

Agata Dąbrowska, Kamila Binkiewicz, Jacek Nawrocki

Badanie zawartości benzofenonów w wodach powierzchniowych z wykorzystaniem techniki GC-ECD

Wśród związków organicznych obecnych w środowisku wodnym, obok farmaceutyków, jest znacząca grupa konserwantów, a wśród nich benzofenony [1–6]. Spełniają one rolę filtrów chemicznych chroniących skórę przed negatywnymi skutkami oddziaływania promieniowania nadfioletowego. Promieniowanie słoneczne przy zbyt intensywnej ekspozycji przyczyniać się może do niszczenia włókien kolagenowych, w wyniku czego zmniejsza się odporność immunologiczna skóry. Promieniowanie to jest odpowiedzialne także za tworzenie nadmiernej ilości wolnych rodników, które są przyczyną uszkodzeń w strukturze białek, co może prowadzić do powstania nowotworów [7].

Benzofenony stosowane są nie tylko w specjalistycznych kremach i mleczkach służących bezpośrednio do ochrony skóry przed rakotwórczym działaniem promieniowania nadfioletowego, ale dodawane są do farmaceutyków oraz do powszechnie używanych środków higieny osobistej, takich jak szampony, płyny do kąpieli, mydła w płynie itp., a także do kosmetyków, farb i lakierów. Benzofenony wykorzystuje się również przy produkcji opakowań z tworzyw sztucznych, w celu przedłużenia trwałości przechowywanych w nich produktów, mogących ulegać łatwej destrukcji przy dostępie światła słonecznego. Mimo niewątpliwych zalet benzofenonów jako filtrów słonecznych, istnieje konieczność ich monitorowania w środowisku, ponieważ związki te mogą wywoływać alergię skórne, a benzofenon-3 (B-3) i jego metabolit (2,4-dihydroksybenzofenon) podejrzane są o działanie estrogeniczne. Jak wynika z badań wielu autorów, benzofenony są obecnie wykrywane w środowisku wodnym w krajach europejskich w ilościach od kilku $\mu\text{g}/\text{m}^3$ do kilku mg/m^3 [1–6,8]. Związki te wykrywane są nie tylko w ściekach komunalnych, ale również w wodach powierzchniowych – rzekach i jeziorach, a także przybrzeżnych wodach morskich. Niektóre z filtrów UV mają charakter lipofilowy i ulegają bioakumulacji w rybach, osadach i glebie [8]. Zauważono, że latem stężenia benzofenonów są najwyższe, np. w lipcu zawartość benzofenonu-4 (B-4) w ściekach surowych wynosiła $1481 \mu\text{g}/\text{m}^3$, w wodzie rzecznej $849 \mu\text{g}/\text{m}^3$, a w wodzie morskiej $138 \mu\text{g}/\text{m}^3$ [8]. W innych badaniach przeprowadzonych w okresie letnim zawartość B-3 w ściekach surowych wynosiła $1195 \mu\text{g}/\text{m}^3$, a B-4 aż $4150 \mu\text{g}/\text{m}^3$ [5]. W pracy [1] zwrócono uwagę na występującą zależność między stężeniem benzofenonów w wodzie a głębokością

poboru próbek – w powierzchniowych warstwach jeziora o typowym przeznaczeniu rekreacyjnym na głębokości ok. 0,3 m oznaczano wyraźnie większe stężenia benzofenonów niż na głębokości 8 m. Stwierdzono, że benzofenony są na ogół skutecznie usuwane ze ścieków w procesach biologicznych [8,9]. Skuteczność usuwania benzofenonu-3 w różnych oczyszczalniach ścieków była zróżnicowana, od zaledwie 28÷31% do 68÷96%, przy czym brak biologicznego stopnia oczyszczania ścieków wyraźnie zmniejszał skuteczność usuwania [9]. W oczyszczalni ścieków z osadem czynnym benzofenony B-1 i B-3 usuwane były w 95÷99% [5].

