

KIAULIENOS IR JAUTIENOS TARŠOS CHLORO ORGANINIAIS JUNGINIAIS TYRIMAS

Birutė Staniškienė, **Romualdas Bliumbergas**, Halina Medekšienė

Lietuvos veterinarijos akademija, Biologinės chemijos katedra, Tilžės g.18, LT-3022, Kaunas; tel. 36 21 51; el. paštas: chemkat@lva.lt

Santrauka. Iš skirtingų Lietuvos vietovių tirti kiaulienos ir jautienos raumeninio bei riebalinio audinio mėginiai, užteršti chloro organiniais junginiais (CHOJ). Dujų chromatografu nustatyti DDT ir jo metabolitų, α -, γ -heksachlorcikloheksanų, polichlorintų difenilų (PCD) kiekis kiaulienos bei jautienos raumeniniame ir riebaliniame audiniuose. Tyrimo metu nustatyta, kad kiauliena ir jautiena labiausiai užteršta DDT ir jo metabolitais DDD, DDE; riebalinis audinys CHOJ užterštas labiau nei raumeninis: CHOJ kiekis kiaulienos riebaliniame audinyje 3–4 kartus, o jautienos du kartus didesnis nei raumeniniame. Teršalų toksiškumas priklauso ne tik nuo koncentracijos, poveikio trukmės, bet ir nuo darinių chlorinimo laipsnio, chloro atomų padėties molekulėje, teršalų mišinio izomerinės sudėties, todėl šiuos darinius svarbu identifikuoti. Siekiant nustatyti, kokiais PCD dariniais užterštas riebalinis audinys, be dujų chromatografinio, atlikti ir masių spektroskopiniai tyrimai. Palyginus analizuojamo bandinio ir etaloninių tirpalų spektrus nustatyta, kad kiaulienos riebaliniame audinyje yra PCD darinys 2,2',3,4',5',6-heksachlordifenilas.

Raktažodžiai: tarša, chlororganiniai junginiai, raumeninis, riebalinis audinys, masių spektroskopija.

ANALYSIS OF PORK AND BEEF CONTAMINATION WITH ORGANIC CHLORINE COMPOUNDS

Summary. The analysis of contamination with organic chlorine compounds (OCHC) in meat samples, taken from different parts of Lithuania, is presented. The amounts of DDT and its metabolites DDD, DDE, hexachlorcyclohexane, polychlorinated biphenyls in pork and beef muscular and adipose tissues were determined with the use of gas-chromatography. It was determined that meat is mostly contaminated with DDT and its metabolites DDD, DDE and that the OCHC contamination of adipose tissues is higher than that of muscular tissues: OCHC amounts in pork's adipose tissues are three to four times bigger than in muscular tissues, in beef's case - two times. The level of OCHC toxicity depends not only on concentration and duration of contamination, but also on the level of chlorination, the position of chlorine atoms in molecule, isomeric composition of pollutant mixture, so it's important to identify the derivatives of OCHC. In order to determine, what kind of OCHC derivatives are present in adipose tissues alongside the gas-chromatography mass-spectroscopic analysis was made. After comparison between spectrums of analysed samples and standart solutions it was determined that polychlorinated biphenyl derivative in adipose tissue is 2,2',3,4',5',6-heksachlordifenil.

Keywords: contamination, organic chlorine compounds, muscle tissue, adipose tissue, mass spectra.

