

MIECZYŚLAW SOKOŁOWSKI

DIOKSYNY – WŁAŚCIWOŚCI, ŹRÓDŁA I PROBLEMY ANALIZY

DIOXINS – PROPERTIES, OCCURRENCE AND PROBLEMS OF ANALYSIS

Wojskowy Instytut Chemii i Radiometrii  
00-910 Warszawa-Rembertów

Kierownik Laboratorium: dr inż. M. Sokołowski

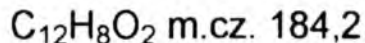
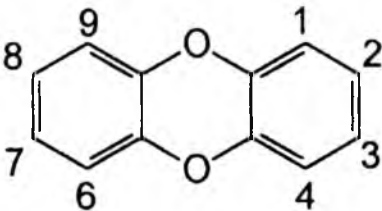
*Omówiono polichlorowane dibenzodioksyny (PCDDs) oraz pokrewne im związki. Wskazano na główne źródła ich powstawania oraz omówiono problemy analityczne związane z identyfikacją i oznaczaniem tych związków.*

WSTĘP

Na przestrzeni ostatnich 15–20 lat do wykazu ekologicznych zagrożeń cywilizacji doszło jeszcze jedno: możliwość globalnego zatrucia środowiska dioksyną i jej pochodnymi. Dioksyna i podobne jej związki to olbrzymia grupa obcych środowisku związków chemicznych (ksenobiotyków) dostających się do środowiska wskutek działalności produkcyjnej człowieka lub z odpadami przemysłowymi. W odróżnieniu od wielu innych ksenobiotyków, np. chloroorganicznych pestycydów, dioksyny nigdy nie były produktem celowej działalności człowieka od co najmniej 100 lat. Z powodu występowania i powodowania objawów zatrucia w mikroilościach jej obecność umykała uwadze człowieka. I choć zespół objawów towarzyszących zatruciu, noszący nazwę chloracne, znany jest już od 1899 r., a masowe przypadki zatruc datują się od lat 30-tych (rozwój produkcji i zastosowania chlorofenoli), to dopiero w 1957 zidentyfikowano odpowiedzialny za nie związek chemiczny – 2,3,7,8- tetrachlorodibenzo-p-dioksynę.

BUDOWA, WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE POLICHLOROWANYCH DIBENZODIOKSYN

Wyjściowym związkiem będącym prekursorem chlorowanych dioksyn jest dibenzo-/b, e/(1,4) – dioksyna o poniższym wzorze strukturalnym:



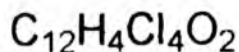
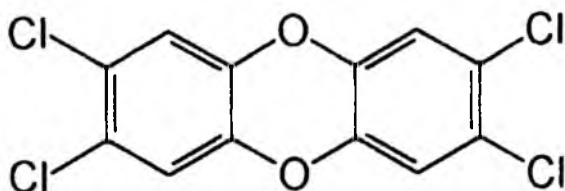
Jest ona ciałem stałym tworzącym bezbarwne kryształy o temperaturze topnienia 122 – 123° C [1]. Możliwe jest wprowadzenie do cząsteczki dibenzodioksyny maksymalnie do ośmiu atomów chloru i otrzymanie polichlorowanych dibenzodioksyn (PCDDs). Może przy tym powstać 75 izomerów położeniowych chlorowanych dioksyn podstawionych od jednego do ośmiu atomami chloru, zgodnie z numeracją podaną powyżej.

Całkowite zchlorowanie prowadzi do powstania oktachlorodibenzodioksyny (OCDD) o masie cząsteczkowej 460. Chlorowane dioksyny są niskolotnymi ciałami stałymi, bezbarwnymi w stanie czystym, o temperaturze topnienia od 88° C (2-chlorodibenzodioksyna) do 330° C (oktachlorodibenzodioksyna). Ich rozpuszczalność w rozpuszczalnikach organicznych jest ograniczona, bardzo słabo rozpuszczają się w wodzie. Są bardzo odporne na działanie czynników fizyko-chemicznych, wytrzymują ogrzewanie nawet do 800° C w obecności tlenu. Jednym ze znanych degradujących je czynników jest promieniowanie ultrafioletowe, działające na dioksyny rozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych.

