

dr hab. inż. Adam Grochowalski

Politechnika Krakowska

DIOKSYNY

1. Wstęp

Piękna ozdoba naszych łąk, Motyl Paż królowej *Papilio machaon* jest objęty ochroną gatunkową w wielu krajach w tym również w Polsce. Gatunek ten znika z naszych łąk i lasów w zastraszająco szybkim tempie.

Nie jest to jednak bezpośrednio spowodowane zanieczyszczeniem środowiska, ale naruszeniem równowagi biologicznej w jego ekosystemach. Rozwój oraz chemizacja rolnictwa i leśnictwa spowodowały zwiększenie się populacji niektórych gatunków ptaków, płazów i innych owadów, które są naturalnymi wrogami tego motyla, dla których wszystkie jego cztery stadia rozwojowe są pożywieniem.

Motyle z rodziny *Heliconidae* żyjące w Ameryce Południowej w lasach tropikalnych są pod tym względem znacznie bezpieczniejszy gdyż natura wyposażyła go w substancje toksyczne zawarte w ich ciałach. Gąsienica tych motyli żywią się liśćmi roślin zawierających szkodliwe dla innych organizmów glikozydy. Pozostają one w organizmie owada dorosłego czyniąc go niejadalnym dla ptaków, jaszczurek i innych owadożernych stworzeń.

Natura celowo wyposażyła tego motyla w trujące chemikalia.

W wielu jednak przypadkach w przyrodzie pojawiają się szkodliwe substancje chemiczne, które są niepożądanymi związkami chemicznymi niszczącymi wszelkie formy żywe.

Jedne z nich wprowadzane są do środowiska celowo jako np. środki ochrony roślin, środki grzybobójcze i inne. Inne stanowią niepożądane zanieczyszczenie pochodzące z produktów przemysłu chemicznego lub powstają podczas przemian termicznych.

Do nich należą tzw. dioksyny.

Zanieczyszczenie środowiska szkodliwymi związkami chemicznymi powoduje coraz bardziej zauważalne pogarszanie stanu zdrowia ludzi i zwierząt.

Rozwój cywilizacyjny musi uwzględniać nie tylko rosnące potrzeby wzrastającej populacji ludzi, ale również konieczność utrzymania równowagi ekologicznej środowiska. 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 PCBs mają bezpośredni wpływ na zakłócenie systemu wydzielania hormonalnego, głównie endokrynnego oraz replikacji kodu genetycznego. Szczególne działanie w tym zakresie wykazuje 2,3,7,8-TCDD [1]. Niewiele wiadomo w chwili obecnej o mechanizmie działania tych związków na funkcje rozrodcze. Jednym z możliwych jest wpływ na zaburzenia pracy jajników (folikulogenezy). Jajniki są gruczołami o złożonej budowie histologicznej, produkującymi szereg substancji białkowych i steroidowych tworzących optymalne środowisko dla dojrzewającego oocytu. Badania autonomicznej sekrecji hormonów steroidowych jajnika, interakcji izolowanych typów komórek oraz wpływu badanych czynników są możliwe dzięki hodowli *in vitro* izolowanych typów komórek jajnika.

Hodowla izolowanych komórek, takich jak: komórki warstwy ziarnistej (Granulosa - G), osłonki wewnętrznej (Theca-T) oraz komórek lutealnych (CL) stwarza możliwość badania ich funkcji niezależnie od złożoności struktury całego gruczołu. Kokultury, czyli hodowle dwóch lub więcej typów komórek w jednym wspólnym naczyniu, dostarczają informacji o ich wzajemnym wpływie na rodzaj i ilość wydzielanych produktów hormonalnych. Tego typu hodowle są bardzo czułym obiektem do testowania aktywności biologicznej różnych czynników. Komórki reagują na nie podwyższoną lub obniżoną sekrecją hormonów steroidowych względnie pobudzeniem lub zahamowaniem proliferacji w hodowli.

Obecność funkcjonalnych receptorów AhR, mogących wiązać się z DNA komórek, stwierdzono w jajnikach szczurów [2] oraz naczelnych [3]. Wykazano supresyjne działanie kompleksu TCDD:AhR na transkrypcję genów kodujących receptory estrogenowe [4]. W publikacji [5] wykazano, że dawki TCDD zbliżone do występujących w środowisku obniżają sekrecję estradiolu przez komórki granulozy izolowane z pęcherzyków jajnikowych kobiet. Przeprowadzone badania nie wykazały bezpośredniego wpływu TCDD na aktywność aromatazy, kluczowego enzymu konwertującego androgeny do estrogenów w komórkach warstwy ziarnistej pęcherzyków jajnikowych; przypuszcza się, że związek ten może działać hamująco na wcześniejszych etapach steroidogenezy [6]. Nie stwierdzono jednak bezpośredniego wpływu tego związku na proces apoptozy [5]. Doniesienia na ten temat są sprzeczne i wymagają dalszych badań.

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 i wywołujące niepożądane emocje.

Toksyczne działanie dioksyn polega na powolnym, ale skutecznym uszkodzeniu rozmnażających się komórek w organizmach żywych. Substancje te uszkodzając kod DNA są mutagenami. Udowodniono ich działanie teratogenne (uszkadzają płód) oraz alergiczne. Udokumentowane są przypadki wystąpienia poważnych przypadków alergii skórnych wywołanych dioksynami, tzw. chlorakna.

Dioksyny obniżają zdolność immunologiczną organizmu u ludzi i zwierząt stałocieplnych.

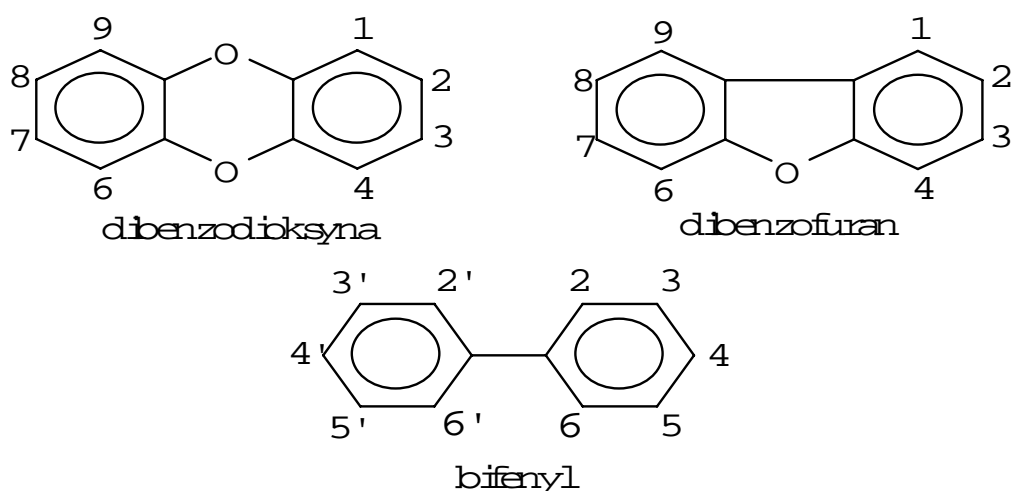
W badaniach naukowych przeprowadzonych na zwierzętach doświadczalnych, głównie szczurach i myszach, podczas intoksykacji dioksynami wykazano znaczny wzrost tkanek nowotworowych wątroby i płuc. Do chwili obecnej nie wykazano u ludzi jednoznacznego wzrostu objawów chorobowych związanych z podwyższonym tłem dioksyn. Nie można rozpatrywać oddziaływania dioksyn na organizmy żywe bez uwzględnienia synergicznego działania innych zanieczyszczeń, takich jak PCBs, WWA, tlenki azotu i siarki, metali ciężkich itd. Należy mieć pełną świadomość tego, że efekty toksycznego działania dioksyn będą zauważalne w najbliższej perspektywie. Pod działaniem toksycznym dioksyn należy rozumieć złożone procesy uszkodzenia narządów wewnętrznych, wywoływanie bolesnych wysypek alergicznych, działanie mutagenne, teratogenne i udowodnione działanie kancerogenne. Za najbardziej niepokojące działanie toksyczne dioksyn należy uznać uszkodzenie struktur kodu genetycznego zawartego w łańcuchu DNA.

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 [1,7-9]. Stąd żywność i półprodukty do jej wytwarzania stają się podstawowym przedmiotem kontroli zawartości dioksyn.

2. Czym są dioksyny?

Dioksyny są wspólną, powszechnie używaną nazwą polichlorowanych dibenzo-para-dioksyn i polichlorowanych dibenzofuranów. W literaturze stosowany jest skrót PCDD i PCDF od angielskich nazw: **PolyChlorinated DibenzoParaDioxins** i **PolyChlorinated DibenzoFurans**. 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 zostać podstawiony atomem chlorowca. 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 polibromodibenzodioksyny 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 (PCBs).

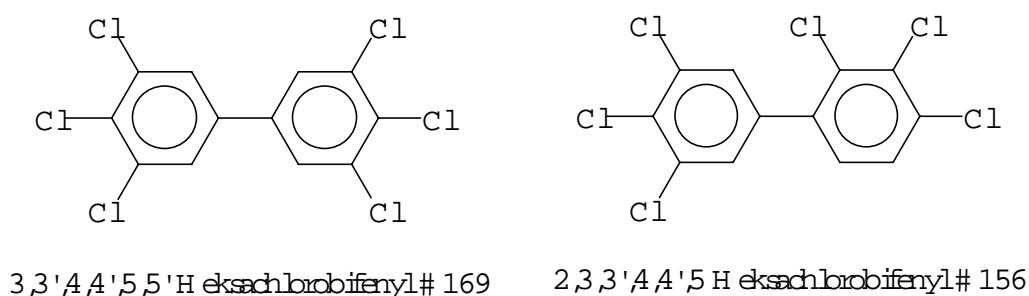
Rysunek 1 przedstawia budowę cząsteczki dibenzodioksyny i dibenzofuranu oraz bifenyli.



Rys. 1: Budowa cząsteczek dibenzodioksyny, dibenzofuranu i bifenyli.

Zaznaczono pozycje zajmowane przez atomy wodoru, które mogą być zastąpione atomami chloru

Wśród tej olbrzymiej grupy związków tylko niektóre wykazują bardzo silne właściwości toksyczne w odniesieniu do ludzi i zwierząt. Połączenia, w których atomy chlorowca w cząsteczce PCDD lub PCDF zajmują położenie 2,3,7 i 8 (jest ich w sumie 17) czynią te związki bardzo silnie toksycznymi. Szczególnie kongener 2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioksyna (w skrócie 2,3,7,8-TCDD) jest najsilniej toksycznie działającym związkiem w tej grupie. Pod nazwą dioksyny rozumie się również trzy kongenery non-orto-PCBs: 3,3',4,4'-PCB#77, 3,3',4,4',5-PCB#126 oraz 3,3',4,4',5,5'-PCB#169, posiadające atomy chloru w cząsteczce bifenyli w pozycjach meta i para (3,4,5 oraz 3',4' i 5') - tzw. położenie non-orto, charakteryzujące się brakiem atomu chloru w bezpośrednim sąsiedztwie wiązania międzypierścieniowego. Mamy wtedy do czynienia z kongenerami non-orto polichlorowanych bifenyli posiadających budowę płaską (tzw. koplanarną). Silnie toksyczne są nie tylko koplanarne polichlorowane bifenyly (non-orto) ale również mające budowę koplanarną mono-orto podstawione polichlorowane bifenyly. Budowę tych związków przedstawiono na rys. 2



Rys. 2: Budowa non-orto-PCB#169 i mono-orto-PCB#156

W 1998 roku międzynarodowa organizacja WHO zaliczyła dwanaście spośród non-orto-PCBs i mono-orto-PCBs do tzw. dioksynopodobnych PCBs, które powinny być analizowane wspólnie z dioksynami w celu określenia poziomu toksyczności (tzw. poziom TEQ) badanej próbki.

W połowie lat 90 decyzją WHO koplanarne kongenery PCBs są oznaczane w środowisku, próbkach biologicznych oraz środkach spożywczych. Stało się tak dlatego, że wykazano równie szkodliwe jak dioksyny oddziaływanie tych związków na organizm człowieka.

W niektórych publikacjach [10,11] oraz według niektórych rozporządzeń narodowych (np. holenderskich i niemieckich) do chwili obecnej analizowane są trzy koplanarne non-orto-PCBs: PCB#77, PCB#126 oraz PCB#169 z pominięciem PCB#81, gdyż w większości próbek związek ten występuje w znikomo małym stężeniu, oraz ma znacznie mniej toksyczne własności niż trzy pozostałe. Niemniej jednak w roku 1999 związek ten został zaliczony do kongenerów, które zgodnie z wytycznymi WHO z 1998 muszą być włączone do obliczania TEQ w odniesieniu do PCBs. Stało się tak ze względu na stwierdzenie wzrastającego stężenia PCB#81 w produktach spalania niektórych odpadów przemysłowych oraz ze względu na zdolność kumulowania się tego kongeneru w tkance tłuszczowej zwierząt stałocieplnych i ludzi w stopniu równym pozostałym trzem non-orto-PCBs.

Tab. 1: Wykaz kongenerów z grupy non-orto i mono-orto PCBs (WHO-PCBs)

L.P.	Kongener PCB (Numer IUPAC)	Numer CAS
1	3,3',4,4' PCB (# 77)	32598-13-3
2	3,4,4',5 PCB (# 81)	70362-50-4
3	2,3,3',4,4' PCB (# 105)	32598-14-4
4	2,3,4,4',5 PCB (# 114)	74472-37-0
5	2,3',4,4',5 PCB (# 118)	31508-00-6
6	2',3,4,4',5 PCB (# 123)	65510-44-3
7	3,3',4,4',5 PCB (# 126)	57465-28-8
8	2,3,3',4,4',5 PCB (# 156)	38380-08-4
9	2,3,3',4,4',5' PCB (# 157)	69782-90-7
10	2,3',4,4',5,5' PCB (# 167)	52663-72-6
11	3,3',4,4',5,5' PCB (# 169)	32774-16-6
12	2,3,3',4,4',5,5' PCB (# 189)	39635-31-9

Historia źródeł powstawania dioksyn – zdarzenia notowane

- 15 mln lat - KOPALNIA SOLI w WIELICZCE ślady dioksyn w warstwach glebowych zawierających sól kamienną i zwęglone drewno (1999) – źródłem były pożary lasów
- wiek XIX - wzrost stężenia DIOKSYN w glebie od 1840r – rozwój przemysłu chemicznego
- 1930 - wprowadzenie do produkcji PCBs i chlorofenoli, prekursorów dioksyn
- 1940 - rozpoczęcie produkcji 2,4,5-T (prekursor dioksyn)
- 1963 - 70 - użycie zanieczyszczonego dioksynami defolianta "AGENT ORANGE" w Wietnamie
- 1968 - zatrucie dioksynami 1800 osób olejem ryżowym w Japonii (YUSHO)
- 1976 - katastrofa ekologiczna w SEVESO we Włoszech podczas produkcji 2,4,5-T
- 1979-92 - pożary transformatorów przemysłowych zawierających PCBs
- 1950-2000 - spalanie odpadów komunalnych i przemysłowych, przemysł metalurgiczny, przemysł papierniczy, produkcja chloroorganicznych środków ochrony roślin – zanieczyszczenie technologiczne

Z dniem 1 czerwca 1997 dioksyny zostały uznane przez Międzynarodową Agencję do Badań nad Nowotworami (IARC) w Lyon za kancerogen grupy A, co w zakresie ich potencjalnego działania kancerogennego stawia je na równi z takimi związkami jak benzo(a)piren, aflatoksyny i nitrozoaminy

Zarówno PCDDs jak i PCDFs są substancjami, które nigdy nie były i nie są wytwarzane celowo, ponieważ nie znajdują żadnego zastosowania technicznego. Za podstawowe źródła emisji PCDFs/PCDDs do środowiska uważa się składowanie odpadów przemysłowych takich jak wycofane ze stosowania herbicydy pestycydy chloro organiczne, przepracowane oleje transformatorowe oraz wszelkie, niekontrolowane procesy spalania odpadów zawierających w

swoim składzie chlor związany w jakiegokolwiek formie organicznej lub nieorganicznej. Pragnę wyraźnie zaznaczyć, że chodzi o spalarnie przestarzałe, albo o spalanie odpadów luzem na pryzmach lub w piecach węglowych do ogrzewania mieszkań lub kotłowniach. Spalanie odpadów w specjalnie przeznaczonych do tego spalarniach, wyposażonych w odpowiednie urządzenia oczyszczające spaliny i wyposażonych w katalizatory do rozkładu dioksyn nie stanowi zagrożenia dla środowiska.

3. Metoda obliczania poziomu toksyczności w odniesieniu do dioksyn

W celu określenia potencjalnej toksyczności badanych próbek pod względem zawartości dioksyn w rutynowo prowadzonych analizach chemicznych standardem wymagane jest oznaczenie siedemnastu najbardziej toksycznych kongenerów PCDDs/PCDFs. Spośród 210 kongenerów PCDDs i PCDFs oznacza się tylko te, które posiadają atomy chloru w pozycjach oznaczonych jako 2,3,7 i 8. To samo dotyczy 209 kongenerów polichlorowanych bifenyli, spośród których dwanaście wykazuje właściwości toksyczne podobne do dioksyn. Ze względu na podobieństwo w toksycznym działaniu na organizmy żywe oraz wysoki – w odniesieniu do dioksyn – współczynnik toksyczności, non-orto-PCBs i mono-orto-PCBs zwane są często dioksynopodobnymi. W odniesieniu do rozporządzenia WHO z 1998 r. oznaczać należy wszystkie dwanaście dioksynopodobnych kongenerów PCBs. Niekiedy jednak wymagane jest oznaczenie tylko trzech koplanarnych PCBs: PCB#77, PCB#126 i PCB169.