Įvadas. Daugiausia CHOJ naudojami kaip cheminės augalų apsaugos priemonės. Jie užteršia gamtą, patenka į žuvų, žvėrių, naminių gyvūnų ir žmogaus organizmus. Vieni iš pavojingiausių CHOJ yra 1,1,1-trichlor-2,2-di(4-chlorfenil)etanas (DDT), jo metabolitai 1,1-dichlor-2,2-di-(p-chlorfenil)etanas (DDD), 1,1-dichlor-2,2-di-(p-chlorfenil)etenas (DDE) (Krauthacker, Reiner, 2001; Manirakiza et al., 2002). Šiuo metu jie negaminami, tačiau dėl stabilumo ir atsparumo aplinkos poveikiui, dalis pesticidų tebecirkuliuoja gamtoje ir gyvuose organizmuose (Bliumbergas ir kt., 1998). CHOJ grupei taip pat priskiriami α -heksachlorcikloheksanas (α -HCH), γ -heksachlorcikloheksanas (γ -HCH) bei polichlorinti difenilai (PCD) (Abad et al., 2002; Focant et al., 2002). Šie junginiai sudaryti iš dviejų tarpusavyje sujungtų fenilo žiedų, turinčių nuo vieno iki dešimties chloro atomų. Iš viso gali susidaryti iki 209 PCD izomerų. Nuo chloro atomų skaičiaus ir jų padėties molekulėje priklauso PCD mišinių rezorbcija, kaupimasis ir toksiškumas. Tai chemiškai stabilūs, ugniai atsparūs, riebaluose tirpūs junginiai, plačiai naudojami elektrotechnikos pramonėje, aušinimo sistemose, sintetinių pluoštų, dažų, lakų ir pesticidų gamyboje. Dėl didelio stabilumo, toksiškumo, dėl savybės lengvai patekti į gyvuosius organizmus ir kauptis mitybos grandinėse PCD daugelyje išsivysčiusių

šalių nebegaminami ir nebenaudojami, tačiau jų galima aptikti įvairiuose prietaisuose. Aplinka taip pat gali būti teršiama ne gryniais junginiais, bet technikoje naudojamais jų mišiniais, gaunamais chlorinant difenilą. Šie mišiniai būna užteršti polichlorintais naftalinalais arba polichlorintais dibenzofuranais. Junginių cheminės ir toksikologinės savybės analogiškos PCD dariniams.

Apie 90–95% žmonių audiniuose esančių PCD į organizmą patenka iš riebalais turtingų maisto produktų (pieno, mėsos, žuvies), ir tik nežymi dalis – per odą. Rezorbcija per virškinimo traktą priklauso nuo PCD chlorinimo laipsnio ir jų tirpumo, o per odą – nuo sąveikos laiko. Po rezorbcijos kraujas arba limfa išnešioja PCD į visus organus. Kraujo nešami PCD yra kenksmingesni, nes asocijuoti lipoproteinų frakcijoje. Lipidų pasiskirstymas iš kraujo į audinius priklauso nuo izomerų lipofilinių savybių, lipidų kiekio audiniuose ir didėja šia seka: raumenys, centrinė nervų sistema, kepenys, inkstai, trachėjos, riebalinis audinys. Riebalinio audinio PCD kiekis žymiai viršija jų kiekį raumenyse (Bliumbergas ir kt., 1998). Tetrachlordifenilai, randami kepenyse ir centrinėje nervų sistemoje, yra tik lipoproteinų frakcijoje, o apie 10% heksachlordifenilų yra ir proteinų frakcijoje.

PCD, kaip ir kitos lipofilinės cheminės medžiagos, turi savybę kauptis riebalų turtinguose audiniuose. Kaupi-

mosi organizme mastas priklauso nuo molekulės cheminio stabilumo ir chloro atomo padėties molekulėje. Didėjant molekulės stabilumui ir chloro atomų skaičiui o-padėtyje, kaupimasis didėja (Sparling, Save, 1980). Tarp sukaupto vidutinio PCD kiekio organizme ir amžiaus yra tiesioginė priklausomybė.

Gyvūnų ir žmonių organizmuose vyksta susikauptusių PCD metaboliniai pokyčiai, kurie padeda susidaryti hidroksi- ir sieros grupes bei chloro atomus kitose nei pradinėje padėtyje turintiems junginiams (Abad et al., 2002). Metabolitai, turintys savo sudėtyje hidroksigrupes, geriau tirpsta vandenyje ir lengviau praeina per inkstus ir žarnų epitelį. Be to, jie geriau detoksinami vykstant konjugacijos reakcijoms su gliukurono ir sieros rūgštimis. Nemaža dalis nukenksmintų metabolitų pasišalina per žarnas aktyviai dalyvaujant tulžies rūgštimis, tačiau lieka tam tikra organizmo reakcija ir negrįžtami pokyčiai audiniuose. Taigi sukeltas poveikis nenutrūksta, o naujos PCD dozės sukeltas efektas sumuojasi su pirmuoju. Metaboliniai kitimai žmogaus organizme vyksta aktyviau nei gyvulių.

