Biblid: 0350-2953 (2018) 44(1): 29-36
UDK: 662.7; 66.04

Originalni naučni rad
Original scientific paper

KVALITATIVNA I KVANTITATIVNA ANALIZA PAH-ova U PEPELU BIOMASE METODOM LC/DAD

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF PAHs IN BIOMASS ASH BY LC/DAD

**Marinković Ana, Buha-Marković Jovana, Savić Jasmina,
Mladenović Milica, Repić Branislav, Nemoda Stevan**
Univerzitet u Beogradu, Institut za nuklearne nauke "Vinča"
11351 Beograd, Mike Petrovića Alasa 12-14
e-mail: jasnas@vin.bg.ac.rs

SAŽETAK

S obzirom da biomasa predstavlja izvor energije sa najvećom perspektivom (i zbog stalnog smanjenja resursa fosilnih goriva i sa aspekta smanjenja emisije gasova staklene bašte), poslednjih godina se intenzivno radi na razvijanju tehnologije koja bi omogućila korišćenje poljoprivredne biomase za proizvodnju energije. Već čitavu deceniju tehnologija cigaretnog sagorevanja primenjuje se u postrojenju koje se koristi za zagrevanje plastenika na poljoprivrednom dobru PKB. Pri sagorevanju biomase emituju se brojna isparljiva i delimično isparljiva organska jedinjenja u koja spadaju i policiklični aromatični ugljovodonici (PAH-ovi). Sa aspekta zaštite zdravlja ljudi i životne sredine, neophodno je da se prati koncentracija ovih jedinjenja, a da bi to bilo moguće, da se razviju metode pogodne za njihovu ekstrakciju iz pepela, kao i za detekciju i kvantifikaciju. U tom cilju optimizovane su i razvijene metode za pripremu i analizu uzoraka pomoću tečnog hromatografa sa spektrofotometrijskim detektorom (LC/DAD).

Gljučne reči: Poljoprivredna biomasa, pepeo, cigaretno sagorevanje, PAH-ovi, LC/DAD, kvalitativna i kvantitativna analiza.

1. UVOD

Razlozi za sve većom potrebom za korišćenjem obnovljivih izvora energije su brojni, a među njima najvažniji da su resursi fosilnih goriva ograničeni što za posledicu ima porast njihove cene, kao i težnja da se smanji emisija CO₂. U poređenju sa fosilnim gorivima, pri sagorevanju biomase emisija CO, NO_x i ukupnog organskog ugljenika (TOC) je niža. To predstavlja prednost upotrebe biomase kao goriva, ali je neophodno obezbediti redovnu kontrolu procesa sagorevanja kako bi se smanjila emisija isparljivih i delimično isparljivih organskih zagađivača poput PAH-ova (Eriksson et al. 2014, Samburova et al. 2016). U slučaju primene tehnologije cigaretnog sagorevanja postignita je manja emisija organskih zagađivača, kao i veća efikasnost postrojenja (Repić et al. 2013). Zbog svega prethodno navedenog, sve veća pažnja posvećuje se ispitivanju policikličnih aromatičnih

ugljovodonika (PAH-ova) zbog njihovog potencijalnog toksičnog, kancerogenog ili mutagenog delovanja.

Intenzivnijoj emisiji PAH-ova najviše doprinosi nepotpuno sagorevanje biomase. Policiklični aromatični ugljovodonici mogu nastajati u gasovitoj fazi (PAH-ovi sa manje od 4 prstena), u čvrstoj fazi (PAH-ovi sa više od 6 prstenova) ili u obe faze (PAH-ovi sa četvoročlanim i petočlanim prstenovima) (Liu et al. 2000). Na sadržaj i količinu PAH-ova tokom sagorevanja goriva utiču brojni faktori (Mastral et al. 1999; Stout SA and Emsbo-Mattingly, 2008): sadržaj isparljivih jedinjenja, sadržaj vezanog ugljenika, odnosi H/C i O/C, temperatura sagorevanja (reakcije sinteze PAH-ova su endotermne, i više PAH-ova može nastati na višim temperaturama), prisustvo metala (mogu delovati kao katalizatori za reakcije sinteze - npr. gvožđe i bakar), protok vazduha (dostupnost kiseonika), kao i tip ložišta koje se koristi (Mastral and Callén, 2000).