W niniejszej pracy podjęto badania zawartości benzofenonów w wodzie z Warty oraz w wodzie z małej rzeki Bogdanki, a także określono wpływ oczyszczalni ścieków komunalnych na obecność benzofenonów w wodzie powierzchniowej. Metodyka analityczna oznaczania konserwantów jest złożona i wymaga rozdzielania chromatograficznego z zastosowaniem spektrometrii mas (MS) lub tandemowej spektrometrii mas (MS-MS) [5,6]. Autorzy opracowali metodę oznaczania benzofenonu-1 i benzofenonu-3 techniką chromatografii gazowej z detektorem wychwytu elektronów (GC-ECD) ze wstępnym upochodnieniem oznaczanych substancji.

Metodyka badań

Próbki do badań pobrano w trzech mechaniczno-biologicznych oczyszczalniach ścieków:

- w Koziegłowach o wydajności 200 tys. m^3/d , obsługującej ok. 600 tys. mieszkańców,
- w Łęczycy o wydajności 2,5 tys. m^3/d , obsługującej ok. 8 tys. mieszkańców,
- w Szlachęcinie o wydajności 3,5 tys. m^3/d , obsługującej ok. 12 tys. mieszkańców.

Analizie poddano zarówno ścieki surowe, jak i oczyszczone. W próbkach ścieków oznaczono zawartość ogólnego węgla organicznego (OWO), zawartość B-1 i B-3 oraz pH. OWO oznaczono przy zastosowaniu analizatora AUORA 1030 firmy I.O. Analytical, wykorzystującego metodę mokrego utleniania węgla organicznego nadsiaczaniem sodu ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$) w środowisku kwasowym w temperaturze 100°C (czułość metody $0,1 \text{ gC}/\text{m}^3$).

Średnia zawartość OWO w ściekach surowych wahała się w granicach od $115 \text{ gC}/\text{m}^3$ do $150 \text{ gC}/\text{m}^3$ (tab. 1), natomiast w ściekach oczyszczonych była znacząco mniejsza i wynosiła $20 \text{ gC}/\text{m}^3$. Wartość pH badanych próbek wahała się od 6,2 do 7,2.

Tabela 1. Charakterystyka ścieków surowych
Table 1. Characterization of raw wastewater

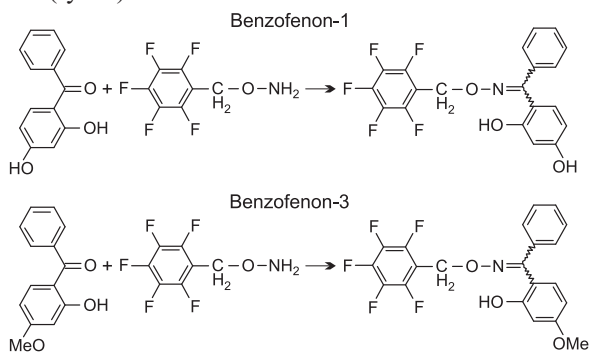
| Oczyszczalnia | OWO, gC/m ³ | pH |
|---------------|------------------------|-----|
| Szlachęcin | 115 | 6,2 |
| Koziegłowy | 130 | 6,8 |
| Łęczycza | 150 | 7,2 |

Próbki wód powierzchniowych pobrano z Warty w samym centrum Poznania, a także z miejsc położonych poniżej i powyżej miasta oraz z Bogdanki, przepływającej przez miejski park im. Adama Wodźniczki w Poznaniu. Próbki wody zostały pobrane bezpośrednio przed analizą do 2,5-litrowych butli ze szkła bursztynowego. Próbki przechowywano w temperaturze 4 °C i analizowano w ciągu 24 h od momentu pobrania.

