

POSTUPY IZOLACE POLYAROMATICKÝCH UHLOVODÍKŮ A POLYCHLOROVANÝCH BIFENYLŮ PŘI JEJICH STANOVENÍ

JANA MIKOŠKOVÁ^a, LUBOMÍR ČÁP^b a KAREL
LEMR^b

^aLaboratoř MORAVA, s. r. o., Butovická 828, 742 13 Studénka, ^bKatedra analytické chemie, Univerzita Palackého, Tř. Svobody 8, 771 46 Olomouc
lemr@prfnw.upol.cz, lab.morava@mail.miramo.cz

Došlo 3.10.02, přepracováno 18.8.03, přijato 5.9.03.

Klíčová slova: polyaromatické uhlovodíky, polychlorované bifenyly, izolace, prekoncentrace

Obsah

1. Úvod
2. Odběr vzorků
3. Izolace analytů
 - 3.1. Kapalně vzorky
 - 3.2. Tuhé vzorky
4. Přečištění
5. Analytická koncovka
6. Závěr

1. Úvod

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU) patří spolu s polychlorovanými bifenyly (PCB) mezi persistentní kontaminanty životního prostředí, tj. kontaminanty s vysokou stabilitou proti chemickým, fyzikálním a biologickým účinkům okolí, schopné dlouhodobě „přežívat“, cirkulovat a kumulovat se v ekosystému.

PAU jsou sloučeniny se dvěma nebo více kondenzovanými benzenovými kruhy. Mají rozmanité rizikové vlastnosti. Mnohé z nich jsou potenciálními karcinogeny a mutageny a mnohé mají toxické vlastnosti. PAU vykazují silnou absorpci v UV oblasti a mají také charakteristická fluorescenční spektra¹. Díky nepolárnímu charakteru a relativně vysoké molekulové hmotnosti je rozpustnost PAU ve vodě velice nízká². PAU mají proto tendenci se sorbovat na pevných částicích a kontaktních plochách³. Do prostředí se mohou dostávat jak z přírodních (požáry, vulkanická činnost, rozklad biologického materiálu, biosyntéza mikroorganismy a rostlinami⁴), tak antropogenních zdrojů^{1,6} (spalovací děje, zejména nedokonalé spalování organického materiálu^{1,5}). Bylo identifikováno více než 100 těchto látek, převážně se však analyzují tzv. prioritní polutanty dle americké EPA (Environmental Protection Agency), z jejichž koncentrací se odhaduje míra a charakter kontaminace – jde o naftalen, acenaften

(1,2-dihydroacenaften), acenaften, fluoren, fenanthren, anthracen, fluoranthren, pyren, benzo[*a*]anthracen, chrysen, benzo[*b*]fluoranthren, benzo[*k*]fluoranthren, benzo[*a*]pyren, dibenzo[*ah*]anthracen, benzo[*ghi*]perylene a indeno[1,2,3-*cd*]pyren⁷.

Polychlorované bifenyly (PCB), někdy též nesprávně nazývané polychlorované difenyly (PCD)⁸, jsou skupinou chemických látek, jejichž základem je bifenyl substituovaný 1–10 atomy chloru⁷. Existuje celkem 209 kongenerů PCB (kongener je člen určité skupiny chemických látek, v tomto případě skupiny polychlorovaných bifenyly)^{9,10}. Pouze 20 kongenerů má koplanární konformaci (postrádají kompletní substituci v ortho polohách). Nejvyšší toxicitu vykazují tři z nich (PCB 77, PCB 126 a PCB 169, cit.¹⁰). PCB patří mezi xenobiotika, tj. látky, které do přírody vnesl svou činností člověk a které se v ní předtím nevyskytovaly¹¹. Nejznámější komerční směsi jsou Aroclor (USA), Clophen (Německo), Kanechlor (Japonsko) a u nás Delor. PCB byly dlouhodobě používány jako dielektrikum, v hydraulických tekutinách, nátěrových hmotách a v papírenském průmyslu. Jde o látky hydrofobní, persistentní a snadno rozpustné v organických rozpouštědlech, tucích a olejích⁹. Jejich spalováním při teplotách nižších než 1 200 °C vznikají mnohem toxičtější polychlorované dibenzodioxiny a dibenzofurany⁸.

Analytický proces stanovení PAU resp. PCB ve vzorcích životního prostředí je tvořen několika stupni – odběr vzorku, izolace analytů, přečištění a vlastní stanovení analytů (analytická koncovka).

