

# Toksyczne kongenery polichlorowanych dibenzo-p-dioksyn i dibenzofuranów w rybach bałtyckich

JADWIGA PISKORSKA-PLISZCZYŃSKA, BOGDAN KOWALSKI,  
TADEUSZ WIJASZKA, ADAM GROCHOWALSKI\*

Pracownia Ochrony Radiologicznej i Badań Izotopowych  
Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytut Badawczego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy  
\*Zakład Chemii Analitycznej Instytutu Chemii i Technologii Nieorganicznej Politechniki Krakowskiej,  
ul. Warszawska 24, 31-155 Kraków

Piskorska-Pliszczyńska J., Kowalski B., Wijaszka T., Grochowalski A.

## Toxic congeners of polychlorinated dibenzo-p-dioxin and dibenzofuran in Baltic fish

### Summary

Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDD) and polychlorinated dibenzofurans (PCDF) are environmental contaminants which accumulate in the tissues of living organisms and multiply in concentrations as they move up the food chain. They are particularly often found in fatty foods, including fish. The profile of 17 toxic PCDD and PCDF congeners and their concentration were analyzed in 40 samples of four species of fish (10 of each) from the southern part of Baltic Sea: wild salmon, herring, flounder and cod. The congener profile was different and quite characteristic for each fish species. In general polychlorinated dibenzofurans dominated over polychlorinated dibenzo-p-dioxins. TCDF (2,3,7,8) was the most abundant congener amongst all the TCDFs. Dominant congeners were 2,3,7,8-TCDF, 2,3,4,7,8-PeCDF, OCDD in salmon, herring and flounder. Dioxin profile in cod was slightly different with 1,2,3,7,8-PeCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF as the dominating compounds.

**Keywords:** dioxins, fish, congeners

W minionym stuleciu Bałtyk został poważnie zanieczyszczony trwałymi związkami chlorowanymi, takimi jak pestycydy, chloronaftaleny czy PCB, których większość pochodziła z emisji przemysłu zlokalizowanego w strefie wybrzeża (9). Na Konwencji Sztokholmskiej, dotyczącej persystentnych organicznych ksenobiotyków (POP, Persistent Organic Pollutants) ustalono listę dwunastu szczególnie niebezpiecznych związków i zalecono ich kontrolę. W grupie tej znajduje się osiem pestycydów, chemikalia przemysłowe (w tym PCB) oraz dioksyny i furany (2). Dwie ostatnie grupy związków z wymienionej listy, dioksyny i furany, są produktami ubocznymi wielu procesów przemysłowych oraz efektem zjawisk naturalnych, takich jak erupcje wulkaniczne, pożary lasów. Polichlorowane dibenzo-p-dioksyny i polichlorowane dibenzofurany (PCDD i PCDF) stanowią grupę 210 związków chemicznych o podobnej strukturze i właściwościach fizykochemicznych (12, 14). Stopień toksyczności zależy od budowy przestrzennej molekuł tych związków, wynikającej z różnego rozmieszczenia atomów chloru. Spośród 75 kongenerów PCDD i 135 PCDF znaczącą toksyczność wykazuje odpowiednio 7 i 10 kon-

