

POLICIKLIČKI AROMATSKI UGLJIKOVODICI U ATMOSFERI GRADA ZENICE

M. Šober i B. Nikolin

Farmaceutski fakultet, Sarajevo

Primljeno 16. IV. 1990.

Vršena su preliminarna mjerenja sadržaja nekih policikličkih aromatskih ugljikovodika u ekstraktima lebdećih čestica sakupljenih u gradu Zenici. Osim dokazanih karcinogena kao što su benz(a)piren, benz(a)antracen, koronen i dibenz(a,h)antracen, u ispitivanim uzorcima praćena je i koncentracija naftalena, acenaftena, fluorena, fenantrena, antracena, fluorantena i pirena za koje se opravdano može pretpostaviti da u reakcijama sa oksidima nitrogena u atmosferi predstavljaju prekurzore genotoksičnih spojeva. Nadene koncentracije benz(a)pirena u prosjeku su veće u odnosu na neka druga mjesta u Jugoslaviji gdje su vršena slična istraživanja te prelaze granične vrijednosti za atmosferu naseljenog mjesta prema propisima SR Njemačke i Holandije. Istovremeno su uočene i veoma visoke varijacije u koncentraciji naftalena koja se u dva uzastopna dana mijenja i za dva reda veličine što se, najvjerojatnije, može pripisati neriješenim problemima u tehnološkom procesu.

Policiklički aromatski ugljikovodici (PAU) predstavljaju značajnu klasu polutanata atmosfere koji nastaju nepotpunim sagorijevanjem organskog materijala i zbog svojih fizičkih osobina uglavnom dolaze vezani za lebdeće čestice prašine pepela i čađe. Mogu nastati radom motora s unutrašnjim sagorijevanjem, u pećima loženim fosilnim gorivima kao i prilikom spaljivanja otpadaka, ali su mnogo značajniji industrijski zagađivači kao naftna industrija, elektroliza glinice, proizvodnja koksa i termoelektrane. Nastaju i u livnicama prilikom livenja željeznih ingota (1) a prisutni su i u visokopećnom plinu (2). Iz tih razloga interesantan slučaj predstavlja grad Zenica koji u gotovo samom urbanom jezgru objedinjuje naš najveći kompleks crne metalurgije zajedno sa termoelektranom, koksarom i postrojenjima za proizvodnju industrijske

* Rad je prezentiran na Savjetovanju o metalurškoj tehnologiji »Zenica '88« u Zenici, 29. i 30. IX. 1988.

pare. Interes koji PAU danas pobuđuju potiče od izrazitog karcinogenog i mutagenog djelovanja nekih pripadnika ove grupacije spojeva (3) koji toksične efekte ispoljavaju vezivanjem svojih metabolita za nukleofilne centre nukleinskih kiselina i drugih staničnih makromolekula (4, 5). U ovom radu praćena je koncentracija benz(a)pirena, materije sa izrazitim karcinogenim i mutagenim djelovanjem, te koncentracije benz(a)antracena, krizena i dibenz(a,h)antracena za koje je takođe utvrđeno da ispoljavaju genotoksične efekte. Osim ovoga, vršeno je i određivanje naftalena za koji se još uvijek sumnja da ima kancerogena svojstva kao i određivanje acenaftena, fluorena, fenantrena, antracena, fluorantena i pirena za koje do sada nije utvrđeno genotoksično djelovanje. Međutim, onedavno je poznato da ove supstance u atmosferi reaguju sa oksidima nitrogena dajući odgovarajuće nitroaril derivate (6, 7) za koje se od ranije zna da u organizmu metaboličkim transformacijama prelaze u hidroksilamine (8) koji su zapravo odgovorni za toksična i genotoksična djelovanja aromatskih amina (9, 10). Za određivanje PAU danas je poznato više različitih analitičkih metoda, od hromatografije na tankom sloju (11) do direktne primjene laserske spektrofluorimetrije (12), ali se najviše ipak koriste tečna hromatografija visoke moći razlučivanja (HPLC) i gasna hromatografija. Međutim, HPLC je uglavnom korištena kod određivanja sadržaja PAU koji u svojoj molekuli sadrže više od tri kondenzovana prstena, dok za određivanje »lakših« PAU (naftalen, acenaften, fluoren) nije primjenjivana (13 – 15). Zbog toga je u ovom radu korištena gasna hromatografija kao metoda određivanja čime je, osim PAU sa dokazanim karcinogenim djelovanjem, omogućeno i određivanje PAU sa dva do tri prstena u molekuli. Mada *Osion i saradnici* (16) navode da se naftalen, inden, bifenil i acenaften na filteru od staklenih vlakana koji je u ovom radu korišten za sakupljanje uzoraka, zadržavaju manje od 10%, dok se fluoranten i piren zadržavaju 26%, odnosno 28%, određivanje ovih spojeva je ipak opravdano jer oni predstavljaju prekurzore za nastanak genotoksičnih nitroarena pa se na ovaj način stiče uvid u njihov sadržaj.

