

JOANNA KUC, ADAM GROCHOWALSKI\*

## IZOLOWANIE HEKSABROMOCYKLODODEKANU Z MATRYCY TŁUSZCZOWEJ TECHNIKĄ CHROMATOGRAFII WYKLUCZANIA

### ISOLATION OF HEXABROMOCYCLODODECANE FROM FAT MATRIX USING SIZE EXCLUSION CHROMATOGRAPHY

#### Streszczenie

Opracowano i porównano dwie metody izolowania heksabromocyklododekanu z matrycy próbek żywności zawierających tłuszcz techniką chromatografii wykluczania. Badano roztwory wzorcowe oraz ekstrakt tkanki łososia. Dobrano rozpuszczalniki do elucji składników próbki ze złoża Bio-Beads S-X3. Badania wykazały, że zastosowanie techniki SEC w celu izolowania HBCD z matrycy tłuszczowej pozwala na skuteczne usunięcie większości składników interferujących.

*Słowa kluczowe: BFRs, HBCD, analiza żywności, SEC/GPC*

#### Abstract

Two methods of isolation of hexabromocyclododecane from fat matrix by using size exclusion chromatography were developed and compared. Standard solutions and salmon tissue extract were investigated. Solvents were chosen for the elution of sample components from the Bio-Beads S-X3 beads. Studies have shown that the use of the SEC technique to isolate HBCD from fat matrix allows effective removal of most of the interfering components.

*Keywords: BFRs, HBCD, food analysis, SEC/GPC*

\* Mgr inż. Joanna Kuc, dr hab. inż. Adam Grochowalski, prof. PK, Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska.

## Akronimy i symbole

BRFs	– bromowane opóźniacze zapłonu
CDT	– cis,trans,trans-1,5,9-cyklododekatrien
cHx	– cykloheksan
DCM	– dichlorometan
EA	– octan etylu
ECD	– detektor wychwytu elektronów
EPS	– polistyren ekspandowany
FID	– detektor płomieniowo-jonizacyjny
GC	– chromatografia gazowa
GPC, SEC	– chromatografia żelowa, wykluczania
grupa PBT	– grupa związków sklasyfikowanych pod względem trwałości, bioakumulacji i toksyczności wg Konwencji Sztokholmskiej
H0	– hipoteza zerowa
H1	– hipoteza alternatywna
HBCD	– 1, 2, 5, 6, 9, 10-heksabromocyklododekan
HIPS	– polistyren wysokoudarowy
HPLC	– wysokosprawną chromatografię cieczową
Hx	– heksan
ID-GC-MS	– technika rozcieńczeń izotopowych w chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas
LC	– chromatografia cieczowa
MS/MS	– spektrometria mas z wielostopniową fragmentacją cząsteczki
PBDE	– polibromowane etery difenyłowe
PCB	– polichlorowane bifenyle
$\sigma_I$	– wariancja serii pomiarowej uzyskanej metodą I
$\sigma_{II}$	– wariancja serii pomiarowej uzyskanej metodą II
UPLC	– ultrasprawną chromatografię cieczową
XPS	– polistyren ekstrudowany

### 1. Wstęp

Wymagania stawiane producentom wielu powszechnie używanych tworzyw sztucznych dotyczą w dużej mierze obniżenia ich palności. W tym celu stosuje się związki obniżające palność, spośród których największe zastosowanie mają bromopochodne węglowodorów aromatycznych i alifatycznych. Określa się je akronimem BFRs. Są one obecnie drugim po plastyfikatorach dodatkiem do polimerów.

BRFs jako ksenobiotyki kumulują się w środowisku naturalnym i mają zdolność do biowzbogacania oraz biowzmacniania, przez co stanowią zagrożenie dla życia i zdrowia człowieka [1].

