CH 4.1. Stanovenie reziduí chlórovaných pesticídov a PCB v potravinách, krmivách a vodách metódou GC/ECD

1. Pôvod metódy

1. Beck H., Mathar W.: Analysenverferfahren zur Bestimmung von ausgewählten PCB-Einzelkomponenten in Lebensmittel Bundesgesundheit, 28(1), 1985, s.1-12
2. Nederlandische Staatscourant nr. 239, 6.Dec.1984
3. Himberg K., Julkunen P., Pyssalo H.: A method for the quantification of polychlorinated biphenyls. Technical research centre of Finland, Espoo, 1987
4. Rozhodnutie hlavného hygienika ČR HEM-350-5.1.90 z 91.1.1990
5. Vávrová M., Uhlák J.: Stanovení reziduí polychlorovaných bifenylu v potravinovom řetězci a biologických materiálech. Příloha č. 1/1989 k Acta hygienica, Praha 1988, s.90-112
6. Ballschmiter K., Zell M.: Analysis of Polychlorinated Biphenyls by Glass Capillary Gas Chromatography. Fresenius Z.:Anal.Chem. 302, 1980, s.20-31
7. Schadstoff-Hochstmengenvesordnung, 23, 3, 1988, BRD
8. Fischer R., Ballschmiter K.: Congener-specific identification of technical PCB-mixtures by capillary gas chromatography. Fresenius Z.: Anal.Chem. 335, 1989, s. 457-463
9. Hruška J. a kol.: Prúmysl potravin, 29, č.1, 1978, s. 49-51

2. Princíp metódy

Po extrakcii reziduí organickými rozpúšťadlami sa extrakt čistí buď chromatograficky, kyslou hydrolýzou s konc. kys.sírovou resp. iným spôsobom podľa povahy vzorky. Obsah prítomných pesticídov a PCB sa stanoví na plynovom chromatografe.

3. Použité prístroje

Plynový chromatograf s detektorom ECD
Rotačná vákuová odparovačka
Laboratórna mechanická trepačka
Analytické váhy
Pumpa pre HPLC Gilson
Autosampler Gilson 231
Sklenená kolóna naplnená gélom SX3

4. Zoznam chemikálií

Etanol
Dietyléter redestilovaný
Petroléter redestilovaný
Acetón redestilovaný
Síran sodný bezvodý
Konc. kyselina sírová
Izooktán
Cyklohexán
Etylacetát
Šťaveľan sodný
Šťaveľan draselný

6. Príprava štandardov a pracovných roztokov

Štandardné roztoky, ktoré obsahujú chlórované uhľovodíky sa pripravia rozpustením v izooktáne.

7. Príprava vzoriek
Počiatočná extrakcia je rozdielna podľa druhu matrice. Taktiež od druhu materiálu závisí následná purifikácia získaného extraktu.

7.1 Látky s vysokým obsahom vody a nízkym obsahom tuku ako sú zemiaky, zelenina, krmivo, biologický materiál a pod.
Do Erlanmayerovej banky sa na analytických váhach naváži zhomogenizovaná vzorka. Extrahuje sa dvakrát petroléterom. Jednotlivé extrakty sa zlejú deliaceho lievika do ktorého bola najprv pridaná destilovaná voda. Do deliaceho lievika sa pridá nasýtený roztoku Na_2SO_4, obsah sa premieša a intenzívne vytrepáva. Nechá sa postáť, aby sa dobre oddelili vrstvy. Spodná vodná vrstva sa vypustí a petroléterová vrstva sa cez kolónku s bezvodým Na_2SO_4 vypúšťa do banky. Extrakt sa ďalej čistí na chromatografickej kolóne alebo kyslou hydrolýzou s konc. kyselinou sírovou.

7.2 Mlieko, sušené mlieko, syry, maslo, olej, vajce, krv
Zhomogenizovaná vzorka sa prenesie do deliaceho lieviku, obsahujúceho destilovanú vodu, pridá sa roztok šťaveľanu sodného, etanol a celý obsah sa pretrepe. Pridá sa dietyléter, pretrepe sa, pridá sa petroléter a intenzívne sa pretrepáva. Po odelení oboch vrstiev sa spodná vrstva prepustí cez vrstvu bezvodého síranu sodného do banky. Deliaci lievik sa vyplachuje petroléterom, ktorý sa rovnako vypustí cez kolónku do banky. Obsah banky sa čistí chromatograficky, alebo sa prečisťuje kyslou hydrolýzou s konc. kyselinou sírovou.

