

Anna Król, Jadwiga Holewa
Instytut Nafty i Gazu, Kraków

Oznaczanie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w biogazie

Wstęp

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) to grupa związków chemicznych o stwierdzonych właściwościach nowotworczych i mutagennych. Jest to bardzo liczna grupa około 200 substancji o zbliżonej budowie, ich cząsteczki składają się od dwóch do kilkunastu pierścieni aromatycznych. Z uwagi na wysoką toksyczność i możliwe mutagenne działanie najczęściej oznaczanych jest 17 związków zaliczanych do tej grupy. Są to: acenaften, acenaftylen, antracen, benzo(a)antracen, benzo(a)piren, benzo(e)piren, benzo(b)fluoranten, benzo(j)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benzo(g,h,i)perylen, chryzen, dibenzo(a,h)antracen, fluoranten, fluoren, fenantren, piren i indeno(1,2,3-c,d)piren. Liczne badania toksykologiczne i epidemiologiczne wskazują na wyraźną zależność pomiędzy ekspozycją na te związki, a wzrostem ryzyka powstawania nowotworów. Badania 41 WWA wykonane przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem IARC [2] wykazały, że 7 spośród nich: benzo(a)piren, benzo(a)antracen, dibenzo(a,h)antracen, chryzen, benzo(b)fluoranten, benzo(j)fluoranten, benzo(k)fluoranten, indeno(1,2,3-c,d)piren działa kancerogenicznie na zwierzęta, wykazuje toksyczność układową, powodując uszkodzenie nadnerczy, układu chłonnego, krwiotwórczego i oddechowego [1]. Jednocześnie należy zwrócić uwagę na fakt, że związki te nie występują pojedynczo, lecz zawsze wykrywana jest grupa związków. Najlepiej poznanym węglowodorem z grupy WWA jest benzo(a)piren. Związek ten ze względu na powszechność występowania w środowisku, a przede wszystkim ze względu na siłę działania rakotwórczego uznany został za wyznacznik kancerogenności całej grupy WWA. W odniesieniu do benzo(a)pirenu ustalone zostały przez Nisbeta i LaGoya [4] współczynniki kancerogenności

poszczególnych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. Dla benzo(a)pirenu został przypisany współczynnik kancerogenności równy 1. Z popularnych WWA jedynie dibenzo(a,h)antracen ma współczynnik kancerogenności równy 5, znacznie wyższy od benzo(a)pirenu. Pozostałe związki zaliczane do WWA posiadają współczynniki kancerogenności znacznie niższe od 1.

W środowisku mamy do czynienia z marginalną ilością WWA pochodzenia naturalnego. Natomiast wśród głównych źródeł pochodzenia tych substancji związanych z działalnością człowieka wymienić należy: spalanie w piecach centralnego ogrzewania, kominkach, piecach na węgiel, drewno, gaz i olej opałowy (a właściwie pozostałości zawarte w dymie wypuszczane do atmosfery), produkcję koksu, sadzy, katalityczny kraking ropy naftowej, produkcję asfaltu, aluminium, stali, żelaza i jego stopów, spalanie odpadów komunalnych, spaliny powstałe w wyniku działania silników typu diesel oraz dym tytoniowy. Źródła pochodzenia świadczą o tym, że substancje te powstają podczas częściowego spalania węglowodorów i przedostają się do atmosfery [9].

Na uwagę zasługuje również fakt, że wśród głównych źródeł WWA w glebach wymienia się: zanieczyszczenia atmosferyczne (emisja z zakładów przemysłowych i elektrowni, transport), osady ściekowe i komposty stosowane jako substancje nawozowe, wody opadowe spływające z powierzchni dróg, paliwa i smary stosowane do środków transportu i maszyn, substancje ropopochodne zanieczyszczające środowisko podczas awarii, ścieki miejskie i przemysłowe. Właśnie ze względu na wszechobecność WWA oraz kancerogenność tych związków ich stężenie jest monitorowane w powietrzu, wodach, osadach den-

nych, ściekach, pyłach, dymie papierosowym, spalinach silnikowych i żywności.