Opracowano metodę oznaczania benzofenonów B-1 i B-3 techniką GC-ECD, ze wstępnym upochodnieniem badanych związków. Przy ustalaniu optymalnych warunków analizy brano pod uwagę dobór następujących parametrów:

- wybór odczynnika upochodniającego: trichlorofenylohydrazyna (TCPH), O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)-hydroksylamina (PFBOA),
- parametry prowadzenia procesu upochodniania: pH, czas reakcji, temperatura reakcji,
- wybór metody i czasu ekstrakcji pochodnych: SPE, LLE,
- dobór optymalnego rozpuszczalnika organicznego,
- dobór warunków rozdzielania chromatograficznego i oznaczania.

Po ustaleniu optymalnych warunków wybrano następującą technikę oznaczania benzofenonu-1 i benzofenonu-3: Próbkę o objętości 1 dm³ oczyszczono wstępnie na filtrze z włókna szklanego typu GF/F-0,7 μm firmy Whatman. Ze względu na obecność w benzofenonach grupy karbonylowej, zaproponowano upochodnienie (podobnie jak w przypadku aldehydów) przy pomocy PFBOA w ilości 3 g/m³ [10–12]. Proces ten prowadzono przez 1 h w temperaturze 20 °C (rys. 1).



Rys. 1. Reakcje benzofenonów z O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)-hydroksyloaminą (PFBOA)
Fig. 1. Reactions of benzophenones with O-(2,3,4,5,6-pentafluorobenzyl)-hydroxylamine (PFBOA)

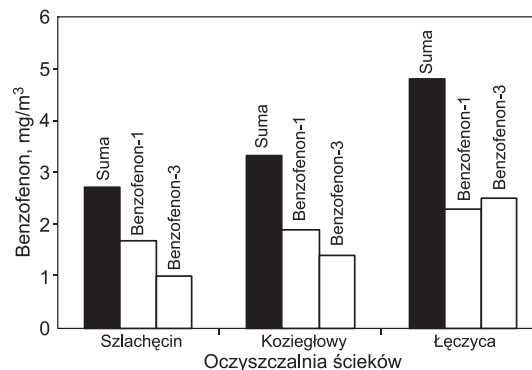
Powstające oksymy ekstrahowano oktanołem w ilości 1 cm³. Następnie ekstrakt oczyszczono w roztworze kwasu siarkowego (0,05 kmol/m³) i analizowano przy użyciu chromatografu gazowego GC 8000 firmy Fisons Instruments wyposażonego w detektor wychwyty elektronów (źródło elektronów z promieniotwórczego Ni⁶³).

Rozdział związków przeprowadzono na kolumnie RTX-5MS (30 m × 0,25 mm × 0,25 μm) oraz na kolumnie porównawczej DB-608 (30 m × 0,32 mm × 0,5 μm). Jako gaz nośny wykorzystano hel o czystości 5,0, a jako gaz

(tzw. make-up) do detektora ECD azot o czystości 6,0. Program temperaturowy pieca był następujący: 80 °C przez 2 min, następnie powolny przyrost temperatury 5 °C/min do 240 °C, a następnie kolejny przyrost temperatury 20 °C/min do 290 °C i wygrzewanie kolumny przez 2 min. Program ten umożliwił uzyskanie równoczesnego rozdzielania także innych związków karbonylowych obecnych powszechnie w próbkach środowiskowych, np. formaldehydu, acetaldehydu czy acetonu. Objętość próbki nanoszonej do kolumny w systemie bezpośredniego nastrzyku (on-column) wynosiła 0,5 μl lub 1 μl. Wzorce badanych benzofenonów dostarczone były z firmy Aldrich. Wzorec podstawowy o stężeniu 10 μg/μl przygotowano w metanolu o czystości 99,8% (firmy Baker). Roztwory przechowywano w zamrażarce w ciągu 2 tyg., natomiast roztwory robocze o stężeniu 10 ng/μl przygotowano za każdym razem na świeżo poprzez odpowiednie rozcieńczenie roztworu podstawowego w metanolu. Następnie roztwory robocze wykorzystano do przygotowania odpowiednich krzywych kalibracyjnych. Roztwory wzorców stosowanych do wyznaczenia krzywych kalibracyjnych poddano procesowi upochodnienia i oznaczano w identyczny sposób jak próbki. Opracowana metoda analityczna z zastosowaniem układu GC-ECD pozwala na oznaczanie B-1 i B-3 na poziomie stężenia 10 μg/m³.

