

SPECJACJA GLINU W WODZIE I OSADZIE DENNYM STAWÓW RYBNO-HODOWLANÝCH

JOANNA KLUCZKA*, MARIA ZOŁOTAJKIN, JERZY CIBA

Politechnika Śląska, Katedra Chemii, Technologii Nieorganicznej i Paliw, ul. Bolesława Krzywoustego 6, 44-101 Gliwice, Polska

*Adres e-mail do korespondencji: joanna.kluczka@polsl.pl

Słowa kluczowe: Glin, specjacja, woda stawowa, osad denny.

Streszczenie: Badaniom poddano próbki wody i osadu dennego pobrane z kilku stawów rybnych. Oznaczono całkowitą zawartość oraz frakcje glinu w badanych próbkach. Glin monomeryczny nieorganiczny wyznaczono metodą wymiany jonowej oraz metodą ekstrakcyjno-kolorymetryczną z zastosowaniem oksychinoliny według procedury Barnes-a-Driscolla. Frakcjonowanie osadów dennych wykonano procedurą ekstrakcji sekwencyjnej Tessiera w wersji ujednoliconej oraz z zastosowaniem mineralizacji mikrofalowej. Glin całkowity w wodzie oraz w ekstraktach oznaczono metodą spektrofotometryczną z eriochromocyjaniną R, porównawczo techniką ICP OES i dokonano oceny statystycznej otrzymanych wyników. Poziom stężenia glinu labilnego w wodach: 26–34 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ oraz glinu wymiennego i kwasowego w osadach: 5–34 mg/g nie wskazuje na zagrożenie dla hodowli ryb pod warunkiem, że zachowana będzie kwasowość wody. Przy $\text{pH} = 4,3$ następuje znaczny wzrost stężenia wszystkich oznaczanych form glinu, w tym również najbardziej toksycznego dla ryb – glinu monomerycznego nieorganicznego (Al_1), którego stężenie zwiększa się ponad 10-krotnie w porównaniu z wodami o odczynie $\text{pH} = 7,1\text{--}8,2$.

WPROWADZENIE

Glin jest jednym z głównych składników budujących skorupę ziemską (zaraz po tlenie i krzemie). Występuje głównie w postaci glinokrzemianów, a w przypadku ich wietrzenia glin staje się składnikiem gleb. Zakwaszenie gleb, spowodowane obecnością w atmosferze tlenków azotu i siarki pochodzenia przemysłowego oraz ich imisji na powierzchnię ziemi, sprzyja uwalnianiu się z gleby jonów glinu i ich migrację do wód powierzchniowych i gruntowych [1, 2].

Glin uważany był kiedyś za pierwiastek całkowicie nieszkodliwy dla organizmów wodnych. Po przypadkach gwałtownego zmniejszenia populacji ryb, a nawet całkowitego zaniku niektórych gatunków w jeziorach USA i Europy, głównie południowej Skandynawii, podjęto badania nad wpływem uwalnianego z zakwaszonych gleb glinu na żywotność ryb i innych

organizmów wodnych [3, 4]. Dowiedziono, że glin w zakwaszonych roztworach glebowych ulega reakcjom z innymi jonami, tworząc zarówno organiczne, jak i nieorganiczne monomeryczne kompleksy, a w wyniku polimeryzacji tworzy wielocząsteczkowe związki, które migrują do wód naturalnych.

W środowisku wodnym można wyróżnić frakcje glinu rozpuszczonego, koloidalnego i frakcje osadowe. W kwaśnych powierzchniowych wodach glin rozpuszczony występuje w formie prostego jonu lub kompleksów hydroksylowych, fluorkowych i organicznych. Według Driscolla [5] głównie forma nieorganiczna Al jest toksyczna dla pstrąga potokowego i czukuczana białego. Występowanie toksycznych form glinu jest uzależnione nie tylko od pH i stężenia całkowitego Al, ale od obecności innych jonów (wapnia, fosforu), materii organicznej oraz temperatury i innych czynników atmosferycznych [6, 7].

Najbardziej reaktywnymi i toksycznymi formami glinu w środowisku wodnym są: Al^{3+} , $Al(OH)^{2+}$, $Al(OH)_2^+$ i bardzo labilne kompleksy glinu, głównie z ligandami nieorganicznymi. Wszystkie te formy glinu wchodzi w skład tzw. glinu monomerycznego nieorganicznego. W wodach naturalnych glin występuje w stężeniach poniżej 1 mg/dm^3 , jednak obecność wspomnianej powyżej toksycznej formy glinu, nawet w śladowych ilościach może być zagrożeniem dla niektórych gatunków ryb. Dane literaturowe wskazują, że pH w zakresie 4,4–5,6 i stężenie Al większe od $0,10\text{--}0,20 \text{ mg/dm}^3$, może doprowadzić do śmierci pstrąga [8]. W Polsce graniczne stężenie dla pstrąga potokowego oszacowano na $0,070 \text{ mg Al/dm}^3$ [9]. Zaproponowano dwa mechanizmy działania toksycznego glinu na organizmy ryb: pierwszy, spadek stężenia elektrolitów i wzajemne oddziaływania nieorganicznego monomerycznego Al z enzymami, i drugi, cytotoksyczność labilnego Al na błony skrzelowe, czego skutkiem jest osłabienie wymiany gazowej. Przy większych wartościach pH wód powyższe mechanizmy nie są dominujące, natomiast polimeryczny Al może kumulować się w skrzelach i powodować ich zaśluzowanie [8]. W pracy Gardnera i Combera [10] wyznaczono wartość graniczną pH równą 6,8 w której stężenie reaktywnego Al jest minimalne. Poniżej tego pH dominujące są formy $Al(OH)_2^+$ oraz Al^{3+} , powyżej wzrasta udział formy $Al(OH)_4^-$. Przy pH 8 i wyższym prawie 100 % glinu rozpuszczonego stanowi jon $Al(OH)_4^-$.

Glin jest mobilny i łatwo migruje z wody do osadu i odwrotnie, szczególnie przy zmianie warunków pH. Stąd ocena potencjalnego zagrożenia organizmów wodnych toksycznym glinem wymaga analizy specjacyjnej glinu nie tylko w wodzie, ale i w osadzie [11].

