

PCDD/ PCDF

Patří mezi organické chlorované látky, jsou zařazeny mezi POPs a do skupiny VOCs. Jejich skupinový název je polychlorované dibenzodioxiny (PCDD) a polychlorované dibenzofurany (PCDF). Jejich hlavním zástupcem je 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-[b,e]-1,4-dioxin $C_{12}H_4C_{14}O_2$, zkráceně 2,3,7,8-TCDD, který patří mezi nejtoxičtější chemické látky a je zařazen mezi karcinogeny skupiny 1 (IARC), zároveň má teratogenní účinky. Je považován za nejtoxičtější člověkem připravenou látku. Bezbarvé až bílé krystalické látky, které na rozdíl od organochlorových pesticidů nebyly nikdy záměrně vyráběny, vznikají jako vedlejší produkty. Fyzikální a chemické vlastnosti (2,3,7,8-TCDD): bod tání 305 – 306 °C, log K_{OW} je 6,8. Rozpustnost ve vodě je minimální. PCDD tvoří 75 různých izomerů, PCDF tvoří 135 izomerů. Vznikají při nekontrolovaném hoření různých materiálů obsahujících chlor. Jejich přirozeným zdrojem jsou sopky a lesní požáry. Antropogenními zdroji je spalování odpadů ze zemědělství, z průmyslových spalovacích procesů, metalurgický průmysl, papírenský průmysl, spalování paliv v motorových vozidlech. Významným zdrojem byly spalovny odpadů, ale v současnosti moderní technologie tento zdroj eliminují.

V půdách jsou PCDD a PCDF imobilní a adsorbují se na půdní částice, v půdách se kumulují. Jejich degradace je velmi pomalá a jsou bioakumulativní. Koncentrace PCDD a PCDF se vyjadřují jako toxický ekvivalent TEQ, který vyjadřuje hodnotu koncentrace jednotlivých látek přepočtených na ekvivalentní množství 2,3,7,8-TCDD <http://toxnet.nlm.nih.gov/>.

Standardizované metody stanovení

Obecný princip stanovení PCDD/PCDF v půdách vyžaduje specifické postupy. PCDDs a PCDFs jsou extrahovány ze vzorku vhodnou extrakční metodou toluenem, extrakty jsou dále přečištěny specifickými postupy klasickými čisticími metodami. Připravené extrakty musí být analyzovány metodou plynové chromatografie s vysokým rozlišením s hmotnostním detektorem (HRGC/LRMS, HRGC/HRMS).

U.S. EPA Method 8280A The analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and polychlorinated dibenzofurans by high resolution gas chromatography/low resolution mass spectrometry (HRGC/LRMS)

Metoda se používá ke kvalitativnímu i kvantitativnímu stanovení 2,3,7,8-tetrachlordibenzo-p-dioxinu (2,3,7,8-TCDD), 2,3,7,8-tetrachlordibenzofuranu (2,3,7,8-TCDF) a 2,3,7,8-substituovaných penta-, hexa-, hepta- a oktachlorovaných dibenzo-p-dioxinů (PCDDs) a dibenzofuranů (PCDFs) v různých matricích včetně půd. Metoda vyžaduje pro analýzu extraktu použití vysokorozlišovací plynové chromatografie HRGC (high resolution gas chromatography) a nízkorozlišovací hmotnostní spektrometrie LRMS (low resolution mass spectrometry). Extrakty musí být přečištěny specifickým postupem. Při této metodě se zjišťuje 2,3,7,8-TCDD TEFs (toxicity equivalency factor) podle metodiky U.S. EPA (U.S. EPA 625/3-89/016). Tato metoda zahrnuje postupy pro výpočet celkové koncentrace kongenerů PCDD a PCDF se stejným stupněm chlorace. Separace všech možných 210 kongenerů není za těchto podmínek možná. Vzorek je spikován vhodným vnitřním standardem a extrahován toluenem za použití kombinace metod Soxhletovy extrakce a Dean-Starkova přístroje pro zachycení vody. Může být použita také U.S. EPA Method 3545 (tlaková extrakce rozpouštědlem) nebo U.S. EPA Method 3546 (mikrovláňná extrakce). Do extraktu je přidán $^{37}Cl_4$ -1 2,3,7,8-TCDD pro zjišťování účinnosti čisticích procesů. Čištění zahrnuje acidobazické vypírání a gelovou permeační chromatografii, čištění na alumině, silikagelu, Florisilu, případně na aktivním uhlí (Celite 545). Po vyčištění je extrakt odpařen téměř dosucha. Před vlastní chromatografickou analýzou (HRGC/LRMS)

