Baština Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

RADOVI LXXXVIII, knj. 25.

Rezaković, Džemal

1991

Akademija nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/items/3bff7ae5-1a58-4336-9010-7be80dd2e58a

Preuzeto s Baštine Akademije nauka i umjetnosti Bosne i Hercegovine

https://bastina.anubih.ba/

AKADEMIJA NAUKA I UMJETNOSTI
BOSNE I HERCEGOVINE

RADOVI

KNJIGA LXXXVIII

Odjeljenje medicinskih nauka
Knjiga 25

Redakcioni odbor
Jela Grujić-Vasić, Džemal Rezaković,
Dragomir Stanković

Urednik
Džemal Rezaković,
redovni član Akademije nauka i umjetnosti
Bosne i Hercegovine

UDC 615/.617:502(082) YU ISSN 0350-0071

SARAJEVO 1991

IDENTIFIKACIJA ORGANSKIH SUPSTANCI U ATMOSFERI GRADA ZENICE METODOM GASNA HROMATOGRAFIJA — SPEKTROMETRIJA MASA

BRANKO NIKOLIN, MIROSLAV ŠOBER, MILAN TOMLJENOVIĆ, MELIHA LEKIĆ, IGOR DAVOR GAON
Farmaceutski fakultet, Sarajevo

UDC 551.51 : 547

Apstrakt. U atmosferi grada Zenice se dugi niz godina organizovano provodi praćenje sadržaja nekih neorganskih supstanci, zagađivača atmosfere kao što su sumpordioksid, karbon monoksid, karbon dioksid, teški metali, čađ i dr. Identifikacija organskih supstanci, posebno onih grupacija koje dovode do akutnih ili hroničnih intoksikacija, do sada u Zenici nije sveobuhvatno vršena.

U cilju identifikacije različitih klasa organskih supstanci koje su kao aerozagađenje prisutne u atmosferi, primijenjeno je pet različitih načina sakupljanja uzoraka. Uzorci su sakupljeni na sloju aktivnog uglja, na sloju silikagela, na filterima od staklenih vlakana, na filterima od ugljenog filca i na ispiralicama sa toluenom. Identifikacija je provedena gasnom hromatografijom i vezanim sistemom gasna hromatografija — spektrometrija masa. Identificirani spojevi su iz klase alkil supstituiranih fenola, policikličkih aromatskih ugljikovodika i njihovih alkil derivata, alkilni derivati benzena, normalni, razgranati i ciklični alkani i alkeni i njihovi alkoholi i ketoni, te heterociklički spojevi sa nitrogenom i sumporom. U grupaciji policikličkih aromatskih ugljikovodika evidentno je prisutno više supstanci koje posjeduju izrazita kancerogena svojstva.

Ključne riječi: identifikacija, organske supstance, zagađenje atmosfere, gasna hromatografija, spektrometrija masa, policiklički aromatski ugljikovodici.

UVOD

Toksični efekti organskih supstanci koje su do danas otkrivene u atmosferi kao zagađivači, detaljno su opisani u literaturi mada se ne može reći da su do kraja istraženi, što se posebno odnosi na interakcije prilikom ekspozicije neorganskim i organskim zagađivačima. Dobro su poznati efekti lakih aromatskih ugljikovodika kao što su benzen i njegovi alkilni derivati, koji u organizmu prelaze u fenole i ispoljavaju mielotoksično djelovanje uzrokujući pojavu leukopenije, pancitopenije, aplastične anemije, limfocitopenije, trombocitopenije i hipoplastične promjene koštane srži (I.A.R.C., 1982). Novija istraživanja

Rad je finansirao SIZ nauke BiH u okviru projekta DC V.

ukazuju i na imunotoksične efekte benzena koji kod eksponiranih radnika uzrokuju sniženje koncentracije imunoglobulina G i A u serumu. Ovo potvrđuje i činjenica da kunići izloženi benzenu pokazuju veći rizik kod nastanka tuberkuloze i pneumonije, kao i smanjen odgovor antitijela na bakterijske antigene (Dean et al., 1986). Aromatski amini također posjeduju značajna toksična svojstva. Anilin može dovesti do hronične kongestije slezene i sarkoma slezene (Goodman et al., 1984). Osim toga, anilin se metaboliše u fenilhidroksilamin, koji je jak otrov hematopoetskog sistema i uzrokuje methemoglobinemiju. Naftilamin je također karcionogen za više vrsta, uključujući i ljude (Hicks et al., 1982). Izomeri 2-amino derivata antracena i fenantrena su izrazito karcinogeni. Antramin-2 uzrokuje različite tipove tumora na mjestima udaljenim od mjesta aplikacije, također uzrokujući tumore i pri perkutanoj aplikaciji. Fenantramin-2 uzrokuje leukemiju i brojne druge vrste tumora (Williams and Weisburger, 1986).