W ciągu ostatnich dwudziestu lat w dostępnej literaturze pojawiło się wiele prac dotyczących badania specjacji glinu. Do oznaczania hydroksokompleksów glinu $Al(OH)^{2+}$, $Al(OH)_2^+$, $Al(OH)_4^-$, kompleksów glinu z aminami, fosforanokompleksów glinu w roztworach glebowych, jak również w wodach powierzchniowych stosuje się Spektroskopię Magnetycznego Rezonansu Jądrowego ^{27}Al NMR, 1H NMR, ^{13}C NMR, ^{31}P NMR. Spektroskopia fluorescencyjna i IR pozwala na wyznaczenie zawartości kompleksu glinu z kwasem fulwowym i huminowym w roztworach wodnych. Oprócz wyżej wymienionych metod spektroskopowych, innymi metodami umożliwiającymi wyznaczenie różnych form glinu w wodach naturalnych są metody chromatograficzne, które stosuje się w połączeniu z metodami spektroskopii masowej i optycznej [12] lub fotometrią UV [13, 14], elektrotermiczną lub płomieniową atomową spektrometrią absorpcyjną [14–17]. Jednakże oznaczanie form glinu jest bardzo

trudne w przypadku niskich stężeń tego pierwiastka, w obecności złożonej matrycy, szczególnie pochodzenia organicznego i dynamicznej równowagi pomiędzy cząstkami glinu w próbkach naturalnych.

Kompleksowość analizy specjacyjnej glinu spowodowała rozwój badań nad tzw. specjacją operacyjną, której celem nie jest wyodrębnienie poszczególnych indywidualów, lecz rozróżnienie grupy związków Al na podstawie pomiarów kinetycznych i termodynamicznych. Wydzielono grupy związków, które odpowiadają „labilnemu”, „całkowitemu monomerycznemu”, „nieorganicznemu monomerycznemu” i „szybko reagującemu” Al [18–20]. Procedura Barnesa i Driscolla należy do najbardziej popularnych metod specjacji operacyjnej glinu w wodach [21, 22]. Polega ona na wyodrębnieniu trzech grup związków glinu: reagujących bezpośrednio z określonym barwnikiem, to tzw. glin reaktywny, związków reagujących przy pH = 1 w ciągu kilkunastu minut – glin reaktywny w kwasach i związków niereagujących – glin niereaktywny, a więc nieulegających wymianie jonowej na wymienniczu kationowym. W każdej z tych trzech grup występuje szereg indywidualów, których rozróżnienie nie jest istotne z punktu widzenia toksykologii wód naturalnych, natomiast ważne jest oznaczenie tzw. glinu monomerycznego nieorganicznego, którego obecność jest utożsamiana z toksycznym oddziaływaniem na organizmy wodne. W każdej frakcji zawartość glinu oznacza się spektrofotometrycznie z fioletem pirokatechinowym lub kwasem 8-hydroksychinolinom-sulfonowym. Metoda Driscolla doczekała się wielu modyfikacji i usprawnień, jednakże zasada frakcjonowania glinu jest niezmienna, co przedstawia tabela 1 [23].

Tabela 1. Frakcjonowanie glinu w wodzie [23]

Postępowanie z próbką	Frakcja glinu	Skład frakcji
Rozkład kwasami	Całkowity reaktywny (Al_r)	Formy rozpuszczalne w kwasach
Bez rozkładu	Całkowity monomeryczny (Al_m)	Nieorganiczne i organiczne, monomeryczne kompleksy
	Rozpuszczalny w kwasach (Al_t-Al_m)	Koloidalne, polimerowe i mocne organiczne kompleksy
Wymiana kationowa	Nie-labilny monomeryczny (Al_o)	Monomeryczne kompleksy organiczne
	Labilny monomeryczny (Al_m-Al_o)	Al^{3+} , hydrokso-, siarczano-, fluoro-kompleksy

Zastosowanie fioletem pirokatechinowego (PCV) do voltametrycznego frakcjonowania Al przebadali Liu [24]. Frakcja „labilnego monomerycznego Al”, uważana za najbardziej toksyczną, była oznaczona przy pH = 4,8 (stabilizacja 0,20 mol/dm³ roztworem buforu octanowego). Frakcja „całkowitego monomerycznego Al” została zmierzona przy pH = 8,5 (0,20 mol/dm³ bufor amonowy). Stężenie glinu w pozostałych frakcjach: „całkowity reaktywny w kwasach Al”, „całkowity monomeryczny Al”, „organiczny monomeryczny Al” i „rozpuszczalny

w kwasach Al³⁺ oznaczono pomiarami bezpośrednimi lub pośrednimi, a następnie porównano metodą Driscolla (ekstrakcja 8-hydroksychinoliną i wymianą jonową), uzyskując porównywalne rezultaty.

W celu rozróżnienia reaktywności glinu w osadach dennych stosuje się ługowanie jednostopniowe lub ekstrakcję sekwencyjną, czyli ługowanie za pomocą roztworów o stopniowo rosnącej agresywności. Do ługowania jednostopniowego często stosuje się 1 M roztwór KCl, a otrzymana frakcja Al_{KCl} odzwierciedla obecność form glinu potencjalnie toksycznych [25]. Do innych odczynników stosowanych w ekstrakcji jednostopniowej osadów należą: H₂O, CaCl₂, Na₂S₂O₄, NH₄F, (NH₄)₂C₂O₄, HCl, NTA, EDTA, DTPA [26]. W ekstrakcji sekwencyjnej w każdym z etapów otrzymuje się frakcję związaną z określoną grupą połączeń glinu o znanych właściwościach. Pierwszą metodykę ekstrakcji sekwencyjnej opracowali w 1979 roku Tessier, Campbell i Bisson [27], wyróżniając pięć frakcji: wymienną, związaną z węglanami, związaną z uwodnionymi tlenkami żelaza i manganu, związaną z matrycą organiczną lub siarczkami i tzw. pozostałość, związaną z krzemianami. Ta metodyka ulegała wielu modyfikacjom [28, 29] i obecnie najczęściej, również do specjacji glinu w osadach dennych, stosuje się jej ujednoliconą wersję zaproponowaną przez agencję rządową do spraw standaryzacji materiałów i metod badawczych (European Community Bureau of Reference, obecnie Standards, Measurements and Testing Programmed – BRC) wyróżniającą trzy frakcje [30]:

Frakcja 1. Wymienna i kwasowa

Glin zaadsorbowany na powierzchni ciał stałych. W wyniku zmian składu jonowego wody, przesunięcia równowagi w układzie sorpcja – desorpcja może przejść do toni wodnej.

Frakcja 2 Redukująca

Glin zaadsorbowany na powierzchni wytrącających się uwodnionych tlenków żelaza i manganu. W wyniku redukcji żelaza i manganu, może nastąpić rozpuszczenie osadu i zawrócenie glinu do roztworu.

