CH 3.1

STANOVENIE POLYCYKLICKÝCH AROMATICKÝCH UHĽOVODÍKOV (PAU)

1. URČENIE METÓDY

Skúšobná metóda je použiteľná pre stanovenie polycyklických aromatických uhľovodíkov (PAU) vo všetkých druhoch údenárských výrobkoch (údené mäsá, drobné údenárske výrobky, údené klobásy, párky, údená slanina, salámy, údené syry, ryby a pod.), v pečených a pražených potravinárskych výrobkoch rastlinného pôvodu (napr. pečivo, pražená káva), v tukoch a krmivách.

Touto metódou je možné stanoviť nasledujúce prioritné polutanty PAU:

- Phenantrén [PHE]
- Pyrén [PYR]
- Benzo(a)antracén [B(a)A]
- Chryzén [CHRY]
- Benzo(b)fluorantén [B(b)F]
- Benzo(a)pyrén [B(a)P]
- Dibenzo(a,h)antracén [dB(a,h)A]

2. PRINCÍP METÓDY

Zhomogenizovanú vzorku opakovane extrahujeme chloroformom v ultrazvukovom vodnom kúpeli. Alikvótny podiel zo zahusteného extraktu zbavíme podstatnej časti koextraktov z matrice vzorky (napr. tuky, farbivá z koreninových prísad a pod.) prečistením gélovou permeačnou chromatografiou. Prečistený podiel extraktu zakoncentrujeme do rozpúšťadla, ktoré zodpovedá mobilnej fáze. Pre kvantifikáciu extraktov používame metódu HPLC s fluorescenčnou detekciou s programovateľnou zmenou vlnovej dĺžky.

3. POMÔCKY

3.1. PRÍSTROJE A ZARIADENIA

- Kuchynský mlynček na mäso
- Ultrazvukový vodný kúpeľ
- Rotačná vákuová odparka
- Milli-Q-Plus, systém na prečisťovanie destilovanej vody
- Nízkotlaková peristaltická pumpa
- Sklená kolóna 9 x 500 mm s príslušenstvom
- HPLC prístroj HP 1100 s fluorescenčným detektorom
- Analytická kolóna LiChrocart PAH 250 – 4 LiChrospher PAH, 5 µm s predkolónou LiChrospher PAH 4-4, Merck
- Mikropipety
- Kalibrované odmerné sklo

3.2. CHEMIKÁLIE A ROZTOKY

Všetky použité materiály a chemikálie musia byť vhodné pre HPLC analýzu
• Chloroform, pre analýzu
• Metanol, LiChrosolv gradient grade
• Síran sodný bezvodý, p.a
• HPLC-grade H_2O, získaná prečistením destilovanej vody v zariadení Milli-Q-Plus
• Gel Bio-Beads SX-3, 200-400 mesh, Bio-Rad
• Zmesný referenčný materiál: PAH mixture 610 M (16 prioritných polutantov)

4. BEZPEČNOSŤ PRI PRÁCI

Pri práci treba dodržiavať zásady pre bezpečnú prácu v chemickom laboratóriu podľa STN 01 8003.

5. PRACOVNÝ POSTUP

5.1. PRÍPRAVA VZORKY

Analyzovanú vzorku dokonale zhomogenizujeme pomocou mäsového mlynčeka, premiešame a odoberieme priemernú vzorku na analýzu. Do Erlenmayerovej banky navážime 10 g (v prípade vysokotučných vzoriek znížime návažku na 5 g) priemernej vzorky, zalejme chloroformom a extrahujeme v ultrazvukovom vodnom kúpeli. Chloroformový extrakt opatrne prelejeme cez filter s vrstvou bezvodého síranu sodného do guľatej banky. Extrakciu zopakujeme a spojené chloroformové extrakty zakoncentrujeme na vákuovej rotačnej odparke na objem cca 20 ml, ktorý kvantitatívne prevedieme do odmernej banky a doplníme chloroformom.
Takto pripravený extrakt aplikujeme na gélovú kolónu. Pri elúcii odoberieme frakciu chloroformu, ktorú opatrne zakoncentrujeme na odparke pri 40ºC takmer do sucha. Neodparený zvyšok opatrne odfúkame prúdom plynného dusíka do sucha. Odparok rozpustíme v acetonitrile a vzorku kvantifikujeme metódou HPLC s fluorescenčnou detekciou.
Spolu s každou sériou vzoriek pripravujeme rovnakým spôsobom tzv. slepý pokus (t.j. kompletný postup bez vzorky), ktorý pri konečnom spracovaní výsledkov analýzy vzorky zohľadníme.