Policiklični aromatski ugljikovodici koji nastaju pri procesima koksovanja (Janiševa, et al., 1985), prilikom livenja željeznih ingota (Qvilliam et al., 1985), kao i prilikom sagorijevanja drveta, uglja i drugih fosilnih goriva (Choundhury and Bush, 1981) predstavljaju grupaciju spojeva čiji mnogi članovi ispoljavaju značajno mutageno i karcinogeno djelovanje (Yang et al., 1977; Grimmer et al., 1983).

Zbog svega navedenog, sasvim je jasno zašto identifikacija i određivanje organskih polutanata, a posebno policikličnih aromatskih ugljovodika u atmosferi, danas pobuđuje sve veći interes. Grad Zenica s tog aspekta predstavlja izuzetno zanimljivo područje, pošto su kapaciteti željezare i koksare smješteni u neposrednoj blizini najužeg gradskog jezgra.

Cilj ovog rada je bio da se primjenom selektivnih načina sakupljanja uzoraka i ekstrakcije, kao i primjenom efikasnih instrumentacijskih tehnika gasnom hromatografijom i sistemom gasna hromatografija—spektrometrija masa identificiraju organske supstance i izvrši njihova selekcija za eventualno permanentno praćenje.

MATERIJAL I METODE

Sakupljanje uzoraka

Ispitivanju su podvrgnuti uzorci lebdećih čestica i uzorci vazduha sakupljeni u periodu od 6. 12. 1989. do 22. 12. 1989. na dva mjesta u gradu: kod hotela »Internacional« i u Tetovu.

Ispitano je pet različitih načina uzorkovanja: adsorpcija na aktivnom uglju, adsorpcija na silikagelu, sakupljanje na filterima od staklenih vlakana, sakupljanje na filterima od specijalno priređenog ugljenog filca i uzorkovanje u ispiralicama sa toluenom. Za adsorpciju na aktivnom uglju korišten je granulirani aktivni ugalj Karbozak R (proizvođač »Miloje Zakić«, Kruševac). Granule su usitnjene na veličinu zrna 0,63—0,50 mm i ekstrahovane tri puta u karbon disulfidu

a potom aktivirane na 400°C u struji nitrogena u trajanju od 15 sati. Cjevčice za uzorkovanje su sadržavale ukupno 450 mg ovako pripremljenog adsorbensa.

Za adsorpciju na silikagelu su korištene cjevčice punjene silikagelom koji je bio usitnjen na veličinu čestica 0,63—0,50 mm i dva sata aktiviran na 120°C. Ukupna količina ovako priređenog adsorbensa u cjevčici je iznosila 700 mg.

Za sakupljanje na filterima od ugljenog filca korišten je ugljeni filc Zavoda za materijale Instituta »Boris Kidrič«, Vinča. Filc je prethodno prečišćen ključalim karbon disulfidom uz upotrebu povratnog hladila u trajanju od jednog sata i čitava procedura je ponovljena tri puta.

Filteri od staklenih vlakana Sartorius SM 134 00 su korišteni bez prethodne obrade.

Uzorkovanje u ispiralicama je provedeno upotrebom svježe destiliranog toluena proizvođača »Kemika«, Zagreb.

Za sakupljanje uzoraka na filtere od staklenih vlakana korišten je uređaj za sakupljanje lebdećih čestica LIB proizvođača Freilinger und Ritschel GmbH. Prosječna količina propuštenog vazduha je bila oko 350 m^3. Za sva ostala sakupljanja korištene su vibracione pumpe sa gasnim satovima George Willson LTD, uz prosječnu ukupnu količinu propuštenog vazduha od 260 litara.

