

Saopćenje
UDK 543.844:681.3

PRIMJENA TESTA ZA UTVRĐIVANJE TRAGOVA
HALOGENIH ORGANSKIH SPOJEVA PRI
ANALIZI SMJESA U VEZANOM SUSTAVU PLINSKA
KROMATOGRAFIJA-SPEKTROMETRIJA
MASA-ELEKTRONIČKA OBRADA PODATAKA

Z. SMIT i M. KODRIĆ-SMIT

Prehrambeno-tehnološki fakultet i Zavod za zaštitu zdravlja, Osijek

(Primljeno 9. IX 1980)

U radu je pri elektroničkoj obradi podataka, dobivenih klasičnim snimanjem različitih uzoraka iz okoliša i biološkog materijala u vezanom sustavu plinski kromatograf-spektrometar masa-elektroničko računalo, primijenjen poseban program za traženje organskohalogenih spojeva — onečišćivača (»halotest«), koji iskorištava izraženost negativnog defekta mase i karakteristični oblik spektara masa takvih spojeva. Test se pokazao kao vrlo uspješan pri otkrivanju toksikološki važnih organskoklornih spojeva prisutnih u tragovima. Primjenom programa olakšana je detekcija i identifikacija čak i tragova spojeva, koji su prekriveni zastupljenijim spojevima zbog nedovoljnog razlučivanja smjese na punjenim plinskokromatografskim kolonama.

U posljednjih desetak godina sve je veća potreba za jednoznačnom identifikacijom spojeva — onečišćivača prisutnih u okolišu u tragovima, što je pridonijelo relativno brzom razvitku različitih tehnika ili njihovih kombinacija, a među kojima se naročito ističe vezani sustav plinski kromatograf-spektrometar masa. Elektroničkom obradom podataka dobivenih iz ovog vezanog sustava znatno je olakšan posao, pa se već standardnim programima omogućuje čak i kvantifikacija spojeva (npr. primjenom programa za praćenje izabranih iona; engl. selected ion monitoring — SIM).

S druge strane posebna pažnja u istraživanjima onečišćivača okoliša posvećuje se organskoklornim spojevima (npr. pesticidima, kloriranim bifenilima, te u posljednje vrijeme kloriranim spojevima tipa dibenzo-

Rad referiran na II sastanku prehrambenih tehnologa, biotehnologa i nutricionista Hrvatske, Zagreb, lipanj 1979.

-p-dioksina i dibenzofurana) jer su toksični i postojani, a još nisu potpuno utvrđeni štetni efekti akumuliranih količina u ljudskom organizmu. Stoga je od interesa njihova brza identifikacija.

U radu su prikazani rezultati primjene novog i još rijetko primjenjivanog programa obrade memoriranih spektrometrijskih podataka za otkrivanje takvih spojeva, koji su u malim količinama prisutni u složenim smjesama spojeva izoliranih iz različitih uzoraka okoliša i biološkog materijala.

EKSPERIMENTALNI DIO

Uzorci biološkog materijala i materijala iz okoliša pripremljeni su za uobičajenu plinskokromatografsku analizu kloriranih onečišćenja na elektronapsorpcijskom detektoru i obrađeni u ovisnosti o prirodi ispitivanog materijala općepoznatim postupcima ekstrakcije i pročišćavanja ekstrakata. Tako dobiveni ekstrakti složenih smjesa spojeva snimani su u vezanom sustavu plinski kromatograf-spektrometar masa-elektroničko računalo uobičajenim načinom ponavljanog snimanja ukupne struje iona uz ionizaciju snopom elektrona (engl. electron impact — EI). Uskladišteni podaci dobiveni u spektrometru masa, koji su operatoru dostupni preko posebnih funkcija računskog jezika »Basic«, obrađivani su posebno sastavljenim elektroničkim programom tzv. halo-testom (1).

Program je sastavljen u cilju olakšanja traženja organskoklorinih i organskobromnih spojeva u složenim smjesama spojeva. Osnovni princip programa je da »pregledava« snimljene spektre masa spojeva eluiranih s plinskokromatografske kolone u vezanom sustavu, pri čemu se rukovodi s dva kriterija:

a) negativni defekt mase spoja prouzročen prisutnošću atoma klora i/ili broma u molekuli spoja (2) i

b) karakteristični oblik spektara masa organskoklorinih i organskobromnih spojeva, zbog prirodne raspodjele izotopa ^{35}Cl i ^{37}Cl , odnosno ^{79}Br i ^{81}Br .

