



REPUBLIKA HRVATSKA

MINISTARSTVO ZAŠTITE
OKOLIŠA I PRIRODE

Radionica u okviru Projekta revizije Nacionalnog provedbenog
plana za provedbu Stockholmske konvencije o postojanim
organskim onečišćujućim tvarima

MONITORING POSTOJANIH ORGANOKLOROVIH SPOJEVA U OKOLIŠU I BIOSFERI

Dr. sc. Sanja Stipičević, zn. sur., dipl. ing. kem.

**Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada
Ksaverska cesta 2, Zagreb**



Zagreb, 1. srpnja 2016.

INSTITUT ZA MEDICINSKA ISTRAŽIVANJA I MEDICINU RADA



OSOBNNA KARTA

Rođen: 1947. u Zagrebu; RH

Adresa stanovanja: Ksaverska cesta 2, Zagreb

Kum: Jugoslavenska akademija znanosti i umjetnosti (dr. Andrija Štampar)

Skrbnik: Ministarstvo znanosti, obrazovanja i športa Republike Hrvatske

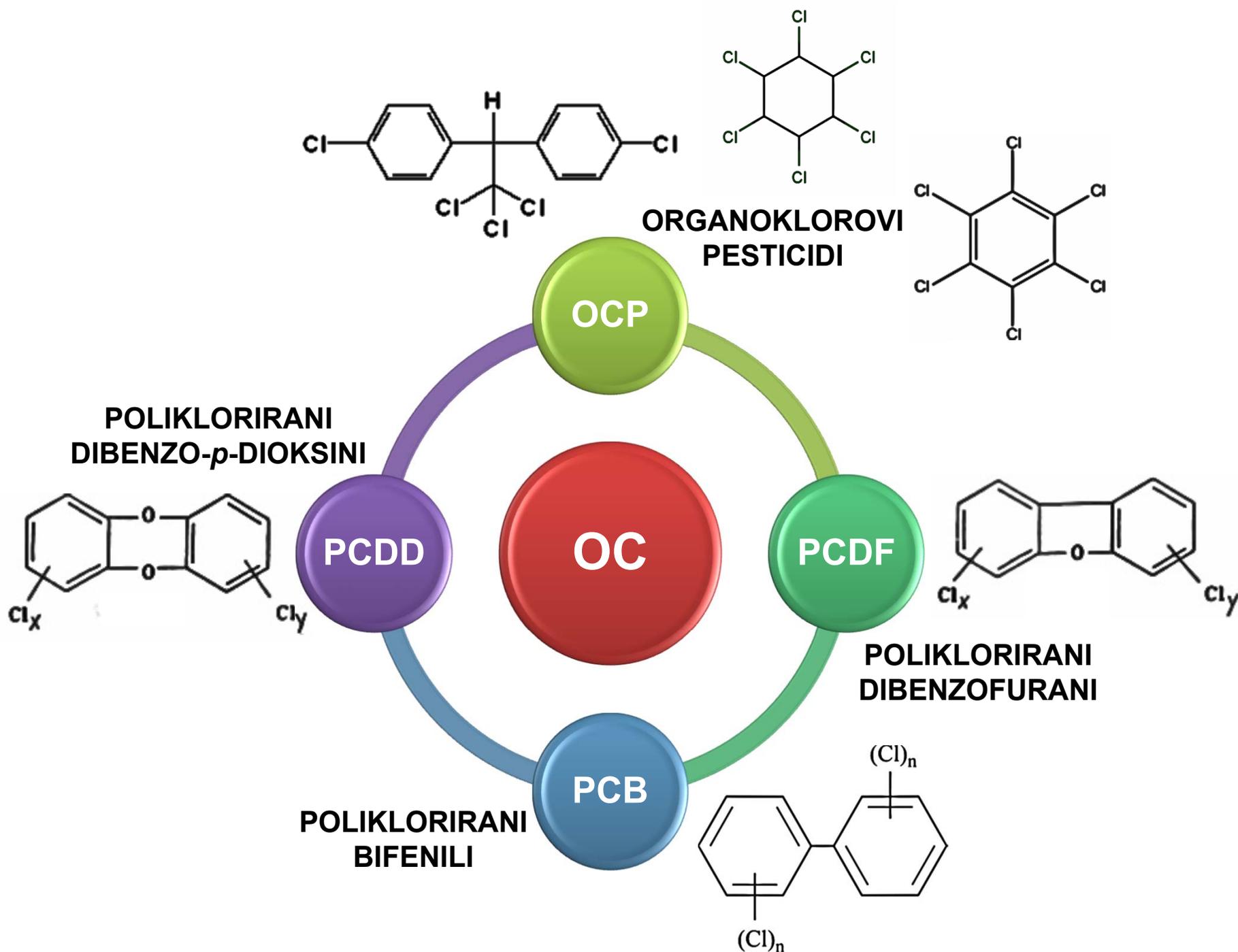
Obitelj: 160 zaposlenika

Zanimanje: multidisciplinarna istraživanja opterećenosti radnog i životnog okoliša kemijskim, fizikalnim i biološkim agensima i procjena njihovog učinka na biosferu

Ostale aktivnosti: nastava, izdavaštvo, savjetovanje u području javnog zdravstva

IMI: ZNANSTVENA I STRUČNA DJELATNOST





POLIKLORIRANI BIFENILI (PCB)

HOMOLOZI	BROJ ATOMA KLORA	BROJ KONGENERA
Monoklorbifenil	1	3
Diklorbifenil	2	12
Triklorbifenil	3	24
Tetraklorbifenil	4	42
Pentaklorbifenil	5	46
Heksaklorbifenil	6	42
Heptaklorbifenil	7	24
Oktaklorbifenil	8	12
Nonaklorbifenil	9	3
Dekaklorbifenil	10	1
Ukupno: 10		Ukupno: 209

Aroklori – komercijalne smjese PCB-a

PCDD: 75 kongenera; PCDF: 135 kongenera

KLASE ORGANOKLOROVIH SPOJEVA

OCP (15)		PCB (20)		
HCB				
α -HCH ^a	Aldrin ^c	PCB-28	PCB-77	PCB-123
β -HCH ^a	Dieldrin ^c	PCB-52	PCB-126	PCB-156
γ -HCH ^a	Endrin ^c	PCB-101	PCB-169	PCB-157
p,p'-DDE ^b	Izodrin ^c	PCB-118	PCB-60	PCB-167
p,p'-DDD ^b	Heptaklor	PCB-138	PCB-74	PCB-170
p,p'-DDT ^b	Heptaklor epoksid (HE)	PCB-153	PCB-105	PCB-189
o,p'-DDT ^b	α -Endosulfan	PCB-180	PCB-114	

^asuma svih izomera = HCH

^bsuma svih analoga (matični spoj + produkti razgradnje) = DDX

^cciklodienski insekticidi = CDI

Projekt:

Organska zagađivala u okolišu - markeri i biomarkeri toksičnosti (OPENTOX)
(rujan 2014. – kolovoz 2018.)

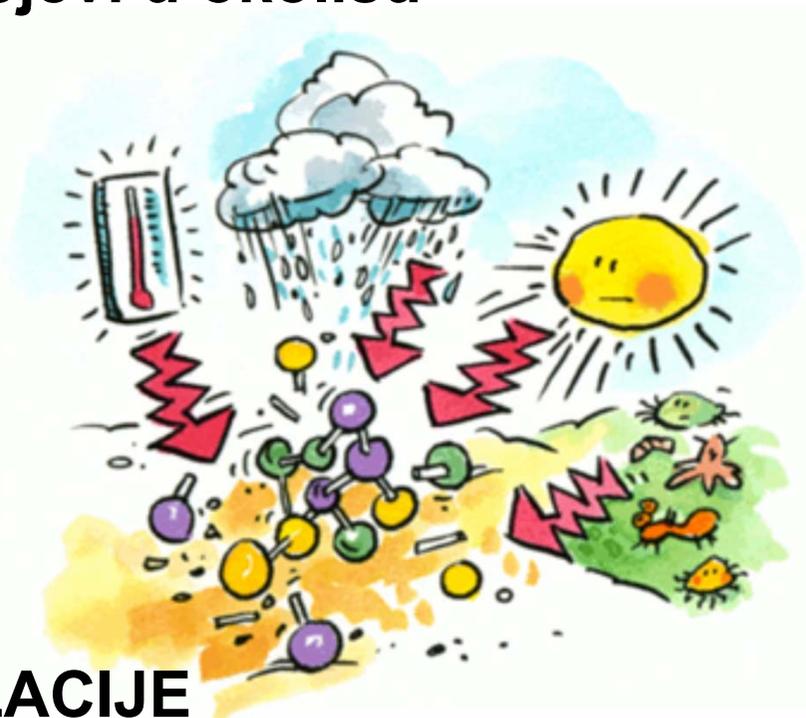
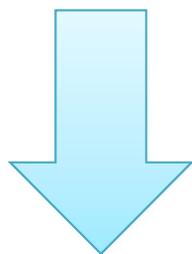
<http://opentox.imi.hr/>

- Direktiva 2009/128/EC
- Razine i raspodjela organskih zagađivala u tlu, vodi i biološkom materijalu
- Genotoksični, endokrini, neurološki i oksidativni potencijal niskih razina pesticida prisutnih u životnom okruženju tijekom dugoročne izloženosti opće populacije

