

## **Polychlorované bifenyly (PCB)**

Patří mezi chlorované organické látky a jsou zařazeny mezi persistentní organické polutanty POPs. Jedná se o skupinu látek, tvořenou teoreticky 209 izomerními sloučeninami – kongenery, které se liší počtem atomů chloru a jejich umístěním na aromatických jádrech. V komerčních směsích se vyskytuje pouze 130 kongenerů. V přírodě se přirozeně nevyskytují, jsou syntetizovány člověkem. Z hlediska karcinogenity jsou zařazeny do skupiny 2B (IARC).

Rozpustnost ve vodě je extrémně nízká, rozpouští se v olejích a organických rozpouštědlech. Jsou velmi stabilní, nerozkládají se za vysokých teplot. Hodnota log  $K_{OW}$  se zvyšuje s rostoucím počtem atomů chloru v molekule a nabývá hodnot v intervalu 3,76 – 8,26. Jsou bioakumulativní a jsou velmi závažnými kontaminanty v prostředí <http://toxnet.nlm.nih.gov/>. V současnosti se nevyrábějí, jejich použití a likvidace jsou přísně sledovány. Mohou být obsaženy v malém množství v halogenovaných sloučeninách, v kalcích z odpadních vod, při spalování průmyslových a komunálních odpadů, v emisích z elektráren a z procesů zpracování železa a oceli. Hlavní podíl na jejich výskyt v životním prostředí má redistribuce PCB, které se uvolnily v minulosti.

V životním prostředí a půdách jsou vysoce persistentní. Váží se v půdě na organickou hmotu a do ovzduší téměř nevytékávají. Jejich schopnost degradace se snižuje s rostoucím počtem atomů chloru v molekule. V anaerobních podmínkách může docházet k rozkladu pomocí bakterií *Alcaligenes eutrophus*, které jsou schopny rozložit až 35 % kongenerů PCB dechlorací (Montgomery H.J., 2007). V zemědělských půdách jsou limitovány vyhláškou č.13/1994 Sb., o ochraně zemědělského půdního fondu (0,01 mg/kg sušiny). Také v případě použití odpadů pro povrchovou úpravu podle vyhlášky č.294/2005 Sb. je limit 0,2 mg/kg sušiny. Obsah PCB (suma 6 kongenerů 25+52+101+138+153+180) je limitován také při použití kalů na zemědělské půdě (vyhláška č. 382/2001 Sb. v pozdějším znění) hodnotou 0,6 mg/kg sušiny.

### ***Standardizované metody stanovení***

Obecný princip stanovení PCB v půdách spočívá v extrakci vzorku půdy, zeminy vhodným rozpouštědlem nebo směsí rozpouštědel. Získaný extrakt je po přečištění, např. gelovou permeační chromatografií a adsorpční chromatografií na Florisilu, silikagelu modifikovaném  $H_2SO_4$  nebo oxidu hlinitém (alumině) analyzován metodou plynové chromatografie s detektorem elektronového záchytu nebo metodou plynové chromatografie s hmotnostním detektorem.

Kvantitativní stanovení je prováděno dvěma možnými způsoby: buď se stanovují jako směsi Aroclorů nebo jako jednotlivé kongenery (obvykle kongenery 28, 101, 118, 138, 153, 180 nebo PCB s vyjádřením toxických ekvivalentních faktorů TEFs (toxic equivalency factor) 12 kongenerů – 77, 81, 105, 114, 118, 123, 126, 156, 157, 167, 169, 189). Stanovení na základě Arocloru se provádí standardní analýzou komerčního produktu. Kongenery přítomné v těchto směsích se porovnávají sumárně s kongenery nalezenými ve vzorcích. Směsi PCB (např. Aroclory, v ČR Delory) jsou různé, kongenery v nich obsažené se liší stupněm chlorace. Metoda má své omezení, protože zastoupení kongenerů v používaných směsích je variabilní. Doporučuje se používat tento způsob vyhodnocení pouze v případě, že složení standardní směsi a vzorku je podobné (porovnáním získaných chromatogramů). Vhodnější provedení

kvantitativní analýzy je na základě vyhodnocení obsahu individuálních kongenerů, obvykle 28, 101, 18, 138, 153, 180. (D. Muir, E. Sverko Analytical methods for PCBs and organochlorine pesticides in environmental monitoring and surveillance: a critical appraisal, Environment Canada, Water Science and Technology Division, 867 Lakeshore Road, Burlington, ON L7R 4A6 Canada). Vzorky se před analýzou nesouší na vzduchu. Používají se surrogate standardy pro zajištění kvality výsledků. Jako rozpouštědlo k extrakci se používá obvykle směs aceton/hexan nebo dichlormethan.