Vezani sustav upotrijebljen u radu bio je Hewlett-Packard 5710 A GC — 5980 A MS — 5933 A Data System s mogućnošću razlučivanja na 0,1 atomskih jedinica mase (1 atomska jedinica mase: 1 a. m. u. $\approx 1,660 \cdot 10^{-27}$ kg).

Uvjeti analiziranja bili su ovi:

I. plinskokromatografski uvjeti

kolona: staklena, 2 m · 2 mm, punjena s 0,2% Carbowax 20 M na Chromosorbu W AW, 100—120 mesh (149—125 μm)

plin nosilac: helij, 25 ml/min

temperatura injektora: 250° C

temperaturno programiranje:

- a) za uzorak vode: 80° C (2 min) 8° C/min 240° C
- b) za uzorke mlijeka i masti: 140° C (2 min) 8° C/min 240° C
- c) za uzorak ribe: 130° C (2 min) 8° C/min 250° C

II. spektrometrijski uvjeti

energija ionizacije snopa elektrona: 70 eV (1 eV \approx 1,602 · 10⁻¹⁹ J)
temperatura ionskog izvora: 215° C
temperatura separatora s mlaznicom: 350° C
temperatura analizatora: 110° C
brzina snimanja: 80 a. m. u/s
program snimanja: ponavljano snimanje ukupnih struja iona

III. uvjeti za »halotest«

niža granica pregledavanih iona: 100 a. m. u.
niža granica intenziteta iona: 10% (normalizirano)

REZULTATI I DISKUSIJA

U našem radu s vezanim sustavom »halotest« smo primjenjivali u cilju otkrivanja i identifikacije ostataka organskoklornih pesticida u namirnicama i humanom materijalu, kao i u otkrivanju organskoklornih onečišćenja u površinskim i otpadnim vodama, te u vodama za piće.

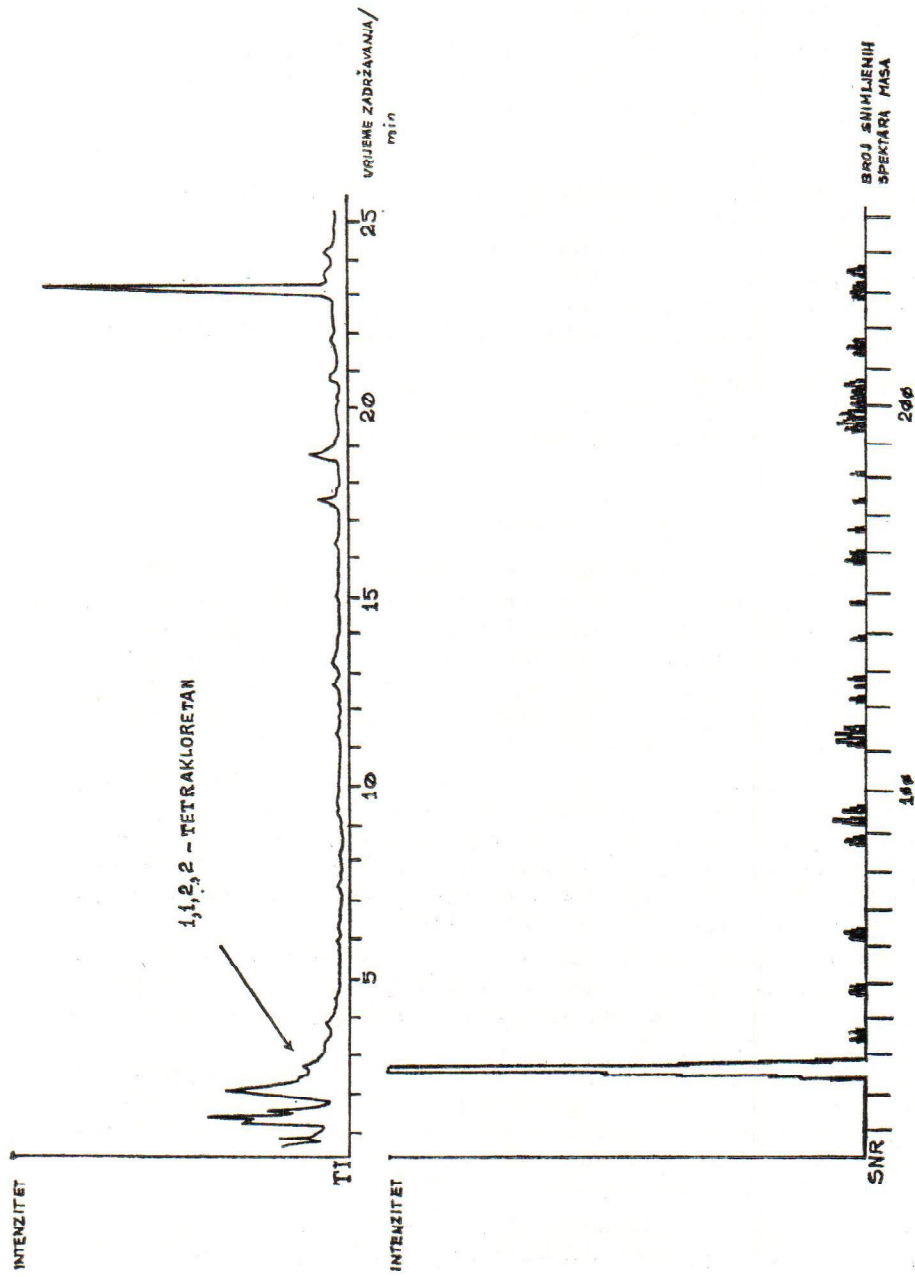
Karakteristični primjeri primjene prikazani su na slikama od 1. do 4. i odnose se na analizu uzorka vode za piće (sl. 1), humanog mlijeka (sl. 2), masti animalnog podrijetla (sl. 3) i ribe (sl. 4).