1, 2, 5, 6, 9, 10-heksabromocyklododekan (HBCD) jest bromopochodną cyklicznego węglowodoru alifatycznego stosowaną jako dodatek do polistyrenu budowlanego (EPS, XPS), tapicerki meblowej oraz w elektronice (HIPS) w celu zapewnienia właściwości nie-

palnych tych materiałów [2]. Techniczny HBCD o nazwach handlowych Bromkal, Pyroguard czy Great Lakes powstaje w reakcji bromowania CDT jako mieszanina trzech par diastereoizomerów  $\alpha$ -HBCD (10–13%),  $\beta$ -HBCD (1–12%) i  $\gamma$ -HBCD (75–89%) spośród teoretycznie występujących 16 stereoizomerów HBCD [3–5]. Szacuje się, że światowe zużycie HBCD wynosi powyżej 20 tys. ton rocznie [6, 7]. HBCD nie jest chemicznie związany z polimerem, w wyniku czego bardzo łatwo przedostaje się do środowiska naturalnego na etapie produkcji, przetwarzania materiałów i składowania odpadów zawierających ten związek [8, 9].

HBCD jest trwały w środowisku naturalnym, ulega biokumulacji i jest toksyczny, w związku z tym został zaliczony do grupy PBT i wprowadzony na tzw. listę związków chemicznych objętych postanowieniami Konwencji Sztokholmskiej [10, 11]. Dotychczasowe badania wskazują, że HBCD może być niebezpieczny dla organizmów wodnych, gdyż ulega biokumulacji w rybach, w których tkankach wykryto ten ksenobiotyk po raz pierwszy [12]. Ryby można uważać za naturalne biowskaźniki zanieczyszczeń organicznych ze względu na wysoką pozycję w łańcuchu pokarmowym [13, 14]. Oznaczanie HBCD w żywności prowadzi się w celu oceny narażenia zdrowia organizmów żywych, głównie człowieka, na działanie tego związku. Wymaga to stosowania specyficznych metod na etapie przygotowania próbki do analizy, pozwalających na uzyskanie sygnału analitycznego dla zawartości ultraśladowych.

W przypadku HBCD większość procedur usuwania matrycy tłuszczowej z ekstraktów próbek żywności obejmuje wytrząsanie ze stężonym kwasem siarkowym [8, 15] lub izolowanie przy użyciu techniki chromatografii wykluczania, gdzie jako wypełnienie kolumn stosuje się przestrzenie usieciowane kopolimery styrenu i diwinylobenzenu Bio-Beads [16] a jako eluenty rozpuszczalniki organiczne takie jak DCM, Hx, EA, cHx oraz ich mieszaniny w różnych stosunkach objętościowych [17–22]. Mechanizm rozdzielania substancji w SEC wykorzystuje się do oddzielenia frakcji zawierających składniki o mniejszych promieniach hydrodynamicznych od składników matrycy próbki, dzięki czemu można oddzielić analit od składników interferujących mających większy ciężar cząsteczkowy. Dóbr odpowiedniego wypełnienia kolumn SEC oraz fazy ruchomej w zależności od rodzaju rozdzielanych składników ma kluczowe znaczenie w celu zminimalizowania skutków oddziaływań niepożądanych zakłócających prosty mechanizm rozdzielania. W większości przypadków technika SEC jest niewystarczająca jeżeli chodzi o uzyskanie odpowiedniej czystości próbek przed chromatograficzną analizą końcową. Uzyskane frakcje wymagają dodatkowego procesu oczyszczania, które najczęściej realizowane jest w kolumnach wypełnionych żelom krzemionkowym [19, 20, 22, 23], rzadziej Florisilem [21].

Analizy końcowe HBCD prowadzi się metodami chromatografii gazowej GC-MS [12, 15, 24–26] oraz cieczerw LC-MS [4, 6, 17–20, 23, 26, 28, 29]. Detektory ECD i FID stosuje się coraz rzadziej i jedynie w badaniach przesiewowych [24, 27]. Ze względu na niestabilność termiczną HBCD powyżej 230°C [25] oraz izomeryzację w temperaturze powyżej 160°C [28] korzystniejsza wydaje się być analiza metodami chromatografii cieczerw: HPLC [8, 21], UPLC [22] oraz przede wszystkim LC-MS, które, przy odpowiednio dobranych parametrach rozdzielania, umożliwiają oznaczanie poszczególnych diastereoizomerów HBCD. Porównawcze badania międzylaboratoryjne [26] nie wykazały jednak znaczących statystycznych różnic między wartościami oznaczeń HBCD uzyskanymi w trakcie analiz LC-MS oraz GC-MS, przy czym dotyczyło to sumarycznej zawartości HBCD, gdyż metodami GC nie udało się do tej pory uzyskać rozdzielania izomerów HBCD.