Tečna hromatografija u kombinacijama sa različitim tipovima detektora primenjuje se za razdvajanje, identifikaciju i kvantifikaciju velikog broja organskih jedinjenja. Za identifikaciju komponentata dobijenih ekstrakata koriste se standardne smeše koje sadrže jedinjenja koja su od interesa za ispitivanje (analite). Identifikacija se izvodi poređenjem vremena zadržavanja na hromatografskoj koloni (retencionog vremena) i apsorpcionog spektra sa vremenima zadržavanja i apsorpcionim spektrima komponenti standardne smeše. Retenciono vreme je karakteristično za svaku komponentu ekstrakta i zavisi od kombinacije stacionarne i mobilne faze.

S obzirom da postrojenje instalirano u Poljoprivrednom kombinatu PKB radi već čitavu deceniju, da se PAH-ovi koji nastaju pri sagorevanju, mogu sorbovati na česticama pepela zbog njihove velike specifične površine i na taj način koncentrovati (Verma et al. 2015), kao i s obzirom da je bitno da se kontroliše koncentracija ovih jedinjenja zbog potencijalnih toksičnih efekata, od velike je važnosti da se ispita koji se od pomenutih 16 PAH-ova nalaze na česticama pepela, kao i u kojim koncentracijama. Cilj ovog rada je da se kvalitativno i kvantitativno ispituju PAH-ovi u uzorcima pepela iz ciklona postrojenja u Poljoprivrednom kombinatu Beograd.

2. MATERIJAL I METOD

Uzorci pepela sakupljeni su u postrojenju za grejanje plastenika upotrebom sojine slame kao goriva. Ovo postrojenje neprekidno radi počev od 2008. godine u periodu od početka oktobra do kraja aprila. U postrojenju se koristi tehnologija cigaretnog sagorevanja balirane slame pri čemu se tokom 1 h potroši prosečno oko 400 kg sojine slame. 2 kg uzorka pepela iz ciklona uzorkovano je iz ovog postrojenja i čuvano na tamnom mestu u laboratoriji na temperaturi do 15°C.

PAH-ovi su ekstrahovani iz uzorka pepela dihlormetanom na orbitalnom šejkeru IKA KS130 (maksimalnom brzinom od 800 obrtaja/min tokom 30 min). Odmereno je 15 g uzorka pepela i dodato 50 mL dihlormetana (HPLC čistoća, J.T.Baker). Nakon prve faze ekstrakcije, rastvarač je dekantovan i ekstrakcija sa po 50 mL dihlormetana je ponovljena još dva puta. Nakon poslednje faze ekstrakcije uzorak je filtriran (filter papir plava traka), pepeo je ispiran tri puta sa po 5 mL dihlormetana, zbog kvantitativnog prenošenja PAH-ova. U dobijeni ekstrakt dodaje se anhidrovani natrijum sulfat zbog uklanjanja eventualno prisutne vlage. Nakon 15 minuta ekstrakt se filtrira i prebacuje u stakleni balon radi uparavanja na rotacionom vakuum uparivaču (Heidolph Instumetns GmbH) do zapremine