Każdy z izomerów PCDDs opatrzony jest indywidualnym numerem identyfikacyjnym. Wykaz tych numerów zamieszczony został w szeregu publikacji [2, 3].

#### 2,3,7,8-TETRACHLORODIBENZODIOKSYNA

Najbardziej toksycznym izomerem PCDDs, a więc najważniejszym z punktu widzenia ochrony środowiska, a tym samym i analityki jest 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo/b,e/ – (1, 4,) dioksyna (TCDD), o poniższym wzorze:



CASH 1746-81-6

TCDD jest ciałem stałym krystalizującym w postaci bezbarwnych igieł o temperaturze topnienia 305–306° C. Prężność par TCDD jest bardzo niska i wynosi  $4,5 \times 10^6$  Pa w 25° C [4].

TCDD charakteryzuje się niezwykle wysoką toksycznością nawet w porównaniu do innych związków uważanych powszechnie za bardzo toksyczne [5, 6]:

Toksyczność innych izomerów PCDDs jest niższa. Uważa się, że do bardzo toksycznych należą generalnie penta i heksachlorodibenzodioksyny podstawione chlorem w pozycjach 2,3,7,8. W tabeli II zamieszczono wartości toksyczności względnych wyżej zchlorowanych 2,3,7,8 podstawionych PCDDs.

#### BUDOWA I WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE POLICHLOROWANYCH DIBENZOFURANÓW

Wyjściowym związkiem będącym prekursorem chlorowanych furanów jest dibenzofuran o poniższym wzorze strukturalnym:

Tabela I. Toksyczność wybranych związków dla świnki morskiej

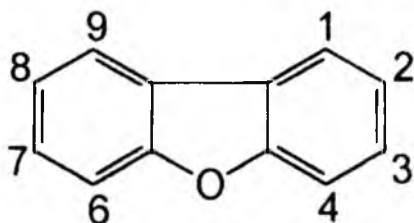
Rodzaj trucizny	toksyczność
Toksyna botulinowa A	$3 \times 10^{-5}$
Toksyna tężcowa	$1 \times 10^{-4}$
Toksyna błonicza	0,3
TCDD	1
Bufotoxin	390
Kurrara	500
Strychnina	500
Morfina	4,000
Cyjanek potasowy	10,000
Fenylobarbital	100,000

Tabela II. Toksyczność względna 2,3,7,8 podstawionych PSDDs [7]

Izomer	Toksyczność względna
2,3,7,8 – tetra CDD	1
1,2,3,7,8 – penta CDD	0,1
1,2,3,4,7,8 – heksa CDD	0,1
1,2,3,6,7,8 – heksa CDD	0,1
1,2,3,7,8,9 – heksa CDD	0,1
1,2,3,4,6,7,8 – hepta CDD	0,01
1,2,3,4,6,7,8,9 – okta CDD	0,001

Wprowadzenie do cząsteczki furanu chloru prowadzi do powstania 135 izomerów położeniowych polichlorowanych furanów (PCDFs) podstawionych od jednego do ośmiu atomami chloru.

Całkowite zchlorowanie prowadzi do powstania oktachlorodibenzofuranu o masie cząsteczkowej 444. Chlorowane furany są niskolotnymi ciałami stałymi, bezbarwnymi w stanie czystym, o właściwościach fizycznych, chemicznych i toksycznych zbliżonych



do PCDDs. Każdy z izomerów PCDFs opatrzony został, podobnie jak PCDDs, swoim indywidualnym numerem identyfikacyjnym.

#### BUDOWA, WŁAŚCIWOŚCI FIZYKOCHEMICZNE POLIBROMOWANYCH DIBENZODIOKSYN I DIBENZOFURANÓW

W obecności bromu przy zaistnieniu odpowiednich warunków dochodzi do podstawienia atomów bromu do cząstek dioksyny lub furanu i powstania odpowiednio polibromowanych dibenzodioksyn (PBDDs) i polibromowanych dibenzofuranów (PBDFs).

Podobnie jak w przypadku PCDD/F istnieje 75 izomerów PBDDs i 135 izomerów PBDF. Całkowite zbromowanie prowadzi do oktabromodibenzodioksyny (OBDD) o masie cząsteczkowej 916 lub oktabromodibenzofuranu (OBDF) o masie cząsteczkowej 900.

