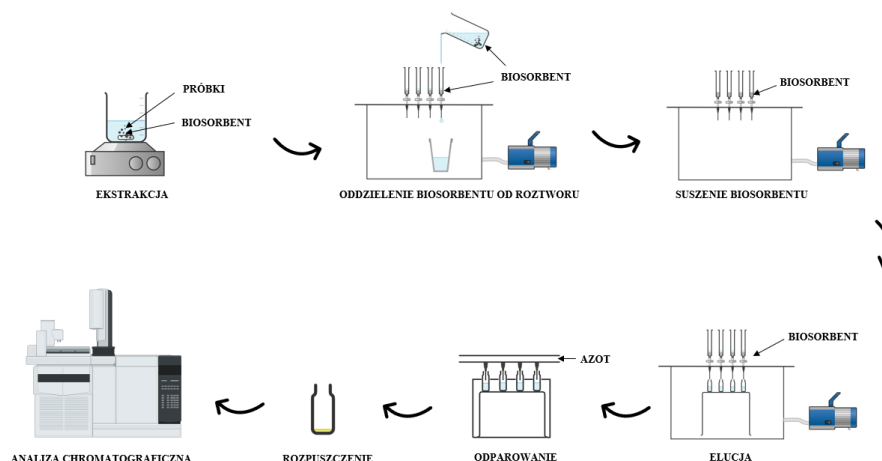
W poniższej tabeli (Tabela 3) zaprezentowano warunki prowadzenia mikroekstrakcji do upakowanego sorbentu przedstawionej w publikacji [P2].

Tabela 3. Warunki prowadzenia MEPS

Rodzaj złoza w kolumnie	C18
Ilość i rodzaj rozpuszczalnika użytego do kondycjonowania złoza	0,25 ml mieszaniny OE:DCM (1:1; v:v) + 0,25 ml wody destylowanej
Ilość roztworu wodnego	2 ml
Ilość roztworu kosmetyku	2 ml
Ilość i rodzaj rozpuszczalnika użytego do przemywania złoza	250 µl wody destylowanej
Ilość i rodzaj rozpuszczalnika użytego do elucji analitów	100 µl OE

3.3.2.1.3. Dyspersyjna ekstrakcja do fazy stałej

W publikacji [P7] przedstawiono wyniki nad opracowaną metodą ekstrakcyjną oznaczania benzofenonów i parabenów w próbkach wody z wykorzystaniem naturalnych sorbentów. Proponowana metoda oparta jest na dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej, która z kolei jest alternatywną wersją klasycznej ekstrakcji do fazy stałej. W metodzie tej podczas mieszania sorbent jest rozproszony w matrycy próbki zamiast umieszczany w klasycznej kolumnie ekstrakcyjnej. W opracowanej metodzie, po upływie określonego czasu ekstrakcji próbki, roztwór wraz z sorbentem przenosi się do pustej kolumnienki ekstrakcyjnej. Roztwór zostaje usunięty, a sorbent z zaadsorbowanymi analitami zostaje wysuszony. Kolejnymi krokami są elucja analitów ze sorbentu i zatężenie próbki. Otrzymany ekstrakt zostaje poddany analizie chromatograficznej zgodnie z przedstawionym schematem (Rysunek 7).



Rys. 7. Schemat dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej z wykorzystaniem biosorbentu [P7]

W poniższej tabeli (Tabela 4) przedstawiono warunki prowadzenia dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej zaproponowanej w publikacji [P7].

Tabela 4. Warunki prowadzenia dSPE

Rodzaj sorbentu	skorupy orzechów
Ilość roztworu wodnego	10 ml
Ilość i rodzaj rozpuszczalnika użytego do elucji analitów	750 µl mieszaniny OE:ACN (1:1; v:v)

3.3.2.2. Oznaczanie profili kwasów tłuszczowych w próbkach żywności

W celu porównania ekologiczności metod analitycznych do oznaczania profili kwasów tłuszczowych w próbkach mleka i sera, w publikacjach [P3] oraz [P4] przygotowywano próbki do analizy chromatograficznej z wykorzystaniem metod, które zostały opisane w literaturze. Oznaczanie profili kwasów tłuszczowych w próbce mleka przeprowadzono za pomocą ośmiu metod. Metody te różniły się między sobą sposobem ekstrakcji, to znaczy wykorzystywały zarówno bezpośrednio surowe mleko, ale również odwirowany z niego tłuszcz. Ponadto, wykorzystywały różne ilości i rodzaje stosowanych odczynników do prowadzenia derywatyzacji badanych związków. W niektórych metodach próbki były poddawane inkubacji, a w innych metodach nie wykonywanego tego etapu. Podobne różnice można zaobserwować dla metod oznaczania profili kwasów tłuszczowych w próbkach sera przedstawionych w publikacji [P4].

3.3.3. Aparatura wykorzystywana podczas badań

Do oznaczania zawartości badanych analitów wykorzystano technikę chromatografii gazowej, stosując zarówno chromatografię gazową z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym, jak i chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas.

W przypadku oznaczania zawartości benzofenonów w próbkach wody i kosmetyków w publikacji [P2] wykorzystano chromatograf gazowy Agilent 7890B (Agilent, Santa Clara, CA, USA) sprzężony ze spektrometrem mas Agilent 5977B (Agilent, Santa Clara, CA, USA). Do oznaczania analitów zastosowano kolumnę kapilarną ZB-5MS (Zebron, Phenomenex Inc., Torrance, CA, USA) o długości 30 m, średnicy zewnętrznej 0.25 mm oraz grubości warstwy stacjonarnej 0.25 µm.

Z kolei w publikacjach [P3] oraz [P4], w których oznaczano profil kwasów tłuszczowych w produktach spożywczych wykorzystano chromatograf gazowy Agilent 7890B (Agilent, Santa Clara, CA, USA) wyposażony w detektor płomieniowo-jonizacyjny. W badaniach tych wykorzystano kolumnę SP-2380 (Supelco, Bellafonte, PA, USA) o wymiarach 30 m × 0.25 mm × 0.20 µm.

Natomiast w publikacji [P7] do oznaczania benzofenonów i parabenów w próbkach wody ponownie zastosowano chromatograf gazowy Agilent 7890B (Agilent, Santa Clara, CA, USA) wyposażony w detektor płomieniowo-jonizacyjny. W tych badaniach wykorzystano kolumnę chromatograficzną ZB-5 (Zebron, Phenomenex Inc., Torrance, CA, USA) o takich samych wymiarach, jak w przypadku wyżej kolumny stosowanej w GC-MS.

3.3.4. Narzędzia oceny ekologiczności metod analitycznych

Narzędzia oceny ekologiczności metod analitycznych zostały wykorzystane w większości publikacji stanowiących cykl publikacji niniejszej rozprawy doktorskiej. Do oceny ekologiczności metod analitycznych służących do oznaczania filtrów promieniochronnych w próbkach wody i kosmetyków wykorzystano narzędzia AGREE oraz AGREEprep w publikacji [P5], natomiast w publikacji [P6] zastosowano narzędzia AGREEprep, BAGI oraz RGB 12. W publikacji [P7] wykorzystano narzędzie AGREEprep do oceny opracowanej metody oznaczania benzofenonów i parabenów w próbkach wodnych z zastosowaniem biosorbentów. Z kolei w pracach służących ocenie ekologiczności metod ekstrakcyjnych służących do oznaczania profili kwasów tłuszczowych w próbkach mleka i serów zastosowano Analytical Eco-Scale, GAPI oraz AGREEprep w publikacji [P3] oraz Analytical Eco-Scale oraz AGREEprep w publikacji [P4].

3.4. WYNIKI I DYSKUSJA

3.4.1. Opracowanie procedury analitycznej MEPS w celu oznaczenia benzofenonów w próbkach wody oraz kosmetyków

Z przeglądu literaturowego [P1] wynika, że mikroekstrakcja do upakowanego sorbentu nie była wykorzystywaną metodą do oznaczania filtrów UV w próbkach kosmetyków. W związku z tym podjęto próbę opracowania metody MEPS/GC-MS do oznaczania BP3 w próbkach kosmetyków [P2]. Jednocześnie postanowiono opracować MEPS do oznaczania BP1, BP3 oraz BP8 w próbkach wody. Następnie zaproponowaną metodę porównano z popularnie wykorzystywaną w laboratoriach badawczych klasyczną SPE.

Podczas przeglądu kosmetyków w lokalnej drogerii stwierdzono, że spośród całej grupy benzofenonów, w składzie produktów kosmetycznych występują głównie BP3, w związku z tym wyłącznie ten związek oznaczano podczas opracowywania metody MEPS w złożonej matrycy kosmetyku. Natomiast w przypadku opracowywania metody MEPS do oznaczania benzofenonów w próbkach wody wybrano BP1, BP3 oraz BP8, w związku z możliwością pochodzenia tych zanieczyszczeń w środowisku wodnym nie tylko z produktów kosmetycznych, ale również z ich zastosowaniu w produkcji tekstyliów, tworzyw sztucznych czy opakowań do przechowywania żywności [35].

Pierwszym etapem niniejszej pracy był dobór warunków analizy chromatograficznej do oznaczania badanych związków, tj. BP1, BP3 i BP8. Wszystkie anality charakteryzowały się dobrą liniowością w zakresie 2,5-600 µg/l ($R^2 > 0,984$), granicą wykrywalności (34-70 ng/ml) oraz precyzją instrumentalną ($RSD < 6,3\%$). Zadawalające parametry analizy chromatograficznej pozwoliły na przeprowadzenie badań optymalizacyjnych dla metod analitycznych pozwalających na oznaczanie benzofenonów w próbkach wodnych. W pracy posłużono się metodą SPE zaproponowaną przez Giokasa i współautorów [33] w 2004 roku. Ze względu na uzyskanie wysokich wartości odzysków (101-107%) oraz niskich wartości precyzji (<13,4%) dla badanych analitów, nie wprowadzono żadnych modyfikacji do procedury SPE. Zastosowanie dużej objętości badanej próbki (500 ml) w SPE wpływa na otrzymanie wysokiego współczynnika wzbogacenia (około 1000), co z kolei ma znaczenie przy oznaczaniu benzofenonów na niskich poziomach stężeń. Parametry walidacyjne określone dla SPE podano w Tabeli 5.

Tabela 5. Parametry walidacyjne wyznaczone dla metody SPE do oznaczania benzofenonów w próbkach wody

Analit	Precyzja intra-day (RSD, %) (n=6)		Precyzja inter-day (RSD, %) (n=6)		Odzysk oznaczony przy stężeniu 5 µg/l (%)	LOD* (µg/l)	EF**
	5 µg/l	50 µg/l	5 µg/l	50 µg/l			
BP1	9,0	7,7	10,8	8,0	101	0,034	1010
BP3	8,2	11,2	8,6	11,0	105	0,050	1050
BP8	11,8	11,0	10,9	13,4	107	0,067	1070

* LOD – granica wykrywalności

** EF – współczynnik wzbogacenia

Mając na uwadze satysfakcjonujące wartości otrzymanych parametrów walidacyjnych przy zastosowaniu kolumnienek ekstrakcyjnych C18 w metodzie SPE, w opracowywanej metodzie MEPS również wykorzystano ten rodzaj złoża sorpcyjnego. Opierając się na procedurze SPE, w metodzie MEPS wykorzystano 250 µl OE oraz 250 µl DCM jako rozpuszczalniki do kondycjonowania złoża oraz 100 µl mieszaniny OE:DCM (1:1, v:v) jako rozpuszczalnik do elucji analitów. Przy zastosowaniu tych parametrów odzysk analitów wyniósł około 80% dla BP1 i BP8 oraz 90% dla BP3. W związku z tym sprawdzono czy złożo sorpcyjne nie zostało przeładowane zbyt dużą ilością analitów oraz czy rodzaj i ilość rozpuszczalnika zastosowanego do wymycia analitów ze złoża została odpowiednio dobrana. Otrzymane wyniki wskazują, że nie stwierdzono przeładowania złoża sorpcyjnego przy naniesieniu 2 ml badanej próbki. Natomiast zauważono, że większa objętość zastosowanego rozpuszczalnika do elucji analitów (100 µl), ma wpływ na wzrost jej wydajności. Ponadto stwierdzono, że wpływ na efektywność elucji ma również krotność jej wykonywania. W badaniach zaobserwowano, że wykonanie elucji analitów ze złoża za pomocą dwóch objętości rozpuszczalnika (2×50 µl), zwiększa jej wydajność o ponad 10% w porównaniu do elucji za pomocą jednej objętości rozpuszczalnika (100 µl). Dodatkowo zbadano wpływ zastosowanego rozpuszczalnika na wydajność przeprowadzonej ekstrakcji. Badania wykazały, że spośród badanych rozpuszczalników, tj. OE, DCM i mieszaniny OE:DCM (1:1, v:v), największą efektywność ekstrakcji osiągnięto przy zastosowaniu OE. Wydajność ta była wyższa o nawet 40% w porównaniu do pozostałych badanych rozpuszczalników. Stwierdzono, że metoda MEPS ma bardzo niski współczynnik wzbogacenia (około 20), co wynika z zastosowania małej ilości próbki badanej. Skutkiem tego jest możliwość wykorzystania metody MEPS wyłącznie do oznaczania wyższych stężeń analitów w badanej próbce. Przy ustalonych warunkach prowadzenia MEPS określono parametry walidacyjne, które zostały zebrane w Tabeli 6.