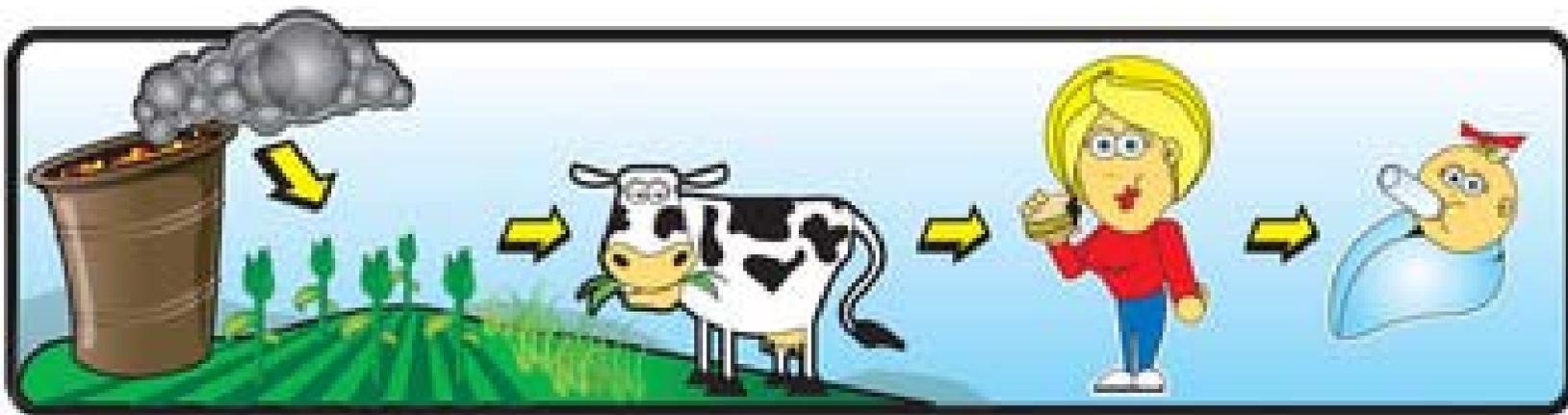


Organoklorovi spojevi u okolišu

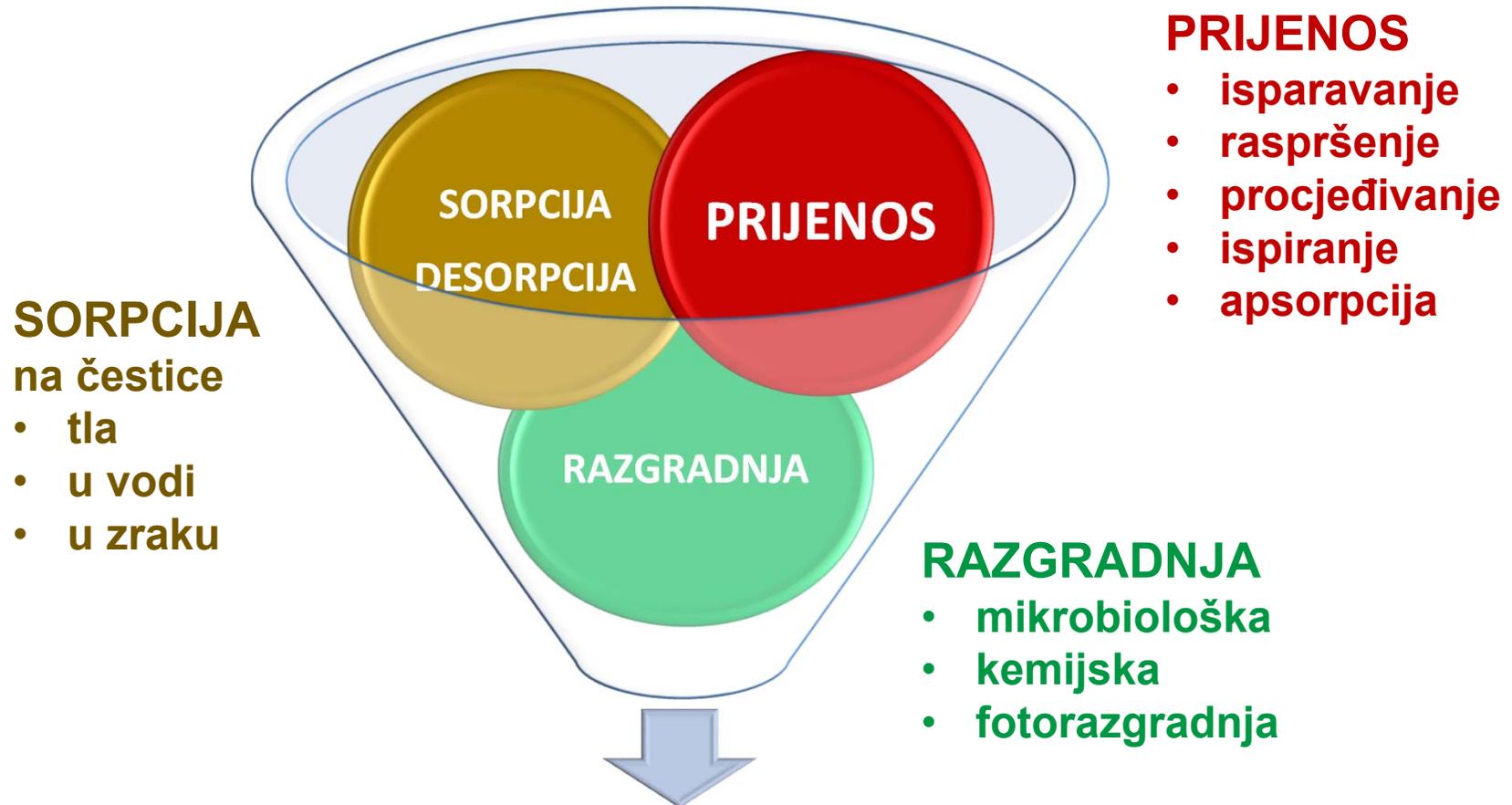
SUDBINA U OKOLIŠU



IZLOŽENOST OPĆE POPULACIJE

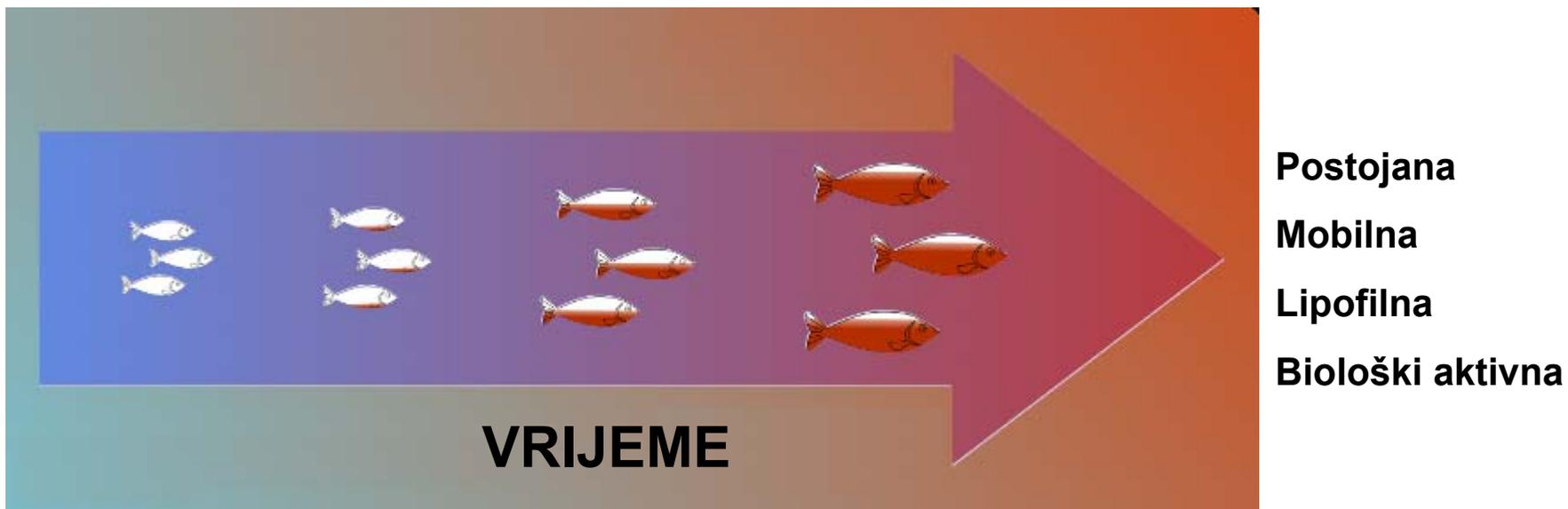


PROCESI U OKOLIŠU

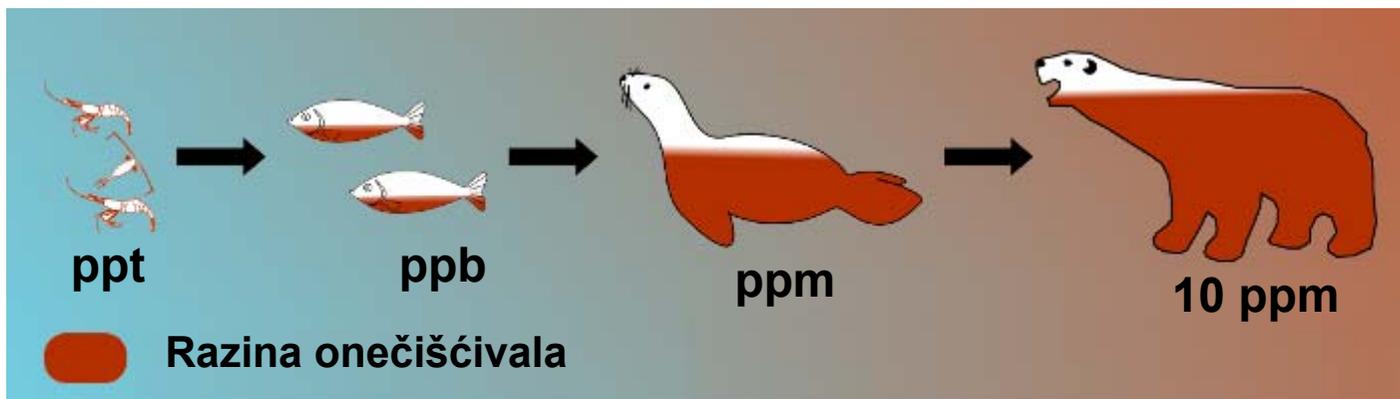


PONAŠANJE ORGANSKOG SPOJA U OKOLIŠU

BIOAKUMULACIJA – unutar jedinke



BIOMAGNIFIKACIJA – unutar hranidbenog lanca



SHEMA ANALITIČKOG POSTUPKA ODREĐIVANJA OC SPOJEVA

UZORKOVANJE

homogeniziranje - liofiliziranje - pohranjivanje

EKSTRAKCIJA

PROČIŠĆAVANJE I UKONCENTRIRAVANJE

KVALITATIVNA I KVANTITATIVNA ANALIZA
GC-ECD, GC-MS

OBRADA I PRIKAZ REZULTATA

UZORKOVANJE I PRIPRAVA UZORKA ZA EKSTRAKCIJU

TLO/SEDIMENT

- Sondiranje (površina plota 1 m²), homogeniziranje/sušenje, usitnjavanje, hladna pohrana (PE)

ZRAK

- Uređaj za prosisavanje, PU spužvice/kvarcni filtri, čišćenje spužvica, usitnjavanje, hladna pohrana (staklo i alu-folija)

LEBDEĆE ČESTICE U ZRAKU (PM_{2,5} i PM₁₀)

- Uređaj za prosisavanje i frakcioniranje čestica zraka, kvarcni filtri, gravimetrijsko određivanje mase čestica, hladna pohrana (alu-folija)

BOROVE IGLICE

- Rezanje grana 1,5 m iznad tla, odvajanje jednogodišnjih od dvogodišnjih iglica, sušenje, mljevenje, hladna pohrana (PE)

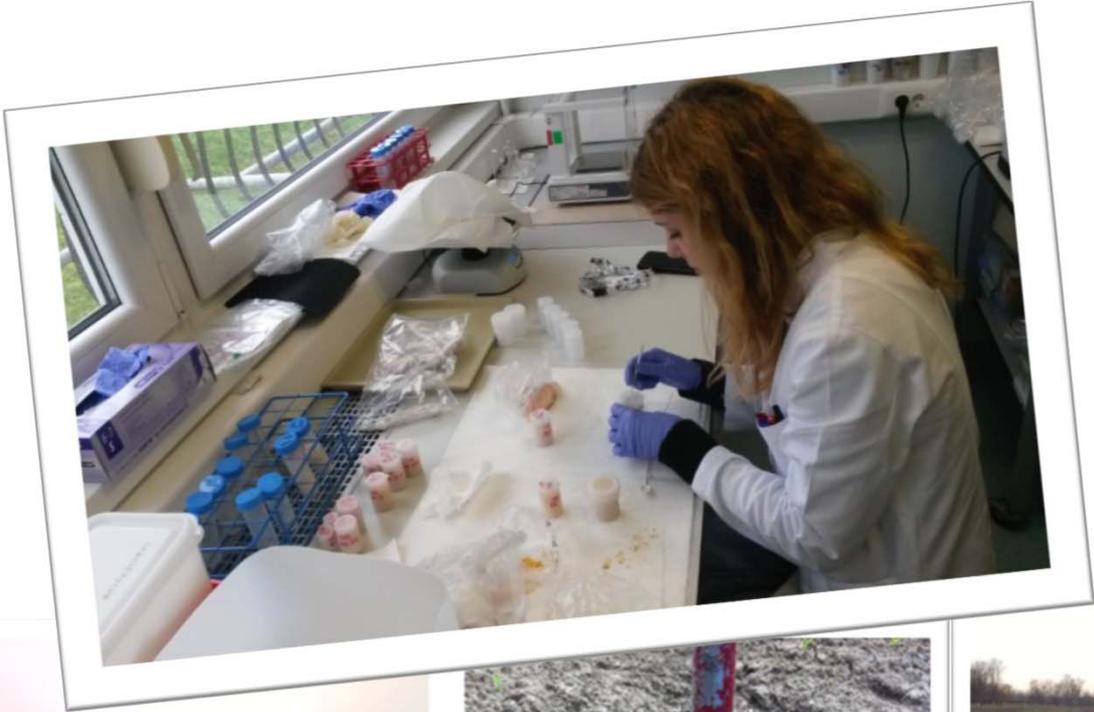
HUMANO MLIJEKO

- Ručno izdajanje u staklenu posudu, prvorotkinje, smrzavanje

TKIVO (masno tkivo, mišić, jetra)

- Liofiliziranje, homogeniziranje, hladna pohrana (PE, alu-folija)

UZORKOVANJE TLA, VODE, BIOLOŠKOG MATERIJALA



EKSTRAKCIJA OC SPOJEVA IZ RAZLIČITIH MATRICA

TLO/SEDIMENT

- Mikrovalno potpomognuta ekstrakcija (*n*-heksan:aceton, 1:1), 1x10 min (30 mL, 10 min)
- Ultrazvučna ekstrakcija (*n*-heksan:aceton, 1:1), 4x3 min+1x15 min (25 mL, 27 min)

ZRAK

- Ekstrakcija u aparaturi po Soxhletu (dietil-eter:*n*-heksan, 5:95), 4 ciklusa/h x12 h (650 mL, 12 h)

LEBDEĆE ČESTICE U ZRAKU (PM_{2,5} i PM₁₀)

- Ultrazvučna ekstrakcija (*n*-heksan:aceton, 1:1), 3x15 min (190 mL, 45 min)

BOROVE IGLICE

- Mikrovalno potpomognuta ekstrakcija (diklormetan ili *n*-heksan:aceton, 1:1), 1x20 min (20 mL, 20 min)

HUMANO MLIJEKO

- Ekstrakcija tekuće-tekuće (kloroform:metanol, 1:1), 2x5 min (27 mL, 10 min)

TKIVO

- Mikrovalno potpomognuta ekstrakcija (*n*-heksan:aceton, 1:1), 1x20 min (20 mL, 20 min)



**MIKROVALNO POTPOMOŽNA
EKSTRAKCIJA**

ULTRAZVUČNA EKSTRAKCIJA

EKSTRAKCIJA NA ČVRSTOJ FAZI

TEKUĆE-TEKUĆE EKSTRAKCIJA



ČIŠĆENJE EKSTRAKATA

TLO/SEDIMENT

- SPE-Florisil, uparavanje otapala, mućkanje konc. sumpornom kiselinom ili bakrenim prahom i živom

ZRAK

- Mućkanje konc. sumpornom kiselinom, alkalno-kisela hidroliza i adsorpcija na višeslojnom silikagelu, frakcioniranje na grafitiziranom aktivnom ugljenu, uparavanje otapala