Przy jednoczesnej obecności chloru i bromu dochodzi do powstania mieszanych izomerów polihalogenodibenzodioksyn (PHaDDs) i dibenzofuranów (PHaDFs). Właściwości tych związków zbliżone są do właściwości PCDDs. Są one związkami o niskiej lotności i dużej odporności na czynniki degradujące. Podobnie jak w przypadku PCDDs najbardziej toksycznymi izomerami są tetrahalogeno podstawione w pozycji 2,3,7,8 oraz penta- i heksahalogenopochodne także podstawione w tych pozycjach. Liczba możliwych izomerów mieszanych halogenopochodnych sięga ponad 5000, co ogromnie komplikuje ich badanie i oznaczanie. Zestawienie ilości możliwych izomerów polihalogenodibenzodioksyn i dibenzofuranów zamieszczono w tabelach III i IV.

Tabela III. Izomery dibenzodioksyn

m+n	Ilość izomerów					
	PCDD	m=0	PBDD	n=0	PCDF	m=0
1	2	2	4	4	0	0
2	10	10	16	16	14	28
3	14	14	28	28	84	168
4	22	22	38	38	254	496
5	14	14	28	28	420	840
6	10	10	16	16	452	880
7	2	2	4	4	252	504
8	1	1	1	1	74	134

• – ilość izomerów mieszanych (z jednocześnie obecnym chlorem i bromem)

#### ŹRÓDŁA PCDDs I PCDFs W ŚRODOWISKU

PCDDs i PCDFs powstają jako niepożądany produkt uboczny w czasie niektórych procesów przemysłowych, procesów spalania, awarii itp. Generalnie pierwotne źródła powstawania dioksyn podzielić można na cztery rodzaje:

Tabela IV. Izomery dibenzofuranów

Stopień, podstawienia m + n	Ilość grup izomerów	Ilość izomerów		
		PHaDD	PHaDF	PHaDD+PHaDF
1 (mono-)	2	4	8	12
2 (di-)	3	34	60	94
3 (tri-)	4	112	224	336
4 (tetra-)	5	298	572	870
5 (penta-)	6	448	896	1344
6 (hexa-)	7	472	912	1384
7 (hepta-)	8	256	512	768
8 (okta-)	9	76	136	212
Ogółem	44	1700	3320	5020

1. reakcje chemiczne powodujące zanieczyszczenie pestycydów i technicznych produktów takich jak chlorofenole, herbicydy będące pochodnymi kwasów chlorofenoksyoctowych oraz PCBs. Chociaż produkcja wielu z tych związków jest zabroniona lub poddana specjalnej kontroli, to w krajach zachodnich w latach 1960–1970 były one szeroko używane i wnoszą do dziś duży udział w skażenie środowiska. Do ww. procesów chemicznych zaliczyć także należy procesy bielenia pulpy celulozowej chlorem oraz produkcję chloru gazowego przy użyciu elektrod węglowych.

2. reakcje termiczne. Wiele z takich reakcji uważa się za ważne źródło powstawania dioksyn choć szczegóły procesu tworzenia PCDD/PCDF nie są zupełnie jasne. Do najważniejszych należą: spalanie różnego rodzaju odpadów (komunalnych, szpitalnych, przemysłowych), produkcja stali i żelaza, przetwórstwo złomu metalowego, produkcja miedzi, odlewnictwo metali, ruch samochodowy (spalanie benzyn i ścieranie opon), spalanie węgla i drewna.

3. reakcje fotochemiczne. Prowadzić one mogą nie tylko do rozkładu PCDD/PCDF ale także do ich syntezy szczególnie przy emisji produktów spalania wprost do atmosfery gdzie w procesie długodystansowego przemieszczania podlegają działaniu promieniowania UV.

4. reakcje enzymatyczne. Według najnowszych badań [8] proces tworzenia PCDD/PCDF z chlorofenyli pod wpływem peroksydaz może zachodzić w warunkach naturalnych, a także szlamach kanalizacyjnych.

