

Adam Grochowalski

Badania nad oznaczaniem dioksyn w środowisku

Toksyczność dioksyn

Za niepokojące zjawisko ostatnich lat należy uznać wzrastające zanieczyszczenie środowiska powodujące stałe pogarszanie się stanu zdrowia ludzi i zwierząt. Próby przeciwdziałania temu muszą uwzględnić konieczność rozpoznania podstawowych źródeł zanieczyszczeń, a następnie ograniczenia ich emisji do środowiska.

Rozwój cywilizacyjny musi uwzględniać nie tylko rosnące potrzeby wzrastającej populacji ludzi, ale również konieczność utrzymania równowagi ekologicznej w środowisku. Bez tego bezwzględnie koniecznego warunku dalszy rozwój cywilizacyjny człowieka będzie powodował niebezpieczeństwo stałego pogarszania się zdrowia przy jednoczesnym wyniszczeniu wielu gatunków zwierząt, wrażliwszych od ludzi na zanieczyszczenia środowiska. Działanie niektórych związków chemicznych obcych do tej pory naturze (ksenobiotyki) na system rozrodczy ludzi i zwierząt grozi stałym obniżaniem się zdolności prokreacyjnych. W latach 90. rozpoczęto intensywne badania naukowe nad poszukiwaniem przyczyny obniżania się żywotności plemników ludzkich. Udowodniono, że dioksyny (PCDDs i PCDFs) oraz polichlorowane bifenyle (PCBs) mają bezpośredni wpływ na zakłócenie systemu endokrynnego wydzielania hormonów sterydowych, zwłaszcza progesteronu. Zakłócają również replikację kodu genetycznego. Szczególne działanie



Palący się śmietnik jest źródłem spalin zawierających dużo szkodliwych związków chemicznych, w tym dioksyn w stężeniu do 100 ng-TEQ/m³

w tym zakresie wykazują dioksyny [1]. Efekt działania jest zależny od dawki i czasu ekspozycji na te substancje. Zawartość dioksyn w niektórych środkach spożywczych, może stanowić zagrożenie ich nadmiernej kumulacji w ludzkiej tkance tłuszczowej, czego efektem będzie wykazany w badaniach wpływ na zakłócenie wydzielania hormonów sterydowych, a w konsekwencji nawet bezpłodność.

Dzięki wyjątkowej wśród wszystkich ssaków zdolności obronnej, organizm ludzki dostosowuje się szybko do zachodzących zmian jakościowych i ilościowych w środowisku.

Jednak w stosunku do niektórych ksenobiotyków system obronny dąży do uniemożliwienia przedłużenia gatunku; jest to związane z występowaniem naturalnego sposobu selekcji organizmów słabych. U ludzi jest to

proces powolny i głównie z tego powodu był do tej pory niezauważalny. Jednakże pod koniec lat 90. stwierdzono obserwowalny wzrost przypadków bezpłodności i poronień. Na terenach uprzemysłowionych Polski (głównie na Śląsku) problem ten występuje nawet u ponad 30% kobiet.

Często wskutek braku informacji o mechanizmach toksycznego działania dioksyn porównuje się ich toksyczność do cyjanków, strychniny, kurary i innych silnych trucizn o działaniu natychmiastowym (porównania spotykane niekiedy w literaturze popularnonaukowej). Jest to porównanie niewłaściwe, wywołujące niepożądane emocje i z punktu widzenia aktualnych zdobyczy naukowych naganne.

Oprócz zaburzania procesu wydzielania hormonalnego dioksyny mogą powodować zakłócenie procesu replikacji kodu genetycznego w rozmnażających się komórkach. Jest to zjawisko bardzo złożone, ale wykazano, że tzw. AH-receptory występujące w ludzkich komórkach zdolne są do przeniesienia tych substancji do jądra komórkowego,



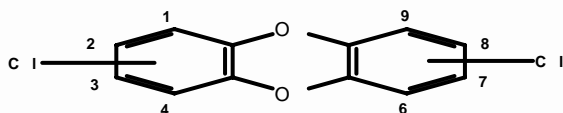
Dr hab. inż. Adam Grochowalski
adiunkt w Zakładzie Chemii Analitycznej
Instytutu Chemii i Technologii Nieorganicznej
Politechniki Krakowskiej. Członek Komisji Analizy
Odpadów i Komisji Analizy Powietrza i Gazów
Komitetu Chemii Analitycznej PAN oraz
European Society for Domestic Animal
Reproduction ESDAR. Konsultant Ministra
Przemysłu do termicznych metod utylizacji
odpadów niebezpiecznych; ekspert PKN
w pracach CEN/TC 264/WG 1.

a tam po ich uwolnieniu dioksyny mogą wpływać na proces tworzenia struktury DNA. Są więc mutagenami. Udowodniono ich działanie teratogenne (uszkadzają płód) oraz alergiczne. Udokumentowane są przypadki wystąpienia poważnych przypadków alergii skórnych wywołanych dioksynami, tzw. chlorakna.

Jedną z metod zapobiegania wzrostowi emisji dioksyn do środowiska jest poszukiwanie i uszczelnianie źródeł ich emisji. W tym celu niezbędne są właściwe metody kontroli zawartości dioksyn w strumieniach spalin, ścieków, pyłów i odpadów uwalnianych do środowiska, a także niektórych produktów przemysłowych. Ponad 90% masy dioksyn dostaje się do organizmu człowieka wraz z pożywieniem [2,3]. Stąd żywność i półprodukty do jej wytwarzania stają się podstawowym przedmiotem kontroli zawartości dioksyn.