3-5 mL. Dobijeni koncentrovani ekstrakt se uparava do suva u struji azota, a zatim se dodaje 1 mL acetonitrila (HPLC čistoće, J.T.Baker) i analizira na LC/DAD-u. Ekstrakcija je ponovljena u triplikatu. Za kvalitativnu i kvantitativnu analizu korišćena je metoda tečne hromatografije sa spektrofotometrijskim detektorom LC/DAD (Thermo Fisher Scientific Dionex Ultimate 3000 Series sa Diode Array detektorom DAD 3000). Za razdvajanje komponenti ekstrakata pepela biomase i standardnih rastvora PAH-ova, kao stacionarna faza korišćena je kolona EnviroSep-PP™, dimenzija 125×3.2 mm, veličine čestica 5 µm. Mobilna faza sastoji se iz dve komponente: 10% acetonitril (komponenta A) i acetonitril (komponenta B). Za razdvajanje ispitivanih analita iz dobijenih ekstrakata i standardnih rastvora PAH-ova korišćen je sledeći gradijent (predstavljen kao sastav komponente B): od 50 do 98 % za 3,5 min, zadržavanje na 98 % tokom 8,3 min, zatim povratak na početni sastav mobilnih faza za 0,7 min i zadržavanje u trajanju od 2 min. Ukupno vreme trajanja metode je bilo 14,5 min. Temperatura kolone je bila 30°C. Protok mobilne faze je bio 0,35 mL/min, a injekciona zapremina 3 µL (i za standardne rastvore i za analizirane ekstrakte uzoraka pepela biomase). Retenciona vremena ispitivanih PAH-ova su u intervalu između 3,12 min i 9,84 min. Detektorom su snimani 3D hromatogrami u intervalu talasnih dužina od 200 do 450 nm, kao i 2D hromatogrami na talasnim dužinama 225 nm, 254 nm i 290 nm. Svi standardni rastvori i ekstrahovani uzorci snimani su tri puta. Za podešavanje eksperimentalnih uslova na uređaju i kompletnu analizu dobijenih podataka korišćen je softver Chromeleon 7.

Za kvalitativnu i kvantitativnu analizu ekstrakata pepela biomase korišćen je standardni rastvor PAHmix 14 (Sigma Aldrich), 2000 ng/µL u smeši aceton/benzen. Za pripremu mobilne faze korišćeni su acetonitril HPLC čistoće i dejonizovana voda (18,2 MΩ).

3. REZULTATI I DISKUSIJA

Nakon izbora najoptimalnije metode za ekstrakciju PAH-ova iz uzorka pepela i optimizacije metode za njihovo razdvajanje na tečnom hromatografu sa spektrofotometrijskom detekcijom, analizirani su snimljeni hromatogrami, utvrđen identitet pikova u hromatogramima, i na osnovu kalibracionih kriva urađena je kvantifikacija. 2D hromatogrami su eksportovani na talasnim dužinama 225 nm, 254 nm i 290 nm.

Sl. 1. 2D hromatogram standardnog rastvora PAH-ova koncentracije 0,5 ppm (254 nm); umetak: deo 2D hromatograma (225 nm)

Fig. 1. 2D chromatogram of 0.5 ppm standard solution of PAH mix (254 nm); inset: part of 2D chromatogram at 225 nm

Pri tome su na prvoj od navedenih talasnih dužina ispitivani i kvantifikovani: naftalen, acenaftilen i acenaften, na drugoj: fluoren, fenantren, antracen, piren, fluoranten, benzo(a)antracen, krizen, benzo(k)fluoranten, benzo(b)fluoranten i benzo(a)piren, a na trećoj: benzo(k)fluoranten, dibenzo(a,h)antracen, benzo(g,h,i)perilen i indeno[1,2,3-cd]piren.

Tab. 1a. Apsorpcioni spektri prioriternih PAH-ova prema Agenciji EPA (US EPA, 2005)

Tab. 1a. Absorbance spectra of priority PAHs according to EPA Agency

n	PAH-ovi PAHs	Apsorpcioni spektar Absorbance spectrum	n	PAH-ovi PAHs	Apsorpcioni spektar Absorbance spectrum
1	Naftalen Naphthalene		9	Benzo(a)antracen Benzo(a)anthracene
2	Acenaftilen Acenaphthylene		10	Krizen Chrysene
3	Acenaften Acenaphthene		11	Benzo(b)fluoranten Benzo(b)fluoranthene
4	Fluoren Fluorene		12	Benzo(k)fluoranten Benzo(k)fluoranthene

Tab. 1b. Apsorpcioni spektri prioritetnih PAH-ova prema Agenciji EPA (US EPA, 2005)

Tab. 1b. Absorbance spectra of priority PAHs according to EPA Agency

Na Slici 1 prikazani su 2D hromatogram standardnog rastvora PAH-ova koncentracije 0.5 ppm eksportovan na 254 nm, kao i deo 2D hromatograma eksportovanog na 225 nm. Pikovi koji odgovaraju ispitivanim analitima numerisani su brojevima od 1 do 16 prema redosledu njihovog izlaska sa kolone (retencionim vremenima), njihov identitet (apsorpcioni spektri) dat je u Tabelama 1a i 1b, a ista numeracija je korišćena u svim Tabelama u nastavku rada.