Frakcja 3. Utleniająca

Glin zaadsorbowany na powierzchni materii organicznej lub związany z materią (wbudowany).

Standaryzowana 3-stopniowa ekstrakcja sekwencyjna sprawdzana była wielokrotnie z użyciem materiałów referencyjnych [31] i porównywana z innymi procedurami SEP [32].

Inną propozycją jest zastosowanie ekstrakcji sekwencyjnej mikrofalowej, która skraca znacznie czas analiz i zmniejsza zużycie odczynników i prądu. Metoda mikrofalowa według schematu zaproponowanego przez B. Pérez-Cida [33] wyróżnia również trzy frakcje glinu, jednak stosuje się inne ekstrahenty niż w procedurze Tessiera. Porównanie procedury tradycyjnej Tessiera z metodami mikrofalowymi według schematu Pérez-Cida i z użyciem odczynników stosowanych w schemacie Tessiera dokonano w pracy [34].

W prezentowanej pracy przeprowadzono badania nad specjacją glinu w wodach i osadach wybranych stawów rybnych. Celem pracy było wyznaczenie stężenia toksycznych dla ryb form glinu, aby oszacować potencjalne nim zagrożenie dla hodowli ryb i życia wodnego, czego dotychczas nie określano.

METODYKA BADAŃ

Badaniom została poddana woda oraz osad denny z czterech stawów hodowlanych. Za pomocą metody spektrofotometrycznej z eriochromocyjaniną R prowadzonej według normy PN-92/C-04605/02 oznaczono w wodach:

Al_t – „całkowity Al” - całkowitą zawartość glinu łącznie z koloidami i zawiesinami z próbki nie sączonej utrwalonej kwasem azotowym do $pH = 2,0$;

Al_{mc} – „rozpuszczalny w kwasach Al” - glin całkowity monomeryczny i koloidalny oznaczony z przesączonej próbki, utrwalonej kwasem azotowym do $pH = 2,0$.

Za pomocą metody ekstrakcyjno – kolorymetrycznej Barneses-Driscolla z 8-oksychinoliną oznaczono:

Al_m – „całkowity monomeryczny Al” – suma glinu nie-labilnego i labilnego (organiczny i nieorganiczny).

Oddzielenie form nieorganicznych metodą wymiany jonowej Barneses-Driscolla z oksychinoliną pozwoliło oznaczyć:

Al_o – „nie-labilny Al” - glin monomeryczny organiczny.

Następnie obliczono kolejno:

Al_l – „labilny Al” - glin monomeryczny nieorganiczny

$$Al_l = Al_m - Al_o$$

Al_c – „koloidalny Al” - całkowity glin koloidalny

$$Al_c = Al_{mc} - Al_m$$

Al_z – „zawieszony Al” - całkowity glin w postaci zawiesiny

$$Al_z = Al_{tot} - Al_{mc}$$

Osad denny poddano ekstrakcji sekwencyjnej według ujednoliconej procedury Tessiera metodą tradycyjną oraz metodą z użyciem mikrofal. Obie metod różniły się warunkami przebiegu procesu, ale zastosowano te same ekstrahenty. Otrzymane frakcje z obu wyżej wymienionych metod zostały poddane analizie metodą spektrofotometryczną UV-VIS i porównawczo ICP-OES. Otrzymane wyniki sprawdzono analizą statystyczną.

Ostatni etap pracy obejmował wyznaczanie form glinu w wodzie zakwaszonej do $pH = 4,3$. Takie postępowanie miało na celu sprawdzenie jak zmieni się stężenie poszczególnych form glinu, a w szczególności glinu toksycznego, w wodzie na skutek zakwaszenia środowiska.

Pobór i przygotowanie wstępne próbek

Próbki pobierano z 4 różnych stawów rybno-hodowlanych:

staw 1 – tzw. staw towarowy czynny, zlokalizowany w ośrodku PAN w Zakładzie Ichtiologii i Gospodarki Rybackiej Gołysz;

staw 2 i 3 – naturalne stawy na terenie gminy Koszęcin, zarybione;

staw 4 – sztuczny staw hodowlany, czynny, w miejscowości Woźniki Śląskie.

Pobieranie próbek wody zostało przeprowadzone według normy PN-ISO 5667-4 w lipcu. Próbkę o objętości 2 dm^3 pobrano z pięciu punktów z głębokości 10–40 cm i odległości od brzegu 100–200 cm, a następnie uśredniono przez zmieszanie. Po pobraniu próbek mierzono ich temperaturę i pH na pehametrze firmy Elmetron z elektrodą EPP-2, a następnie utrwalano przez zakwaszenie do $pH = 2$ (trwałe przez okres 1 miesiąca) lub zamrożenie do temperatury -20°C .

Pobieranie próbek osadów dennych przeprowadzono według normy PN-ISO 5667-15. Próbkę o masie ok. 2 kg pobrano ze stawu hodowlanego po opróżnieniu go z wody w październiku obierając sześć punktów poboru. Próbkę osadów z pozostałych stawów pobrano w lipcu z pięciu tych samych punktów stawu, z których pobierano wodę. Próbkę dokładnie wymieszano i wprowadzono do odpowiednich pojemników plastikowych, umożliwiających zachowanie naturalnych właściwości próbki. Powietrzno suchy osad był mieszany i przesiany przez sito o rozmiarach oczek 100 μm . Z tak przygotowanego osadu pobierano próbki do analizy.

Metody analityczne

Glin oznaczano metodą spektrofotometryczną z eriochromocyjaniną R według normy PN-92/C-04605/02 w zakresie stężeń 0,04–1,0 mg/dm^3 przy długości fali $\lambda = 535 \text{ nm}$, stosując kuwetę o grubości warstwy absorpcyjnej 5 cm. Stężenia innych pierwiastków, w tym również glinu, w badanych wodach oznaczono metodą ICP OES.

Stosowane odczynniki: kwas askorbinowy, roztwór 0,2% (m/m); kwas azotowy(V) o $d = 1,48 \text{ g}/\text{cm}^3$, kwas siarkowy(VI) o $d = 1,84 \text{ g}/\text{cm}^3$, 0,05 mol/dm^3 , (1 + 1); woda amoniakalna, roztwór (1 + 6); bufor octanowy o $\text{pH} = 6$, eriochromocyjanina R, roztwór podstawowy o $\text{pH} = 2,9$, roztwór roboczy (1 + 4); siarczan glinu i potasu, roztwór wzorcowy podstawowy, 0,5 $\text{mg Al}/\text{dm}^3$, roztwór wzorcowy roboczy 0,02 $\text{mg Al}/\text{dm}^3$; oranż metylowy - wskaźnik, roztwór 0,1%.