PCD toksiškumas priklauso nuo jų koncentracijos, poveikio trukmės, nuo chlorinimo laipsnio ir chloro padėties molekulėje, nuo mišinio izomerinės sudėties. Jie gali sukelti odos susirgimus, pigmentaciją, pažeisti kepenis, sukelti gelta, slopinti organizmo apsaugines reakcijas, imunitetą, veikti nervų sistemą, plaučius, sukelti išsigimimus, mažakraujystę, vėžį. Šie junginiai iš audinių pereina į motinos pieną ir patenka kūdikiams. Kadangi PCD toksiškumas priklauso nuo mišinio izomerinės sudėties, iki šiol aktualu tirti ne tik bendrą PCD kiekį maisto produktuose, bet ir identifikuoti atskirus izomerus.

Taigi, kalbant apie CHOJ poveikį, svarbu nustatyti jų kiekį skerdenoje, net jeigu jis mažesnis už leistinas normas. Siekiant įvertinti tokius toksiškumo rodiklius kaip efektų sumavimąsi, toksinių medžiagų tarpusavio sąveiką, „kombinuotą“ kenksmingų medžiagų poveikį, būtina ne tik nustatyti jų kiekį, bet ir identifikuoti CHOJ darinius.

Darbo tikslas – atlikti kiaulienos ir jautienos raumeninio bei riebalinio audinio taršos CHOJ tyrimus. Dujų chromatografu nustatyti DDT, DDD, DDE, α -HCH, γ -HCH, PCD kiekį kiaulienos ir jautienos raumeninio bei riebalinio audinio mėginiuose, paimtuose iš skirtingų Lietuvos regionų. Atlikus masių spektrometrinį tyrimą, identifikuoti PCD izomerus, kuriais užterštas kiaulienos riebalinis audinys.

Tyrimų metodai ir sąlygos. Tirta 18 kiaulienos raumeninio, 18 riebalinio audinio ir 19 jautienos raumeninio bei 18 riebalinio audinio mėginių iš Kauno, Jonavos, Kėdainių, Raseinių, Tauragės, Šilutės rajonų. Tyrimams buvo imama po 0,2–0,5 kg kiaulienos ir jautienos raumeninio audinio iš kaklo paskutiniojo trečdaliao raumenų, o riebalinio audinio mėginiai – iš juosmens ir nugaros sričių (2001/471/EB). Mėginiai polietileniniuose maišeliuose po 4–6 val. užšaldyti -20°C temperatūroje ir laikoti iki analizės. Raumeninis ir riebalinis audinys buvo analizuojami atskirai, nustatomas šių chlororganinių junginių kiekis:

1. DDT, DDD, DDE;
2. α -HCH), γ -HCH;
3. PCD.

CHOJ teršalų kiekiui raumeniniuose ir riebaliniuose audiniuose nustatyti buvo taikomas dujų chromatografinis metodas. Pirmiausia analizuojami mėginiai buvo atšildomi, sumalami mėsos malimo mašinėle, kruopščiai homogenizuojami. Sveriami $10\pm 0,01$ g bandinio, iš kurio CHOJ ekstrahuojami heksano–acetono mišiniu. Ekstraktas gryninamas (Staniškienė ir kt., 2001). CHOJ dariniai nuo PCD atskirti gel-chromatografiniu būdu, eluentu naudojant petroleterio, metileno chlorido ir heksano mišinį. Eliuatas nugarintas rotaciniu garintuvu, liekana matavimo kolbutėje atskiesta petrolio eteriu. Toliau analizuojama dujų chromatografu SHIMADZU – GC 14A. Analizės sąlygos parenkamos taip, kad chromatografuojami komponentai kuo geriau atsiskirtų (skiriamoji geba $R\geq 1,2$). Analizės pradžioje per kolonėlę buvo leidžiamas tirpiklis, etaloniniai pesticidų, jų metabolitų tirpalai, vėliau analizuojamas ekstraktas, vėl etaloniniai tirpalai ir analizuojami bandiniai. Kiaulienos ir jautienos bandinių analizė buvo atliekama Lietuvos sveikatos apsaugos ministerijos Maisto centre ir MA Onkologijos institute.

Galvijų ir kiaulių raumeniniame ir riebaliniame audinyje buvo ieškoma šių PCD darinių:

- 2,3',4,6 – tetrachlordifenilo;
- 2,2',4,5,5' – pentachlordifenilo;
- 2,2',3,4',5',6 – heksachlordifenilo;
- 2,2',4,4',5,5' – heksachlordifenilo;
- 2,2',3,4,4',5,5' – heptachlordifenilo.