je do připraveného extraktu přidán vnitřní standard a vzorek je analyzován. Analýza probíhá v SIM modu, monitorováním vybraných iontů. Identifikace hlavních složek je dána retenčními časy a srovnáním se standardem. Separace některých kongenerů nemůže být dosaženo analýzou na jedné chromatografické koloně, doporučuje se používání DB-5 a SP-2331 (nebo ekvivalentní). Analýza může být provedena pouze po nastavení kritérií pro retenční časy, identifikaci píků, poměr šum/signál, a poměry iontových odezev. TEQ (toxicity equivalent concentration) je počítána na základě mezinárodně uznávaných ekvivalentních faktorů toxicity TEFs (toxicity equivalence factor). Plynový chromatograf musí být vybaven nástřikovým prostorem splitless nebo on-column, kolony musí být pouze kapilární. Používá se buď jedna kolona nebo duální systém.

U.S. EPA Method 8290 Polychlorinated dibenzodioxins (PCDDs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) by high resolution gas chromatography/high resolution mass spectrometry (HRGC/HRMS)

Metoda popisuje postup kvalitativního a kvantitativního stanovení polychlorovaných dibenzo-p-dioxinů (PCDDs, tetra- až okta- homologů) a polychlorovaných dibenzofuranů (PCDFs, tetra- až okta- homologů) v různých matricích. Metoda vyžaduje vysokorozlišovací plynovou chromatografii s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (HRGC/HRMS). Metoda obsahuje specifické extrakční a čisticí postupy. Vzorek půdy je před extrakcí spikován určitým množstvím izotopicky značených ($^{13}\text{C}_{12}$) zástupců PCDDs/PCDFs. Extrakce je v případě půd prováděna metodou Soxhletovy extrakce toluenem. Může být také použita metoda používající Soxhlet/Dean Starkův extrakční systém, případně metody U.S. EPA Methods 3545, 3546 (tlaková extrakce rozpouštědlem, mikrovlnná extrakce). Extrakty procházejí acidobazickým čištěním, následuje čištění sloupcovou chromatografií na alumině, silikagelu a aktivovaném uhlí. Konečný extrakt je spikován $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,4-TCDD a $^{13}\text{C}_{12}$ -1,2,3,7,8,9-HxCDD, pro určení výtěžnosti tetra- a pentachlorovaných PCDDs/PCDFs a v druhém případě pro určení výtěžnosti hexa-, hepta- a oktachlorovaných PCDDs/PCDFs. Alikvót extraktu je nastříknut do HRGC/HRMS a je analyzován v SIM modu (selected ion monitoring). Identifikace vybraných kongenerů se provádí na základě přesného určení retenčního času a kvantifikace dvou nejintenzivnějších iontů v oblasti molekulových iontů. Zbývající kongenery, pro které nejsou dostupné vnitřní standardy, jsou identifikovány, jestliže jejich relativní odezvy jsou v určených retenčních oknech zjištěných z rutinních kalibrací, a rovněž na základě nejintenzivnějších iontů v okolí molekulových iontů.

U.S. EPA Method 4025 Screening for polychlorinated dibenzodioxins and polychlorinated dibenzofurans (PCDD/Fs) by Immunoassay

Tato metoda je používána pro analýzu PCDD/PCDF v půdách při obsahu nad 500 pg.g^{-1} . Postup využívá princip enzymových reakcí (EIA) s komerčně dostupnou testovací sadou obsahující polyklonální protilátku specifickou pro PCDD/PCDFs. Testovací sada je navržena pro screening vzorku tak, aby odpovídala jejich toxickým ekvivalentním koncentracím (TEQ). Test reaguje především na kongenery s vysokou hodnotou toxických ekvivalentních faktorů (TEF – Toxicity Equivalent Factor). Výsledkem stanovení je suma individuálních odezev kongenerů. Tato odezva koreluje s TEQ protože immunoassay reakční profil koreluje s hodnotami TEF.