Na sl. 2. prikazan je rezultat ispitivanja uzorka masti animalnog pod-ponavljanim snimanjem spektara masa spojeva razlučenih na plinsko-kromatografskoj koloni (engl. total ion chromatogram — TI), a donji trag rezultat je primjene »halotesta«. Apscisa na gornjoj slici predstavlja vrijeme zadržavanja spojeva, a na donjoj slici broj snimljenih spektara masa (engl. spectrum number — SNR).

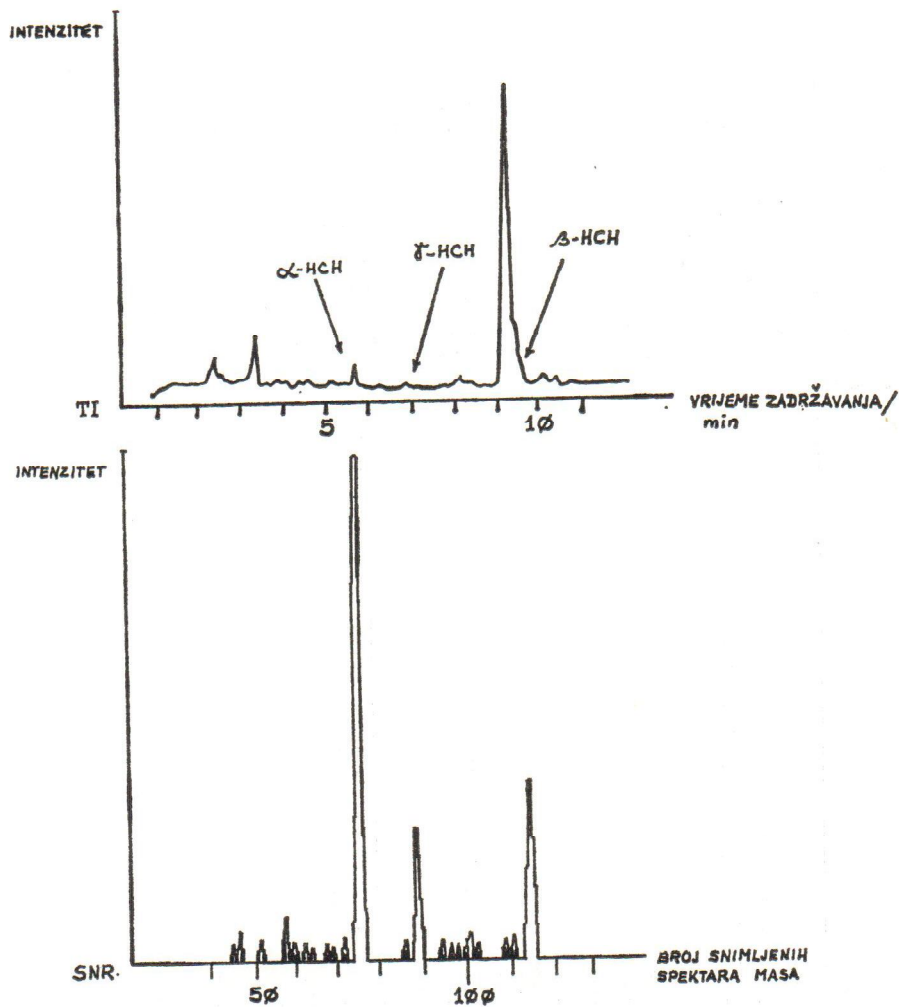
U analizi uzorka vode za piće (sl. 1) upotrijebljeni test pomogao je da se izoliranjem spektra masa na indiciranom mjestu utvrdi prisutnost 1, 1, 2, 2-tetrakloretana, vjerojatno nastalog procesom kloriranja pri pripremi vode za piće.