Paruošti šių PCD darinių etaloniniai tirpalai.

Bandiniui paruošti $5\pm 0,01$ g riebalinio audinio ištirpinta acetone. Iš acetoninio tirpalo riebalai adsorbuoti „Calflo E⁰“ ir „Celite 545“ adsorbentu acetonitrile. Susidariusi suspensija filtruota pro Biuchnerio piltuvą, vėliau pro stiklinį filtrą su adsorbentu „Calflo E⁰“. Rotaciniame garintuve filtratas koncentruotas. Gautas koncentratas grynintas sočiu dimetilformamido tirpalu petroleteryje. Dimetilformamido tirpalas dalomajame piltuve apdorotas 2% natrio sulfato tirpalu. PCD iš gauto mišinio ekstrahuoti petroleteriu. Ekstraktas rotaciniame garintuve koncentruotas iki 5 ml. Toliau ekstraktas grynintas chromatografiniu būdu naudojant „Florisil“ kolonėlę, eluentu – petroleterio ir dietileterio mišinį. Chromatografuotas eliuatas garintas rotaciniu garintuvu. Gauta liekana skiesta petrolio eteriu. Gautas bandinys Berlyno vartotojų teisių apsaugos ir veterinarinės medicinos institute buvo analizuojamas masių spektrometru FINIGAN MAT-95 su smūgine elektronų jonizacija.

Tyrimų rezultatai ir aptarimas. Kiaulienos ir jautienos bandiniuose rastas DDT, DDD ir DDE kiekis labai įvairuoja (1 lentelė). CHOJ kiekis galvijų ir kiaulių raumeniniame bei riebaliniame audiniuose yra leistinas. Iš gautų analizės rezultatų matome, kad daugiausia DDT – 5,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ – rasta kiaulienos riebaliniame audinyje, o jautienos riebaliniame audinyje nustatytas didžiausias DDT kiekis yra perpus mažesnis (1 pav.). DDT, DDD, DDE kiekio suma tiek jautienoje, tiek kiaulienoje yra panaši ir siekia: kiaulienos riebaliniame audinyje – 3,06 $\mu\text{g}/\text{kg}$, kiaulienos raumeniniame audinyje – 1,04 $\mu\text{g}/\text{kg}$;

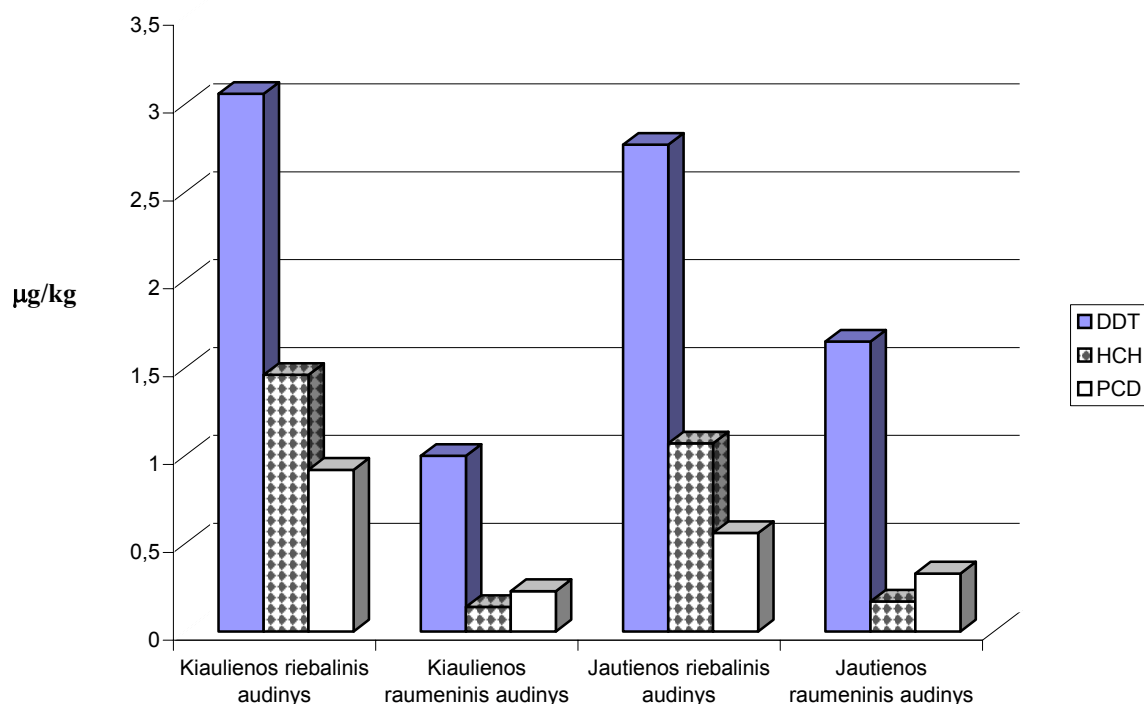
jautienos riebaliniame audinyje – 2,77 $\mu\text{g}/\text{kg}$, jautienos raumeniniame audinyje – 1,67 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