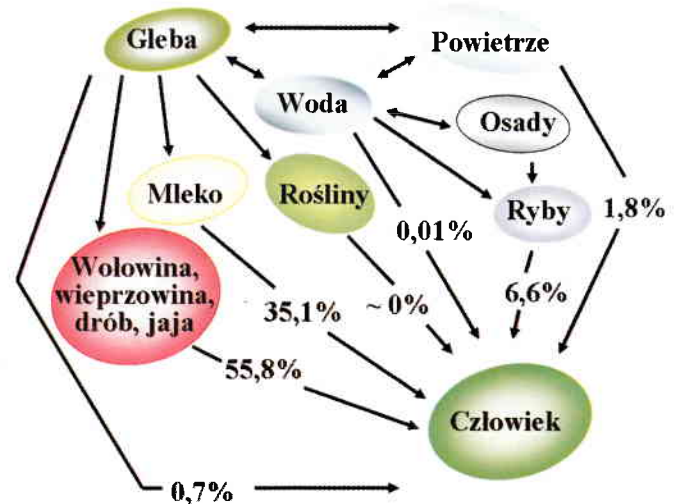
generów zawierających podstawniki chlorowe w pozycjach 2, 3, 7, 8. Dioksyny i furany wywierają działanie toksyczne poprzez wewnątrzkomórkowy receptor węglowodorów arylowych – Ah (11). Taki sam mechanizm działania toksycznego wykazuje również 12 spośród 209 kongenerów PCB, nazwanych dlatego dioksynopodobnymi PCB (dlPCB). Również one, podobnie jak dioksyny, odgrywają istotną rolę w narażeniu ludzi. PCDD, PCDF i dlPCB są dobrze rozpuszczalne w tłuszczach, wiążą się do sedimentów i materii organicznej, są też kumulowane przez ludzką i zwierzęcą tkankę tłuszczową. Persystentne w środowisku podlegają bioakumulacji w łańcuchu żywieniowym (1, 3).

Ta grupa ksenobiotyków oraz ich wyjątkowa i różnorodna toksyczność znane są od niemal pół wieku, lecz dopiero awaria belgijska w 1999 r. i związany z nią skandal stały się początkiem poważnego zainteresowania i przyspieszyły prace zarówno legislacyjne, jak i metodyczne nad ich wykrywaniem i oznaczaniem w krajach Unii Europejskiej (4, 5). Unia podjęła starania rozwiązania problemu dioksyn w Europie i przedstawiła strategię działania, której celem jest redukcja

obecnego narażenia mieszkańców Unii Europejskiej na działanie dioksyn (15). Przyjęta strategia składa się z zadań związanych z redukcją dioksyn w środowisku oraz w paszach i żywności, a podejmowane decyzje bazują na nowym ustawodawstwie dotyczącym bezpiecznej żywności, wynikach badań naukowych i wzmożonej kontroli zawartości tych związków. W ramach opracowanej strategii ustalono dopuszczalne limity w paszach i żywności, określono cechy wykonawcze stosowanych metod analitycznych oraz zalecono urzędowe monitorowanie dioksyn w środkach spożywczych i paszach. Zaplanowano też rozszerzenie definicji „dioksyny” o 12 dioksynopodobnych PCB (dlPCB), które wywołują podobne efekty toksyczne i posiadają wspólny z PCDD i PCDF mechanizm działania. Przyjęta strategia zakłada również obligatoryjne oznaczenie w żywności dlPCB.