Dioksyny i ich właściwości

Dioksyny są wspólną, powszechnie używaną nazwą polichlorowanych dibenzo-para-dioksyn i polichlorowanych dibenzofuranów. W literaturze stosowany jest skrót PCDD i PCDF od angielskich nazw: **P**oly**C**hlorinated **D**ibenzopara**D**ioxins i **P**oly**C**hlorinated **D**ibenzo**F**urans. Dioksyny należą do grupy aromatycznych związków chloro organicznych. W cząsteczce dibenzoparadioksyny i dibenzofuranu (rysunek 1) znajduje się 8 pozycji w pierścieniach benzenowych zajętych przez atomy wodoru. Pozycje te mają numery od 1 do 9 z wyjątkiem numeru 5, którą zajmuje atom tlenu. Wodór może być podstawiony atomem chlorowca.



Rys. 1. Budowa cząsteczki polichlorowanej dibenzodioksyny i polichlorowanego dibenzofuranu

Jeżeli jest to atom chloru wówczas otrzymamy chlorodibenzoparadioksynę lub chlorodibenzofuran. Jeżeli wszystkie osiem pozycji w cząsteczce zostanie zajęte przez atomy chloru otrzymamy wówczas oktachlorodibenzoparadioksynę lub odpowiednio oktachlorodibenzofuran. Ponieważ atomy chloru mogą zajmować dowolne pozycje w cząsteczkach istnieje 75 tzw. kongenerów PCDDs i aż 135 kongenerów PCDFs. W cząsteczce dibenzodioksyny lub dibenzofuranu atom wodoru w pierścieniu może zostać podstawiony atomem bromu a nawet fluoru. Otrzymamy wtedy kolejne 210 związków polibromodibenzodioksyn i dibenzofuranów lub ich 210 fluoropochodnych. Mogą też istnieć cząsteczki o mieszanym składzie. Określa się je mianem polihalogenodibenzodioksyn lub dibenzofuranów. W sumie wszystkich możliwych kombinacji jest ponad trzy tysiące. W przyrodzie występują głównie chlorowane dibenzodioksyny i dibenzofurany.

Ze względu na duże podobieństwo w toksycznym działaniu na organizmy żywe do dioksyn zaliczono również niektóre kongenery polichlorowanych bifenyli.

Źródła dioksyn w środowisku i w żywności

Głównymi źródłami dioksyn w środowisku są wszelkie procesy niekontrolowanego spalania odpadów – takie jak: spalanie w przestarzałych technologicznie spalarniach bez właściwego oczyszczania spalin, spalanie odpadów luzem na wolnym powietrzu, spalanie odpadów w kotłowniach (np. przyszpitalnych). W nowoczesnych spalarniach systemy oczyszczania skutecznie usuwają dioksyny ze spalin. Z tych urządzeń dioksyny nie są praktycznie emitowane. Pokażnym źródłem emisji dioksyn są również huty żelaza i metali kolorowych, a także przetwórnice surowców wtórnych oraz źle wyregulowane (kopjące) silniki samochodowe. Do odpadów przetworzonych, obciążonych dioksynami zaliczono osady ściekowe, komposty i zanieczyszczoną ziemię z terenów w pobliżu wysypisk z zakładów chemicznych. Niekontrolowane procesy przetwarzania odpadów, a szczególnie ich spalanie w niewłaściwych warunkach stanowią wciąż podstawowe źródło dioksyn w środowisku. Zarówno proces składowania odpadów na przeznaczonych w tym celu wysypiskach, kompostowanie organicznej części wyselekcjonowanych odpadów, a także spalanie odpadów i zachodzące podczas tego reakcje chemiczne są źródłem wielu substancji organicznych dostających się do atmosfery, wód gruntowych i pozostających na długie lata w glebie. Wśród nich są również chlorowane dibenzodioksyny, dibenzofurany i polichlorowane bifenyle. Stwierdzono ich obecność w kompostach sporządzanych z odpadów komunalnych (również w Polsce). Znajduje się je także w odciekach wydostających się ze źle przygotowanych wysypisk komunalnych i przemysłowych. Wykazano to w szeroko przeprowadzonych badaniach w Politechnice Krakowskiej w latach 1998-2001.

Obecnie, zwłaszcza w Polsce i innych krajach, w których problem gospodarowania odpadami, zwłaszcza komunalnymi i przemysłowymi nie został do końca rozwiązany, głównym źródłem dioksyn w środowisku są procesy niekontrolowanego spalania odpadów. Szczególnie istotny problem dotyczy spalania odpadów gospodarczych w piecach do ogrzewania mieszkań. Jest to problem, na który zwrócono uwagę w Unii Europejskiej, tworząc odpowiednie programy badawcze i tworząc mechanizmy wpływające na administrację państwową mające na celu znaczne ograniczenie emisji dioksyn poprzez zaprzestanie spalania odpadów gospodarczych w piecach domowych. Dla przykładu, autor tego artykułu bierze udział z ramienia Ministerstwa Środowiska i Polskiego Komitetu Normalizacyjnego w programach badawczych.

Emission-PECO project w ramach programu CORINAIR dotyczącego ochrony atmosfery przed trwałymi zanieczyszczeniami chemicznymi. Koordynatorem programu jest Joint Research Center of the European Commission (CORSE) Community Reference System on Emissions (Komisja Wspólnoty Europejskiej ds. Badania Zanieczyszczenia Atmosfery przy Zjednoczonym Centrum Badawczym) w Ispra we Włoszech.