LEBDEĆE ČESTICE U ZRAKU (PM_{2,5} i PM₁₀)

- uparavanje otapala, mućkanje konc. sumpornom kiselinom ili bakrenim prahom i živom

BOROVE IGLICE

- alkalno-kisela hidroliza i adsorpcija na višeslojnom silikagelu, uparavanje otapala, otapanje suhog ostatka u *n*-heksanu

HUMANO MLIJEKO, TKIVO

- gravimetrijsko određivanje masti u uparenom ekstraktu, otapanje u *n*-heksanu, mućkanje konc. sumpornom kiselinom, , alkalno-kisela hidroliza i adsorpcija na višeslojnom silikagelu, frakcioniranje na grafitiziranom aktivnom ugljenu, uparavanje otapala, otapanje suhog ostatka u *n*-heksanu



INSTRUMENTALNA ANALIZA EKSTRAKTA:

**GC-ECD
GC-MS (Ion Trap)**



UZORKOVANJE TLA I JEZERSKOG SEDIMENTA

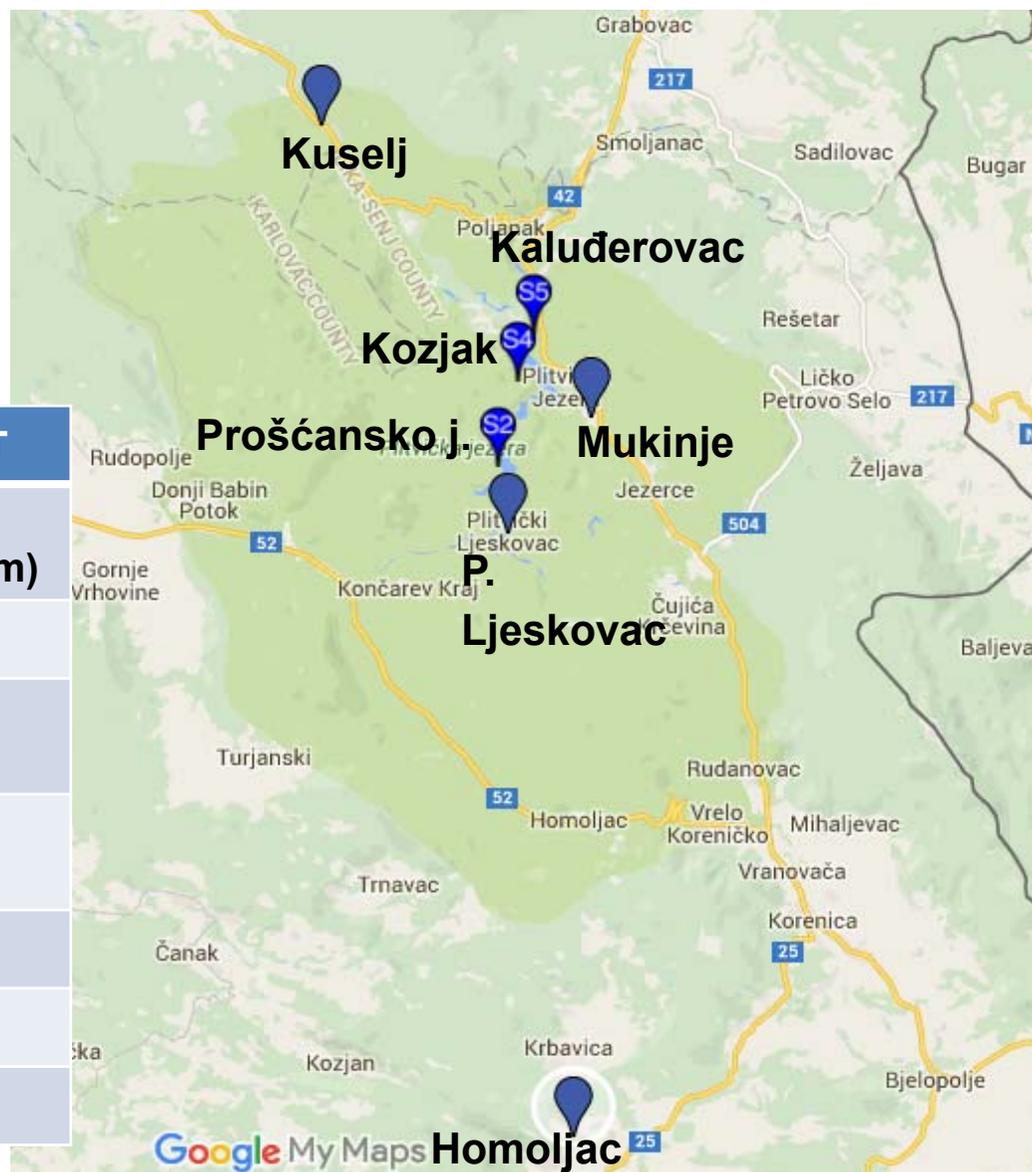
NP Plitvička jezera

(prirodni rezervat pod ekološkom zaštitom)

Projekt:

Monitoring organskih i anorganskih onečišćenja u okolišu NP Plitvička jezera (2011.-2013.)

	TLO	SEDIMENT
Dubina/cm	0-30	0-25 (seg. po 5 cm)
Broj lokacija	4	3
Period/god.	tra 2011./ svi 2012.	lip 2012.
Dinamika uzorkovanja	4/god.	1/god.
Broj uzoraka	16	27
% OC	1,8 - 7,7	0,2 – 3,9
pH	6,3 – 7,4	7,4 – 7,7



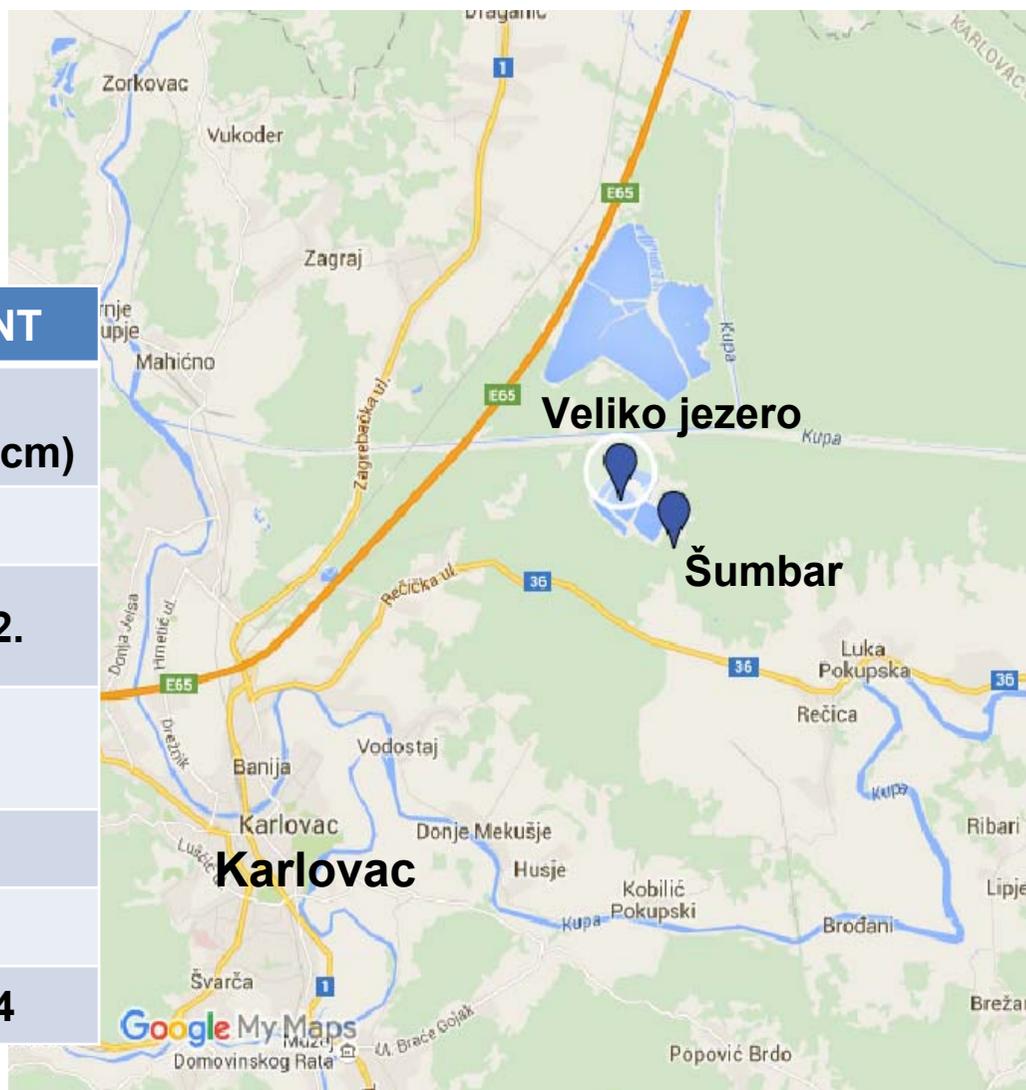
UZORKOVANJE TLA I JEZERSKOG SEDIMENTA

znanstvenoistraživački poligon “Šumbar”

(ekološki nezaštićeno lovište, glinište)

IMI: upravljanje od 2009.

	TLO	SEDIMENT
Dubina/cm	0-30	0-25 (seg. po 5 cm)
Broj lokacija	2	1
Period/god.	tra 2011./ svi 2012.	srp 2012.
Dinamika uzorkovanja	4/god.	1/god.
Broj uzoraka	8	9
% OC	0,4 – 2,4	0,2
pH	6,1 – 7,3	5,0 – 7,4



UZORKOVANJE TLA

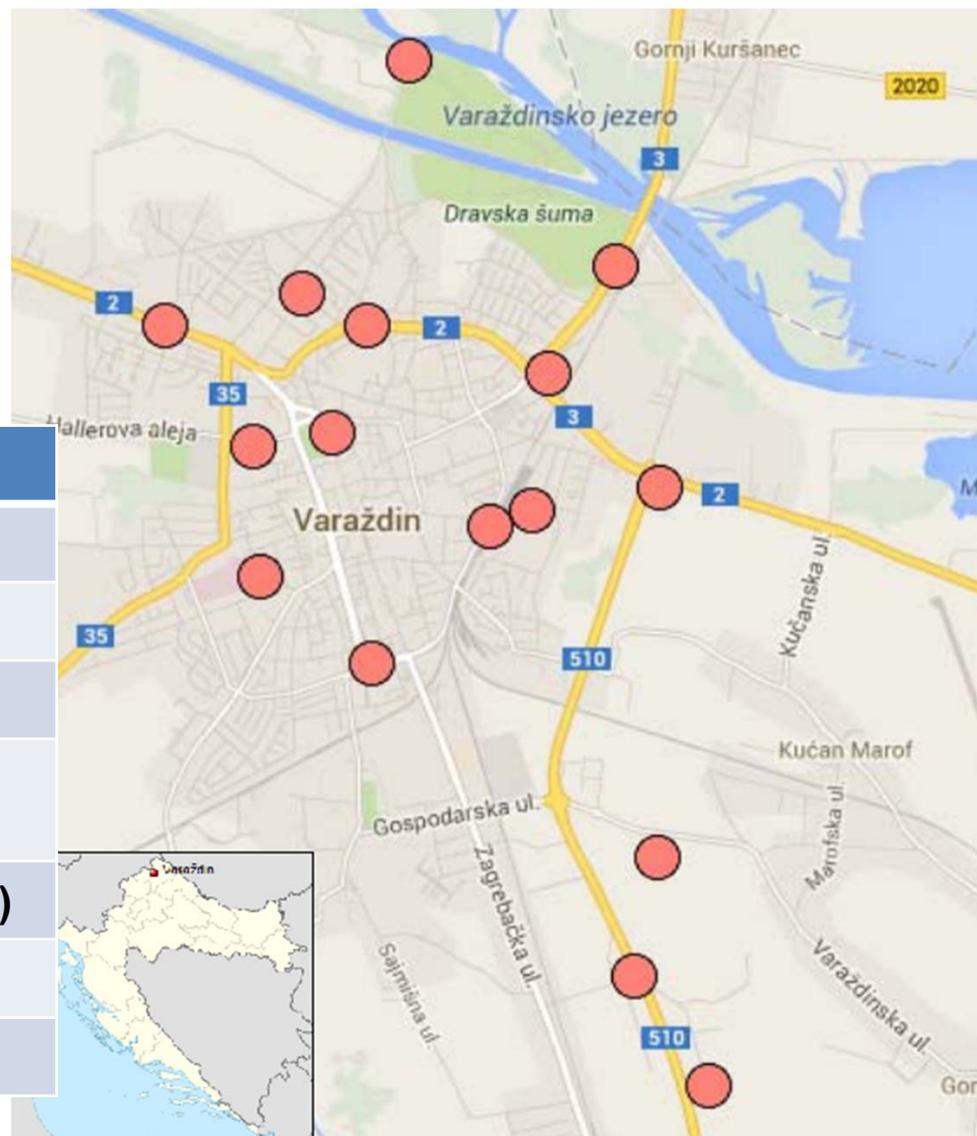
Varaždin

(urbana sredina do 50 000 stanovnika)