Poprzez wzgląd na niekorzystny wpływ WWA na środowisko, zdrowie, życie ludzi i zwierząt stwierdzenie obecności i monitorowanie poziomu stężeń tych substancji jest niejednokrotnie sprawą priorytetową. W Polsce wiele aktów prawnych określa wymagania, nakazy i ograniczenia związane z występowaniem przedmiotowych substancji w środowisku naturalnym (glebach i wodach), w powietrzu na stanowiskach pracy, jak również w odpadach pochodzących z różnych gałęzi przemysłu [6, 7]. Dotychczas nie zostały jednak opracowane wytyczne dotyczące zawartości tych substancji w paliwach gazowych, w tym w biogazie. Ze

względu na to, że WWA występują coraz częściej w odpadach i ściekach, można założyć, że istnieje prawdopodobieństwo przedostania się, podczas procesu fermentacji, lżejszych związków należących do tej grupy do biogazu.

Biorąc pod uwagę powyższe oraz fakt, że w Polsce polityka proekologiczna ukierunkowana jest na zwiększenie udziału energii ze źródeł odnawialnych, nasuwa się pytanie, czy w biogazie produkowanym w oczyszczalniach ścieków lub też powstającym na składowiskach odpadów komunalnych nie będziemy mieć do czynienia ze zwiększoną zawartością WWA. W związku z tym w Zakładzie Ochrony Środowiska INiG zostały przeprowadzone badania mające na celu określenie zawartości WWA w biogazie.

Metodyka badań

Oznaczanie WWA w paliwach gazowych, w tym w biogazie, nie zostało znormalizowane ani też nie zostało uregulowane w prawie polskim. Dlatego też, prowadząc badania tych substancji w paliwach gazowych, posłankowano się informacjami dotyczącymi oznaczania WWA w powietrzu [5].

Pracując z próbkami potencjalnie zawierającymi wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, należy zachować szczególną ostrożność w związku z ich szkodliwymi właściwościami. Należy również pamiętać, że substancje te ulegają rozkładowi pod wpływem światła, w związku z tym zarówno podczas poboru prób, jak i pracy w laboratorium należy zachować szczególnie środki ostrożności, a przede wszystkim należy chronić pobrane próbki przed dostępem światła.

Aby możliwe było oznaczenie ilościowe wybranych WWA w biogazie, zastosowano 3-etapową metodykę badawczą.

Pierwszy etap – etap poboru próby polegał na wyodrębnieniu WWA z biogazu poprzez wykorzystanie właściwości sorpcyjnych żywicy XAD-2 względem WWA. W tym miejscu należy zaznaczyć, że sorbent ten jest powszechnie stosowany do poboru WWA obecnych w powietrzu, w tym w powietrzu na stanowiskach pracy, w związku z czym zostały przeprowadzone testy sprawdzające przydatność tego sorbentu do poboru próbek WWA w biogazie. W celu poboru próbki przepuszczano około 1 m³ biogazu, z optymalną prędkością ustaloną doświadczalnie, przez rurkę wypełnioną żywicą XAD-2. próbki z zasorbowanymi węglowodorami zostały zabezpieczone przed dostępem światła, były przechowywane w temperaturze około 4÷8°C i następnie dostarczane do laboratorium.

Drugi etap – etap ekstrakcji, wstępnego przygotowania prób. W celu wyizolowania WWA zasorbowanego na

żywicy XAD-2 zastosowano jednoetapową ekstrakcję. Żywicę XAD-2 z rurek sorpcyjnych przesypywano do naczynek z ciemnego szkła, zalewano 1 ml acetonitrylu i prowadzono ekstrakcję przez 60 min w łaźni ultradźwiękowej. Po tym czasie ekstrakty były gotowe do analizy chromatograficznej HPLC/FL.

Trzeci etap – rozdział analizowanych WWA zachodził w dedykowanej do tego celu kolumnie firmy Merck. Rozdzielone WWA były oznaczane ilościowo za pomocą detektora fluorescencyjnego w trzecim etapie analizy.

Opracowana metoda pozwala na uzyskanie rozdziału i ilościowe oznaczenie następujących WWA: dibenzo(a,h)antracenu, benzo(a)pirenu, benzo(a)antracenu, benzo(b)fluorantenu, benzo(k)fluorantenu, antracenu, benzo(g,h,i)perylenu, indeno(1,2,3-c,d)pirenu, chryzenu, acenaftylenu, fluorenu oraz fenantrenu.