**ISO 10382:2002** Soil quality – Determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls. Gas-chromatographic method with electron capture detection

Metoda popisuje kvantitativní stanovení sedmi polychlorovaných bifenyly a sedmnácti organochlorovaných pesticidů v půdách. Je použitelná pro všechny typy půd. Vzorek je extrahován směsí aceton/petrolether, extrakt je přečištěn sloupcovou chromatografií ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) a stanoven metodou GC/ECD nebo GC/MS. V případě použití ECD je vhodné použít jinou GC (dvourozměrnou) metodu pro confirmaci.

**TC BT WI CSS99016** Soils, sludges and treated bio-waste. Determination of polychlorinated biphenyls. Method by GC-MS and GC-ECD

Tato evropská norma popisuje metodu pro kvantitativní analýzu sedmi vybraných kongenerů PCB (PCB28, PCB52, PCB101, PCB118, PCB138, PCB153 a PCB180) v půdách, kalech, sedimentech, suspendovaných částicích a v bioodpadu za použití plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GC/MS) nebo s detektorem elektronového záhytu (GC/ECD). Metoda může být použita i pro stanovení dalších kongenerů PCB, ale vždy musí být provedena validace pro tyto kongenery. Detekční limit závisí na použitém zařízení a kvalitě používaných chemikálií. Při dodržení podmínek specifikovaných touto normou by mělo být dosaženo detekčního limitu 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  v sušené vzorku. Metoda popisuje vzorkování, které by mělo být v souladu s CSS99031-32 a 99057-60 a následné uchování vzorků. Dále popisuje použití vnitřních standardů, extrakční metody pro extrakci PCB ze vzorků – vytřepání do vhodného rozpouštědla (směsi rozpouštědel) nebo Soxhletovou extrakci, přípustné jsou rovněž extrakce do ultrazvuku, mikrovlnná extrakce a extrakce za zvýšeného tlaku. Pro extrakci se používá směs petrolether/aceton nebo petrolether. Extrakt je vysušen bezvodým  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  a v případě potřeby zakoncentrován. Pro vyčištění extraktu se používají metody čištění na silikagelu, Florisilu, alumině  $\text{Al}_2\text{O}_3$ , čištění gelovou permeační chromatografií, čištění kombinací silikagelů modifikovaných  $\text{H}_2\text{SO}_4$  a  $\text{NaOH}$ , v případě velkého množství ropných uhlovodíků je možné použít kombinaci benzensulfonové kyseliny s kyselinou sírovou. V případě vysokého obsahu alifatických uhlovodíků lze pro čištění vzorků použít rozdělení mezi dimethylformamid a n-hexan. Další možností je protřepání s koncentrovanou kyselinou sírovou, s tetrabutylammoniovou solí, s práškovou mědí nebo se směsí dusičnanu stříbrného se silikagelem. Přečištěný extrakt je stanoven plynovou chromatografií – GC/MS nebo GC/ECD. Doporučuje se spíše GC/MS v SIM/SIR modu. Metoda není ještě validována.

**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 následné 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  $\text{ng}/\text{kg}$ .

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 čistících 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. Dále zde patří čištění koncentrovanou kyselinou sírovou, aktivním uhlím, aluminou ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ) a 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.*

#### **U.S. EPA Method 8000C** Determinative Chromatographic Separations

Tato metoda není metodou pro stanovení jednotlivých analytů, ale je návodem pro analytickou chromatografii, popisuje požadavky na kalibraci a kontrolu kvality chromatografických metod. Určuje možnosti využití vnitřní kalibrace pomocí izotopicky značených standardů nebo bromovaných či fluorovaných analogů stanovovaných látek atd.

#### **U.S. EPA Method 8082A** Polychlorinated biphenyls (PCBs) by gas chromatography

Metoda popisuje stanovení PCB buď ve směsi jako Aroclor nebo stanovení individuálních kongenerů v extraktech z pevných vzorků použitím plynové chromatografie s detektorem elektronového záchytu (GC/ECD) nebo s detektorem elektrolytické vodivosti (GC/ELCD). Metoda doporučuje použití jedné kolony nebo duálního systému – dvě kolony (s různou polaritou stacionární fáze)/dva různé detektory. Aroclory jsou multisložkové směsi kongenerů PCB, které byly vyráběny a komerčně rozšiřovány, v ČR se vyráběné produkty nazývaly DELOR. Pro stanovení směsí PCB i individuálních kongenerů lze použít také hmotnostní detektor (GC/MS), a pro confirmaci atomový emisní detektor (GC/AED). Vzorky mohou být extrahovány směsí rozpouštědel hexan:aceton (1:1) nebo dichlormethan:aceton (1:1) použitím U.S. EPA Methods 3540, 3541, 3545, 3546, 3550, 3562, případně jinou vhodnou technikou a rozpouštědlem. Extrakty mohou být přečištěny následným čištěním kyselinou sírovou a manganistanem draselným (U.S. EPA Method 3665), které bylo navrženo speciálně pro tuto metodu. Tímto čištěním je odstraněna velká část interferujících organochlorových a organofosforových pesticidů. Přečištěný extrakt je analyzován plynovou chromatografií.