5.2. PRÍPRAVA MERANIA

Mobilná fáza: A: H_2O
B: Acetonitril

Lineárny gradientový program: zmenu zloženia mobilnej fázy v čase programujeme nasledovne:

Čas (min)	A %	B %
0	40	60
3	30	70
14	0	100
26	0	100
29	40	60

Prietok: 1 ml/min
Nástrek: 20 µl
Teplota kolóny: 20ºC
Detekcia: FLD s programovateľnou zmenou vlnovej dĺžky v závislosti retenčného času jednotlivých polutantov:

Vlnová dĺžka	Ex (nm)	Em (nm)
PHE	248	374
PYR	272	384
B(a)A	272	384
CHRY	272	384
B(b)F	295	405
B(a)P	295	405
DB(a,h)A	300	410

5.3. MERANIE

Meranie vzoriek
Extrakty vzoriek sa analyzujú kvapalinovým chromatogramom, ktorý je špecifikovaný v kap. 3.1.

6. VYHODNOTENIE NAMERANÝCH ÚDAJOV

Pre výpočet koncentrácie jednotlivých polutantov PAU používame multikalibračný program Data analysis, ktorý je súčasťou programového vybavenia pre ovládanie chromatografického systému a spracovanie chromatografických údajov LC chemstation software.

$$m = \frac{c.V.r}{n}$$

m = hmotnosť v ng/g
c = nameraná koncetrácia analytu v ng/ml
V = objem v ml
r = riediaci faktor

n = návažka vzorky v g

7. LITERATÚRA

1. Sokol J., Breyl I. a kol.: Veterinárne laboratórne metodiky (špeciálna časť), Metódy stanovenia cudzorodých látok v surovinách živočíšneho pôvodu, potravinách, krmivách a vo vode, Štátna veterinárna správa SR Bratislava, 2000, 267-277
2. Smernica pre štatistické vyhodnotenie výsledkov vzhľadom na ich opakovateľnosť 02-02

CH 3.1
STANOVENIE POLYCYKLICKÝCH AROMATICKÝCH UHĽOVODÍKOV METÓDOU HPLC / FLD

1 PRINCÍP METÓDY

Homogenizovaná organická hmota sa extrahuje zmesou chloroform:acetón (3:1) na ASE-200 extraktore. Alikvotný podiel sa zo zahusteného extraktu aplikuje na kolónu gélovej permeačnej chromatografie (GPC), kde dôjde k odstráneniu tukov. PAU obsiahnuté v zberanej časti eluátu, sa prevedú do izopropanolu a separujú metódou HPLC s gradientovou elúciou na kolóne s reverznou fázou, komerčne vyrábanou na tieto účely. Kvantifikácia sa vykoná metódou externej kalibrácie.

2 POUŽITEĽNOSŤ METÓDY

Metóda je vhodná na stanovenie PAU v údenárskych potravinách ako sú údené ryby, údené mäsové výrobky, syry, zelenina, káva, oleje a v pitných vodách.