Dyskusja wyników

Z terenu województwa wielkopolskiego odprowadza się rocznie około 130 mln m³ ścieków, z czego około 80% stanowią ścieki z gospodarstw domowych i zakładów przemysłowych [13]. Próbki ścieków do badań pobrano w okresie wiosennym (marzec–maj 2009 r.) z trzech różnych oczyszczalni. Największą zawartość benzofenonów oznaczono w ściekach surowych pobranych z oczyszczalni w Łęczycy (rys. 2), której wydajność jest najmniejsza wśród oczyszczalni wytypowanych do badań (2500 m³/d).



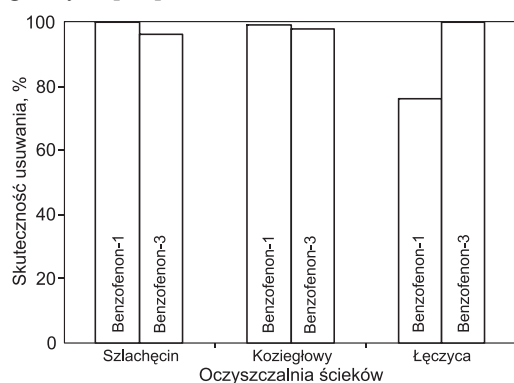
Rys. 2. Zawartość benzofenonów w ściekach surowych
Fig. 2. Concentrations of benzophenones in raw wastewater

W ściekach tych była również największa zawartość ogólnego węgla organicznego (tab. 1). Suma oznaczonych benzofenonów (B-1 i B-3) osiągnęła 4,8 mg/m³, przy czym zawartości benzofenonu-1 i benzofenonu-3 były bardzo zbliżone. Mimo że oczyszczalnia w Koziegłowach odbiera obecnie ścieki z całego Poznania (ok. 600 tys. mieszkańców), to jednak stężenia benzofenonów w ściekach surowych były mniejsze niż w ściekach z oczyszczalni w Łęczycy i ich suma wynosiła 3,3 mg/m³. W ściekach tych oznaczono również mniejszą zawartość OWO.

Najmniejszą zawartość benzofenonów – 2,7 mg/m³ – oznaczono w ściekach z oczyszczalni w Szlachęcinie (rys. 2). W ściekach tych oznaczono też najmniej OWO.

Mniejszą zawartość benzofenonów w ściekach z dużej oczyszczalni (odbierającej ścieki z Poznania) może wynikać z rozcieńczenia ścieków bytowo-gospodarczych ściekami przemysłowymi. Poznań należy do miast dobrze uprzemysłowionych, a przemysł w Wielkopolsce zużywa do swoich celów ponad 86% całkowitego poboru wody [13]. Na podstawie uzyskanych wyników można oszacować ładunek benzofenonów (B-1 i B-3) w ściekach surowych. W przypadku Poznania ładunek sumy benzofenonów może wynieść aż 660 g/d (241 kg/a), w przypadku Łęczycy – 12 g/d (4,4 kg/a), a w przypadku Szlachęcina – 9 g/d (3,3 kg/a). Przyjmując, że cała oznaczona suma benzofenonów w ściekach pochodzi od mieszkańców, a nie z innych źródeł (np. z przemysłu spożywczego czy farmaceutycznego) można oszacować, że jeden mieszkaniec Poznania wprowadza do ścieków rocznie około 400 mg benzofenonów.