#### **U.S. EPA Method 1656** Gas chromatography of organo-halide pesticides

Metoda je určena pro stanovení organohalidových pesticidů a dalších vyjmenovaných látek ve vodách, kalech, sedimentech a půdách. V případě, že vzorek kalu obsahuje > 30 % sušiny, je připraven extrakt obsahující pouze 1 % sušiny. Vzorky půd jsou extrahovány acetonitrilem a methylen chloridem metodou 3350 (extrakce ultrazvukem) nebo superkritickou fluidní extrakcí (metoda 3562). Extrakt je zpětně extrahován 2%  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  aby se odstranily vodorozpustné interferující látky. Dále je zpětně přečištěn metodami 3610, 3620 a 3640. Identifikace polutantů se provádí porovnáním retenčních časů.

#### **U.S. EPA Method 8270D** Semivolatile organic compounds by gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)

Metoda je určena pro stanovení polotěkavých organických látek z extraktů z různých environmentálních matric včetně půd. Vhodnými extrakčními metodami pro půdy jsou metody U.S. EPA Methods 3540, 3541, 3545, 3546, 3550, 3560, 3561. Extrakty jsou v případě potřeby přečištěny vhodným čistícím postupem, a přečištěné extrakty jsou analyzovány metodou plynové chromatografie s hmotnostní detekcí. Hmotnostní detektor musí být schopen provést scan v rozmezí 35 – 500 amu za 1 sekundu nebo rychleji, ionizační technikou je elektronová ionizace. Hmotnostním analyzátozem může být iontová past nebo kvadrupólový analyzátor. Pro vyhodnocování se používají deuterované vnitřní standardy, např. naftalen- $d_8$ , 1,4-dichlorbenzen- $d_4$  apod. V případě PCB lze jako čistící metodu použít U.S. EPA Methods 3610, 3620, 3630, 3640, 3660. Vyčištěný extrakt je analyzován. Podmínky GC/MS analýzy musí splňovat určitá kritéria, která jsou detailně popsána v metodě.

**U.S. EPA 8275A** Semivolatile organic compounds (PAHs and PCBs) in soils/sludges and solid wastes using thermal extraction/gas chromatography/mass Spectrometry (TE/GC/MS)

Metoda popisuje postup stanovení PAU a PCB za použití termální desorpce ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostní detekcí. Jedná se o rychlé kvantitativní stanovení těchto látek v půdách, kalech a sedimentech.

**U.S. EPA Method 9078** Screening Test Method for Polychlorinated Biphenyls in Soil

Metoda je použitelná pro stanovení množství PCB v půdách, za předpokladu, že PCB jsou jediným zdrojem organického chloru ve vzorku. Jedná se o elektrochemickou metodu, která umožňuje stanovení PCB v rozmezí 2 – 2 000 µg/g. Atomy chloru jsou odstraněny z molekul PCB reakcí s činidlem obsahujícím organicky vázaný sodík. Vzniklé chloridové ionty jsou měřeny chloridovou elektrodou. Vzorek půdy je extrahován uhlovodíkovým rozpouštědlem, extrakt je zfiltrován a vysušen. Poté reaguje s kovovým sodíkem v přítomnosti katalyzátoru. Reakce vede k dechloraci molekul PCB.

### **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 chemický 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 ekstrakční patrony, a dále extrahován v Soxhletově aparatuře vhodným rozpouštědlem. Extrakt je vysušen, zakoncentrován 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.

#### **U.S. EPA Method 3550C** Ultrasonic extraction

Extrakce ultrazvukem se používá pro extrakci netěkavých a polotěkavých analytů z pevných vzorků, včetně půdních vzorků. V případě nízkých obsahů extrahovaných látek se používá pro extrakci vyšší množství vzorku a extrakce rozpouštědlem se opakuje třikrát po sobě, při vysokých koncentracích analytů se použije menší množství vzorku a extrakce probíhá pouze jednou. Extrakt je vhodné před vlastní analýzou přefiltrovat. Metoda není tak účinná jako ostatní extrakční metody.