7.3 Tukové tkanivo, škvarená masť
Narezané tukové tkanivo sa rozotrie v trecej miske a extrahuje dietyléterom. Extrakty sa zlievajú cez lievik s vatou do zbernej extrakčnej banky. Dietyléter sa oddestiluje na rotačnej vákuovej odparovačke, banka s tukom sa zváži, aby bolo možné zistiť obsah čistého tuku v tukovom tkanive. Tuk v banke sa rozpustí v známom množstve petroléteru a približne 1 g čistého tuku sa použije na ďalšie prečistenie.

7.4 Múka, ryža, sušené kŕmne zmesi
Do Erlenmayerovej banky sa naváži zhomogenizovaná vzorka. Extrahuje sa dvakrát petroléterom. Jednotlivé extrakty sa zlievajú do deliaceho lievika, do ktorého bola pridaná voda. Obsah deliaceho lievika sa pretrepáva, po oddelení vrstiev sa spodná vrstva vypustí a znova sa pridá voda a pretrepáva sa. Ak vznikne i po prvom pretrepaní emulzný základ, ponechá sa v deličke. Emulzná medzivrstva sa odstráni pridaním roztoku síranu sodného. Po vysušení spodnej vrstvy, sa stonka lievika osuší vatou a obsah sa vypustí cez kolónku s bezvodým síranom sodným do extrakčnej banky. Deliaci lievik sa vypláchne petroléterom, ktorý sa rovno prepustí cez kolónku do banky. Obsah deliaceho lievika sa prečistí buď chromatograficky alebo sa prečisťuje kyslou hydrolýzou s konc. kyselinou sírovou.

7.5 Voda
Na extrakciu sa použijú 1- 2 litre vody. Každý liter sa vytrepáva samostatne v deliacom lieviku 3x za sebou petroléterom, potom sa nechajú vrstvy oddeliť. Obsah deliaceho lievika sa prepustí cez kolónku s vrstvou bezvodého síranu sodného do destilačnej banky. Obsah banky sa oddestiluje na rotačnej odparovačke na malý zvyšok, ktorý sa po odparení prečisťuje kyslou hydrolýzou s konc. kyselinou sírovou.

7.6 Purifikácia pomocou gélovej permeačnej chromatografie (GPC)
Na kolónu GPC sa pomocou dávkovača nanesie roztok vzorky v hexáne, tak aby celkové množstvo aplikovaného tuku neprekročilo 500 mg. Pri prietoku mobilnej fázy sa zbierajú

frakcie zodpovedajúca elúcii chlórovaných uhľovodíkov a PCB. Frakcie sa odparia na rotačnej vákuovej odparovačke dosucha a odparok sa rozpustí v izooktáne a analyzuje sa pomocou plynovej chromatografie.

7.7 Čistenie kyslou hydrolýzou s konc. kyselinou sírovou
Vzorka extrahovaného tuku alebo odparok po extrakcii krmiva, múky, ryže a pod. sa rozpustí v petrolétery a pridá sa konc. kys. sírová, premieša sa a nechá postáť. Z hornej petroléterovej vrstvy sa odoberie 5 ml do kalibrovanej zábrusovej skúmavky, tento objem sa doplní petroléterom na 10 ml a pridá sa opäť konc. kys. sírová a skúmavka sa uzavrie zátkou, pretrepe a nechá postáť. Z hornej petroléterovej vrstvy sa odoberie 5 ml a toto množstvo sa prefiltruje cez papierový filter s bezvodým síranom sodným do čistej Erlenmayerovej banky. V banke sa nechá petroléter voľne odpariť v digestore a odparok sa rozpustí v izooktáne, a analyzuje sa pomocou plynovej chromatografie.

7. Podmienky stanovenia na GC

Kolóna:	sklenená kapilárna kolóna HP-5
Nosný plyn:	He
Prietok:	20 ml/min
tepelný program:	init.: 80 ^{o}C (1 min)
	I.r. 30 ^{o}C/min na 180 ^{o}C (0 min)
	II.r. 6 ^{o}C/min na 205 ^{o}C (4 min)
	III.r. 20 ^{o}C/min na 290 ^{o}C (7,5 min)
Detektor:	ECD 300 ^{o}C

8. Meranie
Vzorka po nastreknutí do injektora sa dostáva do prúdu nosného plynu. Prechádza postupne kolónou, kde sa delí a jednotlivé pesticídy a PCB prichádzajú postupne do detektora. Zmeny prúdu v detektore, vyvolané prechodom pesticídov a PCB sú zosilnené a zaznamenané zapisovačom chromatografu.

11. Kalibrácia a vyhodnotenie
Pre kvantitatívne vyhodnotenie sa používa plocha píkov, ktoré sa porovnávajú s plochami píkov štandardov. Výška píkov vzorky nesmie presiahnuť rozsah zapisovača, inak treba vzorku riediť.