Największy udział w emisji dioksyn do środowiska związany jest z procesami termicznymi. Źródłem PCDDs/PBDDs i PCDFs/PBDFs mogą być wszelkie termiczne reakcje z udziałem chlorowanych aromatycznych prekursorów np. procesy spalania organicznych materiałów w obecności źródła chlorowca, zwłaszcza w warunkach deficytu tlenowego. Dotyczy to w szczególności spalania odpadów komunalnych, szpitalnych, pożarów transformatorów zawierających olej transformatorowy z dodatkiem polichlorowanych bifenyli, itp. Porównanie wielkości emisji PCDD/PCDF z głównych źródeł w Anglii przedstawiono w tabeli V [9].

Tabela V. Emisja PCDD/PCDF w Anglii

Źródło	Roczna emisja (kg)
Spalarnie odpadów komunalnych	10,9
Spalarnie odpadów chemicznych	kilka gramów
Spalarnie odpadów szpitalnych	1,7
Domowe paleniska węglowe	5,1
Przemysłowe spalanie węgla	7,7
Kotły energetyczne	1,3
Spalanie paliw etylizowanych	0,7
Uwalnianie z produktów zawierających chlorofenole	1,7

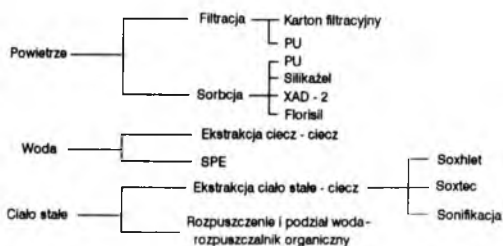
### PROBLEMY ANALIZY DIOKSYN

Problem identyfikacji poszczególnych izomerów PCDDs i PCDFs a zwłaszcza ilościowe oznaczenie najbardziej toksycznych izomerów 2,3,7,8 TCDD i TCDF jest jednym z najtrudniejszych problemów analitycznych. Spowodowane jest to koniecznością wykrywania określonego izomeru, trudno rozdzielającego się od innych, na poziomie ppb lub ppt w obecności dużej ilości zanieczyszczeń pochodzących z matrycy próbki. W analizie stosuje się wyłącznie technikę wysokorozdzielczej kapilarnej chromatografii gazowej z detekcją wychwytu elektronów (HRGC-ECD), detekcją nisko-(HRGC-LRMS) lub wysokorozdzielczą spektrometrią masową (HRGC-HRMS). Ukazało się szereg opracowań będących przeglądem metod wykrywania i oznaczania PCDDs, PCDFs oraz innych chloroorganicznych zanieczyszczeń środowiska [10, 11].

Przykładowy schemat procedury analitycznej (zgodnie z EPA 613, 1613,8280, T09) przedstawiono poniżej:

- dodatek wzorców znaczonych izotopowo  $^{13}\text{C}$  lub  $^{37}\text{Cl}$
- izolacja analitu z matrycy
- oczyszczanie i zateżnianie ekstraktu
- screening HRGC-ECD
- analiza końcowa HRGC/MS

Analiza badanego materiału na obecność PCDD rozpoczyna się od wydzielenia organicznych związków z materiału matrycy. W przypadku gdy badanym materiałem jest ciecz lub ciało stałe, jest to z reguły proces ekstrakcji rozpuszczalnikiem organicznym lub mieszaniną rozpuszczalników. Przy analizie PCDD są to najczęściej heksan, cykloheksan, chlorek metylu, aceton, benzen, toluen lub ich mieszaniny. Sposoby izolacji dioksyn z próbki w zależności od rodzaju matrycy przedstawiono na poniższym schemacie:



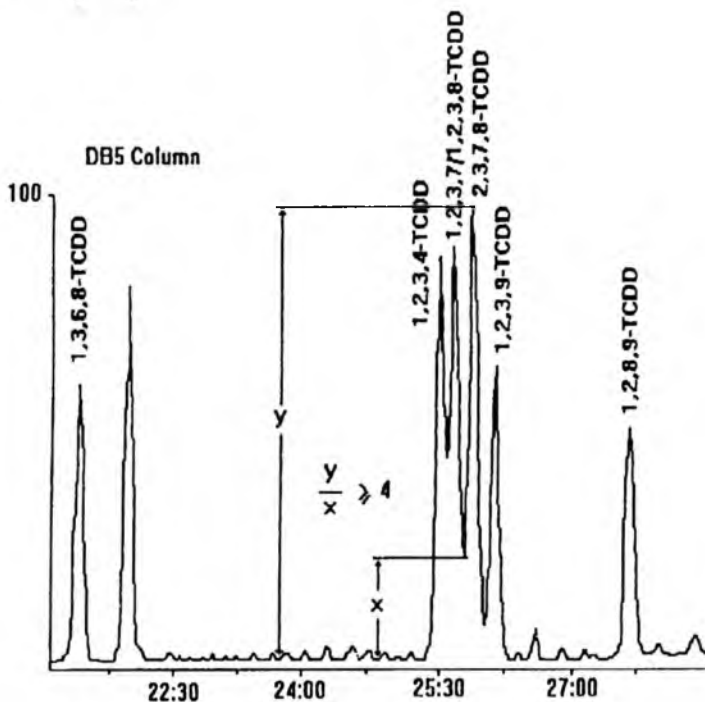
Otrzymany ekstrakt zwykle zateża się i poddaje oczyszczeniu w celu usunięcia związków towarzyszących PCDD, wyizolowanych z matrycy. Najczęściej stosuje się oczyszczanie techniką kolumnowej chromatografii cieczowej na kolumnach z żelom krzemionkowym, tlenkiem glinu, węglem aktywnym, florisilem. Oczyszczanie i zateżanie ekstraktu przeprowadza się w następującej kolejności:

- zateżanie i wymiana rozpuszczalnika na heksan
- wytrząsanie ze stężonym kwasem siarkowym
- wytrząsanie z 20% wodorotlenkiem potasowym
- zateżanie
- cieczowa chromatografia kolumnowa na żelu krzemionkowym
- zateżanie
- cieczowa chromatografia kolumnowa na florisilu
- HPLC
- cieczowa chromatografia kolumnowa na węglu aktywnym

Ekstrakt po oczyszczeniu i zateżeniu poddaje się wstępnej analizie na kolumnie kapilarnej z detektorem ECD (tzw. „screening”).

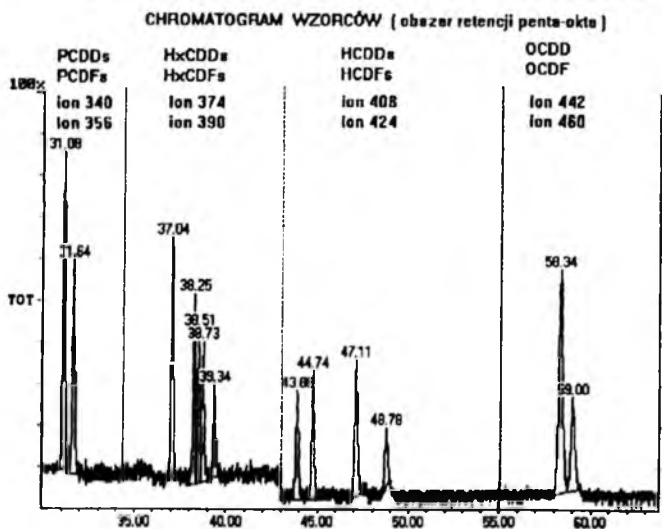
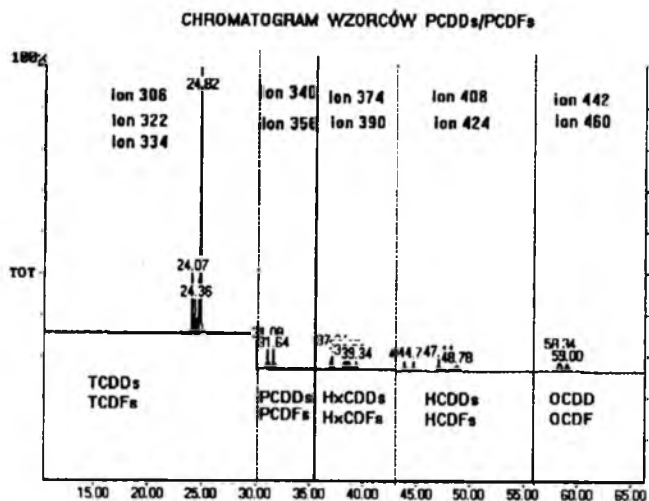
Spotyka się różne rodzaje kolumn stosowanych w tej analizie np.: Sp-2330, OV-1, SP-2331, SP-2340, SP-2100, Sil 88, DB-5, ciekłokrystaliczne fazy stacjonarne. Wstępną analizę najlepiej jest przeprowadzić w układzie HRGC-ECD z dwoma kolumnami kapilarnymi o różnej polarności np. SE-54 i OV-1701 i dwoma detektorami wychwytu elektronów.