Opracowywanie nowych lub udoskonalanie istniejących metod badawczych, pozwalających na oznaczenie śladowych ilości zanieczyszczeń organicznych, ma istotne znaczenie dla uzyskania miarodajnych informacji na temat ich rozprzestrzenienia się w środowisku naturalnym.

## 2. Część doświadczalna

### 2.1. Materiały i odczynniki

Rozpuszczalniki Hx i DCM (J.T. Baker) o czystości do HPLC stosowano do elucji oraz przygotowania wzorców i próbek.

Wzorce:  $\alpha$ -HBCD,  $\beta$ -HBCD,  $\gamma$ -HBCD,  $^{13}\text{C}$ - $\alpha$ -HBCD każdy o stężeniu 50  $\mu\text{g/ml}$  w toluenie pochodziły z Wellington Laboratories Inc. (USA).

Wzorzec odzysku przeznaczony do badania odzysku metody analitycznej oznaczania HBCD zawiera kongener izotopowy  $^{13}\text{C}$ - $\alpha$ -HBCD i naturalne  $\alpha$ -HBCD,  $\beta$ -HBCD,  $\gamma$ -HBCD o stężeniu 100  $\text{ng/ml}$ , każdy w nonanie.

Roztwór wzorcowy stosowany w pierwszym etapie badań został przygotowany w 1 ml Hx i zawierał 1  $\mu\text{g}$  wzorca  $\gamma$ -HBCD.

Materiał badawczy stanowił ekstrakt tłuszczowy z tkanki mięsnej lososia pochodzącego z łowisk Morza Bałtyckiego przygotowany wg następującej procedury: 50 g tkanki lososia rozdrobniono i zamrożono a następnie liofilizowano przez 48 godzin. Liofilizat zmieszano z niewielką ilością bezwodnego  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  i umieszczono w gilzie ekstrakcyjnej. Ekstrakcję prowadzono za pomocą DCM w aparacie Soxhleta przez 8 godzin.

Bezwodny  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (J.T. Baker) zastosowano w celu dodatkowego osuszania próbek.

Kopolimer Bio-Beads S-X3 (Bio-Rad<sup>®</sup> Laboratories) o uziarnieniu 40–80  $\mu\text{m}$  zastosowano jako wypełnienie kolumn SEC.

Żel krzemionkowy stosowano w celu oczyszczania ekstraktów próbek po frakcjonowaniu metodą SEC: żel obojętny (70–230 mesh ASTM, Merck) aktywowano w temperaturze 130°C; żel kwaśny przygotowano przez zmieszanie i wytrząsanie 56 g żelu obojętnego z 24,4  $\text{dm}^3$  stężonego  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .

### 2.2. Aparatura

Do oznaczeń końcowych HBCD zastosowano metody chromatografii gazowej takie jak GC-ECD (Varian CP-3800), GC-FID (Varian CP-3380) oraz ID-GC-MS/MS (GC2000 Series Thermo Quest sprzężony ze spektrometrem mas GCQ Thermo Quest). Każdy aparat zaopatrzony był w kolumnę kapilarną DB – 5MS (J&W Scientific, 30 m; 0,32 mm; 0,25  $\mu\text{m}$ ). Próbkę dozowano w temperaturze 250°C bez podziału strumienia, a gazem nośnym był hel o przepływie 1,5  $\text{ml/min}$ .

Techniką MS/MS rejestrowano jony pierwotne: 239  $\text{m/z}$  dla naturalnych kongenerów HBCD i 251  $\text{m/z}$  dla kongeneru znaczonego  $^{13}\text{C}$ - $\alpha$ -HBCD oraz jony wtórne: 157  $\text{m/z}$  dla naturalnych kongenerów i 169  $\text{m/z}$  dla kongeneru znaczonego.