Na sl. 2. prikazan je rezultat ispitivanja uzorka masti animalnog podrijetla, koji je bio analiziran plinskokromatografski na ostatke kloriranih pesticida odnosno željelo se odrediti koji su izomeri heksaklorcikloheksana (HCH) prisutni. Primjenom »halotesta« indicirana su mjesta s kojih su izolirani spektri masa za α , β i γ -HCH

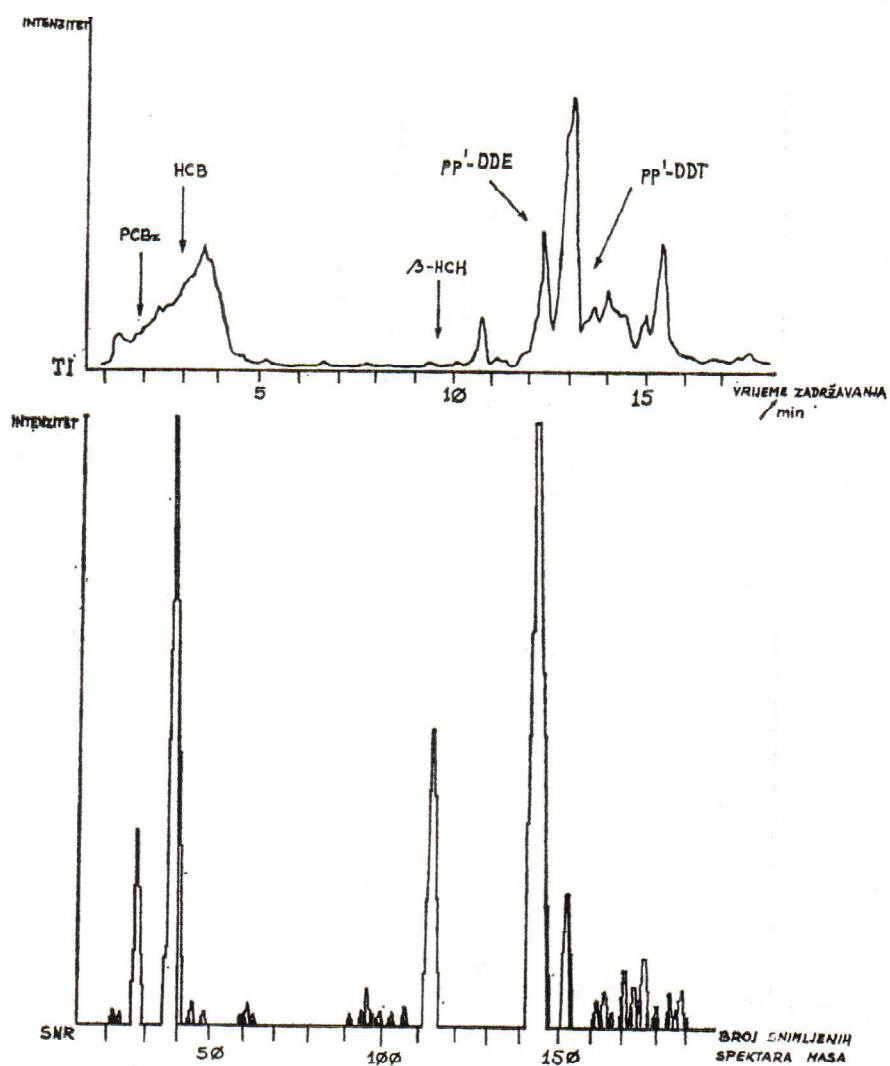
Pri ispitivanju uzorka humanog mlijeka (sl. 3) ovaj je test ponovo pomogao da se lakše pronađu i dokažu 1,1-diklor-2,2-bis(p-klorfenil) etilen