Określenie 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 oraz jeżeli to potrzebne – dodatkowo dwunastu kongenerów PCBs. Wartość liczbowa TEQ jest sumaryczną wartością parametrów cząstkowych otrzymanych z pomnożenia wyniku analitycznego stężenia pojedynczego kongeneru PCDD, PCDF i PCB przez odpowiedni współczynnik cząstkowy TEF.

$$TEQ = \sum_{i=1}^{i=17} (m_i \times TEF_i) + \sum_{j=1}^{j=12} (m_j \times TEF_j) \quad (1)$$

gdzie: m_i - masa pojedynczego kongeneru,
 TEF_i - współczynnik równoważny toksyczności dla i-tego kongeneru PCDD/F, w odniesieniu do kongeneru 2,3,7,8-TCDD,
 TEF_j - współczynnik równoważny toksyczności dla j-tego kongeneru PCBs, w odniesieniu do kongeneru 2,3,7,8-TCDD.

Wartości liczbowe TEF zestawiono w tabeli 2. Określają one względną toksyczność każdego kongeneru 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. Tabela zawiera również współczynniki toksyczności TEF dla dwunastu dioksynopodobnych kongenerów polichlorowanych bifenyli (PCBs).

Tab. 2: Wartości współczynnika równoważnego toksyczności TEF dla PCDDs, PCDFs i koplarnych oraz mono-orto PCBs (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
Koplanarne kongenery non-orto PCBs			
		3,3',4,4' - T ₄ CB (PCB# 77)	0,0001
		3,4,4',5- T ₄ CB (PCB# 81)	0,00001
		3,3',4,4',5 - P ₅ CB (PCB#126)	0,1
		3,3',4,4',5,5' - H ₆ CB (PCB#169)	0,01
Kongenery mono-orto PCBs			
		2,3,4,3',4' - P ₅ CB (PCB#105)	0,0001
		2,3,4,5,4' - P ₅ CB (PCB#114)	0,0005
		2,4,5,3',4' - P ₅ CB (PCB#118)	0,0001
		3,4,5,2',4' - P ₅ CB (PCB#123)	0,0001
		2,3,4,5,3'4' - H ₆ CB (PCB#156)	0,0005
		2,3,4,3'4',5' - H ₆ CB (PCB#157)	0,0005
		2,4,5,3',4',5' - H ₆ CB (PCB#167)	0,00001
		2,3,4,5,3'4',5' - H ₇ CB (PCB#189)	0,0001

TEQ jest wartością określającą poziom toksyczności analizowanej próbki w odniesieniu do sumy mas wymienionych kongenerów.

Ze względu na niską wartość współczynników TEF dla mono-orto PCBs oraz non-orto PCB#81 - kongenery te w większości przypadków nie są oznaczane. Stąd w obliczaniu TEQ wprowadza się przeważnie tylko stężenia trzech koplarnych PCBs : PCB#77, PCB#126 i PCB#169. Trzy koplanarne kongenery PCBs są również włączane do procedur oznaczania dioksyn w ramach organizowanych międzynarodowych porównań międzylaboratoryjnych jako standard analityczny. Oznaczanie PCBs z grupy mono-orto PCBs i diorto-PCBs nie jest standardem w oznaczaniu dioksyn.

Do roku 1999 nie ustalono jednoznacznie, czy tzw. mono-orto, WHO-PCBs oraz koplanarne PCB#81 (tabela 2) należy włączyć do procedur oznaczania dioksyn i obliczania poziomu toksyczności TEQ.

4. Źródła dioksyn w środowisku

Tabela 3: Masowy udział w emisji dioksyn. Dane uzyskane na podstawie intensywnych badań w krajach Unii Europejskiej w latach 1995 – 1998 w ramach European Dioxin Project – DG-XI [11]

Źródło emisji	Emisja w g-TEQ/rok***
Legalne spalanie odpadów przemysłowych w nowych instalacjach	945,0
Spalanie węgla w piecach domowych	30,5
Przemysłowe spalanie węgla	20,9
Wzbogacanie rud metali	1010,1
Wytop i przetapianie cynku	19,9
Wytop i przetapianie miedzi	76,9
Wytop i przetapianie aluminium	39,0
Produkcja cementu	20,4
Odzyskiwanie metali z kabli	1,7
Hutnictwo stali	83,4
Hutnictwo metali nieżelaznych	3,0
Przetwórstwo surowców wtórnych	115,0
konserwacja drewna budowlanego	381,4
Transport drogowy	111,1
Kontrolowane spalanie odpadów komunalnych	1467,1
Nielegalne spalanie odpadów gospodarczych	173,9
Spalanie odpadów przemysłowych	37,5
Spalanie odpadów szpitalnych	815,6
Krematoria	16,8
Požary	379,8
SUMARYCZNIE:	5749,0

*** - TEQ oznacza sumaryczną zawartość dioksyn (dokładnie 17 kongenerów) dokładne wyjaśnienie i metody obliczania TEQ podano poniżej

Tabela 4: Procentowy udział źródeł emisji Dane uzyskane na podstawie intensywnych badań w krajach Unii Europejskiej w latach 1995 – 1997 w ramach European Dioxin Project – DG-XI [11]

Źródło emisji	% udział w emisji
Kontrolowane spalanie odpadów komunalnych	25,5
Wzbogacanie rud metali metodami termicznymi	17,6
Spalanie drewna, całkowite	16,4
Spalanie odpadów szpitalnych	14,2
Konserwacja drewna	6,6
Požary	6,6
Nielegalne spalanie odpadów gospodarczych	3,0
Przetwórstwo surowców wtórnych	2,0
Transport drogowy	1,9
Hutnictwo stali	1,5

Wytapianie i przetwórstwo miedzi	1,3
Wytapianie i przetwórstwo aluminium	0,7
Spalanie odpadów przemysłowych	0,7
Spalanie węgla w piecach domowych	0,5
Spalanie przemysłowe węgla	0,4
Produkcja cementu	0,4
Wytapianie i przetwórstwo cynku	0,3
Krematoria	0,3
Hutnictwo metali nieżelaznych	0,1
Odzyskiwanie metali z kabli	0,1

Emisja PCDD/Fw Krajach Unii Europejskiej, sumarycznie w skali roku w g-TEQ/rok

Emisja do atmosfery:	5750	-	62,0 %
Ścieki:	17	-	0,2 %
Pozostałości stałe:	3522	-	37,8 %

Wszelkie procesy niekontrolowanego spalania odpadów, a w szczególności coraz powszechniej występujące zjawisko spalania śmieci z indywidualnych gospodarstw domowych w piecach węglowych czy po prostu w stosach przed domem, stwarza idealne warunki fizyczne i chemiczne do powstawania dioksyn oraz innych zanieczyszczeń chemicznych. Bardzo intensywnie prowadzone w ostatnich latach badania naukowe nad ograniczeniem emisji dioksyn z procesów spalania doprowadziły do opracowania tego rodzaju technologii termicznej utylizacji odpadów, że konstruowane obecnie spalarnie emitują dioksyny na poziomie poniżej 0.1 nanograma na 1 normalny metr sześcienny gazów spalinowych (w odniesieniu do tzw. współczynnika toksyczności), co spełnia już bardzo wygórowane wymagania niskiego poziomu emisji dioksyn. Proces termicznego niszczenia odpadów komunalnych, szpitalnych i przemysłowych prowadzi się obecnie w oparciu o dobrze sprawdzone w praktyce technologie spalania.

W dostępnej obecnie literaturze naukowej [12-25] dużą uwagę przywiązuje się do procesów kontrolowanego spalania odpadów. Proces ten stanowi wciąż podstawowe źródło dioksyn i furanów w naszym środowisku. Zarówno proces składowania odpadów na przeznaczonych w tym celu wysypiskach, kompostowanie organicznej części wyselekcjonowanych odpadów a także spalanie odpadów w części przeznaczonej do spalania i zachodzące tam reakcje chemiczne są źródłem wielu substancji organicznych dostających się do atmosfery, wód gruntowych i pozostających na długie lata w glebie. Wśród nich są również dioksyny i furany. Stwierdzono ich obecność w kompostach sporządzanych z odpadów komunalnych (Japonia 1994), znajduje się je w odciekach wydostających się z źle przygotowanych wysypisk komunalnych i przemysłowych (Niemcy, Holandia 1987-1995). Związki te tworzą się w znacznej ilości w procesach spalania odpadów. Spośród całej gamy metod gospodarowania odpadami, jeżeli chodzi o PCDDs i PCDFs to najbardziej poznano zjawiska tworzenia się ich w procesach spalania. Temat ten jest już powszechnie dyskutowany w Polsce tym bardziej, że spalanie odpadów głównie szpitalnych jest już realizowane w praktyce w naszym kraju.

Dążeniem technologów i konstruktorów jest stworzenie instalacji praktycznie całkowicie eliminującej powstawanie i uwalnianie dioksyn do środowiska. Złożoność procesów chemicznych i fizykochemicznych powstawania wysokotoksycznych związków organicznych podczas spalania odpadów, a także duży koszt inwestycyjny i eksploatacyjny zmusza do przyjęcia pewnego kompromisu pomiędzy ekonomią procesu termicznego unieszkodliwiania odpadów a skutkami jego dla środowiska. Śmiało mogę stwierdzić, że można stworzyć taką technologię spalania odpadów niebezpiecznych która gwarantuje praktycznie zerowy poziom

zawartości masowej tych związków zarówno w gazach emitowanych do atmosfery jak i ściekach i popiele. Pozostaje tylko pytanie ile to będzie kosztowało i / lub jak będzie to uciążliwa technologia dla użytkownika takiej instalacji. Kompromis w tym przypadku polega na przyjęciu dopuszczalnych poziomów stężeń toksycznych substancji uwalnianych do środowiska. Nowoczesne technologie termicznej utylizacji odpadów oparte są na katalitycznych procesach utleniania związków organicznych oraz na katalitycznym odchlorowaniu związków organicznych tak, aby całkowicie usunąć je ze strumienia gazu spalinowego, popiołów pozostających po spalaniu i materiałów eksploatacyjnych takich jak zużyte sorbenty i ścieki technologiczne. Ale nie odfiltrować, tylko zniszczyć. W tym celu można również wykorzystać dobrze poznane selektywne reakcje chemiczne zachodzące w warunkach spalania odpadów. Metody te opierają się na reakcjach blokowania chloru w gorącej strefie utleniania związków organicznych obecnych w strefie reakcji składników gazowych. Ważną rolę w tym procesie odgrywa obecność tlenków siarki, głównie SO_3 , powstających ze spalania np. zasiarczonego węgla kamiennego.

Rozważając procesy niszczenia cząsteczek dioksyn w procesach spalania rozpoznano już wiele procesów tworzenia się tych związków w wysokich temperaturach. W wyniku przeprowadzonych badań naukowych okazało się, że powstawanie dioksyn odbywać się tu może na drodze wielu procesów jednostkowych zachodzących w sprzyjających temu warunkach, których stworzenie w głównej mierze zależy od składu chemicznego spalanej paliwa oraz obecności związków działających katalitycznie i inhibujących proces tworzenia się dioksyn. Inwestowanie w badania naukowe w tym zakresie jest opłacalne zwłaszcza wtedy, gdy rozważany jest problem spalania dużej ilości odpadów. Dotyczy to zasadniczo spalarni odpadów komunalnych, gdzie dziennie spala się kilka tysięcy ton odpadów.

Odpady komunalne, które mają być spalane lub spopielone, muszą być wcześniej segregowane w taki sposób, aby oddzielić od nich te składniki, które w procesie spalania nie powinny się znaleźć. Chodzi tu przede wszystkim o niektóre tworzywa sztuczne (np. PCW) i toksyczne chemikalia. Szczególnie niepożądane w procesach spalania są związki organiczne zawierające w swojej strukturze chlor i brom, gdyż w procesie termicznym substancje chloroorganiczne ulegają złożonym reakcjom chemicznym prowadzącym m. i. do powstawania bardzo silnie toksycznych związków - wśród których znajdują się dioksyny. W latach 70 - tych i 80 - tych polichlorek winylu (PCW) stanowił bardzo pokaźny udział w wyrzucanych na składowiska odpadach komunalnych. PCW to przede wszystkim materiały budowlane takie jak rury, płytki podłogowe, izolacje kabli elektrycznych a także będące jeszcze w szerokim zastosowaniu gospodarczym opakowania. Niestety, ale na wysypiska śmieci trafiają również przepracowane, zużyte oleje kondensatorowe i transformatorowe zawierające w swoim składzie polichlorowane bifenylole (PCB). Związki te ulegają w wysokiej temperaturze utlenieniu do PCDFs i w mniejszej skali do PCDDs. Jednak proces ten zachodzi z dużą wydajnością tak, że z 1 kg PCB może powstać ponad 10g PCDFs i 1g PCDDs.

Oleje te trafiają na wysypiska jako przeterminowane lub wycofane z obrotu handlowego. Oprócz tego w spalanych odpadach znajdują się pokaźne ilości zabronionych już do stosowania w rolnictwie i leśnictwie chloroorganicznych środków ochrony roślin oraz środków grzybobójczych zawierających w swoim składzie chlorowane fenole, itd. Jest oczywiste, że substancje te nie powinny znaleźć się na wysypiskach śmieci ale tak się dzieje i chyba należy liczyć się z tym, że na składowiskach śmieci komunalnych substancje te będą dalej się gromadziły. Praktycznie rzecz biorąc nie ma możliwości jakiegokolwiek kontroli składu wyrzucanych masowo śmieci i tylko właściwie prowadzona polityka segregowania śmieci począwszy od naszych domowych śmietników a skończywszy na szeroko rozumianym recyklingu rozdzielonych odpadów może doprowadzić do racjonalnego gospodarowania odpadami a co za tym idzie do spalania odpadów zawierających znacznie mniej tworzyw sztucznych - w tym PCW, chemikaliów i przepracowanych olejów transformatorowych i

kondensatorowych. Wszystko to jednak, czego nie da się powtórnie wykorzystać lub bezpiecznie składować na wysypiskach należy spalić w nowoczesnych instalacjach skonstruowanych w oparciu o najnowsze zdobycze badań naukowych nad procesami spalania, szczególnie w zakresie ograniczenia emisji do środowiska.

W przypadku spalania odpadów szpitalnych w procesie termicznym w obecności śladowych ilości chloru powstaną chlorowane bifenyle, chlorowane dibenzodiodksyny i dibenzofurany oraz inne chlorowane związki aromatyczne. Proces ten na etapie spalania jest nieunikniony. W tym przypadku wystarczą ilości chloru na poziomie ppm. Jakkolwiek, w przypadku śladowej zawartości chloru w spalanych odpadach zawartość masowa powstających związków chloro organicznych będzie niewielka, to należy mieć na uwadze fakt, że zgodnie z wymaganiami i zaleceniami krajów Unii Europejskiej (np. Dyrektywa 94/67/EC) oraz w przygotowywanej w Polsce Ustawie o Odpadach poziom zawartości wymienionych związków chloro organicznych w spalinach nie będzie mógł przekraczać poziomu 0.1 ng-TEQ/m³. W oparciu o nowe Rozporządzenie Ministra Gospodarki w „sprawie szczegółowych zasad usuwania, wykorzystania i unieszkodliwiania odpadów niebezpiecznych” z dnia 21.10.1998 dopuszcza się termiczne niszczenie odpadów (głównie pirolizy). Określono tam warunki prowadzenia tego procesu:

Warunki przekształcenia termicznego odpadów niebezpiecznych zawierających chlor narzucono w Rozporządzeniu Ministra Gospodarki z dnia 21 października 1998 Dz.U. Nr 145, poz. 942:

Dla odpadów niebezpiecznych o zawartości chloru < 1%

Spalanie musi przebiegać w temperaturze nie niższej niż 850⁰C

Czas przebywania spalin w tej temperaturze musi być nie krótszy niż 2s. Zawartość O₂ > 6%

Dla zawartości chloru > 1%

Spalanie musi przebiegać w temperaturze nie niższej niż 1100⁰C

Czas przebywania spalin w tej temperaturze musi być nie krótszy niż 2s. Zawartość O₂ > 6%

I tak dla odpadów zawierających do 1% chloru w odniesieniu do suchej masy odpadów po ich pirolitycznym zgazowaniu temperatura w komorze dopalania spalin powinna być minimum 850⁰C a czas przebywania spalin nie krótszy niż 2 sekundy. Dla odpadów o zawartości chloru powyżej 1%, temperatura dopalania spalin powinna być nie niższa niż 1100⁰C i czas reakcji nie krótszy niż 2 sekundy. Zjawiska te są przedmiotem aktualnie prowadzonych badań w Politechnice Krakowskiej w Wydziale Inżynierii i Technologii Chemicznej. W wyniku prowadzonych badań nad zawartością toksycznych substancji chemicznych w gazach spalinowych ze spalarni odpadów przemysłowych wykazano, że pomimo tak rygorystycznych warunków spalania przy zawartości chloru poniżej 10mg/kg (0,001%) spalanych odpadów polichlorowane bifenyle, polichlorowane dibenzodiodksyny i dibenzofurany powstają w gazach spalinowych w stężeniu nawet 100 ng-TEQ/m³. W praktyce więc wszystkie spalarnie odpadów muszą być wyposażane w bardzo sprawne systemy oczyszczania spalin. Nie wystarczą tu rozwiązania oparte o cyklony odpylające i płuczki alkaliczne. Wymagane są systemy katalitycznego utleniania i odchlorowania lub w ostateczności wielostopniowe filtry adsorpcyjne w połączeniu z bardzo sprawnie działającymi urządzeniami odpylającymi.

Powstawanie dioksyn w tzw. reakcji de-novo

Dioksyny, jak większość związków organicznych ulegają rozkładowi termicznemu powyżej 800⁰C. W szczególnych przypadkach, gdy gazy reakcyjne w procesie spalania zawierają pyły, na których dioksyny są zaadsorbowane rozkład może następować dopiero powyżej 1000⁰C. Nie jest jednak problemem technologicznym uzyskanie znacznie wyższych temperatur w

procesach spalania odpadów. W temperaturze powyżej 1000⁰C materia występuje w postaci rodników lub nawet wolnych atomów. W momencie ochładzania się gorących spalin następuje rekombinacja rodników. Tak powstają termodynamicznie stabilne cząsteczki np. wody, CO₂ czy HCl. Również dioksyny należą do takich substancji chemicznych, które powstają lub odtwarzają się na nowo (de-novo) podczas schładzania spalin. Powszechnie uważane jest, że aby uniknąć obecności dioksyn w spalinach wystarczy podnieść temperaturę spalania do wartości powyżej 1000⁰C przez okres ponad 2s i dioksyny obecne w spalonym materiale zostaną zniszczone. Problem jednak polega na tym, że pomimo nawet bardzo wysokiej temperatury spalania, dioksyny powstają z rodników podczas ochładzania spalin. Nie ma więc możliwości uniknięcia powstawania dioksyn w procesach spalania gdy w spalanych odpadach lub paliwie znajdują się najmniejsze nawet ilości chloru.