2. Odběr vzorků

Vzorky pro stanovení PAU jsou odebírány do předem propláchnutých (organickým rozpouštědlem, např. acetonitrilem¹², acetonem a hexanem¹³) hnědě zbarvených skleněných vzorkovnic se skleněným nebo teflonovým uzávěrem. Uchovávají se v temnu při teplotě 4 °C (cit.¹²). Samara se spoluautory¹³ uvedl jako maximální skladovací dobu 2–3 dny pro odpadní vody a 7–8 dní pro tuhé odpady a kaly. Lopéz García a spol.⁵ uchovávali tuhé a kapalně vzorky maximálně 7 dní. Harrak a spol.¹⁴ doporučili po odběru vzorku vody přidat do odběrové nádoby vhodné organické rozpouštědlo kvůli zamezení sorpce PAU na stěnách vzorkovnice. Experimentálně zjistil, že nejvhodnější je propan-2-ol (15 obj.%), ale lze použít též methanol¹⁵ (20 obj.%) nebo acetonitril. García Pinto a spol.¹⁵ použili ke stejnému účelu neionogenní tenzid Triton X-114 (5 obj.%).

Také při stanovení PCB je doporučeno používat skleněné vzorkovnice umyté horkým roztokem detergentu, opláchnuté pod tekoucí vodou, poté vodou destilovanou a nakonec acetonem a destilovaným hexanem⁸. Vodné vzorky se doporučuje¹⁶ před extrakcí skladovat ve tmě při teplotě asi 4 °C. Extrahovány by tyto vzorky měly být co nejdříve po odběru (nejlépe do 24 hodin).

3. Izolace analytů

3.1. Kapalné vzorky

Samara a spol.¹³ při stanovení 16 prioritních PAU ve vodných vzorcích metodou HPLC s fluorescenční detekcí izolovali analyty extrakcí kapalina – kapalina (LLE – liquid-liquid extraction). 1000 ml odpadní vody s přísadkou vnitřního standardu (3,6-dimethylfenanthren) bylo extrahováno dvakrát 25 ml cyklohexanu. Spojené extrakty byly sušeny bezvodým síranem sodným. Po sušení byl extrakt zakonzentrován na rotační odparce (výsledný objem asi 0,5 ml). Následovalo přečištění na koloně s náplní silikagelu a analýza vzorku metodou HPLC.

Lopéz García a spol.⁵ se zabývali sledováním PAU ve filtrátech z promývání uhlí. Rovněž použili k izolaci LLE. 100 ml filtrátu bylo extrahováno třikrát vždy 20 ml dichlormethanu. Spojené dichlormethanové extrakty byly sušeny bezvodým síranem sodným. Extrakt byl poté odpařen téměř do sucha ve vakuové rotační odparce. Zbytek byl rozpuštěn v 1 ml acetonitrilu a 20 μ l tohoto vzorku bylo dávkováno na HPLC kolonu.

Při analýzách PAU, PCB a jiných látek zejména nepolárního charakteru v relativně čistých vodách se uplatňují mikroextrakce (nejčastěji hexanem)⁷. Při této metodě dochází oproti klasické extrakci kapalina – kapalina k výraznému snížení spotřeby organického rozpouštědla (jednotky mililitrů)⁹, zkrácení doby potřebné ke zpracování vzorku a minimalizuje se či odpadá potřeba následného čištění a zakonzentrování extraktu.

Geissler a spol.¹⁸ využili k izolaci PCB a organochlorových pesticidů LLE dle metody DIN. 1 l vzorku vody s přísadkou 10 ml *n*-pentanu byl intenzivně míchán na magnetické míchačce po dobu 10 minut. Pomocí mikroseparatoru byla oddělena organická fáze a po přísadce 1 ml isooktanu (2,2,4-trimethylpentan) byl její objem zredukován na 0,5 ml.

V téže práci¹⁸ autoři využili k izolaci PCB a organochlorových pesticidů také modifikaci metody LLE. Vzorek vody (1 l) s přísadkou extrakčního rozpouštědla (*n*-pentan) byl umístěn v rotačním perforátoru a extrahován po dobu 1 hodiny (extrakční činidlo je dispergováno do vodné fáze ve formě nepatrných kapiček, které jí prostupují). Po ukončení extrakce bylo rozpouštědlo s analyty převedeno do baňky a byly přidány 2 ml isooktanu (modifikátor). Objem roztoku byl zredukován v rotační vakuové odparce. Výhodou této metody je dosažení vysokých výtěžností. Praktický problém se však vyskytuje u analýz minerálních vod. Rozpuštěný CO₂ se sráží jako CaCO₃, který může blokovat aparaturu.

Metoda LLE se využívá i při stanovení PCB a PAU podle českých norem^{16,19}. Doporučená extrakční rozpouštědla jsou pro stanovení PCB hexan, petrolether, nebo heptan a pro stanovení PAU *n*-hexan, nebo cyklohexan.