Obrada uzorka

Granulirani aktivni ugalj iz cjevčice je ekstrahovan dva puta sa po 2 ml karbondisulfida, prvo 5 minuta na vibromikseru a onda 30 minuta na mućkalici. Treći put je ekstrakcija vršena u 2 ml karbondisulfida 30 minuta u ultrasoničnom kupatilu. Sva tri ekstrakta su sjedinjena i u struji nitrogena uparena na oko 300 mikrolitara, koji su dalje podvrgnuti hromatografskoj analizi.

Silikagel je ekstrahiran na isti način kao što je opisano za granulirani ugalj, jedino je ovdje kao rastvarač korišten etanol. Filter od ugljenog filca je usitnjen i ekstrahovan 20 sati benzenom u aparaturi po Soxhletu. Benzenski ekstrakt je pod sniženim pritiskom uparen na mali volumen i podvrgnut daljoj hromatografskoj analizi. Na isti način je obrađen i filter od staklenih vlakana.

Identifikacija i određivanje

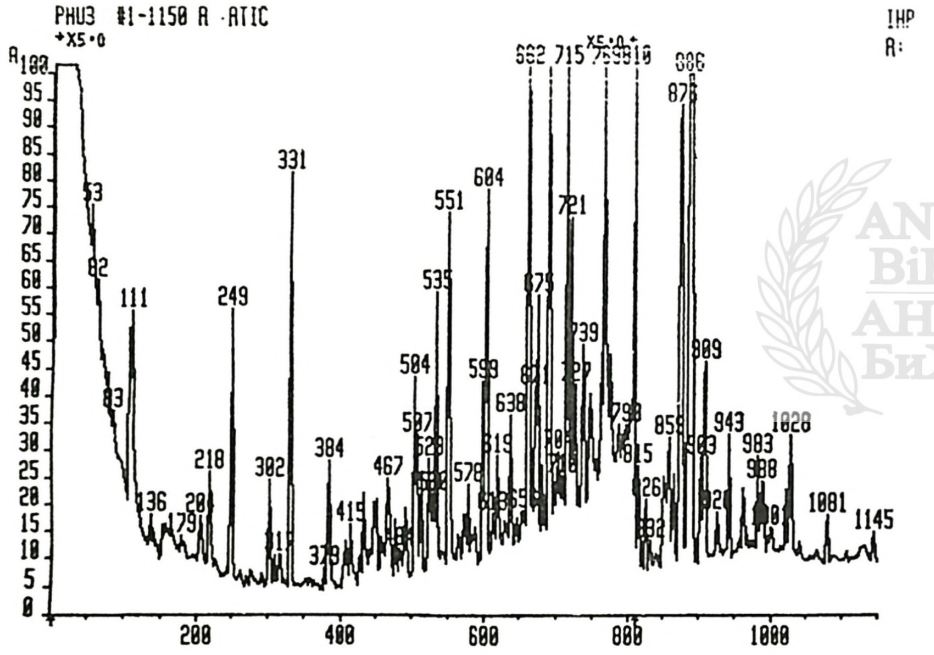
Za identifikaciju i određivanje su korištene metode gasna hromatografija i gasna hromatografija — spektrometrija masa. Gasna hromatografija je provedena na hromatografu DANI 3800 HR uz upotrebu kapilarne kolone SE-30 dimenzija 25 m x 0,32 mm (proizvođač »Perkin Elmer«). Gas nosač je bio helijum; upotrebljen je plamenojonizacijski detektor, a hromatogrami su registrirani na pisaču »Perkin Elmer« 56.

Gasna hromatografija — spektrometrija masa je provedena korištenjem gasnog hromatografa DANI 3800 HR uz kapilarnu kolonu

DB-1 dimenzija 25 m x 0,32 mm (J. and W. Scientific) i helijum kao gas nosač. Korišten je dvostrukofokusirajući spektrometar masa VG 7070 E (VG Analytical), a rezultati su registrovani i obrađeni primjenom računara Digital PDP 8/a i PDP 11/23 (Digital Equipment Corporation). Jonizacija je provedena udarom elektrona energije 70 eV.

REZULTATI

Ekstrakt lebdećih čestica sakupljenih na filterima od staklenih vlakana predstavljao je krajnje kompleksnu smjesu različitih organskih spojeva, o čemu svjedoči i hromatogram totalne jonske struje prikazan na slici 1.