W programie inwentaryzacji źródeł dioksyn do atmosfery: CEN/TC 264 „Air quality – Dioxins” – podprogram The DG ENV European Dioxin Emission Inventory – Stage II, (Program inwentaryzacji źródeł dioksyn do

środowiska – Badanie jakości powietrza pod względem zawartości dioksyn) koordynowanym przez Kommission Reinhaltung der Luft (Komisja Ochrony Powietrza Niemiec) im VDI und DIN – Standards Committee Secretariat of CEN/TC 264 „Air quality” w Düsseldorfie.

Popiół powstający w procesach niekontrolowanego spalania opadający na powierzchnię ziemi, a także pozostałości zanieczyszczonych dioksynami środków ochrony roślin, stosowanych w rolnictwie w latach 70-80 są głównym źródłem dioksyn w produktach rolnych, w tym głównie w tkance zwierząt hodowlanych.

Dioksyny są bardzo słabo rozpuszczalne w wodzie, natomiast bardzo dobrze rozpuszczają się w substancjach hydrofobowych, zwłaszcza w tłuszczach. Zawartość dioksyn w czystej wodzie pitnej nie przekracza poziomu 0,1 pg-TEQ/L. Zwykle jest w przedziale 0,005-0,1 pg-TEQ/L (TEQ jest poziomem toksyczności w odniesieniu do dioksyn i PCBs. Dokładne wyjaśnienie i metody obliczania TEQ znajdują się poniżej w tekście). Przyjmując, że średnio człowiek wypija 2 litry wody na dobę, to jest to mniej niż 0,2 pg-TEQ/dobę. Stanowi to około 0,5% ilości dioksyn wchłanianych wraz z pożywieniem. Jakkolwiek nie ustalono jeszcze dopuszczalnej zawartości dioksyn w wodzie pitnej, to w wielu krajach kontroluje się zawartość dioksyn w wodzie, a w Unii Europejskiej wprowadzono normę na oznaczanie dioksyn w wodzie pitnej. Jest to norma **ISO/CD 18073 Water quality – Determination of tetra- to octa- chlorinated dioxins and furans – Method using isotope dilution HRGC/HRMS method**. (Badanie czystości wody – oznaczanie tetra- do oktachlorodibenzodioksyn i dibenzofuranów metodą rozcieńczania izotopowego przy użyciu techniki kapilarnej chromatografii gazowej i wysokorozdzielczej spektrometrii mas HRGC/HRMS).

Współczesne metody analityczne oparte na technice chromatografii gazowej sprzężonej z wysokorozdzielczym spektrometrem mas (HRGC-HRMS) pozwalają na oznaczenie dioksyn w wodzie na tak wymaganym poziomie stężeń.

Podstawowym źródłem dioksyn w organizmie człowieka jest pożywienie, szczególnie zawierające tłuszcz zwierzęcy. Zawartość dioksyn w tłuszczach roślinnych jest zdecydowanie niższa i w przypadku oleju słonecznikowego wynosi 0.01-0.1 ng-TEQ/kg. Olej wyciskany z nasion okrytonasiennych roślin oleistych zawiera śladowe ilości dioksyn. Problem występuje w przypadku jadalnych części roślin narażonych na kontakt z zawierającym dioksyny pyłem zawartym w powietrzu atmosferycznym (np. kapusta lub sałata). Rośliny uprawiane na wolnym powietrzu w terenach zanieczyszczonych przemysłowo, stale narażone na opad pyłu z powietrza zawierają dioksyny na poziomie 0,6-11 ng-TEQ/kg w przeliczeniu na suchą masę. To dużo, biorąc pod uwagę, że wartość ta nie odnosi się do zawartości tłuszczu (którego w tym przypadku brak). Poziom zawartości dioksyn w olejach otrzymywanych z roślin rosnących na glebach zanieczyszczonych dioksynami jest bardzo niski. Dioksyny zawarte w glebie nie są przenoszone przez system korzeniowy do lodygi. Dzieje się tak głównie dlatego, że dioksyny są słabo rozpuszczalne w wodzie. W badaniach wykazano, że olej słonecznikowy otrzymany z roślin rosnących na glebie silnie skażonej dioksynami – o zawartości dioksyn na poziomie 100 ng-TEQ/kg

– zawiera 0,02-0,1 ng-TEQ/kg dioksyn. Natomiast olej otrzymany ze słoneczników rosnących na glebach nieskażonych ekologicznie (poniżej 5 ng-TEQ/kg gleby) zawiera dioksyny na poziomie 0,01-0,05 ng-TEQ/kg.

Autor w swoich badaniach wykazał [1], że średni okres wydalania połowy masy dioksyn z organizmu zwierząt stałocieplnych i ludzi wynosi od 7 do 10 lat. Biorąc pod uwagę, że codziennie przyjmujemy z pożywieniem nową dawkę tych związków, ich stężenie w tkance tłuszczowej rośnie wraz z upływem lat.

Zawartość dioksyn w tkance ludzkiej zależy w znacznej mierze od diety i sposobu życia. Osoby otyłe mają sumarycznie znacznie większą masę dioksyn, gdyż zawarte są one głównie w tkance tłuszczowej. Człowiek żyjący w nie skażonym przemysłowo ekosystemie przyjmuje z pożywieniem dziennie ok. 100-200 pg-TEQ w odniesieniu do 80 kg masy ciała, czyli około 1,2-2,5 pg-TEQ/kg/dobę [1]. Wartość ta może być nieznacznie większa po uwzględnieniu w bilansie dioksyn występujących w powietrzu i wodzie.