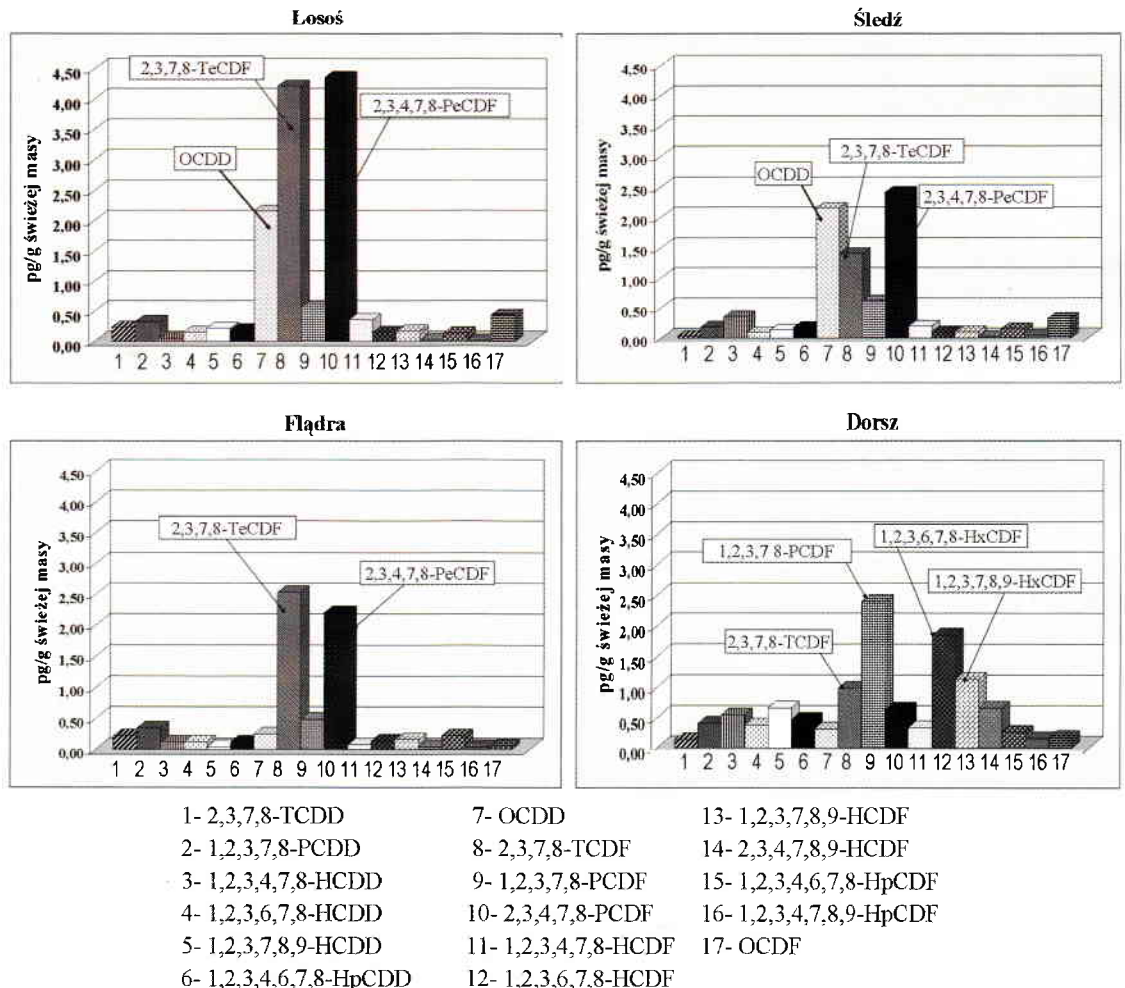
Zapowiedziana w 2004 r. rewizja dopuszczalnych stężeń PCDD, PCDF i dlPCB prawdopodobnie wpłynie na zmiany w obowiązujących metodach ich oznaczania, zarówno w odniesieniu do metod skryningowych, jak i metod potwierdzających z zastosowaniem techniki GC/MS. Pod koniec roku 2006 ponownej rewizji zostaną poddane maksymalne dopuszczalne stężenia dioksyn i nastąpi kolejna ich redukcja. Na skutek wszystkich tych działań do końca 2006 r. planuje się zmniejszenie narażenia ludzi o 25% (4, 5, 15).

Źródeł narażenia ludzi na dioksyny jest wiele (ryc. 1). Ponieważ ponad 90% puli dioksyn pochodzi z żywności, dlatego też znajduje się ona w centrum zainteresowania. Ryby, jako źródło dioksyn stanowią odrębne zagadnienie. Ryby hodowlane narażone są na dioksyny poprzez pasze, zaś skażenia ryb wolno żyjących zależą przede wszystkim od poziomu występujących w akwenach wodnych zanieczyszczeń. I chociaż PCDD i PCDF występują w środowisku wodnym w ilościach śladowych, z powodu właściwości lipofilnych, procesy bio-