1 lentelė. DDT, DDD, DDE kiekis kiaulienos ir jautienos riebaliniame bei raumeniniame audiniuose, µg/kg

Eil. Nr.	Bandinio pavadinimas	DDT			DDD			DDE		
		min.	maks.	vidurkis	min.	maks.	vidurkis	min.	maks.	vidurkis
1.	Kiaulienos riebalinis audinys	0,7	5,64	2,36	-	0,62	0,32	0,1	0,84	0,34
2.	Kiaulienos raumeninis audinys	0,3	1,18	0,74	-	0,42	0,18	0,1	0,16	0,09
3.	Jautienos riebalinis audinys	0,56	2,23	1,65	0,76	0,89	0,82	0,29	0,32	0,3
4.	Jautienos raumeninis audinys	0,37	1,11	0,73	0,33	0,83	0,54	0,22	0,58	0,4

2 lentelė. α-, γ-HCH, PCD kiekis kiaulienos ir jautienos riebaliniame bei raumeniniame audiniuose, µg/kg

Eil. Nr.	Bandinio pavadinimas	α-HCH			γ-HCH			PCD		
		min.	maks.	vidurkis	min.	maks.	vidurkis	min.	maks.	vidurkis
1.	Kiaulienos riebalinis audinys	0,4	1,0	0,35	0,02	0,68	0,19	0,64	1,1	0,92
2.	Kiaulienos raumeninis audinys	0,013	0,03	0,02	0,01	0,32	0,12	0,01	0,49	0,23
3.	Jautienos riebalinis audinys	0,2	1,23	0,55	0,09	1,33	0,52	0,098	1,25	0,59
4.	Jautienos raumeninis audinys	0,01	0,13	0,036	0,04	0,3	0,13	0,01	1,11	0,33



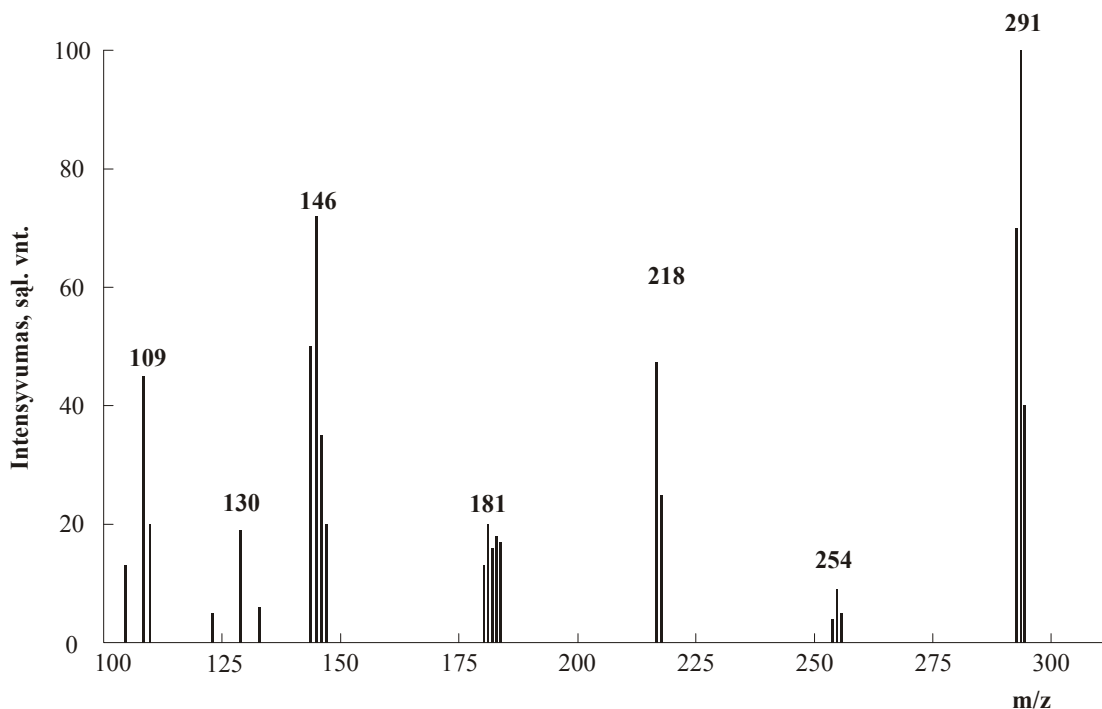
1 pav. DDT, HCH, PCD kiekis kiaulienos ir jautienos raumeniniame bei riebaliniame audiniuose, µg/kg