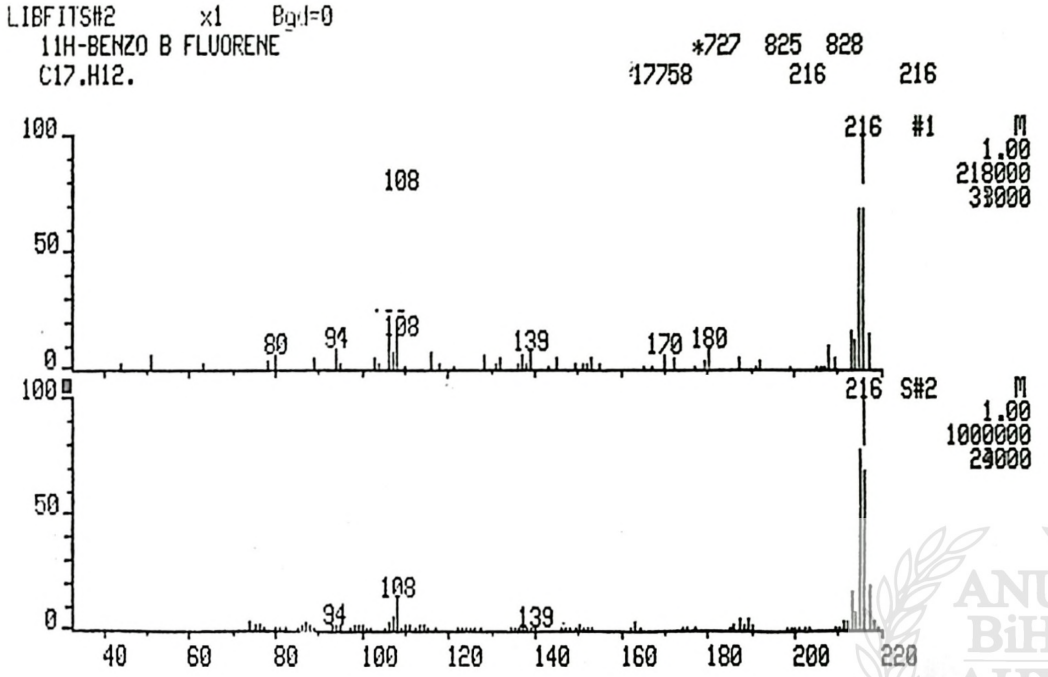


Slika 1. Hromatogram totalne jonske struje ekstrakta lebdećih čestica

Koristeći biblioteku masenih spektograma Nacionalnog biroa za standarde SAD, u prikazanom hromatogramu totalne jonske struje na slici 1 neke od ukupno prisutnih supstanci su identificirane, i to iz grupe policikličnih aromatskih ugljikovodika:

— naftalen, acenaften, 2,3,6,-trimetilnaftalen, fluoren, fenantren, antracen, 3-metilfenantren, 4,5,9,10-tetrahidropiren, benzonaftofuran, 2, 7-dimetilfenantren, fluoranten, 2-fenilindol, dibenzotiofen, piren, 1-metilpiren, 11-H benzo /b/ fluoren, 11-metilbenzo /a/ fluoren, benzo /c/ fenantren, benzo /b/ fluoranten, benz /a/ piren i dibenz /a,h/ antracen.

Primjer identifikacije na osnovu pretraživanja biblioteke spektrograma masa prikazan je na slici 2.



Slika 2. Spektogram supstance izolovane sa filtera od staklenih vlakana (gornji) i spektrogram 11-H benzo /b/ fluorena iz NBS biblioteke spektrograma masa (donji)