Tab. 2. Podaci neophodni za identifikaciju i kvantifikaciju PAH-ova

Tab. 2. Data necessary for identification and quantification of PAHs

n	t _r (min)	λ _{max} (nm)	λ _{kalib} (nm)	Nagib Slope	R ²
1	3,12	219, 272	225	3.11	0.952
2	3,75	227, 272, 310	225	2.81	0.963
3	4,61	226, 272	225	4.95	0.957
4	4,73	244, 266, 300	254	1.06	0.972
5	5,16	250, 272, 292	254	3.03	0.943
6	5,54	252, 270	254	6.67	0.984
7	5,79	236, 276, 286	254	0.53	0.982
8	6,09	239, 263, 273, 318, 335	254	0.70	0.961
9	6,82	220, 277, 287	254	1.66	0.963
10	7,01	219, 258, 267	254	2.46	0.964
11	7,60	220, 241, 258, 301	254	1.92	0.961
12	7,97	216, 240, 271, 296, 306	290	1.31	0.957
13	8,41	217, 244, 265, 283, 297	254	1.81	0.974
14	8,91	219, 241, 276, 287, 296	290	3.40	0.963
15	9,54	217, 241, 271, 289, 300	290	1.53	0.971
16	9,84	217, 243, 248, 271, 304, 314	290	0.95	0.965

Identifikacija svakog pojedinačnog analita rađena je poređenjem retencionih vremena i apsorpcionih spektara u 3D hromatogramu snimljenom korišćenjem standardnog rastvora PAH-ova koncentracije 0,5 ppm sa retencionim vremenima i apsorpcionim spektrima PAH-ova u uzorcima ekstrahovanim iz pepela biomase. U Tabeli 2 predstavljena su retencionna vremena svih 16 PAH-ova, talasne dužine maksimuma u njihovim apsorpcionim spektrima (Tabele 1a i 1b), talasna dužina na kojoj je za dati PAH rađena kalibracija i na osnovu nje kvantifikacija, kao i podaci u vezi nagiba i koeficijenta korelacije za svaku od kalibracionih kriva. Kalibracione krive su konstruisane korišćenjem serije standardnih rastvora napravljenih razblaživanjem standardnog PAH mix-a acetonitrilom u intervalu koncentracija 0,05 ppm do 0,5 ppm. S obzirom da su dobijeni ekstrakti uzorka pepela biomase iz ciklona bili prekoncentrovani, pre snimanja hromatograma, oni su stotruko razblaženi acetonitrilom. U Tabeli 3 date su koncentracije ispitivanih PAH-ova. Za svaki od analita date su koncentracije određene u samom ekstaktu izražena kao µg/mL (ppm), kao i koncentracije preračunate po gramu pepela izražena kao µg/g.

Predstavljeni rezultati dobijeni su kao srednja vrednost ponovljenih ekstrakcija PAH-ova iz uzoraka pepela, kao i ponovljenih snimanja hromatograma za svaki od uzoraka u cilju provere ponovljivosti ekstrakcije, kao i ponovljivosti same hromatografske metode korišćene za razdvajanje PAH-ova.

Tab. 3. Koncentracije ispitivanih PAH-ova u uzorku pepela biomase

Tab. 3. Concentrations of investigated PAHs in biomass ash

n	c (µg/mL)	c (µg/g)	n	c (µg/mL)	c (µg/g)
1	0.009	0.211	9	0.109	2.500
2	0.238	5.470	10	0.197	4.530
3	0.041	0.949	11	0.060	1.369
4	0.147	3.373	12	0.031	0.709
5	0.965	22.163	13	0.028	0.645
6	0.074	1.700	14	0.060	1.384
7	1.624	37.315	15	0.023	0.517
8	1.186	27.258	16	0.009	0.216