EKSPERIMENTALNI DIO

Sakupljanje uzoraka

Uzorci lebdećih čestica sakupljani su tokom decembra 1987. godine na lokalitetu Metalurškog instituta »Hasan Brkić« u Zenici koji se nalazi u samom središtu grada, oko 1500 m zračne linije udaljen od postrojenja Željezare Zenica. Sakupljanje je provedeno LIB uređajem za sakupljanje lebdećih čestica (SAG Apparate und Gerätebau, Ottbrun, Freilinger und Ritschel, GmbH) uz upotrebu Sartorius filtera od staklenih vlakana SM 134 00. Uzorci su sakupljani u trajanju od 24 sata uz prosječnu količinu propuštenog zraka od 350 m³ pri čemu je sakupljanje provedeno na visini od 2,7 m od tla. Standardi naftalena, fenantrena, antracena, fluorantena, fluorena, pirena, benz(a)antracena, krizena, benz(a)pirena i dibenz(a,h)antracena nabavljeni su od proizvođača Fluka AG i bili su čistoće *pro analisi* te su korišteni bez prethodnog prečišćavanja. Standard acenaftena nabavljen je kod istog proizvođača ali je bio čistoće *purum* pa je prije upotrebe dva puta prekrystalisan iz etanola. Metil stearat koji je korišten kao interni standard dobiven je posredstvom firme V.G. Analytical i korišten je bez daljeg prečišćavanja. Toluen i etanol

čistoće *pro analisi* koji su korišteni u radu nabavljeni su od proizvođača »Kemika« Zagreb i »Alkaloid« Skoplje i prije upotrebe su destilirani u aparaturi od stakla. Upotrijebljeni n-heksan proizvođača »Merck« Darmstadt bio je čistoće za spektroskopiju i tekućinsku hromatografiju i korišten je bez prethodnog prečišćavanja. Smola XAD-2 (»Serva Feinbiochemica« Heidelberg) posebno je prečišćena prije upotrebe organskim rastvaračima.

Ekstrakcija uzoraka

Filteri sa uzorcima lebdećih čestica vagani su nakon sušenja u vakuum eksikatoru u trajanju od 48 sati kako bi se odredila masa sakupljenih čestica, a potom su rezani na manje komade i ekstrahirani toluenom u aparaturi po Soxhletu u trajanju od pet sati. Sirovi ekstrakt je uparen na rotovaporu na temperaturi od 60 °C na malu zapreminu (2–3 ml) a potom u struji nitrogena do suha. Sui ostatak je otopljen u 2 ml etanola i u porcijama od po 0,5 ml nanesen na stub smole XAD-2. Kolonska hromatografija je provedena na način koji je opisao *Spitzer* (17) uz jedini izuzetak što je umjesto n-pentana korišten n-heksan. U frakciju aromatskih ugljikovodika dodan je interni standard i izvršeno je uparavanje na malu zapreminu (0,2–0,3 ml) u struji nitrogena na temperaturi od 40 °C. Određivanje je provedeno metodom gasne hromatografije uz upotrebu kapilarne kolone DB-5 (»J and W Scientific«) dimenzija 30 mm × 0,32 mm i plamenojonizacijskog detektora. Gasni hromatograf je bio Dani 3800 HR, kao gas nosač korišten je helijum uz protok od 2 ml/min, uzorci su bili injicirani splitles tehnikom a hromatogrami su registrirani na pisaču Perkin Elmer 56.