Według obowiązujących od 1998 r. zaleceń WHO za maksymalną (tzw. tolerowaną) dawkę dioksyn (TDI) przyjęto 1 pg-TEQ/kg/dzień. Uważa się, że dawka na poziomie 3 – 5 pg-TEQ/kg/dzień może spowodować kumulację dioksyn stymulujących działania genotoksyczne i kancerogenne. Efektem tego może być znaczne zakłócenie endokrynnego wydzielania hormonów – głównie progesteronu odpowiedzialnego za utrzymanie ciąży.

W przypadkach katastrofy ekologicznej, takiej jak tzw. przypadek Yusho w Japonii w 1968 r. po spożyciu skażonego oleju ryżowego chlorowanymi bifenyłami (PCBs) i dioksynami zatruciu uległo ponad 1800 osób. W wyniku szeroko prowadzonych badań osób zatrutych olejem ryżowym wykazano [8], że spożycie dioksyn wyniosło od 28 do 154 ng-TEQ/kg/dobę, co przekroczyło ponad 100 000 razy wartość TDI-WHO.

Szczególna uwaga zwrócona jest w ostatnich latach na problem dużej zawartości dioksyn w mleku ludzkim. Mleko ludzkie kobiet 20-30-letnich zawiera dioksyny na poziomie 25-40 ng-TEQ/kg [1]. Zawartość dioksyn na tym poziomie potwierdziły badania w większości krajów wysoko rozwiniętych. Niemowlę karmione piersią, przy spożyciu 150 ml mleka o zawartości tłuszczu 3% przyjmuje w ciągu doby więcej dioksyn niż człowiek dorosły o wadze 80 kg przy typowej diecie. Wynika stąd, że niemowlę karmione piersią przyjmuje dziennie wraz z pożywieniem 30-50-krotnie większą dawkę dioksyn niż człowiek dorosły.

Metody oznaczania dioksyn w żywności

Do oznaczania dioksyn w żywności nie opracowano dotychczas norm. W tym przypadku wykorzystuje się opracowane w roku 1990 procedury Amerykańskiej Agencji Ochrony Środowiska (EPA) – 1613 oraz 8280 z późniejszymi aneksami i rewizjami, będące standardami w oznaczaniu dioksyn. Po tzw. belgijskiej aferze kurczakowej w roku 1999, w czasie której w całej Europie oznaczano w wielu laboratoriach setki próbek żywności dziennie, opracowano procedury oznaczania dioksyn, niemniej jednak do chwili obecnej brak ujednoczonych procedur, a tym bardziej norm do oznaczania dioksyn w żywności. Związane jest to z dużym zróżnicowaniem próbek żywności za-

Tabela 1. Wartości współczynnika równoważnego toksyczności TEF dla PCDDs, PCDFs (wg WHO 1998)

Kongener PCDDs	TEF	Kongener PCDFs	TEF
2,3,7,8-TCDD	1	2,3,7,8-TCDF	0,1
1,2,3,7,8-P ₅ CDD	1	2,3,4,7,8- P ₅ CDF	0,5
1,2,3,4,7,8-H ₆ CDD	0,1	1,2,3,7,8- P ₅ CDF	0,05
1,2,3,6,7,8- H ₆ CDD	0,1	1,2,3,4,7,8- H ₆ CDF	0,1
1,2,3,7,8,9- H ₆ CDD	0,1	1,2,3,6,7,8- H ₆ CDF	0,1
1,2,3,4,6,7,8- H ₇ CDD	0,01	1,2,3,7,8,9- H ₆ CDF	0,1
OCDD	0,0001	2,3,4,6,7,8- H ₆ CDF	0,1
		1,2,3,4,6,7,8- H ₇ CDF	0,01
		1,2,3,4,7,8,9- H ₇ CDF	0,01
		OCDF	0,0001

Tabela 2. Produkty spożywcze pochodzenia zwierzęcego. Zawartość dioksyn podano w odniesieniu do 1 kg masy tłuszczu występującego w danym produkcie, zgodnie z wymaganiami WHO z 1998 r. [2]

Produkty polskie i zagraniczne	Oznaczona zawartość w ng-TEQ/kg tłuszczu
Mleko	0,1 - 6,0
Mleko w proszku	0,25 - 5,5
Masło	0,6 - 7,5
Ser żółty (różne gatunki)	0,2 - 11,2
Jogurty niskotłuszczowe (w odniesieniu do całej masy suchego produktu)	Poniżej 0,01
Jogurty powyżej 2% tł.	0,1 - 1,8
Wieprzowina	0,05 - 2,4
Wieprzowina grillowana na otwartym ogniu (węgiel drzewny)	20 - 50
Drób	0,3 - 12,8
Wołowina	2,4 - 12,6
Ryby słodkowodne polskie	1,2 - 9,4
Ryby morskie (bałtyckie)	4,2 - 40,0
Olej rybny (z ryb bałtyckich)	11,2 - 40
Olej rybny (import ze Skandynawii)	12,6 - 50
Jaja (żółtko)	0,6 - 8,3
Olej roślinny świeży	0,01 - 0,1
Olej roślinny zużyty (po smażeniu frytek)	0,15 - 1,2
Mączka rybna (import ze Skandynawii)	6,5 - 50
Mączka kostna produkcji polskiej	0,25 - 6,5
Wyroby czekoladowe	0,05 - 0,75
Mięso kurczaków belgijskich karmionych zanieczyszczoną paszą (luty-marzec 1999)	700

wierających tłuszcze roślinne lub zwierzęce w różnorodnej matrycy (np. jajka, nabiał, mięso, pasze, oleje itp.). Również w Polsce w Laboratorium Zespołu Analiz Śladowych Politechniki Krakowskiej od wielu lat prowadzone są badania nad oznaczaniem dioksyn w żywności. Laboratorium to, jako jedyne w Polsce prowadziło oznaczanie dioksyn w czasie wspomnianej afery kurczakowej w Belgii.

