

Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAU)

Polycyklické aromatické uhlovodíky zahrnují širokou škálu organických látek, které obsahují dvě a více benzenových jader a jsou složeny z atomů uhlíku a vodíku. Mezi nejznámější zástupce patří 16 zástupců, které byly určeny U.S. EPA jako prioritní zástupci PAU: naftalen, acenaftylen, acenaften, fluoren, fenantren, antracen, fluoranten, pyren, benz(a)antracen, chrysen, benzo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benzo(a)pyren, dibenzo(a,h)antracen, indeno(1,2,3-c,d)pyren a benzo(ghi)perylen.

Jedná se o krystalické látky bílého až nažloutlého zabarvení, jejichž teploty tání a varů rostou s rostoucí molekulovou hmotností. Rozpustnost ve vodách je minimální a s rostoucí molekulovou hmotností se snižuje, log K_{ow} (pro 16 zmíněných PAU) se pohybuje v rozmezí 3,30 (naftalen) až 6,63 (benzo(ghi)perylen). Jsou řazeny mezi persistentní organické polutanty.

Jsou to toxické látky, některé z nich jsou považovány za karcinogeny (benzo(a)pyren, benzo(b)fluoranten, benzo(k)fluoranten, benz(a)antracen, dibenzo(a,h)antracen, indeno(1,2,3-c,d)pyren atd.). Mají mutagenní, některé i teratogenní účinky. Až na výjimky se cíleně nevyrábějí (naftalen, antracen, laboratorní účely a výzkum), jsou obsaženy v celé řadě průmyslových produktů – nafta, černouhelný dehet a produkty z něho získané, asphalt apod.

Do životního prostředí se dostávají především z antropogenních spalovacích procesů (průmysl, lokální topeniště, doprava), z koksárenství, zpracování ropy, ze zplyňování a zkapaňování uhlí, z výroby hliníku, z materiálů, ve kterých jsou obsaženy (asfalt apod.). Jsou persistentní, jsou transportovány dálkovým přenosem, mají schopnost bioakumulace, váží se na pevné částice. Do půd se dostávají zejména depozicí z kontaminovaného ovzduší. V půdách se sorbují na půdní částice, zejména zástupci s vyšší molekulovou hmotností. Ve vyhlášce o ochraně zemědělského půdního fondu č. 13/1994 Sb. je limitován pouze obsah antracenu, benzo(a)antracenu, benzo(a)pyrenu, fenantrenu, fluorantenu, chrysenu a naftalenu samostatně a jako suma 1 mg/kg sušiny. Obsah PAU (12 analytů) je také limitován v odpadech používaných pro povrchovou úpravu terénu podle vyhlášky č. 294/2005 Sb. (6 mg/kg sušiny).

Standardizované metody stanovení

Obecný princip stanovení PAU 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 nebo na silikagelu modifikovaném H_2SO_4 analyzován metodou plynové chromatografie s plamenoionizačním detektorem, s hmotnostním detektorem nebo vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií (HPLC). Naftalen může být stanoven postupy vhodnými pro BTEX.

ISO 14507:2003 Soil quality – Pretreatment of samples for determination of organic contaminants

ISO 14507:2003 specifikuje tři metody pro úpravu vzorků půd v laboratořích před stanovením organických kontaminujících látek:

- Jestliže mají být analyzovány těkavé organické látky,

- jestliže mají být analyzovány polotěkavé až netěkavé organické látky za předpokladu, že výsledek následující analýzy musí být přesný a reprodukovatelný a jestliže vzorek obsahuje částice větší než 2 mm a organické látky jsou heterogenně ve vzorku distribuovány,
- jestliže mají být analyzovány organické netěkavé látky, a extrakční metody vyžadují vlhký vzorek nebo je velikost největších částic vzorku menší než 2 mm a organické látky jsou ve vzorku homogenně distribuovány. Tento postup je aplikovatelný, jestliže je přípustná snížená přesnost a opakovatelnost.