Programy temperaturowe stosowane w analizach zestawiono w tabeli 1.

**Programy temperaturowe analiz chromatograficznych**

Aparat	Program temperaturowy
GC-ECD	80°C (1 min) – 20°Cmin <sup>-1</sup> do 280°C (1 min) – 300°C (5 min)
GC-FID	50°C (1 min) – 10°Cmin <sup>-1</sup> do 300°C (5 min)
GC-MS	100°C (2 min) – 50°Cmin <sup>-1</sup> do 200°C (0 min) – 20°Cmin <sup>-1</sup> do 300°C (15 min)

### 2.3. Przygotowanie wypełnienia Bio – Beads S-X3

Izolowanie HBCD z matrycy tłuszczowej prowadzono metodą SEC w kolumnach szklanych (50 cm długości, 14 mm średnicy wewnętrznej). Jako wypełnienie zastosowano żel Bio-Beads S-X3, który przed wprowadzeniem do kolumny poddano spęcznieniu w szklanych naczyniach przez 6 godzin przy użyciu rozpuszczalników zestawionych w tabeli 2.

Tabela 2

**Rozpuszczalniki stosowane do spęczniania złoża a kolejno jako eluenty w SEC**

Symbol naczynia/ kolumny/ metody	Rozpuszczalniki spęczniające / eluent	Stosunek objętościowy	Objętość w ml użyta do spęcznienia 10 g żelu
I	DCM-Hx	1:1	40
II	DCM-Hx	1:4	30

Po spęcznieniu, złożo przeniesiono do szklanych kolumn oznaczonych symbolami odpowiednio I i II, a następnie każdą z kolumn przemywano 50 ml eluentu nie dopuszczając do wyschnięcia złoża.

### 2.4. Frakcjonowanie roztworów wzorcowych

W pierwszym etapie badań przeprowadzono frakcjonowanie roztworów wzorcowych (pkt. 2.1), celem określenia, w której frakcji wymywany jest HBCD. Kolejne frakcje opisywano wg ilości przepływającego eluentu w ml.

Przygotowano dwa roztwory, po jednym dla każdej z kolumn I i II.

Dla obu metod I i II stosowano tę samą procedurę frakcjonowania.

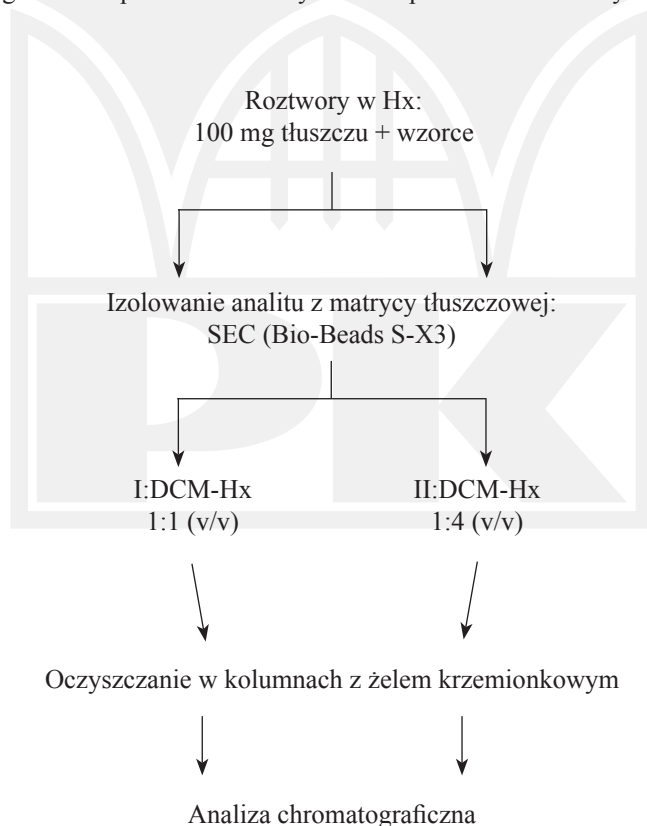
Do kolumny przygotowanej wg punktu 2.3 wprowadzono roztwór i wymywano składniki odbierając każde 10 ml eluentu (frakcje) do szklanych kolb. Przepływ eluentu przez złożo wynosił średnio 0,5 mL·min<sup>-1</sup> w obu kolumnach. Frakcje odparowywano na wyparce obrotowej i zatężano do objętości końcowej wynoszącej 20 µl. Tak przygotowane próbki analizowano metodami GC-ECD i GC-FID, które zastosowano jedynie w celu analizy jakościowej. Z każdej frakcji pobierano 1 µl i dozowano do kolumny chromatograficznej a uzyskane sygnały porównano z sygnałami otrzymanymi w trakcie analiz wzorca γ-HBCD.