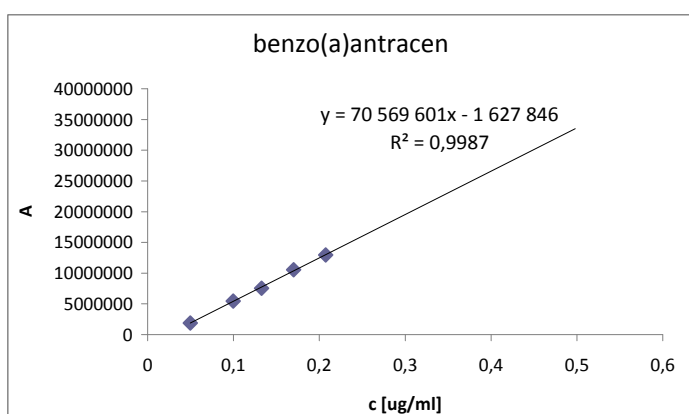
Każdy z trzech opisanych etapów metodyki badawczej stosowanych do oznaczenia zawartości WWA w próbkach biogazu wnosi swój wkład w niepewność metody. W toku walidacji tej metodyki została wyznaczona niepewność, z jaką oznaczane były poszczególne WWA zasorbowane z biogazu. Biorąc pod uwagę sposób poboru próbek, jak i możliwości analityczne, wyznaczono zakres stężeń dla 12 związków z grupy WWA, w jakim mogą być oznaczane te związki w paliwach gazowych. Zakres objęty walidacją mieścił się w przedziale 0,07÷29 µg/m³ dla każdego ze związków. Wyjątek stanowił jedynie dibenzo(a,h)antracen, dla którego metoda została zwalidowana w zakresie 0,2÷51,4 µg/m³. Zakres stosowania metody wyznaczono w drodze: wyznaczenia liniowości, granic oznaczoności oraz możliwości rozcieńczenia próbki.

Granice oznaczalności wszystkich oznaczanych WWA zasorbowanych na żywicy XAD-2 przedstawiono w tabelicy 1.

Tablica 1. Granice oznaczalności poszczególnych WWA zasorbowanych na żywicy XAD-2

Nazwa związku	Granica wykrywalności LOD [$\mu\text{g}/\text{ml}$]	Granica oznaczalności LOQ [$\mu\text{g}/\text{m}^3$]
Acenaftylen	0,0082	0,0113
Fluoren	0,0059	0,0082
Fenantren	0,0198	0,0275
Antracen	0,0016	0,0022
Benzo(a)antracen	0,0014	0,0020
Chryzen	0,0007	0,0009
Benzo(b)fluoranten	0,0018	0,0025
Benzo(k)fluoranten	0,0048	0,0066
Benzo(a)piren	0,0010	0,0014
Dibenzo(a,h)antracen	0,0571	1,6504
Benzo(g,h,i)perylene	0,0512	0,0711
Indeno(1,2,3-c,d)piren	0,0134	0,0186

Liniowość metody oceniono na podstawie wartości wyznaczonych współczynników korelacji R^2 dla linii kalibracyjnych oznaczanych związków. Współczynniki R^2 dla wyznaczonych krzywych kalibracyjnych osiągały wartości w zakresie od 0,9930 do 0,9999. Można uznać, że w wyznaczonym zakresie przebieg krzywych kalibracyjnych może być aproksymowany liniowo, gdyż wartość współczynnika R^2 jest większa od 0,98 [8]. Wyznaczony zakres krzywych kalibracji można uznać za liniowy. Przykładowy przebieg linii kalibracyjnej dla benzo(a)pirenu i benzo(a)antracenu przedstawiono na rysunkach 1 i 2.



Rys. 1. Krzywa kalibracji wykreślona dla benzo(a)pirenu

Powtarzalność została oceniona na podstawie wyznaczenia względnego odchylenia standardowego wyrażonego w procentach, czyli tak zwanego współczynnika zmienności (CV). Współczynnik zmienności wyliczono na podstawie wyników otrzymanych dla pięciokrotnie nastrzykniętej próbki. Za kryterium akceptacji wyniku

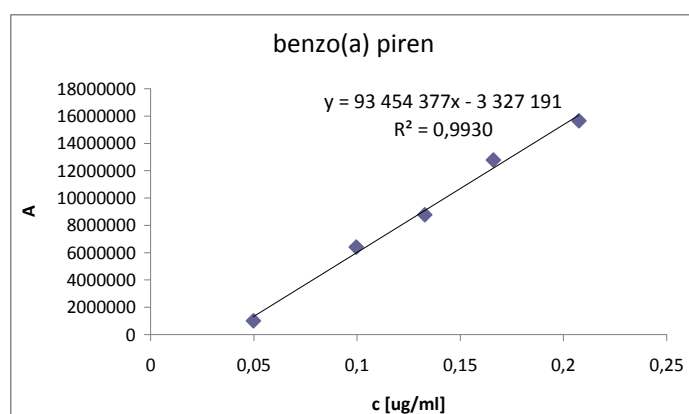
powtarzalnego przyjęto, że CV jest mniejsze lub równe 5% [3]. Uzyskane wyniki CV % dla poszczególnych WWA mieściły się w zakresie od 0,35 do 3,0, tak więc kryterium zostało spełnione, a stosowana metoda została uznana za precyzyjną.