U.S. EPA Method 4430 Screening for polychlorinated dibenzo-p-dioxins and furans (PCDD/Fs) by aryl hydrocarbon-receptor PCR assay

Metoda popisuje postup pro screening polychlorovaných dibenzo-p-dioxinů a dibenzofuranů (PCDD/Fs) v sedimentech a půdách. Metoda využívá komerčně dostupný AhR-PCR test.

U.S. EPA Method 4435 Method for toxic equivalents (TEQS) determinations for Dioxin-like chemical activity with the CALUX® bioassay

Metoda je bioanalytickým screeningovým postupem pro stanovení chemických látek dioxinového typu v půdách a sedimentech. Je založena na schopnosti dioxinu a podobných sloučenin aktivovat Ah-receptor (AhR), bílkovinu, která je odpovědná za projevení se toxických a biologických účinků těchto látek. Měření úrovně aktivace exprese genů závislé na AhR-receptoru chemickými sloučeninami nebo

extrakty obsahujícími tyto sloučeniny poskytuje prostředek, jak stanovit toxický potenciál těchto látek nebo extraktů vyjádřený jako toxický ekvivalent (TEQs).

CEN/TC BT/TF 151 Soils, sludges and treated biowaste — Determination of dioxines and furans and dioxin-like polychlorinated biphenyls by gas chromatography with high resolution mass spectrometry (GC/HRMS)

Tato evropská norma specifikuje metodu pro kvantitativní stanovení 17 dibenzo-p-dioxinů a dibenzofuranů substituovaných chlorem v poloze 2,3,7,8 a polychlorovaných bifenyly v půdách, kalech a bioodpadech za použití čisticích metod na principu kapalinové chromatografie a analýzy metodou plynové chromatografie s detekcí hmotnostním detektorem s vysokým rozlišením. Detekční limit metody závisí na typu vzorku, na typu použitého přístroje a kvalitě chemikálií pro extrakci vzorků a čištění extraktů. Jsou-li dodrženy podmínky této normy, mělo by být dosaženo detekčního limitu 1 ng.kg⁻¹.

Metoda je založena na principu plynové chromatografie s hmotnostní detekcí kombinovanou s izotopovou zředovací metodou, které umožňují separaci zmíněných látek. Metoda vyžaduje použití izotopově značených standardů. Vzorkování by mělo být provedeno podle CSS99031-32 a 99057-60. Extrakce jmenovaných látek je provedena toluenem za použití Soxhletovy metody, přípustné je použití i jiných rozpouštědel a jiné metody, např. extrakce za použití zvýšeného tlaku. Čištění extraktů musí zakonzentrovat PCDD/PCDF a PCB a musí odstranit nežádoucí interference. Obvykle se používá kombinace dvou a více čisticích metod. Mezi doporučené metody patří gelová permeační chromatografie, vícevrstvá kolonová technika, která zahrnuje skleněnou kolonu naplněnou křemenem s různým stupněm aktivity a s různou modifikací povrchu. Další metodou je čištění koncentrovanou kyselinou sírovou, aktivním uhlím, aluminou (Al₂O₃), případně s práškovou mědí pro odstranění síry z extraktu. Vyčištěný extrakt musí být zakonzentrován za použití vhodné metody (proudem dusíku, rotační vakuovou odparkou, Kudrna-Danishovým koncentrátorem apod.). Vlastní chromatografická analýza musí být provedena na přístroji s vysokým rozlišením 9 000-11 000. MS detektor musí pracovat v MID modu (multiple ion detection). *Metoda není ještě validována.*

Extrakční metody

ISO 14507:2005 Soil quality – Pretreatment of samples for determination of organic contaminants

Mezinárodní norma specifikuje 3 metody předúpravy vzorků půd v laboratoři před vlastním stanovením organických polutantů. Jsou zde uvedeny postupy s ohledem na chemických charakter stanovovaných látek: těkavé organické látky, polotěkavé organické látky – matrice obsahuje částice větší než 2 mm pa, má heterogenní distribuci kontaminantu v matrici, stanovení stabilních organických látek, velikost půdních částic je < 2 mm a polutanty jsou homogenně rozšířeny v matrici. Organické látky, které jsou stabilní, mohou být připraveny pro analýzu podle ISO 11464.