Na podstawie tych analiz określono, w których frakcjach wymywany był analit. Dzięki temu w kolejnym etapie badań z zastosowaniem ekstraktu tłuszczowego odbierano jedynie frakcje zawierające HBCD.

### 2.5. Izolowanie HBCD z matrycy tłuszczowej

Kolejny etap badań miał na celu przeprowadzenie procedury izolowania HBCD z matrycy tłuszczowej techniką SEC w kolumnach I i II przygotowanych zgodnie z opisem powyżej. Przygotowano dwie próbki, z których każda zawierała 100 mg ekstraktu tłuszczowego, 1  $\mu\text{g}$  wzorca  $\gamma$ -HBCD oraz 1  $\mu\text{g}$  wzorca znaczonego  $^{13}\text{C}$ - $\alpha$ -HBCD. Tak przygotowane roztwory wprowadzono do poszczególnych kolumn I i II i prowadzono proces wymywania składników. Zgodnie z danymi uzyskanymi w pierwszym etapie badań odbierano jedynie te frakcje, które zawierały HBCD.

Ze względu na bogactwo składników w matrycy próbek żywności procedura przygotowania próbek do analizy wymaga zastosowania kilku etapów oczyszczania. Ogólny schemat procedury przygotowania próbek do analizy GC-MS przedstawiono na rysunku 1.



Rys. 1. Schemat procedury oznaczania HBCD

Fig. 1. Scheme of a procedure for the determination of HBCD

Fracje z analitem uzyskane z kolumn SEC zatężano do objętości 1 ml i poddano oczyszczaniu przy użyciu żelu krzemionkowego, w celu usunięcia pozostałych interferentów takich jak PCB i PBDE. Oczyszczanie prowadzono w taki sam sposób zarówno dla frakcji z kolumny I jak i frakcji z kolumny II.

Przygotowano kolumnę szklaną (20 cm długości, 10 mm średnicy wewnętrznej) zawierającą kolejno (od dołu):

- 0,5 g bezwodnego  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,
- 6 g żelu krzemionkowego obojętnego,
- 3 g żelu krzemionkowego kwaśnego,
- 0,5 g bezwodnego  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ .

Tak przygotowane złożo kondycjonowano 30 ml heksanu. Następnie wprowadzono odparowaną frakcję uzyskaną z kolumny SEC i prowadzono wymywanie analitu porcją 100 ml mieszaniny DCM-Hx 1:1 (v/v).

Po odparowaniu i zatężeniu do objętości końcowej (20  $\mu\text{l}$ ) oczyszczone ekstrakty analizowano metodą ID-GC-MS/MS. Uzyskane sygnały porównywano z sygnałami pochodzącymi z analizy wzorca odzysku.

### 3. Wyniki i dyskusja

Na podstawie uzyskanych danych analitycznych porównano procedurę izolowania HBCD z matrycy tłuszczowej w obu kolumnach I i II pod względem objętości frakcji zawierającej analit, wartości odzysku HBCD oraz pod względem precyzji w oparciu o test F-Snedecora. Wyniki zestawiono w tabeli 3.