Nustatę heksachlorcikloheksano kiekį bandiniuose (2 lentelė) galime teigti, kad daugiausia α-, γ- HCH rasta jautienos riebaliniame audinyje – 1,23 µg/kg α-HCH ir 1,33 µg/kg γ-HCH (1 pav.). α-, γ- HCH kiekio suma riebaliniuose audiniuose yra didesnė ir siekia:

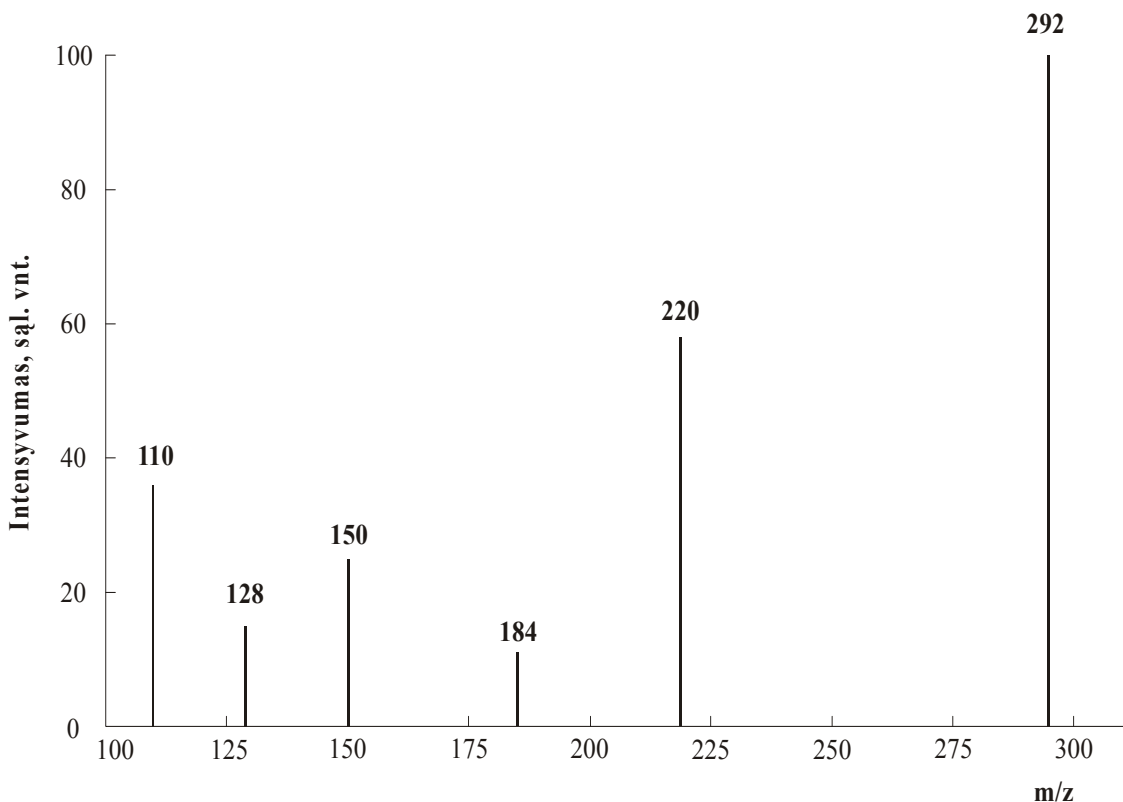
kiaulienos riebaliniame audinyje – 1,46 µg/kg, kiaulienos raumeniniame audinyje – 0,14 µg/kg;

jautienos riebaliniame audinyje – 1,07 µg/kg, jautienos raumeniniame audinyje – 0,16 µg/kg.