4. ZAKLJUČAK

Već čitavu deceniju tehnologija cigaretnog sagorevanja bala sojine slame koristi se za grejanje plastenika u PKB-u. Pošto se sagorevanjem poljoprivredne biomase emituju PAH-ovi, a na česticama nastalog pepela koncentruju neophodno je pratiti njihovu koncentraciju. Da bi se to postiglo važno je da se razviju metode za njihovu ekstrakciju iz pepela, kao i njihovo razdvajanje, identifikaciju i kvantifikaciju za šta je u ovom radu korišćena metoda LC/DAD. Praćenje koncentracija emitovanih PAH-ova, kao i njihovog koncentrovanja na česticama pepela od velike je važnosti s obzirom na toksične efekte ovih jedinjenja. Među navedenim PAH-ovima najkancerogeniji su: benzo(a)antracen (9), benzo(a)piren (13) i dibenzo(ah)antracen (14), a njihove koncentracije nisu zanemarljive s obzirom na toksičnost. Zbog toga se nameće značaj monitoringa koncentracije PAH-ova sa aspekta zaštite životne sredine.

5. LITERATURA

- [1] Eriksson AC, Nordin EZ, Nyström R. et al. (2014). Particulate PAH Emissions from Residential Biomass Combustion: Time-Resolved Analysis with Aerosol Mass Spectrometry. *Environmental Science & Technology* 48: 7143-7150.
- [2] Liu K, Xie W, Zhao ZB, Pan WP, Riley JT. (2000). Investigation of polycyclic aromatic hydrocarbons in fly ash from fluidized bed combustion systems. *Environ. Sci. Technol.* 34 (11): 2273-2279.
- [3] Mastral AM and Callén MS. (2000). A review on polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) Emissions from energy generation. *Environ. Sci. Technol.* 34(15): 3051-3057.

- [4] Mastral A, Callén M, Murillo R, Garcia T, Viñas M. (1999). Influence on PAH emissions of the air flow in AFB coal combustion. *Fuel* 78(13): 1553-1557.
- [5] Repić BS, Dakić DV, Erić AM. et al. (2013). Investigation of the cigar burner combustion system for baled biomass. *Biomass and Bioenergy* 58: 10-19.
- [6] Samburova V, Connolly J, Gyawali M. et al. (2016) Polycyclic aromatic hydrocarbons in biomass-burning emissions and their contribution to light absorption and aerosol toxicity. *Science of The Total Environment*. 56(8): 391-401.
- [7] Stout SA, Emsbo-Mattingly SD. (2008). Concentration and character of PAHs and other hydrocarbons in coals of varying rank - Implications for environmental studies of soils and sediments containing particulate coal. *Org. Geochem.* 39(7): 801-819.
- [8] Verma SK, Masto RE, Gautam S. et al. (2015). Investigations on PAHs and trace elements in coal and its combustion residues from a power plant. *Fuel* 162: 138-147.

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSIS OF PAHS IN BIOMASS ASH BY LC/DAD

Marinković Ana, Buha-Marković Jovana, Savić Jasmina, Mladenović Milica,
Repić Branislav, Nemoda Stevan

SUMMARY

Since biomass is considered as the source of energy with the highest perspective (both because of limited resources of fossil fuels and in terms of reducing greenhouse gas emission) in the last few years, constantly working on developing of technology that would enable the use of agricultural biomass for energy production was done. Biomass represents main source of renewable energy in Serbia. For whole decade the technology of cigarette combustion has been applied for greenhouse heating in the Agricultural Corporation PKB. During combustion of biomass a great number of volatile and semi-volatile organic compounds are emitted. Among these compounds are polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). It is necessary to develop convenient methods for their extraction from ash, detection and quantification. For that cause methods for preparation and analysis of samples by LC/DAD were optimized and developed.

Keywords: Agricultural biomass, ash, cigarette combustion, PAHs, LC/DAD, qualitative and quantitative analysis

Napomena: Rad je realizovan u okviru projekata Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije „Razvoj i unapređenje tehnologija za energetski efikasno korišćenje više formi poljoprivredne i šumske biomase na ekološki prihvatljiv način, uz mogućnost kogeneracije“ (III42011) i „Unapređenje industrijskog postrojenja sa fluidizovanim slojem u okviru razvoja tehnologije za energetski efikasno i ekološki opravdano sagorevanje različitih otpadnih materija u fluidizovanom ložištu“ (TR33042).

Primljeno: 04. 03. 2018. god.

Prihvaćeno: 10. 03. 2018. god.