Tabela 6. Parametry walidacyjne wyznaczone dla metody MEPS do oznaczania benzofenonów w próbkach wody

Analit	Precyzja intra-day (RSD, %) (n=6)		Precyzja inter-day (RSD, %) (n=6)		Odzysk oznaczony przy stężeniu 5 µg/l (%)	LOD* (µg/l)	EF**
	5 µg/l	50 µg/l	5 µg/l	50 µg/l			
BP1	14,2	7,6	18,8	11,2	96	1,8	20
BP3	11,8	4,0	14,8	6,6	90	2,9	18
BP8	15,6	6,6	17,2	9,6	106	3,2	21

* LOD – granica wykrywalności

** EF – współczynnik wzbogacenia

Pomimo przedstawionej wady MEPS jaką jest niski współczynnik wzbogacenia, należy podkreślić zalety tej metody, a mianowicie szybkość, łatwość w wykonaniu, a także zużycie małej objętości próbki badanej oraz innych odczynników. Dodatkowo, w metodzie MEPS sorbent może być używany wielokrotnie. Zgodnie z informacjami podawanymi przez producenta oraz z doniesień literaturowych [34, 36], sorbent można wykorzystywać nawet do około 100 ekstrakcji w zależności od matrycy próbki badanej. Stabilność sorbentu sprawdzono poprzez porównanie skuteczności zużytego oraz nowego złoża. Stwierdzono,

że w przypadku analizy benzofenonów z próbek wody, po wykonaniu około 100 ekstrakcji, wydajność ekstrakcji zmalała o około 10%. Natomiast w przypadku analizy BP3 w próbce kosmetyku, wydajność ekstrakcji obniżyła się o około 20% po przeprowadzeniu około 70 ekstrakcji.

W kolejnej części badań sprawdzono, czy opracowane metody oznaczania benzofenonów w próbkach wody można z powodzeniem zastosować do oznaczania benzofenonów w próbkach kosmetyków. W tym celu wykorzystano maskę do włosów zawierającą w swoim składzie BP3 oraz szampon do włosów nie zawierający filtrów UV w swojej kompozycji. Po odpowiednim przygotowaniu roztworów wodnych podanych kosmetyków, roztwory poddano ekstrakcji SPE i MEPS zgodnie z procedurą przedstawioną dla próbek wodnych. W celu sprawdzenia selektywności metody oraz możliwości oznaczenia BP3, otrzymane ekstrakty analizowano metodą chromatograficzną. Identyfikację oznaczanego BP3 potwierdzono metodą dodatku wzorca wewnętrznego oraz biblioteką widm masowych.

Najważniejszymi parametrami walidacyjnymi pozwalającymi na ilościowe oznaczanie BP3 w próbkach kosmetyków za pomocą opracowanych metod MEPS i SPE są odzysk i precyzja. Parametry te zostały określone poprzez dodatek wzorca BP3 w ilości 0,033% oraz 0,33% do szamponu, który nie zawierał w swoim składzie filtrów UV. Wyniki badań przedstawiono w Tabeli 7.

Tabela 7. Wybrane parametry walidacyjne wyznaczone dla metody MEPS oraz SPE do oznaczania benzofenonów w próbkach kosmetyków

Analit	SPE						MEPS					
	Precyzja intra-day (RSD, %) (n = 6)		Precyzja inter-day (RSD, %) (n = 6)		Odzysk (%)		Precyzja intra-day (RSD, %) (n = 6)		Precyzja inter-day (RSD, %) (n = 6)		Odzysk (%)	
	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**	*	**
BP3	11,5	12,4	13,8	14,0	69,5	58,2	3,9	14,4	6,6	15,5	69,7	44,0

* 0,033% dodatku BP3 do próbki kosmetyku

** 0,33% dodatku BP3 do próbki kosmetyku

Mając na uwadze niskie stężenie BP3 w badanym roztworze oraz złożony charakter matrycy, otrzymane wartości precyzji wyrażone jako względne odchylenie standardowe (RSD, %) można uznać za zadowalające. Z kolei dokładność metod, wyrażona jako odzysk, obliczono jako stosunek stężenia oznaczonego do stężenia teoretycznego po dodaniu próbki. Dokładność była wyższa (około 70%) dla obu metod w przypadku niższego stężenia BP3 (0,033%) w próbce szamponu. Natomiast wyższe stężenie BP3 (0,33%) w próbce szamponu spowodowało zmniejszenie odzysku do 44% w przypadku MEPS i 58% dla SPE, co świadczy o wpływie matrycy na przeprowadzone oznaczenie. Ponadto, na podstawie otrzymanych wyników można zauważyć, że odzysk jest znacznie niższy dla metody MEPS w porównaniu do SPE. Możliwym wytłumaczeniem tego zjawiska jest mała ilość złoża sorpcyjnego, a tym samym wysoka wrażliwość na tzw. efekty matrycowe. W takiej sytuacji, w celu polepszenia odzysku należałoby przygotować roztwór wodny z niższą zawartością kosmetyku i zastosować bardziej czuły detektor, np. detektor MS-MS.

Ze względu na złożony skład kosmetyków oraz otrzymane stosunkowo niskie wartości odzysków BP3 zarówno metodą MEPS, jak i SPE, założono, że najbardziej odpowiednią metodą ilościowej analizy benzofenonów w próbkach kosmetyków będzie metoda kalibracji z dodatkiem standardu.

W przypadku przedstawionej pracy, do przeprowadzenia analizy ilościowej wykorzystana została maska do włosów, która w swoim składzie zawierała BP3. Do odważonych masek dodano różne ilości wzorca BP3. Zawartość BP3 w próbce maski została obliczona metodą wzorca wewnętrznego. Współczynniki korelacji liniowej (R^2) dla krzywych kalibracyjnych dla obu wykonanych metod wynosiły powyżej 0,99. Na podstawie wykonanych obliczeń, wyniki badań wynosiły odpowiednio 0,059% dla metody SPE i 0,065% dla MEPS. Dodatkowo, przeprowadzono testy F-Snedecora oraz t-Studenta dla określenia wartości precyzji i dokładności obu metod. Na podstawie otrzymanych wyników nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic pomiędzy precyzją i dokładnością obu metod. Dodatkowo potwierdzono również przydatność obu zaproponowanych metod oznaczania BP3 w próbkach innych kosmetyków, tj. szamponów, masek do włosów i żelu do stylizacji włosów. Otrzymane wyniki dla obu metod wykazały zadawalającą korelację ($R^2 = 0,9676$). Wyniki potwierdzają możliwość zastosowania obu opracowanych metod do ilościowego oznaczania BP3 w próbkach kosmetyków.

Przeprowadzone badania wykazały, że obie opracowane metody analityczne, tj. MEPS oraz SPE, są w pełni przydatne do oznaczania benzofenonów w próbkach kosmetyków i wody. Przedstawiona metoda MEPS jest metodą alternatywną dla klasycznej SPE w oznaczaniu filtrów UV. Obu metodom można przypisać zarówno zalety, jak i wady. W przypadku metody SPE otrzymano satysfakcjonujące wyniki wydajności analitycznej – niskie granice wykrywalności analitów, niskie wartości precyzji, wysokie odzyski, jednak metoda ta charakteryzuje się zużyciem dużych ilości odczynników i próbki, czaso- i pracochłonnością. Natomiast metoda MEPS odznacza się szybkością, prostotą i niewielkimi kosztami, z drugiej strony metoda ta ze względu na małą powierzchnię sorpcyjną może ograniczać się do oznaczania wyłącznie analitów na wysokich stężeniach. Jednakże, można stwierdzić, że obie metody są metodami odpowiednimi i zalecanymi do stosowania w kontroli jakości produktów kosmetycznych oraz w monitoringu zanieczyszczeń środowiska.

3.4.2. Ocena ekologiczności metod analitycznych do oznaczania filtrów UV w próbkach kosmetyków

Opisane w publikacji [P2] metody służące do oznaczania BP3 w próbkach kosmetyków zostały w publikacji [P5] poddane ocenie ekologiczności za pomocą specjalnych narzędzi metrycznych, a następnie zostały porównane pod kątem „zieloności” z innymi, opisanymi w literaturze, metodami analitycznymi do oznaczania filtrów promieniochronnych w próbkach kosmetyków. Oprócz dwóch metod opisanych w publikacji [P2], tj. SPE (Metoda 4) oraz MEPS (Metoda 6), wybrano dodatkowo osiem metod analitycznych, które polegały odpowiednio na rozpuszczeniu próbki kosmetyku w rozpuszczalniku (Metoda 1 [37] oraz Metoda 2 [38]), ekstrakcji rozpuszczalnikowej (Metoda 3 [39]), przyspieszonej ekstrakcji cieczą pod ciśnieniem za pomocą rozpuszczalnika – PLE (Metoda 5 [40]), dyspersyjnej ekstrakcji w fazie stałej mikro-matrycy - μ -MSPD (Metoda 7 [41]), dyspersyjnej mikroekstrakcji do fazy stałej na bazie nanocząsteczek magnetycznych - MNP-dSPME (Metoda 8 [42]), dyspersyjnej mikroekstrakcji ciecz-ciecz wspomaganiej ultradźwiękami oraz wirowaniem – US-VA-DLLME (Metoda 9 [43]) oraz mikroekstrakcji do fazy ciekłej z wykorzystaniem porowatej rurki - HF-LPME (Metoda 10 [44]). W celu przeprowadzenia porównania „zieloności”, ocenie poddano wyłącznie metody analityczne, które wykorzystywały metody chromatograficzne do końcowych oznaczeń. Spośród wszystkich poddawanych ocenie metod, pięć z nich wykorzystywało chromatografię cieczową, a kolejne pięć – chromatografię gazową.

W wyniku przeprowadzonej oceny AGREEprep, najniższy wynik oceny – 0,19 – otrzymała metoda PLE. Metoda ta pozwoliła na jednoczesną analizę 16 filtrów UV, a poprzez wykorzystanie ekstraktora rozpuszczalnikowego zaliczono ją do metod półautomatycznych. Jednak pomimo tych zalet, pozostałe kryteria oceny AGREEprep, tj. zużycie energii, ilość toksycznych odczynników czy ilość wygenerowanych odpadów, otrzymały bardzo niskie wyniki. Niewiele wyższy wynik (0,26) otrzymały metody SPE oraz Metoda 2 polegająca na rozpuszczeniu próbki kosmetyku za pomocą metanolu. Na otrzymanie tak niskiego wyniku oceny AGREEprep w przypadku metody SPE wpływ miał długi czas potrzebny na przeprowadzenie tej metody, wykorzystanie bardzo dużej ilości rozpuszczalników oraz ilość wygenerowanych odpadów. Jedynymi kryteriami ocenionymi „na zielono” była ilość zastosowanej próbki oraz niewielkie zużycie energii. Z kolei w Metodzie 2, na otrzymanie tak niskiego wyniku, wpłynęło przede wszystkim zastosowanie 10 ml toksycznego metanolu oraz długotrwała sonikacja próbki. Podobnie niski wynik oceny AGREEprep (0,29) otrzymała metoda US-VA-DLLME, w której zastosowano toksyczne odczynniki oraz wygenerowano dużą ilość odpadów. Identyczne wyniki oceny AGREEprep (0,33) otrzymały również metody dSPME oraz Metoda 1. Otrzymany wynik dSPME związany jest z wygenerowaniem dużej ilości odpadów oraz małą liczbą oznaczanych analitów, z kolei niski wynik Metody 1 wynika z użycia dużej ilości etanolu potrzebnego do rozpuszczenia próbki kosmetyku. Wyższe wyniki ocen AGREEprep (0,36) osiągnęły metody HF-LPME oraz μ -MSPD, co wynika z braku lub niewielkiej ilości potrzebnej energii oraz małej ilości powstających odpadów. Najwyższe wyniki oceny AGREEprep (0,41) otrzymały metody MEPS oraz metoda ekstrakcji rozpuszczalnikowej. W przypadku obu tych metod wykorzystano bardzo małą ilość próbki kosmetyku oraz rozpuszczalników, co z kolei wpłynęło na niewielką ilość wygenerowanych odpadów. W przypadku metody MEPS należy również podkreślić pozytywnie wpływającą miniaturyzację metody na ogólny wynik oceny.