W szeroko prowadzonych na Wydziale Inżynierii i Technologii Chemicznej Politechniki Krakowskiej badaniach nad wpływem stężenia chloru w spalonym materiale na stężenie dioksyn w spalinach nie wykazano żadnych korelacji. Podobne dane opublikowała E. Wikström w Szwecji w 1999r [21]. Wynika z tego, że nie można jednoznacznie stwierdzić (a taka panuje powszechna opinia), że im większa zawartość chloru w spalanych odpadach, to większe będzie stężenie dioksyn w spalinach.

Proces spalania odpadów stanowi złożony mechanizm reakcji chemicznych zachodzących w warunkach płomienia. Na powstawanie dioksyn w tych warunkach mogą mieć wpływ katalitycznie działające obecne w pyłach tlenki metali (głównie miedzi i glinu), stężenie tlenu, turbulencja, czyli wymieszanie strumieni gazów reakcyjnych w płomieniu, rodzaj stosowanego paliwa, obecność innych substancji chemicznych katalizujących lub inhibitujących proces syntezy, ale także warunki prowadzenia procesu spalania (piec rusztowy, obrotowy, fluidalny). Wykazano, że synteza dioksyn następuje na drodze reakcji chloru z cząsteczkami sadzy w obecności tlenu i pary wodnej. Jeżeli w procesie obecny jest SO₂ proces ten zachodzi z dużo mniejszą wydajnością. Stąd w procesie spalania zasiarczonego węgla kamiennego (zawierającego chlor w postaci NaCl w ilości ok. 0,1 % wagowo, a nawet więcej) stężenie dioksyn w jedynie odpylonych spalinach jest znikome – poniżej 0,01 ng-TEQ/m³. Gdy w podobnych warunkach spalane są odpady komunalne zawierające ok. 0,1% chloru, stężenie dioksyn w nieoczyszczonych spalinach (poddanych tylko odpyleniu) może osiągać poziom 100 ng-TEQ/m³. Nawet minimalna ilość chloru w stężeniu poniżej 1 mg Cl/m³ w gazach reakcyjnych może w sprzyjających warunkach syntezy dioksyn powodować, że spaliny będą zawierały ponad 10 ng-TEQ/m³. Dioksyny należą do ultraśladowych zanieczyszczeń, powstających w reakcjach przy znacznym nadmiarze substratu. W tym ostatnim przypadku nadmiar chloru w stosunku do stechiometrii wynosiłby 100000. O stężeniu dioksyn w spalinach decyduje w tym przypadku nie stężenie chloru w spalonym materiale, ale warunki prowadzenia tego procesu jak i skuteczność ich usunięcia w procesie oczyszczania spalin. Warunki powstawania dioksyn w procesach spalania odpadów oraz rolę, jaką odgrywa obecność chloru i tlenków metali na wydajność tego procesu zostały szeroko opisane w literaturze m.in. przez Wikström [21].

Proces powstawania dioksyn jest z powodu wielofunkcyjnego wpływu różnych czynników trudny do kontrolowania, jakkolwiek wiadomo, że szybkie schłodzenie strumienia spalin z temperatury 800⁰C do 300⁰C lub niższej powoduje zamrożenie reakcji rodnikowych, a zatem znaczne zmniejszenie stężenia dioksyn w spalinach. Stąd powszechnie stosowanym sposobem ograniczenia emisji dioksyn do środowiska w procesie spalania odpadów jest tzw. *quenching* (z ang. gaszenie). Polega on na wtrysku wody do gorącego strumienia spalin. Ze względu na duże ciepło parowania wody, temperatura spalin gwałtownie się obniża, przez co reakcja powstawania dioksyn na drodze *de-novo* zachodzi z dużo mniejszą wydajnością.

Masa zanieczyszczeń chemicznych uwalnianych do środowiska z procesu termicznej utylizacji odpadów szpitalnych w znacznej mierze zależy od właściwego dopalenia gazów

spalinowych oraz od uwolnienia go ze szkodliwych substancji chemicznych, niemożliwych do zniszczenia metodami termicznymi takich jak: metale ciężkie, chlorowodór, fluorowodór, tlenki azotu, siarki, pyły oraz wymienione już wcześniej związki chloro organiczne. Substancje mogące być zniszczone termicznie, czyli utlenione do CO_2 i H_2O , jak węglowodory aromatyczne, fenole, estry, kwasy organiczne i inne nie powinny pojawiać się ani w gazach spalinowych, w ściekach ani pozostawać w popiele. Niestety, ale w ponad połowie badanych instalacji w analizowanych próbkach pozostałości (popioły i zużyte sorbenty, ścieki) wykazano obecność związków organicznych niejednokrotnie na poziomie miligramów na gram preparatu. W jednym kilogramie popiołu identyfikowano więc kilka gramów związków organicznych. Świadczy to o niekompletnym dopaleniu odpadów w instalacjach, które zostały dopuszczone do eksploatacji w latach 90. Niepełne dopalenie odpadów powoduje powstanie związków organicznych zawierających w cząsteczce wiele pierścieni skondensowanych, głównie heterocyklicznych oraz ich pochodnych chloro podstawionych będących substancjami o dużej toksyczności. Jednocześnie węgiel ulega częściowemu tylko utlenieniu do CO. Obecność tlenku węgla w gazach spalinowych na poziomie powyżej 20 ppm (przy zawartości tlenu 11%) świadczy o niewłaściwie prowadzonym procesie dopalania gazów reakcyjnych. Efektem tego jest jednoczesny wzrost zawartości węglowodorów aromatycznych i dioksyn. Zawartość tlenku węgla i tlenu w gazach spalinowych stanowi obecnie podstawowy wskaźnik prawidłowego prowadzenia parametrów spalania i dopalania gazów i jest podstawą do dokonywania regulacji instalacji. Głównie dotyczy to obsługi systemu wprowadzania odpadów do komór spalania lub spopielenia oraz ilości wprowadzanego powietrza nadmiarowego i temperatur.

Monitorowanie CO jest typową, standardową procedurą opartą o powszechnie dostępną aparaturę pomiarową i dziwić może tylko fakt, że w niektórych nowo uruchomionych instalacjach systemów pomiaru zawartości CO brak, lub są całkowicie niesprawne. Przy tak prowadzonym procesie spalania wcale nie dziwi fakt, że obliczone dla sprawnego działania zespołu termicznego instalacji urządzenia oczyszczające spaliny nie są w stanie podołać sobie z dużym ładunkiem zanieczyszczeń związkami niedopalonymi. Efektem tego jest podwyższona zawartość zanieczyszczeń w spalinach i znaczne ograniczenie czasu eksploatacji katalizatorów, sorbentów i mediów absorpcyjnych. Dla przykładu, w kilku polskich spalarniach odpadów szpitalnych wyposażonych w skrubery alkaliczne do usuwania gazów kwaśnych (HCl , H_2F_2 , SO_2 , NO_2) stwierdzono podczas pomiarów parametrów technologicznych, że roztwór płuczący spaliny miał pH poniżej 2 zamiast powyżej 7. W tych warunkach roztwór praktycznie nie usuwa już kwaśnych gazów. Dzieje się tak z powodu niepełnego spalania węgla do kwasów organicznych, powodujących nadmierne zużywanie się roztworu absorbującego oraz nie nadążanie systemów regeneracji alkalicznego roztworu absorbującego uzupełniania świeżego roztworu płuczącego.

Technologie, w których wykorzystywane jest mokre oczyszczanie spalin z zasady powodują powstanie ścieku, wymagającego dalszego oczyszczania zanim trafi do środowiska. O tym fakcie jakby zapomina się w Polsce przy ocenie stopnia zagrożenia dla środowiska wynikającego z pracy instalacji, a przecież jak wspomniano powyżej aż 9 spośród badanych 16 nowych lub zmodernizowanych instalacji odprowadza ścieki z procesu oczyszczania spalin do kanalizacji komunalnych. Usuwanie zanieczyszczeń poprzez ich wymywanie roztworami wodnymi ze spalin polega na przeniesieniu zanieczyszczeń ze spalin do ścieku, a nie ich całkowitej eliminacji z emisji. Ścieki z oczyszczania spalin ze spalania odpadów zawierające zanieczyszczenia chemiczne (w tym dioksyny), powinny być poddane kosztownej i trudnej technologicznie operacji oczyszczania przed wprowadzeniem do środowiska.

Z tego też powodu instalacje bezściekowe są bardziej konkurencyjne przy rozważaniu technologii niskoemisyjnych.

W tej grupie urządzeń, w rozwiązaniach stosowanych obecnie w Polsce wykorzystuje się również mokre systemy oczyszczania spalin, ale nadmiar zużytego, recyklującego roztworu absorbującego jest odparowywany w instalacjach do sucha wychładzając jednocześnie gorące spaliny. Wciąż udoskonalane są urządzenia pod względem trudnych technicznie rozwiązań w zakresie techniki wprowadzania i odparowywania roztworów. Rozwiązuje to problem ścieków a sucha pozostałość jest łączona z popiołem. Technologia ta zwiększa ładunek popiołów, ale umożliwia pełną kontrolę nad dalszą ich utylizacją przez zestalenie, ograniczając możliwość wprowadzania zanieczyszczeń do środowiska.

Całkowita detoksykacja popiołu wymaga osobnych urządzeń termicznych i specyficznych katalizatorów.

Ze względów ekonomicznych proces detoksykacji popiołów opłacalny jest tylko w przypadku spalarni odpadów komunalnych i dużych spalarni odpadów niebezpiecznych.

Jakkolwiek jest to uciążliwe i kosztowne, popioły i zużyte sorbenty nie mogą być dalej składowane. Zgodnie z wymaganiami dyrektyw Unii Europejskiej pozostałości po spaleniu odpadów muszą być przetworzone na substancje obojętne dla środowiska. Regulują to również rozporządzenia krajowe:

W procesie nie powstaje uciążliwy balast w postaci toksycznych pozostałości - Art. 5 ust 2. Ustawy o odpadach. Dz.U. nr 96, poz. 592.

5. Inne niż termiczne źródła dioksyn

Poza procesami spalania dioksyny powstają również w reakcjach fotochemicznych i procesach metabolicznych przebiegających w przyrodzie głównie w glebie, gdzie prekursorami mogą być np. pozostałości chlorowanych środków ochrony roślin i innych. Tworzą się one w procesach biologicznych i termicznych zachodzących w składowanych odpadach na wysypiskach. PCDDs/Fs były oznaczane w kompostach, gazach i odciekach uchodzących z wysypisk, a także w gazach i pozostałościach powstałych po przetwórstwie odpadów metali kolorowych. Przeprowadzone w krajach zachodnich badania nad przedostawaniem się do środowiska PCDDs/Fs z procesów spalania odpadów komunalnych, składowania na wysypiskach, kompostowania i recyklingu wyjaśniły istnienie wspólnego problemu przy wszystkich formach gospodarowania odpadami. Badania te jednakże prowadzono w odniesieniu do jednostkowych operacji postępowania z odpadami, co nie przyczyniło się do pełnego, jasnego zróżnicowania wpływów oddziaływania PCDDs/Fs na środowisko.

Powstawanie PCDDs i PCDFs w procesach składowania odpadów a więc na składowiskach i w kompostowniach zostało stwierdzone dopiero w ciągu ostatnich lat i jest tematem wielu badań naukowych głównie w Niemczech i Szwecji (Narodowy Instytut Ochrony Środowiska w Umea w Szwecji - grupa prof. Christophera Rappe). Zachodzące reakcje biochemiczne w składowiskach odpadów powodują powstawanie PCDDs i PCDFs z prekursorów, obecnych tam związków chloroorganicznych [15]. Zawartość masowa powstających PCDDs i PCDFs zależna jest od ilości chloru organicznego a także od zawartości niektórych innych substancji organicznych będących pożywkami dla szczepów bakterii i grzybów przekształcających związki organiczne w dioksyny. Z danych dostępnych w literaturze naukowej wynika, że średnioroczna emisja PCDDs i PCDFs do środowiska z procesów biochemicznych zachodzących w składowanych odpadach komunalnych i przemysłowych wynosi ponad 10% całkowitej masy uwalnianej do przyrody w ciągu roku w skali światowej. Z wysypisk odpadów komunalnych ulatnia się średnio 120-240 m³ gazów w odniesieniu do 1 tony zgromadzonych odpadów. Poziom zawartości PCDDs i PCDFs wyrażony jako TEQ w wyniku przeprowadzonych badań wyniósł 0.32 - 0.36 ng TEQ/ m³. Podobny problem istnieje

w przypadku odcieków z wysypisk komunalnych i wg aktualnych badań wynosi on nawet 1 ng TEQ/litr czyli 1000 ng TEQ/ m³ odcieku.

W kompoście powstałym z segregowanych odpadów po oddzieleniu materiałów przeznaczonych do recyklingu i spalania ilość PCDDs i PCDFs może sięgać nawet do 100 ng TEQ/kg (badania w Politechnice Krakowskiej w 1998 [26]).

W warstwie powierzchniowej gleby z terenów uprzemysłowionych poziom dioksyn wynosi średnio 10-20 ng TEQ/kg podczas gdy w glebie z terenów "ekologicznie czystych" tj. parków narodowych (np. Tatrzański Park Narodowy) poziom dioksyn wynosi 1-5 ng/kg TEQ/kg i jest to poziom równowagowy w zakresie naturalnych procesów chemicznych zachodzących od milionów lat w przyrodzie.

Źródłem dioksyn w środowisku nie są jedynie procesy spalania oraz składowanie odpadów przemysłowych. Nie należy obecności dioksyn w przyrodzie utożsamiać z "brudnymi" technologiami spalania odpadów.

Poważnym źródłem dioksyn do środowiska, szczególnie wodnego były procesy wytwarzania celulozy i papieru. W technologii wytwarzania papieru stosowano chloroorganiczne związki aromatyczne (chlorofenole i ich pochodne). Wskutek procesów termicznych, którym poddawany jest półprodukt papieru i celulozy powstawały również dioksyny. Związki te wraz ze ściekami jako nieprzetworzone w reakcjach biochemicznego oczyszczania ścieków wydostawały się do rzek i jezior pozostając głównie w osadach dennych a stąd przechodziły do tkanek ryb. W krajach Skandynawii opracowano metody określania poziomu zanieczyszczenia wód i osadów dennych na podstawie analiz tkanki zwierząt wodnych w tym głównie ryb.

Należy sobie zdać sprawę z faktu, że dioksyny występują w przyrodzie od milionów lat jako produkt reakcji zachodzących w sposób naturalny w przyrodzie. Chlor jest pierwiastkiem występującym powszechnie w glebie, wodzie, drewnie itd. Wszelkie procesy termiczne, do których można zaliczyć pożary lasów i łąk, wybuchy wulkanów lub świadome stosowanie otwartego ognia przez człowieka od tysięcy lat są źródłami dioksyn do środowiska. Cywilizacyjny rozwój człowieka spowodował wprowadzenie dioksyn do środowiska w sposób nieświadomy i niekontrolowany aż do lat 70. Od tego czasu wskutek zaistnienia poważnych katastrof ekologicznych (Seveso w 1976, wojna w Wietnamie itd.) rozpoznano dioksyny, opracowano metody ich oznaczania i przystąpiono do badań nad ograniczaniem ich emisji do środowiska. Od połowy lat 80 obserwuje się w przyrodzie wyraźny spadek poziomu dioksyn. Osiągnięto to dzięki zrozumieniu administracji państwowej i społeczeństwa w krajach, w których na naukę, badania i nowoczesne technologie przeznaczono znaczne środki finansowe, a efekty tych kosztownych wydatków są już widoczne.

Przy okazji ograniczenia emisji dioksyn jednocześnie zmniejszono emisję węglowodorów aromatycznych, metali ciężkich i tlenków azotu. Aktualnie więc stan środowiska w krajach o wysokiej kulturze ekologicznej pod względem zawartości masowej dioksyn przestaje być niepokojący, gdyż rozpoznano główne źródła dioksyn i zmniejszono ich emisję po gruntownym i kosztownym zmodernizowaniu spalarni odpadów, wycofaniu wszelkich preparatów chloroorganicznych z rolnictwa i gospodarki budowlanej (poza PCW), zaprzestania bielenia papieru chlorem, wycofania paliw etylizowanych i "uszczelnienia" technologii wzbogacania rud i przetwórstwa metali kolorowych (szczególnie miedzi!). Stąd też wyraźnie obserwuje się obniżanie poziomu dioksyn w środowisku zarówno w glebie, roślinach, mułach zbiorników śródlądowych jak i w tkance człowieka i zwierząt.

Nie oznacza to jednak, że problem dioksyn został całkowicie rozwiązany. Nie zaprzestano przecież spalania odpadów, nie da się zrezygnować z produkcji związków chloroorganicznych i wycofania chloru z przemysłu, a jedynie kontroluje się te procesy i zapobiega wydostawaniu dioksyn do środowiska. W rzeczywistości, więc dioksyny przybywa. Są one gromadzone na wysypiskach odpadów niebezpiecznych, składowane w formie w

jakiej powstają (popioły, odpady oleiste itd.) oraz jako odpady przetworzone. Poziom występowania dioksyn w środowisku jest wciąż znacznie wyższy niż przed tysiącami lat.

Pomimo, że do chwili obecnej nie wykazano jednoznacznie wzrostu objawów chorobowych u ludzi związanych z podwyższonym tłem dioksyn, gdyż nie można rozpatrywać ich oddziaływania na organizmy żywe bez uwzględnienia synergicznego działania innych zanieczyszczeń takich jak PCBs, WWA, tlenki azotu i siarki, metali ciężkich itd., to należy mieć pełną świadomość faktu, że efekty toksycznego działania dioksyn będą zauważalne w najbliższej perspektywie.