REZULTATI I DISKUSIJA

U tabeli 1. prikazane su izmjerene koncentracije ispitivanih policikličkih aromatskih ugljikovodika, zaokružene i izražene u nanogramima po kubnom metru zraka. Pošto kapilarna kolona DB-5 ne odvaja krizen od trifenilena, u tabeli je navedeno da se nađene količine odnose na smjesu ove dvije supstance, mada je rezultat dobijen isključivo na osnovu standardne krive krizena. Iako je broj uzoraka bio premali da bi se u ovoj fazi istraživanja mogli donositi neki čvršći zaključci, pada u oči da su koncentracije PAU izmjerene u atmosferi Zenice premašivale vrijednosti izmjerene u drugim jugoslovenskim gradovima (18–20). Mada rezultati ovih radova ne moraju biti sasvim usporedivi pošto su dobijeni različitim tehnikama, neke razlike padaju u oči. Tako, uspoređivanjem sa rezultatima rada *Đukovića i saradnika* (18) koji su određivali PAU na području Tuzle i Lukavca, koncentracije ovih spojeva izmjerene u atmosferi Zenice veće su i za dva reda veličine. Primjera radi, u Lukavcu su izmjerene koncentracije fluorantena od 0,00 do 0,255 ng/m³ (18), dok je našim mjerenjem utvrđena koncentracija fluorantena u atmosferi Zenice u rasponu od 26 do 55 ng/m³. Sličan je slučaj i sa koncentracijom benz(a)pirena za koji autori prethodno pomenutog rada (18) navode da se, zajedno sa benz(g,h,i)perilenom, kreće u granicama od 0 do 0,32 ng/m³ dok je u Zenici izmjeren raspon koncentracija od 11 do 47 ng/m³ zraka. Pošto autori (18) navode da su uzorci sakupljeni tokom sva četiri godišnja doba, ovakve razlike

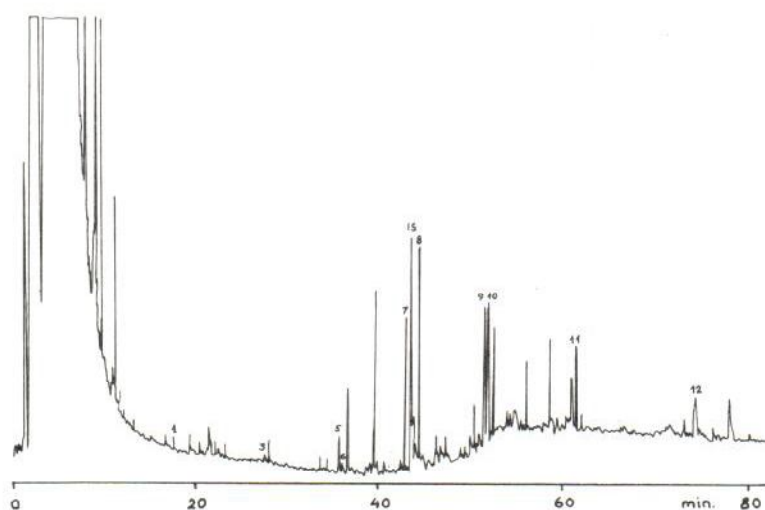
Tabela 1.