3 CHEMIKÁLIE A ROZTOKY

3.1 Čisté chemikálie

3.1.1 chloroform p.a.
3.1.2 dimetylchlorosilán
3.1.3 redestilovaná voda
3.1.4 metanol LiChrosolv
3.1.5 dichlórmetán LiChrosolv
3.1.6 Standard Reference Material EPA 610 Polynuclear Aromatic Hydrocarbons Mix (zmes 16 EPA polutantov) –**EPA 610**
3.1.7 cyclopenta(c,d)pyrene **(CPP)** 10 mg/l v acetonitrile
3.1.8 5-Methylchrysene **(5MC)** 10mg/l v acetonitrile
3.1.9 benzo(j)fluoranthene **(BjF)** 10mg/l v acetonitrile
3.1.10 dibezno(a,l)pyrene **(DlP)** 10mg/l v acetonitrile
3.1.11 dibenzo(a,e)pyrene **(DeP)** 10mg/l v acetontrile
3.1.12 dibenzo(a,i)pyrene **(DiP)** 10mg/l v acetonitrile
3.1.13 dibenzo(a,h)pyrene **(DhP)** 10mg/l v acetonitrile
3.1.14 benzo(c)fluorene **(BcF)** 10mg/l v cyklohexáne
3.1.15 benzo(b) chrysene **(BbCH)** 10mg/l v acetonitrile
3.1.16 dusík
3.1.17 acetón p.a.
3.1.18 2-propanol p.a.
3.1.19 Hydromatrix Varian
3.1.20 acetonitril gradient grade LiChrosolv p.a. - **ACN**
3.1.21 toluén p.a.

3.2 Roztoky a reagencie

3.2.1 riediaci roztok pre prípravu zásob. štandardu **EPA 610 1**: metanol - dichlórmetán
3.2.2 extrakčná zmes: chloroform – acetón (3:1)
3.2.3 mobilná fáza A: acetonitril (100 %), mobilná fáza B: redestilovaná voda
3.2.4 4% dimetylchlorosilán v toluéne
3.2.5 2-propanol-voda (10:90)

3.3 Štandardné roztoky

3.3.1 Zásobný roztok štandardu **EPA 610** (10 mg/l benzo(a)pyrénu v zmesi metanol-dichlórmetán

.
3.3.2 Pracovné kalibračné roztoky štandardov

Pracovné kalibračné roztoky PAU (PKR) na zostrojenie kalibračnej krivky:

3.3.2.1 Pracovný kalibračný roztok na overenie účinnosti gélovej permeačnej kolóny (2µg/l benzo(a)pyrénu) v chloroforme a pracovný kalibračný roztok na fortifikáciu vzoriek (**GEL 1**)

3.3.2.2 Pracovný kalibračný roztok na fortifikáciu vzoriek (**IZO 1**)

Koncentrácia PAU v roztoku GEL 1 resp. IZO 1 (µg/l)		**prídavok**
naphtalene		**10 µl roztoku EPA 610 1**
acenaphtene		
fluorene		
phenantrene		
anthracene	2	
fluorantehene	4	
pyrene	2	
BaA	2	
CHR	2	
BbF	4	
BkF	2	
BaP	2	
DhA	4	
BgP	4	
IcP	2	
CPP	20	**100 µl z CPP**
BjF	20	**100 µl z BjF**
DiP	10	**100 µl z DiP**
DhP	20	**100 µl zDhP**
5MC	2	**10 µl z 5MC**
DlP	10	**50 µl z DlP**
DeP	5	**25 µl DeP**
BcF	5	**25 µl z BcF**
BbCh	2	**10 µl z BbCH**