Stosowana aparatura

Spektrofotometr UV–VIS firmy Varian Cary 50 Scan;

Spektrometr ICP-OES firmy Varian 710.

Wyznaczenie glinu całkowitego Al_t oraz glinu całkowitego monomerycznego i koloidalnego Al_{mc} w wodach

Glin całkowity – Al_t – oznaczono za pomocą metody spektrofotometrycznej z eriochromocyjaniną R po zmineralizowaniu próbek wody za pomocą stężonych kwasów: siarkowego(VI) i azotowego (V) według przepisu podanego w normie PN-92/C-04605/02. Glin całkowity monomeryczny i koloidalny – Al_{mc} – oznaczono z przesączonych przez filtr 0,45 μm próbek wody, zmineralizowanych jak wyżej. Część próbek zmineralizowano stężonym kwasem azotowym sposobem mikrofalowym stosując metodę US EPA 3015, a w niektórych mineralizatach oprócz glinu oznaczono inne pierwiastki stosując metodę ICP-OES.

Wyznaczenie glinu całkowitego monomerycznego Al_m w wodach metodą ekstrakcyjno-kolorymetryczną Barnes–Driscolla z zastosowaniem oksychinoliny

Stosowane odczynniki: chlorowodorek hydroksyloaminy roztwór 20%; fenantrolina – 1,10, roztwór 1%; 8 – hydroksychinolina, roztwór 5%; czerwien fenolowa (fenolosulfoftaleina); amoniak, roztwór 25 mol/dm^3 ; roztwór buforowy o $\text{pH} = 8,3$; metylo – 2-pentanon (MIK), roztwór standardowy podstawowy glinu otrzymany z glinu metalicznego, 1 g/dm^3 .

Wykonanie oznaczenia

Pobrano 500 cm^3 próbki do rozdzielacza, dodano 10–15 kropli czerwieni fenolowej, 2 cm^3 5%

8-hydroksychinolinę i energicznie zamieszano. Kroplami dodawano 10 mol/dm³ NH₄OH, aż roztwór zmienił barwę na czerwoną (pH = 8), następnie dodano 5 cm³ buforu i 15 cm³ MIK, potrząsano przez 10 sekund. Warstwę wodną odrzucono, a organiczną poddano mineralizacji: próbkę odparowano, a następnie dodano 10 cm³ stężonego kwasu siarkowego i ogrzewano do zwęglenia. Po ostudzeniu dodano 20 cm³ stężonego kwasu azotowego i ogrzewano do odbarwienia roztworu. Całość odparowano prawie do sucha, dodano 10 cm³ stężonego kwasu azotowego, zagotowano do wrzenia i studzono, a następnie przesączono do kolby o pojemności 25 cm³ i uzupełniono wodą demineralizowaną do kreski. Wykonano 3 powtórzenia. Przygotowane próbki poddano analizie spektrofotometrycznej.

Wyznaczenie glinu organicznego Al_o w wodach metodą wymiany jonowej

Stosowane odczynniki: kwas solny 1 mol/dm³; chlorek sodu 1 mol/dm³; Amberlite IR 120 (silnie kwaśna żywica kationitowa typu polistyrenu sulfonowego).

Wykonanie oznaczenia:

Rozdział wykonano na kolumnie jonowymiennej o średnicy wewnętrznej 10 mm. Objętość złoża (Amberlite IRA 120) wynosiła BV = 10 cm³. Kondycjonowanie żywicy prowadzono 50 cm³ 1 mol/dm³ HCl oraz 50 cm³ 1 mol/dm³ NaCl z szybkością przepływu V = 4 cm³/min., a następnie wodą. Próbkę rozdzielano na kolumnie z maksymalną szybkością przepływu próbki 4–5 cm³/min. W wycieku oznaczono zawartość glinu Al_o (monomeryczny organiczny) metodą ekstrakcyjno-kolorymetryczną Barnes-Driscolla z oksychinoliną w sposób opisany powyżej. Wykonano 3 próby dla każdej z badanych wód.

Analiza sekwencyjna glinu w osadach dennych

Stosowane odczynniki: kwas octowy, roztwór 1 mol/dm³; chlorowodorek hydroksyloaminy, roztwór 0,1 mol/dm³; nadtlenek wodoru, 30% (m/m); octan amonu, roztwór 1 mol/dm³.

Aparatura

Wytrząsarka MLL 547 firmy AJL Electronic (Polska)

Mineralizator mikrofalowy MARS 5 firmy CEM Co. (Matthews).

Próbki poddano ekstrakcji sekwencyjnej według ujednoczonego schematu Tessiera metodą tradycyjną i mikrofalową.

3-stopniowa procedura ekstrakcji sekwencyjnej

Do ekstrakcji pobrano próbki o masie 5 g i otrzymano trzy frakcje.

Fracja 1 – wytrząsanie osadu dennego przez 4 godziny w 50 cm³ 0,1 M kwasu octowego i oddzielenie przez wirowanie i filtrację.

Fracja 2 – wytrząsanie osadu z frakcji 1 przez 4 godziny w 0,1 M chlorowodorku hydroksyloaminy i oddzielenie przez wirowanie i filtrację.

Fracja 3 – zalanie osadu z 2 frakcji 50 cm³ 30% nadtlenku wodoru i pozostawienie na 1 godzinę, następnie grzanie przez 1 godzinę w temperaturze wrzenia i studzenie przez kolejną godzinę. Dodanie 50 cm³ 1,0 M octanu amonu i pozostawienie na 4 godziny.

Otrzymane trzy frakcje poddano analizie spektrofotometrycznej z eriochromocyjaniną R. Porównawczo zastosowano metodę ICP OES. Wykonano 3 serie równoległe.

3-stopniowa procedura ekstrakcji sekwencyjnej z zastosowaniem mikrofal

Próbki osadu dennego o masie 0,5 g wprowadzono do teflonowych naczyń mikrofalowych umieszczonych w karuzeli mineralizatora Mars, a następnie dodano te same odczynniki, co w metodzie tradycyjnej. Próbki po włożeniu do pieca mikrofalowego były poddane energii mikrofal o mocy 1280 W i tak utrzymywane przez 10 min. w temperaturze 170°C. Otrzymano trzy frakcje, jak wyżej.