Z kolei najniższe wyniki (0,38) oceny „zieloności” uzyskane za pomocą narzędzia AGREE, tak jak i w przypadku oceny AGREEprep, otrzymała metoda PLE, ale również metoda SPE. W przypadku metody PLE niski wynik oceny związany jest z przeprowadzaniem godzinnej depriwatyizacji oraz zastosowaniem energochłonnego detektora MS/MS. Natomiast, w metodzie SPE wpływ na to miał brak miniaturyzacji oraz automatyzacji metody, ale również zastosowanie energochłonnego detektora MS. Podobnie niski wynik oceny AGREE (0,39) otrzymała metoda ekstrakcji rozpuszczalnikowej, która charakteryzuje się niską przepustowością próbek, zastosowaniem derywatyizacji oraz wysokie zużycie energii. Stosunkowo niski wynik oceny AGREE (0,43) otrzymała Metoda 2, na co wpływ miał długi czas potrzebny na przygotowanie próbki, ale również duże zużycie energii podczas stosowania ultradźwięków. Z kolei bardzo duże zużycie toksycznych rozpuszczalników do przeprowadzenia analizy HPLC wpłynęło na dobry wynik oceny metody US-VA-DLLME, wynoszący 0,47. Minimalnie wyższy wynik oceny AGREE (0,48) otrzymały aż trzy metody – MEPS, μ -MSPD oraz Metoda 1. W przypadku metody MEPS wpływ na otrzymanie takiego wyniku miało zastosowanie bardzo małej ilości toksycznych odczynników oraz wygenerowanych odpadów. Z drugiej strony na obniżenie wyniku tej metody oraz metody μ -MSPD miało wykorzystanie do analizy chromatograficznej energochłonnych detektorów MS oraz brak odczynników pochodzących ze źródeł odnawialnych. Natomiast w Metodzie 1 zastosowano etanol ze źródeł odnawialnych co miało pozytywny wpływ na ocenę kryterium 10 oceny AGREE, jednak w tej metodzie na obniżenie ogólnego wyniku wpłynęło wygenerowanie dużych ilości odpadów oraz potrzebny długi czas na przeprowadzenie analizy chromatograficznej. Najwyższe wyniki oceny AGREE otrzymały metody dSPME (0,52) oraz HF-LPME (0,51). Na uzyskanie takich wyników wpływ miała przede wszystkim mała ilość próbki oraz niskie zużycie energii, a dodatkowo półautomatyzacja metody HF-LPME oraz miniaturyzacja metody dSPME.

Mając na uwadze powyższe, można stwierdzić, że zgodnie z przewidywaniami autora rozprawy metody mikroekstrakcyjne wykazały się dużo większą ekologicznością niż metody klasyczne. Na wynik oceny AGREE bardzo duży wpływ ma rodzaj analizy chromatograficznej. Z jednej strony wykorzystanie chromatografii cieczowej powoduje większe zużycie rozpuszczalników potrzebnych do przeprowadzenia analizy, natomiast z drugiej strony chromatografia gazowa wykorzystuje często wysoce energochłonne detektory MS oraz MS-MS. Ponadto ocena AGREEprep nie jest do końca kompatybilna z oceną AGREE, można to zauważyć na przykład w wynikach oceny metody dSPME. Mając powyższe na uwadze zaleca się, aby dokonywać oceny metod za pomocą obu wspomnianych narzędzi metrycznych. Taka ocena umożliwi wskazanie zarówno pozytywnych, jak i negatywnych stron każdej ocenianej procedury analitycznej.

Należy podkreślić, że oceniane procedury analityczne do oznaczania filtrów UV w próbkach kosmetyków zostały wybrane z dostępnej literatury i na podstawie opisów zawartych w pracach zostały ocenione za pomocą wybranych narzędzi metrycznych. Dzięki przeprowadzonej ocenie możliwe jest wskazanie kryteriów, których ekologiczność można w prosty sposób poprawić. Duży wpływ na ocenę AGREEprep ma liczba jednocześnie oznaczanych analitów, co można stwierdzić na podstawie kryterium 6 AGREEprep – przepustowość próbek. Jest to kryterium, które jest możliwe do skorygowania w większości przedstawionych metod analitycznych. Liczba jednocześnie oznaczanych próbek wiąże się z innymi kryteriami ocen zarówno AGREEprep, jak również AGREE, które mogą wpłynąć w bardzo dużym stopniu na polepszenie ekologiczności danej metody analitycznej. Dodatkowo, w ocenie AGREE duży wpływ na ocenę ekologiczności metody ma również rodzaj zastosowanego detektora. Do rutynowych badań zaleca się stosowanie mniej energochłonnych detektorów, takich jak detektor FID w GC czy detektor DAD w HPLC.

3.4.3. Ocena ekologiczności metod analitycznych do oznaczania filtrów UV w próbkach wody

Mając na uwadze fakt, że filtry UV stanowią coraz poważniejszy problem zanieczyszczenia środowiska wodnego [6], w publikacji [P6] dokonano również oceny ekologiczności dziesięciu metod przygotowania próbek do oznaczania filtrów UV w próbkach wody. W tym celu wykorzystano trzy najpopularniejsze narzędzia metryczne, tj. AGREEprep, BAGI oraz algorytm RGB 12.

Do oceny metod wybrano jedną klasyczną metodę ekstrakcji – SPE [P2] oraz dziewięć metod mikroekstrakcyjnych, tj. ekstrakcję z wykorzystaniem ruchomego elementu sorpcyjnego (SBSE) [45], mikroekstrakcję poprzez emulgację wspomaganą ultradźwiękami (USAEME) [46], dyspersyjną mikroekstrakcję ciecz-ciecz (DLLME) [47], mikroekstrakcję do fazy stałej z wykorzystaniem derywatyzacji (SPME z derywatyzacją) [48], zautomatyzowaną mikroekstrakcję do upakowanego sorbentu (zautomatyzowana MEPS) [49], manualną mikroekstrakcję do upakowanego sorbentu (MEPS) [P2], dyspersyjną mikroekstrakcję do fazy stałej (DmSPE) [50], mikroekstrakcję do pojedynczej kropli (SDME) [51] oraz klasyczną mikroekstrakcję do fazy stałej (SPME) [52].

W celu umożliwienia oceny ekologiczności wyłącznie etapu przygotowania próbki, wszystkie oceniane metody wykorzystywały do analizy związków chromatografię gazową sprzężoną ze spektrometrią mas. Podczas przeprowadzania oceny zieloności założono, że przygotowywana jest tylko jedna próbka, aby możliwe było późniejsze porównanie metod. W przypadku metod SBSE oraz SPME wykorzystujących desorpcję termiczną analitów z sorbentu bezpośrednio do dozownika chromatografu, etap ten (tj. zużycie czasu oraz energii) został uwzględniony w ogólnych ocenach.

W przypadku oceny ekologiczności za pomocą narzędzia AGREEprep, zgodnie z przewidywaniami autora niniejszej rozprawy, najniższy wynik oceny (0,19) otrzymała

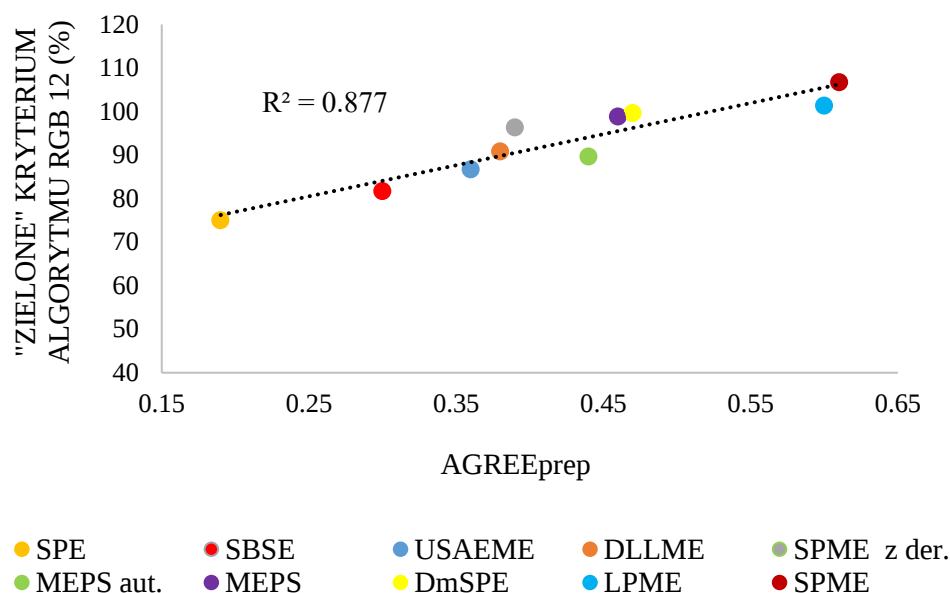
metoda ekstrakcji do fazy stałej, co związane jest ze zużyciem dużych ilości toksycznych rozpuszczalników, a przez to wygenerowaniem dużej ilości odpadów oraz jej czasochłonnością. Natomiast, biorąc pod uwagę wyłącznie metody mikroekstrakcyjne, najniższą ocenę zieloności (0,3) otrzymała metoda SBSE. Jest to spowodowane bardzo długim czasem prowadzenia etapów ekstrakcji oraz desorpcji (około 200 minut), a także dużym zużyciem energii wykorzystywanej podczas prowadzenia ekstrakcji. Nieco wyższy wynik oceny AGREEprep (0,36) osiągnęła metoda USAEME, która pomimo zużycia wyłącznie 100 µl chloroformu do ekstrakcji, wykorzystywała dużą ilość próbki, jak również wygenerowała dużo odpadów. Szybka i energooszczędna metoda DLLME poprzez wykorzystanie niebezpiecznych odczynników, tj. aceton i chlorobenzen, otrzymała niski wynik AGREEprep wynoszący 0,38. Z kolei zastosowanie derywatyzacji (odczynnika derywatyzującego oraz czas potrzebny na przeprowadzenie tego etapu) w metodzie „SPME z derywatyzacją” wpłynęło negatywnie na jej ogólny wynik AGREEprep (0,39). Dla porównania, metoda SPME nie wykorzystująca derywatyzacji uzyskała najwyższy wynik AGREEprep (0,61) spośród ocenianych metod. Zastosowanie derywatyzacji również w metodzie DmSPE obniża jej ogólną ocenę, przez co metoda ta otrzymuje wynik 0,47. Innym kryterium mogącym wpływać na różnice w wynikach ocen AGREEprep jest automatyzacja metody. W przedstawionej pracy można to zauważyć na przykładzie metody MEPS – zautomatyzowanej oraz manualnej, które otrzymały wynik oceny odpowiednio 0,44 oraz 0,46. Manualna metoda MEPS otrzymuje wysoką punktację w kryterium 8 związanym z brakiem zużycia energii, natomiast zautomatyzowana metoda MEPS otrzymuje dużo punktów w kryterium 7 odpowiadającym za integrację/automatyzację metod. Jednak kryterium 8 ma większą wagę w ocenie, co powoduje różnicę w ocenie obu metod. Jedynymi metodami uzyskującymi zielony charakter są metody SDME oraz SPME, które otrzymały wyniki 0,6 oraz 0,61. Za wysoki wynik metody SDME odpowiada mała ilość rozpuszczalnika zastosowanego do ekstrakcji (3 µl toluenu), który zostaje bezpośrednio nastrzyknięty do dozownika chromatografu, co wpływa na minimalizację powstających odpadów. Z kolei metoda SPME nie wykorzystuje żadnych odczynników, co przekłada się na brak odpadów oraz zapewnienie bezpieczeństwa operatorowi.

W wyniku przeprowadzonej oceny BAGI, sześć z ocenianych metod uzyskało wysoki wynik (wyższy od 60), co wskazuje na ich praktyczność. Najwyższy wynik (70 punktów) otrzymały metody DLLME oraz zautomatyzowany MEPS, 65 punktów uzyskał manualny MEPS, USAEME oraz SDME, a 62,5 punktów – metoda DmSPE. Pozostałe metody otrzymały oceny pomiędzy 50 a 60 punktów. Na niski wynik ocen BAGI metod SPE, SPME oraz SBSE wpływ miała konieczność zakupu kolumniek ekstrakcyjnych, włókien oraz elementów sorpcyjnych. Z kolei automatyzacja SBSE oraz MEPS spowodowała obniżenie wyniku ze względu na aparaturę potrzebną do przygotowania próbki, lecz nie rozpowszechnioną w laboratoriach analitycznych.