3.3.3 Pracovné roztoky vnútorného štandardu

3.3.3.1 Pracovný roztok štandardu benzo(b)chrysenu **BbCH1** (2 µg/l v chloroforme).

3.3.3.2 Pracovný roztok štandardu benzo(b)chrysenu **BbCH2** (2 µg/l v 2-propanole).

4 PRÍSTROJE A POMÔCKY

Ovládanie prístrojov a zariadení je uvedené v ŠPP č.1.2.01 CH

4.1 kvapalinový chromatograf Agilent 1100 Series s fluorescenčným detektorom (FLD G1321A) a detektorom diódového poľa (DAD)
4.2 chromatografická kolóna PAH C18 5um; 4,6x250mm, 5 µm
4.3 extrakčný prístroj ASE- 200 (DIONEX, USA)
4.4 zariadenie na SPE ASPEC XL GILSON
4.5 vákuová rotačná odparka BUCHI (RVO)
4.6 SPE kolónka ENVIRELUT – PAH Bond Elut
4.7 SPE vákuový manifold
4.8 sklená vata vypálená pri 350°C, papierový filter Whatman
4.9 lab. odmerné sklo, lab. sklo (na koncovú analýzu sa používa silanizované sklo, viď príprava silanizovaného skla)
4.10 homogenizátor
4.11 ultrazvukový kúpeľ
4.12 striekačky Hamilton 10 µl, 25 µl, 50 µl, 100 µl
4.13 dávkovací kohút na 0,5 ml
4.14 trecia miska
4.15 gélová permeačná kolóna BIO-BEADS S-X3

5 PRACOVNÝ POSTUP

5.1 Príprava silanizoveného skla

Skúmavky sa zalejú 4 % roztokom DMCS v toluéne na dobu 5 – 10 min., vypláchnu sa 3x hexánom a vysušia sa na vzduchu.

5.2 Príprava kvality kontrol vzoriek

5.2.1 Príprava negatívnej vzorky a fortifikovaných vzoriek mäsových výrobkov

Na prípravu fortifikovaných vzoriek sa použijú negatívne matrice. Vzorky sa fortifikujú na úrovni 1µg/kg pre benzo(a)pyrén.

Navážiť 2 g zhomogenizovanej vzorky a zmiešať so 4 g Hydromatrixu v trecej miske tak, aby bola zmes sypká. Zmes kvantitatívne preniesť do 22 ml extrakčnej cely. Pridať roztok štandardu GEL1. Nechať postáť 15 min. Objem cely vyplniť dosypaním hydromatrixu. Nedopĺňať morským pieskom! Extrakčnú celu vložiť do extraktora ASE 200. Extrakciu vykonať podľa bodu 5.3.2.1

Tabuľka 4 Príprava negatívnej vzorky a fortifikovaných vzoriek mäsových výrobkov pre stanovenie PAU (koncentrácia fortifikovaných vzoriek v µg/kg)

Koncentrácia PAU vo vzorke					konc. interného štandardu **BbCH** (µg/kg)	prídavok roztoku **GEL 1** (ml)
BaA, CHR, BkF, BaP, IcP, 5MC	**BbF, DhA, BgP**	**DeP, BcF**	**DlP**	**CPP, DiP, DhP, BjF**		
0	0	0	0	0	0	0
1	2	2,5	5	10	2	1

5.2.2 Príprava negatívnej vzorky a fortifikovaných vzoriek vody

Na prípravu fortifikovaných vzoriek sa použijú negatívne vzorky. Vzorky sa fortifikujú na úrovni ustanoveného MRL BaP pre pitnú vodu (0,01µg/l).

5.2.2.1 Príprava vzoriek vody s SPE kolónkou ENVIRELUT – PAH

Do vzorky vody o objeme 100ml pridať 5ml 2-propanolu a pridať roztok štandardu IZO 1 o koncentrácii BaP 2µg/l
Pokračovať podľa bodu 5.3.3.1 Extrakcia...

