

# Analityka wybranych związków organicznych

PCDD/F - Dioksyny

PCB – polichlorodifenyle

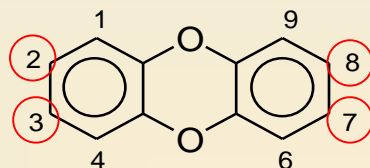
PAH (WWA)

wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne

# Dioksyny - polichlorowane pochodne dioksyny lub furanu

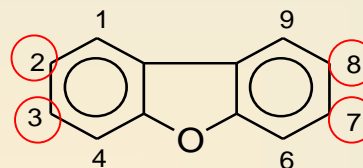
## PCDDs

Polychlorinated dibenzodioxins



## PCDFs

Polychlorinated dibenzofurans

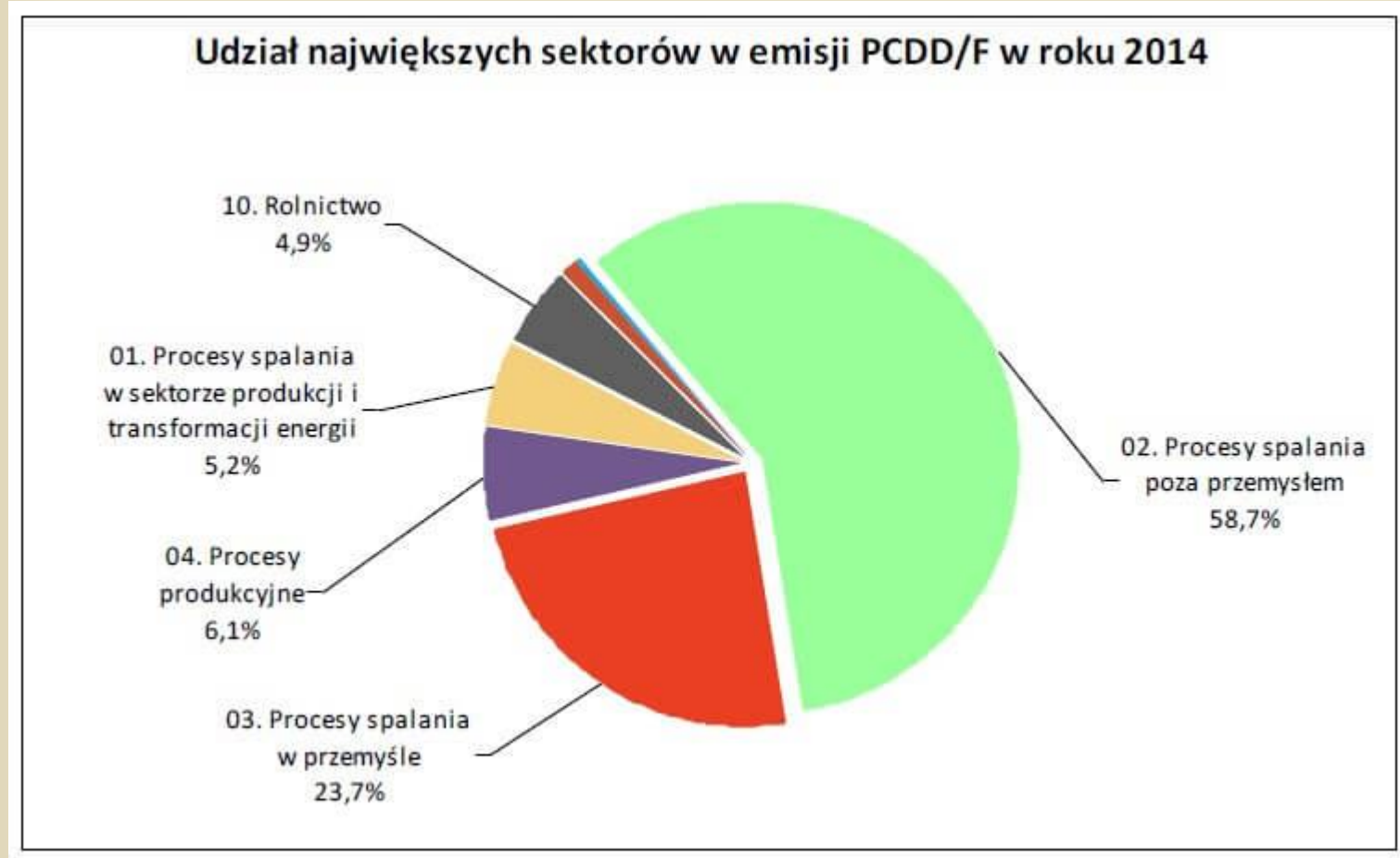


W celu określenia potencjalnej toksyczności badanych próbek pod względem zawartości dioksyn w rutynowo prowadzonych analizach chemicznych standardem wymagane jest oznaczenie **siedemnastu najbardziej toksycznych kongenerów PCDDs/PCDFs**. Spośród 210 kongenerów PCDDs i PCDFs oznacza się tylko te, które posiadają atomy chloru w pozycjach oznaczonych jako 2,3,7 i 8.



Zatrucie dioksynami - Wiktor Juszczenko - KGB

# Źródła dioksyn w środowisku



<https://powietrze.malopolska.pl/baza/substancje-z-grupy-dioksyn-zrodla-pochodzenia-i-wplyw-na-zdrowie/>

**Dioksyny nigdy nie były produktem – powstają „przy okazji” ...**

Powodują zaburzenie gospodarki hormonalnej, wpływ na rozwój płodu.

# Skazenie srodowiska dioksynami – wojna wietnamska



<http://www.youtube.com/watch?v=4CuKGq-IE8M>

# Przykładowa procedura oznaczania dioksyn (laboratorium komercyjne)

## SCIENTIFIC ANALYSIS LABORATORIES LIMITED

### Method Statement for the Determination of Dioxins (PCDD/Fs)

Controlled Document dioxins.html Version 1.9 Last Modified 07/19/13

#### Principle

An aliquot of the sample is spiked with **isotopically labelled internal standards** and then the semi-volatile organic compounds are extracted into a solvent. These extracts are then concentrated by evaporation and analysed by **High Resolution Gas Chromatography-High Resolution Mass Spectrometry (HRGC/HRMS)**. Deuterated internal standards are added to all test samples, spikes and blanks before analysis. The quantitative results are then corrected for the recovery of these standards.

#### Solid samples

Including (but not restricted to): soil, ash, feedstuffs, stack emission, ambient air emission samples

0.05 to 20 g sample aliquots are taken (matrix dependent), spiked with labelled internal standards, then Soxhlet extracted with appropriate organic solvent. The extract is concentrated and subjected to "Combination / Florisil Column" purification. The purified extract is concentrated to 10-30  $\mu$ l, spiked with labelled recovery standards and analysed by HRGC / HRMS.

#### Liquid samples

0.2 to 1 l sample aliquots are taken, spiked with labelled **internal standards** and subjected to liquid-liquid extraction with organic solvent. The extract is concentrated and subjected to "Combination/Florisil Column" purification. The purified extract is concentrated to 10-30  $\mu$ l, spiked with labelled recovery standards and analysed by HRGC / HRMS.

#### Substances determined

The 17 toxic 2,3,7,8 chlorinated dibenzo dioxins and dibenzo furans and the total of all other congeners

#### Range of application

Solid samples 0.20 to 900 ng / kg

Aqueous samples 0.05 to 200 ng / l

Emission Samples 0.005 to 20 ng

#### Limit of detection

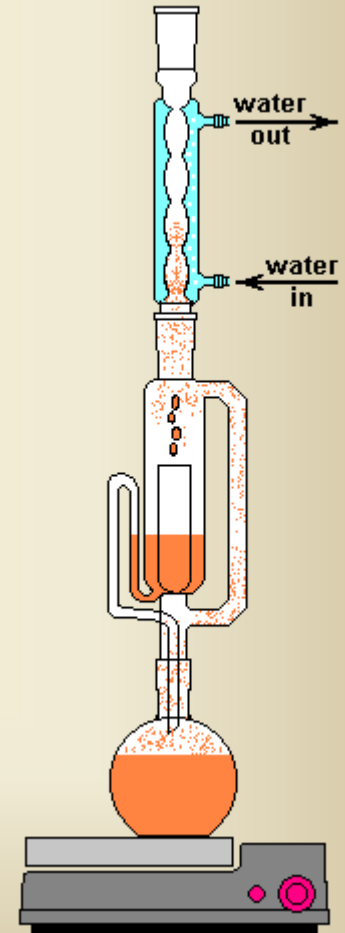
Solid samples 0.2 ng / kg (0.2 ppt) for 10 g sample

Stack emission 3 - 5 pg in whole sample, 0.6 - 1.0 pg / m<sup>3</sup> for 5 m<sup>3</sup>

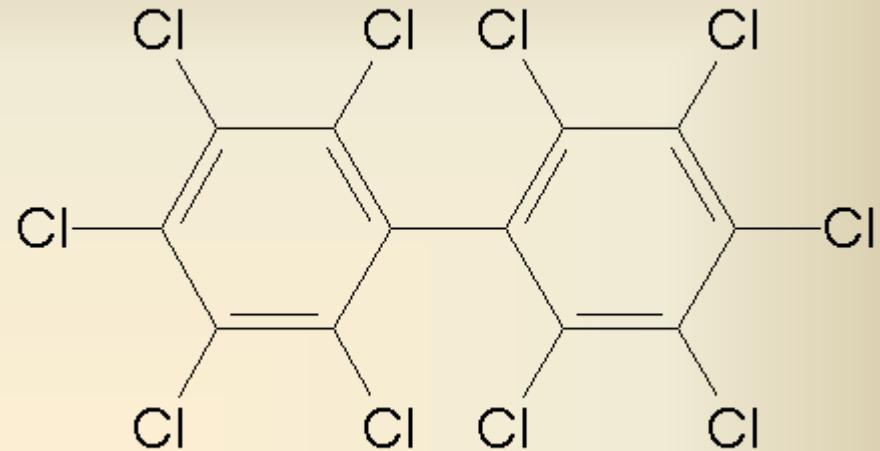
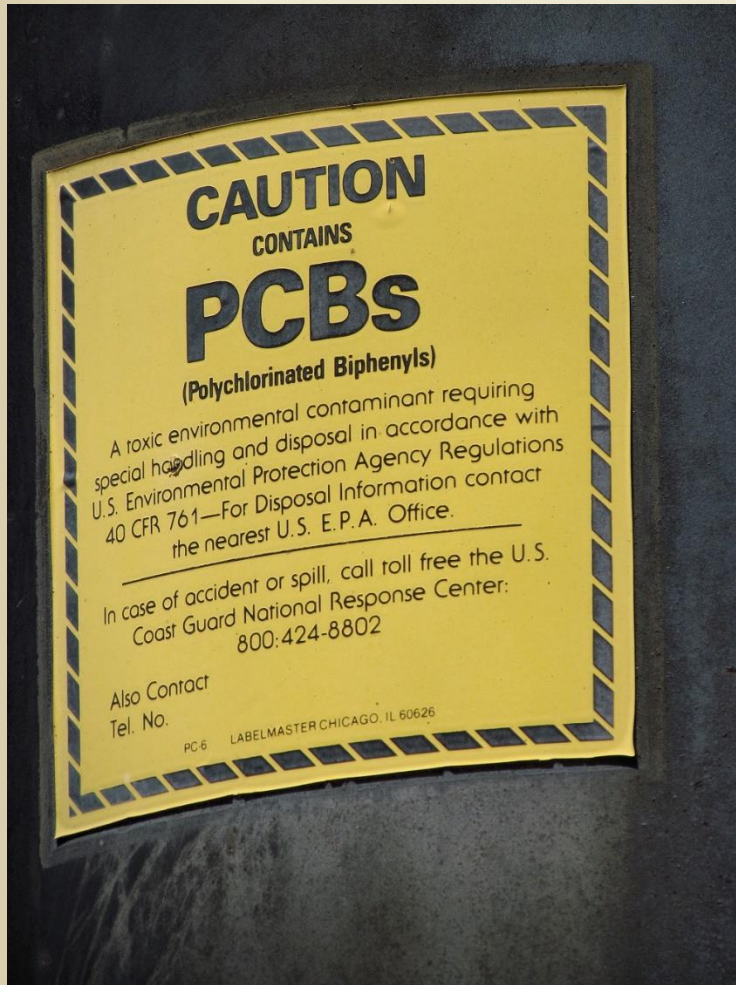
Ambient air sample 3 - 5 pg in whole sample, 3 - 5 fg / m<sup>3</sup> for 1000 m<sup>3</sup>

Aqueous samples 0.05 ng / l (5 pg / l), for 500 ml sample

Limits of detection can vary according to sample aliquot, internal standard recovery and matrix interference. The internal standard recovery and/or degree of interference can only be assessed on completion of the work. Therefore, the above figures are for guidance



# Polichlorowane bifenyly - PCB

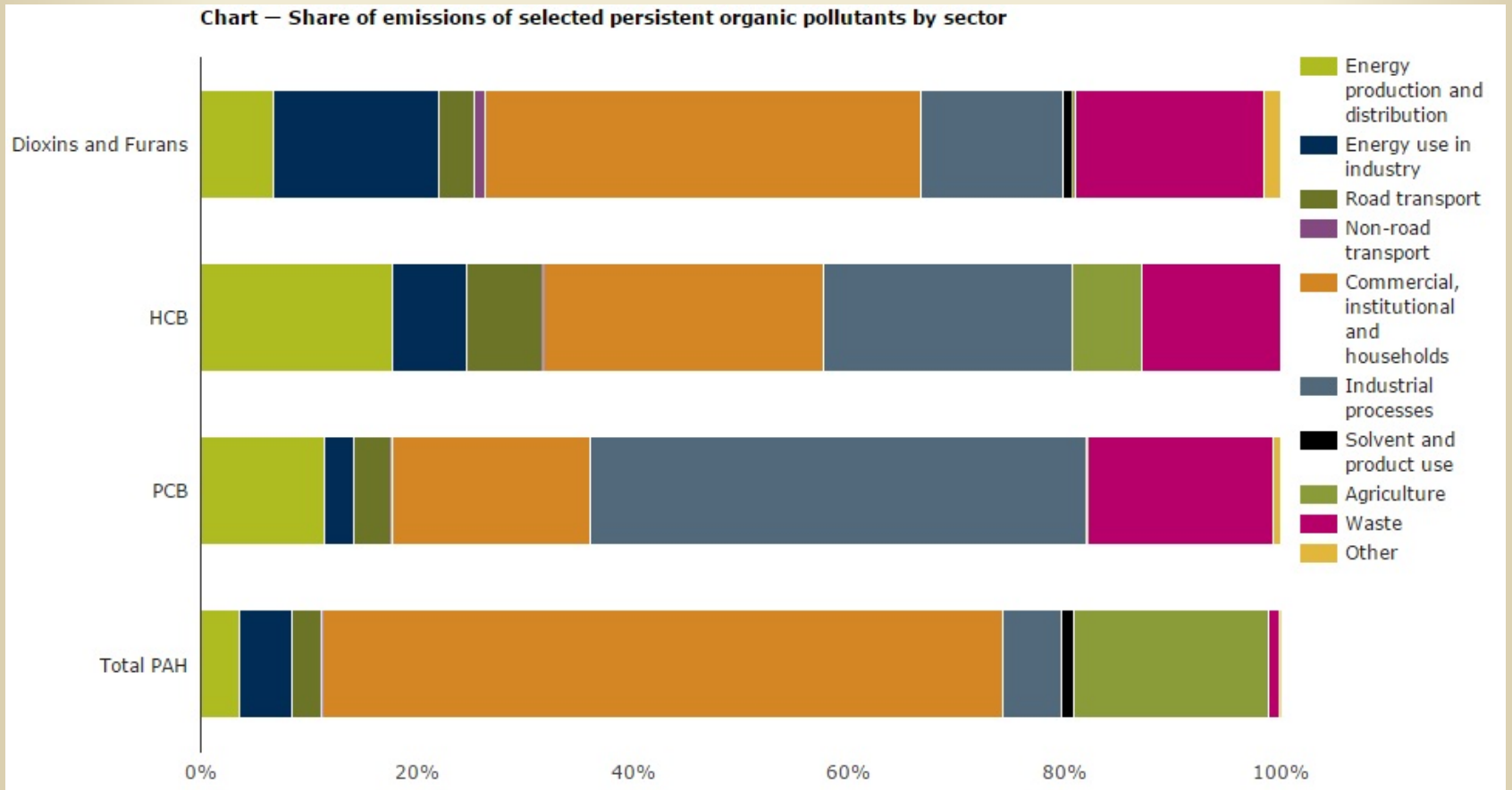


Stosowane w dużych ilościach  
od lat 30' do końca 60'

Max. produkcja lata 70'

- plastyfikatory, impregnaty
- płyny hydrauliczne
- smary odporne na wysoką temperaturę
- opakowania
- składniki farb drukarskich
- dodatki w preparatach owadobójczych
- dodatki do klejów i tworzyw sztucznych
- materiały izolacyjne do przewodów elektrycznych, w silnikach, transformatorach

# Polichlorowane bifenylenie – PCB – Źródła emisji





# Działanie toksyczne PCB

U 326 pracowników zatrudnionych przy produkcji kondensatorów, narażonych na PCBs o stężeniu 0,007-11 mg/m<sup>3</sup> przez okres powyżej 5 lat, obserwowano **podrażnienie górnych dróg oddechowych i spojówek oczu** (48%) oraz **kaszel** (14%). Ponadto pracownicy ci skarżyli się na **ucisk w klatce piersiowej** (24) (tab. 1). W innym badaniu wykazano dodatnią korelację pomiędzy częstością **kaszlu** w czasie pracy, jak i po jej zakończeniu, a stężeniem PCBs we krwi pracowników fabryki kondensatorów. Stężenie PCBs w powietrzu środowiska pracy wynosiło 0,003-0,08 mg/m<sup>3</sup> (nie podano czasu trwania narażenia) (55).

Działanie **rakotwórcze** na zwierzęta (małpy, myszy)



# Polichlorowane bifenyle - PCB

**PCB**

**polichlorowane bifenyle**

**dl- PCB**

PCB 77
PCB 81
PCB 105
PCB 114
PCB 118
PCB 123
PCB 126
PCB 156
PCB 157
PCB 167
PCB 169
PCB 189

**pg/g**

**Zastosowania**

- transformatory, kondensatory
- systemy grzewczo-chłodzące
- pompy próżniowe
- plastyfikatory w tworzywach sztucznych
- dodatki do pestycydów, farb i lakierów
- katalizatory w przemyśle chemicznym
- składniki papieru kserograficznego

209 kongenerów

**ndl- PCB**

PCB 28
PCB 52
PCB 101
PCB 138
PCB 153
PCB 180

**ng/g**

dl – dioksyno-podobne – (12) podobny mechanizm działania jak dioksyny

ndl – „nie” dioksyno-podobne

## Polichlorowane bifenyle – PCB - normy

W Belgii limit PCB dla ryb wynosi on 75 ng/g.

UE wprowadziła dopuszczalny maksymalny limit sumy PCDD/F i dl\_PCB: 8 pg WHO-TEQ /g mokrej masy.

Stężenia dioksyn i dl-PCB wyrażane są zazwyczaj w tzw. **równoważnikach toksyczności TEQ** (ang. Toxic Equivalent) będących sumą iloczynów stężeń poszczególnych związków i ich współczynników toksyczności **TEF** (ang. Toxicity Equivalency Factor).

Najbardziej toksyczna dioksyna ma **TEF=1**

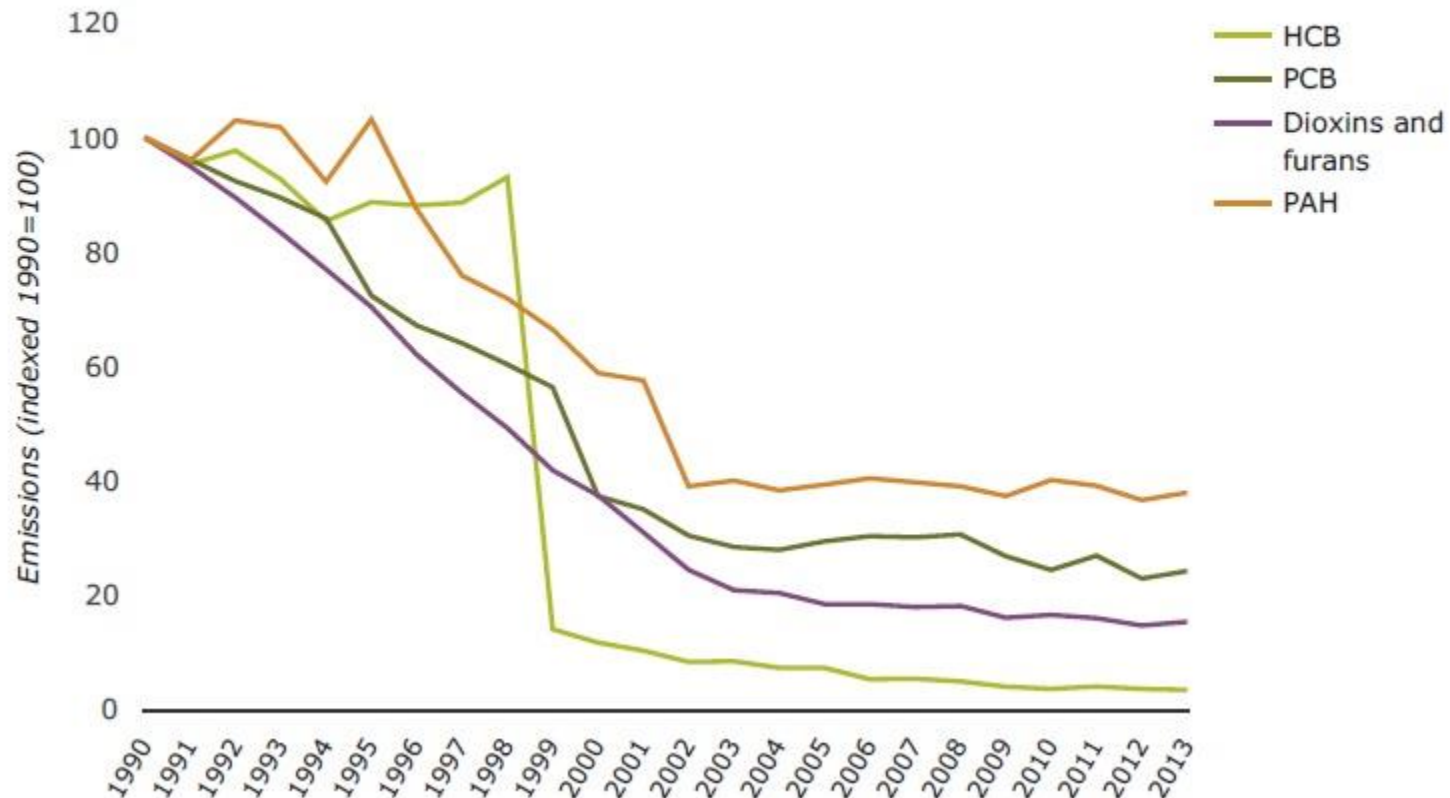
Wartości TEF dla pozostałych kongenerów wynoszą od **0,00001 do 1**

$$\text{TEQ} = C_1 \times \text{TEF}_1 + C_2 \times \text{TEF}_2 + \dots$$

# Zmiany poziomu stężeń wybranych związków organicznych

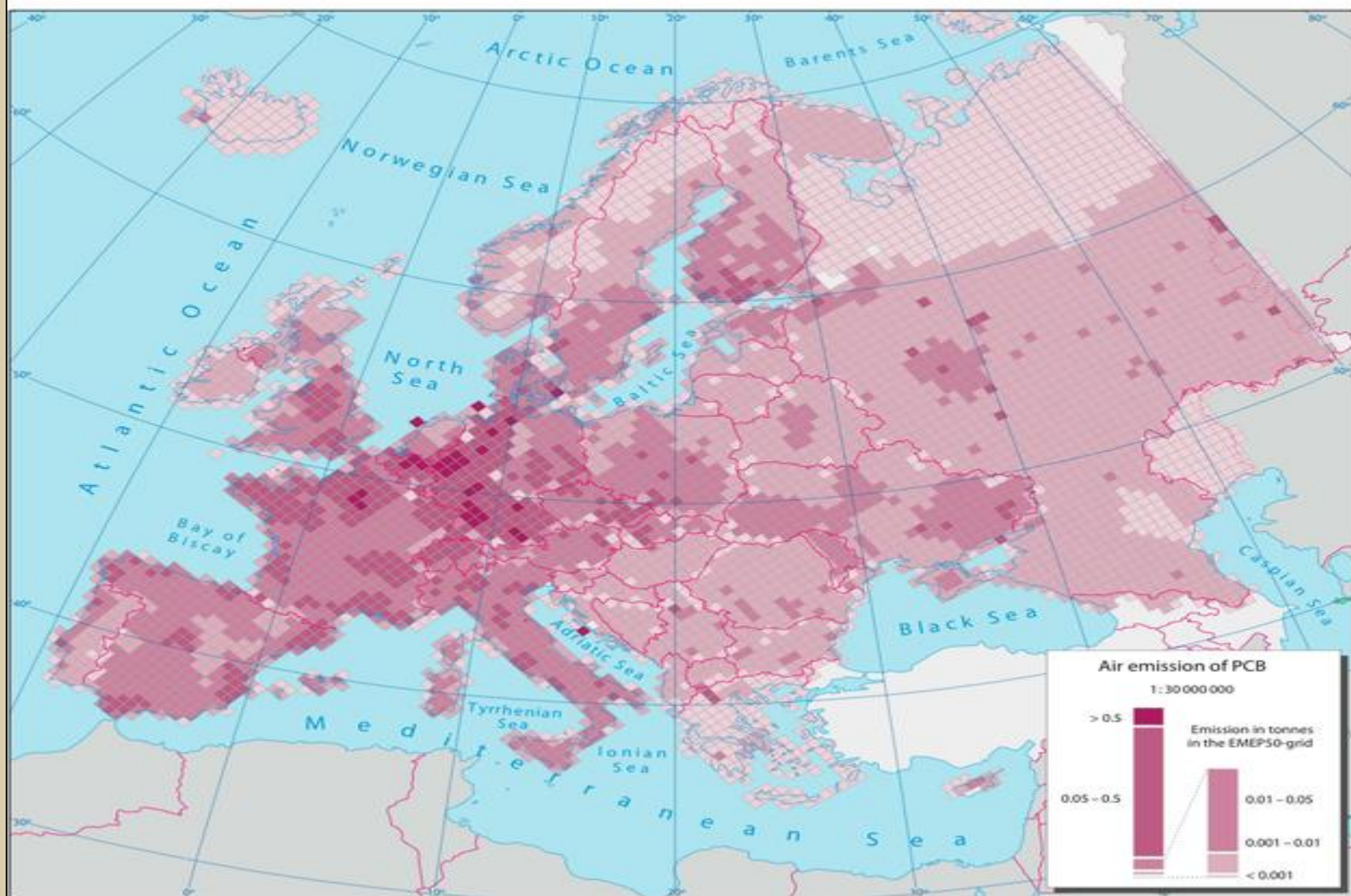
**Fig. 1: Emission trends of persistent organic pollutants**

**Chart — Emission trends of persistent organic pollutants**



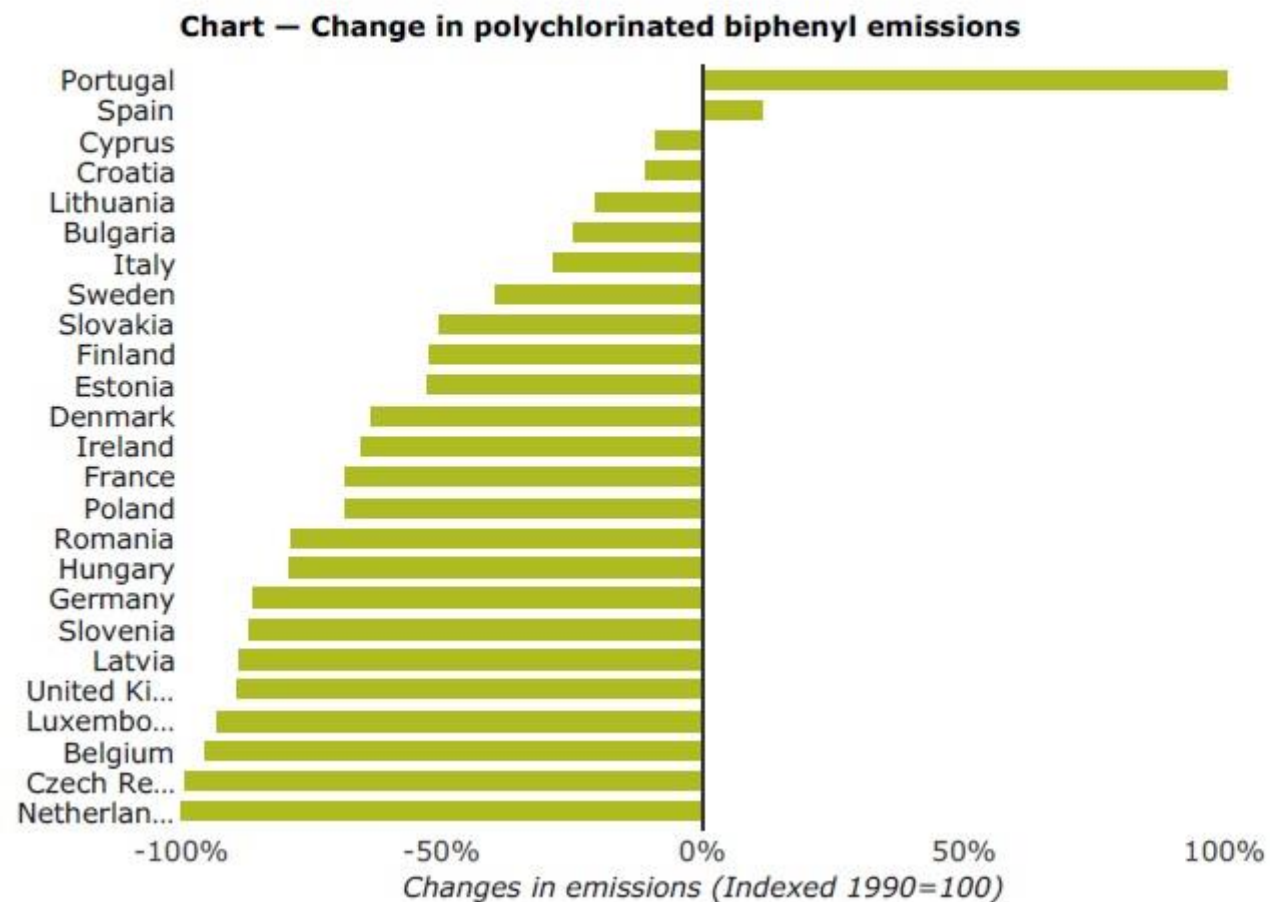
# Emisja PCB w Europie 1990

Map 6.3 PCB's emissions to air in 1990

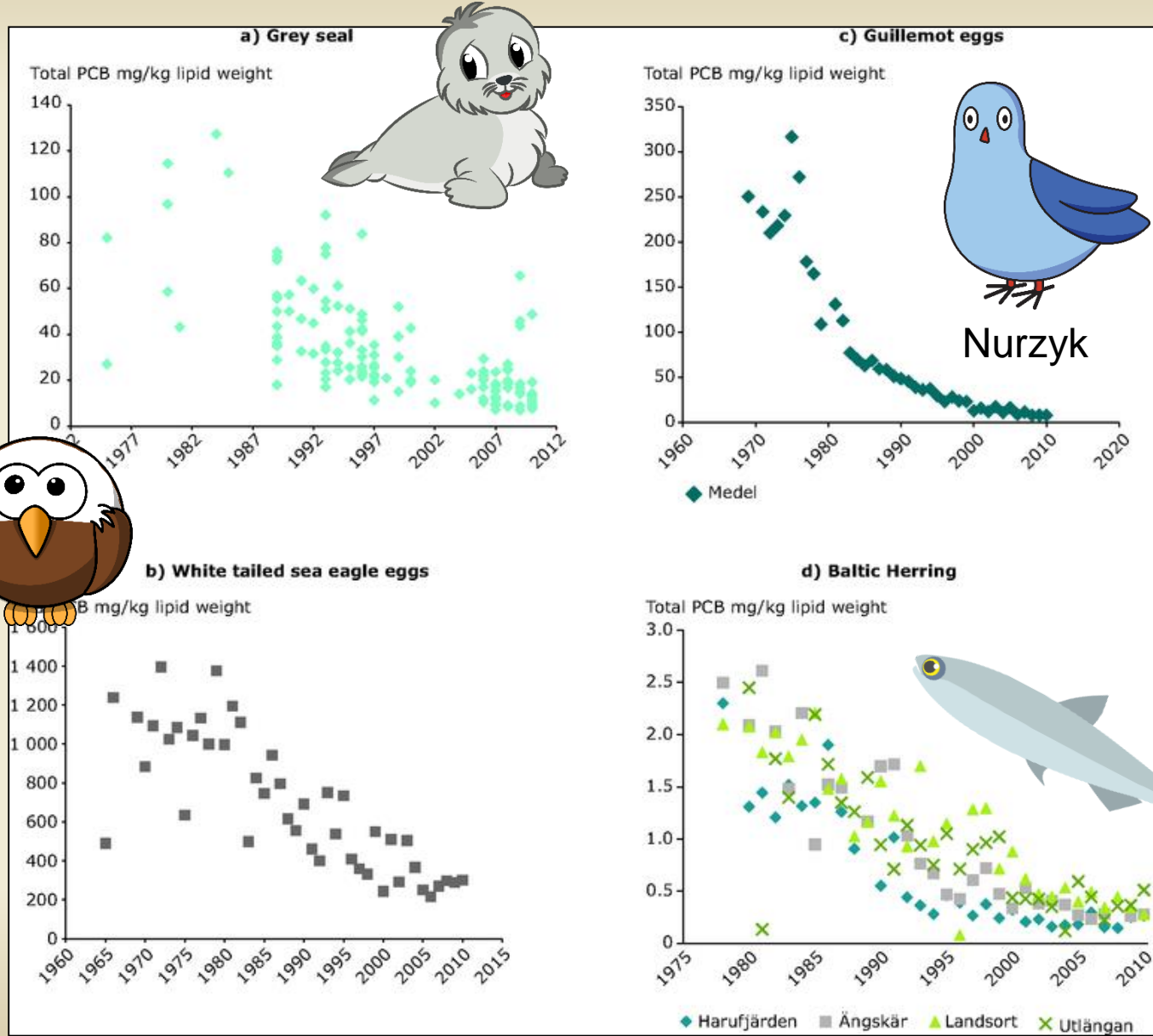


## Zmiany poziomu emisji PCB (2013)

**Fig. 3: Change in polychlorinated biphenyl emissions**



# Zmiany poziomu stężeń PCB w organizmach zwierząt

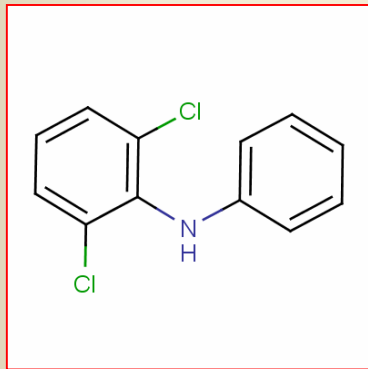




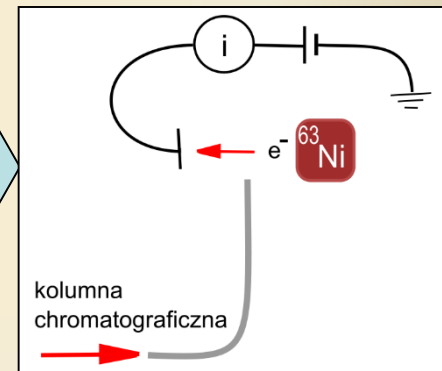


# Przykład metody oznaczania PCB => GC-ECD

1. Do fiolki o pojemności 2-4 ml należy naważyć około 20-25 mg badanej próbki oleju, którą rozcieńczamy 50 krotnym nadmiarem rozpuszczalnika węglowodorowego, za pomocą odpowiedniej strzykawki analitycznej. W rozpuszczalniku znajduje się **2,4,6-dichlorodifenyl** o znanym stężeniu, który spełnia rolę **wzorca wewnętrznego**.
2. Następnie dodaje się, do rozcieńczonej próbki 2-3 krople stężonego kwasu siarkowego (usunięcie interferentów). Po dokładnym zamknięciu fiolki, wytrząsa się zawartość przez 1 minutę. Następnie dwufazowy układ należy rozdzielić na wirówce laboratoryjnej. Zalecana szybkość obrotowa wynosi 4000 obr./min.
3. Kwas siarkowy stosowany jest do usuwania związków o charakterze aromatycznym, które dają sygnały w detektorze ECD przeszkadzające w analizie. Część górnej węglowodorowej warstwy przenosimy do nowej fiolki z pomocą jednorazowej strzykawki.
4. Próbka jest gotowa do analizy. Analogicznie postępujemy z próbką wzorcowego oleju o znanym stężeniu PCB. W tym jednak przypadku procedura rafinacji próbki stężonym kwasem siarkowym jest zbędna. Odwirowywanie próbki też.



2,4,6-dichlorodifenyl

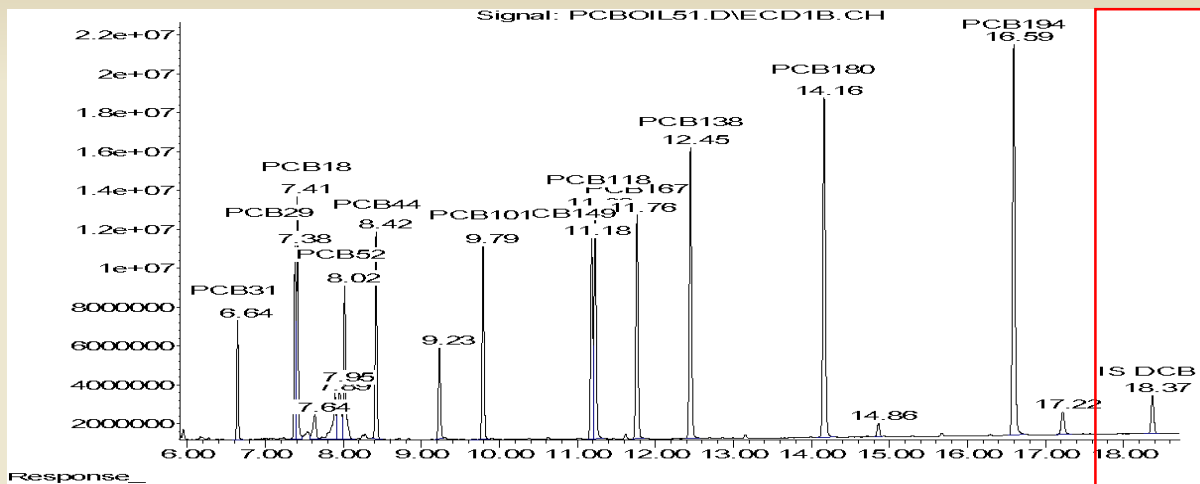


Detektor ECD

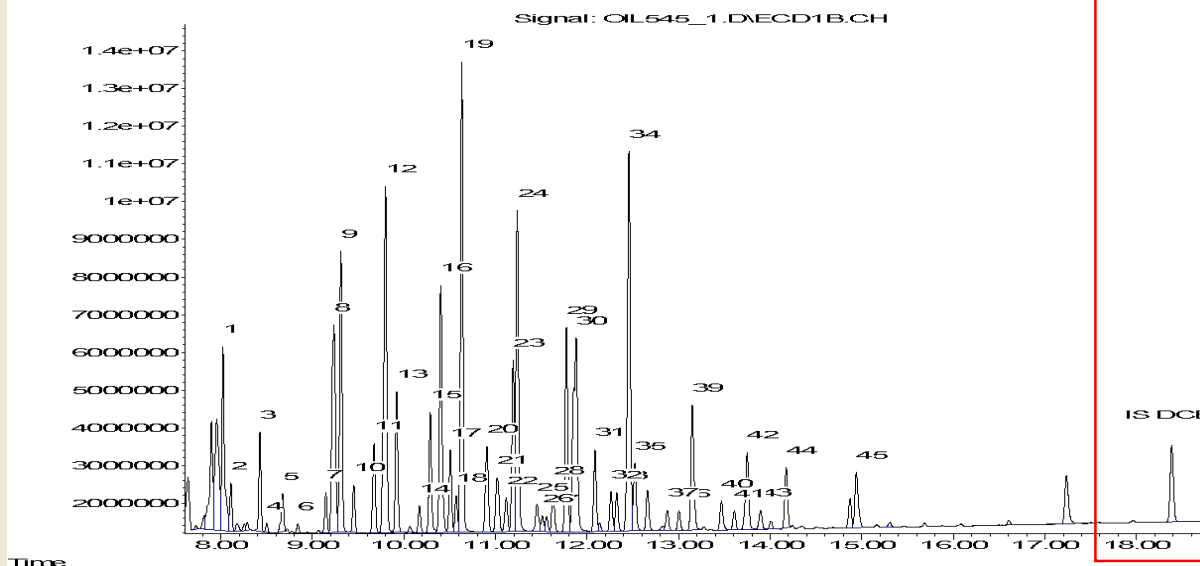
1. W gazie nośnym =>  $\beta \Rightarrow N_2 = N_2^+ + \cdot e$
2. Reakcja z analitem =>  $Cl + \cdot e = Cl^-$
3. Reakcja 2 wywołuje spadek natężenia prądu wywołany wychwytem elektronów przez próbkę

# Chromatogram uzyskany w czasie oznaczania PCB

Wzorzec



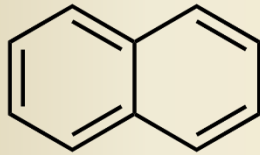
Próbka



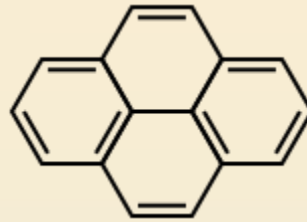
Poszczególne kongenery PCB lub grupy kongenerów są identyfikowane na podstawie ich **czasów retencji** (czasu „przejścia” przez układ chromatograficzny).

# WWA (PAH)

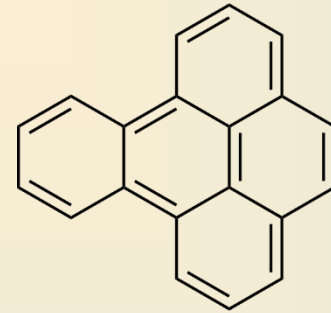
wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne  
(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons)



Naftalen



Piren



**Benzo-α-piren**

Bardzo rakotwórczy

- charakter krystaliczny
- niska lotność
- adsorpcja na powierzchni ciał stałych
- kancerogenność (metabolity powstające w wyniku działania enzymów)
- znanych jest ok. 660 oznacza się 13

# Źródła wwa

Źródła antropogeniczne WWA to przede wszystkim:

- produkty niepełnego spalania paliw kopalnych i drewna, zwłaszcza w źle regulowanych, starszych piecach węglowych
- lotne pyły i popioły
- produkty spalania paliw i utylizacji śmieci
- koksownie, rafinerie, huty żelaza, aluminium i miedzi
- produkcja smoły, kreozytu i węgla drzewnego

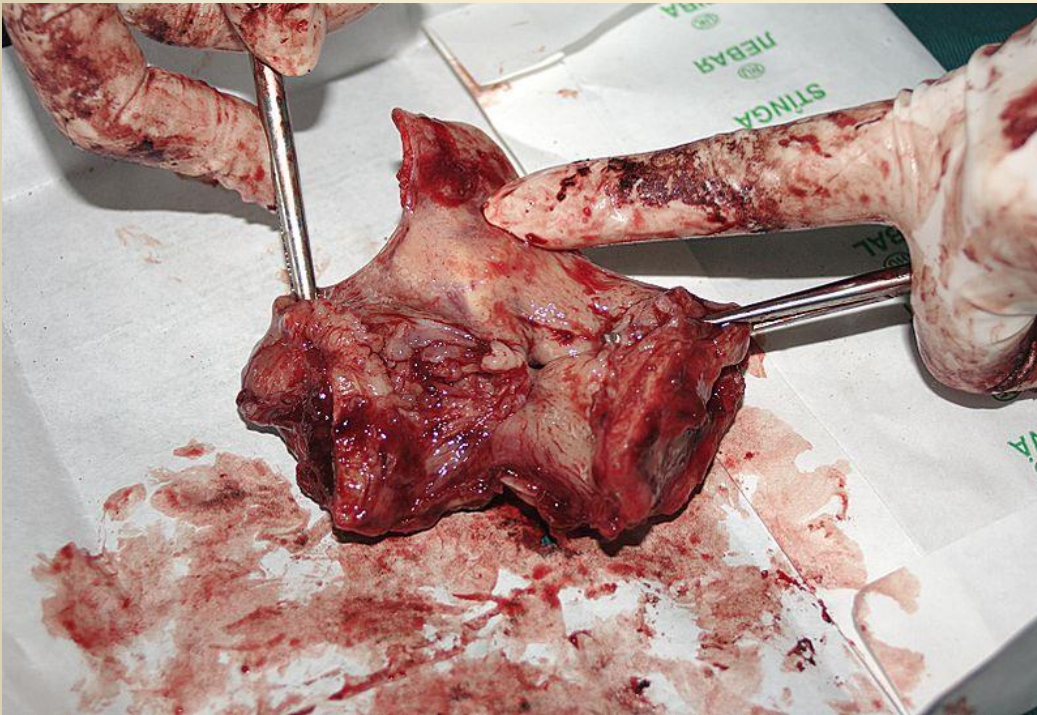
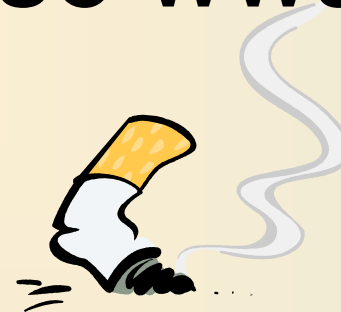
*Probl Hig Epidemiol 2013, 94(1): 31-36*

Tabela II. Źródła i przyczyny zanieczyszczenia żywności przez WWA [12, 18, 21, 29, 30, 36]

Table II. Sources and causes of food contamination by PAHs [12, 18, 21, 29, 30, 36]

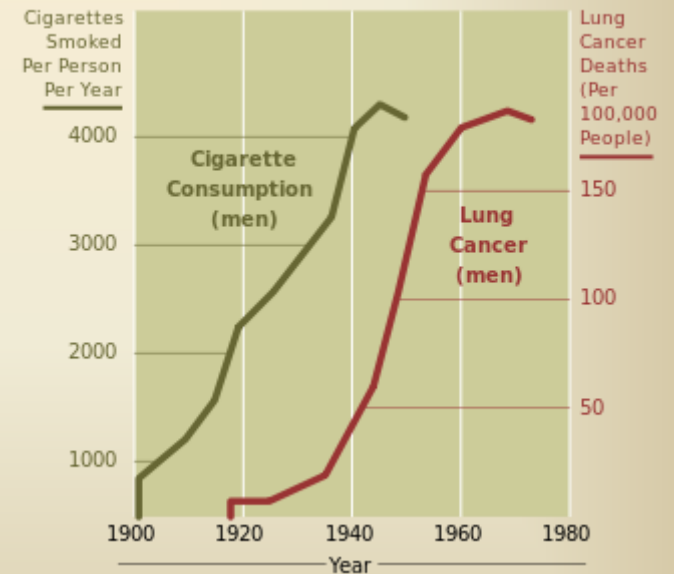
rodzaj skażenia	źródło	przenoszone przez	rodzaj żywności
środowisko egzogenne	przemysł, ogrzewanie, wytwarzanie energii, transport, spalanie odpadów, pożary lasów, wybuchy wulkanów, zanieczyszczenia pozostałościami paliw lub olejów mineralnych	powietrze, woda, gleba	warzywa, owoce, zboża, rośliny oleiste, ryby, owoce morza
środowisko endogenne	biosynteza w roślinach, biosynteza mikroorganizmów	–	warzywa
zabiegi technologiczne egzogenne	wędzenie, pieczenie na ruszcie, grillowanie, suszenie bezprzeponowe, palenie kawy, ekstrakcja rozpuszczalnikami, woski, parafiny stosowane do opakowań, oleje mineralne, preparaty uszczelniające do rur wodociągowych	dym, powietrze, rozpuszczalniki, woski, parafinowe, smoły, paki	wędzona żywność, pieczona żywność, suszona żywność, palona kawa, oleje i tłuszcze roślinne, sery, woda pitna
obróbka żywności endogenna	wysokotemperaturowa obróbka żywności	–	żywność wstępnie przetworzona

# Kancerogenność wwa



Całkowite wycięcie krtani

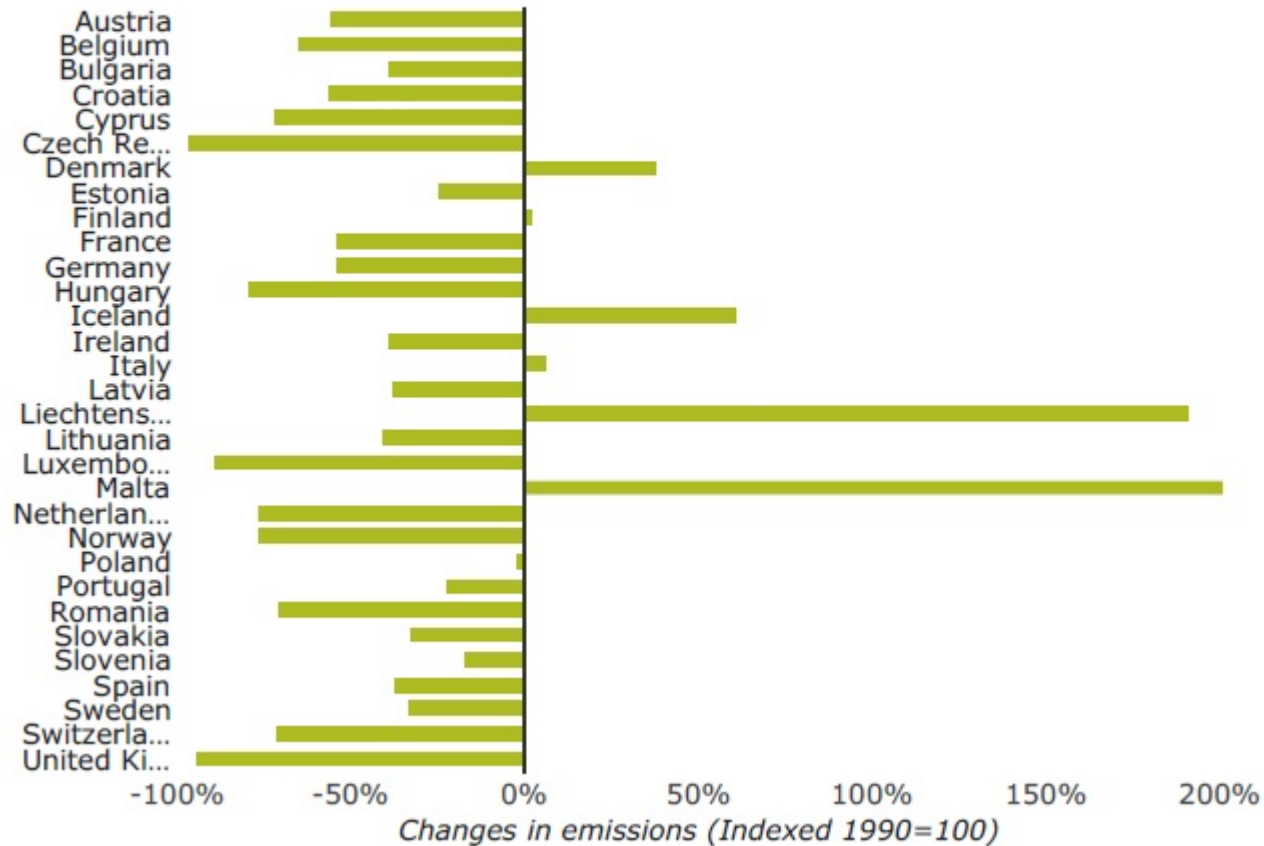
20-Year Lag Time Between Smoking and Lung Cancer



# Zmiany poziomu emisji WWA (PAH) (2013)

**Fig. 5: Change in polycyclic aromatic hydrocarbons emissions**

**Chart — Change in polycyclic aromatic hydrocarbons emissions**



# Oznaczenie stężeń WWA w ściekach koksowniczych GC-MS

Oznaczenie stężeń WWA w ściekach koksowniczych przeprowadzono, pobierając ścieki trzykrotnie, każdorazowo wykonując po dwa powtórzenia. Przygotowanie próbek ścieków do oznaczenia WWA rozpoczęto od wyodrębnienia matrycy organicznej ze ścieków. W tym celu zastosowano **ekstrakcję materiału organicznego**, podając kolejno rozpuszczalniki organiczne: metanol, cykloheksan oraz dichlorometan. Ekstrakcję prowadzono na wytrząsarce o 2000 obr/min przez jedną godzinę. W celu uzyskania ekstraktu oddzielano frakcję rozpuszczalnikową od ścieków w rozdzielaczu, po czym przeprowadzono oczyszczanie ekstraktu na żelu krzemionkowym w komorze **próżniowej SPE**. Następnie ekstrakt zatężano do objętości 2 ml w strumieniu azotu. Oznaczanie ilościowo-jakościowe **16 związków** z grupy WWA prowadzono metodą chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (**GC-MS**). Oznaczono ilościowo: **naftalen, acenaftylen, acenaften, fluoren, fenantren, antracen, fluoranten, piren, benzo(a)antracen, chryzen, ben-zo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benzo(a)piren, dibenzo(a,h)antracen, inde-no(1,2,3,c,d)piren oraz benzo(g,h,i)perylene**. Oznaczenia prowadzono z wykorzystaniem zestawu GC-MS firmy Fisons model GC 800/MS800. Ekstrakt w ilości 2 µl nastrzykiwano na kolumnę DB-5 o długości 30 m, średnicy 0,25 mm, grubości filmu 1µm. Gazem nośnym był hel (przepływ 5 ml min<sup>-1</sup>). Program temperaturowy był następujący: 40°C/min, ogrzewanie 5 do 120°C, a końcowa temperatura wynosiła 280°C przez 60 minut.

## Wyniki badań WWA w ściekach koksowniczych

Tabela 2

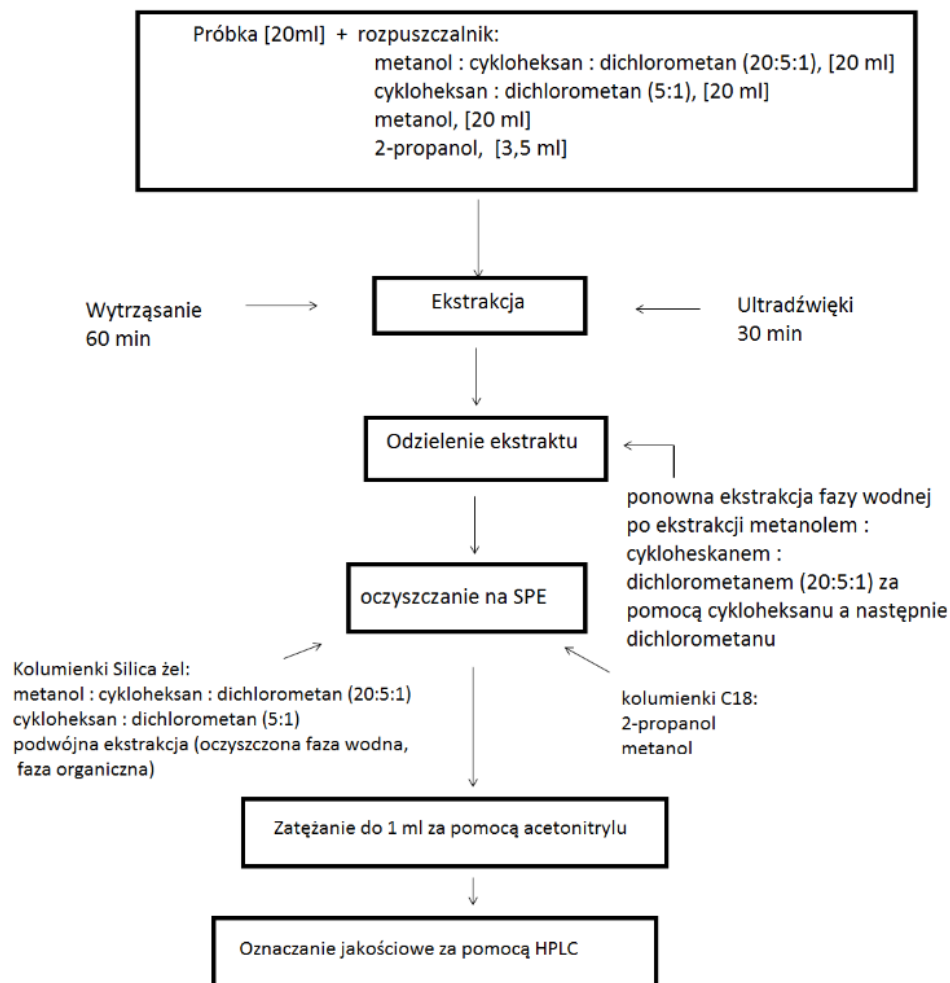
Średnie stężenie WWA w surowych ściekach koksowniczych,  $\mu\text{g}/\text{dm}^3$

WWA	Seria badań		
	I	II	III
Naftalen	120,63	102,86	82,05
Acenaftylen	6,82	3,74	6,38
Acenaften	13,17	20,39	11,22
Fluoren	4,91	9,68	4,56
Fenantren	9,68	13,87	8,33
Antracen	0,84	2,19	n.w.*
Fluoranten	5,84	9,99	4,44
Piren	4,33	8,28	3,84
Benzo(a)antracen	3,32	7,67	3,01
Chryzen	3,33	8,91	3,01
Benzo(b)fluoranten	3,71	10,72	2,83
Benzo(k)fluoranten	3,22	12,40	1,73
Benzo(a)piren	3,61	14,46	4,50
Dibenzo(a,h)antracen	n.w.*	1,93	n.w.*
Indeno(1,2,3,c,d)piren	1,68	6,28	1,20
Benzo(g,h,i)perylene	1,93	6,94	0,98
Suma WWA	187,02	240,31	138,08

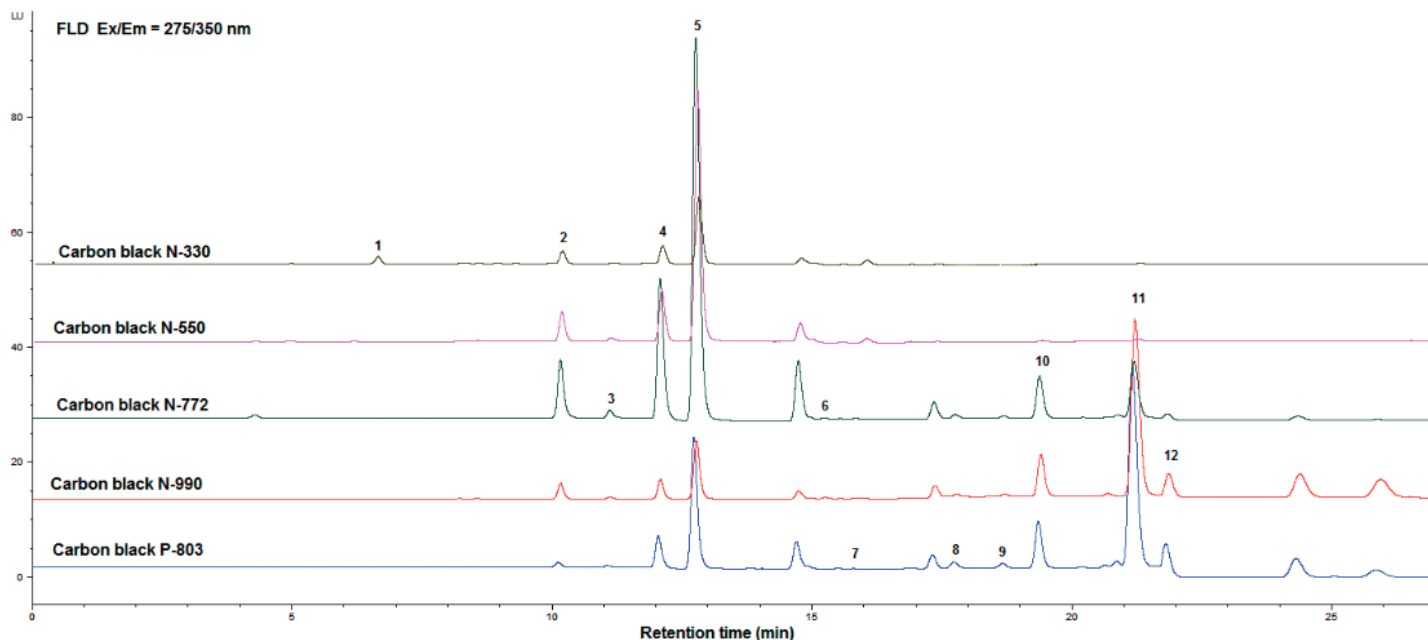
\* n.w. - nie wykryto



# Oznaczenie stężeń WWA w ściekach koksowniczych HPLC (przygotowanie próbki)



# Wyniki badań WWA w sadzy technicznej (HPLC)



**Fig. 1.** HPLC-FLD chromatograms of PAHs extracted with hexane in carbon black N-330, N-550, N-772, N-990 and P-803  
Identified PAHs: (1) naphthalene, (2) phenanthrene, (3) anthracene, (4) fluoranthene, (5) pyrene, (6) benzo(a)anthracene, (7) chrysene, (8) benzo(b)fluoranthene, (9) benzo(k)fluoranthene, (10) benzo(a)pyrene, (11) benzo(g,h,i)perylene, (12) indeno(1,2,3-cd)pyrene

**Rys. 1.** Chromatogramy HPLC-FLD węglowodorów WWA wyekstrahowanych heksanem z sadzy technicznych N-330, N-550, N-772, N-990 i P-803

Identyfikowane WWA: (1) naftalen, (2) fenantren, (3) antracen, (4) fluoranten, (5) piren, (6) benzo(a)antracen, (8) chryzen, (8) benzo(b)fluoranten, (9) benzo(k)fluoranten, (10) benzo(a)piren, (11) benzo(g,h,i)perylen, (12) indeno(1,2,3-cd)piren

# Oznaczanie WWA w próbkach gleb metoda GC-MS

## 1. Materiały i odczynniki:

- analizowana próbka gruntu,
- heptan, cz.d.a.,
- wzorzec wewnętrzny: roztwór *p*-cymenu w heptanie o stężeniu 200 mg/dm<sup>3</sup>,
- mieszanina standardowa zawierająca sześć wyselekcjonowanych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych o stężeniu 100 mg/dm<sup>3</sup> każdy i 40 mg/dm<sup>3</sup> *p*-cymenu.

## 2. Przygotowanie próbki do analizy chromatograficznej - ekstrakcja aromatów.

Odważyć około 0,5 g próbki gleby i umieścić w fiolce, dodać 2 ml heptanu i prowadzić proces ekstrakcji w łaźni ultradźwiękowej w czasie 10 minut w temperaturze pokojowej. Następnie fiolkę wyjąć z łaźni, osuszyć, dodać 0,5 ml wzorca wewnętrznego, wstrząsnąć i pozostawić fiolkę na kilkanaście minut, aż osad ulegnie sedymentacji – ewentualnie użyć wirówki. Próbka jest gotowa do analizy. Pobierając określoną ilość ekstraktu do strzykawki chromatograficznej, należy uważać aby do igły strzykawki nie przedostawały się części stałe badanej próbki.

## 3. Parametry pracy chromatografu gazowego (HP6890)

- temperatura dozownika           **250°C**
- kolumna HP-1701 lub inna o zbliżonej polarności o długości 30 m i średnicy 0,25 mm
- prędkość przepływu gazu nośnego (hel) 0,7 ml/min
- program temperaturowy           **50°C/ 1 min, narost 10°C/min do 260°C**
- split                                   **1:20**
- objętość dozowanej próbki       **1,0 µl**

Uwaga: aparaturą analityczną GCMS należy się posługiwać wyłącznie zgodnie ze wskazaniami i w obecności nauczyciela prowadzącego ćwiczenia.

# Oznaczenie wybranych WWA - EPA

TABLE 2. (CONTINUED)

Method Desig.	Types of Compounds Determined <sup>1</sup>	Sampling and Analysis Approach	Detection Limit	Advantages	Disadvantages
TO-13A	PAHs [e.g., benzo(a)pyrene, naphthalene, fluorene]	<b>PUF OR XAD-2 ADSORBENT CARTRIDGE AND GC/MS ANALYSIS</b> Ambient air is drawn through a glass fiber filter and a polyurethane foam (PUF) or XAD-2 adsorbent cartridge by means of a high volume sampler. The filter and PUF cartridge are extracted using 10% diethyl ether. The extract is concentrated using <b>Kuderna-Danish</b> technique, diluted, and cleaned up using column chromatography. The cleaned extract is then analyzed by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS).	0.5-500 ng/m <sup>3</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Allows for sample dilution if concentration is too high during analysis.</li> <li>Repeated analysis is possible.</li> <li>High-volume sampling provides for lower detection limits.</li> <li>Filter and PUF are low cost.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Method has interferences due to contamination of solvents, reagents, glassware, and sampling hardware.</li> <li>Coeluting contaminants may cause interference with target analytes.</li> <li>Heat, ozone, NO<sub>2</sub>, and ultraviolet light may cause sample degradation.</li> </ul>
TO-14A	VOCs (non-polar) [e.g., toluene, benzene, chlorobenzene]	<b>SPECIALLY-PREPARED CANISTER AND GC/FID/ECD OR GC/MS DETECTION</b> Whole air samples are collected in an evacuated stainless steel canister. VOCs are concentrated in the laboratory with cryogen trap. VOCs are revolatilized, separated on a GC column, and passed to one or more detectors for identification and quantitation.	0.2-25 ppbv	<ul style="list-style-type: none"> <li>Best method for broad speciation of unknown trace volatile organics.</li> <li>Simple sampling approach.</li> <li>Good QA/QC database.</li> <li>Proven field and analytical technology.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Limited to non-polar compounds due to use of permeation type dryer.</li> <li>Sample components may be adsorbed or decompose through interaction with container walls.</li> <li>Water condensation at high humidity may be a problem at high concentrations (ppm).</li> <li>Complex equipment preparation required.</li> <li>Expensive analytical equipment.</li> </ul>
TO-15	VOCs	<b>SPECIALLY-PREPARED</b>	0.2-25	<ul style="list-style-type: none"> <li>Incorporates a multisorbent/ dry</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Expensive analytical equipment.</li> </ul>

## Koszty oznaczania wybranych WWA - EPA

Suma dioksyn i DL-PCB (WHO-PCDD/F-PCB-TEQ) oraz NDL-PCB	- 1700 PLN + VAT
Suma dioksyn i DL-PCB (WHO-PCDD/F-PCB-TEQ)	- 1600 PLN + VAT
Suma dioksyn (WHO-PCDD/F-TEQ)	- 1500 PLN + VAT
WWA (w tym benzo(a)piren)	- 400 PLN + VAT
Inne	- proszę uzgodnić

Dziękuję za uwagę