Koncentracija ispitivanih PAU u nanogramima po kubnom metru zraka

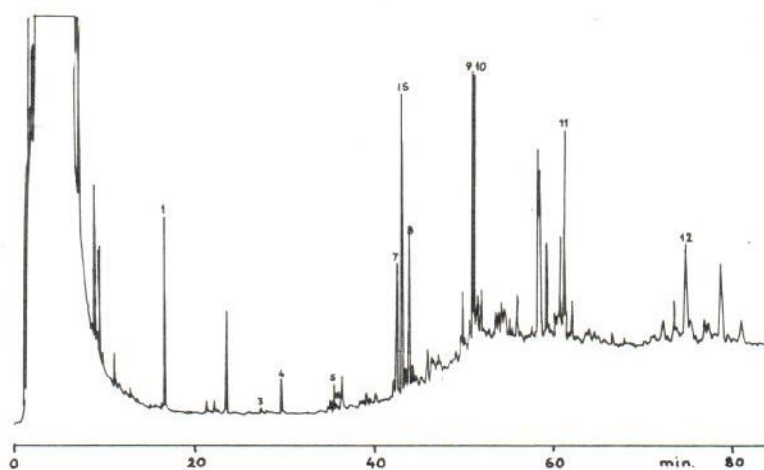
Naziv supstance	Datum sakupljanja uzorka						
	3-4. XII.	4-5. XII.	9-10. XII.	10-11. XII.	14-15. XII.	15-16. XII.	16-17. XII.
Naftalen	8	299	74	10	319	19	29
Acenaften	22	7	13	—	—	5	11
Fluoren	—	14	4	5	12	2	1
Fenantren	59	48	46	10	84	52	49
Antracen	17	12	25	6	37	35	13
Fluoranten	33	26	41	55	51	29	37
Piren	43	28	44	57	58	41	37
Benz(a)antracen	11	19	16	12	28	12	19
Krizen + trifenilen	8	15	13	9	22	10	15
Benz(a)piren	11	45	19	17	47	13	37
Dibenz(a,h)antracen	10	22	14	6	24	11	19

u rasponima izmjerenih vrijednosti ne bi se mogle objasniti samo uticajem godišnjeg doba, nego ih, vjerovatno, treba djelomično pripisati različitim tehnikama mjerenja (primijenjena je tečna hromatografija visoke moći razdvajanja, dok je u našem mjerenju korištena gasna hromatografija na kapilarnim kolonama). Cvitaš i Klasinc (19) navode da je u Rijeci dana 23. 9. 1979. izmjerena koncentracija benz(a)pirena od 2,2 ng/m³ što autori uzimaju kao visoku vrijednost. Kako se ipak radi o samo jednom mjerenju, koje je uz to obavljeno u meteorološki povoljnije doba godine i još primjenom drugačije analitičke metode (spektrofluorimetrija), za poređenje izmjerenih vrijednosti možda je bolje koristiti rezultate koje su objavili Božičević i saradnici (20). Ovi autori su tokom 1977/78, 1978/79. i 1979/80. za vrijeme zimskih mjeseci jednom sedmično određivali benz(a)piren, benz(a)antracen, benzo(b)fluoranten, indeno(1,2,3-cd)piren, fluoranten i benzo(k)fluoren. Srednje koncentracije benz(a)pirena bile su najviše u periodu 1977/78. i iznosile su 14 ng/m³ ± 13 ng/m³ zraka, dok je apsolutno najveća izmjerena koncentracija za čitavo vrijeme mjerenja iznosila 47 ng/m³. Te vrijednosti su mnogo bliže vrijednostima izmjerenim u Zenici gdje je, uza sva ograničenja da se radi o samo sedam mjerenja, nađena srednja vrijednost od 27 ng/m³ ± 15 ng/m³ zraka. Slično je i za vrijednosti koncentracije benz(a)antracena čija najveća srednja vrijednost iznosi 17 ng/m³ ± 14 ng/m³ i izmjerena je u periodu 1977/78. Srednja vrijednost koncentracije benz(a)antracena izmjerena u Zenici jeste 17 ng/m³ ± 6 ng/m³ zraka.

Iako našim zakonskim propisima još nisu utvrđene granične vrijednosti pojedinih PAU u atmosferi naseljenog mjesta, na osnovu podataka koji se navode za propise nekih stranih zemalja (21, 22) može se slobodno reći da koncentracija ovih supstanci u atmosferi Zenice prelazi vrijednosti koje su date u tim smjernicama. Tako je za koncentraciju benz(a)pirena, prema propisima Savezne Republike Njemačke, granična vrijednost 10 ng/m³ zraka (21) računato kao godišnji prosjek. Holandski propisi kao



Slika 1. Hromatogram ekstrakta lebdećih čestica sakupljenih 3–4. 12. 1987. Oznake na bromatogramu: 1. naftalen, 3. acenaften, 4. fluoren, 5. fenantren, 6. antracen, 7. fluoranten, IS interni standard 8. piren, 9. benz(a)antracen, 10. krizen, 11. benz(a)piren i 12. dibenz(a,b)antracen