Przeprowadzone badania zawartości benzofenonów w ściekach oczyszczonych wykazały bardzo dużą skuteczność usuwania tych zanieczyszczeń we wszystkich monitorowanych oczyszczalniach (rys. 3). Jak można zauważyć, zarówno B-1, jak i B-3 były usuwane ze ścieków praktycznie w 100%, jedynie w oczyszczalni w Łęczycy skuteczność usuwania benzofenonu-1 była nieco mniejsza (76%). Wyniki te potwierdziły opinie wielu autorów o dobrej skuteczności usuwania benzofenonów ze ścieków w procesach biologicznych [5,9].

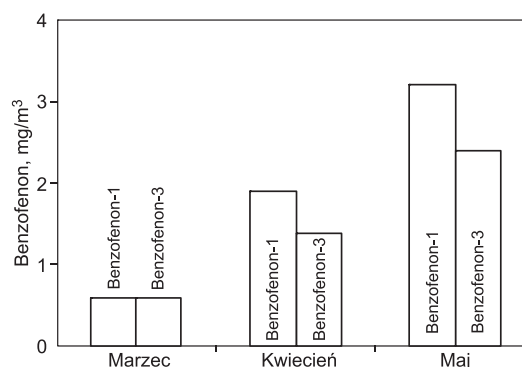


Rys. 3. Skuteczność usuwania benzofenonów w oczyszczalniach ścieków

Fig. 3. Efficiencies of benzophenone removal attained by wastewater treatment plants

Badania pozwoliły także zaobserwować wyraźną tendencję wzrostu zawartości B-1 i B-3 w ściekach surowych w porze roku sprzyjającej stosowaniu środków ochronnych przed promieniowaniem słonecznym (rys. 4). Wiosenna i letnia rekreacja na wolnym powietrzu, aktywniejsze uprawianie sportu, a także wykonywanie różnych prac w ogrodnictwie czy budownictwie prowadzi do zwiększonego zużycia środków higieny osobistej, takich jak mydła, szampony, płyny do kąpieli, dezodoranty itd., w skład których wchodzi analizowane związki. Wyniki pokazały, że najmniejsze stężenie benzofenonów obserwowano w marcu, które jednak sukcesywnie rosło i już w maju zawartość benzofenonu-3 w ściekach surowych wynosiła 3,2 mg/m³. Podobną korelację między porą roku i zawartością benzofenonów w środowisku stwierdzono wyraźnie w krajach, w których turystyka jest szczególnie mocno rozwinięta (Włochy, Hiszpania, Grecja, Szwajcaria) [2–4,8].

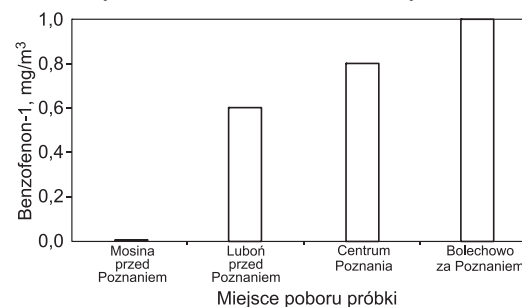
Mimo iż benzofenony mogą być skutecznie usuwane w procesach oczyszczania ścieków, wykazano przedostawanie się benzofenonów do wód powierzchniowych. Stwierdzono ich obecność zarówno w wodach Warty, jak i w mniejszej przepływającej przez Poznań Bogdance.