W przeprowadzonych w ostatnich latach intensywnych badaniach nad poszukiwaniem podstawowych źródeł skażenia środowiska dioksynami wykazano, że istnieje brak korelacji pomiędzy zmierzonymi poziomami uwalniania ich do środowiska ze znanych źródeł - głównie spalania odpadów, przetwórstwa chemicznego związków chloroorganicznych, chemizacji w rolnictwie i przerobie celulozy.

Okazało się, że istnieje spora luka w bilansie masowym w odniesieniu do ilości zmierzonych jako emitowane do środowiska PCDDs/Fs w stosunku do zmierzonych w ilości masowej PCDDs/Fs przybywających w środowisku. Eduljee, Dyke i Cains [15] spróbowali wyjaśnić ten problem rozważając i obliczając poziomy emisji PCDDs/Fs uwalnianych do środowiska ze składowisk odpadów komunalnych oraz z przerobu materiałów do wtórnego zastosowania (recykling). W rzeczywistości jednak PCDDs/Fs występują w gromadzonych, nieprzetworzonych odpadach komunalnych. Tworzą się one w procesach biologicznych i termicznych zachodzących w składowanych odpadach na wysypiskach. PCDDs/Fs były oznaczane w kompostach, gazach i odciekach uchodzących z wysypisk, a także, o czym się zapomina w gazach i pozostałościach powstałych po operacjach recyklingu. Przeprowadzone w krajach zachodnich badania nad przedostawaniem się do środowiska PCDDs/Fs z procesów spalania odpadów komunalnych, składowania na wysypiskach, kompostowania i recyklingu wyjaśniły istnienie wspólnego problemu przy wszystkich formach gospodarowania odpadami. Badania te jednakże prowadzono w odniesieniu do jednostkowych operacji postępowania z odpadami, co nie przyczyniło się do pełnego, jasnego zróżnicowania wpływów oddziaływania PCDDs/Fs na środowisko.

6. Drogi przedostawania się dioksyn do organizmu człowieka

Inhalacja

Obecność dioksyn w powietrzu atmosferycznym spowodowana jest wprowadzaniem do powietrza zanieczyszczonych spalin powstających podczas nie kontrolowanego spalania odpadów [12,13,26]. W niektórych przypadkach dioksyny obecne w powietrzu pochodzą z procesów niekompletnego spalania paliw energetycznych zawierających zanieczyszczenia związkami chloru (np. PCB) lub celowo wprowadzane dodatki związków chloroorganicznych, jak np. w benzynach etylizowanych.

W Europie Zachodniej intensywne badania nad zawartością dioksyn w powietrzu prowadzono pod koniec lat 80. Rappe w 1993 [24] i Oehme w 1995 [25] wykazali, że poziom zawartości dioksyn w powietrzu waha się w granicach 0,001 – 65 pg/m³ sumy kongenerów i 0,001 – 6 pg-TEQ/m³ odpowiednio. Wartość 0,001 pg/m³ przyjęto za próg oznaczalności. Warto zaznaczyć, że w wyniku badań przeprowadzonych w latach 1995-1997 wykazano, że w powietrzu atmosferycznym w Krakowie, w miesiącach zimowych, zawartość dioksyn jest na poziomie 6 – 8 pg-TEQ/m³ [23,26].

Na podstawie badania zawartości wszystkich kongenerów dioksyn wykazano jednak, że zawartość ich w przeliczeniu na TEQ w organizmie człowieka jest o dwa rzędy wyższa niż wynikałoby to z wdychania zanieczyszczonego powietrza.

Przy założeniu, że człowiek o wadze 80 kg, u którego 20% masy to tkanka tłuszczowa, wdycha dziennie ok. 30 m³ powietrza o stężeniu dioksyn 0,05 pg-TEQ/m³ i przy założeniu 100% akumulacji dioksyn w organizmie oraz biorąc pod uwagę to, że czas połowicznego trwania dioksyn w organizmie człowieka wynosi średnio 6 lat, zawartość dioksyn powinna wynosić 0,20 ng-TEQ/kg tłuszczu. W rzeczywistości średni poziom zawartości dioksyn w tkance ludzkiej jest rzędu 5 – 20 ng-TEQ/kg [1,7-9]. Wynika stąd, że podstawowym źródłem dioksyn w organizmie człowieka jest jego pożywienie.

Wchłanianie z przewodu pokarmowego

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. Przyjmując, że średnio człowiek wypija 2L wody na dobę, to jest to mniej niż 0,2 pg-TEQ/dobę. Stanowi to około 0,5% ilości dioksyn wchłanianych wraz z pożywieniem. 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 w przypadku jadalnych liści roślin, np. kapusty lub sałaty. 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 otrzymanych z roślin rosnących na glebach zanieczyszczonych PCDDs, PCDFs i PCBs jest bardzo niski. Dioksyny zawarte w glebie nie są przenoszone przez system korzeniowy do łodygi. Dzieje się tak głównie dlatego, że dioksyny są słabo rozpuszczalne w wodzie. W badaniach wykazano, że olej słonecznikowy otrzymany z roślin rosnących na glebie 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 nie skażonych ekologicznie (poniżej 5 ng-TEQ/kg gleby) zawiera dioksyny na poziomie 0,01 – 0,05 ng-TEQ/kg.

Wykazano [1], że średni okres wydalania połowy masy PCDDs/PCDFs/PCBs z organizmu zwierząt stałocieplnych i ludzi wynosi od 7 do 10 lat. Biorąc pod uwagę, że codziennie przyjmujemy z pożywieniem świeżą 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/dzień [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 [26]. 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 [27-30].

W przypadkach katastrofy ekologicznej, takiej jak tzw. przypadek Yusho w Japonii w 1968 r. po spożyciu skażonego PCB i dioksynami oleju ryżowego zatruciu uległo ponad 1800 osób. W wyniku szeroko prowadzonych badań osób zatrutych olejem ryżowym wykazano [9], że

spożycie dioksyn wyniosło od 28 do 154 ng-TEQ/kg/dzień, co przekroczyło ponad 100 000 razy wartość TDI-WHO.

Szczególne uwagi zwrócone są w ostatnich latach na problem dużej zawartości dioksyn w mleku ludzkim. Mleko ludzkie zawiera dioksyny na poziomie 25-40 ng-TEQ/kg [1]. Zawartość dioksyn na tym poziomie potwierdziły badania w większości krajów wysoko rozwiniętych. Jest to następstwem laktacji występującej u kobiet 20 – 30-letnich. 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.

Wchłanianie poprzez skórę

Dioksyny przenikają przez skórę, gdy jej powierzchnia zostanie nimi zanieczyszczona. Takie przypadki mogą mieć miejsce podczas nieumiejętnego obchodzenia się z substancjami chemicznymi zawierającymi dioksyny jako zanieczyszczenia; takimi są technicznie wytwarzane chlorofenole i ich pochodne. Pożary transformatorów i kondensatorów przemysłowych wypełnionych olejami zawierającymi PCB powodują powstanie tłustej sadzy zawierającej dioksyny na poziomie stężenia rzędu mg-TEQ/kg [31]. Kontakt skóry z taką sadzą może spowodować nie tylko ryzyko wniknięcia dużej dawki dioksyn do organizmu, ale również powstanie bolesnej wysypki skórnej zwanej chlorakną. Jest to uciążliwa dolegliwość wymagająca długotrwałego leczenia i pozostawiająca trwałe blizny [9,32]. Poza katastrofami ekologicznymi, bezpośredni kontakt powierzchni skóry z pyłem opadającym z powietrza atmosferycznego i sadzą zawierającą dioksyny jest przyczyną ich przedostawania się do tkanek podskórnych. W ogólnym bilansie przyjmuje się, że około 0,5 – 2% masy dioksyn zawartych w organizmie ludzkim jest wchłaniane poprzez skórę.

7. Dioksyny w powietrzu atmosferycznym

Powietrze atmosferyczne narażone jest na zanieczyszczenia przemysłowe i komunikacyjne, do których należą dioksyny. Z powodu narastającego stężenia dioksyn w powietrzu atmosferycznym wielu dużych aglomeracji miejskich na świecie niezbędne staje się kontrolowanie stężenia dioksyn w powietrzu. Obecność dioksyn w atmosferze spowodowana jest procesami termicznymi zachodzącymi w przyrodzie w sposób naturalny.

Obecnie dioksyny tworzą się jako niepożądane zanieczyszczenia podczas procesów termicznych zachodzących w hutnictwie, przy termicznym przetwarzaniu metali, produkcji niektórych związków chloro organicznych, a także spalania odpadów przemysłowych, medycznych lub komunalnych w nie przystosowanych do tego instalacjach, a także w urządzeniach wyeksploatowanych, przestarzałych, których system oczyszczania spalin jest niewystarczający. W przeprowadzonych badaniach analitycznych zawartości dioksyn w latach 1998-1999 w powietrzu Krakowa zanieczyszczonym dymem powstałym podczas wypalania traw i odpadów gospodarczych na terenach rolniczych, a nawet miejskich, wykazano 20-krotny wzrost zawartości dioksyn w stosunku do powietrza nie zadymionego [26]. Ponadto w zadymionym powietrzu wykazano obecność polichlorowanych bifenyli (PCB) na poziomie 50 000 pg/m³ (50 ng/m³). Jest to wartość bardzo duża biorąc pod uwagę, że w powietrzu czystym w miesiącach letnich zawartość PCB jest rzędu 500 – 800 pg/m³.

Przyczyną tego stanu zanieczyszczenia powietrza dioksynami podczas wypalania traw jest zdolność do powstawania tych związków w warunkach spalania materii organicznej na wolnym powietrzu. Rośliny zawierają obecnie znacznie większe stężenie środków ochrony roślin oraz zanieczyszczeń przemysłowych. Podczas spalania zanieczyszczenia te są

prekursorami dioksyn zatrzymujących się na cząstkach popiołu i wraz z nim rozprzestrzeniają się w atmosferze.

W wielu krajach prawo nie zezwala na wypalanie traw ani rolniczych pozostałości roślinnych. Jakkolwiek obecność chloru jest warunkiem koniecznym do powstawania dioksyn, to wystarczają jednak śladowe ilości chloru w spalonym materiale, aby otrzymać w wyniku termicznej syntezy dioksyny w spalinach w stężeniu powyżej 10 ng/m^3 . Na tym poziomie stężenia dioksyny mogą już być szkodliwe dla zdrowia. Chlor w ilościach miligramowych (10^{-6} g) jest obecny praktycznie w każdym odpadach i materiale biologicznym. Stąd potencjał tworzenia się dioksyn podczas spalania materii biologicznej oraz odpadów jest bardzo wysoki.

Rozprzestrzenianie się zanieczyszczeń gazowych i pyłowych w powietrzu atmosferycznym zachodzi w środowisku najszybciej. Również przedostawanie się zanieczyszczeń do organizmu człowieka wraz z wdychanym powietrzem stanowi największe źródło intoksykacji.

Pomiary zawartości dioksyn w powietrzu atmosferycznym w Krakowie, przeprowadzone w latach 1995-1998 [12,26] miały na celu nie tylko określenie ewentualnego zagrożenia dla zdrowia mieszkańców miasta, ale również wskazanie na podstawowe źródła emisji dioksyn do atmosfery. W wyniku przeprowadzonych badań wykazano, że najprawdopodobniej zasadniczym źródłem emisji PCDD/F do atmosfery w Krakowie są niekontrolowane procesy spalania odpadów. W mniejszym stopniu zanieczyszczenie atmosfery dioksynami wynika ze spalania paliw etylizowanych w silnikach z zapłonem iskrowym.

Na problem zanieczyszczenia dioksynami powietrza w Krakowie zwrócono uwagę po przeprowadzeniu wstępnych badań w latach 1994-1995. W wyniku tych prac wykazano, że w rejonie skrzyżowania "Mateczny" - dzielnica Kraków-Podgórze wystąpiło wyższe niż w innych dzielnicach zanieczyszczenie powietrza dioksynami w miesiącach zimowych. Stwierdzono również, że sadza pobrana z przewodów kominowych kamienic ogrzewanych piecami opalanymi węglem kamiennym zawierała znaczne zawartości masowe dioksyn. Świadczyć to może o powszechnym zwyczaju spalania odpadów z gospodarstw domowych w piecach węglowych. Proces powstawania dioksyn w tych warunkach został dokładnie poznany. Badania przeprowadzono wówczas na kilku, losowo pobranych próbkach (głównie ze względu na znaczny koszt analizy dioksyn). Dysponując niewielką populacją próbek nie można było wyciągnąć jednoznacznych wniosków pozwalających na określenie głównych źródeł podwyższonej zawartości dioksyn w powietrzu krakowskim w miesiącach zimowych.

W 1995 i 1996 roku w wyniku pozyskania środków z Głównego Inspektoratu Ochrony Środowiska w Warszawie, przystąpiono do przeprowadzenia szerszych badań zawartości PCDDs i PCDFs w pyłe zawieszonym powietrza atmosferycznego w Krakowie w miesiącach zimowych i letnich. Przedmiotem analizy chemicznej były próbki pyłu zawieszzonego w powietrzu atmosferycznym o wymiarach cząstek poniżej $10 \mu\text{m}$, a pobierane w wybranych stacjach monitoringu środowiska Krakowa

Ze względu na silne własności adsorbowania się dioksyn na aktywnych powierzchniowo cząstkach pyłu zawieszzonego substancje te występują w powietrzu głównie jako zaadsorbowane na jego powierzchni.

Pobór próbek pyłu zawieszzonego do oznaczenia zawartości PCDDs i PCDFs w powietrzu atmosferycznym odbywał się przy zastosowaniu wysokowydajnych próbników PM10 typu MFC-HVPM10 produkcji firmy ANDERSEN Samplers INC, w które wyposażone są stacje monitoringu środowiska będące pod nadzorem Wojewódzkiego Inspektoratu Ochrony Środowiska w Krakowie. Jednorazowo pobierano próbki powietrza o objętości około 1600 m^3 . Pobór każdej próbki trwał 24 godziny. Próby pobierano w miesiącach zimowych od początku roku. W styczniu, lutym i marcu pobrano po 2 próby z każdego punktu

pomiarowego (co około 2 tygodnie) i porównawczo po 2 próby w czerwcu. Łącznie w 1996 pobrano po 8 próbek z każdej stacji monitoringu, co dało 32 próbki w komplecie badań.

Wybór lokalizacji został dokonany na podstawie uprzednio dokonanych wstępnych pomiarów analitycznych PCDDs/PCDFs (skrzyżowanie Mateczny), oraz na podstawie lokalnych obserwacji świadczących o dużym natężeniu ruchu samochodowego (Aleje) oraz opalaniu węglem kamiennym mieszkań w okolicach Rynku Podgórskiego w miesiącach zimowych i wczesnowiosennych. W rejonie Nowej Huty występują głównie przemysłowe zanieczyszczenia powietrza powstające w procesach produkcji i przetwórstwa stali w Kombinacie im. T. Sendzimira.

Podstawowym źródłem PCDDs i PCDFs w powietrzu atmosferycznym są przede wszystkim procesy niekontrolowanego spalania – głównie spalanie odpadów z gospodarstw domowych w piecach węglowych. Warto nadmienić, że w warunkach procesu spalania węgla kamiennego w piecach domowych istnieją wprost idealne warunki do powstawania PCDDs i PCDFs gdy w spalanych odpadach znajdują się odpady gospodarcze. Pokażnym źródłem dioksyn w powietrzu są również procesy spalania odpadów gospodarczych i opakowań z handlu na przyzmac i w kontenerach na śmieci. Zwyczaj ten jest ciągle praktykowany na terenie placów handlowych i hurtowni na terenie miast i wsi.

Wymagania jakie powinny być spełnione, aby proces spalania śmieci nie powodował emisji dioksyn do atmosfery nie mogą być jednoznacznie sprecyzowane. Otóż po pierwsze nie ma takiego sposobu przeprowadzenia procesu spalania substancji organicznych w obecności atomów chloru, aby nie tworzyły się dioksyny. Dioksyny należą do bardzo stabilnych termicznie związków organicznych. Zarówno spalanie w temperaturze do 800°C, jak i w zakresie 800 - 1400°C, a nawet powyżej powoduje, że z wsadu materiałowego w spalarniach powstają w fazie gazowej PCDFs i PCDDs. Sposób ich powstawania jest bardzo złożony i wynika z reakcji chemicznych zachodzących w wysokich temperaturach. Dioksyny tworzą się tu głównie w procesie termicznej kondensacji z substancji będących ich prekursorami wskutek rekombinacji wolnych rodników w strefie gorącej procesu dopalania spalin, a także w procesie katalitycznej syntezy na powierzchni aktywnych katalitycznie cząstek popiołu już w chłodniejszej strefie reakcji około 400°C. Oczywiście są to tylko główne procesy, ale w warunkach wysokiej temperatury, obecności reaktywnych wolnych rodników i wielu katalitycznie działających związków tworzących się z bogatych w chemikalia śmieci, wszystkie możliwe procesy tworzenia się dioksyn nie są i chyba długo nie będą do końca poznane. W badaniach naukowych prowadzonych nad procesami tworzenia się dioksyn w procesach spalania odpadów wykazano, że aby gazy spalinowe zawierały minimalne ilości dioksyn gazy spalinowe z procesu spalania odpadów muszą być dopalane w temperaturach powyżej 1200°C przez kilka sekund a następnie gwałtownie schłodzone. Takich warunków nie można stworzyć oczywiście w piecach węglowych stosowanych do ogrzewania mieszkań. Dioksyny występujące w spalinach rozproszone są w fazie gazowej oraz zaadsorbowane na cząstkach stałych. Szczególnie sadza powstająca podczas niekompletnego spalania silnie adsorbuje dioksyny. Wykazały to badania analityczne przeprowadzone przez autora w latach 1994-1998 w Krakowie, w wyniku których stwierdzono obecność PCDD i PCDF w sadzy pobranej z przewodów kominowych z kamienic ogrzewanych piecami węglowymi. W badaniach analitycznych tych próbek wykazano, że w sadzy zawarte są różne substancje toksyczne, wśród których wykryto metale ciężkie, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), oraz chlorowane węglowodory aromatyczne. W grupie tych ostatnich związków wykryto polichlorowane bifenyly oraz polichlorowane dibenzodioksyny i dibenzofurany. Stwierdzono również obecność polichlorowanych naftalenów, dibenzotiofenów i terfenyli. Ze względu na złą sławę, jaką zdobyły sobie w ostatnich dioksyny i duże zainteresowanie tą grupą związków, prowadzone są intensywne badania nad ustaleniem źródeł emisji i sposobów powstawania, szczególnie w warunkach spalania.