Oznaczenie form glinu w warunkach obniżonego pH

Woda stawowa wraz z osadem dennym ze stawu hodowlanego 2 została zakwaszona do pH = 4,3 i pozostawiona na okres trzech tygodni w celu ustalenia nowej równowagi woda/osad w środowisku bardziej kwaśnym niż rzeczywisty równy pH = 7,13. Po trzech tygodniach wykonano analizę specjacyjną glinu w wodzie metodami opisanymi powyżej.

Analiza statystyczna

Otrzymane wyniki stężeń glinu w wodach i osadach dennych zostały poddane analizie statystycznej. Zastosowano test Dixona, który pozwolił na wykrycie wyniku obarczonego grubym błędem, a następnie wyniki poddano analizie za pomocą rozkładu t-Studenta.

WYNIKI

Próbki wód pobierane były z 4 różnych stawów rybnych, zlokalizowanych na terenach nieskażonych. Po zmierzeniu odczynu pH, wody poddano analizie specjacyjnej wyróżniając glin całkowity (wraz z zawiesiną), glin całkowity monomeryczny i koloidalny (z przesączonej próbki), glin monomeryczny (organiczny i nieorganiczny) oraz glin monomeryczny organiczny. Pozostałe stężenia form glinu (monomeryczny nieorganiczny, koloidalny i w postaci zawiesin) obliczono z odpowiednich zależności podanych w punkcie powyżej. Wyniki przedstawiono w tabeli 2.

W tabeli 3 zestawiono rezultaty analizy pierwiastkowej badanych wód metodą ICP-OES.

Trójstopniowa ekstrakcja sekwencyjna osadów dennych sposobem tradycyjnym prowadzona była w temperaturze pokojowej i 80°C na wytrząsarce, natomiast ze wspomaganie mikrofalowym w wysokociśnieniowym i wysokotemperaturowym (175°C) mineralizatorze mikrofalowym MARS przy mocy mikrofal 1280 W. Wyniki oznaczenia glinu w poszczególnych frakcjach przedstawiono w tabeli 4.

DYSKUSJA WYNIKÓW

Analiza wód metodą ICP-OES wskazuje, że w badanych wodach występują w bardzo dużych i dużych koncentracjach następujące pierwiastki: Ca, S, Mn, Si, Mg, Na i K odpowiednio: 37,2; 14,1; 8,2; 6,2; 4,0; 2,8 i 2,5 mg/dm³, na poziomie 0,1–1,0 mg/dm³: P, Fe, Pb, Sr i Zn, a w stężeniach poniżej 0,1 mg/dm³ pozostałe pierwiastki – tabela 3. Wyniki te świadczą o obecności w badanych wodach dużych ilości krzemianów, siarczanów, związków wapnia, żelaza i magnezu, co potwierdzają dane literaturowe, według których, między innymi przeciętne stężenie siarczanów wynosi 0,1 mol/dm³, a krzemianów 0,3 mol/dm³ [35, 36].

Tabela 2. Frakcje glinu w wodzie stawów rybnych oznaczone metodą spektrofotometryczną i ICP OES

Frakcje glinu	Stężenie glinu $C \pm t \cdot s / \sqrt{n}$ [$\mu\text{g}/\text{dm}^3$]						
	Woda 1 Gołysz	Woda 2 Koszęcin			Woda 3 Koszęcin	Woda 4. Woźniki Śl.	
	pH=7,3	pH=7,13	Woda zakwaszona do pH=4,3		pH=8,12	pH=8,22	
	M. spektrofotometryczna			ICP-OES	M. spektrofotometryczna		
Al_t – glin całkowity	115 ± 1	105 ± 1	3400 ± 190		3110 ± 410	89 ± 2	134 ± 3
Al_{mc} – glin całkowity monomeryczny i koloidalny	88 ± 5	84 ± 8	2600 ± 310		1400 ± 110	62 ± 7	102 ± 3
Al_m – glin całkowity (organiczny i nieorganiczny)	60 ± 4	64 ± 5	310 ± 40		240 ± 40	23 ± 4	60 ± 4
Al_o – glin monomeryczny organiczny	26 ± 7	36 ± 5	50 ± 10		80 ± 10	20 ± 3	34 ± 3
Al_z – całkowity glin w postaci zawiesiny	27 ± 3	25 ± 1	800 ± 110		1710 ± 40	26 ± 4	32 ± 3
Al_i – glin monomeryczny nieorganiczny	34 ± 2	28 ± 2	260 ± 20		160 ± 30	3 ± 4	26 ± 2
Al_c – całkowity glin koloidalny	28 ± 3	16 ± 1	2290 ± 240		1200 ± 10	39 ± 2	41 ± 3

t – współczynnik odczytany z tablic rozkładu studenta dla $\alpha = 0,05$, $n = 3$, $t = 4,303$

s – średnie odchylenie standardowe

n – ilość powtórzeń

C – stężenie glinu (średnia arytmetyczna z n prób)

Tabela 3. Stężenia pierwiastków w wodach stawów rybnych oznaczone metodą ICP-OES

Pierwiastek/dł. fali [nm]	Stężenie pierwiastka w wodzie [mg/dm^3]			Pierwiastek/ dł. fali [nm]	Stężenie pierwiastka w wodzie [mg/dm^3]		
	Staw 2	Staw 3	Staw 4		Staw 2	Staw 3	Staw 4
Sb 206,834	0,0031	0,0018	0,0014	Ce 418,659	0,0002	0,0001	0,0031
B 249,772	0,0258	0,0237	0,0193	Gd 342,246	0,0011	0,0011	0,0014
Ge 209,426	0,0052	0,0011	0,0045	La 333,749	0,0044	0,0041	0,0034
P 213,618	0,5922	0,5294	0,5394	Pr 417,939	0,0077	0,0082	0,0064
Si 251,611	6,178	5,891	4,315	Th 283,730	0,0098	0,0104	0,0078
S 181,972	14,115	14,711	14,980	Rh 343,488	0,0002	0,0020	0,0016
Ti 336,122	0,0055	0,0043	0,0001	Au 242,794	0,0202	0,0183	0,0140
Sn 189,925	0,0006	0,0015	0,0025	Te 214,282	0,0030	0,0040	0,0010
Cd 214,439	0,0020	0,0013	0,0002	Al 396,152	0,4233	0,4085	0,1721
Cr 267,716	0,0013	0,0013	0,0007	As 188,980	0,0069	0,0037	0,0021
Fe 238,204	0,1155	0,10885	0,0867	Ba 455,403	0,0206	0,0154	0,0141
Pb 220,353	0,1220	0,0940	0,0010	Bi 223,061	<0,0010	<0,0010	0,0191
Mn 257,610	8,247	7,652	5,624	Li 670,783	0,0041	0,0033	0,0015
Ni 231,604	0,0022	0,0023	0,0010	K 766,491	2,518	1,608	1,101
Tl 190,794	0,0017	0,0028	0,0040	Mg 279,553	4,034	3,718	2,813
Zn 213,857	0,1539	0,1425	0,0145	Na 589,592	2,801	2,590	2,034
Ca 422,673	37,173	38,203	33,758	Sr 407,771	0,1358	0,1236	0,0900