Daugiausia PCD taip pat rasta kiaulienos ir jautienos riebaliniuose audiniuose (2 lentelė). Kiaulienos raumeniniame audinyje šių teršalų rasta 4 kartus, o jautienos raumeniniame audinyje – du kartus mažiau nei riebaliniame (3 pav.).



2 pav. Kiaulienos riebalinio audinio bandinio masių spektras



3 pav. 2, 3, 4, 6-tetrachlordifenilo masių spektras

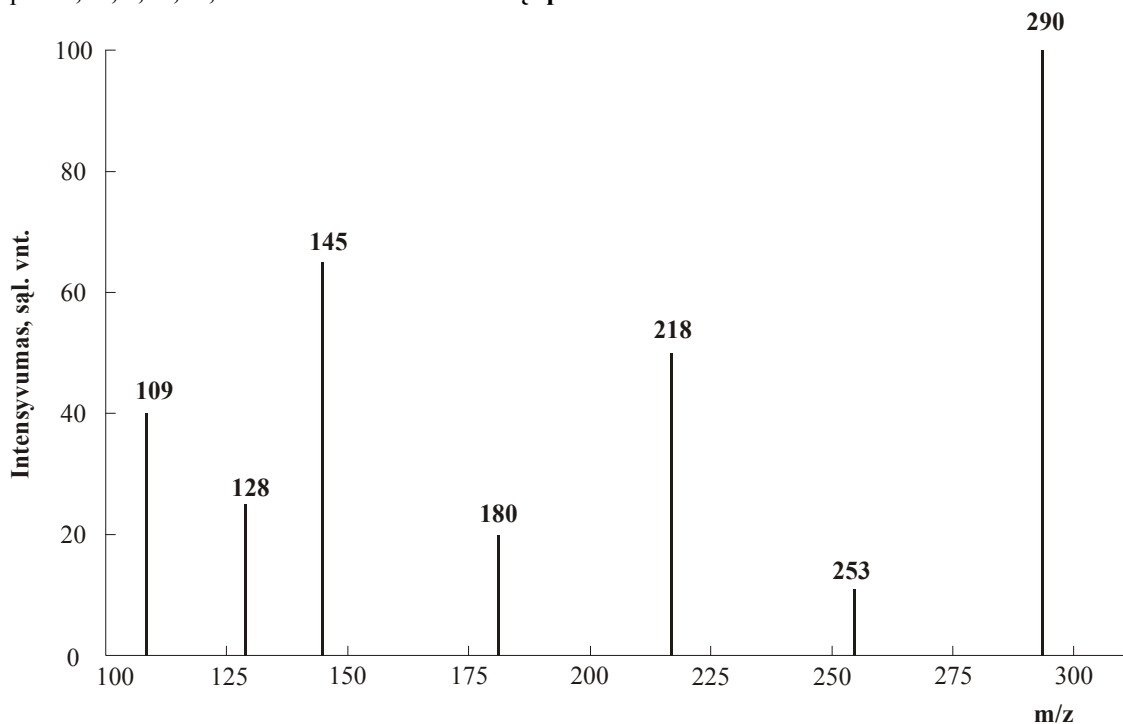
Kadangi CHOJ gebėjimas kauptis organizme, rezorbuotis, sąveikauti su kitomis kenksmingomis medžiagomis priklauso nuo atsiradusių hidroksi-, sulfogrupių, Cl atomų skaičiaus ir jų išsidėstymo molekulėje, svarbu rasti PCD izomeras identifiкуoti. Kokių PCD izomerų yra, sprendžiama lyginant analizuojamų bandinių masių spektrus su PCD darinių etaloninių tirpalų masių spektrais. Užrašytame kiaulienos riebalinio audinio bandinio masių spektre, 100–300 m/z intervale, matoma