Podczas wyznaczania niepewności metody oznaczania zawartości 12 związków z grupy WWA w biogazie zostały uwzględnione elementy metody badawczej mogące wpływać na niepewność uzyskiwanego wyniku. Uwzględniono niepewność związaną z poborem próbki, jej ekstrakcją oraz analizą chromatograficzną.

Wyznaczając niepewność etapu poboru próbki, brano pod uwagę: niepewność związaną z pomiarem strumienia objętości, niepewność związaną ze stabilnością przepływu pompy oraz niepewność związaną z czasem poboru próbki.

Na niepewność analizy chromatograficznej (U_a) składały się: niepewność aproksymacji krzywej kalibracyjnej $U(k)$, niepewność związana z powtarzalnością aparatu $U(p)$, niepewność roztworów wzorcowych $U(w)$, w skład której wchodzi niepewność stężenia zastosowanego wzorca oraz niepewność pipet i kolb pomiarowych wykorzystanych do przygotowania roztworów kalibracyjnych, niepewność rozcieńczania $U(r)$, obejmująca niepewność związaną z objętością pipet stosowanych od rozcieńczania, a także niepewność związaną z odtwarzalnością operacji rozcieńczania.

Wyznaczone dla poszczególnych WWA niepewności



Rys. 2. Krzywa kalibracji wykreślona dla benzo(a)antracenu

metody badawczej mieściły się w zakresie 15,2÷29,2% (dla przedziału ufności 95%, $k = 1,94$). Oceniając wartość wyliczonej niepewności całkowitej, należy mieć na uwadze fakt, że niepewność związana z poborem próbki oszacowana została na poziomie 7%, natomiast niepewność metody analitycznej kształtowała się w zakresie 7÷25%.

Opracowana metoda oznaczania zawartości 12 WWA w próbkach biogazu została uznana za poprawną i uży-

wała akceptację PCA jako metoda akredytowana przez tę jednostkę.

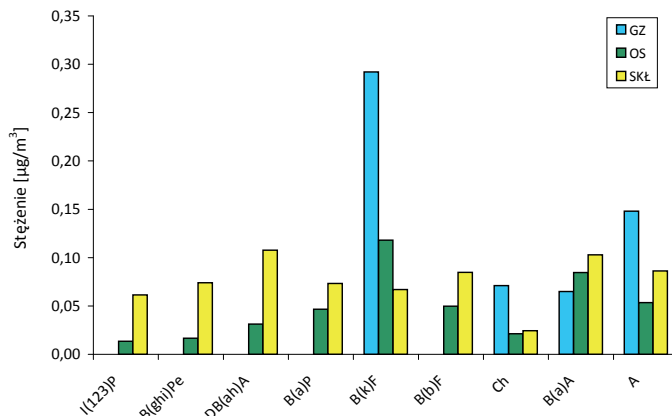
Wyniki badań biogazu i wnioski

W celu określenia poziomu stężenia WWA w biogazie, w zależności od źródła pochodzenia, przeprowadzono badania dla biogazu wytwarzanego na czterech oczyszczalniach ścieków (OS1, OS2, OS3, OS4) i dwóch składowisk odpadów (SKŁ1, SKŁ2) w porze letniej i zimowej. Zebrane wyniki przedstawiono na rysunkach 3 i 4.