Dále Geissler a spol.¹⁸ použili destilace vzorku vody, kdy kondenzát par proudil do extrakčního zařízení, kde prostupoval vrstvou chlazeného organického rozpouštědla (15 ml hexanu). Poté se kontinuálně vracel do destilační baňky. Tato metoda je vhodná zejména při analýzách velice

znečištěných vod nebo sedimentů, neboť v sobě zahrnuje i čisticí stupeň (lipidy, vosky a jiné příbuzné složky nedehtilují spolu s analyty). Extrakce trvala 2 hodiny. Extrakt s přísadkou 1 ml isooktanu byl zakonzentrován na objem 0,5 ml.

García Pinto a spol.⁵ využili CPP (cloud point preconcentration – prekoncentrace s využitím bodu zákalu neionogenního tenzidu) pro izolaci PAU z vodných vzorků. Metoda je založena na skutečnosti, že vodný roztok povrchově aktivní látky (PAL) se po zahřátí nad teplotu bodu zákalu rozdělí na dvě fáze (fázi s vysokou koncentrací tenzidu obsahující analyty a vodnou fázi s nízkým obsahem tenzidu). Získaný prekoncentrační faktor je srovnatelný s faktory jiných extrakčních technik. Výhodami CPP jsou jednoduchá aparatura a použití méně toxických činidel^{6,15}. Autoři ke vzorku vody (10–50 ml) přidávali Triton X-114 (0,5 obj. %). Roztok byl zahříván v termostátované lázni při teplotě 40 °C po dobu 5 minut. Rozdělení obou fází bylo dosaženo odstředěním. 10 μ l fáze bohaté na PAL bylo dávkováno do chromatografického systému.

Ferrer se spolupracovníky⁶ provedl CPP (pro izolaci PAU) zahřátím 25 ml vzorku vody, který obsahoval 1 obj. % Tritonu X-114 na teplotu 40 °C. Při této teplotě zahřívával vzorek celkem 10 minut. Vodná fáze nad fází bohatou na PAL byla odsáta Pasteurovou pipetou. K úplné eliminaci zbylého množství vodné fáze bylo použito odpaření za sníženého tlaku. Fáze bohatá na PAL obsahující PAU byla rozpuštěna v 5 ml cyklohexanu. Následovalo přečištění na koloně se silikagelem a bezvodým síranem sodným a analýza HPLC.

Alternativou k extrakci kapalinou je extrakce tuhými fázemi (SPE – solid phase extraction)^{7,17,20}. Velice oblíbené je použití sorbentu v koloně. Přes řadu předností má tato technika i určitá úskalí. Vzorky s obsahem tuhých částic ucpávají póry náplně nebo mohou vzniknout kanálky, kterými přednostně protéká rozpouštědlo sorbentem.

Kayali-Sayadi a spol.¹² izolovali PAU z vodných vzorků na koloně SPE Sep-Pak vac tC-18. Kolona byla nejprve kondicionována methanolem (dvakrát 6 ml) a poté vodou (dvakrát 6 ml). Na kolonu bylo nanášeno 1500 ml filtrovaného vzorku. Průtoková rychlost byla 50 ml.min⁻¹. Kolona byla dále sušena za vakua (5 min) a potom centrifugována (1200 ot.min⁻¹). Adsorbované složky byly eluovány nejprve 3 ml, potom 1 ml diethyletheru průtokovou rychlostí 1,5 ml.min⁻¹. Extrakt byl odpařen a zbytek byl rozpuštěn v 1 ml methanolu. Zfiltrovaný roztok byl poté dávkován do systému HPLC.

Nirmaier a spol.²¹ k izolaci PAU použili SPE systém tvořený jednotkou Baker SPE-10 a autory připravenou skleněnou kolonou plněnou 1 g sorbentu C18 (sorbent na bázi silikagelu modifikovaný oktadecylovými skupinami). Kolona byla kondicionována 5 ml methanolu, poté 5 ml dichlormethanu, 5 ml propan-2-olu a 5 ml směsi voda : propan-2-ol (20:3). K 500 ml vzorku vody bylo přidáno 75 ml propan-2-olu. Zfiltrovaný vzorek byl nanášeno na kolonu (průtok 2,5 ml.min⁻¹). Poté byla kolona dvakrát promyta 10 ml směsi voda : propan-2-ol (20:3) a vysušena za vakua (30 min). Extrahované složky byly eluovány 1 ml a potom

dvakrát 500 μ l dichlormethanu. Následovalo vysušení proudem dusíku a rozpuštění zbytku v 350 μ l směsi methanol : voda (85:15). Tento vzorek byl pak analyzován HPLC.