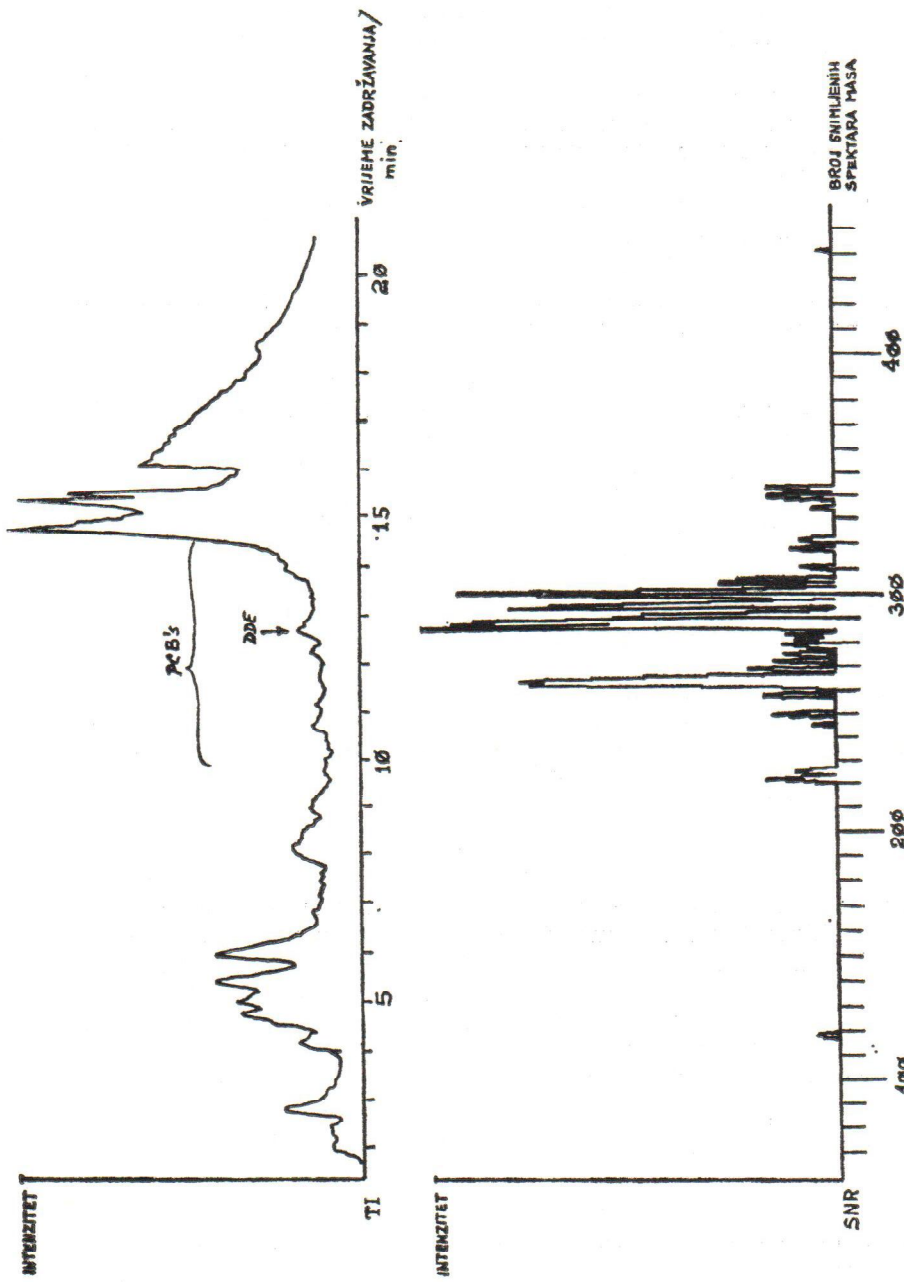
Slika 1. Kromatogram dobiven mjerenjem ukupne struje iona uobičajenog ponavljjanog snimanja spektra masa (TI) i rezultat primjene »halotesta« za uzorak vode za pice (SNR)



Sl. 2. Kromatogram dobiven mjerenjem ukupne struje iona uobičajenog ponavljano snimanja spektara masa (TI) i rezultat primjene »halotesta« za uzorak masti animalnog podrijetla (SNR)



Sl. 3. Kromatogram dobiven mjerenjem ukupne struje iona uobičajenog ponovljenog snimanja spektara masa (TI) i rezultat primjene »halotesta« za uzorak humanog mlijeka (SNR)



Sl. 4. Kromatogram dobiven mjerenjem ukupne struje iona uobičajenog po-
navijanog snimanja spektara masa (TI) i rezultat primjene »halotest« za
uzorak ribe (SNR)

(DDE), 1,1,1-triklor-2,2-bis (p-klorfenil) etan (DDT) i β -HCH, a posebno ne tako česti onečišćivači pentaklorbenzen (PCBz) i heksaklorbenzen (HCBz).