ASTM D5369 – 93(2008)e1 ASTM D5369 – 93(2008)e1 Standard Practice for Extraction of Solid Waste Samples for Chemical Analysis Using Soxhlet Extraction

Je obecnou metodou pro extrakci organických látek z půd, sedimentů, kalů a jemnozrnných odpadů pomocí rozpouštědel. Metoda se používá pro určení celkového extrahovatelného obsahu (TSEC) – Soxhletova extrakce se uplatňuje hlavně při analýzách směsí (půdy/odpady), které vytváří emulze při přímém použití rozpouštědel. Pro organochlorové insekticidy se používá směs aceton/hexan (1:1).

U.S. EPA Method 3540 Soxhlet extraction

Extrakční metoda je vhodná pro extrakci netěkavých a polotěkavých analytů z pevných vzorků jako jsou půdy, odpady a kaly. Při extrakci je vzorek v těsném kontaktu s extrahujícím rozpouštědlem. Vzorek je smíchán s bezvodým síranem sodným a vložen do extrakční patrony, a dále extrahován v Soxhletově aparatuře vhodným rozpouštědlem. Extrakt je vysušen, zakonzentrován a připraven k dalšímu použití buď k přečištění, nebo přímé analýze.

U.S. EPA Method 3541 Automatic Soxhlet extraction

Podobně jako v předchozím v případě se jedná o metodu vhodnou k extrakci netěkavých a polotěkavých látek z pevných vzorků, včetně půdních vzorků. Metoda využívá komerčně dostupné zařízení. Extrakce analytů je rychlejší ve srovnání s klasickou Soxhletovou metodou. Odlišnost spočívá mimo jiné v tom, že na počátku extrakce je vzorek v patroně umístěn do vařícího rozpouštědla, po určité době je vzorek vytažen nad hladinu rozpouštědla a je promýván kondenzujícím rozpouštědlem, které s sebou unáší extrahované analyty. Po extrakci je rozpouštědlo odpařeno na požadované množství a extrakt je použit k analýze.

U.S. EPA Method 3545 Pressurized fluid extraction – zrychlená automatická extrakce

Metoda se používá pro extrakci ve vodě nerozpustných nebo velmi málo rozpustných organických látek z půd, sedimentů, kalů a odpadních materiálů. Extrakce probíhá za vyšších teplot (100 – 180 °C) a vyšších tlaků (1 500 – 2 000 psi). Zvýšená teplota i tlak během extrakce umožňují provést extrakci při nižší spotřebě rozpouštědla a za kratší dobu než klasická Soxhletova extrakce. Vzorek je po úpravě vložen do extrakční cely, která je zahřátá na požadovanou teplotu a v systému je zvýšen tlak. Analyty jsou vyextrahovány během 5 – 10 min. Výběr rozpouštědla je důležitý s ohledem na vlastnosti extrahovaných složek.

U.S. EPA Method 3546 Microwave extraction

Metoda se používá pro extrakci ve vodě nerozpustných nebo velmi málo rozpustných organických látek z půd, sedimentů, kalů a odpadních materiálů. Extrakce probíhá v komerčně dostupných zařízeních. Zařízení využívá mikrovlnného záření k ohřevu vzorku na vyšší teplotu (100 – 115 °C), a zároveň ke zvýšení tlaku v uzavřeném systému (50 – 175 psi), který obsahuje vzorek a vhodné rozpouštědlo. Spotřeba rozpouštědla při mikrovlnné extrakci je nižší a extrakce probíhá rychleji než v případě klasické Soxhletovy extrakce.