Ze względu na specyfikę oznaczania dioksyn praktycznie każde laboratorium ma własne wypracowane procedury. Ze względu na to, że takich laboratoriów w Europie jest niewiele, organizowane są co roku międzynarodowe

porównania międzylaboratoryjne. W roku 2001 porównania takie zorganizował MTM Research Centre Örebro University w Szwecji, Joint Research Center w Ispra we Włoszech a także Uniwersytet w Wenecji. Przedmiotem oznaczania dioksyn w tych porównaniach są próbki osadów ściekowych, liofilizowanej tkanki zwierzęcej (głównie ryb), mączki kostnej i zwierzęce oraz np. masło (JRC w 2001/2002).

Zgodnie z obowiązującymi wytycznymi WHO w odniesieniu do określania zawartości dioksyn w żywności, wymagane jest oznaczenie siedemnastu najbardziej toksycznych kongenerów PCDDs/PCDFs. Spośród 210 kongenerów PCDDs i PCDFs oznacza się tylko te, które mają atomy chloru w pozycjach oznaczonych jako 2,3,7 i 8 (tabela 1).

Obliczenie poziomu toksyczności próbki, wyrażonego jako TEQ (z ang. *Toxic Equivalency*) dokonuje się za pomocą tzw. współczynnika równoważnego toksyczności TEF. TEQ oblicza się ze wzoru (1) na podstawie wyników chemicznych analiz zawartości masowej wszystkich siedemnastu kongenerów PCDDs/PCDFs. Wartość liczbowa TEQ jest sumaryczną wartością parametrów cząstkowych otrzymanych z pomnożenia wyniku analitycznego stężenia każdego pojedynczego kongeneru PCDD i PCDF przez odpowiedni współczynnik cząstkowy TEF.

$$TEQ = \sum_{i=1}^{i=17} (m_i \times TEF_i) \quad (1)$$

gdzie:

m_i – masa pojedynczego kongeneru, w pg lub w ng
 TEF_i – współczynnik równoważny toksyczności dla i-tego kongeneru PCDD/F, w odniesieniu do kongeneru 2,3,7,8-TCDD.

W tabeli 1 zestawiono wartości liczbowe 17 kongenerów PCDDs/PCDFs/PCBs w odniesieniu do najbardziej toksycznego 2,3,7,8-TCDD, dla którego – zgodnie z zaleceniami WHO z 1998 – przyjęto współczynnik równy 1. Odpowiednio dla najmniej toksycznych PCDDs/PCDFs: OCDD i OCDF przyjęto współczynniki TEF – 0,0001.

W większości rozporządzeń krajów europejskich do obliczania TEQ wykorzystywane jest tylko ozna-

czanie 17 kongenerów dioksyn. Jakkolwiek w Unii Europejskiej rozważa się obecnie konieczność wprowadzenia do obliczania TEQ dodatkowo 12 kongenerów koplarnych, non-orto i mono-orto PCBs.

Produkty żywnościowe w całej Unii Europejskiej są przedmiotem oznaczania w nich zawartości dioksyn. Szczególnie te, które zawierają tłuszcze zwierzęce. Poniżej, w tabeli 2 zestawiono wyniki oznaczania dioksyn w próbkach żywności pochodzenia zwierzęcego z terenu Polski. Dane pochodzą z badań ponad 600 próbek. Oznaczenia przeprowadzono w latach 1997-2001. Większość danych opublikowano w [1].

Na terenach, gdzie wypalane są łąki i spalane odpady gospodarcze w piecach domowych zawartość dioksyn w roślinach liściastych sięga do 11 ng-TEQ/kg [1].

W Unii Europejskiej mleko objęte jest obowiązkową kontrolą zawartości dioksyn. Dla przykładu w Holandii zawartość dioksyn nie może przekraczać 5 ng-TEQ/kg tłuszczu zawartego w mleku. Wyraźnie zaznaczam, że odnosi się to do masy tłuszczu występującego w produkcie, w tym przypadku w mleku. Zawartość dioksyn w tłuszczach zwierzęcych zwykle nie przekracza poziomu 0,05-0,1 ng-TEQ/kg. Jest to ilość bardzo mała, typowa dla wszystkich produktów spożywczych.

W Unii Europejskiej nie ma jednoznacznie określonych dopuszczalnych zawartości dioksyn w żywności.

W kwietniu 2001 przyjęto jedynie w Holandii i Niemczech dopuszczalne stężenie dioksyn, które w niektórych produktach zwierzęcych (w odniesieniu do masy tłuszczu) nie mogą przekraczać wartości:

- wieprzowina 3 ng-TEQ/kg (z wyjątkiem nerek i wątroby);
- drób i wołowina 5 ng-TEQ/kg;
- mleko i przetwory – o zawartości tłuszczu powyżej 2% 5 ng-TEQ/kg;
- jaja, tłuszcz zwierzęcy i oleje 5 ng-TEQ/kg.