Staw nr 1 – staw towarowy w Gołysz, pH wody = 7,3

Staw nr 2 – naturalny staw hodowlany w Koszęcinie, pH wody = 7,13

Staw nr 3 – naturalny staw hodowlany w Koszęcinie, pH wody = 8,12

Staw nr 4 – sztuczny staw hodowlany w Woźnikach Śląskich, pH wody = 8,22

Tabela 4. Stężenia glinu w poszczególnych frakcjach osadu dennego oznaczone metodą spektrofotometryczną

Fracje osadu dennego	Stężenie glinu $C \pm t \cdot s / \sqrt{n}$ [mg/dm ³]	
	Metoda tradycyjna	Metoda mikrofalowa
Staw rybny 1 (Gołysz)		
Fracja 1 wymienna i kwasowa	4,8 ± 0,9	12 ± 1
Fracja 2 redukująca	3,7 ± 0,5	42 ± 9
Fracja 3 utleniająca	0,70 ± 0,03	39 ± 5
Staw rybny 2 Koszęcin		
Fracja 1 wymienna i kwasowa	34 ± 9,5	34 ± 4
Fracja 2 redukująca	2,8 ± 0,2	42 ± 4
Fracja 3 utleniająca	0,46 ± 0,03	30 ± 7
Staw rybny 3 Koszęcin		
Fracja 1 wymienna i kwasowa	5,4 ± 0,6	9,3 ± 0,7
Fracja 2 redukująca	2,6 ± 0,6	8,4 ± 1,5
Fracja 3 utleniająca	1,0 ± 0,1	12,9 ± 0,2
Staw rybny 4 Woźniki Śl.		
Fracja 1 wymienna i kwasowa	8,6 ± 0,7	24 ± 2
Fracja 2 redukująca	14 ± 1	46 ± 3
Fracja 3 utleniająca	0,95 ± 0,03	30 ± 2

t – współczynnik odczytany z tablic rozkładu studenta dla $\alpha = 0,05$, $n = 3$, $t = 4,303$

s – średnie odchylenie standardowe

n – liczba powtórzeń

C – stężenie glinu (średnia arytmetyczna z n prób)

Badane wody zawierają od 0,088 do 0,134 mg/dm³ glinu całkowitego, co również odpowiada danym literaturowym dotyczącym przeciętnych zawartości związków glinu w wodach naturalnych [7, 10, 24, 37]. Wyznaczone stężenia formy glinu najbardziej toksycznej dla ryb tzw. glinu monomerycznego nieorganicznego wynoszą dla poszczególnych stawów 1–4 odpowiednio: 0,034; 0,028; 0,003 i 0,026 mg/dm³. Wyniki te dotyczą wód o pH mieszczącym się w granicach 7,13–8,22, a więc, wykazujących odczyn lekko-alkaliczny. Z literatury wiadomo, że w wodach o odczynie pH 6,2–8,0 dominuje forma glinu Al(OH)₃, a przy pH > 8 głównie Al(OH)₄⁻, która to forma glinu jest mniej toksyczna dla ryb. Niebezpieczne jednakże może być zakwaszenie wód. Badania przeprowadzone w warunkach obniżonego pH wody stawowej 2 (woda została sztucznie zakwaszona kwasem octowym do pH = 4,3 i pozostawiona na okres 3 tygodni w kontakcie z osadem dennym) wskazują na znaczny wzrost stężenia wszystkich oznaczanych form glinu, w tym również najbardziej toksycznego dla ryb – glinu monomerycznego nieorganicznego, którego stężenie zwiększa się ponad 10-krotnie (tabela 3). Tak wysokie stężenie glinu i niski odczyn pH mogą powodować zaburzenia osmotyczne oraz obniżenie aktywności niektórych enzymów u ryb i być głównym powodem ich wyginięcia [38]. Przy pH poniżej 5 dominuje bowiem forma Al³⁺, a właściwie oktaedryczny akwakompleks [Al(H₂O)₆]³⁺ [39] oraz kompleksy Al(OH)²⁺ i Al(OH)₂⁺, które mogą wnikać do organizmów ryb poprzez skrzelą, gdzie kumulują się w bardzo dużych ilościach i blokują procesy wymiany jonowej i oddychanie u ryb [40]. Oprócz tego w wodach kwasowych wodorotlenek glinu, ulega polimeryzacji tworząc związek Al₁₃, który uważa się również za toksyczny dla ryb [38].

Wyniki stężeń glinu poddane analizie statystycznej testem t-Studenta obarczone są jedynie małymi błędami, jak na analizę próbek środowiskowych. Metoda ICP-OES jest metodą bardzo uniwersalną oraz szybką, uzyskane wyniki są porównywalne do metody spektrofotometrycznej. Różnica w wynikach oznaczania glinu metodą spektrofotometryczną i ICP-OES wynosi kilka procent (tabela 2).

Osady denne gromadzące się na dnie stawu stanowią ośrodek kumulacji różnych zanieczyszczeń w tym różnych form glinu. Ze względu na swe właściwości fizyczne i chemiczne glin charakteryzuje się dużą łatwością przechodzenia do fazy stałej, liczne jego formy zwłaszcza hydroksokompleksy przy zmianie pH zmieniają swoją rozpuszczalność i ulegają strąceniu lub współstrąceniu z osadem dennym [41, 42].