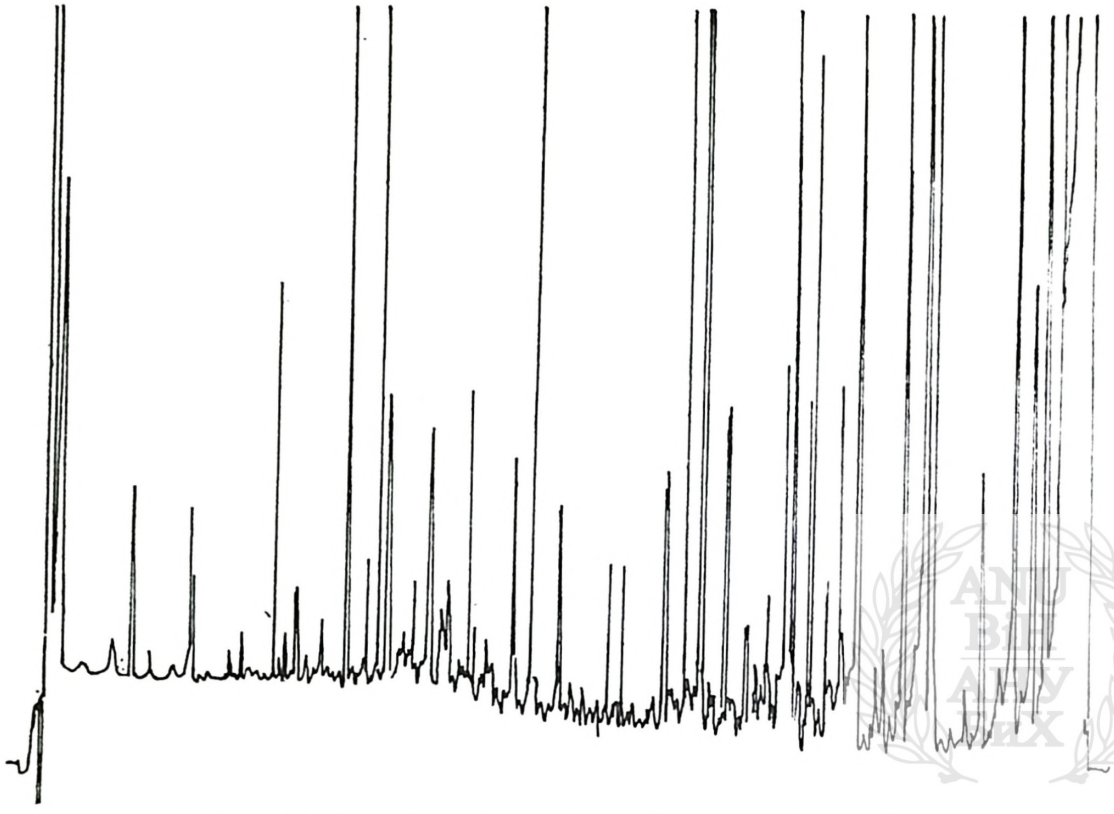
Gornji spektrogram masa je od supstance ekstrahovane sa filtera od staklenih vlakana, dok donji spektrogram odgovara 11H benzo /b/ fluorenu. Očito je da postoji potpuno slaganje, počevši od molekularnog jona na m/z 216, koji je ujedno i bazni signal u oba spektrograma, pa do svih ostalih masa karakterističnih za fragmentaciju ove supstance.

U ekstraktima dobijenim obradom filtera od ugljenog filca identificirani su slijedeći spojevi: 1,1-bifenil, benzen 2,5-cikloheksadien, 2,3-dimetilnaftalen, 1,4-dimetilnaftalen, 1,6-dimetilnaftalen, 1,8-dimetilnaftalen, bifenilen, alkani od C_{10} do C_{15}, alkani od C_{15} do C_{20}, alkani preko C_{20}, supstituisani aminonaftaleni, supstituisani etilnaftaleni, piren i fluoren.

Tipičan hromatogram ekstrakta sa filtera od ugljenog filca dobijen na kapilarnoj koloni SE-30 uz upotrebu plamenojonizacijskog detektora prikazan je na slici 3.

U ekstraktima dobijenim sa granuliranog aktivnog uglja, identificirani su slijedeći spojevi: 2,5-dimetilheksan, 2-butil, 5-metiltiazol, 3-etiloktan, 2,2,6-trimetiloktan, 2-etilheksanol-1, 1-hloroktan, 1,3,5-trime tilbenzen, 1,2,4-trimetilbenzen, 1-etil, 3-metilbenzen, 1-etil, 2-metilbenzen,

izopropilbenzen, 2,5-dimetilundekan, 1-(2-metilbutil), 1-(metilpropil)-ciklopropan, 2-etil, 1-heksanol. 2,4-dimetilheptanol-4, 3,4-dimetilheptanol-4 i 1,4-dietilbenzen.