Slika 2. Hromatogram ekstrakta lebdećih čestica sakupljenih 4–5. 12. 1987. Oznake na bromatogramu: 1. naftalen, 3. acenaften, 4. fluoren, 5. fenantren, 6. antracen, 7. fluoranten, IS interni standard, 8. piren, 9. benz(a)antracen, 10. krizen, 11. benz(a)piren i 12. dibenz(a,b)antracen

privremenu mjeru u snižavanju karcinogenih materija u atmosferi, za benz(a)piren ograničavaju koncentraciju na 5 ng/m^3 zraka (22), dok je ideal kojem se teži potpuno odsustvo ove supstance u atmosferi. Za vrijeme naših mjerenja ustanovljen je interesantan slučaj da se tokom dva uzastopna dana koncentracija naftalena povećala skoro 30 puta (tabela 1) da bi ubrzo zatim pala na prethodnu vrijednost, što se u periodu ispitivanja dogodilo čak dva puta. Ova pojava se jasno uočava i na hromatografima na slikama 1. i 2. Ovako drastično povećanje sadržaja naftalena dobija još više na težini ako se uzme u obzir podatak iz prethodno citiranog rada (16) da se naftalen, inden, bifenil i acenaftilen na filterima od staklenih vlakana zadržavaju manje od 10% te se stvarna koncentracija naftalena u atmosferi može slobodno procijeniti za čitav red veličine višom od ovdje navedene. Pošto ovo povećanje koncentracije naftalena nije praćeno i odgovarajućim povišenjem sadržaja drugih ispitivanih PAU, moguće objašnjenje ove pojave bi ukazivalo na vjerovatno postojanje neriješenih problema u tehnološkom procesu koji se periodično ponavljaju.

ZAKLJUČAK

Procjena izloženosti policikličkim aromatskim ugljikovodicima moguća je tek nakon dužeg ispitivanja ovih spojeva u atmosferi. Prema raspoloživim informacijama, takovih ispitivanja do danas u Zenici nije bilo. Iako su tokom ovog rada PAU određivani na veoma malom broju uzoraka koji su, osim toga, sakupljeni u vremenski najnepovoljnijem periodu godine, rezultati upućuju na mogućnost prekoračenja graničnih koncentracija nekih od ispitivanih PAU u atmosferi naseljenog mjesta. To neminovno ukazuje na potrebu organizovanja dugotrajnih ispitivanja koncentracije PAU u atmosferi Zenice kojima bi se istovremeno objasnila i naizgled paradoksalna činjenica da je sadržaj ovih supstanci u atmosferi Lukavca, koji takođe ima koksaru, i do dva reda veličine niža, bez obzira na razlike u načinu mjerenja. Osim toga, trajno praćenje PAU sa izrazitim karcinogenim djelovanjem kao i eventualnih prekurzora genotoksičnih spojeva, omogućilo bi blagovremeno otkrivanje nedostataka u tehnologiji i zaštiti.

Zahvala – Dru Milanu Tomljanoviću i inž Alenki Koželj iz Metalurškog instituta »Hasan Brkić« u Zenici zahvaljujemo na svestranoj pomoći prilikom sakupljanja uzoraka.

LITERATURA

1. *Quilliam MA, Lunt MS, Kaiser-Farrel C et al.* Identification of polycyclic aromatic compounds in mutagenic emission from steel casting. *Biomed Mass Spectrom* 1985;12:143 – 50.
2. *Janiševa MJ, Kireeva IS, Černičenko I, Belenko NV, Pavlova NA.* Gigijeničeskie probleme ohrani okružajuščeje sredi ot zagrjaznenija kancerogenami. Kiev: Zdorovja 1985.
3. *Williams GM, Weisburger JH.* Chemical carcinogenesis. U: Klaasen CD, Amdur MO, Dull J, ur. *Casarett and Dull's Toxicology*. New York: Macmillan Publishing Company, 1986:99 – 173.