Moret a spol.⁴ použili k izolaci PAU z vodných vzorků a ze vzorků alkoholických nápojů SPE kolony Supelco ENVI-18. Kondicionace byla provedena dvakrát 6 ml směsi toluen : methanol (10:1), 6 ml methanolu a 6 ml vody. Následovalo nanesení vzorku na kolonu, sušení za vakua (15 min) a trojnásobná eluce 1 ml směsi dichlormethan : acetonitril (10:1). Eluát byl zakoncentrován (proudem dusíku) a poté znovu rozpuštěn ve 120 μ l acetonitrilu. On-line SPE prekoncentraci využil při stanovení PAU Hatřík se spoluautory².

Bernal a spol.²² použili techniku SPE při stanovení pesticidů a PCB ve vodných vzorcích. SPE kolonka C18 byla promyta methanolem a následně vodou. Na upravenou kolonku byl nanesen 1 l vzorku. Průtoková rychlost byla 10 ml.min⁻¹. K eluci zachycených analytů byl použit *n*-hexan. Výsledný roztok byl zakoncentrován v rotační odparce na 1 ml. Následovalo čištění na kolonce florisilu, zakoncentrování a dávkování do systému GC.

Geissler a spol.¹⁸ izolovali technikou SPE organochlorové pesticidy a PCB. Kolonky C18 (500 mg) byly kondicionovány 5 ml hexanu, methanolu a nakonec vodou. Vzorky obsahující 1 % methanolu byly aplikovány na kolonku průtokovou rychlostí 7–17 ml.min⁻¹. Dále byly kolonky vysušeny proudem dusíku a eluovány třikrát 1 ml hexanu. K eluátu byl přidán 1 ml isooktanu (2,2,4-trimethylpentan) a vzorek byl odpařen na 0,5 ml.

V posledních letech roste počet aplikací extrakčních disků, které mají oproti kolonkám některé výhodné vlastnosti (nižší hydraulický odpor umožňuje při srovnatelném tlaku docílit vyšších průtoků, větší průměr disků zmenšuje problém jejich ucpávání při extrakci). Disky mají podobu filtračních membrán s velkou plochou a obsahují např. 10 % matrice z poly(tetrafluorethen)ových vláken (PTFE) a 90 % tvoří polymery nebo částice silikagelu s chemicky vázanými alkylovými skupinami.

El Harrak a spol.¹⁴ izolovali PAU z vodných vzorků pomocí extrakčních disků (průměr 47 mm, tloušťka 0,5 mm, 500 mg C18 nebo SDB (kopolymer styren-divinylbenzen)). Disky C18 byly kondicionovány 20 ml směsi dichlormethan : ethyl-acetát : acetonitril (50:30:20). Rozpouštědlo bylo odsáto. Poté bylo přefiltrováno 20 ml směsi aceton : voda (80:20) a nakonec 10 ml vody. SDB disky byly kondicionovány 20 ml acetonu, 20 ml acetonitrilu a 20 ml dichlormethanu. Nakonec bylo přefiltrováno 20 ml vody. Na upravený disk byl nanesen vzorek s přísadkou organického rozpouštědla nebo PAL. PAU zachycené na disku byly eluovány dvakrát 15 ml směsi dichlormethan : ethyl-acetát : acetonitril (50:30:20). Po vysušení extraktu bezvodým síranem sodným byl extrakt zakoncentrován na vakuové rotační odparce (objem asi 0,5 ml). Objem byl nakonec upraven acetonitrilem na 1 ml. Následovala analýza metodou HPLC.

K analýze PAU a PCB byla rovněž použita mikroextrakce tuhými fázemi (SPME – solid phase microextraction, cit.^{7,17,23}). Analyty ze vzorků jsou sorbovány přímo na vlákně, které je vyrobeno z křemene potaženého vrstvou

chemicky vázané stacionární fáze (poly(dimethylsiloxan), polyakrylát, poly(divinylbenzen) s Carbowaxem nebo Carboxenem). Nedochozí přitom k úplné extrakci, ale k ustálení rozdělovací rovnováhy analytu mezi maticí vzorku a stacionární fází vlákna. Někdy se při této technice využívá tzv. „head space“ systému, kdy jsou po ustavení rovnováhy mezi kapalnou fází (vzorkem) a plynnou fází nad vzorkem analyty sorbovány z plynné fáze. Desorpce z vlákna je prováděna tepelně s on-line dávkováním na kolonu plynového chromatografu nebo rozpouštědlem, jestliže je analytickou koncovkou HPLC. Mezi výhody této techniky patří rychlost, citlivost, eliminace použití rozpouštědel a možnost využití pro screening.