Algorytm RGB 12 umożliwia szczegółową ocenę ekologiczności, praktyczności oraz wydajności analitycznej procedur analitycznych. W przypadku oznaczania filtrów UV w próbkach środowiskowych ze względu na niskie poziomy stężeń oraz szeroki zakres stosowania tych związków, kategoria czerwona związana z wydajnością analityczną ma bardzo duże znaczenie. Najwyższe wyniki w tej kategorii otrzymały metody „SPME z derywatyzacją” (95) oraz DmSPE (97,5), które odznaczały się najniższą wartością granic wykrywalności (0,5-10 ng/l), wysoką precyzją i dokładnością. Ze względu na duże niższe granice wykrywalności (1-8 µg/l), najniższe wyniki oceny w kategorii czerwonej otrzymały metody SPE (70) oraz SPME (75). Należy jednak wziąć pod uwagę, że granice wykrywalności i oznaczalności oznaczano przy użyciu detektora spektrometrii mas, który w każdej metodzie pracował przy innych parametrach. Kolejną ocenianą kategorią algorytmu RGB 12 była ekologiczność, w której przyznano punkty od 0 do 120 poszczególnym kryteriom. Najbardziej „zielonymi” metodami okazały się SPME (106,7) oraz SDME (101,3). Metoda SPME

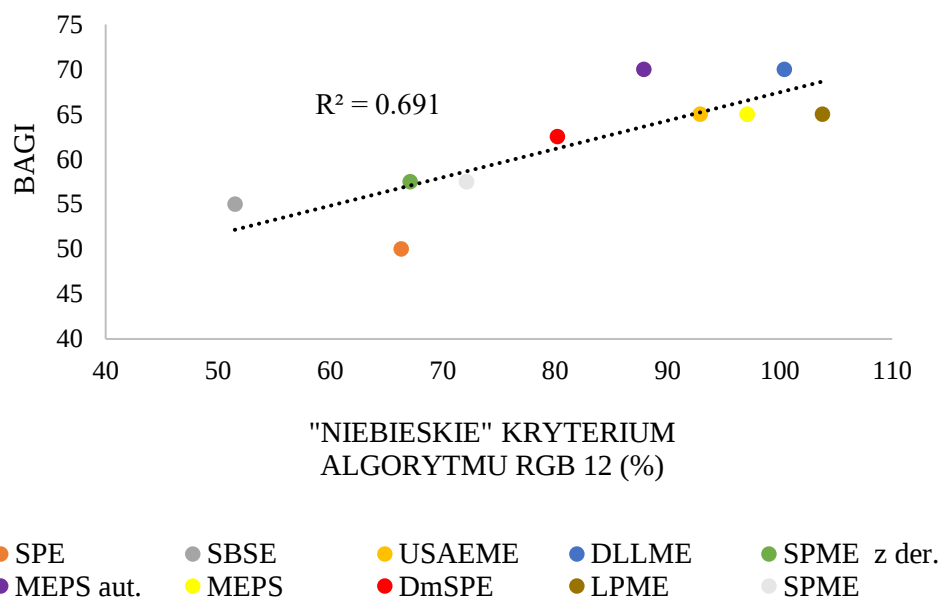
otrzymała 120 punktów w trzech kryteriach oceny ekologiczności, co związane jest z brakiem stosowania toksycznych i niebezpiecznych dla człowieka i środowiska odczynników oraz rozpuszczalników. Natomiast metoda SDME wymaga użycia wyłącznie 2 µl rozpuszczalnika do wytworzenia tzw. „kropelki”, w której sorbuje się anality, co pozytywnie wpływa na ogólny jej wynik. Należy podkreślić, że żadna z tych metod nie wygenerowała odpadów. Wyniki oceny zielonej kategorii algorytmu RGB 12 dla pozostałych metod mikroekstrakcyjnych mieszczą się w zakresie od 81,7 do 99,6. Na takie różnice w wynikach główny wpływ ma zużycie energii. Natomiast najniższy ogólny wynik oceny zieloności otrzymała metoda SPE (75 %), co jest związane z użyciem dużych ilości odczynników oraz wygenerowaniem wielu odpadów. Ostatnią ocenę dokonano biorąc pod uwagę praktyczne oraz ekonomiczne aspekty metod analitycznych. Również w tej kategorii przyznano 120 punktów wyróżniającym się procedurom, które nie potrzebowały zakupu specjalnych urządzeń i odczynników, ich czas wykonania był krótszy niż 5 minut, oraz do ich wykonania potrzebne było nie więcej niż 1 ml próbki. Mając to na uwadze, metody SDME oraz DLLME otrzymały ponad 100 punktów (103,8 i 100,4), ponieważ były praktycznie bezkosztowe oraz szybkie. Wysokie wyniki (> 90 punktów) osiągnęły również metody manualna MEPS oraz USAEME. Pozostałe metody otrzymały wyniki niższe niż 90 punktów, na co wpływ miał koszt zakupu potrzebnych akcesoriów ((kolumnienki SPE, włókna SPME, precyki sorpcyjne), automatycznych przystawek (w przypadku termicznej desorpcji analitów) oraz odczynników wymaganych do przeprowadzenia derywatyzacji. W celu podsumowania poszczególnych ocen uzyskanych za pomocą algorytmu RGB 12, określono „białość” procedur analitycznych. Najwyższy wynik (100) otrzymała metoda SDME, która tylko w kryterium czerwonym otrzymała wynik niższy niż 100 punktów. Z kolei najniższe wyniki ogólnej oceny algorytmu RGB 12 otrzymały metody SBSE (72,3) oraz SPE (77,5), w przypadku których kategoria niebieska miała największy wpływ na ogólną ocenę. Pozostałe metody osiągnęły wyniki „białości” około 90 %, co można uznać za satysfakcjonujące.

W publikacji [P6] zbadano powiązanie pomiędzy oceną uzyskaną za pomocą narzędzia AGREEprep oraz oceną „zielonych” zasad za pomocą algorytmu RGB 12. Porównując otrzymane wyniki AGREEprep i zielonej kategorii algorytmu RGB 12, stwierdzono, że jedyną rozbieżność można zaobserwować w przypadku automatycznego MEPS. Metoda ta otrzymuje wyższą ocenę w AGREEprep, ze względu na kryterium 7 – automatyzację metod. W przypadku algorytmu RGB 12 automatyzacja oceniana jest w kryterium niebieskim – prostota operacyjna. Pomimo tego parametru, obserwuje się wysoki stopień powiązania ocen „zieloności” metod uzyskanych za pomocą AGREEprep oraz „zielonego” kryterium algorytmu RGB 12. Zbieżność tę przedstawiono na Rysunku 8, na którym można zauważyć wysoką korelację ocen (0,877).



Rys. 8. Liniowa korelacja pomiędzy zasadami AGREEprep i kryterium „zielonym” algorytmu RGB 12 [P6]

W dalszej części publikacji [P6] postanowiono również przedstawić zbieżność wyników ocen „niebieskości” metod uzyskanych za pomocą narzędzia BAGI oraz „niebieskiego” kryterium algorytmu RGB 12 (Rysunek 9). W tym przypadku korelacja pomiędzy wynikami jest umiarkowana i wynosi około 0,7. Możliwa jest do zaobserwowania pewna zgodność pomiędzy uzyskanymi ocenami. Metody DLLME, SDME, MEPS oraz USAEME zostały wysoko ocenione (> 60 punktów) za pomocą narzędzia BAGI, jak również za pomocą niebieskiego kryterium algorytmu RGB 12 (> 90 punktów). Natomiast metody SPME, SBSE oraz SPE zostały ocenione najniżej przez oba narzędzia. Na obniżenie korelacji (0,7) wpływ miały głównie oceny dwóch metod – SPE oraz zautomatyzowanego MEPS. Ocena BAGI uzyskana dla metody SPE jest niska, na co wpływ miało zagęszczenie próbki, a to z kolei dodatkowo obniża ocenę kryterium niebieskiego algorytmu RGB 12. Natomiast, w przypadku metody zautomatyzowanej MEPS, ocena kryterium niebieskiego za pomocą algorytmu RGB 12 jest obniżane w stosunku do zastosowanego BAGI ze względu na dodatkowe kryteria brane pod uwagę przez algorytm RGB 12, tj. koszt całkowity oraz prostotę laboratoryjną – przenośność.



Rys. 8. Liniowa korelacja pomiędzy zasadami BAGI i kryterium niebieskim algorytmu RGB 12 [P6]

Wyniki oceny procedur przygotowania próbek przedstawione w publikacji [P6], pokazują przydatność oraz skuteczność wszystkich przedstawionych narzędzi metrycznych. Stwierdzono, że algorytm RGB 12 ocenia metody w sposób najbardziej kompleksowy, ponadto narzędzie to pozwala na samodzielne przypisywanie punktów za poszczególne kryteria zgodnie z indywidualnymi problemami oraz potrzebami analityka. Natomiast narzędzia AGREeprep oraz BAGI pozwalają na dokonanie oceny węższego zakresu, tj. ekologiczności i praktyczności metody, w prosty i szybki sposób. Przedstawione korelacje pomiędzy zastosowanymi metrykami mogą być wskazówką dla chemików-analityków przy podejmowaniu decyzji o wyborze narzędzia metrycznego. Ocena metod analitycznych jest konieczna, aby zrozumieć ich wpływ na środowisko i może być pomocna dla analityków przy wyborze metody oznaczania zanieczyszczeń środowiskowych w próbkach wody.

3.4.4. Opracowanie procedury analitycznej dSPE do oznaczenia benzofenonów oraz parabenów w próbkach wody

Ze względu na fakt, że w ostatnich latach zwraca się szczególną uwagę na redukcję, ponowne wykorzystanie oraz recykling materiałów stosowanych w metodach analitycznych, w publikacji [P7] postanowiono opracować ekologiczną metodę oznaczania benzofenonów oraz parabenów w próbkach wody. Metoda ta została opracowana jako alternatywa dla wysoko ocenionych w publikacji [P6] metod SPME [51] oraz SDME [52]. W tym celu zastosowano skorupy orzechów jako skuteczne biosorbenty tych zanieczyszczeń środowiskowych, aby ograniczyć stosowanie syntetycznych materiałów sorpcyjnych.

W wyniku przeglądu literaturowego ustalono, że naturalne sorbenty do oznaczania filtrów UV oraz podobnych związków w matrycach wodnych były już wykorzystywane na przykład w ekstrakcji z wykorzystaniem końcówki pipety [53] wykorzystującej korek po winie jako sorbent lub w metodzie ekstrakcji do fazy stałej [54], w której zastosowano bibułę filtracyjną otrzymywaną na drukarce atramentowej ze specjalnym tuszem przypominającym воск. Jednak, po przeprowadzeniu badań wstępnych wybranymi metodami nie uzyskano zadowalających wyników. Stąd opracowano własną metodę analityczną bazującą na dyspersyjnej ekstrakcji do fazy stałej. Proponowana procedura analityczna wymagała

doboru warunków przeprowadzania etapów ekstrakcji oraz desorpcji, jak również badań dotyczących sposobu oczyszczania skorup orzechów.

Badania nad oczyszczaniem biosorbentów wykazały, że obmywanie 5 g skorup orzechów za pomocą 250 ml gorącej wody (około 80°C) oraz 5 ml OE jest najbardziej skuteczne – nie otrzymano pików chromatograficznych pochodzących od zanieczyszczeń.

Optymalizacja proponowanej metody obejmowała zbadanie wpływu ilości sorbentu, pH roztworu, efektu wysalania, czasu ekstrakcji, rodzaju i ilości rozpuszczalnika użytego do desorpcji, liczby cykli desorpcji oraz jej czasu. Badania optymalizacyjne przeprowadzono z wykorzystaniem skorup orzechów włoskich, a następnie ustalone parametry zastosowano do przeprowadzenia metody na pozostałych skorupach. Wszystkie eksperymenty przeprowadzono w trzech powtórzeniach.

Pierwszym optymalizowanym parametrem był wpływ wielkości naważki biosorbentu na ilość zaadsorbowanych analitów. Spośród badanych naważek od 50 do 400 mg sorbentu, najwyższą efektywnością ekstrakcji odznaczały się naważki 200 mg i 400 mg. Ze względu na fakt, że otrzymane wyniki dla tych naważek były na podobnym poziomie, do dalszych badań, w celu nie generowania większych ilości odpadów, wybrano 200 mg biosorbentu.