Slika 3. Hromatogram ekstrakta sa filtera od ugljenog filca

U ekstraktima dobijenim obradom silikagela identificirane su slijedeće supstance:

— 2,4-bis (1,1-dimetiletil) fenol, 3,5-bis (1,1-dimetiletil) fenol, 9-H-fluoren-2-karbonitril, 2,4,6-tris (1,1-dimetiletil) fenol i 2-acetil-5,8-dihidroksi-5-metoksi-1,4-naftokinon.

U toluenskom dijelu koji je sakupljen putem ispiralice identificirane su slijedeće supstance:

— benzen, etilbenzen, benzaldehid, 1,3,5-trimetilbenzen, 1,2,4-trimetilbenzen, 1,2,3-trimetilbenzen, 1-etil, 3-metilbenzen, 1-etil, 4-metilbenzen, 2,4-dimetil-2,3-heptadien-5-in, 5-(1-metilpropiliden)-1,3-cikloheptadien, undekan, biciklo-3,2,1-oktan-2,3 bis (metilen), 1-(2-metilfenil) etanon, 1,3,5-tris (metilen)-cikloheptan, 2-metil-5-(1-metiletenil)-2-cikloheksen-1-01, 2,3-dihidro-2-metil-benzofuran, 2-pentiltiofen, 1-etil-1,2-dihidro-3H-indazol-3-on, 1,2,4-trietilbenzen, biciklo-4,4,1-undekan-1,3,5,7,9-pentaen-11-on, 1-metilinden, naftalen, azulen, 5-metilundekan, 2,5-dimetildodekan, 2-metilnaftalen, 1-etiliden-1H-inden i 4,5,6,7,8,9,10,11-oktahidro-1H-ciklodekapirazol.

DISKUSIJA

Ovaj rad je bio samo preliminarni test, koji je trebao omogućiti uvid u spektar prisutnih organskih supstanci u atmosferi Zenice u ispitivanom usko ograničenom periodu. Rezultati opravdavaju bojazan da je stanje aerozagađenja u Zenici komplikovanije nego što se može zaključiti samo na osnovu klasičnih pokazatelja, kao što su SO_2, CO, CO_2, čađ, oksidi nitrogena i teški metali. Prisustvo identificiranih takvih mutagena i karcinogena, kao što su benz (a) piren, benzofluoranten, benz (a) antracen i dibenz (a,h) antracen ne samo da značajno povećava rizik nastanka neoplastičnih oboljenja u čitavoj populaciji nego već sada svojim kumulativnim genotoksičnim djelovanjem utiče na zdravlje budućih generacija. Ovdje se ne smije zanemariti ni prisustvo policikličnih aromatskih ugljikovodika koji sami nemaju mutageno ili karcinogeno djelovanje, kao što je slučaj sa pirenom, ali u reakciji sa oksidima nitrogena iz atmosfere daju genotoksične nitro derivate (Arey et al., 1986). Zbog toga bi čitavu ovu grupaciju spojeva trebalo obavezno uključiti u rutinsku proceduru svakodevnog praćenja koncentracije organskih zagađivača, čime bi se dobili ne samo pokazatelji trenutnog stanja aerozagađenja nego i polazne vrijednosti za praćenje efikasnosti svih postupaka usmjerenih na smanjenje zagađenja životne sredine.

Identifikacija alkilnih derivata fenola, kao i alkilnih derivata benzena ukazuje na moguće mielotoksične efekte te pojave pancitopenije i aplastične anemije.

Kao što se vidi iz popisa identificiranih supstanci, prisutni su alkilni derivati fenola, ali ne i fenol. Sakupljanje fenola na silikagelu nije bilo uspješno vjerovatno zbog njegove desorpcije sa silikagela za vrijeme uzorkovanja, uslovljene njegovom isparljivošću. Primjenom kriogenih tehnika kod uzorkovanja omogućilo bi se sakupljanje fenola, kao i jako isparljivih merkaptana, koji su nosioci neprijatnog mirisa vazduha. Nažalost, u ovoj fazi eksperimenta uređaji za kriogeni rad nisu bili na raspolaganju, tako da ni ova vrsta istraživanja nije bila moguća.

Na kraju treba napomenuti da eventualni toksični efekti prisustva velikog broja alifatskih ugljikovodika i njihovih derivata u literaturi nisu na zadovoljavajući način obrađeni, posebno sa aspekta njihovog istovremnog djelovanja sa karcinogenim supstancama te njihovog eventualnog promotorskog efekta. Ova činjenica otvara čitav niz neriješenih problema koji stoje pred savremenom toksikologijom i njihovim rješavanjem bi se svakako dopunila slika koju ovdje prikazana istraživanja daju o stanju aerozagađenja u ispitivanom periodu.