Hageman se spoluautory²⁴ použil SPME při stanovení PAU v tuhých vzorcích po převedení na vodný vzorek. PAU byly nejprve z tuhého vzorku extrahovány vodou za podkritických podmínek (viz dále). Následně byly PAU extrahovány z vodné fáze metodou SPME. Sorpční vlákno bylo na 15 minut umístěno do vodného roztoku, který byl po celou dobu extrakce míchán magnetickým míchadlem. Po extrakci bylo vlákno vsunuto do GC injektoru a při teplotě 300 °C byly analyty z vlákna desorbovány.

Byl použit také vzorkovač na principu membránové extrakce (SPMD – semipermeable polymeric membrane device, cit.²⁵). Ten je tvořen polopropustnou membránou, která je ve vnitřní části pokryta tenkou vrstvou lipidu (triolein). Analyty ze vzorku difundují přes polopropustnou membránu a zachytávají se ve vrstvě trioleinu. Bennett a spol.²⁶ detailně ve svém článku popsali přípravu membrán, které pak rozmístili do několika vodních toků na 4 týdny. Exponované membrány po omytí vodou a mechanické úpravě byly extrahovány 400 ml hexanu. Po extrakci bylo rozpouštědlo s analyty nanášeno na kolonku s bezvodým síranem sodným. Eluát byl zakoncentrován na objem přibližně 1 ml. Koextrahované trioleinové složky byly odstraněny gelovou chromatografií. Získaný eluát obsahující PAU a PCB byl odpařen na vakuové rotační odparce na objem asi 2 ml. Vzniklý vzorek byl frakcionován na silikagelové kolonce (eluce 40 ml hexanu – frakce A, obsahující PCB, – potom eluce 70 ml směsi hexan : dichlormethan (1:1) – frakce B, obsahující PAU). Následovalo zakoncentrování a aplikace GC/ECD nebo GC/MS.

Exponované membrány jsou přepravovány za snížené teploty a do dalšího zpracování se uchovávají v mrazničce. Výhodou je, že skladovací doba může být až několik měsíců.

3.2. Tuhé vzorky

Bergen a spol.¹⁰ extrahovali 2–5 g zhomogenizovaného vzorku slávyk obecné (mořský mlž) 25 ml acetonu. Po centrifugaci byla oddělena kapalná fáze. Proces se opakoval ještě dvakrát. Spojené extrakty v dělicí nálevce byly zředěny deionizovanou vodou (300 ml) extrahovanou pentanem. Tento roztok byl extrahován třikrát vždy 50 ml pentanu (LLE). Spojené pentanové extrakty byly vysušeny bezvodým Na₂SO₄. Objem rozpouštědla byl zredukován a zby-

tek byl rozpuštěn v hexanu (10 ml). 1 ml byl použit ke gravimetrickému stanovení lipidů a 9 ml bylo použito ke stanovení PCB. Po přečištění koncentrovanou H_2SO_4 , redukci objemu rozpouštědla a rozpuštění zbytku v 1 ml heptanu byl výsledný vzorek dávkován do plynového chromatografu.

López García se spoluautory⁵ extrahoval tuhou fází po promývání uhlí nebo sedimenty dvakrát 20 ml 40% hexanu v acetonu vždy po dobu 7 minut v ultrazvukové lázni. Po filtraci suspenze bylo rozpouštědlo odpařeno téměř do sucha v rotační odparce a zbytek byl znovu rozpuštěn v 5 ml hexanu. Následovalo čištění extraktu adsorpční chromatografií na kolonce se silikagelem a aluminou. Eluát byl odpařen téměř do sucha a zbytek byl rozpuštěn v 1 ml acetonitrilu nebo tetrahydrofuranu. 20 μ l vzniklého roztoku bylo dávkováno do kapalinového chromatografu.

Hubert a spol.²⁷ použili techniku zrychlené extrakce rozpouštědlem (ASE – accelerated solvent extraction), při níž extrakce v systému tuhá látka – kapalina probíhá za zvýšené teploty (50–200 °C) a tlaku (10–15 MPa) po krátkou dobu. K izolaci PAU a persistentních organických polutantů (chlorované pesticidy, PCB a chlorbenzeny) autoři použili pro vzorky rostlin extrakční teploty 40 °C a 120 °C a pro půdní vzorky teploty 80 °C a 120 °C.

Hageman se spoluautory²⁴ použil místo organického rozpouštědla vodu za podkritických podmínek. Tento přístup využívá skutečnosti, že při vyšších teplotách se výrazně snižuje polarita kapalně vody. Pro účinnou extrakci PAU a PCB je doporučována teplota 250 °C. Autoři uskutečnili extrakci v nerezové trubici s uzávěrem, kterou po naplnění vzorkem a vodou umístili do předehřáté pece plynového chromatografu. Po extrakci byly analyty zakoncentrovány technikou SPME a následně analyzovány metodou GC/MS.