#### **U.S. EPA Method 3562** Supercritical fluid extraction

Superkritická fluidní extrakce používá pro extrakci analytů z pevných vzorků, včetně půd, tekutinu v superkritickém stavu. Vzorek je homogenizován smícháním se stejným objemem CO<sub>2</sub> v tuhém stavu. Alikvót této směsi je umístěn do extrakční nádoby a je extrahován CO<sub>2</sub> v superkritickém stavu bez přídavku modifikátorů. Po dobu 200 min. probíhá statická extrakce a následujících 30 min. probíhá dynamická extrakce. Extrakt je zachycen v případě organochlorovaných pesticidů na pevném oktadecylsilanovém sorbentu, v případě PCB na Florisilu. Sorbent je pak promýván rozpouštědlem, které vyextrahuje analyty ze sorbentu.

### **Metody přečištění**

#### **U.S. EPA Method 3600** Cleanup

Metoda je obecným souhrnem čisticích metod používaných pro přečištění extraktů, na principu adsorpce (adsorpce na Florisil, silikagel nebo Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), velikosti molekul (gelová permeační chromatografie), acidobazické extrakce a oxidačně-redukčních metod (odstranění molekulové síry, nebo čištění kyselinou sírovou a manganistanem draselným).

#### **U.S. EPA Method 3610** Alumina Cleanup

Alumina je porézní a granulární forma Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, pro chromatografické čištění je dostupná ve formě kyselé, neutrální a bazické. Používá se pro separaci látek různé polarity nebo pro odstranění interferujících složek z extraktu. Bazická alumina má pH v oblasti 9 – 10, používá se pro odstranění neutrálních a bazických interferujících látek – alkoholů, alkanů, steroidů, alkaloidů, přírodních pigmentů. Neutrální alumina má pH v oblasti 6 – 8, používá se k odstranění aldehydů, ketonů, chinonů, esterů, laktonů, glykosidů. Kyselá alumina má pH v oblasti 4 – 5 a používá se k odstranění lipidických pigmentů a silných kyselin, které by mohly podléhat chemisorpci na bazickém sorbentu. Kyselá alumina se v této metodě nepoužívá.

#### **U.S. EPA Method 3620** Florisil Cleanup

Čištění na Florisilu se provádí klasickou sloupcovou chromatografií nebo extrakcí na pevné fázi s kolonkami naplněnými Florisilem. Florisil musí být v případě organochlorovaných uhlovodíků aktivován zahřátím na teplotu 130 °C po dobu minimálně přes noc. Elučním rozpouštědlem může být v případě hexachlorcyklohexanu hexan, diethylether a směs diethylether/hexan.

### **U.S. EPA Method 3630C Silica Gel Cleanup**

Silikagel je adsorbent, který má slabě kyselé vlastnosti, může být používán v sloupcové chromatografii pro separaci interferujících látek od sledovaných analytů, případně pro separaci látek různé polaritě. Může být aktivován (zahřátím na teplotu 150 – 160 °C) nebo deaktivován přidávkem 10 % vody. Metoda je vhodná pro čištění extraktů pro analýzu polycyklických aromatických uhlovodíků, PCB, derivatizovaných fenolů, organochlorovaných pesticidů. Silikagel může být rovněž náplní kolonek pro extrakci na pevné fázi. Extrakčním činidlem v případě organochlorovaných pesticidů musí být hexan.

### **U.S. EPA Method 3640 Gel-Permeation Cleanup**

Gelová permeační chromatografie je metodou pro čištění extraktu založenou na síťovém efektu. Používá organická rozpouštědla a hydrofóbní gely k separaci látek na základě velikostí jejich molekul. Hydrofóbní gel je porézní divinylbenzen-styrenový kopolymer. Metoda se používá pro odstranění lipidů, bílkovin, polymerních sloučenin, přírodních pryskyřic a polymerních sloučenin a jiných vysokomolekulárních látek z extraktů. Nabobtnalý gel je naplněn v koloně a po nanesení extraktu je promýván vhodným rozpouštědlem. Získaný přečištěný extrakt je dále zakoncentrován a použit k analýze chromatografickou metodou.

### **U.S. EPA Method 3660B Sulfur Cleanup**

Elementární síra se vyskytuje převážně v sedimentech a průmyslových odpadech. V rozpouštědlech se rozpouští podobně jako některé organochlorované a organofosforové pesticidy, takže společně s těmito látkami prochází všemi kroky úpravy vzorku – extrakcí a čištěním. Její přítomnost v extraktu se projevuje negativně při chromatografické analýze. Elementární síra se odstraňuje přidáním práškové mědi nebo siřičitanu tetrabutylammonného.

### **Literatura**

Montgomery J.H. (2007): Groundwater Chemicals. Desk references. Fourth edition. CRC Press Taylor and Francis Group, Boca Raton, Florida.