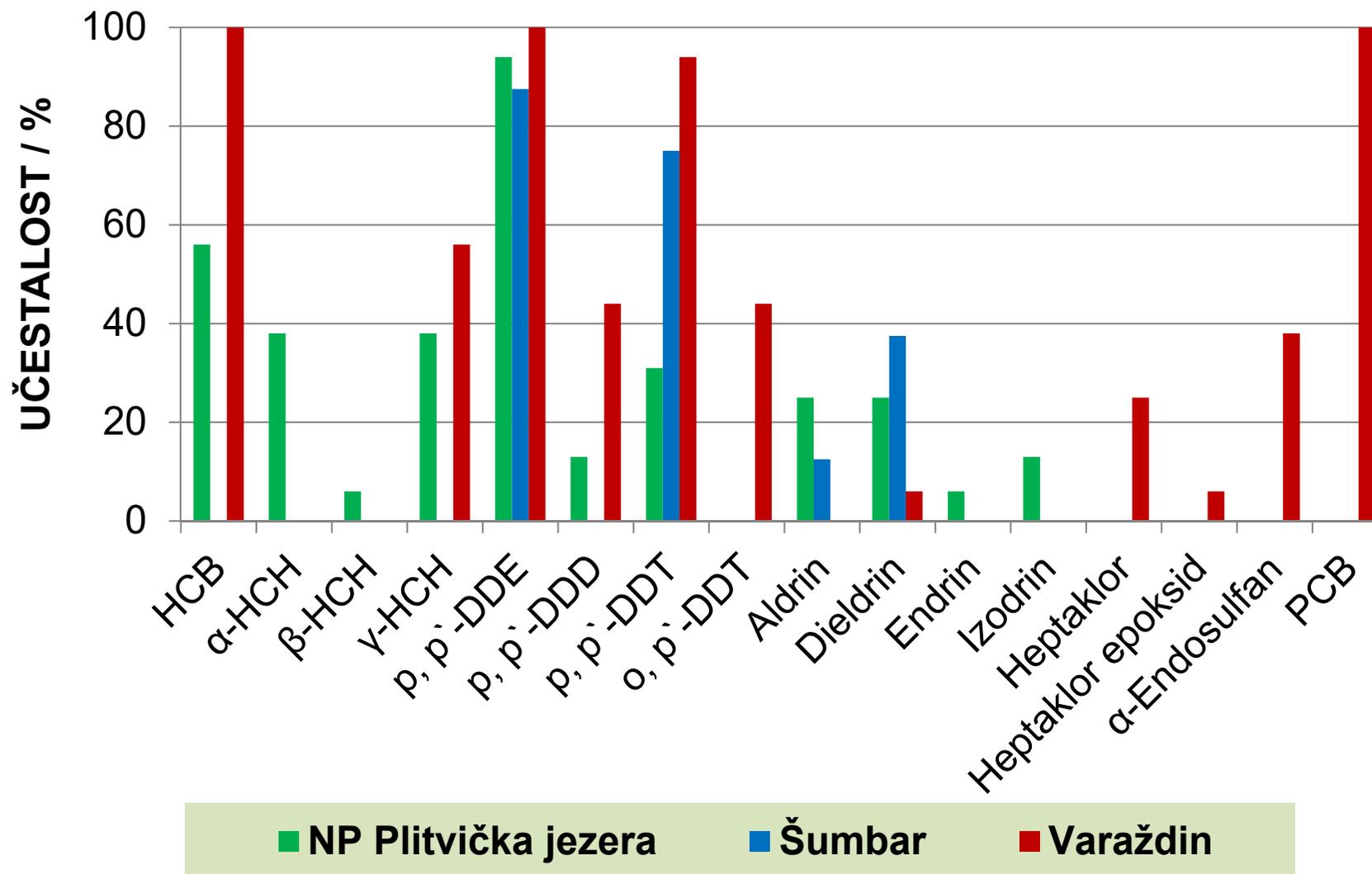
Projekt:

***Uklanjanje teških metala
fitoremedijacijom na
području Varaždina i okolice
(2013.)***

	TLO
Dubina/cm	0-15
Broj lokacija	16
Period/god.	lip-srp 2013.
Dinamika uzorkovanja	1/god.
Broj uzoraka	16 (kompozit)
% OC	1,5 – 6,3
pH	7,2 – 8,5



REZULTATI ANALIZE TLA OCP (pojedinačni) i PCB (ukupni)

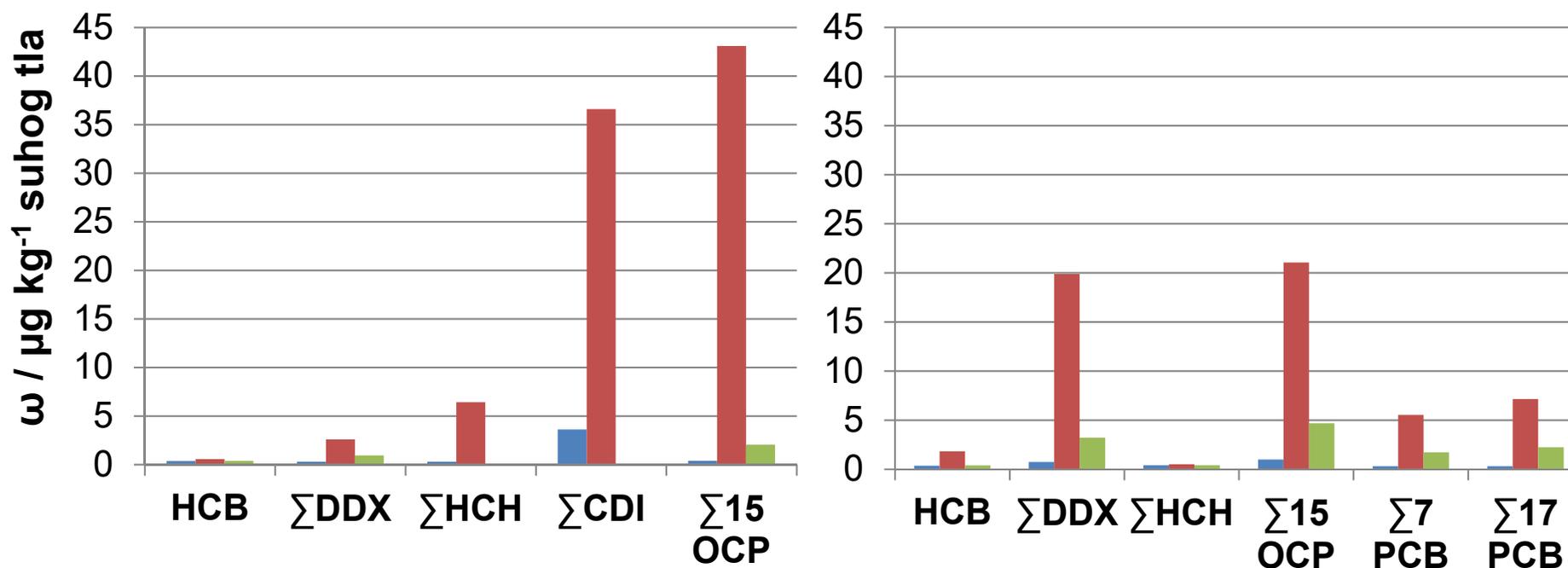


REZULTATI ANALIZE TLA

OCP (klasificirani-ukupni) i PCB (indikatorski-ukupni)

NP Plitvička jezera

Varaždin

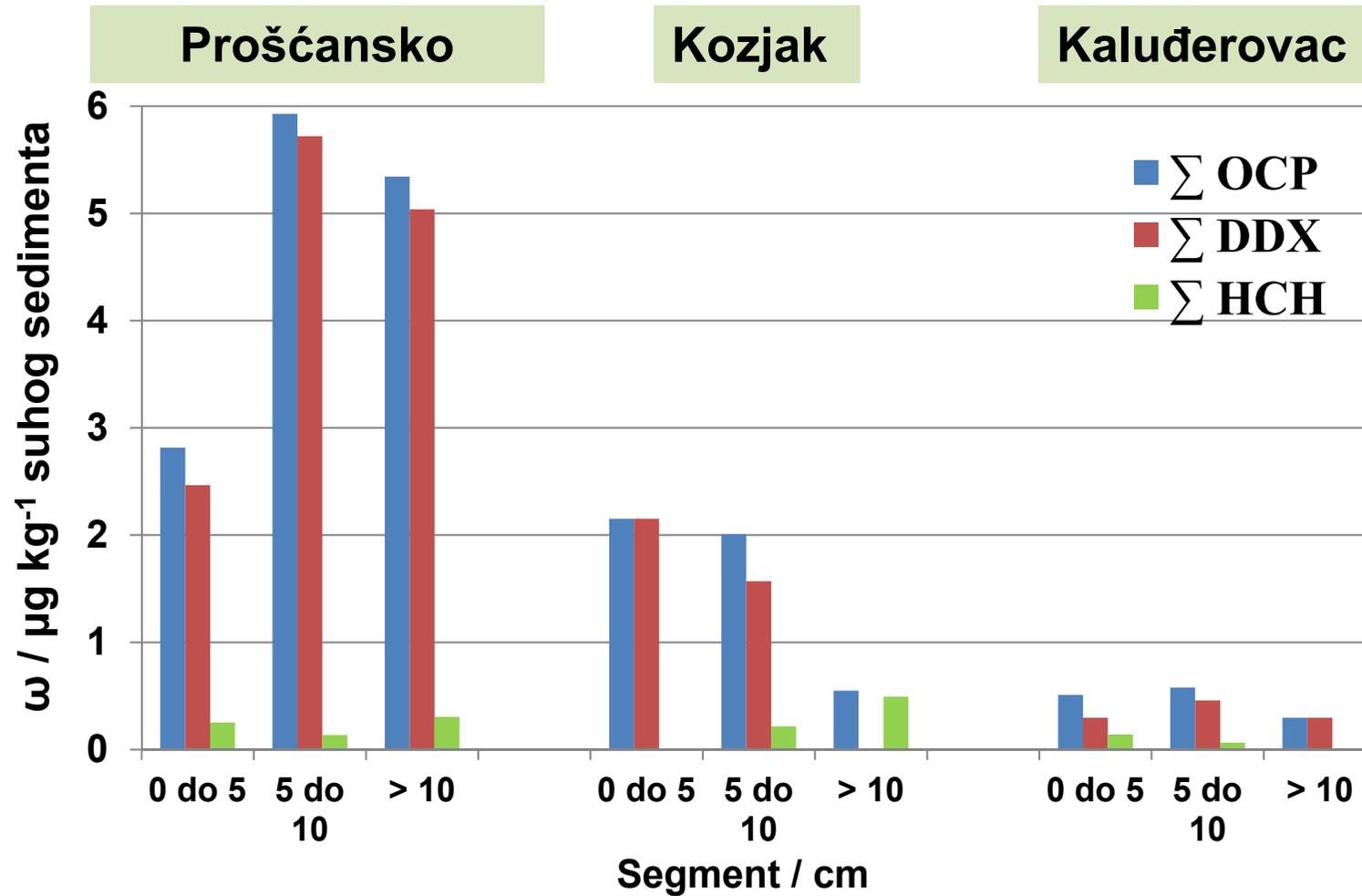


$$\frac{p,p'-DDE}{p,p'-DDT} = 1,1 - 2,4$$



$$\frac{p,p'-DDE}{p,p'-DDT} = 0,3 - 1,7$$

REZULTATI ANALIZE JEZERSKOG SEDIMENTA OCP (klasificirani-ukupni)