García Pinto a spol.¹⁵ extrahovali 0,1–2 g popelu ze dřeva vodným roztokem Tritonu X-114. Po filtraci suspenze následovala CPP při teplotě 40 °C.

Bernal se spolupracovníky²² použil k izolaci pesticidů a PCB z tuhých vzorků Soxhletovu extrakci. 1 g vzorku, který byl nejprve smísen s bezvodým síranem sodným, byl extrahován v Soxhletově extraktoru po dobu 3,5 hodiny směsí rozpouštědel *n*-hexan : dichlormethan (1:1) (při analýze vzorků bez obsahu tuku) nebo samotným *n*-hexanem (u analyzovaných vzorků s obsahem tuku). Extrakt byl poté zakoncentrován v rotační odparce na objem 1 ml. Následovalo čištění na kolonce s florisilem, eluce, zakoncentrování a dávkování do plynového chromatografu.

Wells a Echarri²⁸ extrahovali v Soxhletově aparatuře vzorky rybích tukových tkání (20 g), které byly nejprve rozetřeny s bezvodým síranem sodným. Extrakce trvala 4 hodiny a použitým rozpouštědlem byl dichlormethan (100 ml). Extrakt byl rozdělen na dvě části. První byla použita ke stanovení množství extrahovatelných lipidů. Druhá byla použita ke stanovení PCB. Byla zakoncentrována v odparce a po přidavku hexanu odpařena téměř do sucha proudem suchého vzduchu. Lipidy byly hydrolyzovány 20% KOH v ethanolu (300 ml) po dobu 1 hodiny při 60 °C. Reakční směs byla ochlazena a zředěna destilovanou vodou (200 ml) a poté byla extrahována (LLE) dvakrát 50 ml hexanu. Hexa-

nový extrakt byl odpařen asi na 1 ml proudem vzduchu a následně čištěn na kolonkách s Al_2O_3 a poté se silikagelem. Alternativním nebo přídavným stupněm čištění bylo použití kolonky plněné silikagelem impregnovaným H_2SO_4 . Frakce získané kapalinovou chromatografií byly postupně analyzovány pomocí GC.

Eggens a spol.²⁹ extrahovali (při stanovení PCB) v Soxhletově extraktoru vzorky rybích jater a svalové hmoty směsí hexan : aceton (3:1). Čištění bylo provedeno na koloně plněné SiO_2 (2 g) a deaktivovaným Al_2O_3 (8 g). Po eluci 25 ml hexanu a přidavku 1 ml isooktanu byl extrakt zakoncentrován proudem dusíku na 1 ml. K tomuto vzorku bylo přidáno 50 ng PCB 143 (vnitřní standard). Výsledný extrakt byl analyzován GC/ECD.

Lopez-Avila a spol.³⁰ využili k extrakci organických polutantů z kontaminovaných půd mikrovlnné energie (aplikace mikrovln umožňuje šetrnější provedení extrakce ve srovnání s použitím horkých extrakčních rozpouštědel¹⁷). 5 g vzorku bylo kvantitativně převedeno do teflonové extrakční nádoby, poté bylo ke vzorku přidáno 30 ml směsi hexan : aceton (1:1). Extrakce byla provedena při 115 °C po dobu 10 minut při výkonu 1000 W. Po extrakci byla nádoba ochlazena na laboratorní teplotu (asi 10–15 minut). Kapalína nad sedlinou byla přefiltrována přes skelnou vatu předem promytou směsí hexan : aceton a byla spojena s 2–3 ml směsi hexan : aceton po oplachu sedliny. Extrakt byl proudem dusíku zakoncentrován na 5 ml. Následovalo oddělení jemných částic centrifugací (2300 ot.min⁻¹). Extrakt byl nakonec zakoncentrován na 1 ml a analyzován pomocí GC/ECD nebo metodou ELISA.

David se spoluautory³¹ využil k izolaci PCB z pevných vzorků superkritické fluidní extrakce (SFE – supercritical fluid extraction). Autoři při optimalizaci SFE kladli důraz na selektivitu izolace. Nejprve pomocí modelových vzorků s přidavkem analytů optimalizovali podmínky, které pak aplikovali na vzorky reálné. Zjistili však, že výtěžnosti ve vzorcích s přidavkem analytů, kde se uplatňuje pouze faktor rozpustnosti analytů v extrakčním médiu, byly několikrát vyšší než u vzorků reálných, kde se navíc uplatňuje fixační efekt analytů na matici. K překonání tohoto efektu bylo třeba zvolit optimální průtokovou rychlost extrakčního média. Výsledné podmínky SFE byly tyto: extrakční médium CO_2 , průtoková rychlost 1 ml.min⁻¹, hustota 0,75 g.ml⁻¹, teplota extrakce 60 °C, tlak 20 MPa. Extrakty nebylo třeba dále přečišťovat.