Próbki osadów pobrane z czterech różnych stawów hodowlanych różnią się znacznie zawartością glinu w poszczególnych frakcjach (tabela 4). Oznacza to, że miejsca te charakteryzują się różną budową geologiczną oraz różnorodnością form glinu związanych w osadzie dennym. Porównując wyniki oznaczenia glinu w poszczególnych frakcjach osadów dennych otrzymanych sposobem tradycyjnym zauważono największe stężenie glinu we frakcji 1 – tzw. wymiennej i kwasowej, która charakteryzuje glin najbardziej mobilny (proste jony Al^{3+} , fluorkowe kompleksy glinu $AlF_n^{(3-n)+}$ [16], hydroksokompleksy glinu $Al(OH)_n^{(3-n)+}$ i inne nieorganiczne formy), bo jedynie zaadsorbowany na powierzchni ciał stałych. We frakcji 2 – tzw. redukującej odnotowano niższe zawartości glinu niż we frakcji 1 z wyjątkiem osadu dennego 3, w którym właśnie we frakcji 2 wyznaczono największy udział glinu (60,3 %). Frakcja 2 zawiera formy glinu związane z tlenkami żelaza i manganu. Pozostała frakcja trzecia tzw. utleniająca, charakteryzująca glin wbudowany w materię organiczną, a więc najmniej mobilny, ma najmniejszy udział procentowy od 0,5 do 7,4%.

Wyniki otrzymane w metodzie ekstrakcji mikrofalowej przy użyciu tych samych odczynników, które stosuje się w procedurze BCR, wykazują znacznie wyższe stężenia glinu w poszczególnych frakcjach osadów dennych. Szczególnie wyższe stężenia glinu otrzymuje się we frakcjach 2 i 3. Przypuszczalnie powodem są inne warunki ekstrakcji, takie jak wyższa temperatura procesu, ciśnienie oraz działanie mikrofal. Metoda mikrofalowa daje pełniejszą ekstrakcję glinu w porównaniu z metodą tradycyjną, przede wszystkim w przypadku trwalszych połączeń glinu np. z krzemianami lub materią organiczną, jednak stwierdzenie, że postępowanie to daje właściwą informację o biodostępności glinu, jest kontrowersyjne i wymaga dalszych badań.

WNIOSKI

- Analiza wód w gospodarstwie towarowym Gołysz wykazała niską zawartość labilnych form glinu ($34 \mu\text{g}/\text{dm}^3$). Przypuszczalnie jest to spowodowane corocznym spuszczeniem wody ze stawu i wapnowaniem dna. Czynności te utrzymują odczyn pH wody i osadu dennego na zadawalającym poziomie ok. 7.
- W stawach o naturalnej gospodarce ryb (woda nie jest w nich oczyszczana, a dno nie jest wapnowane, nie jest również dostarczany pokarm dla ryb) kwasowość wody w dniu badania była zbliżona do obojętnej lub lekko alkaliczna $7,1 < \text{pH} < 8,3$. Stężenie toksycznych form glinu nie przekraczało wartości toksycznych dla ryb i wynosiło $3\text{--}28 \mu\text{g}/\text{dm}^3$.
- Stężenie różnych pierwiastków w wodach wszystkich badanych stawów hodowlanych i naturalnych było zbliżone do wyników spotykanych na innych terenach. Najniższe stężenia pierwiastków towarzyszących stwierdzono w stawie 4 (Woźniki Śląskie), który to staw powstał po wyrobisku kruszywa. Prawdopodobnie zanieczyszczenia z wody zostały zabsorbowane przez glinokrzemiany zawarte w osadzie dennym.

- Zakwaszenie porcji wody wraz z osadem ze stawu naturalnego do pH = 4,3 w warunkach laboratoryjnych i pozostawienie na okres 3 tygodni spowodowało 10-krotne zwiększenie stężenia glinu labilnego w wodzie, co jest stanem groźnym dla hodowli ryb.
- Osady denne zależnie od miejsca poboru (staw hodowlany, naturalny, sztuczny) różniły się składem i wyglądem zewnętrznym. Ilość glinu mobilnego w osadzie była niewielka i mieściła się w zakresie 5–34 µg/g. Zmiana kwasowości wody wywołała przejście glinu obecnego w osadzie w formy rozpuszczalne i nastąpił wzrost stężenia glinu toksycznego w wodzie.
- Stawy hodowlane są zabezpieczanie corocznym wapnowaniem dna, stawy naturalne nie posiadają takich zabezpieczeń i występujące okresowo zakwaszenie może wywołać śnięcie ryb. Sugerowane jest kontrolne badanie odczynu pH wody w stawach rybnych.

PODZIĘKOWANIE

Praca współfinansowana z projektu badawczego MNiSW nr 3 T09D 079 29 realizowanego w latach 2005–2008.

LITERATURA

- [1] Kotowski M., L. Pawłowski, L., X. Zhu: *Glin w środowisku*, Polit. Lubelska, Lublin, 1995.
- [2] Sposito G.: *The Environmental Chemistry of Aluminium*, CRC Press, Florida 1996.
- [3] Dickson W.: *Limiting toxicity of aluminium to fish*, *Vatten.*, **39**, 400–404, (1983).
- [4] Baker J.P., C.L. Schofield: *Aluminium toxicity to fish in acidic waters*, *Water Air Soil Pollut.*, **18**, 289–309, (1982).
- [5] Driscoll Ch.T., J.P. Baker, J.J. Bisogni, C.L. Schofield: *Effect of aluminium speciation on fish in dilute acidified waters*, *Nature*, **284**, 161–164, (1980).
- [6] Neville Ch.M., P.G.C. Campbell: *Possible Mechanisms of Aluminium Toxicity in a Dilute, Acidic Environment to Fingerlings and Older Life Stages of Salmonids*, *Water Air Soil Pollut.*, **42**, 311–327, (1988).
- [7] Guibaud G., C. Gauthier: *Aluminium speciation in the Vienne river on its upstream catchment (Limousin region, France)*, *J. Inorg. Biochem.*, **99**, 1817–1821, (2005).
- [8] Dietrich D., Ch. Schlatter: *Aluminium toxicity to rainbow trout at low pH*, *Aquat. Toxicol.*, **15**, 197–212, (1989).
- [9] Kotowski M., E. Wieteska, L. Pawłowski, Z. Kozak: *Charakterystyka występowania różnych form aluminium w wybranych elementach środowiska w Polsce*, PIOŚ, OW OIKOS, Warszawa, 1994.
- [10] Gardner M.J., S.D. Comber: *Aluminium speciation in effluents and receiving waters*, *J. Environ. Monit.*, **5**, 902–905, (2003).
- [11] Bezak-Mazur E., M. Widłak: *Analiza specjacyjna glinu w osadach*, *Chem. Inż. Ekol.* **11**, 507–514, (2004).
- [12] Ščančar J., R. Milačič: *Aluminium speciation in environmental samples: a review*, *Anal. Bioanal. Chem.*, **386**, 999–1012, (2006).
- [13] Busch M., A. Seubert A.: *Influence of column geometry on the ion chromatographic separation of aluminium species*, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **366**, 351–355, (2000).
- [14] Mitrovič B., R. Milačič: *Speciation of aluminium in forest soil extracts by size exclusion chromatography with UV and ICP-AES detection and cation exchange fast protein liquid chromatography with ETAAS detection*, *Sci. Total Environ.*, **258**, 183–194, (2000).
- [15] Ziola-Frankowska A., M. Frankowski, J. Siepak: *Development of a new analytical method for online simultaneous qualitative determination of aluminium (free aluminium ion, aluminium-fluoride complexes) by HPLC-FAAS*, *Talanta* **78**, 623–630, (2009).
- [16] Frankowski M., A. Ziola-Frankowska, J. Siepak: *Speciation of aluminium fluoride complexes and Al³⁺ in soils from the vicinity of an aluminium smelter plant by hyphenated High Performance Ion Chromatography Flame Atomic Absorption Spectrometry technique*, *Microchem. J.*, **95**, 366–372, (2010).
- [17] Frankowski M., A. Ziola-Frankowska, J. Siepak: *New method for speciation analysis of aluminium fluoride complexes by HPLC-FAAS hyphenated technique*, *Talanta*, **80**, 2120–2126, (2010).
- [18] LaZerte B.D., C. Chun, D. Evans, F. Tomassiol: *Measurement of aqueous aluminum species: comparison of dialysis and ion-exchange techniques*, *Environ. Sci. Technol.*, **22**, 1106–1108, (1988).
- [19] Pyrzyńska K., S. Gucer, E. Bulska: *Flow-injection speciation of aluminium*, *Water Res.*, **34**, 359–365, (2000).
- [20] Hulanicki A.: *Współczesna chemia analityczna. Wybrane zagadnienia*, PWN Warszawa 2001.