ORGANIC SUBSTANCES IDENTIFICATION IN THE ATMOSPHERE OF THE CITY OF ZENICA USING THE METHOD OF CHROMATOGRAPHY — MASS SPECTROMETRY

Summary

The location of metallurgic complex, together with power plants and coke production in an urban center, results in an appropriate atmospheric pollution

part of which are organic compounds in a significant amount. A longterm exposition to some organic compounds may result in chronic toxic or genotoxic effects, so identification of such compounds means a necessity in planning of permanent monitoring. It was the aim of this paper. Concernig the nature of air pollution in this case, various classes of organic compounds were expected in atmosphere which caused a different sampling procedures to be applied. Samples were collected on glass fiber filters, activated charcoal, silica-gel layers, on filters made of specially prepared coal tissue and in impingers filled with toluene. The identification was performed by gas chromatography and gas chromatography — mass spectrometry. Alkyl substituted phenols, alkyl derivatives of benzene, polycyclic aromatic hydrocarbons and their alkyl derivatives, normal, branched and cyclic alkanes and alkenes, aminonaphthalenes, aliphatic alcohols and ketones and heterocyclic compounds with nitrogen and sulfur were identified.

LITERATURA

Arey, J., Zielinska, B., Atkinson, R., Winer, A. M., Ramdahl, T. and Pitts, J. N. Jr.: *The Formation of Nitro PAHs from the Gas Phase Reaction of Fluoranthene and Pyrene with the OH Radical in the Presence of No_x,* Atmos. Environ., 1986, 20, 2389—2345.

Choundhury, D. R., Bush, B.: *Chromatographic-Spectrometric Identification of Airborne Polynuclear Aromatic Hydrocarbons,* Biomed. Mass Spectr., 1985, 12, 142—150.

Dean, S. H., Murray, M. J., Ward, E. C.: *Toxic Responses of the Immune System,* in: Toxicology — The Basic Science of Poisons, Edited by Klaasen, C. D., Amdur, M. O., Doull, J. Macmillan Publishing Company New York 1986. pp 245—285.

Grimmer, G., Brune, H., Deutsch-Wenzel, R. et al.: *The Contribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Fraction with Different Boilling Ranges to the Carcinogenic Impact of Emission Condensate from Coal Fired Residential Furnaces as Evaluated by Topical Application to the Skin of Mice,* Cancer Letters, 1983, 28, 203—211.

Goodman, D. G., Ward, J. M., Reichardt, W. D.: *Splenic Fibrosis and Sarcomas in F344 Rats Fed Diets Containing Aniline Hydrochloride, 4,4 — 'Sulfonilidianiline or D and C Red,* J. Natl. Cancer Ins., 1984, 73, 265—270.

Hicks, R. M., Wright, R., Wakefield, J. St. J.: *The Induction of Rat Bladder Cacner by 2-naphthylamine,* Br. J. Cancer, 1982, 46, 646—650.

IARC: *Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemical to Tumors,* IARC Monografs, 1982, 29, 93—148.

Janiševa, N. Ja., Kireeva, I. S., Černičenko, I. A., Balenko, N. V., Pavlova, N. A.: *Gigieničeskie problemo ohrani okružajuščej sredi ot zagrjaznenija kancerogenami,* Zdorovja, Kiev 1985, pp. 6—11.

Quilliam, M. A., Lant, M. S., Kaiser-Farelli, G. et al.: *Identification of Polycyclic Aromatic Compounds in Mutagenic Emission From Steel Casting,* Biomed. Mass Spectrom., 1985, 12, 142—150.

Williams, G. M., Weisburger, J. H.: *Chemical carcinogens,* in: *Toxycology — The Basic Science of Poisons,* Edited by Klaasen, C. D., Amour, M. O., Doull, J. Macmillan Publishing Company, New York, 1986, pp. 99—173.

Yang, S. K., Gelboin, H. V., Trump, B. F., Antrup, H., Haris, C. C.: *Metabolic Activation of Benzo (a) Pyrene and Binding to DNA in Cultured Human Bronchus,* Cancer Res., 1977, 35, 1210—1215.