W styczniu 2002 r. decyzją Rady Unii Europejskiej przyjęto, że poziom dioksyn w rybach nie może przekraczać 4 ng-TEQ/kg w odniesieniu do masy tłuszczu.

Do końca 2001 r. brak było na świecie jednolitych rozporządzeń, określających dopuszczalne poziomy zawartości dioksyn w odniesieniu do środków spożywczych pochodzenia roślinnego.

W wielu krajach przyjmuje się praktycznie, że żaden roślinny produkt spożywczy aby był dopuszczony do obrotu handlowego nie powinien zawierać dioksyn na poziomie – podobnie jak dla produktów pochodzenia zwierzęcego – powyżej 5 ng-TEQ/kg suchej masy.

Oznaczanie dioksyn w spalinach

Osobnym problemem jest oznaczanie dioksyn w spalinach. Ze względu na powszechne zjawisko spalania odpadów komunalnych, przemysłowych i szpitalnych w wielu krajach w tym również w Polsce, praktycznie od roku 1994 uregulowano sposoby kontroli emisji dioksyn do atmosfery. W grudniu 1994 wprowadzono Dyrektywę

Tab. 3. Produkty spożywcze pochodzenia roślinnego. Zawartość dioksyn podano w odniesieniu do suchej masy produktu.

Produkty polskie i pochodzące z UE	Oznaczona zawartość w ng-TEQ/kg
Warzywa korzenne w przeliczeniu na suchą masę	0,001 - 0,1
Warzywa liściaste (sałata, kapusta)	0,025 - 1,5
Warzywa z krzewów niskopiennych (ogórek, dynia)	0,008 - 0,35
Warzywa z krzewów wysokopiennych (pomidor)	0,005 - 0,075
Owoce z krzewów niskopiennych (truskawka)	0,015 - 0,12
Owoce z krzewów wysokopiennych (maliny, porzeczki)	0,010 - 0,15
Owoce z drzew liściastych	0,005 - 0,15
Orzechy laskowe*	0,002 - 0,09
Orzechy włoskie*	0,015 - 0,20
Rośliny strąkowe (groch, fasola)	0,001 - 0,1
Olej roślinny (rzepak, słonecznik)	0,001 - 0,15
Kukurydza*	0,002 - 0,030
Pszenica	0,001 - 0,005
Żyto	0,001 - 0,005
Ryż* (dane literaturowe)	0,001 - 0,020

* produkty pochodzące z UE

94/67 EC Unii Europejskiej określającą dopuszczalne poziomy stężenia (a nie emisji) substancji szkodliwych emitowanych ze spalinami z procesów spalania odpadów niebezpiecznych. Dyrektywa ta określała, że stężenie dioksyn w spalinach z tych procesów nie może przekraczać 0,1 ng-TEQ/m³ w odniesieniu do warunków normalnych dla suchych spalin i w przeliczeniu na 11% O₂. Ze względu na duże rozbieżności w lokalnych wymaganiach niektórych krajów (np. Anglia, Francja, Belgia, Szwecja) i fakt, że Dyrektywa 94/67/EC odnosiła się jedynie do spalania odpadów niebezpiecznych. 4 grudnia 2000 r. ukazała się nowa Dyrektywa 2000/76/EC, w której jednoznacznie określono, że stężenie dioksyn w spalinach z wszelkich procesów spalania odpadów, w tym również podczas współspalania odpadów np. w piecach cementowych nie może przekraczać 0,1 ng-TEQ/m³. Na podstawie tej dyrektywy polskie Ministerstwo Środowiska wydało Rozporządzenie z dnia 30 lipca 2001 r. w sprawie wprowadzania do powietrza substancji zanieczyszczających z procesów technologicznych i operacji technicznych, w którym przyjęto za dopuszczalny poziom stężenia dioksyn w spalinach 0,1 ng-TEQ/m³. Należy podkreślić, że wymaganie to obowiązuje od dnia 1 stycznia 2002 r. w odniesieniu do nowo uruchamianych spalarni, natomiast w odniesieniu do eksploatowanych przed 31 grudnia 2001 r. obowiązywać będzie od 1 stycznia 2003 r.

Duża potrzeba prowadzenia pomiarów stężenia dioksyn w spalinach spowodowała konieczność opracowania lub dopracowania metod pobierania próbek gazowych i ich analizy. Analiza danych opublikowanych w raporcie z międzynarodowych badań w zakresie inwentaryzacji podstawowych źródeł dioksyn do atmosfery (The European Dioxin Inventory) z roku 1997 [5] i późniejszego raportu 1996-2000 [6], wskazuje na konieczność szerszego zakresu pomiarowego w odniesieniu do podstawowych źródeł dioksyn z procesów termicznych. Rozumiane jest to jako poszerzenie źródła informacji o emisji dioksyn do atmosfery.

W roku 1997 ukazała się norma EN-1948 w której ujednolicono metodykę pomiaru dioksyn w spalinach. Norma ta jest zatytułowana: EN 1948-1÷3:1997 *Stationary source emissions – Determination of the mass concentration of PCDDs and PCDFs – Part 1: Sampling – Part 2: Extraction and clean-up, – Part 3: Identification and Quantification* (Emisja ze stacjonarnych źródeł – Oznaczanie stężenia PCDDs i PCDFs w spalinach – Część 1: Pobieranie próbek – Część 2: Ekstrakcja i przygotowanie próbek do analiz – Część 3: Oznaczanie i metody obliczenia wyniku).