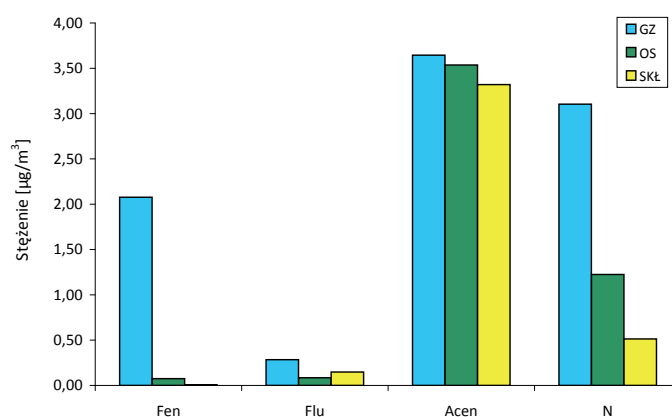
W celu oceny potencjalnej toksyczności, kancerogenności, a co za tym idzie – szkodliwości biogazu wyznaczone wartości stężeń WWA w próbkach biogazu zostały porównane z zawartościami WWA wyznaczonymi dla gazu ziemnego typu E, pobranego z sieci dystrybucyjnej. Sumaryczna zawartość WWA w biogazie wytwarzanym zarówno na oczyszczalniach ścieków, jak i składowiskach odpadów nie przekraczała poziomu 5,5 µg/m³ i była prawie dwukrotnie niższa od tej wyznaczonej w gazie ziemnym.

Patrząc na rozkład stężeń poszczególnych związków z grupy WWA w biogazie, w najwyższych stężeniach występują acenaftylen oraz naftalen, jedynie dla tych substancji oznaczono stężenia przekraczające 1 µg/m³ (rysunek 3b). Istotnym jest fakt, że zarówno naftalen, jak i acenaftylen charakteryzowane są jako WWA o niskiej kancerogenności i toksyczności. Stosunkowo wysoka zawartość naftalenu w biogazie mogłaby budzić niepokój wśród odbiorców tego paliwa ze względu na stwarzanie ewentualnego zagrożenia dla aparatury kontrolno-pomiarowej, co jest związane ze zdolnością naftalenu do krystalizacji. Biorąc jednak pod uwagę fakt, że stężenie tej substancji w biogazie jest co najmniej 3-krotnie niższe od wyznaczonego w gazie ziemnym, zagrożenie to wydaje się być mało znaczące. Poziomy stężenie pozostałych WWA: acenaftylen (Acen), antracenu (A), benzo(a) antracenu (B(a)A), benzo(a)pirenu (B(a)P), benzo(b) fluorantenu (B(b)F), benzo(k)fluorantenu (B(k)F), benzo(g,h,i)perylenu (B(ghi)Pe), chryzenu (Ch), dibenzo(a,h) antracenu (DB(ah)A), fluorenu (Flu), fenantrenu (Fen) oraz indeno(1,2,3-c,d)pirenu (I(123)P) nie przekraczają wartości 0,2 µg/m³ (rysunek 3a).

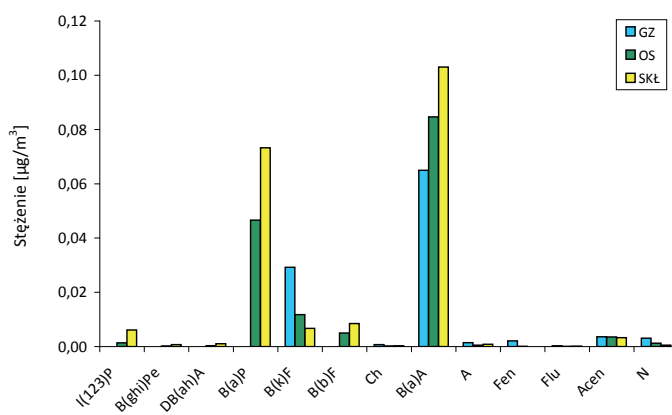
Należy zwrócić uwagę na fakt, że po uwzględnieniu współczynników kancerogenności poszczególnych związków najwyższą kancerogennością (na poziomie 0,2 µg/m³) odznaczają się próbki biogazu pobranego na składowiskach odpadów. Sumaryczny współczynnik



Rys. 3a. Rozkład wyznaczonych stężeń poszczególnych WWA w gazie ziemnym i biogazie pochodzącym z oczyszczalni ścieków i składowisk odpadów



Rys. 3b. Rozkład wyznaczonych stężeń poszczególnych WWA w gazie ziemnym i biogazie pochodzącym z oczyszczalni ścieków i składowisk odpadów