4. Yang SK, Gelboin HV, Trump BF, Antrup H, Harris CC. Metabolic activation of benzo(a)pyrene and binding to DNA in cultured human bronchus. *Cancer Res* 1977;35:1210-5.
5. Grimmer G, Brune H, Deutsch-Wenzel R et al. The contribution of polycyclic aromatic hydrocarbon fraction with different carcinogenic impact of emission condensate from coal fired residential furnaces as evaluated by topical application to the skin of mice. *Cancer Letters* 1983;28:203-11.
6. Atkinson R, Arey J, Zielinska B, Aschmann SM. Kinetics and products of gas-phase reaction as of OH radicals and N₂O₅ with naphthalene and biphenil. *Environ Sci Technol* 1987;21:1014-22.
7. Arey J, Zielinska B, Atkinson R, Aschmann SM. Nitroarene products from gas-phase reactions of volatile polycyclic aromatic hydrocarbons with OH radical and N₂O₅. *Int J Chem Kinet* 1989;21:775-99.
8. Kadlubar FF, Beland PA, ur. Second International Conference on Carcinogenic and Mutagenic N-substituted Aryl Compounds. *Environ Health Perspect* 1983;49:1-232.
9. Hicks RM, Wright R, Wakefield JSJ. The induction of rat bladder cancer by 2-naphthylamine. *Br J Cancer* 1982;46:646-50.
10. Goodman DG, Ward JM, Reichardt WD. Splenic fibrosis and sarcoms in P344 rats fed diets containing aniline hydrochlorine, 4,4-sulfonildianiline or D and C red. *J Natl Cancer Ins* 1984;73:265-70.
11. Poole CF, Butler HT, Coddens ME, Khatib S, Vandervennet R. Comparison of methods for separating PAH's by HPTLC. *J Chromatog* 1984;302:149-58.
12. Elsaid AE, D'Silva AP, Fassel VA, Dobson RLM. Direct determination of PAH's in extracts of particulate matter. *Anal Chem* 1987;59:970-3.
13. Daisey JM, McCaffrey RJ, Gallagher RA. Polycyclic aromatic hydrocarbons and total extractable particulate organic matter in the arctic aerosol. *Atmos Environ* 1981;15:1353-63.
14. May WE, Wise SA. Liquid chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in air particulate extracts. *Anal Chem* 1984;56:225-32.
15. Sim PG, Boyd RK, Gersbey RM et al. A comparison of chromatographic mass spectrometric techniques for the determination of PAH's in marine sediments. *Biomed Environ Mass Spect* 1987;14:375-81.
16. Olson R, Leach JM, Chung TK. Sampling of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons. *Anal Chem* 1987;59:1701-5.
17. Spitzer TClean-up of polycyclic aromatic hydrocarbons from air particulate matter on XAD-2. *J Chromatog* 1982;237:273-8.
18. Đuković J, Azapagić A, Pašalić H. Sadržaj polinuklearnih aromatskih ugljikovodika u vazduhu Tuzle i Lukavca. *Zaštita atmosfere* 1987;15:15-9.
19. Cvitaš T, Klasinc L. »Trenutni snimak« zagadenja zraka u Kvarnerskom zaljevu. *Zaštita atmosfere* 1979;15:13-6.
20. Božičević Z, Cvitaš T, Grković V, Klasinc L, Novak I, Sabljic A. Policiklički aromatski ugljikovodnici i olovo u zraku grada Zagreba. *Kem Ind* 1981;30:15-9.
21. Umweltbundesamt Luftqualitätskriterien für ausgewählte polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe. *Berichte* 1/79. Berlin: Erich Schmidt Verlag, 1979.
22. Tweede Kamer der Staten-General 18605. Den Haag: 1984/85:108-9.

Summary

POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN THE ZENICA AIR

The content of some polycyclic aromatic hydrocarbons in extracts of particulate matter collected in the city of Zenica in December 1987 was analysed. In addition to the presence of proven carcinogens like benzo(a)pyrene, benzo(a)anthracene, chryzene and dibenzo(a,h)anthracene, the contents of naphthalene, fluorene, fenanthrene, anthracene, fluoranthene and pyrene were also determined. Those substances were rightly assumed to be precursors of genotoxic products in reactions with atmospheric nitrogen oxides. The determined average concentration of benzo(a)pyrene was higher than those found in other places in Yugoslavia where similar studies were conducted. At the same time, the measured benzo(a)pyrene concentration exceeded the guidelines for inhabited places according to the standards of the Federal Republic Germany and the Netherlands. The observed high variations in naphthalene concentration of as much as two orders of magnitude in two days were likely due to unsolved technological problems.

Faculty of Pharmacy, Sarajevo