Ryc. 1. Źródła narażenia ludzi na dioksyny

akumulacji generują w rybach ich znaczne stężenia. Pod względem zawartości dioksyn ryby stanowią bardzo zróżnicowaną grupę z powodu różnej ilości tłuszczu tkankowego, wieku, pozycji w łańcuchu żywieniowym czy miejsc i typu żerowania. Szczególnie dwa gatunki ryb bałtyckich (śledź i łosoś) są silnie zanieczyszczone zwłaszcza PCB (8, 13). W rybach łowionych w północnym Bałtyku zawartość dioksyn znacz-



Ryc. 2. Profil 17 kongenerów PCDD i PCDF w mięśniach ryb bałtyckich

Tab. 1. Stężenia kongenerów PCDD i PCDF w pg/g (n = 10;  $\bar{x} \pm s$ )

Kongener	WHO-TEF	Łosoś pg/g	Śledź pg/g	Flądra pg/g	Dorsz pg/g
<b>PCDD</b>					
2,3,7,8-TCDD	1	0,24 ± 0,113	0,04 ± 0,030	0,22 ± 0,050	0,13 ± 0,039
1,2,3,7,8- PeCDD	1	0,33 ± 0,210	0,19 ± 0,084	0,35 ± 0,072	0,40 ± 0,173
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	0,05 ± 0,127	0,36 ± 0,772	0,12 ± 0,034	0,54 ± 0,361
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	0,15 ± 0,113	0,10 ± 0,218	0,12 ± 0,035	0,37 ± 0,148
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	0,22 ± 0,175	0,15 ± 0,341	0,04 ± 0,024	0,66 ± 0,425
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	0,19 ± 0,119	0,19 ± 0,223	0,12 ± 0,034	0,46 ± 0,215
OCDD	0,0001	2,16 ± 3,965	2,16 ± 3,043	0,25 ± 0,055	0,31 ± 0,341
Σ PCDD	-	3,36 ± 3,972	3,18 ± 3,416	1,22 ± 0,294	2,89 ± 1,177
<b>PCDF</b>					
2,3,7,8-TCDF	0,1	4,22 ± 0,886	1,40 ± 0,541	2,53 ± 0,467	0,99 ± 0,356
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	0,57 ± 0,323	0,63 ± 0,502	0,49 ± 0,097	2,39 ± 1,512
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	4,37 ± 1,448	2,42 ± 1,009	2,20 ± 0,410	0,63 ± 0,524
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	0,37 ± 0,178	0,21 ± 0,173	0,08 ± 0,029	0,34 ± 0,186
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	0,15 ± 0,078	0,11 ± 0,103	0,14 ± 0,037	1,85 ± 1,047
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	0,18 ± 0,072	0,12 ± 0,063	0,16 ± 0,040	1,13 ± 0,719
2,3,4,7,8,9-HxCDF	0,1	0,03 ± 0,029	0,03 ± 0,028	0,04 ± 0,024	0,67 ± 0,422
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	0,14 ± 0,100	0,16 ± 0,243	0,22 ± 0,050	0,26 ± 0,100
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01	0,02 ± 0,022	0,05 ± 0,073	0,04 ± 0,024	0,15 ± 0,075
OCDF	0,0001	0,45 ± 0,426	0,33 ± 0,614	0,06 ± 0,026	0,17 ± 0,268
Σ PCDF	-	10,5 ± 2,284	5,44 ± 1,631	5,97 ± 1,154	8,56 ± 3,745
Σ PCDD + PCDF	-	13,85 ± 4,779	8,62 ± 4,530	7,19 ± 1,434	11,46 ± 4,859

nie przekraczała dopuszczalny limit, który wynosi 4 pg WHO-TEQ/g świeżej masy (1). Prace szwedzkich, fińskich, duńskich i niemieckich badaczy wskazują, że ryby mogą być poważnym źródłem narażenia ludzi na PCDD i PCDF. Przyjmując, że codzienne spożycie ryb np. w Niemczech wynosi 20 g, średnie codzienne pobranie dioksyn i furanów poprzez spożywanie ryb wynosi 6,2 pg WHO-TEQ na osobę, na dzień (10).