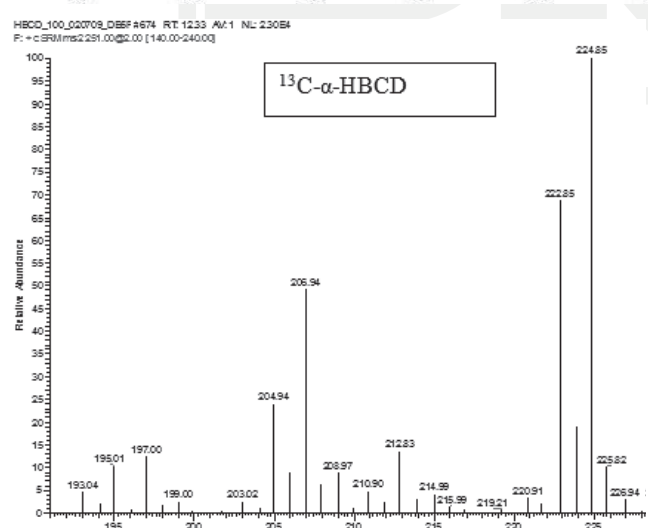
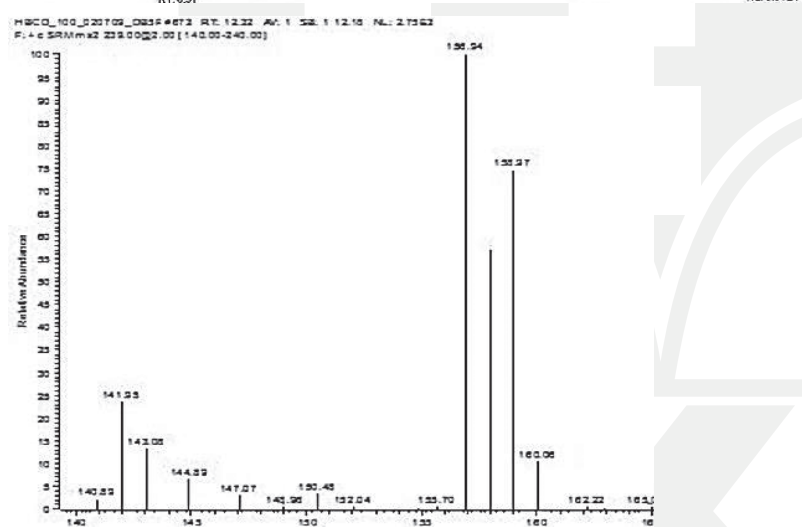
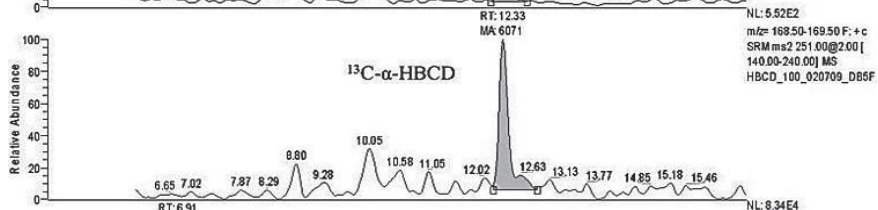
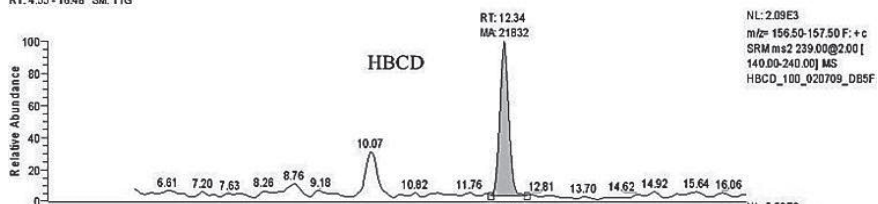
Tabela 3

**Porównanie procedur izolowania HBCD od matrycy tłuszczowej w kolumnach I i II**

Parametr	Metoda	
	I: DCM-Hx 1:1 (v/v)	II: DCM-Hx 1:4 (v/v)
Objętość frakcji zawierającej HBCD [ml]	40–80	40–120
Odzysk HBCD %	94±15	78±15
Test F-Snedecora	brak podstaw do odrzucenia hipotezy zerowej – pomiaru wykonano na tym samym poziomie precyzji	

Analizy jakościowe z zastosowaniem detektorów ECD i FID pozwoliły na stwierdzenie obecności HBCD we frakcjach od 40 ml eluentu w przypadku obu kolumn SEC, różne natomiast były górne wartości graniczne zakresu wymywania analitu. Objętość frakcji zawierającej analit była większa w przypadku kolumny II (do 120 ml), co przekłada się na większe zużycie rozpuszczalników i wydłużenie czasu frakcjonowania w porównaniu z metodą I. Dodatkowo, do spełnienia wypełnienia w układzie II potrzebna jest większa ilość rozpuszczalnika.