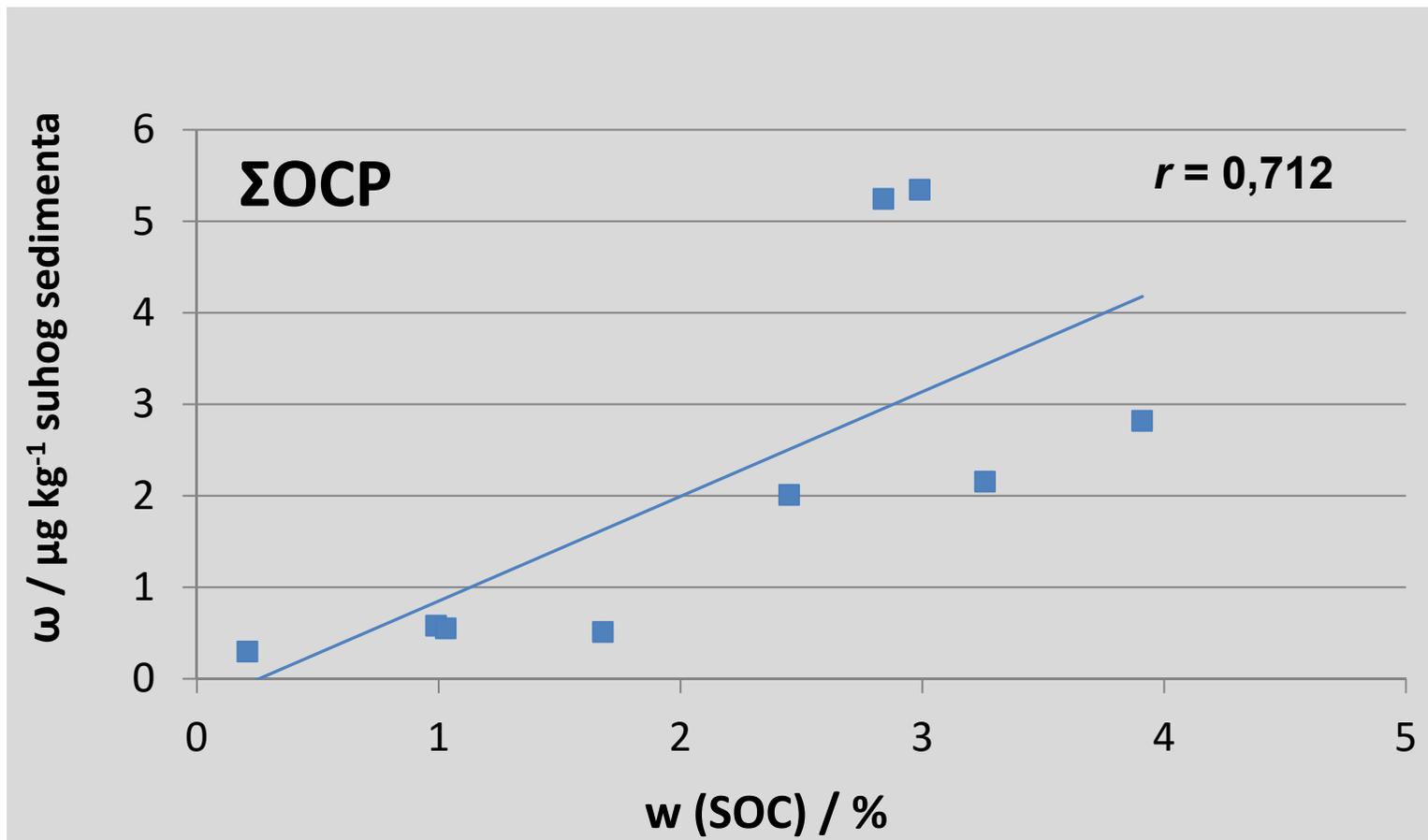


$\frac{p,p'-DDE}{p,p'-DDT} = 11,4 - 24,4$ (p,p'-DDE: 89 % uzoraka)

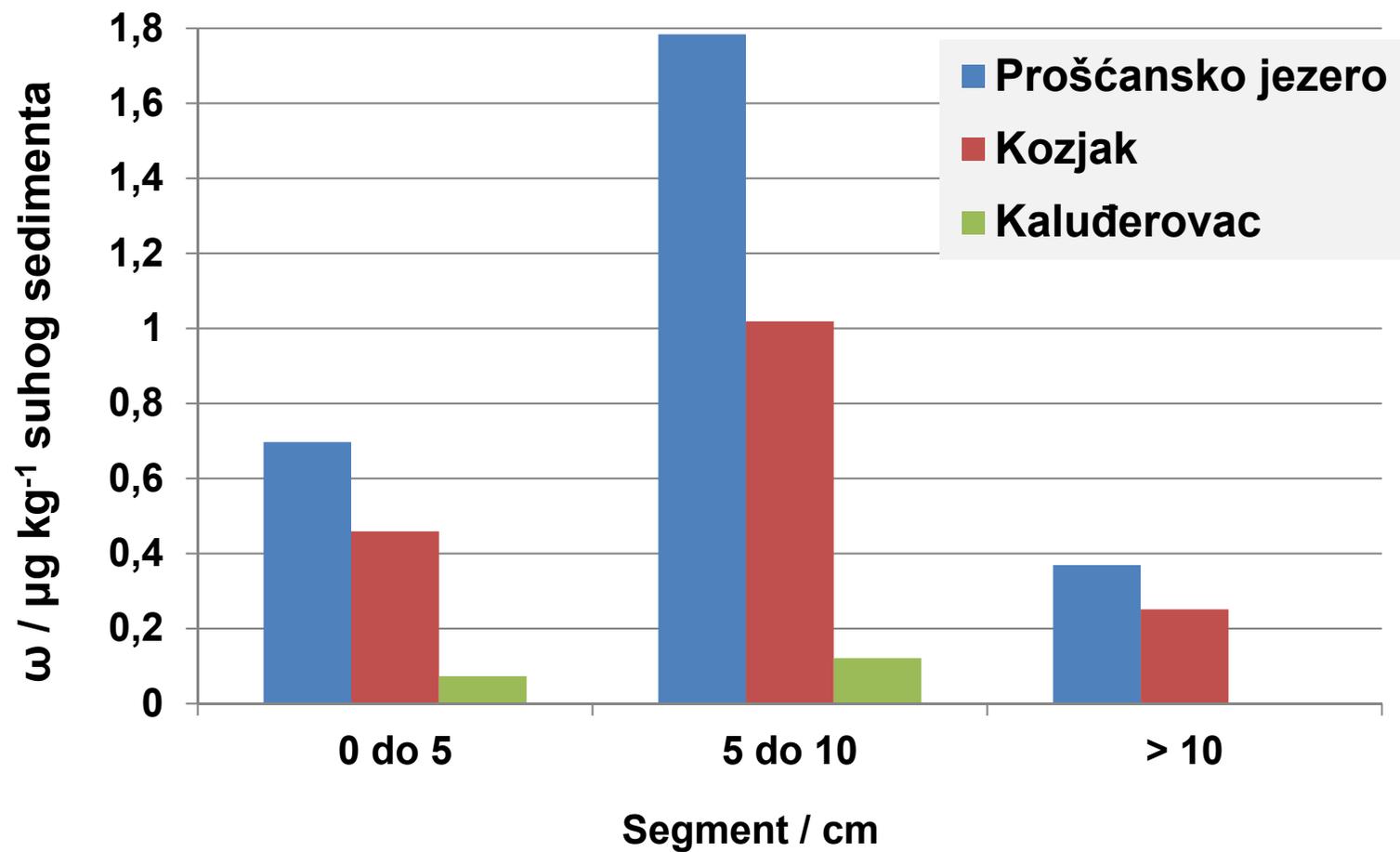
REZULTATI ANALIZE SEDIMENTA

Korelacija:

udjel ukupnih OCP vs. udjel organskog ugljika u sedimentu



REZULTATI ANALIZE SEDIMENTA PCB (ukupni)



ONEČIŠĆENJA U ZRAKU

Počeci mjerenja onečišćenja u zraku na području RH



Zagreb
(1963. IMI)

Rijeka
Split
Karlovac
Sisak
Osijek
Pula

Prvi podaci o razinama OCP i PCB
u zraku u RH – 1997. Zagreb



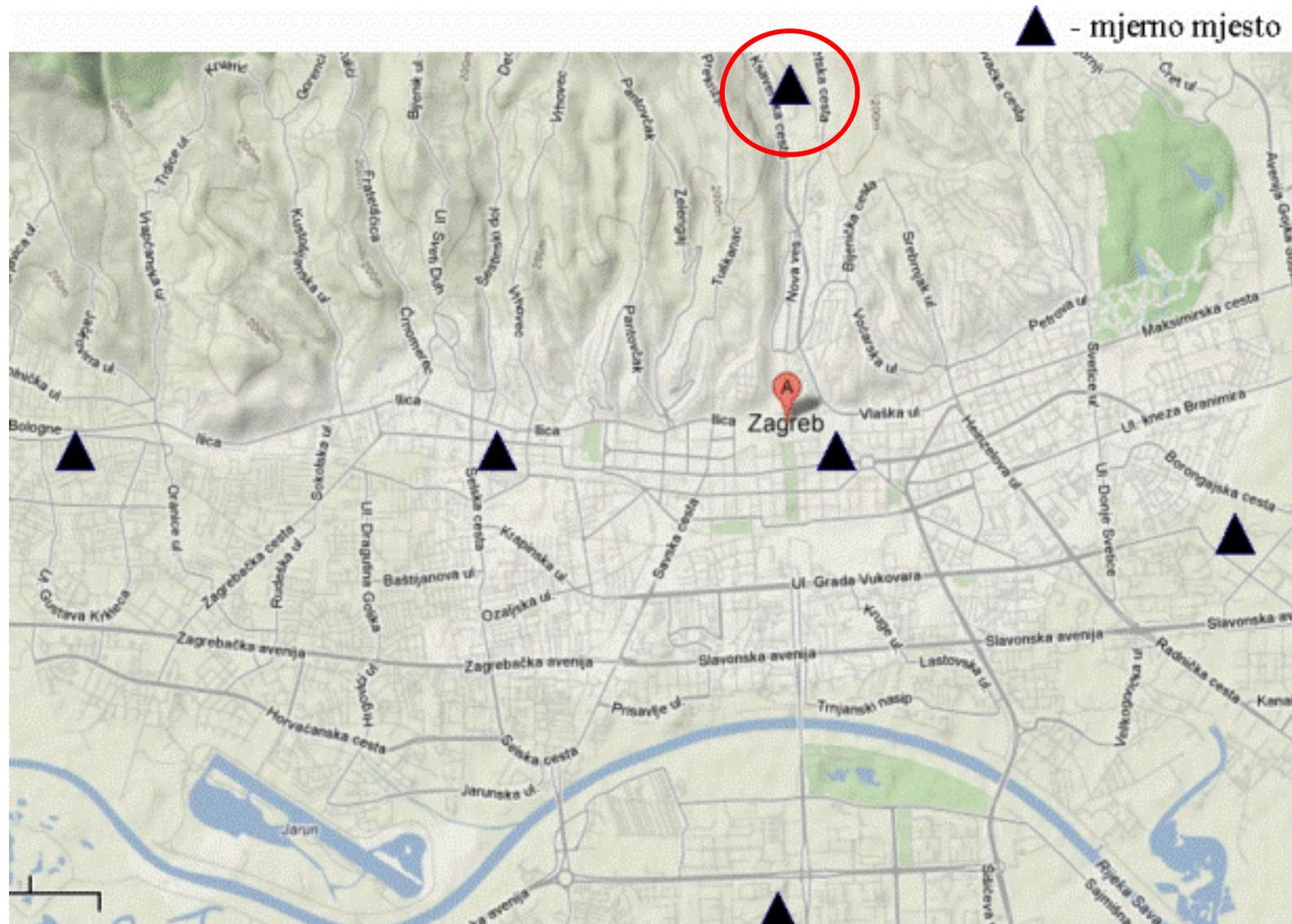
MONITORING KAKVOĆE ZRAKA

Jedinica za higijenu okoline, IMI; <https://zrak.imi.hr/>

METODE MJERENJA KAKVOĆE ZRAKA

- Klasične (ručne) metode - aktivno ili pasivno uzorkovanje
 - Automatski uređaji
 - Udaljeni senzori
 - Bioindikatori
-
- Sumporov dioksid, ugljikov monoksid, amonijak, ozon, dušikovi oksidi, sumporovodik, dim, čestice PM₁₀ i PM_{2,5}, olovo, kadmij, mangan, arsen, nikal, PAH, ukupna taložna tvar
 - Zakon o zaštiti zraka (NN 130/2011)
 - Uredba o razinama onečišćujućih tvari u zraku (NN 117/2012)

POLOŽAJ MJERNIH POSTAJA LOKALNE MREŽE U GRADU ZAGREBU



AUTOMATSKA POSTAJA ZA MJERENJE OZONA, UGLJIKOVOG MONOKSIDA, SUMOROVOG DIOKSIDA I DUŠIKOVIH OKSIDA U ZRAKU



UZORKOVANJE LEBDEĆIH ČESTICA $PM_{2,5}$ i PM_{10}



LEBDEĆE ČESTICE

- Mješavina mikročestica kem. spojeva i vode
- Izvori:
 - prašina, šumski požari, vulkani, sagorjevanje krutih i fosilnih goriva, građevinski radovi, automobili, industrija
- Ukupne lebdeće čestice
- PM_{10} , $PM_{2,5}$, PM_1 – aerodinamičkog promjera manjeg od 10 μm , 2,5 μm i 1 μm
- Mjeri se masa i sastav (organska mikrozagađivala, teški metali, kisele komponente-anioni...)