Kolejnym badanym parametrem był czas prowadzenia ekstrakcji, który w dużym stopniu wpływa na skuteczność ekstrakowania analitów. Po wykonaniu ekstrakcji w czasie od 5 do 30 minut ustalono, że wydajność ekstrakcji wzrastała wraz ze wzrostem czasu do 10 minut, następnie zaczęła się zmniejszać, co może być spowodowane ponownym rozpuszczeniem analitów do roztworu. Wyniki te pokazują, że prowadzenie ekstrakcji przez 10 minut jest wystarczające do ekstrakcji analitów na biosorbencie.

Następnie sprawdzono wpływ pH roztworu na efektywność ekstrakcji. Wartość pH wpływa na stan jonizacji oraz rozpuszczalność analitów w roztworze. Do badań tych wybrano pH 2, 4 i 7. Z teorii wynika, że w celu przeprowadzenia skutecznej ekstrakcji analitów, pH roztworu powinno być niższe od pK_a analitów, aby uzyskać docelowe anality w formie niezjonizowanej. Najwyższą wydajność osiągnięto przy pH 4 (wzrost wydajności ekstrakcji był około 100 % wyższy niż przy pH 7), podczas gdy pK_a analitów jest większe niż 7.

Zbadano również wpływ siły jonowej roztworu na efektywność ekstrakcji. W przypadku analitów polarnych ($\log K_{ow} < 4$) dodanie NaCl zwiększa siłę jonową, powoduje hydratację jonów soli oraz czyni wodę mniej dostępną dla związków organicznych, promując przez to przejście analitów w kierunku fazy sorbentu i tym samym zmniejszając rozpuszczalność analitów. Wpływ siły jonowej zbadano poprzez dodanie różnych ilości NaCl (w zakresie od 0 do 30%) do roztworów. Wydajność ekstrakcji wzrasta wraz ze wzrostem NaCl od 0 do 20%, a następnie zmalała. Spadek zawartości soli większy niż 20% może być spowodowany wzrostem lepkości roztworu, co z kolei zmniejsza kinetykę ekstrakcji. Dlatego też 20% dodatek NaCl do roztworu próbki został wybrany jako najbardziej korzystny.

Ostatnie badania optymalizacyjne dotyczyły etapu desorpcji – rodzaju i ilości rozpuszczalnika, liczby cykli oraz czasu prowadzenia tego etapu. Ze względu na fakt, że badane anality są polarne, do desorpcji analitów użyto rozpuszczalnika o takim charakterze. W tym celu wykorzystano MeOH, OE, ACN oraz ich mieszaniny. Na podstawie otrzymanych wyników, jako optymalny rozpuszczalnik do desorpcji wybrano mieszaninę OE:ACN (1:1, v:v). Dalsza część badań obejmowała wybór ilości oraz liczbę cykli przeprowadzania tego etapu. W tym celu użyto 0,5, 1 oraz 1,5 ml rozpuszczalnika desorpcyjnego oraz wykonano etap desorpcji w kilku cyklach. Najlepsze wyniki otrzymano przy zastosowaniu 2 cykli desorpcji z użyciem 750 μ l rozpuszczalnika. Na koniec zbadano wpływ czasu desorpcji na efektywność przeprowadzanej metody. Spośród sprawdzanych czasów, tj. 1, 3, 5, 15, 20 i 30 minut, jako najefektywniejszy wybrano czas 5 minut.

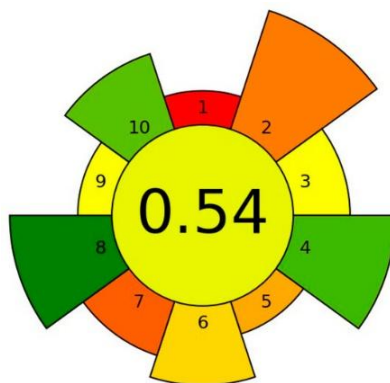
Przy ustalonych warunkach proponowanej metody sprawdzono wpływ rozmiaru cząstek biosorbentu na efektywność sorpcji. Zgodnie z przewidywaniami autora rozprawy,

najskuteczniejszą ekstrakcję uzyskano przy zastosowaniu najmniejszych cząstek biosorbentu, co wynika z większej dostępności miejsc aktywnych na powierzchniach zewnętrznych sorbentu oraz jego wewnętrznych porach.

Zoptymalizowaną metodę postanowiono sprawdzić pod względem wydajności analitycznej. W celu oznaczenia dokładności oraz powtarzalności niniejszej metody analitycznej, próbki wody jeziornej zostały wzbogacone analitami o stężeniach 50, 200 oraz 500 $\mu\text{g/l}$. Otrzymano odzyski w zakresie od 14 do 75% dla parabenów oraz od 59 do 117% dla benzofenonów. Można stwierdzić, że opracowana metoda pozwala na otrzymywanie zadowalających odzysków wyłącznie dla benzofenonów. Ponadto stwierdzono, że najwyższe odzyski benzofenonów osiągnięto przy zastosowaniu skorup orzechów ziemnych (84-117%) oraz pistacji (87-101%). Natomiast powtarzalność metody wyrażona jako RSD (%) była zadowalająca dla wszystkich analitów i wynosiła mniej niż 20%.

Proponowaną metodę zastosowano do oznaczania wspomnianych analitów w próbce wody jeziornej, natomiast stężenia wszystkich analitów były poniżej granic oznaczalności aparatu, tj. 30-90 $\mu\text{g/l}$ dla parabenów oraz 15-33 $\mu\text{g/l}$ dla benzofenonów.

Opracowaną metodę postanowiono ocenić za pomocą narzędzia AGREEprep. Ze względu na niskie zużycie energii, małą ilość wygenerowanych odpadów oraz zapewnione bezpieczeństwo operatora, metoda ta uzyskała wynik wynoszący 0,54 (Rysunek 9), co pozwala na stwierdzenie, że zaproponowaną metodę dSPE można zaliczyć do „zielonych” metod przygotowania próbek.



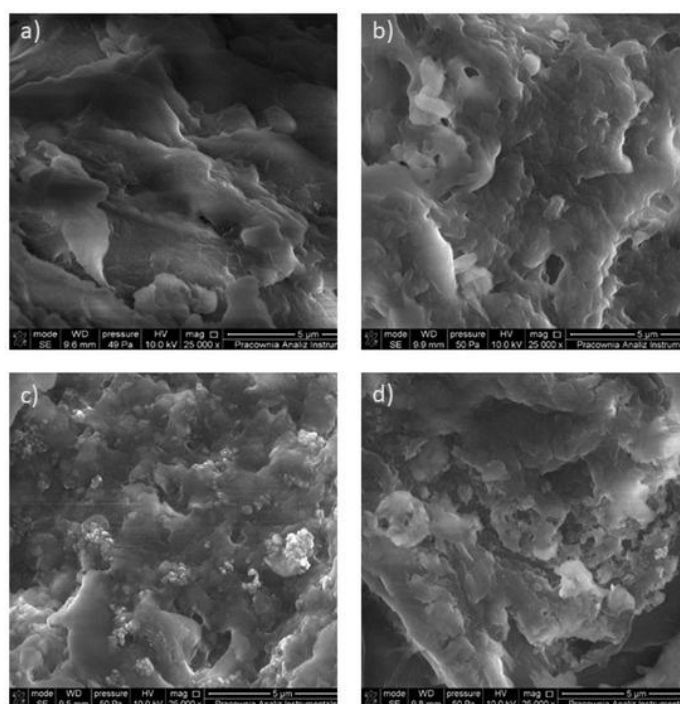
Rys. 9. Ocena ekologiczności AGREEprep dla proponowanej metody przygotowania próbek

Publikacja [P7] obejmuje również charakterystykę zastosowanych biosorbentów, w tym identyfikację głównych grup funkcyjnych na powierzchni badanych materiałów oraz ich morfologię.

Do identyfikacji grup funkcyjnych na powierzchni biosorbentów zastosowano spektroskopię w podczerwieni z transformacją Fouriera (FT-IR). Ze względu na fakt, że uzyskane widma dla wszystkich skorup orzechów są podobne, wyniki zostały przedstawione na przykładzie skorupy orzecha włoskiego. Uzyskane piki charakteryzujące poszczególne grupy funkcyjne obecne na powierzchni sorbentów są związane z głównymi składnikami skorup orzechów, tj. celulozą, hemicelulozą oraz ligniną. W obrazie spektralnym zaobserwowano pasmo przy długości fali 3318 cm^{-1} , które przypisano obecności grupy OH oraz dwa ostre pasma przy długościach 2913 cm^{-1} oraz 2879 cm^{-1} odpowiadające grupom metylowym oraz metylenowym ligniny, hemicelulozy oraz celulozy. Intensywne pasmo rozciągające C=O przy długości 1731 cm^{-1} odpowiada grupom acetylenowym oraz estrowym w hemicelulozie. Długości fali 1654 cm^{-1} oraz 1593 cm^{-1} związane są z wiązaniem C=C w grupach aromatycznych hemicelulozy i ligniny. Natomiast pasma aromatyczne przy długościach 1504 cm^{-1} oraz 1455 cm^{-1} są charakterystyczne dla ligniny. Pik przy

1370 cm^{-1} jest związany z wiązaniem CH w grupach metoksyłowych ligniny, podczas gdy jej wiązania aromatyczne C-C są obecne przy 1326 cm^{-1} . Z kolei piki przy 1231 cm^{-1} oraz 1156 cm^{-1} odpowiadają drganiom rozciągającym C=O oraz C-O-C. Ostatni opisywany pik, tj. 1028 cm^{-1} dotyczy grup metoksyłowych ligniny i celulozy oraz grupy estrowej hemicelulozy. Otrzymane widmo jest bardzo podobne do widm innych skorup opisanych w literaturze [55, 56].

Natomiast na Rysunku 10 przedstawiono obrazy struktury skorup orzechów wykonanych przed (a, c) oraz po (b, d) procesie sorpcji dla skorup orzechów włoskich oraz skorup orzechów ziemnych. Przed etapem sorpcji biosorbenty wykazują nieregularne i porowate struktury o różnych kształtach i rozmiarach, są to charakterystyczne struktury dla sorbentów lignocelulozowych. Z kolei po procesie sorpcji, struktury te stały się grubsze i bardziej pofałdowane, co może wskazywać na fizyczną adsorpcję analitów w porach i na powierzchni sorbentu.



Rys. 10. Obrazy SEM (a) skorup orzechów włoskich; (b) skorup orzechów włoskich po sorpcji analitów; (c) skorup orzeszków ziemnych; (d) skorup orzeszków ziemnych po sorpcji analitów [P7]

Opracowana w publikacji [P7] metoda analityczna, po raz pierwszy wykorzystuje skorupy orzechów do oznaczania benzofenonów oraz parabenów w próbkach wody. Skorupy te okazały się skutecznym naturalnym sorbentem do zatrzymywania wyżej wspomnianych związków. Zaproponowana metoda analityczna charakteryzuje się niskim zużyciem rozpuszczalników i energii, prostotą, szybkością, a przede wszystkim wykorzystaniem bezpiecznego, odnawialnego i biodegradowalnego sorbentu. W związku z tym, dzięki ocenie wykonanej za pomocą narzędzia AGREEprip można określić tą metodę jako „zieloną”. Badania te pokazują, że odpady naturalne, tj. skorupy orzechów, mogą być alternatywnym materiałem sorpcyjnym dla dostępnych komercyjnie sorbentów. Otrzymane wyniki zachęcają do przeprowadzenia dalszych badań nad zastosowaniem opracowanej metody analitycznej dla szerszej grupy analitów.

3.4.5. Ocena metod analitycznych do oznaczania profili kwasów tłuszczowych w próbkach mleka i sera

Publikacje [P3] oraz [P4] miały na celu porównanie ekologiczności metod analitycznych pozwalających na oznaczanie profili kwasów tłuszczowych w próbkach mleka i sera. Publikacje te są uzupełnieniem niniejszej rozprawy doktorskiej i wskazują na możliwość zastosowania narzędzi oceny ekologiczności również w przypadku klasycznych metod ekstrakcyjnych do oznaczania składników żywności. Porównanie takich metod jest bardzo istotne, ponieważ może doprowadzić do opracowywania i stosowania metod analitycznych (np. w laboratoriach komercyjnych), które nie będą wywierały negatywnego wpływu na człowieka oraz środowisko.