daug smailių (2 pav.) Labiausiai intensyvi yra smailė ties 291 m/z reikšme. Panašų masių spektro pobūdį turi šie PCD dariniai – 2, 3', 4, 6- tetrachlordifenilas (4CIPCD; 3 pav.) ir 2, 2', 3, 4', 5', 6-heksachlordifenilas (6CIPCD; 4 pav.). Analizuojant PCD masių spektrus matyti, kad 4CIPCD atveju intensyviausia smailė (292 m/z; 3 pav.) atitinka molekulinę joną. Kitos smailės atitinka PCD molekulės fragmentus, gaunamus nuo jos atskylant 2, 3 ir 4 chloro atomams (220, 184 ir 150 m/z; 3 pav.). Panašus

ir 6CIPCD masių spektras, tačiau jame smailė ties 290 m/z atitinka ne molekulinį joną su 6 chloro atomais, bet fragmentą su 4 chloro atomais (4 pav.). Šiame spektre, skirtingai nuo 4CIPCD masių spektro, matoma smailė ties 253 m/z, atitinka molekulinės fragmentą su 3 chloro atomais, tačiau šiame spektre smailė ties 109 m/z yra mažiau intensyvi nei smailė ties 145 m/z (4 pav.).

4CIPCD masių spektre smailė ties 110 m/z yra intensyvesnė už smailę ties 150 m/z (3 pav.). Palyginus šiuos skirtumus etaloninių tirpalų spektruose su kiaulienos riebalinio audinio bandinio masių spektru galima teigti, kad rastas PCD darinys yra 2, 2', 3, 4', 5', 6-heksachlordifenilas.

4 pav. 2, 2', 3, 4', 5', 6-heksachlordifenilo masių spektras



Išvados.

1. Nustatyta, kad kiaulienos ir jautienos raumeninių ir riebalinių audinių mėginiuose rastas CHOJ kiekis neviršija leistinų normų. Didžiausią taršos dalį (absoliučiu dydžiu) sudaro DDT ir jo metabolitai DDD, DDE.

2. CHOJ kiekis kiaulienos riebaliniame audinyje yra 3–4 kartus didesnis nei raumeniniame, o jautienos – du kartus.

3. Masių spektroskopijos metodu nustatyta, kad kiaulienos riebalinio audinio mėginiuose rastas PCD darinys yra 2,2',3,4',5',6-heksachlordifenilas.

Literatūra

1. Abad E., Llerena J.J., Saulo J., Caixach J., Rivera J. Study on PCDDs/PCDFs and co-PCBs content in food samples from Catalonia (Spain). *Chemosphere*. 2002. Mar; T. 46(9–10), P.1435–41.
2. Ariyoshi N., Koga N., Oguri K., Yoshimura H. Metabolism of 2,4,5,2',4',5'-Hexachlorobiphenyl with liver microsomes of phenobarbital-treated dog; the possible formation of PCB 2,3-arene oxide intermediate// *Xenobiotica*, 1992. T.22. P.1275–1290.
3. Bliumbergas R., Staniškienė B., Medekšienė H. DDT detoksikacija biosferoje.//*Veterinarija ir zootechnika*. Kaunas, 1998. T.5(27). P. 87–92.
4. Focant J.F., Eppe G., Pirard C., Massart A.C., Andre J.E., De Pauw E. Levels and congener distributions of PCDDs, PCDFs and non-ortho PCBs in Belgian foodstuffs assessment of dietary intake. *Chemosphere*. 2002. Jul; T. 48(2). P. 167–79.
5. Krauthacker B., Reiner E. Organochlorine compounds in human milk and food of animal origin in samples from Croatia. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2001. Jun; T.52(2). P. 217–27.
6. Manirakiza P., Akimbamijo O., Covaci A., Adediran S., Cisse I., Fall S., Schepens P. Persistent chlorinated pesticides in fish and cattle fat and their implications for human serum concentrations

from the Sene-Gambian region. *J Environ Monit*. 2002. Aug; T. 4(4). P. 609–17.

7. Sparling J., Save S. The effects of ortho chloro substituents on the retention of PCB isomers in rat, rabbit, Japanese quail, guinea pig and trout // *Toxikol. Left*. 1980. T.7. P. 23–28.

8. Staniškienė B., Bliumbergas R., Medekšienė H. Lietuvoje gaminto augalinio aliejaus taršos chlororganiniais junginiais tyrimas. //*Veterinarija ir zootechnika*. Kaunas, 2001. T. 13 (35). P. 94–98.