Badania spalin z elektrociepłowni węglowych wykazały znikomo małe ilości dioksyn. Wykazano tu poziom zawartości dioksyn rzędu 0.001 do 0.01 ngTEQ/m³. Jakkolwiek w piecach węglowych stosowanych do dziś w Krakowie do ogrzewania mieszkań również spalany jest węgiel, to proces spalania zachodzi w zupełnie innych warunkach, znacznie gorszych pod względem energetycznym i pod względem całkowitego dopalenia spalin. Zmierzony poziom zawartości dioksyn w gazach spalinowych z palenisk domowych jest wyższy i wynosi średnio 0.05-0.1 ngTEQ/m³. Wynika to z warunków spalania, gdy występuje częściowy niedobór tlenu, niższe temperatury spalania oraz brak dopalania spalin i ich powolne studzenie w kanale kominowym. W kotłach elektrociepłowni gaz spalinowy jest szybko chłodzony w wysokosprawnych wymiennikach ciepła. W szeroko prowadzonych badaniach naukowych wykazano, że dioksyny powstają w gorących gazach spalinowych na drodze rekombinacji rodnikowej, gdy gaz studzony jest powoli. Jeżeli proces odbioru ciepła przebiega gwałtownie masa powstających dioksyn w chłodnych spalinach jest o rząd wielkości mniejsza. Niestety, w piecach węglowych u indywidualnych użytkowników nie ma możliwości szybkiego wychładzania spalin. Co więcej, w piecach tych wskutek niekompletnego spalania węgla powstaje sadza. Szczególnie w momencie rozpalania pieca lub podania kolejnej porcji węgla. W obecności niewielkiej nawet ilości chloru w gazie spalinowym w obecności sadzy dioksyny powstają w tzw. reakcjach syntezy de-novo, w których następuje utlenianie węgla cząsteczkowego chlorem w obecności tlenu i cyklizacja powstałych związków alifatycznych do związków aromatycznych, w tym dioksyn. Wydajność tych reakcji jest niewielka, stąd zawartość dioksyn w spalinach jest rzędu nanogramów w metrze sześciennym.

W zakresie dopuszczalnego poziomu emisji zanieczyszczeń do atmosfery z procesów termicznych, w tym ze spalania odpadów przygotowywane jest w Polsce rozporządzenie, bazujące na Dyrektywie Unii Europejskiej 94/67/EC z grudnia 1994.

W tym zakresie wymagane jest oznaczenie m.in. stężenia polichlorowanych dibenzodioksyn i dibenzofuranów. Zagadnienie nie dotyczy jedynie spalarni odpadów niebezpiecznych.

Jeżeli w instalacjach energetycznych, w kotłach opalanych węglem lub olejem spala się substancje odpadowe należące do grupy odpadów niebezpiecznych, wówczas pomiar stężenia zanieczyszczeń odprowadzonych do atmosfery musi uwzględnić stężenie substancji określonych w dyrektywie 94/67/EC Rady Unii Europejskiej wydanej w grudniu 1994.

Poniżej w tabeli 1 zestawiono wykaz dopuszczalnych stężeń substancji szkodliwych w spalinach wg Dyrektywy 94/67/EC.

Tabela 5: Dopuszczalne poziomy stężeń substancji szkodliwych w spalinach emitowanych z urządzeń do spalania odpadów. Wartości te obowiązują również w odniesieniu do urządzeń energetycznych, gdzie spala się paliwa zastępcze lub odpadowe.
Wg Dyrektywy 94/67/EC z 12.1994

Numer kolejny	Substancja	Wartości dopuszczalnego stężenia w spalinach [mg/ m _n ³]
1	C _{org}	10
2	HCl	10
3	HF	1
4	pył całkowity	10

5	SO ₂	50
6	CO	50
7	kadm + tal	0,05
8	rtęć	0,05
9	Sb + As + Pb + Cr + Co + Cu + Mn + Ni + V + Sn	0,5
10	PCDDs PCDFs	i 0,1 ng-TEQ/m _n ³

* - NO_x nie są normowane

W wyniku przeprowadzonych badań analitycznych jednoznacznie wykazano, że poziom zawartości dioksyn w powietrzu atmosferycznym Krakowa w latach 1996-1999 jest wyraźnie podwyższony, w porównaniu z zawartością dioksyn w powietrzu badanym w dużych miastach Europy Zachodniej [19,20,26], gdzie stwierdzono dioksyny poniżej 0.3 pgTEQ/m³. W Krakowie w miesiącach zimowych poziom dioksyn przekraczał 5 pgTEQ/m³. Zawartość dioksyn na tym poziomie nie jest jednak niebezpieczna dla zdrowia mieszkańców Krakowa.

Wykazano również, że pył zawieszony, w którym oznaczano dioksyny zawiera je na poziomie 5.000 - 20.000 ngTEQ/kg zimą i około 2.000 ng/kg w miesiącach letnich. Badania analityczne próbek pyłu zawieszonego wykazały zawartość polichlorowanych dibenzofuranów, głównie tetrachlorodibenzofuranów. Wśród nich dominował 2,3,7,8-TCDF. Ponadto w pyłe zawieszonym w miesiącach zimowych poziom zawartości polichlorowanych bifenyli (PCB) wynosił od 6000 – 12300 pg/m³ w tym kongenery koplarnie (dioksynopodobne) 6 – 20 pg/m³. Pył zawieszony jest więc silnie toksyczny pod względem zawartości dioksyn i PCB. Średni poziom zawartości pyłu zawieszonego w badanym powietrzu w miesiącach zimowych wynosił około 100 µg/m³, chociaż 18 stycznia 1996 zaobserwowano poziom ponad 300 µg/m³. W miesiącach letnich zaobserwowano zmniejszenie się toksyczności pyłu zawieszonego. Poziom dioksyn zmalał wówczas 10-krotnie, a zawartość PCB zmalała do 500 – 1200 pg/m³. Szczególnie było to wyraźne w dzielnicach Śródmieście i Podgórze. Wynika z tego wniosek, że podstawowym źródłem dioksyn do atmosfery w miesiącach zimowych mogą być procesy związane z emisją dioksyn z palenisk domowych. Mieszkania w tych dzielnicach są w dużej mierze ogrzewane indywidualnymi piecami węglowymi, gdzie można pozbywać się odpadków z gospodarstwa domowego. Dowodem na to jest uzyskanie podobnych rozkładów grup kongenerów dioksyn w pobieranych w zimie próbkach pyłu zawieszonego, i porównawczo próbkach popiołu pochodzącego ze spalarni odpadów. Podobnie jak dla próbek sadzy pobranych z przewodów kominowych, w próbkach pyłu zawieszonego zaobserwowano charakterystyczne rozkłady grup kongenerów PCDD,PCDF i PCB występujące w popiołach ze spalarni odpadów komunalnych.

8. Metody oznaczania dioksyn w materiale biologicznym i w żywności

Do oznaczania dioksyn stosowane są metody analityczne z wykorzystaniem techniki chromatografii gazowej. Chromatografia gazowa umożliwia rozdzielanie znacznej większości kongenerów PCDDs, PCDFs i PCBs. Pozwala to na identyfikację wszystkich 17 kongenerów PCDDs i PCDFs posiadających atomy chloru w położeniu 2,3,7 i 8. Technika chromatografii gazowej można rozdzielić wszystkie 12 dioksynopodobnych kongenerów PCB. Zastosowanie

spektrometrii mas jako specyficznej metody detekcji pozwala potwierdzić obecność tych substancji w badanej próbce.

Jeżeli spektrometr mas pracuje w tzw. trybie monitorowania wybranego jonu (SIM - *selected ion monitoring*), można zapewnić wysoką selektywność i czułość oznaczenia. W wartościach bezwzględnych można uzyskać w tym przypadku czułość analizy na poziomie pikogramowym, pod warunkiem właściwego przygotowania próbki do analizy.

Oznaczanie stężenia dioksyn w próbkach biologicznych, środowiskowych oraz pochodzenia przemysłowego prowadzi się w oparciu o wysoki stopień zagęszczenia substancji oznaczanej, z jednoczesnym usunięciem dużej liczby związków organicznych utrudniających identyfikację. PCDDs i PCDFs występują w większości badanych próbek na poziomie pikogramowym, przy jednoczesnej obecności innych związków organicznych na poziomie nawet gramowym. Pomimo stosowania metod oznaczania o bardzo wysokiej selektywności, jak np. spektrometria mas, przy tak dużej różnicy stężeń analitu i zanieczyszczeń istnieje wysokie prawdopodobieństwo zakłócenia sygnału analitycznego uniemożliwiającego identyfikację dioksyn. Ponadto przy bardzo niskim stężeniu dioksyn, aby otrzymać wystarczający do identyfikacji sygnał analityczny istnieje konieczność zagęszczenia próbki, a zatem i zanieczyszczeń, co może mieć wpływ na obniżenie sprawności rozdzielania stosowanych kolumn kapilarnych oraz znaczne obniżenie czasu ich eksploatacji. Spektrometria mas jest metodą zapewniającą wysoką selektywność oznaczenia, co pozwala na otrzymanie nie zakłóconego sygnału analitycznego przy obecności dużego stężenia zanieczyszczeń. Jest to możliwe dzięki specyfice spektrometrii mas, polegającej na zdolności do rejestrowania sygnałów pochodzących od jonów fragmentacyjnych powstałych z dysocjacji cząsteczki badanego związku organicznego. Zwykle fragmentacja następuje w tzw. źródle jonów wskutek kolizji z elektronami o energii 70 eV (jonizacja elektronowa, EI). W tych warunkach cząsteczki ulegają dysocjacji na jony o różnych masach i ładunkach, jednakże dla danego związku chemicznego skład procentowy jonów fragmentacyjnych jest zawsze stały. Detektor masowy pozwala na rejestrację sygnału od każdego jonu fragmentacyjnego (przeważnie są to jony jednododatnie). Otrzymuje się wówczas tzw. obraz fragmentacyjny analizowanego związku. Cechą charakterystyczną tego obrazu jest występowanie różnych intensywności sygnałów (zwanymi pasmami fragmentacyjnymi) od poszczególnych jonów, przy czym stosunek intensywności tych sygnałów dla danego związku chemicznego jest stały. Porównując otrzymany obraz fragmentacyjny badanego związku chemicznego z obrazem otrzymanym od substancji wzorcowej względnie z odpowiednią biblioteką, można potwierdzić lub wykluczyć obecność badanego związku w próbce. W przypadku analizy dioksyn na poziomie śladowym, obok tych związków występują zanieczyszczenia, które mogą powodować zakłócenie obrazu fragmentacyjnego spowodowane pojawieniem się na nim sygnałów od innych jonów, względnie zmianą intensywności sygnałów od jonów charakterystycznych dla oznaczanego związku – do tego stopnia, że niemożliwa będzie jego identyfikacja. Z tego też powodu w analizie śladowej rzadko korzysta się z rejestracji całkowitego obrazu fragmentacyjnego (tzw. całkowity prąd jonowy – TIC). Aby uzyskać wysoką selektywność oznaczenia, w analizie śladowej rejestruje się tylko jeden lub kilka jonów fragmentacyjnych, dających najintensywniejsze sygnały; jest to tzw. tryb monitorowania wybranego jonu. Jeżeli spektrometr masowy jest sprzężony z chromatografem gazowym (system GC/MS), wówczas rejestruje się obraz fragmentacyjny pochodzący od związków chemicznych rozdzielonych na kolumnie chromatograficznej. Spektrometr masowy spełnia w tym przypadku rolę detektora chromatograficznego. Uzyskanie zgodności czasu retencji badanego związku z substancją wzorcową zwiększa jeszcze selektywność oznaczenia. W oczyszczonych wstępnie od zanieczyszczeń próbkach różnego pochodzenia, a zwłaszcza biologicznych na poziomie śladowym obok dioksyn występuje liczna grupa zanieczyszczeń związkami chloroorganicznymi, takich jak: polichlorowane naftaleny (PCNs), polichlorowane

terfenyle (PCTs), polichlorowane fenoksyfenole (PCPhPs), polichlorowane etery difenylowe (PCDPEs) i inne chlorowane związki aromatyczne. Podczas fragmentacji techniką EI z cząsteczek tych związków powstają jony o masie typowej dla dioksyn. Może powodować to znaczne zakłócenie sygnału analitycznego i utrudnić lub uniemożliwić identyfikację dioksyn. W tym przypadku rejestruje się równocześnie dwa a nawet więcej jonów. Warunkiem identyfikacji jest wystąpienie takiego samego stosunku sygnału dla rejestrowanych jonów jak dla analizowanych w tych samych warunkach substancji wzorcowych dioksyn. Dla jonów fragmentacyjnych powstałych z cząsteczek związków zanieczyszczeń stosunek sygnałów dla tych jonów będzie inny.

Przy pobieraniu, przechowywaniu i transporcie próbek do laboratorium należy zwrócić szczególną uwagę na ich zabezpieczenie przed utratą śladowych ilości substancji badanej, gdyż PCDDs/PCDFs występują w próbkach pobranych ze środowiska na poziomie pikogramowym.

Chlorowane dibenzodioksyny i dibenzofurany należą do związków fotolabilnych. Przy przechowywaniu próbek oraz podczas czynności związanych z oczyszczaniem próbek do analiz instrumentalnych, należy je zabezpieczyć przed dostępem światła – najlepiej poprzez owinięcie naczyń szklanych folią aluminiową. Ogólne zasady pobierania, przechowywania i transportu próbek do laboratorium są takie same jak dla próbek do oznaczania pozostałości pestycydów i wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych.

Analiza śladowa wymaga zagęszczenia próbki do tego stopnia, aby uzyskać odpowiednio wyraźny sygnał analityczny. Poziom wykrywalności współczesnej aparatury analitycznej opartej na wysokorozdzielczych spektrometrach mas jest rzędu 0,1 pg w odniesieniu do 2,3,7,8-TCDD. W próbkach biologicznych zawartość dioksyn jest na poziomie 0,005 – 1 pg-TEQ/g. Stąd konieczność pobrania do analizy próbek biologicznych, środków spożywczych i innych o masie od 5g do 50g. próbki niektórych produktów przemysłowych, w tym popioły ze spalarni odpadów mogą zawierać dioksyny na poziomie 1 µg-TEQ/g. Do analizy wystarczą więc miligramowe ilości tych próbek. Jednakże w celu uzyskania próbek reprezentatywnych (trudność z homogenizacją itp.) zalecane jest, aby do analizy odważyć większą masę próbki i z ekstraktu do dalszych czynności analitycznych pobrać odpowiednio małą objętość.

Najbardziej pracochłonną i w związku z tym najkosztowniejszą czynnością analityczną jest przygotowanie próbek do analiz instrumentalnych, polegające na wyizolowaniu analitu z matrycy. W tym celu stosuje się różne techniki ekstrakcji. Otrzymany ekstrakt jest jednak silnie zanieczyszczony i nie może być w takiej postaci analizowany. Oczyszczenie ekstraktu polega na rozdzieleniu i usunięciu związków przeszkadzających w oznaczaniu PCDDs/PCDFs, występujących niejednokrotnie na poziomie stężeń 10^6 razy wyższym niż analit. Operacje te mogą spowodować spore straty analitu. W celu obliczenia poziomu odzysku dioksyn w przeprowadzonych przez autora badaniach wprowadzono do próbki wzorce wewnętrzne, wzorce odzysku oraz tzw. wzorzec strzykawkowy, które są analogami kongenerów PCDDs i PCDFs znaczoneymi stabilnymi izotopami węgla ^{13}C . Są to substancje jednoskładnikowe lub mieszaniny o ściśle określonym składzie i stężeniu przygotowane w odpowiednich rozpuszczalnikach. Dla próbek wodnych wzorce przygotowywano w acetonie lub metanolu, a do oznaczania próbek stałych, olejów i tkanek - w rozpuszczalnikach hydrofobowych. Gotowe do użycia roztwory wzorcowe ^{13}C -PCDDs i ^{13}C -PCDFs produkowane są przez wyspecjalizowane firmy chemiczne. Podczas czynności związanych z przygotowaniem próbek do analiz wprowadzano niekiedy dodatkowo substancje wzorcowe dioksyn znaczone izotopem chloru ^{37}Cl .

Stosowane techniki separacji PCDDs/PCDFs muszą zapewnić wysoką selektywność rozdzielania. W literaturze opisano wiele różnych procedur, w zależności od natury samej próbki, składu matrycy oraz stężenia PCDDs i PCDFs [1,13,22,33-36].

Poniżej przedstawiono opracowane przez autora analityczne procedury przygotowania próbek do analiz i oznaczania dioksyn w próbkach biologicznych, środowiskowych i przemysłowych. Procedury te zostały wielokrotnie sprawdzone w praktyce, m.in. w międzynarodowych porównaniach międzylaboratoryjnych. Jakkolwiek procedury te oparte są w dużej części na metodyce szeroko opisanej w literaturze naukowej [1,7-9,13,19,33-36] dla analiz wykorzystujących systemy wysokorozdzielczych spektrometrów mas, gdzie oczyszczenie próbek nie jest aż tak ważne – zostały one znacznie zaadaptowane do analiz prowadzonych przy użyciu spektrometrów mas z detektorem kwadrupolowym oraz z podwójną fragmentacją cząsteczki (spektrometria MS/MS) przy zastosowaniu pułapki jonowej.