SFE lze použít též ke specifické izolaci PAU z tuhých vzorků. PAU jsou však v superkritickém CO_2 málo rozpustné, proto je třeba jejich rozpustnost zvýšit přidavkem modifikátoru ($CHClF_2$, cit.³¹).

Ling se spolupracovníky³² použil SPE k izolaci PCB ze vzorků rybích tkání. 2 g sorbentu C18 spolu s přibližně 0,5 g rybích plátků bylo rozetřeno ve třecí misce. Získaná polosuchá a homogenní směs byla vnesena do předem zvážené skleněné kolony s fritou, která obsahovala 1 g silikagele (modifikovaného kyselinou sírovou). Eluce byla provedena 10 ml hexanu (volným průtokem). Hexanový eluát byl zakoncentrován proudem dusíku na konečný objem 1 ml. Následovala analýza GC-ECD příp. GC-MS.

4. Přechištění

Úprava vzorku nekončí izolací analytů z matrice. Zpravidla je nutné extrakty přechistit a odstranit tak koextrahované složky, které analýzu ruší. Nejčastěji se využívá čištění na vhodném sorbentu^{5,6,13,16,19,22,25,29} nebo gelu²⁶, méně pak reextrakce do jiného rozpouštědla¹⁰ (příp. do směsi rozpouštědel).

S úspěchem lze při analýzách PAU a PCB, kdy je třeba odstranit z extraktu tuky nebo oleje, využít semipermeabilní membrány propouštějící menší molekuly analytů, ale zdrazující větší molekuly (triglyceridy, fosfolipidy, atd.)⁷.

5. Analytická koncovka

Analytickou koncovkou pro stanovení PAU je zejména vysokoučinná kapalinová chromatografie (HPLC) s fluorescenční detekcí^{3-6,12-15,19,33}, méně pak s UV detekcí^{2,4,14,34} a ojedinele s ampérometrickou detekcí²¹, a dále plynová chromatografie s hmotnostním detektorem (GG-MS, cit.^{19,24,26}). Analytickou koncovkou při stanovení PCB jsou plynová chromatografie s detektorem elektronového záchytu (GC-ECD, cit.^{10,18,26,28,32}), GC se dvěma kapilárními kolonami a dvěma detektory ECD (cit.^{7,16,29,30,35,36}) a GC-MS^{10,32}, ojedinele pak ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay, tj. enzymová imunologická analýza, cit.³⁰).

6. Závěr

PAU a PCB jsou významnými kontaminanty životního prostředí. Sledování jejich obsahu je důležitým úkolem kontrolních laboratoří. V různých složkách životního prostředí se vyskytují zpravidla ve stopových koncentracích (ng.l^{-1} , $\mu\text{g.l}^{-1}$, ng.kg^{-1} , $\mu\text{g.kg}^{-1}$). Vzhledem k tomu je nezbytné věnovat při jejich stanovení značnou pozornost odběru a zpracování vzorku před vlastní analytickou koncovkou. Významnou součástí postupu stanovení je izolace vzorku, ke které lze využít řadu metod zmíněných výše, přičemž při volbě vhodného řešení hraje významnou roli matrice, ve které mají být analyty stanoveny. V České republice jsou k dispozici platné normy pouze pro stanovení PAU resp. PCB ve vzorcích vod.

Řada publikovaných postupů nabízí zajímavé řešení analytického problému, např. zefektivnění analýzy pro různé typy matric. Před jejich zavedením do praxe je však nezbytná jejich pečlivá validace.