EN 1948 została zatwierdzona jako dokument regulujący procedury pobierania próbek gazowych z instalacji stacjonarnych, ich przygotowanie do analiz i wykonanie analiz instrumentalnych, sposoby obliczania wyników i ich raportowanie.

Procedury opisane są w tej normie bardzo szczegółowo przy dopuszczeniu stosowania kilku wariantów postępowania dla każdej z jej części.

EN 1948 została przetłumaczona na język polski i skierowana do ustanowienia przez PKN. Jej wprowadzenie będzie umożliwiało określenie przede wszystkim jakości pracy wielu instalacji energetycznych, metalurgicznych i spalarni, a także wartości globalnej emisji dioksyn do atmosfery w Polsce.

Procedurę pomiarową, zgodną z EN 1948 można przedstawić następująco:

Ze strumienia spalin pobierane są próbki o objętości od kilku do kilkunastu m³ w przeliczeniu na warunki umowne tzn. 0,1 MPa i 273 K.

Próbki spalin zasysane są przez sondę pomiarową oraz zestaw filtrujący, w którym zatrzymywane są cząstki lotnego popiołu o średnicach do 0,2 μm. Cząstki pyłu całkowitego



Sadza z powietrza zawiera dioksyny. Na zdjęciu zatrzymana na powierzchni płaskiego filtra sadza po przepuszczeniu 1600 m³ powietrza atmosferycznego w Krakowie

osiadają na filtrze z włókien kwarcowych umieszczonych w ogrzewanej obudowie lub wylapywane są wraz z wykroplonym kondensatem. Gaz po odfiltrowaniu przepuszczany jest w sposób ciągły przez adsorbent z polimerów porowatych. Do filtrów i sorbentów przed pobieraniem próbki i po ekspozycji wprowadza się substancje wzorcowe PCDD/F znaczone izotopem węgla ¹³C celem określenia strat dioksyn podczas pobierania próbek i przygotowania ich do analiz. Filtry, kondensat i sorbenty po przewiezieniu do laboratorium ekstrahuje się rozpuszczalnikami organicznymi i analizuje.

Aparatura stosowana do pobierania próbek gazowych na zawartość dioksyn jest specyficzna i wymaga odpowiedniego przeszkolenia osób dokonujących pomiarów i pobierania prób w zakresie przygotowania aparatury i prowadzenia badań na instalacji. Do pobierania próbek gazowych stosowanych jest kilka metod zgodnie z normą EN 1948-1:

1. Pobieranie próbek z wychłodzeniem gazu spalinowego przed odbiorem frakcji pyłowej, bez filtracji ale z zastosowaniem sorpcji w roztworach i na fazie stałej (tzw. metoda chłodzonej sondy).
2. Rozcieńczenie gazu spalinowego powietrzem, filtracja i sorpcja (tzw. metoda z rozcieńczeniem strumienia spalin).
3. Gorąca filtracja frakcji pyłowej, wykroplenie kondensatu pary przez wychłodzenie gazu i sorpcja na fazie stałej (metoda filtracji i kondensacji).

EN 1948-2 określa sposób przygotowania próbek do analiz, a EN 1948-3 podaje sposób prowadzenia oznaczenia dioksyn przy użyciu chromatografii gazowej w sprzężeniu ze spektrometrią mas. Poziom wykrywalności metody umożliwia oznaczanie dioksyn na poziomie poniżej 0,001 ng-TEQ/m³.

Metody oznaczania dioksyn w powietrzu atmosferycznym

W Politechnice Krakowskiej opracowano metodę oznaczania dioksyn w powietrzu atmosferycznym. Badania dioksyn w powietrzu w Krakowie przeprowadzono w latach 1996-2000 przy wykorzystaniu Stacji Monitoringu Środowiska Wojewódzkiego Inspektoratu Ochrony Środowiska w Krakowie. Prowadzono również oznaczanie dioksyn w powietrzu w Warszawie na terenie wokół Zakładu Utylizacji Stałych Odpadów Komunalnych (ZUSOK) na Targówku. Opracowana metoda pozwala na oznaczanie dioksyn na poziomie femtogramowym (10⁻¹⁵g) w 1 m³. Badania wykazały, że spalanie odpadów gospodarczych w piecach domowych jest pokaźnym źródłem emisji dioksyn do atmosfery, dlatego w Polsce stężenie dioksyn w powietrzu jest większe niż w innych krajach europejskich [7]. Do chwili obecnej nie ma norm na oznaczanie dioksyn w powietrzu atmosferycznym.

Dioksyny są oznaczane na tak niskim poziomie dzięki możliwości współczesnych urządzeń analitycznych. Dla przykładu, oznaczanie dioksyn prowadzone w Laboratorium Zespołu Analiz Śladowych Politechniki Krakowskiej prowadzone jest z wykorzystaniem chromatografii gazowej w sprzężeniu ze spektrometrią mas z wielostopniową fragmentacją badanej cząsteczki przy wykorzystaniu urządzeń typu Finnigan MAT GCQplus GC-MS/MS.