RT: 4.55 - 16.48 SM: 11G



Rys. 2. Chromatogram uzyskany w trakcie analizy ID-GC-MS/MS

Fig. 2. Chromatogram of ID-GC-MS/MS analysis



Dane uzyskane w trakcie oznaczeń metodą ID-GC-MS/MS posłużyły do obliczenia odzysku HBCD. Przykładowy chromatogram przedstawiono na rys. 2. W celu obliczenia odzysku porównano odpowiedź detektora w odniesieniu do wzorca naturalnego oraz wzorca znaczonego izotopowo. Wyższą wartość odzysku HBCD uzyskano z pomiarów metodą I ( $94\% \pm 15\%$ ). Jednak wartość odzysku obliczona z pomiarów metodą II ( $78\% \pm 15\%$ ) jest również akceptowalna.

Dokonano oceny statystycznej wyników pomiarów w oparciu o test F-Snedecora, w celu porównania obu zastosowanych metod izolowania HBCD (kolumna I i II) pod względem precyzji. Wartość parametru obliczonego F porównano z wartością krytyczną  $F_{kr}(\alpha = 0,05; f_p, f_{II})$  przyjętą w oparciu o dane tablicowe [31].

Założono następujące hipotezy:

- a)  $H_0: \sigma_1^2 = \sigma_{II}^2$ ,
- b)  $H_1: \sigma_1^2 \neq \sigma_{II}^2$ .

W wyniku przeprowadzonego testu F-Snedecora stwierdza się brak podstaw do odrzucenia hipotezy  $H_0$  zakładającej, że poszczególne serie pomiarów należą do tej samej populacji. Wnioskuje się zatem, że pomiary wykonano na tym samym poziomie precyzji w przypadku każdej z metod I i II.

#### 4. Wnioski

Badania wykazały, że zastosowanie techniki SEC z wypełnieniem Bio-Beads S-X3 do izolowania HBCD z matrycy próbek żywności zawierających tłuszcz pozwala na skuteczne usunięcie większości składników interferujących, przy uzyskaniu wysokiej precyzji oznaczeń. Porównując zastosowane metody pod względem precyzji (test F-Snedecora) i wartości obliczonego odzysku HBCD wnioskuje się, że obie metody mogą być stosowane do izolowania HBCD z matrycy tłuszczowej próbek żywności z tą samą skutecznością. Natomiast przy porównaniu tych metod pod względem zużycia rozpuszczalników i czasochłonności korzystniejsza jest metoda izolowania HBCD w kolumnie I. Zatem, w rutynowych badaniach próbek rzeczywistych sugeruje się zastosowanie układu I o składzie rozpuszczalnikowym DCM-Hx 1:1 (v/v).

#### Literatura

- [1] Gobas F.A., Morrison H.A., *Bioconcentration and biomagnification in the aquatic environment. Handbook of property estimation method for chemicals*, CRC Press, Boca Roton, 2000.
- [2] Hexabromocyclododecane as a possible global POP. TemaNord 2008:520. Nordic Council of Ministers, Copenhagen 2007. ISBN 978-92-893-1665-1.
- [3] Becher G., *Chemosphere*, 58, 2005, 989-91.
- [4] Heeb N., Schweizer W., Kohler M., Gerecke A., *Chemosphere*, 2005, 61, 65-73.
- [5] Covaci A., Gerecke A., Law R., Voorspoels S., Kohler M., Heeb N., *Environ. Sci. Technol.*, 2006, 40, 3679-88.
- [6] Heeb N.V., Graf H., Schweizer W.B., Lienemann P., *Chemosphere*, 2010, 80, 701-708.