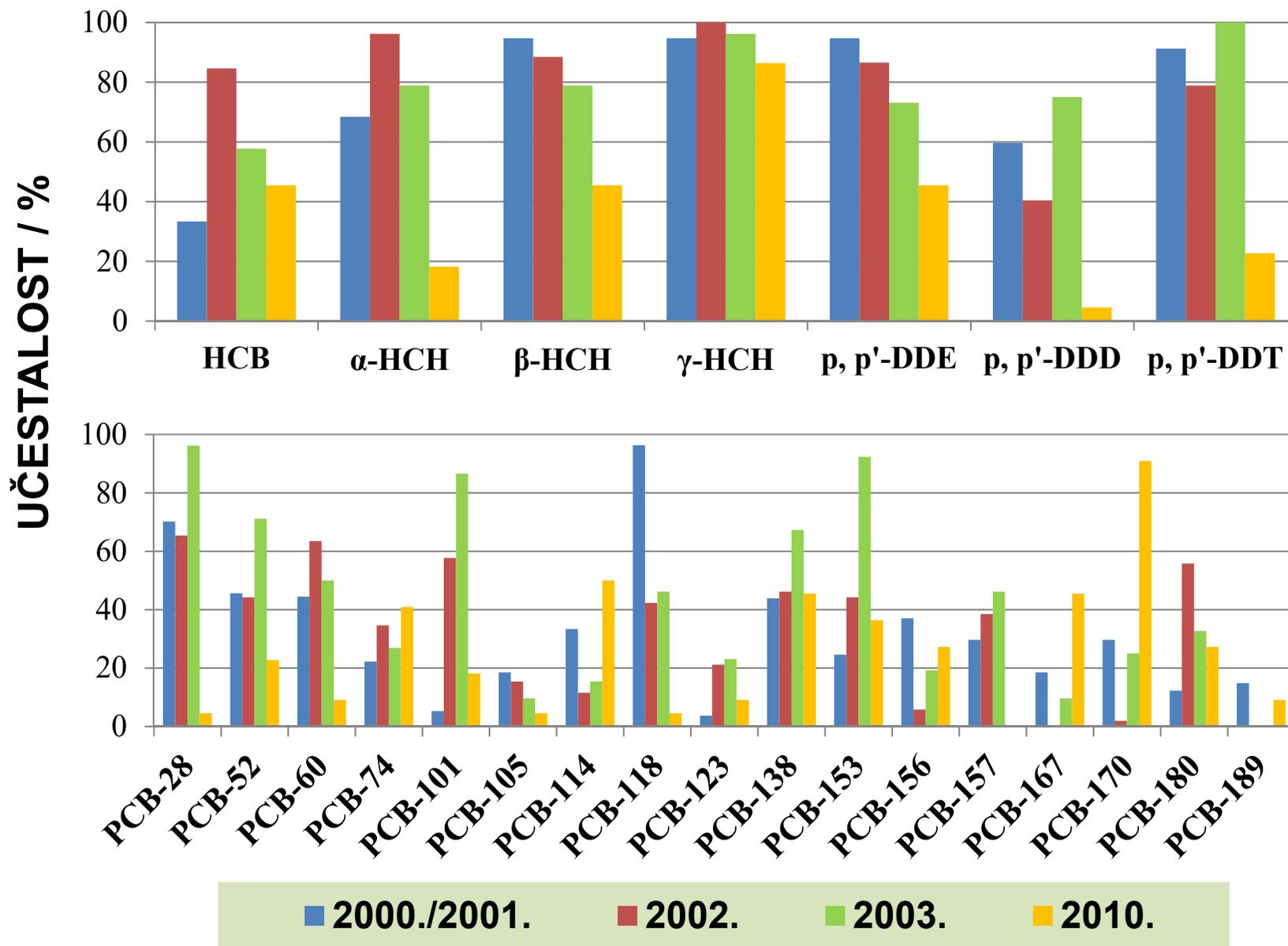


UZORKOVANJE LEBDEĆIH ČESTICA PM_{2,5} i PM₁₀

	PM _{2,5} i PM ₁₀
Lokacija	Ksaverska cesta, Zg
Period/god.	lis 2000/pro 2003 sij/kol 2010
Volumen zraka/uzorku	100 m ³ /24 h x 7 dana
Zamjena filtera	1 ili 2 /24h
Broj uzoraka	183

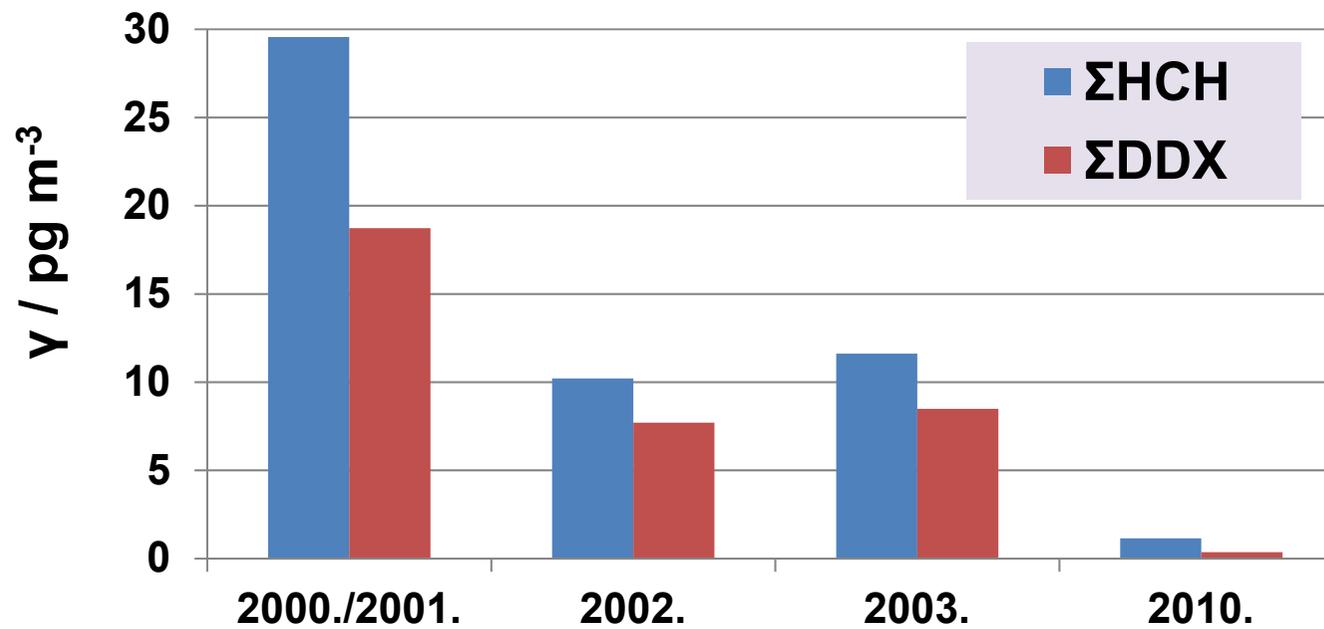


REZULTATI ANALIZE LEBDEČIH ČESTICA PM_{2,5} i PM₁₀



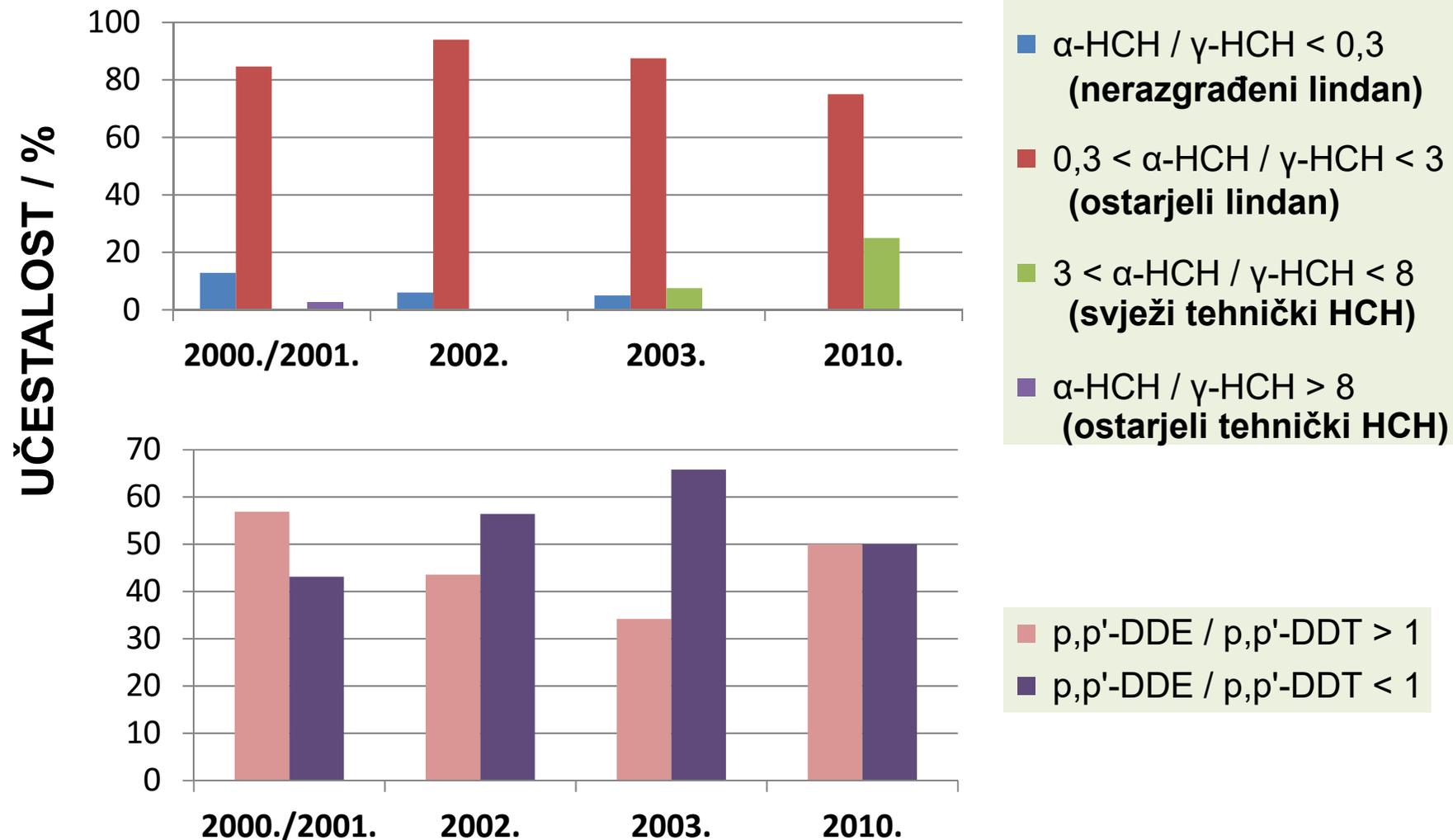
REZULTATI ANALIZE LEBDEĆIH ČESTICA PM_{2,5} i PM₁₀

Usporedba medijana sume masenih koncentracija OCP



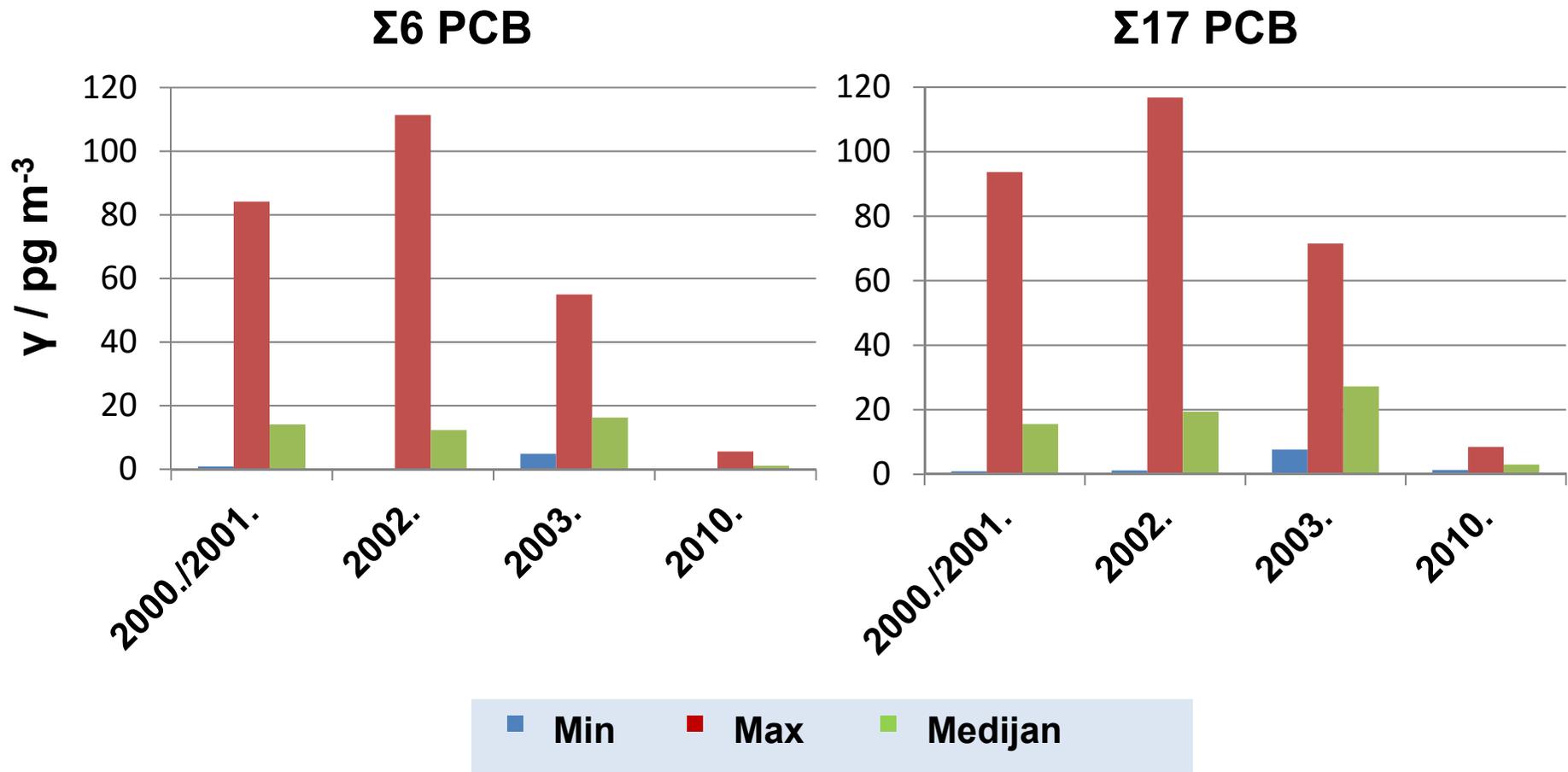
REZULTATI ANALIZE LEBDEĆIH ČESTICA U ZRAKU