Tabuľka 5 Príprava negatívnej vzorky a fortifikovaných vzoriek vody pre stanovenie polycyklických aromatických uhľovodíkov (koncentrácia fortifikovaných vzoriek v µg/l)

Koncentrácia PAU vo vzorke		**konc. interného štandardu BbCH (µg/l)**	**prídavok roztoku IZO 1 (ml)**
fluoranthene, BbF, BgP	**BkF, BaP, IcP**		
0	0	0	0
0,02	0,01	0,01	0,5

5.3 Príprava vzorky

5.3.1 Tuhé potraviny

Navážiť 2 g zhomogenizovanej vzorky a zmiešať so 2 g Hydromatrixu v trecej miske tak, aby bola zmes sypká. Zmes kvantitatívne preniesť do 22 ml extrakčnej cely. Pridať 1 ml roztoku BbCH1. Takto sa každá vzorka fortifikuje vnútorným štandardom benzo(b)chryzénom na koncentračnej úrovni 2 $\mu g.kg^{-1}$. Nechať postáť 15 minút a objem cely vyplniť dosypaním hydromatrixu. Extrakčnú celu vložiť do extraktora ASE® 200. Extrakciu vykonať podľa bodu 5.3.2.1

5.3.2 Oleje a tuky

Navážiť 800 mg zhomogenizovanej vzorky oleja alebo tuku do 5 ml sklenenej nádobky. Pridať 1 ml roztoku BbCH1. Takto sa každá vzorka fortifikuje vnútorným štandardom benzo(b)chryzénom na koncentračnej úrovni 2 $\mu g.kg^{-1}$. Nechať postáť 15 minút. . Ďalej sa postupuje podľa bodu 5.3.2.2.

5.3.2.1 Extrakcia tuhých potravín

Pracovné podmienky extraktora ASE 2000:

tlak systému - 1500 PSI, teplota pece - 120 ^{o}C
Oven Heat-up Time- 5 min.
Static Time - 5 min.
Solvent : chloroform /acetón /3:1/
Flush Volume - 60 % of extraction cell volume
Nitrogen Purge 150 PSI 90 sekúnd
Počet cyklov - 3

Extrakt preliať do 50 ml Erlenmayerovej banky, odpariť na RVO, dofúkať dusíkom, preliať do vialky a doplniť do 3 ml chloroformom. Ďalej postupovať podľa bodu 5.3.2.2

5.3.2.2 Prečistenie extraktu na gélovej permeačnej chromatografickej kolóne BIO- BEADS S-X3 (GPC)

0,5 ml zahusteného extraktu, alebo 0,5 ml roztoku GEL 1 (overenie účinnosti GPC) sa aplikuje na GPC kolónu s prietokom chloroformu 0,5 ml.min^{-1} a zbiera sa frakcia od 22 - 37 minút. Táto frakcia sa vyhodí. Zbytok opatrne sa odparí na vákuovej rotačnej odparke asi na objem 2 ml. Prečistený extrakt sa preleje do sklenených 5 ml baniek s kónusom. Erlenmayerova banka sa ešte raz vypláchne malým množstvom chloroformu, aby sa rezíduá kvantitatívne preniesli do banky s kónusom. Zbytok chloroformu v banke sa odfúka jemným prúdom dusíkom dosucha pri 40 ºC. Rezíduá sa rozpustia v 0,2 ml acetonitirlu, roztok sa premieša prerušovane 30 sekúnd na Vortexe a cez buničitú vatu sa prefiltruje do 200 µl sklenenej vložky a tá sa vloží do 2ml nádobky autodávkovača. Na chromatografickú kolónu sa injektuje 10 µl. V prípade overenia účinnosti GPC kolóny sa rezíduá rozpustia v 0,5 ml acetonitrilu.

5.3.3 Voda

5.3.3.1 Extrakcia vzoriek vody na SPE kolónke ENVIRELUT – PAH

K 100ml vzorky vody pridať 5ml 2-propanolu pridať 0,5 ml roztoku BbCH2. Takto sa každá vzorka vody fortifikuje vnútorným štandardom benzo(b)chryzénu na koncentračnej úrovni 0,01 µg/l.

kondiciovanie SPE kolónky: 5 ml chloroformu
10 ml 2-propanol
presatie vzorky: 50 ml vzorky
vysušenie kolóniek: pod vákuom 20-30 min.
elúcia: 6ml chloroformu

Eluát odfúkať prúdom dusíka pri teplote 40°C na Termovape a rozpustiť v 0,5ml vody a napichnúť na chromatografickú kolónu.