- [7] Alae M., Arias P., Sjödin A., Bergman A., *Environ. Int.*, 2003, 29, 683-689.
- [8] Haukås M., Mariussena E., Ruusd A., Tollefsend K.E., *Aquatic Toxi*, 2009, 95, 144-151.
- [9] de Wit C.A., *Chemosphere*, 2002, 46, 583-624.
- [10] Strategy for limiting risks, HEXABROMOCYCLODODECANE (HBCDD) (2nd Priority List) Swedish Chemicals Agency, Sweden 4 September 2007.
- [11] de Wit C.A., Dorte Herzke, Katrin Vorkamp. *Sci. Total Environ.*, 2010, 408, 2885-2918.
- [12] Sellström U., Kierkegaard A., deWit C.A., Jansson B., *Environ. Toxicol. Chem.*, 1998, 17, 1065-1072.
- [13] Haukås M., Hylland K., Berge J.A., Nygård T., Mariussen E., *Sci. Total Environ.*, 2009, 407, 5907-5913.
- [14] Berge J.A., Schlabach M., Fjeld E., *Organohalog. Comp.*, 2006, 68, 53-6.
- [15] Polder A., Venter B., Skaare J.U., Bouwman H., *Chemosphere*, 2008, 73, 148-154.
- [16] Bio-Beads® S-X Beads. Gel Permeation Chromatography. Instruction Manual. Bio-Rad Laboratoties ([www.bio-rad.com/LifeScience/pdf/Bulletin\\_9142.pdf](http://www.bio-rad.com/LifeScience/pdf/Bulletin_9142.pdf), dostęp: 2012).
- [17] Hu X., Hu D., Song Q., Li J.P., Wang. *Chemosphere*, 2011, 82, 698-707.
- [18] Ueno D., Alae M., Marvin C., Muir D.C.G., Macinnis G., Reiner E., Crozier P., Furdui V.I., Subramanian A., Fillmann G., Lam P.K.S., Zheng G.J., Muchtar M., Razak H., Prudente M., Chung K., Tanabe S., *Environ. Pol.*, 2006, 144, 238e247.
- [19] Xia C., Lamb J.C.W., Wu X., Sun L., Xie Z., Lamb P.K.S., *Chemosphere*, 2011, 82, 1662-1668.
- [20] Ilyas M., Sudaryanto A., Setiawan I.E., Riyadi A.S., Isobe T., Ogawa S., Takahashi S., Tanabe S., *Chemosphere*, 2011, 83, 783-791.
- [21] Esslinger S., Becker R., Jung C. Schröter-Kermani C., Bremser W., Nehls I., *Chemosphere*, 2011, 83, 161-167.
- [22] Gosciny S., Vandevijvere S., Maleki M., Van Overmeire I., Windal I., Hanot V., Blaude M.N., Vleminckx C., Van Loco J., *Chemosphere*, 2011, 84, 279-288.
- [23] Gómara B., Lebrón-Aguilar R., Quintanilla-López J.E., Gonzalez M.J., *Anal. Chim. Acta*, 2007, 605, 53-60.
- [24] Zhong Y., Peng P., Yu Z., Deng H., *Chemosphere*, 2010, 81, 72-78.
- [25] Barontini F., Cozzani V., Cuzzola A., Petarca L., *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 2001, 15, 690.
- [26] Haug L.S., Thomsen C., Liane V.H., Becher G., *Chemosphere*, 2008, 71, 1087-1092.
- [27] Pöhlein M., Bertran R.U., Wolf M., van Eldik R., *J. Chromatogr. A*, 2008, 1203, 217-228.
- [28] Peled M., Scharia R., Sondack D., *Advances in Organobromine Chem. II*, Elsevier, Amsterdam 1995, 92.
- [29] Dodder N.G., Peck A.M., Kucklick J.R., Sander L.C., *J. Chromatogr. A*, 2006, 1135.
- [30] Janák K., Covaci A., Voorspoels S., Becher G., *Environ. Sci. Technol.*, 2005, 39.
- [31] *Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych*, [red.] P. Konieczka, J. Namieśnik, WN-T, Warszawa 2007.