W związku z doniesieniami o wysokim skażeniu ryb w rejonie Bałtyku oraz ograniczeniem z tego powodu przez Unię Europejską ich konsumpcji, a równocześnie wobec braku badań krajowych w tym zakresie, podjęto próbę określenia skażenia toksycznymi kongenerami dioksyn i furanów czterech gatunków ryb złowionych w polskiej strefie połowowej Bałtyku.

### Materiał i metody

Przedmiotem badań była ocena występowania 17 toksycznych kongenerów PCDD i PCDF, zawierających podstawniki w pozycjach 2, 3, 7, 8 oraz ustalenie ich charakterystycznego profilu u czterech gatunków ryb bałtyckich. Ryby zostały złowione przez rybaków na jesieni 2002 r. w rejonie Kołobrzegu i Unieścia (środkowe wybrzeże polskiego Bałtyku). Zawartość kongenerów PCDD/PCDF oznaczano metodą GC-MS/MS w próbkach śledzia, dzielnego łososia, dorsza i flądry (8). Analizie poddano łącznie

40 próbek ryb, po 10 próbek z każdego gatunku. Zastosowana metoda pozwalała wykryć poszczególne kongenery na poziomie 0,01 pg/g (pg = 10<sup>-12</sup> g). Toksyczność próbek (TEQ) obliczano z zastosowaniem współczynników toksyczności TEF Światowej Organizacji Zdrowia.

### Wyniki i omówienie

Stężenia 17 kongenerów PCDD i PCDF (w pg/g świeżej tkanki) zamieszczono w tab. 1, a na ryc. 2 zobrazowano profil występujących kongenerów.

Łączna zawartość PCDD i PCDF (oprócz dwóch próbek łososia) mieściła się znacznie poniżej granicy maksymalnych dopuszczalnych stężeń określonych dla ryb na poziomie 4 pg WHO-TEQ/g świeżej masy (5). Polichlorowane dibenzofurany zdecydowanie dominowały nad polichlorowanymi dibenzo-p-dioksynami; stosunek stężeń PCDF/PCDD wynosił 3,1; 1,7; 4,9 i 3,0 odpowiednio dla łososia, śledzia, flądry i dorsza. O sumarycznej toksyczności próbek decydowały kongenery o wysokich wartościach współczynników TEF (tab. 1). Były to 2,3,7,8-

-TCDD, 1,2,3,7,8-PeCDD, 2,3,4,7,8-PeCDF i 2,3,7,8-TCDF, a przede wszystkim kongener 2,3,4,7,8-PeCDF, którego udział w ogólnej zawartości PCDD wynosił 66, 70, 55 i 19% dla łososia, śledzia, flądry i dorsza.

Profil indywidualnych kongenerów PCDD i PCDF był odmienny i charakterystyczny dla każdego badanego gatunku ryb (ryc. 2). Dominowały następujące związki: 2,3,7,8-TCDF i 2,3,4,7,8-PeCDF w łososiu, śledziu i flądze oraz OCDF w łososiu. Od tego szablonu odbiegał profil kongenerów w tkankach dorsza, w którym dominowały 1,2,3,7,8-PeCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF.

W znikomych ilościach występowały najbardziej toksyczne polichlorowane dibenzo-p-dioksyny, dla których WHO-TEF wynosi 1, tj. 2,3,7,8-TCDD i 1,2,3,7,8-PeCDD. Oktachlorodibenzodioksyna (OCDD) była obecna w mięśniach wszystkich czterech gatunków ryb. Suma polichlorowanych dibenzo-p-dioksyn stanowiła od 17% do 26% całkowitej zawartości PCDD/PCDF. Udział najaktywniejszej biologicznie 2,3,7,8-TCDD stanowił w łososiu, śledziu, flądze i dorszu zaledwie 1,8; 0,8; 3,0 oraz 1,6% sumy badanych 17 kongenerów.