Omjeri masenih koncentracija α -HCH/ γ -HCH i p,p' -DDE/ p,p' -DDT u česticama $PM_{2,5}$ i PM_{10}



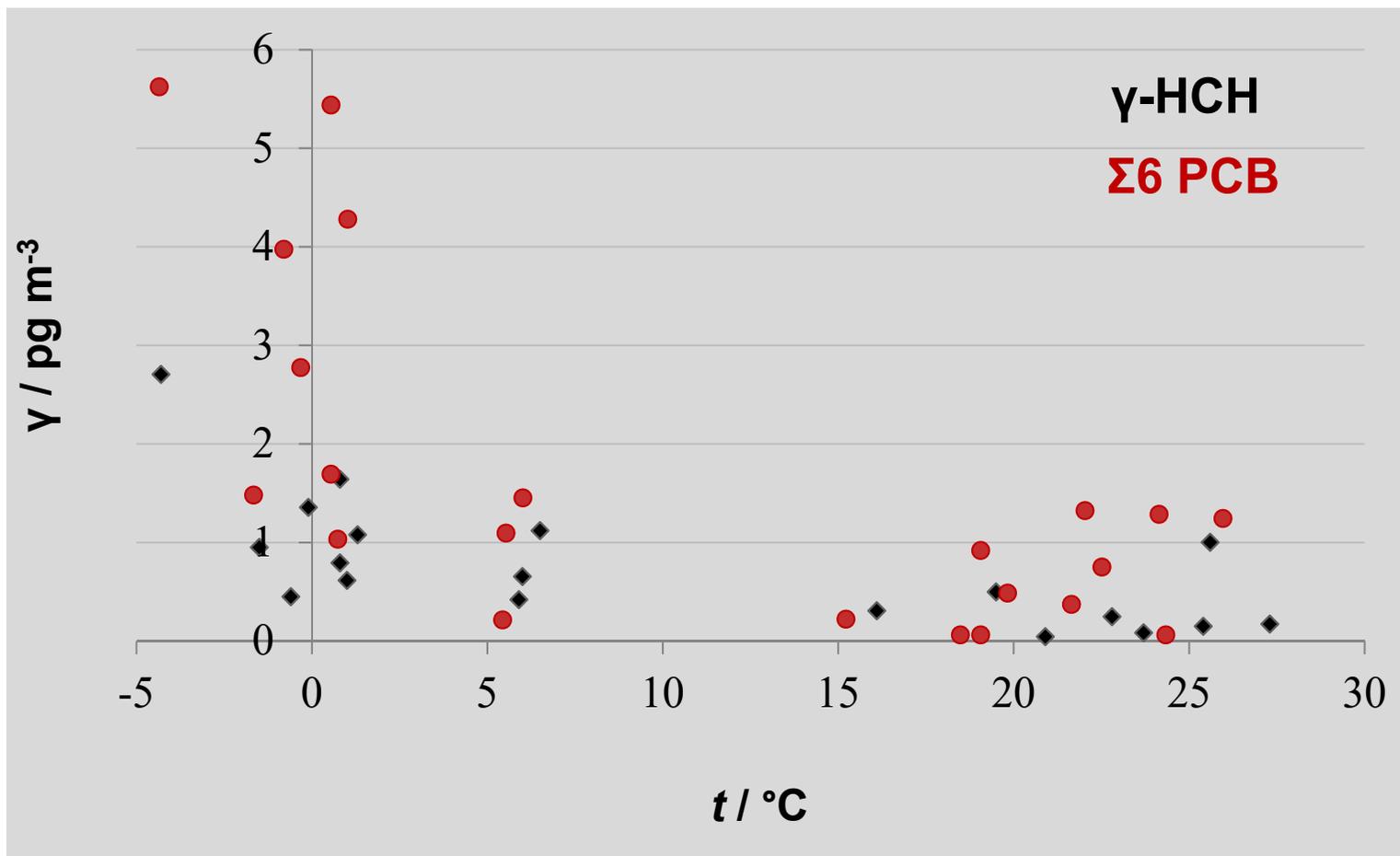
REZULTATI ANALIZE LEBDEĆIH ČESTICA U ZRAKU

Usporedba suma masenih koncentracija PCB u
česticama PM_{2,5} i PM₁₀



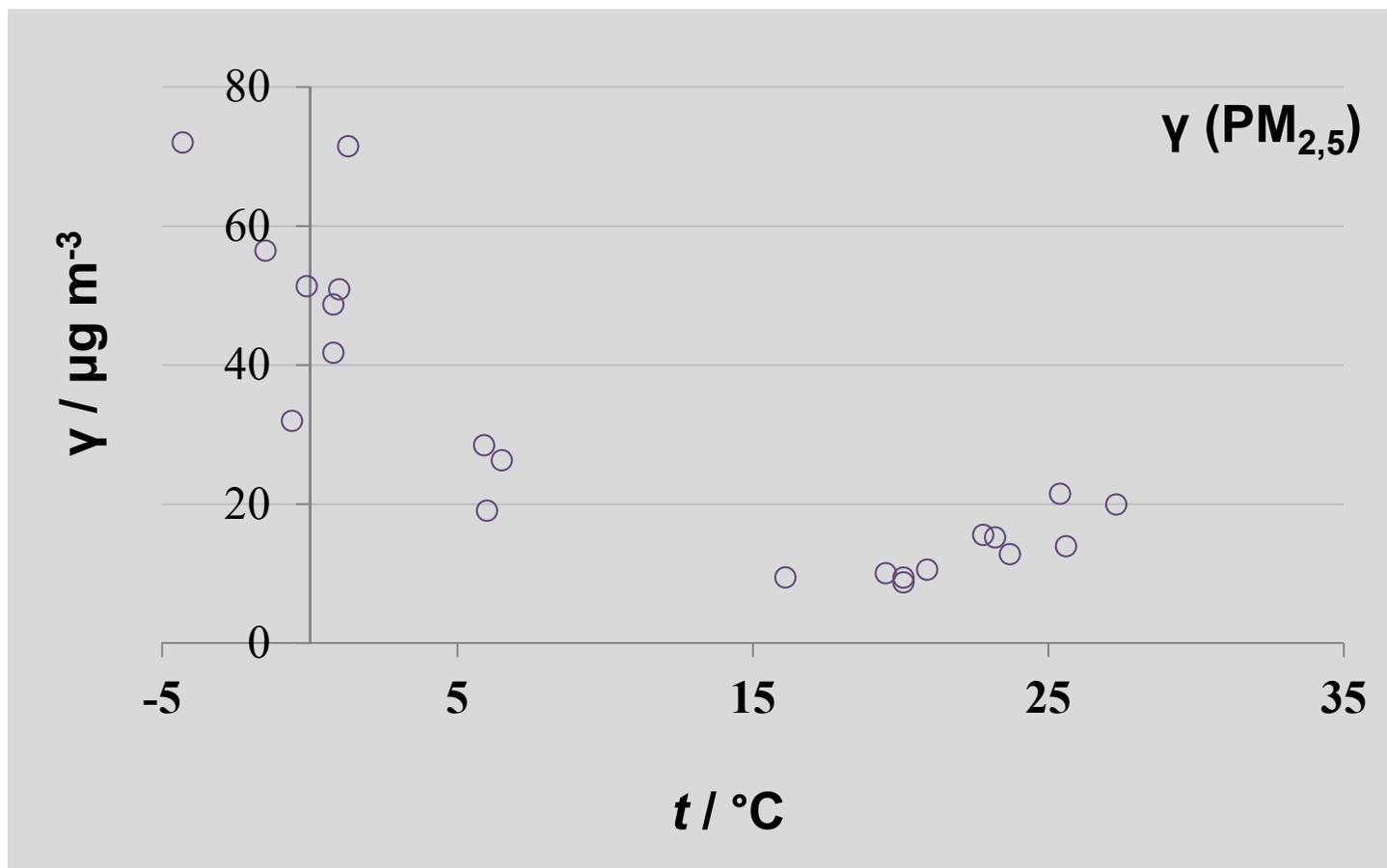
REZULTATI ANALIZE LEBDEĆIH ČESTICA PM_{2,5} i PM₁₀

Sezonske varijacije masenih koncentracija OC zagađivala



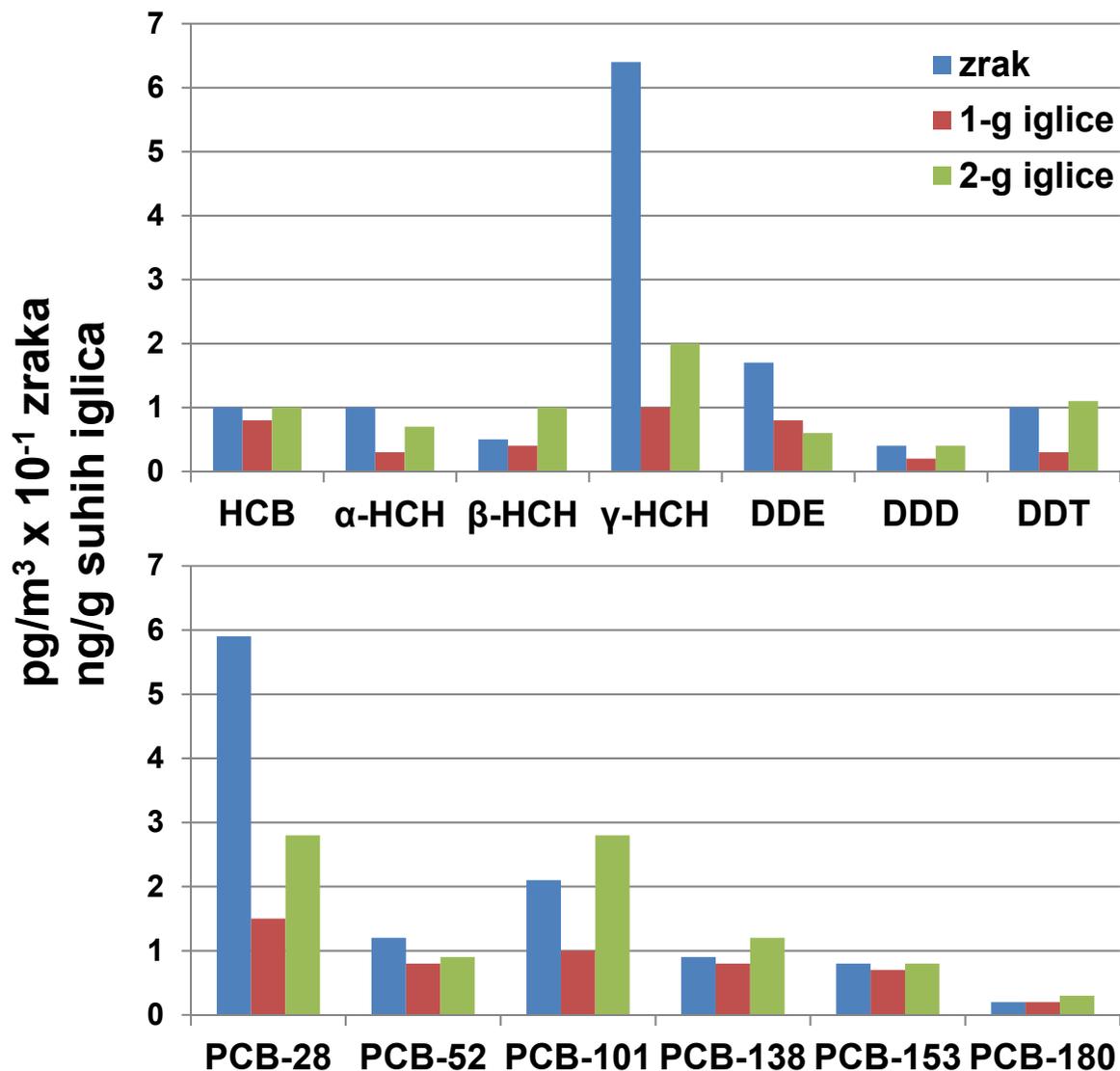
REZULTATI ANALIZE LEBDEĆIH ČESTICA U ZRAKU

Sezonske varijacije masenih koncentracija čestica PM_{2,5}



ANALIZA ZRAKA I BOROVIH IGLICA (*Pinus strobus* i *Pinus nigra*)

Medijani masenih udjela u iglicama i koncentracija u zraku



	ZRAK	IGLICE
Lokacija	Ksaver, Jakuševac	gradska i prigradska naselja duž cijele RH
Broj lokacija	2	19
Period	lip 1999./ lip 2001.	sij-ožu 1998.
Volumen zraka/uzorku	1000 m ³	-
Broj uzoraka	80	19 1-god. 19 2-god.

p,p' -DDE/ p,p' -DDT < 1

α -HCH/ γ -HCH < 1

Iglice gradskih, planinskih i priobalnih lokacija: razine se preklapaju.