Sprawność używanej kolumny chromatograficznej zapewnić powinna dostateczny rozdział 2,3,7,8-TCDD od blisko eluujących się innych izomerów tetrachloro jak pokazano na poniższym rysunku:



Po przeprowadzeniu wstępnej analizy próbkę poddaje się analizie w układzie HRGC/LRMS lub HRGC/HRMS. Oznaczeniu podlega, zgodnie z normą EPA 1613, jedynie 17 izomerów 2,3,7,8 podstawionych PCDDs i PCDFs. Stwierdzono bowiem, że izomery o takim podstawieniu odznaczają się największą toksycznością. W analizie tej dokonuje się identyfikacji oraz oznaczenia ilościowego poszczególnych izomerów. Chromatogram mieszaniny izomerów PCDD/PCDF charakteryzuje się występowaniem obszarów retencji, w których pojawiają się izomery o tej samej liczbie chloru (lub bromu) w cząsteczce. Monitoring kolejnych izomerów prowadzi się po charakterystycznych jonach w opcji SIM. Pozwala to na wyróżnienie tylko tych pików, które są związane z konkretnymi analitami.

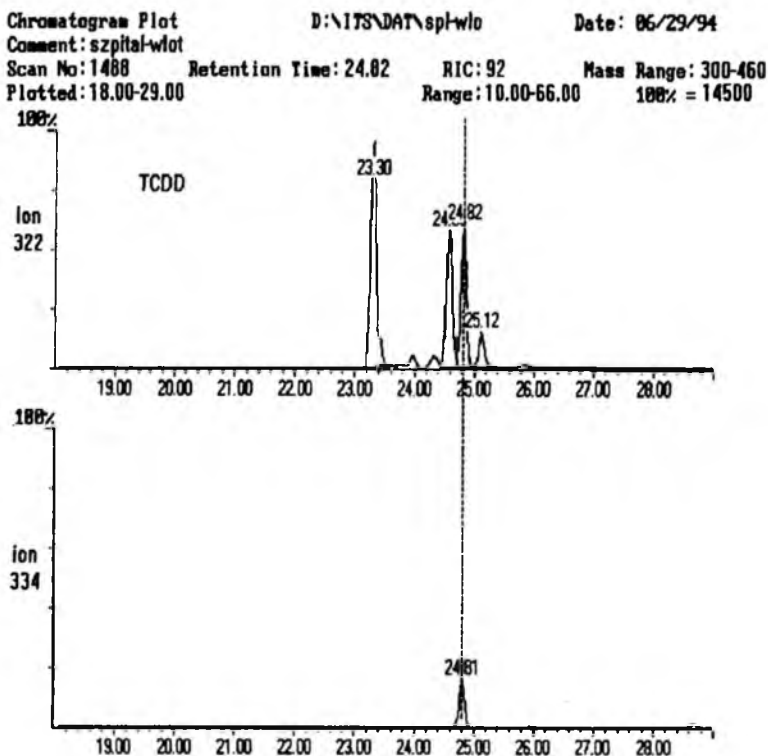
Poniżej przedstawiono przykładowy chromatogram wzorców PCDDs/PCDFs z zaznaczonymi obszarami retencji i charakterystycznymi jonami dla kolejnych, wyżej podstawionych izomerów.





Przed ekstrakcją próbki wprowadza się do niej znaczone izotopowo izomery PCDD i PCDF, co ma na celu uniknięcie błędów przy ocenie ilościowej zawartości dioksyn oraz pozwala na identyfikację pików konkretnego izomeru na chromatogramie mieszaniny. Czasy retencji izomerów  $^{13}\text{C}$  są bowiem takie same jak izomerów  $^{12}\text{C}$ . Różnica jest tylko w masie cząsteczkowej izomerów izotopowo znaczonej np.: 334 dla TCDD $^{13}\text{C}$  i 322 dla TCDD $^{12}\text{C}$ .