ISO 18287:2006 Soil quality – Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH). Gas chromatographic method with mass spectrometric detection (GC-MS)

ISO 18287:2006 popisuje kvantitativní stanovení 16 PAU (zmíněných výše), které jsou na seznamu prioritních PAU podle U.S. EPA (U.S. EPA, 1982). Je použitelná pro všechny typy půd (vlhkých nebo chemicky vysušených vzorků) s širokým rozmezím koncentrací PAU. Při dodržení podmínek specifikovaných v ISO 18287:2006 může být dosažen detekční limit 0,01 mg/kg (vyjádřeno na sušinu vzorku) pro každého individuálního zástupce PAU.

ISO 13877:1998 Soil quality – Determination of polynuclear aromatic hydrocarbons. Method using high-performance liquid chromatography

Podobně jako v případě ISO 18287:2006 je touto metodou analyzováno 16 prioritních PAU podle seznamu prioritních PAU U.S. EPA. Postup popisuje dvě metody pro kvantitativní stanovení s využitím vysokoúčinné kapalinové chromatografie HPLC.

ISO 22892:2006 Soil quality – Guidelines for the identification of target compounds by gas chromatography and mass spectrometry

Draft metody BT/TF151 WI CSS99015:2007 Soils, sludges and treated bio-waste. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH). Method by gas chromatography (GC) and high performance liquid chromatography (HPLC)

Metoda popisuje kvantitativní stanovení 16 polycyklických aromatických uhlovodíků v půdách, kalech, sedimentech, v suspendovaných částicích a bioodpadech za použití metody plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GC/MS) a kapalinové chromatografie se spektrometrickou a fluorescenční detekcí (HPLC/UV/DAD/FD) v širokém koncentračním rozmezí. Je-li použita pouze metoda HPLC/FD, není detekován acenaftýlen. Detekční limit je dán použitým zařízením a kvalitou chemikálií použitých pro extrakci vzorků a vyčištění extraktů. Obecně by mělo být dosaženo limitu 0,01 mg/kg (v sušině) pro každého PAU zástupce. Metoda popisuje vzorkování, které by mělo být v souladu s CSS99031-32 a 99057-60 a následné uchování vzorků, dále popisuje použití vnitřních standardů pro obě metody, extrakční metody pro extrakci PAU ze vzorků – vytřepání do rozpouštědel, Soxhletovou nebo kapalinovou extrakci za zvýšeného tlaku, použití vhodných rozpouštědel nebo jejich směsí (aceton/petrolether, toluen). Metoda extrakce se volí s ohledem na obsah vlhkosti ve vzorku. V případě potřeby je nutné přečištění extraktu, čištění se provádí sloupcovou chromatografií na Al₂O₃, silikagelu nebo gelovou permeační chromatografií, případně směsí dimethylformamidu (DMF) a cyklohexanu. V poslední jmenovaná metoda vyčištění je použitelná pro vzorky s vysokým obsahem alifatických uhlovodíků. Alikvót extraktu je převeden do směsi DMF/voda a uhlovodíky jsou odstraněny vytřepáním do cyklohexanu. V případě HPLC je nutná před vlastní chromatografickou analýzou výměna rozpouštědla za rozpouštědlo vhodné pro HPLC separaci (acetonitril). GC/MS analýza se provádí v SIM/SIR modu. *Metoda není ještě validována.*

DIN ISO 13877 Bodenbeschaffenheit – Bestimmung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen – Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie-(HPLC-) Verfahren (ISO 13877:1998)

TNV 75 8055 Charakterizace kalů. Stanovení vybraných polycyklických aromatických uhlovodíků (PAU) metodou HPLC s fluorescenční detekcí

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 8100 Polynuclear aromatic hydrocarbons

Metoda popisuje použití chromatografických podmínek pro stanovení PAU metodou plynové chromatografie s plamenionizačním nebo hmotnostním detektorem. Pevné vzorky jsou extrahovány dichlormethanem za použití metod U.S. EPA Methods 3540, 3550. Extrakt je zakoncentrován na 1 ml. Případné přečištění extraktu se provádí metodou U.S. EPA Method 3630 přečištěním na sloupci silikagelu.

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. Vhodným 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 izotopicky značené vnitřní standardy, např. naftalen-d₈, 1,4-dichlorbenzen-d₄ apod. Jako čistící metodu lze 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. Metoda však není vhodná pro kvantifikaci multikomponentních látek.