W przypadku oznaczania profili kwasów tłuszczowych w próbkach mleka, w publikacji [P3] wybrano osiem metod, które różniły się między sobą głównie sposobem izolacji tłuszczu z próbki mleka. W trzech metodach (metody A [14], G oraz G' [57]) do wyizolowania tłuszczu zastosowano ekstrakcję za pomocą rozpuszczalników organicznych, w dwóch kolejnych metodach wykorzystano wirowanie (metody C [58] oraz D [60]), w metodzie B [58] zastosowano wirowanie z odparowywaniem, a w dwóch pozostałych metodach dokonano bezpośredniej metylacji w próbce mleka (metoda E oraz F [61]). W celu dokonania oceny ekologiczności tych metod wykorzystano trzy narzędzia metryczne, tj. Analytical Eco-Scale, GAPI oraz AGREEprep. Mając na uwadze na fakt, że mleko posiada bardzo złożoną matrycę, a w konsekwencji dużą liczbę analitów oraz konieczność przeprowadzania derywatywacji, nie należy oczekiwać wysokich ocen ekologiczności metod. Przy użyciu wszystkich trzech narzędzi metrycznych pomiędzy ocenianymi metodami można zauważyć niewielkie różnice. Metody E oraz F zostały oceniane najwyżej za pomocą wszystkich narzędzi, a w przypadku ich ocen za pomocą Analytical Eco-Scale oraz GAPI wyniki są identyczne. W przypadku oceny tych metod przy zastosowaniu narzędzia AGREEprep wynik dla metody E wyniósł 0,33, a dla metody F - 0,34. Różnica ta wynika z pominięcia etapu odparowywania wody oraz derywatywacji kwasów tłuszczowych bezpośrednio w próbce mleka w metodzie E. Na podstawie otrzymanych wyników, można stwierdzić, że spośród wykorzystanych metod oceny zieloności najdokładniejsze wyniki otrzymano za pomocą narzędzia AGREEprep. Metody E i F otrzymały wysokie wyniki ekologiczności głównie ze względu na wykorzystanie niewielkiej ilości próbki (200 µl) oraz użycia małej ilości toksycznych odczynników. Ponadto metody te nie były czaso- oraz pracochłonne. Z kolei najniższe wyniki oceny zieloności uzyskały metody G oraz G'. Metoda G uzyskała dużą ilość punktów karnych (76) w ocenie Analytical Eco-Scale, a jej zmodyfikowana wersja polegająca na zmniejszeniu odczynników o 90 %, uzyskała wynik 45. Przez co obie metody zostały uznane jako „nieodpowiednie zielone metodyki” w ocenie Analytical Eco-Scale. Również w ocenie GAPI oraz AGREEprep metody te osiągnęły niskie wyniki. W przypadku narzędzia GAPI więcej niż dziewięć pól osiągnęło kolor czerwony dla obu metod. Natomiast w przypadku narzędzia AGREEprep metody te uzyskały bardzo niskie wyniki wynoszące 0,04 dla metody G oraz 0,06 dla metody G'. Otrzymane wyniki dla tych metod związane są z użyciem bardzo dużych ilości toksycznych odczynników i rozpuszczalników, dużą ilością próbek potrzebnych do ich przeprowadzenia, wieloma wymaganymi etapami, jak również ich czasochłonnością. Biorąc pod uwagę oceny uzyskane za pomocą wybranych narzędzi metrycznych, można stwierdzić, że wskazane metody nie powinny być stosowane do oznaczania profilu kwasów tłuszczowych w próbkach mleka.

Z kolei w publikacji [P4] przeprowadzono badania oceny ekologiczności metod analitycznych do oznaczania profili kwasów tłuszczowych w próbkach serów. Do tego celu wybrano sześć metod przygotowania próbek sera, które polegały na bezpośredniej ekstrakcji oraz jednoczesnej transestryfikacji tłuszczu za pomocą rozpuszczalnika organicznego (metoda A [61]), w metodzie B [62] wykorzystano szereg rozpuszczalników do ekstrakcji tłuszczu,

metoda C [63] wykorzystywała mieszaninę metanolu i dichlorometanu do ekstrakcji tłuszczu, które w całości poddawano transestryfikacji, z kolei metody D [64], E [65] oraz F [66] są zmodyfikowanymi metodami Folcha, tzn. polegają na ekstrakcji tłuszczu za pomocą mieszaniny chloroformu i metanolu, przy czym w metodzie E do próbki dodawano przeciwutleniacz oraz wykorzystywano ultradźwięki, a w metodzie F powstałe warstwy organiczną oraz wodną odstawiano na dobę w ciemne miejsce. W celu przeprowadzenia oceny „zieloności” wykorzystano narzędzia metryczne: Analytical Eco-Scale oraz AGREEprep. Na podstawie otrzymanych wyników można stwierdzić, że narzędzie AGREEprep oceniło metody w sposób bardziej rygorystyczny. Za pomocą tej metryki metody A, B oraz C otrzymały identyczne wyniki ogólne, wynoszące 0,27. Różnice w tych wynikach można zaobserwować dla poszczególnych kryteriów tego narzędzia, a związane były z ilością stosowanej próbki oraz zużyciem energii. Z kolei zmodyfikowane metody Folcha otrzymały oceny od 0,13 dla metody F do 0,14 dla metod D i E. Tak niskie wyniki tych metod były skutkiem czasu- i pracochłonności oraz wysokim zużyciem energii podczas przeprowadzania poszczególnych etapów procedur. Z kolei w ocenie Analytical Eco-Scale wszystkie metody uzyskały wyniki (61-73) kwalifikujące się do „akceptowalnie zielonej metodyki”. W publikacji tej podkreślono, że narzędzie oceny ekologiczności AGREEprep nie jest odpowiednie do oceny klasycznych metod ekstrakcyjnych ze względu na niewielkie różnice w punktacji kryteriów pomimo ich realnych różnic. Można to zaobserwować na przykładzie kryterium 4 – „ilości wytworzonych odpadów”, wynik oceny tego kryterium dla metody E wynosi 0,1 przy wytworzeniu 26 ml odpadów, natomiast gdy zastosowano metodę F, wygenerowano około 300 ml odpadów, a wynik wyniósł 0. Zdaniem autora rozprawy jest to duża różnica w ilości otrzymanych odpadów, a niewielka zmiana wyniku oceny danego kryterium AGREEprep. Świadczy to o tym, że narzędzie takie jak AGREEprep powinno być stosowane dla metod, które nie będą zużywały bardzo dużych ilości rozpuszczalników, będą zautomatyzowane oraz zminiaturyzowane.

Publikacje [P3] oraz [P4] wskazują na przydatność narzędzi metrycznych, tj. Analytical Eco-Scale, GAPI oraz AGREEprep w ocenie ekologiczności metod analitycznych. Dzięki dokonaniu oceny metod możliwy jest wybór najbardziej ekologicznej oraz ekonomicznej metody przygotowania próbek do rutynowych analiz zawartości kwasów tłuszczowych w próbkach żywności.

3.5. PODSUMOWANIE I WNIOSKI

W niniejszej rozprawie doktorskiej przedstawiono wyniki badań dotyczących zastosowania zasad białej i zielonej chemii analitycznej w opracowaniu metod analitycznych do oznaczania zanieczyszczeń w próbkach środowiskowych oraz oceny ich wpływu na środowisko i człowieka za pomocą wybranych narzędzi metrycznych.

Uzyskane wyniki badań pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

- opracowana metoda mikroekstrakcji do upakowanego sorbentu (MEPS) jest odpowiednia do oznaczania benzofenonów w próbkach wody;
- wykorzystanie metod mikroekstrakcyjnych, tj. mikroekstrakcja do upakowanego sorbentu (MEPS), do oznaczania zanieczyszczeń środowiska pozwala na uzyskiwanie wyższych ocen ekologiczności w porównaniu do klasycznych metod ekstrakcyjnych, jak np. ekstrakcji do fazy stałej (SPE);
- zastosowanie narzędzi do oceny ekologiczności metod pozwala na zrozumienie, które wartości ocenianych kryteriów powinny zostać zmienione ze względu na ich negatywny wpływ na ogólną ocenę ekologiczności;
- narzędzia oceny ekologiczności umożliwiają porównywanie różnych metod analitycznych pod względem ich oddziaływania na człowieka i środowisko, co z kolei pozwala na odpowiedzialne podejmowanie decyzji przy wyborze najbardziej ekologicznych rozwiązań;
- zastosowanie narzędzi do oceny „zieloności” oraz praktyczności pozwala na uzyskanie kompleksowej oceny ekologiczności metody;
- bioodpady, tj. skorupy orzechów, stanowią efektywny materiał, który można zastosować jako biosorbent do oznaczania zanieczyszczeń środowiskowych w próbkach wody;
- wykorzystanie bioodpadów w procedurze analitycznej pozwala na opracowanie ekologicznych i ekonomicznych metod analitycznych pozwalających na oznaczanie zanieczyszczeń środowiskowych na niskich poziomach stężeń
- narzędzia oceny ekologiczności pozwalają w dokładniejszy sposób ocenić metody mikroekstrakcyjne niż metody ekstrakcyjne.

Podsumowując, rosnące zainteresowanie zasadami białej i zielonej chemii analitycznej sprzyja opracowywaniu bardziej przyjaznych dla środowiska i człowieka metod analitycznych do oznaczania zanieczyszczeń środowiska. Metody te coraz częściej wykorzystują biomateriały oraz biodegradowalne rozpuszczalniki, a dodatkowo są zminiaturyzowane i zautomatyzowane. W laboratoriach komercyjnych metody te nie są praktycznie wykorzystywane, a przedstawione wyniki badań pokazują, że w szczególności przy dużej ilości analizowanych próbek, metody te przyniosłyby duże korzyści ekonomiczne oraz ekologiczne.

Przedstawione w niniejszej pracy badania nad opracowaniem pro-ekologicznych rozwiązań analitycznych do oznaczania zanieczyszczeń środowiskowych będą kontynuowane. Dalsze prace badawcze obejmować będą otrzymywanie i zastosowanie nowych biosorbentów, którymi będą odpowiednio zmodyfikowane biowęgla uzyskiwane z odpadów naturalnych. Takie podejście pozwoli na opracowanie czułych, prostych i przede wszystkim wysoce ekologicznych metod będących alternatywą dla kosztownych procedur analitycznych stosowanych w laboratoriach komercyjnych. Ponadto opracowane zostaną również sposoby usuwania zanieczyszczeń w środowisku wodnym za pomocą przygotowanych sorbentów naturalnych.

3.6. LITERATURA

- [1] Martín-Pozo L., Gomez-Regalado M., Moscoso-Ruiz I., Zafra-Gómez A., 2021. Analytical methods for the determination of endocrine disrupting chemicals in cosmetics and personal care products: A review. *Talanta* 234, 122642.
- [2] ROZPORZĄDZENIE PARLAMENTU EUROPEJSKIEGO I RADY (WE) NR 1223/2009 z dnia 30 listopada 2009 r. dotyczące produktów kosmetycznych.
- [3] Giokas D.L., Salvador A., Chisvert A., 2007. UV filters: From sunscreens to human body and the environment. *Trends Anal. Chem.* 26, 360-362.
- [4] Cadena-Aizaga M.I., Montesdeoca-Esponda S., Torres-Padron M.E., Sosa-Ferrera Z., Santana-Rodriguez J.J., 2020. Organic UV filters in marine environments: An update of analytical methodologies, occurrence and distribution. *Tren. Environ. Anal. Chem.* 25, e00079.
- [5] Huang, Y., Law, J.C.F., Lam, T.K., Leung, K.S., 2021. Risks of organic UV filters: a review of environmental and human health concern studies. *Sci. Total Environ.* 755, 142486.
- [6] Liu, Y.J., Zhang, Y., Sang, Q., Ma, J., Li, P.Y., Zhang, J.H., Feng, X.S., 2023. The environmental sources of benzophenones: Distribution, pretreatment, analysis and removal techniques. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 267, 115650.
- [7] Kołodziejczyk A., Dzierzbicka K., 2014. *Podstawy Chemii organicznej*. Wydawnictwo Politechniki Gdańskiej, 21-24.
- [8] <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (dostęp: 06.05.2025 r.)
- [9] Gavrilu A.A. Dasteridis I.S., Tzimas A.A., Chatzimitakos T.G., Stalikas C.D., 2023. Benzophenones in the environment: Occurrence, fate and sample preparation in the analysis. *Molecules* 28, 1229.
- [10] Marchello J.A., 2016. 3- Animal Fat Composition and Modification. [W:] *Functional Dietary Lipids*. T.A.B. Sanders (red.), Woodhead Publishing
- [11] Lichtenstein A.H., 2023. Lipids (fat and oils). *Encyclopedia of Human Nutrition* 4th Edition, Academic Press, 291-300
- [12] Bhavi Shah D.N.P., Udho Thadani M.D., 2019. Trans fatty acids linked to myocardial infarction and stroke: What is the evidence? *Trends Cardiovasc. Med.* 29, 306-310.
- [13] Hashimoto M., Hossain S., 2018. Fatty acids: from membrane ingredients to signaling molecules. [W:] *Biochemistry and Health Benefits of Fatty Acids*, V. Waisundara (red.), IntechOpen
- [14] Folch L., Lees M., Stanley G.H.S., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J. Biol. Chem.* 726, 497–509.
- [15] de Melo Soares É.S., Ítavo C.C.B.F., Ítavo L.C.V., dos Santos G.T., Nazário C.E.D., Soares I.S.S., Cavalheiro L.F., 2022. Comparison of analytical methods for the fatty acid profile in ewes' milk. *PLoS ONE* 17, e0263071.
- [16] Shi M., Zheng X., Zhang N., Guo Y., Liu M., Yin L., 2023. Overview of sixteen green analytical chemistry metrics for evaluation of the greenness of analytical methods *Trends Anal. Chem.* 166, 117211.
- [17] Anastas P.T., Warner J.C., 1998. *Green Chemistry: Theory and Practice*. Oxford University Press New York.