LITERATURA

- Čížek Z. (ed.): *Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU)*. ČKD TIS., Praha 1995.
- Hatřík Š., Lehotay J.: *Chem. Pap.* 48, 334 (1994).
- Lintelmann J., Waadt K., Sauerbrey R., Kettrup A.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 352, 735 (1995).
- Moret S., Amici S., Bortolomeazzi R., Lercker G.: *Z. Lebensm.-Unters. Forsch.* 201, 322 (1995).
- López García A., Blanco González E., García Alonso J. I., Sanz-Medel A.: *Chromatographia* 33, 225 (1992).
- Ferrer R., Beltrán J. L., Guiteras J.: *Anal. Chim. Acta* 330, 199 (1996).
- Helán V. (ed.): *Analýza organických látek*. T-PRINT, Třinec 1999.
- Čížek Z. (ed.): *Polychlorované bifenyly*. ČKD TIS., Praha 1992.
- Font G., Mañes J., Moltó J. C., Picó Y.: *J. Chromatogr., A* 733, 449 (1996).
- Bergen B. J., Nelson W. G., Pruell R. J.: *Environ. Toxicol. Chem.* 15, 1517 (1996).
- Totevová S., Prouza M., Brenner V., Demnerová K.: *Chem. Listy* 91, 858 (1997).
- Kayali-Sayadi M. N., Rubio-Barroso S., Beceiro-Roldan C., Polo-Diez L. M.: *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* 19, 3135 (1996).
- Samara C., Lintelmann J., Kettrup A.: *Toxicol. Environ. Chem.* 48, 89 (1995).
- El Harrak R., Calull M., Marcé R. M., Borrull F.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 64, 47 (1996).
- García Pinto C., Pérez Pavón J. L., Moreno Cordero B.: *Anal. Chem.* 66, 874 (1994).
- ČSN EN ISO 6468: *Jakost vod (Stanovení některých organochlorových insekticidů, polychlorovaných bifenyly a chlorbenzenů – Metoda plynové chromatografie po extrakci kapalina – kapalina*, (červenec 1998).
- Straková M., Matisová E.: *Chem. Listy* 91, 330 (1997).
- Geissler A., Schöler H. F.: *Chemosphere* 23, 1029 (1991).
- ČSN 75 7554: *Jakost vod – Stanovení vybraných polycyklických aromatických uhlovodíků (PAU) – Metoda HPLC s fluorescenčním a metoda GC s hmotnostním detektorem*, (srpen 1998).
- Tříška J.: *Chem. Listy* 89, 223 (1995).
- Nirmaier H.-P., Fischer E., Meyer A., Henze G.: *J. Chromatogr., A* 730, 169 (1996).
- Bernal J. L., Del Nozal M. J., Atienza J., Jiménez J. J.: *Chromatographia* 33, 67 (1992).
- Sedláková J., Matisová E., Slezáčková M.: *Chem. Listy* 92, 633 (1998).
- Hageman K. J., Mazeas L., Grabanski C. B., Miller D. J., Hawthorne S. B.: *Anal. Chem.* 68, 3892 (1996).
- Helán V. (ed.): *Analýza organických látek v životním prostředí*. T-PRINT, Třinec 1998.
- Bennett E. R., Metcalfe T. L., Metcalfe C. D.: *Chemosphere* 33, 363 (1996).
- Hubert A., Wenzel K. D., Engelwald E., Schurmann G.: *Rev. Anal. Chem.* 20, 101 (2001).
- Wells D. E., Echarrri I.: *Int. J. Environ. Anal. Chem.* 47, 75 (1992).
- Eggens M. L., Opperhuizen A., Boon J. P.: *Chemosphere* 33, 1579 (1996).
- Lopez-Avila V., Benedicto J., Charan Ch., Young R.: *Environ. Sci. Technol.* 29, 2709 (1995).
- David F., Verschuere M., Sandra P.: *Fresenius' J. Anal. Chem.* 344, 479 (1992).
- Ling Y.-C., Chang M.-Y., Huang I.-P.: *J. Chromatogr., A* 669, 119 (1994).

33. Marriott P. J., Carpenter P.D., Brady P.H., Mc Cormick M. J., Griffiths A. J., Hatvani T. S. G., Rasdell S. G.: *J. Liq. Chromatogr.* 16, 3229 (1993).
34. Cutright T. J., Lee S.: *Fresenius Environ. Bull.* 3, 42 (1994).
35. Benická E., Novakovsky R., Hrouzek J., Krupčík J., Sandra P.: *J. High Resolut. Chromatogr.* 19, 95 (1996).
36. Atuma S. S., Linder C.-E., Andersson Ö., Bergh A., Hansson L., Wicklund-Glynn A.: *Chemosphere* 33, 1459 (1996).

J. Mikošková^a, L. Čáp^b and K. Lemr^b (^aLaboratory Morava, ^bDepartment of Analytical Chemistry, Palacký University, Olomouc): **Isolation Procedures for Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Polychlorinated Biphenyls**

Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and polychlorinated biphenyls (PCB) as important contaminants of environment is a task of many control laboratories. Suitable methods of sample treatment and isolation of analytes must be used due to low contents of the compounds in complex matrices. Individual steps of PCB and PAH analyses are mentioned, the main emphasis being put on the published methods of isolation. Treatment of liquid as well as solid samples using, e.g., liquid-liquid extraction, cloud point preconcentration, solid phase extraction including microextraction and extraction disks, application of membranes, accelerated solvent extraction, Soxhlet extraction, supercritical fluid extraction and microwave application is presented. Many of the mentioned processes offer interesting alternatives for isolation, but careful validation is necessary before they are used in laboratory practice.