- [21] Driscoll Ch.T.: *A procedure for the fractionation of aqueous aluminum in dilute acidic waters*, Intern. J Environ. Anal. Chem., **16**, 267–274, (1984).
- [22] Barnes R.B.: *The determination of specific forms of aluminium in natural water*, Chem. Geol., **15**, 177–191, (1975).
- [23] Pyrzyńska K., E. Bulska, S. Guçer, A. Hulanicki: *Aluminium Speciation in Natural Waters*, Chem. Anal. (Warszawa), **44**, 1–14, (1999).
- [24] Liu J., X. Wang, G. Chen, N. Gan, S. Bi: *Speciation of aluminium(III) in natural waters using differential pulse voltammetry with a Pyrocatechol Violet-modified electrode*, Analyst, **126**, 1404–1408, (2001).
- [25] Gruba P.: *Potentially toxic forms of aluminium in soil – selected aspects of determination and interpretation of the results*, Chem. Inż. Ekol., **11**, 573–578, (2004).
- [26] Matúš P., J. Kubová, M. Bujdoš, J. Medved: *Determination of operationally defined fractions of aluminium in reference materials and acid attacked environmental samples*, Anal. Chim. Acta., **540**, 33–43, (2005).
- [27] Tessier A., P.G. Campbell, M. Bisson: *Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals*, Anal. Chem., **51**, 844–853, (1979).
- [28] Frankowski M., A. Ziola-Frankowska, J. Siepak: *Study of aluminium sulphate complexes of surface water and fractionation of aluminium from bottom sediments*, Archiv. Environ. Prot. **35**, 55–67, (2009).
- [29] Polyák K., J. Hlavaj: *Environmental mobility of trace metals in sediments collected in the Lake Balaton*, Fres. J. Anal. Chem., **363**, 587–593, (1999).
- [30] Walna B., W. Spsychalski, J. Siepak: *Assessment of potentially reactive pools of aluminium in poor forest soils using two methods of fractionation analysis*, J. Inorg. Biochem., **99**, 1807–1816, (2005).
- [31] Matuš P.: *Evaluation of separation and determination of phytoavailable and phytotoxic aluminium species fractions in soil, sediment and water samples by five different methods*, J. Inorg. Biochem., **101**, 1214–1223, (2007).
- [32] Larner B.L., A.S. Palmer, A.J. Seen, A.T. Townsend: *A comparison of an optimised sequential extraction procedure and dilute acid leaching of elements in anoxic sediments, including the effects of oxidation on sediment metal partitioning*, Anal. Chim. Acta., **608**, 147–157, (2008).
- [33] Pérez-Cid B., I. Lavilla, C. Berulicho: *Application of microwave extraction for partitioning of heavy metals in sewage sludge*, Anal. Chim. Acta., **378**, 201–210, (1999).
- [34] Bezak-Mazur E., A. Ratajczyk, M. Widlak: *Zastosowanie mineralizacji mikrofalowej w analizie specjacyjnej glinu w osadach*, Chem. Inż. Ekol. **8**, 503–513, (2001).
- [35] Kabata-Pendias A., H. Pendias: *Biogeochemia pierwiastków śladowych*, PWN, Warszawa, 1999.
- [36] Orlik T., R. Obroślak: *Analysis Of Water Quality in Fish Pond in Eroded Basino of the Gielczew River*, Acta Agrophysica, **5**, 705–710, (2005).
- [37] Xia L. B. Hu, Z. Jiang, J. Wu, L. Li, R. Chen: *8-Hydroxyquinoline–chloroform single drop microextraction and electrothermal vaporization ICP-MS for the fractionation of aluminium in natural waters and drinks*, J. Anal. At. Spectrom., **20**, 441–446, (2005).
- [38] Poléo A.B.: *Aluminium polymerization — a mechanism of acute toxicity of aqueous aluminium to fish*, Aquat. Toxicol., **31**, 347–356, (1995).
- [39] Bezak-Mazur E.: *Elementy toksykologii środowiskowej*, Skrypt Wydaw. Polit. Świętokrzyskiej, Kielce 1999.
- [40] Klöppel H., A. Fliedner, W. Kördel: *Behaviour and ecotoxicology of aluminium in soil and water – Review of the scientific literature*, Chemosphere, **35**, 353–363, (1997).
- [41] Ziola A., T. Sobczyński: *Chemical and geochemical description of different forms of aluminium in soil*, Ekologia i Technika, **67**, 11–14, (2004).
- [42] Sobczyński T., J. Siepak: *Specjacja metali ciężkich w osadach dennych jezior*, Zakład Analizy Wody i Gruntów, Poznań 2004.