- [18] Anastas P.T., 1999. Green chemistry and the role of analytical methodology development. *Critical reviews in analytical Chemistry* 29, 167-175.
- [19] Namieśnik J., 1999. Pro-Ecological education. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 6, 243-244.
- [20] Koel M., Kaljurand M., 2006. Application of the principles of green chemistry in analytical chemistry. *Pure Appl. Chem.* 78, 1993-2002.
- [21] Armenta S., Garrigues S., de la Guardia M., 2008. Green Analytical Chemistry, *Trends Anal. Chem.* 27, 497-511.
- [22] Namieśnik J., 2001. Green analytical chemistry – Some remarks. *J. Sep. Sci.* 24, 151-153.
- [23] Gałuszka A., Migaszewski Z., Namieśnik J., 2013. The 12 principles of green analytical chemistry and the SIGNIFICANCE mnemonic of green analytical practices. *Trends Anal. Chem.* 50, 78-84.
- [24] Nowak P.M., Wietecha-Posłuszny R., Pawliszyn J., 2021 White Analytical Chemistry: An approach to reconcile the principles of Green Analytical Chemistry and functionality. *Trends Anal. Chem.* 138, 116223.
- [25] Kowtharapu L.P., Katari N.K., Muchakayala S.K., Mariseti V.M., 2023. Green metric tools for analytical methods assessment critical review, case studies and crucify. *Trends Anal. Chem.* 166, 117196.
- [26] Keith L.H., Gron L.U., Young J.L., 2007. Green Analytical Methodologies. *Chem. Rev.* 107, 2695-2708.
- [27] Gałuszka A., Migaszewski Z.M., Konieczka P., Namieśnik J., 2012. Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures. *Trends Anal. Chem.* 37, 61-72.
- [28] Płotka-Wasyłka J., 2018. A new tool for the evaluation of the analytical procedure: Green Analytical Procedure Index. *Talanta* 181, 204-209.
- [29] Pena-Pereira F., Wojnowski W., Tobiszewski M., 2020 AGREE-Analytical GREEnness Metric Approach and Software. *Anal. Chem.* 92, 10076-10082.
- [30] Wojnowski W., Tobiszewski M., Pena-Pereira F., Psillakis E., 2022. AGREEprep – Analytical greenness metric for sample preparation. *Trends Anal. Chem.* 149, 116553.
- [31] Manousi N., Wojnowski W., Płotka-Wasyłka J., Samanidou V., 2023. Blue applicability grade index (BAGI) and software: a new tool for the evaluation of method practicality. *Green Chem.* 25, 7598.
- [32] Giokas D.L., Sakkas V.A., Albanis T.A., 2004. Determination of residues of UV filters in natural waters by solid-phase extraction coupled to liquid chromatography-photodiode array detection and gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1026, 289-293.
- [33] Lambropoulou D.A., Giokas G.L., Sakkas V.A., Albanis T.A., Karayannis M.I., 2002. Gas chromatographic determination of 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone and octyldimethyl-p-aminobenzoic acid sunscreen agents in swimming pool and bathing waters by solid-phase microextraction. *J. Chromatogr. A* 967, 243-253.
- [34] Moein M.M., Abdel-Rehim A., Abdel-Rehim M., 2015. Microextraction by packed sorbent (MEPS). *Trends Anal. Chem.* 67, 34-44.
- [35] Shiminga P., On Y., Huang Y., Huang X., Guo Y., Zhu H., Kannan K., Zhang T., 2020. Occurrence and transfer of benzophenone-type ultraviolet filters from the pregnant women to fetuses. *Sci. Total Environ.* 726, 138503.

- [36] Zaruba S., Oltmanová V., Andruch V., 2025. Microextraction by packed sorbent for determination of inorganic analytes: Phosphates determination. *Microchem. J.* 210, 112976.
- [37] EN 17156:2018 Cosmetics—Analytical Methods—LC/UV Method for the Identification and Quantitative Determination in Cosmetic Products of the 22 Organic UV Filters in Use in the EU. Comité Européen de Normalisation: Brussels, Belgium, 2018.
- [38] Lu S., Long F., Lu P., Lei B., Jiang Z., Liu G., Zhang J., Ma S., Yu Y., 2018. Benzophenone-UV filters in personal care products and urine of schoolchildren from Shenzhen, China: Exposure assessment and possible source. *Sci. Total Environ.* 640–641, 1214–1220.
- [39] Zhou W., Wang P.G., Wittenberg J.B., Rua D., Krynitsky A.J., 2016. Simultaneous determination of cosmetics ingredients in nail products by fast gas chromatography with tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1446, 134–140.
- [40] Vila M., Lamas J.P., Garcia-Jares C., Dagnac T., Llompart M., 2015. Optimization of an analytical methodology for the simultaneous determination of different classes of ultraviolet filters in cosmetics by pressurized liquid extraction–gas chromatography tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A.* 1405, 12–22.
- [41] Celeiro M., Vazquez L., Lamas J.P., Vila M., Garcia-Jares C., Llompart M., 2019. Miniaturized matrix solid-phase dispersion for the analysis of ultraviolet filters and other cosmetic ingredients in personal care products. *Separations* 6, 30.
- [42] Abughrin S.E., Alshana U., Bakirdere S., 2022. Magnetic nanoparticle-based dispersive solid-phase microextraction of three UV blockers prior to their determination by HPLC-DAD. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 19, 6037.
- [43] Liao F.Y., Su Y.L., Weng J.R., Lin Y.C., Feng C.H., 2020. Ultrasound–vortex-assisted dispersive liquid–liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography–diode array detection for determining UV filters in cosmetics and the human stratum corneum. *Molecules* 25, 4642.
- [44] Hong Yun Y., Hai Fang L., Ito M., Jin-Ming L., Guang Sheng G., Ming Yu D., 2011. Combination of dynamic hollow fiber liquid-phase microextraction with HPLC analysis for the determination of UV filters in cosmetic products. *Sci. China Chem.* 54, 1627–1634.
- [45] Rodil R., Moeder M., 2008. Development of a method for the determination of UV filters in water samples using stir bar sorptive extraction and thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 1179, 81–88.
- [46] Vila M., Lamas J.P., Garcia-Jares C., Dagnac T., Llompart M., 2016. Ultrasound-assisted emulsification microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry and gas chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of UV filters in water. *Microchem. J.* 124, 530–539.
- [47] Negreira N., Rodríguez I., Rubí E., Cela R., 2010. Dispersive liquid–liquid microextraction followed by gas chromatography–mass spectrometry for the rapid and sensitive determination of UV filters in environmental water samples. *Anal. Bioanal. Chem.* 398, 995–1004.
- [48] Negreira N., Rodríguez I., Ramil M., Rubí E., Cela R., 2009. Sensitive determination of salicylate and benzophenone type UV filters in water samples using solid-phase microextraction, derivatization and gas chromatography tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 638, 36–44.
- [49] Moeder M., Schrader S., Winkler U., Rodil R., 2010. At-line microextraction by packed sorbent–gas chromatography–mass spectrometry for the determination of UV filter and polycyclic musk compounds in water samples. *J. Chromatogr. A* 1217, 2925–2932.

- [50] Chung W.H., Tzing S.H., Ding W.H., 2015. Optimization of dispersive micro solid-phase extraction for the rapid determination of benzophenone-type ultraviolet absorbers in aqueous samples. *J. Chromatogr. A* 1411, 17–22.
- [51] Okanouchi N., Honda H., Ito R., Kawaguchi M., Saito K., Nakazawa H., 2008. Determination of benzophenones in river-water samples using drop-based liquid phase microextraction coupled with gas chromatography/mass spectrometry. *Anal. Sci.* 24, 627–630.
- [52] Yılmazcan Ö., Kanakaki C., Izgi B., Rosenberg E., 2015. Fast determination of octinoxate and oxybenzone UV filters in swimming pool waters by gas chromatography/mass spectrometry after solid-phase microextraction. *J. Sep. Sci.* 38, 2286–2297.
- [53] Morés L., da Silva A.C., Merib J., Dias A.N., Carasek E., 2019. A natural and renewable biosorbent phase as a low-cost approach in disposable pipette extraction technique for the determination of emerging contaminants in lake water samples. *J. Sep. Sci.* 42, 1404–1411
- [54] Voulgari A., Gatselou V.A., Kappi F.A., Choleva T.G., Tsogas G.Z., Vlessidis A.G., Giokas D.L., 2017. Solid ink-printed filter paper as a green adsorbent material for the solid-phase extraction of UV filters from water samples. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 97, 1163–1177.
- [55] Dias M., Pinto J., Henriques B., Figueira P., Fabre E., Tavares D., Vale C., Pereira E., 2021. nutshells as efficient biosorbents to remove cadmium, lead, and mercury from contaminated solutions. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 18, 1580.
- [56] Segovia-Sandoval S.J., Ocampo-Perez R., Berber-Mendoza M.S., Leyva-Ramos R., Jacobo-Azuara A., Medellin-Castillo N.A., 2018. Walnut shell treated with citric acid and its application as biosorbent in the removal of Zn(II). *J. Water Proc. Eng.* 25, 45–53.
- [57] ISO 12966-4:2015; Animal and Vegetable Fats and Oils—Gas Chromatography of Fatty Acid Methyl Esters—Part 4: Determination by Capillary Gas Column. International Organization for Standardization: London, UK, 2015.
- [58] Liu Z., Moate P., Rochfort S., 2019. A simplified protocol for fatty acid profiling of milk fat without lipid extraction. *Int. Dairy J.* 90, 68–71.
- [59] ISO 16958:2015; Milk; Milk Products, Infant Formula and Adult Nutritional's—Determination of Fatty Acids Composition—Capillary Gas Chromatographic Method. International Organization for Standardization: London, UK, 2015.
- [60] Liu Z., Wang J., Li C., Rochfort S., 2020. Development of one-step sample preparation methods for fatty acid profiling of milk fat. *Food Chem.* 315, 126281.
- [61] Sant'Ana A.M.S., Bessa R.J.B., Alves S.P., Medeiros A.N., Costa R.G., de Sousa Y.R.F., Bezerril F.F., Malveira Batista A.S., Madruga M.S., Queiroga R.C.R.E., 2019. Fatty acid, volatile and sensory profiles of milk and cheese from goats raised on native semiarid pasture or in confinement. *Int. Dairy J.* 91, 147–154.
- [62] Campione A., Pauselli M., Natalello A., Valenti B., Pomente C., Avondo M., Luciano G., Caccamo M., Morbidini L., 2021. Inclusion of cocoa by-product in the diet of dairy sheep: Effect on the fatty acid profile of ruminal content and on the composition of milk and cheese. *Animal* 15, 100243.
- [63] Margalho L.P., Kamimura B.A., Pimentel T.C., Balthazar C.F., Araujo J.V.A., Silva R., Conte-Junior C.A., Raices R.S.L., Cruz A.G., Sant'Ana A.S., 2021. A large survey of the fatty acid profile and gross composition of Brazilian artisanal cheeses. *J. Food Compos. Anal.* 101, 103955.

- [64] Govari M., Iliadis S., Papageorgiou D., Fletouris D., 2020. Seasonal changes in fatty acid and conjugated linoleic acid contents of ovine milk and kefalotyri cheese during ripening. *Int. Dairy J.* 109, 104775.
- [65] Kim N.S., Lee J.H., Han K.M., Kim J.W., Cho S., Kim J., 2014. Discrimination of commercial cheeses from fatty acid profiles and phytosterol contents obtained by GC and PCA. *Food Chem.* 143, 40–47.
- [66] Paszczyk B., Polak-Śliwińska M., Łuczyńska J., 2020. Fatty acids profile, trans isomers, and lipid quality indices in smoked and unsmoked cheeses and cheese-like products. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 17, 71.