ANALIZA BOROVIH IGLICA NA LOKACIJAMA NP PLITVIČKA JEZERA I ŠUMBAR (2012.)

Rasponi masenih udjela u iglicama (ng/g)

Lokacija	1-g iglice		2-g iglice	
	OCP	PCB	OCP	PCB
Mukinje	0.04-0.74	<LOD-0.11	0.07-1.25	<LOD-0.1
Homoljac	0.05-0.93	<LOD-0.09	0.07-1.58	<LOD-0.09
Pl. Ljeskovac	0.05-0.74	<LOD-0.13	0.08-1.46	<LOD-0.09
Kuselj	0.04-0.78	<LOD-0.1	0.08-1.16	<LOD-0.1
Šumbar	0.04-0.63	<LOD-0.07	0.06-0.67	<LOD-0.1
Iglice iz 2005.	<LOD-7,44	<LOD-7,05	<LOD-15,57	<LOD-12,14

LOD granica detekcije (0,03 ng/g suhих iglica)

p,p'-DDE/*p,p'*-DDT = 0,04 – 0,17

UZORCI ŽIVOTINJSKOG PODRIJETLA

Razine OC spojeva u uzorcima bjeloglavog supa (*Gyps fulvus*, otok Cres, 2002.)

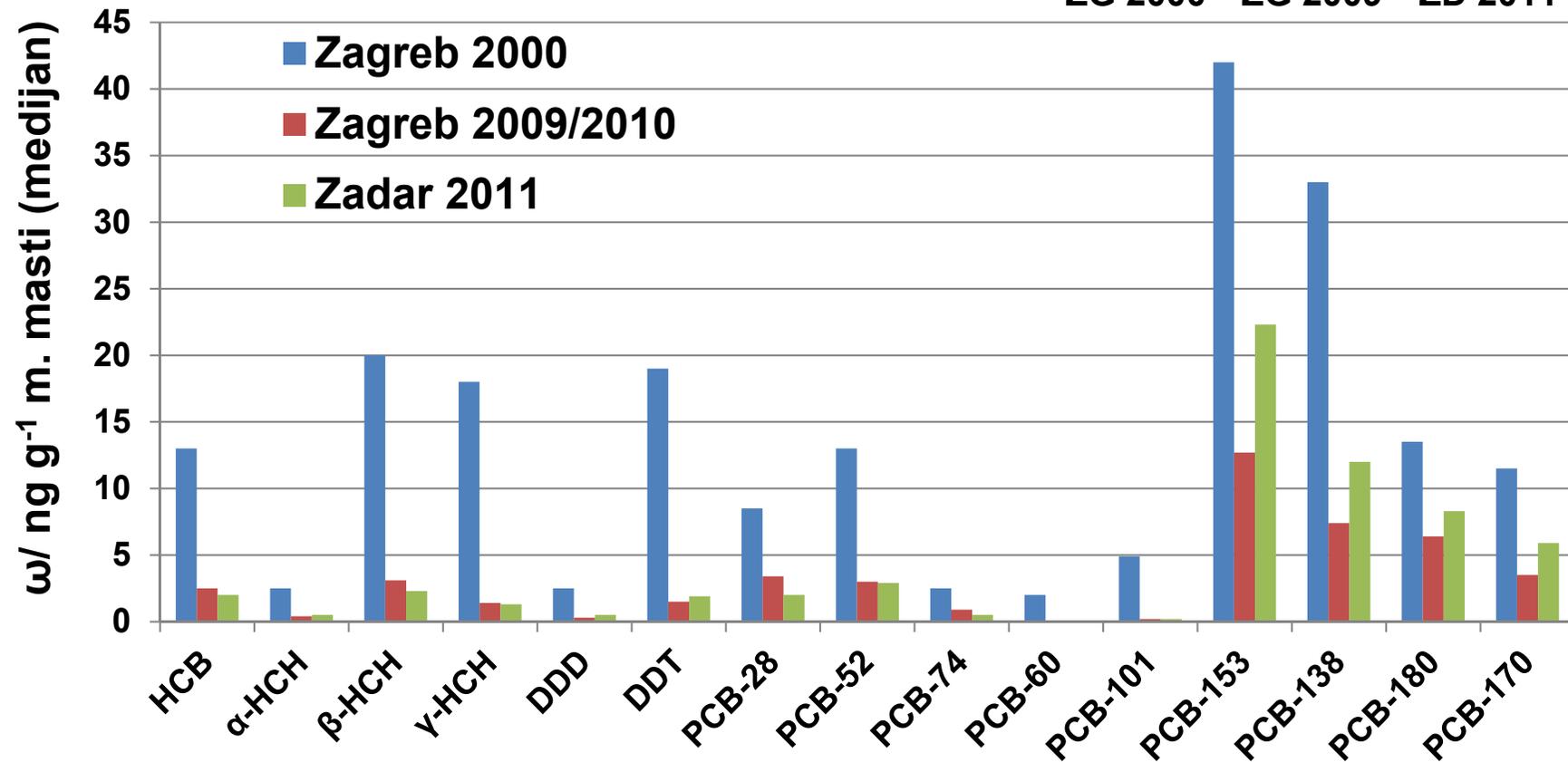
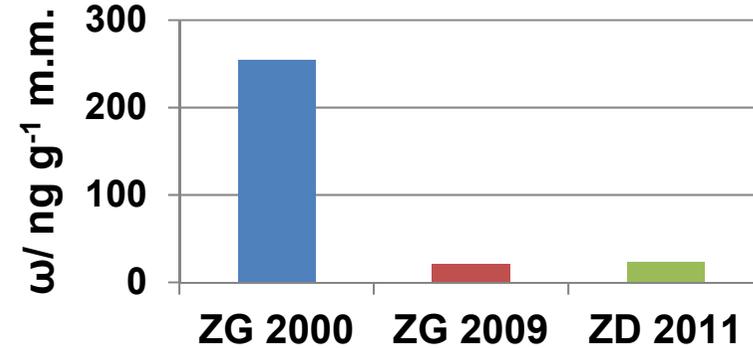
SPOJ	KRV (ug/L krvi)	JETRA (mg/kg masti)
HCB	0	33
γ-HCH	6,75	46
4,4'-DDE	0	102
4,4'-DDD	0	106
4,4'-DDT	0	109
PCB (ukupni)*	0	501

0 ispod granice određivanja

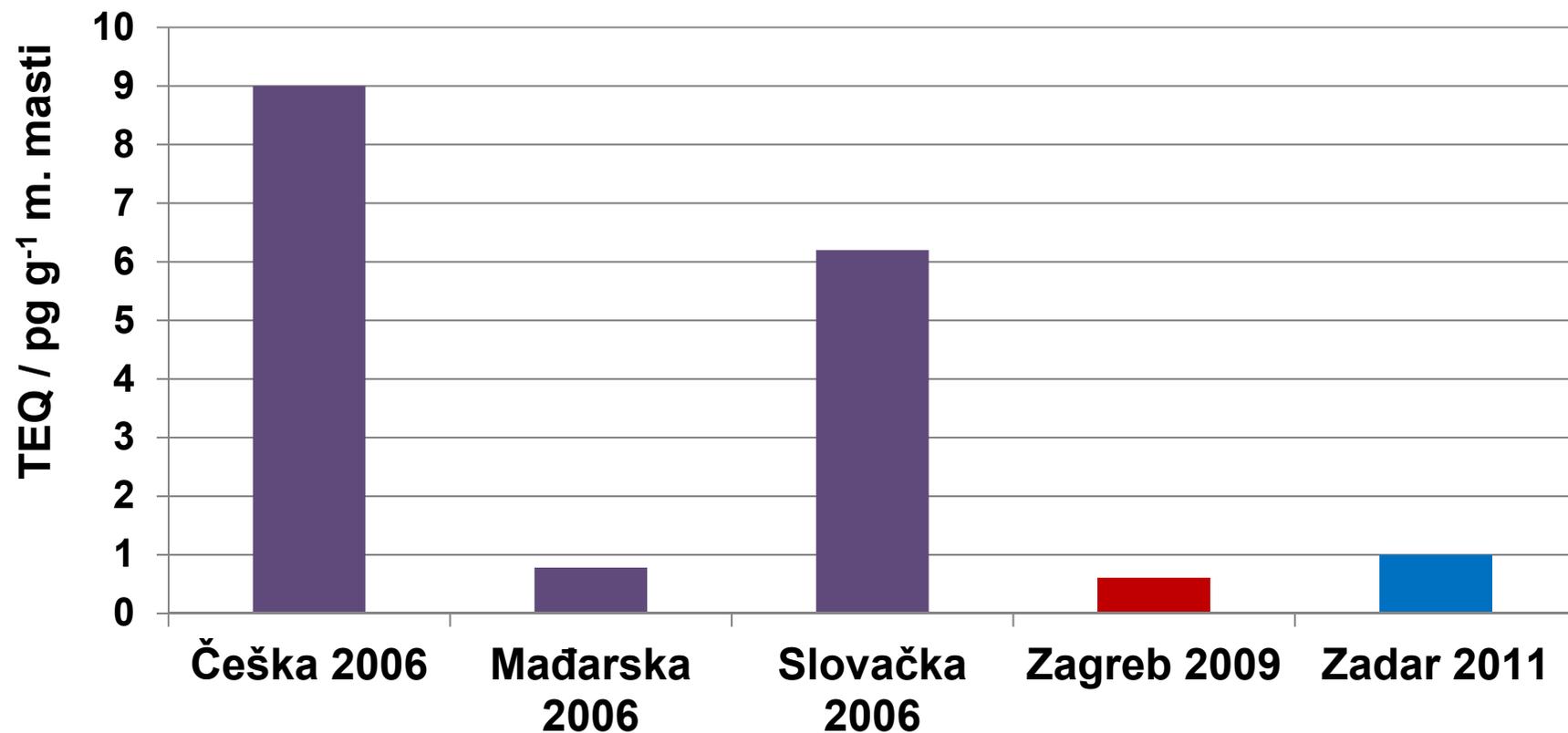
***mjereni prema Arocloru 1260**

ANALIZA OC U HUMANOM MLIJEKU

Lokacija	Zagreb	Zadar
Period	2009./2010.	2011.
Dob majke /g	22 - 37	20 - 33
Broj uzoraka	20	18



**EKVIVALENT TOKSIČNOSTI (TEQ)
MONO-ortho PCB KONGENERA U HUMANOM MLIJEKU
SKUPLJENOM U ZAGREBU, ZADRU I DRUGIM EU DRŽAVAMA**



SAŽETAK (1)

**ZRAK,
TLO**

- Prijenosni medij
- Veće razine OC spojeva od drugih matrica

**IGLICE
MASTI**

- Pouzdani indikatori onečišćenja
- Bioakumulacija/biomagnifikacija

**HUMANO
MLIJEKO**

- Neinvazivni direktni pokazatelj izloženosti ljudi postojanim organoklorovim spojevima

SAŽETAK (2)

OCP

- Potvrđen svjež unos DDT-a i lindana u svim vrstama matrica
- DDE najzastupljeniji u humanom mlijeku

PCB

- Najtoksičniji ne-*ortho* kongeneri nisu detektirani u niti jednom uzorku skupljenom na području RH
- Indikatorski kongeneri prisutni u niskim razinama (osim u ratu stradalih područja)
- Lipofilniji kongeneri s više atoma klora učestaliji u humanom mlijeku



- Razine svih OC spojeva u blagom opadanju
- Razine u okolišu i biosferi upućuju na izloženost razinama globalnog onečišćenja

SURADNICI JEDINICE ZA BIOKEMIJU I ORGANSKU ANALITIČKU KEMIJU

INSTITUTA ZA MEDICINSKA ISTRAŽIVANJA I MEDICINU RADA

**Dr. sc. Snježana Herceg Romanić, zn. sav.,
predstojnica Jedinice**

Dr. sc. Darija Klinčić, zn. sur.

Dr. sc. Marija Dvorščak, poslijedoktorand

Dr. sc. Gordana Mendaš Starčević, zn. sur.

Dr. sc. Sanja Fingler Nuskern, v. zn. sur.

Dr. sc. Sanja Stipičević, zn. sur.

Kristina Vajković, tehn. sur.