Rys. 4. Zawartość benzofenonów w ściekach surowych w oczyszczalni Koziegłowy (2009)

Fig. 4. Concentrations of benzophenones in the raw wastewater entering the Koziegłowy Wastewater Treatment Plant (2009)

Częściej identyfikowany był benzofenon-1, a jego stężenie w Warcie dochodziło nawet do 1 mg/m³. Benzofenon-3 był identyfikowany również w wodzie z obu rzek, lecz maksymalnie osiągał stężenie 0,3 mg/m³. Ponieważ benzofenon-1 może być jednym z metabolitów benzofenonu-3, stąd prawdopodobnie jego większa obecność w wodzie. Na podstawie badań zawartości benzofenonu-1 w próbkach wody pobranych z Warty przed i za Poznaniem (rys. 5) można stwierdzić znaczący wpływ miasta na obecność analizowanych zanieczyszczeń w środowisku wodnym.



Rys. 5. Profil stężenia benzofenonu-1 w wodzie z Warty
Fig. 5. Concentration profile for benzophenone-1 in the water of the Warta river

Podsumowanie

Benzofenony – związki spełniające rolę filtrów chemicznych chroniących przed negatywnymi skutkami promieniowania nadfioletowego – stosowane są coraz powszechniej w wielu kosmetykach i środkach higieny osobistej, jednak nie były do tej pory w Polsce monitorowane, mimo że coraz częściej światowa literatura informuje o ich przedostawaniu się do środowiska.

Stosowana do tej pory analityka benzofenonów wymaga wykorzystania technik chromatograficznych ze spektrometrią mas. Zaproponowana nowa metodyka oznaczania benzofenonu-1 i benzofenonu-3 polega na wykorzystaniu chromatografii gazowej z selektywnym detektorem wychwyty elektronów (GC-ECD), po uprzednim upochodnieniu benzofenonów bezpośrednio w próbce odczynnikiem PFBOA, a następnie ekstrakcji rozpuszczalnikiem organicznym. Opracowana technika analityczna może być wykorzystana w oznaczaniu benzofenonów w próbkach środowiskowych, takich jak wody powierzchniowe i ścieki, na poziomie stężeń 10 µg/m³.

Badania wykazały zawartość benzofenonów w ściekach surowych w ilości do prawie 5 mg/m³. Potwierdzono, że biologiczne oczyszczanie ścieków umożliwia usuwanie benzofenonów prawie ze 100% skutecznością. Obecność

benzofenonu-3 stwierdzono również w wodach powierzchniowych będących odbiornikami ścieków (Warta, Bogdanka) w ilości do $0,3 \text{ mg/m}^3$, a benzofenonu-1 do 1 mg/m^3 . Ze względu na specyfikę stosowania benzofenonów, można się spodziewać ich większej zawartości w ściekach w miesiącach letnich. Ze względu na skutki uboczne, jakie może wywoływać niekontrolowana ich obecność w środowisku wodnym, benzofenony powinny być rutynowo monitorowane w wodach powierzchniowych, a metodyki ich oznaczania stale rozwijane.