Oznaczanie PCDDs i PCDFs w żywności i materiale biologicznym napotyka spore trudności spowodowane:

- a) ich bardzo niską zawartością w badanych próbkach,
- b) niezwykle bogatą matrycą tych próbek, zawierającą znaczne w stosunku do dioksyn stężenie innych chlorowanych związków aromatycznych, takich jak etery difenylowe, fenoksyfenole, a w szczególności polichlorowane bifenyle. Substancje te występują w próbkach biologicznych w stężeniach niekiedy 1000-krotnie wyższych niż PCDDs i PCDFs [8,9,23,34-39].

Oznaczanie wymaga przede wszystkim wysokiej specyficzności metody przygotowania próbek do analizy.

Z tego też względu do oznaczeń dioksyn w materiale biologicznym i żywności nie nadają się systemy GC-MS o niskiej rozdzielczości, a więc typowe w innych zastosowaniach spektrometry kwadrupolowe lub pułapki jonowe. Do analiz należy stosować spektrometry magnetyczne o wysokiej rozdzielczości. W przedstawionych w niniejszej pracy badaniach z zastosowaniem systemów z podwójną fragmentacją GC-MS/MS uzyskano dobre rezultaty w oznaczaniu PCDDs i PCDFs w mleku, mięsie, tkance zwierzęcej i ludzkiej. Poziom wykrywalności stosowanej metody obliczono na 0,5 pg dla 2,3,7,8-TCDD oraz dla 1,2,3,7,8-P₅CDD w odniesieniu do 1 g tłuszczu. Dla OCDD i OCDF poziom ten wynosi odpowiednio 2 do 5pg/g tłuszczu. Możliwości stosowanego systemu GC-MS/MS są więc porównywalne z o wiele bardziej kosztownymi systemami chromatografów gazowych sprzężonych z magnetycznymi spektrometrami mas o wysokiej rozdzielczości.

8.a. Metody bioanalityczne

W badaniach toksykologicznych i biochemicznych wykorzystywane są uwarunkowania prowadzące do otrzymania specyficznych zachowań systemów biologicznych związane z ich uczuleniem na związki chemiczne z grupy chlorowanych węglowodorów aromatycznych w tym głównie PCBs, PCDDs i PCDFs. W metodach analizy chemicznej otrzymuje się informację o bezwzględnej zawartości badanych związków chemicznych w próbce. Jakkolwiek wynik takiej analizy umożliwia stworzenie pełnego obrazu badanej próbki pod względem budowy chemicznej zanieczyszczeń związkami chloroorganicznymi to nie pozwala na otrzymanie bezpośredniej informacji o rzeczywistej toksyczności badanej próbki. Ze względu na synergiczne jak i antagonistyczne oddziaływanie poszczególnych kongenerów dioksyn w zakresie ich toksycznego działania na organizmy żywe nie ma możliwości bezpośredniego określenia potencjalnej toksyczności badanej próbki w oparciu o nawet bardzo dokładne wyniki chemicznej analizy kongenerowej. Tym bardziej, że współczynniki TEF stosowane do obliczenia poziomu toksyczności TEQ przyjęte zostały na podstawie pewnych przybliżeń w toksycznym oddziaływaniu poszczególnych kongenerów PCDDs, PCDFs i PCBs na organizmy żywe. W badaniach toksykologicznych przyjęto uproszczenie polegające na założeniu podobnego działania toksycznego dla kongenerów w obrębie tej

samej grupy PCDDs/PCDFs jak np. Heksachlorodibenzodioxyny, które tworzą trzy 2,3,7,8-chloropodstawione kongenery. Dla uproszczenia przyjęto dla wszystkich współczynniki toksyczności TEF=0,1. Podobnie jak dla czterech kongenerów heksachlorodibenzofuranów. Jedynie dla kongenerów TCDD/F oraz P₅CDD/F współczynniki toksyczności odnoszą się do porównania rzeczywistego oddziaływania toksycznego każdego kongeneru z osobna.. Stąd TEQ należy traktować jako pewien wskaźnik poziomu toksyczności w ocenie stopnia skażenia środowiska czy poziomu zagrożenia dla zdrowia, natomiast nie można na jego podstawie przewidywać rzeczywistego oddziaływania toksycznego na organizmy żywe.

Metody bioanalityczne można podzielić na:

1. Analizy biologiczne (bioassay)
2. Analizy w oparciu o zdolność wiązania ligandu (ligand binding assay)
3. Analizy immunologiczne i radioimmunologiczne (immunoassay, radioimmunoassay IAs, RIAs)

Ad. 1.: W metodzie analizy biologicznej bada się stężenie produktów działania enzymów hydroksylujących, szczególnie cytochromu P450(CYP) 1A1 i innych enzymów sprzęgających (np. sulfonujących) wytwarzanych z genów w jądrze komórkowym pod wpływem indukujących właściwości receptorów związków aromatycznych (Ah receptory) do których uprzednio nastąpiło przyłączenie cząsteczki dioksyny. Po przyłączeniu dioksyny do Ah receptora następuje jego przeniknięcie przez błonę komórkową a następnie do jądra komórkowego gdzie wskutek oddziaływania z DNA następuje indukcja specyficznych genów tworzących również specyficzne enzymy [1].

Ad. 2: Metody analizy wiązania ligandu polegają na wykorzystaniu właściwości konkurencyjnego przyłączania cząsteczki dioksyny jako ligandu do wewnątrzkomórkowego białka receptorowego (tzw. receptor Ah) z wprowadzonymi cząsteczkami dioksyn znaczonej radioizotopem ³H, ¹⁴C lub ¹²⁵I. Frakcję wolną zawierającą cząsteczki znaczonej dioksyny oddziela się od związanej z białkiem receptora a następnie prowadzi się pomiar radioaktywności z zastosowania licznika scyntylicyjnego. Wykorzystywana jest tu zależność polegająca na tym, że im większe jest stężenie naturalnych tj. nie znaczonej występujących w próbce dioksyn tym mniej znaczonej radioizotopowo cząsteczek dioksyn związanych zostanie z receptorem. Oznaczanie prowadzone jest w oparciu o przygotowanie krzywych kalibracyjnych. Czułość tej metody jest rzędu 50 pg-TEQ.

Inna metoda polega na pomiarze luminescencji indukowanej w jądrze komórkowym lucyferazy z modyfikowanego w tym celu genu linii komórkowej myszy (linia Hepa-1c1c7) pod wpływem Ah receptora, do którego została przyłączona cząsteczka dioksyny. Natężenie luminescencji jest wprost proporcjonalne do stężenia dioksyn w badanej próbce. Metoda ta jest bardzo specyficzna i zapewnia poziom wykrywalności rzędu 100 pg TEQ. Wadą tej metody jest konieczność złożonego i czasochłonnego przygotowania próbki do analizy podobnie jak w przypadku analiz chemicznych.

Ad. 3.: Metoda analizy immunologicznej wykorzystuje zdolność przeciwciał do selektywnego odwracalnego wiązania cząsteczki związku organicznego uprzednio przyłączonej do znacznie większej cząsteczki białka, przeciwko któremu zostanie wytworzone przeciwciało. Wówczas nastąpi wiązanie tego białka z przyłączoną cząsteczką dioksyny z przeciwciałem. Oznaczenie dioksyn polega na oznaczeniu różnicy w stężeniu pozostałych, niezwiązanych przeciwciał w testach immunologicznych w oparciu o przygotowaną uprzednio krzywą kalibracyjną. Metoda ta w przeciwieństwie do innych umożliwia rozróżnienie poszczególnych kongenerów PCDDs i PCDFs.

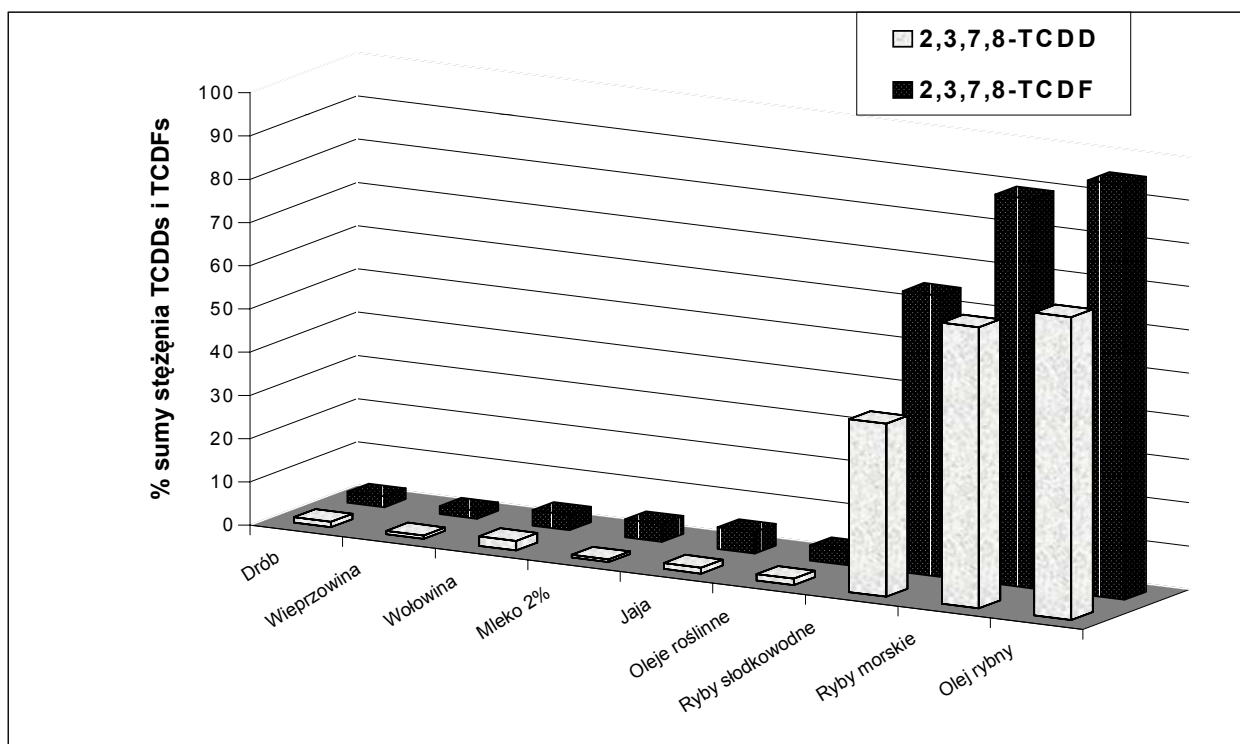
W analizie radioimmunologicznej, podobnie jak w metodzie wiązania ligandu wykorzystuje się zdolność do konkurencyjnego wiązania cząsteczki dioksyny znaczonej radioizotopem do naturalnej dioksyny ze specyficznym białkiem a następnie połączenia się tego kompleksu z przeciwciałem występującym w osoczu krwi np. myszy lub królika. Po oddzieleniu ich od niezwiązanych przeciwciał przeprowadza się pomiar radioaktywności podobnie jak w metodzie wiązania ligandu.

Ze względu na wysoką specyficzność i czułość metod bioanalitycznych znajdują one coraz większe zastosowanie w bezpośredniej ocenie poziomu skażenia dioksynami badanych próbek. Rozwój tych metod powoduje, że stają się one konkurencyjne do metod chemicznych, które aby uzyskać równie wysoką selektywność wymagają żmudnego i czasochłonnego przygotowania próbek do analiz wymagającego usunięcia znacznej ilości przeszkadzających zanieczyszczeń.

9. Przykładowe wyniki oznaczania dioksyn w próbkach żywności

W wyniku oznaczania stężenia dioksyn w próbkach środków spożywczych wykazano w latach 199-2001, że w próbkach tłuszczów roślinnych świeżych i zużytych, jak np. olej roślinny po smażeniu frytek poziom dioksyn i PCBs nie przekraczał 0,8 ng-TEQ/kg. Tłuszcze zwierzęce zawierają większe stężenie dioksyn w związku z ich akumulacją w tkance tłuszczowej. W tym przypadku stężenie dioksyn jest funkcją czasu życia zwierzęcia. Kurczaki, których nie karmiono paszą skażoną dioksynami zawierały je na poziomie 0,6 – 1,5 ng-TEQ/kg. Stężenie dioksyn w próbkach tłuszczu wieprzowego również było niewysokie i nie przekraczało 1,3 ng-TEQ/kg. W próbkach tłuszczu z mięsa wołowego poziom dioksyn i PCB był w przedziale 2,4 – 8,5 ng-TEQ/kg.

W wyniku badań różnorodnych próbek tłuszczów zwierzęcych z terenu Polski, przeprowadzonych przez autora w latach 1997-2001, stwierdzono występowanie wszystkich siedemnastu kongenerów PCDDs i PCDFs oraz dwunastu kongenerów non-orto i mono-orto PCBs. Na rysunku 3 przedstawiono udział poszczególnych kongenerów 2,3,7,8-chloropodstawionych PCDDs i PCDFs w odniesieniu do sumy kongenerów w poszczególnych grupach. Odnosi się to np. do stosunku masowego 2,3,7,8-TCDD w odniesieniu do sumy TCDDs w badanej próbce.



Rys. 3: Procentowy udział 2,3,7,8-TCDD w grupie TCDDs i 2,3,7,8-TCDF w grupie TCDFs w próbkach środków spożywczych

Wyniki analizy ponad 40 próbek oleju rybnego wykazały podobny rozkład kongenerowy w zakresie grup TCDDs, TCDFs i P₅CDFs [26,37]. W tym przypadku 2,3,7,8-TCDD i 2,3,7,8-TCDF występowały jako dominujące kongenery w odpowiednich grupach TCDDs i TCDFs. Podobnie w grupie P₅CDFs dominowały 1,2,3,7,8-P₅CDF i 2,3,4,7,8-P₅CDF, a w grupie P₅CDDs głównym składnikiem był 1,2,3,7,8-P₅CDD. Dla innych tłuszczów zwierzęcych nie zaobserwowano podobnego przypadku dominowania kongenerów 2,3,7,8-TCDDs i 2,3,7,8-TCDFs.

Ze względu na wysoką wartość współczynników toksyczności TEF dla kongenerów 2,3,7,8-PCDDs/PCDFs, ryby i ich przetwory wykazują znacznie większą toksyczność pod względem zawartości dioksyn w porównaniu z mięsem i tłuszczem innych zwierząt. Wysoką toksyczność ryb można próbować tłumaczyć zdolnością kumulowania w organizmach tych zwierząt kongenerów 2,3,7,8-chloropodstawionych PCDDs i PCDFs. Pozostałe kongenery PCDDs i PCDFs zostają prawdopodobnie wydalane z organizmu ryb.

W wyniku analiz PCBs stwierdzono tu również zwiększoną kumulację kongenerów koplanarnych PCBs w odniesieniu do sumy zawartości WHO-PCBs w badanych próbkach tłuszczu rybnego w porównaniu z tłuszczami innych zwierząt. Niemniej jednak w rybach dominowały wśród toksycznych kongenerów PCBs głównie kongenery mono-orto PCBs i di-orto PCBs.

Tab. 6: Stężenie non-orto i mono-orto PCBs w oleju rybnym z ryb bałtyckich ***
(wartość średnia z 40 próbek)

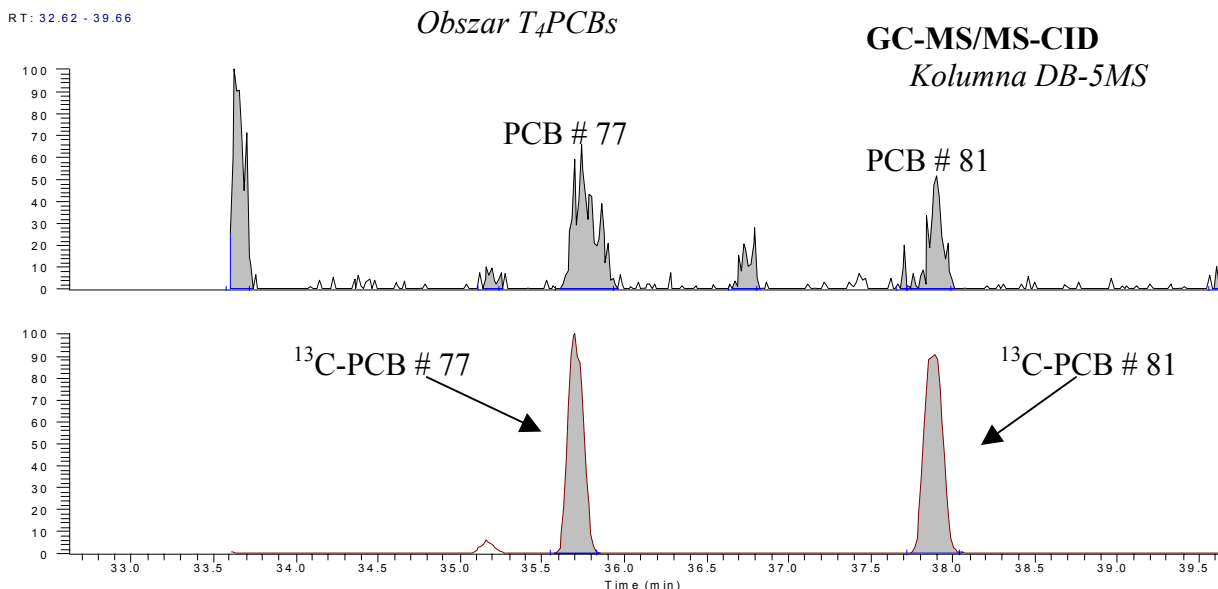
Lp.	non-orto PCBs	Stężenie ng/kg	Cząstkowy TEQ
1	3,3',4,4' - T4CB (PCB# 77)	47,2	0,00472
2	3,4,4',5- T4CB (PCB# 81)	148	0,00148
3	3,3',4,4',5 – P5CB (PCB#126)	38,5	3,85
4	3,3',4,4',5,5' – H6CB (PCB#169)	230	2,3
	mono-orto PCBs		
5	2,3,4,3',4' - P ₅ CB (PCB#105)	315	0,0315
6	2,3,4,5,4' - P ₅ CB (PCB#114)	78	0,039
7	2,4,5,3',4' - P ₅ CB (PCB#118)	480	0,048
8	3,4,5,2',4' - P ₅ CB (PCB#123)	1250	0,125
9	2,3,4,5,3'4' - H ₆ CB (PCB#156)	1300	0,65
10	2,3,4,3'4',5' - H ₆ CB (PCB#157)	860	0,43
11	2,4,5,3',4',5' - H ₆ CB (PCB#167)	1850	0,0185
12	2,3,4,5,3'4',5' - H ₇ CB (PCB#189)	2500	0,25
Poziom toksyczności dla PCBs w ng-TEQ/kg			7,75
Dla porównania:			
Poziom toksyczności dla PCDDs i PCDFs w ng-TEQ/kg			27,40

*** ze względów na zachowanie konfidencji nie podano tu gatunków badanych ryb ani miejsc połowu.

Tab. 7: Stężenie non-orto i mono-orto PCBs w polskim tłuszczu wołowym (uwagi *** jak powyżej) Wyniki są wartością średnią z 28 próbek.