Generalnie w próbkach ryb bałtyckich dominowały furany. Grupa 10 polichlorowanych dibenzo-furanów stanowiła od 71% do 83% całkowitej zawartości kon-

generów. Dominowały silnie toksyczne 2,3,7,8-TCDF i 2,3,4,7,9-PeCDF stanowiąc nawet do 35% (flądra) zawartości wszystkich kongenerów. Zawierający osiem atomów chloru kongener, OCDF, w przeciwieństwie do OCDD występował w ilościach śladowych.

Podsumowując przedstawione wyniki oznaczania toksycznych kongenerów w badanych próbkach ryb, nasuwają się następujące wnioski. Skażenie ryb złowionych w rejonie polskiego wybrzeża Bałtyku nie jest tak wysokie, jak można było oczekiwać po wynikach badań ryb z północnej jego części. Stężenia dioksyn stanowią średnio 40-80% aktualnego dopuszczalnego limitu, oczywiście bez uwzględnienia dioksynopodobnych PCB. Występujący profil jest odmienny i charakterystyczny dla każdego z badanych gatunków ryb. Polichlorowane furany dominują nad polichlorowanym dibenzo-p-dioksynami. Niepokoić może obecność silnie toksycznych kongenerów 2,3,7,8-TCDF i 2,3,4,7,8-PeCDF.

Podobny profil kongenerów PCDD/F, jak w przedstawionych badaniach, występował w badanych przez Belgów rybach, skorupiakach i krewetkach. Także w innych rodzajach żywności, dominującymi kongenerami były 2,3,7,8-TCDD, 2,3,7,8-TCDF, 1,2,3,7,8-PeCDD i 2,3,4,7,8-PeCDF, które razem stanowiły powyżej  $85 \pm 7,9\%$  zawartości PCDD/F. Badacze belgijscy wnioskują, że wymienione cztery kongenery można by uznać za związki „wskaźnikowe” dla dioksyn i wykorzystać w skryningowym badaniu dużej liczby próbek na zawartość dioksyn (6). Z badań monitoringowych oraz analizy występujących profili kontenerów dioksyn w śledziach bałtyckich wykonanych w ostatnich latach przez kraje UE wynika, że spektrum kongenerów w śledziach jest znacznie bardziej zbliżone do spektrum dioksyn w powietrzu niż w sedymentach wodnych. Jest to bardzo istotne spostrzeżenie, ponieważ redukcja emisji do powietrza, może zostać zrealizowana stosunkowo prosto i łatwo, podczas gdy dioksyny i PCB w sedymentach będą zanikały bardzo wolno podczas następnych dekad bądź stuleci.

Z badań nad występowaniem PCDD i PCDF w żywności wynika, że profil kongenerów w różnych matrycach jest odmienny i zależy, jak już wspomniano, od źródła skażenia oraz czynników biologicznych i środowiskowych, które decydują o pobieraniu i retencji tych związków w systemach biologicznych. Profil PCDD/F jest też użytecznym źródłem informacji w identyfikowaniu źródeł skażenia, w tym przypadku, wód Bałtyku. Z punktu widzenia zabezpieczenia zdrowia konsumentów określenie źródeł skażenia dioksynami ryb bałtyckich ma podstawowe znaczenie. Trzeba ustalić, czy są to stare zasoby i rezerwuary w Bałtyku czy też depozycja aktualnie występujących emisji dioksyn do atmosfery. Stężenia i spektra kongenerów pomimo że różnią się w zależności od danego obszaru lub gatunku zwierząt, wszystkie stanowią źródło przydatnych informacji.