5.4 Chromatografická analýza

-chromatografická kolóna PAH C18 5um; 4,6x250mm
-teplota chromatografickej kolóny 40°C, nástrek 10 µl

V tabuľke 6 je popísaný gradientový program elúcie a v tabuľke 7 je popísaný program detekcie pre fluorescenčný detektor. 15+1 EÚ prioritných PAU je snímaných v 4 detekčných emisných kanáloch na fluorescenčnom detektore a jedným detekčným absorpčným kanálom pri 220 nm na detektore s diódovým poľom (DAD). Zároveň sú snímané aj emisné a absorpčné spektrá eluujúcich píkov. Oba detektory sú zapojené v sérii.

Gradientový program

Tabuľka 6

čas (min)	% ACN	% H_2O	prietok MF (ml. min $^{-1}$)
0	60	40	1,5
5	60	40	1,5
10	100	0	1,5
14	100	0	1,5
16	100	0	1,5
16,8	100	0	2,5
30	100	0	2,5
31	60	40	1,5

Detekčné podmienky na fluorescenčnom detektore

Tabuľka 7

čas (min)	Ex (nm)	Em.A (nm)	Em.B (nm)	Em.C (nm)	Em.D (nm)
0	270	380	420	470	510
4	270	350	420	470	510
8,8	270	380	420	470	510
10,5	290	400	420	470	510

Ex – excitačná vlnová dĺžka, Em.A – emisná vlnová dĺžka kanála A

A, B, C, D – kanál

6. VYHODNOTENIE VÝSLEDKOV MERANIA

Zhoda retenčných časov píkov s povolenou odchýlkou ± 5% a ich spektier vo vrchole píkov u vzorky a u štandardov PAU potvrdzuje prítomnosť konkrétneho PAU. Koncentrácia konkrétneho PAU je úmerná ploche píku porovnanej s plochami nameranými v kalibračných roztokoch. Z plôch píkov jednotlivých PAU získaných analýzou kalibračných roztokov sa zostrojí kalibračná krivka a koncentrácia identifikovaného PAU v extrakte vzorky sa určí z kalibračnej krivky. V tomto prípade sa jedná o externú kalibráciu. Krivka spravidla môže mať tvar lineárny alebo kvadratický podľa matematickej závislosti:

$$Y = a + bX \quad \text{(lineárna)}$$
$$Y = a + bX + cX^2 \quad \text{(kvadratická)}$$

kde

Y - koncentrácia látky

X - plocha píku

a,b,c - koeficienty vypočítané matematickými metódami (metóda najmenších štvorcov atď).

Koncentrácia identifikovaného PAU vo vzorke v $\mu g.kg^{-1}$ sa určí podľa vzťahu:

$$C = Y.R$$

kde

R - stupeň riedenia

Porovnaním nameranej koncentrácie vnútorného štandardu benzo(b)chryzénu k referenčnej koncentrácii sa vypočíta výťažnosť BbCH (R_e) v % u každej meranej vzorky podľa vzťahu:

$$R_e = \frac{n_{II}}{n_I} \; x\, 100$$

kde

n_{II} - nameraná koncentrácia BbCH v $\mu g.kg^{-1}$

n_I - referenčná koncentrácia BbCH v $\mu g.kg^{-1}$

Pokiaľ je výťažnosť BbCH u individuálnej vzorky nižšia ako 70%, je nutné analýzu zopakovať.

Porovnaním nameranej koncentrácie každého PAU v RM alebo pozitívnej QC vzorky k referenčnej koncentrácii sa vypočíta výťažnosť každého PAU v danej sérii vzoriek.

Výsledky koncentrácií jednotlivých identifikovaných PAU vo vzorke sa skorigujú na výťažnosť.