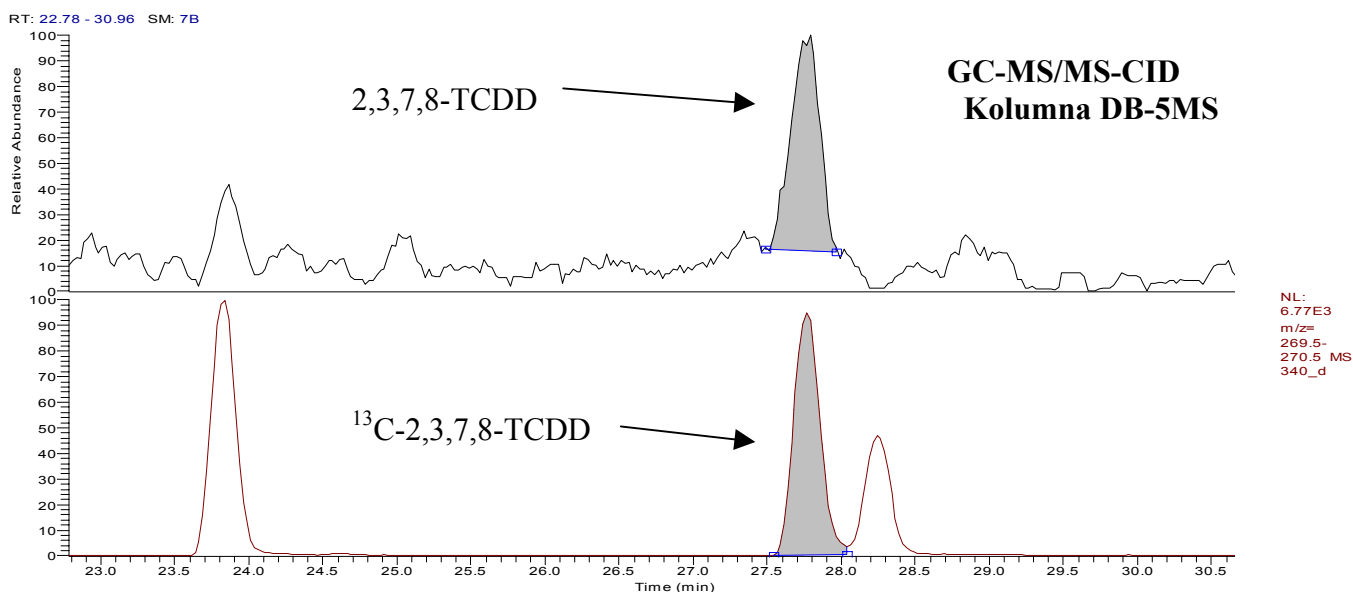
Lp.	non-orto PCBs	Stężenie ng/kg	Cząstkowy TEQ
1	3,3',4,4' - T4CB (PCB# 77)	2,3	0,00023
2	3,4,4',5- T4CB (PCB# 81)	24,9	0,000249
3	3,3',4,4',5 – P5CB (PCB#126)	5,2	0,52
4	3,3',4,4',5,5' – H6CB (PCB#169)	38	0,38
	mono-orto PCBs		
5	2,3,4,3',4' - P ₅ CB (PCB#105)	170	0,017
6	2,3,4,5,4' - P ₅ CB (PCB#114)	215	0,1075
7	2,4,5,3',4' - P ₅ CB (PCB#118)	120	0,012
8	3,4,5,2',4' - P ₅ CB (PCB#123)	85	0,0085
9	2,3,4,5,3'4' - H ₆ CB (PCB#156)	175	0,0875
10	2,3,4,3'4',5' - H ₆ CB (PCB#157)	280	0,14
11	2,4,5,3',4',5' - H ₆ CB (PCB#167)	400	0,004
12	2,3,4,5,3'4',5' - H ₇ CB (PCB#189)	850	0,085
Poziom toksyczności dla PCBs w ng-TEQ/kg			1,36
Dla porównania:			
Poziom toksyczności dla PCDDs i PCDFs w ng-TEQ/kg			3,80

Z wartości przedstawionych w tabelach 6 i 7 wynika, że wartość poziomu toksyczności oleju rybnego w odniesieniu do zawartości PCDDs i PCDFs jest znacznie wyższa niż w odniesieniu do zawartości PCBs, podczas gdy poziom toksyczności próbek tłuszczu wołowego w odniesieniu do zawartości dioksyn jest tylko dwukrotnie wyższy w porównaniu z poziomem toksyczności obliczonym dla PCBs.

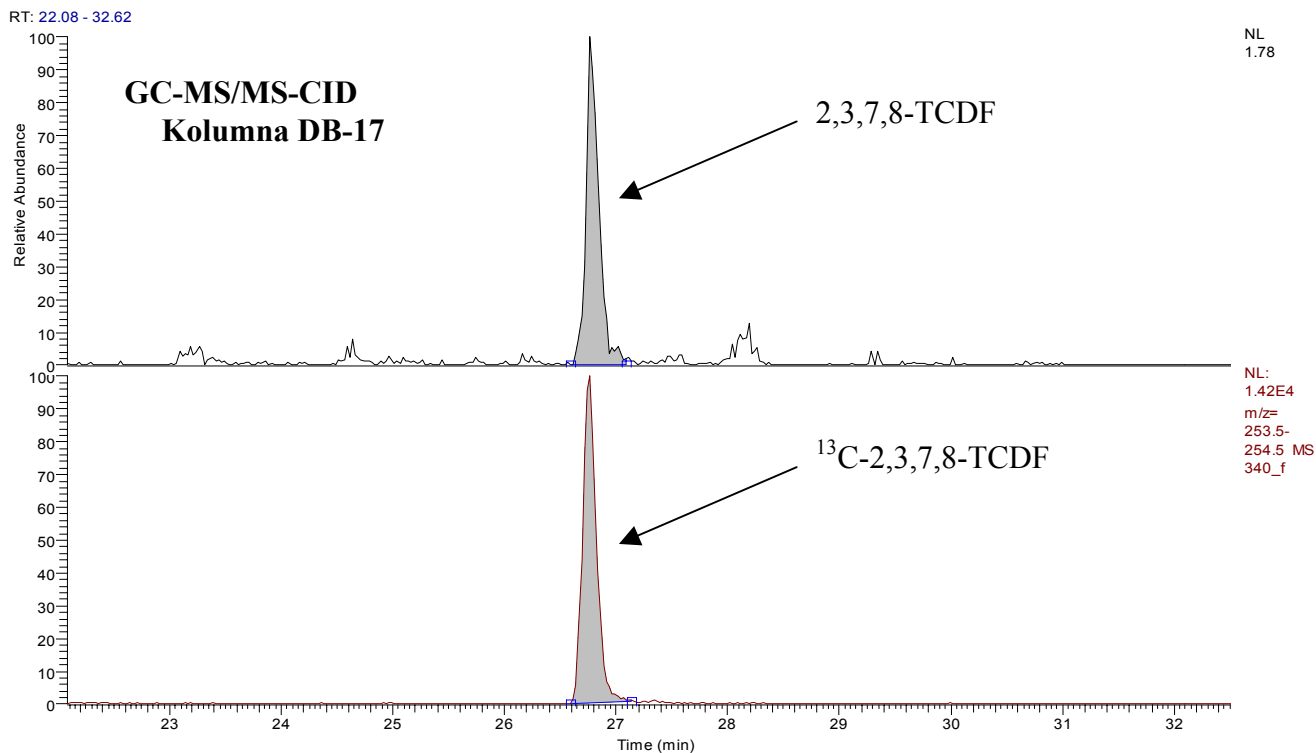


Rys. 4: Przykładowy chromatogram GC-MS/MS-CID obrazujący zawartość koplanarnych, non-orto PCBs: 3,3',4,4'-T₄CB (PCB#77) i 3,4,4',5- T₄CB (PCB# 81) w próbce oleju rybnego z ryb bałtyckich

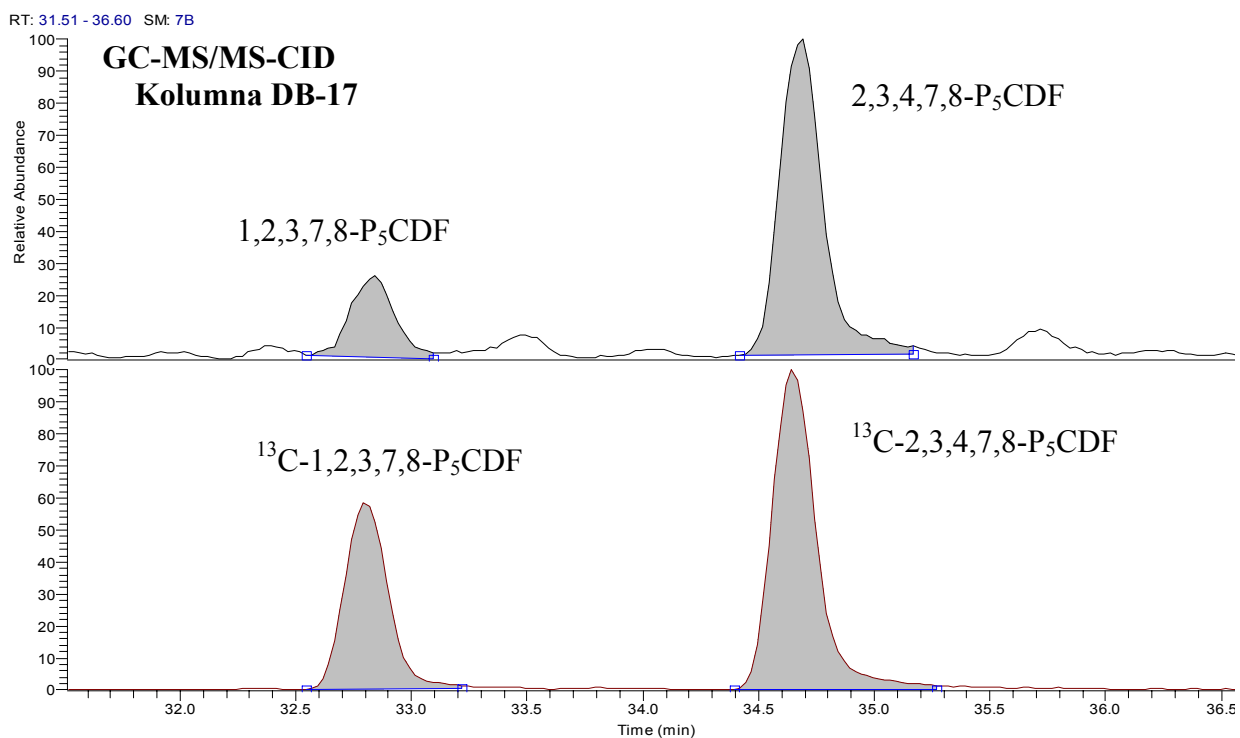
Poniżej na rysunkach 5 – 7 przedstawiono wykonane przez autora rozdzielne chromatograficzne grupy TCDDs, TCDFs i P₅CDFs dla próbek oleju rybnego pochodzącego z ryb złowionych w Bałtyku w roku 1999 (olej produkcji krajów Skandynawskich).



Rys. 5: Przykładowy chromatogram GC-MS/MS-CID obrazujący zawartość 2,3,7,8-TCDD jako głównego składnika TCDDs w próbce oleju rybnego z ryb bałtyckich



Rys. 6: Przykładowy chromatogram GC-MS/MS-CID obrazujący zawartość 2,3,7,8-TCDF jako głównego składnika TCDFs w próbce oleju rybnego z ryb bałtyckich



Rys. 7: Przykładowy chromatogram GC-MS/MS-CID obszaru retencji P₅CDFs obrazujący zawartość 1,2,3,7,8-P₅CDF i 2,3,4,7,8-P₅CDF jako głównych składników P₅CDFs w próbce oleju rybnego z ryb bałtyckich

Dla porównania w tabeli 8 zestawiono wartości stężenia PCBs i PCDDs/PCDFs dla próbek środków spożywczych pochodzących od polskich producentów.

Tab. 8: Wyniki analiz próbek żywności, przeprowadzonych przez autora w 1999 w czasie tzw. afery belgijskiej [26, 40]

Produkt	Oznaczone stężenie w ng-TEQ/kg tłuszczu
Mleko	0,1 – 4,0
Mleko w proszku	0,3 – 5,0
Masło	0,6 – 6,5
Ser żółty	0,2 – 7,7
Jogurty niskotłuszczowe	Poniżej 0,01
Jogurty powyżej 2% tł.	0,1 – 1,8
Wieprzowina	0,05 – 1,3
Wieprzowina grilowana na otwartym ogniu (węgiel drzewny)	20 - 25
Drób	0,6 – 12,8
Wołowina	2,4 – 8,5
Ryby słodkowodne polskie	1,2 – 9,4
Ryby morskie (bałtyckie)	7,0 – 40,0
Olej rybny (z ryb bałtyckich)	11,2 - 40
Olej rybny (import ze Skandynawii)	12,6 - 50
Jaja (żółtko)	0,6 – 7,4
Olej roślinny świeży	0,02 – 0,1
Olej roślinny zużyty (po smażeniu frytek)	0,15 – 0,8
Mączka rybna (import ze Skandynawii)	6,5 - 20
Mączka kostna polska	0,25 – 4,25
Wyroby czekoladowe	0,05 – 0,75
Mięso kurczaków belgijskich karmionych zanieczyszczoną paszą (luty-marzec 1999)	700

W wyniku przeprowadzonych badań autor wykazał, że informacje o źródle skażenia paszy do karmienia kurcząt w Belgii w okresie luty-marzec 1999, którym miał być przepracowany olej silnikowy są nieprawdziwe, gdyż, jak wynika z danych zawartych w tabeli 9, przepracowane oleje silnikowe zawierają jedynie śladowe stężenie dioksyn.

Badania próbek świeżego oleju silnikowego, oleju zużytego po przebiegu 15000 km (próbki pozyskano z Rafinerii Nafty Jedlicze) wykazały obecność dioksyn w stężeniu na poziomie, jaki występuje w tłuszczu z nie skażonych produktów żywnościowych (np. olej po przebiegu 15 000 km zawiera ich tyle co tłuszcz rybny). Gdyby nawet przyjąć, że do wyhodowania broilera potrzeba ok. 2-3 kg paszy (na podstawie informacji z Instytutu Fizjologii Zwierząt UJ) zawierającej jako zanieczyszczenie przepracowany olej silnikowy zamiast oleju roślinnego, wówczas nastąpiłby niezauważalny wzrost zawartości dioksyn zarówno w paszy, jak i w mięsie kurcząt belgijskich.

Dla przykładu w tabeli 9 zestawiono wyniki analizy wykonanej przez autora, próbek zużytego oleju transformatorowego pochodzącego z polskich urządzeń energetycznych. Stężenie dioksyn wynosiło w tym przypadku 568 $\mu\text{g-TEQ/kg}$, czyli ponad 10 000-krotnie więcej niż w przepracowanym oleju silnikowym. Z danych zawartych w tabeli 9 wynika, że dominującymi w oleju transformatorowym były polichlorowane dibenzofurany, a wśród nich kongenery: 2,3,4,7,8-P₅CDF, 1,2,3,4,7,8-H₆CDF, 1,2,3,6,7,8-H₆CDF, 1,2,3,6,7,8- H₆CDF i 1,2,3,4,6,7,8-H₇CDF, podczas gdy w zużytym oleju silnikowym największe stężenie występowało dla polichlorowanych dibenzodioksyn, wśród których dominowały: OCDD i 1,2,3,4,6,7,8-H₇CDD. Stwierdzono też duży udział masowy OCDF. W przepracowanym oleju silnikowym wykazano również inną proporcję udziału masowego koplanarnych PCBs niż w oleju transformatorowym.