Przykład chromatogramu ze zidentyfikowanym, na podstawie izotopowo znaczonego izomeru 2,3,7,8 TCDD, pikiem 2,3,7,8 TCDD.



Dla izomerów okta-CDF nie stosuje się analogu znaczonego izotopowo, gdyż w układzie HRMS daje on taką wartość m/z, która może nakładać się z izotopem  $^{12}\text{C}$  okta-CDD. Może to uniemożliwić bądź utrudnić identyfikację i ilościowe oznaczenie okta-CDD. Dlatego też znaczonego analog nie jest dodawany jako standard kalibracyjny, a niezaczonego okta-CDD. Z kolei znaczonego 1,2,3,7,8,9 HxCDD jest używany jako standard wewnętrzny (nie dodawany przed ekstrakcją lecz w czasie analizy) i nie może być użyty do ilościowej oceny zawartości izomeru niezaczonego w próbce. Dlatego też jego zawartość wyznacza się ilościowo przez określenie średniej odpowiedzi detektora dla znaczonej analogów innych halogenopodstawionych 2,3,7,8,HxCDDs, a mianowicie 1,2,3,4,7,8-HxCDD $^{13}\text{C}$  i 1,2,3,6,7,8-HxCDD $^{13}\text{C}$ . W rezultacie zawartość niezaczonego 1,2,3,6,7,8-HxCDD w próbce jest korygowane do średniego odzysku pozostałych dwu HxCDDs.

## PODSUMOWANIE

Zawarte w pracy informacje dotyczące problematyki polichlorowanych dibenzodioskyn i dibenzofuranów jedynie w sposób skrótowy sygnalizują ważkość i złożoność zagadnień związanych z zanieczyszczeniami środowiska będącymi rezultatem gospodarki odpadami, także szpitalnymi. Przykład Wielkiej Brytanii świadczy o istotnym wkładzie procesu spalania odpadów, także szpitalnych w ogólną emisję dioksyn. Zaprezentowany schematyczny zarys przebiegu analizy próbek na zawartość dioksyn części jedynie obrazuje skalę trudności tego typu analiz i jest uzasadnieniem faktu, iż w chwili obecnej jedynie kilka laboratoriów w kraju zajmuje się analizą tych związków.

M. Sokołowski

## DIOXINS – PROPERTIES, OCCURRENCE AND PROBLEMS OF ANALYSIS

## Summary

Polychlorinated dibenzodioxins (PCDDs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) as well as similar compounds are described and characterized as a group of environmental pollutants which have been arousing interest only since a short time. The toxicity of the compounds in this group of xenobiotics is compared with that of other compounds generally regarded as highly toxic. The main sources of origin of PCDDs/PCDFs are found in nearly all fields of the technological actions of man. Problems of detection and identification of these compounds extremely difficult in analysis are discussed. These problems are a challenge to even specialistic laboratories.

## PIŚMIENNICTWO

1. IARC Monographs, vol. 15, 1977. – 2. *Karhonen I. (i in.):* J. of Chromatogr., 1989, 477, s. 327–336. – 3. *Ryan J. (i in.):* J. of Chromatogr. 1991, 54, s. 131–183. – 4. *Kuehl D. (i in.):* Chemosphere, 1986, 15(9–12), s. 1325–1332. – 5. Schwenk M.: „Wie gefaehrlich ist DIOXIN wirklich” Bild der Wissenschaft 1984, no. 11, s. 64. – 6. Schlatter Ch.: „Fakten zur allgemeinen Toxikologie und zur Kanzerogenitaet von 2,3,7,8-TCDD als Grundlage einer Risikoermitt.”. – 7. *Hagenmaier H. (i in.):* VDI Berichte, 1987,643, s. 61–89. – 8. *Rappe C.:* „Sources of Exposure, Environmental Levels and Exposure Assessment of PCDDs and PCBFs”, Materiały DIOXIN'92, pp. 5–8. – 9. *Harrad S., Sewart A.P., Jones K.C.:* „PCDD/PCDFs in the British Environment: Sinks, Sources and Temporal trends”, Materiały DIOXIN'92, pp. 89–92. – 10. *Fedorov L. (i in.):* Uspechi Chim., 1990, 59, s. 1818–1866.
11. *Prokofev A.:* Uspechi Chim., 1990, 59, s. 1799–1817.

Otrzymano: 1995.09.20