Rys. 4. Rozkład szkodliwych WWA obecnych w biogazie i gazie ziemnym po uwzględnieniu współczynników kancerogenności dla oznaczonych WWA

kancerogenności wyznaczony dla próbek gazu ziemnego (na poziomie $0,1 \mu\text{g}/\text{m}^3$) jest o połowę niższy niż w przypadku biogazu pobieranego na składowiskach. Wynika to z faktu, że w badanym gazie ziemnym nie stwierdzono obecności benzo(a)pirenu, uważanego za jeden z najbardziej kancerogennych przedstawicieli grupy WWA, który występował

natomiast w analizowanych biogazach. Rozpatrując rozkład szkodliwych WWA obecnych w biogazie i gazie ziemnym, po uwzględnieniu współczynników kancerogenności dla oznaczanych WWA (rysunek 4), należy zauważyć, że benzo(a)antracen oraz benzo(a)piren mają największy udział w sumarycznej wartości czynnika kancerogennego.

Podsumowanie

Ilość zidentyfikowanych WWA w przebadanych próbach biogazu nie jest wysoka w porównaniu z ilością tych substancji oznaczonych w próbach gazu ziemnego czy też limitach przedstawionych dla powietrza na stanowiskach pracy (NDS dla sumy WWA po uwzględnieniu współczynnika kancerogenności wynosi $2 \mu\text{g}/\text{m}^3$). W biogazie zidentyfikowano większość substancji najczęściej oznaczanych w próbkach środowiskowych spośród szerokiej grupy WWA. Niski poziom tych substancji może wynikać

z faktu, że charakter procesu technologicznego uzdatniania biogazu może powodować, że część z badanych związków zostaje odseparowana na filtrach lub sorbentach oczyszczających gaz z siarki i innych zanieczyszczeń. Porównując równocześnie kancerogenność związków oznaczonych w badanych gazach, można stwierdzić, że ilości WWA oznaczone w biogazie nie powinny stanowić zagrożenia dla użytkowników tego paliwa oraz środowiska naturalnego.

Literatura

- [1] Czerczak S.: *Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne*. IMP, Centrum Informacji Toksykologicznej, Łódź 1987.
- [2] IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Vol. 35. *Polynuclear aromatic compounds. Part 4. Bitumens, coal-tars and derived products, shale-oils and soots*. Lyon 1985.
- [3] Namieśnik J.: *Ocena i kontrola jakości wyników pomiarów analitycznych*. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, 2010.
- [4] Nisbet I. C. T., LaGoy P. K.: *Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)*. Reg. Toxicol. Pharmacol. 1992, vol. 16, s. 290–300.
- [5] PN-Z-04240-5/2006 *Ochrona czystości powietrza. Badania zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych. Część 5: Oznaczanie antracenu, benzo(a)antracenu, chryzenu, benzo(b)fluorantenu, benzo(k)fluorantenu, benzo(a)pirenu, dibenzo(ah)antracenu, benzo(ghi)perylenu i indeno/123 cd/pirenu na stanowiskach pracy metodą wysokosprawną chromatografię cieczową*.
- [6] *Rozporządzenie Ministra Pracy i Polityki Socjalnej z 17 czerwca 1998 r. w sprawie najwyższych dopuszczalnych stężeń i natężeń czynników szkodliwych dla zdrowia* (Dz.U. 79, poz. 513).
- [7] *Rozporządzenie Ministra Środowiska z 9 września 2002 r. w sprawie standardów jakości gleby oraz standardów jakości ziemi* (Dz.U. z 2002 r. Nr 165, poz. 1359).
- [8] Schmidt R., Michna D.: *Walidacja metod analitycznych chemicznych i mikrobiologicznych*. „Rocznik Ochrony Środowiska” 2007, t. 9, s. 239–257.
- [9] Smolik E.: *Wielocykliczne Węglowodory Aromatyczne*. Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego, Sosnowiec.



Mgr Anna KRÓL – absolwentka Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego. Obecnie pracuje w Zakładzie Ochrony Środowiska Instytutu Nafty i Gazu w Krakowie na stanowisku starszego specjalisty badawczo-technicznego. Jest współautorką 10 publikacji w czasopiśmie o zasięgu krajowym i międzynarodowym.

Mgr Jadwiga HOLEWA – absolwentka Wydziału Chemii Uniwersytetu Jagiellońskiego, kierunek – ochrona środowiska. Pracuje w Zakładzie Ochrony Środowiska Instytutu Nafty i Gazu w Krakowie. Zajmuje się tematyką dotyczącą ochrony środowiska w górnictwie nafty i gazu, w tym ograniczeniem emisji gazów cieplarnianych oraz pomiarami jakości gazu ziemnego i biogazu.