Podsumowanie

Jakkolwiek problem związany z zanieczyszczeniem środowiska dioksynami jest dyskutowany od ponad 30 lat i istnieje wielka potrzeba oznaczania dioksyn w wielu produktach przemysłowych, rolniczych i w środowisku to do chwili obecnej ukazała się tylko jedna norma dotycząca oznaczania dioksyn w spalinach – EN 1948 oraz przygotowana jest norma ISO na oznaczanie dioksyn w wodach – ISO/DIS 18073. W literaturze dostępnych jest wiele opisanych metod oznaczania dioksyn w różnorodnych próbkach. Wszystkie te metody różnią się jednak od siebie sposobem przygotowania próbek do analiz. Spowodowane to jest bardzo dużym zróżnicowaniem składu matrycy próbek (gleba, tłuszcze zwierzęce, produkty przemysłowe, popioły, itp.) oraz zawartości innych niż dioksyny zanieczyszczeń, mogących utrudniać oznaczenie dioksyn. Dla przykładu procedury przygotowania próbek tłuszczu zwierzęcego i roślinnego różnią się znacznie. Należy mieć na uwadze, że dioksyny występują w próbkach w stężeniach nanogramowych lub nawet pikogramowych. Usunięcie zanieczyszczeń z próbki przed analizą jest bardzo trudnym zadaniem i w praktyce dla każdego rodzaju próbki wymaga stosowania różnych procedur analitycznych przed oznaczeniem dioksyn.

Spaliny zawierają zwykle niewielką ilość związków organicznych oraz mineralną pozostałość po spalaniu, czyli popiół. W tym jedynym jak na razie przypadku udało się opracować normę, która pozwala na ujednoczenie procedur pobierania próbek, ich przygotowania do analiz i oznaczania.

Należy spodziewać się, że w odniesieniu do próbek żywności, produktów przemysłowych, próbek biologicznych, środowiskowych (takich jak osadów i gleb) opracowanie norm na oznaczanie dioksyn może być bardzo trudne, gdyż należałoby stworzyć normy w odniesieniu do każdego rodzaju próbki, co byłoby niepraktyczne i bardzo kosztowne.

Z tego powodu oznaczaniem dioksyn zajmuje się na świecie niewiele laboratoriów, w których opracowano procedury dotyczące oznaczania dioksyn badanych tam próbek. Z mojego doświadczenia wynika, że w każdym przypadku oznaczania dioksyn w nowej, badanej próbce należy indywidualnie opracować własną, sprawdzoną metodę oznaczania. W tym celu wykorzystuje się bardzo kosztowne wzorce dioksyn znaczone stabilnym izotopem węgla ^{13}C , pozwalające na obliczenie odzysku analitu na etapie przygotowania próbek do oznaczania. W wielu przypadkach zdarza się, że dla nowych próbek odzysk ten jest początkowo praktycznie zerowy, pomimo zastosowania sprawdzonej dla podobnej matrycy procedury. Oznaczanie dioksyn jest wciąż przedmiotem intensywnych badań wielu ośrodków naukowych, w tym również w Polsce. Problem w tym, że badania te są bardzo kosztowne.

Organizowane są międzynarodowe porównania międzylaboratoryjne dotyczące oznaczania dioksyn. Pozwalają one nie tylko na ocenę jakości prowadzonych oznaczeń, lecz także na poszukiwanie standardów oraz sprzyjają opracowywaniu norm dotyczących przygotowywania próbek do oznaczania dioksyn.



Aparatura do pobierania próbek spalin na zawartość dioksyn. Na zdjęciu przedstawiono pobór próbek spalin z komina pieca cementowego

Bibliografia

1. *Badania nad oznaczaniem polichlorowanych dibenzodioksyn, dibenzofuranów i bifenyli*, Zeszyty Naukowe Politechniki Krakowskiej, monografia 272, ISSN 0860-097X (120 stron), Kraków 2000.
2. A. Grochowalski, R. Chrzęszcz, *The Result of the Large Scale Determination of PCDDs, PCDFs and Coplanar PCBs in Polish Food Product Samples using GC-MS/MS Technique*. Organohalogen Compounds 47, 306-310, 2000.
3. Food Law News – EU-2001. Standing Committee on Foodstuffs (Wykaz aktualnych zapisów z tworzenia regulacji prawnych w zakresie dopuszczalnych poziomów dioksyn w żywności w krajach UE), Koordynator – School of Food Biosciences (incorporating the National Centre for Biotechnology Education), UK.
4. B. van Bavel, P. Andersson, Ch. Rappe, M. Tysklind, N. Takeda, *Results from the 4th round of the International Study on PCDDs, PCDFs, mono-ortho and planar PCBs*. Organohal. Comp., 40, 289-300, 1999.
5. Identification of Relevant Industrial Sources of Dioxins and Furans in Europe (The European Dioxin Inventory) – Final Report. North Rhine-Westphalia State Environmental Agency – LUA-NRW – con. no: B4-3040/94/884/AO/A3 – European Commission, DG-XI.
6. The European Dioxin Emission Inventory – Stage II, Final Report December 2000, European Commission Directorate General for Environment (DG ENV) con. No: 96/771/3040/DEB/E1, Landesumweltamt NRW, ISSN 0947-5206, Essen, 2001.
7. A. Grochowalski, *Dioxin Emission and Ambient Air Concentration in Poland*, „Dioxins in the Air” 18-20.11.2001 Bruges, Belgia.
8. Y. Masuda, M. Kuratsune, H. Yoshimura, Y. Hori, M. Okumura, *Yusho, a Human Disaster Caused by PCBs and Related Compounds*, Kyushu University Press, Fukuoka, ISBN 4-87378-431-X, 1996.