4. STRESZCZENIE

Opracowanie i ocena proekologicznych rozwiązań dedykowanych do oznaczania zanieczyszczeń w próbkach środowiskowych

mgr inż. Izabela Narloch

Słowa kluczowe: biała chemia analityczna, narzędzia oceny ekologiczności, zanieczyszczenia środowiska, zielona chemia analityczna

Przygotowanie próbki jest kluczowym etapem każdej procedury analitycznej i wpływa na uzyskiwanie wiarygodnych wyników analiz. W związku z tym opracowywanie odpowiednich technik przygotowania próbek jest bardzo istotne. W dzisiejszych czasach, przy wprowadzaniu nowych technik zwraca się szczególną uwagę na ich zgodność z zasadami białej i zielonej chemii analitycznej. Pozwala to na opracowywanie metod, które są wysoce wydajne, tanie, praktyczne oraz bezpieczne dla środowiska i człowieka. Natomiast w celu ułatwienia wyboru odpowiedniej procedury analitycznej zaproponowanych zostało kilka narzędzi metrycznych pozwalających na dokonanie oceny ekologiczności całych metod analitycznych bądź ich poszczególnych etapów.

W niniejszej rozprawie doktorskiej przedstawiono cykl powiązanych ze sobą tematycznie publikacji naukowych opublikowanych w latach 2021-2024. Prezentowana praca doktorska poświęcona jest przede wszystkim tematyce związanej z opracowywaniem oraz oceną metod analitycznych służących do oznaczania zanieczyszczeń środowiska w próbkach wody.

W wyniku przeprowadzonych badań stwierdzono, że metoda mikroekstrakcji do upakowanego sorbentu jest efektywną metodą służącą do oznaczania benzofenonów zarówno w próbkach wody, jak i w próbkach kosmetyków. Ponadto zauważono, że metoda ta stanowi alternatywę dla powszechnie wykorzystywanej klasycznej ekstrakcji do fazy stałej. W wyniku przeprowadzonej oceny ekologiczności ustalono, że metody ekstrakcyjne uzyskują znacznie niższe wyniki „zieloności” w porównaniu do metod mikroekstrakcyjnych, ze względu na duże zużycie toksycznych odczynników i energii oraz czaso- i pracochłonność, co z kolei wpływa na ich wysokie nakłady finansowe. W ramach kolejnej części badań wykazano, że bioodpady, tj. skorupy orzechów, mogą stanowić skuteczne biosorbenty dla zanieczyszczeń środowiska wodnego. Zastosowanie takich materiałów jako sorbentów wpływa korzystnie

na aspekt ekologiczny oraz ekonomiczny metody analitycznej. Ustalono również, że narzędzia oceny ekologiczności metod analitycznych są przydatne również w oznaczeniach profili kwasów tłuszczowych w próbkach żywności. Wykonanie takich porównawczych ocen pozwala na wybór najkorzystniejszej procedury analitycznej dla danego laboratorium badawczego.

5. ABSTRACT

Development and assessment of pro-ecological solutions dedicated to determination of pollutants in environmental samples

MSc Izabela Narloch

Key words: white analytical chemistry, ecological assessment tools, green analytical chemistry, environmental pollutants

Sample preparation is a key stage of any analytical procedure and affects the obtaining of reliable analytical results. Therefore, the development of appropriate sample preparation techniques is very important. Nowadays, when introducing new techniques, special attention is paid to their compliance with the principles of white and green analytical chemistry. This allows the development of methods that are highly efficient, cheap, practical and safe for the environment and humans. In order to facilitate the selection of the appropriate analytical procedure, several metric tools have been proposed to assess the ecological performance of entire analytical methods or their individual stages.

This doctoral dissertation presents a series of thematically related scientific publications published in 2021-2024. The presented doctoral thesis is primarily devoted to the topic related to the development and evaluation of analytical methods for determining environmental pollutants in water samples.

As a result of the conducted research, it was found that the microextraction method into packed sorbent is an effective method for determining benzophenones in both water samples and cosmetics samples. In addition, it was noted that this method is an alternative to the commonly used classic solid-phase extraction. As a result of the conducted ecological assessment, it was determined that extraction methods obtain significantly lower "greenness" results compared to microextraction methods due to the high consumption of toxic reagents and energy, as well as time and labor consumption, which in turn affects their high financial outlays. In the next part of the research, it was shown that bio-waste, i.e. nutshells, can be effective biosorbents for aquatic environment pollution. The use of such materials as sorbents has a positive effect on the ecological and economic aspects of the analytical method. It was also determined that the tools for assessing the ecological performance of analytical methods are also useful in determining the profiles of fatty acids in food samples.

Performing such comparative assessments allows for the selection of the most advantageous analytical procedure for a given research laboratory.

6. DOROBEK NAUKOWY NIE WCHODZĄCY W SKŁAD NINIEJSZEJ ROZPRAWY DOKTORSKIEJ

6.1. PUBLIKACJE NAUKOWE

1. Studziński, W.; **Narloch, I.**; Dąbrowski, Ł. Removal of pesticides from lemon and vegetables using electrolyzed water kitchen devices. *Molecules*, 2024, 29, 5797, <https://doi.org/10.3390/molecules29235797>, 140 pkt. MNiSW, IF = 4.2.
2. Studziński, W.; **Narloch, I.**; Dąbrowski, Ł. Determination of the efficiency of electrolyzed water devices for the removal of pesticides in aqueous solutions and the characteristics of the pesticide residues and their transformation products. *Journal of Water Process Engineering*, 2024, 61, 105372, <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2024.105372>, 100 pkt. MNiSW, IF = 6.3.
3. **Narloch, I.**; Gackowska, A.; Wejnerowska, G. Microplastic in the Baltic Sea: A review of distribution processes, sources, analysis methods and regulatory policies. *Environmental Pollution*, 2022, 315, 120453, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120453>, 100 pkt. MNiSW, IF = 7.6.

6.2. ROZDZIAŁY W MONOGRAFIACH NAUKOWYCH

1. **Narloch, I.**; Wejnerowska, G. Zastosowanie technik mikroekstrakcyjnych w oznaczaniu benzofenonów w próbach wody. Część I. Wydawnictwo Młodzi Naukowcy, Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce. Ochrona środowiska, Redakcja naukowa: Jędrzej Nyckowiak, Jacek Leśny, 2021, 14-21, ISBN: 978-83-66743-42-7, 5 pkt. MNiSW.
2. **Narloch, I.**; Wejnerowska, G. Zastosowanie technik mikroekstrakcyjnych w oznaczaniu benzofenonów w próbach wody. Część II. Wydawnictwo Młodzi Naukowcy, Badania i Rozwój Młodych Naukowców w Polsce. Ochrona środowiska, Redakcja naukowa: Jędrzej Nyckowiak, Jacek Leśny, 2021, 22-28, ISBN: 978-83-66743-42-7, 5 pkt. MNiSW.

6.3. UDZIAŁ W PROJEKTACH BADAWCZYCH

W okresie od 01.06.2021 do 31.12.2022 roku byłam wykonawcą w projekcie „Zielone Mleko”, zakwalifikowanego do finansowania w ramach działania M16 „Współpraca” objętego PROW 2014-2020 (umowa 0036.DDD.6509.00018.2019.11). Zakres prac realizowanych w ramach operacji „Zielone Mleko” obejmował oznaczanie zawartości kwasów tłuszczowych w próbkach mleka i sera (około 800 próbek). Kierownik projektu: dr hab. inż. Mariusz Bogucki, prof. PBŚ.

6.4. UDZIAŁ W PRZEDSIĘWZIĘCIACH BADAWCZYCH

1. W 2022 r. uzyskałam finansowanie na realizację przedsięwzięcia młodego naukowca w ramach konkursu „Działania Naukowe Młodych” organizowanego przez Politechnikę Bydgoską im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich. Tytuł wniosku: „Wpływ sposobu przygotowania próby mleka na profil kwasów tłuszczowych oraz zawartość w nim wybranych witamin”.

2. W 2023 r. uzyskałam finansowanie na realizację przedsięwzięcia młodego naukowca w ramach konkursu „Działania Naukowe Młodych” organizowanego przez Politechnikę Bydgoską im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich. Tytuł wniosku: „Porównanie metod oznaczania profilu kwasów tłuszczowych w próbce sera żółtego”.
3. W 2024 r. uzyskałam finansowanie na realizację przedsięwzięcia młodego naukowca w ramach konkursu „Działania Naukowe Młodych” organizowanego przez Politechnikę Bydgoską im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich. Tytuł wniosku: „Zastosowanie biosorbentu pochodzenia roślinnego do analizy składników kosmetycznych w próbkach wody”.
4. W 2025 r. uzyskałam finansowanie na realizację przedsięwzięcia młodego naukowca w ramach konkursu „Działania Naukowe Młodych” organizowanego przez Politechnikę Bydgoską im. Jana i Jędrzeja Śniadeckich. Tytuł wniosku: „Zastosowanie biowęgla do usuwania oraz oznaczania zanieczyszczeń środowiska w próbkach wodnych”.

6.5. AKTYWNE UCZESTNICTWO W KONFERENCJACH NAUKOWYCH

1. **Narloch, I.**, Belka, K.; Lelewer, K.; Wejnerowska, G. A novel HPLC method for simultaneous determination of α -tocopherol and β -carotene in dairy products. 4th International Virtual Conference on Food Science & Nutrition, on-line, 01-02.03.2025 r.
2. **Narloch, I.**; Wejnerowska, G. Zastosowanie biosorbentów w analityce chemicznej. XX Ogólnokrajowa Konferencja Naukowa Młodzi Naukowcy w Polsce - Badania i Rozwój, Łódź, 22-23.11.2024 r.
3. **Narloch, I.**; Wejnerowska, G.; Ciaciuch, A.; Kosobucki, P. Ocena "zieloności" procedur oznaczania profili kwasów tłuszczowych w próbkach mleka. 65 Zjazd Naukowy Towarzystwa Chemicznego, Toruń, 18-22.09.2023 r.
4. Dąbrowski, Ł.; Studziński, W.; **Narloch, I.** Characteristics of products formed from 2-hydroxybiphenyl after treatment in an electrolyzed water device. Virtual Food Analysis Summit, on-line, 04.10.2022 r.
5. **Narloch, I.**; Dąbrowski, Ł.; Studziński, W. Analiza produktów przemian 2-fenylfenolu zachodzących pod wpływem działania wody wodociągowej poddanej procesowi elektrolizy. XI Polska Konferencja Chemii Analitycznej, Łódź, 19-23.06.2022 r.
6. **Narloch, I.**; Dąbrowski, Ł.; Wejnerowska, G. Wpływ sposobu przygotowania próby mleka do analizy na wyznaczenia profilu kwasów tłuszczowych. XI Polska Konferencja Chemii Analitycznej, Łódź, 19-23.06.2022 r.
7. Studziński, W.; **Narloch, I.**; Dąbrowski, Ł. Analiza wybranych parametrów wody poddanej elektrolizie w urządzeniu do oczyszczania żywności. I Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Żywność i Żywnienie w pigułce”, Gdańsk, 09.04.2022 r.
8. **Narloch, I.**; Wejnerowska, G. Wpływ procesu smażenia na zawartość wybranych składników w olejach jadalnych. I Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Żywność i Żywnienie w pigułce”, Gdańsk, 09.04.2022 r.
9. Dąbrowski, Ł.; Studziński, W.; **Narloch, I.** Analysis of pesticide degradation products in electrolysed water produced in food purification devices. Select Science Virtual Analytical Summit 2022, on-line, 15.02.2022 r.
10. **Narloch, I.**; Wejnerowska, G. Zastosowanie metody mikroekstrakcji do upakowanego sorbentu (MEPS) do oznaczania benzofenonów w próbkach wody. E-Zjazd Zimowy Sekcja Studencka Polskiego Towarzystwa Chemicznego, on-line/Poznań, 19.12.2020 r.

11. **Narloch, I.**; Wejnerowska, G. Zastosowanie technik mikroekstrakcyjnych w oznaczaniu benzofenonów w próbach wody. XII Ogólnokrajowa Konferencja Naukowa Młodzi Naukowcy w Polsce – Badania i Rozwój, on-line, 16.11.2020 r.

6.6. STAŻE NAUKOWE

1. 12.09.2022 - 16.09.2022 r. - staż naukowy w ramach programu ERASMUS+ na Wydziale Chemii „Professor José Carlos Vilchez Martín” Uniwersytetu w Huelvie w Hiszpanii.
2. 13.05.2024 - 18.05.2024 r. - odbyłam kolejny staż naukowy w ramach programu Erasmus+ na Wydziale Inżynierii Chemicznej Uniwersytetu w Coimbrze w Portugalii.