Tijekom analize uzoraka riba na ostatke organskoklorinih pesticida (sl. 4), »halotest« je upozorio na prisutnost velike grupe organskohalogenih spojeva, koji su potom identificirani kao tetra-, penta- i heksaklorbifenili (PCB's).

Uobičajenim ponavljanim načinom snimanja spektara masa uz ionizaciju snopom elektrona u vezanom sustavu dobiva se mnoštvo podataka iz kojih nije jednostavno izvršiti identifikaciju spojeva, posebno ako se radi o više ili manje izmiješanim spektrima masa, koji su posljedica nedovoljnog razlučivanja spojeva na plinskrokromatografskoj koloni.

Iz navedenih primjera vidljivo je da su i u pročišćenim ekstraktima (sl. 2, 3. i 4) gotovo svi identificirani organskoklorini onečišćivači bili »maskirani« zbog niskih koncentracija, nedovoljnog razlučivanja primijenjene punjene plinskrokromatografske kolone, kao i zbog neselektivnoga načina snimanja. U takvim slučajevima velika je pomoć opisani program, budući da upućuje na mjesta u kromatogramu dobivenom snimanjem ukupnih struja iona na kojima treba tražiti spektre masa organskohalogenih spojeva, što znatno skraćuje vrijeme identificiranja. Ako ipak nije moguće dobiti dovoljno jasan spektar masa s indiciranim mjestima, obično se takav problem lako rješava ponovnim snimanjem programom praćenja izabranih iona.

Međutim, kako se negativni defekt mase spojeva, koji se primijenjenim spektrometrom masa može registrirati, teoretski očituje pri omjerima $H:Cl < 4:1$ odnosno $H:Br < 10:1$, u takvim slučajevima za prisutne organskohalogene spojeve neće se dobiti pouzdan odgovor primjenom »halotesta«.

ZAKLJUČAK

Iako je primjenjivost »halotesta« donekle ograničena na spojeve s relativno velikim brojem atoma klora odnosno broma prema broju atoma vodika u molekuli i premda još nije razrađen za kvantitativnu primjenu, u mnogim će slučajevima primjena programa olakšati identifikaciju i znatno skratiti vrijeme analiziranja-obrađe memoriranih podataka. Ujedno, »halotest« može služiti kao još jedna potvrda identifikacije organskohalogenih spojeva.

Ovaj rad napravljen je u Laboratoriju za kemiju okoliša i toksikologiju Sveučilišta u Amsterdamu, Amsterdam, Nizozemska.

ZAHVALA

Zahvaljujemo se prof. dru O. Hutzingeru, a posebno dru K. Olieu na susretljivosti i savjetima pri izradi rada.

Literatura

1. Olie, K., Hutzinger, O., u: »Recent Developments in Mass Spectrometry in Biochemistry and Medicine«, izdavač Frigerio A., Plenum Press, New York, 1978., str. 555.
2. Harrington, D. B.: Hewlett-Packard Application Note AN 176-9.

Summary

APPLICATION OF THE TEST FOR DETECTING TRACES OF
ORGANOHALOGEN COMPOUNDS TO MIXTURE ANALYSIS IN A
COMBINED SYSTEM: GAS CHROMATOGRAPHY — MASS
SPECTROMETRY — ELECTRONIC DATA PROCESSING

A special programme for searching organohalogen compounds from memorized GC-MS data has been applied to different kinds of environmental and biological samples. The programme is based on two characteristics of organohalogen compounds: negative mass defect and mass spectra clusters. The programme was shown to be useful for detecting and identifying traces of organochlorine pollutants even when these traces were overlapped with more abundant compounds because of insufficient separation on packed GC columns.

*Faculty of Nutrition and Technology,
Osijek, and Health Centre, Osijek*

*Received for publication
September 9, 1980.*