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, kalcích a sedimentech. Kvantifikační limit metody pro individuální zástupce PAU je 1 mg/kg a 0,2 mg/kg vztaženo na sušinu vzorku půdy. Může být však snížen použitím vhodného rozmezí kalibrační křivky nebo úpravou navážky vzorku použité pro extrakci.

U.S. EPA 8310 Polynuclear aromatic hydrocarbons

Metoda popisuje stanovení PAU metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) s UV/VIS a fluorescenčním detektorem. Vzorek musí být extrahován vhodnou metodou (U.S. EPA Methods 3540, 3550) a extrakt musí být případně přečištěn na sloupci silikagelu (U.S. EPA Method 3630).

U.S. EPA Method 8410 Gas Chromatography/Fourier transform infrared (GC/FT-IR) spectrometry for semivolatile organics: capillary column

Metoda je použitelná pro polotěkavé organické látky v odpadních materiálech, půdách a sedimentech. Stanovení se provádí plynovou chromatografií s detekcí analytů infračervenou spektrometrií a Fourierovou transformací (GC/FT-IR). Je vhodným doplňkem pro analýzu plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí GC/MS, např. pro rozlišení izomerů, které nejsou GC/MS dobře separovány. Analyty jsou extrahovány z půd použitím U.S. EPA Methods 3540, 3541, 3550. Pro přečištění extraktů může být použita metoda U.S. EPA Method 3640.

Extrakční metody

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.

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 přečistit. Metoda není tak účinná jako ostatní extrakční metody.

U.S. EPA Method 3561 Supercritical Fluid Extraction of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons

Metoda popisuje použití SFE pro extrakci PAU z půd, sedimentů, popílků a jiných pevných matic. Metoda je rozdělena do tří kroků, aby bylo dosaženo co nejvyšší výtěžnosti i pro těkavější zástupce

PAU (naftalen). Pro extrakci je využíván CO₂ v nadkritickém stavu. V prvním kroku jsou extrahovány těkavější zástupci PAU za použití čistého CO₂ při mírně nižší hustotě a teplotě a se studeným záchytem. V druhém kroku jsou méně těkavé PAU extrahovány směsí CO₂, vody a methanolu za vyšší teploty, vyšší hustoty extrakční směsi a vyšší teploty záchytu. Ve třetím kroku je použit čistý CO₂ pro pročištění systému před odtlakováním. Všechny tři získané frakce jsou před chromatografickou analýzou spojeny. Analýza může být provedena metodou HPLC, GC/FID nebo GC/MS.

U.S. EPA Method 3570 Microscale Solvent Extraction (MSE)

Metoda popisuje extrakci těkavých, ale i polotěkavých a netěkavých organických látek z půd, kalů a odpadů. Tento postup minimalizuje množství vzorku potřebného k analýze a použitých rozpouštědel, čímž jsou snižovány ekonomické náklady, negativní dopady na zdraví a množství odpadů. Vzorky jsou extrahovány protřepáním s rozpouštědlem v uzavřených extrakčních zkumavkách. Ztráty těkavých organických látek jsou minimalizovány dodržováním opatrné manipulace se vzorkem, rozpouštědlem, při sušení a spikování extraktu. Extrakty jsou vysušeny a zakoncentrovány modifikovanou Kudrna-Danishovou metodou, kdy je zvýšen počet teoretických pater a snížena teplota destilace. Tato modifikace minimalizuje ztráty těkavých organických látek. Při extrakci těkavých organických látek musí být pevné vzorky chlazeny, takže jsou umístěny v chladicích nádobách obloženy ledem nebo jiným chladicím médiem. Vzorky nemají být před zpracováním homogenizovány.

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 Al₂O₃), 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 Al₂O₃, pro chromatografické čištění je dostupná ve formě kyselé, neutrální a bazické. Používá se pro separaci látek různé polaritě 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 naplnit 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.

Nestandardizované metody stanovení

Margesin R., Schinner F. (2005): Manual of soil analysis. Monitoring and assessing of soil bioremediation. Springer – Verlag Berlin Heideleberg. ISSN 1613-3382

Kniha uvádí přehled principů stanovení PAU v půdách s odkazy na standardizované postupy i výběr hlavních nestandardizovaných metod.