Trwa zintegrowany program UE dotyczący monitorowania dioksyn i PCB w rejonie Bałtyku (15). Plan obejmuje monitorowanie flory wodnej, ryb, skorupiaków a także materiału pochodzącego od ludzi (krew, mleko kobiet, tkanka tłuszczowa). Jego autorzy stawiają sobie za cel rozszerzenie wiedzy dotyczącej stopnia narażenia ludzi na działanie dioksyn, ustalenie głównych źródeł i redukcję narażenia w tym obszarze Europy. Taka strategia powinna przyczynić się do poprawy stanu zdrowia mieszkańców, a wyniki tych prac mogą stać się bazą dla sformułowania kolejnych planów strategicznych UE do końca 2010 r.

## Piśmiennictwo

1. Anon.: Assessment of dietary intake of dioxins and related PCBs by the population of EU Member States. Reports on task for scientific co-operation. Task 3.2.5. EC, Brussels, June 2002.
2. Anon.: Council Decision of 14 May 2001 on the signature on behalf of the European Community, of the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (Com (2001)0237 final).
3. Assmuth T.: Indicative analysis of relative risks and data gaps of dioxin-like compounds in Baltic Sea fish, based on body burden, biokinetic and bioactivity ratios. Organohalogen Compounds, Dioxin 2003 Boston 2003, 60-65.
4. Commission Directive 2002/69/EC of 26 July 2002 laying down the sampling methods of analysis for the official control of dioxins and the determination of dioxin-like PCBs in foodstuffs.
5. Council Regulation (EC) No 2375/2001 of 29 November 2001 amending Commission Regulation (EC) No 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs establishes maximum levels for dioxins in foodstuffs.
6. Focant J. F., Eppe G., Pirard C., Massart A. C., Andre J. E., De Pauw E.: Levels and congeners distribution of PCDDs, PCDFs and non-ortho PCBs in Belgian foodstuffs. Assessment of dietary intake, Chemosphere 2002, 48, 167-179.
7. Grochowalski A., Chrzęszcz R.: The results on the large scale determination of PCDDs, PCDFs and coplanar PCBs in Polish food product samples using GC-MS/MS technique. Organohalogen Comp. 2000, 47, 310-313.
8. Isoaari P., Kiviranta H., Hallikainen A., Parmanne R., Vourinen P. J., Vartiainen T.: Dioxin levels in fish caught from the Baltic Sea in 2001-2002. Organohalogen Comp. 2003, 62, 41-44.
9. Jensen S., Jensen A. G., Olson M., Otterlind G.: DDT and PCB in marine animals from Swedish waters. Nature 1969, 224, 247-250.
10. Karl H., Ruoff U., Bluthgen A.: Levels of dioxins in fish and fishery products on the German market. Chemosphere 2002, 49, 765-773.
11. Piskorska-Pliszczynska J.: Funkcja receptora Ah w mechanizmie działania dioksyn i związków pokrewnych. Praca habilitacyjna. Państwowy Instytut Weterynaryjny, Puławy 1998.
12. Piskorska-Pliszczynska J.: Dioksyny i związane z nimi zagrożenia zdrowia. Medycyna Wet. 1999, 55, 491-496.
13. Piskorska-Pliszczynska J., Grochowalski A., Wijaszka T., Kowalski B.: Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDD) and dibenzofurans (PCDF) in muscle of south Baltic Sea fish – preliminary study. Bull. Vet. Res. Inst. 2004, 48, 283-288.
14. Safe S.: Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs) and related compounds: Environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalent factors (TEFs). CRC Crit. Rev. Toxicol. 1990, 21, 51-88.
15. Verstraete F.: Development and implementation of an EC strategy on dioxins, furans and dioxin-like PCBs in food and feed. Organohalogen Comp. 2002, 55, 1-4.

Adres autora: doc. dr hab. Jadwiga Piskorska-Pliszczynska, ul. Miła 6, 24-100 Puławy; e-mail: jagoda@piwet.pulawy.pl