8. LITERATÚRA

1. Bernard Hajšlová,Kratochvílová,Merhaut, Aplication note 130
2. DIONEX - Application Note 313
3. Simon R., Palme S., Anklam E., Single laboratory validation of a gas chromatography – mass spectrometry method for quantitation of 15 European priority polycyclic aromatic hydrocarbons in spiked smoke flavourings; Journal of chromatography A, 1103 (2006) 307 - 313

9. ZOZNAM SKRATIEK

ASE - accelerated solvent extraction
GPC - gélová permeačná chromatografia
HPLC - kvapalinový chromatograf / kvapalinová chromatografia/
LOD - limit detekcie
LOQ - limit kvantifikácie
PAU – polycyklické aromatické uhľovodíky
SD - výberová smerodajná odchýlka
PKR – pracovné kalibračné roztoky
FLD – fluorescenčný detektor
DAD – detektor diódového poľa
SPE – solid phase extrakcia

MRL – maximálny reziduálny limit
RVO – rotačná vákuová odparka
PAH – polycyclic aromatic hydrocarbons
EU – Európska únia
QC – kvality kontrol vzorky
RM – referenčný materiál
AQA – analytical quality assurance

CH 3.1. Stanovenie polyaromatických uhľovodíkov vo vzorkách živočíšneho a rastlinného pôvodu a vo vode metódou HPLC

1. Pôvod metódy

1. Lawrence, J.F. - Weber, D.F.: Determination of Polycyclic Hydrocarbons in Some Canadian Commercial Fish, Shellfish, and Meat Products by Liquid Chromatography with Confirmation by Capillary Gas Chromatography - Mass Spectrometry. J. Agric. Food Chem., 32, 1984, s. 789 - 794.
2. Šimko, P. - Dubravický, J.: Determination of Benzo(a)pyrene in Smoked Meat Produts. In Proceedings of the 8th International Symposium „Advances and application of chromatografy in Industry“, Bratislava, 1989.

2. Princíp metódy

Polyaromatické uhľovodíky sa zo vzorky vyextrahujú toluénom a následne prečistia na SPE extrakčných kolónkach Oktadecyl.

3. Použité prístroje

Kvapalinový chromatograf
fluorescenčný detektor
SPE kolónky
rotačná vákuová odparka,
trepačka

4. Zoznam chemikálií

toluén p.a.,
petroléter p.a.,
acetonitril HPLC grade,
n-hexán HPLC grade,
metanol HPLC grade,
deionizovaná voda,
analytický štandard benzo(a)pyrénu
zmes polyaromatických uhľovodíkov

5. Príprava štandardov a pracovných roztokov

Pracovný roztok štandardov polyaromatických uhľovodíkov sa pripraví rozpustením v acetonitrile.

6. Príprava vzoriek:

Tuhé vzorky(salámy, slanina, klobásy...)

Navážka vzorky sa nechá vytrepávať s toluénom. Extrakčná kolónka sa premyje acetonitrilom. Na kolónku sa za vypnutého vákua nanesie filtrát. Pomaly sa nechá vsiaknuť a kolónka sa vákuovo vysuší. Polyaromáty sa eluujú z kolónky.

Voda:

Na kolónku sa pripevní rezervoár a nechá ňou prejsť 500 ml vzorky. Kolónka sa premyje 6 ml redestilovanej vody. Polyaromáty sa eluujú z kolónky.

Olej:

Naváži sa cca. 0,2 g dobre premiešaného oleja a rozpustí sa v 0.5ml petroléteru. Zmes oleja v petroléteri sa aplikuje na kolónku.

7. Podmienky stanovenia

Kolóna: LiChrospher PAH 250 x 4 mm,
Mobilná fáza: A: acetonitril
B: acetonitril : metanol : voda
Prietok mobilnej fázy: 1 ml / min
Injekovaný objem: 20µl
Teplota: 40 °C
Detekcia: