

2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioksyna

Metoda oznaczania w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem chromatografii gazowej ze spektrometrią mas¹

2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin

Determining in workplace air with gas chromatography – mass spectrometry

dr MAREK ZIELIŃSKI

<https://orcid.org/0000-0001-8439-1229>

mgr EWA TWARDOWSKA

<https://orcid.org/0000-0001-9158-3536>

dr MAŁGORZATA KUCHARSKA

<https://orcid.org/0000-0003-0256-5091>

Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera, Łódź

Nofer Institute of Occupational Medicine, Łódź

Numer CAS 1746-01-6

Streszczenie

Polichlorowane dibenzo-*p*-dioksyny (PCDD), w tym 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioksyna (TCDD), należą do grupy związków chemicznych zwanych trwałymi zanieczyszczeniami organicznymi (TZO), (ang. *persistent organic pollutants*, POPs). Trwałe zanieczyszczenia organiczne są wykrywane w śladowych ilościach prawie we wszystkich przedziałach środowiska globalnego ekosystemu. Około 90% dioksyn dostaje się do organizmu człowieka z pożywieniem. Związki z grupy trwałych zanieczyszczeń organicznych gromadzą się w tkance tłuszczowej, są wolno metabolizowane i szkodliwe, nawet po długim czasie od początkowego narażenia.

Dioksyny są związkami, które sukcesywnie i powoli kumulują się w organizmie. Wpływają na wiele reakcji immunologicznych, które przebiegają pod postacią przewlekłych alergii skórnych. Głównym miejscem działania dioksyn są interakcje z gruczołami wydzielania wewnętrznego: tarczycą, gonadami żeńskimi i męskimi, endometrium macicy oraz z nadnerczami, w których są wytwarzane hormony steroidowe. Dioksyny mogą powodować zaburzenia gospodarki hormonalnej organizmu poprzez indukcję receptora węglowodorów aromatycznych (AhR). Mechanizm patogennego oddziaływania TCDD z tkankami i komórkami często nie jest w pełni poznany, jednak na pewno w te mechanizmy jest włączony stres oksydacyjny, a także jakościowe i ilościowe modyfikacje receptorów komórkowych lub białek docelowych czy immunomodulacja.

Celem pracy było opracowanie i walidacja czułej metody oznaczania 2,3,7,8-TCDD w środowisku pracy w zakresie 1/10 ÷ 2 wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS).

Opracowana metoda polega na: adsorpcji TCDD na piance poliuretanowej, ekstrakcji zatrzymanego związku toluenem i analizie chromatograficznej otrzymanego roztworu przy zastosowaniu wysokorozdzielczego spektrometru mas. Wyznaczony współczynnik desorpcji TCDD z pianki poliuretanowej za pomocą toluenu, wynosi 83,1%. Odpowiedź detektora mas ma charakter liniowy ($r = 0,998$) w zakresie stężeń 18 ÷ 360 pg/ml, co odpowiada zakresowi 1,8 ÷ 36 mg/m³ (1/10 ÷ 2 wartości NDS) dla próbki powietrza o objętości 10 m³. Granica oznaczalności (LOQ) tej metody wynosi 10,26 pg/ml.

Zastosowanie do analizy kolumny DB-5MS pozwala na selektywne oznaczenie TCDD w obecności: toluenu, nonanu oraz innych związków współwystępujących.

Opisana metoda analityczna charakteryzuje się dobrą precyzją oraz dokładnością i spełnia wymagania zawarte w normie europejskiej PN-EN 482 dla procedur dotyczących oznaczania czynników chemicznych.

¹ Publikacja opracowana na podstawie wyników uzyskanych w ramach IV etapu programu wieloletniego: „Poprawa bezpieczeństwa i warunków pracy”, finansowanego w latach 2017-2019 w zakresie badań naukowych i prac rozwojowych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego/ Naukowe Centrum Badań i Rozwoju.

Koordynator programu: Centralny Instytut Ochrony Pracy – Państwowy Instytut Badawczy.

Opracowana metoda oznaczania TCDD w powietrzu na stanowiskach pracy została zapisana w postaci procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku.

Zakres tematyczny artykułu obejmuje zagrożenia zdrowia oraz bezpieczeństwa i higieny środowiska pracy będące przedmiotem badań z zakresu nauk o zdrowiu oraz inżynierii środowiska.

Słowa kluczowe: 2,3,7,8-TCDD, metoda oznaczania, metoda chromatografii gazowej, powietrze na stanowiskach pracy, nauki o zdrowiu, inżynieria środowiska.

Abstract

PCDD are environmental pollutants, called Persistent Organic Pollutants (POPs). Their trace amounts can be found in almost all the spectrum of global ecosystems. Nearly 90% of human exposure to dioxins comes from food. POPs compounds, which gather in fatty tissues, are slowly metabolized and remain harmful even after a relatively long time after exposure. Dioxins enter the human body with food and accumulate in fat-rich tissues. Dioxins gradually and slowly accumulate in the body. They trigger a number of immunological reactions, which take the form of chronic skin allergies. They can disturb the body hormone economy through induction of the aromatic hydrocarbon receptor. The aim of the work was to develop and validate a sensitive method of determining 2,3,7,8-TCDD in the working environment in the range of 1/10–2 MAC values. The developed method consists in adsorption of TCDD on polyurethane foam followed by extraction of the retained compound with toluene and chromatographic analysis using a high-resolution mass spectrometry. The determined TCDD desorption coefficient from polyurethane foam with 20% acetone in toluene is 83.1%. The response of the mass detector is linear ($r = 0.998$) in the concentration range of 18–360 pg/ml, which corresponds to the range of 1.8–36 mg/m³ (1/10–2 MAC) for an air sample of 10 m³. The limit of quantification (LOQ) of this method is 10.26 pg/ml. Using a DB-5MS capillary column makes a selective determination of TCDD in the presence of toluene, nonane and other co-existing compounds possible. The developed method is characterized by good precision and accuracy and meets the requirements of European Standard PN-EN 482 for procedures on determining chemical agents. The developed method of determining TCDD has been recorded as an analytical procedure (see appendix). This article discusses the problems of occupational safety and health, which are covered by health sciences and environmental engineering.

Keywords: 2,3,7,8-TCDD, determination method, gas chromatography, workplace air, health sciences, environmental engineering.

WPROWADZENIE

2,3,7,8-Tetrachloro-dibenzo-*p*-dioksyna (TCDD) należy do grupy związków chemicznych, zwanych trwałymi zanieczyszczeniami organicznymi (TZO), (ang. *persistent organic pollutants*, POPs). Trwałe zanieczyszczenia organiczne są wykrywane w śladowych ilościach prawie we wszystkich przedziałach środowiska globalnego ekosystemu. W przeciwieństwie do innych związków chemicznych, TCDD nigdy nie była produkowana celowo, nie miała i nie ma żadnego zastosowania technologicznego, powstaje natomiast podczas wielu procesów przemysłowych, zwłaszcza w procesach spalania. Ważnymi źródłami emisji TCDD do środowiska są, m.in.: niekontrolowane procesy spalania wszelkich odpadów zawierających w swoim składzie chlor w dowolnej formie (paleniska domowe, otwarte spalanie odpadów), składowanie odpadów przemysłowych (wszelkiego rodzaju pestycydy chloroorganiczne, przetraczo-

wane oleje transformatorowe itp.) i wiele procesów technologicznych. Głównym źródłem narażenia na TZO (w tym TCDD) pozostaje żywność (Letcher i in. 2010; Piskorska-Pliszczyńska 1999).

TCDD to związek, który sukcesywnie i powoli kumuluje się w organizmie. Związek ma wpływ na wiele reakcji immunologicznych, które przebiegają pod postacią przewlekłych alergii skórnych (Dudzińska, Kozak 2001; Piskorska-Pliszczyńska 1999). Głównym miejscem działania TCDD są interakcje z gruczołami wydzielania wewnętrznego: tarczycą, gonadami żeńskimi i męskimi, endometrium macicy oraz z nadnerczami, w których są wytwarzane hormony steroidowe. Dioksyny mogą powodować zaburzenia gospodarki hormonalnej organizmu poprzez indukcję receptora węglowodórów aromatycznych (AhR). Oddziałują na: syntezę, wydzielanie, transport oraz eliminację hormonów.

Mogą również upośledzać wiązanie hormonów z odpowiednim receptorem oraz wpływają na procesy sprzężenia zwrotnego w osi podwzgórze-przysadka-gruczoł obwodowy (*Moirangthema* i in. 2011).

Zespół Ekspertów do spraw Czynników Chemicznych Międzyresortowej Komisji ds. NDS i NDN w 2017 r., na podstawie dokumentacji dopuszczalnych wielkości narażenia zawodowego, zaproponował przyjęcie wartości najwyższego dopuszczalnego stężenia (NDS) dla TCDD na poziomie 18 pg/m³.

Celem pracy było przygotowanie odpowiednio czułej i selektywnej metody oznaczania TCDD

w powietrzu na stanowiskach pracy, która umożliwi pomiary stężeń tego związku, a następnie pozwoli na dokonanie oceny narażenia zawodowego. Innowacyjność metody względem normy polskiej i metody EPA 1613 polega na podaniu warunków prowadzenia aeracji na pianki poliuretanowe oraz zastosowanie automatycznego aparatu Soxhleta do ekstrakcji wcześniej wymienionych pianek.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Aparatura analityczna

Do badań wykorzystano chromatograf gazowy Agilent Technologies 6890N wyposażony w kolumnę DB5-MS o długości 60 m, średnicy 0,25 mm i grubości filmu fazy stacjonarnej 0,25 μm, sprzężony z wysokorozdzielczym spektrometrem mas Autospec Ultima NT.

Odczynniki i materiały

W badaniach zastosowano: TCDD, toluen, nonan, aparaty do zatężania, automatyczny system do ekstrakcji Soxhlet, aspirator wysokoprzepływowi stacjonarny, szkło laboratoryjne, mikrostrzykawkę.

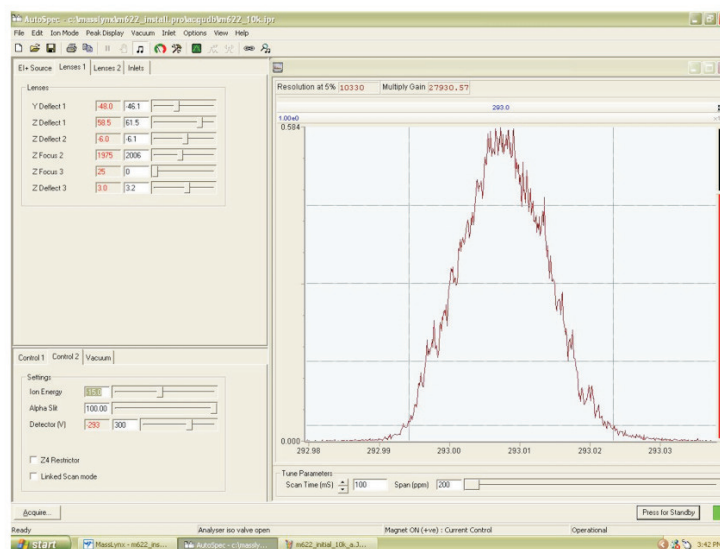
Założenia opracowanej metody

Do oznaczenia dioksyn jest stosowana metoda wysokorozdzielczej chromatografii gazowej sprzężonej z wysokorozdzielczą spektrometrią mas (HRGC/HRMS). Metodyka ta od wielu lat jest uznawana przez Amerykańską Agencję Ochrony Środowiska za jedyną odpowiednią do oznaczania dioksyn (EPA 1994). Z uwagi na proponowaną bardzo małą wartość NDS dla TCDD (18 pg/m³), konieczność oznaczania tego związku na poziomie 1/10 NDS oraz na możliwość występowania tego związku w środowisku pracy obok innych dioksyn, jedynie zastosowanie do analiz techniki wysokorozdzielczej spektrometrii mas sprzężonej z chromatografią gazową stwarza możliwość selektywnego oznaczenia TCDD. Jest to związane z faktem, że masy izomerów tych związków (jak również niektórych pestycydów i polichlorowanych bifenyli) różnią się od siebie za ledwie o 0,01 Da. W tym przypadku jedynie zastoso-

wanie wysokorozdzielczej spektrometrii mas, umożliwiającej oznaczenie precyzyjnej masy (do 0,01 Da), stwarza możliwość selektywnego oznaczenia danego związku. Dalsze rozważania możliwości oznaczania tej substancji w powietrzu oparto na wcześniej opracowanych metodach analitycznych. Na podstawie tych doświadczeń przyjęto, że optymalnym medium do pobierania próbek powietrza będą pianki poliuretanowe desorbowane toluenem, co powinno umożliwić oznaczanie TCDD (w celu dokonania pełnej oceny narażenia zawodowego). Jako podstawę oznaczenia chromatograficznego przyjęto technikę HRGC/HRMS z zastosowaniem 60-metrowej kolumny DB-5ms.

Dobór warunków analizy chromatograficznej

Warunki rozdziału chromatograficznego dobierano tak, by uzyskać pik TCDD oddzielony od pików substancji współwystępujących, a także od pików rozpuszczalnika. Przygotowaną, oczyszczoną próbkę umieszcza się w zasobniku automatycznego dozownika i analizuje, wprowadzając 2 μl roztworu na kolumnę chromatografu gazowego. Oznaczenie wykonywano z zastosowaniem techniki HRGC/HRMS (wysokorozdzielczej spektrometrii mas) przy użyciu aparatu AutoSpec Ultima NT firmy Waters. Rysunek 1. przedstawia stronę tune'u – procesu przygotowania odpowiednich parametrów analizy i doprowadzenia aparatu do wymaganej rozdzielczości, które to działania są wykonywane przed każdym oznaczeniem (przed kalibracją i dozowaniem prób właściwych).



Rys. 1. Tune – przygotowanie aparatu do wymaganej rozdzielczości 10 000

Warunki pracy chromatografu są następujące:

- dozownik typu *split/splitless*
- tryb pracy *splitless*
- ilość dozowanej cieczy 2 μ l
- temperatura dozownika 270 °C
- kolumna chromatograficzna: DB-5MS:
 - długość 60 m
 - średnica 0,25 mm
 - grubość filmu fazy stacjonarnej 0,25 μ m
 - strumień objętości gazu nośnego (hel) przez kolumnę 1,6 ml/min
- temperatura kolumny (programowana):
 - temperatura początkowa 150 °C przez 2 min
 - I przyrost temperatury 20 °C/min do 200 °C, 0,0 min
 - II przyrost temperatury 1 °C/min do 220 °C przez 16 min
 - III przyrost temperatury 3 °C/min do 320 °C przez 3 min
- całkowity czas analizy 65 min.

Warunki pracy spektrometru mas są następujące:

- rodzaj jonizacji jonizacja elektrowodowa EI
- temperatura źródła jonów 250 °C
- geometria analizatora EBE

- rozdzielczość minimum 8 000 (5% dolina)
- tryb pracy SIR
- liczba funkcji rejestracji mas 5
- wzorzec mas perfluorokerozen.

Badanie zakresu stosowania metody analitycznej

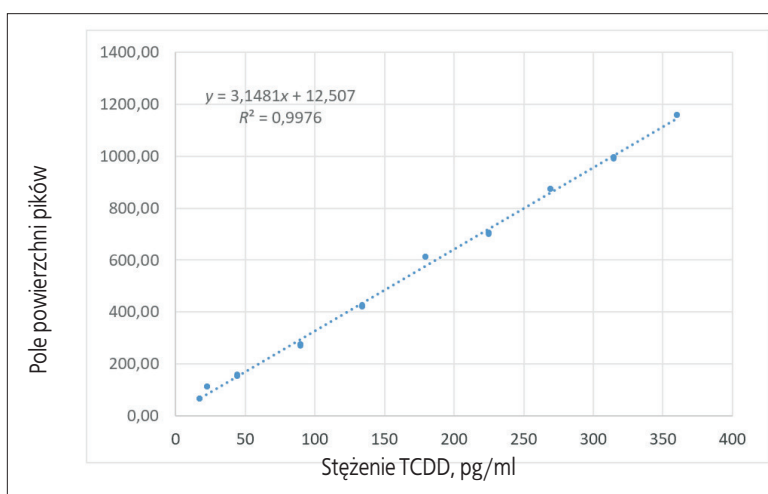
Biorąc pod uwagę, że proponowana wartość NDS wynosi 18 pg/m^3 , zakładając pobieranie próbki powietrza o objętości 10 m^3 , ekstrakcję pianek poliuretanowych za pomocą toluenu, zateżnienie ekstraktu do objętości 100 μ l oraz przyjmując dolną granicę oznaczania ilościowego na poziomie 1/10 NDS, najniższe stężenie oznaczanego wzorca powinno wynosić 18 pg/ml .

W celu określenia zakresu roboczego i liniowości metody sporządzono dziesięć roztworów TCDD w nonanie. Roztwory przygotowano w następujący sposób: do dziesięciu naczynek odmierzono kolejno takie ilości roztworu wzorca TCDD, aby po uzupełnieniu nonanem do 100 μ l otrzymać stężenia TCDD równe: 18; 23; 45; 90; 135; 180; 225; 270; 315; 360 pg/ml , co odpowiada stężeniom w powietrzu w zakresie 1,8 ÷ 36 pg/m^3 , przy objętości próbki powietrza 10 m^3 . Roztwory poddawano analizie chromatograficznej. Wykonano trzy serie wzorcowania. Uzyskane wyniki przedstawiono na rysunku 2.

Z przedstawionych danych wynika, że w badanym zakresie stężeń wskazania detektora w funkcji stężenia TCDD mają charakter liniowy ($r = 0,9976$). Współczynnik zmienności $CV = 5,32\%$ świadczy o dobrej

powtarzalności analiz. Dolna granica badanego zakresu stężeń (18 pg/ml) odpowiada stężeniu TCDD

w powietrzu 1,8 pg/m³, czyli około 1/10 proponowanej wartości NDS.



Rys. 2. Krzywa wzorcową TCDD w zakresie stężeń 18 ÷ 360 pg/ml

Badanie wydajności desorpcji TCDD z pianek poliuretanowych

Desorpcję prowadzono przy użyciu pianki poliuretanowej typu ORBO 2000, ORBO™ PUF Cartridge. Wcześniejsze badania prowadzone w Instytucie Medycyny Pracy i na świecie potwierdzają, że jest to najlepsze medium do pobierania próbek powietrza zawierających dioksyny (Dobrogowski i in. 2015). Taki sam sposób pobierania próbek powietrza przedsta-

wiono w normie PN-EN 1948-1. Badania wydajności desorpcji TCDD wykonywano, nanosząc na pianki poliuretanowe wzorec TCDD w ilości odpowiadającej stężeniom: 18; 90 i 180 pg/ml, co odpowiada wartościom: 0,1; 0,5 i 1 NDS. Prowadzono ekstrakcję pianek w aparacie Soxhleta przy użyciu toluenu. Ekstrakt zatężano do 100 µl i dalej postępowano w taki sam sposób, jak podano dla roztworów wzorcowych. Wyniki oznaczeń serii analiz przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Wyznaczanie współczynnika desorpcji/ekstrakcji TCDD z pianki poliuretanowej

Toluen, pianki poliuretanowe, numer serii	Naniesiona ilość TCDD, pg/ml			Średnia
	18	90	180	
Roztwory badane	Powierzchnie pików			
I	49,25	227,25	519,25	
II	51,21	225,23	516,41	
III	49,97	225,47	514,27	
Średnia	50,14	225,98	516,64	
Odchylenie standardowe, S	0,99	1,10	2,50	
Współczynnik zmienności, CV, %	1,98	0,49	0,48	0,98
Roztwory porównawcze	Powierzchnie pików			
I	63,21	270,25	610,59	
II	61,11	269,54	612,87	
III	59,25	273,12	624,15	
Średnia	61,19	270,97	615,87	
Odchylenie standardowe, S	1,98	1,90	7,26	
Współczynnik zmienności, CV, %	3,24	0,70	1,18	1,71
Średnia wartość wydajności ekstrakcji	81,9%	83,4%	83,9%	83,1%

Badanie wpływu przepuszczania powietrza

Możliwość powstawania strat TCDD podczas pobierania próbek powietrza badano, przepuszczając przez pianki poliuretanowe odpowiednio: 2; 5 i 10 m³ powietrza przy stałym przepływie 25 l/min. Badania prowadzono dla stężeń 90 pg/ml. Wyniki oznaczeń przedstawiono w tabeli 2. Z analizy zebra-

nych danych wynika, że pobranie założonej ilości powietrza (10 m³) nie powoduje powstawania istotnych strat TCDD zatrzymanej na piance poliuretanowej. Współczynnik wydajności desorpcji TCDD z pianek po przepuszczeniu 10 m³ powietrza wynosi średnio 90,1% (CV = 0,8%).

Tabela 2.
Wpływ objętości przepuszczonego powietrza na wymywanie TCDD z sorbentu

Naniesiona liczba TCDD – 90 pg/ml	Objętość przepuszczonego powietrza, m ³			
	0	2	5	10
Powierzchnie pików				
I	254,12	249,21	245,12	224,23
II	249,25	248,75	239,12	228,31
III	251,41	247,58	236,18	225,98
IV	250,17	247,29	235,19	227,25
Średnia	251,24	248,21	238,90	226,44
Standardowe odchylenie, <i>S</i>	2,12	0,92	4,47	1,76
Współczynnik zmienności, CV, %	0,8	0,4	1,9	0,8
Odzysk, %	100	98,8	95,1	90,1

Badanie warunków przechowywania pobranych próbek powietrza

Trwałość próbek, w zależności od czasu ich przechowywania, badano w następujący sposób: na pianki poliuretanowe nanoszono wzorec o stężeniu 90 pg/m, pianki umieszczano w szklanych, specjalnie przygotowanych do pobierania prób dioksyn opa-

kowaniach, szczelnie zamykano i przechowywano przez okres: 3; 5 i 15 dni w lodówce. Wyniki badań zestawiono w tabeli 3. Z analizy zebranych danych wynika, że pobrane próbki powietrza przechowywane w chłodziarce (+4 °C) są trwałe przez okres minimum 15 dni. Po 15 dniach przechowywania próbek (w opisanych warunkach) współczynnik desorpcji TCDD z pianek wynosił 91,8%.

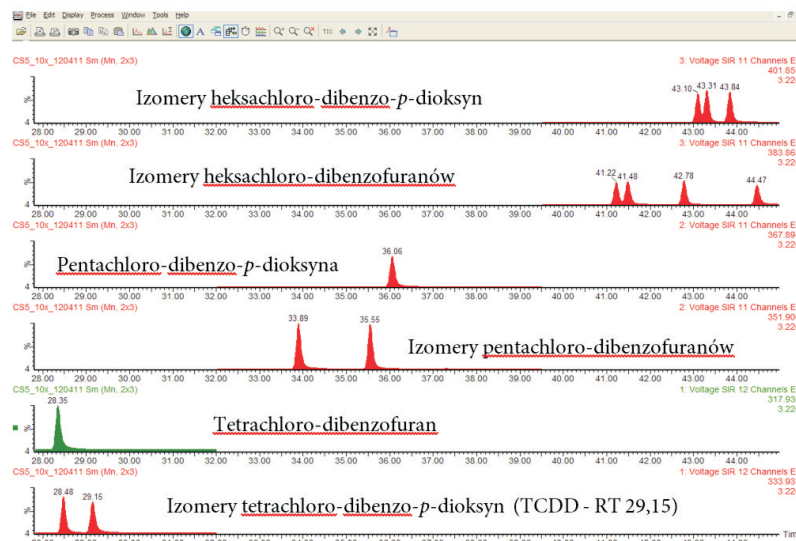
Tabela 3.
Badanie trwałości próbek TCDD przechowywanych w chłodziarce (+4 °C)

Naniesiona ilość TCDD/czas	Czas przechowywania, doby			
	0	3	10	15
Powierzchnie pików				
TCDD – 90 pg/ml	254,47	249,28	243,19	245,12
nanoszone na piankę poliuretanową	253,14	249,99	228,38	247,39
	251,28	253,18	245,87	242,19
Średnia	252,96	250,82	239,15	244,90
Standardowe odchylenie, <i>S</i>	1,60	2,08	9,42	2,61
Współczynnik zmienności, CV, %	0,63	0,83	3,94	1,06
Powierzchnie pików				
Roztwór porównawczy	265,12	270,15	271,24	266,85
TCDD – 90 pg/ml	264,49	266,27	269,97	263,87
	261,15	265,19	269,18	267,14
Średnia	263,59	267,20	270,13	265,95
Standardowe odchylenie, <i>S</i>	2,13	2,61	1,04	1,81
Współczynnik zmienności, CV, %	0,81	0,98	0,38	0,68
Odzysk, %	95,4	92,8	88,2	91,8

Specyficzność

Zastosowana do opracowania metody kolumna DB-5MS umożliwia oddzielenie TCDD od rozpuszczalników (toluenu, nonanu oraz innych zanieczyszczeń) stosowanych do desorpcji. Dodatkowo, specy-

ficzność oznaczeń zapewnia rejestrowanie sygnału za pomocą monitorowania wybranych jonów (ang. *single ion monitoring* – SIM) dla substancji oznaczanej. Przykładowe chromatogramy mieszaniny izomerów dioksyn i furanów przedstawiono na rysunku 3.



Rys. 3. Chromatogram wzorca kalibracyjnego mieszaniny dioksyn i furanów oznaczanych metodą HRGC/HRMS ($t_R = 29,15$ min to 2,3,7,8-TCDD, masa 333,93 Da)

Walidacja

Walidację metody przeprowadzono zgodnie z wymaganiami zawartymi w normie europejskiej PN-EN 482.

Wyznaczono następujące parametry walidacyjne:

- zakres pomiarowy metody od 1/10 do 2 wartości NDS,
- krzywa kalibracyjna, o wartości współczynnika korelacji $r = 0,998$, świadczy o liniowości wskazań detektora chromatografu gazowego w badanym zakresie stężeń,
- granice wykrywalności i oznaczalności TCDD,
- całkowitą precyzję metody.

Walidacja metody potwierdziła jej przydatność do zamierzonego zastosowania.

Na podstawie przeprowadzonych badań uzyskano następujące dane walidacyjne:

- granica wykrywalności, X_{gw} 3,1 pg/ml
- granica oznaczalności, X_{ozn} 10,3 pg/ml
- całkowita precyzja badania, V_c 5,32%
- niepewność całkowita metody 10%.

Obliczanie WHO-TEQ

Toksyczność badanej próby wyznaczano za pomocą równoważnika toksyczności WHO-TEQ (ang. *World Health Organization Toxicity Equivalent*) będącego sumą iloczynów stężenia danego związku i współczynnika równoważnego toksyczności TEF (wzór). W przypadku określenia narażenia na jeden związek TCDD – podaje się tylko stężenie tego jednego związku.

Wartość WHO-TEQ dla TCDD obliczono na podstawie wzoru:

$$\text{WHO-TEQ} = \Sigma(\text{PCDD}_i \times \text{TEF}_i) + (\text{PCDF}_j \times \text{TEF}_j) + (\text{dl-PCB}_k \times \text{TEF}_k),$$

gdzie: i, j, k... – to kolejne związki z grupy 29 TZO wraz z ich współczynnikami TEF.

Na podstawie przedstawionego wyliczenia otrzymano wartość nazywaną poziomem toksyczności analizowanej próbki. Wartość ta jest najczęściej wyrażona w pg WHO-TEQ/g. Ustalone w 1998 roku współczynniki TEF dla większości związków uległy zmianie w roku 2005. Część z nich została zwiększona, część zmniejszona (*van den Berg* i in. 2006).

PODSUMOWANIE

W wyniku przeprowadzonych badań opracowano czułą i selektywną metodę oznaczania 2,3,7,8-TCDD w powietrzu na stanowiskach pracy z wykorzystaniem techniki chromatografii gazowej z wysokorozdzielczą spektrometrią mas.

Na podstawie przeprowadzonych badań opracowano metodę oznaczania TCDD w powietrzu na stanowiskach pracy z zastosowaniem wysokosprawnej chromatografii gazowej sprzężonej z wysokorozdzielczym spektrometrem mas (HRGC/HRMS).

Wskazania detektora mas w funkcji stężenia TCDD, w badanym zakresie stężeń, mają charakter liniowy, a współczynnik korelacji wynosi $r^2 = 0,9976$.

Do pochłaniania par TCDD z powietrza należy stosować pianki poliuretanowe typu ORBO 2000, ORBO™ PUF Cartridge.

TCDD jest ekstrahowana z pianki poliuretanowej za pomocą toluenu z wydajnością wynoszącą 83,1%, co w przypadku związku należącego do TZO jest wartością zadowalającą.

Pobrane na pianki poliuretanowe próbki powietrza można przechowywać w chłodziarce nie dłużej niż 15 dni.

Zalecana jest objętość próbki pobieranego powietrza 10 m³.

Metoda, przedstawiona w załączniku, umożliwia oznaczanie TCDD o stężeniach od 1,8 pg/m³, co odpowiada około 1/10 proponowanej wartości NDS.

Zaproponowana dla TCDD metodyka jest specyficzna w obecności stosowanych rozpuszczalników, również w obecności innych 10 najgroźniejszych dioksyn. Dodatkowo specyficzność zapewnia rejestrowanie sygnału za pomocą selektywnego monitorowania jonów (SIM), gdyż wybrane jony z widma mas TCDD nie występują w widmach substancji współwystępujących. Konieczna jest do tego rozdzielczość spektrometru mas minimum 8 000.

Opracowana metoda oznaczania stężeń TCDD może być wykorzystana przez laboratoria higieny pracy i stacje sanitarno-epidemiologiczne do wykonywania pomiarów stężeń tej substancji w powietrzu na stanowiskach pracy w celu dokonywania oceny narażenia pracowników.

Opracowaną metodę oznaczania TCDD w powietrzu na stanowiskach pracy zapisano w formie procedury analitycznej, którą zamieszczono w załączniku.

PIŚMIENNICTWO

Dobrogowski M., Wesołowski W., Kucharska M., Paduszyńska K., Dworzyńska A., Szymczak W., Sapota A., Pomorski L. (2015). Health Risk To Medical Personnel Of Surgical Smoke Produced During Laparoscopic Surgery. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health* 28(5), 831–840.

Dudzińska M.R., Kozak Z. (2001). Polichlorowane dibenzo(p) dioksyny i dibenzofurany – właściwości i oddziaływanie na środowisko. Wydawnictwo Politechniki Lubelskiej, Lublin [publication in Polish].

Letcher R.J., Bustnes J.O., Dietz R., Jenssen B.M., Jorgensen E.H., Sonne C., Verreault J., Vijayan M.M., Gabrielsen G.W. (2010). Exposure and effects assessment of persistent organohalogen contaminants in arctic wildlife and fish. *Sci. Total Environ.* 408, 2995–3043.

Method EPA 1613 (1994). Tetra-through Octa-Chlorinated PCDDs/PCDFs and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS.

Moirangthema V., Katz W.S., Su W., Choi E.Y., Dingle R.W.C., Zeigler G.M., Everson W.V., Jennings C.D., Gong M., Swanson H.I. (2011). Impact of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on cutaneous wound healing. *Exp. Toxicol. Pathol.* 65(1-2), 61–67.

Piskorska-Pliszczyńska J. (1999). Dioksyny i związane z nimi zagrożenia zdrowia. *Med. Wet.* 55, 491–496 [publication in Polish].

PN-EN-482+A1:2016-01. Powietrze na stanowiskach pracy. Wymagania ogólne dotyczące charakterystyki procedur pomiarów czynników chemicznych [Polish standard].

PN-EN 1948-1:2006 Emisja ze źródeł stacjonarnych. Oznaczenie stężenia masowego PCDD/PCDF. Część 1: Pobieranie próbek [Polish standard].

Van den Berg M., Birnbaum L.S., Denison M., de Vito M., Farland W., Feeley M., Fiedler H., Hakansson H., Hanberg A., Haws L., Rose M., Safe S., Schrenk D., Tohyama C., Tritscher A., Tuomisto J., Tysklind M., Walker N., Peterson R.E. (2006). The 2005 World Organization Reevaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-Like Compounds. *Toxicol. Sci.* 93, 223–241.

PROCEDURA ANALITYCZNA OZNACZANIA 2,3,7,8-TETRACHLORODIBENZO-*p*-DIOKSYNY W POWIETRZU NA STANOWISKACH PRACY Z ZASTOSOWANIEM CHROMATOGRAFII GAZOWEJ ZE SPEKTROMETRIĄ MAS

1. Zakres stosowania metody

Metodę podaną w niniejszej procedurze stosuje się do oznaczania 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioksyne (TCDD; numer CAS: 1746-01-6) w powietrzu na stanowiskach pracy, z zastosowaniem chromatografii gazowej sprzężonej z wysokorozdzielczą spektrometrią mas. Metodę stosuje się podczas badania warunków sanitarnohigienicznych.

Najmniejsze stężenie TCDD, jakie można oznaczyć w warunkach pobierania próbek powietrza i wykonania oznaczeń opisanych w metodzie, wynosi 1,8 pg/m³ (dla próbki powietrza o objętości 10 m³).

2. Powołania normatywne

PN-EN 1948-1 Emisja ze źródeł stacjonarnych. Oznaczanie stężenia masowego PCDD/PCDF. Część 1: Pobieranie próbek.

3. Zasada metody

Metoda polega na: adsorpcji obecnej w powietrzu TCDD na piance poliuretanowej, ekstrakcji toluenem i analizie chromatograficznej wcześniej zatężonego roztworu.

4. Wytyczne ogólne

4.1. Czystość odczynników

Do analizy, o ile nie zaznaczono inaczej, należy stosować odczynniki i substancje wzorcowe o stopniu czystości co najmniej cz.d.a.

4.2. Dokładność ważenia

Substancje stosowane w analizie należy ważyć z dokładnością do 0,0002 g.

4.3. Postępowanie z substancjami toksycznymi

Wszystkie czynności związane z odważaniem substancji wzorcowych powinny odbywać się z użyciem rękawic gumowych i odzieży ochronnej. Czynności, podczas których używa się rozpuszczalników organicznych, należy wykonywać pod sprawnie działającym wyciągiem.

Zużyte roztwory i odczynniki należy gromadzić w przeznaczonych do tego celu pojemnikach i przekazywać do zakładów zajmujących się ich unieszkodliwianiem.

5. Odczynniki, roztwory i materiały

5.1. Wzorzec 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioksyne (TCDD)

Stosować handlowy wzorzec dioksyn (EDF-9999, CIL) o stężeniach oznaczonych odpowiednio od CS1 do CS5.

5.2. Toluen

Stosować toluen wg punktu 4.

5.3. Nonan

Stosować nonan wg punktu 4.

5.4. Gazy sprężone do chromatografu

Jako gaz nośny stosować hel.

5.5. Roztwór wzorcowy podstawowy 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioksyne (TCDD)

Przygotować roztwór wzorca CS2 wg punktu 5.1. poprzez jego 10-krotne rozcieńczenie.

5.6. Roztwory wzorcowe robocze 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioksyne (TCDD)

Do dziesięciu naczynek o pojemności 2 ml odmierzyć kolejno: 4,5; 9; 11; 23; 45; 68; 90; 113; 135; 158; 180 µl roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 5.5., uzupełnić nonanem do 100 µl, szczelnie zamknąć i wymieszać. Stężenie TCDD w tak przygotowanych naczynkach wynosi odpowiednio: 18; 23; 45; 90; 135; 180; 225; 270; 315; 360 pg/ml, co po pobraniu próbki powietrza o objętości 10 m³ odpowiada stężeniom 1,8 ÷ 36 pg/m³. Przygotowane roztwory są trwałe przez 15 dni.

6. Przyrządy pomiarowe i sprzęt pomocniczy

6.1. Chromatograf gazowy sprzężony ze spektrometrem mas

Stosować chromatograf gazowy sprzężony z wysokorozdzielczym spektrometrem mas umożliwiający wykonanie ustawienia rozdzielczości nie mniejszej niż 8 000.

6.2. Aparat Soxhleta

Stosować aparat do ekstrakcji typu Soxhlet.

6.3. Kolumna chromatograficzna

Stosować kolumnę chromatograficzną umożliwiającą oznaczanie TCDD (np. kolumnę DB-5MS o długości 60 m, średnicy 0,25 mm i grubości filmu fazy stacjonarnej 0,25 µm).

6.4. Mikrostrzykawki

Stosować mikrostrzykawki szklane do cieczy o pojemności, w mikrolitrach: 10; 25; 50; 100 i 500 z igłą.

6.5. Naczynka

Stosować szczelnie zamykane naczynka o pojemności 2 ml.

6.6. Pompa ssąca

Stosować pompę ssącą umożliwiającą pobranie próbek powietrza ze stałym strumieniem objętości wg punktu 7.

6.7. Pianki poliuretanowe

Stosować pianki ORBO 2000 i ORBO™ PUF.

6.8. Pojemnik na pianki poliuretanowe

Stosować dostępne w handlu pojemniki na pianki poliuretanowe typu Orbo PUF 2000 lub 2500.

7. Pobieranie próbek powietrza

Próbki powietrza należy pobierać zgodnie z wymaganiem zawartymi w normie PN-EN 1948-1. W miejscu pobierania próbek powietrza, przez pojemnik z pianką poliuretanową, przepuścić do 10 m³ badanego powietrza ze strumieniem objętości nie większym niż 25 l/min. Pobrane próbki, przechowywane w chłodziarce, zachowują trwałość przez 15 dni.

8. Warunki pracy chromatografu

Warunki pracy chromatografu należy tak dobrać, aby uzyskać rozdzielenie TCDD od innych substancji występujących jednocześnie w badanym powietrzu.

W przypadku stosowania kolumny chromatograficznej wg punktu 6.3. oznaczanie można wykonać przy zastosowaniu warunków podanych w dalszej części tekstu.

Warunki pracy chromatografu gazowego są następujące:

- temperatura dozowania 270 °C
- temperatura kolumny (programowana):
 - temperatura początkowa 150 °C przez 2 min
 - I przyrost temperatury 20 °C/min do 200 °C, 0.0 min
 - II przyrost temperatury 1°C/min do 220 °C przez 16 min
 - III przyrost temperatury 3 °C/min do 320 °C przez 3 min
- czas analizy 65 min
- strumień objętości gazu nośnego (hel) 1,6 ml/min
- dozowanie próbki 2 µl.

Warunki pracy wysokorozdzielczego spektrometru mas są następujące:

- rodzaj jonizacji jonizacja elektro-nowa EI
- temperatura źródła jonów 250 °C
- geometria analizatora EBE
- rozdzielczość min. 8 000 (5% dolina)
- tryb pracy SIR
- ilość funkcji rejestracji mas 5
- wzorzec mas perfluorokerozen.

9. Sporządzanie krzywej wzorcowej

Do chromatografu wprowadzić po 2 µl roztworów wzorcowych roboczych TCDD wg punktu 5.5. Z każdego roztworu wzorcowego należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać powierzchnie pików wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% tej wartości. Następnie wykreślić krzywą wzorcową, odkładając na osi odczytanych zawartość TCDD wyrażoną w pg w 100 µl roztworu wzorcowego (co odpowiada zawartości w próbce), a na osi rzędnych – odpowiadające im powierzchnie pików wg wskazań integratora.

Dopuszcza się korzystanie z automatycznego wzorcowania i generacji raportów integratorów lub komputerowych stacji akwizycji danych zgodnie z ich instrukcjami obsługi.

10. Wykonanie oznaczania

Po pobraniu próbki powietrza wg punktu 7., umieścić piankę poliuretanową w aparacie wg punktu 6.2. i ekstrahować piankę poliuretanową za pomocą 50 ml toluenu wg punktu 5.2. przez 16 godzin. Otrzymany ekstrakt zatężyć do objętości 100 µl. Następnie pobrać 2 µl roztworu i badać chromatograficznie w warunkach określonych w punkcie 10. Z każdego roztworu należy wykonać dwukrotny pomiar. Odczytać z uzyskanych chromatogramów powierzchnie pików wg wskazań integratora i obliczyć średnią arytmetyczną. Różnica między wynikami pomiarów a wartością średnią nie powinna być większa niż 5% tej wartości. Zawartość TCDD w próbce odczytać z wykresu krzywej wzorcowej lub wyliczyć.

11. Wyznaczanie współczynnika desorpcji

Do pianki poliuretanowej, umieszczonej w pojemniku wg punktu 6.8., dodać mikrostrzykawką zawartość TCDD odpowiadającą ilości w 10-m³ próbce powietrza o stężeniu zbliżonym do wartości NDS. Pojemnik szczelnie zamknąć i pozostawić na 2 godziny. Po tym czasie przeprowadzić ekstrakcję i załóżanie do 100 µl. Jednocześnie wykonać oznaczanie co najmniej trzech roztworów porównawczych przygotowanych przez wprowadzenie tej samej ilości roztworu wzorcowego podstawowego wg punktu 5.5. do naczynek, uzupełniając ich zawartość nonanem do 100 µl. Współczynnik desorpcji TCDD (d) obliczyć na podstawie wzoru:

$$d = \frac{P_a - P_o}{P_p},$$

w którym:

- P_a – średnia powierzchnia piku TCDD z chromatogramów roztworu po desorpcji, wg wskazań integratora,
- P_o – średnia powierzchnia piku o czasie retencji TCDD z chromatogramów roztworu kontrolnego, wg wskazań integratora,
- P_p – średnia powierzchnia piku TCDD z chromatogramów roztworów porównawczych, wg wskazań integratora.

Następnie obliczyć średnią wartość współczynnika desorpcji TCDD (\bar{d}), jako średnią arytmetyczną otrzymanych wartości. Różnice między wynikami a wartością średnią nie powinny być większe niż $\pm 5\%$ tej wartości. Współczynnik desorpcji należy zawsze wyznaczać dla nowej partii pianek poliuretanowych.

12. Obliczanie wyniku oznaczania

Stężenie TCDD (X) w badanym powietrzu obliczyć w pikogramach na metr sześcienny na podstawie wzoru:

$$X = m / (V \cdot \bar{d}),$$

w którym:

- m – masa TCDD w roztworze po ekstrakcji odczytana z krzywej wzorcowej, w pikogramach,
- V – objętość przepuszczonego powietrza przez piankę poliuretanową, w metrach sześciennych,
- \bar{d} – średnia wartość współczynnika desorpcji wyznaczana zgodnie z punktem 12.

dr MAREK ZIELIŃSKI

e-mail: marek.zielinski@imp.lodz.pl

mgr EWA TWARDOWSKA

e-mail: ewa.twardowska@imp.lodz.pl

dr MAŁGORZATA KUCHARSKA

e-mail: malgorzata.kucharska@imp.lodz.pl

Instytut Medycyny Pracy im. prof. dr. med. Jerzego Nofera,
91-348 Łódź, ul. św. Teresy od Dzieciątka Jezus 8
POLAND