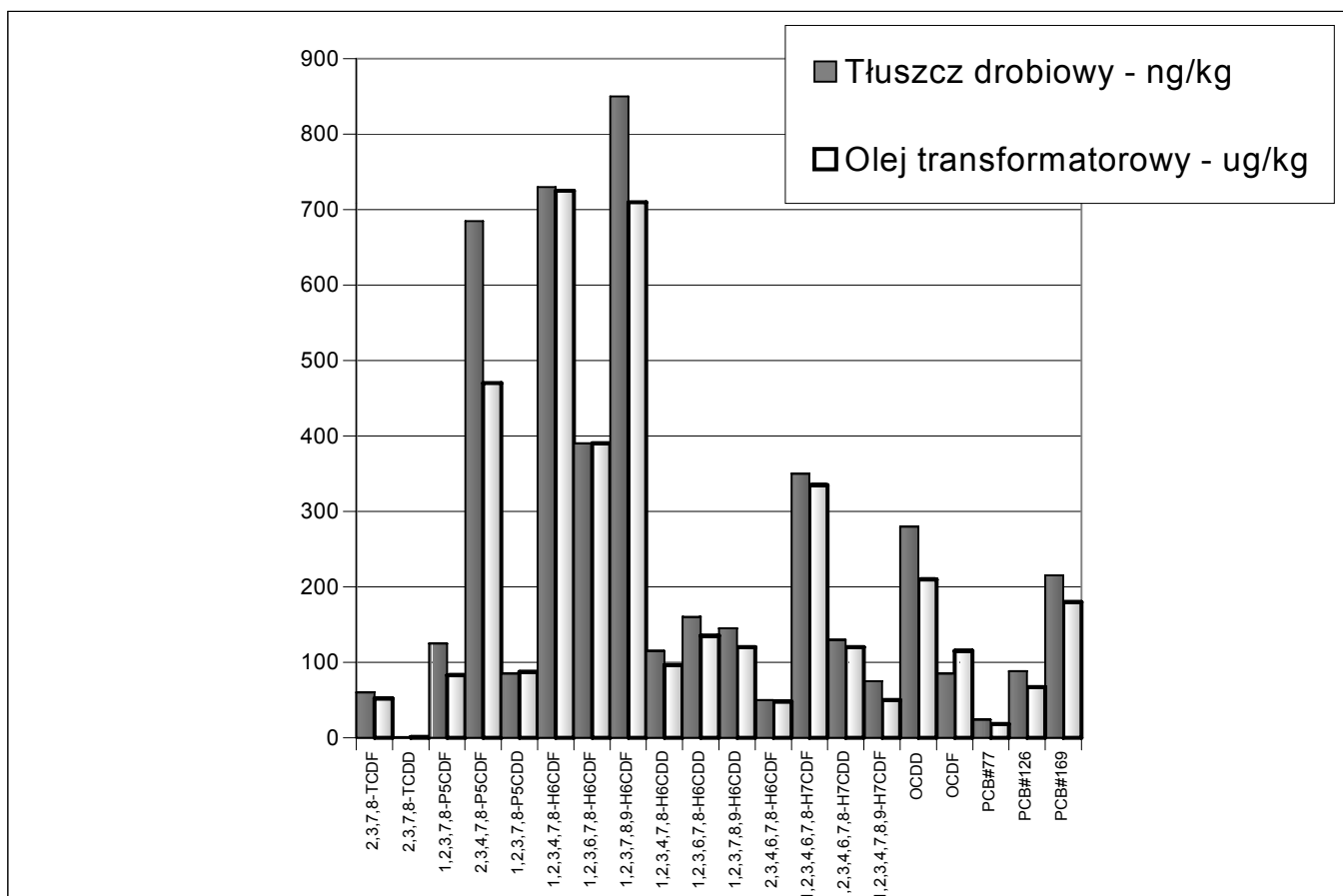
Ze względu na standardowy proces technologiczny wytwarzania olejów transformatorowych i zbliżone warunki pracy urządzeń energetycznych, stosunek masowy kongenerów w zużytych olejach transformatorowych stosowanych w różnych krajach jest podobny [9].

Tab. 9: Stężenie poszczególnych kongenerów PCDDs/PCDFs i koplanarnych PCBs w olejach silnikowych i zużytych olejach transformatorowych

Nr	Kongener	Świeży olej silnikowy ng/kg	Zużyty olej silnikowy przebieg 15 000 km ng/kg	Zużyty olej transformatorowy µg/kg
1	2,3,7,8-TCDF	0,1	2,5	52
2	2,3,7,8-TCDD	0,1	0,5	1
3	1,2,3,7,8-P ₅ CDF	1,0	4,0	83
4	2,3,4,7,8-P ₅ CDF	4,0	44,0	470
5	1,2,3,7,8-P ₅ CDD	0,5	1,0	87
6	1,2,3,4,7,8-H ₆ CDF	5,0	25,0	725
7	1,2,3,6,7,8-H ₆ CDF	3,0	8,0	390
8	1,2,3,7,8,9-H ₆ CDF	2,0	10,0	710
9	1,2,3,4,7,8-H ₆ CDD	0,2	5,0	96
10	1,2,3,6,7,8-H ₆ CDD	10,0	40,0	135
11	1,2,3,7,8,9-H ₆ CDD	10,0	28,0	120
12	2,3,4,6,7,8-H ₆ CDF	1,2	2,0	48
13	1,2,3,4,6,7,8-H ₇ CDF	20,0	125,0	335
14	1,2,3,4,6,7,8-H ₇ CDD	10,0	980,0	120
15	1,2,3,4,7,8,9-H ₇ CDF	5,0	40,0	50
16	OCDD	2,0	1450,0	210
17	OCDF	5,0	550,0	115
18	PCB#77	2,0	12,0	18
19	PCB#126	0,5	2,3	67
20	PCB#169	1,2	25,0	180
	Poziom toksyczności TEQ	6,2	47,9	568

Na rysunku 8 przedstawiono proporcje udziału poszczególnych kongenerów PCDDs, PCDFs i PCBs w oleju transformatorowym i tłuszczu drobiowym.

Wyniki wskazują jednoznacznie na źródło występowania wysokiego stężenia dioksyn w tłuszczu drobiowym pochodzenia belgijskiego z okresu tzw. afery belgijskiej, którym jest olej transformatorowy. W tym przypadku do wystąpienia stężenia 700 ng-TEQ/kg tłuszczu drobiowego wystarczyłoby spożycie przez kurczęta 1,2g oleju transformatorowego. Jest to masa oleju prawdopodobna do wystąpienia w 2 – 3 kg zanieczyszczonej paszy.



Rys. 8: Stężenie 17 kongenerów 2,3,7,8-chloropodstawionych PCDDs i PCDFs oraz koplanarnych PCBs w próbce tłuszczu drobiowego z mięsa kurcząt belgijskich z tzw. afery belgijskiej w lutym-marcu 1999 oraz w zużyтым oleju transformatorowym.

Stężenie dla tłuszczu drobiowego podano w nanogramach poszczególnych kongenerów w odniesieniu do 1 kg tłuszczu, natomiast dla oleju transformatorowego stężenia podano w mikrogramach w odniesieniu do 1 kg oleju [26]

W wyniku przeprowadzonych badań obliczono minimalną masę próbek niezbędną do oznaczenia PCDDs, PCDFs i PCBs. Wartości te pochodzą z analiz próbek żywności i innych próbek pochodzenia biologicznego w oparciu o technikę GC-MS/MS:

Mleko tłuste > 1% tł. : 0,5L

Mleko chude <1% tł. : 1L

Jogurty niskotłuszczowe : 1L

Mięsa tłuste : 5g

Mięsa chude : 10 – 20g

Jaja: 2-3 szt. (do analizy wykorzystywane jest żółtko)

Tłuszcze zwierzęce: 5 g

Tłuszcze roślinne: 10-20g

Ryby i oleje rybne: 1 – 2g

Produkty roślinne świeże: 500 – 1000g

Produkty roślinne suszone oraz produkty zbożowe 100 – 200g.

Wyniki oznaczania dioksyn podaje się w odniesieniu do masy tłuszczu zawartym w żywności. Dla próbek stałych i ciekłych o zawartości tłuszczu poniżej 0,5% wagowo zawartość PCDDs, PCDDs i PCBs podaje się w odniesieniu do rzeczywistej masy próbki (np. jogurty niskotłuszczowe).

Wymóg ten nie odnosi się jedynie do mleka. Dla mleka niskotłuszczowego wynik oznaczania dioksyn podaje się również w odniesieniu do masy tłuszczu. Masa próbki niskotłuszczowego mleka musi być zwiększona tak, aby do analizy pobrać minimum 10g tłuszczu.

W Unii Europejskiej od grudnia 2000 roku obowiązującej mają dopuszczalne zawartości dioksyn w tłuszczu niektórych produktów zwierzęcych, takich jak:

wieprzowina	2 pg-TEQ/g
drób	5 pg-TEQ/g
wołowina	6 pg-TEQ/g
mleko	3 pg-TEQ/g
jaja	5 pg-TEQ/g

Wyniki badania produktów żywnościowych pochodzenia polskiego wskazują, że większość produktów spełnia te wymagania. W niektórych jednak przypadkach stwierdzono niewielkie przekroczenia tych wartości. Odnosi się to głównie do próbek produktów nabiałowych.

Wskazywać to może na stosowanie niektórych pasz zawierających zwiększoną zawartość dioksyn lub produkcję nabiału z terenów skażonych ekologicznie.

Coraz częstsze przypadki zanieczyszczenia żywności produktami przemysłowymi oraz coraz większe zanieczyszczenie środowiska wskazuje na konieczność stworzenia programu kontroli jakości środków spożywczych również pod względem zawartości dioksyn. Wymaga to stworzenia programu badania dioksyn w żywności.

W Polsce do marca 2001 brak jest jakichkolwiek zaleceń i regulacji prawnych w tym zakresie.

Konkluzją niech będzie to, że tak małe ilości wysoko szkodliwych zanieczyszczeń chemicznych, jakimi są np. dioksyny powodują powstanie dużych problemów związanych z zanieczyszczeniem środowiska, ale również ekonomicznych, społecznych i gospodarczych.

Rozwiązanie tych problemów możliwe jest w oparciu o rozpoczęcie kosztownego programu badawczy prowadzonego w skali całego kraju.

10. Literatura

1. Liem A.K.D., Theelen R.M.C., *Dioxins: Chemical Analysis, Exposure and Risk Assessment*. National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands, ISBN 90-393-2012-8, 1997.
2. Chaffin C.L., Hutz R.J., Regulation of the aromatic hydrocarbon receptor (AHR) by in utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *J.Reprod.Dev.*, 43, 47-51, 1997.
3. Chaffin C.L., Heimler I., Rawlins R.G., Wimpee B.A., Sommer C., Hutz R.J. Estrogen receptor and aromatic hydrocarbon receptor in the primate ovary. *Endocrine*, 5, 315-321, 1996.
4. Tian Y., Ke S., Thomas T., Meeker R.J., Gallo M.A., Transcriptional suppression of estrogen receptor gene expression by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, 67(1), 17-24, 1998.
5. Heimler I., Trewin A.L., Chaffin C.L., Rawlins R.G., Hutz R.J., Modulation of ovarian follicle maturation and effects on apoptotic cell death in Holtzman rats exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in utero and lactationally. *Reprod. Toxicol.*, 12(1), 69-73, 1998.
6. Drenth H.J., Bouwman C.A., Seinen W., Van den Berg M. Effects of some persistent halogenated environmental contaminants on aromatase (CYP 19) activity in the human chlorocarcinoma cell line JEG-3. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 148, 50-55, 1998.
7. Firestone D., Determination of Dioxins and Furans in Foods and Biological Tissues: Review and Update. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 74, 375, 1991.
8. Beck H., Eckart K., Mathar W., Rühl Ch., Wittkowski R., Isomer specific determination of 2,3,7,8-TCDD and related compounds in human fat and food. *Biomed. Environ. Mass. Spectrom.*, 16, 161-165, 1988.
9. Masuda Y., Kuratsune M., Yoshimura H., Hori Y., Okumura M., *Yusho, a Human Disaster Caused by PCBs and Related Compounds*. Kyushu University Press, Fukuoka, ISBN 4-87378-431-X, 1996.
10. Liem A.K.D., Van Zorge J.A., *Dioxins and Related Compounds: Status and Regulatory Aspects in Selected Countries*. *Environ. Sci. & Pollut. Res.*, 2, 46-56, 1995.
11. Identification of Relevant Industrial Sources of Dioxins and Furans in Europe, Final Report of the European Commission, DG-XI, No: 43, Landesumweltamt Nordrhein-Westfalen, Essen, 1997.
12. Grochowalski A., Chrzęszcz R., Determination of PCDFs/PCDDs in ambient air from Cracow city, Poland. *Organohal. Comp.*, 21, 321-326, 1995.
13. Grochowalski A., PCDD and PCDF concentration in combustion gases and bottom ash from incineration of hospital wastes in Poland. *Chemosphere*, 37/9-12, 2279-2291, 1998.
14. Council Directive 94/67/EC of 16 December 1994 on the incineration of hazardous waste OJ No L365 p. 34, 31/12/1994.
15. Eduljee G., Dyke P., Cains P., PCDD/PCDF releases from various waste management strategies *Organohal. Comp.*, 24, 125-136, 1995.
16. European Standard EN-1948, ICS 13.040.40: 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. 1997.
17. Grochowalski A., PCDD/F Mass Concentration in Residues from Incineration of Medical Wastes in Poland, *Organohal. Comp.*, 27, 42-46, 1996.

18. Grochowalski A., Wybraniec S., Levels of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in flue gas and fly ash from coal combustion in a power plant. *Chem. Anal. (Warsaw)*, 41, 27-34, 1996.
19. Moche W., Thanner G., Ambient air concentration of dioxins in Austrian conurbations. *Organohal. Comp.*, 28, 286-290, 1996.
20. Stieglitz L., Bautz H., Zwick G., Will R., Schild D, Roemer J., On the dual role of metal catalysts in de-novo-synthesis of organochlorine compounds on fly ash from municipal waste incineration. *Organohal. Comp.*, 27, 5-10, 1996.
21. Wikström E., The role of Chlorine during Waste Combustion. Umeå, ISBN 91-7191-714-4, 1999.
22. Olie K., Schoonenboom M., Buijs A., Addink R., Formation studies of PCDDs and PCDFs using stable isotopes (¹⁸O and ¹³C). *Organohal. Comp.*, 23, 329-334, 1995.
23. Grochowalski A., Chrzęszcz R., PCDDs/Fs in suspended particulate matter in ambient air from Krakow City, Poland. *Organohal. Comp.*, 32, 76-80, 1997.
24. Rappe Ch., Sources of exposure, environmental concentrations and exposure assessment of PCDDs and PCDFs. *Chemosphere*, 27, 211-225, 1993.
25. Oehme M., Haugen J., Schlabach M., Ambient air levels of persistent organochlorines in spring 1992 at Spitsbergen and the Norwegian mainland: comparison with 1984 results and quality control measures. *Sci. Total Environ.*, 160/161, 139-152, 1995.
26. Grochowalski A. Badania nad oznaczaniem polichlorowanych dibenzodioskyn, dibenzofuranów i polichlorowanych bifenyli. Monografia nr 272, Zeszyty Naukowe Politechniki Krakowskiej, Kraków 2000, ISSN 0860-097X
27. Enan E., Moran F., Vandervoort C.A., Steward D.R., Overstreet J.W., Lasley B.L., Mechanism of toxic action of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in cultured human luteinized granulosa cells. *Toxicol.*, 10, 497-508, 1996.
28. Faqi E.T., Dalsenter P.R., Merker H.J., Chahoud I., Reproductive toxicity and tissue concentrations of low doses of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in male offspring rats exposed throughout pregnancy and lactation. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 150, 383-92, 1998.
29. Gregoraszczyk E.L., Steroid hormone release in cultures of pig corpus luteum and granulosa cells. Effect of LH, hCG, PRL and estradiol. *Endocr. Exp.*, 17, 59-68, 1983.
30. Grochowalski A., Chrzęszcz R., Piekło R., Gregoraszczyk E.L., Estrogenic and antiestrogenic effect of in vitro treatment of follicular cells with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Chemosphere*, 40, 2000, in press.
31. Schechter A., The Binghamton State Office Building PCB, dioxin and dibenzofuran electrical transformer incident: 1981-1986. *Chemosphere*, 16, 791-802, 1986.
32. Sweeney M.H., Calvert G.M., Egeland G.A., Fingerhut M.A., Halperin W.E., Piacitelli L.A., Review and update of the results of the NIOSH medical study of workers exposed to chemicals contaminated with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzodioxin. *Tarato-genesis, Carcinogenesis and Mutagenesis*, 17, 241-247, 1998.
33. Rappe C., Buser H.R., Dodet B., O'Neill I.K., Environmental Carcinogens, Methods of Analysis and Exposure Measurement. Vol.11 - Polychlorinated dioxins and dibenzofurans. Int. Agency for Research on Cancer, Lyon IARC Scientific Publications no: 108, 1991.
34. Byoung E., Min K., Kyuoung T., Seong K., Separation of 2,3,7,8-substituted polychlorodibenzo-p-dioxins and polychlorodibenzofurans on a new mixed stationary phase. *Organohal. Comp.*, 40, 165-168 1999.
35. Grochowalski A., Wiater I., Carbon column as a clean-up method for oily samples purification for the determination of polychlorinated dibenzodioxins and dibenzofurans. *Chem. Anal. (Warsaw)*, 43, 399-408, 1998.

36. Bavel van B., Andersson P., Rappe Ch., Tysklind M., Takeda N., Results from the 4th round of the International Study on PCDDs, PCDFs, mono-ortho and planar PCBs. *Organohal. Comp.*, 40, 289-300, 1999.
37. Erickson M.D., Analytical chemistry of PCBs. Lewis Publishers, New York, ISBN 0-87371-923-9, 1997.
38. Korfmacher W., Rushing L., Nestorick., Thompson H., Mitchum R., Kominsky J., Analysis of dust and surface swab for OCDD and heptachlorodibenzodioxins by fused capillary GC and EC detection. *J. High Res. Chromat. Commun.*, 8, 12-19, 1984.
39. Grochowalski A, Górski L., Śliwka I, Lasa J., Gas chromatographic determination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins in wood preservatives. *J.Chromatogr.*, 502, 160-166, 1990.
40. Grochowalski A., Chrzęszcz R. 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
41. Grochowalski A. Pro and Contra using EN-1948 for dioxin measuring in stack gases from co-incineration of hazardous wastes in cement kilns and power plants in Poland. *VDI-Berichte: Measuring Dioxin Emission, Düsseldorf 2001*, 1585, 61-68. ISBN 3-18-091585-4
42. Grochowalski A. – Co-author UE: 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, str. B29-B41.
43. Grochowalski A. Badania nad oznaczaniem dioksyn w środowisku. *Normalizacja* 4/2002 str. 3 – 9. ISSN 0029-179X
44. Augustowska K., Milewicz T. Grochowalski A., Chrzęszcz R., Gregoraszczuk E.L. Different Effects of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and Natural Mixture of PCDDs/PCDFs on Human Placental Aromatase Activity. *Organohalogen Compounds* 55, 473-476, 2002 ISBN 0-9703315-0-9
45. Gregoraszczuk E.L. Grochowalski A., Chrzęszcz R Effect of Single and Repeated in Vitro Exposure of Ovarian Follicles to PCB 126 and PCB 153. *Organohalogen Compounds* 55, 367-370, 2002 ISBN 0-9703315-0-9