LITERATURA

1. T. POIGER, H.-R. BUSER, M.E. BALMER, P.-A. BERGQVIST, M.D. MÜLLER: Occurrence of UV filter compounds from sunscreens in surface waters: regional mass balance in two Swiss lakes. *Chemosphere* 2004, Vol. 55, pp. 951–963.
2. M.E. BALMER, H.R. BUSER, M.D. MÜLLER, T. POIGER: Occurrence of some organic UV filters in wastewater, in surface waters and in fish from Swiss lakes. *Environ. Sci. Technol.* 2005, Vol. 39 (4) pp. 953–962.
3. D.L. GIOKAS, V.A. SAKKAS, T.A. ALBANIS: Determination of residues of UV filters in natural waters by solid-phase extraction coupled to liquid chromatography–photodiode array detection and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2004, 1026, pp. 289–293.
4. N. NEGREIRA, I. RODRIGUEZ, M. RAMIL, E. RUBI, R. CELA: Sensitive determination of salicylate and benzophenone type UV filters in water samples using solid-phase microextraction, derivatization and gas chromatography tandem mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* 2009, 638, pp. 36–44.
5. B. KASPRZYK-HORDERN, R.M. DINSDALE, A.J. GUWY: The removal of pharmaceuticals, personal care products, endocrine disruptors and illicit drugs during wastewater treatment and its impact on the quality of receiving waters. *Water Research* 2009, Vol. 43, pp. 363–380.
6. B. KASPRZYK-HORDERN, R.M. DINSDALE, A.J. GUWY: The effect of signal suppression and mobile phase composition on the simultaneous analysis of multiple classes of acidic/neutral pharmaceuticals and personal care products in surface water by solid-phase extraction and ultra performance liquid chromatography–negative electrospray tandem mass spectrometry. *Talanta* 2008, Vol. 74, pp. 1299–1312.
7. D. WOJTKOWIAK, A. PODHAJSKA, J. ŁUKASIAK: Efekty oddziaływania promieniowania elektromagnetycznego – rola kosmetyków. *Polish Journal of Cosmetology* 1999, No. 1, pp. 10–33.
8. R. RODIL, J.B. QUINTANA, P. LÓPEZ-MAHIA, S. MUNIATEGUI-LORENZO, D. PRADA-RODRIGUEZ: Multi-class determination of sunscreen chemicals in water samples by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical Chemistry* 2008, Vol. 80 (4), pp. 1307–1315.
9. W. LI, Y. MA, C. GUO, W. HU, K. LIU, Y. WANG, T. ZHU: Occurrence and behavior of four of the most used sunscreen UV filters in a wastewater reclamation plant. *Water Research* 2007, Vol. 41, pp. 3506–3512.
10. A. DĄBROWSKA, J. NAWROCKI: Aldehydy i ketony. W: Uboczne produkty dezynfekcji wody [red. J. DOJLIDO]. Monografie PZITS, Seria: Wodociągi i Kanalizacja nr 9, Warszawa 2002, ss. 89–99.
11. A. DĄBROWSKA, A. BORCZ, J. NAWROCKI: Aldehyde contamination of mineral water stored in PET bottles. *Food Additives and Contaminants* 2003, Vol. 20 (12) pp. 1170–1177.
12. A. DĄBROWSKA, J. ŚWIETLIK, J. NAWROCKI: Formation of aldehydes upon ClO_2 disinfection. *Water Research* 2002, Vol. 37, pp. 1161–1169.
13. Raport o stanie środowiska w Wielkopolsce w roku 2004. Inspekcja Ochrony Środowiska, Biblioteka Monitoringu Środowiska, Poznań 2005.

Dąbrowska, A., Binkiewicz, K., Nawrocki, J. Determination of Benzophenones in Surface Waters by GC-ECD Method. *Ochrona Środowiska* 2009, Vol. 31, No. 3, pp. 57–60.

Abstract: So far, the use of gas chromatography and mass spectrometry has been an essential requisite for the analysis of benzophenones. The new method proposed in this paper consists in determining benzophenone-1 and benzophenone-3 by means of gas chromatography combined with electron capture detection (GC-ECD), upon direct derivatization of benzophenones in the sample with the PFBOA reagent, followed by extraction using an organic solvent. The method can be used to determine benzophenones in the aquatic environment, e.g. in surface water and wastewater, at concentrations of $10 \mu\text{g/m}^3$. The study

has demonstrated that benzophenone concentrations in raw wastewater reach nearly 5 mg/m^3 , and that biological treatment provides an approximately 100% efficiency of benzophenone removal. The presence of benzophenone-3 and benzophenone-1 was also detected in surface waters receiving wastewater discharges (Warta and Bogdanka rivers), where their concentration amounted up to 0.3 mg/m^3 and 1 mg/m^3 , respectively. Considering the potential side effects associated with their uncontrolled presence in the aquatic environment, it is recommended that in surface waters benzophenones should be monitored routinely, and that the analytical methods which are in use should be subject to continuous development.

Keywords: Benzophenones, GC-ECD methods, wastewater treatment, surface waters.